

## MUTATION g.20210 G<A DU GÈNE DE LA PROTHROMBINE

### DEFINITION

Le polymorphisme du gène de la prothrombine associé à une thrombophilie héréditaire modérée correspond au remplacement d'une guanine par une adénine en position 20210, c'est-à-dire dans la région 3' non codante du gène de la prothrombine ou facteur II.

**Synonymes :** mutation ou variant ou polymorphisme 20210 G>A du facteur II ; mutation G20210A, mutation ou variant 20210 G>A de la prothrombine.

### BIOPATHOLOGIE

Le polymorphisme n'a pas de retentissement sur un test biologique fonctionnel spécifique. Il se traduit par un taux de prothrombine plasmatique en moyenne plus élevé (il existe toutefois un chevauchement des valeurs entre les porteurs et les non porteurs du polymorphisme).

### INDICATION DU DOSAGE

La recherche de la mutation g.20210 G>A du gène de la prothrombine est indiquée dans un bilan étiologique de thrombose veineuse profonde/embolie pulmonaire, en première ou deuxième intention. Elle est discutée chez les patientes ayant des fausses couches à répétition.

### RECOMMANDATIONS PREANALYTIQUES

#### ■ PRELEVEMENT – CONSERVATION - TRANSPORT

Se reporter au référentiel des examens de biologie médicale Biomnis en ligne pour les conditions de prélèvement et conservation-transport.

NB : ce test n'est pas influencé par les traitements anticoagulants.

#### ■ RENSEIGNEMENTS INDISPENSABLES

Cette prescription doit avoir lieu légalement dans le cadre d'une consultation médicale individuelle effectuée par un médecin travaillant au sein d'une équipe multidisciplinaire.

Joindre obligatoirement à la demande d'examen, l'attestation de consultation, conformément à l'article R. 1131-19 (décret n° 2008-321 du 4 avril 2008). Cette attestation certifie qu'il y a eu information et consentement du patient. Un double est joint au dossier médical de la personne.

### TECHNIQUES

#### Recherche du variant 20210 G>A du facteur II par biologie moléculaire :

Après extraction de l'ADN génomique, la recherche du variant 20210 G>A de la prothrombine est fondée sur l'amplification par PCR (*polymerase chain reaction*) d'une région du gène de la prothrombine ciblant l'anomalie moléculaire. Les modalités opératoires permettant de mettre en évidence la mutation à partir du produit de PCR sont diverses.

#### Technique de PCR-RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*)

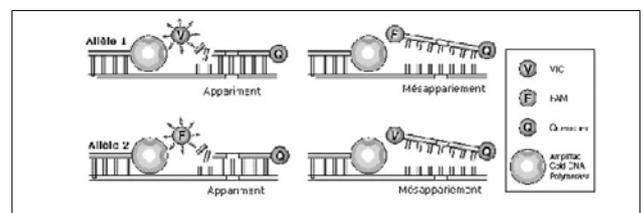
Les produits d'amplification sont soumis à une digestion enzymatique par une enzyme de restriction dont l'action s'exerce en fonction de la présence ou de l'absence de la mutation recherchée. Les fragments d'ADN obtenus par amplification et par digestion enzymatique sont séparés par électrophorèse en fonction de leur poids moléculaire et donc de leur longueur.

#### Technique de PCR en temps réel

L'amplification des séquences cibles du gène de la prothrombine peut être réalisée à l'aide de deux sondes TaqMan R-MGB, l'une spécifique de l'allèle normal (ou sauvage) et l'autre spécifique de l'allèle muté. Chaque sonde porte à son extrémité 5' un fluorochrome spécifique dont la fluorescence est inhibée par un «quencher» fixé à son extrémité 3'.

L'activité 5'nucléotidase de la Taq-polymérase permet le clivage du fluorochrome uniquement à partir de la sonde hybridée et l'émission de fluorescence par le fluorochrome ainsi libéré de l'influence du «quencher».

La PCR en temps réel est réalisée avec une lecture en point final de la fluorescence émise par les fluorochromes FAM et VIC, spécifiquement de l'allèle sauvage et de l'allèle muté.



– Traitement des produits d'amplification à l'aide d'endonucléases de restriction (méthode de **PCR-RFLP** pour *PCR-restriction fragment length polymorphism*).

– Amplification des formes alléliques sauvage et mutée à l'aide d'amorces spécifiques (**PCR-SSP** pour *PCR sequence-specific primers*) ou modifiées (**PCR-ARMS** pour *PCR-amplification-refractory mutation system*).

– Révélation du produit d'amplification à l'aide de sondes spécifiques des formes alléliques sauvage et mutée (**PCRASO** pour *PCR-allele-specific oligonucleotide*).

- PCR en milieu homogène (ou **PCR temps réel**) fondée sur la détection d'un signal de fluorescence (sondes d'hydrolyse, sondes en tandem, balises moléculaires, sondes scorpions, amorces fluorescentes).
- Traitement des produits d'amplification par extension d'amorce (**miniséquençage** ou *SNaPshot*, *Single base extension ELISA*).
- Des méthodes «multiplex» sont disponibles pour la recherche conjointe de la mutation 1691 G>A du facteur V Leiden et le variant 20210 G>A de la prothrombine.

Une méthode d'hybridation moléculaire avec amplification d'un signal fluorescent (absence d'amplification d'ADN par PCR) fondée sur la technologie Invader® est applicable au génotypage du variant g.20210 G>A de la prothrombine.

### EXPRESSION DES RESULTATS

La mutation g.20210 G>A de la prothrombine est trouvée absente ou présente, à l'état hétérozygote ou homozygote.

### VARIATIONS PATHOLOGIQUES

La fréquence de cette variation du gène est de 2 % dans la population générale d'origine caucasienne et de 7 % chez les patients ayant un antécédent thromboembolique veineux. Il existe un gradient de répartition Sud/Nord avec une fréquence plus élevée en Espagne que dans le nord de l'Europe. Le risque de thrombose associé à cette variation génétique est modéré. Présent à l'état hétérozygote, le polymorphisme confère un risque relatif de maladie thromboembolique veineuse de l'ordre de 3. Chez les homozygotes, le risque est multiplié par un facteur compris entre 5 et 10.

Les manifestations cliniques, de type thrombose veineuse profonde et/ou embolie pulmonaire, surviennent spontanément ou en présence d'un facteur favorisant (allongement prolongé, contraception œstroprogestative, grossesse...), chez l'adulte jeune (dès l'adolescence) ou moins jeune (après 40 ans). Cette mutation a également été proposée comme facteur de risque de thrombose artérielle, mais les résultats des différentes études réalisées sont discordants. De nombreuses associations de la mutation g.20210 G>A de la prothrombine avec d'autres anomalies congénitales ont été décrites, notamment avec la mutation facteur V Leiden. Dans tous les cas, le risque thrombotique est plus élevé chez les patients présentant des anomalies combinées.

- Morange P.E., *Mutation 20210A du facteur II*, Encycl Med Biol, Elsevier, Paris, 2003.
- Pernod G., Biron-Andreani C., Morange P-E., et al, Quand faire un bilan de thrombophilie ? La Revue du Praticien 2009 ;59 :1044-1046.
- Oukkach B., Igala M., Lamchahab M., Dehbi H., Faez S., Nadifi S., Benchekroun S., *Fausse couches à répétition et mutation 20210GA de la prothrombine*, Ann Biol Clin 2013 ; 71 (1) :96-98.

### POUR EN SAVOIR PLUS

- *Logiciel d'autoformation des biologistes en hémostase*, CDRom Bioforma 2004.