

Žilní a tepenná trombofilie

Jan Kvasnička

I. interní klinika, Oddělení klinické hematologie a Trombotické centrum
Všeobecné fakultní nemocnice v Praze

Trombofilií se nazývá stav zvýšené tendence k tvorbě trombů v žilách nebo v arteriích. V obou případech jde o multifaktoriální onemocnění o různé patogenезi. Při žilní trombóze hraje hlavní roli zástava krve a hyperkoagulace, při arteriální trombóze aktivace krevních destiček a dysfunkce endotelu při arterioskleróze. Je uveden přehled o dosud známých mutacích či kandidátských fenotypech, které jsou spojeny s trombofilií a o jejich praktickém hledisku. Bude však třeba provést ještě mnoho dalších klinických studií než budeme moci definitivně určit, které všechny testy se hodí pro genetickou diagnostiku trombofilií.

Klíčová slova: trombofilie, žilní, tepenná, genetické testy.

VENOUS AND ARTERIAL THROMBOPHILIA

Thrombophilia is a state of an increased tendency to the occurrence of thrombosis in veins and arteries. In both cases, it represents a multifactorial disease with different pathogenesis. In venous thrombosis, ceased blood flow and hypercoagulation are the main culprits, on the contrary, platelet activation and endothelial dysfunction in atherosclerosis are responsible in arterial thrombosis. A survey is given on known mutations or candidate phenotypes which are associated with thrombophilia and their practical point of view. Further clinical studies are warranted before we can definitively tell what tests are suitable for genetic diagnosis of thrombophilia.

Key words: thrombophilia, venous, arterial, genetic tests.

Interv Akut Kardiolog 2003;2:23–29

Úvod

Trombofilií lze obecně nazvat stav zvýšené dispozice k tvorbě trombů, která předchází vlastnímu procesu trombotizace v žilním, nebo tepenném cévním systému. Dříve se tak nazývaly jen stavy spojené s průkazem hyperkoagulace v žilách, dnes je však tento termín používán i pro protrombofilní stavy v arteriálním řečišti⁽¹⁾. Původ trombofilií je sice polygenní, ale přesto je třeba při pátrání po jejich příčině vycházet nejprve z rozdílného způsobu trombotizace v obou systémech. Při žilní trombóze dominuje především zástava proudění krve a hyperkoagulace, ke které dochází při aktivaci plazmatických koagulačních faktorů a selhání funkce jejich přirozených inhibitorů v krevní plazmě a cévní stěně. Při vzniku arteriální trombózy se zase v jejím počátku díky prudce proudící krvi více upatňuje aktivace a agregace krevních destiček a dysfunkce endotelu, která je ve většině případů vyvolána aterosklerotickým procesem při zánětu cévní stěny^(2, 3).

Obě trombofilie by se však již měly umět diagnostikovat, neboť jejich včasným rozpoznáním lze získat čas a tedy i možnost zabránit vzniku nebo rekurenci trombózy vhodně volenou profylaxií. To je z medicinského i ekonomicko-sociálního hlediska výhodnější, než pak vzniklou trombózu a její následky léčit. Po proběhlé trombotizaci totiž postižená céva nezůstane již nikdy v takovém stavu, jako předtím.

Trombofilie v žilním systému

Strategie prevence trombóz se zde:

- a) vprvé řadě zaměřuje na eliminaci *stázy krevního proudu*, která jinak v cípech žilních chlopní zvyšuje lokální koncentraci koagulačních plazmatických faktorů a leukocytů.

Ty uvolňují zánětlivé cytokiny, které spolu s ischemií, ke které dochází při stagnaci neokysličené krve, přispívají k protrombotické aktivaci buněk žilní výstelky.

- b) za druhé je to pak zábrana *hyperkoagulace*, která může být vyvolána různými vlivy, jako:

1. Zvýšená produkce koagulačních faktorů a inhibitorů fibrinolýzy v periferní krvi. K té dochází:

1.1. Fyziologicky v těhotenství

Ve 2.–3. trimestru je u těhotných žen nacházena zvýšená hladina koagulačních faktorů (F VII, F VIII, prothrombinu, F X, F IX, F XI a fibrinogenu) a inhibitorů fibrinolýzy (PAI-1, nově PAI-2, a inhibitoru fibrinolýzy indukovaného trombinem – TAFI)⁽⁴⁾.

1.2. V klinické praxi se však se zvýšenou produkcí koagulačních faktorů a inhibitorů fibrinolýzy setkáváme nejčastěji při zánětlivé reakci. Platí to pro oba systémy, jak žilní, tak arteriální.

Zánětlivá reakce je zde spojena s uvolněním zánětlivých cytokinů typu interleukinu 1, kam patří interleukin -1 β (IL-1 β), tumor necrosis factor- α (TNF- α) a interferon gama (IFN γ). Tyto pak v endotelu, buňkách hladké svaloviny a ve fibroblastech indukují syntézu dalšího zánětlivého cytokinu interleukinu - 6 (IL-6), monocytárního chemotaktického proteinu 1 (MCP-1) a interleukinu - 8 (IL-8). Poslední dva však již patří k jiné řadě zánětlivých působků, nazývaných pro své chemotaktické působení na bílé krvinky, krevní destičky a endotel – chemokiny.

Zánětlivé cytokiny vedou k aktivaci žilního endotelu, který po přechodu do zánětlivého „protrombogenního“ stavu začne

na svém povrchu exprimovat adhezivní molekuly. Nejprve se během několika minut objeví tzv. P-selektiny, uvolněné z Weibelových-Paladeho tělísek, a po několika hodinách de novo vytvořené E-selektiny, integriny ICAM-1 (z angl. intercellular adhesion molecule) a VCAM (z angl. vascular cell adhesion molecule). Jejich úlohou je na „zánětlivý“ endotel zachytit bílé krvinky a krevní destičky z protékající krve⁽⁵⁾. Spolu s tím uvolněné cytokiny typu IL-1 a IL-6 vyvolají i systémovou zánětlivou reakci. V játrech přitom dochází k produkci tzv. pozitivních proteinů akutní fáze, jejichž koncentrace v periferní krvi narůstá, například C-reaktivního proteinu (dále CRP). Mezi tyto proteiny akutní fáze však patří i některé koagulační faktory, jako fibrinogen, F VII, F VIII a inhibitor aktivátoru plazminogenu PAI-1 (z angl. plazminogen activator inhibitor)⁽⁶⁾. Průkaz zvýšení markerů akutní fáze, jako třeba CRP, nás tedy nutí myslet na riziko současné trombofilie, která nemocného ohrožuje. Van Aken a spol.⁽⁷⁾ udávají, že nález zvýšené hladiny zánětlivého cytokinu IL-6, nebo proteinů akutní fáze v periferní krvi je validnějším ukazatelem rekurence žilní tromboembózy, než může podat vyšetření koagulace. Význam stanovení hladiny CRP je však i dalším kritériem k určení závažnosti trombogeneze při akutním koronárním syndromu (nestabilní angině pectoris), významným ukazatelem rizika aterosklerózy a ischemické choroby srdeční, zvláště u žen.

1.3. Zvýšená produkce koagulačních faktorů a inhibitorů fibrinolýzy však může být podmíněna i geneticky.

Zde se předpokládá, že mutace příslušného genu vede k poruše translace na úrovni mRNA. Ta pak způsobí nekontrolovatelný přepis mRNA a nadbytečnou tvorbu příslušného proteinu⁽⁸⁾.

1.3.1. Do této skupiny dědičně podmíněných trombofilií je řazena bodová mutace v 3' - UTR (v nepřepisované oblasti) mRNA protrombinu (20210 G→A), která u postižených jedinců vyvolá zvýšenou produkci protrombinu (> 130 %) a tím i dispoziční ke srážení krve⁽⁹⁾. Výskyt mutace genu pro protrombin se v české populaci pohybuje mezi 1–2 %. U nemocných s již vzniklou žilní trombozou je pak mutace protrombinu 20210 G→A zjišťována asi v 6 %. U heterozygotních nositelů mutace se riziko vzniku žilní trombozy zvyšuje asi 2–3×⁽¹⁰⁾.

1.3.2. Translační poruchu je možné předpokládat i při nálezu zvýšené hladiny F XI, která je příčinou patologické trombofilie asi u 11 % žilních trombóz. K vyšší produkci F XI však také dochází ve stáří, kdy se výskyt žilních trombóz rapidně zvyšuje⁽¹¹⁾, proto není její původ ještě úplně vyřešen. Zvýšení F XI⁽¹²⁾ vede k neinhibované aktivaci vnitřního systému koagulace, která vyústí ve zvýšenou tvorbu trombinu. Ta je spojena nejen s přeměnou fibrinogenu na fibrin, ale i s aktivací destiček a další produkce F XI. U postiženého jedince tak dochází k bludnému kruhu permanentní „hyperkoagulace“. Nadbytečný trombin zde ještě aktivuje inhibitor fibrinolýzy TAFI.

1.3.3. S žilní trombofilií je dále spojeno zvýšení F VIII (více než 1 500 j./L, což je asi 150 % normálu). Je zde nalézána i určitá souvislost s krevním skupinovým systémem AB0. Jedinci s krevní skupinou 0 mají méně F VIII, než jedinci s A, B, nebo AB krevní skupinou.

V případě zvýšení hladiny F VIII však nejde o bezvýznamnou trombofilii. Dle Rosendaala⁽¹⁰⁾ je v populaci nalézá-

no u 11 % osob a u 25 % nemocných s žilní trombozou. Riziko vzniku žilní trombozy je zde zvýšeno asi 6×. Z klinického hlediska je pak důležité zjištění, pokud je u osob s konstitučně zvýšenou hladinou F VIII vysazena za dva roky po prodělané žilní tromboze antikoagulační léčba, došlo u 37 % nemocných k jejímu opakování⁽¹³⁾.

1.3.4. Žilní trombofilii vyvolává také primární zvýšení hladiny faktoru IX.

Dle LETS (Leiden Thrombophilia Study)⁽¹⁴⁾ jsou osoby, které mají hladinu F IX > 129 j./dl ohroženi 2–3× více žilním tromboembolizmem, než osoby s normální hladinou F IX (kolem 103 j./dl). Toto riziko je vyšší u žen a u starších osob. Při hladině F IX > 150 j./dl je již riziko žilního tromboembolismu 4,8× vyšší, než při normální hladině F IX. F IX není na rozdíl od F VIII reaktantem akutní fáze, takže jeho zvýšení nemůže být způsobeno zánětem a je podmíněno geneticky. Výskyt primárního zvýšení hladiny F IX (více než 129 j./dl) se odhaduje u 10 % populace.

1.3.5. Primární zvýšení hladiny inhibitoru aktivátoru plazminogenu PAI-1, je nalézáno u jedinců s polymorfismem genu pro PAI-1: 4G/4G. Předpokládá se však, že tento polymorfismus je spjat jen s vyšší incidencí tepenných trombóz⁽¹⁵⁾.

1.3.6. U osob s polymorfismem G 455 - A genu pro beta řetězec fibrinogenu je zjištěna vyšší hladina fibrinogenu⁽¹⁶⁾. Ta však může být spjata i s vyšším věkem sledovaných osob, nebo opět se zánětem. Fibrinogen je proteinem akutní fáze.

2. Další příčinou žilní trombofilie je nedostatek některého z přirozených inhibitorů koagulace, nebo porucha jeho funkce. Jedná se zejména o deficit těchto inhibitorů koagulace:

2.1. deficit antitrombinu (AT)

Dědičně podmíněný deficit antitrombinu byl popsán Egebergem již v roce 1965⁽¹⁷⁾. Nevyskytuje se často, jen u asi 0,02 % populace. U pacientů s hlubokou žilní trombozou je deficit AT nacházen asi v 1 % případů. Ten je však většinou spojen se závažným průběhem tromboembolické nemoci s častou embolizací do plicnice. Z tohoto hlediska je tedy nález deficitu AT u gravidních, nebo u žen, které užívají estrogeny buď ve formě antikoncepce nebo při hormonální substituci v klimakteriu, klinicky významný. O těchto hormonech se ví, že snižují hladinu antitrombinu samy o sobě a navíc trombofilii potencují i dalším způsobem (zvýšení F VII apod.)⁽⁵⁾.

Rozeznávají se dva typy:

- a) deficit antitrombinu I. typu – kdy je redukce hladiny antitrombinu prokázána při vyšetření funkce (s chromogenním substrátem), ale i antigenu antitrombinu (detekce s Elisa testy)
- b) deficit antitrombinu II. typu – kde je prokazován jen funkční defekt. Hladina antigenu antitrombinu je v normě. II. typ deficitu antitrombinu se pak dále dělí do tří podskupin – na tzv. RS typ s mutací antitrombinu, která vede k jeho dysfunkci v reaktivním místě (RS), HBS typ antitrombinu s mutací vedoucí k dysfunkci vazby s heparinem (HBS) a PE typ s mutací, která má pleiotropní efekt (PE).

Gen pro antitrombin je lokalizován na 1. chromozomu (q23-25), má sedm exonů a šest intronů. V oblasti čtvrtého intronu byly nalezeny dva polymorfizmy. U I. typu deficitu antitrombinu je nyní zjištěno 92 různých mutací (ve 12 % se jedná o delece v oblasti 5' konce)⁽¹⁸⁾.

Druhotný deficit antitrombinu je pak možné zjistit při dysfunkci jater a při nefrotickém syndromu. Jeho nedostatek je možné hradit koncentráty antitrombinu, které jsou komerčně vyráběné⁽¹⁹⁾.

2.2. Žilní trombofilii vyvolá také dědičný nedostatek inhibitoru koagulace proteinu C.

Ten se projevuje snížením koncentrace PC, nebo jeho dysfunkcí. Kongenitální deficit PC, spojený s žilním tromboembolizmem byl poprvé popsán Griffinem a spol. v r. 1981⁽²⁰⁾. K poklesu PC může docházet i druhotně, např. u septických stavů. Jeho dysfunkce se projeví i při antikoagulační léčbě s antagonisty vitamínu K. Ten podporuje karboxylaci glutamových zbytků v Gla části jeho molekuly. Mutací genu PC bylo popsáno asi 160. Některé mohou být i klinicky němé. U osob s deficitem PC je riziko žilní trombózy asi 10× vyšší, než u osob s normální hladinou PC. Incidence dědičného deficitu PC je v populaci asi u 0,2–0,4 % a 3 % nemocných s žilní trombózou. V počátku léčby dikumarolovanými antikoagulanciemi se deficit PC může projevit paradoxní žilní trombotizací, která je spojena s ischemickou nekrózou kůže (tzv. dikumarolová nekróza).

2.3. Další trombofilii v žilním systému způsobí deficit nebo dysfunkce dalšího inhibitoru koagulace – proteinu S (PS).

Kongenitální deficit PS byl poprvé popsán Schwarzem a spol.⁽²¹⁾ v roce 1984. Je nalézán u asi 1–5 % nemocných se žilní trombózou. Heterozygot s deficitem PS má pak 5–10× vyšší tendenci k žilní trombotisaci než jedinci s normální hladinou PS. PS se účastní inhibice koagulace jako neenzymatický kofaktor v systému aktivovaného PC (APC), kde zvyšuje jeho schopnost degradovat aktivované F V^a a F VIII^a. Inhibice F VIII^a s APC však vyžaduje nejen zapojení aktivovaného PS, ale i funkčnost FV, který zde de facto spolupůsobí jako kofaktor APC. Faktor V má tedy v hemostáze jak prokoagulační, tak i inhibiční funkci. PS však může inhibovat protrombinázu též sám o sobě, tj. mimo spolupůsobení s APC. Za normálních okolností se v plazmě 70 % PS vyskytuje ve vázané formě s bílkovinným nosičem C4 složky komplementu (C4BP). Deficit PS je možné dělit na tři různé subtypy – I. typ deficitu PS, který je charakterizován poklesem jak antigenu PS, tak jeho volné složky. II. typ deficitu PS, který je charakterizován jeho dysfunkcí, hladina antigenu PS je však normální. III. typ deficitu PS je spojen jen s nižší hladinou volného PS v krevní plazmě. Celková koncentrace volného i vázaného PS je však normální. Relativně často se vyskytuje varianta zvaná PS Heerlen (S460P), která je vyvolána mutací genu pro PS (PROS 1). Ta způsobí, že nedochází ke glykosylaci v místě 458 N-konce molekuly PS. Je řazena k III. typu deficiencie PS a lze ji detekovat speciálním Elisa testem. V populaci se vyskytuje u asi 0,5–0,8 % osob. Způsobí pokles hladiny volného PS, danou vyšší afinitou PS Heerlen k C4BP⁽²²⁾. Fyziologicky k poklesu inhibitoru koagulace PS (asi o 30 %) dochází v těhotenství, patrně vlivem těhotenských estrogenů.

2.4. Kongenitální deficit inhibitoru cesty tkáňového faktoru (TFPI) zatím popsán nebyl. Jsou však již objeveny dva polymorfizmy genu pro TFPI: T-287C a C-399T. Při průkazu T alely pak byla prokázána nižší schopnost (dysfunkce) endotelu uvolnit TFPI po stimulaci s nízkomolekulárním heparinem (enoxaparinem) a zvýšení hladiny fragmentů protrombinu F 1 + 2. Tento náález by tedy mohl svědčit o tom, že nositelé alely T mají sklon k trombofilii. U Evropanů jsou zjištěny tyto frekvence C-399T polymorfizmu: genotyp CC v 73 %, genotyp CT v 24 % a genotyp TT, kde se předpokládá nejvyšší riziko trombofilie, v 3 %⁽²³⁾.

2.5. K dalším mutacím inhibitorů koagulace lze přiřadit i mutace genu pro trombomodulin.

Bylo již objeveno několik mutací genu pro trombomodulin, ale jejich praktický význam je vzhledem k omezenému familiárnímu výskytu velmi malý. Polymorfismus trombomodulinu Ala 455 Val, který se vyskytuje nejčastěji, však se sklonem k žilnímu tromboembolizmu spojen není⁽²⁴⁾.

3. Vznik žilní trombózy podporuje i rezistence některých aktivovaných koagulačních faktorů vůči inhibičnímu účinku inhibitorů koagulace, nebo dysfunkce receptoru pro inhibitory koagulace na povrchu endotelu

3.1. Do této skupiny trombofilii lze řadit zejména dědičnou nebo získanou žilní trombofilii vyvolanou rezistencí F V^a vůči vlivu aktivovaného proteinu C (tzv. APC rezistence).

Dědičná APC rezistence je způsobena mutací genu pro faktor V, která se dle místa objevu nazývá Leidenská. Heterozygotní výskyt mutace Factor V Leiden se u nás vyskytuje u asi 5 % populace, homozygotů F V Leiden je jeden na 5 000 obyvatel⁽⁵⁾. Rezistence FV Leiden vůči APC je způsobena bodovou mutací v kodonu 506 (F5G1691A). Ta vyvolá při syntéze F V záměnu aminokyseliny argininu v pozici 506 za glycin (FV R506Q), která způsobí, že vytvořený F V Leiden je rezistentní vůči štěpení aktivovaným PC.

K trombofilii přispívá i to, že Leidenský F V není způsobit, na rozdíl od fyziologického F V, podílet se s PS na inaktivaci dalšího faktoru – aktivovaného F VIII^a.

APC rezistenci s menším klinickým dopadem způsobuje i bodová mutace v kodonu 306 (F5G1091C), která vyvolá pokles této kofaktorové aktivity ve faktoru V Cambridge (FV R306T).

APC rezistence však může být vyvolána i samotným snížením hladiny F V. U osob se sníženou hladinou F V a se současnou heterozygocí F V Leiden je tento stav označován jako „pseudohomozygotní APC rezistence“. K dalším genetickým mutacím F V patří také tzv. haplotyp HR₂. Je vyvolán polymorfismem A4070G v exonu 13 genu F V, který způsobí záměnu His (R1 alela) za Arg (R2 alela) v místě 1299 B domény. Tato záměna je odpovědná za snížení hladiny F V, kdy pokles k 20 % normálu způsobí mimo jiné i rezistenci na aktivovaný protein C. Defektní je zejména kofaktorová účast F V pro inhibici aktivovaného F VIIIa s aktivovaným proteínem C⁽²⁵⁾. V asijské populaci lze ještě detekovat mutace Arg 306 (se záměnou za glycin) anebo Arg 485 (se záměnou za lysin) F V, které jsou opět spojeny s trombofilii.

Syndrom APC rezistence se projevuje sklonem k žilním, méně často k arteriálním trombózám. U osob s Leidenskou mutací F V však k jejich spontánnímu vzniku většinou nedojde. Faktor V má totiž v procesu hemostázy, jak bylo uvedeno, dvě rozdílné funkce. V koagulační kaskádě působí buď prokoagulačně, pokud byl natráven trombinem nebo aktivovaným F X^a, anebo antikoagulačně, pokud byl natráven aktivovaným proteinem C. U nositelů FV: R 506Q (Leidenské) mutace sice vzniká až 7 × vyšší riziko hluboké žilní trombózy a 4–5 × větší riziko její rekurence, ale u osob s heterozygotní formou dochází k trombózám patrně jen tehdy, když se k tomuto defektu přidruží i další rizika. Těmi jsou například pooperační stav s nedokonalou profylaxií heparinem, léčba estrogeny, patologické těhotenství, obezita, anebo imobilizace aj.

Vzniklé žilní trombózy nejsou také většinou provázeny plicní embolií. Souvisí to s relativně nižším výskytem žilních trombóz v ileofemorální oblasti⁽²⁶⁾.

3.2. K selhání inhibitorů koagulace vede i mutace genu endoteliálního receptoru pro protein C (EPCR), která vyvolá jeho dysfunkci. EPCR se vyskytuje zejména na endotelu velkých cév. Jeho fyziologickou úlohou je lokalizovat PC, aby zde mohl být aktivován komplexem trombin-trombomodulin. Mutace genu EPCR způsobí, že tento receptor neváže PC a proto je s ním spojena i trombofilie v žilním systému⁽²⁷⁾.

4. Žilní trombofilie při dysfunkci nebo nedostatku některých koagulačních faktorů

4.1. Žilní trombofilie při dysfibrinogenemii

Kongenitální dysfibrinogenemie může být vyvolána mutacemi ve třech genech řetězce A α, B β a γ, které dohromady tvoří molekulu fibrinogenu. Na základě funkčních testů s trombinem je hladina fibrinogenu (např. dle Clausse) při dysfibrinogenemii snížena, ale koncentrace antigenu fibrinogenu, nebo tepelný test na průkaz fibrinogenu jsou v normě. Zatím bylo nalezeno 260 různých druhů kongenitální dysfibrinogenemie a u 100 z nich byla zjištěna mutace DNA, přepisu mRNA, nebo syntézy proteinu.

Z nich je asi 55 % asymptomatických, 25 % vyvolává u svých nositelů krvácení a u 20 % byl naopak zjištěn sklon k trombotisaci^(28, 29).

4.2. Nestabilitu fibrinové sraženiny, spojenou s vyšším rizikem embolizace, může způsobit i dysfunkce F XIII

Fibrin stabilizující F XIII je transglutamináza o velikosti 320 kD, skládající se z tetrameru dvou jednotek A a dvou jednotek B. Zatím bylo popsáno asi 20 mutací genu pro jednotku A spojených s deficitem faktoru XIII, kde byl zjištěn sklon ke krvácení. S žilní trombofilií je však spojen jen polymorfismus F XIII Val – 34Val. Jiný polymorfismus F XIII Val 34 Leu vyvolává naopak protekci proti žilní trombóze. Souvisí však také s nestabilitou žilního trombu a s jeho snadnou embolizací⁽³⁰⁾.

4.3. Deficit, nebo dysfunkce Hagemanova F XII.

Je známo, že Hagemannův faktor XII se v koagulaci in vivo prakticky vůbec neuplatňuje. Proto jeho deficit není ani

provázen krvácením. Může však být spojen s žilním tromboembolizmem (31). Hagemannův faktor je totiž důležitý pro aktivaci fibrinolýzy tzv. vnitřní cestou, tj. pomocí kallikreinu a jeho nedostatek vede k snížení fibrinolýzy.

5. Bez většího klinického dopadu jsou ojediněle se vyskytující kongenitální poruchy funkce fibrinolytického systému (deficit plazminogenu, nebo porucha jeho funkce, či deficit tkáňového aktivátoru plazminogenu t-PA)

Zatím je nejvíce prozkoumán polymorfismus inzerce, delece Alu v intronu mezi 8.–9. exonem genu pro t-PA. Ten však bazální sekreci t-PA z endotelu neovlivňuje⁽³²⁾.

6. Z metabolických poruch je s žilní, ale i s arteriální trombofilií spojena hyperhomocysteinemie (koncentrace homocysteinu je vyšší než 18,5 μmol/L) a zvýšení lipoproteinu (a)

6.1. Hyperhomocysteinemie je primárně vyvolána mutací genu pro cystathion β-syntázu, nebo genu pro reduktázu methylen tetrahydrofolátu (MTHFR). Dysfunkce obou enzymů pak vede k blokování jak metabolismu methioninu, tak i homocysteinu. Odhaduje, že mutace MTHFR se záměnou cytosinu 677 thyminem (C 677T) se v homozygotní formě vyskytuje až u 8–10 % osob⁽³³⁾. Druhotné zvýšení hladiny patologické bílkoviny homocysteinu v krvi je také možno pozorovat u osob s chronickým deficitem vitamínu B₁₂, kyseliny listové nebo vitamínu B₆ (pyridoxinu), způsobené jejich nedostatkem v potravě. Hyperhomocysteinemie je dále jako jeden z uremických toxinů nalézána u osob s renální insuficiencí⁽³⁴⁾. Homocystein zvyšuje uvolnění tkáňového faktoru⁽³⁵⁾, produkci inhibitoru fibrinolýzy PAI-1⁽³⁶⁾ a aktivitu F XII a F V⁽³⁷⁾.

6.2. Zvýšení lipoproteinu (a), dále Lp(a), je spojeno jak s protifibrinolytickým tak i proaterogenním vlivem. Lp(a) se totiž skládá ze dvou složek – bílkovinného nosiče apolipoproteinu (a) a lipoproteinu o nízké hustotě LDL. Inhibice fibrinolýzy souvisí s inhibicí vazby plazminogenu na povrch endotelu, kde je vytěsněn apolipoproteinem (a), který má podobné složení molekuly. Nadbytek Lp (a) tak zabraňuje potřebné tvorbě plazminu. Jeho další protrombotický efekt zde spočívá i v inhibici aktivity TFPI (inhibitoru cesty tkáňového faktoru).

7. Autoimunní trombofilie – antifosfolipidový syndrom

Vyvolávají jej autoprotilátky proti negativně nabitým fosfolipidům, které jsou uloženy na povrchu většiny buněk v lidském organismu. Protože u nemocných se systémovým lupus erythematoses (SLE) na jejich přítomnost upozorní prodloužení testu APTT, nazývají se také jako „lupus anti-koagulans“ (LA). LA jsou tvořeny buď imunoglobuliny třídy IgG, nebo IgM, či jejich kombinací (IgG + IgM). LA se vyskytují u pacientů se SLE (asi u 30 % nemocných), nebo s jinými systémovými chorobami pojiva, zejména u žen. Často se také nachází u pacientů s maligními lymfomy a mohou se objevit (většinou jen laboratorně) i v průběhu některých infekčních chorob.

Klinické projevy antifosfolipidového syndromu jsou značně heterogenní. Většinou jde o trombotické příhody (asi

v 60 % jde o žilní trombózy, ve 30 % jde o cévní mozkové příhody a v 10 % o jiné arteriální trombózy⁽³⁸⁾.

Dědičný sklon k arteriální trombóze

V etiopatogenezi žilní trombózy se na trombofilii podílí dědičný deficit antitrombinu, proteinu C, proteinu S, či výskyt variantního genu pro protrombin (G 20210 A). Na vznik arteriálních trombů, zejména v koronárních cévách, však většinou žádný vliv nemají. Je to dáno výše uvedenými rozdíly při vzniku trombu v tepenném a žilním řečišti. Výjimku z toho tvoří dědičné trombofilie vyvolané mutacemi genů fibrinogenu a hyperhomocysteinemie. Další výjimku tvoří dědičná trombofilie s mutací F V (Leiden), která v některých případech podporuje sklon k trombotizaci i v arteriálním řečišti. Je spjata s vyšším výskytem akutní mozkové příhody v dětském věku⁽³⁹⁾ nebo s infarktem myokardu u mladších osob⁽⁴⁰⁾.

Mimo to však byly ve spojitosti s vyšším výskytem arteriálních trombóz zjištěny i některé další polymorfizmy, jejichž klinický význam je nyní předmětem intenzivního výzkumu. Přitom však byly na druhé straně nalezeny i některé polymorfizmy, které naopak mají protektivní efekt a působí vlastně proti aterotrombogenezi.

Podáváme jejich stručný výčet:

1. Mutace genu pro trombomodulin 127 G-A Ala 25 Thr. Trombomodulin je proteoglykan, který se vyskytuje na povrchu endotelu. Inhibuje zde volný trombin. Ten pak není schopen další aktivace destiček, či štěpení fibrinogenu. Afunkční trombomodulin, produkován při výše uvedené mutaci, tyto schopnosti ztrácí. Postižení jedinci tak mají 7 × vyšší relativní riziko vzniku arteriální trombózy⁽⁴¹⁾.

2. Při vyšetření polymorfizmu promotoru genu pro PAI-1 (inhibitoru aktivátoru plazminogenu) bylo zjištěno, že u osob, které mají alelu 4G, je až dvojnásobně vyšší relativní riziko vzniku infarktu myokardu⁽⁴²⁾.

3. Polymorfizmus destičkového glykoproteinu Ib alfa s genotypem C/B je spojen s vyšší incidencí akutních srdečních infarktů nebo mozkových mrtvic⁽⁴³⁾.

4. Při určení polymorfizmu genu pro destičkový glykoprotein Ia/IIa (receptor pro kolagen) bylo u homozygotů s výskytem alely 807T zjištěno 3 × vyšší poměrné riziko vzniku infarktu myokardu. V kombinaci s kouřením se toto riziko zvyšuje až 25 ×⁽⁴⁴⁾.

5. Polymorfizmus genu pro destičkový receptor GP IIIa se záměnou leucinu za prolin v pozici 1565 vyvolá produkci varianty GP IIIa, která je známá pod označením alloantigen PLA₂. Ta se vyskytuje více u osob s infarktem myokardu. Zvýšená incidence PLA₂ je nalézána zejména mezi nemocnými po akutním infarktu myokardu, kteří jsou starší 60ti let⁽⁴⁵⁾. Je nalézána také u osob, které neodpovídají na léčbu acetylsalicylovou kyselinou, jedná se o tzv. aspirinovou rezistenci.

6. Se zvýšením hladiny fibrinogenu v plazmě je spojen polymorfizmus beta fibrinogenu G-455 A. Jedinci s adeninem v posici 455 mají vyšší koncentraci fibrinogenu, než jedinci, kteří v této pozici mají guanin⁽⁴⁶⁾. O fibrinogenu je známo, že je nezávislým „rizikovým faktorem“ ICHS⁽⁴⁷⁾.

7. Při vyšetření polymorfizmu genu F VII byla u jedinců s mutací A2A2 nebo QQ zjištěna nižší hladina F VII (až

o 66 %, resp. 72 %) a s tím spojená i nižší incidence infarktu myokardu⁽⁴⁸⁾. Vyhledávají se však ještě další polymorfizmy, protože zvýšení hladiny F VII (> 110 % normálu) je naopak považováno za nezávislý „rizikový faktor“ ICHS⁽⁴⁹⁾.

8. U nemocných s koronární aterosklerózou byl také nalezen častější výskyt záměny adeninu za cytosin v pozici 561 genu pro E-selektin, vedoucí k modifikaci vytvářeného proteinu se záměnou serinu za arginin v pozici 128⁽⁵⁰⁾.

9. S časným výskytem koronární aterosklerózy je patrně spjat i polymorfizmus genu pro P-selektin. Byly zde zatím nalezeny čtyři suspektní mutace: Ser 290 Asn, Asn 562 Asp, Leu 599 Val a Thr 715 Pro. Výskyt alely 715 Pro však naopak před infarktem myokardu chrání⁽⁵¹⁾.

10. O vztahu aterosklerózy, respektive zánětlivé reakci a arteriální trombofilii bylo pojednáno již výše. Proto nepřekvapuje nález zvýšené incidence infarktu myokardu a aterosklerózy u osob s polymorfizmy genu zánětlivých cytokinů – IL 6 (174 C/C), TNF – alfa (308 A/A) a CD 14 (260 C/C)⁽⁵²⁾.

11. S protekcí před infarktem myokardu však naopak souvisí zvýšená tvorba annexinu V, spojená s polymorfizmem genu pro annexin V, který je spojen s translační poruchou (v tzv. Kozakově oblasti) se sekvencí (-1C > T)⁽⁵³⁾.

Závěr

Uvedený výčet genetických mutací spojených s žilní a arteriální trombofilii nebo s její protekcí není ještě konečný a v blízké budoucnosti se určitě rozšíří o další⁽⁵⁴⁾. Tím by byly již dány předpoklady k aktivní depistáži jedinců se sklonem k trombóze. Již nyní je však možné u jedinců s výskytem tromboembolie v rodinné či osobní anamnéze zjistit příčinu trombofilie, zejména při rekurenci trombózy nebo před očekávanou zátěží (náročná operace, dlouhodobá imobilizace, před léčbou s estrogény apod. a ordinovat vyšetření hemokoagulace). Běžně je vyžadováno stanovení hladiny antitrombinu, proteinů C a S, fibrinogenu, dále mutací FV LEIDEN a protrombinu, popřípadě MTHFR a stanovení lupusového antikoagulans. V negativním případě je ještě možné žádat stanovení koncentrace faktorů VIII, IX, XI nebo XII.

Na druhé straně je však třeba varovat před předčasným optimismem⁽⁵⁵⁾. Skrining, zaměřený na detekci jedné mutace, bez korelace s klinickým stavem, popřípadě s dalšími konfirmačními koagulačními a jinými testy, může být naopak kontraproduktivní. Pozitivní nález v mnoha případech svého nositele zbytečně stresuje, protože vůbec nemusí znamenat, že onemocní. Detekovaný „handicap“ může být u něho balancován celou řadou jiných protektivních mechanismů, které jedno vyšetření DNA nezachytí. Proto vyhodnocení molekulárně genetických nálezů zaměřených na detekci trombofilie patří vždy do rukou klinika, nejlépe internisty, který má široké znalosti z oboru hemostázy, včetně detekce koagulopatií a poruch funkce krevních destiček. Bez toho by tyto testy měly zatím sloužit jen k výzkumu.

Je proto nutné varovat před očekávaným rozvojem komerčně zaměřených laboratoří molekulární biologie, kde tato vyšetření většinou hodnotí a interpretují nelékaři. Realitou zatím zůstává, že na základě takových jednostranných vyšetření nelze činit žádná rozhodnutí, které se týkají rizika vzniku, nebo rekurence žilní, nebo arteriální trombózy. Například i když je

třeba obecně akceptován fakt, že incidence žilních trombóz stoupá spolu s věkem⁽⁵⁶⁾, neplatí to již pro starší osoby s Leidskou mutací FV. V nedávno publikované studii E. Ogera a spolupracovníků⁽⁵⁷⁾ bylo zjištěné relativní riziko (odds ratio) žilního tromboembolismu při současném nálezu APC rezistence a Leidské mutace FV vyhodnoceno indexem 3,2, pokud se jednalo o osoby mladší 70 let (n 307). Ale u starších, nad 70 let (n 314), to již bylo jen 0,8. Paradoxně tedy uvedená „trombofilie“, již pro takto staré osoby žádné riziko neznamena.

S rozšířením a automatizací nových genetických testů a poklesem jejich cen se však na druhé straně již v některých výzkumných centrech pomalu vytváří vědecky podložená biologická genová mapa, která by v budoucnosti mohla objasnit některé další dědičné podmíněné vztahy⁽⁵⁸⁾, které mnohdy za

stavu našeho dnešního vědění nejsou vůbec předpokládány. Různé hereditárně podmíněné poruchy metabolismu, imunity, endokrinního systému a biologických pochodů probíhající v buňkách, včetně funkce jejich receptorů apod., se totiž mohou přímo i nepřímo podílet i na vzniku trombofilie, zejména v oblasti arteriální trombogeneze a kardiovaskulárních chorob. Tím by pak byl učiněn první krok k depistáži ohroženého jedince již po jeho narození, zejména pokud to ještě bude podpořeno rozšířením mozaikových vyšetření genetických mutací s tzv. bio-čipy, které by mohlo být i mnohem lacinejší, než stávající vyšetření DNA pomocí PCR reakcí.

Uvedená přehledná studie byla provedena v rámci řešení výzkumného záměru MZ ČR č. 64 165.

Literatura.

- Bertina RM. Genetic approach to thrombophilia. State of Art, The International Society on Thrombosis and Haemostasis XVIIIth Congress-Paris 2001 Thromb Haemost 2001; 86: 92-103.
- Yee KO, Ikari Y, Schwartz SM. An update of the Grützbag Hypothesis: the role of thrombosis and coagulation in atherosclerotic progression. Thromb Haemost 2001; 85: 207-217.
- Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. Nature 1993; 362: 801-809.
- Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, et al. Hemostasis and thrombosis. Basic principles & clinical practice. 4. vydání, Philadelphia, Lippincott Williams and Wilkins 2001: 1578s.
- Carlos TM, Harlan JM. Review: Leukocyte-endothelial adhesion molecules. Blood 1994; 84: 2068-2101.
- Gabay C, Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic response to inflammation. N Engl J Med 1999; 340: 448-454.
- van Aken BE, den Heijer M, Bos GMJ, et al. Recurrent venous thrombosis and markers of inflammation. Thromb Haemost 2000; 83: 536-539.
- Cazzola M, Skoda RC. Translation pathophysiology: a novel molecular mechanism of human disease. Blood 2000; 95: 3280-3288.
- Poort SR, Rosendaal FR, Reitsma PH, et al. A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. Blood 1996; 88: 3698-3703.
- Rosendaal FR. Venous thrombosis: a multicausal disease. Lancet 1999; 353: 1167-1173.
- Nordström M, Lindblad B, Berquist D, et al. A prospective study of the incidence of deep vein thrombosis within a defined urban population. J Intern Med 1992; 232: 155-160.
- Meijers JCM, Tekelenburg WLH, Bouma BN, et al. High levels of coagulation factor XI as a risk factor for venous thrombosis. N Engl J Med 2000; 342: 696-701.
- Kyrle PA, Minar E, Hirschl M, et al. High plasma levels of factor VIII and the risk of recurrent venous thromboembolism. N Engl J Med 2000; 243: 457-462.
- van Hylckama V, Lieg A, van der Linden IK, et al. High levels of factor IX increase the risk of venous thrombosis. Blood 2000; 95: 3678-3682.
- Canavy I, Henry M, Morange PE, et al. Genetic polymorphism and coronary artery disease in the south of France. Thromb Haemost 2000; 83: 212-216.
- Tybaerg-Hansen A, Agerholm-Larsen B, Humphries SE, et al. A common mutation (G455-A) in the b-fibrinogen promoter is an independent predictor of plasma fibrinogen, but not of ischemic heart disease. A study of 9,127 individuals based on the Copenhagen City Heart Study. J Clin Invest 1997; 99: 3034-3038.
- Egeberg O. Inherited antithrombin deficiency causing thrombophilia. Thromb Diath Haemorrh 1965; 13: 516-530.
- Beauchamp NJ, Makris M, Preston FE, et al. Major structural defects in the antithrombin gene in four families with type I antithrombin deficiency. Partial/complete deletions and rearrangement of the antithrombin gene. Thromb Haemost 2000; 83: 715-721.
- Kvasnička J, Ehler Z, Krška Z, et al. Trombofilie v klinické praxi. Anestez. a neod. péče 1995; 4: 129-131.
- Griffin JH, Evatt B, Zimmerman TS, et al. Deficiency of protein C in congenital thrombotic disease. J Clin Invest 1981; 68: 1370-1373.
- Schwartz HP, Fisher M, Hopmeier P, et al. Plasma protein S deficiency in familial thrombotic disease. Blood 1984; 64: 1297-1300.
- Giri TK, Yamazaki T, Sala N, et al. Deficient APC-cofactor activity of protein S Heerlen in degradation of factor Va Leiden: a possible mechanism of synergism between thrombophilic risk factors. Blood 2000; 96: 523-531.
- Moatti D, Haidar B, Fumeron F, et al. A new T-287C polymorphism in the 5'-regulatory region of the tissue factor pathway inhibitor gene. Thromb Haemost 2000; 84: 244-249.
- Lane DA, Grant PJ. Role of hemostatic gene polymorphisms in venous and arterial thrombotic disease. Blood 2000; 95: 1517-1532.
- Luddington R, Jackson A, Pannervelam S, et al. The Factor V R2 allele: risk of venous thromboembolism, Factor V levels and resistance to activated Protein C. Thromb Haemost 2000; 83: 204-208.
- Björgell O, Nilsson PE, Nilsson JA, et al. Location and extent of deep vein thrombosis in patients with and without FV: R 506Q mutation. Thromb Haemost 2000; 83: 648-651.
- Taylor FB, Peer GT, Lockhart MS, et al. Endothelial cell protein C receptor plays an important role in protein C activation in vivo. Blood 2001; 97: 1685-1688.
- Marchi R, Lundberg U, Grimbergen J, et al. Fibrinogen Caracas V, an abnormal fibrinogen with an A a 532 Ser® Cys substitution associated with thrombosis. Thromb Haemost 2000; 84: 263-270.
- Tarumi T, Martinic DM, Thomas A, et al. Familial thrombophilia associated with fibrinogen Paris V: Dusard syndrome. Blood 2000; 96: 1191-1193.
- Catto AJ, Kohler HP, Coore J, et al. Association of common polymorphism in the factor XIII gene with venous thrombosis. Blood 1999; 93: 906-911.
- Bauer KA. The hypercoagulable states. In: Disorders of hemostasis. Ratnoff OD, Forbes ChD. eds, Saunders Co, Philadelphia 1996: 228-258.
- van den Eijnden-Schrauwen Y, Lakenberg N, Emeiss JJ, et al. Alu-repeat polymorphism in the tissue-type plasminogen activator(tPA) gene does not affect basal endothelial t-PA synthesis (letter). Thromb Haemost 1995; 74: 1202.
- Frosst P, Blom HJ, Milos R, et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. Nat Genet 1995; 10: 111-118.
- Morris ST, Jardine AG. The vascular endothelium in chronic renal failure. J. Nephrol 2000; 13: 96-105.
- Khajuria A, Houston DS. Induction of monocyte tissue factor expression by homocysteine: a possible mechanism for thrombosis. Blood 2000; 96: 966-972.
- Midorikawa S, Sanada H, Hashimoto S, et al. Enhancement by homocysteine of plasminogen activator inhibitor-1 gene expression and secretion from vascular endothelial and smooth muscle cells. Biochem Biophys Res Commun 2000; 272: 182-185.
- Dardik R, Varon D, Tamarin I, et al. Homocysteine and oxidized low density lipoprotein enhance platelet adhesion to endothelial cells under flow condition: distinct mechanisms of thrombotic modulation. Thromb Haemost 2000; 83: 338-344.
- Greaves M. Antiphospholipid antibodies and thrombosis. Lancet 1999; 3: 1348-1353.
- Zenz W, Bodo Z, Plothe J, et al. Factor V Leiden and prothrombin gene G 20210 A variant in children with ischemic stroke. Thromb Haemost 1998; 80: 763-766.
- Siscovick DS, Schwartz SM, Rosendaal FR, et al. Thrombosis in the young: effect of atherosclerotic risk factors on the risk of myocardial infarction associated with prothrombotic factors. Thromb Haemost 1997; 78: 7-12.
- Doggen CJ, Kunz G, Rosendaal FR, et al. A mutation in the thrombomodulin gene 127 G to A coding for Ala25Thr, and the risk of myocardial infarction in men. Thromb Haemost 1998; 80: 743-748.
- Moatti D, Haidar B, Fumeron F, et al. A new T-287C polymorphism in the 5'-regulatory region of the tissue factor pathway inhibitor gene. Thromb Haemost 2000; 84: 244-249.
- Gonzalez-Conejero R, Lozano ML, Rivera J, et al. Polymorphisms of platelet membrane glycoprotein Ib alpha associated with arterial thrombotic disease. Blood 1998; 82: 2771-2776.
- Moshfegh K, Wullemin WA, Redondo M, et al. Association of two silent polymorphisms of platelet glycoprotein Ia/IIa receptor with risk of myocardial infarction. Lancet 353; 1999: 351-354.
- Garcia-Ribes M, Gonzales-Lamuno D, Hernandez-Estefania R, et al. Polymorphism of the platelet glycoprotein IIIa gene in patients with coronary stenosis. Thromb Haemost 1998; 79: 1126-1129.

46. Brown ET, Fuller GM. Detection of a complex that associates with the B beta Fibrinogen G - 455 A polymorphism. *Blood* 1998; 92: 3286-3293.
47. Ernst E, Koenig W, Lowe CDO, et al. Fibrinogen: „new“ cardiovascular risk factor. *Wien Blackwell* 1992: 480.
48. Girelli D, Russo C, Ferraresi P, et al. Polymorphisms in the factor VII gene and the risk of myocardial infarction in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 2000; 43: 774-780.
49. Redondo M, Watzke HH, Stucki B, et al. Coagulation factors II, V, VII, and X, prothrombin gene 20210 G® A transition, and factor V Leiden in coronary artery disease. *Arter Thromb Vascular Biol* 1999; 19: 1020-1025.
50. Wenzel K, Felis S, Kleber FS, et al. E-selectin polymorphism and atherosclerosis: an association study. *Hum Mol Genet* 1994; 3: 1935-1937.
51. Herrmann SM, Ricard S, Nicaud V, et al. P-selectin gene is highly polymorphic: reduced frequency of the Pro 715 allele carriers in patients with myocardial infarction. *Hum Mol Genet* 1998; 7: 1277-1284.
52. Elghannam H, Tavackoli S, Ferlic L, et al. A prospective study of genetic markers of susceptibility to infection and inflammation, and the severity, progression, and regression of coronary atherosclerosis and its response to therapy. *J Mol Med* 2000; 78: 562-568.
53. González-Conejero R, Corral J, Roldán V, et al. A common polymorphism in the annexin V Kozak sequence (-1C > T) increases translation efficiency and plasma levels of annexin V, and decreases the risk of myocardial infarction in young patients. *Blood* 2002; 100: 2081-2086.
54. Ridker PM, Stampfer MJ. Assessment of genetic markers for coronary thrombosis: promise and precaution. *Lancet* 1999; 353: 687-688.
55. British Committee for standards in Haematology. Investigation and management of heritable thrombophilia. *Br J Haematol* 2001; 114: 512-528.
56. Oger E, et EPI-GETBO Study Group. Incidence of venous thromboembolism: A community-based study in western France. *Thromb Haemost* 2000; 83: 57-660.
57. Oger E, Lacut K, Le Gal G, et al. Is APC resistance a risk factor for venous thromboembolism in patients over 70 years? *Thromb Haemost* 2002; s.587-591.
58. Stoll M, Cowey AW jr, Tonellato PJ, et al. A genomic - systems biology map of cardiovascular function. *Science* 2001; 294: 1723-1726.

*prof. MUDr. Jan Kvasnička, DrSc.
Všeobecná fakultní nemocnice v Praze
U nemocnice 1, 128 08 Praha 2
e-mail: kvasnic@okhyfn.anet.cz*