

Hereditární trombofilie – jeden z modelů molekulární medicíny

Raušová E.¹, Hadačová I.², Macek M.¹

¹Ústav biologie a lékařské genetiky, Molekulárně genetická laboratoř Centra cystické fibrózy, 2. LF UK a FN v Motole, Praha

²Oddělení klinické hematologie 2. LF UK a FN v Motole, Praha

SOUHRN

Trombotické komplikace jsou multifaktoriální povahy a na jejich vzniku se podílejí jak dědičné, tak získané rizikové faktory. Nyní jsou již známy mnohé genetické abnormality, které se podílejí na zvýšeném riziku trombofilie. Jejich kombinace – přítomnost více než jednoho rizikového faktoru – zvyšují riziko ještě významněji. Proces hemostázy vyžaduje rovnovážný stav mezi prokoagulačními a antikoagulačními faktory. Prvními popsány genetickými protrombotickými rizikovými faktory byly deficity přirozeně se vyskytujících antikoagulačních proteinů, antitrombinu III, proteinu C a proteinu S, které však patří mezi vzácnější rizikové faktory, s výraznou genetickou heterogenitou. V současné době se pozornost obrací spíše k relativně často se vyskytujícím polymorfismům, jako jsou faktor V-Leiden a protrombinová mutace FII G20210A, které výrazně ovlivňují riziko trombózy. Hemostatický systém se nyní intenzivně studuje a jsou popisovány další polymorfismy. Současnou výzvou je proto „translace“ výzkumných poznatků ku prospěchu pacientů s trombotickými komplikacemi adekvátním využitím těchto dat v klinické praxi.

Klíčová slova: hereditární trombofilie, mutace FV-Leiden, mutace FII G20210A, protein C, protein S, antitrombin III.

SUMMARY

Raušová E., Hadačová I., Macek M.: Hereditary Thrombophilia: One of the Models of Molecular Medicine

Thrombotic complications are multifactorial disorders, with both hereditary and acquired risk factors. It is now clear that there are many genetic abnormalities that have an impact on increased risk of thrombophilia, and the cumulative presence of more than 1 abnormality further increases the risk of thrombosis. In hemostasis, there is a balance between procoagulant factors and natural anticoagulant proteins. The first genetic thrombotic disorders described were deficiencies of the natural anticoagulants, such as antithrombin, protein C, and protein S, but these abnormalities are rare, and are caused by many different mutations. More recently, single alleles that are relatively common in the general population have been described in procoagulant factors, such as factor V-Leiden and prothrombin mutation FII G20210A have an impact on increased risk for venous thrombosis. As more scientific scrutiny has been focused on the hemostatic system, further polymorphisms have been described. Thus, the current challenge is to transform this knowledge into the benefit for thrombophilic patients.

Key words: hereditary thrombophilia, mutation FV-Leiden, mutation FII G20210A, protein S, protein C, antithrombin III.

Úvod

V klinické medicíně 20. století bylo genetické testování využíváno dosud spíše sporadicky, a to převážně pro diagnostiku monogenních chorob. Nynější rychlý rozvoj vědeckého poznání – v návaznosti na ohlášení dokončení projektu sekvenace lidského genomu konsorciem Human Genome Project v roce 2000 a následný nástup tzv. postgenomické medicíny – umožní lékařům všech oborů využít tyto poznatky v každodenní praxi (1).

Hereditární trombofilie – vrozené rizikové faktory mají podíl na vzniku trombózy ve venózním nízkotlakém řečišti s následnou trombembolickou chorobou. Některé z nich mají souvislost se vznikem trombotických komplikací v arteriálním systému a se vznikem těhotenských komplikací – opakovaných spontánních potratů ve 2. trimestru gravidity, porodů mrtvých plodů bez jiné vyvolávající příčiny, těžké intrauterinní růstové retardace plodu, preeklampsie a abrupce placenty.

Získané rizikové faktory (tab. 1) se podílejí na vzniku trombofilních komplikací stejnou měrou jako hereditární (tab. 2). Trombofilie tak vytváří vhodný model multifaktoriální patogeneze chorob cévního systému. Cílem

tohoto přehledného článku je proto poskytnout stručný souhrn informací o hereditární trombofilii lékařům a jiným odborným pracovníkům ve zdravotnictví.

Table 1. Acquired risk factors

Antiphospholipid syndrome, Lupus anticoagulant
Chronic systemic inflammatory disorders
Nephrotic syndrome
TTP, PNH
Sepsis, DIC
Trauma
Surgery
Central venous line
Pregnancy
Oral contraceptives
Hormone therapy
Malignancy
Age
Obesity
Hyperhomocysteinemia

Used abbreviations: TTP – thrombotic thrombocytopenic purpura, PNH – paroxysmal nocturnal haemoglobinuria, DIC – disseminated intravascular coagulation.

Table 2. Hereditary risk factors

Polymorphism/mutation	Phenotype	Association with venous thrombosis	Association with arterial thrombosis
Coagulation and anticoagulation proteins			
Factor V Leiden: 1691G → A(Arg506Gln)*	APC resistance	risk factor	possible
Factor V Cambridge: Arg 306Thr	APC resistance	insignificant	insignificant
Factor V Hong Kong: Arg306Gly	APC resistance	insignificant	insignificant
Factor V HR2 haplotype	APC resistance	insignificant	insignificant
Thrombomodulin 1418C → T(Ala455Val)	proliferation	varicose transformation	possible
Thrombomodulin 33G → A	in association with Ala455Val		
EPCR 23 bp insertion in exon 3	loss of the function	insignificant	insignificant
Mutation in the gene for protein C*	level/func. PC	risk factor	insignificant
Mutation in the gene for protein S*	level/func. PS	risk factor	insignificant
Mutation in the gene for ATIII*	level/func. ATIII	risk factor	insignificant
Prothrombin 20210G → A*	elevated FII	risk factor	possible
Fibrinogen-148C → T in the Bβ promoter	elevated fibrinogen	insignificant	insignificant
Fibrinogen 455G → A in the Bβ	elevated fibrinogen	insignificant	insignificant
Factor VII Arg353Gln	low FVII	insignificant	protective
Factor VII H7H7	low FVII	insignificant	protective
Factor XIII A subunit Val34Leu	enhanced activity	protective	protective
Fibrinolysis			
PAI-1 4G/5G del/ins	elevated PAI-1	possible	possible
Plasminogen Ala600Thr	reduced activity	unknown	unknown
Plasminogen, Ser572Pro	reduced level	unknown	unknown
TPA-7351C/T	elevated TPA	unknown	possible
TAFI 1542C → G; 505G → A	low TAFI	insignificant	possible
Metabolism of homocysteine			
Cystathionine beta-synthase 833C ≥ T	homocysteinemia	insignificant	insignificant
Cystathionine beta-synthase ins 68 bp	homocysteinemia	insignificant	insignificant
MTHFR 677C → T	homocysteinemia	insignificant	insignificant
MTHFR 1298A → C	homocysteinemia	insignificant	insignificant
Platelet surface antigens			
GP III Leu 33Pro	enhanced activation	unknown	unknown
GP Iba VNTR	unknown	unknown	unknown
GP Iba 3550C → T	unknown	unknown	unknown
GP Ia/Ia α2 1498A → G	elevated antigen	unknown	unknown
Thrombin receptor PAR-1 5061 → D	unknown	protective	unknown

Used abbreviations: G – guanine, A – adenine, C – cytosine, T – thymine, Arg – arginine, Gln – glutamine, Thr – threonine, Gly – glycine, Ala – alanine, Val – valine, APC – activated protein C, EPCR – endothelial cell protein C receptor, FII – factor II, prothrombin, FXIII – factor FXIII, FVII – factor FVII, homocysteine, VNTR – variable nucleotide tandem repeat, PAI-1 – Plasminogen-activator inhibitor-1, TPA – Tissue-Type plasminogen activator, TAFI – thrombin activatable fibrinolysis inhibitor, MTHFR – methylenetetrahydrofolate reductase, GP – glycoprotein, PAR-1 – protease-activated receptor-1, func. – function.

*Important risk factors.

Risk factors with unknown or small importance.

Fyziologie hemostázy

Při porušení cévní stěny vzniká během několika minut primární destičková zátka. Tato zátka je křehká a rozpustí se, pokud není zpevněna fibrinovou sítí. Normální tvorba destičkové zátky je závislá na dostatečném počtu a funkci krevních destiček. Koagulační systém je zodpovědný za tvorbu fibrinové sítě, která stabilizuje destičkovou zátku a přemění ji na pevné koagulum. Při poškození cévní stěny přichází krev do kontaktu s tkáňovým faktorem (TF). Faktor VII (FVII) se

váže na TF a tím se aktivuje. Komplex FVII-TF aktivuje F IX a X. Tato cesta se nazývá zevní koagulační systém. Vnitřní koagulační systém je pro hemostázu *in vivo* méně důležitý. Tato cesta je zahájena kontaktem s cizím povrchem, což vede k aktivaci FXII. FXII aktivuje F XI a ten dále FIX. Další fáze koagulace je pro obě cesty společná. FIX a FX přemění FII (protrombin) na jeho aktivní formu trombin. Trombin aktivuje zpětně FXI a současně FV a FVIII, ty jsou pak akcelerátory FIX a FX. Tato fáze vede ke vzniku dostatečného množství trombinu, který je odpovědný za přeměnu fibrino-

genu na fibrin. Definitivní fibrinové koagulum pak vzniká působením FXIII, ten je rovněž aktivován trombinem. K aktivaci faktorů II, VII, IX a X dochází na povrchu destiček za přítomnosti Ca^{2+} iontů a tím je koagulační proces situován právě do místa poranění. Trombin je klíčový hemostatický protein. Přeměňuje fibrinogen na fibrin, aktivuje koagulační faktory a významně se podílí na aktivaci destiček.

Na povrchu endotelu se trombin váže na trombo-modulin, čímž se účastní aktivace koagulačního inhibitoru – proteinu C (2).

Současně s aktivací koagulačního systému se aktivuje inhibiční systém. Antitrombin je nejdůležitější koagulační inhibitor, jeho aktivita je zaměřena proti aktivovaným faktorům X, trombinu a také F XII, XI a IX. Reakce je urychlována v přítomnosti heparinu. Dalšími důležitými inhibitory jsou protein C a protein S. Protein C je aktivován komplexem trombin-trombomodulin na povrchu endotelu a inhibuje faktory Va a VIII, protein S působí jako kofaktor proteinu C. Inhibitor zevní cesty koagulace (extrinsic pathway inhibitor – EPI) vytváří komplex s FX, který pak efektivně inhibuje komplex TF-FVII a tím brání aktivaci koagulace. Fibrinolytický systém štěpí vzniklé fibrinové koagulum za vzniku fibrin degradačních produktů. Aktivátory fibrinolýzy přeměňují neaktivní plazminogen na aktivní plazmin. Těto aktivaci brání inhibitory fibrinolýzy. K fibrinolytickým aktivátorům patří tkáňový aktivátor plazminogenu (t-PA) a urokináza (u-PA). Pro inhibici fibrinolýzy jsou důležité α -2-antiplazmin, tkáňové inhibitory aktivátoru plazminogenu (PAI-1, PAI-2) a trombinem aktivovaný inhibitor fibrinolýzy (TAFI) (3).

Zvýšené riziko trombózy je způsobeno abnormalitami vaskulárního systému, komponenty koagulační kaskády i rheologickými mechanismy krve (Virchowova trias). Nyní se toto téměř 150 let známé paradigma tříští, a to zásluhou asociačních studií na – současnými technikami dosud nestanovitelnou – kombinaci získaných a genetických rizikových variant, které postihují uvedené základní mechanismy. U každého jedince se v momentu vzniku trombotické komplikace uplatňují unikátní, vzájemně se potencující kombinace získaných a dědičných rizikových faktorů. Některé rizikové faktory jsou vzhledem k prokazatelnému efektu na individuální rizika trombózy běžně stanovovány molekulárně genetickými, hemokoagulačními nebo biochemickými laboratořemi; zavedení jiných do klinické praxe dosud naráží na výraznou variabilitu výsledků asociačních studií. Z hlediska míry zvýšeného rizika trombózy – ve vztahu s jednotlivými rizikovými faktory – jsou jejich rozdílné závěry dány především rozdíly v populačních frekvencích mezi jednotlivými etnickými a geografickými celky studovaných populací, velikostí studovaných populačních vzorků, přítomností ostatních rizikových faktorů, např. kouření, hypertenze, obezity, diabetu a hladin lipidů a variabilitou definování fenotypů trombofilie. Dosud byly identifikovány desítky polymorfismů, které se liší v prediktivní hodnotě testu, v možnostech podle výsledku vyšetření směřovat prevenci či terapii a v osobních a sociálních dopadech vyšetření (4).

Klasifikace hereditární trombofilie

1. Rizikové faktory s prokázaným vlivem na rozvoj trombembolické choroby

Mutace FV-Leiden

Mutace v genu pro koagulační faktor V lokalizovaném na chromosomu 1q23, který kóduje klíčový enzym hemostázy, proakcelerin – mutace FV-Leiden byla popsána v roce 1993 Dahlbackem u pacientů s rezistencí k aktivovanému proteinu C (5, 6). Mutace je bodová, na pozici 1691 dochází k záměně báze guaninu za adenin, což vede k záměně aminokyseliny na vysoce konzervovaném štěpném místě pro protein C (arginin za glutamin, R506Q). Populační frekvence této mutace u neselektované populace českých novorozenců byla stanovena 5%. Tato frekvence odpovídá evropskému etniku. Vzniká mírný hyperkoagulační stav, daný prodlouženým působením aktivovaného faktoru Va. Screeningový test APC rezistence, s dilucí pacientovy plazmy ve faktor V deficitní plazmě, zachytí více než 95 % jedinců, u kterých následně specifickým molekulárně genetickým vyšetřením prokážeme nosičství Leidenské mutace (7, 8). Molekulárně genetického vyšetření je v rámci ČR dostupné ve více než 14 laboratořích (údaje Národní referenční laboratoře pro DNA diagnostiku: http://www.uhkt.cz/lab_a_vysetreni/nr_lab_dna_diag).

Protrombinová mutace FII G20210A

Protrombinová mutace FII G20210A v genu pro faktor II, protrombin lokalizovaný na chromosomu 11p11-q12 byla identifikována Poortem v roce 1996 (9). Mutace se nachází ve 3' netranslatované oblasti genu. Patří mezi gain-of-function mutace (mutace zisku funkce) zvyšující efektivitu štěpení pre-mRNA; následně dochází k akumulaci mRNA a její translaci do podoby koagulačního proteinu (10). Frekvence této mutace u skupiny českých novorozenců byla 1,5%. Screeningový test pouhým stanovením aktivity koagulačního faktoru II není dostatečný vzhledem k pouze mírné elevaci protrombinu vyžadující specifické stanovení hladiny, které není v rámci hemokoagulačních laboratoří běžně dostupné. Tato mutace je detekovatelná molekulárně genetickými metodami a je součástí rutinního screeningového panelu 14 laboratoří v ČR (údaje Národní referenční laboratoře pro DNA diagnostiku).

Deficity přirozeně se vyskytujících antikoagulačních proteinů C, S a AT III jsou po genetické stránce vysoce heterogenní, viz databáze mutací v těchto genech (dostupné na:

<http://www.uwcm.ac.uk/uwcm/mg/hgmd0.html>). Tyto trombofilní poruchy jsou autosomálně dominantně dědičné. Jejich stanovení je možné hemokoagulačními metodami založenými na měření hladiny příslušného antigenu nebo jeho funkční aktivity.

Deficit proteinu C

Protein C je vitamin K – dependentní serinová proteináza inhibující koagulační systém inaktivací faktoru Va a VIIIa. Rozlišují se 2 typy toho deficitu. Typ I – snížená hladina proteinu C a vzácný typ II – normální hladina, snížená funkční aktivita. Vyskytuje se v obecné

populaci u 0,2–0,4 %. Gen kódující protein C je lokalizován na chromosomu 2q13-q14. Pravidelně aktualizovaná databáze mutací v tomto genu obsahuje 232 mutací v proteinu C a potvrzuje značnou genetickou heterogenitu s výskytem unikátních mutací v jednotlivých rodinách. Genetickým vyšetřením se v ČR zabývá Ústav hematologie a krevní transfuze (11, 12).

Deficit proteinu S

Protein S je vitamin K dependentní kofaktor proteinu C. Za normálních okolností je 70 % proteinu S v plazmě vázáno na C4BP, koagulačně aktivní je jeho volná frakce. Rozlišujeme 3. typy deficitu:

Typ I. – snížení antigenu proteinu S i jeho volné složky.

Typ II. – dysfunkční protein s normální plazmatickou hladinou.

Typ III. – snížená hladina volného proteinu S. Vyskytuje se v obecné populaci mezi 0,1–1 % jedinců. Gen pro protein S je lokalizovaný na chromosomu 3p11.1-q11.2. Mutace jsou unikátní pro jednotlivé rodiny. Dosud bylo popsáno 157 mutací. Genetickým vyšetřením zabývá Ústav hematologie a krevní transfuze (www.uhkt.cz) (13).

Deficit antitrombinu III

Protein inaktivuje serinové proteázy XIa, IXa, Xa a trombin jejich přímou vazbou. Heparin tuto reakci zvyšuje asi 1000krát. Vyskytuje se u 0,02 % jedinců. Rozlišujeme 2. typy:

Typ I. – snížení syntézy antitrombinu.

Typ II. – normální hladiny dysfunkčního proteinu, který se rozděluje do dvou podtypů:

1. RS typ – s mutací v protrombinu, která vede k jeho dysfunkci v jeho reaktivním místě (RS).

2. HBS typ – s mutací, která negativně ovlivňuje vazbu antitrombinu s heparinem.

Typ III. se uplatňuje při nedostatečné odpovědi na heparin, chybí receptor pro heparin, hladina i ostatní funkce AT III je normální. Mutací v tomto genu bylo dosud popsáno 156 (14).

2. Polymorfismy a mutace s menším nebo sporným vlivem na mechanismy hemokoagulace a aterosklerózy

V genu pro faktor V byly kromě již zmíněné mutace FV-Leiden popsány mutace s minimálním klinickým dopadem a nízkou populační frekvencí. Faktor V Cambridge (Arg306Thr), faktor V Hong Kong (Arg306Gly) a Faktor V HR2 haplotyp vedou k mírné APC rezistenci. Všechny tyto molekulárně definované rizikové faktory lze zachytit screeningovým testem APC-rezistence. Molekulárněgenetické vyšetření není v rámci ČR k dispozici (15–18).

Trombomodulin je membránový antikoagulační protein s kofaktorovou funkcí v trombinem zprostředkované aktivaci proteinu C. Polymorfismus v genu pro trombomodulin 1418C → T (Ala 455 Val) a promotorový polymorfismus – 33G → A, který je s předchozím ve vazbě ovlivňují varikózní přestavbu žil a mírně zvyšují riziko arteriální trombózy (19). EPCR je transmembránový receptor pro protein C s vysokou expresí v endotelu velkých cév. Následkem vložení 23bp v exonu 3 genu pro

EPCR vzniká protein postrádající extracelulární transmembránovou doménu a cytoplazmatický konec, což vede ke sníženému antikoagulačnímu vlivu proteinu C. Klinický efekt je snad významnější u arteriální trombózy, nicméně celkově je dosud vzhledem k nedostatku dat považovaný za nevýznamný (20).

Polymorfismy v genu pro beta-fibrinogen byly spojovány se zvýšenými hladinami fibrinogenu a koronární chorobou. Záměna G → A na pozici –455 promotoru genu pro fibrinogen s frekvencí alely A 0.20 nebyla nezávislým prediktorem ischemické choroby srdeční v Copenhagen City Heart Study (21). Další polymorfismus v tomto genu je lokalizován v sekvenci blízké IL-6. Skupina pacientů s T/T genotypem měla vyšší index aterosklerózy karotid oproti C/C a C/T skupinám genotypů. Tento genotyp byl spolu s apolipoproteinem B (odds ratio [OR], 1.17/10 mg/dL), věkem (OR, 2.46/10 let), spotřebou tabáku (OR, 1.03/1000 g), plazmatickou hladinou fibrinogenu (OR, 1.05/10 mg/dL) a srdeční chorobou (OR, 1.80) nezávislým prediktorem aterosklerózy (OR, 6.17) ve středním a vysokém věku (22).

Vysoká plazmatická hladina koagulačního faktoru VII je spojována s ischemickou srdeční chorobou. Genetické rizikové faktory ovlivňující hladinu faktoru VII, např. nosiči polymorfismu v genu pro faktor VII Arg353Gln, který vede ke snížení jeho hladiny (FVIIc, -20,7 %, $p < 0,001$) i hladiny aktivovaného cirkulujícího faktoru VII (FVIIa, -32,7 %, $p = 0,03$), měli ve srovnání s homozygotními jedinci pro normální alely Arg353/Arg353 až o 72 % snížené riziko vzniku trombotických komplikací při katetrizačních výkonech na koronárních arteriích (23). Pacienti s Gln 353/Gln 353 na obou alelách a H7H7 genotypem mají snížené riziko infarktu myokardu (OR 0,08 a 0,22). RR genotyp faktoru VII na pozici 353 (Arg353/Arg353) je asociován s nejvyšším rizikem. Polymorfismy v hypervariabilní oblasti 4, kombinované H7H5 a H6H5 genotypy, byly spojovány s nejvyššími riziky ve srovnání s H6H6, H6H7 a H7H7 genotypy (24). Koagulační faktor XIII katalyzuje vzájemnou vazbu molekul fibrinu. Polymorfismus v podjednotce A, který vede k záměně aminokyseliny leucinu za valin (FXIIIA, Val34Leu), byl asociován se sníženým rizikem koronární choroby. Nicméně v prospektivní studii tento trend nebyl potvrzen. Frekvence genotypu FXIIIA Leu34Leu u pacientů s plicním tromboembolismem byla ve srovnání se zdravými jedinci 4,5 % oproti 8,8 %, (OR 0,5), což potvrzuje protektivní vliv i pro trombotické komplikace ve venózním řečišti (25, 26).

Poruchy ve fibrinolytické aktivitě, jako je např. zvýšená hladina inhibitoru aktivátoru plazminogenu (PAI-I), byly spojovány se zvýšeným rizikem koronární choroby a infarktu myokardu. Homozygotní 4G/4G alela ins/del varianty promotoru PAI-I je nezávislým rizikovým faktorem koronární choroby. 4G/4G genotyp byl také asociován se zvýšeným rizikem trombózy u pacientů s hlubokou žilní trombózou včetně idiopatické. (OR 2,85, OR 3,1) PAI-1 4G/5G polymorfismus tak zřejmě zvyšuje trombotické riziko ovlivněním exprese genu pro PAI-1 (27, 28). Tkáňový aktivátor plazminogenu (tissue plasminogen activator – TPA) je primárním mediátorem intravaskulární fibrinolýzy. Uvolnění TPA je ovlivněno

polymorfismem genu -7351C/T. TT genotyp byl nejsilněji asociován s lakunárním typem ischemické cévní mozkové příhody (OR 2,7) (29). Trombinem aktivovatelný inhibitor fibrinolýzy (TAFI) snižuje vazbu plazminogenu na povrch fibrinu. Plazmatické hladiny TAFI jsou ovlivněny polymorfismy ve 3' netranslatované oblasti genu pro TAFI (G505A a C1542G). Zvýšená hladina Ag TAFI byla asociována se snížením rizika infarktu myokardu (OR 0,55). Pacienti s infarktem myokardu měli nižší hladiny TAFI Ag a vyšší podíl alel vedoucích ke snížení této hladiny (+1542C > G; 505G > A). Nejnižší hladiny TAFI mají homozygoti pro +1542GG polymorfismus. Kombinace genotypu 505AA a +1542CC byla přítomna u 13 pacientů s pediatrikou trombózou s nejvyšší hladinou TAFI. Tyto polymorfismy však v této sestavě nepředstavovaly zvýšené riziko trombotické komplikace (30, 31).

Vysoká hladina homocysteinu – hyperhomocysteinémie – byla prokázána jako nezávislý rizikový faktor pro hlubokou žilní trombózu, stejně jako pro arteriální cévní trombotické a aterosklerotické změny. Polymorfismy v genu pro metylentetrahydrofolát reduktázu (MTHFR) 677 C → T a 1298 A → C jsou součástí rutinálních vyšetřovacích panelů „trombofilních mutací“, ačkoliv u zdravého jedince s normálním příjmem vitamínu skupiny B je jejich efekt na celkové trombofilní riziko za normálních okolností malý. Termolabilní varianta enzymu MTHFR vzniklá následkem mutace (677C → T) v homozygotní formě – mutace je přítomná na obou alelách genu, byla asociována s mírně zvýšenými hladinami homocysteinu; u populací kavkazského původu byla popsána mezi 5 a 15 %. Je spojována s předčasnou aterosklerózou a cévními těhotenskými komplikacemi. Tyto nálezy však nebyly potvrzeny metaanalýzou dat (36). Základním screeningovým testem, který předchází molekulárně genetické vyšetření, by tak mělo být stanovení hladiny homocysteinu, popř. hladin kyseliny listové a vitamínu B₁₂. Mutace v genu kódujícím enzym cystathioninbetasyntázu vedou v homozygotním stavu k homocystinurii, metabolické vadě spojené extrémní elevací hladin homocysteinu s vlivem na předčasnou trombotickou komplikaci a defekty pojivové tkáně a kostním abnormitám. Mutace 833T → C a ins 68 bp v genu pro cystathioninbetasyntázu byly v heterozygotním stavu také asociovány s mírnou elevací homocysteinu a mohou představovat riziko pro vaskulární chorobu (32–35).

V genu pro destičkový glykoprotein IIIa se zhruba u 15 % kavkazské populace nachází častá mutace vedoucí k záměně prolinu za leucin na pozici 33 (Leu33Pro). Tato mutace zřejmě zvyšuje citlivost k aktivaci destiček a snižuje antiagregační odpověď na aspirin (39). Normální alela s leucinem na pozici 33 je označována PL^{A1} (HPA-1a), mutovaná s prolinem na pozici 33 PL^{A2} (HPA-1b). Homozygoti pro tuto mutaci PL^{A2}/PL^{A2} mají zvýšené riziko postransfuzní purpury a neonatální trombocytopenie. Alela PL^{A2} byla také asociována s vyšším rizikem koronární choroby: ve skupině pacientů s PL^{A2} polymorfismem bylo (OR 2,8) s ještě silnějším vlivem u jedinců mladších 60 let (OR 6,2) (37, 38).

V genech kódujících některé další destičkové povrchové antigeny byly v poslední době některými studiemi

asociovány se zvýšeným rizikem koronární choroby a předčasné aterosklerózy další polymorfismy. VNTR 39 bp polymorfismus v genu pro GP Iba, polymorfismus 3550C → T vedoucí k záměně Thr145Met, záměna 807C → T v genu pro α2 peptid GP Ia/IIa a polymorfismus na pozici 1648A → G v genu pro α2 peptid GP Ia/III. Další studie jsou však nutné k ověření jejich efektu. Tři polymorfismy v genu pro receptor 1 aktivovaný proteázami byly předmětem studie velké skupiny pacientů s tromboembolismem (PATHROS). Dva z nich byly v 5' regulační oblasti: záměna C → T na pozici 1426 (-1426 C/T), vložení 13-bp vložení -506 5'-CGGCCGC-GGGAAG-3' (-506 I/D, kde I značí vložení /inserti/ a D delecii). Třetí byl polymorfismus v oblasti intervening sequence (IVS) A → T 14 pb před začátkem exonu 2 (IVS-14 A/T). Distribuce těchto 3 polymorfismů se však u pacientů a kontrol nelišila. Nicméně alela I byla u mužů protektivní (OR: 0,52). U homozygotů pro tento polymorfismus byla také signifikantně snížena hladina protrombinových fragmentů 1+2(40–42).

Funkční model klasifikace

Genetická porucha může být způsobena tzv. mutacemi ztráty funkce (loss-of-function mutation) přirozených antikoagulačních faktorů, nebo naopak mutacemi zisku – funkce (gain-of-function mutations) prokoagulačních faktorů, abnormalitami vedoucími ke snížené fibrinolýze nebo ke snížení destičkové funkce spojené s jejich zvýšenou aktivací. Mezi mutace ztráty funkce patří mutace vedoucí k nedostatečné hladině nebo k funkčním defektům antikoagulačních proteinů – proteinu C, proteinu S a antitrombinu III. Mezi mutace zisku funkce patří např. protrombinová FIIG20210A a Leidenská mutace FV-L.

Hereditární trombofilie v interních oborech

Kazuistika: 18letá dívka v průběhu nemocniční léčby hemofilové sepse prodělala levostrannou ileofemorální trombózu. Při podrobném vyšetření byla zjištěna rezistence k aktivovanému proteinu C na podkladě nosičství Leidenské mutace v heterozygotní konstituci, v akutním stadiu rovněž snížená aktivita proteinu S (38 %) a hraniční hodnota proteinu C (67 %), pozitivní byly antikardiolipinové protilátky ve třídě IgG. Pacientka byla léčena nízkomolekulárním heparinem, za hospitalizace byla převedena na warfarin, na kterém je celkově 3 roky; při kontrolní dopplerovské sonografii zjištěna patrná rekanalizace, terapie ukončena. Pacientka byla ponechána na pouze na terapii Vessel Due. V kontrolních odběrech byla aktivita proteinu S již normální, protein C zůstal při dolní hranici normy (61 %). U pacientky je patrný rozvoj posttrombotického syndromu – veneektázie v levém třísele a podbřišku. Pacientka je trvale na antikoagulační léčbě vzhledem ke zjištěné kombinaci rizikových faktorů.

Tromboembolická choroba (HŽT – hluboká žilní trombóza a PE – plicní embolie) s incidencí přesahující 1 na 1000 obyvatel je třetí nejčastější kardiovaskulární onemocnění. Má tendenci k rekurenci přibližně u 1/3 pacientů. Za nezávislé prediktory její rekurence jsou považovány vyšší věk, obezita, neoplazma a imobiliza-

ce. U třetiny pacientů se do 20 let od primární trombózy vyvine posttrombotický syndrom (44). U této indikační skupiny pacientů prokazujeme mutaci FV-Leiden u 20 % pacientů, a až u 40 % pacientů s rekurentní nebo familiární formou trombembolismu. Přítomnost mutace FV-Leiden v heterozygotním stavu – mutace přítomná na jedné alele genu zvyšuje celoživotně 8krát riziko hluboké trombózy; v homozygotním stavu je mutace přítomná na obou alelách genu dokonce až 80krát (45). Protrombinovou mutaci detekujeme téměř u 7–16 % jedinců s venózním trombembolismem. Riziko spojené s výskytem této mutace v heterozygotní konstituci odpovídá asi 2–5násobnému navýšení rizika. Oba rizikové faktory vykazují multiplikační efekt na riziko trombotických komplikací ve spojení s ostatními rizikovými faktory.

Deficity antikoagulačních proteinů prokazujeme asi u 8–13 % pacientů s venózním trombembolismem. Vyšetření je vhodné opakovat s odstupem od akutního stavu před definitivním uzavřením diagnózy hereditárního deficitu proteinu C, proteinu S a antitrombinu III. Nejčastěji jsou detekovány deficity proteinu C ve 3,7–4,8 % a proteinu S u 2,3–4,3 %. U homozygotů pro protein C vzniká fatální neonatální purpura fulminans.

Méně častý deficit AT III I. typu je z pohledu asociovaného navýšení rizika nejvýznamnějším rizikovým faktorem a nacházíme ho u 1,9–4,3 % pacientů. Riziko vzniku trombózy/rok u heterozygotů pro deficit AT III je 0,87–1,6 %, zatímco u nosičů mutace FV-Leiden odpovídá 0,25–0,45 %. U protrombinové mutace je udáváno riziko 0,55 %, u deficitu proteinu C mezi 0,43 až 0,72 % a u proteinu S mezi 0,5–1,65 % (46).

Hereditární trombofilie v gynekologii a porodnictví

Kazuistika z praxe ambulantního gynekologa: 33letá pacientka zjišťuje těhotenství a navštěvuje ambulanci svého gynekologa v rámci vstupního vyšetření. V její osobní anamnéze se objevuje údaj o epizodě hluboké žilní trombózy před 5 lety, v době kdy pacientka brala hormonální antikoncepci. V rodinné anamnéze byl nalezen údaj o epizodě hluboké žilní trombózy u matky pacientky v těhotenství a dále bylo jedno těhotenství matky zakončeno porodem mrtvého plodu ve 30. týdnu gravidity. V rámci diferenciální diagnózy lékař zvažoval hereditární trombofilii, jako příčinu těchto komplikací a odeslal krev pacientky do specializované laboratoře ke screeningovému molekulárně genetickému vyšetření mutace FV-Leiden a FII – protrombin G20210A. U pacientky bylo potvrzeno nosičství mutace FV-Leiden – heterozygozita pro tuto mutaci (jako u přibližně 6 % Středoevropanů) predisponující k trombotickým komplikacím. Na základě tohoto zjištění a údaje o estrogen-related trombembolismu, byla profylakticky zahájena subkutánní aplikace nízkomolekulárního heparinu. Těhotenství proběhlo bez komplikací a pacientka se stala matkou zdravého dítěte narozeného v termínu.

Hluboká žilní trombóza v těhotenství je většinou lokalizovaná v levé ileofemorální žíle. Incidence HŽT/PE v graviditě je 0,5–3,0 na 1000 těhotenství. Pacientky s deficitem PC, PS nebo antitrombinu III mají až 8krát

vyšší riziko HŽT/PE. Nosičky mutace FV-Leiden mají asi 16krát vyšší riziko, u nosiček protrombinové mutace FII G20210A je riziko 10krát vyšší, u koinheritance obou mutací FV-Leiden a FII G20210A je riziko až 100krát vyšší (47–49).

Hereditární trombofilie zvyšuje riziko těhotenské ztráty, a to především u pozdních těhotenských ztrát a porodů mrtvého plodu. Heterozygocie pro mutaci FV-Leiden dvojnásobně zvyšuje riziko porodu mrtvého plodu po 28. týdnu gestace, deficit antitrombinu 5,2krát, deficit proteinu C 2,3krát a deficit proteinu S 3,3krát, u pacientek s kombinovanými hereditárními rizikovými faktory dokonce 14,3krát. Ve studii provedené Kupfermincem byly pacientky s těhotenskými komplikacemi – preklampsií, intrauterinní růstovou retardací plodu, abrupcí placenty a porodem mrtvého plodu – v 52 % heterozygotky pro mutaci FV-Leiden, FII G20210A nebo homozygoty pro mutaci C677T v genu pro MTHFR oproti 17 % u kontrol (50, 51).

Screening hereditární trombofilie

K žádoucímu snížení incidence všech trombofilních komplikací, ke zlepšení přežívání a k prevenci rekurence trombózy je potřeba rizikové pacienty správně rozpoznat a adekvátně léčit. K tomu účelu byly odbornými společnostmi vypracovány doporučené postupy.

V rámci screeningového algoritmu vyšetření hereditární trombofilie, které se používá v současné době, je po stanovení aktivit antikoagulačních proteinů – antitrombinu, proteinu C a proteinu S – doporučeno provedení testu APC rezistence a v případě jeho pozitivity doplnění molekulárně genetickým vyšetřením FV-Leiden a protrombinové mutace. Vyšetření polymorfismů v metylentetrahydrofolát reduktáze je doporučeno pouze u pacientů s vysokou hladinou homocysteinu. U arteriální trombózy prozatím může být přínosné stanovení hladiny fibrinogenu a homocysteinu, ale není dosud doporučováno rutinní vyšetření genetických rizikových polymorfismů v genech zúčastňujících se fibrinolýzy nebo tzv. destičkových polymorfismů.

Tento screening hereditární trombofilie je doporučen:

- a) u pacientů s rekurentním trombembolismem;
- b) u pacientů s plicní embolií ve věku pod 50 let;
- c) u pacientů s idiopatickou hlubokou žilní trombózou v jakémkoliv věku;
- d) u pacientů s trombózou v neobvyklé lokalizaci – žilní splanchnické oblasti, horní končetiny;
- e) u pacientů s trombembolií v jakémkoliv věku a s příbuzným prvního stupně, který prodělal HŽT/PE ve věku do 50 let;
- f) u pacientek s HŽT/PE ve vztahu k těhotenství, šestinedělí, hormonální antikoncepci;
- g) u žen s nevysvětlitelnou těhotenskou ztrátou ve II. a III. trimestru;
- h) u asymptomatických prvostupňových příbuzných pacientů s potvrzenou hereditární trombofilii po patřičné konzultaci.

Testování je kontroverzní:

- a) u mladých žen, kuřeček s infarktem myokardu ve věku do 50 let;

- b) u pacientů nad 50 let věku s první idiopatickou hlubokou žilní trombózou bez nádorového onemocnění nebo centrálního žilní katétru;
- c) u pacientů s první epizodou HŽT/PE ve vztahu k tamoxifenu nebo SERM (specifický modulátor estrogenního receptoru);
- d) u vybraných žen s nevysvětlitelnou těžkou preklamsií, abrupcí placenty a těžkou intrauterinní růstovou retardací plodu.

Testování není doporučeno jako:

- a) skreeningový test v obecné nerizikové populaci;
- b) rutinní test v těhotenství;
- c) rutinní test před předpisem antikoncepce, hormonální terapie;
- d) prenatální test, novorozenecký test, test u asymptomatických dětí;
- e) rutinní test u arteriální trombózy.

Závěr

Z předchozích kapitol vyplývají některé obecně platné vztahy mezi asociovanými polymorfismy a vznikem arteriální a venózní trombózy. Ukazuje se, že venózní trombóza je nejsilněji asociována s genetickými poruchami, které poškozují funkci přirozených antikoagulačních proteinů, díky hlavní roli venostázy při vzniku venózního trombu. Při vzniku aterosklerózy, která je nejčastěji podkladem trombózy v arteriálním řečišti, se uplatňují mechanismy zahrnující dysregulaci v lipidovém spektru a buněčné proliferace, takže genetické vlivy ovlivňující její vznik jsou pravděpodobně komplexnější než u venózní trombózy. Nicméně vzhledem k tomu, že ateroskleróza postihuje především vysokotlaké artérie, je logické, že koagulační proteiny a destičkové glykoproteiny hrají v tomto procesu významnou úlohu.

K již popsaným polymorfismům stále přibývají polymorfismy s možným efektem na rizika trombózy. V klinické praxi používané rutinní screeningové diagnostické panely hereditární trombofilie však zahrnují pouze polymorfismy, u kterých cost-efektivita testu a klinický přínos splňují alespoň základní pravidla evidence based medicine.

Molekulárněgenetické vyšetření využívaná rutinně v ČR lze nalézt v databázi referenční laboratoře pro DNA diagnostiku na stránkách Ústavu hematologie a krevní transfuze:

(http://www.cz/lab_a_vysetreni/nr_lab_dna_diagn).

Na základě žádostí informovaných lékařů, kteří podrobné genetické vyšetření budou schopni převádět do zlepšení terapeutického a preventivního přístupu k pacientům, budou v diagnostických laboratořích zaváděny metody umožňující rychle a přesně testovat simultánně velké množství rizikových polymorfismů. Tato očekávání může splnit DNA „chipová“ technologie s automatizovanou interpretací výsledků indikujícímu lékaři nebo pacientům z přesně definovaných indikačních skupin založená na metaanalýzách populačně specifických dat. Tato data však dosud nejsou k dispozici. Nicméně, příchod chipové technologie do klinické praxe je otázkou příštích let.

Literatura

1. **Venter, J. C., Adams, M. D., Myers, E. W. et al.** The sequence of the human genome. *Science*, 2001, 291, 1, p. 304–351.
2. **Preissner, K. T.** Biochemistry and physiology of blood coagulation and fibrinolysis. *Hemostaseologie*, 2004, 24, 2, p. 84–93.
3. **Doplen, D.** The plasminogen (fibrinolytic) system. *Thromb. Haemost.*, 1999, 82, p. 259–270.
4. **Burke, W., Atkins, D., Gwinn, M., Guttmacher, A., Had-daw, J. et al.** Genetic test evaluation: Information needs of clinicians, policy makers, and the public. *Amer. J. Epid.*, 2002, 156, 4, p. 311–318.
5. **Dahlback, B., Carlsson, M., Svensson, P. J.** Familial thrombophilia due to a previously unrecognized mechanism characterized by poor anticoagulant response to activated protein C. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1993, 90, p. 1004–1008.
6. **Koster, T., Rosendaal, F. R., de Ronde, H., Briet, E., Vand-enbroucke, J. P., Bertina, R. M.** Venous thrombosis due to poor anticoagulant response to activated protein C: Leiden Thrombophilia Study. *Lancet*, 1993, 342, p. 1503–1506.
7. **Legnani, C., Palareti, G., Biagi, R. et al.** Activated protein C resistance: a comparison between two clotting assays and their relationship to the presence of the factor V Leiden mutation. *Br. J. Haematol.*, 1996, 93, p. 694–699.
8. **Kapiotis, S., Quehenberger, P., Jilma, B. et al.** Improved characteristics of APC-resistance assay: Coatest APC resistance by predilution of samples with factor V deficient plasma. *Am. J. Clin. Pathol.*, 1996, 106, p. 588–593.
9. **Poort, S. R., Rosendaal, F. R., Reitsma, P. H., Bertina, R. M.** 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, 15, p. 3698–3703.
10. **Gehring, N. H., Frede, U., Neu-Yilik, G., Hundsdoerfer, P., Vetter, B. et al.** Increased efficiency of mRNA 3' end formation: a new genetic mechanism contributing to hereditary thrombophilia. *Nat. Genet.*, 2001, 28, p. 389–392.
11. **Griffin, J. H., Evatt, B., Zimmerman, T. S., Kleiss, A. J., Wideman, C.** Deficiency of protein C in congenital thrombotic disease. *J. Clin. Invest.*, 1981, 68, p. 1370–1373.
12. **Tait, R. C., Walker, I. D., Reitsma, P. H. et al.** Prevalence of protein C deficiency in the healthy population. *Thromb. Haemost.*, 1995, 73, p. 87–93.
13. **Beauchamp, N. J., Dykes, A. C., Parikh, N., Campbell Tait R., Daly, M. E.** The prevalence of, and molecular defects underlying, inherited protein S deficiency in the general population. *Br. J. Haematol.*, 2004, 125, p. 647–654.
14. **Kvasnička, J. et al.** Trombofilie a trombotické stavy v klinické praxi. *Praha : Avicenum Grada* 2003, p. 51.
15. **Williamson, D., Brown, K., Luddington, R. et al.** Factor V Cambridge: a new mutation (Arg306–Thr) associated with resistance to activated protein C. *Blood*, 1998, 91, p. 1140–1144.
16. **Chan, W. P., Lee, C. K., Kwong, Y. L. et al.** A novel mutation of Arg 306 of factor V gene in Hong Kong Chinese. *Blood*, 1998, 91, p. 1135–1139.
17. **Castoldi, E., Rosing, J., Girelli, D. et al.** Mutations in the R2 FV gene affect the ratio between two FV isoforms in plasma. *Thromb. Haemost.*, 2000, 83, p. 362–365.
18. **Faioni, E. M., Franchi, F., Bucciarelli, P. et al.** Coinheritance of the HR2 haplotype in the factor V gene confers an increa-

- sed risk of venous thromboembolism to carriers of factor V R506Q (factor V Leiden). *Blood*, 1999, 94, p. 3062–3066.
19. **Le Flem, L., Mennen, L., Aubry, M. L., Aiach, M., Scarabin, P. et al.** Thrombomodulin promoter mutations, venous thrombosis, and varicose veins. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2001, 21, p. 445–451.
 20. **Biguzzi, E., Merati, G., Liaw, P. C., Bucciarelli, P., Oganesyan, N. et al.** A 23bp insertion in the endothelial protein C receptor (EPCR) gene impairs EPCR function *Thromb. Haemost.*, 2001, 86, p. 945–948.
 21. **Tybjærg–Hansen, A., Agerholm–Larsen, B., Humphries, S. E., Abildgaard, S., Schnohr, P., Nordestgaard, B. G.** A common mutation (G(-455)-to-A) in the beta-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, p. 3034–3039.
 22. **Schmidt, H., Schmidt, R., Niederkorn, K., Horner, S., Becsagh, P. et al.** Beta-fibrinogen gene polymorphism (C148 > T) is associated with carotid atherosclerosis: results of the Austrian Stroke Prevention Study. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 1998, 18, p. 487–492.
 23. **Mrozikiewicz, P. M., Cascorbi, I., Ziemer, S., Laule, M., Neosel, C. et al.** Reduced procedural risk for coronary catheter interventions in carriers of the coagulation factor VII-Gln353 gene. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2000, 36, p. 1520–1525.
 24. **Iacoviello, L., Di Castelnuovo, A., De Knijff, P., D’Orazio, A., Amore, C. et al.** Polymorphisms in the coagulation factor VII gene and the risk of myocardial infarction. *N. Engl. J. Med.*, 1998, 338, p. 79–85.
 25. **Aleksic, N., Ahn, C., Wang, Y. W., Juneja, H., Folsom, A. R. et al.** Factor XIIIa Val34Leu polymorphism does not predict risk of coronary heart disease: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2002, 22, p. 348–352.
 26. **Zidane, M., de Visser, M. C., ten Wolde, M., Vos, H. L., de Monye, W. et al.** V. Frequency of the TAFI –438 G/A and factor XIIIa Val34Leu polymorphisms in patients with objectively proven pulmonary embolism. *Thromb. Haemost.*, 2003, 90, p. 439–445.
 27. **Gardemann, A., Lohre, J., Katz, N., Tillmanns, H., Hehrlein, F. W., Haberbosch, W.** The 4G/5G genotype of the plasminogen activator inhibitor 4G/5G gene polymorphism is associated with coronary atherosclerosis in patients at high risk for this disease. *Thromb. Haemost.*, 1999, 82, p. 1121–1126.
 28. **Sartori, M. T., Danesin, C., Saggiorato, G., Tormene, D., Simioni, P. et al.** The PAI-1 gene 4G/5G polymorphism and deep vein thrombosis in patients with inherited thrombophilia. *Clin. Appl. Thromb. Hemost.*, 2003, 9, 4, p. 299–307.
 29. **Jannes, J., Hamilton-Bruce, M. A., Pilotto, L., Smith, B. J., Mullighan, C. G. et al.** Tissue plasminogen activator –7351C/T enhancer polymorphism is a risk factor for lacunar stroke. *Stroke*, 2004, 35, p. 1090–1094.
 30. **Juhan-Vague, I., Morange, P. E., Aubert, H., Henry, M., Aillaud, M. F. et al.** HIFMECH Study Group Plasma thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor antigen concentration and genotype in relation to myocardial infarction in the north and south of Europe. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2002, 22, p. 867–873.
 31. **Knoefler, R., Ludwig, K., Kostka, H., Kuhlisch, E., Siegert, G., Suttorp, M.** The impact of single nucleotide polymorphisms of the thrombin activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI) gene on TAFI antigen levels in healthy children and pediatric oncology patients. *Semin. Thromb. Hemost.*, 2003, 29, p. 575–583.
 32. **Boushey, C. J., Beresford, S. A., Omenn, G. S., Mottulsky, A. G.** A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease: probable benefits of increasing folic acid intakes. *JAMA*, 1995, 274, p. 1049–1057.
 33. **Gastadnes, M., Rudiger, N., Rasmussen, K., Ingerslev, J.** Familial thrombophilia associated with homozygosity for the cystathionine β -synthase 833T-C mutation. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2000, 20, p. 1392–1395.
 34. **DeLoughery, T. G., Evans, A., Sadeghi, A. et al.** A common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase: correlation with homocysteine metabolism and late onset vascular disease. *Circulation*, 1996, 94, p. 3074–3078.
 35. **Kluijtmans, L. A., van den Heuvel, L. P. W., Boers G. H. et al.** Molecular genetic analysis in mild hyperhomocysteinemia: a common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene is a genetic risk factor for cardiovascular disease. *Am. J. Hum. Genet.*, 1996, 58, p. 35–41.
 36. **Brattstrom, L., Wilcken, D. E., Ohrvik, J., Brudin, L.** Common methylenetetrahydrofolate reductase gene mutation leads to hyperhomocysteinemia but not to vascular disease: the result of a meta-analysis. *Circulation*, 1998, 98, p. 2250 till 2556.
 37. **Pastinen, T., Perola, M., Ninini, P. et al.** Array-based multiplex analysis of candidate genes reveals two independent and additive genetic risk factors for myocardial infarction in the Finnish population. *Hum. Mol. Genet.*, 1998, 7, p. 1453–1462.
 38. **Feng, D., Lindpaintner, K., Larson, M. D. et al.** Increased platelet aggregability associated with platelet GP IIIa P1A2 polymorphism: the Framingham Offspring Study. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 1999, 19, p. 1142–1147.
 39. **Cooke, G. E., Bray, P. F., Hamlington, J., Pham, D. M., Goldschmidt–Clermont, P. J.** P1A2 polymorphism and efficacy of aspirin. *Lancet*, 1998, 351, p. 1353.
 40. **Santoso, S., Kunicki, T. J., Kroll, H., Haberbosch, W., Gardemann, A.** Association of the platelet glycoprotein Ia C807T gene polymorphism with nonfatal myocardial infarction in younger patients. *Blood*, 1999, 93, p. 2449–2453.
 41. **Drift, S. A., Hampton, K. K., Sorrell, J. A., et al.** The GPIa C807T dimorphism associated with platelet collagen receptor density is not a risk factor for myocardial infarction. *Br. J. Haematol.*, 1999, 106, p. 771–776.
 42. **Kroll, H., Gardemann, A., Fechter, A., Haberbosch, W., Santoso, S.** The impact of the glycoprotein Ia collagen receptor subunit A1648G gene polymorphism on coronary artery disease and acute myocardial infarction. *Thromb. Haemost.*, 2000, 83, p. 393–396.
 43. **Arnaud, E., Nicaud, V., Poirier, O. et al.** Protective effect of a thrombin receptor (protease-activated receptor 1) gene polymorphism toward venous thromboembolism. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2000, 20, p. 585–592.
 44. **Heit, J. A., Silverstein, M. D., Mohr, D. N. et al.** The epidemiology of venous thromboembolism in the community. *Thromb. Haemost.*, 2001, 86, p. 452–463.
 45. **Ridker, P. M., Hennekens, C. H., Lindpaintner, K., Stampfer, M. J., Eisenberg, P. R.** Mutation in the gene coding for coagulation factor V and the risk of myocardial infarction, stroke, and venous thrombosis in apparently healthy men. *N. Engl. J. Med.*, 1995, 332, p. 912–917.

46. **Selingsohn, U, Lubetsky, A.** Genetic susceptibility to venous thrombosis. *N. Engl. J. Med.*, 2001, 344, p. 1222–1231.
47. **Grandone, E., Margaglione, M., Colaizzo, D.** Genetic susceptibility to pregnancy-related venous thrombembolism: roles of factor V Leiden, prothrombin G 20210A, and methylenetetrahydrofolate reductase C677T mutations. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1998, 179, p. 1324–1328.
48. **Gerhart, A., Scharf, R. E., Beckmann, M. W.** Prothrombin and factor V mutations in women with history of thrombosis during pregnancy and puerperium. *N. Engl. J. Med.*, 2000, 342, p. 374–380.
49. **Friedrich, P. W., Sanson, B. J., Simioni, P.** Frequency of pregnancy-related venous thrombembolism in anticoagulant factor deficient women: implication for prophylaxis. *Ann. Intern. Med.*, 1996, 125, p. 955–960.
50. **Presto, F. E., Rosendaal, F. R., Walker, I. D.** Increased fetal loss in women with heritable thrombophilia. *Lancet*, 1996, 348, p. 913–916.
51. **Kupferminc, M. J., Eldor, A., Steinman, N.** Increased frequency of genetic thrombophilia in women with complications of pregnancy. *N. Engl. J. Med.*, 1999, 340, p. 9–13.
52. **Press, R. D., Bauer, K. A., Kujovich, J. L., Heit J. L.** Clinical Utility of Factor V Leiden (R506Q) Testing for the Diagnosis and Management of Thromboembolic Disorders. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, 2002, 126, p. 1304–1318.

Práce byla podpořena granty VZ UK 2. LF 11130003 a LN00A079, VZ FN v Motole 00000064203.

Redakci předáno 24. 2. 2005.

Adresa pro korespondenci:

MUDr. Eva Raušová

CF Centrum ÚBLG, FN Motol a 2. LF UKV

V Úvalu 84, 150 06 Praha 5-Motol

e-mail: eva.rausova@lfmotol.cuni.cz