

Använd hela ”analyspaketet” vid utredning av trombospatienten!

Och glöm inte släktingarna ...

Sammanfattat

- Utred alla patienter som haft trombos.
- Utred alla som har hereditet för trombos (i första hand alla första-gradssläktingar).
- Utredningen kan till stor del genomföras även under pågående warfarinbehandling.
- De senaste åren har allt fler trombospredisponerande genetiska förändringar blivit kända. Flera sådana förändringar innebär en väsentligt ökad risk för trombos jämfört med enstaka förändringar. Gör därför alltid hela »paketet» av analyser!



Figur 1. Den historiskt först kända beskrivningen av venös trombos förekommer i en skrift från 1400-talet med titeln »La vie et miracles de Saint Louis». Patienten, som också drabbades av bensår, blev inte återställd förrän efter nio dagars bedjande vid S:t Louis' grav. Manuskriftet finns bevarat på Bibliothèque Nationale i Paris [2].

Venös trombos är ett vanligt tillstånd, som varje år drabbar en av 1 000 personer [1]. De bakomliggande orsakerna till venös trombos är ofta en kom-

Författare

KRISTINA E M PERSSON

ST-läkare, klinisk kemi

ANDREAS HILLARP

docent, sjukhuskemist, klinisk kemi

STEFAN LETHAGEN

docent, överläkare,
koagulationsmottagningen

ERIK BERTORP

docent, sektionschef,
koagulationsmottagningen

BJÖRN DAHLBÄCK

professor, överläkare, klinisk kemi;
samtliga vid Universitetssjukhuset
MAS, Malmö.

ination av omgivningsfaktorer (immobilisering, graviditet etc) och ärftliga faktorer. Den äldsta bevarade beskrivningen av trombos återfinns i Frankrike i ett religiöst manuskript från 1400-talet (Figur 1) [2].

De senaste årens forskning har pekat på allt fler genetiska förändringar som på olika sätt bidrar till en ökad trombosbenägenhet. För att kunna göra en korrekt riskbedömning bör man därför vid utredning göra ett »paket» av analyser, inte bara testa för t ex APC-resistens. Syftet med att analysera genetiska riskfaktorer hos patienter som redan drabbats av trombos är att på bästa sätt förutsäga något om sannolikheten att insjukna igen, och därmed bl a styra behandlingstidens längd. Ett annat mål är att identifiera släktingar som ännu inte drabbats, men som kan bära på anlaget.

I motsats till venös trombos finns vid arteriell trombos inte fullt så klara samband; därför har vi valt att här endast diskutera venös trombos.

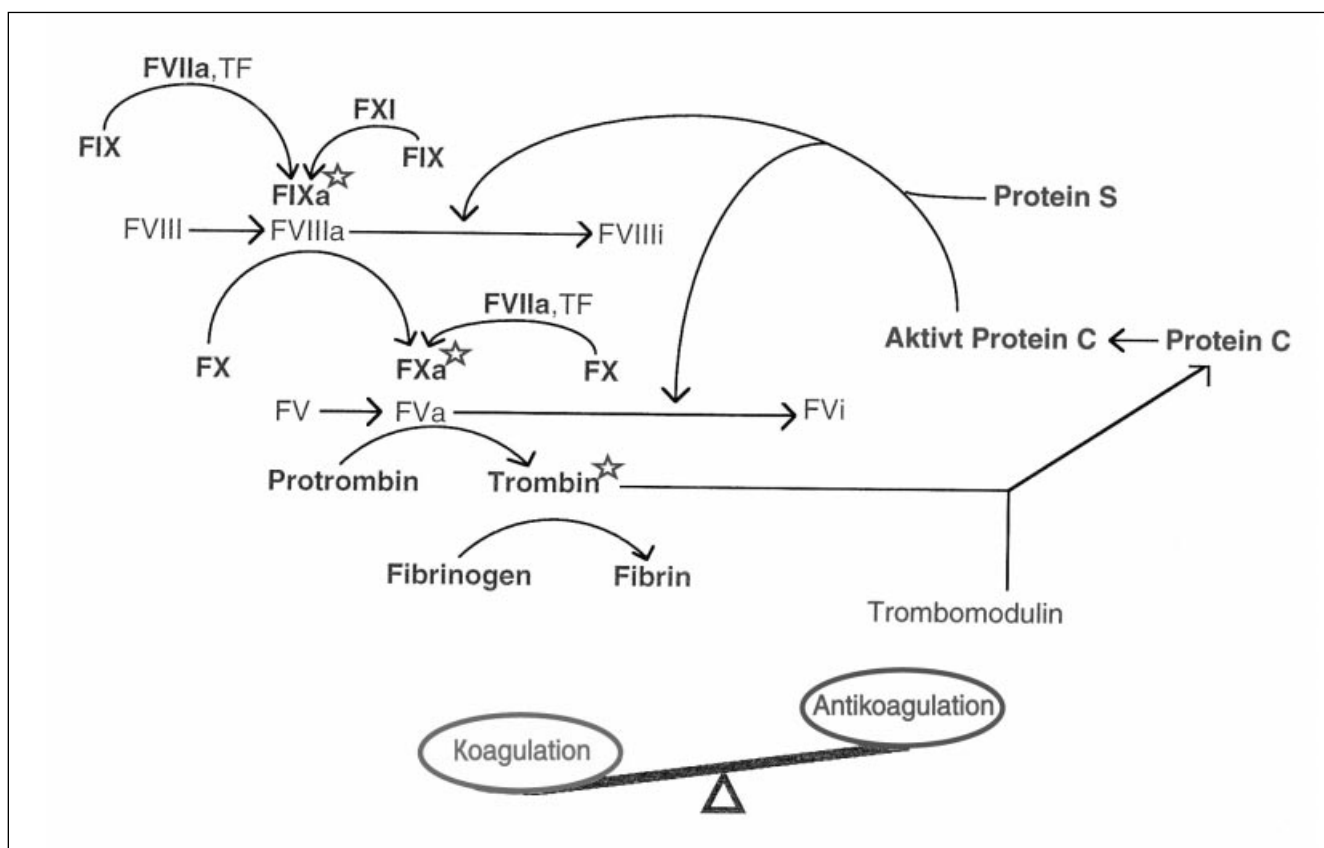
Koagulation och antikoagulation

Koagulationen sker på ytan av aktiverade trombocyter. Via en kaskadreaktion (Figur 2) inkluderande bl a faktor VIII, IX, V, X och protrombin kommer man till slutsteget i koagulationen, då fibrinogen omvandlas till ett nätverk av olösliga fibrintrådar.

Med hjälp av bl a trombin blir antikoagulationsfaktorn protein C aktiverad. Aktivt protein C kan sedan med protein S som kofaktor klyva de aktiva formerna av faktorerna V och VIII, vilket inhiberar koagulationen. Parallellt med detta finns antitrombin, som inhiberar flera av de aktiverade koagulationsfaktorerna (bl a trombin) genom att binda dem till sig.

Genetiska orsaker till venös trombos

Den vanligaste hereditära orsaken till venös trombos är APC-resistens, dvs resistens mot aktiverat protein C. I



Figur 2. Översikt över slutstegen i koagulation respektive antikoagulation. Vid trombospredisponerande förändringar får koagulation (blått) övervikt i vågskålen jämfört med antikoagulation (rött). Faktorer markerade med stjärna inhiberas av antitrombin.
 a: aktiverade koagulationsfaktorer;
 i: inaktiverade koagulationsfaktorer;
 TF = »tissue factor», vävnadsfaktor.

södra Sverige är prevalensen för heterozygot APC-resistens hög, ända upp emot 10–15 procent [3] (Tabell I). En mutation i genen för faktor V, nukleotid 1691 G->A (också kallad faktor V Leiden), leder till ett utbyte av aminosyra nr 506. APC skall normalt inaktivera faktor V genom att klyva denna just vid aminosyra 506.

När detta inte sker på grund av att faktor V är »resistent» mot APC kommer koagulation att dominera över antikoagulation (Figur 2), och följden blir en ökad risk för trombos. Faktor V-mutationen, som troligen uppstod för 21 000–34 000 år sedan, förekommer endast hos kaukasier [4].

Heterozygot brist på protein C eller protein S, liksom antitrombinbrist, är ovanligare än APC-resistens. I homozygot form ger dessa förändringar allvarliga symtom redan i neonatalperioden, bl a purpura fulminans, som ofta leder till döden.

En mutation i protrombingenen, 20210G->A, leder till förhöjda nivåer av protrombin och har visat sig vara en riskfaktor för trombos.

Det finns även andra sällsynta orsaker till ökad trombosrisk, t ex dysfibrinogenemi.

Förvärvade orsaker till venös trombos

Graviditet, liksom p-piller (se nedan), bidrar båda till en ökad trombosrisk. Andra vanliga orsaker är kirurgi, frakturer, övervikt, långvarig immobilisering och malignitet. Risken att insjukna i trombos ökar med åldern. Den kumulativa sannolikheten att ha insjuknat i trombos ökar från 0,5 procent vid 50

års ålder till 10,7 procent vid 80 års ålder [5].

Antifosfolipidantikroppar kan förekomma isolerat (primärt antifosfolipid syndrom), men de samexisterar ofta med olika autoimmuna sjukdomar, t ex systemisk lupus erythematosus (SLE). Antikropparna, som är heterogena till sin natur, brukar delas in i två överlappande huvudgrupper, lupus antikoagulanter och antikardiolipinantikroppar, beroende på vilken testmetodik som ger utslag (se nedan). Båda grupperna ökar trombosrisken, men patogenesen är oklar. Förhöjda nivåer av antikardiolipinantikroppar efter en venös trombos har visat sig ge en klart ökad risk för såväl återinsjuknande i trombos som dödsfall i jämförelse med frånvaro av antikroppar [6].

Höga nivåer av faktor VIII har visat sig vara förknippade med ökad trombosrisk [7]. Vid inflammation stiger faktor VIII, vilket gör att det hos den enskilde patienten är svårt att bedöma huruvida nivån var förhöjd hos patienten redan före trombosen, eller om den är stegrad på grund av inflammation. Man har försökt att hitta genetiska förändringar i faktor VIII som skulle kunna leda till ökad trombosrisk, men man har

Grundpaket av analyser vid utredning av venös trombos

- P-PK(INR), protombinkomplex
- P-APT-tid, aktiverad partiell tromboplastintid
- B-trombocyter
- P-antitrombin
- P-protein C
- P-protein S, fritt
- P-APC-resistens
- B-protrombinmutation 20210 G->A
- P-lupus antikoagulanstest
- P/S-antikardiolipintest

- P= Plasma
- B= Blod
- S= Serum

ANNONS

Tabell I. Prevalenser och riskökningar vid genförändringar [3, 5, 14].

	Prevalens i befolkningen, procent	Prevalens i trombospopulation, procent	Antal gånger ökad risk att insjukna i trombos	Resultat av förändringen
APC-resistens, heterozygot	10–15 ¹	20–60	5–10	Aktivt protein C har dålig effekt på faktor V
Protein C-brist	0,3–0,5	2–5	10	Låga nivåer protein C, leder till sämre fungerande antikoagulation
Protein S-brist	Okänd, troligen ungefär som C-brist	2–5		Låga nivåer protein S, leder till sämre fungerande antikoagulation
Antitrombinbrist	0,05–0,2	1–2	10–20	Låga nivåer antitrombin, leder till svagare hämning av flera koagulationsfaktorer
Protrombin mutation	2	6	3	Förhöjda nivåer av protrombin

¹Gäller Skåne; i övriga delarna av Sverige är prevalensen lägre, i t ex Göteborg är prevalensen 6,5 procent [15].

Tabell II. Sammanställning av oddsratio för att belysa den ökade risken för trombos vid kombinerade förändringar [14]. Tabellen är en sammanställning av resultat från flera olika studier vilket här har medfört olika oddsratio för APC-resistens som enstaka genförändring.

	Oddsratio för enstaka genförändring	Oddsratio för kombinerade förändringar
APC-resistens, heterozygot	1,6	32
Protein C-brist	7,6	
APC-resistens, heterozygot	10	112
Protein S-brist	10	
APC-resistens, heterozygot	4,2	13
Protrombinmutation	1,6	

ännu inte funnit några [8, 9]. Därför har vi valt att i nuläget inte låta faktor VIII ingå i paketet av trombosanalyser.

Patienter med flera genetiska förändringar

De senaste årens forskning har allt klarare visat att patienter som har flera trombospreponderande genetiska förändringar löper en väsentligt större risk att insjukna än de som har endast en markör (Tabell II). Att ha flera förändringar innebär ofta antingen kumulativ eller synergistisk samverkan mot en ökad benägenhet för trombos. För att få en helhetsbedömning av patienten bör man därför vid utredning av ökad trombosbenägenhet göra ett helt paket av analyser (se ruta), inte bara testa för t ex APC-resistens.

Vid en familjestudie fann man att 19

procent av personer med antingen protein S-brist eller faktor V-mutationen hade haft trombos, medan 72 procent av dem som hade båda förändringarna hade haft trombos [10]. I en annan studie fann man att en kombination av antitrombinbrist och APC-resistens gjorde att elva av tolv patienter fick trombos; medianåldern för första trombosen var 16 år [11]. Risken att insjukna ökar alltså betydligt om man har flera genförändringar, och åldern vid första insjuknandet sjunker väsentligt.

Vilka patienter bör utredas?

Man bör överväga att utreda alla patienter med trombos, och då göra hela analyspaketet (enligt rutan) för att kunna göra en korrekt bedömning av risken för återinsjuknande. Det räcker således inte att bara kontrollera om patienten är

APC-resistent, eftersom risken att insjukna är så mycket större om det finns flera samtidiga genförändringar. Faktorer som ökar indikationerna för koagulationsutredning är bl a hereditet, insjuknande vid låg ålder samt recidiverande trombos.

Alla individer med hereditet för trombos (i första hand alla förstagsgradsläktingar) bör testas, även om de ännu inte själva haft trombos, för att göra dem uppmärksamma på den eventuellt ökade risk de löper, och kanske därmed också förhindra att de överhuvudtaget får trombos.

Någon åldersgräns för trombosutredning har vi inte. Vi tycker att det är viktigt att alla patienter får en korrekt riskbedömning vare sig personen är 25 eller 75 år. Genom att utreda även äldre personer på detta sätt kan man också identifiera släktingar som ännu inte insjuknat.

P-pillerrisken

Eftersom APC-resistens är vanlig förekommande anser vi att det från koagulationssynpunkt vore värdefullt att utreda alla patienter som skall inta p-piller avseende APC-resistens. I denna fråga råder dock inte konsensus [12].

En kvinna som är heterozygot för APC-resistens, och som dessutom använder p-piller, löper en årlig risk att drabbas av trombos på 0,3–0,5 procent, vilket är en 35–50 gånger större risk än den för en kvinna som inte är APC-resistent och inte äter p-piller. Under en tioårsperiod löper en heterozygot p-pilleranvändande kvinna 30 procents risk att drabbas av trombos, vilket innebär en mortalitet i denna grupp under samma tid på 0,3–0,6 procent.

Det är viktigt att betona att patienter med heterozygot APC-resistens ofta saknar ärftlighet för venös trombos, eftersom de flesta av dem har heterozygota föräldrar. Flertalet kan dock vara relativt unga och har ännu inte hunnit insjukna i trombos. För att hitta dem som är heterozygota måste ett stort antal människor undersökas; syftet med detta vore emellertid att förhindra insjuknande i tromboembolier hos unga, för övrigt friska kvinnor.

Pågående warfarinbehandling inget hinder för utredning

Det är fördelaktigt om koagulationsutredningen kan utföras i warfarinfritt skede, eftersom de K-vitaminberoende faktorerna påverkas, vilket kan ge tolkningssvårigheter. Till stor del kan dock utredningen genomföras även om patienten står på warfarinbehandling. Mutationsanalyserna påverkas inte av medicineringsmedlen, medan nivåerna av protein C och S sjunker. Då vi har utarbetat referensvärden för protein C och S när

patienten står på stabil fulldosbehandling med warfarin går det i de flesta fall att utföra även dessa analyser trots pågående behandling.

När det gäller protein C kan värdena ibland bli osäkra. I tveksamma fall kan man ställa patienten på lågmolekylärt heparin och göra ett temporärt uppehåll med warfarin. Antitrombinnivåerna påverkas inte nämnvärt av warfarin och kan därför bedömas utifrån det gängse referensområdet. Lupus antikoagulansdiagnostik går däremot ej att genomföra.

Om man skall genomföra utredning under pågående warfarinbehandling skall patienten vara inställd på en stabil nivå. Man bör alltid vänta minst tre månader efter trombosen. Vid utsättning av warfarin rekommenderar vi provtagning tidigast tio dagar efter senast given dos, men man kan gärna vänta ytterligare någon vecka för att alla faktorer säkert skall hinna uppnå sina normala nivåer.

Laboratorieanalyser

Vid misstanke om trombofili bör man i ett första paket utföra följande analyser (se ruta):

PK(INR), APTT, trombocyter, APC-resistens, protein C, protein S (fritt), antitrombin, protrombinmutation 20210 G->A samt test för lupusantikoagulans och antikardiolipin. Om vi finner APC-resistens går vi vidare med analys av faktor V-mutationen. Tidigare gjorde man många analyser av det fibrinolytiska systemet, men då variationerna är stora även hos den enskilde patienten, och nivåerna dessutom ofta påverkas av inflammation (t ex plasminogen aktivator inhibitor, PAI-1), har det visat sig att dessa analyser inte tillför mycket information som man kan ha klinisk nytta av [13].

När det gäller mutationsdiagnostik är det enkelt för laboratoriet att analysera den faktor V-mutation som orsakar APC-resistens samt leta efter protrombinmutationen. För protein C och S, däremot, finns många olika mutationer beskrivna, olika i olika familjer, vilket gör att det rent praktiskt är svårt att identifiera sådana förändringar. Därför analyseras endast nivåerna av dessa proteiner.

Antifosfolipidantikroppar av lupus-typ detekteras med koagulationsbaserade test. På grund av den heterogena naturen bör minst två olika test med olika fosfolipidinhåll och testprincip utföras samtidigt. För att kontrollera att en förlängd koagulationstid beror på antifosfolipidantikroppar tillsätts normalplasma till provet. Om förlängningen kvarstår trots utspädning med normalplasma stärker detta misstanken om förekomst av lupus antikoagulans. Ytter-

ligare test för att bekräfta fosfolipidberoendet, t ex genom extra tillsats av fosfolipider/trombocytmembran, kan göra laboratediagnostiken bättre. Antikroppar av antikardiolipintyp påvisas immunkemiskt med ELISA-teknik.

Vid speciella frågeställningar, eller vid stark misstanke om hereditet trots negativt utfall i ovanstående analyser, kan man på speciallaboratoriet gå vidare med andra analyser, t ex av plasminogen och fibrinogen.

För att få en trombosutredning utförd rekommenderas att man skickar både citratrör och EDTA-rör (frysta enligt laboratoriets föreskrifter) till oss. Patienten behöver således inte infinna sig på koagulationslaboratoriet. Inremitterande läkare anger »trombosutredning» på remissen samt lämnar uppgift om anamnes och hereditet.

Referenser

1. Lindblad B, Bergqvist D, Nordström M, Kjellström T, Björgell O, Nylander G. Frekvensen venös tromboembolism har inte förändrats på 30 år. *Läkartidningen* 1992; 89: 2941-7.
2. Dexter L, Folch-Pi W. Venous thrombosis. An account of the first documented case. *JAMA* 1974; 228: 195-6.
3. Zöller B, Norlund L, Leksell H, Nilsson JE, von Schenck H, Rosen U. High prevalence of the FVR506Q mutation causing APC resistance in a region of southern Sweden with a high incidence of venous thrombosis. *Thromb Res* 1996; 75: 524-5.
4. Zivelin A, Griffin J, Xu X, Pabinger I, Samama M, Conard J et al. A single genetic origin for a common caucasian risk factor for venous thrombosis. *Blood* 1997; 89: 397-402.
5. Hansson P, Welin L, Tibblin G, Eriksson H. Deep vein thrombosis and pulmonary embolism in the general population. *Arch Intern Med* 1997; 157: 1665-70.
6. Schulman S, Svenungsson E, Granqvist S, Duration of Anticoagulation Study Group. Anticardiolipin antibodies predict early recurrence of thromboembolism and death among patients with venous thromboembolism following anticoagulant therapy. *Am J Med* 1998; 104: 332-8.
7. Koster T, Blann A, Briet E, Vandenbroucke J, Rosendaal F. Role of clotting factor VIII in effect of von Willebrand factor on occurrence of deep-vein thrombosis. *Lancet* 1995; 345: 152-5.
8. Mansvelt E, Laffan M, McVey J, Tuddenham E. Analysis of the F8 gene in individuals with high plasma factor VIII:C levels and associated venous thrombosis. *Thromb Haemost* 1998; 80: 561-5.
9. Kamphuisen P, Eikenboom J, Vos H, Rosendaal F, Bertina R. Two highly variable CA-repeat polymorphisms in the factor VIII gene and the risk of venous thrombosis. *Blood* 1998; 90: 97b.
10. Zöller B, Berntsdotter A, Garcia de Frutos P, Dahlbäck B. Resistance to activated protein C as an additional genetic risk factor in hereditary deficiency of protein S. *Blood* 1995; 85: 3518-23.
11. van Boven H, Reitsma P, Rosendaal F, Bayston T, Chowdbury V, Bauer K et al. Factor V Leiden (FV R506Q) in families with inherited antitrombin deficiency. *Thromb Haemost* 1996; 75: 417-21.

12. Dahlbäck B. APC-resistens, p-piller och trombos. Screening motiverad för att hitta högriskfall. *Läkartidningen* 1997; 94: 1522-4.
13. Malm J, Laurell M, Nilsson IM, Dahlbäck B. Thromboembolic disease. Critical evaluation of laboratory investigation. *Thromb Haemost* 1992; 68: 7-13.
14. Zöller B, Garcia de Frutos P, Hillarp A, Dahlbäck B. Thrombophilia as a multigenic disease. *Haematologia* 1999; 84: 59-70.
15. Hansson P, Eriksson E, Welin L, Eriksson H. Prevalence of APC resistance and its relationship to arterial and venous thromboembolism in a general population sample of elderly Swedish men: The study of men born in 1913. *J Intern Med* 1999; 245: 593-600.

Summary

A full range of analyses should be used when investigating patients with venous thrombosis

Kristina E M Persson, Andreas Hillarp, Stefan Lethagen, Erik Berntorp, Björn Dahlbäck

Läkartidningen 2000; 97: 5452-6.

During the last few years several genetic markers have been discovered that contribute to an increased risk of venous thrombosis. Patients who have several genetic markers are at a considerably higher risk of being affected than patients with only one marker. Recommendations are made as to which patients should be investigated, with appropriate laboratory analyses, when an increased risk of venous thrombosis is suspected. Most of the analyses can be done even if the patient is undergoing warfarin treatment.

Correspondence: Kristina EM Persson, Department of Clinical Chemistry, Universitetssjukhuset MAS, SE-205 02 Malmö, Sweden.

E-mail:

Kristina.Persson@klkemi.mas.lu.se