



Prevalenza di trombosi arteriose e venose in presenza delle mutazioni G20210A del gene della protrombina e R506Q del gene del fattore V (Leiden)

Miriam Marialuisa Di Sazio, Mariaconcetta Russo, Federica Zane,
Nadia Montani, Chiara Ambaglio, Gabriella Gamba

Clinica Medica III, Università degli studi di Pavia, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia, Italia

Prevalenza di trombosi arteriose e venose in presenza delle mutazioni G20210A del gene della protrombina e R506Q del gene del fattore V (Leiden)

La patologia trombotica arteriosa e venosa sta assumendo un'importanza sempre maggiore, anche in associazione ad altre patologie (metaboliche, cardiache, neoplastiche), che ne peggiorano la prognosi. Alla luce di questo, sono state prese in esame le mutazioni R506Q del gene del fattore V (Leiden) e G20210A del gene del fattore II, fattori di rischio protrombotici congeniti, in 351 pazienti afferiti presso l'Ambulatorio Malattie dell'Emostasi della Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo di Pavia. Per ognuno, è stata raccolta l'anamnesi personale e familiare, ed effettuato lo screening per trombofilia: 63 soggetti sono risultati positivi ad almeno una delle due mutazioni. Confrontando il numero di soggetti con almeno una mutazione con i soggetti senza mutazione, è risultato che i primi avevano una percentuale di TEV superiore rispetto ai secondi. Sono stati presi in esame altri fattori di rischio risultati favorevoli la malattia trombotica. Pertanto, l'esecuzione del test di screening per trombofilia, può permettere il riconoscimento e la gestione dei soggetti a rischio, prima che l'evento acuto possa verificarsi.

Venous and arterious thrombosis prevalence in patients with G20210A gene mutation of the FII and R506Q gene mutation of the FV (Leiden)

Arterial and venous thrombosis is becoming a pathology of primary importance because of other concomitant pathologies (metabolic, cardiac, neoplastic diseases) which often acerbate the prognosis. Therefore, our research aims to clarify in particular the function of congenital prothrombotic risk factors, that is the R506Q gene mutation of the FV (Leiden) and the G20210A gene mutation of the FII. We analyzed 351 subjects in treatment at the Hemostasis Diseases Unit of IRCCS Policlinico San Matteo Foundation, Pavia. We collected each personal and family anamnesis and carried out the thrombophilia screening test. Among this population, 63 subjects resulted positive to, at least, one of the two mutations we studied. Comparing the number of subjects having at least a mutation with the ones without mutations, we found out that the first ones had a higher VTE percentage than the second ones. We also examined risk factors. All the results were supporting the thrombosis disease. Processing people to the thrombophilia screening test means to recognise and manage subjects at risk before the thrombosis event happens.

Introduzione

La trombosi è una patologia ad eziologia multifattoriale, e può essere determinata da agenti esogeni (traumi, infezioni, uso di droghe o veleni e farmaci), da agenti endogeni (iperomocisteinemia, presenza di lupus anticoagulant e anticorpi antifosfolipidi, neoplasie, dislipidemia), e infine da affezioni congenite (deficit di anticoagulanti naturali, disfibrinogenemie, mutazioni genetiche) [1-2].

La mutazione del gene del fattore V di Leiden si trasmette come carattere autosomico dominante. Più frequente nel Nord Europa, è presente nel 3-7% della popolazione generale mondiale [3]. È causata da una singola sostituzione di un acido nucleico, una adenina al posto di una guanina in posizione 1691, che porta alla sostituzione di un singolo aminoacido, una glutammina al posto di un'arginina. La mutazione che ne risulta è missense, e produce un'alterazione del sito di clivaggio del fattore V per la proteina C attivata (APC), per cui il fattore V attivato rimane in circolo più a lungo. Tale condizione si traduce in un rischio di trombosi aumentato di 4-7 volte in eterozigosi, e di 80 volte in omozigosi [4-6]; clinicamente in trombosi venosa profonda, embolia polmonare e complicanze gestazionali e nel puerperio.

La mutazione del gene della protrombina è presente nello 0.7-4% della popolazione generale mondiale, ed è più frequente nel Sud Europa. Essa porta ad un aumento dei livelli di protrombinemia del 30% in eterozigosi, che può arrivare all'80% in omozigosi, aumentando pertanto il rischio di trombosi: risulta presente nel 6% dei pazienti con anamnesi personale positiva per eventi trombotici [7-8].

Scopo del lavoro

Lo studio vuole valutare la prevalenza delle mutazioni G20210A del gene della protrombina e R506Q del gene del fattore V di Leiden nella popolazione afferita all'Ambulatorio Malattie dell'Emostasi presso la Clinica Medica III della Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo di Pavia, in relazione alla presenza di altri fattori di rischio di patologia trombotica e delle complicanze trombotiche.

Materiali e metodi

In un periodo durato 18 mesi, da aprile 2010 a settembre 2011, abbiamo studiato 351 pazienti afferiti presso l'Ambulatorio Malattie dell'Emostasi della Clinica Medica III della Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo di Pavia, per la valutazione della condizione di trombofilia. Solo il 28% era di sesso maschile, dovuto probabilmente al fatto che il sesso femminile è gravato da maggiore rischio trombotico, legato sia a condizioni fisiologiche, quali la gravidanza, sia ad altre condizioni, quali l'uso della pillola estro progestinica o di tecniche di procreazione assistita. Per ognuno di questi pazienti è stata raccolta l'anamnesi personale e familiare: il 50 % afferiva all'Ambulatorio solo per familiarità per eventi trombotici o per effettuare studi genetici, in assenza di sintomatologia trombotica; il 40 % presentava una storia clinica positiva per eventi trombo embolici, sia venosi sia arteriosi; il 10 % presentava, invece, una storia di poliabortività. Tutti i pazienti sono stati inoltre valutati per la presenza di fattori di rischio trombotici (diabete mellito, dislipidemia, ipertensione arteriosa, farmaci, neoplasie, fumo, sovrappeso), e sottoposti a prelievo di sangue venoso per il dosaggio dell'omocisteinemia, delle proteine anticoagulanti naturali (antitrombina III, proteina C e proteina S, in assenza di TAO), per la ricerca di Lupus Anticoagulant, anticorpi anticardiolipina e anti B2 glicoproteina 1, e per la ricerca

delle mutazioni del gene della protrombina G20210A e del gene del fattore V di Leiden R506Q. Tutte le indagini sono state effettuate presso il Laboratorio Centrale della Fondazione.

Risultati

Nel 18% della popolazione studiata, abbiamo riscontrato la presenza di almeno una mutazione eterozigote R506Q del gene del fattore V o G20210A del gene del fattore II. La mutazione risultata più frequente è stata l'eterozigosi per FVL, presente nel 9.1%. L'eterozigosi per PT era presente nel 6.8%. Una donna di 59 anni con pregresse TV sia profonde sia superficiali, poliabortività e familiarità (0.3%) presentava la mutazione R506Q isolata in omozigosi,. In due sorelle gemelle, pari allo 0.6%, l'omozigosi per FVL si associava all'eterozigosi per PT. In quattro soggetti, l'1.1%, è stata riscontrata la doppia eterozigosi delle mutazioni FVL/PT, di cui due con trombosi pregresse in anamnesi e familiarità in assenza di altri fattori di rischio: un uomo di 56 anni e una donna di 28 anni. Non è risultata presente nella nostra casistica la mutazione del gene della protrombina allo stato omozigote (Figura 1). Rispetto ai dati in letteratura, la prevalenza della mutazione FVL eterozigote risulta lievemente maggiore, 3-7% vs 9.1%, così anche la prevalenza della mutazione PT eterozigote, 0.7-4% vs 6.8%. Si conferma che la mutazione FVL eterozigote è il fattore di rischio congenito più frequente.

Sono state confrontate quindi le due popolazioni: i pazienti consecutivi senza mutazione (n° 288) e i pazienti portatori di almeno una mutazione (n° 63) (Figura 2). In entrambe le popolazioni, circa la metà non ha mai presentato storia clinica personale di trombosi; ma, tra quelli sintomatici, la presenza di mutazione sembra essere maggiormente correlata con la malattia trombo embolica del distretto venoso. Non sembra, invece, associata a storia di poliabortività.

Data la multifattorialità della patologia trombotica, sono stati considerati anche altri fattori di rischio: età, presenza di anticorpi antifosfolipidi e Lupus Anticoagulant, deficit di anticoagulanti naturali, livelli plasmatici elevati di omocisteina, familiarità, dislipidemia, ipertensione arteriosa, e fumo. Nessun paziente con mutazione FVL o PT presentava positività per il Lupus Anticoagulant. Gli anticorpi anti-cardiolipina (ACA) erano positivi in 7 pazienti a basso titolo (IgG o IgM tra 12 e 35 U/ml). Gli anticorpi anti B2 glicoproteina 1 erano positivi in 4 pazienti, ma solo in una donna i livelli di IgG erano superiori a 40 U/ml in associazione ad altri fattori di rischio: età (75 anni), positività agli ACA (IgM 16 U/ml), iperomocisteinemia (19.2 mcmol/L), un pregresso evento trombotico, familiarità, ipertensione arteriosa e dislipidemia. Nessun paziente con mutazione FVL o PT presentava deficit di anti-trombina III o di proteina C, ma 5 pazienti avevano livelli di proteina S inferiori al 53%: 4 donne in stato gravidico, e un uomo di 36 anni in assenza di manifestazione trombotica, altri fattori di rischio o familiarità. L'aumento dei livelli plasmatici di omocisteina (>15 mcmol/L) risultava in 16 pazienti su 63, e nel 66% era associata a storia clinica positiva. La presenza di mutazione in associazione con familiarità per episodio trombotico (trombosi venosa profonda, embolia polmonare, infarto del miocardio, trombosi retinica, ictus cerebrali) e erano associate in oltre il 50% dei casi a complicanza trombotica. Per quanto riguarda dislipidemia, ipertensione arteriosa e familiarità, essi si ritrovano in misura maggiore nei sintomatici rispetto alla popolazione di pazienti asintomatici (rispettivamente 15/14/27 vs 7/7/20). Non è stata riscontrata la stessa proporzione per il fumo di sigaretta, non essendoci alcuna differenza tra chi ha avuto manifestazioni e chi no (4 vs 4). Nella popolazione studiata non era presente né il diabete mellito/intolleranza glucidica, né l'obesità.

Discussione

Per la scelta dei test di trombofilia, ci siamo attenuti alla revisione del 2008 delle linee guida Siset (<http://www.sisetonline.com/lineeguida/LG5.pdf>), che li ha identificati associati a rischio trombotico di grado A: antitrombina III, proteina C, proteina S, resistenza alla proteina C attivata e/o mutazione FVL, mutazione PT, omocisteinemia e anticorpi antifosfolipidi. Non si è riscontrata evidenza né raccomandazione per l'esecuzione di altri parametri, come il dosaggio di alcuni fattori della coagulazione, o la determinazione della presenza di altre mutazioni, come A1298C e C677T di MTHFR, o H1299R del gene del fattore V.

Nella popolazione esaminata, le prevalenze delle due mutazioni, sia in eterozigosi sia in omozigosi, sono risultate in percentuale superiore rispetto alla popolazione generale [3], in quanto si tratta di uno studio su soggetti già precedentemente selezionati da parte di medici che hanno specificatamente richiesto una valutazione da parte del nostro Ambulatorio. Nonostante questi limiti, possiamo confermare innanzitutto che la prevalenza della doppia eterozigosi (6.5%) è associata a una storia clinica positiva per almeno un evento trombo embolico, come segnalato in letteratura [9-11]. Inoltre la presenza delle mutazioni FVL e PT aumenta il rischio di trombosi, soprattutto in associazione ad altri fattori di rischio: come l'iperomocisteinemia, infatti essa è maggiormente presente nei sintomatici, a conferma di quanto trovato in letteratura [12]. Inoltre si conferma quale ruolo, sia per la trombosi venosa sia per quella arteriosa, la familiarità per eventi tromboembolici e/o cardiovascolari, la dislipidemia e l'ipertensione arteriosa. In letteratura ci sono pareri discordanti a questo proposito, in quanto non è stata dimostrata nessuna chiara correlazione tra aumento del rischio di patologia cardiovascolare (intesa principalmente come infarto del miocardio e ictus cerebri) e trombofilia ereditaria. La meta-analisi di Ageno [13] del 2008 ha concluso che tromboembolismo venoso e aterosclerosi condividono molti fattori di rischio, quali obesità, ipertensione, diabete mellito e ipertrigliceridemia. Uno studio prospettico successivo [14] non ha confermato questa conclusione: solo il sesso maschile, il fumo attivo e l'ipertensione diastolica sono risultati come fattori di rischio indipendenti, mentre il diabete mellito, l'ipertensione sistolica, la dislipidemia e la sedentarietà non sembrano correlare con il rischio di tromboembolismo venoso. Nel nostro studio, i dati raccolti sembrano essere in accordo con la meta-analisi di Ageno.

Conclusioni

Nonostante le attuali conoscenze riguardo i fattori genetici che predispongono alla malattia trombotica, essa permane una malattia multifattoriale, in cui il trattamento medico dell'evento già occorso non viene modificato. Tuttavia, l'effettuazione di test di screening per trombofilia permette l'individuazione dei soggetti a rischio, una migliore gestione dell'evento acuto, e un miglior inquadramento terapeutico, quali il prolungamento della terapia anticoagulante o l'associazione con antiaggregante, la profilassi delle recidive o la prevenzione del primo evento, attraverso l'eliminazione o correzione dei fattori di rischio modificabili.

Tabelle e Figure

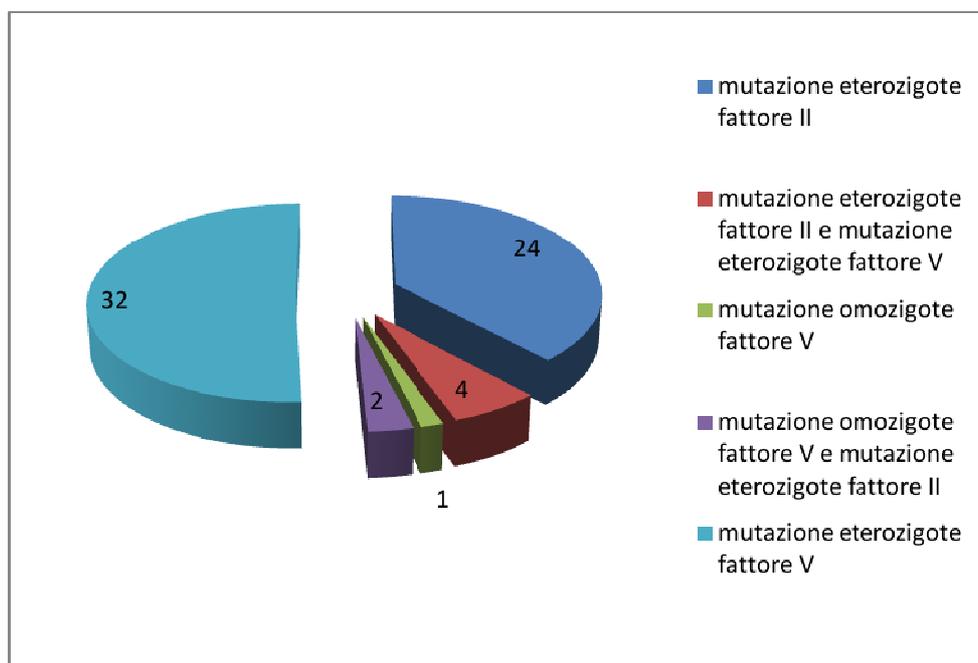


Figura 1. Prevalenza delle mutazioni presenti nella popolazione studiata.

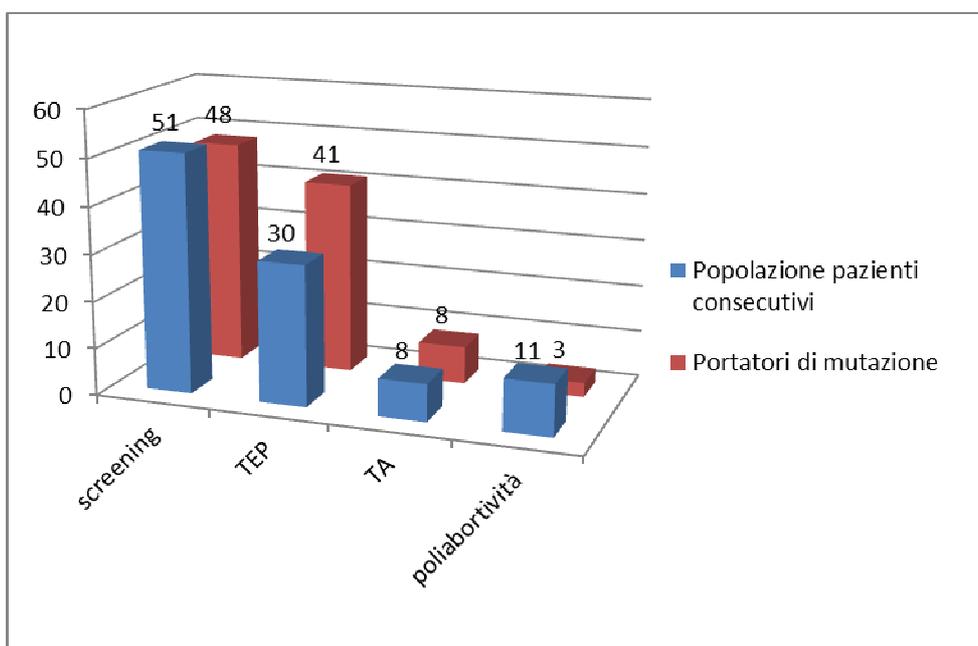


Figura 2. Confronto tra le popolazioni dei portatori e dei non portatori di mutazione, in relazione alle manifestazioni cliniche.

Bibliografia

1. Harker LA, Schwartz SM, Ross R. Endothelium and arteriosclerosis. *Clin Haematol* 1981;10:283-296.
2. Mustard JF, Kinlough-Rathbone RL, Packam MA. The vessel wall in thrombosis. In: Haemostasis and thrombosis: basic principles and clinical practice, *Lippincott*, Philadelphia, USA, 1987.
3. Middeldorp S, van Hylekama Vlieg A. Does thrombophilia testing help in the clinical management of patients? *Br J Haematol* 2008;143:321-335.
4. Bertina RM, Koeleman BP, Koster T et al. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. *Nature* 1994;369:64-67.
5. Spector EB, Grody WW, Matteson CJ et al. Technical standards and guidelines: venous thromboembolism (Factor V Leiden and prothrombin G20210A testing): a disease-specific supplement to the standards and guidelines for clinical genetics laboratories. *Genet Med* 2005;7:444-453.
6. Zoller B, Hillarp A, Berntorp E et al. Activated protein C resistance due to a common factor V gene mutation is a major risk factor for venous thrombosis. *Annu Rev Med* 1997;48:45-58.
7. Emmerich J, Rosendaal FR, Cattaneo M et al. Combined effect of factor V Leiden and prothrombin 20210A on the risk of venous thromboembolism-pooled analysis of 8 case-control studies including 2310 cases and 3204 controls. Study Group for Pooled-Analysis in Venous Thromboembolism. *Thromb Haemost* 2001;86:809-816.
8. Martinelli I, Bucciarelli P, Margaglione M et al. The risk of venous thromboembolism in family members with mutations in the genes of factor V or prothrombin or both. *Br J Haematol* 2000;111:1223-1229.
9. Howard TE, Marusa M, Boisza J et al. The prothrombin gene 39-untranslated region mutation is frequently associated with Factor V Leiden in thrombophilic patients and shows ethnic-specific variation in allele frequency. *Blood* 1998;91:1092.
10. Seligsohn U, Lubetsky A. Genetic susceptibility to venous thrombosis. *N Engl J Med* 2001;344:1222-1231.
11. Tosetto A, Frezzato M, Rodeghiero F. Family history and inherited thrombophilia. *Br J Haematol* 1995;89:227-228.
12. Hoffbrand AV. Anemie megaloblastiche. In Harrison: principi di medicina interna. *Mc Graw Hill*, New York, USA, 2008.
13. Ageno W, Becattini C, Brighton T et al. Cardiovascular risk factors and venous thromboembolism: a meta-analysis. *Circulation* 2008;117:93-102.
14. Holst AG, Jensen G, Prescott E. Risk factors for venous thromboembolism: results from the Copenhagen City Heart Study. *Circulation* 2010;121:1896-1903.