

Priporočila za določanje testov trombofilije pri bolnikih z vensko tromboembolijo

Clinical guidelines for thrombophilia testing in patients with venous thromboembolism

Alenka Mavri, Tjaša Vižintin Cuderman, Monika Štalc, Mojca Božič, Gregor Tratar, Mirjam Gubenšek, Anja Boc, Marko Miklič, Nina Vene

Klinični oddelek za žilne bolezni, Interna klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Zaloška 7, Ljubljana

Korespondenca/ Correspondence:

doc. dr. Alenka Mavri, dr. med., Klinični oddelek za žilne bolezni, Interna klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Zaloška 7, Ljubljana
e-mail: alenka.mavri@kclj.si

Ključne besede:

trombofilija, venska tromboembolija, laboratorijski testi

Key words:

thrombophilia, venous thromboembolism, laboratory tests

Citirajte kot/Cite as:

Zdrav Vestn 2013; 82: 65–79

Prispelo: 27. nov. 2012,
Sprejeto: 28. jan. 2013

Izvelek

Trombofilija je stanje, ki povečuje nagnjenost k nastanku tromboz zaradi pospešenega strjevanja krvi. V prispevku opisujemo prirojene in pridobljene oblike trombofilije, njihovo prevalenco, pomen pri tveganju za nastanek prve venske tromboembolije in njenih ponovitev ter laboratorijske metode za odkrivanje in vrednotenje posameznih oblik trombofilije.

Sledi strokovno utemeljen izbor preiskav za ugotavljanje trombofilije pri bolnikih s prebolelo vensko tromboembolijo, ki so smiselne le tedaj, ko vplivajo na trajanje antikoagulacijskega zdravljenja ali na ukrepe za preprečevanje ponovitve bolezni. Priporočila testiranja za trombofilijo tako zajemajo klinično najpomembnejše oblike trombofilije, ki jih določimo le pri izbranih bolnikih: ženskah v rodnem obdobju, ki so utrpele idiopatsko vensko tromboembolijo, pri bolnikih, mlajših od 50 let, z idiopatsko vensko trombozo na neobičajnem mestu ali s sumom na antifosfolipidni sindrom in pri bolnikih s ponovitvijo idiopatske venske tromboembolije pred 50. letom. Testiranje za trombofilijo pri drugih bolnikih z vensko tromboembolijo pa strokovno in finančno ni upravičeno.

Abstract

Thrombophilia is a condition that increases susceptibility for the development of venous thromboembolism due to accelerated blood clotting. The article describes congenital and acquired thrombophilic conditions, their prevalence, the risk for a first and recurrent venous thromboembolism, and laboratory methods for the determination and evaluation of thrombophilias. Thrombophilia testing has only limited purpose and may be useful in patients with venous thromboembolism only when the results influence the duration of anticoagulant treatment or measures to prevent a recurrence of the disease.

Therefore, thrombophilia testing includes clinically the most important thrombophilias and is recommended only in women of childbearing potential, in patients younger than 50 years with idiopathic venous thrombosis at an unusual site or suspected antiphospholipid syndrome and in patients with recurrence of idiopathic venous thromboembolism before the age of 50 years. Thrombophilia testing in other patients with venous thromboembolism cannot be justified.

Uvod

Venska tromboza in pljučna embolija, ki ju skupaj imenujemo venska trombembolija (VTE), sta pogosti boleznii in predstavljata velik zdravstveni problem. Ker letna pojavnost VTE znaša 1–1,6 na 1.000 oseb,¹ ocenjujemo, da v Sloveniji vsako leto utrpi VTE 2.000 do 3.000 bolnikov. VTE je še vedno nemalokrat prezrta, nezdravljena pa ima lahko za bolnika usodne posledice. V zgodnjem obdobju VTE spremlja visoka umrljivost, v poznem obdobju pa se lahko razvijejo trajne posledice, predvsem pljučna hipertenzija in potrombotični sindrom, ki pomembno zmanjšajo kakovost bolnikovega življenja in prinašajo visoke stroške zdravljenja. Pogostnost ponovitve VTE po zaključku antikoagulacijskega zdravljenja je 3–30 %, odvisno od dejavnika, ki je bolezen sprožil.²

S patofiziološkega stališča nastane VTE kot posledica porušenega dinamičnega ravnovesja med nastankom in razgradnjo fibrina, ki se nagne v smer nastajanja fibrina. Dinamično ravnovesje porušijo elementi Virchowove triade: upočasnjeni pretok krvi, poškodba žilne stene in pospešeno strjevanje krvi. S kliničnega stališča pa k nastanku VTE prispevajo sprožilni dejavniki³ oziroma stanja, ki omogočajo nastanek in vzdrževanje enega ali več prvih Virchowove triade. Sprožilni dejavniki so prehodni ali stalno prisotni. Med prehodne dejavnike tveganja prištevamo operacije, poškodbe, vstavljene intravenske katetre, nepomičnost, dolgotrajne letalske polete, nosečnost in porod, uporabo hormonske kontracepcije in nado-

mestno hormonsko zdravljenje. Med stalno prisotne dejavnike tveganja sodita aktivni rak in nekatere oblike trombofilije.

S pojmom trombofilija označujemo nagnjenost k nastanku tromboz, ki je posledica pospešenega strjevanja krvi. Trombofilijo lahko grobo razdelimo na prirojene in pridobljene oblike. Prirojene oblike trombofilije so posledica mutacij v genih za beljakovine v koagulacijskem sistemu, ki privedejo do izgube funkcije določene beljakovine (pomanjkanje antitrombina, proteina C in proteina S) ali do spremembe funkcije določene beljakovine (polimorfizmi G16910A v genu za faktor V, G20210A v genu za protrombin, C10034T v genu za fibrinogen gama).^{4,5} Pridobljene oblike trombofilije se pojavijo pri nekaterih boleznih (antifosfolipidni sindrom, mieloproliferativne bolezni, paroksizmalna nočna hemoglobinurija, rak, itd.) in stanjih (debelost, nosečnost, uporaba oralnih kontraceptivov) in so posledica povečane koncentracije koagulacijskih beljakovin ali nastanka protiteles, ki pospešujejo strjevanje krvi (antifosfolipidna protitelesa). Nekatere oblike trombofilije označimo kot »mešane« saj imajo genetsko ozadje, a so lahko hkrati tudi pridobljene (hiperhomocisteinemija, povečana koncentracija faktorjev VIII, XI, IX ter neodzivnost na aktivirani protein C, ki ni povezana s polimorfizmom v genu za faktor V).^{6,7} Tveganje za nastanek prve VTE se med posameznimi oblikami trombofilije močno razlikuje (Tabela 1).

Tabela 1: Razdelitev trombofilije glede na tveganje za nastanek prve venske trombembolije (VTE).

Relativno tveganje za VTE	Prirojena trombofilija	Pridobljena trombofilija	Mešana trombofilija
Veliko 5–10	Pomanjkanje antitrombina Pomanjkanje proteina C Pomanjkanje proteina S	Antifosfolipidna protitelesa	
Zmerno 3–5	F V Leiden Protrombin G20210A		Hiperhomocisteinemija Povečana koncentracija F VIII
Majhno 1–3	MTHFR C667T Krvna skupina A, B ali AB		Povečana koncentracija F IX Povečana koncentracija F XI Povečana koncentracija fibrinogena Neodzivnost na aktivirani protein C, ki ni povezana s F V Leiden

Prirojena trombofilija

Pomanjkanje antitrombina

Prevalenca in oblike pomanjkanja antitrombina

Antitrombin je naravni antikoagulant, ki zavre aktivne faktorje koagulacije: trombin, IX, X, XI in XII. Prirojeno pomanjkanje antitrombina je redka oblika trombofilije, ki se deduje avtosomno dominantno. Večinoma gre za heterozigotne oblike različnih mutacij v genu za antitrombin, homozigotne oblike običajno niso združljive z življenjem. V populaciji se pojavlja izjemno redko, v 0,02 %.⁸ Poznamo dva tipa pomanjkanja antitrombina:⁹

- Tip I: kvantitativna oblika pomanjkanja, pri kateri je nastajanje proteina zmanjšano, zato je v plazmi manj kot 50 % normalne koncentracije antitrombina. Tip I je prisoten pri 80 % bolnikov s pomanjkanjem antitrombina.
- Tip II: kvalitativna oblika pomanjkanja, pri kateri nastaja protein z zmanjšano aktivnostjo. Glede na mesto mutacije ločimo tri podtipe (IIa, IIb in IIc).

Pomanjkanje antitrombina in tveganje za VTE

Pomanjkanje antitrombina odkrijemo pri približno 1 % bolnikov z VTE. Tveganje za nastanek prve VTE je pri osebah s pomanjkanjem antitrombina 5- do 8-krat večje,^{10,11} tveganje za ponovitev VTE pa 1,9- do 2,6-krat večje kot pri osebah brez te oblike trombofilije.^{12,13}

Laboratorijske metode določanja pomanjkanja antitrombina

Metoda izbire je funkcijska, z njo izmerimo aktivnost antitrombina s pomočjo razgradnje kromogenega substrata. Bolnikovo plazmo inkubiramo s presežkom trombina ali faktorja Xa. Antitrombin v vzorcu reagira s trombinom ali faktorjem Xa, presežek trombina ali faktorja Xa, ki ga izmerimo s pomočjo kromogenega substrata, pa je obratnosorazmeren aktivnosti antitrombina v vzorcu. Preiskave, ki temeljijo na inhibiciji faktorja Xa, se danes uporabljajo najpogosteje, vendar pa je možno, da ne zajamejo vseh oblik pomanjkanja tipa II. Imunskih metod

za določanje koncentracije antitrombina z merjenjem njegovega antigena rutinsko ne uporabljamo, saj ne odkrijejo pomanjkanj tipa II.^{14,15}

Diagnoze nikoli ne potrdimo na podlagi enega samega patološkega rezultata, pač pa meritev vedno ponovimo z novim vzorcem krvi. Meritev praviloma ne opravljamo v obdobju akutne VTE, med zdravljenjem s heparini, ki zmanjšajo vrednosti antitrombina, ter med zdravljenjem s kumarini, ko so vrednosti antitrombina lahko prehodno povečane in lahko pomanjkanje ostane prikrito.

Pomanjkanje proteina C

Prevalenca in oblike pomanjkanja proteina C

Protein C je naravni antikoagulant, ki skupaj s proteinom S inhibira aktivna faktorja koagulacije V in VIII in s tem omeji nastajanje trombina. Prirojeno pomanjkanje proteina C je posledica različnih mutacij v genu za protein C, ki se najpogosteje dedujejo avtosomno dominantno. Odrasli bolniki imajo heterozigotne oblike mutacij v genu za protein C, pri homozigotnih nosilcih pa se hudi, večinoma usodni trombotični zapleti (npr. purpura fulminans) pojavijo že takoj po rojstvu.¹⁶ V populaciji se pomanjkanje proteina C pojavlja zelo redko, v 0,2 %.¹⁷ Poznamo dva tipa pomanjkanja proteina C:

- Tip I: najpogostejša, kvantitativna oblika pomanjkanja, ki je posledica zmanjšane nastajanja ali zmanjšane stabilnosti proteina, zato sta aktivnost in raven antigena proteina C zmanjšana na okoli 50 % normalnih vrednosti.
- Tip II: kvalitativna oblika, pri kateri nastaja protein z zmanjšano aktivnostjo, zato je v plazmi koncentracija antigena proteina C običajno normalna, aktivnost pa zmanjšana.

Pomanjkanje proteina C in tveganje za VTE

Pomanjkanje proteina C odkrijemo pri približno 3 % bolnikov z VTE. Tveganje za nastanek prve VTE je pri osebah s pomanjkanjem antitrombina do 7-krat večje,¹¹ tveganje za ponovitev VTE pa 1,4- do 1,8-krat večje kot pri osebah brez te oblike trombofilije.^{12,18}

Laboratorijske metode določanja pomanjkanja proteina C

Metoda izbire je funkcijska. Aktivnost proteina C lahko izmerimo s pomočjo koagulacijske ali kromogene metode. S koagulacijskimi metodami dobimo lažno visoke rezultate ob prisotnosti lupusnih antikoagulantov in direktnih inhibitorjev trombina ter lažno nizke rezultate ob povečani koncentraciji faktorja VIII, neodzivnosti na aktivirani protein C in ob zdravljenju s kumarini. Zato je bolj priporočljiva uporaba kromogene metode, čeprav z njo nekaterih redkih oblik pomanjkanja tipa II ne odkrijemo.¹⁹ Pri kromogeni metodi aktiviramo protein C v plazmi s kačjim strupom, trombinom ali kompleksom trombin-trombomodulin. Aktivirani protein C nato cepi specifičen substrat, katerega obarvanost lahko izmerimo. Imunskih metod za določanje antigena proteina C rutinsko ne uporabljamo, z njimi lahko ločimo ali gre za pomanjkanje tipa I ali II, ne moremo pa odkriti pomanjkanja tipa II.

Diagnozo vedno potrdimo z dokazom pomanjkanja proteina C na dveh različnih vzorcih krvi bolnika. Meritev ne opravljamo v obdobju akutne VTE ter med zdravljenjem s heparini in kumarini.

Pomanjkanje proteina S

Prevalenca in oblike pomanjkanja proteina S

Protein S je kofaktor proteina C pri inaktivaciji aktivnih faktorjev V in VIII, koagulacijo pa lahko inhibira tudi neodvisno od aktiviranega proteina C. V krvi ga je 40 % v prosti, aktivni obliki in 60 % v neaktivni obliki, vezanega na C4b-vezavni protein komplementa.²⁰ Prirojeno pomanjkanje proteina S je posledica različnih mutacij v genu za protein S, ki se dedujejo avtosomno dominantno. Podobno kot pri pomanjkanju proteina C imajo homozigotni nosilci hude trombotične zaplete že takoj po rojstvu. V populaciji se pojavlja zelo redko, v 0,2 %.²¹ Poznamo tri tipe pomanjkanja proteina S:

- Tip I: najpogostejša, kvantitativna oblika pomanjkanja, ki je posledica zmanjšane nastajanja proteina. Zato je raven celokupnega proteina S zmanjšana na okoli 50 % normalnih vrednosti, pomembno

manjša je tudi raven prostega proteina S in njegova aktivnost.

- Tip II: zelo redka, kvalitativna oblika, pri kateri nastaja protein z zmanjšano aktivnostjo, zato je v plazmi koncentracija celokupnega in prostega antigena proteina S normalna, aktivnost pa zmanjšana.
- Tip III: kvantitativna oblika, pri kateri je koncentracija celokupnega proteina S normalna, zmanjšana pa je raven prostega proteina S in njegove aktivnosti na manj kot 40 % normalnih vrednosti.

Pomanjkanje proteina S in tveganje za VTE

Pomanjkanje proteina S odkrijemo pri približno 1–2 % bolnikov z VTE. Nekatere raziskave niso potrdile povečanega tveganja za nastanek prve VTE pri bolnikih s pomanjkanjem proteina S,¹¹ medtem ko so druge, predvsem družinske raziskave pokazale 8,5-krat večje tveganje.¹⁰ Tveganje za ponovitev VTE je okrog 1,4-krat večje kot pri osebah brez te oblike trombofilije.¹²

Laboratorijske metode določanja pomanjkanja proteina S

Metoda izbire je imunska preiskava za merjenje prostega proteina S, saj bistveno bolje ločuje med heterozigotnimi nosilci pomanjkanja proteina S in normalnimi osebami kot merjenje celokupnega proteina S.²² Danes so dostopne imunske metode (encimskoimunske ali imunoturbidimetrične) z monoklonskimi protitelesi, specifičnimi za prosti protein S. Z merjenjem prostega proteina S potrdimo kvantitativni pomanjkanje tipa I in III, ki se pojavljata najpogostejše, ne moremo pa odkriti izjemno redkega pomanjkanja tipa II. Funkcijske preiskave (merjenje aktivnosti proteina S) so zelo slabo specifične, saj lahko številni dejavniki povzročijo lažno povečano ali zmanjšano aktivnost proteina S.

Diagnozo vedno potrdimo z dokazom pomanjkanja proteina S na dveh različnih vzorcih krvi bolnika. Meritev ne opravljamo v obdobju akutne VTE, druge akutne bolezni ali vnetja, med zdravljenjem s kumarini, v nosečnosti ter ob jemanju oralnih kontraceptivov ali hormonskega nadomestnega zdravljenja, saj je tedaj koncentracija proteina S zmanjšana.

Polimorfizem G16910A v genu za faktor V (Faktor V Leiden)

Prevalenca in pomen faktorja V Leiden

Faktor V je plazemski glikoprotein, ki sodeluje kot kofaktor pri aktiviranju faktorja X. Najpomembnejši zaviralec faktorja V je aktivirani protein C. Polimorfizem G16910A v genu za faktor V (faktor V Leiden) je posledica točkovne mutacije na mestu 1691 (zamenjava gvanina za adenin), ki ima za posledico zamenjavo arginina z glutaminom na aminokislinskem mestu 506 faktorja V. Tako spremenjen faktor V je manj dovzeten za inaktivacijo z aktiviranim proteinom C, zato se nastajanje trombina poveča. Stanje imenujemo tudi neodzivnost na aktivirani protein C. Zaradi polimorfizma je okrnjena tudi inaktivacija faktorja VIII.^{23,24} Polimorfizem se deduje avtosomno dominantno. Najpogosteje se pojavlja pri belcih, v 2–16 %, izjemno redko pa pri Azijcih in Afričanih.²⁵ V homozigotni obliki se pojavlja pri 1,5 % populacije.

Faktor V Leiden in tveganje za VTE

Faktor V Leiden je najpogostejša oblika trombofilije in jo v heterozigotni obliki najdemo kar pri petini bolnikov z VTE. V homozigotni obliki se pojavlja redkeje, pri približno 2 % bolnikov. Tveganje za prvo VTE je pri heterozigotnih nosilcih mutacije 2- do 7-krat večje kot pri osebah brez tega polimorfizma, pri homozigotih pa celo 80-krat večje.^{10,26} Tveganje za ponovitev VTE je majhno 1,4-kratno.¹³

Laboratorijske metode določanja faktorja V Leiden

Faktor V Leiden določamo z gensko analizo, ki temelji na kvantitativni verižni reakciji s polimerazo (PCR). Analizo lahko opravimo kadar koli, saj akutna bolezen ali antikoagulacijsko zdravljenje na rezultat ne vplivata.

Polimorfizem G20210A v genu za protrombin

Prevalenca in pomen protrombina G20210A

Protrombin je predhodnik trombina. Polimorfizem G20210A v genu za protrombin je posledica točkovne mutacije (zamenjava

gvanina za adenin) na mestu 20210 na 3' neprevedenem koncu gena za protrombin. Zamenjava vodi do pospešenega prepisovanja gena in stabilnejše ter učinkovitejše informacijske RNA, zato se poveča koncentracija plazemskega protrombina. Zato pride do pospešenega nastajanja trombina. Zaradi delovanja protrombina na aktivirani protein C in S pa se razvije tudi neodzivnost na aktivirani protein C. Poleg tega lahko protrombin vpliva na strukturo krvnega strdka in zavira fibrinolizo.^{27,28} Polimorfizem se deduje avtosomno dominantno. V populaciji se pojavlja v 0,7–4 %.²⁹

Protrombin G20210A in tveganje za VTE

Polimorfizem najdemo pri 6,3 % bolnikov z VTE. Tveganje za prvo VTE je pri heterozigotnih nosilcih mutacije 3-krat večje kot pri osebah brez tega polimorfizma.²⁷

Tveganje za ponovitev VTE je majhno 0,7- do 1,7-kratno.^{13,18}

Laboratorijske metode določanja protrombina G20210A

Podobno kakor Faktor V Leiden, tudi protrombin G20210A določamo z gensko analizo, ki temelji na PCR. Analizo lahko opravimo kadar koli, saj akutna bolezen ali antikoagulacijsko zdravljenje na rezultat ne vplivata.

Pridobljena trombofilija

Med najpogostejše oblike pridobljene trombofilije sodi prisotnost antifosfolipidnih protiteles v sklopu antifosfolipidnega sindroma. V to skupino pa sicer prištevamo tudi pridobljeno trombofilijo v okviru nekaterih bolezni, predvsem raka in hematoloških bolezni, kot so paroksizmalna nočna hemoglobinurija in mieloproliferativne bolezni.

Prisotnost antifosfolipidnih protiteles

Prevalenca in vrste antifosfolipidnih protiteles

Antifosfolipidna protitelesa so heterogena družina protiteles. Mednje sodijo protitelesa proti fosfolipidom, protitelesa proti kompleksom fosfolipidov s serumskimi

proteini in protitelesa proti nekaterim serumskim proteinom. Antifosfolipidna protitelesa zasledimo pri številnih boleznih, kot so avtoimunske in rakave bolezni, okužbe in druge bolezni. Vendar se trombotični zapleti in zapleti v nosečnosti pojavijo v povezavi z antifosfolipidnimi protitelesi le pri bolnikih s sistemskimi avtoimunskimi boleznimi in v primeru primarnega antifosfolipidnega sindroma (APS). Antifosfolipidna protitelesa, ki opredeljujejo APS, niso usmerjena neposredno proti fosfolipidom, ampak proti fosfolipide vezajoči plazemski beljakovini β_2 -glikoproteinu I. Po trenutno veljavnih merilih lahko postavimo diagnozo APS, če izpolnjuje bolnik poleg enega ali več kliničnih znakov (tromboza v venskem ali arterijskem žilnem sistemu, histološko potrjene tromboze malih žil ali zapleti v nosečnosti) še vsaj eno od laboratorijskih meril. Laboratorijska merila vključujejo prisotnost ene ali več skupin antifosfolipidnih protiteles, dokazane vsaj dvakrat v časovnem presledku 12 tednov:

- srednje ali visoko pozitivni titri IgG ali IgM antikardiolipinskih protiteles (aCL),
- protitelesa proti β_2 -glikoproteinu I (anti- β_2 GPI),
- lupusni antikoagulanti (LA).

Mehanizem trombogenega delovanja antifosfolipidnih protiteles še ni dokončno razjasnjen. Domnevajo, da preko različnih mehanizmov zavirajo fiziološko antikoagulacijsko aktivnost ter spodbujajo aktivacijo trombocitov, monocitov in endotelijskih celic, vpletajo pa se tudi v delovanje komplemnega sistema.³⁰ Pojavnost antifosfolipidnih protiteles v splošni populaciji ocenjujejo na 1–5 %, večja je pri starostnikih.³²

Antifosfolipidna protitelesa in tveganje za VTE

Antifosfolipidna protitelesa so prisotna pri okrog 20 % bolnikov s prvo VTE,^{33,34} vendar vsi bolniki ne izpolnjujejo meril za diagnozo antifosfolipidnega sindroma. Tveganje za prvo VTE je največje, 4- do 16-kratno, ob prisotnosti LA. Tveganje ob prisotnosti aCL je manjše, le 2- do 3-kratno, predvsem če so prisotni visoki titri protiteles razreda IgG.³⁵ Tveganje ob prisotnosti anti- β_2 GPI, predvsem razreda IgG, je oce-

njeno kot 5-krat večje kot pri osebah brez teh protiteles.³⁶ Prisotnost vseh treh vrst protiteles hkrati je povezana s kar 33-krat večjim tveganjem za prvo VTE v primerjavi z osebami brez njih.³⁷ Tveganje za ponovitev venske tromboze je manj raziskano. Ocenjujejo, da prisotnost LA oziroma aCL v srednje ali visoko pozitivnem titru poveča tveganje za ponovitev VTE za 2- do 6-krat, o vplivu prisotnosti anti- β_2 GPI pa ni zanesljivih podatkov.³⁸

Laboratorijske metode določanja antifosfolipidnih protiteles

LA določamo s koagulacijskimi metodami. Zaradi slabše občutljivosti posameznih metod vedno uporabimo dve različni metodi. Prva metoda izbire je koagulacijska metoda z razredčenim strupom gada (diluted Russell viper venom time, dRVVT), ki je najbolj specifična. Za drugo metodo uporabimo aktivirani parcialni tromboplastinski čas s kremenom kot aktivatorjem in nizko koncentracijo fosfolipidov. V primeru, da je katera koli preiskava pozitivna, izvedemo potrditveni test z uporabo večje koncentracije fosfolipidov. Ustrezen vzorec za preiskavo je citratna plazma brez trombocitov, ki jih odstranimo s filtriranjem ali dvojnimi centrifugiranjem. Če preiskave ne opravimo takoj, moramo plazmo zamrzniti v tekočem dušiku in hraniti pri -70 °C.³⁹

aCL in anti- β_2 GPI določamo z imunskimi metodami. Uporabljamo standardizirane ELISA metode. Rezultate za aCL izražamo semikvantitativno (negativni, šibko, srednje ali visoko pozitivni) in glede na razred protiteles (IgG, IgM, IgA). Kot spodnjo mejo za srednje pozitivna aCL uporabimo 99. percentil zdrave populacije. Za anti- β_2 GPI zaradi slabše standardizacije metod priporočajo numerično izražanje rezultatov. V vsaki seriji meritev uporabimo zunanjo kontrolo, ki ima vrednost blizu razmejivene. Vzorec je praviloma serum.⁴⁰

Antifosfolipidna protitelesa določamo šele 12 ali več tednov po akutni VTE, saj so lahko rezultati v obdobju akutne bolezni lažno pozitivni. Antikoagulacijsko zdravljenje na rezultate preiskav za določanje prisotnosti aCL in anti- β_2 GPI ne vpliva, medtem ko LA lahko določamo šele po ukinitvi antiko-

agulacijskega zdravljenja. Pozitivni rezultat katerih koli protiteles je potrebno potrditi v novem vzorcu, ki ga odvzamemo 12 tednov po prvi meritvi.

Mešane oblike trombofilije

Hiperhomocisteinemija

Prevalenca in pomen hiperhomocisteinemije

Homocistein je aminokislina, ki nastaja kot vmesni presnovek metionina. V telesu se presnavlja po dveh poteh: v procesu transulfuracije se iz homocisteina tvori cistation s cistation- β -sintazo in kofaktorjem vitaminom B6, v procesu remetilacije pa iz homocisteina nastaja metionin. Slednji proces katalizira metionin-sintaza, ki za kofaktor uporablja vitamin B12, kot donor metilne skupine pa metil-tetrahidrofolat, ki nastane iz folata s pomočjo metiltetrahidrofolat reduktaze (MTHFR). Pomanjkanje ali zmanjšanje aktivnosti encimov za presnovo homocisteina oziroma pomanjkanje vitaminov B6, B12 ali folne kisline povzroči kopičenje homocisteina. Mehanizmi nastanka VTE ob hiperhomocisteinemiji niso pojasnjeni, domnevajo, da povečana koncentracija homocisteina okvari žilni endotel in vpliva na nekatere faktorje koagulacije.⁴¹

Hiperhomocisteinemija je lahko huda, s plazemskimi koncentracijami homocisteina nad 100 $\mu\text{mol/l}$, ali blaga do zmerna, s plazemskimi koncentracijami homocisteina 15–100 $\mu\text{mol/l}$. Prirojene in pridobljene vzroki zanjo se med seboj prepletajo. Hudo hiperhomocisteinemijo najdemo le pri prirojenem pomanjkanju cistation- β -sintaze ali MTHFR v homozigotni obliki, ki sta izjemno redki avtosomno recesivni bolezni in se kažeta z zgodnjimi trombemboličnimi zapleti in razvojni zaostankom. Blaga do zmerna hiperhomocisteinemija je najpogostejše posledica točkovne mutacije na mestu 677 v genu za MTHFR (zamenjava citozina za timin), ki vodi do nastanka encima z zmanjšano aktivnostjo. Pojavi se le pri homozigotnih nosilcih polimorfizma MTHFR C667T ob sočasnem pridobljenem vzroku – pomanjkanju folne kisline.⁴² Ostali pridobljeni vzroki hiperhomocisteinemije so pomanjkanje vitaminov B12 in B6, kronična

ledvična bolezen, hipotiroidizem, kronična vnetna črevesna bolezen in revmatoidni artritis.⁴¹

Hiperhomocisteinemija je prisotna pri 5–7 % splošne populacije. Homozigotne oblike pomanjkanja cistation- β -sintaze in MTHFR so zelo redke, prisotne pri pri manj kot 0,001 %, heterozigotne oblike pa pri 0,4–1,5 % populacije.⁴¹ Polimorfizem MTHFR C667T v homozigotni obliki je pogostejši in se v naši populaciji pojavlja pri 13 % oseb.⁴³

Hiperhomocisteinemija in tveganje za VTE

Hiperhomocisteinemija je prisotna pri 15 % bolnikov z VTE. Relativno tveganje za nastanek prve VTE znaša 2,5,⁴⁴ tveganje za ponovitev VTE pa je zelo majhno, 0,9-kratno.^{18,45} Nadomestno zdravljenje z vitamini B6, B12 in folno kislino učinkovito zmanjša raven serumskega homocisteina, vendar pa na ponovitve VTE ne vpliva.⁴⁶ Polimorfizem MTHFR C667T v homozigotni obliki je pri bolnikih z VTE enako pogost kot v populaciji in ni jasno povezan s povečanim tveganjem za VTE.⁴⁷

Laboratorijske metode določanja hiperhomocisteinemije

Koncentracijo homocisteina v plazmi določamo z encimskoimunskimi metodami, polimorfizem MTHFR C667T pa z gensko analizo.

Povečana koncentracija faktorja VIII

Prevalenca in pomen povečane koncentracije faktorja VIII

Faktor VIII deluje kot kofaktor aktivnega faktorja IX pri aktivaciji faktorja X. Večina faktorja VIII se v krvi nahaja v obliki kompleksa s von Willebrandovim faktorjem. O povečani koncentraciji faktorja VIII govorimo, kadar le-ta presega 90. percentil koncentracije faktorja VIII v zdravi populaciji (> 150 % normale). Na koncentracijo faktorja VIII vplivajo starost, spol, nosečnost, akutne in kronične bolezni, vnetje, rak in posegi, odvisna pa je tudi od krvne skupine; osebe s krvno skupino o imajo namreč za 25–30 % manjšo koncentracijo faktorja VIII kot osebe z drugimi krvnimi skupinami.⁴⁸ Opazno je tudi pojavljanje povečane koncentracije faktorja VIII znotraj družin, ki

ga ni moč pojasniti le s krvno skupino,^{49,50} zato velja mnenje, da je povečana koncentracija faktorja VIII vsaj delno tudi genetsko pogojena. Opisali so polimorfizem gena za protein, ki posredno sodeluje pri razgradnji faktorja VIII in je povezan tako s povečano koncentracijo faktorja VIII kot tudi z večjim tveganjem za VTE.⁵¹ Domnevajo, da povečana koncentracija faktorja VIII povečuje tveganje za nastanek VTE predvsem preko povečane tvorbe trombina,⁵² možno pa je, da vpliva tudi na odzivnost na aktivirani protein C. V populaciji se povečana koncentracija faktorja VIII pojavlja v 11 %.⁵³

Povečana koncentracija faktorja VIII in tveganje za VTE

Povečano koncentracijo faktorja VIII odkrijemo pri okrog 25 % bolnikov z VTE.⁵³ Tveganje za nastanek prve VTE je pri osebah s povečano koncentracijo faktorja VIII do 5-krat večje.^{53,54} Podatki o tveganju za ponovitev VTE se precej razlikujejo: od 1,3-kratnega,¹⁸ 2,5-kratnega⁵⁵ do 6-kratnega.⁵⁶ Razlike so posledica različnih metod določanja faktorja VIII in prisotnosti številnih dejavnikov, ki vplivajo na njegovo plazemsko koncentracijo.

Laboratorijske metode določanja faktorja VIII

Metoda izbire je funkcijska, aktivnost faktorja VIII določimo z merjenjem razgradnje kromogenega substrata. Dostopne so tudi encimskoimunske metode za merjenje koncentracije faktorja VIII. Koagulacijske metode, ki jih uporabljamo za ugotavljanje zmanjšane aktivnosti faktorja VIII, za merjenje povečane aktivnosti tega faktorja niso primerne.

Meritev opravimo vsaj 3 mesece po VTE, nikoli v času zdravljenja s kumarini, saj je lahko koncentracija faktorja VIII tedaj povečana.⁵⁷ Pri interpretaciji rezultatov moramo vedno upoštevati morebitno prisotnost dejavnikov, ki povečajo koncentracijo faktorja VIII. Diagnozo vedno potrdimo s ponovitvijo preiskave 12 mesecev po preboleli VTE.⁵⁸

Povečana koncentracija faktorjev IX in XI

Prevalenca in pomen povečane koncentracije faktorjev IX in XI

Koagulacijska faktorja IX in XI sta serinski proteazi intrinzične poti koagulacije, ki se aktivirata drug za drugim. Njuna aktivnost in koncentracija variirata med 50 in 150 % vrednosti normalne zmesne plazme. Povečani sta pri starejših ljudeh in ob uporabi oralnih kontraceptivov. O povečanih koncentracijah govorimo, kadar vrednosti presegajo 90. percentil: > 129 E/dL pri koncentraciji faktorja IX in > 120 E/dL pri koncentraciji faktorja XI. Tako povečane koncentracije lahko vodijo do pospešenega nastajanja trombina. V populaciji se pojavljajo v 10 %.^{59,60}

Povečana koncentracija faktorjev IX in XI in tveganje za VTE

Povečano koncentracijo faktorjev IX in XI odkrijemo pri okrog 20 % bolnikov z VTE. Relativno tveganje za nastanek prve VT je pri povečani koncentraciji faktorja IX 2,5, pri povečani koncentraciji faktorja XI pa 2,2.^{59,60} Tveganje za ponovitev bolezni je zelo majhno; pri povečani koncentraciji faktorja IX je 1,2-kratno, pri povečani koncentraciji faktorja XI pa 0,6-kratno.¹⁸

Laboratorijske metode določanja faktorjev IX in XI

Koncentracijo faktorjev IX in XI določimo z encimskoimunskimi metodami. Merimo lahko tudi aktivnost faktorjev z določanjem časa nastanka strdka.

Povečana koncentracija fibrinogena

Prevalenca in pomen povečane koncentracije fibrinogena

Fibrinogen je glikoprotein, iz katerega s pomočjo trombina ob koncu koagulacijske kaskade nastane fibrin. O povečani koncentraciji fibrinogena govorimo, kadar le-ta presega 95. percentil koncentracije fibrinogena v zdravi populaciji (> 4,5 g/L).⁶¹ Domnevajo, da je povečana koncentracija fibrinogena povezana z nastankom večjega in bolj trdnega strdka, ki je manj podvržen fibrinolizi. V populaciji se pojavlja v 5 %.

Povečana koncentracija fibrinogena in tveganje za VTE

Povečano koncentracijo fibrinogena odkrijemo pri okrog 3 % bolnikov z VTE.⁶² Relativno tveganje za nastanek prve VTE je pri povečani koncentraciji fibrinogena v celotni populaciji 2,8, pri starejših od 45 let pa kar 4,2.^{61,62} Tveganje za ponovitev VTE je majhno, 1,7-kratno.¹⁸

Laboratorijske metode določanja fibrinogena

Koncentracijo fibrinogena merimo v citratni plazmi z modificirano Claussovo metodo.

Neodzivnost na aktivirani protein C, ki ni povezana s faktorjem V Leiden

Prevalenca in pomen

Aktivirani protein C deluje kot naravni zaviralec koagulacije. Nastajanje trombina zavira tako, da cepi aktivirana koagulacijska faktorja V in VIII. Kadar v *in vitro* pogojih z dodatkom aktiviranega proteina C plazmi ne izzovemo ustreznega podaljšanja časa strjevanja krvi, govorimo o neodzivnosti na aktivirani protein C. Neodzivnost na aktivirani protein C je lahko dedno pogojena ali pridobljena. Dedno pogojena neodzivnost na aktivirani protein C je v 95 % posledica prisotnosti faktorja V Leiden, v preostalih 5 % pa jo povzročajo druge mutacije v genu za faktor V (HR2 haplotip, FV Liverpool, FV Cambridge) in druge oblike trombofilije (pomanjkanje proteina S, mutacija v genu za protrombin). Pridobljeno neodzivnost na aktivirani protein C najdemo pri povečani koncentraciji faktorja VIII, prisotnosti lupusnih antikoagulantov, v nosečnosti, pri uporabnicah hormonske kontracepcije ali hormonskega nadomestnega zdravljenja in pri bolnikih s plazmocitomom.⁶⁴ V populaciji se pojavlja pri do 10 % oseb.⁶⁵

Tveganje za VTE

Neodzivnost na aktivirani protein C, ki ni posledica faktorja V Leiden, je neodvisni dejavnik tveganja za VTE, ki je prisoten pri do 25 % bolnikov z VTE. Tveganje za prvo VTE povečuje za 2,5-krat, odvisno pa je od stopnje neodzivnosti.⁶⁵ Podatkov o tveganju za ponovitev VTE ni.

Laboratorijske metode za ugotavljanje neodzivnosti na aktivirani protein C

Neodzivnost na aktivirani protein C ugotavljamo s pomočjo preiskave, ki temelji na aktiviranem parcialnem tromboplastinskem času z dodatkom aktiviranega proteina C in brez njega.⁶⁶ Rezultate izražamo v obliki razmerja med obema časoma. Preiskava je dobro občutljiva, vendar za ugotavljanje prisotnosti faktorja V Leiden, ki je glavni vzrok za neodzivnost na aktivirani protein C, ni dovolj specifična.

Krvne skupine

Pomen in prevalenca krvnih skupin

Gen za krvno skupino ABO kodira številne glikozil-transferaze, ki sodelujejo pri nastanku antigenov A in B. Ti antigeni ležijo na površini von Willebrandovega faktorja in upočasnjujejo njegovo razgradnjo. Von Willebrandov faktor je glavni določitelj koncentracije faktorja VIII. Osebe s krvno skupino A, B ali AB imajo zato večjo koncentracijo von Willebrandovega faktorja in faktorja VIII kot osebe s krvno skupino O. Najverjetneje je to najpomembnejši razlog za povečano tveganje za VTE pri bolnikih s krvnimi skupinami A, B in AB.⁶⁷⁻⁶⁹ V Sloveniji ima krvno skupino A približno 40 %, O 38 %, B 15 % in AB 7 % ljudi.

Krvne skupine in tveganje za VTE

Že v šestdesetih letih prejšnjega stoletja so poročali, da je pojavnost VTE manjša pri osebah s krvno skupino O.⁷⁰ Bolniki s krvno skupino A ali B imajo približno 1,8-krat, bolniki s krvno skupino AB pa do 2,7-krat večje tveganje za prvo VTE kot bolniki s krvno skupino O.^{67,71} Pogostnost ponovitev VTE pa se med bolniki s krvno skupino O in tistimi s krvno skupino A, B ali AB ne razlikuje.⁷²

Izbor testov trombofilije pri bolniku z VTE

Nastanek VTE najpogosteje povzroči več sočasno prisotnih sprožilnih dejavnikov. Posamezni sprožilni dejavnik na obliko zdravljenja VTE ne vpliva, določa pa trajanje zdravljenja. Glavni cilj podaljšane zdravljenja je preprečevanje ponovitev

VTE. Tveganje za ponovitev bolezni je najmanjše ob prisotnosti prehodnih sprožilnih dejavnikov (okoli 8 % v 2 letih po zaključku zdravljenja), največje pa pri bolnikih z idiopatsko VTE, za katero jasnega sprožilnega dejavnika ne najdemo (20 % v 2 letih po zaključku zdravljenja).¹³ Kar pri polovici bolnikov z VTE je prisotna ena izmed oblik trombofilije, vendar večina oblik na ponovitve VTE bistveno ne vpliva (Tabela 2). Določanje vseh oblik trombofilije pri vseh bolnikih z VTE zato ni ne strokovno, ne finančno upravičeno. Posamezne oblike trombofilije je smiselno določati le v primerih, ko lahko vplivajo na trajanje zdravljenja ali na ukrepe pri stanjih, ko je tveganje za ponovitev VTE povečano (npr.: nosečnost, uporaba hormonskih kontraceptivov, nadomestnega hormonskega zdravljenja, velike operacije, poškodbe z imobilizacijo).

V slovenskem prostoru se trenutno opravljajo številni testi trombofilije, pogosto povsem neselektivno in brez premisleka, ali in kako vplivajo na obravnavo bolnika. Rutinsko testiranje za trombofilijo pri bolnikih s prebolelo VTE večina strokovnjakov odsvetuje, nekateri pa izpostavijo posamezne skupine bolnikov, pri katerih so lahko posamezni testi trombofilije v pomoč pri odločitvah o nadaljnjem zdravljenju.⁷³⁻⁷⁹

V nadaljevanju predstavljamo skupine bolnikov, pri katerih je smiselno opraviti izbrane teste trombofilije (Tabela 3).

Ženske v rodnem obdobju z idiopatsko VTE

Pri ženskah, ki so utrpel idiopatsko VTE in v prihodnosti načrtujejo nosečnost, lahko

opravimo določitev antitrombina, proteina C in S, genetiko za ugotavljanje faktorja V Leiden in protrombina G20210A ter antifosfolipidnih protiteles. Zaradi povečanega tveganja za ponovitev VTE ob potrjenem pomanjkanju antitrombina, proteina C ali S, bosta morala biti nosečnost in poporodno obdobje skrbno nadzorovana, uporaba oralnih kontraceptivov pa odsvetovana. Podobno velja tudi za odkritje nosilk faktorja V Leiden in/ali protrombina G20210A, saj se pri njih tveganje za VTE ob uporabi oralnih kontraceptivov poveča za 15-krat, v nosečnosti pa celo 35-krat.⁷⁴ Potrditev antifosfolipidnega sindroma bo vplivala na trajanje zdravljenja VTE in na vodenje teh bolnic v nosečnosti in v poporodnem obdobju.

Mlajši moški z idiopatsko VTE

Pri moških, mlajših od 50 let, z idiopatsko VTE določimo antifosfolipidna protitelesa. V primeru izpolnjenih kliničnih in laboratorijskih meril za APS se bomo odločili za trajno antikoagulacijsko zdravljenje.

Mlajši bolniki z idiopatsko vensko trombozo na neobičajnem mestu

Kot neobičajna mesta venske tromboze pojmuje trombozo možganskih venskih sinusov ter trombozo vene porte, vene lienalis, mezenteričnih ven ter hepatalnih ven. Na teh mestih se VT pojavlja redko, vendar lahko ogrozi življenje. Pri bolnikih, mlajših od 50 let, z idiopatsko vensko trombozo na neobičajnem mestu določimo antitrombin, protein C in S, genetiko za ugotavljanje faktorja V Leiden in protrombina G20210A

Tabela 2: Razvrstitev prirojenih in pridobljenih oblik trombofilije glede na tveganje za ponovitev venske tromboze (VTE).

Tveganje za ponovitev VTE	Oblika trombofilije	Relativno tveganje
Veliko	Antifosfolipidna protitelesa Kombinacija faktor V Leiden in Protrombin G20210A	2–6 1,4–5,0
Majhno	Pomanjkanje antitrombina Pomanjkanje proteina C Pomanjkanje proteina S F V Leiden Protrombin G20210A Povečana koncentracija fibrinogena Povečana koncentracija F VIII	1,9–2,6 1,4–1,8 1,4 1,4 0,7–1,7 1,7 1,3–6
Zelo majhno	Hiperhomocisteinemija Povečana koncentracija faktorja IX in XI	0,9 0,6–1,2

ter antifosfolipidna protitelesa. Potrditev pomanjkanja antitrombina, proteina C ali S, antifosfolipidnega sindroma ali odkritje homozigotnih nosilcev ali nosilcev kombinacije heterozigotnih oblik polimorfizmov faktorja V Leiden in protrombina G20210A ali drugih kombinacij trombofilij bo pomagala pri odločitvi v prid trajnega antikoagulacijskega zdravljenja. Pri mlajših bolnikih z vensko trombozo na neobičajnem mestu ne smemo pozabiti na možnost pridobljene trombofilije v sklopu nekaterih hematoloških bolezni, zato moramo v skladu s klinično sliko opraviti dodatne usmerjene preiskave (genetska analiza za ugotavljanje mutacije gena JAK2 V617F ter preiskave za ugotavljanje prisotnosti klona paroksizmalne nočne hemoglobinurije).

Mlajši bolniki s ponovitvijo idiopatske VTE

Teste za ugotavljanje pomanjkanja antitrombina, proteina C in S ter genetiko za ugotavljanje faktorja V Leiden in protrombina G20210A lahko opravimo tudi pri bolnikih, ki so utrpeli 2 ali več idiopatskih VTE pred 50. letom, zlasti, če so se idiopatske

VTE pojavljale tudi pri sorodnikih prvega kolena. Običajno pri bolnikih s ponovitvijo idiopatske VTE opravimo tudi določitev antifosfolipidnih protiteles. Rezultat teh testiranj sicer na trajanje zdravljenja, ki je pri ponovitvi idiopatske VTE praviloma trajno, ne bo vplival, pomemben pa bo pri odločitvah ob morebitnem nastopu zadržkov za nadaljevanje zdravljenja in pri genetskem svetovanju.

Osebe brez simptomov

Pri sorodnikih bolnikov z VTE testov za trombofilijo rutinsko ne opravljamo. Posamezne oblike trombofilije je smiselno določiti le pri ženskah, ki želijo zanositi ali uporabljati oralne kontraceptive in izhajajo iz družin, v katerih se pojavlja pomanjkanje antitrombina, proteina C ali S, oziroma so potomke nosilcev homozigotnih mutacij faktorja V Leiden ali protrombina G20210A. Letno tveganje za VTE je pri družinskem pomanjkanju antitrombina, proteina C ali S ob uporabi oralnih kontraceptivov in v nosečnosti ocenjeno na okoli 4 %. Pri nosilkah faktorja V Leiden ali protrombina G20210A

Tabela 3: Določanje posameznih oblik prirojene in pridobljene trombofilije pri bolnikih z vensko trombozijo. (VTE-venska trombozija, VT-venska tromboza, MTHFR- metiltetrahidrofolat reduktaza, PNH-paroksizmalna nočna hemoglobinurija).

Oblika trombofilije	Ženske v rodnem obdobju z idiopatsko VTE	Moški, mlajši od 50 let, z idiopatsko VTE	Osebe, mlajše od 50 let, z idiopatsko VT na neobičajnem mestu	Osebe, mlajše od 50 let, s ponovitvijo idiopatske VTE
Pomanjkanje antitrombina, proteina C in S	DA	NE	DA	DA
Faktor V Leiden in protrombin G20210A	DA	NE	DA	DA
Antifosfolipidna protitelesa	DA	DA	DA	DA
Hiperhomocisteinemija	NE	NE	NE	NE
MTHFR C667T	NE	NE	NE	NE
Povečana koncentracija faktorja VIII	NE	NE	NE	NE
Povečana koncentracija faktorja IX in XI	NE	NE	NE	NE
Povečana koncentracija fibrinogena	NE	NE	NE	NE
Neodzivnost na aktivirani protein C, ki ni povezana s F V Leiden	NE	NE	NE	NE
Krvna skupina A, B ali AB	NE	NE	NE	NE
Pridobljena trombofilija v sklopu hematološke bolezni	NE	NE	JAK2 V617F Klon PNH	NE

pa je letno tveganje za VTE ob uporabi oralnih kontraceptivov okoli 0,5 %, v nosečnosti pa 2–16 %.⁷⁴

Testov za določitev ostalih oblik trombofilije v teh skupinah bolnikov ne izvajamo, saj je njihova napovedna vrednost za ponovitev VTE premajhna, na odločitev o trajanju zdravljenja pa ne vplivajo. Pri bolnikih, ki ne sodijo v nobeno od navedenih skupin (predvsem bolniki z jasnimi sprožilnimi dejavniki za VTE), testov za ugotavljanje prisotnosti prirojenih ali pridobljenih oblik trombofilije ne izvajamo.

Izbor laboratorija in časa odvzema krvi

Večina preiskav trombofilije zahteva precejšnje znanje in izurjenost, predvsem pri interpretaciji rezultatov, zato so za izvajanje teh preiskav najprimernejši specializirani koagulacijski laboratoriji.⁸⁰ Slaba medlaboratorijska primerljivost nekaterih preiskav je dodaten argument za to, da se te preiskave omejijo na manjše število laboratorijev. Ne glede na to, v katerem laboratoriju so preiskave opravljene, pa je potrebno dobro sodelovanje med laboratorijskim osebjem in zdravniki, saj se na ta način bistveno zmanjša delež lažno pozitivnih rezultatov.

Pri večini bolnikov opravimo preiskave po ukinitvi antikoagulacijskega zdravljenja. Pri tem naj od ukinitve zdravljenja do odvzema krvi minejo vsaj 4 tedni, da učinek antikoagulacijskih zdravil povsem izzveni. Izjemoma se lahko odločimo za določanje trombofilije že v času akutne VTE oziroma v času, ko antikoagulacijsko zdravljenje še traja, vendar moramo to upoštevati pri interpretaciji rezultatov. Ob akutni VTE so vrednosti naravnih antikoagulantov zmanjšane, zato jih tedaj praviloma ne določamo. Kasneje, v kroničnem obdobju bolezni, izjemoma ob zdravljenju s kumarini določimo antitrombin, ob zdravljenju s heparini pa proteina C in S, če je res prisoten močan sum na njuno pomanjkanje. Določanju antifosfolipidnih protiteles se izogibamo prvih 12 tednov po akutni VTE, saj so v tem obdobju lahko rezultati lažno pozitivni. Kasneje lahko antikardiolipinska protitelesa in protitelesa proti β 2-glikoproteinu I določimo

kadarkoli, lupusne antikoagulate pa šele po ukinitvi antikoagulacijskega zdravljenja. Na genetske preiskave za določanje polimorfizmov v genih za faktor V in za protrombin obdobje VTE in način zdravljenja ne vplivata, zato jih opravimo kadar koli.

Zaključek

Izvedba široke palete testov za ugotavljanje prirojene ali pridobljene trombofilije pri večini bolnikov z VTE ni ne strokovno ne finančno upravičena. Določene teste trombofilije opravimo pri izbranih bolnikih le v primeru, da bo njihov rezultat vplival na odločitev o trajanju zdravljenja ali na druge ukrepe za preprečevanje ponovitve bolezni.

Literatura

1. Goldhaber SZ, Bounameaux H. Pulmonary embolism and deep vein thrombosis. *Lancet* 2012; 379: 1835–46.
2. Kearon C, Akl EA, Comerota AJ, Prandoni P, Bounameaux H, Goldhaber S, et al. Antithrombotic therapy for VTE disease: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest* 2012; 141: 419S–94S.
3. Rosendaal FR. Risk factors for venous thrombotic disease. *Thromb Haemost* 1999; 82: 610–9.
4. Franco RF, Reitsma PH. Genetic risk factors for venous thrombosis. *Hum Genet* 2001; 109: 369–84.
5. Rosendaal FR. Genetics of venous thrombosis. *J Thromb Haemost* 2009; 7: 301–4.
6. Bertina RM. Molecular risk factors for thrombosis. *Thromb Haemost* 1999; 82: 601–9.
7. Simioni P, Tormene D, Spiezia L, Tognin G, Rossetto V, Radu C, Prandoni P. Inherited thrombophilia and venous thromboembolism. *Semin Thromb Hemost* 2006; 32: 700–8.
8. Tait RC, Walker ID, Perry DJ, Islam SI, Daly ME, McCall F, et al. Prevalence of antithrombin deficiency in the healthy population. *Br J Haematol* 1994; 87: 106–12.
9. Lane DA, Bayston T, Olds RJ, Fitches AC, Cooper DN, Millar DS, et al. Antithrombin mutation database: 2nd (1997) update. For the Plasma Coagulation Inhibitors Subcommittee of the Scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. *Thromb Haemost* 1997; 77: 197–211.
10. Martinelli I, Mannucci PM, De Stefano V, Taioli E, Rossi V, Crosti F, et al. Different risks of thrombosis in four coagulation defects associated with inherited thrombophilia: a study of 150 families. *Blood* 1998; 92: 2353–8.
11. Koster T, Rosendaal FR, Briët E, van der Meer FJ, Colly LP, Trienekens PH, et al. Protein C deficiency in a controlled series of unselected outpatients: an infrequent but clear risk factor for venous thrombosis (Leiden Thrombophilia Study). *Blood* 1995; 85: 2756–61.
12. De Stefano V, Simioni P, Rossi E, Tormene D, Za T, Pagnan A, et al. The risk of recurrent venous thromboembolism in patients with inherited deficiency of natural anticoagulants antithrombin, protein C and protein S. *Haematologica* 2006; 91: 695–8.
13. Baglin T, Luddington R, Brown K, Baglin C. Incidence of recurrent venous thromboembolism in relation to clinical and thrombophilic risk factors: prospective cohort study. *Lancet* 2003; 362: 523–6.
14. Patnaik MM, Moll S. Inherited antithrombin deficiency: a review. *Haemophilia* 2008; 14: 1229–39.
15. Ungerstedt JS, Schulman S, Egberg N, Antovic J, Blombäck N. Discrepancy between antithrombin activity methods revealed in Antithrombin Stockholm: do factor Xa-based methods overestimate antithrombin activity in some patients? *Blood* 2002; 99: 2271–2.
16. Price VE, Ledingham DL, Krümpel A, Chan AK. Diagnosis and management of neonatal purpura fulminans. *Semin Fetal Neonatal Med* 2011; 16: 318–22.
17. Miletich J, Sherman L, Broze G Jr. Absence of thrombosis in subjects with heterozygous protein C deficiency. *N Engl J Med* 1987; 317: 991–6.
18. Christiansen SC, Cannegieter SC, Koster T, Vandenbroucke JP, Rosendaal FR. Thrombophilia, clinical factors, and recurrent venous thrombotic events. *JAMA* 2005; 293: 2352–61.
19. Johnson NV, Khor B, Van Cott EM. Advances in laboratory testing for thrombophilia. *Am J Hematol* 2012; 87: 108–12.
20. Dahlbäck B. Inhibition of protein C cofactor function of human and bovine protein S by C4b-binding protein. *J Biol Chem* 1986; 261: 12022–7.
21. Beauchamp NJ, Dykes AC, Parikh N, Campbell Tait R, Daly ME. The prevalence of, and molecular defects underlying, inherited protein S deficiency in the general population. *Br J Haematol* 2004; 125: 647–54.
22. Simmonds RE, Ireland H, Lane DA, Zöller B, García de Frutos P, Dahlbäck B. Clarification of the risk for venous thrombosis associated with hereditary protein S deficiency by investigation of a large kindred with a characterized gene defect. *Ann Intern Med* 1998; 128: 8–14.
23. Bertina RM, Koeleman BPC, Koster T, Rosendaal FR, Dirven RJ, de Ronde H, et al. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. *Nature* 1994; 369: 64–7.
24. Dahlbäck B, Carlsson M, Svensson PJ. Familial thrombophilia due to a previously unrecognized mechanism characterized by poor anticoagulant response to activated protein C: Prediction of a cofactor to activated protein C. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 1004–8.
25. Rees DC. The population genetics of factor V Leiden (Arg506Gln). *Br J Haematol* 1996; 95: 579–86.
26. Rosendaal FR, Koster T, Vandenbroucke JP, Reitsma PH. High risk of thrombosis in patients homozygous for factor V Leiden (activated protein C resistance). *Blood* 1995; 85: 1504–8.
27. Poort SR, Rosendaal FR, Reitsma PH, Bertina RM. 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: 3698–703.
28. Castoldi E, Simioni P, Tormene D, Thomassen MC, Spiezia L, Gavasso S, et al. Differential effects of high prothrombin levels on thrombin generation depending on the cause of the hyperprothrombinemia. *J Thromb Haemost* 2007; 5: 971–9.
29. Rosendaal FR, Doggen CJ, Zivelin A, Arruda VR, Aiach M, Siscovick DS, et al. Geographic distribution of the 20210 G to A prothrombin variant. *Thromb Haemost* 1998; 79: 706–8.
30. Tripodi A, de Groot PG, Pengo V. Antiphospholipid syndrome: laboratory detection, mechanisms of action and treatment. *J Intern Med* 2011; 270: 110–22.
31. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost* 2006; 4: 295–306.

32. Biggoggero M, Meroni PL. The geoepidemiology of the antiphospholipid antibody syndrome. *Autoimmun Rev* 2010; 9: 299–304.
33. Roldan V, Lecumberri R, Muñoz-Torrero JF, Vicente V, Rocha E, Brenner B, et al. RIETE Investigators. Thrombophilia testing in patients with venous thromboembolism. Findings from the RIETE registry. *Thromb Res* 2009; 124: 174–7.
34. Farmer-Boatwright MK, Roubey RA. Venous thrombosis in the antiphospholipid syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009; 29: 321–5.
35. Galli M, Luciani D, Bertolini G, Barbui T. Lupus anticoagulants are stronger risk factors for thrombosis than anticardiolipin antibodies in the antiphospholipid syndrome: a systematic review of the literature. *Blood* 2003; 101: 1827–32.
36. Galli M, Luciani D, Bertolini G, Barbui T. Anti-beta 2-glycoprotein I, antiprothrombin antibodies, and the risk of thrombosis in the antiphospholipid syndrome. *Blood* 2003; 102: 2717–23.
37. Pengo V, Ruffatti A, Legnani C, Gresele P, Barcellona D, Erba N, et al. Clinical course of high-risk patients diagnosed with antiphospholipid syndrome. *J Thromb Haemost* 2010; 8: 237–42.
38. Middeldorp S, van Hylckama Vlieg A. Does thrombophilia testing help in the clinical management of patients? *Br J Haematol* 2008; 143: 321–35.
39. Pengo V, Tripodi A, Reber G, Rand JH, Ortel TL, Galli M, et al. Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection. Subcommittee on Lupus Anticoagulant/Antiphospholipid Antibody of the Scientific and Standardisation Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. *J Thromb Haemost* 2009; 7: 1737–40.
40. Lakos G, Favaloro EJ, Harris EN, Meroni PL, Tincani A, Wong RC, et al. International consensus guidelines on anticardiolipin and anti- β 2-glycoprotein I testing: report from the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. *Arthritis Rheum* 2012; 64: 1–10.
41. Cattaneo M. Hyperhomocysteinemia, atherosclerosis and thrombosis. *Thromb Haemost* 1999; 81: 165–76.
42. Jacques PF, Bostom AG, Williams RR, Ellison RC, Eckfeld JH, Rosenberg IH, et al. Relation between folate status, a common mutation in methyltetrahydrofolate reductase and plasma homocysteine concentrations. *Circulation* 1996; 93: 7–9.
43. Bedenčič M, Božič M, Peternel P, Stegnar M. Major and potential prothrombotic genotypes in patients with venous thromboembolism and in healthy subjects in Slovenia. *Patophysiol Haemost Thromb* 2008; 36: 58–63.
44. den Heijer M, Rosendaal FR, Blom HJ, Gerrits WB, Bos GM. Hyperhomocysteinemia and venous thrombosis: a meta-analysis. *Thromb Haemost* 1998; 80: 874–7.
45. Eichinger S, Stümpflen A, Hirschl M, Bialonczyk C, Herkner K, Stain M, et al. Hyperhomocysteinemia is a risk factor of recurrent venous thromboembolism. *Thromb Haemost* 1998; 80: 566–9.
46. den Heijer M, Willems HP, Blom HJ, Gerrits WB, Cattaneo M, Eichinger S et al. Homocysteine lowering by B vitamins and the secondary prevention of deep vein thrombosis and pulmonary embolism: A randomized, placebo-controlled, double-blind trial. *Blood* 2007; 109: 139–144.
47. Naess IA, Christiansen SC, Romundstad PR, Cannegieter SC, Blom HJ, Rosendaal FR, et al. Prospective study of homocysteine and MTHFR 677TT genotype and risk for venous thrombosis in a general population—results from the HUNT 2 study. *Br J Haematol* 2008; 141: 529–35.
48. Terraube V, O'Donnell JS, Jenkins PV. Factor VIII and von Willebrand factor interaction: biological, clinical and therapeutic importance. *Haemophilia* 2010; 16: 3–13.
49. Kamphuisen PW, Lensen R, Houwing-Duistermaat JJ, Eikenboom JC, Harvey M, Bertina RM, et al. Heritability of elevated factor VIII antigen levels in factor V Leiden families with thrombophilia. *Br J Haematol* 2000; 109: 519–22.
50. Bank I, Libourel EJ, Middeldorp S, Hamulyák K, van Pampus EC, Koopman MM, et al. Elevated levels of FVIII:C within families are associated with an increased risk for venous and arterial thrombosis. *J Thromb Haemost* 2005; 3: 79–84.
51. Vormittag R, Bencur P, Ay C, Tengler T, Vukovich T, Quehenberger P, et al. Low-density lipoprotein receptor-related protein 1 polymorphism 663 C > T affects clotting factor VIII activity and increases the risk of venous thromboembolism. *J Thromb Haemost* 2007; 5: 497–502.
52. Ryland JK, Lawrie AS, Mackie IJ, Machin SJ. Persistent high factor VIII activity leading to increased thrombin generation – a prospective cohort study. *Thromb Res* 2012; 129: 447–52.
53. Koster T, Blann AD, Briët E, Vandembroucke JP, Rosendaal FR. Role of clotting factor VIII in effect of von Willebrand factor on occurrence of deep-vein thrombosis. *Lancet* 1995; 345: 152–5.
54. Kraaijenhagen RA, Anker PS, Koopman MM, Reitsma PH, Prins MH, van den Ende A, et al. High plasma concentration of factor VIIIc is a major risk factor for venous thromboembolism. *Thromb Haemost* 2000; 83: 5–9.
55. Cosmi B, Legnani C, Cini M, Favaretto E, Palareti G. D-dimer and factor VIII are independent risk factors for recurrence after anticoagulation withdrawal for a first idiopathic deep vein thrombosis. *Thromb Res* 2008; 122: 610–7.
56. Kyrle PA, Minar E, Hirschl M, Bialonczyk C, Stain M, Schneider B, et al. High plasma levels of factor VIII and the risk of recurrent venous thromboembolism. *N Engl J Med* 2000; 343: 457–62.
57. Passamonti SM, Bucciarelli P, Bader R, Martinelli I. Influence of anticoagulant therapy with vitamin K antagonists on plasma levels of coagulation factor VIII. *Thromb Res* 2010; 126: 243–5.
58. Barcat D, Vergnes C, Constans J, Boulon C, Conri C. When to measure factors VIII:C and XI after an acute venous thromboembolic event? *J Thromb Haemost* 2006; 4: 1631–2.
59. van Hylckama Vlieg A, van der Linden IK, Bertina RM, Rosendaal FR. High levels of factor IX increase the risk of venous thrombosis. *Blood* 2000; 95: 3678–82.
60. Meijers JC, Tekelenburg WL, Bouma BN, Bertina RM, Rosendaal FR. High levels of coagulation factor XI as a risk factor for venous thrombosis. *N Engl J Med* 2000; 342: 696–701.
61. van Hylckama Vlieg A, Rosendaal FR. High levels of fibrinogen are associated with the risk of

- deep venous thrombosis mainly in the elderly. *J Thromb Haemost* 2003; 1: 2677–8.
62. Koster T, Rosendaal FR, Reitsma PH, van der Velde PA, Briët E, Vandenbroucke JP. Factor VII and fibrinogen levels as risk factors for venous thrombosis. A case-control study of plasma levels and DNA polymorphisms—the Leiden Thrombophilia Study (LETS). *Thromb Haemost* 1994; 71: 719–22.
 63. van Hylckama Vlieg A, Rosendaal FR. High levels of fibrinogen are associated with the risk of deep venous thrombosis mainly in the elderly. *J Thromb Haemost* 2003; 1: 2677–8.
 64. Castoldi E, Rosing J. APC resistance: biological basis and acquired influences. *J Thromb Haemost* 2010; 8: 445–53.
 65. de Visser MC, Rosendaal FR, Bertina RM. A reduced sensitivity for activated protein C in the absence of factor V Leiden increases the risk of venous thrombosis. *Blood* 1999; 93: 1271–6.
 66. Dahlback B, Carlsson M and Svensson PJ. Familial thrombophilia due to a previously unrecognized mechanism characterized by poor anticoagulant response to activated protein C: prediction of a cofactor to activated protein C. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 1004–8.
 67. Wiggins KL, Smith NL, Glazer NL, Rosendaal FR, Heckbert SR, Psaty BM, et al. ABO genotype and risk of thrombotic events and hemorrhagic stroke. *J Thromb Haemost* 2009; 7: 263–9.
 68. Kamphuisen PW, Eikenboom JC, Bertina RM. Elevated factor VIII levels and the risk of thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21: 731–8.
 69. O'Donnell J, Boulton FE, Manning RA, Laffan MA. Amount of H antigen expressed on circulating von Willebrand factor is modified by ABO blood group genotype and is a major determinant of plasma von Willebrand factor antigen levels. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22: 335–41.
 70. Jick H, Slone D, Westerholm B, Inman WH, Vessey MP, Shapiro S, et al. Venous thromboembolic disease and ABO blood type. A cooperative study. *Lancet* 1969; 1: 539–42.
 71. Morelli VM, De Visser MC, Vos HL, Bertina RM, Rosendaal FR. ABO blood group genotypes and the risk of venous thrombosis: effect of factor V Leiden. *J Thromb Haemost* 2005; 3: 183–5.
 72. Tirado I, Mateo J, Soria JM, Oliver A, Martínez-Sánchez E, Vallvé C, et al. The ABO blood group genotype and factor VIII levels as independent risk factors for venous thromboembolism. *Thromb Haemost* 2005; 93: 468–74.
 73. Kearon C. Influence of hereditary or acquired thrombophilias on the treatment of venous thromboembolism. *Curr Opin Hematol* 2012; 19: 363–70.
 74. Middeldorp S. Is thrombophilia testing useful? *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2011; 2011: 150–5.
 75. Dalen JE. Should patients with venous thromboembolism be screened for thrombophilia? *Am J Med* 2008; 121: 458–63.
 76. Merriman L, Greaves M. Testing for thrombophilia: an evidence-based approach. *Postgrad Med J* 2006; 82: 699–704.
 77. Heit JA. Thrombophilia: common questions on laboratory assessment and management. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2007: 127–35.
 78. Ho WK, Hankey GJ, Eikelboom JW. Should adult patients be routinely tested for heritable thrombophilia after an episode of venous thromboembolism? *Med J Aust* 2011; 195: 139–42.
 79. Baglin T, Gray E, Greaves M, Hunt BJ, Keeling D, Machin S, et al. British Committee for Standards in Haematology. Clinical guidelines for testing for heritable thrombophilia. *Br J Haematol* 2010; 149: 209–20.
 80. Tripodi A, Mannucci PM. Laboratory investigation of thrombophilia. *Clinical Chemistry* 2001; 47: 1597–606.