



FN MOTOL

Fakultní nemocnice v Motole

V Úvalu 84, 150 06 Praha 5

Laboratoře ÚBLG



Ústav biologie a lékařské genetiky 2. LF UK a FN Motol

Přednosta: Prof. MUDr. Milan Macek, DrSc.

<http://ublg.lf2.cuni.cz/>

Trombofilní stavy

Za trombofilní stav považujeme zvýšenou tendenci ke vzniku trombóz a jejich recidivám. Trombofilie může být dědičná či získaná, případně kombinované etiologie. Jejich nejvýznamnější klinickou manifestací je tromboembolická nemoc (hluboká žilní trombóza a plicní embolie).

Kit **ELUCIGENE™ TRP-F** je určen pro molekulárně genetickou diagnostiku mutací podílejících se na vzniku hereditární trombofilie. Patří k nim Leidenská mutace v genu pro faktor V, mutace 20210G>A ve 3' netranslatované oblasti genu pro koagulační faktor II a polymorfismus 677C>T v genu pro metylentetrahydrofolátreduktázu (MTHFR).

Leidenská mutace v genu pro faktor V (1691G>A, R506Q, OMIM 612309.0001) patří mezi časté hereditární trombofilní predispozice (populační frekvence v evropské populaci asi 5 %). Leidenská mutace v genu pro faktor V má za následek vznik molekuly koagulačního faktoru se záměnou aminokyseliny argininu za glutamin v konzervovaném štěpném místě pro antikoagulačně působící aktivovaný protein C. Nosiči této mutace v heterozygotní konstituci mají 5-10× zvýšené riziko hluboké žilní trombózy, homozygoti mají 50-100× zvýšené riziko. Nicméně absolutní celoživotní riziko je nízké – jen asi 10 %, většina heterozygotů tak prožije život bez jakékoliv trombotické komplikace.

Mutace 20210G>A ve 3' nekódující oblasti genu pro protrombin (koagulační faktor II, OMIM 176930.0009) má populační frekvenci v ČR asi 2 %, a patří mezi významné protrombogenní hereditární rizikové faktory. V heterozygotní konstituci zvyšuje riziko hluboké žilní trombózy přibližně 2,8× a cévní mozkové příhody cca 1,4×. Velmi vzácná homozygotní konstituce je spojena s mnohonásobně zvýšeným rizikem trombózy.

Polymorfismus 677C>T (Ala222Val) v genu pro metylentetrahydrofolátreduktázu (MTHFR, OMIM 607093.0003) je asociovan s vyšší termolabilitou tohoto enzymu a tím i jeho sníženou aktivitou. Má velmi vysokou populační frekvenci v ČR (asi 35 %) a diskutabilní vliv – velmi mírně zvyšující riziko trombózy při normálním příjmu kyseliny listové a normální hladině homocysteinu v séru.

Polymorfismus 1298A>C (Glu429Ala) v genu pro metylentetrahydrofolátreduktázu (MTHFR, OMIM 607093.0004) vede rovněž k nižší aktivitě tohoto enzymu, zvláště u homozygotů pro tuto variantu, případně u složených heterozygotů s polymorfismem 677C>T.

Inhibitor aktivátoru plasminogenu – 1 (PAI-1) je důležitým inhibitorem fibrinolytického systému, primárním inhibitorem plasminogenového aktivátoru v plasmě, rychle inaktivujícím jak tkáňový plasminogenový aktivátor (t-PA), tak urokinázový typ plasminogenového aktivátoru (u-PA). Gen pro PAI-1 má několik polymorfismů, včetně 4G/5G delece/inzerce guaninu 675 bp od začátku promotoru. Polymorfismus 4G/5G ovlivňuje vazbu nukleárních proteinů, které se účastní regulace PAI-1 genové transkripce, s vyšší úrovní PAI-1 syntézy asociované s 4G/5G genotypem. Poprvé byl tento polymorfismus popsán Dawsonem v roce 1993. Polymorfismus 4G/5G byl intenzivně studován, prevalence 4G alely byla vyšší u chorob jako např. onemocnění koronárních artérií, meningokokový septický šok, osteonekróza, těžká pre-eklampsie, typ 2 – diabetická nefropatie, plicní tromboembolismus a arteriální trombóza asociovaná s deficiencí proteinu S. Naopak 5G alela byla asociovaná s familiární formou abdominálního aortálního aneurysmatu. Přítomnost 4G alely může (signifikantně) zvýšit riziko trombózy, nejvyšší riziko však představuje pro pacienty s trombózou vnitřních orgánů, především s trombózou portální žíly.

Indikační kritéria

1. Před zahájením kombinované perorální hormonální kontracepce a/nebo hormonální substituční léčby estrogeny (HRT) u žen s pozitivní osobní anamnézou prodělané TEN, nebo s pozitivní rodinnou anamnézou výskytu TEN u příbuzných prvního stupně (matky, otce, vlastních sourozenců a dětí probanda).
2. U osob se stavem po prodělané idiopatické TEN, při pátrání po vyvolávající příčině a kvůli rozhodování o délce antikoagulační léčby.
3. U žen po opakovaných 3 potratech v 1. trimestru gravidity, nebo u každé ztráty plodu po tomto období gravidity.
4. U těhotných žen s pozitivní osobní nebo rodinnou anamnézou prodělané TEN (viz bod 1), nebo při těžkých formách preeklampsie, retardaci plodu či po abrupci placenty.
5. Jiné indikace po vyšetření v trombotickém centru.

Pozn. při pozitivním záchytu uvedených mutací je vhodné provést tato vyšetření i u příbuzných prvního stupně, pokud se u nich vyskytují další rizika spojená s trombofilii. U dětí ale až po 12 letech jejich věku, pokud k tomu nejsou jiné důvody.



FN MOTOL

Fakultní nemocnice v Motole

V Úvalu 84, 150 06 Praha 5

Laboratoře ÚBLG

Ústav biologie a lékařské genetiky 2. LF UK a FN Motol

Přednosta: Prof. MUDr. Milan Macek, DrSc.

<http://ublg.lf2.cuni.cz/>

ústav biologie a lékařské genetiky

Analytické metody

Metoda	Detekované mutace/polymorfismy
Stanovení trombofilních markerů pomocí kitu Elucigene TRP-F (CE IVD kit)	FII 20210G>A, FV 1691G>A/R506Q, MTHFR 677C>T
Stanovení trombofilních markerů pomocí PCR reakce, digesce restrikční endonukleasou a analýzy v agarózovém gelu	MTHFR 1298A>C, PAI-1 4G/5G

Doby odezvy vzorků

Metoda	Doby odezvy vzorků (pracovní dny)	
	Běžně	Statim
Trombofilní markery pomocí kitu Elucigene TRP-F (CE IVD kit)	15	10
MTHFR 1298A>C pomocí PCR reakce, digesce restrikční endonukleasou a analýzy v agarózovém gelu	25	10
PAI-1 4G/5G pomocí PCR reakce, digesce restrikční endonukleasou a analýzy v agarózovém gelu		

Kontaktní informace

Oddělení lékařské molekulární genetiky

ÚBLG 2. LF UK a FN Motol
V Úvalu 84, Praha 5,
150 06

Centrální příjem

vzorků:
Po – Pá
7:30h – 14.30h

Požadavky na vzorek

Krev – 5-10 ml do K₃EDTA (novorozenci 1 ml, děti 1-2 ml)

Izolovaná DNA – 50-300 ng/μl v množství 20-30 μl

Vzorek označit minimálně jménem, příjmením a rodným číslem pacienta a datem odběru vzorku.

Odkazy

Transport vzorku co nejdříve, (nejpozději do 3 hodin po odběru) ve vhodných nádobách, boxech či stojanech při obyčejné teplotě. Dlouhodobý transport vyžaduje termostabilní přepravky zamezující znehodnocení vzorku mrazem nebo teplem (chladičí vložky). Žádanky uložit zvlášť do igelitových desek.