

КАРДИОЛОГИЯ & КАРДИОХИРУРГИЯ

Том 4, Број 3 • 2021

РЕДАКЦИОННА КОЛЕГИЯ

Главен редактор

Проф. Тони Веков

Заместник-главен редактор

Проф. г-р Яна Симова

Научни секретари

Д-р Мартин Христов

Д-р Денис Николов

Членове

Проф. г-р Снежана Тишева (България)

Проф. г-р Мария Цекова (България)

Проф. г-р Пламен Божинов (България)

Проф. г-р Николай Райнов (България)

Проф. г-р Петр Видимски (Чехия)

Проф. г-р Жан-Пиер Басан (Франция)

Проф. г-р Франческо Бедони (Италия)

Проф. г-р Збинек Страка (Чехия)

Проф. г-р Луиджи Мартинели (Италия)

Проф. г-р Ладислав Грох (Чехия)

Проф. г-р Жири Витовец (Чехия)

Проф. г-р Николай Димитров (България)

Доц. г-р Димитър Харитонов (България)

Чл.-кор. Йовчо Топалов (България)

CARDIOLOGY & CARDIAC SURGERY

Volume 4, Number 3 • 2021

EDITORIAL BOARD

Editor-in-Chief

Prof. Toni Vekov

Deputy editor

Prof. Iana Simova

Scientific Secretaries

Dr. Martin Hristov

Dr. Denis Nikolov

Members

Prof. Snejana Tisheva (Bulgaria)

Prof. Maria Tsekova (Bulgaria)

Prof. Plamen Bozhinov (Bulgaria)

Prof. Nikolay Raynov (Bulgaria)

Prof. Petr Widimsky (Czech Republic)

Prof. Jean-Pierre Bassand (France)

Prof. Francesco Bedogni (Italy)

Prof. Zbyněk Straka (Czech Republic)

Prof. Luigi Martinelli (Italy)

Prof. Ladislav Groch (Czech Republic)

Prof. Jiří Vítovec (Czech Republic)

Prof. Nikolay Dimitrov (Bulgaria)

Assoc. Prof. Dimitar Haritonov (Bulgaria)

Corr. member Yovcho Topalov (Bulgaria)

Български
Кардиологичен
Институт



Bulgarian
Cardiac
Institute

www.cardiacinstitute.bg

СЪДЪРЖАНИЕ

ОБЗОРИ

- Е. Бечева-Крайчир.* Генетична предрасположеност към тромбофилия3

КЛИНИЧНИ СЛУЧАИ

- А. Иванова, Я. Симова, Н. Димитров, П. Павлов, Й. Котларов, Т. Веков.* Хепарин индуцирана тромбоцитопения при пациентка след COVID-19 и доказана тромбофилия36
- В. Петрова, Х. Цановска, Я. Симова, П. Божинов, Н. Димитров, Т. Веков.* Проследяване на сърдечното засягане при пациенти с миотонична дистрофия тип 1 (Болест на Steinert).....50
- Н. Дочева, С. Бошнаков, Н. Димитров, В. Корновски, Т. Веков.* Мултикавитарна тромбоза, преминаваща от дясно предсърдие през форамен овале в ляво предсърдие и лява камера при пациент с двустранна белодробна тромбоемболия и дълбока венозна тромбоза.....59

CONTENTS

REVIEWS

- E. Betcheva-Krajcir.* Genetic predisposition to thrombophilia3

CASE REPORTS

- A. Ivanova, I. Simova, N. Dimitrov, P. Pavlov, Y. Kotlarov, T. Vekov.* Heparin-induced thrombocytopenia in a patient after COVID-19 and proven thrombophilia36
- V. Petrova, H. Tsanovska, I. Simova, P. Bozhinov, N. Dimitrov, T. Vekov.* Monitoring of cardiac involvement in patients with myotonic dystrophy type 1 (Steinert's disease).....50
- N. Docheva, S. Boshnakov, N. Dimitrov, V. Kornovski, T. Vekov.* Multicavitary thrombosis passing from the right atrium through the foramen ovale to the left atrium and left ventricle in a patient with bilateral pulmonary thromboembolism and deep vein thrombosis.....59

ГЕНЕТИЧНА ПРЕДРАЗПОЛОЖЕНОСТ КЪМ ТРОМБОФИЛИЯ

Е. Бечева-Крайчир

Лаборатория по молекулярна генетика, МБАЛ „Сърце и мозък“ – Плевен

Резюме. Тромбофилия означава предразположеност към по-лесно и/или неправилно тромбоембообразуване. Тя може да е наследствена, когато се дължи на генетични фактори, придобита, когато се дължи на външни фактори или най-често етиологично смесена – резултат от взаимодействието на генетични варианти и външни (рискови) фактори. В основата на тромбофилията може да бъде както повишена функция на факторите на каскадата на кръвосъсирване, така и понижена функция на факторите на фибринолиза. Генетични фактори, за които е потвърдено етиологичното значение при тромбофилия са наличие на генетичен вариант *Фактор V Лайден (FV Leiden)*, наличие на генетичен вариант *G20210A в протромбин (Фактор II)*, дефицит на протеин С, дефицит на протеин S, дефицит на антитромбин. Други генетични фактори, за чието клинично значение все още се спори, са полиморфизмът 4G на гена *инхибитор на плазминогенния активатор (PAI-1)* и няколко полиморфни варианта на гена *метилентетрахидрофолат редуктаза (MTHFR)*, свързани с риск от хиперхомоцистеинемия. Основен клиничен израз на тромбофилията е повишеният риск за развитие на венозна тромбоза и/или венозна тромбоемболия. Настоящият литературен обзор има за цел да запознае клиничните специалисти с особеностите на генетичната предразположеност към тромбофилия и да помогне на колеги лекари и здравни работници, да взимат клинични решения за изследване, профилактика и терапия въз основа на медицина, основана на доказателства.

Ключови думи: тромбофилия, фактор V, фактор II, метилентетрахидрофолат редуктаза, инхибитор на плазминогенния активатор

GENETIC PREDISPOSITION TO THROMBOPHILIA

E. Betcheva-Krajcir

Laboratory of Molecular Genetics, Heart and Brain Hospital – Pleven

Abstract. Thrombophilia means predisposition to an easier and/or inappropriate coagulation. It can be: hereditary, associated with certain genetic background; acquired, associated with the exposition to environmental (risk) factors; etiologically mixed – the most common type, resulting from interaction of genetic and environmental factors. Thrombophilia can be caused by gain-of-function in the coagulation pathway, as well as by loss-of-function in fibrinolysis. Established etiological genetic factors for thrombophilia include *Factor V Leiden* variant; the *G20210A prothrombin (Factor II)* genetic variant; hereditary protein C, protein S or antithrombin deficiency. Other genetic factors whose clinical significance is still debated are homozygosity for the 4G-polymorphism of the *plasminogen activator inhibitor (PAI-1)* gene and some hyperhomocysteinemia-associated polymorphic variants in the *methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR)* gene. The most common clinical manifestation of thrombophilia is the susceptibility to develop deep vein thrombosis and/or venous thromboembolism. This review is intended to familiarize health care professionals with the clinical manifestations of the most common types of genetic thrombophilia and to assist the evidence-based-medicine decision making for testing, prophylaxis and therapy.

Key words: thrombophilia, factor V, factor II, methylenetetrahydrofolate reductase, plasminogen activator inhibitor

Тромбофилия означава предразположеност към по-лесно или неправилно тромбоембообразуване. Тя може да е наследствена, когато се дължи на генетични фактори, *придобита*, когато се дължи

Thrombophilia (or hypercoagulability) is the predisposition or the tendency to an easier and/or inappropriate coagulation. Thrombophilia can be *hereditary*, when it is associated with certain genetic

на външни фактори или най-често етиологично *смесена* – резултат от взаимодействието на генетични варианти и външни (рискови) фактори [1, 2]. В основата на тромбофилията може да бъде както повишена функция на факторите на каскадата на кръвосъсирване, така и понижена функция на факторите на фибринолиза [1].

Основен клиничен израз на тромбофилиите е повишеният риск за развитие на *венозна тромбоза* и/или венозна тромбоемболия (ВТЕ; venous thromboembolism – VTE), чиито най-чести форми са тромбоза на дълбоките вени (ТДВ; deep-vein thrombosis – DVT) и усложнението ѝ белодробен тромбоемболизъм (БТЕ). Тромботични инциденти засягат годишно 1-2 на 1000 души и имат значителен дял в общата болестност и смъртност в световен мащаб. Счита се, че поне половината от всички пациенти с венозен тромбоемболизъм, при които няма злокачествено заболяване, имат придобита или наследствена тромбофилия [3, 4]. Тромбофилията може да се изяви и чрез рецидивиращи спонтанни аборти, усложнения по време на бременност, като прееклампсия, отлепване на плацентата или интраутеринно забавяне на растежа на плода, вероятно също и инсулт и коронарно-съдови инциденти [4].

Към придобитите и/или външни фактори, асоциирани с повишен риск от тромбози, се отнасят: наличие на малигнено заболяване (най-важната диференциална диагноза!), наднормено тегло и затлъстяване, тютюнопушене, беззвжване, употребата на някои медикаменти (орални контрацептиви и хормонозаместителни медикаменти, хепарин при хепарин-индуцираната тромбозопения), големи хирургични интервенции и травми [2].

Генетични фактори, за които е потвърдено етиологичното значение при тромбофилия са наличие на генетичен вариант *фактор V Лайден (FV Leiden)*, наличие на генетичен вариант *G20210A (с.*97 G>A) в протромбиновия ген (фактор II, FII)*, дефицит на протеин С, дефицит на протеин S, дефицит на антитромбин. Първите два генетични варианта водят до *повишена функция* на каскадата на кръвосъсирване, а последните три водят до *понижена функция* на три основни фибринолитични

variants, *acquired*, when due to external factors, or most commonly etiologically *mixed* – the result of the interaction of genetic variants and environmental (risk) factors [1, 2]. The pathogenesis of thrombophilia can be associated with either clotting factors gain of function, or fibrinolysis factors loss of function [1].

The main clinical manifestation of thrombophilia is an increased risk of developing *venous thrombosis* and/or venous thromboembolism (VTE), the most common forms of which are deep-vein thrombosis (DVT) and its complication pulmonary thromboembolism (PTE). Thrombotic events affect annually 1-2 per 1000 people and account for a significant proportion of overall morbidity and mortality worldwide. It is estimated that at least half of all patients with venous thromboembolism with no malignancy, have an acquired or an inherited thrombophilia [3, 4]. Other findings in thrombophilia include recurrent pregnancy loss, pregnancy complications (pre-eclampsia, placental abruption or intrauterine fetal growth retardation), and even cerebral stroke and coronary thrombosis [4].

Common acquired and/or environmental factors associated with an increased risk of thrombosis include: an active malignancy (which is the most important differential diagnosis in VTE!), overweight and obesity, smoking, prolonged immobilization, use of certain medications (oral contraceptives and hormone replacement drugs, heparin in heparin-induced thrombocytopenia), major surgical interventions and trauma [2].

Well established genetic factors for thrombophilia are the genetic variant *Factor V Leiden (FVL)*, the *G20210A (с.*97 G>A)* genetic variant in the *prothrombin (Factor II, FII)* gene, hereditary protein C, protein S or antithrombin deficiency. The first and the second genetic variants cause an *increased function* of the coagulation cascade, and the latter three cause a *decreased function* of the fibrinolytic pathway. Other disputable genetic fac-

фактора. Други генетични фактори, за чието клинично значение все още се спори, са полиморфизмът 4G на гена за *инхибитора на плазминогенния активатор (PAI-1)*, няколко полиморфни варианта на гена за ензима *метилентетрахидрофолат редуктаза (MTHFR)*, свързани с риск от хиперхомоцистеинемия, повишени нива на фактори VIII, IX, XI и други [1, 2]. Генетичните дефекти, свързани с дефицит на протеин C, протеин S и на антитромбин, са много редки. Тези състояния се доказват чрез директно измерване на съответните фактори (или тяхната активност) в клинична лаборатория. Повечето от останалите генетични фактори се изследват чрез генетични изследвания [5, 6]. Групата от дефекти, наречени дисфибриногенемия, дължащи се на различни генетични изменения, свързани със синтез на абнормен фибрин, който е резистентен към фибринолиза, са изключително редки (пог 1% от индивидите с тромбоза). Доказването на дефекта се извършва чрез клинично-лабораторен тест за концентрация и активност на плазмения фибриноген [5, 7].

Генетично обусловената тромбофилия може да има различна фенотипна изява при различни индивиди. В някои случаи се наблюдава натрупване на няколко индивида от различни поколения с клинична изява; някои индивиди никога не развиват тромбоза, други страдат от рецидивиращи тромботични инциденти още преди 30-годишна възраст; по-чести са случаите на тромбоза в нетипични локализации (например – ретина, слезка); много рядко изява има още в неонатална или ранна детска възраст, клиничен израз на което могат да бъдат фулминантна неонатална пурпура, тромбоза на долна куха, чернодробна, бъбречна вена, дори някои случаи на детска церебрална парализа могат да са последици от тромбофилия [1, 2].

Малко над 30% от случаите на ТДВ могат да се обяснят с наследствена (генетична) тромбофилия [7]. Сред индивидите от европейската популация, прекарвали единичен епизод на ВТЕ (преди 50 годишна възраст) в поне 20 % от случаите се открива Factor V Leiden, в 3-8% мутация Factor II G20210A, в 2-5% дефицит на протеин C, в 1-2% дефицит на антитромбин и в 1-3% – дефицит на протеин S. Сред пациентите с рецидивиращи венозни тромбоемболии тези дефекти се откриват още по-често, съответно в

tors are the 4G polymorphism of the *plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1)* gene, two hyperhomocysteinemia-associated polymorphic variants of the *methylenetetrahydrofolate reductase enzyme (MTHFR)* gene, increased coagulation factor VIII/IX/XI levels, and others [1, 2]. Genetic forms of protein C, protein S and antithrombin deficiencies are very rare; they are diagnosed by direct measurement of the proteins or their activity in serum. Most of the remaining genetic factors are detected by genetic testing [5, 6]. The dysfibrinogenemia defects – a group of genetic disorders, associated with the synthesis of abnormal fibrin that is resistant to fibrinolysis – are extremely rare (found in less than 1% of all individuals with thrombosis) and identified by plasma fibrinogen concentration and activity measurement [5, 7].

Genetically determined thrombophilia demonstrates significant phenotypic (clinical) heterogeneity. A pedigree might demonstrate several affected individuals or none at all; some mutation carriers never develop thrombosis, others suffer from recurrent thrombotic events before the age of 30; among genetic variant carriers, more common is thrombosis at atypical localizations (e.g. retina, spleen veins); although extremely seldom, the first manifestation can occur even in neonatal period or early childhood, as fulminant neonatal purpura, or thrombosis of vena cava inferior, the hepatic or a renal vein; it was suspected that some cases of cerebral palsy can be attributed to genetic thrombophilia [1, 2].

About 30% of all DVT cases are associated with hereditary (genetic) thrombophilia [7]. Among individuals from European descent with a first episode of VTE (before the age of 50), *Factor V Leiden* is found in at least 20%, *Factor II G20210A* in 3-8%, protein C deficiency in 2-5%, antithrombin deficiency in 1-2% and protein S deficiency in 1-3%. The occurrence of these genetic factors among patients with recurrent venous thromboembolism, is even higher: 40-50% for FV, 15-20% for FII, 5-10% for pro-

40-50% за FV, в 15-20% за FII, по 5-10% за дефицит и на протеин C, и на протеин S, 2-5% за анти-тромбин [1, 4, 7].

Най-висок риск от *рецидив* на венозна тромбоза има при придобитата тромбофилия при антифосфолипиден синдром, следван от риска за рецидив при редките наследствени дефицити на протеин C, и на протеин S или на анти-тромбин [6].

При взимането на решение за изследване с цел изясняване на евентуална генетична тромбофилия, трябва да се обмисли, дали резултатът от изследването би променил подхода към пациента: ще се промени ли начина на лечение на тромботичен инцидент; ще се наложи ли профилактика, и, ако да, каква и колко продължителна да е тя [5, 6]. Според настоящите схващания, идентифицирането на генетично обусловена тромбофилия няма значение при избора на начина и продължителността на терапията при остър тромботичен епизод. Изследването за такива генетични фактори не трябва да се прави масово, а само след възникването на тромботичен инцидент (особено преди 50 години), рецидивиращ венозен тромбоемболизъм, позитивна фамилна анамнеза или група суспектна клинична находка (например тромбоза при деца или в нетипична локализация). Полза от това изследване биха имали пациентите, с повишен риск от тромбоза, за които да може да се обмисли продължителността на антикоагулантна терапия след инцидент или по-интензивна профилактика, в моменти на предвидим повишен риск (например продължително пътуване или значителна хирургична интервенция). Също така, могат да бъдат идентифицирани жени, при които могат да се очакват усложнения по време на бременност, или при прием на орални контрацептиви или хормонозаместителна терапия [4, 6].

Съвременни, ревизирани и систематизирани препоръки за терапия на венозен тромбоемболизъм могат да бъдат намерени в специализирана литература, например Kearon et al. 2016, Ortel et al. 2020, Gerlach et al. 2020 [3, 6, 8].

При съмнение за тромбофилия и насочване към молекулярно-генетични изследвания, повечето лаборатории в България провеждат първо, т.нар. „класическа молекулярно-генетична диагностика на кръвосъсирването“ или „основен пакет“. Обикновено той включва: FV Leiden; с.*97 G>A (FII, *про-тромбин*); полиморфизъм 4G/5G на PAI1; полиморфизми с.665C>T и с.1286A>C в гена MTHFR.

tein C and S deficiency, and 2-5% for antithrombin deficiency [1, 4, 7].

The highest recurrence risk for VTE is estimated in antiphospholipid syndrome (a type of acquired thrombophilia), and the second highest – in protein C, protein S or antithrombin deficiencies [6].

When considering genetic testing for thrombophilia, the following clinical aspects should be taken into account: is the outcome of the testing going to affect the first VTE episode anticoagulant therapy selection and duration; is there a specific primary or secondary prophylaxis that can be offered and for how long [5, 6]. According to current understanding, testing for genetic thrombophilia is not decisive in selecting the type and determining the duration of the therapy of an acute thrombotic episode and should not be offered as a screening in general. It is rather recommended in following cases: first episode of thrombosis by the age of 50; recurrent VTE; a positive family history for thrombosis; childhood thrombosis; thrombosis at atypical localization; risk patients with VTE who might be considered for long term anticoagulant therapy or intensive prophylaxis before and during risk factor exposure (e.g. long sedentary traveling, major surgery); women at risk for pregnancy complications; women, planning to take oral contraceptives or hormone replacement therapy [4, 6].

Current revised guidelines for the therapy of venous thromboembolism are systematized in the professional literature (i.e. Kearon et al. 2016, Ortel et al. 2020, Gerlach et al. 2020) [3, 6, 8].

If thrombophilia is clinically suspected and a molecular genetic testing is indicated, a so called “first-line” or classical or basic thrombophilia genetic testing is offered in the genetic laboratories in Bulgaria. It includes four or five markers: FV Leiden, с.*97 G>A (FII, *prothrombin*), 4G/5G polymorphism of PAI1, с.665C>T and с.1286A>C polymorphisms in the MTHFR gene.

При липса на някои от тези варианти (или други специфични ситуации), някои лаборатории предлагат т.нар. „разширен пакет“, в който могат да влизат различен брой и вид от следните маркери: *FV HR2* (фактор 5): c.3980A>G (p.His1327Arg) (R2-полиморфизъм) само в случай на наличие на мутация *FV Leiden*; Фактор 13 (Factor XIII) – p.Val35Leu; ACE – Ins/Del-полиморфизъм. Среща се и диагностика на 2 варианта във фактор 5, които обаче са изключително редки – описани са единични случаи в британска популация или в индивиди с китайски произход, съответно *FV Cambridge*: NM_000130.4(F5): c.1001 G>C (p. Arg334Thr) и *FV Y1702C*: NM_000130.4(F5):c.5189A>G (p.Tyr1730Cys).

При етиологично неизяснена венозна тромбоза, винаги трябва да се мисли за малигном, който да се изясни диагностично [6].

Поради дисрегулация на коагулационната каскада в резултат на цитокиновата буря при тежко протичане на корона-вирусна инфекция при някои пациенти, в момента се проучва значението на няколко генетични варианти в гените за фактори на кръвосъсирването за тежестта на клиничната картина при COVID-19.

ФАКТОР V LEIDEN ТРОМБОФИЛИЯ (ФАКТОР V ЛАЙДЕН, FV), РЕЗИСТЕНТНОСТ КЪМ АКТИВИРАН ПРОТЕИН C (ACTIVATED PROTEIN C (APC) RESISTANCE)

Фактор V Лайден

Гликопротеинът фактор V е важен компонент на каскадата на кръвосъсирване. Той циркулира в кръвта в неактивна форма, докато не бъде активиран от фактор II, а про-коагулаторният му ефект продължава, докато не бъде инактивиран от активирания протеин C (APC). Инактивирането на фактор V се осъществява чрез „разцепване“ (cleavage) на две специфични места в молекулата на гликопротеина FV [1, 4, 9].

В генът *FV (coagulation factor V)*, кодиращ фактор V са идентифицирани няколко варианта, оказващи влияние върху функцията на гликопротеина. Клинично значение има основно вариантът, наричан фактор V на Лайден (Factor V Leiden variant (FVL)).

When thrombophilia is suspected and a genetic testing is indicated, most laboratories in Bulgaria offer a first-line „classical (basic) molecular genetic diagnosis of thrombophilia“, that usually includes analysis of *FV Leiden*, c.*97 G>A (*FII, prothrombin*), 4G/5G polymorphism of PAI1, c.665C>T and c.1286A>C polymorphisms in the MTHFR gene. Usually, if no genetic cause is found, a second-line extended testing is offered. It might include some of the following markers: *FV HR2* (factor 5): c.3980A>G (p.His1327Arg) (R2-polymorphism) relevant only in the presence of the *FV Leiden* mutation; Factor 13 (Factor XIII) – p.Val35Leu; ACE – Ins/Del-polymorphism. Testing of two further variants in *FV* is also being offered; however, they are extremely rare and their clinical significance is not completely clear: *FV Cambridge*: NM_000130.4(F5): c.1001 G>C (p. Arg334Thr) found in single cases in the British population, and *FV Y1702C*: NM_000130.4(F5):c.5189A>G (p.Tyr1730Cys) described in Chinese families.

In case of an etiologically unexplained venous thrombosis, a diagnostic clarification of malignancy should always be considered [6].

Due to the observation of coagulation cascade dysregulations as a result of cytokine storm by severe COVID-19 infection in some patients, the significance of some genetic variants in blood coagulation relevant genes for the severity of the clinical presentation is currently being intensively investigated.

FACTOR V LEIDEN THROMBOPHILIA (FV), ACTIVATED PROTEIN C (APC) RESISTANCE

Factor V Leiden

The glycoprotein factor V is an important component of the blood coagulation cascade. Its inactive pro-form circulates in the bloodstream until factor II activation; its pro-coagulant effect persists until activated protein C (APC) induced deactivation – an enzymatic „cleavage“ at two specific sites of the FV molecule [1, 4, 9].

Several variants, affecting the function in the coagulation factor V (FV), have been identified. Clinically, the most significant is the variant called factor V Leiden (FVL). (*According to the HGVS nomenclature NM_000130.4(F5): c.1601G>A (p.Arg534Gln) (or*

(Неговото официално наименование по номенклатура е NM_000130.4(F5):c.1601G>A (p.Arg534Gln) (или R534Q). Вариантът е известен и често се среща в литературата и като c.1691G>A (Arg506Gln) съгласно старата номенклатура или като единичен нуклеотиден вариант rs6025 (FV)) [1, 4, 9].

Дивият (нормалният) тип алел в позиция 1601 на кодиращата ДНК последователност на гена FV съдържа базата гуанин (G), докато мутантният (вариантният) алел е нуклеотидът аденин (A). Този вариант води до замяна на аминокиселината аргинин в молекулата на протеина FV, с аминокиселината глутамин, в позиция 534. Този регион е едно от местата, в които активираният FV бива разцепен от APC (активиран протеин C), за да се прекъсне тромботичния му ефект. Наличието на заменената аминокиселина възпрепятства инактивирането на FV и това има за ефект по-дълготрайната му активност, а оттук и по-силен коагулационен ефект и повишена склонност към тромбоза (*т.нар. ефект тип Gain-of-(abnormal) function*) [1, 4].

Фактор V Лайден-обусловената тромбофилия е най-често срещаният вид тромбофилия. Хетерозиготност¹ по варианта на Лайден (генотип G/A) е често срещана сред индивидите с произход от европейската популация, но почти не се среща сред азиатците. Честотата на хетерозиготност по фактор на Лайден в Европа е от 2-3% в Италия и Испания, до 10-15% в Гърция. Хомозиготното състояние на фактор на Лайден (генотип A/A) се описва при 1 от 5000 индивида [9].

Клинична картина

Най-честата клинична изява на Factor V Leiden тромбофилия е първи епизод на (често не-провокирана) венозна ТДВ на долните крайници или БТЕ преди 50 годишна възраст. Тромботичният риск при носители на мутация е още по-висок при наличие на допълнителен рисков фактор, като наличие на друг генетичен вариант за тромбофилия или прием на естроген-съдържащи контрацептиви или бременност [9]. Рискът за възникване на първи епизод на венозна тромбоза при хетерозиготни носители на варианта на Лайден е 3 до 8 пъти по-висок, в сравнение с индивиди с div тип алел [4, 9, 10]. Рискът за хо-

¹ Повечето от нормалните телесни (соматични) клетки при човек съдържат по два алела от всеки ген (диплоидни клетки). При наличие на два еднакви алела на даден ген, обозначаваме индивида като хомозигот, докато при наличие на два различни алела на даден ген, като хетерозигот.

R534Q); also commonly found as c.1691G>A (Arg506Gln) or rs6025(FV)) [1, 4, 9].

The wild-type (normal) allele at position 1601 of the coding DNA (cDNA) sequence of the FV gene contains the guanine base (G), while the mutant (variant) allele is the nucleotide adenine (A). This exchange causes the replacement of the amino acid arginine at position 534 of the FV protein molecule, with the amino acid glutamine. This region of the protein is one of the APC cleavage sites. The amino acid substitution in Factor V Leiden hinders the inactivation of FV by APC, which causes FV prolonged activity (*Gain-of-(abnormal) function effect*), and hence has a pro-coagulative and pro-thrombotic effect [1, 4].

The factor V Leiden-associated thrombophilia is the most common type of genetic thrombophilia. Heterozygosity for¹ the Leiden variant (genotype G/A) is common among individuals of European ancestry, but is almost non-existent among Asians. The prevalence of Leiden factor heterozygosity in Europe ranges from 2-3% in Italy and Spain, up to 10-15% in Greece. Homozygosity for factor Leiden (genotype A/A) is found in 1 out of 5000 individuals [9].

Clinical manifestations

The most common clinical manifestation of Factor V Leiden thrombophilia is a first episode of (often unprovoked) venous thrombosis of the deep veins of the lower extremities or pulmonary thromboembolism before the age of 50 years. The thrombotic risk in mutation carriers increases in the presence of further risk factors, such as the presence of another inherited thrombophilia variant or the use of estrogen-containing contraceptives or during pregnancy [9]. The risk for a first episode of venous thrombosis in heterozygous Leiden variant carriers is 3 to 8 times higher compared to wild-

¹Most somatic human cells have two copies (alleles) of each gene (diploid cells). If both alleles are identical, the individual is being *homozygous*; if both alleles are different, the individual is described as *heterozygous*.

мозиготи по варианта на Лайден е около 80 пъти по-висок [10] (таблица 1).

type allele individuals [4, 9, 10]. The risk in Leiden variant homozygotes is increased by approximately 80-fold [10] (Table 1).

Таблица 1: Относителен риск за различни изяви на венозен тромбоемболизъм при наличие на варианта Фактор V на Лайден [9]; / **Table 1:** Relative risk for different manifestations of venous thromboembolism in Factor V Leiden mutation carriers [9]:

1	Вид венозна тромбоза (първи епизод):	Риск: 3-8x ↑ риск (хетерозиготи) 9-80x ↑ риск (хомозиготи)
	Тромбоза на дълбоките вени	3-8x ↑ риск (хетерозиготи)
	Белогробна тромбоемболия	по-висок риск спрямо общата популация
	Тромбоза на горни крайници	6x ↑ риск (хетерозиготи)
	Тромбоза на повърхностни вени	6x ↑ риск (хетерозиготи)
	Тромбоза на мозъчните вени	4x ↑ риск (хетерозиготи)
	Черногробна тромбоза	11x ↑ риск за Budd-Chiari syndrome (хетерозиготи) 3x ↑ риск за портална тромбоза (хетерозиготи)
	Тромбоза в нетипична локализация	по-висок (например лиенална, церебрална тромбоза)
2	Рецидивиращи тромбози	Неясно значение, вероятно 1,5x ↑ риск (хетерозиготи)
3	Тромбоза при бременност	5-8x ↑ риск (хетерозиготи) 17-34x ↑ риск (хомозиготи) 8-47x ↑ риск при compound-хетерозиготи с factor II
4	Тромбоза при злокачествени неоплазми	Неизвестен, вероятно умерено повишен
5	Тромбоза и централен венозен катетър	2-3x ↑ риск (до 5x ↑ при неоплазма и порт)
1	Type of (first episode) venous thrombosis:	Risk: 3-8x ↑ risk (heterozygotes) 9-80x ↑ risk (homozygotes)
	Deep vein thrombosis	3-8x ↑ risk (heterozygotes)
	Pulmonary thromboembolism	higher risk compared to the general population
	Thrombosis of the arm	6x ↑ risk (heterozygotes)
	Superficial vein thrombosis	6x ↑ risk (heterozygotes)
	Cerebral vein thrombosis	4x ↑ risk (heterozygotes)
	Hepatic vein thrombosis	11x ↑ risk for Budd-Chiari syndrome (heterozygotes) 3x ↑ risk for portal thrombosis (heterozygotes)
	Thrombosis in atypical localization	higher (e.g. spleen)
2	Recurrent thromboses	Unclear significance, probably 1.5x ↑ risk (heterozygotes)
3	Thrombosis in pregnancy	5-8x ↑ risk (heterozygotes) 17-34x ↑ risk (homozygotes) 8-47x ↑ risk in compound heterozygotes with factor II
4	Thrombosis by malignancy	Unknown, probably moderately elevated
5	Thrombosis and central venous catheter	2-3x ↑ risk (up to 5x ↑ if together with cancer)

Хетерозиготните носители на вариантът на Лайден имат не повече от умерено повишен риск за рецидив на вече изявила се еднократна ВТЕ. Много малко вероятно е факторът на Лайден да води до повишен риск за преждевременни спонтанни аборти или други усложнения на бременността [9].

Heterozygous carriers of the Leiden variant have no more than a moderately increased risk for recurrence after a single venous thromboembolism episode. The Leiden factor is very unlikely to result in an increased risk for preterm miscarriage or other pregnancy complications [9].

При наличие на Factor V Leiden, допълнителни рискови фактори, повишаващи вероятността за настъпване на тромбоза са [1, 9]:

- Брой мутантни *FV* алели – хетерозиготите с Factor V Leiden (генотип G/A) имат по-нисък риск за ВТЕ в сравнение с хомозиготите (генотип A/A);

- Наличие на друг генетичен вариант, водещ до тромбофилия има адитивен тромбофиличен ефект; така например поне 12% от хетерозиготите за фактор V на Лайден са носители и на мутация за протромбинова (фактор II) тромбофилия (*т.нар. сложни хетерозиготи – compound heterozygotes*); те имат 7 до 20 пъти по-висок риск за тромбоза, по-често се наблюдава тромбоза в нетипични локализации; рискът за рецидив е 3 до 9 пъти по-висок. Дефицит на протеин S, дефицит на протеин C и дефицит на антитромбин при хетерозиготни носители на фактор V на Лайден увеличава риска за ВТЕ.

- Придобита тромбофилия поради антифосфолипидни антитела, пароксизмална нощна хемоглобинурия, миелопролиферативна болест;

- Бременност или прием на комбинирани (естроген-съдържащи) орални контрацептиви или хормонозаместителна терапия;

- Поставен интравенозен катетър (порт);

- Малигнено заболяване;

- Продължително пътуване.

След 45 годишна възраст общият риск за ВТЕ при носителство на фактор на Лайден е около 17% (при популационен риск 8%) [9].

Индикации за изследване за наличие на варианта на Лайден:

- Възникване на първи епизод на ВТЕ преди 50 годишна възраст или на първи епизод независимо от възрастта, при наличие на родственик от първа степен (родител, братя и сестри, деца), прекарал венозна тромбемболия преди 50 годишна възраст [4];

- Възникване на първи *непровокиран* епизод на ВТЕ, независимо от възрастта [4];

- Когато се планира спиране на антикоагулантната терапия при лечение на първи, *непровокиран* епизод на ВТЕ при пациент, при който все още не е проведено изследване за генетична тромбофилия [9];

In the presence of Factor V Leiden, additional risk factors increasing the likelihood of thrombosis are [1, 9]:

- Number of mutant *FV* alleles – Factor V Leiden heterozygotes (genotype G/A) have a lower risk of venous thromboembolism compared to homozygotes (genotype A/A);

- The presence of another genetic variant leading to thrombophilia has an additive thrombophilic effect; for example, at least 12% of the heterozygotes for Factor V Leiden are also prothrombin (Factor II) mutation carriers (*i.e. compound heterozygotes*). They have a 7 to 20-times higher risk for thrombosis; higher frequency of thrombosis in atypical locations; 3 to 9-times higher recurrence risk. Protein S, protein C, and antithrombin deficiencies also contribute to an increased venous thromboembolism risk in Factor V Leiden heterozygous carriers.

- Acquired thrombophilia: antiphospholipid syndrome, paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, myeloproliferative disease;

- Pregnancy or birth control with combined (estrogen-containing) oral contraceptives or hormone replacement therapy;

- Venous catheter;

- Malignancy;

- Prolonged travel with immobilization.

After 45 years of age, the overall risk for venous thrombosis in Leiden factor carriers is about 17 % (compared to 8 % population risk) [9].

Suggestive findings for Leiden variant testing:

- First episode of venous thromboembolism before 50 years or regardless of age in case of an affected first-degree relative (parent, siblings, children) who had venous thromboembolism before the age of 50 [4];

- First *unprovoked* episode of venous thromboembolism regardless of age [4];

- When considering anticoagulant therapy discontinuation after treatment of a first, *unprovoked* episode of venous thromboembolism in a patient who has not yet been tested for genetic thrombophilia [9];

– Венозна тромбоемболия на необичайно място: мезентериални, портални, чернодробни, церебрални вени [4];

– Анамнеза за рецидивиращи епизоди на венозен тромбоемболизъм, изразяващ се най-вече като ТДВ или белодробен тромбоемболизъм [4, 9];

– Възникване на първи епизод на ВТЕ по време на бременност, пuerпераления период, при прием на орални контрацептиви или при прием на хормонозаместителна терапия [4, 9];

– Жени, които планират прием на естроген-съдържащи контрацептиви или хормон-заместителна терапия, които имат кръвни родственици с анамнеза за венозна тромбоза или известна наследствена тромбофилия, например доказан вариант на Лайден [4, 9].

– Жени, които планират антикоагулантна терапия по време на бременността, които имат кръвни родственици с анамнеза за венозна тромбоза или известна наследствена тромбофилия [4, 9].

– Жени с неизяснени спонтанни аборти през втория или третия триместър [4];

– Фамилна анамнеза за рецидивиращи тромбози [9].

– Евентуално при асимптоматични възрастни, които имат кръвни родственици с доказан вариант на Лайден, особено при фамилна анамнеза за тромбоза на възраст под 50 години [4];

Изследване за фактор на Лайден е спорно в следните случаи:

– Жени, пушачки, на възраст под 50 години и инфаркт на миокарда [4];

– Възникване на първи *провокиран* епизод на ВТЕ на възраст над 50 години, дори при липсата на злокачествено заболяване или интравазален катетър [4];

– Възникване на първи епизод на ВТЕ при прием на тамоксифен или селективни модулатори на естрогеновия рецептор [4].

Диагностика

В миналото диагнозата се е поставяла въз основа на тест за резистентност към APC. Тестът за резистентност от първо поколение се е основавал на измерване на активираното парциално тромбoplastиново време (aPTT). Тестът

– Venous thromboembolism at an atypical site: mesenteric, portal, hepatic, cerebral veins [4];

– A history of recurrent episodes of venous thromboembolism, manifesting mostly as deep vein thrombosis or pulmonary thromboembolism [4, 9];

– First episode of venous thromboembolism during pregnancy, puerperal period, while taking oral contraceptives or while receiving hormone replacement therapy [4, 9];

– In women planning to take estrogen-containing contraceptives or hormone replacement therapy who have relatives with a history of venous thrombosis or known hereditary thrombophilia due to Leiden variant [4, 9].

– In women planning anticoagulant therapy during pregnancy who have relatives with a history of venous thrombosis or known hereditary thrombophilia [4, 9].

– In women with history of unexplained recurrent miscarriages in the second or third trimester [4];

– Family history of recurrent thrombosis [9].

– Eventually, in asymptomatic adults who have Leiden variant carrier relatives, especially with a family history of thrombosis before the age of 50 [4];

Testing for the Leiden factor is controversial in the following cases:

– In women with myocardial infarction before 50, if they are smokers [4];

– By first *provoked* episode of venous thromboembolism after 50 years of age, even in the absence of malignancy or intravenous catheter [4];

– By first episode of venous thromboembolism while taking tamoxifen or selective estrogen receptor modulators [4].

Diagnostics

Previously the diagnosis was based on the APC resistance test. The first-generation resistance test

от второ поколение се използва на някои места и до днес, тъй като е точен и сравнително евтин, но се влияе от няколко вида антикоагуланти (инхибитори на фактор X или на тромбина) и не позволява разграничаване на хомозиготи от хетерозиготи [9]. Методът все още има приложение и понастоящем, като в около 15% от случаите на резистентност към активирания протеин C не може да се установи вариантът на Лайден [5].

Идентифицирането на фактор V Лайден понастоящем се извършва чрез молекулярно-генетично изследване. То най-често се провежда чрез обикновено секвениране (по метода на Sanger) или чрез някои от многото разработени PCR-базираны методи. Изследването трябва да позволява идентифицирането на хетерозиготите, хомозиготите по фактор на Лайден и индивидите с див тип *FV*. То се провежда еднократно (т.е. резултатът не се променя в хода на индивидуалния живот) в проба, взета от периферна кръв (ако пациентът вече е на антикоагулантна терапия, понякога това може слабо да повлияе на реагентите и това трябва да се има предвид от изследващата лаборатория).

Секвенирането позволява идентифицирането не само на вариантът на Лайден, но и на някои други, много редки варианти в гена *FV*, някои от които също водят до APC-резистентност. Тези варианти се срещат само в определени популации и не се изследват рутинно. Такива са:

– Factor-V-R2-вариант² (2-RQ или HR2) – има клинично значение само при наличие на фактор на Лайден и то при положение, че двата варианта са на различните хромозоми; алелната му честота е 0.046.

– Factor-V-Cambridge³ (вариант 3-RQ) – вариантът е изключително рядък; алелната му честота е 0.00020, описан е в британската популация и е свързан самостоятелно (независимо от фактора на Лайден) с повишен риск за венозни тромбози.

was based on measurement of activated partial thromboplastin time (aPTT). The second-generation test is still used today because it is accurate and relatively inexpensive; however, it might be affected by several types of anticoagulants (e.g. factor X or thrombin inhibitors) and does not allow homozygotes/heterozygotes differentiation [9]. In about 15% of the cases of identified activated protein C resistance, a Leiden variant in *Factor V* cannot be detected [5].

The identification of Factor V Leiden is currently made by molecular genetic testing. It is most commonly performed by common DNA sequencing (Sanger method) or by a PCR-based method. The diagnostic test should allow the identification of heterozygotes, *FV* Leiden homozygotes and wild-type homozygotes. It is performed once (no follow-up testing is necessary, because the result does not change over lifetime) in a peripheral blood sample containing genomic DNA.

The Sanger sequencing allows the identification not only of the Leiden variant but also of some other rare *FV* gene variants, associated with APC-resistance. These variants are found only in certain subpopulations and are not routinely studied, for example:

– Factor-V-R2-variant² (2-RQ or HR2) – has clinical significance only by trans-co-existence with factor V Leiden; its minor allele frequency is 0.046.

– Factor-V-Cambridge³ (variant 3-RQ) – it is extremely rare, with allele frequency 0.00020; it has been described in a British subpopulation and is associated with an increased risk of venous thrombosis independently of the Leiden factor presence.

²с.3980A>G, p.His1327Arg по новата номенклатура (p.His-1299Arg по старата номенклатура; R1327Q; вариант 2-RQ)

³с.1001G>C, (p.Arg334Thr) по новата номенклатура (p.Arg306Thr по старата номенклатура; R334Q)

²с.3980A>G, p.His1327Arg according to the new nomenclature (p.His-1299Arg according to the old nomenclature; R1327Q; variant 2-RQ)

³с.1001G>C, (p.Arg334Thr) in the new nomenclature (p.Arg306Thr in the old nomenclature; R334Q)

– Factor-V-вариант с.1000A>G⁴ – този вариант е описван само в единични пациенти с китайски произход; намира се в място за разцепване на фактор V от APC.

– Factor-V-вариант Y1730C⁵ – вариантът води до силно намалена експресия на фактор V. До сега е описан само в отделни индивиди, а честотата му в европейската популация е едва 0.000036; намира се в място за разцепване на фактор V от APC.

Препоръки

При хетерозиготните носители на фактор V Лайден, при които не е имало тромботичен епизод, не е препоръчително рутинно подлагане на дългосрочна антикоагулантна терапия. При тези индивиди (хетерозиготи без анамнеза за тромботичен епизод) може да се назначава кратковременна (до 12 месеца) антикоагулантна (първична) профилактика, при наличие на обстоятелства, свързани с повишен риск за тромбоза (например дълъг полет, операция), с цел да се избегне първи епизод на тромбоза. Решаващ фактор при избора дали да се провежда терапия имат съотношението риск от тромбоза спрямо риск от кръвозагуба при антикоагулантна терапия, фамилна анамнеза, наличие на рискови фактори. Стандартните протоколи за профилактика са напълно достатъчни за повечето рискови ситуации [4, 5, 9]

Според актуалните препоръки лечението на острия тромботичен епизод се осъществява по стандартни протоколи, независимо от наличието на хетерозиготно или хомозиготно състояние на варианта на Лайден. Продължителността на терапията също не се определя от генотипа по варианта, а по-скоро след точна преценка на съотношението за риск от рецидив на венозната тромбоза и риск от свързана с антикоагулантната терапия кръвозагуба [6, 9]. Предлага се, венозната тромбемболия при тези индивиди да се разглежда като хронично състояние с периоди на обостряне (т.е. епизоди на рецидив) [4]. Като пациенти с по-висок риск от рецидив трябва да се разглеждат тези с наднормено тегло, парези на крайниците, активно злокачествено заболяване, напреднала възраст и

⁴с.1000A>G, p.Arg334Gly по новата номенклатура (p.Arg306Gly по старата номенклатура)

⁵с.5189A>G (p.Tyr1730Cys) (стари имена Tyr1702Cys, или Y1702C)

– Factor V variant с.1000A>G⁴ – this variant has been described only in a few patients of Chinese origin; it is located within the APC cleavage site.

– Factor V variant Y1730C⁵ – the variant causes significant factor V underexpression. It has been described only in a few individuals; its frequency in the European population is 0.000036; it is located within the APC cleavage site.

Recommendations

Routine long-term anticoagulant prophylaxis is not recommended for *heterozygous Factor V Leiden carriers who have not had a thrombotic episode*, but a short-term (up to 12 months) primary prophylaxis might be considered, in case of expected exposure to circumstantial risk factors (e.g. long flight, surgery), in order to avoid a first thrombotic episode. Factors to consider by the decision making, are the thrombosis risk vs. hemorrhagic risk ratio estimation, the family history of thrombosis, the presence of other risk factors, etc. The standard prophylaxis recommendations are usually sufficient to cover the risk [4, 5, 9].

According to current guidelines, the *acute thrombotic episode* therapy for factor V Leiden heterozygous or homozygous individuals does not differ from the standard therapeutic protocols for thrombosis. The duration of therapy is also not determined by the Leiden genotype, but rather after an accurate evaluation of the ratio between the thrombosis recurrence risk and the anticoagulant therapy associated hemorrhage risk [6, 9]. It has been suggested that venous thromboembolism in mutation carriers should be considered as a chronic condition with periods of exacerbation (i.e., episodes of recurrence) [4]. Among those patients, higher risk of recurrence have individuals with obesity, extremity paresis, current malignancy,

⁴с.1000A>G, p.Arg334Gly according to the new nomenclature (p.Arg306Gly according to the old nomenclature)

⁵с.5189A>G (p.Tyr1730Cys) (old names Tyr1702Cys, or Y1702C)

при тях може да се предвиди по-дълготрайна антикоагулантна (вторична) профилактика. От друга страна рекурентният риск при пациентите с венозен тромбоемболизъм след хирургична интервенция или във връзка с бременност или прием на хормонални препарати се разглежда като сравнително по-нисък и преходен, поради което при тях може да се предложи по-краткотрайна профилактика с перорални антикоагуланти [4, 5].

Хетерозиготните жени носителки на варианта на Лайден с анамнеза за ВТЕ, както и хомозиготните жени със или без такава анамнеза, трябва да избягват приема на перорални естроген-съдържащи контрацептиви (особено трето поколение и други прогестини) и орална хормон-заместителна терапия [9]. Няма консенсус относно антикоагулантната профилактика при жени, носителки на FVL, по време на бременност. Най-висок риск от тромбоза има при хомозиготни по FVL жени, при жени хомоили хетерозиготни носителки на FVL с анамнеза за спонтанни аборти по време на бременността или с лична или фамилна анамнеза за непровокиран епизод на ВТЕ, както и при такива със съпътстващи други генетични или придобити причини за тромбофилия. За тези жени е най-вероятно по-добре да се проведе профилактика с фракционирани или нискомолекулни производни на хепарина за периода на цялата бременност и особено през първите 6 седмици след раждането, когато тромботичният риск е най-висок [4].

След установяване на варианта на Лайден, с оглед оценка на риска за развитие на венозна тромбоза, се препоръчват следните (допълнителни) изследвания: генетичен анализ за наличие на варианта с.*97G>A (20210G>A) във фактор II (протромбин), като се има предвид сравнително честото наличие на двата варианта едновременно; анализ за наличие в серума на антикардиолипинови антитела и анти-бета-2-гликопротеин 1 антитела; фосфолипид-зависими коагулационни реакции за идентифициране на лупусен инхибитор; активност на протеин С; активност на антипротромбин; активност на протеин S или свободен протеин S антиген [9].

Генетична консултация. Унаследяване

Препоръчва се, всички пациенти, които се изследват за мутации, свързани с предразполо-

advanced age; for them long-term secondary anticoagulant prophylaxis might be beneficial. On the other hand, the recurrent risk in mutation carriers with venous thromboembolism after surgical intervention or during pregnancy or hormonal medication is considered to be relatively lower and transient; therefore a short term prophylaxis with oral anticoagulants should be offered [4, 5].

Heterozygous female Leiden variant carriers with a history of venous thromboembolism, as well as homozygous women with or without thromboembolism history, should avoid oral estrogen-containing contraceptives (especially third-generation and other progestins) and oral hormone replacement therapy [9]. There is no consensus on anticoagulant prophylaxis in FVL female carriers during pregnancy. The highest risk of thrombosis is observed in women homozygous for FVL, in female homo- or heterozygous FVL carriers with a history of miscarriage during pregnancy or with a personal or family history of an unprovoked episode of venous thromboembolism, and in those with concomitant other genetic or acquired causes of thrombophilia. In these situations, prophylaxis with fractionated or low-molecular-weight heparin derivatives, for the duration of pregnancy and especially during the first 6 weeks postpartum, is likely to be beneficial [4].

Once the Leiden variant has been identified, some additional tests to evaluate the risk of developing venous thrombosis are recommended: genetic analysis for *97G>A (20210G>A) in *Factor II (Prothrombin)*, given the relatively frequent co-occurrence of both variants; serum tests for anticardiolipin antibodies (ACA) and anti-beta-2-glycoprotein 1 antibodies; Lupus Anticoagulant Tests (phospholipid-dependent blood coagulation reactions); protein C activity test; antithrombin activity test; protein S or free protein S antigen activity test [9].

Genetic counseling. Mode of inheritance

Genetic counseling is recommended for all patients considering thrombophilia molecular genetic testing.

женост към тромбфилия, да бъдат консултирани от лекар със специалност генетика.

Фактор V Лайден тромбфилия се унаследява автосомно⁶ доминантно⁷ – индивидите, унаследили мутантния вариант на гена в хетерозиготно състояние имат повишена склонност към тромбоза. Рискът е значително по-висок при хомозиготите по мутацията (някои определят този значително по-висок риск като отделен фенотипен белег, който се изявява автосомно рецесивно) [9].

Вероятността за предаване на мутантния вариант в потомството зависи от генотипа на родителите (хомозигот или хетерозигот, един или двама засегнати родители) и е представен в табл. 2.

Factor V Leiden thrombophilia is inherited in an autosomal⁶ dominant⁷ manner – individuals who inherit the mutant variant in a heterozygous state have a susceptibility to thrombosis. The risk is significantly higher in homozygotes for the mutation (their increased risk might also be considered as a distinct autosomal recessive phenotypic trait) [9].

The probability of transmission of the mutant variant in the offspring depends on the genotype of the parents (homozygote or heterozygote, one or two affected parents) and is summarized in Table 2.

Таблица 2: Вероятност за предаване на варианта на Лайден в потомството, в зависимост от генотипа на родителите.

По хоризонталата са разположени трите възможни варианта за генотип при единия родител (хомозигот по нормален алел, хетерозигот и хомозигот по вариант на Лайден), по вертикалата – за другия. В полетата пресечни точки на всяка двойка възможни комбинации от родители е представена вероятността за унаследяване в потомството. Алел G е див тип алел, а алел A е мутантен тип алел на варианта Factor V Leiden, с.1601G>A (p.Arg534Gln)

	Родител хомозигот див тип алел (G/G)	Родител хетерозигот по вариант Лайден (G/A)	Родител хомозигот по вариант Лайден (A/A)
Родител хомозигот див тип алел (G/G)	– 100% вероятност за хомозигот по див тип алел в потомството	– 50% вероятност за хомозигот по див тип алел в потомството – 50% вероятност за хетерозигот в потомството	– 100% вероятност за хетерозигот в потомството
Родител хетерозигот по вариант Лайден (G/A)	– 50% вероятност за хомозигот по див тип алел в потомството – 50% вероятност за хетерозигот в потомството	– 25 % за хомозигот по див тип алел в потомството – 50% вероятност за хетерозигот в потомството – 25% за хомозигот по вариант Лайден в потомството	– 50 % вероятност за хетерозигот в потомството – 50 % вероятност за хомозигот по вариант Лайден в потомството
Родител хомозигот по вариант Лайден (A/A)	– 100% вероятност за хетерозигот в потомството	– 50% вероятност за хетерозигот в потомството – 50% вероятност за хомозигот по вариант Лайден в потомството	– 100% вероятност за хомозигот по вариант Лайден в потомството

⁶Автосомно – нормално повечето човешки клетки имат 22 двойки (44 броя) хромозоми, наречени автосоми, и две полови хромозоми (XX или XY). Белези, гените за които са разположени върху автосомите, се предават в потомството автосомно и независимо от пола.

⁷Доминантно – означава, че е достатъчно индивидът да унаследи само едно мутантно копие на даден ген, за да прояви определен белег. Когато за проявата на даден белег е необходимо да бъдат унаследени едновременно две мутантния копия на даден ген, белегът се обозначава като рецесивен.

⁶Autosomal – most human cells have 44 autosomal chromosomes (22 pairs) or autosomes, and 2 sex chromosomes (XX or XY). Traits determined by genes, located in the autosomes, are passed to offspring in a gender independent or autosomal manner.

⁷Dominant means that it is sufficient for an individual to inherit only one mutant copy of a gene to manifest a trait. If both alleles of a gene must be altered in order to manifest certain feature, such trait is termed recessive.

Table 2: Risks of Leyden variant inheritance, depending on the parents' genotype. There are three possible genotypes for the parents: homozygote for the wild type allele, heterozygote and homozygote for the Leyden variant, demonstrated in the first row for one of the parents and in the first column – for the second. The chance of inheritance in the offspring is represented in the intersection boxes.

Allele G is a wild-type allele and allele A is a mutant allele of the Factor V Leiden variant, c.1601G>A (p.Arg534Gln)

	Parent homozygote wild type allele (G/G)	Heterozygous parent by Leyden variant (G/A)	Homozygote parent of the Leiden variant (A/A)
Parent homozygote wild type allele (G/G)	– 100% chance for wild type allele homozygosity in the offspring	– 50% chance for wild type allele homozygosity in the offspring – 50% probability of heterozygotes in the offspring	– 100% probability of heterozygosity in the offspring
Heterozygous parent by Leyden variant (G/A)	– 50% chance for wild type allele homozygosity in the offspring – 50% probability of heterozygosity in the offspring	– 25% chance for wild type allele homozygosity – 50% probability of heterozygosity in the offspring – 25% chance for Leiden variant homozygosity in the offspring	– 50% probability of heterozygosity in the offspring – 50% chance for Leiden variant homozygosity in the offspring
Homozygote parent of the Leiden variant (A/A)	– 100% chance of heterozygosity in the offspring	– 50% probability of heterozygosity in the offspring – 50% chance for Leiden variant homozygosity in the offspring	– 10% chance for Leiden variant homozygosity in the offspring

Не съществува консенсус по отношение на необходимостта от изследване на родственици на доказани носители на варианта на Лайден, тъй като няма доказателства, че идентифицирането им би довело до намаляване на риска за възникване на тромбоза (не се препоръчва терапия без епизод на тромбоза). Ето защо този въпрос трябва да се решава индивидуално [4, 9].

There is no consensus on the need to test the relatives of a Leiden variant carrier, as there is no evidence that identifying their genotype would reduce their thrombosis risk and prophylactic thrombosis therapy in asymptomatic individuals episode is not recommended). Therefore, this issue should be addressed on an individual basis [4, 9].

ПРОТРОМБИНОВА ТРОМБОФИЛИЯ (ХИПЕРПРОТРОМБИНЕМИЯ)

Протромбин (фактор II, FII)

Генът *фактор II (FII, coagulation factor II, thrombin)*, кодира протеинът протромбин, който, също като фактор V е важен компонент на каскадата на кръвосъсирване. Фактор II е витамин K-зависим коагулационен фактор, синтезиран в черния дроб [7]. Първоначално синтезираният протеин е в неактивна форма, която, при активиране на кръвосъсирването, след няколко посттранслационни модификации, се превръща в серинпротеазата тромбин. Тромбинът подпомага превръщането на фибриногена във фибрин, стимулира агрегирането на тромбоцитите и активира допълнителни фактори на кръвосъсирването [7, 11]. Той има много-

PROTHROMBIN THROMBOPHILIA (HYPERPROTHROMBINEMIA)

Prothrombin (Factor II, FII)

The *factor II gene (FII, coagulation factor II, thrombin)* encodes the **prothrombin** protein, which, like factor V, is another central element of the clotting cascade. Factor II is a vitamin K-dependent coagulation factor, synthesized by the hepatocytes [7]. The F2 gene encodes an inactive pre-protein (prothrombin), which, upon blood coagulation activation, goes through several posttranslational modifications and is converted to the serine protease **thrombin**. Thrombin promotes the conversion of fibrinogen to fibrin, stimulates platelet aggregation, and activates additional clotting factors [7, 11]. It has multidirec-

посочни ефекти, като играе ролята на прокоагулант, антикоагулант и антифибринолитик [1].

В контекста на генетичните тромбозии се дискутират няколко варианта в гена *FII*, но клинично значение засега има само един генетичен вариант, разположен в 3'-нетранслируемия край на гена, който е познат предимно с остарялото си обозначение 20210G>A или c.20210G>A (3'UTR) [неговото официално наименование по съвременната номенклатура е NM_000506.5(F2):c.*97G>A (3'UTR) или като единичен нуклеотиден полиморфизъм rs1799963 (FII)] [12].

Дивият (нормалният) тип алел в позиция 97 нуклеотида след кодиращият регион на гена *FII* (в т.нар. 3'-край или 3'-UTR, untranslated region) съдържа базата гуанин (G), докато мутантния (вариантен) алел – базата аденин (A). Този регион след кодиращата област на протромбиновия ген има регулаторна функция и оказва влияние върху транскрипцията на гена. Мутантният алел води до по-ефективно протичане на процесинга на генния продукт и натрупване на по-високи нива на протромбин в серума (хиперпротромбинемия) [5, 13]. В следствие на това се повишават нивата на фибрина и на някои фактори на кръвосъсирването, както и се оптимизира тромبوцитната агрегация, което като краен ефект води до повишена склонност към кръвосъсирване (отново ефект тип Gain-of-(abnormal) function).

Протромбиновата тромбозия е втората по честота генетично обусловена тромбозия след фактор-Лайден тромбозията, като рискът от тромбоза е малко по-нисък от този при варианта на Лайден. Честота на хетерозиготно носителство на вариант А (генотип G/A) е средно 1% сред европейската раса, като нараства сред южните европейски (средиземноморски) популации и достига 4% сред гърците, 4,6% сред италианците и 6,5% сред испанците, но също както и факторът на Лайден, мутантният вариант е рядък сред другите раси [1, 7]. Честотата на хомозиготите по мутантния алел (A/A) като цяло е 1:10.000, а сред индивидите прекарвали венозна тромбоза е 1.8-4.5% [13].

tional effects: procoagulant, anticoagulant and anti-fibrinolytic [1].

Several *FII* genetic variants have been investigated for association with thrombophilia. However, only one has proved a clinical significance. It is located at the 3'-untranslated region of the gene and is commonly designated as 20210G>A or c.20210G>A (3'UTR) (according to the HGVS nomenclature: NM_000506.5(F2):c.*97G>A (3'UTR); in dbSNP: rs1799963 (FII)) [12].

There are two alternating alleles at position 97 nucleotides downstream of the coding region (the 3'-end or, untranslated region) of the *FII*: the wild-type allele is guanine (G), whereas the mutant allele is adenine (A). This 3'-UTR, located downstream of the coding region of the prothrombin gene, has regulatory functions and affects gene transcription. The mutant allele causes more efficient mRNA-processing, thus increasing serum prothrombin level (hyperprothrombinemia) [5, 13]. Consequently, serum fibrin and clotting factors activity increases, platelet aggregation enhances, thus causing hypercoagulability (gain-of-(abnormal) function effect).

Prothrombin thrombophilia is the second most common genetically determined thrombophilia (the first being factor-Leiden thrombophilia), associated with a slightly lower risk of thrombosis compared to the Leiden thrombophilia. On average 1% of all Caucasians are heterozygotes (genotype G/A). The allele frequency of the mutant allele shows clear gradient, growing towards the southern European (Mediterranean) populations up to 4% among Greeks, 4.6% among Italians, and 6.5% among Hispanics. Just like the Leiden factor, the mutant prothrombin variant is rare in other populations [1, 7]. The frequency of homozygosity for the mutant allele (A/A) is 1:10.000; it is found in 1.8-4.5% of the individuals who have had venous thrombosis [13].

КЛИНИЧНА КАРТИНА

Венозна тромбоза

Според базите данни за човешки генетични варианти мутацията 20210G>A е *патогенен* вариант по отношение на вродена тромбофилия⁸ и *риск фактор* за възникване на исхемичен мозъчен инсулт, инфаркт на миокарда и репродуктивни неблагоприятия⁹ [12]. Клиничната картина на протромбиновата тромбофилия е аналогична на тази, която се наблюдава при наличие на фактор V Leiden. Най-често тя се изразява като първи епизод с венозен тромбоемболизъм, който се установява най-често в зряла възраст с ТДВ на долните крайници или с белодробен тромбоемболизъм. И при протромбиновата тромбофилия изявата е разнородна: повечето хетерозиготи претърпяват епизод на тромбоза в зряла възраст; някои носители са засегнати от рецидивиращи епизоди на тромбоемболизъм още преди достигане на 30 годишна възраст; някои носители никога не развиват тромбоза [7, 13].

За хетерозиготните носители на варианта 20210G>A (FII) относителният риск за развитие на (първи епизод на) тромбоза е 2 до 5 пъти по-висок, в сравнение с общата популация, при деца – 3 до 4 пъти, но наличието на варианта има само умерен ефект върху вероятността за рецидив на тромбоемболизма след вече прекаран първи епизод [1, 5, 7, 13] (таблица 3). Рискът за венозна тромбоза при хомозиготи по варианта 20210G>A (FII) не е точно установен, поради изключително малкия брой такива индивиди в света, но се счита, че е по-висок от риска при хетерозиготите [10].

Макар да са публикувани данни за слабо увеличен риск за преждевременни спонтанни абортти при носителство на варианта 20210G>A (FII), голяма част от изследванията не доказват връзка с риск за преекламписия или други усложнения на бременността [13].

При наличие на протромбинова тромбофилия, фактори, водещи до допълнително повишаване на риска за тромбоза са [1, 13]:

⁸SCV000034485.3/Dec 30, 2010; SCV000262466.8/Jan 07, 2021; SCV001552413.1/Mar 31, 2021

⁹SCV000034486.3/ Dec 30, 2010; SCV000044018.3/ Mar 01, 2012 SCV000967587.2/Jun 03, 2020; SCV001142420.1/ Jan 06, 2020

CLINICAL MANIFESTATION

Venous thrombosis

According to human genetic variant databases, the 20210G>A mutation is a *pathogenic* variant, associated with hereditary thrombophilia⁸ and a *risk factor* for susceptibility to ischemic stroke, myocardial infarction, and recurrent pregnancy loss⁹ [12]. The clinical characteristics of prothrombin thrombophilia are similar to those of factor V Leiden thrombophilia. The primary clinical manifestation is a first episode of venous thromboembolism, most commonly – a deep vein thrombosis of the lower extremities in adulthood or a pulmonary thromboembolism. Prothrombin thrombophilia is clinically heterogeneous: many of the heterozygotes develop an episode of thrombosis in adulthood; some variant carriers develop recurrent thromboses or pulmonary embolism by the age of 30; others never experience a thrombotic event [7, 13].

The relative risk for thrombosis 20210G>A (FII) heterozygotes is 2 to 5 folds that of the general population for adults, and 3 to 4 times higher in children. The recurrence risk in heterozygotes, however, is only moderately increased [1, 5, 7, 13] (Table 3). The exact thrombotic risk in 20210G>A (FII) homozygotes has not been evaluated, perhaps due to the low number of identified individuals worldwide, but it is very likely higher than the risk in heterozygotes [10].

There are reports of a slightly increased risk for preterm pregnancy loss in 20210G>A variant (FII) heterozygotes, but most studies failed to demonstrate an association with an increased pre-eclampsia or pregnancy complications risk [13].

Risk factors that increase the susceptibility to thrombosis in prothrombin thrombophilia are [1, 13]:

⁸SCV000034485.3/Dec 30, 2010; SCV000262466.8/Jan 07, 2021; SCV001552413.1/Mar 31, 2021

⁹SCV000034486.3/ Dec 30, 2010; SCV000044018.3/ Mar 01, 2012 SCV000967587.2/Jun 03, 2020; SCV001142420.1/ Jan 06, 2020

- Хомозиготност по варианта 20210G>A (FII): не е известно колко по-висок е рискът от този при хетерозиготи;

- Позитивна фамилна анамнеза за тромбоза при родственик от първа степен на родство, като рискът за тромбоза нараства с нарастване на броя на засегнатите родственици.

- При немалка част от хетерозиготните носители на 20210G>A (FII) се открива генетичен дефект в някои от другите фактори на кръвосъсирването, като наличието на гва такива фактора има адитивен тромбофиличен ефект:

- Factor V Leiden: В около 20-40% от хетерозиготите по 20210G>A (FII), освен протромбиновият (FII) вариант се установява и наличие на вариант Factor V Leiden; двоиците хетерозиготи по двата мутантни алела имат до 20 пъти по-висок риск за венозна тромбоза, 3-9 пъти по-висок риск за рецидив на венозната тромбоза и повишен риск за тромбоза в нетипични локализации; годишният риск на такива сложни хетерозиготи е 12%.

- Дефицит на протеин S – при хетерозиготни носители на 20210G>A (FII) и едновременен дефицит на протеин S, рискът за венозна тромбемболия нараства 13 пъти. (Няма акумулиране на риска обаче, при дефицит на протеин C и хетерозиготно носителство на 20210G>A).

- Полиморфизмът 4G/5G в гена *PAI-1*¹⁰: комбинацията от хетерозиготно носителство на варианта 4G/5G (PAI1) и хетерозиготно носителство на варианта 20210G>A води до 6-кратно увеличение на риска за венозна тромбоза, а комбинацията от хомозиготно носителство на варианта 4G/4G (PAI1) и хетерозиготно носителство на варианта 20210G>A води до 13-кратно увеличение на риска за венозна тромбоза.

- придобита тромбофилия (например наличие на антифосфолипидни антитела);

- бременност;

- прием на орални контрацептиви или орална хормонозаместителна терапия;

- Затлъстяване – при BMI > 30 kg/m² рискът нараства над 7 пъти;

- 20210G>A (FII) homozygosity: undetermined, but higher risk than in heterozygotes;

- Positive family history of thrombosis in a first-degree relative, whereas the risk of thrombosis increases with the number of affected relatives.

- Another genetically determined thrombophilia is found in a significant proportion of 20210G>A (FII) heterozygotes, with an additive thrombophilic effect:

- Factor V Leiden: about 20-40% of 20210G>A (FII) heterozygotes have additionally a Factor V Leiden variant; double (compound) heterozygotes for both mutant alleles have up to 20-fold higher risk for venous thrombosis, 3-9-fold higher risk for venous thrombosis recurrence, and an increased risk for thrombosis in atypical locations; the annual thrombosis risk of compound heterozygotes is 12%.

- Protein S deficiency – in heterozygous carriers of 20210G>A (FII) and concomitant protein S deficiency, the risk for venous thromboembolism increases 13-fold. (There is no accumulation of risk, however, in protein C deficiency with 20210G>A heterozygosity).

- 4G/5G polymorphism in the *PAI-1*¹⁰ gene: combined 4G/5G (PAI1) and 20210G>A (FII) heterozygosity results in a 6-fold higher risk for venous thrombosis; concomitant 4G/4G (PAI1) homozygosity and 20210G>A (FII) heterozygosity results in a 13-fold higher risk for venous thrombosis.

- acquired thrombophilia (such as antiphospholipid antibodies);

- Pregnancy;

- Oral contraception or oral hormone replacement therapy;

- Obesity – over 7 times higher risk at BMI > 30 kg/m²;

¹⁰*SERPINE1* (кодиращ инхибитора на плазминогеновия активатор 1, plasminogen activator inhibitor type 1, PAI1).

¹⁰*SERPINE1* (encoding plasminogen activator inhibitor type 1, PAI1).

- Злокачествено заболяване (над 17 пъти по-висок риск);
- Незначителна травма на крака – до 30 пъти по-висок риск;
- Вероятно и пътуване със самолет (до 17x по-висок риск).

- Malignancy – over 17 times higher risk;
- Minor leg injury – up to 30 times higher risk;
- Air-traveling – perhaps up to 17x higher risk.

Таблица 3: Относителен риск за различни изяви на венозен тромбоемболизъм при наличие на варианта 20210G>A (FII) [13]:

Table 3: Relative risk for different manifestations of venous thromboembolism due to 20210G>A (FII) [13]:

1	Вид венозен тромбоемболизъм:	Риск: 3-5x ↑ риск (хетерозиготи) Данни за хомозиготи не са посочени, поради изключителната им рядкост; характерна е по-ранна изява (в млада възраст)
	Тромбоза на дълбоките вени	3-5x ↑ риск (хетерозиготи), най-често на долните крайници; по-млади.
	Белодробна тромбоемболия	при хетерозиготни индивиди с ТДВ честотата е 32%; като цяло рискът е по-висок.
	Тромбоза на горни крайници	3-6x ↑ риск (хетерозиготи) (9-14x при хетерозиготи жени на контрацептиви)
	Тромбоза на мозъчните вени	6-10x ↑ риск (хетерозиготи); 80-150x !!! по-висок риск при хетерозиготи жени на контрацептиви
	Портална чернодробна тромбоза	До 4x ↑ риск (хетерозиготи)
	Тромбоза в нетипична локализация	До 4x ↑ риск (хетерозиготи) за тромбоза на повърхностни вени; по-често тромбози в ретината и окоето.
2	Рецидивиращи тромбози	Не е ясно дали и колко мутацията има значение.
3	Тромбоза при бременност	3x-15x ↑ риск (хетерозиготи) – до 31x ↑ по време на самата бременност или до 6 седмици постпартум. 26x ↑ риск (хомозиготи) 8-47x ↑ риск при compound хетерозиготи с factor V Leiden
4	Тромбоза при злокачествени неоплазми	17x ↑ общ риск за венозни тромбози; 20x ↑ риск за тромбози на горни крайници; 5x ↑ риск за тромбоза при централен венозен катетър (порт)
1	Type of venous thromboembolism:	General risk: 3-5x ↑ risk (heterozygotes) Undetermined for homozygotes; earlier onset is typical
	Deep venous thrombosis	3-5x ↑ risk (heterozygotes), most often lower extremity DVT; earlier onset.
	Pulmonary thromboembolism	Generally higher risk; in heterozygotes with history of deep vein thrombosis, the incidence is 32%.
	Deep vein thrombosis of the upper extremity	3-6x ↑ risk (heterozygotes) (9-14x ↑ in heterozygous women taking oral contraceptives)
	Thrombosis of the cerebral veins	6-10x ↑ risk (heterozygotes); 80-150x ↑ in heterozygous women taking oral contraceptives
	Portal hepatic thrombosis	Up to 4x ↑ risk (heterozygotes)
	Thrombosis in atypical localization	Up to 4x ↑ risk (heterozygotes) for superficial vein thrombosis; retinal or ocular thromboses are more common.
2	Recurrent thromboses	Undetermined effect.
3	Thrombosis in pregnancy	3x-15x ↑ risk (heterozygotes) - up to 31x ↑ during ca. 6 weeks postpartum. 26x ↑ risk (homozygotes) 8-47x ↑ risk in compound heterozygotes with factor V Leiden
4	Thrombosis in malignant Neoplasms	17x ↑ overall risk for venous thrombosis; 20x ↑ risk for upper extremity thrombosis; 5x ↑ risk for central venous catheter (port) thrombosis

Артериално-съдови инциденти

Поради влиянието на протромбина върху активирането на ендотелните съдови клетки и агрегацията на тромбоцитите, е предположена неговата роля в патогенезата на атеросклерозата и развитието на коронарна съдова болест. Две проучвания, сред млади жени (18-44 г.) с ранен миокарден инфаркт и сред мъже с инфаркт преди 70 годишна възраст, демонстрират повишен риск за коронарно-съдови инциденти сред носителите на варианта 20210G>A (FII) в хетерозиготно състояние, само ако индивидът е едновременно изложен на влиянието и на друг рисков фактор (най-значимо влияние има пушенето; други фактори са наднормено тегло, артериална хипертония, хиперлипидемия, диабет) [7]. Не е малък и броят на изследванията, които не показват асоциация между наследствената хиперпротромбинемия и риска от миокарден инфаркт.

Няколко проучвания не откриват асоциация между носителството на 20210G>A (FII) и риска за възникване на инсулт или транзиторна исхемична атака, други посочват по-висок риск за мозъчен исхемичен инцидент при хетерозиготни носители (например 3,8 пъти по-висок в едно проучване, като авторите изчисляват възможно повишаване на риска при хомозиготи до над 200 пъти) [7, 14]. В литературата са описани изключително малко на брой индивиди хомозиготи по 20210G>A (FII). Сред тях двама пациенти, на 24 и на 26 години, са диагностицирани с исхемичен (мозъчен) инсулт [7, 14].

Протромбин и COVID-19

Протромбинът, като важен фактор в каскадата на кръвосъсирване, и наличието на генетични варианти в него, в момента са фокус на повишен интерес от научната общност, поради възможното значение за тежестта на клиниката при инфекция с вируса SARS-CoV-2, причинител на заболяването COVID-19, и за патогенезата на свързаните с нея тромботични усложнения [11]. Така например, описан е пациент с COVID-19, развил тежка, системна венозна тромбоза, който е хомозиготен носител на вариант 20210G>A (FII) [15].

Индикации за изследване

Клинични характеристики на протромбиновата тромбоза не са патогномонични за това

Coronary artery disease and ischemia

Because of the activating effect of prothrombin on endothelial vascular cell activation and platelet aggregation, it has been suggested to have an impact on atherosclerosis and coronary artery disease pathogenesis. Two studies, among young women (18-44 yrs.) with early myocardial infarction and among men with infarction before the age of 70 years, demonstrated an increased risk for coronary events among 20210G>A (FII) heterozygotes, but only by simultaneous exposure to another risk factor (most significantly by smoking; by overweight, arterial hypertension, hyperlipidemia, diabetes) [7]. Other studies failed to demonstrate an association between hereditary hyperprothrombinemia and the risk of myocardial infarction.

Studies on the association between 20210G > A (FII) homozygosity and the risk of cerebral stroke or transient ischemic episode are controversial. Some of them showed no statistically significant association, others demonstrate up to 3.8-fold higher risk for cerebral ischemic events in heterozygotes, estimating a 200-fold higher risk in homozygotes [7, 14]. Only a small number of 20210G>A (FII) homozygotes have been described. Two of them, aged 24 and 26 years, have had a history of ischemic stroke [7, 14].

Prothrombin and COVID-19

As a key component of the coagulation cascade, prothrombin is a focus of an increased scientific interest. A possible effect of genetic variants in FII on the development of severe thrombotic events during SARS-CoV-2-associated COVID-19 disease was suggested [11]. For example, a patient with severe, systemic venous thrombosis as a complication of COVID-19 infection, has been identified as a 20210G>A (FII) homozygote [15].

Suggestive findings

The clinical manifestation of prothrombin thrombophilia is not pathognomonic. Prothrombin plasma

състояние. Освен това плазмените нива на протромбин при хетерозиготните носители могат да бъдат повишени с до 30%, но също така биха могли да са сравними с тези при хората без мутацията [1, 5]. Като индикации за изследване за наличие на протромбинова тромбофилия се посочват [13]:

– Възникване на първи, непровокиран епизод на ВТЕ преди 50-годишна възраст;

– Възникване на непровокиран епизод на ВТЕ и едновременно наличие на кръвен родственик от първа степен (родител, братя и/или сестри, дете) с венозна тромбоемболия на възраст пог 50 години;

– Анамнеза за рецидивиращи епизоди на тромбоза: ТДВ на долните крайници, белодробен тромбоемболизъм;

– Тромбоза в нетипични локализации: мезентериална, церебрална, хепато-портална.

– Фамилна анамнеза за носителство на мутацията и/или фамилна анамнеза за тромботични инциденти;

– Венозна тромбоза по време на бременността и/или в ранния пуерперален период (6 седмици след раждане);

– Венозна тромбоза по време на прием на естроген съдържащи орални контрацептиви или хормон-заместителна терапия;

– Преди чернодробна трансплантация – изследва се донорът, тъй като в неговия черен гроб се произвежда протромбин.

– Жени, които планират прием на естроген-съдържащи контрацептиви или хормон-заместителна терапия и които имат кръвни родственици с анамнеза за венозна тромбоза или известна наследствена тромбофилия;

– Жени, които планират антикоагулантна терапия по време на бременността и които имат кръвни родственици с анамнеза за венозна тромбоза или известна наследствена тромбофилия.

При следните случаи изследването за протромбинова тромбофилия може да се обсъди:

– Първи епизод на ВТЕ при прилагане на тамоксифен или на други селективни модулатори на естрогеновия рецептор.

– Първи епизод на непровокирана ВТЕ при възраст над 50 години.

levels in heterozygotes might be up to 30% higher, but could also be comparable to the level in wild type allele individuals [1, 5]. Suggestive findings for molecular genetic are [13]:

– A first, unprovoked episode of venous thromboembolism (VTE) before the age of 50;

– An unprovoked episode of venous thromboembolism and a first-degree relative (parent, sibling, child) younger than 50 years with venous thromboembolism;

– History of recurrent episodes of thrombosis (VTE of lower extremity, pulmonary thromboembolism (PE));

– VTE in atypical localizations: mesenteric, cerebral, hepato-portal.

– Family history of a mutation carrier and/or family history of a thrombotic events;

– VTE during pregnancy and/or within the first 6 weeks postpartum;

– VTE on estrogen-containing oral contraception or oral hormone replacement therapy;

– Before liver transplantation, the donor should be tested, since prothrombin is produced in his liver.

– Women planning estrogen-based contraception or hormone replacement therapy, who have relatives with a history of VTE or with known hereditary thrombophilia;

– Women planning anticoagulant therapy during pregnancy, who have relatives with a history of VTE or known hereditary thrombophilia.

Prothrombin thrombophilia genetic testing might be considered:

– By first VTE episode during therapy with tamoxifen or other selective estrogen receptor modulator.

– By first episode of unprovoked VTE in a patient older than 50 years.

– Когато се планира спиране на антикоагулантната терапия при лечение на първи, *непровокиран* епизод на ВТЕ при пациент, при който все още не е проведено изследване за генетична тромбфилия;

– При деца с идиопатична венозна тромбоза или инсулт.

Диагностика

Доказването на протромбиновия вариант 20210G>A (FII) се постига чрез молекулярно генетично изследване: секвениране или PCR-базирана методика. Както и при FV, изследването трябва да може да идентифицира хомо- и хетерозиготите и се провежда еднократно.

Препоръки

Аналогично на препоръките за FVL, наличието на варианта 20210G>A само по себе си, без тромботичен епизод и без наличие на други рискови и предразполагащи фактори, не е индикация за дългосрочна антикоагулантна терапия, но профилактична кратковременна антитромботична терапия може да се предприеме при планируеми преходни рискови фактори (операция, пътуване), за да се избегне тромботичен инцидент. Лечението на първи остър тромботичен епизод при носители на варианта 20210G>A (FII) също се извършва по стандартни протоколи, а преценката за продължителност на терапията се базира на оценка на съотношението за възникване на рецидив спрямо риск от кървене поради лечението [3, 8].

Хетерозиготните жени носителки на варианта 20210G>A с анамнеза за ВТЕ, както и хомозиготните жени със или без такава анамнеза трябва да избягват приема на перорални контрацептиви и хормонозаместителна терапия. По отношение на бременността при жени, носителки на мутация, не е постигнат консенсус относно антикоагулантната профилактика, но могат да се следват насоките, изложени за FVL [13].

След установяване на мутацията 20210G>A, с оглед оценка на риска за развитие на венозна тромбоза, се препоръчва допълнително изследване на: резистентност на активирания протеин С и/или генетичен анализ за наличие на фактор V на Лайден (FVL) (понякога се изследват успоредно); анализ за наличие в серума на антикардиолипинови антитела и анти-бета-1-гликопротеинови анти-

– When planning anticoagulant therapy termination after a first, unprovoked episode of VTE in a patient who is still not tested for genetic thrombophilia;

– In children with idiopathic venous thrombosis or stroke.

Diagnostics

The 20210G>A (FII) variant is identified by molecular genetic testing: a (Sanger) sequencing or a PCR-based method. As with FV, the testing must be able to identify homo- and heterozygotes and be performed once.

Recommendations

Similar to FVL thrombophilia, the identification of 20210G>A variant is not an indication for a long-term anticoagulant therapy, if there is no history of VTE or in the absence of a risk factor. However, a short-term anticoagulation prophylaxis is recommended in case of a risk factor exposure: surgery, travel. First thrombotic episode therapy in 20210G>A (FII) variant carriers equals standard protocols; the therapy duration depends on determination of the benefits to disadvantages ratio [3, 8].

Heterozygous female 20210G>A carriers with a history of VTE, and homozygous women with or without VTE, should avoid oral contraception and hormone replacement therapy. Regarding pregnancy, there is no consensus on anticoagulant prophylaxis for female carrier; generally, the FVL prophylaxis guidelines can be applied [13].

Once the 20210G>A mutation has been identified, an additional study of: activated protein C resistance and/or genetic analysis for Leiden Factor V (FVL) (sometimes tested in parallel) is recommended to assess the risk of developing venous thrombosis); serum analysis of anticardiolipin antibodies and anti-beta-1-glycoprotein antibodies; phospholipid-dependent coagulation reactions to identify a lupus inhibitor; activity of protein C, antithrombin and protein S (or free protein S antigen) [7, 13].

тела; фосфолипид-зависими коагулационни реакции за идентифициране на лупусен инхибитор; активност на протеин С, на антитромбин и на протеин S (или свободен протеин S-антиген) [7, 13].

Генетична консултация. Унаследяване

Протромбиновата тромбофилия се унаследява автосомно доминантно. Досега не са описани случаи на *de novo* възникнали мутации, т.е. винаги мутантните алели са унаследени от родител. Вероятността за предаване на мутантния вариант 20210G>A (FII) в потомството зависи от генотипа на родителите и следва същите закономерности, както представените в таблица 2 за FVL:

– При един родител хетерозигот, вероятността за всяко от неговите деца също да унаследи мутацията и да бъде хетерозиготен носител е 50%.

– При един родител хомозигот всички деца ще бъдат хетерозиготни носители (100%).

– При двама хетерозиготни родители, рискът за техните общи деца е: 25% да бъдат хомозиготни носители на мутацията; 50% да бъдат хетерозиготни носители; 25% вероятност да нямат мутация (хомозиготи по дивия тип алел).

– При един родител хомозигот и един родител хетерозигот съществува 50% риск потомците да са хомозиготи и 50% риск за хетерозиготност.

– При двама родители хомозиготи всички общи деца ще бъдат също хомозиготи (100%) [13].

Инхибитор на плазминогеновия активатор (PAI1)

Генът *SERPINE1* кодира PAI1 (plasminogen activator inhibitor-1) – серин-протеиназен инхибитор на тъканния плазминогенен активатор-1 (tPA1), чиято функция е да активира плазминогена до плазмин и по този начин да способства лизирането на фибриновите коагулати, получени след кръвосъсирване. Така PAI1, инхибирайки tPA1, инхибира и фибринолизата и по този начин уължава ефекта на кръвосъсирването [16, 17]. Нарушената фибринолиза в резултат на повишени плазмени нива на PAI1 е типична находка при пациентите с ТДВ [18].

В промоторния (5') участък на гена *PAI1* се открива генетичен вариант, известен под името

Genetic counseling. Mode of inheritance

Prothrombin thrombophilia is inherited in an autosomal dominant manner. No *de novo* mutations have been described. The risk for the offspring depends on the genotype of the parents (s. also Table 2 for FVL):

– If one parent is a heterozygote, there is 50% risk for the offspring to be heterozygous as well and 50% chance to be wild-type allele homozygous.

– If a parent is homozygous, all children (100%) will be heterozygous carriers.

– If both parents are heterozygous, there is a 25% risk for the offspring of being mutation homozygotes; 50% risk of being heterozygous carriers; 25% chance of being wild-type allele homozygotes.

– If one parent is homozygote for the mutation and one is heterozygote, there is a 50% risk for the offspring for being homozygous and a 50% risk of being heterozygous.

– In the case of two homozygous parents, there is 100% risk for homozygous offspring [13].

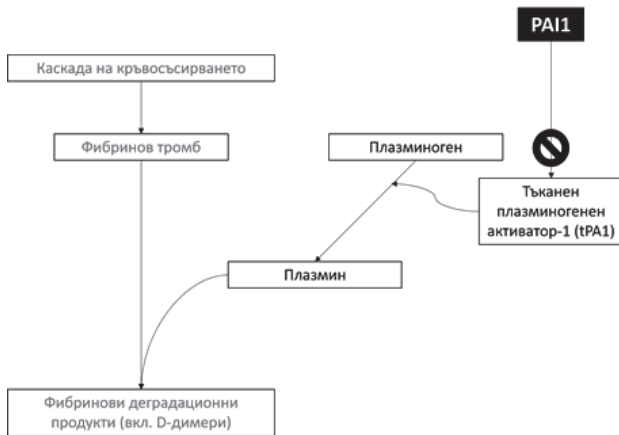
Plasminogen activator inhibitor (PAI1)

The *SERPINE1* gene encodes PAI1 (plasminogen activator inhibitor-1), a serine-proteinase inhibitor of the tissue plasminogen activator-1 (tPA1); tPA1 on the other hand activates plasminogen by transforming it into plasmin, thus promoting fibrin clot degradation. Hence, PAI1, by inhibiting tPA1, indirectly inhibits the fibrinolysis and prolongs the blood coagulation effect [16, 17]. Impaired fibrinolysis caused by elevated plasma PAI1 levels is a common finding in patients with deep vein thrombosis [18].

At the promoter (5') region of the *PAI1* gene a genetic variant, known as the „*PAI1* 4G/5G polymorphism“ has been described¹¹. The two alternative

¹¹This polymorphic variant belongs to the microsatellites; its official designation is NM_000602.5(SERPINE1): c.820G[(4_5)]; other popular designations for the same variant are c.-675delG (4G/5G Polymorphism); SERPINE1, 1-BP DEL/INS, 4G/5G; single nucleotide variant rs1799762 or rs1799889; c.-742delG (5'UTR) in the old nomenclature.

„полиморфизъм 4G/5G на *PAI1*“¹¹. Двата алтернативни алела в този локус се отличават по наличието на 4 или на 5 гуанинови остатъка (1-bp guanine deletion/insertion (4G/5G)) в молекулата на ДНК [19].



Фигура 1. Схематично представяне на инхибиторния ефект на PAI1 върху фибринолизата (обяснения в текста)

Алелът, при който в промотора на гена *PAI1* има само 4G-остатъка, има висок афинитет само към усиливащите генната експресия регулаторни фактори, но не и към инхибиращите. Поради това алел 4G показва по-висока транскрипционна активност и е причина за по-високи нива на иначе функционално непроменен PAI1 в плазмата. Вариантът на дивия тип алел (5G) има афинитет за свързване не само с енхансера, но и с протеина, потискащ транскрипцията на гена и като цяло показва по-слаба експресия. В резултат на това, индивидите с генотип 4G/4G имат приблизително 25% по-високи плазмени нива на PAI1 и при тях, формирани в кръвоносната система коагулати (тромби), не се лизират така ефективно, в сравнение с индивидите с генотип 5G/5G [17].

Промоторният участък на гена *PAI1* има и друга особеност. Той е способен да „реагира“ с повишена експресия на PAI1, при високи плазмени нива на триглицериди. Най-силен такъв отговор, т.е. най-високи нива на PAI1, са установени при хипертриглицеридемия в индивиди с генотип 4G/4G (*PAI1*) [17].

¹¹Този вариант се отнася към групата на микросателитите; официалното му наименование е NM_000602.5(SERPINE1):c.-820G[(4_5)]; остарели или популярни обозначения на същия вариант са c.-675delG (4G/5G Polymorphism); SERPINE1, 1-BP DEL/INS, 4G/5G; единичен нуклеотиден вариант rs1799762 или rs1799889; c.-742delG (5'UTR) по старата номенклатура

alleles at this locus differ by the presence of 4 or 5 guanine residues (1-bp guanine deletion/insertion (4G/5G)) in the DNA molecule [19].

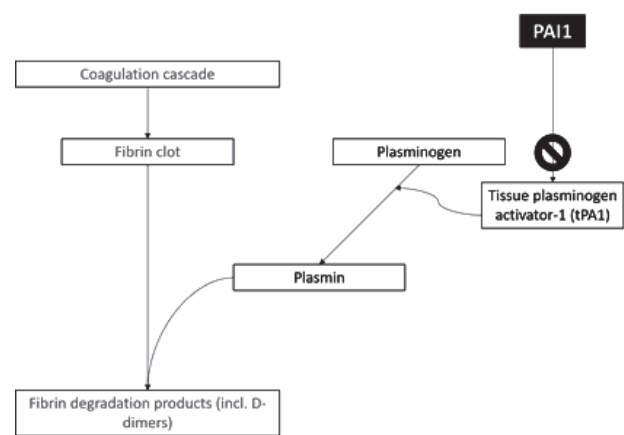


Figure 1. Schematic representation of the inhibitory effect of PAI1 on fibrinolysis (explanations in text)

The 4G allele *PAI1* promoter has a higher affinity to gene expression enhancers, but not to gene expression inhibitors. Hence, the 4G allele has higher transcriptional activity and corresponds to higher plasma levels of otherwise functionally unchanged PAI1. The wild-type 5G allele on the other hand, has an equal affinity to gene expression enhancers and inhibitors, and generally shows weaker expression. As a result, individuals with 4G/4G (*PAI1*) genotype have on the average about 25% higher PAI1 plasma levels. Clots, formed during coagulation in 4G-homozygotes cannot be degraded as efficiently as in wild-type allele homozygotes [17].

The promoter region of the *PAI1* gene is also sensitive to external factors, being up-regulated for example by elevated triglyceride plasma levels. This up-regulation effect is noticeably stronger in 4G (*PAI1*) homozygotes [17].

The 4G allele is very common genetic variant with a global minimum allele frequency of about 43% and a frequency in Caucasian of about 46% [19]. The 4G/4G genotype has a frequency of over 26%

Алелът 4G е много широко разпространен: глобалната му минимална алелна честота е около 43%, а честотата му сред европейските популации е около 46% [19]. Честотата на генотип 4G/4G в европейската популация е над 26%, на хетерозиготи (5G/4G) над 39%, а на хомозиготи по *db* тип алел (5G/5G) около 35% (dbSNP).

КЛИНИЧНА КАРТИНА

Венозна тромбоза

Тъй като наличието на алел 4G в хомозиготно състояние (генотип 4G/4G) е свързано с повишена експресия на PAI1, а по-високи плазмени нива се свързват с повишен риск от тромбози, са проведени няколко изследвания на пациенти и здрави контроли, за да се установи дали хомозиготното състояние 4G/4G има връзка с леко увеличение на предразположеността към развитие на тромбози. Докато тези проучвания показват наличието на асоциация между повишените нива на PAI1 и риска от тромбози, то ясна връзка между полиморфизма 5G/4G и тромбофилия не се доказва еднозначно [17]. Мета-анализ, включващ данните от голям брой проучвания все пак посочва наличие на такава връзка [20].

В резултат на други изследвания се установява, че наличието на генотип 4G/4G води до повишен тромботичен риск само ако е наличен и друг генетичен фактор, отговорен за наследствена или придобита тромбофилия. Така например сложна-хетерозиготност 4G/5G (PAI1) и с.20210 G/A (FII, фактор II – протромбин), води до 6-кратно увеличение на риска за венозна тромбоза, а комбинацията от хомозиготно носителство на варианта 4G/4G (PAI1) и хетерозиготно носителство на варианта 20210G>A води до 13-кратно увеличение на риска за венозна тромбоза [13]. Най-висок тромботичен риск за хомозиготи 4G/4G (PAI1) се описва при едновременен дефицит на протеин С. При вроген дефицит на протеин S е показан значително увеличен риск за белодробен тромбоемболизъм, но не и за ТДВ. Генотип 4G/4G показва асоциация и с по-висок риск за *артериална* тромбоза при индивиди с придобита тромбофилия поради наличие на антифосфолипидни антитела [17]. По-висок тромботичен риск показват и паци-

in Caucasians, whereas the wild-type allele homozygotes (5G/5G) surprisingly comprise about 35% (dbSNP).

CLINICAL MANIFESTATION

Venous thrombosis

Since homozygosity for the 4G allele is associated with up-regulation of PAI1 expression, and higher PAI1 levels are associated with an increased thrombosis risk, several studies sought to demonstrate possible link between 4G/4G homozygosity and thrombosis susceptibility. Despite the clear association between the PAI1 plasma levels and the thrombotic risk, a 4G/ thrombophilia association could not be clearly demonstrated [17]. One meta-analysis found some association between the 4G homozygosity and an elevated thrombotic risk [20].

Several studies demonstrate an association between the 4G homozygosity and an increased thrombotic risk only in the presence of another hereditary or acquired thrombophilia risk factor. For example, a compound-heterozygosity of 4G/5G (PAI1) and с.20210 G/A (FII) results in a 6-fold increase in the risk of venous thrombosis, while homozygosity for the 4G variant (PAI1) combined with heterozygosity for 20210G>A (FII) results in a 13-fold higher risk for venous thrombosis [13]. The highest thrombotic risk for 4G (PAI1) homozygotes is described by co-existing protein C deficiency. Significantly higher risk for pulmonary thromboembolism, has been shown by concomitant 4G homozygosity and congenital protein S deficiency. The 4G/4G genotype associates with a higher risk of arterial thrombosis in individuals with acquired antiphospholipid-antibody thrombophilia [17]. Patients carrying the FV

ентите с FV Лайден вариант и наличие на алел 4G (PAI1) [21].

В голямо проспективно проучване върху риска за рецидив на дълбоки венозни тромбози е установена връзка между повишени плазмени нива на PAI1 и повишен риск от рецидив за тромбоза на дълбоките вени [17]. Друго проучване установява по-висока честота на алел 4G и на генотип 4G/4G сред пациентите, които вече са прекарвали епизод на дълбока тромбоза на вените – находка, съответстваща на факта, че PAI1 има роля по-скоро в потискане на фибринолизата, а не в тромбогенезата [22].

Слабо изяснен остава проблемът, дали повишените нива на PAI1 са причина за повишения тромботичен риск, или по-скоро, също като тромбозата, са резултат от определен метаболитен терен и иницираните от него хронични патологични процеси в организма. Както бе дискутирано, промоторният регион на PAI1 позволява механизъм за повишена експресия при наличие на повишени плазмени нива на триглицериди. Този ефект е налице независимо от полиморфизма 5G/4G, но е още по-силно изразен при генотип 4G/4G. В групата пациенти с тромбоза и повишени нива на PAI1 са същевременно и повечето индивиди с висок Body-Mass Index (BMI), повишени нива на липиди, глюкоза на гладно и инсулин; ето защо авторите посочват, че вероятно повишените нива на PAI1 са директен резултат на метаболитни нарушения и състояния, като инсулинова резистентност, хипертриглицеридемия, затлъстяване и артериална хипертония [17].

Коронарна артериална съдова болест

Има данни за значителна корелация между повишена плазмена концентрация на PAI1 (като самостоятелен белег) и коронарна съдова болест [23]. Не е ясно дали връзката е чисто причинно-следствена или и двата белега са резултат от действието на рискови фактори [17]. Макрофагите и ендотелните клетки в атеросклеротичните лезии се характеризират с повишена експресия на PAI1, която е още по-явна при пациентите със захарен диабет тип 2 [24]. Установено е, че алелната честота на варианта 4G е значително по-висока сред пациентите, прекарвали миокарден

Leiden variant and the 4G allele (PAI1) also have higher thrombotic risk [21].

A large prospective study found an association between elevated plasma PAI1 levels and an increased risk for deep vein thrombosis recurrence [17]. Another study found a higher frequency of the 4G allele and the 4G/4G genotype among patients who had already experienced an episode of deep vein thrombosis, a finding consistent with the fact that PAI1 has a role in suppressing fibrinolysis rather than thrombogenesis [22].

It remains poorly understood whether elevated PAI1 levels are the cause of the increased thrombotic risk, or rather are the result of a specific metabolic background causing a chronic pathological condition. As discussed, the promoter region of PAI1 enables enhanced expression by hypertriglyceridemia. This effect is observed independently of the 5G/4G polymorphism but is even more pronounced in the 4G/4G genotype. A study demonstrated that among patients with thrombosis and higher PAI1 levels, more individuals had high Body-Mass Index (BMI), hyperlipidemia, fasting glucosemia and higher insulin levels; hence, it was suggested that elevated PAI1 levels are likely a result of metabolic dysregulation, especially in the context of insulin resistance, hypertriglyceridemia, obesity and arterial hypertension [17].

Coronary artery vascular disease

There is evidence of a significant correlation between increased plasma PAI1 concentration (as an independent marker) and coronary artery disease [23]. It is unclear whether this indicates causality or whether both features are associated because of the common etiological risk factors [17]. Macrophages and endothelial cells in atherosclerotic lesions demonstrate up-regulated PAI1 expression, which is even more pronounced in patients with type 2 diabetes mellitus [24]. The 4G variant allele frequency is significantly higher among pa-

инфаркт на възраст преди 45 години [25]. Броят на хомозиготите по алел 4G (4G/4G) в семейства с фамилна анамнеза за коронарна сърдечна патология е значително по-висок [26]. Пациентите с генотип 4G/4G значително по-често демонстрират тежки атеросклеротични изменения със стеноза над 70% [23, 27]. Мета-анализ върху ефекта от полиморфизма 5G/4G върху риска за коронарна артериална съдова болест, показва наличие на такава и значително по-висок риск за коронарна съдова болест сред индивидите с европейски и азиатски произход, от мъжки пол и в по-млада възраст, носители на алел 4G [24].

Усложнения по време на бременност

Няколко проучвания не откриват връзка между плазмените нива на PAI1 или полиморфизма 5G/4G и рецидивиращи спонтанни аборти [28-30].

Диагностика. Индикации за изследване

Изследването на плазмените нива на PAI1 с цел извличане на клинично релевантна информация е предизвикателство. Причината е, че концентрацията на PAI1 в кръвта има циркадианен ритъм, но освен това се повлиява силно в хода на основното заболяване (тромбоза, сърдечно-съдово заболяване), както и при състояния, повлияващи синтеза на острофазови протеини, какъвто е PAI1 (например при инфекции или постоперативно). Методите за измерване на плазмения PAI1 се основават на ензим-зависима имуносорбентна реакция или на функционален анализ [17].

Установяването на статуса на полиморфизма 5G/4G се извършва чрез молекулярно генетични изследвания (секвениране, PCR-базиран метод). Откриването на вариантния алел 4G би могъл да има клинично значение по отношение на тромбофилия само в хомозиготно състояние и при наличие на допълнителен генетичен фактор, водещ до наследствена тромбофилия, като вариант FV Leiden или 20210G>A (FII).

Повечето автори препоръчват изследването на полиморфизма 5G/4G (PAI1) да се провежда само при наличие на друг, доказан, генетичен или придобит тромбофиличен фактор, тъй като самостоятелното му клинично значение не е напълно изяснено и вероятно има много малка тежест в генезата на тромботичния процес. В съ-

tients with myocardial infarction before 45 years [25]. There are significantly more 4G homozygotes among individuals with a family history of coronary heart disease [26]. Patients with the 4G/4G genotype demonstrate severe atherosclerotic changes with stenosis greater than 70% significantly more often [23, 27]. A meta-analysis on the effect of the 5G/4G polymorphism has demonstrated strong association between coronary artery disease and the 4G allele in male, young individuals of European or Asian descent [24].

Pregnancy complications

Several studies found no association between plasma PAI1 levels or the 5G/4G polymorphism and recurrent pregnancy loss [28-30].

Diagnosis. Suggestive findings

Determining PAI1 plasma levels diagnostic purposes is challenging, because PAI1 concentration follows a circadian rhythm and is affected significantly by underlying disease, such as thrombosis, cardiovascular disease or conditions (e.g. infections or operations) with elevated acute phase proteins. Plasma PAI1 concentration is measured by enzyme-linked immunosorbent-based assays or by functional analysis [17].

The 5G/4G polymorphism is best demonstrated by molecular genetic testing (sequencing or PCR-based methods). The 4G allele should be interpreted as clinically relevant for thrombophilia susceptibility only in homozygotes and in the presence of an additional thrombophilic factors (for example FV Leiden or 20210G>A (FII)).

It was suggested that molecular genetic testing of PAI-1 5G/4G polymorphism should be only considered, when another genetic or acquired thrombophilic factor has been identified. The clinical significance of the polymorphism as an independent factor for development of thrombosis is not fully understood, but perhaps it has a very little general effect on it. At the

щото време, съобщаването на вариант, който е „различен от нормалния алел“ може да създаде излишно безпокойство у пациента [6, 10, 18].

Препоръки

Няма специални препоръки, свързани с 4G (PAI1) хетерозиготност или хомозиготност, нито по отношение на терапията на тромботични инциденти, нито във връзка с възможна профилактика. Поради силно вероятната асоциация с повишен риск от сърдечно-съдови заболявания и по-специално – коронарна съдова болест и миокарден инфаркт, се препоръчва повишено внимание при контрола на рисковите фактори като ниво на кръвна захар и триглицериди в серума, телесно тегло и други. За сега, обаче, анализът на полиморфизма 5G/4G (PAI1) няма пряко клинично приложение [6, 10, 18].

Генетична консултация. Унаследяване

Белегът повишена плазмена концентрация на PAI1, във връзка с наличието на полиморфизма 4G, се унаследява автосомно-рецесивно (вж. обясненията за „автосомно“ и „доминантно“ при унаследяване на фактор V Лайден). Вероятността за генотип 4G/4G в потомството зависи от генотипа на родителите. Тя е 100% при двамата родители хомозиготи по алел 4G, 50% при един родител хомозигот по 4G и един хетерозигот и 25% при двамата хетерозиготни родители.

MTHFR (5,10-methylenetetrahydrofolate reductase)

Генът *MTHFR* кодира ензимът 5,10-метилентетра-хидрофолат-редуктаза (MTHFR) – ензим от метиловия метаболитен цикъл, който е важен за превръщането на хомоцистеин в метионин¹² и участва в метаболизма на различни аминокиселини и в синтеза на фолати. Намалена ензимна активност на MTHFR, при едновременно недостиг на серумни фолати, е една от възможните причини за хиперхомоцистеинемия (повишени нива на хомоцистеин в серума) [31]. Хиперхомоцистеинемията се определя като рисков фактор за развитие на венозна тромбоза, а също така показва

¹²MTHFR катализира превръщането на 5,10-метилентетра-хидрофолат в 5-метил-тетра-хидрофолат, който е първичната форма на фолат в циркулацията и участва в ре-метилирането на хомоцистеина в метионин.

same time, reporting a variant that is “different from the normal” may cause unnecessary concern in the patient [6, 10, 18].

Recommendations

There are no specific recommendations related to the therapy of a thrombotic event or the prophylaxis in 4G (PAI1) hetero- or homozygotes. Since there is some data for 4G association with higher cardiovascular disease (coronary artery disease and myocardial infarction) risk, caution is advised in the control of risk factors such as serum glucose and triglyceride levels, BMI, etc. For now, however, the analysis of the 5G/4G polymorphism (PAI1) has no evidence based clinical application [6, 10, 18].

Genetic counseling. Inheritance

Higher PAI1 concentration due to the 4G polymorphism, is inherited as an autosomal recessive trait. The risk of 4G-homozygosity in the offspring depends on the genotype of the parents. There is a 100% risk if both parents are homozygous for the 4G allele, 50% risk if one of the parents is 4G homozygous and the other is heterozygous, and 25% risk if both parents are in heterozygous.

MTHFR (5,10-methylenetetrahydrofolate reductase)

The *MTHFR* gene encodes the 5,10-methylene-tetra-hydrofolate reductase (MTHFR), a key enzyme in the methyl metabolic cycle, important for the conversion of homocysteine to methionine¹², and the metabolism of various amino acids and in the synthesis of folates. Reduced MTHFR enzyme activity, together with serum folate deficiency, can cause hyperhomocysteinemia (elevated serum homocysteine levels) [31]. Hyperhomocysteinemia has been identified as an independent risk factor for venous thrombosis and is associated with cardio-

¹²MTHFR catalyzes the conversion of 5,10-methylene-tetrahydrofolate to 5-methyl-tetra-hydrofolate, which is the primary form of folate in the circulation and is involved in the re-methylation of homocysteine to methionine.

асоциация със сърдечно-съдови заболявания като атеросклероза, миокарден инфаркт, инсулт, хипертония, периферна артериопатия [32-34].

В репродуктивната медицина недостигът на ензима има значение, поради повишените нужди от фолати за нормалното протичане на бременността и редуциране на риска от развитие на дефекти на невралната тръба при плода при генетична предразположеност и/или настъпване на спонтанни аборти. Понижената ензимна активност на *MTHFR* би могла да доведе до по-ниски нива на фолати, включително при плода по време на бременност при фолат-дефицитна майка [35].

Различни генетични варианти, основно двата полиморфизма¹³ с.665C>T (p.Ala222Val) и с.1286A>C (p.Glu429Ala) в гена *MTHFR*, са проучвани за влиянието им върху ензимната активност.

с.665C>T

Вариантът NM_005957.5(*MTHFR*):с.665C>T (p.Ala222Val)¹⁴ е познат като „термолабилен“ вариант. Той представлява миссенс вариант, при който в позиция 665 в гена базата цитозин (C) е заменена с базата тимин (T), което води до замяна на аминокиселината аланин с валин в позиция 222, разположена в каталитичния домейн на ензима *MTHFR*. Така измененият ензим показва термолабилност, водеща до намалена ензимна активност (ензимът се разгражда лесно до мономерите си и загубва кофактора си). Хомозиготите по вариантния алел (генотип T/T) показват по-висока ензимна термолабилност и по-ниска остатъчна ензимна активност на *MTHFR*¹⁵ (от порядъка на 20%). Хетерозиготите (генотип C/T) и хомозиготите по дивия алел (генотип C/C) показват термолабилност съответно от 56% и 66%¹⁶. Експериментално е доказано, че намалението на ензимната активност има

¹³Полиморфизъм означава такъв вариант (алел) на гена, който е алтернативен на доминиращия алел в една популация и има честота в тази популация над 1%. Колкото по-висока е честотата на даден алел в популацията, по правило толкова по-малко вероятно е той да е патогенен, но има и изключения от този принцип.

¹⁴Исторически познат и като C677T; p.A222V.

¹⁵Измерва се като ензимна активност след термично инактивиране. Колкото по-висока е термолабилността, толкова по-ниска стойност има ензимната активност.

¹⁶Процентите отразяват намалената ензимна активност под влияние на топлина, т.е. каква част от първоначалната ензимна активност (100 %) е запазена.

vascular pathology (atherosclerosis, myocardial infarction, stroke, hypertension, and peripheral arterial disease) [32-34].

The *MTHFR* enzyme deficiency is very important in the reproductive medicine area, because of the increased folate requirements during pregnancy; its supplementation is critical for the reduction of pregnancy loss incidence due to neural tube defects. [35].

At least two genetic variants, the polymorphisms¹³ с.665C>T (p.Ala222Val) and с.1286A>C (p.Glu429Ala), have functional effect on *MTHFR* enzyme activity.

с.665C>T

The polymorphism NM_005957.5(*MTHFR*):с.665C>T (p.Ala222Val)¹⁴ is known as the “thermolabile” variant. This missense variant is caused by replacement of the cytosine (C) base at position 665 in the coding gene sequence with a thymine (T) base. This results in the exchange of the amino acid alanine at position 222 – the catalytic domain of the *MTHFR* enzyme, for the amino acid valine. The 665T allele makes the enzyme more thermolabile and is associated with a reduced *MTHFR* enzymatic activity (the enzyme is prone to degradation to monomers and co-factor). Homozygotes for the mutant allele T (genotype T/T) have higher enzyme thermolability and lower *MTHFR* residual activity¹⁵ (about 20%). Heterozygotes (genotype C/T) and wild-type allele homozygotes (genotype C/C) show higher enzyme residual activity (56% and 66%, respectively)¹⁶. Biological significance of the reduced enzyme activity

¹³A polymorphism is a variant (allele) of a gene that is alternative to the dominant allele in a given population, which has a frequency in that population greater than 1%. The higher the frequency of an allele in a population, as a rule, the less likely it is to be pathogenic, but there are some exceptions.

¹⁴Historically also known as C677T; p.A222V.

¹⁵Measured as residual enzyme activity after thermal inactivation. The higher enzyme thermolability, the lower enzyme activity (lower value).

¹⁶The percentages reflect the reduced enzyme activity under the influence of heat, i.e. how much of the original enzyme activity (100%) is retained.

биологично значение основно при хомозиготи по вариантния вариант (Т), но не и при хетерозиготи [36-39].

Алелът Т на с.665С>Т (р.Аla222Val) е широко разпространен във всички човешки популации, като глобалната му минимална алелна честота е около 25%, което го определя по-скоро като полиморфизъм. Сред европейските популации честотата му варира от 25% до 31%. Генотипната честота на хомозиготите по div тип алел (С/С) в европейските популации е 46-58%, на хетерозиготите (С/Т) 33-50%, а на хомозиготите по вариант Т (генотип Т/Т) е 4-8% (dbSNP, Internet, 21.07.2021[38]).

с.1286А>С

Вариантът NM_005957.4(MTHFR):с.1286А>С (р.Glu429Ala)¹⁷ представлява замяна на базата аденин (А) с нуклеотида цитозин (С) в позиция 1286 на гена, с миссенс ефект (замяна на аминокиселината глутамат (Glu) с аланин (Ala) в позиция 429 на полипептидната верига на ензима) в регулаторния домейн на ензима. Проучванията in vitro показват, че сам по себе си този полиморфен вариант, дори в хомозиготно състояние не причинява биологично значимо намаление на ензимната активност на МТНFR. При наличие обаче и на варианта с.665С>Т (в хетерозиготно състояние), се наблюдава кумулативен ефект, който има изява близка до тази при хомозиготи само по варианта с.665С>Т [36, 38, 39].

Алтернативният алел (1286С) има също висока честота, като според базата данни "1000 Genomes" той се среща сред 31% от индивидите с европейски произход; честотата на хомозиготите по вариантния алел (1286С) е около 10%, а на хетерозиготите – около 42% [38].

с.665С>Т и с.1286А>С

Алтернативните алели на двата полиморфизма 665Т и 1286С почти никога не се намират на една и съща хромозома (намират се в т.нар. неравновесна скаченост (linkage disequilibrium), т.е. не се разпределят в популацията на случаен принцип, независимо един от друг, а по такъв начин, че двата мутантни алела рядко се откриват заедно, върху една и съща хромозома). Когато някой

¹⁷Исторически познат и като с.А1298С, Е470А (GLU429ALA), rs1801131

has been experimentally proved only in 665Т homozygotes [36-39].

The Т allele of с.665С>Т (р.Аla222Val) is widespread in all human populations, with a global minimum allele frequency of about 25%, defining it as a polymorphism. Its frequency in Caucasians ranges from 25% to 31%. The genotype frequency of wild-type allele homozygotes (С/С) in Caucasian is 46-58%, of heterozygotes (С/Т) 33-50%, and of homozygotes for the Т variant (genotype Т/Т) is 4-8% (dbSNP, [38]).

с.1286А>С

The polymorphism NM_005957.4(MTHFR):с.1286А>С (р.Glu429Ala)¹⁷ is a substitution of adenine (А) with cytosine (С) at position 1286 of the coding DNA sequence of МТНFR gene, with a missense effect (substitution of the amino acid glutamate (Glu) with alanine (Ala) at position 429 of the МТНFR polypeptide molecule) in the regulatory domain of the enzyme. In vitro studies failed to demonstrate biologically significant МТНFR enzyme activity reduction even in с.1286С homozygotes. However, simultaneous 665С/Т heterozygosity, has a cumulative effect, with clinical manifestation similar to 665Т/Т homozygosity [36, 38, 39].

The alternative allele (1286С) of the МТНFR is also very common: according to the "1000 Genomes database" its allele frequency in Caucasians is about 31%; the genotype frequency of the 1286С-homozygotes is about 10%, and of the heterozygotes - about 42% [38].

с.665С>Т and с.1286А>С

The alternative alleles of the two polymorphisms 665Т and 1286С could almost never be found located on one and the same chromosome (situation designated as *linkage disequilibrium*, i.e. the alleles are not distributed in a population randomly, but in a way that they are rarely found on the same chromosome). Double heterozygotes (i.e. with genotype 665С/Т; 1286А/С) have almost certainly the two mutant alleles

¹⁷Historically also known as с. А1298С, Е470А (GLU429ALA), rs1801131

индивид е хетерозигот по двата варианта (т.е. с генотип СТ (665)/АС (1286)) е почти сигурно, че двата мутантни алела са на различните хромозоми (от двете хромозоми в човешката клетка). Случаите, в които индивид е хетерозигот по единия вариант и хомозигот по другия (генотип СТ (665)/СС (1286) или генотип ТТ (665)/АС (1286)) са изключително редки, а хомозиготи по двата мутантни алела в литературата не са описвани, което предполага механизъм на естествена отрицателна селекция на такива индивиди още в ембрионалното развитие [38, 39].

Хомозиготите по мутантния вариант Т на варианта с.665С>Т, както и двойните хетерозиготи по вариантите с.665С>Т и с.1286А>С показват признаци на редуцирана МТНFR ензимна активност, и особено при недостиг на серумни фолати, могат да развият хиперхомоцистемия. Нейното клинично значение като рисков (или асоцииран) фактор за тромбофилия или за сърдечно-съдова патология, обаче, се критикува в последните години. Макар и изследването на двата варианта да се предлага от повечето генетични лаборатории по света, настоящите препоръки съветват тези изследвания да не се включват при индикация тромбофилия или да се предлагат с повишена предпазливост. Причината е, че при носителите на полиморфните варианти не е задължително повишаване на серумния хомоцистеин, тъй като състоянието се влияе от множество фактори. Дали наличието на полиморфните варианти с.665С>Т (р.Аla222Val) или с.1286А>С (р.Glu429Ala) води до хиперхомоцистемия при конкретен пациент, може да бъде установено след измерване на плазмената концентрация на хомоцистеин, като се препоръчва и определяне на концентрацията на витамин В12, витамин В6 и фолиева киселина [6, 31, 35].

Асоциирани клинични състояния

Вариантът с.665С>Т е изследван в голям брой проучвания с различна цел. Някои от тях откриват или отхвърлят връзка с различни заболявания, като предразположеност към тромбози, атеросклероза и сърдечно-съдови заболявания (по-специално миокарден инфаркт), хипертония, демения, предразположеност към развитие на

are on a different chromosome (of each pair). Heterozygotes for one variant and homozygous for the other (genotypes 665CT/1286CC or 665TT/1286AC) are extremely rare worldwide, and homozygotes for both mutant alleles have never been reported in the literature, suggesting a natural negative selection effect during embryogenesis [38, 39].

Both homozygotes for the 665T variant and double heterozygotes c.665C>T/c.1286A>C, show reduced *MTHFR* enzyme activity and may develop hyperhomocysteinemia, especially in folate deficiency background. The clinical significance of hyperhomocysteinemia in the etiology of thrombophilia or for cardiovascular disorders, however, has been recently criticized. Although *MTHFR* polymorphism testing is widely available in almost all genetic laboratories, current thrombophilia guidelines advise against it or suggest to consider it with caution. Reason for this is that *MTHFR* polymorphism does not directly correspond to hyperhomocysteinemia. To determine whether a particular 665T or 1286C carriers has hyperhomocysteinemia, a measurement of the serum homocysteine levels, preferably together with folic acid, vitamin B12 and vitamin B6 concentration determination, is recommended [6, 31, 35].

Associated clinical conditions

The c.665C>T variant has been a focus of a great number of studies for different disorders in human. Controversial data on association with various health conditions has been published, for example, susceptibility to thrombosis, atherosclerosis, cardiovascular disease (particularly myocardial infarction), arterial hypertension, dementia, some neoplasms (such as non-small cell lung cancer, colon cancer or acute lymphoblastic leukemia), neural tube defects, cleft (of the soft and hard) palate, Down syndrome, psychiatric disorders (depression, schizophrenia),

неоплазми като недробноклетъчен рак на белия дроб, рак на дебелото черво или остра лимфобластна левкемия, дефекти на невралната тръба, цепки на мекото и твърдото небце, синдром на Даун, психиатрични заболявания (депресия, шизофрения), мигрена с аура, глаукома, прееклампсия, както и повлияване на статуса на метилиране на ДНК. Три химиотерапевтични средства, използвани за лечение на неоплазми, са изследвани в контекста на варианти в MTHFR; при тях алелното състояние на c.665C>T е оказало влияние върху терапевтичния отговор на пациента [36]. Вариантът c.1286A>C се обсъжда и като фактор за предрасположеност към шизофрения [36].

Препоръки

Хиперхомоцистеинемията е често срещано състояние при хората, което силно се влияе от диетични особености, от нивата на някои витамини, както и от възрастта. Установено е, че при индивид с доказана хиперхомоцистеинемия набиране на фолати, витамин B12 и витамин B6 спомагат за бързо нормализиране на метаболитния баланс. В САЩ се прилагат специални програми за обогатяване на някои храни с фолати, като с това е постигнато не само значително редуциране на бременностите с дефект на невралната тръба и някои други вродени аномалии при плода, но и редуциране на смъртността от инсулти [31, 35]

Унаследяването на MTHFR дефицит, свързано с всеки от двата полиморфни варианта (c.665C>T и c.1286A>C) следва автосомно-рецесивен модел.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Венозната тромбоза, най-често изразяваща се като ТДВ и БТЕ, представлява значим фактор в общата заболяемост и смъртност. Често срещани в съвременето рисков фактори за възникване на тромботичен инцидент са хирургични интервенции, интензивно лечение, поставяне на дълготраен венозен катетър, прилагане на хормонозаместителна терапия, дълготрайни пътувания, особено със самолет, както и усложнения на бременността, наличие на малигнени заболявания и други. В последните години беше постигнато много и в разбирането на генетичната предрас-

мигрена с аура, глаукома, пре-еклампсия, as well as effect on the DNA methylation status. The association between the metabolism of three chemotherapeutic agents and different MTHFR variants have been studied; some evidence for an effect of the c.665C>T polymorphism on patient's therapy response has been demonstrated [36]. The c.1286A>C variant was suggested as a susceptibility factor for schizophrenia [36].

Recommendations

Hyperhomocysteinemia is a common condition, significantly affected by dietary intake, vitamins supplementation and age. Studies demonstrate, that confirmed hyperhomocysteinemia, could be rapidly compensated by sufficient folate, vitamin B12 and B6 supplementation. In the USA there are special programs for grain food folic acid fortification, which have not only the long term effect of drastically decreased incidence of fetal neural tube and other fetal congenital birth defects, but also a decline in the stroke mortality [31, 35].

MTHFR deficiency associated with the c.665C>T and c.1286A>C polymorphisms generally follows an autosomal recessive mode of inheritance.

CONCLUSION

Venous thromboembolism (VTE), most frequently manifesting as deep vein thrombosis (DVT) and pulmonary embolism (PE), is an important public health factor, associated with considerable morbidity and mortality. Some of the most common risk factors causing thrombosis at the present time are surgery, intensive care therapy, long term intravenous catheter use, hormone replacement therapy, long term travel (especially air travel), complicated pregnancy, and active malignancy. In the last decades the understanding of the genetic background of thrombophilia has improved significantly. This enabled the

положеност към тромбофилиите. Това от своя страна спомогна за разработване на подходи за скрининг и идентифициране на лица с повишен генетичен риск, както и на профилактика, проследяване и лечение.

application of screening testing for identification of individuals with genetic susceptibility at risk and the establishment of an effective prophylaxis, follow-up and therapy schemes.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. S. Khan and J. D. Dickerman, „Hereditary thrombophilia,“ *Thromb J*, vol. 4, p. 15, Sep 12 2006.
2. A. Dautaj et al., „Hereditary thrombophilia,“ (in eng), *Acta bio-medica: Atenei Parmensis*, vol. 90, no. 10-s, pp. 44-46, Sep 30 2019.
3. T. L. Ortel et al., „American Society of Hematology 2020 guidelines for management of venous thromboembolism: treatment of deep vein thrombosis and pulmonary embolism,“ *Blood Adv*, vol. 4, no. 19, pp. 4693-4738, Oct 13 2020.
4. R. D. Press, K. A. Bauer, J. L. Kujovich, and J. A. Heit, „Clinical Utility of Factor V Leiden (R506Q) Testing for the Diagnosis and Management of Thromboembolic Disorders,“ *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, vol. 126, no. 11, pp. 1304-1318, 2002.
5. A. Tripodi, „Issues concerning the laboratory investigation of inherited thrombophilia,“ (in eng), *Molecular diagnosis: a journal devoted to the understanding of human disease through the clinical application of molecular biology*, vol. 9, no. 4, pp. 181-6, 2005.
6. S2-Leitlinie: Diagnostik und Therapie der Venenthrombose und der Lungenembolie, A. d. W. M. F. e.V. Clinical guidelines, 2020.
7. A. Nguyen, „Prothrombin G20210A polymorphism and thrombophilia,“ (in eng), *Mayo Clinic proceedings*, vol. 75, no. 6, pp. 595-604, Jun 2000.
8. C. Kearon et al., „Antithrombotic Therapy for VTE Disease: CHEST Guideline and Expert Panel Report,“ *CHEST*, vol. 149, no. 2, pp. 315-352, 2016.
9. J. L. Kujovich, „Factor V Leiden Thrombophilia,“ in *GeneReviews((R))*, M. P. Adam et al., Eds. Seattle (WA). Internet: Seattle (WA): University of Washington, Seattle, 1993, last update 2018.
10. S. Zhang et al., „Venous thromboembolism laboratory testing (factor V Leiden and factor II c.*97G>A), 2018 update: a technical standard of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG),“ *Genetics in Medicine*, vol. 20, no. 12, pp. 1489-1498, 2018/12/01 2018.
11. N. Gene. (8-Jul-2021, 19-Jul-2021). F2 coagulation factor II, thrombin [Homo sapiens (human)], Gene ID: 2147 [Online]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?Db=gene&Cmd=DetailsSearch&Term=2147>.
12. N. ClinVar. (2021, 19-Jul-2021). Variation ID 13310, NM_000506.5(F2):c.*97G>A [Online]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/13310/>.
13. J. L. Kujovich, „Prothrombin Thrombophilia,“ in *GeneReviews((R))*, M. P. Adam et al., Eds. Seattle (WA). Internet: University of Washington, Seattle, 2006, Updated 2021.
14. V. De Stefano et al., „Prothrombin G20210A mutant genotype is a risk factor for cerebrovascular ischemic disease in young patients,“ (in eng), *Blood*, vol. 91, no. 10, pp. 3562-5, May 15 1998.
15. J. R. Fiore et al., „Severe systemic thrombosis in a young COVID-19 patient with a rare homozygous prothrombin G20210A mutation,“ (in eng), *Le infezioni in medicina*, vol. 29, no. 2, pp. 259-262, Jun 1 2021.
16. N. Gene. (19-Jul-2021, 19-Jul-2021). SERPINE1 serpin family E member 1 [Homo sapiens (human)], Gene ID: 5054 [Online]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/5054>.
17. C. W. Francis, „Plasminogen activator inhibitor-1 levels and polymorphisms,“ (in eng), *Arch Pathol Lab Med*, vol. 126, no. 11, pp. 1401-4, Nov 2002.
18. R. Seguí et al., „PAI-1 promoter 4G/5G genotype as an additional risk factor for venous thrombosis in subjects with genetic thrombophilic defects,“ (in eng), *British journal of haematology*, vol. 111, no. 1, pp. 122-8, Oct 2000.
19. N. ClinVar. (2021, 21-Jul-2021). Variation ID 13572, NM_000602.5(SERPINE1):c.-820G[(4_5)] [Online]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/13572/>.

20. A. E. Tsantes et al., „Association between the plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G polymorphism and venous thrombosis. A meta-analysis,“ (in eng), *Thrombosis and haemostasis*, vol. 97, no. 6, pp. 907-13, Jun 2007.
21. K. Sundquist et al., „Plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G polymorphism, factor V Leiden, prothrombin mutations and the risk of VTE recurrence,“ (in eng), *Thrombosis and haemostasis*, vol. 114, no. 6, pp. 1156-64, Nov 25 2015.
22. M. T. Sartori et al., „The PAI-1 gene 4G/5G polymorphism and deep vein thrombosis in patients with inherited thrombophilia,“ (in eng), *Clinical and applied thrombosis/hemostasis : official journal of the International Academy of Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*, vol. 9, no. 4, pp. 299-307, Oct 2003.
23. L. M. Lima, M. Carvalho, C. P. Fonseca Neto, J. C. Garcia, and M. O. Sousa, „PAI-1 4G/5G polymorphism and plasma levels association in patients with coronary artery disease,“ (in eng), *Arquivos brasileiros de cardiologia*, vol. 97, no. 6, pp. 462-389, Dec 2011.
24. Z. Liang, W. Jiang, M. Ouyang, and K. Yang, „PAI-1 4G/5G polymorphism and coronary artery disease risk: a meta-analysis,“ (in eng), *International journal of clinical and experimental medicine*, vol. 8, no. 2, pp. 2097-107, 2015.
25. P. Eriksson, B. Kallin, F. M. van 't Hooft, P. Båvenholm, and A. Hamsten, „Allele-specific increase in basal transcription of the plasminogen-activator inhibitor 1 gene is associated with myocardial infarction,“ (in eng), *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 92, no. 6, pp. 1851-5, Mar 14 1995.
26. M. Margaglione et al., „The PAI-1 gene locus 4G/5G polymorphism is associated with a family history of coronary artery disease,“ *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, vol. 18, no. 2, pp. 152-6, Feb 1998.
27. Y. Y. Li, „Plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G gene polymorphism and coronary artery disease in the Chinese Han population: a meta-analysis,“ (in eng), *PloS one*, vol. 7, no. 4, p. e33511, 2012.
28. C. E. Wolf et al., „Recurrent pregnancy loss and its relation to FV Leiden, FII G20210A and polymorphisms of plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor,“ (in eng), *Pathophysiology of haemostasis and thrombosis*, vol. 33, no. 3, pp. 134-7, May-Jun 2003.
29. J. F. Schenk, B. Stephan, S. Zewinger, T. Speer, and G. Pindur, „Comparison of the plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G gene polymorphism in females with venous thromboembolism during pregnancy or spontaneous abortion,“ (in eng), *Clinical hemorheology and microcirculation*, vol. 39, no. 1-4, pp. 329-32, 2008.
30. J. M. Said et al., „The PAI-1 4G/5G polymorphism is not associated with an increased risk of adverse pregnancy outcome in asymptomatic nulliparous women,“ (in eng), *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH*, vol. 10, no. 5, pp. 881-6, May 2012.
31. S. E. Hickey, C. J. Curry, and H. V. Toriello, „ACMG Practice Guideline: lack of evidence for MTHFR polymorphism testing,“ (in eng), *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics*, vol. 15, no. 2, pp. 153-6, Feb 2013.
32. M. den Heijer et al., „Hyperhomocysteinemia as a risk factor for deep-vein thrombosis,“ (in eng), *The New England journal of medicine*, vol. 334, no. 12, pp. 759-62, Mar 21 1996.
33. G. N. Welch and J. Loscalzo, „Homocysteine and atherothrombosis,“ (in eng), *The New England journal of medicine*, vol. 338, no. 15, pp. 1042-50, Apr 9 1998.
34. A. Undas, J. Brozek, and A. Szczeklik, „Homocysteine and thrombosis: from basic science to clinical evidence,“ (in eng), *Thrombosis and haemostasis*, vol. 94, no. 5, pp. 907-15, Nov 2005.
35. S. Brustolin, R. Giugliani, and T. M. Félix, „Genetics of homocysteine metabolism and associated disorders,“ (in eng), *Brazilian journal of medical and biological research = Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas*, vol. 43, no. 1, pp. 1-7, Jan 2010.
36. O. #607093. (07-03-2002, 06-11-2019). 5,10-METHYLENETETRAHYDROFOLATE REDUCTASE; MTHFR OMIM 607093 [Online]. Available: <https://www.omim.org/entry/607093#molecularGenetics>.
37. J. Brezovska-Kavrakova, M. Krstevska, G. Bosilkova, S. Alabakovska, S. Panov, and N. Orovchanec, „Hyperhomocysteinemia and of Methylenetetrahydrofolate Reductase (C677T) Genetic Polymorphism in Patients with Deep Vein Thrombosis,“ (in eng), *Materia socio-medica*, vol. 25, no. 3, pp. 170-4, 2013.
38. S. Ogino and R. B. Wilson, „Genotype and haplotype distributions of MTHFR677C>T and 1298A>C single nucleotide polymorphisms: a meta-analysis,“ (in eng), *Journal of human genetics*, vol. 48, no. 1, pp. 1-7, 2003.
39. H. Zetterberg et al., „Increased frequency of combined methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C mutated alleles in spontaneously aborted embryos,“ (in eng), *European journal of human genetics : EJHG*, vol. 10, no. 2, pp. 113-8, Feb 2002.

ХЕПАРИН ИНДУЦИРАНА ТРОМБОЦИТОПЕНИЯ ПРИ ПАЦИЕНТКА СЛЕД COVID-19 И ДОКАЗАНА ТРОМБОФИЛИЯ

А. Иванова¹, Я. Симова^{1,2,3}, Н. Димитров^{1,2,4}, П. Павлов¹, Й. Котларов¹, Т. Веков^{1,2,3}

¹МБАЛ "Сърце и мозък" – Плевен

²Медицински университет – Плевен

³Български кардиологичен институт

⁴"Сърце и мозък" – Бургас

Резюме. Хепарин индуцираната тромбоцитопения (НИТ) е имунна реакция на организма, провокирана от лечение с нефракциониран хепарин, а в редки случаи и на нискомолекулен хепарин. Състоянието е свързано с образуване на антиген-антитяло комплекс, отговорен за тромбоцитна агрегация и мощно хиперкоагулируемо състояние, водещо едновременно до тромбоцитопения, от една страна, и тежка тромбоза, от друга, продикувана допълнително и от настъпила ендотелна дисфункция. Състоянието е свързано с повишена смъртност, ако не бъде разпознато навреме и не се приложат необходимите мерки. Събития като повтарящи се съдови инциденти, особено в млада възраст, трябва да насочват клинициста към генетична предекспозиция и отхвърляне на тромбофилия. Тежката тромбоцитопения, от друга страна, е в основата на патогенезата на COVID-19, свързана с фатален край при голяма част от пациентите с тежка форма на заболяването. Трите състояния: НИТ, тромбофилия и COVID-19, имат отношение към все още ненапълно разгаданата тромбоцитна каскада и фактори на тромбообразуването. На този етап не съществуват ясни ръководства, които да определят поведението в подобни ситуации. Представяме клиничен случай на пациентка в критично тежко състояние с пореден рецидив на масивна белодробна тромбоемболия (БТЕ) и дълбока венозна тромбоза (ДВТ), при която установихме хепарин индуцирана тромбоцитопения и след проведено генетично изследване бе доказана тромбофилия. Състоянието бе настъпило в ранната фаза на възстановителен период след COVID-19 инфекция, усложнена с двустранна пневмония.

Ключови думи: хепарин индуцирана тромбоцитопения, белодробна тромбоемболия, тромбофилия; дълбока венозна тромбоза, COVID-19

HEPARIN-INDUCED THROMBOCYTOPENIA IN A PATIENT AFTER COVID-19 AND PROVEN THROMBOPHILIA

A. Ivanova¹, I. Simova^{1,2,3}, N. Dimitrov^{1,2,4}, P. Pavlov¹, Y. Kotlarov¹, T. Vekov^{1,2,3}

¹Heart and Brain Center of Clinical Excellence, Pleven – Bulgaria

²Medical University, Pleven – Bulgaria

³Bulgarian Cardiac Institute

⁴Heart and Brain, Burgas – Bulgaria

Abstract. Heparin-induced thrombocytopenia (HIT) is an immune response provoked by treatment with unfractionated heparin and, in rare cases, low molecular weight heparin. The condition is associated with the formation of an antigen-antibody complex responsible for platelet aggregation and a potent hypercoagulable state, leading to both thrombocytopenia on the one hand and severe thrombosis on the other, further dictated by endothelial dysfunction. The condition is associated with increased mortality if not identified in time and the necessary measures are not implemented. Recurrent vascular events, especially at a young age, should direct the clinician to genetic preexposure and rejection of thrombophilia. Severe thrombocytopenia, on the other hand, is part of the pathogenesis of severe fatal COVID-19. The three conditions: HIT, Thrombophilia and COVID-19 are related to the still incompletely understood platelet

cascade and thrombosis factors. At this stage, there are no clear guidelines to determine behavior in such situations. We present a clinical case of a patient in critical condition with another recurrence of massive pulmonary thromboembolism (PE) and deep vein thrombosis (DVT), in which heparin-induced thrombocytopenia was detected and thrombophilia was demonstrated after genetic testing. The condition had occurred in the early phase of the recovery period after COVID-19 infection complicated by bilateral pneumonia.

Key words: heparin induced thrombocytopenia, pulmonary thromboembolism, thrombophilia, deep venous thrombosis, COVID-19

ВЪВЕДЕНИЕ

Лечението с хепарин или с негови производни се прилага често при пациенти в кардиологични и реанимационни отделения. По данни на регистри средната честота на пациентите, при които се налага подобна терапия, са около 12 млн. индивиди годишно за САЩ, откъдето може да се предвиди, че това са около 1/3 от хоспитализираните пациенти в интензивни отделения [1].

През последните близо две години употребата на нискомолекулни и нефракционирани хепарини нараства още повече поради настъпилата пандемия от COVID-19. SARS-COV 2 и патогенетичните механизми за ролята му върху повишена вътресъдова коагулопатия и риск от тромбози е една от причините за широката употребата във световен мащаб на i.v. и субкутанни антикоагуланти, като все още резултатите от подобен тип лечение при COVID-19 болните са противоречиви и са в процес на допълнителни проучвания.

Въпреки огромните ползи от незаменяемите за клиничната практика медикаменти като хепарин и негови производни, рискът от кървене, както и провокирането на имунни реакции като „хепарин индуцирана тромбозитопения“ (HIT), са състояния, за които клиничния лекар не бива да забравя.

Индуцираната от хепарин тромбозитопения е потенциално смъртоносно, имунологично предизвикано усложнение на нефракционирана терапия с хепарин и в по-малка степен на хепарин с ниско молекулно тегло [2]. Понижението на тромбоцитите е повече от 50% и обикновено настъпва от 5 до 10 дни след излагане на лечение с молекулата. Патогенезата на състоянието се продукува от протеина PF4-platelet

INTRODUCTION

Treatment with Heparin or its derivatives is often used in patients in the cardiology and intensive care units. According to registries, the average incidence of patients requiring such therapy is about 12 million individuals per year for the United States, from which it can be estimated that this is about 1/3 of hospitalized patients in intensive care units [1].

In the last two years, the use of low molecular weight and unfractionated heparins has increased even more due to the pandemic of COVID-19. SARS-COV 2 and the pathogenetic mechanisms of its role in increased intravascular coagulopathy and risk of thrombosis is one of the reasons for the widespread use of IV and subcutaneous anticoagulants worldwide, and the results of this type of treatment in COVID-19 patients are still contradictory and are in the process of further research.

Despite the enormous benefits of essential drugs such as heparin and its derivatives, the risk of bleeding that causes as well as provoking immune reactions such as „heparin-induced thrombocytopenia“ (HIT) are conditions that the clinician should not forget.

Heparin-induced thrombocytopenia is a potentially fatal, immunologically induced complication of unfractionated heparin therapy and, to a lesser extent, low molecular weight heparin [2]. Platelet depletion is more than 50% and usually occurs 5 to 10 days after exposure to the molecule. The pathogenesis of the condition is dictated by the protein PF4-platelet factor 4, which is located on the

factor 4 (тромбоцитен фактор 4), който е разположен на тромбоцитната повърхност. Той се свързва с хепарина и води до трансформацията в имуногенен комплекс, предизвикващ повишено производство на антитела (най-често IgG). IgG антителата, свързвайки се с комплексите хепарин/PF4, са причина за активиране на тромбоцитите. Тромбоцитното активиране генерира протромботични частици, които предизвикват мощно хиперкоагулируемо състояние, отключват тромбоцитната каскада и индуцират едновременно тромбоцитопения, от една страна, и тежка тромбоза, от друга [3]. Комплексът антиген-антитяло може да се свърже с моноцити, което да доведе до ендотелно увреждане.

Основните критерии за поставяне на диагноза HIT са няколко:

- 1) понижаване броя на тромбоцитите поне с 50% от изходните;
- 2) времевият прозорец между приложението на хепарин обикновено на 5-10 ден след приложението и поява на тромбоцитопения;
- 3) доказани тромбози;
- 4) изключване на други възможни причини, които да обяснят тромбоцитопенията [4, 5].

През 2003 г. е въведена точкова система, с която може да се подозира HIT преди назначаване и изчакване на лабораторния резултат или провеждане на имунологично изследване. Прогнозиране на вероятността от HIT може да се определи по точкова система, от т.нар. **4Ts Score for Heparin-Induced Thrombocytopenia** „4 Ts“, който генерира резултат от 0-8 точки; ако резултатът е 0-3 т., HIT е малко вероятно. Резултат 4-5 т. показва междинна вероятност, докато резултат 6-8 т. – много вероятно наличие на HIT. Съществува под формата на онлайн калкулатор в MD calc, като точковата система се определя от основните критерии за поставяне на диагнозата, описани по-горе [6].

Известни са два основни типа HIT. **Тип I** води до преходен спад в броя на тромбоцитите по време на първоначалната експозиция на хепарин. Това състояние не е имуномедицирано, не води до образуване на антитела и не съществува значим риск за пациента. Причина за това е директният ефект върху тромбоцитите. **Тип II** е с по-голямо клинично

platelet surface. It binds to heparin and leads to the transformation into an immunogenic complex that causes increased production of antibodies (most often IgG). IgG antibodies binding to heparin/PF4 complexes cause platelet activation. Platelet activation generates prothrombotic particles that cause a potent hypercoagulable state, trigger the platelet cascade, and induce both thrombocytopenia on the one hand and severe thrombosis on the other [3]. An antigen-antibody complex can bind to monocytes, leading to endothelial damage.

The main criteria for the diagnosis of HIT are several:

- 1) a decrease in platelet count by at least 50% of baseline;
- 2) the time window between the administration of heparin usually 5-10 days after administration and the occurrence of thrombocytopenia;
- 3) proven thrombosis;
- 4) exclusion to other possible causes that explain thrombocytopenia [4, 5].

In 2003 a point system has been introduced with which HIT can be suspected, before appointing and waiting for the laboratory result or conducting an immunological test. Prediction of the probability of HIT can be determined by a point system, from the so-called. **4Ts Score for Heparin-Induced Thrombocytopenia** „4 Ts“, which generates a score of 0–8 points; if the result is 0-3 points, HIT is unlikely. Result 4-5 points. shows an intermediate probability, while the result is 6-8 points. very likely presence of HIT. It exists in the form of an online calculator in MD calc, the scoring system being determined by the basic criteria for diagnosis described above [6].

Two main types of HIT are known. **Type I**: results in a transient decrease in platelet count during initial heparin exposure, this condition is not immunomediated, does not result in antibody formation, and there is no significant risk to the patient. The reason for this is the direct effect on platelets. **Type II** is of greater clinical importance, namely the

значение. Именно при него се касае за класическата патогенеза на тежка тромбocитопения, съчетана с тромбози (БТЕ, миокарден инфаркт, ДВТ). Той е свързан с медиране на имунна реакция.

Около 20% от случаите на диагностициран HIT могат да завършат летално [4]. Състоянието се наблюдава по-често при женския пол, като честотата е 1:5000 болни лекувани с хепарин и по-характерно след големи операции (ортопедични, кардиохирургични и др.). Не е ясна генезата на тежката тромбocитопения, която настъпва при болни с COVID-19, но тя често се сравнява с механизма на тромбocитопения, предизвикана от хепарин. Ранното разпознаване на състоянието е от изключително важно значение за благоприятния изход в подобна ситуация.

КЛИНИЧЕН СЛУЧАЙ

Представяме клиничен случай на 62-годишна пациентка, постъпила в критично тежко общо състояние, с данни за пореден (втори) рецидив на масивна белодробна тромбоемболия (БТЕ) в разстояние на 15 дни. При постъпването в нашата клиника пациентката се презентира с клиничната картина на дистрибутивен шок с олигоанурия, високи стойности на креатинин (436.0 mmol/l); екстремно ниски тромбocити – $11 \times 10^9/L$; D-димер – максимална стойност (незасичаща се).

Клинична картина

Оплаквания от остро настъпил задух, умора при минимални усилия, неголяващи се стойности на АН, които са повод пациентката да бъде транспортирана чрез реанимобил за спешна хоспитализация. Симптоматиката е с нов тласък и се проявява след проведена системна фибринолиза на 22.03.2021 г. в друга клиника във връзка с двустранна масивна БТЕ. Поради анемичен синдром, болната е оставена след дехоспитализацията на 30.03.21 г. на лечение с фраксипарин 2 x 0,6 ml, който е поставян редовно в продължение на 8 дни.

Придружаващи заболявания

1. Дълбока венозна тромбоза на десен голем крайник – установена на 22.03.2021 г.

classical pathogenesis of severe thrombocytopenia combined with thrombosis (BTE, myocardial infarction, DVT), associated with mediating an immune response.

About 20% of diagnosed HIT cases can be fatal [4]. The condition is more common in females, with a frequency of 1:5000 patients treated with Heparin and more typically after major surgeries (orthopedic, cardiac surgery, etc.). The genesis of severe thrombocytopenia that occurs in patients with COVID-19 is unclear, but it is often compared to the mechanism of heparin-induced thrombocytopenia. Early detection of the condition is extremely important for a favorable outcome in such a situation.

CLINICAL CASE

We present a clinical case of a 62-year-old woman, admitted in a critically severe general condition with data for another (second) recurrence of massive pulmonary thromboembolism (BTE) within 15 days. Upon admission to our clinic, the patient is presented with the clinical picture of distributive shock with oligo-anuria, high values of Creatinine (436.0 mmol/l); extremely low platelets – $11 \times 10^9/L$; D-dimer – maximum value (undetectable).

Clinical picture

Complaints of acute shortness of breath, fatigue with minimal effort, undetectable values of blood pressure, which are the reason for the patient to be transported by ambulance for emergency hospitalization. The symptoms have a new impetus and appear after a systemic fibrinolysis on March 22, 2021. in another clinic, in connection with bilateral massive PE. Due to anemic syndrome, the patient was left after discharge on 30.03.21. of treatment with Fraxiparin 2 x 0.6 ml. which is placed regularly for 8 days.

Concomitant diseases

1. Deep venous thrombosis of the right lower limb – established on March 22, 2021.

2. Състояние след ДВТ на ляв долен крайник – 2014 г. (за 6 месеца тогава е приемала антагонист на витамин К – синтром).

3. Захарен диабет тип 2 – неизчерпани инсулинови резерви.

4. Артериална хипертония II степен.

5. Обезитет II ст.

6. COVID-19 – 15.03.2021 г. на домашно лечение, лекувана с двойна антибиотична терапия, витамини и симптоматични медикаменти.

При постъпването пациентката заема принудително положение в леглото. Тя е в тежко общо състояние. Ориентирана е за време, място и самоличност. Кожата ѝ е с намален тургор, бледа, потна и с множество суфузии. Наблюдават се цианотични лигавици и застошни шийни вени. При физикалното изследване на дихателната система е с данни за симетричен гръден кош, двете гръдни половици вземат еднакво участие в дишането. Установен е сонорен перкуторен тон. Аускултаторно – с везикуларно дишане, гребни влажни хрипове двустранно. С тахиритмична сърдечна дейност (сърдечна честота – 112 уд./min), приглушени сърдечни тонове, холосистолен шум на Боткин-Ерб 3/6 ст. С тежка хипотония, с измерено артериално налягане с маншет на Рива-Рочи – 50/30 mm Hg. Без шумове на реналната и каротидната област. При палпация абдомена е мек, над нивото на гръдния кош, неболезнен, вземаше участие в дишането. Черният гроб се палпира леко увеличен – 3 cm под ребрената гъга. Слезката не се палпира увеличена. Сукусио реналис е двустранно отрицателно. Крайниците са с асиметрични отоци, видимо поздравени на дясната подбедрица, с отслабени пулсации на периферните артерии, дистално.

От направената 12-каналната ЕКГ (фиг. 1) има данни за синусова тахикардия, СЧ е 112 уд./min, S1Q3T3, конкавна ST-елевация V1-4 с отрицателни T-вълни – 2 mm, нДББ (QRS 133 ms).

Проведена е рентгенография на белия гроб, от която са установени петнистоувичести засенчвания, на места с набелязана въздушна бронхограма. Хилусните сенки се представят разширени и уплътнени. Има нормален строеж и конвекситет на диафрагмалните куполи. Обективизират се рентгенографски критерии за двустранна пневмония в процес на резорбция. Поради тежкото общо състояние образното изследване е с Кугел до леглото на болната (фиг. 2).

2. Condition after DVT of the left lower limb – 2014 (for 6 months then she was taking a vitamin K antagonist).

3. Diabetes mellitus Type 2 – p.os therapy.

4. Arterial hypertension II degree.

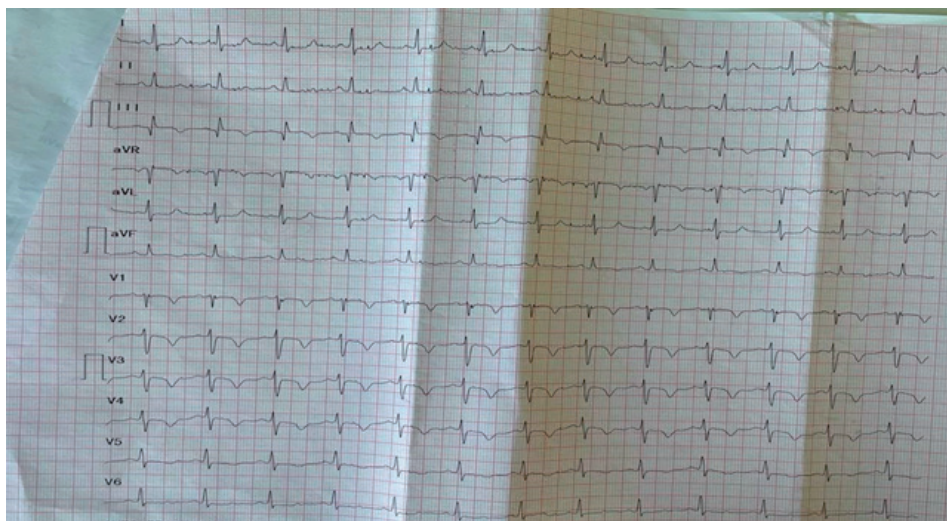
5. Obesitas II st.

6. COVID-19 – 15.03.2021 home treatment treated with dual antibiotic therapy, vitamins and symptomatic medications.

Upon admission, the patient was forced to lie in bed. He was in serious general condition. Oriented for time, place and identity. Her skin was low in turgor, pale, sweaty, and with many suffusions. Cyanotic mucous membranes and congestive jugular veins. In the physical examination of the respiratory system there were data for a symmetrical chest, both thoracic halves took equal part in breathing. Sonorous percussion tone. Auscultatory with vesicular respiration, small moist wheezing bilaterally. With tachyrrhythmic heart activity, (heart rate – 112 beats/min), muffled heart tones, holosystolic murmur of Botkin-Erb 3/6 st. With severe hypotension with measured blood pressure with Riva-Rocci cuff – 50/30 mm Hg. No noise of renal and carotid area. On palpation, the abdomen was soft, above chest level, painless, involved in breathing. The liver is palpated slightly enlarged – 3 cm below the costal arch. The spleen was not palpated enlarged. Succusio renalis was bilaterally negative. The limbs had asymmetrical swellings, visibly more pronounced on the right lower leg with weakened pulsations of the peripheral arteries distally.

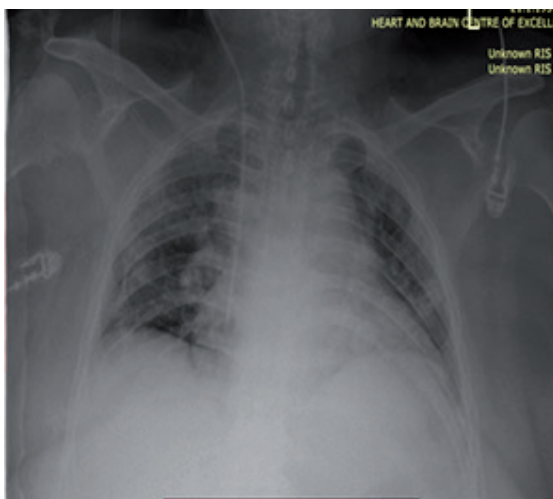
From the 12-channel ECG, which was performed (Figure 1) with data for Sinus tachycardia, HR 112 min, S1Q3T3, concave ST – elevation V1-4 with negative T waves – 2 mm, incomplete Right Bundle Branch Block (RBBB) (QRS 133 ms).

An X-ray of the lungs was performed, which revealed spotted shadows in places with a marked air bronchogram. The hilus shadows were enlarged and condensed. Normal standing and convexity of the diaphragmatic domes. X-ray criteria for bilateral resorption pneumonia were objectified. Due to the severe general condition, the imaging examination was with Kugel next to the patient's bed (Figure 2).



Фиг. 1. 12-каналната ЕКГ, направена на пациентката при постъпване в клиниката

Fig. 1. 12-channel ECG performed on the patient on admission to the clinic



Фиг. 2. Рентгенография с Кугел на сърце-бял гроб

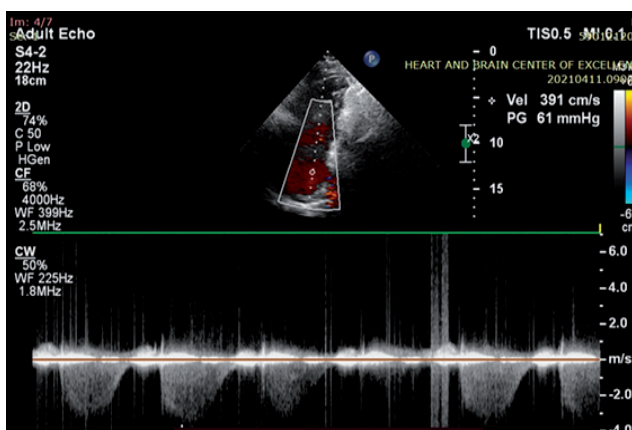
Fig. 2. X-ray with Kugel of the pulmo et cor

От проведените лабораторни изследвания се вижда, че пациентката е с екстремно тежка тромбоцитопения (PLT – $11.0 \times 10^9/L$), с незасичащи се максимални стойности на D-димер, леко завишени маркери за миокардна увреда (тропонин T hs – 0.095; креатин киназа (СК) – 129.0; СК-MB – 68.6). Налице са умерена по степен левкоцитоза и умерен анемичен синдром (WBC – 14.08 g/L; HGB – 96.0 g/L). Болната е с остра бъбречна увреда – ниска гломерулна филтрация (GFR – СКD EPI формула – 9 mL/min/1.73 m²) и данни за остра азотемия – креатинин – 436.0 mmol/l, хиперкалиемия (калий – 6.32 mmol/L) и хиперглицемия – глюкоза – 22.22 mmol/l.

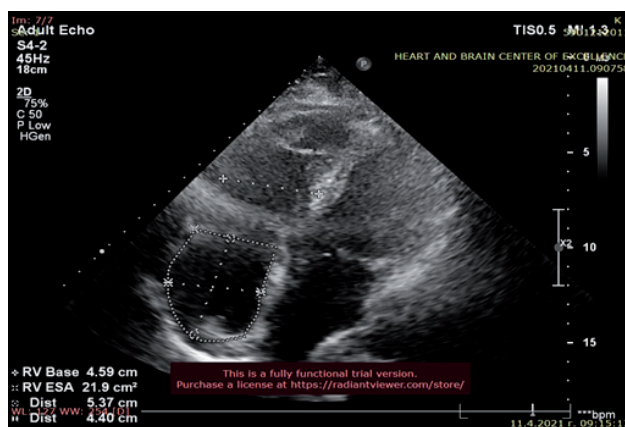
From the performed laboratory tests, the patient had extremely severe thrombocytopenia (PLT – $11.0 \times 10^9/L$) with undetectable maximum values of D-dimer, slightly elevated markers of myocardial damage (troponin T hs – 0.095; creatine kinase (CK) – 129.0; CK-MB – 68.6;). With moderate leukocytosis and moderate anemic syndrome (WBC – 14.08 g/L; HGB – 96.0 g/L). With acute renal impairment – low glomerular filtration (GFR – CKD EPI formula – 9 mL/min/1.73 m²) and data on acute azotemia – Creatinine – 436.0 mmol/l, Hyperkalemia (Potassium – 6.32mmol/L) and hyperglycemia – Glucose – 22.22 mmol/l.

Осъществената ехокардиография насочва към възможен нов рецидив на белодробна тромбоемболия като работна диагноза, поради екстремно дилатираните десни кухини, с намалена деснокамерна систолна функция (RV FAC = 21.2%). Визуализират се високостепенни трикуспидална регургитация и пулмонална хипертония, като измереното налягане в а.pulmonalis в покой е 61 mmHg. Има ехокардиографски белези на Массонелл (фиг. 3, 4, 5). Лявата камера е с леко намалена систолна функция.

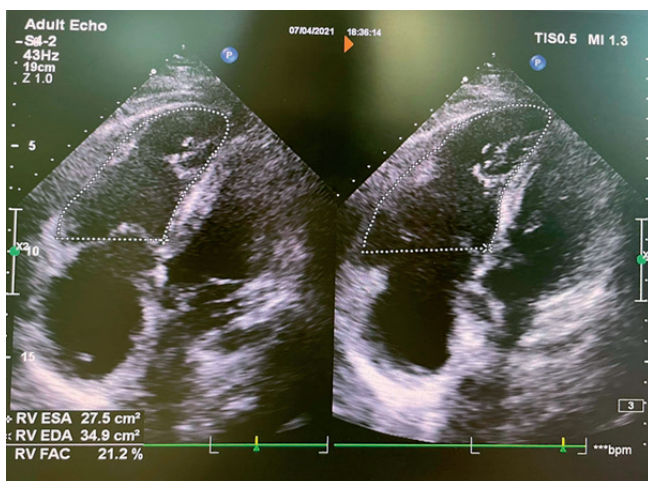
Echocardiography indicated a possible new recurrence of pulmonary thromboembolism as a working diagnosis due to extremely dilated right cavities with reduced right ventricular systolic function (RV FAC = 21.2%). High-grade tricuspid regurgitation and high-grade pulmonary hypertension were visualized, and the measured A.pulmonalis pressure at rest was 61 mm Hg. With echocardiographic signs of Massonell (Figures 3, 4, 5). The left ventricle had a slightly reduced systolic function.



Фиг. 3. Повишено налягане в покой в а.pulmonalis
Fig. 3. Increased resting pressure in A. pulmonalis



Фиг. 4. Дилатиран десни сърдечни кухини
Fig. 4. Dilated right heart



Фиг. 5. Намалена фракция на изтласкване на десната камера
Fig. 5. Reduced right ventricular ejection fraction

Проведохме компютърна томография на белите дробове с пулмоангиография, която потвърди данните за двустранна (поредна) белодробна тромбоемболия на лобарно и сегментно ниво (фиг. 6). Като допълнителна находка се ви-

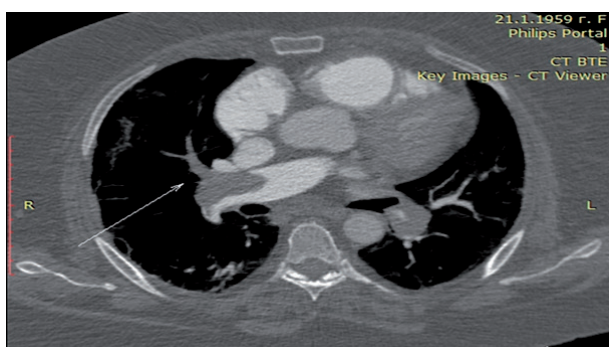
We performed computed tomography of the lungs with pulmonary angiography, which confirmed the data for bilateral (recurrent) pulmonary thromboembolism at the lobar and segmental level (Figure 6). As an additional finding, significant interstitial changes in

зуализират значителни интерстициални промени в белодробния паренхим, характерни за късна фиброзна фаза на COVID-19 пневмония (фиг. 7, 8).

Според насоките в настоящите препоръки от 2019 г. на Европейското гружество по кардиология за диагностика и лечение на острия белодробен емболизъм, разработено в колаборация с Европейското респираторно гружество [7], пациентката е оценена с висок риск поради данни от образните изследвания за тежка деснокамерна дисфункция, хемодинамична нестабилност, неповлияваща се от високи дози катехоламинова поддръжка. Изчислен е PESI (индекс за тежест на белодробния емболизъм), който е 134 точки, т.е. Class V, означаващ много висок риск: 10.0-24.5% 30-дневна смъртност в тази група.

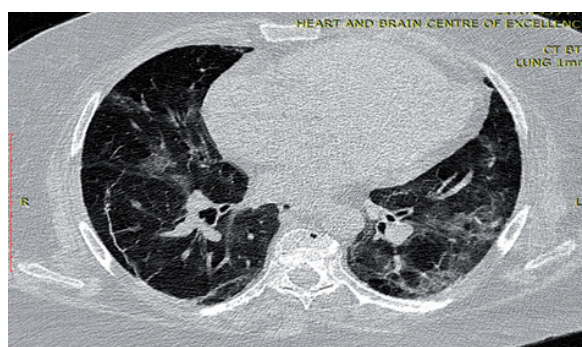
the lung parenchyma were observed, characteristic of the late fibrous phase of COVID-19-pneumonia (Figures 7, 8).

According to the guidelines of the current recommendations from 2019. of the European Society of Cardiology for the diagnosis and treatment of acute pulmonary embolism, developed in collaboration with the European Respiratory Society [7], the patient was evaluated at high risk due to data from imaging studies of severe right ventricular dysfunction, hemodynamic instability unaffected by high support. PESI (pulmonary embolism severity index) was calculated, which was 134 points, ie. Class V, meaning very high risk: 10.0-24.5% 30-day mortality in this group.



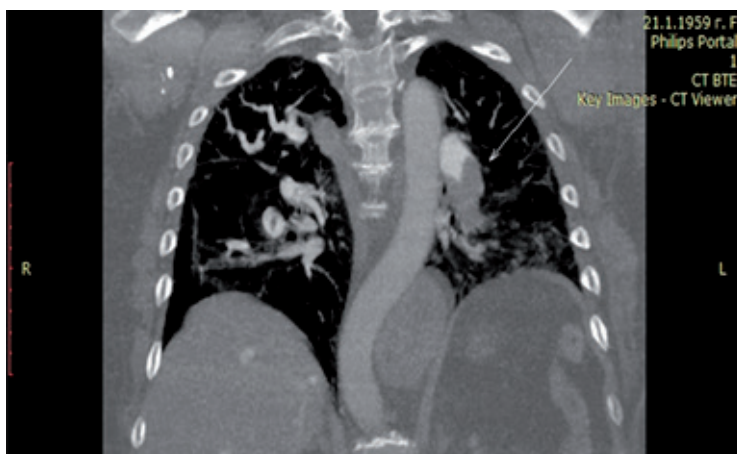
Фиг. 6. КТ на бял гроб, визуализиращ БТЕ

Fig. 6. CT scan of the lung visualizing Pulmonary embolism



Фиг. 7. КТ на бял гроб: късна фиброзна фаза на COVID-19 пневмония

Fig. 7. CT of the lung: late fibrous phase of COVID-19 pneumonia



Фиг. 8. КТ на бял гроб на същата пациентка

Fig. 8. CT scan of the lung of the same patient

След обсъждане със сърдечен тим, е взето решение за провеждане на дясна сърдечна катетеризация, като по витални индикации е проведена локална фибринолиза и перкутанно катетърно лечение (фиг. 9).

След проведеното инвазивно лечение при пациентката има хемодинамично подобрение, но все още персистират данните за тежка тромбоцитопения и остра бъбречна недостатъчност, с повишени азотни показатели и намалена гломерулна филтрация, налагащи хемодиализация.

Червените флагове в конкретния клиничен случай за: 1) естремно ниски тромбоцити при нашата пациентка; 2) влошената бъбречна функция; 3) повтарящи се тромботични инциденти за кратък период от време, които се предхождат от 4) продължителна терапия с нефракциониран и нискомолекулен хепарин, са насочващи за HIT. При изчислен „4 Ts“, резултатът е 6 точки (64% възможен HIT), при което е изпратена венозна кръв за лабораторна верификация (функционален тест с активация на тромбоцити), която да потвърди наличието на хепарин индуцирана тромбоцитопения. Лабораторният показател на пациентката е висок 2.23 U/ml (при референтни стойности на лабораторията 0.0-1.0).

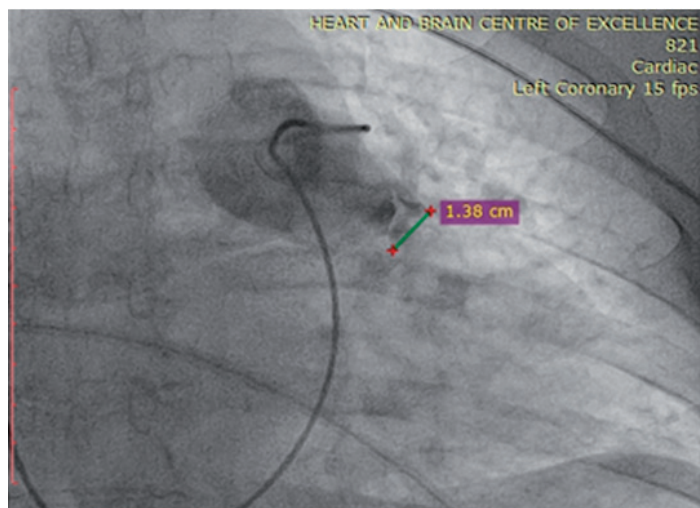
След спиране на лечението с хепарин при пациентката настъпва овладяване на състоянието с подобряване на общия брой тромбоцити до референтни стойности, както и подобрение във бъбречната функция. След достигнат брой на тромбоцити и креатининов клирънс > 35 ml/

After discussion with the cardiac team, a decision was made to perform right cardiac catheterization, and according to vital indications, local fibrinolysis and percutaneous catheter treatment were performed (Figure 9).

After invasive treatment, the patient had haemodynamic improvement, but there was still evidence of severe thrombocytopenia and acute renal failure with elevated nitrogen levels and decreased glomerular filtration, requiring hemodiafiltration.

The red flags in our clinical case for 1. Extremely low platelets in our patient; 2. Impaired renal function; 3. Recurrent thrombotic events for a short period of time, preceded by 4. Long-term therapy with unfractionated and low molecular weight heparin, were the target for HIT. When calculating „4 Ts“, the result was 6 points (64% possible HIT), in which venous blood was sent for laboratory verification (platelet-activated functional test), which confirmed the presence of Heparin-induced thrombocytopenia, the patient's laboratory score was high 2.23 U/ml (laboratory reference values 0.0-1.0).

After stopping Heparin treatment, the patient was controlled with an improvement in total platelet counts to reference values, as well as an improvement in renal function. When platelet count and Creatinine



Фиг. 9. Локална фибринолиза по време на дясна сърдечна катетеризация

Fig. 9. Local fibrinolysis during right cardiac catheterization

min при пациентката е стартирана терапия с Dabigatran Etexilat 2 x 150 mg/гн.

Междувременно са проведени и генетични изследвания за тромбофилия с оглед на честите рецидиви на ДВТ и БТЕ. От тези изследвания се верифицират: mutation PAI-1-4G/5G – хомозиготен по мутацията 4G/4G, както и хетерозиготен носител на мутацията (A/C) за MTHFR-Mutation A1298C и хетерозиготен носител на мутацията (C/T) MTHFR-Mutation C677T.

От установените мутации от значение в конкретния клиничен случай са данните за хомозиготен носителство по мутантния алел на 4G/4G мутация. Известно е, че носители на две копия с молекулен дефект имат повишено предразположение към артериални тромбози и сърдечно-съдови заболявания, особено в комбинация с други рискови фактори за тромбоза.

Към днешна дата пациентката е проследена неколккратно. В отлично общо състояние, с подобрен хематологичен статус, нормална бъбречна функция и без данни за намален физически капацитет при липса на ехокардиографски критерии за тежко деснокамерно обременяване, тя се върна към обичайния си начин на живот.

На контролния преглед е установено, че персистира синусова тахикардия, поради което се титрира дозата на бета-блокера (метопролол сулцинат), заедно с комбинация с ивабрадин 7,5 mg 2 x 1 табл.

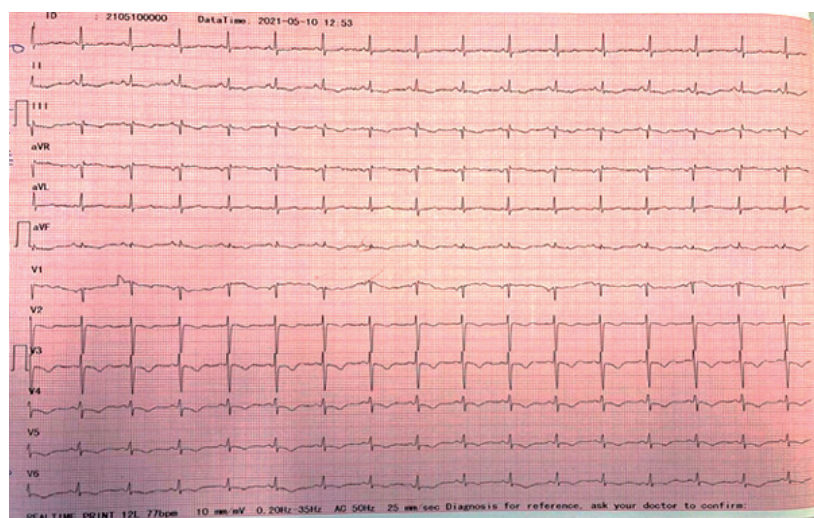
clearance > 35 ml min. in the patient we started Dabigatran Etexilat 2 x 150 mg per day.

We also performed genetic studies for Thrombophilia in view of the frequent recurrences of DVT and BTE, which verified: Mutation PAI-1-4G/5G – homozygous for the 4G/4G mutation, as well as a heterozygous mutation (A/C) for MTHFR- Mutation A1298C and MTHFR-Mutation C677T Heterozygous Mutation (C/T).

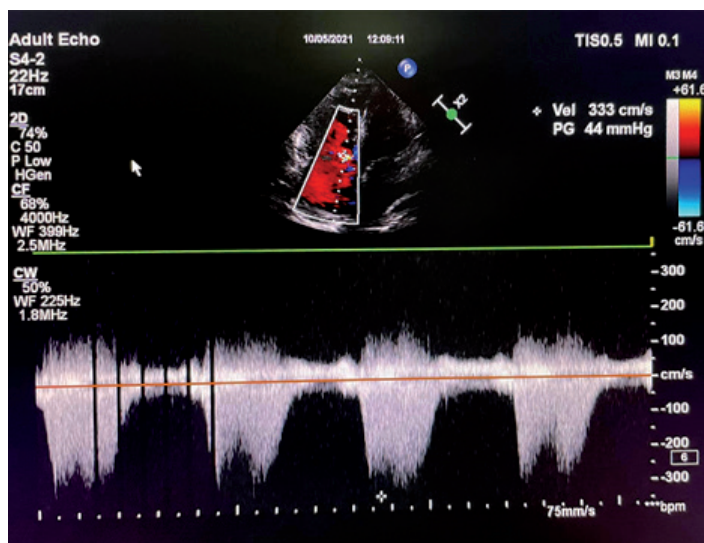
Of the mutations found, the data on the homozygous carrier along the mutant allele of the 4G/4G mutation were relevant in the specific clinical case. Carriers of two copies with a molecular defect are known to have an increased susceptibility to arterial thrombosis and cardiovascular disease, especially in combination with other risk factors for thrombosis.

To date, the patient has been followed several times. In excellent general condition with improved haematological status, normal renal function, and no evidence of reduced physical capacity in the absence of echocardiographic criteria for severe right ventricular loading, she returned to her normal lifestyle.

Sinus tachycardia persisted, which is why we titrated the dose of the beta-blocker (Metoprolol succinate) together with the combination with Ivabradine 7.5 mg 2 x 1 tablets.



Фиг. 10. 12-канална ЕКГ на контролен преглед – позитивна промяна в реполяризацияните промени по ПСЛК
Fig. 10. 12-channel ECG of control examination: positive sign in repolarization changes in the anterior wall of the left ventricle



Фиг. 11. Контролна ехокардиография, показваща спадане на налягането в а. пулмоналис

Fig. 11. Control echocardiography showing reduction pressure in A. pulmonalis

ОБСЪЖДАНЕ

По литературни данни при установяване на HIT незабавно трябва да се прекрати лечението с медикамента, предизвикващ имунното състояние (хепарин, а в редки случаи и надропарин), като включително и използването на хепарин за промивка на централни венозни пътища, артериални катетри, катетри за хемодиализа, екстракорпорална мембранна оксигенация (ЕСМО) трябва да бъде прекратено. Антикоагуланти, които намират приложение като продължаване на терапията при доказан HIT, са Danaparoid, Lepirudin, Argatroban, Bivalirudin, като последният намира приложение при интервенционални процедури, най-често транскатетърни имплантации на клапи и по-специално аортна клапа (TAVI) при пациенти с тежка тромбоцитопения. В България нито един от изброените не е достъпен за употреба [3, 9, 10].

През последните няколко години в различни студии се споменава за използване като възможен аналог на фондопаринокс (Ариксстра), но все още няма достатъчно натрупани данни за ефекта от приложението поради липса на големи клинични проучвания [11]. Фондопаринукс е синтетичен антикоагулант, базиран на пентазахаридната последователност, която съставлява минималната антитромбинова (АТ) свързваща област на хепарин. Подобно на хепарините с ниско молекулно тегло, той е индиректен инхибитор на фактор Ха, но изобщо не инхибира тромбина. Фондопаринукс има по-дълъг полуживот от хепарина и не взаимодейства с тромбоцитите.

DISCUSSION

According to the literature, if HIT is diagnosed, treatment with the immune-inducing drug (Heparin and, in rare cases, Nadroparin) should be discontinued immediately, including the use of Heparin for central venous lavage, arterial catheters, catheters. for hemodialysis, extracorporeal membrane oxygenation (ECMO) should be discontinued. Anticoagulants that are used as a continuation of therapy in proven HIT are Danaparoid, Lepirudin, Argatroban, Bivalirudin, the latter being used in interventional procedures, most often transcatheter valve implants and especially the aortic valve (TAVI) in patients with severe thrombocytopenia. In Bulgaria, none of these is available for use [3, 9, 10].

In the last few years, various studies have mentioned the use of Fondaparinux (Arixtra) as an analogue, but there is still insufficient data on the effect of the application due to the lack of large clinical trials [11]. Fondaparinux is a synthetic anticoagulant based on the pentasaccharide sequence, which constitutes the minimal antithrombin (AT) binding region of heparin. Like low molecular weight heparins, it is an indirect inhibitor of factor Xa but does not inhibit thrombin at all. Fondaparinux has a longer half-life than heparin and does not interact with platelets.

При пациенти с тежка БТЕ и хепарин индуцирана тромбоцитопения ръководствата за лечение препоръчват, че може да се обмисли хирургична тромбоемболектомия или фибринолиза (системна или локална тромболиза), като допълнително лечение към алтернативна парентерална антикоагулация [3].

При пациенти в критично състояние, които не подлежат на медикаментозна терапия, приложението на плазмен обмен (PLEX) е алтернативна стратегия за лечение, както и преливането на тромбоцитен концентрат [3, 5, 6]. Някои доклади описват ползата от приложението на интравенозен имуноглобулин.

Използването на вена кава филтри при ганни за дълбока венозна тромбоза и HIT не се препоръчва поради описани случаи на влошаване на тромботичните проблеми в редица случаи [3, 10].

Съществува дилема и по отношение застъпване с пероралния антикоагулант след стабилизиране на остро състояние. По ганни на Европейското дружество по Кардиология при пациенти при които се налага стартиране на антикоагулант, лечението с НОАК трябва да започне при липса на тежка тромбоцитопения (тромбоцити повече от 50) [8].

В литературата са описани случаи с употреба на антагонист на витамин К – варфарин, като използван антикоагулант, но за съжаление очаквано усложнение може да бъде гангрена на крайници и некроза на кожата. Отчасти това се дължи на по-ранното инхибиране на протеини С и фактор VII в сравнение с другите фактори, зависими от витамин К (II, IX, X) [9, 10].

След спиране на лечението с хепарин в нашия случай настъпи овладяване на състоянието, с подобряване на общия брой тромбоцити до референтни стойности, както и подобрене в бъбречната функция. За стабилизиране на състоянието и излизане от шока отношение има и проведеното интервенционално лечение. След достигнат брой на тромбоцити и креатининов клирънс > 35 ml/min при пациентката е стартирано лечение с Dabigatran Etextilat 2 x 150 mg/гн. Изборът на НОАК все още е „off label“ в подобни ситуации. Нашето решение при избора за конкретната молекула е прогиктувано от факта, че

In patients with severe PE and Heparin-induced thrombocytopenia, treatment guidelines recommend that surgical thromboembolectomy or fibrinolysis (systemic or local thrombolysis) may be considered as adjunctive therapy to alternative parenteral anticoagulation [3].

In critically ill patients who are not amenable to drug therapy, administration of Plasma Exchange (PLEX) is an alternative treatment strategy as well as platelet concentrate transfusion [3, 5, 6]. Some reports describe the benefit of administering intravenous immunoglobulin.

The use of vena cava filters in evidence of deep vein thrombosis and HIT is not recommended due to the reported cases of exacerbation of thrombotic problems in a number of cases [3, 10].

There is also a dilemma regarding the overlap with the oral anticoagulant after stabilization of the acute condition. According to the European Society of Cardiology, in patients who require the initiation of an anticoagulant, treatment with PLA should be initiated in the absence of severe thrombocytopenia (platelets greater than 50) [8].

In the literature, have been reported cases of vitamin K antagonist- warfarin use as an anticoagulant but unfortunately an expected complication may be limb gangrene and skin necrosis. This is partly due to the earlier inhibition of protein C and factor VII compared to other vitamin K-dependent factors (II, IX, X) [9, 10].

After stopping Heparin treatment in our case, the condition was controlled by improving the total platelet count to reference values, as well as improving renal function. Interventional treatment was also involved in stabilizing the condition and overcoming the shock.

When platelet counts reached > 50 and Creatinine clearance > 35 ml. Min. in the patient we started Dabigatran Etextilat 2 x 150 mg.dn. The choice of PLA is still „off label“ in such situations. Our decision in choosing the specific molecule was dictated that the latter is a direct thrombin inhibitor and that we have an antidote available – Idarucizumab.

тя е директен тромбинов инхибитор, както и че разполагаме с наличен антигот – Idarucizumab.

Все още медицината не разполага с точни и ясни данни относно избора на перорален антикоагулант при пациенти с подобен тип нарушения.

Именно адитивният ефект – наличие на две големи причини за повишено тромбообразуване – преболедуван COVID-19 и доказана тромбофилия, са допълнителен пусков механизъм довел до критично тежкото състояние при нашата пациентка.

Доказването на тромбофилия в случая и повтарящите се тромботични инциденти предопределят приемът на НОАК да бъде за неопределен период (вероятно доживотен) при липса на данни за масивно кървене.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В подобни състояния, като нарушения в каскадата на тромбообразуването и задействане на имунни реакции и механизми, голяма част от тях все още непознати на медицината, лекарите и пациентът изпадат в „порочен кръг“, при който всяко решение и последващи назначения са от ключово значение. Състояния като HIT и тромбофилия не са толкова чести, но оставят запомнящи следи за всеки лекар, сблъскал се с тях. Ролята на COVID-19 и връзката му с тромбоцитопения и повишен тромботичен риск все още остават загадка за науката.

Цитирането на подобни случаи е от важно значение за подобряване и обогатяване на медицинския алгоритъм.

Medicine still does not have accurate and clear data on the choice of oral anticoagulant in patients with this type of disorder.

It was the additive effect – the presence of two major causes of increased thrombosis, suffering from COVID-19 and proven thrombophilia, that were an additional trigger mechanism that led to the critically severe condition of our patient.

Proof of thrombophilia in the case and recurrent thrombotic events predetermined the intake of PLA for an indefinite period (probably for life) in the absence of evidence of massive bleeding.

CONCLUSION

In such conditions as disorders in the cascade of thrombosis and triggering of immune reactions and mechanisms, many of which are still unknown to medicine, doctors and patients fall into a „vicious circle“ in which any decision and subsequent appointments are key. Conditions such as HIT and thrombophilia are not as common, but they leave a memorable mark on every doctor who encounters them. The role of COVID-19 in its association with thrombocytopenia and increased thrombotic risk remains a mystery to science.

Citing such cases are important for improving and enriching the medical algorithm.

БИБЛИОГРАФИЯ/REFERENCES

1. Coutre S, Crowther M (2018). Management of heparin-induced thrombocytopenia. Retrieved from: <https://www.uptodate.com/contents/management-of-heparin-induced-thrombocytopenia>
2. Salter BS, Weiner MW, Trin MA et al. (2016). Heparin-induced thrombocytopenia: A comprehensive clinical review. Retrieved from: <http://www.acc.org/latest-in-cardiology/ten-points-to-remember/2016/05/23/15/08/heparin-induced-thrombocytopenia-a-comprehensive>
3. Heparin-Induced Thrombocytopenia: A Review for Cardiac Anesthesiologists and Intensivists Natalia S. Ivascu, MD*, Meghann Fitzgerald, MD*, Kamrouz Ghadimi, MDy, Prakash Patel, MDz, Adam S. Evans, MDx, Lee A. Goeddel, MD, MPH||, Shaz Shaefi, MD{, John Klick, MD#, Angela Johnson, MD#, Jesse Raiten, MDz, Jiri Horak, MDz, Jacob Gutsche, MDz

4. Lee MS, Liao H, Yang T, et al. Comparison of bivalirudin versus heparin plus glycoprotein IIb/IIIa inhibitors in patients undergoing an invasive strategy: A meta-analysis of randomized clinical trials. *Int J Cardiol* 2011;152:369-74.
5. Welsby IJ, Um J, Milano CA, et al. Plasmapheresis and heparin reexposure as a management strategy for cardiac surgical patients with heparin-induced thrombocytopenia. *Anesth Analg* 2010;110:30-5.
6. <https://www.mdcalc.com/4ts-score-heparin-induced-thrombocytopenia>
7. 2019 ESC Guidelines for the diagnosis and management of acute pulmonary embolism developed in collaboration with the European Respiratory Society (ERS): The Task Force for the diagnosis and management of acute pulmonary embolism of the European Society of Cardiology (ESC)
8. 2020 Guidelines for Management of Atrial Fibrillation
9. Cimo PL, Moake JL, Weinger RS, et al. Heparin-induced thrombocytopenia: Association with a platelet aggregating factor and arterial thromboses. *Am J Hematol* 1979;6:125-33.
10. Srinivasan AF, Rice L, Bartholomew JR, et al. Warfarin-induced skin necrosis and venous limb gangrene in the setting of heparin-induced thrombocytopenia. *Arch Intern Med* 2004;164:66-70.
11. Treatment of heparin-induced thrombocytopenia with fondaparinux, J Harenbergl Jorg, T Fenyvesi, Vol. 89 No. 8 (2004): August, 2004 <https://doi.org/10.3324/%25x>

☰ *Адрес за кореспонденция:*

А. Иванова
МБАЛ „Сърце и мозък“
ул. „Пиер Кюри“ 2
5800 Плевен, България

☰ *Contact Information:*

A. Ivanova
„Heart and Brain“ Hospital
2 Pier Curie Street
5800 Pleven, Bulgaria

ПРОСЛЕДЯВАНЕ НА СЪРДЕЧНОТО ЗАСЯГАНЕ ПРИ ПАЦИЕНТИ С МИОТОНИЧНА ДИСТРОФИЯ ТИП 1 (БОЛЕСТ НА STEINERT)

В. Петрова¹, Х. Цановска¹, Я. Симова^{1,2,3}, П. Божинов^{1,2,3}, Н. Димитров^{1,2}, Т. Веков^{2,3}

¹УМБАЛ „Сърце и мозък“ – Плевен

²Медицински университет Плевен

³Български кардиологичен институт

Резюме. Миотоничната дистрофия тип 1 (болест на Steinert) е генетично мултисистемно заболяване, което се характеризира клинично с миотонични феномени (затруднена релаксация след силно мускулно съкращение), прогресираща мускулна слабост и атрофия, катаракта, кардиомиопатия, гонадна атрофия и когнитивни нарушения. Представяме майка и дъщеря, страдащи от миотонична дистрофия, потвърдена клинично и генетично. Майката е с фамилна обремененост и ганни за антиципация в поколенията. Описаното от нас семейство има характеристика на класическата форма на миотонична дистрофия тип 1, с вариабилност в клиничната симптоматика при всеки от членовете и белези на антиципация в поколението. Дебютът на болестта при майката е в юношеска възраст, а при момичето в детска възраст. Целта на нашето представяне е да се установят наличието, тежестта и прогресията на проявите на сърдечна недостатъчност при пациенти с миотонична дистрофия (МД). При пациентите с МД тип 1 се наблюдават предимно ритъмно-проводни нарушения и по-рядко миокардна дисфункция. Кардиолозите трябва да познават сърдечните прояви на това заболяване, за да се диагностицират своевременно пациенти с повишен риск от сърдечни усложнения.

Ключови думи: болест на Steinert, миотонична дистрофия, сърдечно засягане

MONITORING OF CARDIAC INVOLVEMENT IN PATIENTS WITH MYOTONIC DYSTROPHY TYPE 1 (STEINERT'S DISEASE)

V. Petrova¹, H. Tsanovska¹, I. Simova^{1,2,3}, P. Bozhinov^{1,2,3}, N. Dimitrov^{1,2}, T. Vekov^{2,3}

¹МАХТ „Heart and Brain“ – Pleven

²Medical University – Pleven

³Bulgarian Institute of Cardiology

Abstract. Myotonic dystrophy type 1 (Steinert's disease) is a genetic multisystem disease that is characterized clinically by myotonic phenomena (difficult relaxation after a strong muscle contraction), progressive muscle weakness and atrophy, cataracts, cardiomyopathy, gonadal atrophy and cognitive impairment. We present a mother and daughter suffering from clinically and genetically confirmed myotonic dystrophy. The mother has a family history and data on anticipation in the generations. The family described by us has a characteristic of the classical form of myotonic dystrophy type 1, with variability in the clinical symptoms in each of the family members and signs of anticipation in the generation. The onset of the disease in the mother is in adolescence and in the girl in childhood. The aim of our presentation is to establish the presence, severity and progression of the manifestations of heart failure in patients with myotonic dystrophy (MD). Patients with type 1 MD have mostly arrhythmias and, less frequently, myocardial dysfunction. Cardiologists need to be aware of the cardiac manifestations of this disease in order to diagnose patients with an increased risk of cardiac complications in a timely manner.

Key words: Steinert's disease, myotonic dystrophy, cardiac involvement

ВЪВЕДЕНИЕ

Миотоничната дистрофия (болест на Steinert) е най-често срещаната форма на мускулна дистрофия при възрастни. Причинява се от динамични мутации – амплификация на тринуклеотидни (CTG) повторения в DMPK гена, локализиран върху 19q13.3 хромозома. Началото и тежестта на заболяването зависят от броя на амплифицираните повторения. Колкото по-голям е той, толкова по-рано започва и по-тежко протича заболяването. Заболяването има автосомно-доминантен тип на унаследяване с непълна пенетрантност [1]. Болестта има мултисистемна клинична изява, като засяга скелетната и гладката мускулатура, очите, сърцето, ендокринната система и централната нервна система. Според началото и тежестта на симптоматиката се разграничават четири основни форми: конгенитална миотонична дистрофия, миотонична дистрофия на ранното детство, класическа миотонична дистрофия и лека форма [2].

Конгениталната миотонична дистрофия се характеризира с генерализирана и тежка мускулна слабост от раждането, хипотония, затруднения при сучене и гълтане, дихателна недостатъчност. Умственото изоставане с непрогресиращ характер е много характерно за конгениталната форма.

Миотоничната дистрофия на ранното детство обикновено започва между 5 и 10 г. Развива се генерализирана слабост, засягаща особено лицето и дисталните части на крайниците. Установява се и ментална ретардация.

Класическа миотонична дистрофия. Установява се изразен миотоничен феномен, характерна е атрофията на гъркателните мускули. Други признаци на заболяването са катаракта, кардиомиопатия, ендокринни нарушения, стерилитет, когнитивен дефицит с нарушение в езекутивните и езиковите функции, вниманието, зрителната перцепция и паметта.

Леката форма се характеризира клинически с катаракта, фронтално оплешивяване, минимален до липсващ мускулен дефицит или захарен диабет.

При пациенти с болест на Steinert се откриват промени в ехокардиографията (ЕхоКГ) и ЕКГ без ga

INTRODUCTION

Myotonic dystrophy (Steinert's disease) is the most common form of muscular dystrophy in adults. It is caused by dynamic mutations – amplification of trinucleotide (CTG) repeats in the DMPK gene located on chromosome 19q13.3. The onset and severity of the disease depend on the number of amplified recurrences. The higher it is, the earlier the disease starts and the more severe it is. The disease has an autosomal dominant type of inheritance with incomplete penetrance [1]. The disease has a multisystem clinical manifestation, affecting skeletal and smooth muscle, eyes, heart, endocrine system and central nervous system. According to the onset and severity of symptoms, four main forms are distinguished: congenital myotonic dystrophy, early childhood myotonic dystrophy, classical myotonic dystrophy, and mild form [2].

Congenital myotonic dystrophy is characterized by generalized and severe muscular weakness from birth, hypotension, difficulty sucking and swallowing, respiratory failure. Mental retardation with a non-progressive character is very characteristic of the congenital form.

Early childhood myotonic dystrophy usually begins between 5 and 10 years of age. Generalized weakness develops, especially affecting the face and distal parts of the limbs. Mental retardation is also established.

Classical myotonic dystrophy. A pronounced myotonic phenomenon is established; atrophy of the masticatory muscles is characteristic. Other signs of the disease are cataracts, cardiomyopathy, endocrine disorders, infertility, cognitive deficits with impaired executive and language functions, attention, visual perception and memory.

The mild form is clinically characterized by cataracts, frontal baldness, minimal to absent muscle deficiency, or diabetes mellitus.

In patients with Steinert's disease, changes in echocardiography (echocardiography) and ECG

има клинична изява. Не се установява значително засягане на левокамерната (ЛК) функция, както не се наблюдава и ангажиране на гясната камера. Кардиомиопатията при пациенти с МД тип 1 е определяна като вторичен ефект от аритмията и вентилаторната недостатъчност, но наличието при пациенти с МД тип 2, при които няма вентилаторна недостатъчност, отново поставя въпроса за възможните директни миопатни ефекти на МД тип 1 и МД тип 2 мутациите върху миокарда. Засяга се проводната система на сърцето. При възрастни пациенти често се наблюдават инциденти от внезапна сърдечна смърт, вероятно гължаща се на камерни аритмии (асистолия, тахикардия, фибрилация) или атриовентрикуларен блок. Често се откриват камерни и надкамерни екстрасистоли по време на изследване с 12-канална ЕКГ и с холтер изследване, които могат да бъдат асимптоматични. Забавено провеждане на импулсите може да се свърже с удължен интервал PR и/или широк QRS-комплекс [3].

Диагнозата се основава на клинични, ЕМГ и генетични изследвания. Молекулярно-генетичното изследване открива амплификация на тринуклеотидни повторения. Лечението основно е насочено към миотонията. Важно значение имат проследяването на кардиологичния статус и дишанелните капацитети, както и периодичната физиотерапия. Във връзка с установената антиципация при заболяването (във всяко следващо поколение започва по-рано и протича по-тежко) е препоръчително провеждането на пренатална диагностика в засегнатите фамилии [4].

КЛИНИЧНО ПРЕДСТАВЯНЕ

Представяме майка и гъщеря, страдащи от миотонична дистрофия, потвърдена клинично и генетично. Майката е с фамилна обремененост и данни за антиципация в поколенията.

При майката по повод на оплаквания от слабост в долните крайници и нарушена походка още в юношеска възраст (16-17 г.) е поставена клинично диагноза. Във връзка с това е проведено генетично изследване на пациентката и нейните роднини, като съответно при пациентката, нейната майка и при първа братовчедка

are found without clinical manifestation. No significant involvement of the left ventricular (LV) function is found, nor is involvement of the right ventricle observed. Cardiomyopathy in patients with type 1 MD has been defined as a secondary effect of arrhythmia and ventilatory failure, but its presence in type 2 MD patients without ventilatory failure raises the question of the possible direct myopathic effects of MD type 1 and MD type 2 mutations on the myocardium. The heart conduction system is affected. Accidents of sudden cardiac death, probably due to ventricular arrhythmias (asystole, tachycardia, fibrillation) or atrioventricular block, are common in adult patients. Ventricular and supraventricular extrasystoles are often detected during a 12-channel ECG and Holter examination, which may be asymptomatic. Delayed pulse conduction may be associated with prolonged PR interval and/or wide QRS complex [3].

The diagnosis is based on clinical, EMG and genetic tests. Molecular genetic testing reveals amplification of trinucleotide repeats. Treatment is mainly focused on myotonia. Monitoring of cardiac status and respiratory capacity, as well as periodic physiotherapy are important. In connection with the established anticipation of the disease (in each subsequent generation it starts earlier and is more severe), prenatal diagnosis in the affected families is recommended [4].

CLINICAL PRESENTATION

We present a mother and daughter suffering from clinically and genetically confirmed myotonic dystrophy. The mother has a family history and data on anticipation in the generations.

The mother was clinically diagnosed with complaints of weakness in the lower limbs and impaired gait in adolescence (16-17 years). In connection with this, a genetic study was performed on the patient and her relatives, and in the case of the patient, her mother and first maternal cousin who died of hemorrhagic stroke, the presence of expansion in the

по майчина линия, починала от хеморагичен инсулт, се потвърждава наличието на експанзия в DMPK гена. Дядото и вуйчото по майчина линия по анамнестични данни са били със сходни оплаквания. Пациентката има три деца, като едно от момичетата също е с клинично и генетично поставена диагноза *миотонична дистрофия тип 1*. Оплакванията при нея датират от по-ранна детска възраст (5-6 г.) слабост на долни крайници, трудно изправяне от клекнало положение, лека умствена изостаналост.

Генетичният анализ на семейството показва, че при всяко следващо поколение броят на CTG повторите се увеличава прогресивно.

Двете пациентки са с чести хоспитализации по повод на прогресиране на мускулната слабост, умората и ограничаването на физическите им способности.

От общия статус се обективизират: дисморфичен миопатен фациес, хипомимия, висок свог на небцето, лека птоза на клепачите. Налице са чисто везикуларно дишане и ритмична сърдечна дейност без шумове и при двете пациентки; нормотония и норморитмична сърдечна дейност.

Въз основа на медицинската документация и анамнестични данни е направено генеалогично изследване на семейството (фиг. 1).

DMPK gene was confirmed. According to anamnestic data, the maternal grandfather and uncle had similar complaints. The patient has three children, and one of the girls is also clinically and genetically diagnosed with Myotonic Dystrophy Type 1. Her complaints date back to earlier childhood (5-6 years): weakness of the lower limbs, difficulty standing up from a squat, mild mental retardation.

Genetic analysis of the family showed that with each subsequent generation the number of CTG repeats increased progressively.

Both patients have frequent hospitalizations due to progression of muscle weakness, fatigue and limitation of their physical abilities.

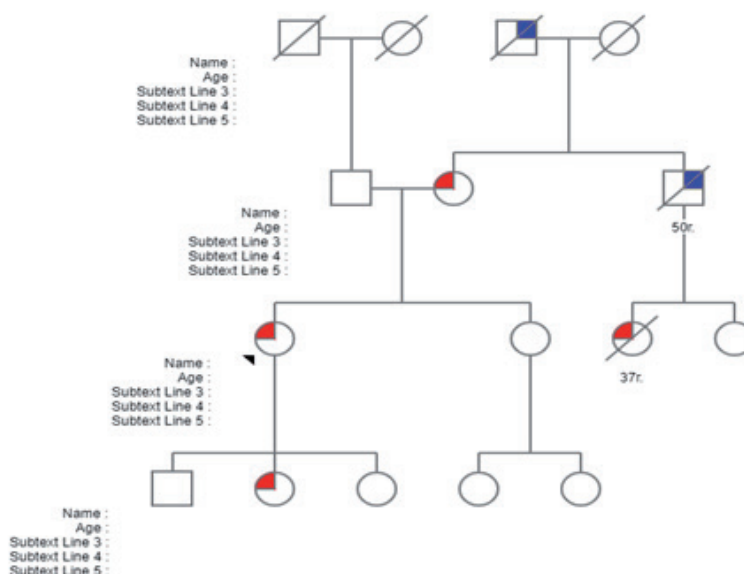
The general status objectifies dysmorphic myopathic facies, hypomania, high arch of the palate, mild ptosis of the eyelids. Pure vesicular respiration, rhythmic heartbeat without noise in both patients. Normotonia and rhythmic heart activity.

Based on the medical documentation and anamnestic data, a genealogical study of the family was made: Fig. 1

1627328510522-1
2021-07-26

 доказана генетична мутация

 сходни оплаквания, но без доказана мутация



Фиг. 1. Потвърдена генетична мутация – червен квадрат; подобни оплаквания, но без потвърдена мутация – син квадрат

Fig. 1. Confirmed genetic mutation – red square; similar complaints but no confirmed mutation – blue square

Електрокардиографското изследване и при двете показва синусов ритъм без реполяриза-ционни промени. Клиниколабораторните изследвания са без съществени отклонения.

Поради възможна съпътстваща ритъмно-проводна патология и на двете жени е поставен 24-часов холтер-ЕКГ запис, при който се регистрира основен синусов ритъм и при двете, с чести надкамерни и единични камерни екстрасистоли.

Проведохме ЕхоКГ с оглед установяване/изключване на субклинично миокардно засягане, както и за изключване на съпътстваща сърдечна недостатъчност на фона на припокриване на част от симптомите на МД с тези на сърдечната недостатъчност.

От ЕхоКГ при майката е установена гранична систолна функция на ЛК, диастолна дисфункция I ст., лекостепенна трикуспидална регургитация. При детайлен анализ на миокардната деформация с помощта на лонгитудинален стрейн чрез speckle tracking echocardiography (STE), е установено понижено на глобалния лонгитудинален стрейн (GLS) (-14%), което е по-изразено във: базалните сегменти на долната стена и долния септум, средните сегменти на предно- и долнолатерална стена и предно- и долносептално, т.е. промени по неусхемичен тип, характерни за кардиомиопатия (фиг. 2A)

При дъщерята от проведената ЕхоКГ се констатира запазена систолна и диастолна функция на ЛК без клапни лезии. GLS е в почти нормални стойности (-17.6%), без данни за изразено сегментно засягане, както при майката (фиг. 2B).

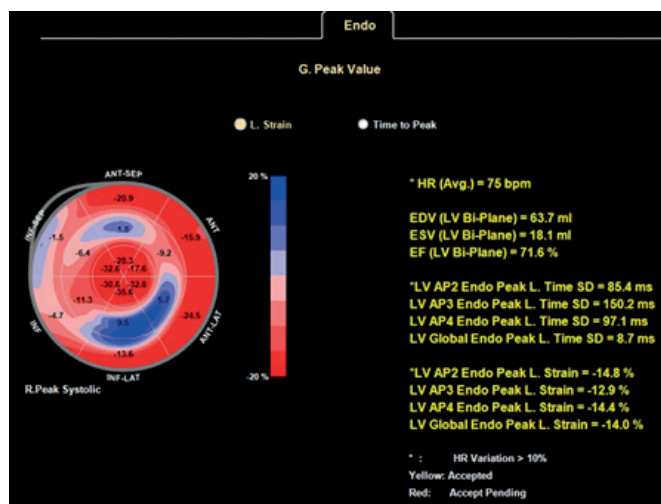
Electrocardiographic examination in both patients indicates sinus rhythm without repolarization changes. Clinical and laboratory tests without significant deviations.

Due to possible accompanying rhythm-conduction pathology, both women underwent a 24-hour Holter ECG recording in which a basic sinus rhythm was recorded in both patients, with frequent supraventricular and single ventricular extrasystoles.

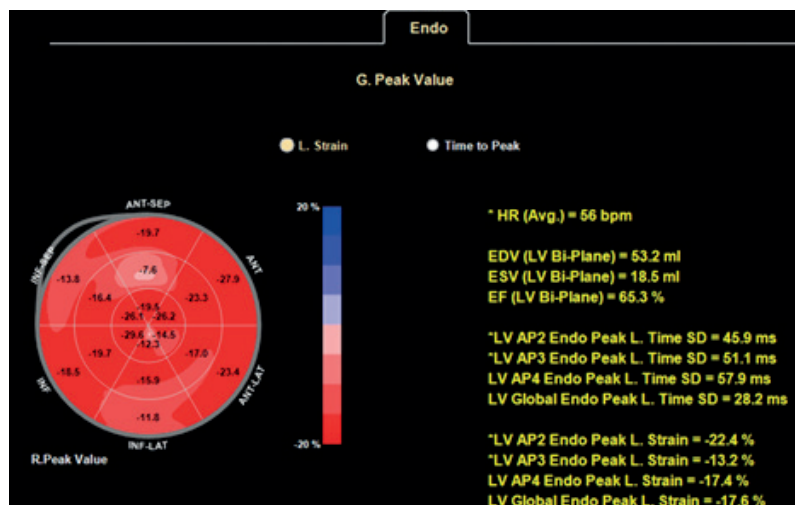
We performed echocardiography in order to establish/exclude subclinical myocardial involvement, as well as to exclude accompanying heart failure, against the background of overlapping of some of the symptoms of MD with those of heart failure.

From echocardiography in the mother we found borderline systolic function of the left ventricle, diastolic dysfunction 1st degree, light-walled tricuspid regurgitation. A detailed analysis of myocardial deformity using longitudinal strain by Speckle Tracking Echocardiography (STE) revealed a decrease in global longitudinal strain (GLS) (-14%) with a more pronounced decrease in the basal segments of the lower wall and lower septum, and the middle segments of the anterior and inferior-lateral wall, and the anterior- and inferior-septal, i.e. non-ischemic type changes characteristic of cardiomyopathy (Fig. 2A).

In the daughter from the performed EchoCG we found preserved systolic and diastolic function of the left ventricle without valve lesions. GLS in almost normal values (-17.6%), without evidence of pronounced segmental involvement, as in the mother (Fig. 2B).



Фиг. 2A/Fig. 2A



Фиг. 2B/ Fig. 2B

Въз основа на проведените изследвания и клиничното състояние на пациентките, се прецени че към момента не се налага включване на кардиопротективна терапия, бе оптимизирана неврологичната, с проведена умерена рехабилитация.

След клинично обсъждане с невролози и физиотерапевти се взе решение за комплексно наблюдение чрез активно амбулаторно проследяване на неврологичното състояние на пациентките, провеждане на рехабилитационни мероприятия, холтер-ЕКГ мониторинг за ритъмна и проводна патология и ехокардиография на 6 месеца.

Based on the conducted tests and the clinical condition of the patients, it was decided that at the moment it was not necessary to include cardioprotective therapy, the neurological one was optimized, with moderate rehabilitation.

After a clinical discussion with neurologists and physiotherapists, a decision was made for complex observation through active outpatient monitoring of the neurological condition of patients, rehabilitation activities, Holter ECG monitoring for rhythm and conduction pathology and echocardiography every 6 months.

ОБСЪЖДАНЕ

Сърдечното засягане е често при пациенти с МД тип 1, но за разлика от други невро-мускулни заболявания, при пациентите с МД тип 1 рядко се наблюдава развитие на кардиомиопатия и сърдечна недостатъчност. Ритъмно – проводни нарушения се срещат в 50-65% от случаите. Най-често се засягат А-V възела, снопа на Хис и мрежата на Пуркиние [5, 6]. При пациентите с МД тип 1 надкамерните тахикардии са често находка на ЕКГ и холтер-ЕКГ. Често се срещат и камерни аритмии, включително и моно- и полиморфни камерни тахикардии, и дори камерно мъждене [7].

При тези пациенти често се наблюдава ограничена физическа активност, поради невро-мускулния характер на заболяването, което налага в диференциално диагностичният алгоритъм да се включи сърдечна недостатъчност.

DISCUSSION

In most of the neuromuscular diseases, the cardiac involvement often occurs with cardiomyopathy or heart failure, however in MD type 1, it is mostly related with conductive disorders and arrhythmias, as around 50-65% from the patients with DM1 present with them. AV node, bundle of His, Purkinje fibers are involved most frequently [5, 6]. In this patients, we often find on ECG sinus-node dysfunction; atrial tachycardia, flutter, or fibrillation; and ventricular tachycardia or fibrillation [7].

In these patients, limited physical activity is often observed due to the neuromuscular nature of the disease, which necessitates the inclusion of heart failure in the differential diagnostic algorithm.

Най-често се установяват нарушения в ЛК диастолна функция. За митрален клапен пролапс се съобщава при 25-40% от пациентите. На ЕКГ често се наблюдават патологичен Q-зъбец и промени в ST-сегмента без данни за ИБС [8]. От литературните данни става ясно, че водещото сърдечно засягане при МД тип 1 са ритъмно-проводните нарушения. При много от пациентите проводните нарушения прогресират с времето [9].

Прецизни проучвания показват полезността на субклиничното откриване на сърдечно засягане при DM1. В едно проучване на 36 пациенти с DM1, серийното наблюдение на Холтер ЕКГ запис е довело до имплантиране на пейсмейкър при 11 пациенти, при 26 са използвани и имплантируеми loop recorder в малки проучвания на асимптоматични пациенти, което е довело до откриване на камерни аритмии и имплантиране на сърдечни дивайси при четири от седем пациенти [10].

Наскоро публикувано проучване демонстрира прогностичната стойност на LV GLS при пациенти с асимптоматична DM1, като се стига до заключението, че GLS представлява силен предиктор за сърдечно-съдови събития [11].

В нашия случай открихме гранично променена систолна и диастолна функция на ЛК и съществено понижено на GLS при майката, както и начално понижено на GLS при гъщерята. Това може да означава, че с прогресирането на заболяването се увеличава фиброзната тъкан както е показано в предишни проучвания и други кардиомиопатии, като хипертрофична кардиомиопатия [12].

Наличието на миокардна фиброза при тези пациенти е документирано от изследване на сърдечно-съдов магнитен резонанс, при което фиброза е установена при 40% от пациентите и не е свързано с промени в електрокардиограмата, холтер или ехокардиография. Това предполага, че оценката на миокардната фиброза чрез сърдечен магнитен резонанс може да бъде полезен инструмент при оценката на тези пациенти, тъй като миокардната фиброза може би е субстрат за камерни аритмии [13].

При поставяне на диагноза МД 1 е необходимо да се направи внимателна оценка на сърдечния статус, което включва рутинно провеждане

The patients with MD1 usually have lower physical capacity, therefore we need to include heart failure in the diagnostic algorithm [8]. From the ECG, abnormal Q waves or STT abnormalities can be found without ischemic heart disease, but the most common findings in myotonic dystrophy type 1 are cardiac conduction disturbances, which usually progress with the aging [9].

Most of this disorders are asymptomatic and studies showed that deeper examination in this sub-clinical patients are crucial. In one study with 36 patients with DM1, Holter monitoring showed indication for pacemakers (PM) implantation in 11 of them. In different small studies with total of 26 patients, implantable loop recorders (ILR) were used, where ventricular arrhythmias had been found and that lead to implantation of implantable cardioverters/defibrillators (ICD) in 4 out of 7 patients [10]. Regarding the LV function, most of the MD1 patients have normal systolic function and diastolic dysfunction. A recent research with 46 patients demonstrated that global longitudinal strain (GLS) is a powerful marker for prediction of cardiovascular events in asymptomatic DM1 patients [10].

In our case, echocardiography revealed moderate systolic function and diastolic dysfunction of the LV. GLS of the mother was decreased significantly and the daughter's was slightly changed. As it was reported in late studies, this means that with the progression of the disease, the myocardial fibrosis increases [11]. Myocardial fibrosis could be found by cardiac magnetic resonance (CMR). In one research, in Denmark, 30 genetically verified DM1 patients, without any ECG, Holter-monitoring or echocardiography abnormalities, obtained CMR and in 40% of them myocardial fibrosis was documented. These findings emphasize that CMR could be a valuable tool in evaluation of this patients, as myocardial fibrosis might be one of the reason for ventricular arrhythmias [12].

The presence of myocardial fibrosis in these patients was documented by cardiovascular magnetic resonance imaging, in which fibrosis was detected in 40% of patients and was not associated with changes in electrocardiogram, holter or echocardiography. This suggests that the assessment of myocardial fibrosis by cardiac magnetic resonance imaging may be a useful tool in the assessment of these patients,

на ЕКГ, 24-часов холтер-ЕКГ и ехокардиография. Необходима е насочена анамнеза за синкопи, палпитации и недостиг на въздух както при пациентите, така и при техните близки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Описаното от нас семейство притежава клиничните белези за миотонична дистрофия тип 1 (Болест на Щайнерт). При всички описани членове се наблюдава специфично мултисистемно засягане – с ангажиране на скелетната и гладката мускулатура, характерен миопатен фациес с белези на миотония. Установи се засягане на ЛК систолна и диастолна функция, и понижаване на GLS, без значима дилатация на ЛК при майката, и единствено субклинично засягане на ЛК функция при гъщерята, като честотата и тежестта на ЛК увреждане се увеличават с възрастта. Клинично изявена сърдечна недостатъчност се явява сравнително късно в хода на развитието на КМП. Липсата на изявена симптоматика свързваме с ограничената двигателна активност при тези пациенти и ранната възраст на засягане. Ранното диагностициране на сърдечно засягане при пациенти с МД е важно, тъй като своевременно започнатото лечение за сърдечна недостатъчност може да доведе до подобрение на ЛК систолна функция или най-малко до забавяне на прогресията на ЛК дисфункция.

С оглед на профилактика на заболяването в тази фамилия се препоръчва провеждането на молекулярно генетичен анализ на всички родственици в риск, както и провеждане на пренатална диагностика при всяка бременност на доказаните носители на мутацията.

as myocardial fibrosis may be a substrate for ventricular arrhythmias [13].

When diagnosis MD1, it is necessary to carefully evaluate cardiovascular status, which includes ECG, 24 hours Holter-monitoring, echocardiography and taking history about syncope, palpitations or dyspnea.

CONCLUSION

The presented family has clinical signs of myotonic dystrophy type 1 (Steinert Disease) and all the members appeal with affected muscular system, and a typical myopathic facies. Cardiovascular system is also involved with systolic and diastolic dysfunction, decreased GLS in the mother, and only subclinical involvement in the daughter's LV function, as the frequency and severity of the LV dysfunction usually progresses with the aging. Symptomatic heart failure appears later with the development of the cardiomyopathy. Lacking of symptoms is mostly because of the lower physical activity and early age. Diagnosis of the heart involvement in the early stages of MD1 is important because early treatment of the heart failure could improve the LV function or delay the progression.

Regarding prevention in this family, we recommend molecular-genetic analysis in all blood relatives and prenatal screening in every pregnancy.

БИБЛИОГРАФИЯ / REFERENCES:

1. Glaser AM, Johnston JH, Gleason WA, Rhoads JM. Myotonic dystrophy as a cause of colonic pseudo-obstruction: Not just another constipated child. *Clin Case Rep.* 2015;3:424–426. doi: 10.1002/ccr3.256.
2. De Antonio M, Dogan C, Hamroun D, et al. French Myotonic Dystrophy Clinical Network: Unravelling the myotonic dystrophy type 1 clinical spectrum: A systematic registry-based study with implications for disease classification. *Rev Neurol (Paris)* 2016;172:572-580. doi: 10.1016/j.neurol.2016.08.003.
3. Harper PS. Myotonic Dystrophy: The Facts; a Book for Patients and Families, Oxford University Press, 2002.
4. Smith CA, Gutmann L. Myotonic dystrophy type 1 management and therapeutics. *Curr Treat Options Neurol.* 2016;18:52. doi: 10.1007/s11940-016-0434-1
5. Groh WJ, Groh MR, Saha C, et al. Electrocardiographic abnormalities and sudden death in myotonic dystrophy type 1. *N Engl J Med.* 2008;358(25):2688-2697. doi: 10.1056/NEJMoA062800.

6. Hadian D, Lowe MR, Scott LR, Groh WJ. Use of an insertable loop recorder in a myotonic dystrophy patient. J Cardiovasc Electrophysiol. 2002;13(1):72-73. doi: 10.1046/j.1540-8167.2002.00072.x.
7. Bassez G, Lazarus A, Desguerre I, et al. Severe cardiac arrhythmias in young patients with myotonic dystrophy type 1. Neurology. 2004;63(10):1939-41. doi: 10.1212/01.wnl.0000144343.91136.cf.
8. Госпожинова М, Шопова А, Чамова Т и др. Сърдечно засягане при миотонична дистрофия тип 1. Българска кардиология, 2013, 19(4):26-30.
9. Schoser BG, Ricker K, Schneider-Gold C, et al. Sudden cardiac death in myotonic dystrophy type 2. Neurology. 2004;63(12):2402-4. doi: 10.1212/01.wnl.0000147335.10783.e4..
10. Stöllberger C, Steger C, Gabriel P, Finsterer J. Implantable loop recorders in myotonic dystrophy 1. Int J Cardiol. 2011;152(2):249-51. doi: 10.1016/j.ijcard.2011.07.085.
11. Garcia R, Rehman M, Goujeau C, et al. Left ventricular longitudinal strain impairment predicts cardiovascular events in asymptomatic type 1 myotonic dystrophy. Int J Cardiol. 2017 Sep 15;243:424-430. doi: 10.1016/j.ijcard.2017.05.061.
12. Petri H, Ahtarovski KA, Vejlstrop N, et al. Myocardial fibrosis in patients with myotonic dystrophy type 1: a cardiovascular magnetic resonance study. J Cardiovasc Magn Reson. 2014;16(1):59. doi: 10.1186/s12968-014-0059-z.
13. Afonso L, Kondur A, Simegn M, et al. Two-dimensional strain profiles in patients with physiological and pathological hypertrophy and preserved left ventricular systolic function: a comparative analyses. BMJ Open. 2012;2(4):e001390. doi: 10.1136/bmjopen-2012-001390.

☰ *Адрес за кореспонденция:*

В. Петрова
МБАЛ „Сърце и мозък“
ул. „Пиер Кюри“ 2
5800 Плевен, България

☰ *Contact Information:*

V. Petrova
„Heart and Brain“ Hospital
2 Pier Curie Street
5800 Pleven, Bulgaria

МУЛТИКАВИТАРНА ТРОМБОЗА, ПРЕМИНАВАЩА ОТ ДЯСНО ПРЕДСЪРДИЕ ПРЕЗ ФОРАМЕН ОВАЛЕ В ЛЯВО ПРЕДСЪРДИЕ И ЛЯВА КАМЕРА ПРИ ПАЦИЕНТ С ДВУСТРАННА БЕЛОДРОБНА ТРОМБОЕМБОЛИЯ И ДЪЛБОКА ВЕНОЗНА ТРОМБОЗА

Н. Дочева¹, С. Бошнаков¹, Н. Димитров^{1,2}, В. Корновски¹, Т. Веков^{2,3}

¹МБАЛ „Сърце и мозък“ – Бургас
²Медицински университет – Плевен
³Български кардиологичен институт

Резюме. Венозният тромбоемболизъм (VTE), включващ дълбока венозна тромбоза (ДВТ) и белодробен емболизъм (БЕ) е третото по честота сърдечно-съдово заболяване след миокардния инфаркт и мозъчния инсулт. Среща се при около 70 на 100 000 души население всяка година, като тенденцията е тази честота постепенно да нараства, успоредно с увеличаване на средната продължителност на живот на хората, както и с нарастване на броя пациенти с онкологични заболявания. Наличието на тромбоза в десните сърдечни кухини в съчетание с белодробен тромбоемболизъм се среща с честота от 3 до 23% и се асоциира с повишена смъртност дори и при пациенти, които се презентират със стабилна клинична картина и хемодинамични показатели. С особено висока смъртност се асоциира наличието на тромб, захванат или преминаващ през отворен/патентен форамен овале (PFO). Настоящият клиничен случай представя успешно тромболитично лечение на рядък вариант на мултикавитарна интракардиална тромбоза, преминаваща от дясно предсърдие през форамен овале в лявото предсърдие и проминаваща през митрална клапа в лявата камера при пациент, който се презентира с масивна форма на белодробна тромбоемболия и дълбока венозна тромбоза.

Ключови думи: мултикавитарна тромбоза, тромболитично лечение, отворен/патентен форамен овале

MULTICAVITARY THROMBOSIS PASSING FROM THE RIGHT ATRIUM THROUGH THE FORAMEN OVALE TO THE LEFT ATRIUM AND LEFT VENTRICLE IN A PATIENT WITH BILATERAL PULMONARY THROMBOEMBOLISM AND DEEP VEIN THROMBOSIS

N. Docheva¹, S. Boshnakov¹, N. Dimitrov^{1,2}, V. Kornovski¹, T. Vekov^{2,3}

¹Heart and Brain Center of Clinical Excellence – Burgas
²Medical University – Pleven
³Bulgarian Cardiac Institute

Abstract. Venous thromboembolism (VTE), including deep vein thrombosis (DVT) and pulmonary embolism (PE), is the third most common cardiovascular disease after myocardial infarction and stroke. It occurs in about 70 out of 100,000 people each year, and the frequency tends to increase gradually, along with an increase in life expectancy and an increase in the number of cancer patients. The presence of thrombosis in the right heart cavities in combination with pulmonary thromboembolism occurs with a frequency of 3 to 23% and is associated with increased mortality even in patients who present with a stable clinical picture and hemodynamic parameters. Particularly high mortality is associated with the presence of a thrombus trapped or passing through a patented foramen oval. The present clinical case presents a successful thrombolytic treatment of a rare variant of multicavitary intracardiac thrombosis, passing from the right atrium through the foramen oval to the left atrium and passing through the mitral valve into the left ventricle in a patient with massive pulmonary thrombosis.

Key words: multicavitary thrombosis, thrombolytic treatment, patent foramen ovale

ВЪВЕДЕНИЕ

Отворен/патентен форамен овале (PFO) се среща при около 24,2% от нормалната популация, като в повечето случаи се открива случайно. Често се асоциира с мигренозно главоболие с аура и увеличен риск от мозъчни инсулти и транзиторни исхемични атаки (ТИА), особено когато се касае за криптогенни инсулти под 55-годишна възраст. Обикновено се свързва със склонността към парадоксален емболизъм [1]. Диаметърът на PFO (средно 4,9 mm) позволява преминаването на емболи от венозната към артериалната система, които са достатъчно големи, за да се запушат до средната мозъчна артерия (3 mm), за да достигнат до мозъчната циркулация. По литературни данни ежегодно в световен мащаб 345 000 пациенти на възраст между 18 и 60 години имат PFO и емболичен инсулт с иначе неопределен източник. По-младите пациенти с криптогенен инсулт имат 2,3 пъти по-висок относителен риск от PFO в сравнение с възрастовите индивиди с инсулт с ясна причина, което предполага – въз основа на теорията на вероятностите – 73% вероятност PFO да е механизмът на инсулт при тези пациенти [2]. Терапевтичното поведение при доказан отворен форамен овале е консервативно или интервенционално, като медикаментозното лечение включва антиагрегантни медикаменти с цел предотвратяване на повторни мозъчносъдови инциденти, а интервенционалното представлява затваряне на форамена чрез специално устройство – оклудер дивайс.

Честота на ДВТ е около 1:5000 души, като при жените е по-висока – до 3 на 1000. Острата ДВТ при 50-77% от случаите се усложнява с белодробен тромбоемболизъм, като смъртността при нелекуваните пациенти е 30%, а при адекватно лекуваните с антикоагулант – 7-8%. Рецидивиращите епизоди на БТЕ са 3 пъти по-чести след първоначална проява на заболяването с епизод на БТЕ, отколкото след първоначална ДВТ. Флебографията е основен инвазивен метод за диагностиката на венозните тромбози. Тя все още остава „златен стандарт“ за венозната диагностика поради факта, че диагностичната ѝ достоверност е 100% и всички останали

INTRODUCTION

PFO occurs in about 24.2% of the normal population, and is mostly found by chance. It is often associated with migraine headaches with aura and an increased risk of stroke and transient ischemic attack (TIA), especially in the case of cryptogenic strokes below 55 years old. It is usually also associated with a tendency to paradoxical embolism [1]. The diameter of the PFO (average 4.9 mm) allows the passage of emboli from the venous to the arterial system, which are large enough to clog up to the middle cerebral artery (3 mm) to reach the cerebral circulation. According to the literature data, every year worldwide, 345,000 patients between the age of 18 and 60 have PFO and embolic stroke with an otherwise unidentified source. Younger patients with cryptogenic stroke have a 2 to 3 times higher relative risk of PFO compared to older individuals with stroke with a clear cause, which suggests – based on Probability theory – a 73% chance that PFO is the mechanism of stroke in these patients [2]. The therapeutic behaviour in a proven open foramen ovale is conservative or interventional, with drug treatment including antiplatelet drugs to prevent recurrence of cerebrovascular accidents, and the interventional treatment is closure of the foramen by a special device – occluder device.

The incidence of DVT is about 1: 5000 people, and it is higher for women – up to 3 per 1000. Acute DVT in 50-77% of the cases is complicated by pulmonary thromboembolism, with mortality in untreated patients of 30%, and in adequately treated with anticoagulant – 7-8%. Recurrent episodes of PE are 3 times more common after the initial onset of the disease with an episode of PE than after initial DVT. Phlebography is a major invasive method for the diagnosis of venous thrombosis. It still remains the „gold standard“ for venous diagnosis due to the fact that its diagnostic reliability is 100% and all other diagnostic

диагностични методи се сравняват с нея. Основното лечение на ДВТ и днес все още е с антикоагуланти, а хирургичната дезоблитерация е с ограничено приложение. Ранната фибринолиза (до 3-тия ден) води до отпушване на вените при 80% от случаите и значително регулира появата на БТЕ и посттромбофлебитен синдром.

При наличие на патентен форамен овале ДВТ може да доведе до парадоксален емболизъм в големия кръг на кръвообращение, което е сериозно усложнение налагащо затваряне на дефекта.

Белогробният тромбоемболизъм (БТЕ) е животозастрашаващо състояние, при което част от белогробната съдова мрежа става внезапно непроходима, вследствие обструкция от емболичен материал, най-често тромби, образувани в проксималния сегмент на дълбоката венозна система на долните крайници. Изборът на лечение се определя от рисковата стратификация на пациента и хемодинамичното състояние и бива антикоагулантно и реперфузионно лечение, в това число системната и локалната фибринолиза, и хирургична емболектомия.

По настоящем индикация за фибринолитично лечение в случаите на белогробен тромбоемболизъм е единствено хемодинамичната нестабилност. Комбинацията на тромбоза в десните сърдечни кухини с БЕ обаче е с изключително лоша прогноза, като още по-лоша е тя ако тромбозата обхваща или преминава през форамен овале. Съществуват три основни подхода на лечение – оперативно, фибринолитично и антикоагулантно лечение. Въпреки големия брой публикации в медицинската литература липсва консенсус по отношение на оптималния терапевтичен подход.

ОПИСАНИЕ НА КЛИНИЧЕН СЛУЧАЙ

Касае се за 76-годишен пациент, презентиращ се в клиниката по кардиология с оплаквания от лесна умора и тахидиспнея при минимални физически усилия и болка в дясна поплитеална област от 3-4 дни. Липсват анамнестични данни за оперативни интервенции или имобилизация през последните 6 месеца. Придружаващите заболявания включват:

methods are compared with it. The main treatment for DVT today is still with anticoagulants, and surgical desobliteration is of limited use. Early fibrinolysis (up to day 3) leads to unclogging of the veins in 80% of the cases and significantly reduces the occurrence of PE and post-thrombophlebitis syndrome.

In the presence of a patented foramen ovale, DVT can lead to paradoxical embolism in the pulmonary blood circulation, which is a serious complication requiring closure of the defect.

Pulmonary thromboembolism (PE) is a life-threatening condition in which part of the pulmonary vascular network suddenly becomes impassable due to obstruction by embolic material, most commonly thrombi formed in the proximal segment of the deep venous system of the lower limbs. The choice of treatment is determined by the patient's risk stratification and hemodynamic status and there are two types of treatment: anticoagulant and reperfusion, including systemic and local fibrinolysis, and surgical embolectomy.

At present, the only indication for fibrinolytic treatment in cases of pulmonary thromboembolism is hemodynamic instability. However, the combination of thrombosis in the right heart cavities with PE has an extremely poor prognosis, and is even worse if the thrombosis involves or passes through foramen ovale. There are three main methods of treatment - surgery, fibrinolytic and anticoagulant treatment. Despite the large number of publications in the medical literature, there is no consensus on the optimal therapeutic approach.

DESCRIPTION OF A CLINICAL CASE

This is a 76-year-old patient who presented himself at the cardiology clinic with complaints of fatigue and tachydyspnoea, even when the physical effort is minimum and pain in the right popliteal region, that started 3-4 days ago. There is no anamnestic data for surgical interventions or immobilization in the last 6 months. Accompanying

артериална хипертония с добър медикаментозен контрол; преживян миокарден инфаркт през 2007 г. – лекуван консервативно, за който не е представена медицинска документация.

От физикалния преглед пациентът е с нормостеничен хабитус, задоволително общо състояние, прави впечатление набелязан шиен венозен застои, тахидиспнея – дихателна честота 22/min, кислородна сатурация на стаен въздух – 89%; без обективни данни за цианоза. Без патологична аускултаторна находка в белия дроб; сърдечно-съдова система – ритмична нормофреквентна сърдечна дейност, артериално налягане на двете ръце 120/80 mm Hg. Крайници – без отоци, със запазени периферни пулсации, лек оток на дясно бедро.

При постъпването има електрокардиографски/ЕКГ данни за синусов ритъм, сърдечна честота – 81 уд/min, негативни Т-вълни в III, aVF, V1-V4 отвеждания.

Параклиничните изследвания, включително коагулационния статус, не разкриват отклонения с изключение на: D-димер – 612 ng/ml, С-реактивен протеин – 157 и хипоксемия.

Трансторакалната ехокардиография показва наличие на голяма мобилна тромботична маса в дясното предсърдие с размери 30/22 mm, която преминава през foramen ovale в лявото предсърдие и през митралната клапа – в лявата камера (фиг. 1). Формацията в левите сърдечни кухини има вид на „прясна“ тромбоза с желеподобна структура, като най-плътна изглежда в дясното предсърдие – в областта на fossa ovalis; наличие на аневризма на междупредсърдната преграда (тип 4LR); лека трикуспидална инсуфициенция и индиректни данни за повишено систолно пулмонално налягане – 43 mmHg; белези за тензионно обременяване на дясната камера и положителен McConnell sign.

От компютърно-томографската (СТ) пулмоангиография има данни за двустранна белодробна тромбоемболия – на сегментно ниво и ангажиране на левия главен белодробен клон, както и наличие на обтекаем тромб в лявото и дясното предсърдие, преминаващ през форамен овале (фиг. 2).

diseases: arterial hypertension with good drug control; the patient reported a myocardial infarction in 2007 – treated conservatively, for which he did not submit medical documentation.

From the physical examination the patient has a normosthenic habit, satisfactory general condition, marked cervical venous stasis, tachydyspnoea – respiratory rate 22/minute, oxygen saturation of room air – 89%; without objective evidence of cyanosis. No pathological auscultatory finding in the lung; Cardiovascular system – rhythmic normofrequency heart rate, blood pressure in both hands 120/80 mmHg. Limbs – no swelling, with preserved peripheral pulsations, slight swelling of the right thigh.

Upon admission with electrocardiographic / ECG data for sinus rhythm, heart rate – 81 beats/min, negative T-waves in III, aVF, V1-V4 leads.

The paraclinical studies, including coagulation status, did not reveal abnormalities except for D-dimer – 612 ng/ml, C-reactive protein – 157, and hypoxemia.

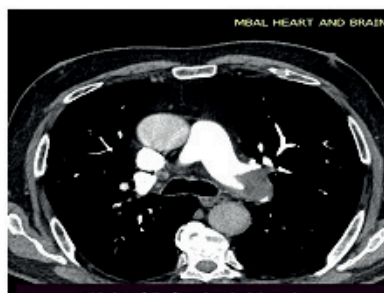
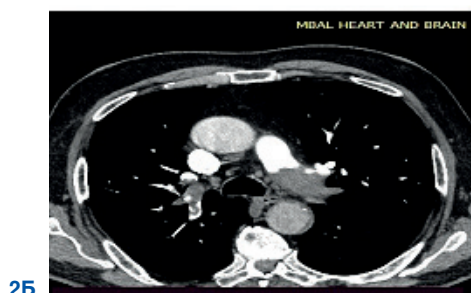
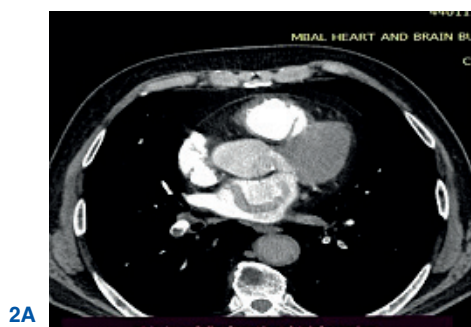
Transthoracic echocardiography showed the presence of a large mobile thrombotic mass in the right atrium measuring 30/22 mm, which passes through the foramen ovale into the left atrium and through the mitral valve into the left ventricle (Fig. 1). The formation in the left heart cavities has the appearance of „fresh“ thrombosis with a jelly-like structure, and the densest appears in the right atrium – in the area of the fossa ovalis; presence of atrial septal aneurysm (type 4LR); mild tricuspid insufficiency and indirect evidence of increased systolic pulmonary pressure – 43 mmHg.; signs of tension loading of the right ventricle and a positive McConnell sign.

From computed tomography/CT pulmoangiography with data for bilateral pulmonary thromboembolism – at the segmental level and involvement of the left main lung branch, as well as the presence of a streamlined thrombus in the left and right atria passing through the foramen ovale (Fig. 2).



Фиг. 1. Трансторакална ехокардиография, изобразяваща мобилен тромб в дясното предсърдие, преминаващ през foramen ovale в ляво предсърдие и проминаващ през митрална клапа в лявата камера

Fig. 1. Transthoracic echocardiography depicting a mobile thrombus in the right atrium passing through the foramen ovale in the left atrium and passing through the mitral valve in the left ventricle



Фиг. 2. Компютърна томография: 2А. Изобразен обтекаем тромб в лявото и дясното предсърдие, преминаващ през форамен овале; 2Б. КТ пулмоангиография, илюстрираща дефекти в изпълването на белодробните артерии

Fig. 2. Компютърна томография: 2А. Изобразен обтекаем тромб в лявото и дясното предсърдие, преминаващ през форамен овале; 2Б. КТ пулмоангиография, илюстрираща дефекти в изпълването на белодробните артерии

Компресионна венозна доплерова ултрасонография на долни крайници показва пълна липса на колапс във феморопупитеалния венозен сегмент в дясно, както и липса на доплеров сигнал, което е характерна находка при дълбока венозна тромбоза.

Compression venous Doppler ultrasonography of the lower extremities showed a complete lack of collapse in the femoropopliteal venous segment on the right, as well as a lack of Doppler signal, which is a characteristic finding in deep vein thrombosis.

Проведено е клинично обсъждане от сърдечен тим, включващ кардиолог, кардиохирург, съдов хирург, реаниматор, интернист и специалист по образна диагностика, на което са обсъдени различните варианти на лечение и наличните литературни данни с цел да се избере оптимален подход при конкретния пациент. На базата на това е взето решение за провеждане на системна фибринолиза с tPA – Alteplase 100 mg, с последваща инфузия с нефракциониран хепарин (UFH) с дозиране съобразно таргетни по-високи стойности на aPTT (между 70-100 s). Основни аргументи за избора на този вид стратегия се явяват: липсата на категорични предимства на кардиохирургичното пред фибринолитичното лечение, наличието на мултифокална тромбоза в това число дълбока венозна тромбоза и белодробна тромбоемболия, които също се третират чрез системната тромболиза, ниският хеморагичен риск при пациента, но значим периоперативен такъв при Euro score II – 4,41%. Не на последно място е обсъден и наличният тромбоемболичен риск при кардиохирургично лечение с екстракорпорално кръвообращение, който е особено изразен при изходно доказан емболизъм във венозния кръг на кръвообращение и наличие на дясно-ляв шънт, предразполагащ към парадоксален емболизъм.

Приложи се фибринолитично лечение с tPA – Alteplase по схема – на инфузия за 2 часа в обща доза 100 mg, последвана от инфузия с UFH. В следващите часове е регистрирано клинично подобрение. При ехокардиографското проследяване на 12-ия час след фибринолизата е отчетена значителна редукция на описаната находка – формата в левите сърдечни кухини липсва, а в дясното предсърдие се визуализира само малък остатъчен тромб в областта на fossa ovalis (фиг. 3).

Поради рецидивираща тахидиспнея и спад на кислородната сатурация на 48-ия час е проведена и дясна сърдечна катетеризация с пулмоангиография, която отчита персистиращи дефекти в изпълването на двата пулмонални клона, повече вляво. След повторно клинично обсъждане е взето решение за осъществяване и на локално фибринолитично лечение с tPA – Alteplase по 10 mg в левия и в десния клон на белодробната артерия.

A clinical discussion was conducted by a Cardiac team, including a cardiologist, cardiac surgeon, vascular surgeon, resuscitator, internist and imaging diagnostics specialist, on which were discussed the different treatment options and available literature data in order to select the optimal approach for a particular patient. Based on this discussion, it was decided to perform systemic fibrinolysis with tPA – Alteplase 100 mg, followed by infusion of unfractionated heparin (UFH) with dosing according to target higher values of aPTT (between 70-100 s). The main arguments for choosing this type of strategy are: the lack of clear advantages of cardiac surgery over fibrinolytic treatment, the presence of multifocal thrombosis, including deep vein thrombosis and pulmonary thromboembolism, which are also treated by systemic thrombolysis, patient's low risk of hemorrhage, but significant perioperative one in Euro score II – 4.41%. Last but not least, it was discussed the available thromboembolic risk in cardiac surgery with extracorporeal circulation, which risk is especially pronounced in the case of initially proven embolism in the venous circulation and the presence of a right-sided shunt, predisposing to paradoxical embolism. Fibrinolytic treatment with tPA – Alteplase was administered as a 2-hour infusion schedule at a total dose of 100 mg, followed by infusion of UFH. Clinical improvement was reported in the following hours.

During the echocardiography examination at the twelfth hour after fibrinolysis, a significant reduction of the described finding was reported – the formation in the left heart cavities was absent, and in the right atrium only a small residual thrombus in the area of the fossa ovalis was visualized (Fig. 3).

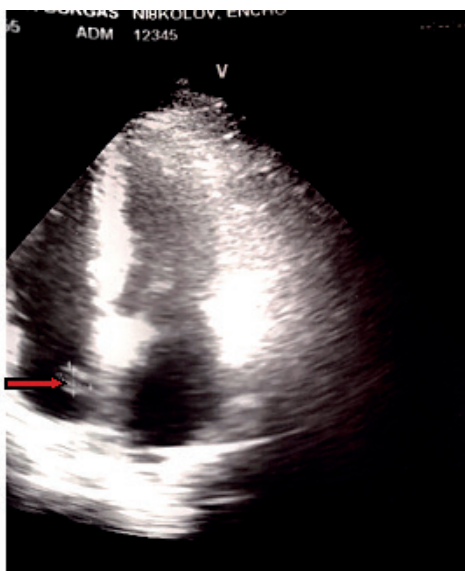
Due to recurrent tachydyspnoea and a decrease in oxygen saturation at 48 hours, right cardiac catheterization was performed with pulmonary angiography, which reported persistent defects in the filling of the two pulmonary branches, more on the left. After repeated clinical discussion, it was decided to carry out local fibrinolytic treatment with tPA – Alteplase 10 mg in both left and right branches of the pulmonary artery.

Осъществена е и флебография на десен голем крайник, от която е установена реканализирана феморопопитеална венозна тромбоза (фиг. 4).

Лечението на пациента с UFH продължава 7 дни, след което се преминава към нов директен орален антикоагулант – Ривароксабан по схема: 2 x 15 mg за 21 дни, след което 20 mg/дневно. Осъществени са няколко поредни контролни трансторакални ехокардиографии през следващите дни, а на 7-ия ден и трансезофагеална такава, както и компютърна томография (СТ) на сърце и СТ пулмоангиография, които демонстрират напълно лизиране на сърдечната тромбоза, липса на шънт през foramen ovale, както и липса на дефекти в изпълването на белодробните артерии. При проследяването пациентът е без субективна симптоматика и с подобрен функционален статус. На 14-ия ден е проведена и контрастна ехокардиография с бъбъл-проба, от която не се установява шънт между лявото и дясното предсърдие, което се свързва със „затворен“ foramen ovale (фиг. 5), потвърдено и чрез трансезофагеалната ехокардиография.

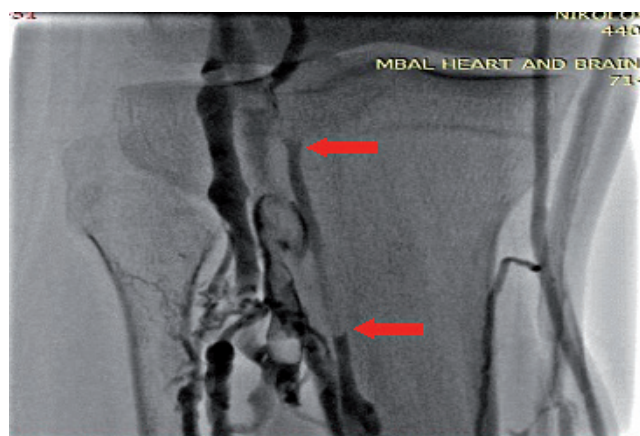
Phlebography of the right lower limb was also performed, from which recanalized femoropopliteal venous thrombosis was established (Fig. 4).

The treatment of the patient with UFH lasted 7 days after which he was switched to a new direct oral anticoagulant – Rivaroxaban according to the scheme: 2 x 15 mg for 21 days, then 20 mg/day. Several consecutive control transthoracic echocardiography were performed in the following days, and on the 7th day transesophageal, as well as computed tomography – CT of the heart and CT pulmonary angiography, which showed complete lysis of cardiac thrombosis (Fig. 2), lack of shunt through the foramen ovale, as well as absence of defects in the filling of the pulmonary arteries. At follow-up, the patient was free of subjective symptoms and he was with improved functional status. On the 14th day, contrast echocardiography with a bubble sample was performed, which did not detect a shunt between the left and right atria, which is associated with a “closed” foramen ovale (Fig. 5), confirmed by transesophageal echocardiography.



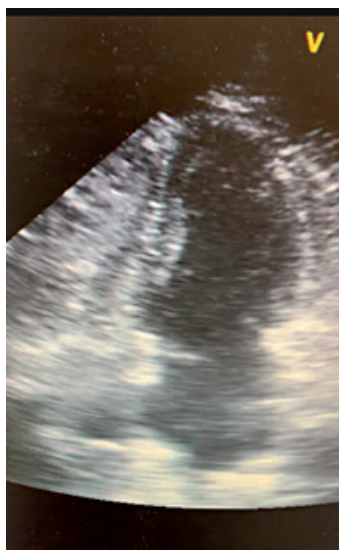
Фиг. 3. Ехокардиографска оценка на 12-ия час след фибринолизата – остатъчен тромб в дясно предсърдие, захванат за fossa ovalis

Fig. 3. Echocardiographic evaluation at 12 hours after fibrinolysis – residual thrombus in the right atrium attached to the fossa ovalis



Фиг. 4. Флебография на десен голем крайник. Със стрелки е посочена зоната на нарушена проходимост на феморопопитеалния венозен сегмент

Fig. 4. Phlebography of the right lower limb. The area of impaired patency of the femoropopliteal venous segment is indicated by arrows



Фиг. 5. Контрастна ехокардиография чрез проба с бълбъли, от която не се установява шънт между лявото и дясното предсърдие

Fig. 5. Contrast echocardiography with a bubble – sample that does not detect a shunt between the left and right atria

В търсене на причина за тази множествена тромбоза при пациент без придружаващи заболявания или големи рискови фактори за тромбоемболия е проведен и разширен лабораторен анализ: изследване на протеин С (PrC) и свободен протеин S, които са в референтни стойности. Резултатът от генетичния анализ обаче разкрива, че пациентът е хетерозигот на ITGA2 (integrin $\alpha 2$) C807T, което се свързва с повишена тромبوцитна агрегация; и е хомозигот по мутантния алел на INTGB3 (integrin $\beta 3$) T1565C, асоцииращо се с повишен риск от тромботични събития (характерно при тази мутация е силно намалената ефективност на ацетилсалициловата киселина като антиагрегантно средство на лечение).

Пациентът е проследен на първи, трети и шести месец. Функционалният клас е напълно възстановен, а от контролните ехокардиографии са установени липса на сърдечна тромбоза, възстановяване на размерите и функцията на дясната камера, липса на междупредсърдна аневризма и пулмонална хипертония. С оглед резултатите от генетичните изследвания на пациента е препоръчана постоянна перорална антикоагулация.

ОБСЪЖДАНЕ

Дълбоката венозна тромбоза представлява венозен тромбоемболизъм, засягащ най-често

In search of the cause of this multiple thrombosis in a patient without concomitant diseases or high-risk factors for thromboembolism, an extended laboratory analysis was performed: study of protein C (PrC) and free protein S, which were in referent values. However, the result of the genetic analysis revealed that the patient was a heterozygote of ITGA2 (integrin $\alpha 2$) C807T, which is associated with increased platelet aggregation; and is homozygous for the mutant allele of INTGB3 (integrin $\beta 3$) T1565C, associated with an increased risk of thrombotic events (characterized by this mutation being the greatly reduced efficacy of acetylsalicylic acid as an antiplatelet agent).

The patient had following check-ups at first, third and sixth month. Functional class was completely restored, and control echocardiographies revealed no cardiac thrombosis, restoration of right ventricular size and function, no atrial aneurysm, and pulmonary hypertension. In retrospection of the results of the patient's genetic tests, continuous oral anticoagulation was recommended.

DISCUSSION

Deep venous thrombosis is a venous thromboembolism that most often affects the deep veins, mainly

дълбоките вени предимно на долните крайници. В 20% от случаите на ДВТ на подбедриците и 80% от случаите, ангажиращи илеофеморалните сегменти, ДВТ протича без спонтанна реканализация. Патогенезата варира при различните случаи, но основни фактори се явяват прокоагулантното състояние на кръвта, увреда на съдовата стена или нарушение в кръвотока (триада на Вирхов). Причините за ДВТ не винаги могат да бъдат открити. Препозноваващи рискови фактори са: напреднала възраст (над 60 години); преживени тромбози; сърдечна недостатъчност; затлъстяване; травми; злокачествени заболявания; тежки и/или продължителни оперативни интервенции; кръвни заболявания или отклонения в хемостазата (дефицит на антитромбин III, протеини C/S, полицитемия, тромбофилия и др.); някои алергизиращи, химични или физични агенти, които се явяват общи фактори за венозния емболизъм – ДВТ и БТЕ.

Често пациентите са безсимптомни поради добре развита колатерална мрежа, а когато имат оплаквания, най-често съобщават за болка и подуване на съответния крайник. За диагностиката на заболяването могат да се използват множество методи, от които основен се явява ехографията – предимно компресионната ултрасонография. Лечението на дълбоката венозна тромбоза се състои предимно в антикоагулантно лечение в комбинация с компресионни чорапи. Системната фибринолиза, макар и ефективна, понастоящем не се използва за лечение на изолирана дълбока венозна тромбоза поради риск от кървене, но остава метод на избор при ДВТ с БТЕ при високорискови пациенти [3].

Наличието на тромб, преминаващ през foramen ovale, е рядка ехокардиографска находка. Интересният вид, който има тромбозата, води до използването на различни названия в литературата като „гиричковиден тромб“, „люлеещ се змиевиден тромб“ и др. [3, 4]. Първият ехографски установен подобен случай е през 1985 г. от Nellessen и сътр. и оттогава с развитието на ехокардиографията броят на описаните клинични случаи нараства неимоверно [5]. Най-честият патофизиологичен механизъм, водещ до появата на тромб, преминаващ през foramen ovale, се състои в следното: фрагменти от дълбока венозна тромбоза (ДВТ) се от-

of the lower limbs. In 20% of the cases of DVT of the lower legs and 80% of the cases involving the ileofemoral segments, DVT proceeds without spontaneous recanalization. The pathogenesis varies in different cases, but the main factors are procoagulant state of the blood, damage to the vascular wall or disturbance in blood flow (Virchow's triad). The causes of DVT cannot always be found. Predisposing risk factors are: old age (over 60 years); experienced thrombosis; heart failure; obesity; injuries; malignant diseases; severe and/or prolonged surgical interventions; blood diseases or abnormalities in haemostasis (antithrombin III deficiency, C/S protein, polycythaemia, thrombophilia, etc.); certain allergenic, chemical or physical agents, which are common factors of venous embolism – DVT and PE.

Patients are often asymptomatic due to a well-developed collateral network, and when they have complaints, they most often report pain and swelling of the affected limb. Numerous methods could be used to diagnose the disease, the main of which is ultrasound – mainly compression ultrasonography. The treatment of deep vein thrombosis consists mainly in anticoagulant treatment in combination with compression stockings. Systemic fibrinolysis, although effective, is not currently used to treat isolated deep vein thrombosis due to the risk of bleeding, but remains the method of choice for DVT with pulmonary thromboembolism in high-risk patients [3].

The presence of a thrombus passing through the foramen ovale is a rare echocardiographic finding. The interesting type of thrombosis leads to the use of various names in the literature such as „gyric thrombus“, „swinging snake thrombus“ and others. [3,4]. The first ultrasound established such case was in 1985. by Nellessen et al. and since then, with the development of echocardiography, the number of described clinical cases has increased enormously [5]. The most common pathophysiological mechanism leading to the appearance of a thrombus passing through the foramen ovale consists in the following: fragments of

късват от мястото си на формиране и воят до белодробен тромбоемболизъм (БТЕ). Това повишава белодробното съдово съпротивление и съответно пулмоналното налягане. При достатъчно значима белодробна емболия, налягането в десните кухини нараства над това в левите. Ако при същия пациент е налична междупредсърдна комуникация (напр. foramen ovale), ще се формира и дясно-ляв шънт. При последваща емболия от ДВТ тромбоемболичните маси могат да бъдат насочени в посока към лявото предсърдие благодарение на оформилата се шънт. Така те могат да попаднат в големия кръг на кръвообращение или да заседнат в самия foramen ovale и да доведат до описания клиничен сценарий. Макроскопският вид на тези тромби почти винаги е с елонгирана „червеобразна“ форма, характерна за тромби от голните крайници [6]. Наличието на отворен foramen ovale е често срещано и се открива при около 24,2% от хората при аутопсия [7]. Дълбоката венозна тромбоза от друга страна се среща средно 1:5000 души, като зачестява с напредване на възрастта [8]. Същевременно над 55% от пациентите с ДВТ развиват БТЕ. Уповавайки се на тези данни, при равномерно разпределение, комбинацията от отворен foramen ovale, ДВТ и БТЕ би трябвало да е налице при 1 на 44 000 души. Тъй като не всеки случай на БТЕ протича с пулмонална хипертония достатъчна да формира дясно-ляв шънт, то тогава реалната честота на описаната комбинирана патология вероятно е и дори по-ниска. В контекста на това ето защо не е изненада и липсата на клиничен опит с такъв тип находка.

Клиничната картина при тези пациенти се обуславя от тромбоемболия, засягаща двата кръга на кръвообращение. Парадоксалните емболии не се срещат във всички случаи на тромбоза, преминаваща в левите сърдечни кухини. Наличието на БТЕ и отворен foramen ovale се асоциира със системна емболизация при 15% от случаите [9, 10]. Най-засегнатите зони се явяват: мозъкът (криптогенни инсулти – при 37 до 50%), артериите на долни крайници (30%), артериите на горни крайници (25%), коронарни артерии (7-9%) и висцералните органи (6-7%) [11].

deep vein thrombosis (DVT) detach from their site of formation and lead to pulmonary thromboembolism (PE). This increases pulmonary vascular resistance and pulmonary pressure, respectively. With a sufficiently significant pulmonary embolism, the pressure in the right cavities increases above that in the left. If atrial communication (eg foramen ovale) is present in the same patient, a right-left shunt will also form. In subsequent DVT embolism, thromboembolic masses may be directed toward the left atrium due to the formed shunt. Thus, they can enter the great circle of blood circulation or get stuck in the foramen ovale itself and lead to the described clinical scenario. The macroscopic appearance of these thrombi is almost always elongated „wormlike” shape, which is characteristic for thrombi that are usually observed in the lower limbs [6]. The presence of an open foramen ovale is common and is found in about 24.2% of people during autopsy [7]. Deep venous thrombosis, on the other hand, occurs on average 1:5000 people, increasing with age. At the same time, about 45% of patients with DVT develop pulmonary thromboembolism [8]. Based on these data, with an even distribution, the combination of open foramen ovale, DVT and PE should be present in 1 in 44,000 people. Since not every case of PTE occurs with pulmonary hypertension sufficient to form a right-left shunt, then the actual incidence of the described combined pathology is probably even lower. In this context, it is therefore not surprising that there is a lack of clinical experience with this type of finding.

The clinical picture in these patients is determined by thromboembolism, affecting both circuits of blood circulation. Paradoxical emboli do not occur in all cases of thrombosis passing into the left heart cavities. The presence of PE and open foramen ovale is associated with systemic embolization in 15% of cases [9, 10]. The most affected areas are: the brain (cryptogenic strokes – in 37 to 50%), the arteries of the lower limbs (30%), the arteries of the upper limbs (25%), coronary arteries (7-9%) and visceral organs (6-7%) [11].

Тромбозите в сърцето най-често се откриват при провеждане на трансторакална или трансезофагеална ехокардиография. Компютърната томография и ядрено-магнитния резонанс, от друга страна, дават допълнителна информация за процеса, особено при наличие на големи тромботични маси, ангажиращи двете празни вени. С тяхна помощ се диагностицират и емболиите в системната и белодробната циркулация. Венозният ултразвук има голямо значение за откриване на произхода на емболията, като компресионната ултрасонография играе основна роля (> 90% чувствителност и около 95% специфичност) в диагностиката на ДВТ. Понастоящем инвазивната флебография не се използва често, но има 100% диагностична достоверност.

Лечението на мултикавитарна тромбоза, ангажираща foramen ovale, е сериозен и неразрешен проблем. Съществуват три основни терапевтични подхода – оперативен, фибринолитичен или антикоагулантен. Въпреки големия брой публикации, липсва консенсус по отношение на това коя е оптималната терапевтична стратегия.

Всяка от тях има своите предимства и недостатъци и изборът е строго индивидуален. Антикоагулацията обикновено е метод на избор при полиморбидни пациенти с висок оперативен и хеморагичен риск. Недостатъците на антикоагулацията и фибринолизата са свързани с усложнения като кървене, фрагментация на тромба, водеща до емболизация, както и хеморагични инсулти. Същевременно хирургичното лечение и използването на екстракорпорално кръвообращение крият големи рискове при тези пациенти. Според някои автори [12, 13] оперативното лечение е по-подходящ метод поради възможността за пълно отстраняване на тромботичните маси и затваряне на foramen ovale, за да се предотврати бъдещ парадоксален емболизъм. В доклад, обобщаващ 4 проучвания с общо 87 пациенти с третиран тромб, преминаващ през foramen ovale, хирургичната екстракция или прилагането на антикоагуланти са демонстрирали смъртност от 13% при хирургичното лечение и съответно 14% при антикоагулантното лечение. За сравнение 36% е смъртността на пациентите с тромболиза. От друга страна, и трите метода

Cardiac thrombosis is most commonly detected by transthoracic or transesophageal echocardiography. Computed tomography and magnetic resonance imaging, on the other hand, provide additional information about the process, especially in the presence of large thrombotic masses involving both vena cava. With their help, emboli in the systemic and pulmonary circulation are diagnosed. Venous ultrasound is important for detecting the origin of embolism, as compression ultrasonography plays a major role (> 90% sensitivity and about 95% specificity) in the diagnosis of DVT. Currently, invasive phlebography is not used often, but has 100% diagnostic reliability.

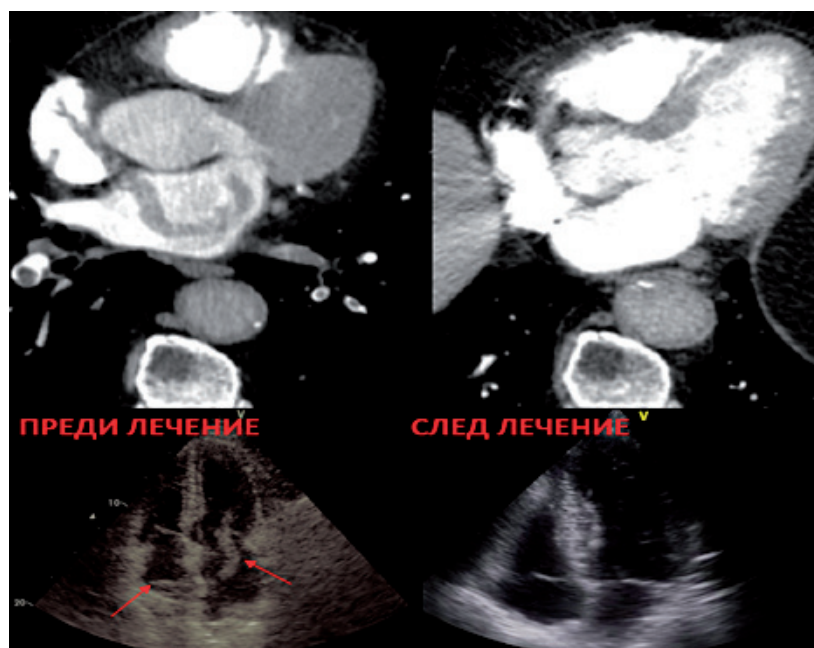
The treatment of multicavitary thrombosis involving the foramen ovale is a serious and unresolved problem. There are three main therapeutic approaches – operative, fibrinolytic or anticoagulant. Despite the large number of publications, there is no consensus on which treatment strategy is optimal. Each of them has its advantages and disadvantages and the choice is strictly individual. Anticoagulation is usually the method of choice in polymorbid patients at high operative and haemorrhagic risk. Disadvantages of anticoagulation and fibrinolysis are associated with complications such as bleeding, thrombus fragmentation leading to embolization, and haemorrhagic strokes. At the same time, surgical treatment and the use of extracorporeal circulation pose great risks for these patients. According to some authors [12, 13], surgical treatment is a more appropriate method due to the possibility of complete removal of the thrombotic masses and closure of the foramen ovale to prevent future paradoxical embolism. In a report summarizing 4 studies with a total of 87 patients with treated thrombus passing through the foramen ovale, surgical extraction or anticoagulant administration demonstrated mortality of 13% in surgical treatment and 14% in anticoagulant treatment, respectively. In comparison, 36% were mortality in patients with thrombolysis. On the other hand, the

са със сходна смъртност при пациенти с наличие на масивен тромбоемболизъм [14].

От извършения през 2010 г. систематичен литературен преглед на 154 проучвания Myers и сътр. не откриват значима разлика в преживяемостта между фибринолиза, тромбектомия или антикоагулация, въпреки че хирургичното лечение е свързано с по-малко емболични инциденти [15]. В научните бази данни фигурират множество научни статии с различни терапевтични препоръки. Подходът трябва да бъде строго индивидуален, вземащ предвид множество променливи, дефиниращи състоянието на пациента. Така например периперативният риск, видът и локализацията на тромба, наличието на различна по степен БТЕ, придружаващи заболявания и др. наклонят везните в една или друга посока. На базата на изложеното дотук става ясно, че вземането на терапевтично решение представлява сложен, комплексен и всеобхватен анализ на ползите и рисковете, предимствата и недостатъците на всеки един подход на лечение, индивидуализирайки го към конкретния пациент.

three methods had similar mortality in patients with massive thromboembolism [14].

From the performed in 2010. systematic literature review of 154 studies by Myers et al. did not find a significant difference in survival between fibrinolysis, thrombectomy or anticoagulation, although surgical treatment was associated with fewer embolic events [15]. Numerous scientific articles with various therapeutic recommendations appear in scientific databases. The approach must be strictly individual, taking into account many variables that define the patient's condition. For example, the perioperative risk, the type and location of the thrombus, the presence of varying degrees of PE, concomitant diseases, etc., tilt the scales in one direction or another. Based on the above, it is clear that making a therapeutic decision is a complicated, complex and comprehensive analysis of the benefits and the risks, the advantages and the disadvantages of each approach to treatment, individualizing it to the individual patient.



Фиг. 6. Обобщена фигура на СТ на сърце и трансторакална ехокардиография преди и след лечението. Стрелките показват мултикавитарната тромбоза преди лечението

Fig. 6. Summary of cardiac CT and transthoracic echocardiography before and after treatment. The arrows indicate multicavitary thrombosis before treatment

БИБЛИОГРАФИЯ / REFERENCES

1. <https://my.clevelandclinic.org/health/diseases/17326-patent-foramen-ovale-pfo>
2. <https://www.karger.com/Article/Fulltext/501028>
3. Aghasadeghi K, Mollazadeh R. A dumbbell thrombus entrapped in patent foramen ovale. Eur J Echocardiogr. 2008;9(1):155. doi: 10.1016/j.euje.2007.05.003.
4. Verma R, Gupta V. Swinging serpentine thrombus traversing patent foramen ovale. Mayo Clin Proc. 2010;85(6):504. doi:10.4065/mcp.2009.0671.
5. Nellessen U, Daniel WG, Matheis G, et al. Impending paradoxical embolism from atrial thrombus: correct diagnosis by transesophageal echocardiography and prevention by surgery. J Am Coll Cardiol. 1985;5:1002-1004.
6. Panidis IP, Kotler MN, Mintz GS, Ross J. Clinical and echocardiographic features of right atrial masses. Am Heart J. 1984;107:745-758.
7. Koutroulou I, Tsigoulis G, Tsalikakis D, Karacostas D, Grigoriadis N, Karapanayiotides T. Epidemiology of Patent Foramen Ovale in General Population and in Stroke Patients: A Narrative Review. Front Neurol. 2020;11:281. Published 2020 Apr 28. doi:10.3389/fneur.2020.00281
8. Fowkes FJ, Price JF, Fowkes FG. Incidence of diagnosed deep vein thrombosis in the general population: systematic review. Eur J Vasc Endovasc Surg. 2003;25:1-5.
9. Girard P, Decousus M, Laporte S, et al; PREPIC Study Group. Diagnosis of pulmonary embolism in patients with proximal deep vein thrombosis: specificity of symptoms and perfusion defects at baseline and during anticoagulant therapy. Am J Respir Crit Care Med. 2001;164(6):1033-1037. doi: 10.1164/ajrccm.164.6.2101045. PMID: 11587992.
10. Konstantinides S, Geibel A, Kasper W, et al. Patent foramen ovale is an important predictor of adverse outcome in patients with major pulmonary embolism. Circulation 1998;97:1946-1951.
11. Ward R, Jones D, Haponik EF. Paradoxical embolism. An underrecognised problem. Chest. 1995;108:549-558.
12. Bonvini RF, Robert-Ebadi H, Fontana P, et al. Impending paradoxical embolism. When and how to treat. Ann Cardiol Angeiol 2008; 57: 234-237.
13. Erkut B, Kocak H, Becit N, Senocak H. Massive pulmonary embolism complicated by a patent foramen ovale with straddling thrombus: report of a case. Surg Today. 2006;36:528-533.
14. Fauveau E, Cohen A, Bonnet N, et al. Surgical or medical treatment for thrombus straddling the patent foramen ovale: impending paradoxical embolism? Report of four clinical cases and literature review. Arch Cardiovasc Dis. 2008;101:637-644.
15. Myers PO, Bounameaux H, Panos A, et al. Impending paradoxical embolism. Systematic review of prognostic factors and treatment. Chest. 2010;137:164-170.

✉ *Адрес за кореспонденция:*
г-р Наталия Стефанова Дочева,
МБАЛ Сърце и мозък
ул. „Стефан Стамболов“ № 73
8000 Бургас,
тел.: 056 703 003
e-mail: natalia_do4eva@abv.bg

✉ *Contact Information:*
Dr Nataliya Stefanova Docheva
Heart and Brain Hospital
73, Stefan Stambolov Str.
BG – 8000 Burgas
tel.: +359 56 703 003
e-mail: natalia_do4eva@abv.bg

ИНСТРУКЦИИ КЪМ АВТОРИТЕ

Приемат се за публикуване: оригинални статии, обзори, клинични случаи, реферати, рецензии, кратки научни съобщения (писма до редактора и др). Първите три жанра са обект на рецензиране (със стандартизирани формуляри), а останалите подлежат на експертна преценка от страна на реколлегията.

Кореспондиращият автор посочва свои данни за контакт (електронен адрес, по желание – пощенски адрес и телефон) и декларира, че материалът не е публикуван досега, освен като резюме на съобщение, изнесено на научна проява, и не е предложен за публикация другаде. Авторите носят отговорност за съдържанието на публикациите. Представените материали и описанията в тях изследвания следва да съответстват на утвърдените **етични стандарти** относно провеждането на клинични и/или експериментални проучвания с хора (декларацията от Хелзинки) и опитни животни. Не трябва да се споменават пациенти с техните имена, инициали или да се предоставя снимков материал, на който те могат да бъдат разпознати. Съблюдава се стриктното спазване на авторското право – текстове с над 10% дословно повторение на чужда публикация се връщат за преработка.

Обем (приблизителен) на предлаганите публикации:

Вид публикация	Брой гуми в основния текст	Брой гуми в резюмето	Брой референци
Оригинална статия	2500-5000	200-300	30
Обзор	3000-6000	100-200	50
Клиничен случай	1000-3000	100-200	20
Кратко научно съобщение, реферат, рецензия	500-1000	–	10

Приемат се файлове на програма **MS Word**. Няма специфични изисквания за размер и вид на шрифта, разстояние между редовете, полета и друго оформление.

Всяка статия започва със **заглавие** (без съкращения), имена на авторите (без посочване на академични и други титли), тяхната месторабота, обозначена с цифров индекс, резюме в посочения обем, ключови гуми. Статията се подава и преведена на английски език, като английският превод е след българския текст в един общ файл. В **резюмето** на всяка оригинална статия се посочват: цел и обект на изследването, основни данни за методиката, резултати и изводи. Резюметата към другите видове статии включват кратка информация без обособена структура. **Ключовите гуми** за всеки вид публикация са между 3 и 8 на брой, като могат да бъдат единични гуми или кратки словосъчетания, общоприети в конкретната област на познание.

Цитиранията на **библиографските източници** в текста се обозначават с цифри в квадратни скоби по реда на появата им. **Библиографията** се подрежда по реда на поява на източниците в текста. Изписването на всеки източник е на нов ред с арабска номерация. Данните се оформят по следния начин (Ванкувър стил):

– **Статии:** Автор(и). Заглавие на статията. Заглавие на списанието (съкратено по Index Medicus), година, том (volume), номер на книжката (брой) в скоби, страници (от-до). *Пример: Yakub YN, Freedman RB, Pabico RC. Renal transplantation in systemic lupus erythematosus. Nephron, 2019, 27(1):197-201.*

– **Публикации от сборник:** Автор(и). Заглавие. В: (за латиница In:) Заглавие на сборника. Поредност на изданието, редактори. Местоиздаване (град), издателство, година на издаването, страници (от-до). *Пример: Wilkinson AH. Evaluation of the transplant recipient. In: Handbook of Kidney Transplantation. 6th ed. G. M. Danovitch (Ed.). Boston, Little, Brown and Co., 2019, 109-122.*

– **Книги:** Автор(и). Заглавие. Местоиздаване (град), издателство, година на издаването, страници (от-до). *Пример: Шейтанов Й. Системни васкулити. С., Мед. и физк., 2019, 8-11.*

Ако авторите са до трима, се изписват фамилията, последвани от инициалите им (без точки). Когато авторите са повече от трима, след името на третия се пише „и др.“ (за латиница – „et al.“). Настойчиво се препоръчва цитирането (познаването) и на български източници.

Материалите се изпращат през сайта: <https://cardiojournal.eu/index.php/journal>

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

The following genre types are accepted for publishing: original articles, re-views, clinical case reports, reference papers, book reviews, short communication papers (letters to the editor, etc.). The first three genres are subject to peer review (with standardized forms), and the rest are submitted to expert evaluation on behalf of the editorship.

Corresponding author shows contact data (e-mail, optionally – postal address and telephone) and declares that the material has not been published previously, except in the form of an abstract for a scientific event, and has not been submitted to other journal. Authors assume the responsibility for the contents of their publications. Presented papers and the studies described in them should comply with the established **ethical standards** on performance of the clinical and/or experimental studies on human subjects (the Helsinki Declaration) and experimental animals. Patients must not be referred by names and initials, and images on which they can be identified must not be presented. Authors must warrant that they submit for publication their own studies and in case different author's data and/or text are used, these are specified by citations. Strict adherence to copyright issues is maintained – texts including more than 10% of literal replication of different publication are returned for reprocessing.

Volume (approximately) of submitted papers:

Type of publication	Word count in the main text	Word count in the abstract	Number of references
Original article	2500-5000	200-300	30
Review	3000-6000	100-200	50
Clinical case report	1000-3000	100-200	20
Short communication, reference paper, review	500-1000	–	10

MS Word files are acceptable. No specific requirements on the font size and type, spacing, margins and other formatting are defined.

An article starts with the title (without abbreviations), the names of authors (without academic or other titles), their workplaces designated by numeric indices, abstract, key words. **Title** of a scientific paper, irrespective of its genre determination, should attract the attention, be understandable, short, and exact – it represents the study object. A subtitle can be prepared for extended informativeness. The article also must be submitted translated into English, as the English translation is after the Bulgarian text (in a common file). **Abstract** contains the specific features of the study in a concise manner – aim/subject matter, methods used, main results and findings. It is distributed also through secondary informational titles (data bases), i.e. it should include the main elements of the scientific contribution. It should not contain either citation or illustrative material, or abbreviations, which can be precluded. **Key words** are used for topical categorization of a paper in data bases (and other secondary titles) and related search in inquiries. The objective of the author is to propose the most significant concepts of his work in a synthetic manner. Key words to any kind of publication range between 3 and 8; they can be single words or short word-groups, which are commonly accepted in the specific area of knowledge.

The list of literature references at the end of the work has to embrace only the publications virtually used and required to delineate the basis, on which the study is designed. Avoid presenting abundant references at the account of their up-to-dateness. Minimize self-citation. Citing (familiarity with) Bulgarian sources is strongly recommended, too.

Citation of bibliographic references within the text is designated by numbers in square brackets following the order of appearance. Bibliography is arranged following the order of appearance of the sources within the text. Each source is written in a new line, with an Arabic number. Sources are structured in the following manner:

– *Articles*: Author(s). The article title. Journal title (abbreviated under the Index Medicus), year, volume, number (issue) in round brackets, pages (from-to). *Example: Yakub YN, Freedman RB, Pabico RC. Renal transplantation in systemic lupus erythematosus. Nephron, 2019, 27(1):197-201.*

– *Papers from an edited book*: Author(s). Title. In: The edited book title. Edition number, editors. Place of publication (city), publishing house, year of publication, pages (from-to). *Example: Wilkinson AH. Evaluation of the transplant recipient. In: Handbook of Kidney Transplantation. 6th ed. G. M. Danovitch (Ed.). Boston, Little, Brown and Co., 2019, 109-122.*

– *Books*. Author(s). Title. Place of publication (city), publishing house, year of publication, pages (from-to). *Example: Sheytanov Y. Systemic Vasculitis. Sofia, Medicina i Fizkultura, 2019, 8-11.*

In cases of not more than three authors, their surnames followed by their initials (without periods) are written. In cases of more than three authors, "et al." is written after the name of the third author. For translated books, also the original book language and the translator are written.

The materials have to be sent by site: <https://cardiojournal.eu/index.php/journal>