

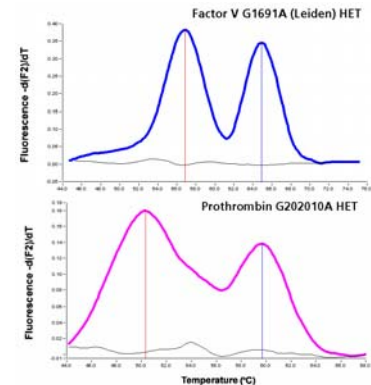


## Molekulargenetische Diagnostik

### Thrombophilie / Thromboseneigung / Habituellem Abort

#### Häufig Kausale Gene :

Faktor V(Leiden) (Faktor V Mutation G1691A)  
Prothrombin (Faktor II G20210A Mutation)  
MTHFR C677T=Ala222Val Mutation  
MTHFR A1298C = Glu428Ala Mutation  
Plasminogen-Aktivator-Inhibitor (PAI-1 4G/5G)  
Faktor XIII (Val34Leu Mutation)  
Plättchen-Glykoprotein Ia (GPIA C807T)  
Plättchen-Glykoprotein Ia (GPIIIA T393C, HPA1-a/-b)



#### Indikationen :

**Auffällige Eigenanamnese :** Spontane Thrombosen in jungem Lebensalter (< 45 Jahre) oder atypische Lokalisation oder kein erkennbarer Auslöser

**Auffällige Familienanamnese :** –nach obigen Kriterien, einschließlich Hirnvenen

#### Rezidivierende Fehlgeburten

#### Anforderung :

**DNA-Diagnostik THROMBOPHILIE**

**Ausnahmeziffer 32010**

bestehend aus  
Faktor V(Leiden)  
Prothrombin G20210A  
MTHFR C677T  
MTHFR A1298C  
PAI-1 4G/5G  
Faktor XIII Val34Leu  
Plättchen-Glykoprotein Ia GPIA C807T  
Plättchen-Glykoprotein Ia GPIIIA T393C

**Untersuchungsmaterial :** 2 ml EDTA Blut; normaler Postversand

**Dauer der Untersuchung :** 3 - 5 Arbeitstage.

**Auch Express-Analytik am Tag des Probeneingangs bei Probenversand mit Kurier und Voranmeldung per Telefon 0211-602-1713 oder per Email : [info@labor-maly.org](mailto:info@labor-maly.org)**

#### Selten Kausale Gene :

Protein C-Mangel (Protein C-Gen)  
Protein S-Mangel (Protein S-Gen)  
Antithrombin III-Mangel (Antithrombin-Gen)

**Indikationen :** Wie oben, Kontaktaufnahme empfohlen.

#### Anforderung :

**DNA-Diagnostik  
für Protein C, Protein S, AT III**

**Ausnahmeziffer 32010**

**Untersuchungsmaterial :** 2 ml EDTA Blut; normaler Postversand

**Dauer der Untersuchung :** 2 - 6 Wochen



**Der Vorteil der molekulargenetischen Diagnostik liegt im sicheren Nachweis bzw. Ausschluß eines genetisch bedingten Thromboserisikos ohne die für die hämatologischen Funktionsassays geltenden Einschränkungen durch exogene Faktoren.**

**Bei entsprechender Indikation, also positiver Eigen- und/oder Familienanamnese in Hinsicht auf Thrombosen sowie bei wiederholtem Abort in der Schwangerschaft bieten wir den kombinierten Nachweis der aufgeführten Mutationen in den Genen für Faktor V (Leiden), Prothrombin-, MTHFR- und PAI-1 sowie der Plättchen-Glykoproteine Ia und IIIa mittels LightCycler an (Thrombophilie-Profil).**

**Diese Analytik ist auf besondere Anforderung hin auch am Tag des Probeneingangs möglich, was bei IVF – oder Embryo-Transfer für die optimale Therapieplanung nützlich sein kann. In diesem Fall bitte Probenversand mit Kurier und Voranmeldung per Telefon 0211-602-1713 oder per Email : [info@labor-maly.org](mailto:info@labor-maly.org)**

**Negativer Ausgang der Thrombophilie-Abklärung bei Fragestellung Abort :** Finden sich bei der genetischen Abklärung der Thrombophilie keine pro-thrombotischen Mutationen, sind gerinnungsphysiologische Tests auf **Lupus-Antikoagulans** und **Anti-Phospholipid-Antikörper** indiziert. Zusätzlich sind **Chromosomen-Anomalien** auszuschließen, ggf. bei beiden Eltern. Auch das Vorliegen einer **Grunderkrankung** der Mutter wie **z.B. Sichelzell-Anämie** ist auszuschließen.

**Indikationen :**

**Auffällige Eigenanamnese :**

Spontane Thrombosen in jungem Lebensalter (< 45 Jahre), oder atypische Lokalisation oder kein erkennbarer Auslöser (z.B. Immobilisation)

**Auffällige Familienanamnese :** –nach o.g. Kriterien, einschließlich Hirnvenen

**Rezidivierende Fehlgeburten :**

**Protein S-Mutationen** haben nach aktuellen Übersichten von allen Thrombophilieformen den ausgeprägtesten Einfluss auf die Fehlgeburtsrate, sie erhöhen das Risiko der Anlageträgerinnen auf das etwa 14fache. Durch eine **APC-Resistenz** nimmt das Fehlgeburtsrisiko (frühe bzw. späte rezidivierende Fehlgeburten) bei Anlageträgerinnen auf das 3-8fache zu, durch die **Prothrombinmutation** um das etwa 2-3fache. Die **MTHFR-Mutationen** haben nach dem gegenwärtigen Stand der Literatur keinen Einfluss auf die Fehlgeburtsrate. Sie können jedoch homozygot oder kombiniert heterozygot den Homocysteinspiegel erhöhen und ggfs. indirekt den Folsäurespiegel senken. In diesem Zusammenhang ist die Bedeutung des Folsäurespiegels für die Entwicklung des kindlichen Rückens zu berücksichtigen. Die pränatale Folsäureprophylaxe (bereits prae-conceptionem!) hat die Inzidenz der „Spina bifida“ auch in Nicht-Risiko-Familien signifikant senken können.

**Biochemisch nachgewiesene Resistenz gegen aktiviertes Protein C (APC-Resistenz)**

**Nachgewiesener Mangel an Protein C bzw. Protein S**

**Vor Einnahme von oralen Kontrazeptiva/Hormonersatztherapie** bei Frauen mit auffälliger Eigen- und/oder Familienanamnese

Zu den Mutationen im Einzelnen :

Die **Faktor V(Leiden)-Mutation** (Synonyme: APC-Resistenz, FV R506Q, FV G1691A) ist der wichtigste bisher bekannte genetische Risikofaktor für thromboembolische Ereignisse. Es handelt sich dabei um eine Punktmutation des Nukleotids 1691 im Faktor V-Gen, die zu einem Aminosäureaustausch von Arginin durch Glutamin (Aminosäure 506) führt. Der mutierte Faktor V kann durch aktiviertes Protein C nur unzureichend inaktiviert werden (APC-Resistenz), wodurch eine erhöhte Thromboseeigung entsteht. Die Prävalenz heterozygoter Mutationen bei europäischen Kontrollpersonen liegt bei 3-5%. Der heterozygote Defekt ist mit einem 5-8fachen Thromboserisiko verbunden, das sich bei gleichzeitiger Einnahme von oralen Kontrazeptiva auf das ca. 30fache erhöht. Der homozygote Defekt ist mit einem



50-100mal erhöhten Thromboserisiko verbunden. Die Häufigkeit homozygoter Mutationen liegt jedoch unter 1%.

Eine Punktmutation des **Prothrombingens** (G20210A) führt heterozygot zu erhöhten Prothrombinspiegeln und damit zu einem 2-3fach erhöhten Thromboserisiko, insbesondere für Hirnvenenthrombosen (10fach erhöht). Bei gleichzeitiger Einnahme oraler Kontrazeptiva ist dieses Risiko sogar 150fach erhöht. Die Häufigkeit der heterozygoten Prothrombingenmutation in einer asymptomatischen Kontrollgruppe liegt bei 2-3%. Homozygote Merkmalsträger sind sehr selten.

Bei 15–20% der Thrombosepatienten, die heterozygote Träger der Faktor V(Leiden)-Mutation sind, läßt sich auch eine heterozygote Prothrombingen-Mutation nachweisen. Patienten, die gleichzeitig Träger **heterozygoter Mutationen im Faktor V und im Prothrombin-Gen** sind, haben ein kumulatives Risiko für Thrombosen und Myokardinfarkte.

Das Thromboserisiko erhöht sich weiterhin durch eine **Hyperhomocysteinämie**, deren häufige Ursachen homozygote Mutationen in den Genen für die Methylentetrahydrofolat-Reduktase (**MTHFR**), seltener für die Cystathion- $\beta$ -Synthase, sind. Bei der molekulargenetischen Diagnostik des **MTHFR-Gens** werden die **C677T-Mutation und die A1298C-Mutation** nachgewiesen. Die **C677T-Mutation führt** zum Austausch der Aminosäure Alanin in Position 222 durch Valin. Das so veränderte Enzym ist thermolabil und hat eine deutlich reduzierte Aktivität (Produktion des biologisch aktiven Folats). Häufig kommt es bei homozygoten Mutationsträgern zu einer Hyperhomocysteinämie, insbesondere bei Mangel an Folsäure und/oder Vit. B12 bzw. bei Nierenfunktionsstörungen. Die homozygote Variante des MTHFR-Gens (Ala222Val) wird bei 12-15 % der Bevölkerung in Mitteleuropa gefunden. Eine aktuelle Meta-Analyse der bisher durchgeführten Studien zeigt für homozygote Träger der Mutation ein erhöhtes Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen, weniger jedoch für Venenthrombosen auf. Die heterozygote Mutation Ala222Val (C677T) im MTHFR-Gen, die bei 25-40% der mitteleuropäischen Bevölkerung nachweisbar ist, hat allein nach heutigem Kenntnisstand keine pathophysiologische Bedeutung. Die **A1298C-Mutation** führt zum Ersatz eines Glutamins an Position 428 durch Alanin, was ebenfalls zu gestörter Enzymaktivität führt, besonders in Kombination mit der C677T – Mutation.

Der 4G/5G Polymorphismus im Gen für den **Plasminogen-Aktivator-Inhibitor (PAI-1)** besteht in der Deletion eines G-Nukleotids im Promotorbereich des Gens. Homozygot wird er bei 12% der Bevölkerung nachgewiesen. Häufig lassen sich erhöhte periphere PAI-Spiegel nachweisen. Das Protein inhibiert die vom Plasminogen ausgehende Thrombolyse. Auch homozygot gilt der Polymorphismus nicht als unabhängiger Risikofaktor für venöse Thrombosen, führt jedoch in Verbindung mit anderen Mutationen (Faktor V, Prothrombin) zu einer signifikanten Erhöhung des Thromboserisikos. Homozygote Mutationen sind nach aktueller Literatur mit einem erhöhten Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen verbunden, das sich derzeit jedoch nicht sicher von begleitenden Risikofaktoren wie erhöhten Lipidwerten, Insulinresistenz, Gewicht etc. abgrenzen lässt.

Die Mutationen in **Plättchen-Glykoprotein Ia (GPIA C807T)** und **Plättchen-Glykoprotein Ia (GPIIIA T393C, HPA1-a/-b)** sind mit erhöhter Aggregationsbereitschaft der Thrombozyten assoziiert und erhöhen das Risiko für einen Frühabort in der Schwangerschaft etwa auf das Doppelte.

Bei Patienten mit wiederholten thromboembolischen Ereignissen, früher Manifestation (< 45 Jahre) bzw. positiver Familienanamnese für schwere Thrombosen und **Ausschluß** der Mutationen im Faktor-V bzw. Prothrombin-Gen werden mit einer Wahrscheinlichkeit von 5-10 % Mutationen in den Genen für die antikoagulatorischen Proteine **Protein C, Protein S bzw. Antithrombin III** nachgewiesen.

Bei Männern bzw. Frauen ohne Östrogen Therapie kann zunächst biochemisch die Aktivität der Gerinnungsproteine bestimmt werden. Zumindest bei Aktivitäten um bzw. unter 50%, in der Schwangerschaft, sowie unter Einnahme von Marcumar und/oder Kontrazeptiva wird die molekulargenetische Diagnostik empfohlen. Sie erlaubt die Abklärung einer erblichen Prädisposition und ist dabei unabhängig von äußeren Faktoren.

Bislang sind über 160 **Mutationen im Protein C-Gen** beschrieben. Die Häufigkeit in der westeuropäischen Population beträgt ca. 1:300. Das Risiko für venöse Thrombosen ist bei heterozygoten Genträgern um das 10fache erhöht, insbesondere unter Einnahme von Kontrazeptiva. Mutationen von Protein C sind kein Risikofaktor für arterielle Thrombosen. Homozygote Protein C-Defekte sind extrem selten (>1:200.000) und führen zu schweren, häufig letalen Thrombosen in der Neonatalperiode (Enzymaktivität meist <1%). Nach aktueller Literatur muss eine Kombination von zwei Polymorphismen im regulierenden Promoterbereich als „genetischer modifizier“ gewertet werden. Der „CG“-Haplotype ist signifikant häufiger bei Thrombosepatienten nachweisbar. Bei diesem Haplotype sind



sowohl die Aktivität von Protein C als auch die Plasmakonzentration verringert. Die heterozygote Anlage für den „CG“-Haplotyp erhöht nach aktueller Literatur das Thromboserisiko auf das 1,5fache.

**Mutationen im Protein S-Gen** lassen sich heterozygot bei 2-5 % der Thrombose-Patienten nachweisen. Das Risiko für venöse Thrombosen ist um ca. das 10fache erhöht. Bisher wurden über 70 Mutationen im Protein S-Gen mit erheblicher, auch intrafamiliärer, klinischer Variabilität (Typ I bis III) beschrieben. Zum klinischen Bild muss ein deutlich erhöhtes Fehlgeburtsrisiko bei Anlageträgerinnen hinzugerechnet werden. Auch beim Protein S-Defekt führen die seltenen homozygoten Mutationen zu sehr schweren Ausprägungen der Erkrankung bereits in der Neonatalperiode (Purpura fulminans, massive Thrombosen).

**Heterozygote Mutationen des Antithrombin III-Gens** lassen sich bei nur 1-2% der Thrombose-Patienten nachweisen (Prävalenz in der Bevölkerung 1:2000 bis 1:5000). Damit handelt es sich hierbei um die seltenste der bislang bekannten erblichen Thrombophilien, die allerdings mit dem höchsten Thromboserisiko (10-20fach) für Heterozygote einhergeht. Genträger haben im Plasma etwa 50% der normalen AT-III-Aktivität, diese Aktivität kann auch durch exogene Faktoren beeinträchtigt werden. Patienten mit der schweren Verlaufsform eines homozygoten AT III-Mangels wurden nur vereinzelt beobachtet. Für Patienten mit hereditärem AT III-Mangel und deren Familienangehörige ist die molekulare Abklärung der zugrunde liegenden Mutation von großer Bedeutung. Mutationen, die nur die heparinbindende Domäne betreffen, sind mit einem minimalen Risiko für thromboembolische Ereignisse verbunden.

**Die molekulare Analyse von Protein C, Protein S und Antithrombin III ist aufwendig und sollte deshalb nur nach Indikationsstellung durch einen Facharzt bzw. nach Rücksprache mit uns erfolgen. Eine genetische Beratung bieten wir selbstverständlich an.**

**Methode:**

DNA-Extraktion; PCR, Hybridisierung mit Mutations-spezifischen Sonden für die Punktmutationen in den Genen für Faktor V, Prothrombin, Faktor XIII, MTHFR und PAI-1 sowie GPIA und GPIIIA.  
PCR und vollständige DNA-Sequenzierung aller Exons und der Exon/Intron-Übergänge der Gene für Protein C, Protein S und Antithrombin III

**Untersuchungsmaterial:**

2 ml EDTA Blut; normaler Postversand

**Dauer der Untersuchung:**

3 - 5 Arbeitstage (für Faktor V, Prothrombin, Faktor XIII, MTHFR und PAI-1 sowie GPIA und GPIIIA).

**Auf Wunsch ist auch Express-Analytik am Tag des Probeneingangs möglich. In diesem Fall bitte Probenversand mit Kurier und Voranmeldung per Telefon 0211-602-1713 oder per Email : [info@labor-maly.org](mailto:info@labor-maly.org)**

4 - 6 Wochen (für Protein C, Protein S und Antithrombin III)

**Literatur**

Stand 02/2006

Willeke A et al. Rationelle Thrombophiliediagnostik (2002) Deut Ärzteblatt 99: A2111-A2118

Witt I. APC-Resistenz (Faktor-V-Mutation) - Klinische Bedeutung, Pathophysiologie und Diagnostik (1998) Deut Ärzteblatt 95: A2316-A2323

Dahlbäck B und Hillarp A. Molecular coagulation and thrombophilia, In: Seligsohn U and Lubetsky A. Genetic susceptibility to venous thrombosis (2001) N Engl J Med 344: 1222-1231

Witt I. Molekularbiologische Grundlagen und Diagnostik der hereditären Defekte von Antithrombin III, Protein C und Protein S (1994) Hämostaseologie 14: 199-208.

Millar DS et al. Molecular genetic analysis of severe protein C deficiency (2000) Hum Genet 106: 646-653

Persson KEM, Dahlbäck B und Hillarp A Diagnosing Protein S Deficiency: Analytical Considerations (2003) Clin Lab 49: 103-110.

Rey E, Kahn SR, David M, Shrier I. Thrombophilic disorders and fetal loss: a meta-analysis (2003) Lancet 361: 901-908.

**Literatur können Sie per Fax (0211-602-1713) oder E-mail ([info@labor-maly.org](mailto:info@labor-maly.org)) anfordern.**