

domény. Tato záměna je odpovědná za snížení hladiny FV, kdy pokles k 20 % normálu způsobí mimo jiné i rezistenci na aktivovaný protein C. Syndrom APC rezistence se projevuje sklonem k žilním, méně často k arteriálním trombózám. U nositelů FVL sice vzniká až 7× vyšší riziko hluboké žilní trombózy a 4–5× větší riziko její rekurence, ale u osob s heterozygotní formou dochází k trombózám patrně jen tehdy, když se k tomuto defektu přidruží i další rizika. Těmi jsou např. pooperační stav, léčba estrogény, patologické těhotenství, obezita, imobilizace aj. Vzniklé žilní trombózy zde také většinou nejsou provázány plicní embolií (tzv. FV Leiden paradox).

## 5. Mutace genu protrombinu F2 20210 G→A (dále mFII)

Způsobí ji bodová mutace v 3–UTR (v nepřepisované oblasti) mRNA protrombinu (26), která u postižených jedinců vyvolá zvýšení produkce protrombinu (> 130 %), a tím i dispoziční ke srážení krve. Výskyt mFII (rs1799963) se v populaci pohybuje mezi 1–2 %. U nemocných s již vzniklou žilní trombózou je pak mutace protrombinu zjišťována asi v 6 %. U heterozygotních nositelů mFII se riziko vzniku žilní trombózy zvyšuje asi 2–3krát.

Podle výše rizika ŽTE byly dosud osoby s nálezy deficitů AT, PC nebo PS řazeny do skupiny trombofilii s vysokým rizikem a nosiči FVL nebo mFII do skupiny trombofilii s nízkým rizikem ŽTE (9). Původní odhady o vysokém, až 5–10. násobném zvýšení rizika ŽTE u deficitů AT, PC a PS však byly zjištěny v rodinných studiích u osob se sníženou hladinou v krevní plazmě. Podle Manderstena a spol. (27) je ale jejich genetické riziko ŽTE mnohem nižší. V kohortě 29 387 dospělých osob (60 % žen) středního až staršího věku (od 41 do 73 let) provedli sekvenaci jejich exomů a zjistili, že genetické riziko 68 variant genů PROC, PROS1 a SERPINC1 dosahovalo úrovně ohrožení ŽTE (hazard ratio, dále HR) 1,6. To se již příliš nelišilo od nálezu u nosičů heterozygotní varianty FVL (HR 1,8) a mFII (HR 1,6). Dalším zajímavým nálezem bylo, že výskyt klasických trombofilii představuje riziko vzniku ŽTE i pro lidi starší nebo středního věku.

## Celogenomové asociační studie (dále GWAS, z angl. genome-wide association study)

Od roku 2008 začaly být nově publikovány výsledky studií, které již zahrnovaly vyšetření desítek až stovek tisíc známých jednonukleotidových polymorfismů (dále SNP, z angl. single nucleotide polymorphism) v kohortách několika tisíců jedinců, kteří prodělali ŽTE, a kontrolních osob, které ŽTE neměly. K tomuto účelu již byla použita nová vyšetřova-

vací technologie, nazvaná DNA microarray, nebo také analýza genové exprese s DNA čipy (28). V současnosti jsou tyto DNA čipy vyráběny již průmyslově různými firmami jako Agilent Technologies™, Illumina™ aj. Pro grafický výstup GWAS je po statistickém vyhodnocení vytvářen tzv. „Manhattanský graf“, kde každá tečka představuje SNP, osa x ukazuje chromozomy, kde se nachází každý SNP, a osa y ukazuje hodnotu SNP, který se váže k ŽTE. Přitom je pro korekci zvolena prahová hodnota významnosti (většinou odpovídající  $p < 5 \times 10^{-8}$ ), která pak vydělí oblasti, kde se vyskytují důležité kauzální geny. Zároveň bývá v grafu barevně odlišen nově identifikovaný lokus, který je významně spjat s rizikem onemocnění. Prvá GWAS, analyzující spojitost více než 19 682 SNP ovlivňujících tvorbu koagulačních faktorů s ŽTE (29), byla publikována po sloučení výsledků studií provedených v různých evropských oblastech. Byly to studie LETS (vyšetření 443 osob s ŽTE a 453 kontrol v Holandsku) se studiem MEGA-1 (vyšetření souboru 1 398 pacientů s ŽTE a 1 757 kontrol) a MEGA-2 (vyšetření 1 314 pacientů s ŽTE a 2 877 kontrol) které byly provedeny ve Francii. Jejich výsledky byly v následných letech ještě potvrzovány s dalšími GWAS (30), které ale nepotvrdily dříve nalezenou spojitost ŽTE s některými SNP (GP6, CYP4V2 aj.). Při postupném zvyšování počtu detekovaných SNP a účastníků v nových GWAS (31) pak byly objeveny ještě další významné genetické asociace s ŽTE. Kritériem jejich výběru však již byl požadavek, aby alely spojované s ŽTE dosáhly při provedení GWAS statistické významnosti  $OR \geq 1,2$  (OR, odds ratio, poměr šancí). To mimo FVL, mFII a polymorfismů ABO („non O“) splnily jen další nově objevené polymorfismy genu fibrinogenu gama (FGG) a genu F11 (31). Frekvenci uvedených rizikových alel spojených s výskytem ŽTE a jejich O.R., které byly zjištěny v registru Trombotického centra VFN Praha, uvádíme v tabulce č. 1.

V roce 2019 pak byly publikovány ještě další dvě velké studie GWAS. Lindstrom a spol. (32) zde meta-analyzovali nálezy 12 923 718 SNP u 30 234 pacientů s ŽTE a u 172 122 kontrol a celkem zjistili 34 nezávislých genetických asociací s ŽTE, z nichž 14 bylo popsáno nově. Klarin et al. (33) testovali s využitím dat z rozsáhlých studií Million Veteran Program a UK Biobank také asi 13 milionů variant sekvencí DNA v souboru 26 066 osob s ŽTE a u 624 053 kontrol a tyto nálezy dále ještě konfirmovali u 17 672 osob s ŽTE a u 167 295 kontrol. Identifikovali zde 22 nových replikovaných lokusů spojených s ŽTE a navíc prokázali i jejich určité spojitosti s arteriální trombogenezou. Další prováděná GWAS pak měla za cíl zjistit genetické vazby ŽTE nejen s polymorfismy genů koagulačních faktorů, ale také s geny dalších systémů, které se podílejí na trombogenezě. To je krevních destiček, zánětu, erytrocytů aj.

**Tab. 1.** Frekvence rizikových alel spojených s výskytem ŽTE u osob z registru Trombotického centra VFN Praha

Polymorfismus	Databáze SNP (ID)	Riziková alela	Kontrolní soubor (n = 2 637)	Pacienti s ŽTE (n = 2 630)	Statistická významnost ( $\chi$ -test)	OR
			Frekvence rizikové alely		p hodnota	
<b>FV Leiden Arg534GNL</b>	(rs6025)	A	0,042	0,188	< 0,001	5,3011
<b>Mutace protrombinu 20210 G &gt; T</b>	(rs1799963)	A	0,012	0,043	< 0,001	3,8012
<b>Mutace FGG 10043 C &gt; T</b>	(rs2066865)	T	0,245	0,305	0,0019	1,3500
<b>Mutace FXI 22771 C &gt; T</b>	(rs2289252)	T	0,396	0,472	< 0,001	1,3636
<b>ABO („non O“) c.261 del G</b>	(rs8176719)	G	0,412	0,565	< 0,001	1,8570