

## MUTATION FACTEUR V LEIDEN RESISTANCE A LA PROTEINE C ACTIVEE

### DEFINITION

La résistance à la protéine C activée (RPCa) reflète dans 90 à 95 % des cas, une mutation unique sur le gène codant le facteur V de la coagulation : on parle alors de Facteur V Leiden, du nom de la ville où l'anomalie a été découverte. Cette mutation conduit au remplacement en position 506 d'une arginine par une glutamine (R506Q), ce qui affecte l'un des sites de clivage du facteur V par la protéine C activée (PCa), inactivant alors son substrat de façon moins efficace. En pratique, le facteur V Leiden perd sa fonction de cofacteur du système de la protéine C, c'est-à-dire d'un système inhibiteur de la coagulation ; en revanche, il conserve ses propriétés procoagulantes. Les autres cas de RPCa sont acquis ou en rapport avec une ou d'autres mutation(s).

**Synonymes :** mutation 1691G > A ; mutation R506Q ; mutation Q506 ; Facteur V Leiden, FVL.

### BIOPATHOLOGIE

La mutation FV Leiden entraîne une hypercoagulabilité par deux mécanismes. Le remplacement d'une arginine par une glutamine en position 506 entraîne la perte du site de clivage par la protéine C activée (PCa), sur le FV et sur le FVa. Il en résulte un défaut d'inactivation du FVa par la PCa et une perte de l'activité cofacteur de la PCa du FV.

En outre, le FV Leiden ne peut plus agir comme cofacteur de la PCa (en présence de phospholipides, de calcium et de protéine S) pour inactiver le facteur Va, majorant l'amplification de la coagulation.

### INDICATIONS DU DOSAGE

La recherche de la mutation FV Leiden par PCR (diagnostic de certitude) est indiquée, éventuellement après un test de dépistage phénotypique (résistance à l'action anticoagulante de la protéine C activée, RPCA) rendu spécifique du FV par dilution du plasma en plasma déficitaire en FV, dans les situations suivantes :

- chez un sujet (cas index) âgé de moins de 60 ans ayant fait un premier épisode thrombo-embolique veineux spontané (thrombose veineuse profonde proximale et/ou embolie pulmonaire), ou chez une femme en âge de procréer, que l'épisode soit spontané ou provoqué. Le bilan de thrombophilie est également indiqué en cas de récurrence de TVP proximale et/ou EP, provoquée ou non, après un premier épisode survenu avant l'âge de

60 ans et en cas de récurrence de TVP distale non provoquée dont le premier épisode est survenu avant 60 ans.

- dans le cadre d'études familiales, cette recherche s'effectue éventuellement chez les apparentés du premier degré, en cas de mutation FVL homozygote ou FVL-FII hétérozygote composite mise en évidence chez le cas index. En cas de diagnostic de FVL à l'état hétérozygote, il est recommandé de n'envisager l'étude familiale que chez les femmes en âge de procréer et après information claire sur les conséquences éventuelles (contraception, grossesse, etc.). La recherche de la mutation FVL avant prescription d'une contraception orale oestrogénique chez une jeune fille, ou avant une grossesse, si une mutation FVL hétérozygote est mise en évidence chez le cas index, est discutable et à envisager au cas par cas.

### RECOMMANDATIONS PREANALYTIQUES

#### PRELEVEMENT

- **RPCa test de dépistage :** plasma prélevé sur citrate à la concentration de 3,2 % (0,109 M) au 1/10 (0,5 ml pour 4,5 ml de sang). Les tubes citratés à 3,8 % (0,129 M) sont acceptés. Le sang peut également être recueilli sur tube CTAD (citrate, théophylline, adénine, dipyridamole). Tout autre anticoagulant doit être proscrit. Les conditions de prélèvement sont celles générales des tests d'hémostase. Se référer à la fiche «Conditions pré-analytiques générales en hémostase».

- **Recherche de la mutation facteur V Leiden par biologie moléculaire :** sang total prélevé sur EDTA.

#### RENSEIGNEMENTS INDISPENSABLES

##### RPCa test de dépistage :

Précisez les traitements anticoagulants en cours : un traitement héparinique peut interférer avec le test. La méthode de Dahlbäck modifiée, actuellement utilisée, n'est pas influencée par les traitements antivitamines K. La recherche d'une RPCa peut être faussée sous traitement par dabigatran ou rivaroxaban.

##### Recherche de la mutation facteur V Leiden par biologie moléculaire :

Cette prescription doit avoir lieu 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.145-15-5 du décret 2000-570 du 23 juin 2000. Cette attestation certifie qu'il y a eu information et consentement du patient. Un double est joint au dossier médical de la personne.

Ce test n'est pas influencé par les traitements anticoagulants.

## ■ CONSERVATION ET TRANSPORT

### ■ RPCa test de dépistage :

- En cas de dosage différé, congeler dans les 2 heures suivant le prélèvement.
- Conservation du plasma 2 semaines à – 20 °C et 6 mois à – 80 °C.
- Transport : plasma congelé.

### ■ Recherche de la mutation facteur V Leiden par biologie moléculaire :

- Conservation du prélèvement 24 heures à température ambiante (15 -20 °C).
- L'ADN extrait et purifié se conserve plusieurs mois à - 70 °C.
- Transport à température ambiante ou à + 4 °C (si > 24 h).

## METHODES DE DOSAGE

### ■ Test de dépistage RPCa

Mesure chronométrique fondée sur la mesure du TCA. Le test initialement mis au point par Dahlbäck consiste à mesurer le TCA du patient en présence et en l'absence de protéine C activée exogène en quantité standardisée. La résistance à la PCa se traduit par un défaut d'allongement du TCA en présence de PCa purifiée. Ce test est peu spécifique et ne peut être utilisé chez les patients traités par antivitamines K.

Les tests utilisés aujourd'hui sont des tests modifiés (tests de seconde génération) avec dilution du plasma à étudier dans du plasma déficitaire en facteur V. Plus spécifiques de la mutation Leiden du facteur V, ils permettent le dépistage de l'anomalie chez les patients traités par AVK. La plupart des tests permettent aussi les mesures de RPCa chez les patients traités par héparine car les réactifs contiennent des inhibiteurs du médicament.

Il existe d'autres méthodes utilisant des venins de serpent pour activer le facteur V en présence de PCa.

### ■ Recherche de la mutation 1691G > A du facteur V Leiden par biologie moléculaire

Après extraction de l'ADN génomique, la recherche de la mutation 1691G > A du facteur V Leiden (R506Q) est fondée sur l'amplification par PCR (*polymerase chain reaction*) d'une région du gène du facteur V ciblant l'anomalie moléculaire. Les modalités opératoires permettant de mettre en évidence la mutation à partir du produit de PCR sont diverses, on peut citer :

- traitement des produits d'amplification à l'aide d'endonucléases de restriction (méthode de **PCR-RFLP** pour *PCR-restriction fragment length polymorphism*) ;
- amplification de la forme allélique 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 de la forme allélique sauvage et mutée (**PCR-ASO** 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 scorptions, 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 1691G > A du facteur V Leiden et le variant 20210G > A du facteur II ;

- une méthode d'hybridation moléculaire avec amplification d'un signal fluorescent (absence d'amplification d'ADN par PCR) fondée sur la technologie Invader® est également disponible pour le génotypage du facteur V et du variant facteur II.

## EXPRESSION DES RESULTATS - VALEURS DE REFERENCE

### ■ Test de dépistage RPCa

Le résultat est habituellement exprimé sous la forme d'un rapport du résultat du patient sur le résultat d'un pool normal ou d'un plasma lyophilisé normal (ratio normalisé). Les valeurs normales dépendent de l'automate et du réactif utilisés.

### ■ Recherche de la mutation facteur V Leiden par biologie moléculaire

Elle est absente ou présente, à l'état homozygote ou hétérozygote. Cette mutation est retrouvée dans la population générale européenne chez environ 5 % des individus avec un gradient décroissant nord-sud (9,8 % en Alsace, 2,8 % à Toulouse). Elle n'est pas retrouvée en Afrique, Asie, Amérique du nord ou Australie.

## VARIATIONS PATHOLOGIQUES

– L'interprétation d'un test RPCa est difficile en présence d'un anticoagulant circulant de type lupus et chez les patients ayant un déficit en facteur V (taux < 50 %).

Dans environ 90 % des cas, une résistance à la PCa correspond à la mutation facteur V Leiden (confirmée par le test de biologie moléculaire). Dans les autres cas, il s'agit d'une résistance à la PCa dite acquise (absence de mutation facteur V Leiden) : ces résistances peuvent être observées au cours de la grossesse, lors de la prise d'une contraception œstroprogestative ou dans certains cas de syndrome des antiphospholipides. Elles peuvent aussi correspondre à d'autres mutations sur le facteur V (facteur V Cambridge, facteur V Hong-Kong...);

Un test RPCa de première génération positif en l'absence de mutation facteur V Leiden est considéré comme un marqueur d'hypercoagulabilité.

– Le facteur V Leiden est actuellement l'anomalie constitutionnelle la plus fréquemment retrouvée chez les patients ayant des antécédents personnels et/ou familiaux de thromboses veineuses profondes (dans 10 à 20 % des cas).

La plupart des anomalies dépistées sont présentes à l'état hétérozygote et multiplient le risque thrombotique par un facteur 3 à 5. Chez les homozygotes, ce risque est multiplié par un facteur voisin de 50. 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).

En outre, de nombreuses associations de facteur V Leiden avec d'autres anomalies congénitales ont été décrites, notamment avec la mutation G 20210A du gène de la prothrombine. Dans tous les cas, le risque thrombotique est plus élevé chez les patients présentant des déficits combinés.

---

#### POUR EN SAVOIR PLUS

- Logiciel d'autoformation des biologistes en hémostase, CD-RomBioforma 2004.
  - Morange P.E., *Facteur V Leiden*, Encycl Med Biol, Elsevier, Paris, 2003.
  - Alhenc-Gelas M, Aillaud MF, Delahousse B *et al.* La recherche des facteurs biologiques de risque établis de maladie thrombo-embolique veineuse : état des connaissances et conséquences pour la pratique en biologie clinique. Sang Thrombose Vaisseaux 2009 ;21, n° spécial :12-39.
- 

biomnis – biomnis