



ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
AGRICULTURAL UNIVERSITY OF ATHENS

ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ- ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ «ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ»

Μεταπτυχιακή Εργασία

---

**ΜΕΛΕΤΗ ΣΤΟΝ ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ  
ΔΥΟ ΣΥΧΝΩΝ ΜΕΤΑΛΛΑΓΩΝ  
ΘΡΟΜΒΟΦΙΛΙΑΣ ΣΤΑ ΓΟΝΙΔΙΑ ΤΩΝ  
ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΠΗΞΕΩΣ II ΚΑΙ V**

---

**Αντωνία Γ. Αγγελοπούλου**

Αθήνα 2018

Επιβλέπων καθηγητής: **Κοσμίδης Νικόλαος**

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ- ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ «ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ»

Μεταπτυχιακή Εργασία

---

**ΜΕΛΕΤΗ ΣΤΟΝ ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ  
ΔΥΟ ΣΥΧΝΩΝ ΜΕΤΑΛΛΑΓΩΝ  
ΘΡΟΜΒΟΦΙΛΙΑΣ ΣΤΑ ΓΟΝΙΔΙΑ ΤΩΝ  
ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΠΗΞΕΩΣ II ΚΑΙ V**

---

**Αντωνία Γ. Αγγελοπούλου**

Αθήνα 2018

Επιβλέπων καθηγητής: **Κοσμίδης Νικόλαος**

Μεταπτυχιακή Εργασία

ΜΕΛΕΤΗ ΣΤΟΝ ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ ΔΥΟ ΣΥΧΝΩΝ ΜΕΤΑΛΛΑΓΩΝ  
ΘΡΟΜΒΟΦΙΛΙΑΣ ΣΤΑ ΓΟΝΙΔΙΑ ΤΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΠΗΞΕΩΣ II ΚΑΙ V

Αντωνία Γ. Αγγελοπούλου

**Επιβλέπων καθηγητής:**

**1) Επίκουρος Καθηγητής κ. Κοσμίδης Νικόλαος**

Εργαστήριο Γενετικής, Τμήμα Βιοτεχνολογίας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο  
Αθηνών

**Εξεταστική Επιτροπή:**

**2) Επίκουρος Καθηγητής κ. Κοσμίδης Νικόλαος**

Εργαστήριο Γενετικής, Τμήμα Βιοτεχνολογίας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο  
Αθηνών

**3) Επίκουρος Καθηγητής κ. Γιαπιτζάκης Χρήστος**

Α΄ Παιδιατρική Κλινική, Τμήμα Ιατρικής, Εθνικό και Καποδιστριακό  
Πανεπιστήμιο Αθηνών

**4) Επίκουρος Καθηγητής κ. Βλαχάκης Δημήτρης**

Εργαστήριο Γενετικής, Τμήμα Βιοτεχνολογίας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο  
Αθηνών

## Περίληψη

Η θρομβοφιλία είναι μια πολυπαραγοντική προδιάθεση για θρομβώσεις, με σημαντικές επιπτώσεις στην υγεία του 15% του ελληνικού πληθυσμού, όπως το αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, το έμφραγμα μυοκαρδίου και η θρομβοφλεβίτιδα. Επιπλέον, υπολογίζεται ότι περίπου τα δύο τρίτα των αυτόματων αποβολών του πρώτου τριμήνου της κύησης οφείλονται σε θρομβοφιλική προδιάθεση της εγκύου. Η θρομβοφιλία οφείλεται κυρίως σε κληρονομικά αίτια, δηλαδή σε μεταλλάξεις DNA σε γονίδια που κωδικοποιούν ορισμένους παράγοντες πήξεως του αίματος, σε συνδυασμό με άλλους παράγοντες περιβαλλοντικούς, διατροφικούς και συμπεριφορές. Δύο γονίδια, των οποίων οι μεταλλάξεις συμβάλλουν στην εμφάνιση της θρομβοφιλίας είναι ο παράγοντας πήξεως V (με πιο συχνή τη μεταλλαγή G1691A ή Leiden) και ο παράγοντας πήξεως II ή προθρομβίνη (με πιο συχνή τη μεταλλαγή G20210A).

Στη συγκεκριμένη διπλωματική, έγινε καταγραφή και ανάλυση περιστατικών θρομβοφιλίας που φέρουν τις προαναφερθείσες μεταλλάξεις στον ελληνικό πληθυσμό. Μελετήθηκαν δεδομένα 18ετούς μοριακής διερεύνησης των μεταλλαγών Leiden και G20210A σε άτομα που προσήλθαν για γενετικό έλεγχο θρομβοφιλίας. Τα δεδομένα αυτά αντλήθηκαν από αρχεία με τα ήδη υπάρχοντα κλινικά στοιχεία που είχε συλλέξει ο καθηγητής κ. Χρήστος Γιαπιτζάκης σε ιδιωτικά εργαστηριακά τμήματα στα οποία ήταν Διευθυντής. Από το 1999 μέχρι το 2008, οι εξετάσεις για την ύπαρξη των δύο μεταλλαγών έγιναν στο Διαγνωστικό Κέντρο «Βιοέρευνα» (Τμήμα Μοριακής Γενετικής), ενώ από το 2008 μέχρι και το 2017 οι εξετάσεις έγιναν στο Κέντρο Γενετικής «Κεφαλογενετική» (Τμήμα Μοριακής Γενετικής).

Εν συνεχεία, έγινε πληθυσμιακή στατιστική ανάλυση των δεδομένων ανάμεσα στους διαφόρους υποπληθυσμούς του δείγματος μας. Επιπλέον, το δείγμα των ασθενών κατηγοριοποιήθηκε σε 3 χάρτες της Ελλάδος χωρισμένους σε περιφέρειες, προκειμένου να φανεί πιθανή συσσώρευση των μεταλλαγών των δύο γονιδίων σε κάποια περιφέρεια της Ελλάδας.

Λέξεις κλειδιά: Θρομβοφιλία, Μηχανισμοί Θρόμβωσης, Γονιδιακοί Πολυμορφισμοί, Προθρομβίνη, Παράγοντας V, Πληθυσμιακή Γενετική, Οικογενειακό Ιστορικό, Ανεύρυσμα, Πρόληψη



## Abstract

Thrombophilia is a multifactorial predisposition for thrombosis, with significant health consequences for 15% of the Greek population, such as cerebrovascular disease, cerebral myocardium and thrombophlebitis. In addition, it is estimated that about two thirds of the first trimester abortions are due to a pregnant thrombophilic predisposition. Thrombophilia is mainly due to hereditary causes, for example, mutations or DNA polymorphisms in genes encoding certain blood coagulation factors, in combination with other environmental, nutritional and behavioral factors. Two genes, whose mutations lead to thrombophilia, are coagulation factor V (with more frequent mutation G1691A or Leiden) and coagulation factor II or prothrombin (with more frequent mutation G20210A).

In this thesis, there were recorded and analyzed cases of thrombophilia with the two mutation mentioned above in the Greek population. They studied 18-year data for molecular research of Leiden and G20210A mutations in genetic testing of thrombophilia. These data were drawn from records with the existing clinical data gathered by Professor Christos Yapijakis in private laboratory departments in which he was Director. From 1999 to 2008, examinations for the existence of the two mutations were done at the Diagnostic Center "Bioerevna" (Department of Molecular Genetics), and from 2008 to 2017 the examinations were performed at the Genetics Center "Cephalogenetics" (Department of Molecular Genetics).

Subsequently, a statistical analysis of the data was performed in order to have a statistically significant difference between the different subpopulations in our sample. In addition, the sample of patients was categorized into three maps of Greece, divided into regions, in order to ascertain the possible accumulation of changes of the two genes in a certain region of Greece.

Key words: Thrombophilia, Mechanism of, Thrombosis, Gene Polymorphisms, Prothrombin, Factor V, Population Genetics, Family History, Aneurysm, Prevention

## Περιεχόμενα

1	Εισαγωγή .....	8
1.1	Πληθυσμιακή Γενετική στην Ιατρική .....	8
1.2	Κλινική Γενετική .....	14
1.3	Πολυπαραγοντική κληρονομικότητα.....	17
1.4	Αίμα και ο μηχανισμός πήξης του .....	22
1.5	Θρομβοφιλία .....	28
1.6	Στατιστικές μέθοδοι ανάλυσης ιατρικών δεδομένων .....	53
1.7	Προστασία προσωπικών δεδομένων.....	55
2	Μέθοδοι.....	56
2.1	Συλλογή στοιχείων.....	56
2.2	Επεξεργασία δεδομένων .....	58
3	Αποτελέσματα .....	60
3.1	Ισορροπία Hardy- Weinberg στο δείγμα .....	61
3.2	Στατιστική ανάλυση με την μέθοδο Fisher.....	65
3.3	Κατανομή του δείγματος .....	93
4	Συζήτηση .....	99
	Βιβλιογραφία .....	102

# 1 Εισαγωγή

## 1.1 Πληθυσμιακή Γενετική στην Ιατρική

Η Πληθυσμιακή Γενετική είναι ένας κλάδος της Γενετικής και της εφαρμοσμένης Βιολογίας. Αντικείμενο μελέτης της είναι το γενετικό προφίλ των πληθυσμών (Λουκάς, 2003). Η ανάλυση των εκάστοτε δεδομένων γίνεται με τις συχνότητες των γονιδίων και των γονοτύπων, καθώς και με τους μηχανισμούς οι οποίοι τροποποιούν την γενετική δομή των πληθυσμών (φυσική επιλογή, γενετική μετάλλαξη, γενετική παρέκκλιση, γονιδιακή ροή) (Ewens, 2004; Servedio et al., 2014).

Μια από τις πιο σημαντικές έννοιες της πληθυσμιακής γενετικής είναι η ισορροπία Hardy- Weinberg (Crow, 1999; Hardy, 1908; Weinberg, 1908), η οποία έχει περιγραφεί ανεξαρτήτως από τον Άγγλο μαθηματικό G.H. Hardy και τον Γερμανό ιατρό W.Weinberg το 1908 για να ερμηνεύσει την ύπαρξη υπολειπόμενων χαρακτηριστικών στον πληθυσμό και την μη αυτόματη αντικατάστασή τους από τα κυρίαρχα χαρακτηριστικά. Η ισορροπία Hardy- Weinberg εξηγεί μεταξύ άλλων γιατί σε ένα μεγάλο πληθυσμό με τυχαίες συζεύξεις οι συχνότητες των αλληλομόρφων δεν αλλάζουν με το πέρασμα των γενεών, καθώς και πως καθορίζονται οι συχνότητες των γονοτύπων για οποιοδήποτε γενετικό τόπο, από τις σχετικές συχνότητες σε αυτό το γενετικό τόπο (Masel, 2012; Wigginton et al., 2005).

### *I. Νόμος Hardy- Weinberg σε αυτοσωμικό γονίδιο με δύο αλληλομόρφους*

Έστω ότι οι αλληλόμορφοι A και a του γονιδίου X (A, a) έχουν συχνότητα p και q αντίστοιχα ( $p+q=1$ ) και ότι οι συχνότητες των αλληλομόρφων A και a στα δύο φύλλα είναι ίσες. Τα αποτελέσματα του τυχαίου συνδυασμού των γαμετών δίνονται στον παρακάτω πίνακα:

$\begin{matrix} \diagdown & \text{♂} \\ \text{♀} & \end{matrix}$	A	A
	p	q
A p	AA $p^2$	Aa pq
a q	Aa pq	aa $q^2$



Στην επόμενη γενιά, οι γονότυποι AA, Aa και aa, που προκύπτουν από τυχαίο συνδυασμό των γαμετών, έχουν συχνότητες  $p^2$ ,  $2pq$  και  $q^2$  αντίστοιχα.

Επιπλέον, η τυχαία διασταύρωση των γονοτύπων οδηγεί στις ίδιες συχνότητες των ζυγωτών όπως και ο τυχαίος συνδυασμός των γαμετών. Τα αποτελέσματα του τυχαίου συνδυασμού των γονοτύπων δίνονται στον ακόλουθο πίνακα. (Ορίζονται ως D, H και R οι συχνότητες των γονοτύπων AA, Aa και aa αντίστοιχα.)

♀ \ ♂	AA D	Aa H	aa R
AA D	AA: $D^2$	AA: $(1/2)DH$ Aa: $(1/2)DH$	Aa: DR
Aa H	AA: $(1/2)DH$ Aa: $(1/2)DH$	AA: $(1/4)H^2$ Aa: $(1/2)H^2$ aa: $(1/4)H^2$	Aa: $(1/2)HR$ Aa: $(1/2)HR$
aa R	Aa: DR	Aa: $(1/2)HR$ aa: $(1/2)HR$	aa: $R^2$

Συχνότητα απογόνων AA:  $D^2 + (1/2)DH + (1/2)DH + (1/4)H^2 = (D + (1/2)H)^2 = p^2$

Συχνότητα απογόνων aa:  $(1/4)H^2 + (1/2)HR + (1/2)HR + R^2 = (R + (1/2)H)^2 = q^2$

Συχνότητα απογόνων Aa:  $(1/2)DH + DR + (1/2)DH + (1/2)H^2 + (1/2)HR + DR + (1/2)HR = H(D + (1/2)H) + 2R(D + (1/2)H) = 2(R + (1/2)H) * (D + (1/2)H) = 2pq$

Οι συχνότητες  $p^2$ ,  $q^2$  και  $2pq$  των γονοτύπων AA, aa και Aa αντίστοιχα, σε μεγάλους τυχαία διασταυρούμενους πληθυσμούς, αποτελούν τον νόμο του Hardy-Weinberg (Guo and Thompson, 1992).

Τύπος διασταύρωσης	Συχνότητα διασταύρωσης	Συχνότητες απογόνων		
		AA	Aa	aa
AA X AA	$p^4$	$p^4$		
AA X Aa	$4p^3q$	$2p^3q$	$2p^3q$	
Aa X Aa	$4p^2q^2$	$p^2q^2$	$2p^2q^2$	$p^2q^2$
AA X aa	$2p^2q^2$		$2p^2q^2$	
Aa X aa	$4pq^3$		$2pq^3$	$2pq^3$
aa X aa	$q^4$			$q^4$
Σύνολο	1.00	$p^2$	$2pq$	$q^2$

Πίνακας 1: Συχνότητες απογόνων για γονίδιο με δύο αλληλομόρφους σε πληθυσμό που βρίσκεται σε ισορροπία H-W.

Τρεις από τις πιο σημαντικές ιδιότητες των πληθυσμών που βρίσκονται σε ισορροπία Hardy- Weinberg είναι οι εξής:

*Η συχνότητα των ετεροζυγωτών ατόμων δεν υπερβαίνει την τιμή 0,5.*

Από την ιδιότητα αυτή προκύπτει ότι η συχνότητα H (των γονοτύπων Aa) μπορεί να είναι μεγαλύτερη και από την συχνότητα R (των γονοτύπων aa), όχι όμως από το άθροισμα D+R (των γονοτύπων AA και aa αντίστοιχα).

*Η συχνότητα των ετεροζυγωτών είναι διπλάσια της τετραγωνικής ρίζας του γινομένου των συχνοτήτων των δύο ομόζυγων γονοτύπων.*

Αυτή η ιδιότητα μπορεί να χρησιμοποιηθεί και ως δοκιμασία ελέγχου της ισορροπίας Hardy- Weinberg ενός πληθυσμού. Το πλεονέκτημα της έγκειται στο ότι ο λόγος  $H/\sqrt{DR}=2$  είναι ανεξάρτητος από τις συχνότητες των αλληλομόρφων.

*Όταν ένα αλληλόμορφο έχει πολύ μικρή συχνότητα, τότε φέρεται σχεδόν αποκλειστικά από τα ετερόζυγα άτομα του πληθυσμού.*

Όσο μικρότερη είναι η τιμή του q, τόσο μεγαλύτερη είναι η τιμή του λόγου H/R. Επίσης, όταν η συχνότητα  $q \rightarrow 0$ , η συχνότητα  $p \rightarrow 1$  και επομένως η συχνότητα

$H=2pq \rightarrow 2q$ . Δηλαδή η συχνότητα των ετερόζυγων τείνει να γίνει διπλάσια της συχνότητας του σπάνιου αλληλομόρφου όσο μειώνεται η συχνότητα του τελευταίου.

## II. Εφαρμογές του νόμου Hardy- Weinberg στην Ιατρική

Η σημαντικότερη εφαρμογή του νόμου Hardy- Weinberg στην Ιατρική Γενετική είναι ο υπολογισμός της συχνότητας των αλληλομόρφων και της συχνότητας των ετεροζυγωτών φορέων σε ένα πληθυσμό, για τον οποίο η συχνότητα ενός χαρακτηριστικού είναι γνωστή. Παράδειγμα αυτής της εφαρμογής αποτελεί η συχνότητα εμφάνισης της κυστικής ίνωσης. Η κυστική ίνωση προσβάλλει περίπου 1/2000 ανθρώπους με προέλευση από τη Βόρεια και τη Κεντρική Ευρώπη. Ένα ποσοστό μεγαλύτερο του 4% του πληθυσμού που προέρχεται από την Βόρεια και την Κεντρική Ευρώπη είναι ετερόζυγοι για το αλληλόμορφο της κυστικής ίνωσης, το οποίο αποτελεί σημαντικό στοιχείο για την γενετική συμβουλή οικογενειών με κυστική ίνωση (Crow and Kimura, 1970; Hedrick, 1983).

Όπως προαναφέρθηκε, μια σημαντική ιδιότητα του νόμου Hardy- Weinberg για σπάνια υποτελή χαρακτηριστικά είναι ότι η συχνότητα των ετερόζυγων φορέων ( $2pq$ ) είναι σχεδόν η διπλάσια από τη συχνότητα του μεταλλαγμένου αλληλομόρφου ( $2q$ ), με συνέπεια ο αριθμός των ετερόζυγων φορέων στο πληθυσμό ( $2pq$ ) να είναι πολύ μεγαλύτερος από τον αριθμό των ομόζυγων προσβεβλημένων ατόμων ( $q^2$ ). Αυτός ο λόγος ( $2pq/q^2$ ) αυξάνεται καθώς μειώνεται η συχνότητα ( $q^2$ ) του νοσήματος (Πίνακας 2).

Συχνότητα αλληλομόρφου		Συχνότητα γονότυπου			Αναλογία ετεροζυγωτών προς ομοζυγώτες
A (p)	A (q)	AA (p <sup>2</sup> )	Aa (2pq)	Aa (q <sup>2</sup> )	Aa/aa (2pq/q <sup>2</sup> )
0.999	0.001	0.998	0.002	0.000001	2000
0.997	0.003	0.994	0.006	0.00001	600
0.993	0.007	0.986	0.014	0.00005	280
0.990	0.010	0.980	0.020	0.0001	198
0.978	0.022	0.956	0.043	0.0005	86
0.968	0.032	0.936	0.062	0.001	62
0.929	0.071	0.864	0.132	0.005	26
0.900	0.100	0.810	0.180	0.01	18

Πίνακας 2: Αποτελέσματα της συχνότητας των γονότυπων σε αναλογία ετεροζυγωτών προς ομοζυγώτες

Η παραπάνω ιδιότητα έχει σημαντικές εφαρμογές στα προγράμματα γενετικού ελέγχου.

Όσον αφορά τα φυλοσύνδετα στο X γονίδια, ο υπολογισμός των συχνοτήτων των αλληλομόρφων διαφέρει από εκείνον που ισχύει για τα αυτοσωμικά γονίδια, επειδή τα αρσενικά άτομα είναι ημιζυγώτες για τα φυλοσύνδετα στο X γονίδια, και έτσι η συχνότητα των προσβεβλημένων αρσενικών ατόμων είναι ίση με τη συχνότητα του μεταλλαγμένου αλληλομόρφου q.

### III. Απόκλιση από την ισορροπία Hardy- Weinberg

Η αρχή των Hardy- Weinberg ισχύει για παμμεικτικούς πληθυσμούς, δηλαδή πληθυσμούς όπου οι διασταυρώσεις είναι ανεξάρτητες από τον γονότυπο και τον φαινότυπο των ατόμων ή όπου η πιθανότητα που έχει ένα τυχαίο άτομο του πληθυσμού να διασταυρωθεί με ένα άτομο ορισμένου γονότυπου είναι ίση με τη συχνότητα του ορισμένου γονότυπου στον πληθυσμό. Στη συνέχεια αναφέρονται

μερικοί παράγοντες που διαφοροποιούν τις γονιδιακές συχνότητες από αυτές των Hardy- Weinberg(Kendler and Kidd, 1986; Kurnit et al., 1987).

## 1.2 Κλινική Γενετική

Στην Κλινική Γενετική γίνεται εστίαση στην πρόληψη ή/και την αποφυγή μιας γενετικής ασθένειας (Gelehrter and Collins, 1990). Σημαντικές έννοιές της είναι το οικογενειακό ιστορικό και η λήψη του, η γενετική συμβουλή και ο γενετικός πληθυσμιακός έλεγχος (Collins et al., 2003; Goldstein and Chikhi, 2002; Risch, 2000).

### *I. Οικογενειακό Ιστορικό*

Το οικογενειακό ιστορικό είναι ένα από τα πιο χρήσιμα εργαλεία στα χέρια των γιατρών που καλούνται να αντιμετωπίζουν ασθενείς με γενετικές ασθένειες. Αρχικά, παρέχει βοήθεια για να φτάσει κανείς στη σωστή διάγνωση. Επίσης, με την λήψη οικογενειακού ιστορικού γίνεται εφικτός ο καθορισμός μιας πρόγνωσης της μελλοντικής πορείας μια γενετικής ασθένειας. Η πιο σημαντική χρήση του οικογενειακού ιστορικού είναι η διάγνωση της γενετικής ασθένειας και η πρόληψη ή αποφυγή της κλινικής ασθένειας. Η σωστή ερμηνεία των πληροφοριών του οικογενειακού ιστορικού επιτρέπει να δοθεί γενετική συμβουλή σε άτομα ή οικογένειες με κίνδυνο καθώς και την πρόιμη διάγνωση και θεραπεία γενετικών ασθενειών. Συγκεκριμένα, επιτρέπει στο γιατρό να επικεντρώσει την παρέμβαση του σε ένα καθορισμένο μικρό πληθυσμό που βρίσκεται σε μεγάλο κίνδυνο (Bock and Collins, 1987; Cavalli-Sforza and Bodmer, 1971; Emery, 1986; McKusick, 1969).

Η λήψη οικογενειακού ιστορικού γίνεται με συγκεκριμένα προεξέχοντα σημεία, έτσι ώστε να μην είναι μακροσκελές αλλά πλήρες και βοηθητικό για τον γενετιστή. Αρχικά, γίνονται ερωτήσεις στον ασθενή σχετικές με το παρόν κλινικό πρόβλημα, με εξαίρεση ασθένειες που μπορούν να προληφθούν ή να θεραπευτούν (π.χ. στεφανιαία νόσο, πρόιμη εμφάνιση καρκίνου κτλ.) (Steinberg, 1983). Στη συνέχεια, διευκρινίζεται η κατάσταση υγείας, η ηλικία και σε περίπτωση θανάτου ή αιτία του στους συγγενείς πρώτου βαθμού με τον ασθενή (γονείς, αδέρφια και παιδιά). Σε περίπτωση μιας γνωστής γενετικής ασθένειας, γίνονται επιπλέον ερωτήσεις στους πληροφοριακούς συγγενείς (π.χ. σε φυλοσύνδετη στο X υποτελή ασθένεια, λαμβάνεται η κατάσταση υγείας των αρσενικών συγγενών της οικογένειας). Επιπρόσθετα, καταγράφεται η φυλετική ή εθνική προέλευση της οικογένειας διότι μερικές γενετικές ασθένειες εμφανίζουν εντυπωσιακές διαφορές στην συχνότητά τους σε διάφορες φυλετικές ομάδες (π.χ. ή νόσος Tay- Sachs, η δρεπανοκυτταρική

αναιμία, οι θαλασσαιμίες, η κυστική ίνωση). Εν τέλει, γίνεται ερώτηση για πιθανή αιμομιξία (παρόλο που είναι σπάνιο στην εποχή μας), ιδίως αν ένα άτομο είναι πιθανό να πάσχει από μια σπάνια αυτοσωμική υποτελή ασθένεια. (Valle, 1987; Weatherall, 1991)

### *I. Γενετική Συμβουλή*

Η αξία της γενετικής συμβουλής για ασθενείς και οικογένειες με γνωστές κληρονομικές ασθένειες αναγνωρίζεται ευρέως από την ιατρική κοινότητα (Gelehrter, 1983). Όμως, ο ρόλος της γενετικής καθοδήγησης και σε άλλα θέματα μπορεί να είναι εξίσου σημαντικός. Ενδείξεις για γενετική καθοδήγηση είναι η γνώση/ υποψία ύπαρξης κάποιας κληρονομικής ασθένειας σε έναν ασθενή ή μια οικογένεια, διάφορες συγγενείς γενετικές ανωμαλίες, η ανερμήνευτη πνευματική καθυστέρηση, η τεκνοποίηση σε προχωρημένη ηλικία για τις μητέρες, η έκθεση σε κάποιες πιθανές τερατογόνες ουσίες και η πιθανή αιμομιξία. Οι πληροφορίες που δίνονται στην γενετική συμβουλή σε έναν ασθενή είναι το μέγεθος του κινδύνου επανεμφάνισης παρόμοιου περιστατικού στην οικογένεια, το φορτίο της νόσου για τον ασθενή και την οικογένεια, τη δυνατότητα τροποποίησης είτε του φορτίου είτε του κινδύνου και τις αναμενόμενες μελλοντικές εξελίξεις (Edwards, 1988; Emery and Pullen, 1984; McKusick, 2007; Murphy and Chase, 1975).

### *II. Γενετικός πληθυσμιακός έλεγχος*

Ο πληθυσμιακός έλεγχος είναι θεμελιώδες τμήμα της καθιερωμένης ιατρικής περίθαλψης και γενικά έχει ως στόχο της πρώιμη διάγνωση των θεραπεύσιμων ασθενειών, αφού παρέχει την δυνατότητα να γίνονται συγκεκριμένες εξετάσεις σε ένα υποπληθυσμό του γενικού συνόλου (Freedman et al., 2004; Marchini et al., 2004; Morton and Collins, 1998). Στις περισσότερες γενετικές ασθένειες, ο γενετικός πληθυσμιακός έλεγχος γίνεται με στόχο την εύρεση ενός υποσυνόλου του πληθυσμού, για το οποίο πρέπει να γίνουν πιο ακριβείς διαγνωστικές εξετάσεις (Antonarakis, 1989; Kazazian, 1989; Landegren et al., 1988). Τα κύρια χαρακτηριστικά των αποτελεσματικών εξετάσεων ελέγχου είναι το χαμηλό κόστος, η χρησιμότητά τους σε μεγάλους πληθυσμούς και η ικανότητά τους στην επιλογή ενός υποσυνόλου του πληθυσμού, για το οποίο συνιστάται οι πιο λεπτομερείς διαγνωστικές εξετάσεις (Holtzman, 1988; Holtzman, 1989; Kerem et al., 1989; Kittles and Weiss, 2003; Scriver, 1985).





### 1.3 Πολυπαραγοντική κληρονομικότητα

#### *I. Πολυμορφισμός*

Πολυμορφισμός ορίζεται η εμφάνιση δύο ή περισσότερων γενετικά καθορισμένων διαφορετικών αλληλομόρφων σε ένα πληθυσμό. Πρακτικά ένας γενετικός τύπος θεωρείται πολυμορφικός, αν το σπάνιο αλληλόμορφο έχει συχνότητα τουλάχιστον 0.01. Περισσότερο από το 1/3 των γενετικών τύπων του ανθρώπου που έχουν μελετηθεί, έχει βρεθεί ότι είναι πολυμορφικοί. Παραδείγματα αποτελούν οι γενετικοί τύποι που κωδικοποιούν κοινές ομάδες αίματος, όπως είναι τα συστήματα ABO, MN και Rh, μια ποικιλία ερυθροκυτταρικών ενζύμων και πρωτεϊνών του ορού και τα κυτταρικά αντιγόνα που κωδικοποιούνται από το γενετικό τόπο του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας (Harris, 1980; Vogel and Motulsky, 1986).

Το εκτεταμένο φαινόμενο του πολυμορφισμού επιτρέπει πολλαπλούς συνδυασμούς αλληλομόρφων σε διαφορετικούς γενετικούς τύπους και συνεπώς, την τεράστια γενετική ποικιλομορφία και τη γενετική μοναδικότητα των ατόμων στον πληθυσμό.. Οι πολυμορφισμοί ως δείκτες γενετικής ποικιλομορφίας είναι επίσης πολύτιμα εργαλεία για τη χαρτογράφηση του ανθρώπινου γονιδιώματος. Οι πολυμορφισμοί DNA που επηρεάζουν τις θέσεις αναγνώρισης των ενζύμων περιορισμού είναι ιδιαίτερα πολύτιμοι.

#### *II. Πολυπαραγοντικές ασθένειες*

Η γενετική προδιάθεση στην ασθένεια θεωρείται ότι αντικατοπτρίζει τη συνδυασμένη δράση των πιθανά πολλαπλών γενετικών τύπων, που η συνεισφορά τους στο φαινότυπο ποικίλει. Πολυγονιδιακά χαρακτηριστικά ονομάζονται τα χαρακτηριστικά εκείνα (ή οι ασθένειες) που προκαλούνται από την επίδραση πολλών διαφορετικών γονιδίων. Πολυπαραγοντικά ονομάζονται τα χαρακτηριστικά που δημιουργούνται από την αλληλεπίδραση πολλαπλών περιβαλλοντικών παραγόντων, με πολλαπλά γονίδια. Τα πολυγονιδιακά χαρακτηριστικά είναι συνήθως ποσοτικά, παρά ποιοτικά, και εμφανίζουν συνεχή κατανομή στον πληθυσμό, που ακολουθεί ως επί το πλείστον μια φυσιολογική κατανομή συχνότητας (καμπύλη Gauss) (King et al., 1992; Nei, 1975; Solbrig and Solbrig, 1979).

Όσο μεγαλύτερος είναι ο αριθμός των διαφορετικών γενετικών τύπων, που συνεισφέρουν σε ένα χαρακτηριστικό, ή όσο περισσότερο πολυμορφικοί είναι οι

γενετικοί τόποι (δηλαδή όσο περισσότερα διαφορετικά αλληλόμορφα υπάρχουν σε κάθε γενετικό τόπο), τόσο πιθανότερο είναι η κατανομή του χαρακτηριστικού να ακολουθεί μια κανονική καμπύλη. Οι περιβαλλοντικοί παράγοντες μπορούν να τροποποιήσουν επιπροσθέτως τη μορφή της κατανομής συχνοτήτων (Harris, 1980).

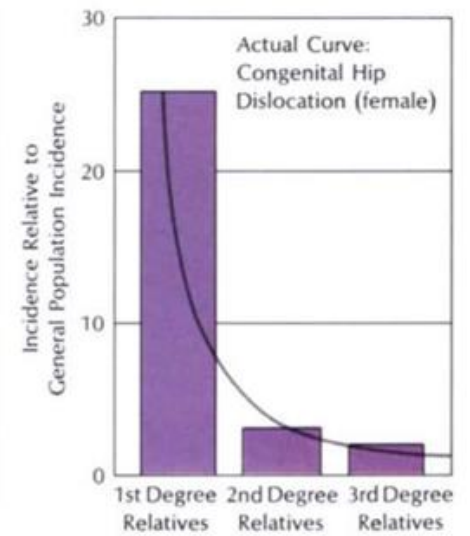
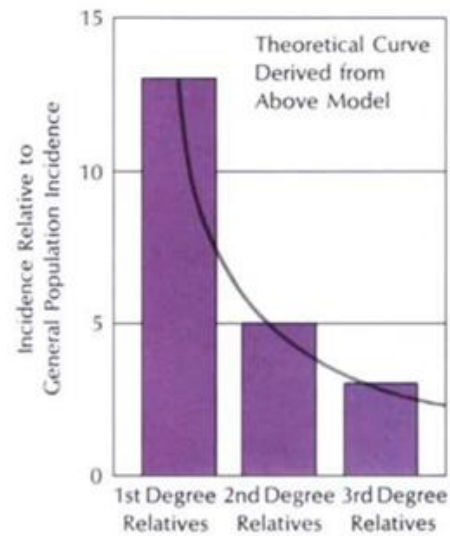
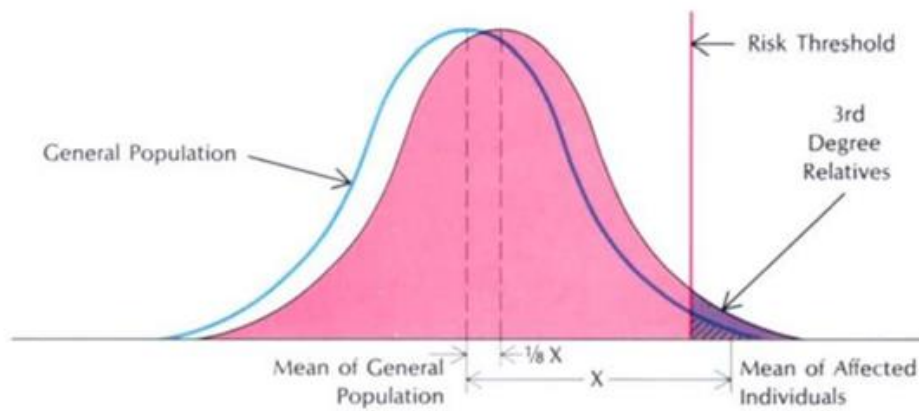
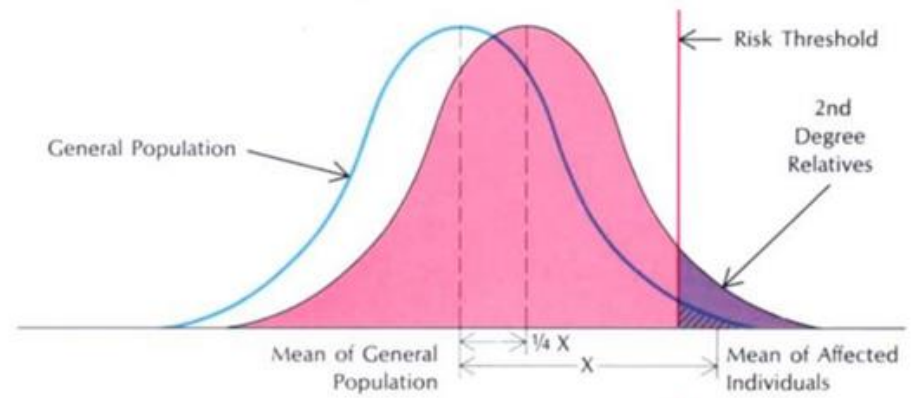
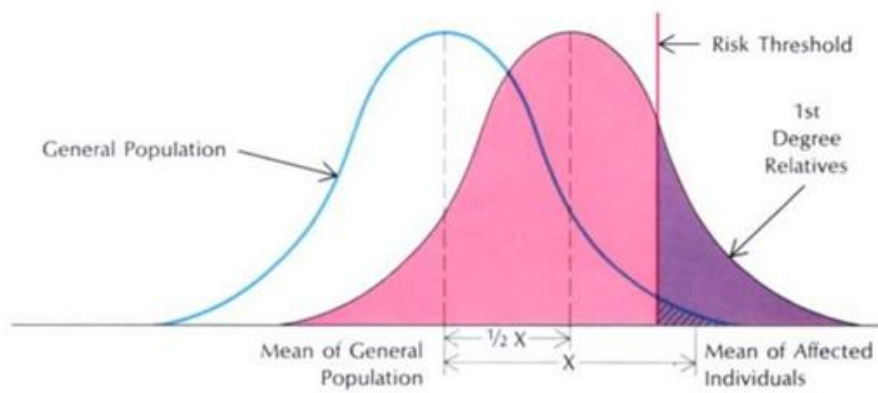
### *Συγγένεια*

Αν και κάθε άτομο, εκτός από τους μονοζυγωτικούς διδύμους, είναι γενετικά μοναδικό, κάθε άτομο μοιάζει περισσότερο με τους συγγενείς του, παρά με άτομα με τα οποία δεν έχει καμιά συγγένεια. Οι πολυγονιδιακές διαταραχές εμφανίζονται πιο συχνά μέσα σε συγκεκριμένες οικογένειες (Williams, 1988). Συνεπώς, είναι σημαντικό να καταγραφεί η γενετική σχέση ανάμεσα σε συγγενείς. Οι πρώτου βαθμού συγγενείς μοιράζονται το 1/2 των γονιδίων τους με το άτομο-δείκτη, οι δεύτερου βαθμού συγγενείς μοιράζονται το 1/4 των γονιδίων τους και οι τρίτου βαθμού συγγενείς το 1/8 των γονιδίων τους. Αξίζει να σημειωθεί, ότι το κλάσμα των γονιδίων που μοιράζονται είναι το ίδιο με το συντελεστή συγγένειας ( $r$ ). Οι σύζυγοι και οι άλλοι συγγενείς εξ αγχιστείας, θεωρούνται ότι δεν έχουν κάποια συγγένεια και δεν μοιράζονται μεγαλύτερη γενετική συγγένεια με το άτομο-δείκτη, απ' ό,τι οποιοδήποτε άτομο που λαμβάνεται τυχαία από τον πληθυσμό (Carter, 1969).

### *Κατανομή της προδιάθεσης μεταξύ συγγενών*

Σε πολλά συνηθισμένα νοσήματα και δυσπλασίες σημαντικό ρόλο έχουν διάφοροι γενετικοί παράγοντες. Όμως, σε πολλές από αυτές τις ανωμαλίες, απαραίτητα για την εμφάνισή τους είναι και περιβαλλοντικά ερεθίσματα. Ένα μοντέλο που εξηγεί αυτά τα δεδομένα, προτείνει ότι για μια συγκεκριμένη ασθένεια, υπάρχει γενετικά καθοριζόμενη προδιάθεση, η οποία διαφέρει από άτομο σε άτομο. Την ασθένεια αυτή θα αναπτύξει κάποιο ποσοστό ατόμων που βρίσκονται πάνω από μιά συγκεκριμένο ουδό γενετικής προδιάθεσης, ιδιαίτερα αν εκτεθούν στα κατάλληλα περιβαλλοντικά ερεθίσματα (Carter, 1969, 1970; Smith and Aase, 1970). Ένα τέτοιο μοντέλο ουδού εξηγεί την εμφάνιση ασυνεχών χαρακτηριστικών ή ασθενειών, μέσα από μια συνεχώς κατανεμημένη γενετικά καθοριζόμενη προδιάθεση. Αυτό το μοντέλο υποθέτει πως τα προσβεβλημένα άτομα βρίσκονται στο δεξιό άκρο της κατανομής της προδιάθεσης. Έτσι, στους συγγενείς πρώτου βαθμού ενός προσβεβλημένου ατόμου, που μοιράζονται το 1/2 των γονιδίων τους με αυτό, η κατανομή της γενετικής προδιάθεσης για τη δεδομένη ανωμαλία θα είναι σημαντικά μετατοπισμένη προς τα

δεξιά, σε σχέση με την κατανομή του γενικού πληθυσμού (Εικόνα 1). Στους συγγενείς δευτέρου βαθμού, που έχουν κοινό το 1/4 των γονιδίων τους με τα προσβεβλημένο άτομο, η καμπύλη κατανομής της γενετικής προδιάθεσης για τη δεδομένη ανωμαλία θα είναι και πάλι προς τα δεξιά, αλλά θα πλησιάζει περισσότερο το μέσο όρο του γενικού πληθυσμού. Τέλος, στους συγγενείς τρίτου βαθμού (μόνο το 1/8 των γονιδίων τους κοινό με τα γονίδια του προσβεβλημένου ατόμου), η κατανομή της γενετικής προδιάθεσης βρίσκεται πια πολύ κοντά σε εκείνη του γενικού πληθυσμού. Σε κάθε περίπτωση, η αναλογία των συγγενών πρώτου, δευτέρου και τρίτου βαθμού, που θα είναι επάνω από τον ουδό για ένα δεδομένο γενετικά καθορισμένο χαρακτηριστικό, θα είναι προοδευτικά μικρότερα, όσο μικραίνει ο βαθμός συγγένειας προς τον ασθενή. Λόγω των γεωμετρικών χαρακτηριστικών της φυσιολογικής κατανομής, πρέπει να υπάρχει ένας ιδιαίτερα αυξημένος κίνδυνος στους συγγενείς πρώτου βαθμού, ένας σχετικά αυξημένος κίνδυνος στους συγγενείς δευτέρου βαθμού και ένας ελάχιστα αυξημένος κίνδυνος στους συγγενείς τρίτου βαθμού (Εικόνα 1).



Εικόνα 1: Θεωρητικό μοντέλο για πολυπαραγοντικές συνθήκες. Οι "κανονικές" καμπύλες δείχνουν το μέγεθος της ομάδας κινδύνου σε συγγενείς με διαφορετική συγγένεια (μωβ και ροζ περιοχές) σε σύγκριση με αυτές του γενικού πληθυσμού (γαλάζιες καμπύλες) (Carter, 1970).

### *Συνέπειες της Πολυπαραγοντικής Κληρονομικότητας*

Το πολυπαραγοντικό μοντέλο ουδού υποδεικνύει ότι περιβαλλοντικά ερεθίσματα για κάποιο νόσημα, είναι πιθανότερο να έχουν μεγαλύτερη επίπτωση σε άτομα με γενετική προδιάθεση. Έτσι, η αναζήτηση περιβαλλοντικών παραγόντων για πολυπαραγοντικές νόσους θα ήταν πιο αποδοτική, αν εστιασθεί στα άτομα που έχουν το μεγαλύτερο γενετικό κίνδυνο. Η αναγνώριση των ατόμων αυτών θα βοηθούσε στον καθορισμό των περιβαλλοντικών παραμέτρων στις πολυπαραγοντικές νόσους. Αντίστοιχα, η ιατρική παρέμβαση με την έννοια της τροποποίησης του περιβάλλοντος τέτοιων ατόμων, μπορεί να εστιαστεί στα άτομα που έχουν υψηλότερο κίνδυνο και συνεπώς είναι πιο πιθανό να ωφεληθούν από αυτή (Humphries, 1988; Todd et al., 1987).

## 1.4 Αίμα και ο μηχανισμός πήξης του

### I. Αίμα

Το αίμα είναι το κύριο σωματικό υγρό που μεταφέρει απαραίτητα συστατικά όπως τις θρεπτικές ουσίες και το οξυγόνο στα κύτταρα και απομακρύνει απόβλητα μεταβολικής προέλευσης από τα κύτταρα. Στον άνθρωπο, το αίμα αντιπροσωπεύει το 7% του σωματικού του βάρους (Alberts, 2015; Starr, 2017).

Στα σπονδυλωτά, αποτελείται από κύτταρα αίματος αιωρούμενα στο πλάσμα. Το πλάσμα, το οποίο αποτελεί το 55% του υγρού του αίματος, είναι ως επί το πλείστον νερό (92% κατ' όγκο). Επιπλέον, το πλάσμα μεταφέρει διαλυμένα θρεπτικά συστατικά, όπως γλυκόζη, αμινοξέα, λιπαρά οξέα (διαλυμένα στο αίμα ή δεσμευμένα στις πρωτεΐνες του πλάσματος) ιόντα ανόργανων αλάτων και ορμόνες και απομακρύνει άχρηστες ουσίες, όπως το διοξείδιο του άνθρακα, την ουρία και το γαλακτικό οξύ. Η κύρια πρωτεΐνη του πλάσματος είναι η αλβουμίνη και λειτουργεί ως ρυθμιστής της ωσμωτικής πίεσης του αίματος.

Εκτός από το πλάσμα, κύριο συστατικό του αίματος είναι και τα αιμοσφαίρια, τα οποία κατηγοριοποιούνται κυρίως στα:

- Ερυθρά αιμοσφαίρια (ή ερυθροκύτταρα): Τα ερυθρά αιμοσφαίρια περιέχουν αιμοσφαιρίνη, μια πρωτεΐνη που αποτελείται μεταξύ άλλων από σίδηρο και η οποία διευκολύνει τη μεταφορά οξυγόνου αυξάνοντας σημαντικά τη διαλυτότητα του στο αίμα. Αντίθετα, το διοξείδιο του άνθρακα μεταφέρεται κυρίως εξωκυτταρικά ως διττανθρακικό ιόν που μεταφέρεται στο πλάσμα. Στα θηλαστικά, τα ώριμα ερυθρά αιμοσφαίρια δεν έχουν πυρήνα και οργανίδια. Τα ερυθρά αιμοσφαίρια (μαζί με κύτταρα ενδοθηλιακών αγγείων και άλλα κύτταρα) αποτελούνται από συγκεκριμένες γλυκοπρωτεΐνες που ορίζουν τους διαφορετικούς τύπους αίματος. Κατά όγκο, τα ερυθρά αιμοσφαίρια αποτελούν περίπου το 45% του ολικού αίματος. Η αναλογία όγκου των ερυθρών αιμοσφαιρίων στο αίμα αναφέρεται ως ο αιματοκρίτης (Kienle et al., 1996).
- Λευκά αιμοσφαίρια (ή λευκοκύτταρα): Τα λευκά αιμοσφαίρια αποτελούν μέρος του ανοσοποιητικού συστήματος του σώματος, καθώς καταστρέφουν και απομακρύνουν τα παλιά ή κατεστραμμένα κύτταρα και τα κυτταρικά υπολείμματα, και προσβάλλουν μολυσματικούς παράγοντες (παθογόνους

παράγοντες) και ξένες ουσίες. Ο καρκίνος των λευκοκυττάρων ονομάζεται λευχαιμία (Mortensen et al., 2005). Κατά όγκο, τα λευκά κύτταρα αποτελούν περίπου 0,7% του ολικού αίματος.

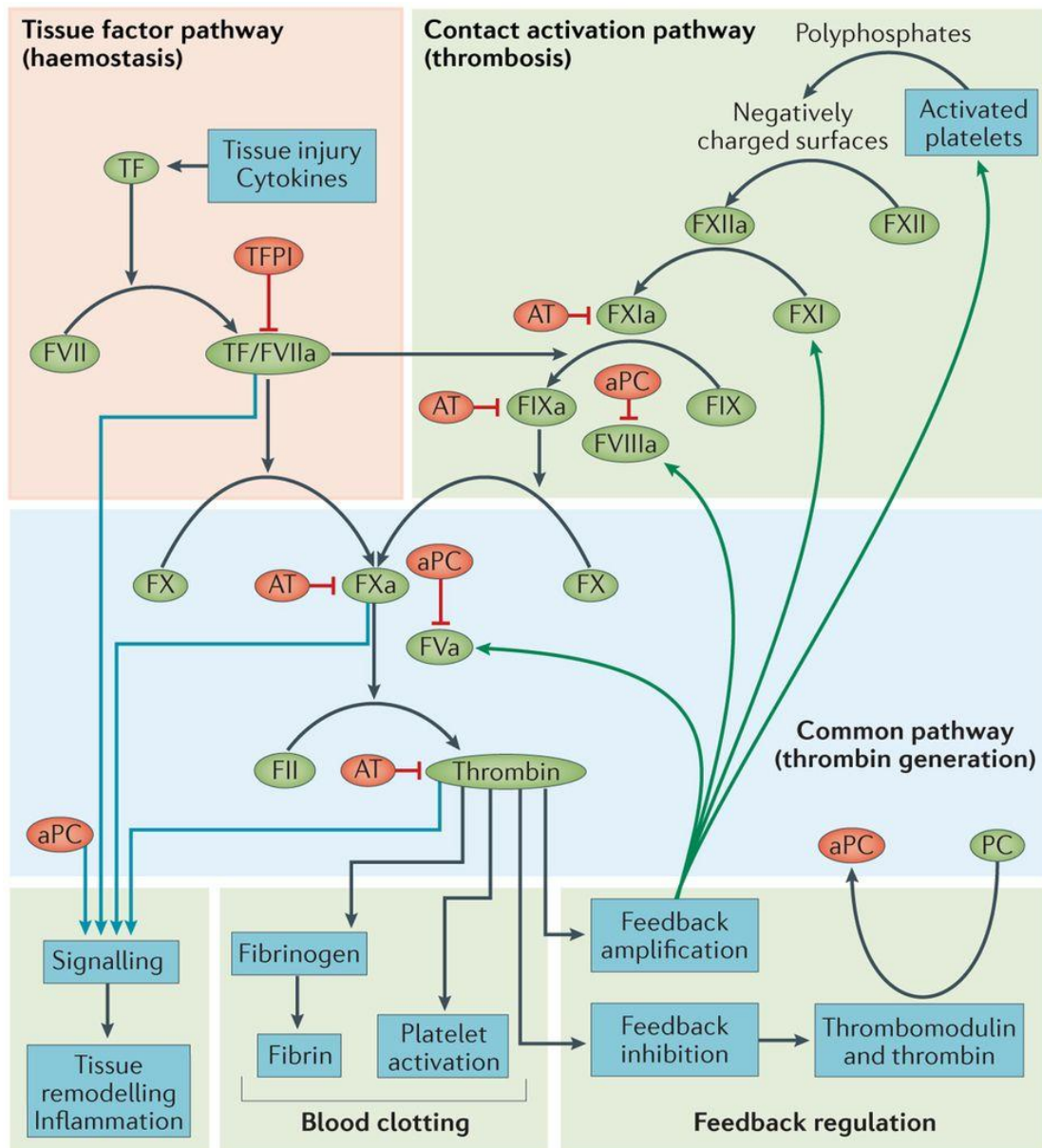
- Αιμοπετάλια (ή θρομβοκύτταρα): Τα κύτταρα αυτά συμμετέχουν στην πήξη του αίματος. Ο ινώδης ιστός από την διαδικασία πήξης δημιουργεί ένα πλέγμα πάνω από τα αιμοπετάλια (Hart, 2001).

Άλλα σημαντικά συστατικά του αίματος είναι η αλβουμίνη ορού (δηλαδή η αλβουμίνη που παραμένει στο πλάσμα όταν έχουν αφαιρεθεί οι πρωτεΐνες πήξης), διάφοροι παράγοντες πήξης αίματος (για την διευκόλυνση της πήξης), οι ανοσοσφαιρίνες (αντισώματα), τα σωματίδια λιποπρωτεϊνών, διάφορες άλλες πρωτεΐνες και διάφοροι ηλεκτρολύτες (κυρίως νάτριο και χλώριο).

Σημαντικό ρόλο στο αίμα έχει η τιμή pH του. Το pH του αίματος ρυθμίζεται ώστε να παραμείνει εντός της στενής περιοχής από 7,35 έως 7,45, καθιστώντας το ελαφρώς βασικό (Austin and Perkins, 2006; Dominguez de Villota et al., 1981). Το pH του αίματος, η μερική πίεση του οξυγόνου ( $pO_2$ ), η μερική πίεση του διοξειδίου του άνθρακα ( $pCO_2$ ) και του διττανθρακικού ( $HCO_3^-$ ) ρυθμίζονται προσεκτικά από ένα πλήθος ομοιοστατικών μηχανισμών που λειτουργούν κυρίως μέσω του αναπνευστικού και του ουροποιητικού συστήματος.

## *II. Μηχανισμός πήξης*

Στη διαδικασία της πήξης συμμετέχουν πρωτεΐνες του πλάσματος (παράγοντες πήξης και φυσικοί αναστολείς της πήξης), κυτταρικά στοιχεία (αιμοπετάλια, λευκά αιμοσφαίρια) και συστατικά του αγγειακού ενδοθηλίου (Brewer, 2006). Σε μη παθολογική κατάσταση, οι περισσότεροι παράγοντες του συστήματος κυκλοφορούν σε ανενεργό μορφή ή δεν είναι εκτεθειμένοι στην κυκλοφορία του αίματος. Η ενεργοποίηση του μηχανισμού της πήξης γίνεται με την ύπαρξη κάποιας αγγειακής βλάβης και έχει ως αποτέλεσμα τη μετατροπή των παραγόντων πήξεως σε βιολογικά δραστικούς. Το πιο διαδεδομένο μοντέλο πήξης περιγράφει έναν «καταρράκτη» από αντιδράσεις, που αποτελούν διαδοχική ενεργοποίηση των διαφόρων παραγόντων της πήξης μέσω δύο ξεχωριστών οδών (Εικόνα 2) (Macfarlane, 1964).



Nature Reviews | Nephrology

Εικόνα 2: Ο «καταρράκτης» αντιδράσεων του συστήματος πήξης (Madhusudhan et al., 2015). Στην πρώτη περίπτωση (tissue factor pathway), η βλάβη ενός ιστού ή οι φλεγμονώδεις κυτοκίνες επάγουν την έκφραση του ιστικού παράγοντα (TF) στην κυτταρική επιφάνεια. Το σύμπλεγμα TF/ FVIIa ενεργοποιεί τον παράγοντα FX, η οποία μετατρέπει τον παράγοντα FII σε θρομβίνη. Στη δεύτερη περίπτωση (contact activation pathway), αρνητικά φορτισμένες επιφάνειες (όπως φωσφολιπίδια και πολυφωσφορικά από ενεργοποιημένα αιμοπετάλια) ενεργοποιούν τον παράγοντα FXII, ξεκινώντας έναν «καταρράκτη» που οδηγεί στην ενεργοποίηση του FX και την παραγωγή της θρομβίνης. Η θρομβίνη προκαλεί σχηματισμό θρόμβων αίματος και συμμετέχει στον έλεγχο της ενεργοποίησης της πήξης. Η ενίσχυση της δράσης της θρομβίνης παρέχεται με την ενεργοποίηση των μη καταλυτικών συμπαραγόντων FV και FVIII, την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και την ενεργοποίηση του παράγοντα FXI. Η υπερβολική ενεργοποίηση του μηχανισμού της πήξης αποτρέπεται μέσω πολλών αντιπηκτικών μηχανισμών (όπως μέσω της πρωτεολυτικής αδρανοποίησης των παραγόντων FVa και FVIIIa από την ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C (aPC)).



### *Ο «καταρράκτης» της πήξης*

Ο «καταρράκτης» της πήξης είναι ένα σύνολο διαδοχικών αντιδράσεων, οι οποίες ενεργοποιούνται με καταλυτικό μηχανισμό και έχουν ως στόχο τη μετατροπή του διαλυτού ινωδογόνου σε αδιάλυτο ινώδες και εν συνεχεία σε πλέγμα ινικής. Οι καταλυτικές αυτές αντιδράσεις αλληλορυθμίζονται με μηχανισμούς θετικής ή αρνητικής ανάδρασης (Furie and Furie, 2005; Giangrande, 2003).

Η ενεργοποίηση του μηχανισμού αυτού περιγράφεται μέσω δύο διαφορετικών οδών, της ενδογενούς και της εξωγενούς. Η ενεργοποίηση της ενδογενούς οδού, γίνεται μέσω του συστήματος «επαφής», και της εξωγενούς οδού, μέσω του ιστικού παράγοντα (Wright, 1962).

Η ενδογενής οδός της πήξης πυροδοτείται με ενεργοποίηση του παράγοντα XII, στην τραυματισμένη αγγειακή επιφάνεια. Η ενεργοποίηση του παράγοντα XII, προάγεται από την προκαλλικρεΐνη, από το μεγάλο μοριακού βάρους κινινογόνο (High-molecular-weight kininogen) και από τον παράγοντα XI. Το σύμπλεγμα που σχηματίζεται στην αλλοιωμένη επιφάνεια ενεργοποιεί τον παράγοντα XII. Στη συνέχεια ο ενεργοποιημένος παράγοντας XIIa, δρώντας καταλυτικά, ενεργοποιεί τον παράγοντα XI, ο οποίος ακολούθως καταλύει την ενεργοποίηση του παράγοντα IX. Η ενεργοποίηση του παράγοντα IX από τον XIa απαιτεί την παρουσία ιόντων ασβεστίου ( $Ca^{++}$ ). Ο ενεργοποιημένος παράγοντας IX συνδέεται με τον παράγοντα VIII (αντιαιμοροφιλικός παράγοντας). Με τη μεσολάβηση ιόντων ασβεστίου και ενός φωσφολιποειδούς, ο ενεργοποιημένος παράγοντας IX ενεργοποιεί τον παράγοντα X σε Xa. Η ενεργοποίηση αυτή πραγματοποιείται συνήθως, στην κυτταροπλασματική μεμβράνη των αιμοπεταλίων που έχουν ενεργοποιηθεί, μπορεί όμως να γίνει και επάνω στο αγγειακό ενδοθήλιο.

Η εξωγενής οδός ενεργοποιείται, όταν ο ιστικός παράγοντας (tissue factor-TF) εκτίθεται στην κυκλοφορία. Ο παράγοντας TF είναι μία γλυκοπρωτεΐνη, η οποία εκφράζεται σε διάφορα είδη κυττάρων, κυρίως τα ενδοθηλιακά. Μετά από αγγειακή βλάβη ή φλεγμονώδη διέγερση, ο εκτεθειμένος στην επιφάνεια των κυττάρων παράγοντας TF, έρχεται σε επαφή με τον παράγοντα VII (FVII), με τον οποίο εμφανίζει υψηλή συγγένεια και σχηματίζει πάνω στην επιφάνεια του κυττάρου ισχυρό σύμπλεγμα με την ενεργοποιημένη μορφή του (σύμπλεγμα TF/ FVIIa). Το

σύμπλεγμα TF/FVIIa δρα καταλυτικά στην ενεργοποίηση του παράγοντα X σε Xa και την ενεργοποίηση του παράγοντα IX σε IXa.

Στην κοινή οδό, ο FXa σχηματίζει σύμπλεγμα με τον FVa, πάνω στην επιφάνεια του αιμοπεταλίου, (σύμπλεγμα προθρομβινάσης: Va,Xa, Ca<sup>++</sup>, φωσφολιπίδια) το οποίο καταλύει τη μετατροπή μεγάλων ποσοτήτων προθρομβίνης σε θρομβίνη. Αυτή η μαζική παραγωγή θρομβίνης, είναι ικανή να αποσπάσει από το ινωδογόνο τα ινωδοπεπτίδια A και B και να ενεργοποιήσει τον παράγοντα FXIII. Τα παραγόμενα μονομερή του ινώδους, πολυμερίζονται, δημιουργούν έναν ασταθή θρόμβο, ο οποίος υπό την επίδραση του παράγοντα XIIIa, μετατρέπεται σε αδιάλυτο θρόμβο ινώδους. Ο θρόμβος αυτός προστατεύεται από την ινωδόλυση, από τον ενεργοποιημένο από τη θρομβίνη αναστολέα της ινωδόλυσης (Thrombin Activatable, Fibrinolysis Inhibitor-TAFI), ο οποίος δραστηριοποιείται σε υψηλές συγκεντρώσεις θρομβίνης.

Το μοντέλο αυτό της πήξης άφησε ανεξήγητες πολλές παρατηρήσεις στη διαδικασία αιμόστασης in vivo. Τα τελευταία χρόνια, ένα νέο μοντέλο πήξης έχει περιγράψει και είναι αποδεκτό από τους περισσότερους ερευνητές, σύμφωνα με το οποίο η διαδικασία της πήξης συντελείται σε τρεις αλληλεπικαλυπτόμενες φάσεις (έναρξη-ενίσχυση-εξάπλωση) που συμβαίνουν στην κυτταρική μεμβράνη διαφόρων κυττάρων, τα οποία παρέχουν ως υπόστρωμα αρνητικά φορτισμένα φωσφολιπίδια και στα οποία συνδέονται τα προπηκτικά συμπλέγματα των πρωτεϊνών της πήξης (κυτταρικό μοντέλο της πήξης) (Hoffman and Monroe, 2001). Το ερέθισμα έναρξης της πήξης είναι ο ιστικός παράγοντας ο οποίος, μαζί με τον VIIa, ενεργοποιούν τόσο τον παράγοντα IX, όσο και το σύμπλοκο προθρομβινάσης πάνω στα αιμοπετάλια και καταλύει τη μετατροπή μικρών ποσοτήτων προθρομβίνης σε θρομβίνη. Η προαγωγή της πήξης ενισχύεται περαιτέρω από μηχανισμούς θετικής ανάδρασης. Συγκεκριμένα, οι μικρές αυτές ποσότητες θρομβίνης είναι ικανές να ενεργοποιήσουν αναδραστικά τα αιμοπετάλια, τον παράγοντα FVIII (με αποτέλεσμα αυτός να αποσυνδέεται από τον παράγοντα von Willebrand (vWF) με τον οποίο κυκλοφορεί ως σύμπλεγμα), τον παράγοντα V (ο οποίος εκκρίνεται από τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια) και τον παράγοντα XI.

Επιπλέον, τα αρνητικά φορτισμένα φωσφολιπίδια στην επιφάνεια των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων προσφέρουν το έδαφος για τον ενεργοποιημένο από τη θρομβίνη FIXa να σχηματίσει σύμπλεγμα με το συμπαράγοντά του FVIIIa

(σύμπλεγμα τενάσης). Το σύμπλεγμα αυτό έχει τη δυνατότητα να μετατρέπει μεγαλύτερες ποσότητες FX σε FXa, να ενεργοποιεί το σύμπλοκο προθρομβινάσης και συνεπώς να προωθεί τη δημιουργία μεγαλύτερων ποσοτήτων θρομβίνης (Osaki and Kawabata, 2004; Shapiro, 2003).

#### *Αναστολείς του μηχανισμού πήξης*

Ο αποτελεσματικός έλεγχος της διαδικασίας του σχηματισμού του θρόμβου είναι αναγκαίος, έτσι ώστε ο θρόμβος, αφενός να περιορίζεται στο σημείο της βλάβης και αφετέρου να λύεται ικανοποιητικά, όταν αυτό απαιτείται. Η ρύθμιση επιτυγχάνεται με 2 κύριους μηχανισμούς, με τους οποίους ρυθμίζεται η δράση της θρομβίνης:

- Ένα άμεσο σύστημα αναστολέων των πρωτεασών της σερίνης, που περιλαμβάνουν την αντιθρομβίνη (AT) και τον αναστολέα της οδού του ιστικού παράγοντα (Tissue Factor Pathway Inhibitor- TFPI). Η αντιθρομβίνη απενεργοποιεί κυρίως τη θρομβίνη, και τους παράγοντες IXa, Xa, XIa, δημιουργώντας συμπλέγματα 1:1, ενώ ο TFPI αναστέλλει τον ιστικό παράγοντα (εξωγενής οδός).
- Ένα έμμεσο σύστημα που αποτελείται από την πρωτεΐνη C (PC) και τον συμπαράγοντά της, την πρωτεΐνη S (PS) (οι πρωτεΐνες αυτές εξαρτώνται από την συγκέντρωση της βιταμίνης K). Η οδός της PC ενεργοποιείται από το σύμπλεγμα θρομβίνης/ θρομβομοντουλίνης που βρίσκεται στο ενδοθήλιο. Η ενεργοποιημένη PC (APC) με την παρουσία του συμπαράγοντά της PS, είναι ικανή να απενεργοποιήσει τους Va και VIIIa αναστέλλοντας αποτελεσματικά το σύμπλεγμα της προθρομβινάσης και το σύμπλεγμα της τενάσης.

## 1.5 Θρομβοφιλία

Η θρομβοφιλία (ορισμένες φορές υπερπηκτικότητα ή προθρομβωτική κατάσταση) αποτελεί ανωμαλία στην πήξη του αίματος, η οποία αυξάνει τον κίνδυνο θρόμβωσης (δημιουργία θρόμβου μέσα σε αγγείο) (Heit, 2007; Kumar and Robbins, 2007). Τέτοιου είδους ανωμαλίες παρατηρούνται στο 50% των ατόμων που εμφανίζουν θρομβωτικό επεισόδιο (π.χ. θρόμβωση στις εν τω βάθη φλέβες του κάτω άκρου) το οποίο δεν προκλήθηκε από άλλο αίτιο (Kyle et al., 2010). Ένα σημαντικό ποσοστό του πληθυσμού εμφανίζει ανιχνεύσιμες ανωμαλίες, οι περισσότερες από τις οποίες όμως οδηγούν σε θρόμβωση μόνο υπό την παρουσία κάποιου επιπρόσθετου παράγοντα κινδύνου (Heit, 2007). Δεν υπάρχει κάποια συγκεκριμένη θεραπεία για τις περισσότερες περιπτώσεις, αλλά υποτροπιάζοντα επεισόδια θρόμβωσης αποτελούν ένδειξη για μακροπρόθεσμη προληπτική αντιπηκτική αγωγή (Heit, 2007).

### *I. Ιστορία*

Η πρώτη καταγεγραμμένη περίπτωση θρόμβωσης ήταν το 1271, στη Νορμανδία (Dexter and Folch-Pi, 1974). Ένας άνδρας εμφάνισε οίδημα στον δεξιό αστράγαλο, το οποίο υποχώρησε εντός ενός έτους. Μετά από σχεδόν 6 αιώνες, το 1856, ο Γερμανός γιατρός Rudolf Virchow, μετά από εκτεταμένη μελέτη της φλεβικής θρόμβωσης και της πνευμονικής εμβολής, ανέπτυξε τη θεωρία της θρόμβωσης και περιέγραψε τους παράγοντες που συμβάλλουν στην φλεβική θρόμβωση, γνωστή σήμερα ως τριάδα του Virchow (Υπερκοιλίτιδα, ενδοθηλιακός τραυματισμός/δυσλειτουργία, στάση αίματος) (Bagot and Arya, 2008).

Λίγα χρόνια αργότερα, η θρομβοφιλία (μια ελληνική σύνθετη λέξη που περιλαμβάνει τις λέξεις θρόμβος και φιλία) (Yarizakis et al., 2015) παρατηρήθηκε από τους Nygaard και Brown και περιεγράφηκε ως σύνδρομο "βασικής θρομβοφιλίας" με αναφορά πέντε κρουσμάτων θρόμβωσης τα αγγεία των άκρων και στον εγκέφαλο, το νεφρό και την καρδιά (Epstein and Richter, 1948; Fabris, 1952). Επίσης, το 1956, ο Jordan και ο Nangorff περιγράφουν διάφορα θρομβωτικά συμβάντα, όπως φλεβική θρόμβωση και θρομβοφλεβίτιδα (Jordan and Nandorff, 1956). Παρατήρησαν από το οικογενειακό ιστορικό των ασθενών τους ότι το σύνδρομο έχει κληρονομικότητα, αλλά και οι επίκτητοι παράγοντες κινδύνου εμφάνισης της νόσου έχουν σημαντικό ρόλο στην ισορροπία μεταξύ προπηκτικών και αντιπηκτικών παραγόντων. Τα επόμενα χρόνια, η ανακάλυψη ελαττωμάτων της αντιθρομβίνης III, της πρωτεΐνης C

καθώς και η κληρονομική αντίσταση της ενεργοποιημένης πρωτεΐνης C και της πρωτεΐνης S οδήγησε τους επιστήμονες να συσχετίζουν τη θρομβοφιλία με γενετικά ελαττώματα (Comp et al., 1984; Egeberg, 1965; Griffin et al., 1981). Αν και αυτές οι τρεις ανεπάρκειες είναι πολύ σπάνιες (λιγότερο από το 1% του πληθυσμού), θεωρούνται πολύ ισχυροί παράγοντες κινδύνου εμφάνισης θρόμβωσης (Seligsohn and Lubetsky, 2001).

Μετά την πρώτη αλληλούχηση ολόκληρου του γονιδιώματος του βακτηριοφάγου φX174 το 1977 (Sanger et al., 1977) και την εφεύρεση της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) το 1983 (Mullis et al., 1986; Mullis, 1991; Shampo and Kyle, 2002), ανοίχτηκαν νέες ευκαιρίες στην έρευνα της θρομβοφιλίας. Η ανακάλυψη της αντιπηκτικής πρωτεΐνης C και η μετάλλαξη του παράγοντα V G1691A (μετάλλαξη Leiden) οδήγησε στην κατανόηση της σημασίας των προπηκτικών μορίων σε θρομβωτικά συμβάντα και στην θρομβοεγκεφαλική ισορροπία (Dahlback and Hildebrand, 1994). Στη συνέχεια βρέθηκε η μετάλλαξη της προθρομβίνης G20210A, η οποία συνδέθηκε με αυξημένη συγκέντρωση προθρομβίνης στο πλάσμα (Poort et al., 1996).

Τις τελευταίες δύο δεκαετίες έχουν περιγραφεί διάφοροι παράγοντες κινδύνου εμφάνισης θρόμβωσης. Μερικές από αυτές είναι η μετάλλαξη C677T στο γονίδιο της 5,10-μεθυλενοτετραϋδροφυλλικής ρεδοκτάσης (MTHFR) (Frosst et al., 1995), η οποία σχετίζεται με τη μειωμένη ενζυμική δραστηριότητα και τη διατροφή, και τη μετάλλαξη ενζύμου αγγειοτενσίνη I (Trp1197Stop) (Eyries et al., 2001), το οποίο επηρεάζει μεταξύ άλλων την αρτηριακή πίεση. Επιπλέον, σε μια πολυκεντρική μελέτη θρομβοφιλίας το 2004 παρατηρήθηκε διακύμανση του κινδύνου φλεβικής θρομβοεμβολής (VTE), η οποία σχετίζεται με τον αριθμό και το συνδυασμό μεταλλάξεων του κάθε ατόμου (Vossen et al., 2004).

## *II. Ασθένειες που σχετίζονται με την θρομβοφιλία*

Οι πιο συνηθισμένες ασθένειες που σχετίζονται με τη θρομβοφιλία είναι η βαθιά φλεβική θρόμβωση (DVT) και η πνευμονική εμβολή (PE), οι οποίες αναφέρονται και ως φλεβική θρομβοεμβολή (VTE). Η βαθιά φλεβική θρόμβωση συνήθως εμφανίζεται στα πόδια και χαρακτηρίζεται από πόνο, πρήξιμο και ερυθρότητα του άκρου. Μπορεί να οδηγήσει σε μακροχρόνια διόγκωση λόγω βλάβης των βαλβίδων στις φλέβες (Scarvelis and Wells, 2006). Ο θρόμβος μπορεί επίσης να σπάσει και να

μεταναστεύσει (εμβολίσει) στις αρτηρίες στους πνεύμονες. Ανάλογα με το μέγεθος και τη θέση του θρόμβου, αυτό μπορεί να οδηγήσει σε ξαφνική δύσπνοια, πόνο στο στήθος, αίσθημα παλμών και μπορεί να περιπλέκεται από την κατάρρευση, την καταπληξία και την καρδιακή ανακοπή (Agnelli and Becattini, 2010; Heit, 2007).

Η φλεβική θρόμβωση μπορεί επίσης να εμφανιστεί σε πιο ασυνήθιστα συμπτώματα στις φλέβες του εγκεφάλου, στο ήπαρ (θρόμβωση των ηπατικών φλεβών), σε μεσεντερική φλέβα στο νεφρό (θρόμβωση νεφρικής φλέβας) και σε φλέβες των άκρων. Επιπλέον, πρέπει να διερευνηθεί περαιτέρω αν η θρομβοφιλία αυξάνει τον κίνδυνο αρτηριακής θρόμβωσης (η οποία αποτελεί αιτία καρδιακών προσβολών και εγκεφαλικών επεισοδίων) (Andreou et al., 2015; de Moerloose and Boehlen, 2007; Heit, 2007; Middeldorp and van Hylckama Vlieg, 2008).

Η θρομβοφιλία έχει συνδεθεί με υποτροπιάζουσες αποβολές (Rai and Regan, 2006) και πιθανώς διάφορες επιπλοκές της εγκυμοσύνης, όπως ο περιορισμός της ενδομήτριας ανάπτυξης, η σοβαρή προεκλαμψία και η αποκόλληση πλακούντα (Heit, 2007).

Η ανεπάρκεια πρωτεΐνης C μπορεί να προκαλέσει πορφύρα, μια σοβαρή διαταραχή πήξης στο νεογέννητο που οδηγεί σε θάνατο ιστού και αιμορραγία στο δέρμα και σε άλλα όργανα. Η κατάσταση έχει επίσης περιγράψει στους ενήλικες. Η έλλειψη πρωτεΐνης C και πρωτεΐνης S έχει επίσης συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο νέκρωσης του δέρματος κατά την έναρξη αντιπηκτικής θεραπείας με βαρφαρίνη ή σχετικά φάρμακα (Baglin et al., 2010; Heit, 2007).

### *III. Επίκτητη και κληρονομική θρομβοφιλία*

Η θρομβοφιλία μπορεί να είναι κληρονομική ή επίκτητη. Η κληρονομική θρομβοφιλία αναφέρεται σε συνθήκες που αυξάνουν την τάση για ανάπτυξη θρόμβωσης και κληρονομούνται από γενιά σε γενιά, ενώ, από την άλλη πλευρά, η επίκτητη θρομβοφιλία αναφέρεται σε καταστάσεις που οφείλονται σε περιβαλλοντικούς παράγοντες, όπως διατροφή, κάπνισμα και καθιστική ζωή.

Παθολογικές καταστάσεις που έχουν συνδεθεί με φλεβική θρόμβωση περιλαμβάνουν μεταξύ άλλων αυξημένα επίπεδα παράγοντα VIII, παράγοντα IX, παράγοντα XI, ινωδογόνου και αναστολέα ινωδόλυσης. Η αντοχή της ενεργοποιημένης πρωτεΐνης C που δεν οφείλεται στις μεταλλάξεις του παράγοντα V προκαλείται πιθανώς από

άλλους παράγοντες και παραμένει ένας παράγοντας κινδύνου για θρόμβωση (Rosendaal, 2005).

Υπάρχει συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων της ομοκυστεΐνης στο αίμα και της θρόμβωσης (Rosendaal, 2005) , αν και αυτό δεν έχει αναφερθεί με συνέπεια σε όλες τις μελέτες (Rosendaal and Reitsma, 2009). Τα επίπεδα ομοκυστεΐνης προσδιορίζονται από μεταλλάξεις στα γονίδια MTHFR και CBS, αλλά και από επίπεδα φολικού οξέος, βιταμίνης Β6 και βιταμίνης Β12, τα οποία εξαρτώνται από τη διατροφή (Crowther and Kelton, 2003).

### *Κληρονομική*

Οι συνηθέστεροι τύποι κληρονομικής θρομβοφιλίας είναι εκείνοι που προκύπτουν ως αποτέλεσμα της υπερδραστικότητας των παραγόντων πήξης. Η δράση τους είναι σχετικά ήπια (Crowther and Kelton, 2003). Οι πιο συνηθισμένες μεταλλάξεις είναι η Leiden στον παράγοντα V (μετάλλαξη στη θέση 1691 του γονιδίου) και η μετάλλαξη G20210A στο γονίδιο της προθρομβίνης, (μια μετάλλαξη στη θέση 20210 του γονιδίου) (Kumar and Robbins, 2007; Rosendaal, 2005).

Πιο σπάνιες μορφές κληρονομικής θρομβοφιλίας προκαλούνται συνήθως από ανεπάρκεια φυσικών αντιπηκτικών. Σε αυτά ανήκουν η ανεπάρκεια της αντιθρομβίνης III, η έλλειψη πρωτεΐνης C και η έλλειψη πρωτεΐνης S (Kumar and Robbins, 2007; Rosendaal, 2005). Ακόμα πιο σπάνιες μορφές κληρονομικής θρομβοφιλίας οφείλονται σε μετάλλαξη του παράγοντα XIII και στη παραγωγή του ινωδογόνου (Rosendaal, 2005). Δεν είναι σαφές εάν οι κληρονομικές διαταραχές της ινωδόλυσης (το σύστημα που καταστρέφει τους θρόμβους) συνεισφέρουν σημαντικά στη θρομβοφιλία (Crowther and Kelton, 2003). Η κληρονομική ανεπάρκεια του πλασμινογόνου, για παράδειγμα, προκαλεί κυρίως οφθαλμικά συμπτώματα και μερικές φορές προβλήματα σε άλλα όργανα, αλλά η σχέση με τη θρόμβωση είναι πιο αβέβαιη (Mehta and Shapiro, 2008).

Η ομάδα αίματος καθορίζει τον κίνδυνο θρόμβωσης σε σημαντικό βαθμό. Εκείνοι με ομάδα αίματος διαφορετική του 0 έχουν διπλάσιο ή τετραπλάσιο σχετικό κίνδυνο. Η ομάδα αίματος 0 σχετίζεται με μειωμένα επίπεδα του παράγοντα «Von Willebrand»- λόγω της αυξημένης κάθαρσης- και του παράγοντα VIII, ο οποίος σχετίζεται με τον θρομβωτικό κίνδυνο (Rosendaal and Reitsma, 2009).

## *Επίκτητη*

Τον κίνδυνο θρόμβωσης αυξάνουν ,εκτός από τους κληρονομικούς παράγοντες, ορισμένα επίκτητα χαρακτηριστικά ενός ανθρώπου. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο (Kumar and Robbins, 2007; Rosendaal, 2005) που προκαλείται από αντισώματα των συστατικών της κυτταρικής μεμβράνης, ιδιαίτερα σε ασθενείς με λύκο (βρέθηκε για πρώτη φορά σε άτομα με συστηματικό ερυθηματώδη λύκο αλλά ανιχνεύθηκε και σε άτομα χωρίς τη νόσο). Σε ορισμένες περιπτώσεις το αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο μπορεί να προκαλέσει αρτηριακή και φλεβική θρόμβωση. Είναι επίσης πιο έντονα συνδεδεμένη με αποβολή και μπορεί να προκαλέσει και άλλα συμπτώματα (Ruiz-Irastorza et al., 2010).

Η θρομβοκυτοπενία που επάγεται από την ηπαρίνη (HIT) οφείλεται σε αντίδραση ανοσοποιητικού συστήματος έναντι της αντιπηκτικής φαρμακευτικής ουσίας ηπαρίνης (ή των παραγώγων της) (Kumar and Robbins, 2007). .Αν και ονομάζεται για τη συσχέτιση των χαμηλών αριθμών αιμοπεταλίων, η HIT συνδέεται στενά με τον κίνδυνο φλεβικής και αρτηριακής θρόμβωσης (Keeling et al., 2006). Η παροξυσμική νυκτερινή αιμοσφαιρινουρία (PNH) είναι μια σπάνια κατάσταση που προκύπτει από επίκτητες μεταβολές στο γονίδιο PIGA,. Η PNH αυξάνει τον κίνδυνο φλεβικής θρόμβωσης αλλά συνδέεται επίσης με αιμολυτική αναιμία (αναιμία που προκύπτει από την καταστροφή ερυθρών αιμοσφαιρίων) (Brodsky, 2008).

Οι αιματολογικές καταστάσεις που συνδέονται με την υποτονική ροή αίματος μπορεί να αυξήσουν τον κίνδυνο θρόμβωσης. Για παράδειγμα, η δρεπανοκυτταρική ασθένεια (που προκαλείται από μεταλλάξεις αιμοσφαιρίνης) θεωρείται ως ήπια προθρομβωτική κατάσταση που προκαλείται από εξασθενημένη ροή (Kumar and Robbins, 2007). Παρομοίως, οι μυελοπολλαπλασιαστικές διαταραχές, στις οποίες ο μυελός των οστών παράγει πάρα πολλά αιμοκύτταρα, προδιαθέτουν σε θρόμβωση, ιδιαίτερα στην πολυκυτταρική βέρα (περίσσεια ερυθρών αιμοσφαιρίων) και την απαραίτητη θρομβοκυττάρωση (περίσσεια αιμοπεταλίων). Και πάλι, αυτές οι συνθήκες συνήθως απαιτούν ειδική θεραπεία όταν εντοπιστούν (Papadakis et al., 2010).

Ο καρκίνος, ιδιαίτερα ο μεταστατικός είναι ένας αναγνωρισμένος παράγοντας κινδύνου για τη θρόμβωση (Heit, 2007; Rosendaal, 2005). Έχουν προταθεί διάφοροι μηχανισμοί, όπως η ενεργοποίηση του συστήματος πήξης από καρκινικά κύτταρα ή η έκκριση προπηκτικών ουσιών. Επιπλέον, ειδικές θεραπείες του καρκίνου (όπως η



χρήση κεντρικών φλεβικών καθετήρων για χημειοθεραπεία) μπορεί να αυξήσουν περαιτέρω τον κίνδυνο θρόμβωσης (Prandoni et al., 2005).

Η εγκυμοσύνη σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο θρόμβωσης. Αυτό πιθανόν να οφείλεται σε φυσιολογική υπερδραστικότητα στην εγκυμοσύνη που προστατεύει από την αιμορραγία μετά τον τοκετό (Bourjeily et al., 2010).

Το οιστρογόνο, όταν χρησιμοποιείται ως αντισυλληπτικό χάπι ή σε ορμονοθεραπεία, έχει συσχετιστεί με ένα διπλάσιο έως εξαπλάσιο αυξημένο κίνδυνο φλεβικής θρόμβωσης. Ο κίνδυνος εξαρτάται από τον τύπο των ορμονών που χρησιμοποιούνται, τη δόση του οιστρογόνου και την παρουσία άλλων παραγόντων κινδύνου (Gomes and Deitcher, 2004). Διάφοροι μηχανισμοί, όπως η ανεπάρκεια της πρωτεΐνης S και του αναστολέα της οδού του παράγοντα ιστών, θεωρούνται υπεύθυνοι (Tchaikovski and Rosing, 2010).

Η παχυσαρκία θεωρείται παράγοντας κινδύνου για φλεβική θρόμβωση. Διάφορες ανωμαλίες πήξης έχουν περιγράψει στα παχύσαρκα άτομα. Ο αναστολέας ενεργοποίησης πλασμινογόνου-1, ένας αναστολέας της ινωδόλυσης, υπάρχει σε υψηλότερα επίπεδα σε άτομα με παχυσαρκία. Η συσσώρευση των αιμοπεταλίων μπορεί να αυξηθεί και υπάρχουν υψηλότερα επίπεδα πρωτεϊνών πήξης όπως ο παράγοντας «Von Willebrand», το ινωδογόνο, ο παράγοντας VII και ο παράγοντας VIII. Η παχυσαρκία αυξάνει επίσης τον κίνδυνο υποτροπής μετά από ένα αρχικό επεισόδιο θρόμβωσης (Borissoff et al., 2009; Borissoff et al., 2011; Stein and Goldman, 2009).

#### *IV. Διάγνωση*

Οι εξετάσεις για έλεγχο θρομβοφιλίας περιλαμβάνουν μεταξύ άλλων γενικές εξετάσεις αίματος, εξέταση χρόνου προθρομβίνης, εξέταση χρόνου μερικής θρομβοπλαστίνης, εξέταση χρόνου θρομβίνης, έλεγχος αντίστασης ενεργοποιημένης πρωτεΐνης C, δοκιμές ινωδογόνου, βασικά επίπεδα ομοκυστεΐνης, εξέταση για πιθανή ύπαρξη της μετάλλαξης Leiden στον παράγοντα V και εξέταση για πιθανή ύπαρξη μετάλλαξης στο γονίδιο της προθρομβίνης. Η εξέταση μπορεί να είναι περισσότερο ή λιγότερο εκτεταμένη, ανάλογα με την κλινική εικόνα και τις ανωμαλίες που εντοπίστηκαν κατά την αρχική εξέταση του ασθενούς (Heit, 2007).

Για κληρονομικές περιπτώσεις, ο ασθενής προτείνεται να έχει τουλάχιστον 2 μη φυσιολογικές εξετάσεις και επιπλέον βεβαρημένο από περιστατικά θρομβώσεων οικογενειακό ιστορικό.

Υπάρχουν αποκλίνουσες απόψεις ως προς το αν όλοι με ένα επεισόδιο θρόμβωσης πρέπει να διερευνηθούν για θρομβοφιλία. Ακόμη και εκείνοι με μορφή θρομβοφιλίας δεν είναι απαραίτητο να διατρέχουν κίνδυνο περαιτέρω θρόμβωσης, ενώ η υποτροπιάζουσα θρόμβωση είναι πιθανότερη σε εκείνους που είχαν προηγούμενη θρόμβωση ακόμα και αν δεν έχουν ανιχνεύσιμες θρομβοφιλικές ανωμαλίες (Baglin et al., 2010; Dalen, 2008; Middeldorp and van Hylckama Vlieg, 2008). Η εξέταση συνιστάται σε άτομα με ισχυρό προσωπικό ή οικογενειακό ιστορικό θρομβώσεων (Baglin et al., 2010; Dalen, 2008; Tchaikovski and Rosing, 2010; Yarijakis et al., 2015). Αντίθετα, ο συνδυασμός θρομβοφιλίας με άλλους παράγοντες κινδύνου μπορεί να αποτελέσει ένδειξη προληπτικής θεραπείας και συνιστάται να διεξαχθεί έλεγχος θρομβοφιλίας ακόμη και σε εκείνους που δεν θα πληρούσαν τα αυστηρά κριτήρια για αυτές τις εξετάσεις (Dalen, 2008; Rai and Regan, 2006). Η αναζήτηση ανωμαλιών πήξης δεν γίνεται συνήθως σε ασθενείς στους οποίους η θρόμβωση έχει προφανή αιτιολόγηση. Για παράδειγμα, εάν η θρόμβωση οφείλεται σε ακινητοποίηση μετά από πρόσφατη ορθοπεδική χειρουργική επέμβαση, θεωρείται ότι προκαλείται από την ακινητοποίηση και τη χειρουργική επέμβαση και είναι λιγότερο πιθανό οι εξετάσεις να δώσουν κλινικά σημαντικά αποτελέσματα (Baglin et al., 2010; Chong et al., 2012; Dalen, 2008; Hicks et al., 2013).

Το 2013, η Αμερικανική Εταιρεία Αιματολογίας προειδοποίησε για την κατάχρηση των εξετάσεων θρομβοφιλίας, υποστηρίζοντας ότι τα ψευδώς θετικά αποτελέσματα των δοκιμών θα οδηγούσαν στους ανθρώπους να χαρακτηρίζονται ακατάλληλα ως θρομβοφιλικοί να τους χορηγούνται αντιπηκτικά χωρίς κλινική ανάγκη (Baglin et al., 2010; Chong et al., 2012; Simpson et al., 2009; Wu and Greer, 2007).

Ο έλεγχος της θρομβοφιλίας σε άτομα με αρτηριακή θρόμβωση γενικά αποθαρρύνεται (Baglin et al., 2010), εκτός αν αφορά ασυνήθιστα νέους ασθενείς και σε εκείνους στους οποίους η επαναγγείωση, όπως η στεφανιαία αρτηριακή παράκαμψη (bypass), αποτυγχάνει λόγω της ταχείας απόφραξης του μοσχεύματος (de Moerloose and Boehlen, 2007).

## V. Πρόγνωση και θεραπεία

Δεν υπάρχει ειδική θεραπεία για τη θρομβοφιλία, εκτός αν προκαλείται από κάποια ασθένεια, όπου απαιτείται η θεραπεία της νόσου. Σε ασθενείς με θρομβωτικό επεισόδιο ή υψηλό κίνδυνο εμφάνισης θρόμβωσης, σημαντική απόφαση αποτελεί η πιθανή χορήγηση αντιπηκτικών ουσιών μακροχρόνια, όπως η βαρφαρίνη, για να μειωθεί ο κίνδυνος περαιτέρω θρομβωτικών επεισοδίων (Kyrle et al., 2010). Όμως, πρέπει να ληφθεί υπόψιν και ο πιθανός κίνδυνος σημαντικής αιμορραγίας λόγω της θεραπείας, καθώς ο αναφερόμενος κίνδυνος κύριας αιμορραγίας υπερβαίνει το 3% ετησίως και το η θνησιμότητα αγγίζει το 11% των ατόμων με σοβαρή αιμορραγία (Kyrle et al., 2010).

Εκτός από τις προαναφερθείσες μορφές θρομβοφιλίας, ο κίνδυνος υποτροπής μετά από ένα επεισόδιο θρόμβωσης καθορίζεται από παράγοντες όπως η έκταση και η σοβαρότητα της αρχικής θρόμβωσης, ο αριθμός των προηγούμενων θρομβωτικών επεισοδίων, το φύλο, ο καρκίνος, και η παχυσαρκία (Kyrle et al., 2010). Αυτοί οι παράγοντες τείνουν να είναι οι πιο σημαντικοί ώστε να γίνει εξέταση θρομβοφιλίας (Baglin et al., 2010; Kearon et al., 2008).

Σε άτομα με αντιφωσfolιπιδικό σύνδρομο ενδείκνυται η μακροχρόνια αντιπηκτική αγωγή μετά από ένα πρώτο επεισόδιο θρόμβωσης. Ο κίνδυνος καθορίζεται από τον υποτύπο του ανιχνευμένου αντισώματος, από την ποσότητα των αντισωμάτων, αν ανιχνεύονται πολλαπλά αντισώματα και εάν ανιχνεύεται επανειλημμένα ή μόνο σε μία μόνο περίπτωση (Ruiz-Irastorza et al., 2010).

Οι γυναίκες με θρομβοφιλία που έχουν σκοπό να μείνουν ή είναι έγκυοι συνήθως χρειάζονται θεραπεία κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, ειδικά τις πρώτες 13 εβδομάδες, όταν μπορεί να προκαλέσουν ανωμαλίες στο έμβρυο. Η χαμηλού μοριακού βάρους ηπαρίνη (LMWH, όπως η ενοξαπαρίνη) χρησιμοποιείται γενικά ως εναλλακτική λύση (Bates et al., 2008). Η βαρφαρίνη και το LMWH μπορούν να χρησιμοποιηθούν με ασφάλεια στον θηλασμό (Bates et al., 2008).

Όταν οι γυναίκες παρουσιάζουν υποτροπιάζουσα απώλεια της εγκυμοσύνης δευτερογενώς σε θρομβοφιλία, μερικές μελέτες έχουν δείξει ότι η χαμηλού μοριακού βάρους ηπαρίνη μειώνει τον κίνδυνο αποβολής. Πάραυτα, όταν τα αποτελέσματα όλων των μελετών αναλύονται από κοινού, δεν μπορεί να αποδειχθεί κανένα στατιστικά σημαντικό όφελος (Skeith et al., 2016).

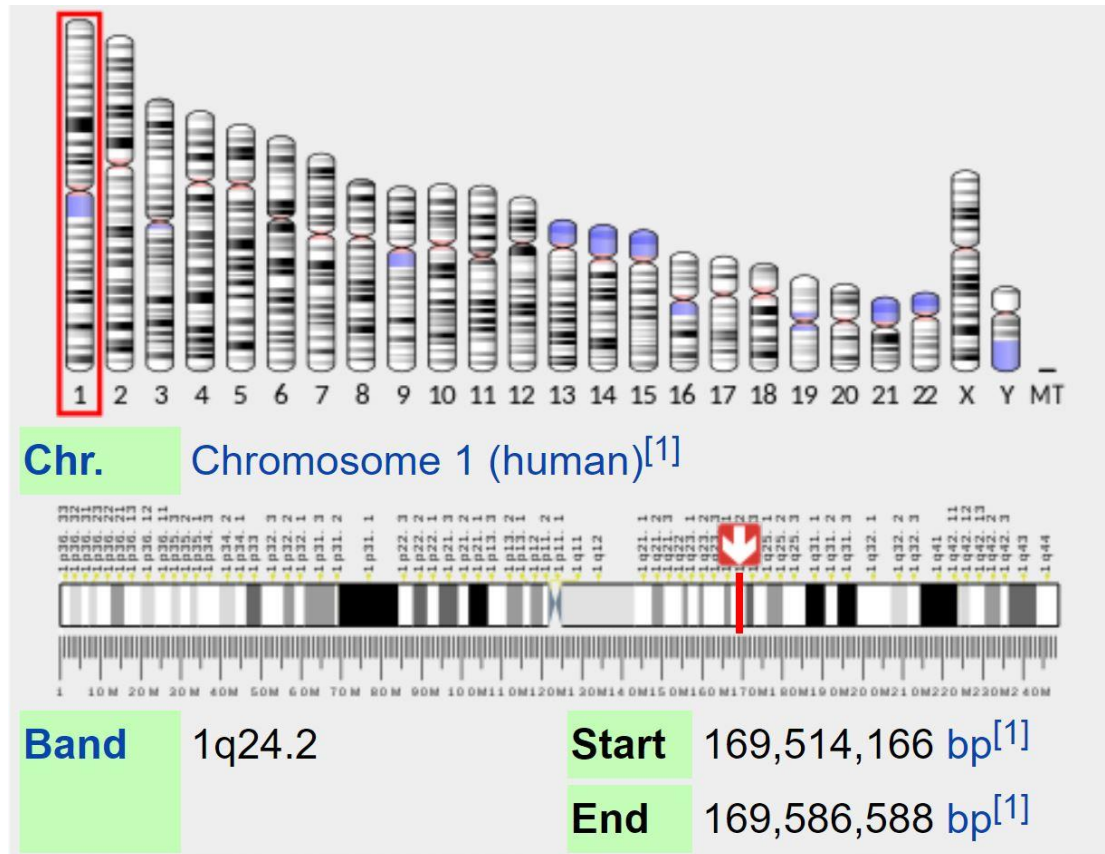
Στα άτομα χωρίς μεταλλάξεις γονιδίων που οδηγούν στη θρομβοφιλία, ο σωρευτικός κίνδυνος ανάπτυξης θρόμβωσης μέχρι την ηλικία των 60 ετών είναι περίπου 12%. Περίπου το 60% των ανθρώπων που έχουν ανεπάρκεια στην αντιθρομβίνη θα έχουν υποστεί θρόμβωση τουλάχιστον μία φορά μέχρι την ηλικία των 60 ετών, καθώς περίπου το 50% των ατόμων με ανεπάρκεια πρωτεΐνης C και περίπου το ένα τρίτο των ασθενών με ανεπάρκεια πρωτεΐνης S. Τα άτομα με αντοχή στην ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C (συνήθως άτομα με την μετάλλαξη Leiden στον παράγοντα V) έχουν αυξημένο απόλυτο κίνδυνο θρόμβωσης, ενώ το 15% είχε τουλάχιστον ένα θρομβωτικό περιστατικό έως την ηλικία των εξήντα (Crowther and Kelton, 2003). Γενικά, οι άντρες είναι πιο πιθανό από τις γυναίκες να παρουσιάσουν επαναλαμβανόμενα επεισόδια φλεβικής θρόμβωσης (Rosendaal and Reitsma, 2009).

Τα ετερόζυγα άτομα με την μετάλλαξη Leiden στον παράγοντα V έχουν 5 φορές αυξημένο κίνδυνο θρόμβωσης σε σχέση με το γενικό πληθυσμό, αλλά αυτός ο κίνδυνος μπορεί να αυξηθεί παρουσία ενός επιπλέον παράγοντα κινδύνου (Khan and Dickerman, 2006). Οι άνθρωποι με τη μετάλλαξη προθρομβίνης (G20210A) έχουν 4 φορές αυξημένο κίνδυνο θρόμβωσης σε σχέση με το γενικό πληθυσμό (Khan and Dickerman, 2006).

Η ανεπάρκεια αντιθρομβίνης υπάρχει στο 0,2% του γενικού πληθυσμού και στο 0,5-7,5% των ατόμων με φλεβική θρόμβωση. Η ανεπάρκεια πρωτεΐνης C είναι επίσης παρούσα στο 0,2% του πληθυσμού και μπορεί να βρεθεί στο 2,5-6% των ανθρώπων με θρόμβωση. Η ακριβής επικράτηση της ανεπάρκειας πρωτεΐνης S στον πληθυσμό είναι άγνωστη, όμως υπολογίζεται στο 1,3-5% των ατόμων με θρόμβωση (Crowther and Kelton, 2003). Η μετάλλαξη Leiden στον παράγοντα V ανιχνεύεται στο 5% του πληθυσμού της βορειοευρωπαϊκής καταγωγής, αλλά είναι πολύ σπανιότερη σε πληθυσμούς ασιατικής ή αφρικανικής καταγωγής. Στα άτομα με θρόμβωση, το 10% έχει την μετάλλαξη Leiden στον παράγοντα V. Η μετάλλαξη της προθρομβίνης εμφανίζεται σε ποσοστά 1-4% στο γενικό πληθυσμό, 5-10% των ατόμων με θρόμβωση και 15% των ατόμων με βεβαρημένο οικογενειακό ιστορικό. Όπως και η μετάλλαξη Leiden στον παράγοντα V, αυτή η ανωμαλία είναι ασυνήθιστη στους Αφρικανούς και τους Ασιάτες (Crowther and Kelton, 2003).

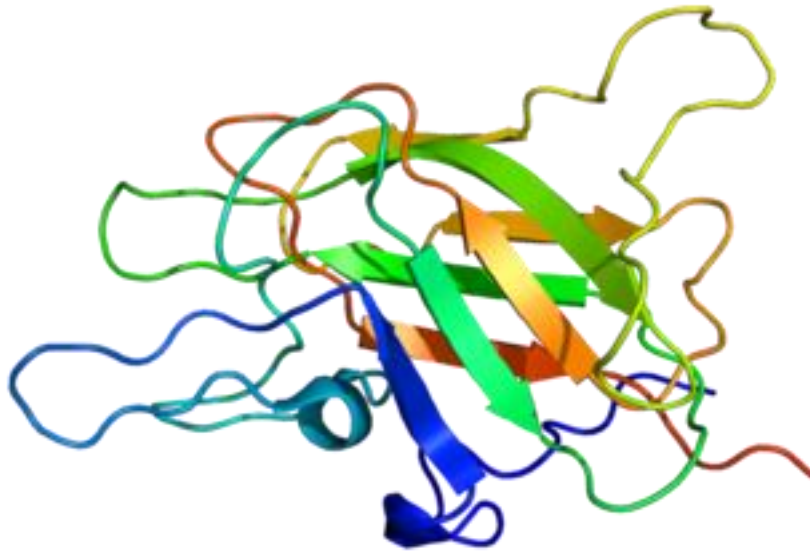
## VI. Παράγοντας πήξεως V

Ο παράγοντας V είναι μια πρωτεΐνη του συστήματος πήξης. Σε αντίθεση με τους περισσότερους παράγοντες πήξης, δεν είναι ενζυματικά ενεργός αλλά λειτουργεί ως συμπαράγοντας. Η ανεπάρκεια οδηγεί σε προδιάθεση για αιμορραγία, ενώ μερικές μεταλλάξεις (κυρίως η μετάλλαξη Leiden) προδιαθέτουν για θρόμβωση.



Εικόνα 3: Η θέση του γονιδίου του παράγοντα V στον άνθρωπο. ([http://may2017.archive.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Gene/Summary?db=core;g=ENSG00000198734;r=1:169514166-169586588](http://may2017.archive.ensembl.org/Homo_sapiens/Gene/Summary?db=core;g=ENSG00000198734;r=1:169514166-169586588))

Το γονίδιο για τον παράγοντα V βρίσκεται στο πρώτο χρωμόσωμα (1q23) (Εικόνα 3). Είναι γονιδιακώς σχετιζόμενο με την οικογένεια των οξειδασών και είναι ομόλογο προς τον παράγοντα πήξης VIII. Το γονίδιο έχει μήκος 70kb, αποτελείται από 25 εξόνια και η προκύπτουσα πρωτεΐνη έχει σχετική μοριακή μάζα περίπου 330kDa.



Εικόνα 4: Δομή του παράγοντα πήξης V. Η απεικόνιση έγινε στο πρόγραμμα PyMOL (Macedo-Ribeiro et al., 1999; Villoutreix and Dahlback, 1998)

Η πρωτεΐνη V (Εικόνα 4) αποτελείται από έξι περιοχές: A1-A2-B-A3-C1-C2.

Οι περιοχές A σχηματίζουν ένα τρίγωνο. Ένα ιόν χαλκού δεσμεύεται μεταξύ των περιοχών A1 και A3 και η A3 αλληλοεπιδρά με το πλάσμα.

Οι C περιοχές συμμετέχουν στη πρόσδεση σε φωσφολιπίδια ενδιάμεσων μεμβρανών. Το C-τελικό άκρο της περιοχής B δρα ως συμπαράγοντας για την ενεργοποίηση της αντιπηκτικής πρωτεΐνης C από την πρωτεΐνη S (Macedo-Ribeiro et al., 1999; Thorelli et al., 1998).

Η ενεργοποίηση του παράγοντα V στον παράγοντα Va πραγματοποιείται με διάσπαση και απελευθέρωση της περιοχής B. Η πρωτεΐνη διαιρείται σε μια βαριά αλυσίδα, που αποτελείται από τους τομείς A1-A2 και ένα ελαφρά αλυσίδα, που αποτελείται από τις περιοχές A3-C1-C2. Και οι δύο σχηματίζουν μη-ομοιοπολικά ένα σύμπλοκο με τρόπο εξαρτώμενο από ασβέστιο. Αυτό το σύμπλεγμα είναι ο προ-θρομβωτικός παράγοντας Va (Thorelli et al., 1998).

Η σύνθεση του παράγοντα V συμβαίνει κυρίως στο ήπαρ,. Το μόριο κυκλοφορεί στο πλάσμα ως μόριο μονής αλυσίδας με χρόνο ημιζωής 12-36 ώρες (Huang and Koerper, 2008).

Ο παράγοντας V είναι ικανός να δεσμεύεται με ενεργοποιημένα αιμοπετάλια και ενεργοποιείται από την θρομβίνη. Κατά την ενεργοποίησή του, ο παράγοντας V συνδυάζεται σε δύο αλυσίδες (βαριά και ελαφρά αλυσίδα) οι οποίες συνδέονται μη

ομοιοπολικά μεταξύ τους με ασβέστιο. Ο ενεργοποιημένος με αυτό τον τρόπο παράγοντας V (ο οποίος τώρα ονομάζεται παράγοντας Va) είναι ένας συμπαράγοντας του συμπλόκου της προθρομβινάσης.

Ο παράγοντας Va αποκοδομείται από την ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C, έναν από τους κύριους φυσιολογικούς αναστολείς της πήξης. Παρουσία θρομβομοντουλίνης, η θρομβίνη δρα για να μειώσει την πήξη ενεργοποιώντας την πρωτεΐνη C. συνεπώς, η συγκέντρωση και η δράση της πρωτεΐνης C είναι σημαντικοί καθοριστικοί παράγοντες στον βρόχο αρνητικής ανάδρασης μέσω του οποίου η θρομβίνη περιορίζει τη δική της ενεργοποίηση.

#### *Μετάλλαξη Leiden (G1691A)*

Η μετάλλαξη Leiden του παράγοντα V μεταλλαγμένη μορφή του ανθρώπινου παράγοντα V, η οποία προκαλεί αύξηση της πήξης του αίματος (υπερπηκτικότητα). Με αυτή τη μετάλλαξη, η αντιπηκτική πρωτεΐνη που εκκρίνεται δεν είναι ικανή να συνδέεται κανονικά με τον παράγοντα V, οδηγώντας σε υπερπηκτική κατάσταση, δηλαδή αυξημένη τάση του ασθενή να σχηματίσει μη φυσιολογικές και δυνητικά επιβλαβείς θρόμβους αίματος (De Stefano and Leone, 1995). Η μετάλλαξη Leiden του παράγοντα V είναι η συνηθέστερη κληρονομική διαταραχή υπερπηκτικότητας μεταξύ της Καυκάσιας φυλής (De Stefano et al., 1998; Gregg et al., 1997; Ridker et al., 1997). Ονομάστηκε από την ολλανδική πόλη Leiden, όπου αναγνωρίστηκε για πρώτη φορά το 1994 από τον καθηγητή Bertina και την ερευνητική του ομάδα (Bertina et al., 1994).

Η μετάλλαξη Leiden του παράγοντα V είναι ένας μοναδικός νουκλεοτιδικός πολυμορφισμός (SNP) βρίσκεται στο εξόνιο 10. Γίνεται αντικατάσταση της βάσης G στη βάση A, η οποία αλλάζει το αμινοξύ της πρωτεΐνης από αργινίνη στη γλουταμίνη. Η θέση της νουκλεοτιδικής παραλλαγής είναι στη θέση 1691 του γονιδίου. Η θέση της αμινοξικής παραλλαγής είναι η 506. Δεδομένου ότι αυτό το αμινοξύ είναι κανονικά η θέση διάσπασης για aPC, η μετάλλαξη εμποδίζει αποτελεσματική αδρανοποίηση του παράγοντα V. Όταν ο παράγοντας V παραμένει ενεργός, διευκολύνει την υπερπαραγωγή θρομβίνης που οδηγεί σε κατάσταση υπερβολικής πηκτικότητας.

### *Πληθυσμιακή γενετική της μετάλλαξης Leiden (G1691A)*

Η συχνότητα της μετάλλαξης Leiden του παράγοντα V διαφέρει από πληθυσμό σε πληθυσμό, όπως συμβαίνει με όλα τα κληρονομούμενα αλληλόμορφα των γονιδίων. Σε κάποιους πληθυσμούς έχει γίνει γενετική ανάλυση προκειμένου να συλλεχθούν δεδομένα για την συχνότητα εμφάνισης της μετάλλαξης (Πίνακας 3), το οποίο βοηθά στην πρόληψη ή την αντιμετώπιση παθολογικών καταστάσεων. Γι' αυτό το σκοπό, υπάρχει ένα Διεθνές Πρόγραμμα Χαρτογράφησης Απλοτύπων (HarMap), σύμφωνα με το οποίο προσδιορίζονται και συλλέγονται σε βάσεις δεδομένων γονότυποι αρκετών εκατοντάδων ατόμων από πληθυσμούς στην Αφρική, την Ασία και την Ευρώπη, με στόχο την ανεύρεση κοινών σημειακών μεταλλάξεων (μεταξύ αυτών και της μετάλλαξης Leiden) και τον πιθανό τους ρόλο σε κάποια παθολογική κατάσταση (Musunuru and Kathiresan, 2008). Συνοπτικά, η συχνότητα της μετάλλαξης Leiden του παράγοντα V στους κυμαίνεται μεταξύ 1-8%, ενώ η μετάλλαξη αυτή είναι εξαιρετικά σπάνια σε κάποιες χώρες της Ασίας (Lucotte and Mercier, 2001; Rosendaal et al., 1995).



<b>Ήπειρος</b>	<b>Χώρα</b>	<b>Αριθμός ατόμων οι οποίοι εξετάστηκαν</b>	<b>Αριθμός ατόμων με την μετάλλαξη Leiden</b>	<b>Ποσοστό επί τις % ατόμων με την μετάλλαξη Leiden</b>	<b>Βιβλιογραφία</b>
Ευρώπη	Ελλάδα	563	31	5,5	(Antoniadi et al., 1999; Chaida et al., 1996; Yapijakis et al., 2012)
Ευρώπη	Γροιλανδία	133	0	0	(de Maat et al., 1996)
Ευρώπη	Ισλανδία	159	5	3,1	(Olafsson et al., 1997)
Ευρώπη	Φινλανδία	137	4	2,9	(Kontula et al., 1995)
Ευρώπη	Δανία	7907	629	8	(Juul et al., 2002)
Ευρώπη	Σουηδία	251	17	6.7	(Zoller et al., 1996)
Ευρώπη	Ιρλανδία	178	10	5,6	(Emmerich et al., 1995)
Ευρώπη	Αγγλία	381	20	5,2	(Beauchamp et al., 1994; Rees et al., 1995)
Ευρώπη	Ολλανδία	474	14	2,9	(Rosendaal et al., 1995)
Ευρώπη	Γερμανία	2139	139	6.4	(Beye and Pindur, 2017; Heller et al., 2003; Junker et

					al., 1998; Lichy et al., 2006; Ludemann et al., 1998; Ringelstein et al., 2012; Schobess et al., 1999; Stolz et al., 2007; Weih et al., 1998)
Ευρώπη	Γαλλία	157	4	2,5	(Le Cam-Duchez et al., 2008; Zuber et al., 1996)
Ευρώπη	Αυστρία	104	5	4,8	(Ruggeri et al., 2002)
Ευρώπη	Ουγγαρία	132	8	6	(Tordai et al., 1997)
Ευρώπη	Ιταλία	2415	111	4,6	(Boncoraglio et al., 2004; Colaizzo et al., 2007; Madonna et al., 2000; Margaglione et al., 2001; Martinelli et al., 2003; Tufano et al., 2014; Ventura et al., 2004)
Ευρώπη	Πορτογαλία	203	2	1	(Ferrer-Antunes, 1998)
Ευρώπη	Ισπανία	150	5	3,3	(Garcia-Gala et al., 1997)
Ευρώπη	Κύπρος	157	6	3,8	(Akar et al., 1997; Rees et al., 1995; Xenophontos et al., 2002)
Ευρώπη	Δανία	8907	619	6,9	(Juul et al., 2002)
Ασία	Τουρκία	39	0	0	(Akar et al., 1997; Ozbek and Tangun, 1997)

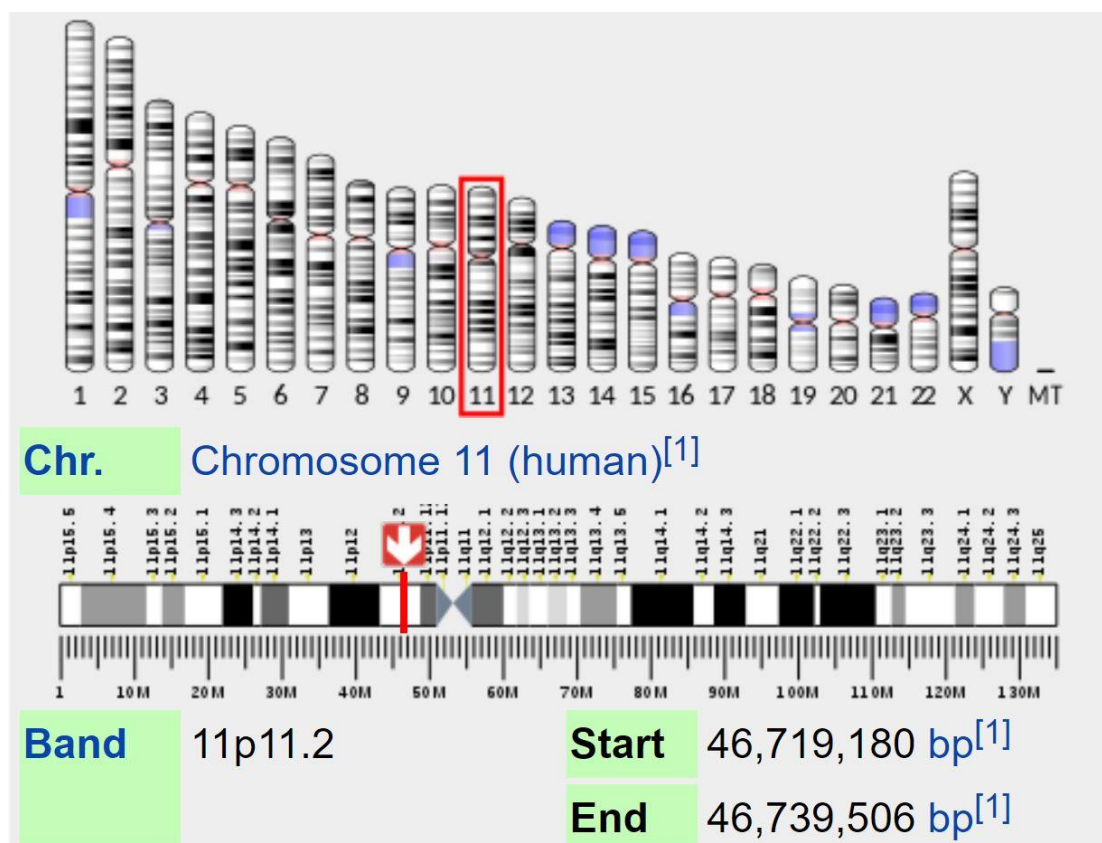
Ασία	Ιράν	605	14	2,3	(Ashjazadeh et al., 2012; Rahimi et al., 2010; Rahimi et al., 2008; Saadatnia et al., 2015)
Ασία	Λίβανο	698	33	4,7	(Almawi et al., 2005)
Ασία	Τυνησία	313	20	6,3	(Almawi et al., 2005)
Ασία	Μπαχρέιν	194	6	3,1	(Almawi et al., 2005)
Ασία	Σ. Αραβία	149	3	2	(Almawi et al., 2005)
Ασία	Ιορδανία	104	6	5,8	(Dajani et al., 2013)
Ασία	Ινδία	200	0	0	(Gupta et al., 2003)
Ασία	Κίνα	420	0	0	(Ho et al., 1999)
Αφρική	Τυνησία	297	15	5	(Ben Salem-Berrabah et al., 2012; Klai et al., 2013)
Αφρική	Αλγερία	75	1	1,3	(Chafa et al., 1997)
Αμερική	ΗΠΑ	498	16	3,2	(Hagstrom et al., 1998; Miller et al., 2006)
Αμερική	Βραζιλία	719	19	2,6	(Gadelha et al., 2005; Orikaza et al., 2014; Rodrigues et al., 2004; Voetsch et al., 2000)

Ωκεανία	Αυστραλία	500	18	3,6	(Pecheniuk et al., 1997)
---------	-----------	-----	----	-----	--------------------------

Πίνακας 3: Η μετάλλαξη Leiden σε διάφορους πληθυσμούς

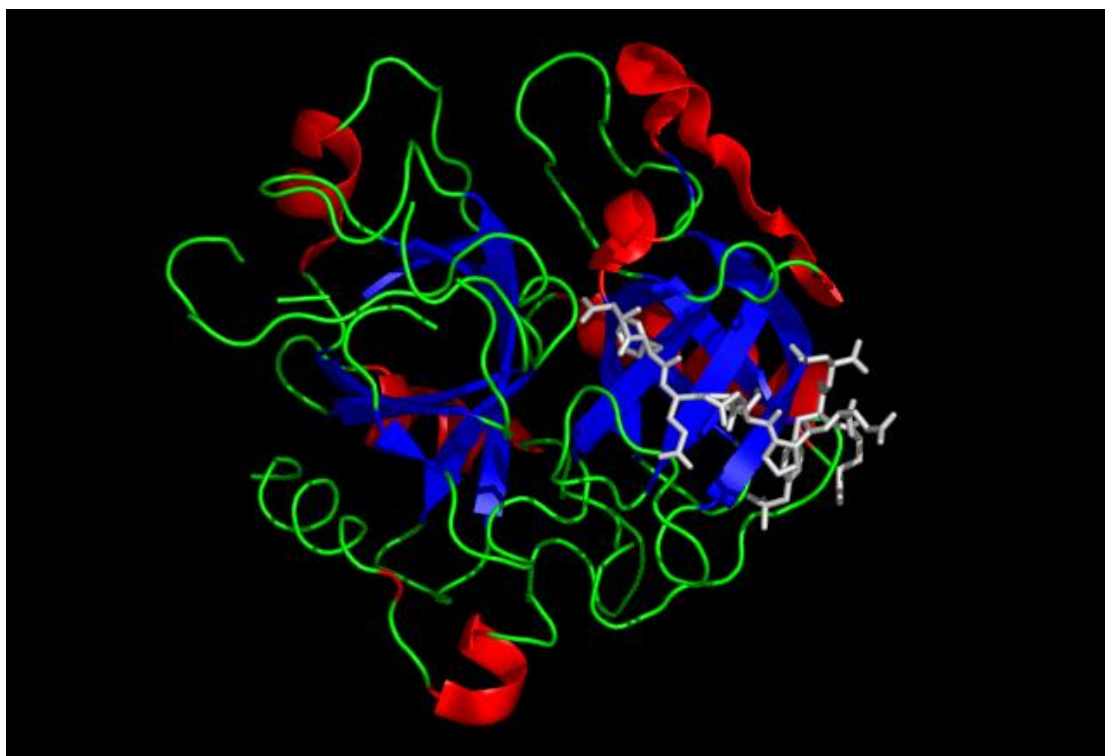
## VII. Παράγοντας πήξεως II ή Προθρομβίνη

Η θρομβίνη, είναι μια πρωτεάση σερίνης, το οποίο στον άνθρωπο κωδικοποιείται από το γονίδιο F2 (Andrew et al., 1987; Degen and Davie, 1987; Royle et al., 1987). Η προθρομβίνη (παράγοντας πήξης II) διασπάται πρωτεολυτικά για να σχηματίσει θρομβίνη στη διαδικασία πήξης. Η θρομβίνη με τη σειρά της δρα ως πρωτεάση σερίνης που μετατρέπει το διαλυτό ινωδογόνο σε αδιάλυτα νήματα ινώδους, καθώς επίσης καταλύει πολλές άλλες αντιδράσεις που σχετίζονται με την πήξη.



Εικόνα 5: Η θέση του γονιδίου του παράγοντα II στον άνθρωπο. ([http://may2017.archive.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Gene/Summary?db=core;g=ENSG00000180210;r=11:46719180-46739506](http://may2017.archive.ensembl.org/Homo_sapiens/Gene/Summary?db=core;g=ENSG00000180210;r=11:46719180-46739506))

Το γονίδιο της προθρομβίνης εντοπίζεται στο ενδέκατο χρωμόσωμα (11p11-q12) (Εικόνα 5) (Royle et al., 1987). Το μοριακό βάρος της προθρομβίνης είναι περίπου 72kDa. Η καταλυτική περιοχή απελευθερώνεται από θραύσμα προθρομβίνης για να δημιουργήσει το ενεργό ένζυμο της θρομβίνης, το οποίο έχει μοριακό βάρος 36kDa.



Εικόνα 6: Δομή του παράγοντα πήξης II. Η απεικόνιση έγινε στο πρόγραμμα PyMOL (Nar et al., 2001)

Η προθρομβίνη αποτελείται από τέσσερις περιοχές (Εικόνα 6). μια N-τερματική περιοχή, δύο περιοχές «Kringle» και μία C-τελική περιοχή. Ο παράγοντας Xa με τον παράγοντα V ως συμπαράγοντα οδηγεί στη διάσπαση της N-τερματικής περιοχής και δύο «Kringle» περιοχών και έτσι δημιουργείται η θρομβίνη, που αποτελείται αποκλειστικά από την περιοχή πρωτεάσης σερίνης (C-τελική περιοχή) (Davie and Kulman, 2006).

Υπάρχουν στον κόσμο περίπου 30 άτομα που έχουν διαγνωσθεί με ανεπάρκεια του παράγοντα II (Degen et al., 1995) η οποία δεν πρέπει να συγχέεται με τη μετάλλαξη G20210A του γονιδίου της προθρομβίνης (Bernstein et al., 2007; Varga and Moll, 2004).

#### *Μετάλλαξη G20210A*

Η μετάλλαξη G20210A του γονιδίου της προθρομβίνης είναι μια γενετική κατάσταση που αυξάνει τον κίνδυνο θρόμβωσης συμπεριλαμβανομένης της βαθιάς φλεβικής θρόμβωσης και της πνευμονικής εμβολής. Η ετεροζυγωτία για τη μετάλλαξη αυξάνει τον κίνδυνο θρόμβωσης από 1 στους 1.000 ετησίως σε 2.5 στους 1.000. Η ομοζυγωτία αυξάνει τον κίνδυνο έως 20 σε 1.000 ετησίως (Bosler et al., 2006).

Αυτό οφείλεται σε συγκεκριμένη γονιδιακή μετάλλαξη στην οποία μια γουανίνη (G) αλλάζει σε αδενίνη (A) στη θέση 20210 του γονιδίου προθρομβίνης. Η μετάλλαξη αυτή βρίσκεται στην 3' αμετάφραστη περιοχή του γονιδίου (Poort et al., 1996) και εντοπίστηκε στη δεκαετία του 1990 (Rosendaal and Reitsma, 2009). Περίπου το 2% των Καυκάσιων φέρει την μετάλλαξη, ενώ είναι λιγότερο κοινή σε άλλους πληθυσμούς (Bosler et al., 2006). Υπολογίζεται ότι προήλθε από τους Καυκάσιους περίπου 20.000 χρόνια πριν.

#### *Πληθυσμιακή γενετική της μετάλλαξης G20210A*

Η συχνότητα της μετάλλαξης G20210A του παράγοντα II διαφέρει από πληθυσμό σε πληθυσμό, όπως συμβαίνει με όλα τα κληρονομούμενα αλληλόμορφα των γονιδίων. Σε κάποιους πληθυσμούς έχει γίνει γενετική ανάλυση προκειμένου να συλλεχθούν δεδομένα για την συχνότητα εμφάνισης της μετάλλαξης (Πίνακας 4), το οποίο βοηθά στην πρόληψη ή την αντιμετώπιση παθολογικών καταστάσεων. Γι' αυτό το σκοπό, υπάρχει ένα Διεθνές Πρόγραμμα Χαρτογράφησης Απλοτύπων (HarMap), σύμφωνα με το οποίο προσδιορίζονται και συλλέγονται σε βάσεις δεδομένων γονότυποι αρκετών εκατοντάδων ατόμων από πληθυσμούς στην Αφρική, την Ασία και την Ευρώπη, με στόχο την ανεύρεση κοινών σημειακών μεταλλάξεων (μεταξύ αυτών και της μετάλλαξης G20210A) και τον πιθανό τους ρόλο σε κάποια παθολογική κατάσταση (Musunuru and Kathiresan, 2008). Συνοπτικά, η συχνότητα της μετάλλαξης G20210A του παράγοντα II στους Καυκάσιους κυμαίνεται μεταξύ 1-4%, ενώ η μετάλλαξη αυτή είναι εξαιρετικά σπάνια σε κάποιες χώρες της Ασίας (Dziadosz and Baxi, 2016; Gonzalez et al., 2016; Naeem et al., 2006).

<b>Ήπειρος</b>	<b>Χώρα</b>	<b>Αριθμός ατόμων οι οποίοι εξετάστηκαν</b>	<b>Αριθμός ατόμων με την μετάλλαξη Leiden</b>	<b>Ποσοστό επί τις % ατόμων με την μετάλλαξη Leiden</b>	<b>Βιβλιογραφία</b>
Ευρώπη	Ελλάδα	660	23	3.5	(Antoniadi et al., 1999; Hatzaki et al., 2003; Yapijakis et al., 2012; Zalavras Ch et al., 2003)
Ευρώπη	Αυστρία	410	13	3.2	(Renner et al., 2000; Watzke et al., 1997)
Ευρώπη	Αζερμπαϊτζάν	110	3	2.4	(Togrul et al., 2000)
Ευρώπη	Βέλγιο	100	1	1	(Hainaut et al., 1998)
Ευρώπη	Κροατία	261	13	5	(Coen et al., 2001)
Ευρώπη	Κύπρος	311	9	2.8	(Angelopoulou et al., 2000; Ferraresi et al., 1997; Xenophontos et al., 2002)



Ευρώπη	Τσεχία	1450	38	2.6	(Kvasnicka et al., 2012)
Ευρώπη	Γαλλία	6837	198	2.9	(Bauduer et al., 2003; Leroyer et al., 1998; Mazoyer et al., 2009)
Ευρώπη	Γροιλανδία	478	0	0	(de Maat et al., 1998)
Ευρώπη	Ουγγαρία	407	11	2.7	(Balogh et al., 1999)
Ευρώπη	Ιρλανδία	385	5	1.3	(Keenan et al., 2000)
Ευρώπη	Ιταλία	939	30	3.2	(Cattaneo et al., 1999; Sottilotta et al., 2009; Tosetto et al., 1999)
Ευρώπη	Ολλανδία	874	14	1.6	(Eikelboom et al., 1998)
Ευρώπη	Νορβηγία	400	4	1	(Eikelboom et al., 1998)

Ευρώπη	Πολωνία	520	8	1.5	(Bykowska et al., 2000)
Ευρώπη	Ισπανία	1117	52	4.7	(Frances et al., 2006; Gonzalez Ordonez et al., 1999; Souto et al., 1998)
Ευρώπη	Σουηδία	282	5	1.8	(Hillarp et al., 1997)
Ευρώπη	Ηνωμένο Βασίλειο	1077	18	1.7	(Cumming et al., 1997)
Ασία	Ινδία	1312	0	0	(Nishank et al., 2013; Pandey et al., 2012; Parveen et al., 2013; Vora et al., 2007)
Ασία	Ιράν	306	3	1	(Pourgheysari et al., 2013)
Ασία	Ιράκ	297	12	4	(Zivelin et al., 1998)
Ασία	Κίνα	551	0	0	(Chan et al., 2000; Jun et al., 2006)

Ασία	Ιαπωνία	1200	12	4.3	(Isshiki et al., 1998)
Ασία	Λίβανο	1430	41	2.9	(Sabbagh et al., 2009; Tamim et al., 2002)
Ασία	Σ. Αραβία	1964	26	1.3	(Al-Jaouni, 2003; Fawaz et al., 2004; Irdem et al., 2005; Saour et al., 2009)
Ασία	Ιορδανία	1200	52	4.3	(Eid and Rihani, 2004; Eid and Shubeilat, 2005; Nusier et al., 2007)
Ασία	Τουρκία	5196	161	3.1	(Altinisik et al., 2008; Ayyildiz et al., 2004; Oztuzcu et al., 2014; Tug et al., 2011)
Αφρική	Μαρόκο	306	8	2.6	(Mathonnet et al., 2002; They-They et al., 2010)
Αφρική	Τυνησία	1127	33	2.9	(Berredjeb Ben Slama et al., 2013; Bouaziz et al., 2004; Frere et al., 2003)
Αμερική	ΗΠΑ	3201	115	3.6	(Conroy et al., 2000; Dowling et al., 2003; Howard et al., 1998; Ridker et al., 1999; Rosendaal et al., 1997)

Αμερική	Βραζιλία	603	5	0.8	(Ferreira-Fernandes et al., 2013)
---------	----------	-----	---	-----	-----------------------------------

Πίνακας 4: Η μετάλλαξη G20210A σε διάφορους πληθυσμούς

## 1.6 Στατιστικές μέθοδοι ανάλυσης ιατρικών δεδομένων

Το αντικείμενο των επιδημιολογικών μελετών είναι μια συνάρτηση συχνότητας (occurrence function) και πιο συγκεκριμένα ένα μέτρο σχέσης (measure of association) που ποσοτικοποιεί τη σχέση μεταξύ του μελετώμενου προσδιοριστή και της έκβασης. Προκειμένου να διαπιστωθεί αν η σχέση αυτή είναι στατιστικά σημαντική χρησιμοποιούνται οι έλεγχοι της στατιστικής σημαντικότητας (statistical significance tests) ή στατιστικοί έλεγχοι ή στατιστικές δοκιμασίες (Andersen and Keiding, 2006; Armitage and Colton, 2005; Bland, 2015; Boslaugh, 2012; Dawson and Trapp, 2004; Foster et al., 2006; Goodman, 1992; Goodman, 1993).

Οι έλεγχοι της στατιστικής σημαντικότητας (ΕΣΣ) χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο της επιστημονικής υπόθεσης, που περιλαμβάνει δύο είδη υποθέσεων, τη μηδενική υπόθεση (null hypothesis) και την εναλλακτική (alternative) (Andersen and Keiding, 2006; Bland, 2015; Boslaugh, 2012; Goodman, 1993). Σημειώνεται ότι η επιστημονική υπόθεση αποτελεί καταφατική πρόταση και εισάγει μια νέα πληροφορία, ενώ η μηδενική ή η άκυρη υπόθεση δεν αποτελεί καν επιστημονική πρόταση, καθώς δεν υποστηρίζει το διαψεύσιμο ισχυρισμό για την ύπαρξη σχέσης μεταξύ προσδιοριστή και έκβασης (γι' αυτό καλείται συχνά και υπόθεση της μη διαφοράς) και διατυπώνεται με σκοπό να απορριφθεί. Η συμπληρωματική έννοια της μηδενικής υπόθεσης καλείται εναλλακτική υπόθεση και υποστηρίζει ότι υπάρχει σχέση μεταξύ προσδιοριστή και έκβασης. Η εναλλακτική υπόθεση μπορεί να είναι «μονής κατεύθυνσης» (one-sided) (υποστηρίζοντας ότι υπάρχει συγκεκριμένη σχέση, είτε θετική είτε αρνητική, μεταξύ προσδιοριστή και έκβασης) ή «διπλής κατεύθυνσης» (two-sided) (υποστηρίζοντας την ύπαρξη σχέσης χωρίς όμως να καθορίζεται εάν είναι θετική ή αρνητική).

### *Ονομαστικές μεταβλητές*

Στην περίπτωση όπου τα «δείγματα» είναι ανεξάρτητα μεταξύ τους χρησιμοποιείται ο έλεγχος  $\chi^2$  (chi-square test), ενώ όταν οι παρατηρήσεις των «δειγμάτων» είναι ανά ζεύγη χρησιμοποιείται ο έλεγχος του McNemar (Bland, 2015; Goodman, 1993; Γαλάνης and Σπάρος, 2005).

Όταν διερευνάται η σχέση μεταξύ δύο διχοτόμων μεταβλητών και ο συνολικός αριθμός των παρατηρήσεων είναι μικρός (<20 παρατηρήσεις), τότε αντί του ελέγχου

$\chi^2$  χρησιμοποιείται ο ακριβής έλεγχος του Fisher (Fisher's exact test). Ένα δεύτερο κριτήριο εφαρμογής του ελέγχου Fisher είναι η ύπαρξη έστω και μίας αναμενόμενης τιμής (expected value)  $<10$  σε ένα από τα τέσσερα κελιά του  $2 \times 2$  πίνακα συνάφειας (contingency table) που δημιουργείται με βάση τις παρατηρούμενες τιμές (observed values).

#### *Ακριβής έλεγχος Fisher*

Η δοκιμή είναι χρήσιμη για κατηγοριοποιημένα δεδομένα που προκύπτουν από την ταξινόμηση αντικειμένων με δύο διαφορετικούς τρόπους. χρησιμοποιείται για να εξετάσει τη σημασία της σύνδεσης (έκτακτης ανάγκης) μεταξύ των δύο ειδών ταξινόμησης. Η τιμή  $p$  από τη δοκιμασία Fisher υπολογίζεται σαν να είναι σταθερά τα περιθώρια του πίνακα,. Όπως επισήμανε ο Fisher, αυτό οδηγεί κάτω από μια μηδενική υπόθεση της ανεξαρτησίας σε μια υπεργεωμετρική κατανομή των αριθμών στα κελιά του πίνακα.

Η ακριβής δοκιμή του Fisher είναι, όπως δηλώνει το όνομά του, ακριβής όσο η πειραματική διαδικασία διατηρεί σταθερά τα σύνολα σειρών και στηλών και επομένως μπορεί να χρησιμοποιηθεί ανεξάρτητα από τα χαρακτηριστικά του δείγματος. Γίνεται δύσκολο να υπολογιστεί με μεγάλα δείγματα ή καλά ισορροπημένους πίνακες, αλλά ευτυχώς αυτές είναι ακριβώς οι συνθήκες στις οποίες είναι κατάλληλη η δοκιμή τετραγώνων.

Για τους υπολογισμούς με το χέρι, η δοκιμή είναι εφικτή μόνο στην περίπτωση ενός πίνακα  $2 \times 2$ . Ωστόσο, η αρχή της δοκιμής μπορεί να επεκταθεί στη γενική περίπτωση ενός πίνακα  $m \times n$  (Mehta and Patel, 1983) και ορισμένα στατιστικά πακέτα παρέχουν έναν υπολογισμό για την πιο γενική περίπτωση (Mehta and Patel, 1986).

## 1.7 Προστασία προσωπικών δεδομένων

Τα γενετικά δεδομένα της παρούσας εργασίας περιέχουν ευαίσθητες πληροφορίες για την υγεία και τις μη σχετικές με την υγεία πληροφορίες για τα άτομα και τα μέλη των οικογενειών τους. Ως εκ τούτου, η υιοθέτηση επαρκών διασφαλίσεων προστασίας της ιδιωτικής ζωής είναι πρωταρχικής σημασίας κατά την επεξεργασία γενετικών δεδομένων για ερευνητικούς ή κλινικούς σκοπούς. Ένα από τα σημαντικότερα νομικά μέσα για την προστασία των προσωπικών δεδομένων στην ΕΕ είναι ο νέος κανονισμός γενικής προστασίας δεδομένων (GDPR), ο οποίος τέθηκε σε ισχύ τον Μάιο του 2016 και κατήργησε την οδηγία 95/46/EC, με τελικό στόχο τη βελτίωση της αποτελεσματικότητας και εναρμόνιση της προστασίας των προσωπικών δεδομένων στην ΕΕ.

Ο νέος κανονισμός επιχειρεί να αποσαφηνίσει το πεδίο των προσωπικών δεδομένων, αναγνωρίζοντας τα ψευδονομαζόμενα δεδομένα ως προσωπικά (αναγνωρίσιμα) δεδομένα και συμπεριλαμβάνοντας γενετικά δεδομένα στον κατάλογο των ειδικών κατηγοριών δεδομένων (ευαίσθητα δεδομένα). Επιπλέον, στον κανονισμό για την επεξεργασία των δεδομένων προσωπικού χαρακτήρα προβλέπεται η θέσπιση ενός συνόλου νέων κανόνων βάσει της εξαίρεσης για την επιστημονική έρευνα. Για παράδειγμα, η περαιτέρω χρήση γενετικών δεδομένων για σκοπούς επιστημονικής έρευνας, χωρίς τη λήψη πρόσθετης συγκατάθεσης, θα επιτρέπεται, εάν πληρούνται οι συγκεκριμένες προϋποθέσεις. Ο νέος κανονισμός έχει ήδη τροφοδοτήσει ανησυχίες μεταξύ διαφόρων ενδιαφερομένων, λόγω των προκλήσεων που μπορεί να προκύψουν κατά την εφαρμογή του κανονισμού σε όλες τις χώρες. Συγκεκριμένα, ο παρεχόμενος ορισμός των ψευδωνυμοποιημένων δεδομένων έχει επικριθεί επειδή αφήνει υπερβολικό περιθώριο για ερμηνείες και μπορεί να υπονομεύσει την εναρμόνιση της προστασίας των δεδομένων σε όλες τις χώρες (Beyleveld and Townend, 2004; de Paor, 2014; Hayden, 2013; Phillips and Knoppers, 2016; Rumbold and Pierscionek, 2017; Shabani and Borry, 2018).

## 2 Μέθοδοι

### 2.1 Συλλογή στοιχείων

Για την παρούσα διπλωματική χρησιμοποιήθηκαν οι εξετάσεις 355 ατόμων μεταξύ των χρονολογιών 1999 και 2017 για την πιθανή ύπαρξη δύο συχνών μεταλλαγών που συνδέονται με την θρομβοφιλία:

- a. της μετάλλαξης Leiden στο γονίδιο του παράγοντα πήξης V και
- b. της μετάλλαξης G20210A στο γονίδιο του παράγοντα πήξης II (προθρομβίνης).

Τα δεδομένα αυτά αντλήθηκαν από αρχεία με τα ήδη υπάρχοντα κλινικά στοιχεία που είχε συλλέξει ο καθηγητής κ. Χρήστος Γιαπιτζάκης σε ιδιωτικά εργαστηριακά τμήματα στα οποία ήταν Διευθυντής. Από το 1999 μέχρι το 2008, οι εξετάσεις για την ύπαρξη των δύο μεταλλαγών έγιναν στο Διαγνωστικό Κέντρο «Βιοέρευνα» (Τμήμα Μοριακής Γενετικής), ενώ από το 2008 μέχρι και σήμερα οι εξετάσεις γίνονται στο Κέντρο Γενετικής «Κεφαλογενετική» (Τμήμα Μοριακής Γενετικής). Η μεθοδολογία που ακολουθήθηκε και στα δύο εξεταστικά κέντρα είναι η ίδια και τα αποτελέσματα θεωρούνται αξιόπιστα. Τα στοιχεία που συλλέχθηκαν για τον κάθε ασθενή είναι τα εξής:

- η εθνικότητα (όλοι οι εξεταζόμενοι ήταν Έλληνες)
- το φύλο
- η ηλικία
- το δείγμα από το οποίο απομονώθηκε το DNA για την εξέταση (αίμα ή σάλιο)
- το αποτέλεσμα της εξέτασης για την μετάλλαξη Leiden στο γονίδιο του παράγοντα πήξης V
- το αποτέλεσμα της εξέτασης για την μετάλλαξη G20210A στο γονίδιο του παράγοντα πήξης II (προθρομβίνης)
- ο λόγος ο οποίος πραγματοποιήθηκαν οι συγκεκριμένες εξετάσεις,
- η ενδεχόμενη λήψη ενός πλήρους οικογενειακού ιστορικού από τον καθηγητή κ. Γιαπιτζάκη.

Στους εξεταζόμενους στους οποίους είχε ληφθεί οικογενειακό ιστορικό, μελετήθηκε:

- αν υπήρχε επικρατητική προδιάθεση θρόμβωσης στο οικογενειακό τους δέντρο



- η κατάσταση υγείας των γονέων τους και
- η καταγωγή τους.

Μετά την ολοκλήρωση της συλλογής των παραπάνω δεδομένων, υπήρξε τηλεφωνική επικοινωνία με τους εξεταζόμενους, οι οποίοι εξετάστηκαν μεταξύ των χρονολογιών 1999 και 2013 και στους οποίους είχε ληφθεί οικογενειακό ιστορικό, προκειμένου να διαπιστωθεί η κατάσταση υγείας τους το έτος 2018.

## 2.2 Επεξεργασία δεδομένων

Το σύνολο των ασθενών που εξετάστηκαν είναι ένα τυχαίο δείγμα του πληθυσμού της Ελλάδας Αρχικά ελέγχθηκε αν το σύνολο των ασθενών για τις συγκεκριμένες μεταλλάξεις των γονιδίων του παράγοντα πήξεως V και της προθρομβίνης υπακούει με το νόμο Hardy- Weinberg. Ο έλεγχος αυτός επιτεύχθηκε με την χρήση του διαδικτυακού λογισμικού Genepop<sup>®</sup> (Raymond and Rousset, 1995; Rousset, 2008), το οποίο χρησιμοποίησε αλγόριθμο Μαρκοβιανής αλυσίδας (Markov chain) για την εκτίμηση της ακριβούς τιμής P (P value) αυτής της δοκιμής (Guo and Thompson, 1992).

Η στατιστική μέθοδος επεξεργασίας των υπάρχοντων δεδομένων που επιλέχθηκε είναι ο ακριβής έλεγχος του Fisher (Fisher's exact test) (Agresti, 1992; Fisher, 1922; Fisher, 1954). Η επιλογή της συγκεκριμένης μεθόδου έγινε εξαιτίας του μικρού μεγέθους του δείγματος και εξαιτίας της ικανότητας της μεθόδου να υπολογίζει ακριβώς την απόκλιση από μια μηδενική υπόθεση και όχι προσεγγιστικά, όπως συμβαίνει με πολλές στατιστικές δοκιμές, με συνέπεια τα αποτελέσματα από την επεξεργασία να είναι πιο ακριβή, παρά το μικρό μέγεθος του δείγματος.

Η ανάλυση έγινε με την χρήση του διαδικτυακού λογισμικού VassarStats<sup>®</sup>.

Για την χρήση αυτής της μεθόδου, τα δεδομένα χρειάστηκε να τοποθετηθούν σε πίνακες 2\*2 ή 2\*4. τα δεδομένα μελετήθηκαν και στο σύνολό τους και σε επιμέρους ομάδες ανάλογα με:

- το φύλο,
- την ηλικία και
- την ύπαρξη ανευρύσματος ή όχι σε κάθε ασθενή.

Για κάθε πίνακα υπολογίστηκε η τιμή p (η οποία δηλώνει κατά πόσο ισχύει η μηδενική υπόθεση) και ο συντελεστής συσχέτισης φ. Στη παρούσα εργασία, η μηδενική υπόθεση είναι η έλλειψη συσχέτισης οποιουδήποτε στοιχείου (πχ φύλου) με την θρομβοφιλία.

Στη συνέχεια, δημιουργήθηκαν 3 χάρτες της Ελλάδος. Ο πρώτος περιέχει το σύνολο του δείγματος όπως είναι κατανεμημένος στην Ελλάδα ανά περιφέρεια. Ο δεύτερος περιέχει τα άτομα που είναι θετικά για την μετάλλαξη Leiden του παράγοντα V και ο

τρίτος περιέχει τα άτομα που είναι θετικά για την μετάλλαξη G20210A του γονιδίου της προθρομβίνης.

### 3 Αποτελέσματα

#### 3.1 Δεδομένα της μελέτης

Τα στοιχεία που συγκεντρώθηκαν για στατιστική ανάλυση είναι τα εξής:

1. Εξεταζόμενοι στους οποίους είχε ληφθεί οικογενειακό ιστορικό (n= 233)
  - 101 άτομα αρσενικού γένους και 132 άτομα θηλυκού γένους
  - Άτομα ηλικίας από 12 μέχρι 82 ετών, με μέση τιμή των ηλικιών 44 και διάμεσο 42.
  - 64 ασθενείς πριν την τηλεφωνική επικοινωνία και 74 μετά.
  - 169 υγιείς πριν την τηλεφωνική επικοινωνία και 159 μετά.
  
2. Το σύνολο των εξεταζόμενων (n= 355)
  - 120 άτομα αρσενικού γένους και 235 άτομα θηλυκού γένους
  - Άτομα ηλικίας από 5 μηνών μέχρι 82 ετών, με μέση τιμή των ηλικιών 41 και διάμεσο 39.
  - 67 ασθενείς πριν την τηλεφωνική επικοινωνία και 77 μετά.
  - 288 υγιείς πριν την τηλεφωνική επικοινωνία και 278 μετά.

### 3.2 Ισορροπία Hardy- Weinberg στο δείγμα

- Εξεταζόμενοι στους οποίους είχε ληφθεί οικογενειακό ιστορικό, για τη μετάλλαξη Leiden:

	Υγιείς ( $A_1A_1$ )	Ετερόζυγοι ( $A_1A_2$ )	Ομόζυγοι για τη μετάλλαξη Leiden ( $A_2A_2$ )
Παρατηρήθηκαν	200	31	2
Αναμενόμενοι για να ισχύει η H-W	197	34	2

Οι συχνότητες των αλληλομόρφων στο συγκεκριμένο πληθυσμό είναι οι εξής:

$$P_{A_1} = (2 \cdot 200) + 31 / (2 \cdot 233) = 0,92$$

$$q_{A_2} = (2 \cdot 2) + 31 / (2 \cdot 233) = 0,08$$

Συνεπώς, τα άτομα που αναμένεται να παρατηρηθούν αν ισχύει η ισορροπία Hardy-Weinberg είναι τα εξής:

$$A_1A_1 = (0,92)^2 \cdot 233 = 197$$

$$A_1A_2 = 2 \cdot 0,92 \cdot 0,08 \cdot 233 = 34$$

$$A_2A_2 = (0,08)^2 \cdot 233 = 2$$

Επειδή ο αριθμός των αναμενόμενων ομόζυγων ατόμων για τη μετάλλαξη Leiden είναι μικρότερος του 5, υπολογίστηκε με την χρήση του διαδικτυακού λογισμού Genepop<sup>®</sup> η πιθανότητα  $P = 0.3668$ . Συνεπώς, σε επίπεδο σημαντικότητας 5%, η μηδενική υπόθεση δεν απορρίπτεται και άρα ισχύει η ισορροπία Hardy- Weinberg.

- Εξεταζόμενοι στους οποίους είχε ληφθεί οικογενειακό ιστορικό, για τη μετάλλαξη G20210A:

	Υγιείς (A <sub>1</sub> A <sub>1</sub> )	Ετερόζυγοι (A <sub>1</sub> A <sub>2</sub> )	Ομόζυγοι για τη μετάλλαξη G20210A (A <sub>2</sub> A <sub>2</sub> )
Παρατηρήθηκαν	209	22	2
Αναμενόμενοι για να ισχύει η H-W	206	26	1

Οι συχνότητες των αλληλομόρφων στο συγκεκριμένο πληθυσμό είναι οι εξής:

$$P_{A_1} = (2 \cdot 209) + 22 / (2 \cdot 233) = 0,94$$

$$q_{A_2} = (2 \cdot 2) + 22 / (2 \cdot 233) = 0,06$$

Συνεπώς, τα άτομα που αναμένεται να παρατηρηθούν αν ισχύει η ισορροπία Hardy-Weinberg είναι τα εξής:

$$A_1A_1 = (0,94)^2 \cdot 233 = 206$$

$$A_1A_2 = 2 \cdot 0,94 \cdot 0,06 \cdot 233 = 26$$

$$A_2A_2 = (0,06)^2 \cdot 233 = 1$$

Επειδή ο αριθμός των αναμενόμενων ομόζυγων ατόμων για τη μετάλλαξη G20210A είναι μικρότερος του 5, υπολογίστηκε με την χρήση του διαδικτυακού λογισμού Genepop<sup>®</sup> η πιθανότητα  $P = 0.1473$ . Συνεπώς, σε επίπεδο σημαντικότητας 5%, η μηδενική υπόθεση δεν απορρίπτεται και άρα ισχύει η ισορροπία Hardy-Weinberg.

➤ Το σύνολο των εξεταζόμενων για τη μετάλλαξη Leiden:

	Υγιείς (A <sub>1</sub> A <sub>1</sub> )	Ετερόζυγοι (A <sub>1</sub> A <sub>2</sub> )	Ομόζυγοι για τη μετάλλαξη Leiden (A <sub>2</sub> A <sub>2</sub> )
Παρατηρήθηκαν	309	44	2
Αναμενόμενοι για να ισχύει η H-W	307	46	2

Οι συχνότητες των αλληλομόρφων στο συγκεκριμένο πληθυσμό είναι οι εξής:

$$P_{A_1} = (2 \cdot 309) + 44 / (2 \cdot 355) = 0,93$$

$$q_{A_2} = (2 \cdot 2) + 44 / (2 \cdot 355) = 0,07$$

Συνεπώς, τα άτομα που αναμένεται να παρατηρηθούν αν ισχύει η ισορροπία Hardy-Weinberg είναι τα εξής:

$$A_1A_1 = (0,93)^2 \cdot 355 = 307$$

$$A_1A_2 = 2 \cdot 0,93 \cdot 0,07 \cdot 355 = 46$$

$$A_2A_2 = (0,07)^2 \cdot 355 = 2$$

Επειδή ο αριθμός των αναμενόμενων ομόζυγων ατόμων για τη μετάλλαξη Leiden είναι μικρότερος του 5, υπολογίστηκε με την χρήση του διαδικτυακού λογισμού Genepop<sup>®</sup> η πιθανότητα  $P = 0.6646$ . Συνεπώς, σε επίπεδο σημαντικότητας 5%, η μηδενική υπόθεση δεν απορρίπτεται και άρα ισχύει η ισορροπία Hardy-Weinberg.

➤ Το σύνολο των εξεταζόμενων για τη μετάλλαξη G20210A:

	Υγιείς (A <sub>1</sub> A <sub>1</sub> )	Ετερόζυγοι (A <sub>1</sub> A <sub>2</sub> )	Ομόζυγοι για τη μετάλλαξη G20210A (A <sub>2</sub> A <sub>2</sub> )
Παρατηρήθηκαν	324	29	2
Αναμενόμενοι για να ισχύει η H-W	320	34	1

Οι συχνότητες των αλληλομόρφων στο συγκεκριμένο πληθυσμό είναι οι εξής:

$$P_{A_1} = (2 \cdot 324) + 29 / (2 \cdot 355) = 0,95$$

$$q_{A_2} = (2 \cdot 2) + 29 / (2 \cdot 355) = 0,05$$

Συνεπώς, τα άτομα που αναμένεται να παρατηρηθούν αν ισχύει η ισορροπία Hardy-Weinberg είναι τα εξής:

$$A_1A_1 = (0,95)^2 \cdot 355 = 320$$

$$A_1A_2 = 2 \cdot 0,95 \cdot 0,05 \cdot 355 = 34$$

$$A_2A_2 = (0,05)^2 \cdot 355 = 1$$

Επειδή ο αριθμός των αναμενόμενων ομόζυγων ατόμων για τη μετάλλαξη G20210A είναι μικρότερος του 5, υπολογίστηκε με την χρήση του διαδικτυακού λογισμού Genepop<sup>®</sup> η πιθανότητα  $P = 0.1636$ . Συνεπώς, σε επίπεδο σημαντικότητας 5%, η μηδενική υπόθεση δεν απορρίπτεται και άρα ισχύει η ισορροπία Hardy-Weinberg.



### 3.3 Στατιστική ανάλυση με την μέθοδο Fisher

Η στατιστική ανάλυση που έγινε με την μέθοδο Fisher συνέκρινε ασθενείς και υγιείς εξεταζόμενους σε σχέση με την πιθανή ύπαρξη των δύο μεταλλάξεων στο γονιδίωμα τους. Η ανάλυση έγινε ανά κατηγορίες εξεταζόμενων (με κόκκινο χρώμα επισημαίνεται η τιμή  $p$  όταν είναι μικρότερη από το 0,05, οπότε και η διαφορά μεταξύ των μέσων των ασθενών και των υγιών ατόμων σε σχέση με τις μεταλλαγές είναι στατιστικώς σημαντική):

➤ Εξεταζόμενοι στους οποίους είχε ληφθεί οικογενειακό ιστορικό (N=233):

Σε αυτή τη κατηγορία παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά στους άνδρες όλων των ηλικιών για τη μετάλλαξη Leiden του γονιδίου του παράγοντα πήξης V (Πίνακας 5, Πίνακας 6) στους άνδρες ηλικίας 41+ για τη μετάλλαξη G20210A του γονιδίου της προθρομβίνης (Πίνακας 8), στο σύνολο των ατόμων ηλικίας 41+ για τη μετάλλαξη Leiden του γονιδίου του παράγοντα πήξης V (Πίνακας 9) και για του άνδρες ηλικίας 41+ για τον συνδυασμό των δύο μεταλλάξεων (Πίνακας 11).

Άνδρες 0-40 (N=33)				Γυναίκες 0-40 (N=69)			
Κατάσταση Υγείας	Leiden <sup>+</sup>	Leiden <sup>-</sup>	Αποτελέσματα Fisher	Κατάσταση Υγείας	Leiden <sup>+</sup>	Leiden <sup>-</sup>	Αποτελέσματα Fisher
Ασθενείς	5	3	p=0.036	Ασθενείς	4	14	p=0.46
Υγιείς	5	20	φ=-0.4	Υγιείς	14	37	φ=0.05

Πίνακας 5: Στατιστικός έλεγχος Fisher για την μετάλλαξη Leiden του γονιδίου του παράγοντα πήξης V του σε ηλικίες 0-40

Άνδρες 41+ (N=65)				Γυναίκες 41+ (N=62)			
Κατάσταση Υγείας	Leiden <sup>+</sup>	Leiden <sup>-</sup>	Αποτελέσματα Fisher	Κατάσταση Υγείας	Leiden <sup>+</sup>	Leiden <sup>-</sup>	Αποτελέσματα Fisher
Ασθενείς.	11	20	p=0.023	Ασθενείς	4	12	p=0.29
Υγιείς	4	30	φ=-0.28	Υγιείς.	7	39	φ=-0.11

Πίνακας 6: Στατιστικός έλεγχος Fisher για την μετάλλαξη Leiden του γονιδίου του παράγοντα πήξης V του σε ηλικίες 41+

Άνδρες 0-40 (N=34)				Γυναίκες 0-40 (N=70)			
Κατάσταση Υγείας	G20210A <sup>+</sup>	G20210A <sup>-</sup>	Αποτελέσματα Fisher	Κατάσταση Υγείας	G20210A <sup>+</sup>	G20210A <sup>-</sup>	Αποτελέσματα Fisher
Ασθενείς	1	7	p=1	Ασθενείς	4	15	p=0.5
Υγιείς	2	24	φ=-0.07	Υγιείς	9	42	φ=-0.04

Πίνακας 7: Στατιστικός έλεγχος Fisher για την μετάλλαξη G20210A του γονιδίου της προθρομβίνης σε ηλικίες 0-40

Άνδρες 41+ (N=67)				Γυναίκες 41+ (N=62)			
Κατάσταση Υγείας	G20210A <sup>+</sup>	G20210A <sup>-</sup>	Αποτελέσματα Fisher	Κατάσταση Υγείας	G20210A <sup>+</sup>	G20210A <sup>-</sup>	Αποτελέσματα Fisher
Ασθενείς	7	24	p=0.02	Ασθενείς	3	13	p=0.68
Υγιείς	1	35	φ=-0.3	Υγιείς	6	40	φ=-0.07

Πίνακας 8: Στατιστικός έλεγχος Fisher για την μετάλλαξη G20210A του γονιδίου της προθρομβίνης σε ηλικίες 41+

Σύνολο 0-40 (N=102)				Σύνολο 41+ (N=127)			
Κατάσταση Υγείας	Leiden <sup>+</sup>	Leiden <sup>-</sup>	Αποτελέσματα Fisher	Κατάσταση Υγείας	Leiden <sup>+</sup>	Leiden <sup>-</sup>	Αποτελέσματα Fisher
Ασθενείς	9	17	p=0.44	Ασθενείς	15	32	p=0.02
Υγιείς	19	57	φ=-0.09	Υγιείς.	11	69	φ=-0.22

Πίνακας 9: Στατιστικός έλεγχος Fisher για την μετάλλαξη Leiden του γονιδίου του παράγοντα πήξης V

Άνδρες 0-40 (N=34)					
Κατάσταση Υγείας	Leiden <sup>+</sup> / G20210A <sup>+</sup>	Leiden <sup>+</sup> / G20210A <sup>-</sup>	Leiden <sup>-</sup> / G20210A <sup>+</sup>	Leiden <sup>-</sup> / G20210A <sup>-</sup>	Αποτελέσματα Fisher
Ασθενείς	1	4	0	3	45 πίνακες
Υγιείς	0	6	2	18	P=0.11

Πίνακας 10: Στατιστικός έλεγχος Fisher για τον συνδυασμό της μετάλλαξης Leiden του γονιδίου του παράγοντα πήξης V και της μετάλλαξης G20210A του γονιδίου της προθρομβίνης σε άνδρες ηλικίας 0-40

Άνδρες 41+ (N=67)					
Κατάσταση Υγείας	Leiden <sup>+</sup> / G20210A <sup>+</sup>	Leiden <sup>+</sup> / G20210A <sup>-</sup>	Leiden <sup>-</sup> / G20210A <sup>+</sup>	Leiden <sup>-</sup> / G20210A <sup>-</sup>	Αποτελέσματα Fisher
Ασθενείς	2	9	5	15	73 πίνακες
Υγιείς	1	5	0	30	P=0.024

Πίνακας 11: Στατιστικός έλεγχος Fisher για τον συνδυασμό της μετάλλαξης Leiden του γονιδίου του παράγοντα πήξης V και της μετάλλαξης G20210A του γονιδίου της προθρομβίνης σε άνδρες ηλικίας 41+

Γυναίκες 0-40 (N=70)					
Κατάσταση Υγείας	Leiden <sup>+</sup> / G20210A <sup>+</sup>	Leiden <sup>+</sup> / G20210A <sup>-</sup>	Leiden <sup>-</sup> / G20210A <sup>+</sup>	Leiden <sup>-</sup> / G20210A <sup>-</sup>	Αποτελέσματα Fisher
Ασθενείς	0	4	4	11	347 πίνακες
Υγιείς	1	13	8	29	P=0.9

Πίνακας 12: Στατιστικός έλεγχος Fisher για τον συνδυασμό της μετάλλαξης Leiden του γονιδίου του παράγοντα πήξης V και της μετάλλαξης G20210A του γονιδίου της προθρομβίνης σε γυναίκες ηλικίας 0-40

Γυναίκες 41+ (N=62)					
<b>Κατάσταση Υγείας</b>	<b>Leiden<sup>+</sup>/ G20210A<sup>+</sup></b>	<b>Leiden<sup>+</sup>/ G20210A<sup>-</sup></b>	<b>Leiden<sup>-</sup>/ G20210A<sup>+</sup></b>	<b>Leiden<sup>-</sup>/ G20210A<sup>-</sup></b>	<b>Αποτελέσματα Fisher</b>
<b>Ασθενείς</b>	0	4	3	9	110 πίνακες
<b>Υγιείς</b>	0	7	6	33	P=0.46

Πίνακας 13: Στατιστικός έλεγχος Fisher για τον συνδυασμό της μετάλλαξης Leiden του γονιδίου του παράγοντα πήξης V και της μετάλλαξης G20210A του γονιδίου της προθρομβίνης σε γυναίκες ηλικίας 41+

- Το σύνολο των εξεταζόμενων (N=355) - ως OR ορίζεται ο λόγος πιθανότητας (Cornfield, 1951; Edwards, 1963; Mosteller, 1968) και ποσοτικοποιεί την ένταση της σύνδεσης των ασθενών ή των υγείων με την παρουσία ή την απουσία της εκάστοτε μετάλλαξης σε κάθε πληθυσμό:

Σε αυτή τη κατηγορία παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά στους άνδρες ηλικίας 0-40 για την μετάλλαξη Leiden του γονιδίου του παράγοντα πήξης V (Πίνακας 14), στους άνδρες για την μετάλλαξη Leiden του γονιδίου του παράγοντα πήξης V (Πίνακας 16), στο σύνολο των εξεταζόμενων για την μετάλλαξη Leiden του γονιδίου του παράγοντα πήξης V (Πίνακας 17), στους άνδρες όλων των ηλικιών για τον συνδυασμό των δύο μεταλλάξεων (Πίνακας 18, Πίνακας 19) και στις γυναίκες 41+ για τον συνδυασμό των δύο μεταλλάξεων (Πίνακας 21).

Άνδρες 0-40 (N=40)				Γυναίκες 0-40 (N=150)			
Κατάσταση Υγείας	Leiden <sup>+</sup>	Leiden <sup>-</sup>	Αποτελέσματα Fisher	Κατάσταση Υγείας	Leiden <sup>+</sup>	Leiden <sup>-</sup>	Αποτελέσματα Fisher
Ασθενείς	5	3	p=0.025	Ασθενείς	4	23	p=1
Υγιείς	6	26	φ=-0.39	Υγιείς	16	107	φ=-0.02
			OR=7.22				OR=1.16

Πίνακας 14: Στατιστικός έλεγχος Fisher για την μετάλλαξη Leiden του γονιδίου του παράγοντα πήξης V του σε ηλικίες 0-40

Άνδρες 41+ (N=80)				Γυναίκες 41+ (N=85)			
Κατάσταση Υγείας	Leiden <sup>+</sup>	Leiden <sup>-</sup>	Αποτελέσματα Fisher	Κατάσταση Υγείας	Leiden <sup>+</sup>	Leiden <sup>-</sup>	Αποτελέσματα Fisher
Ασθενείς	11	20	p=0.062	Ασθενείς	5	8	p=0.13
Υγιείς	8	41	φ=-0.22	Υγιείς	13	59	φ=-0.18
			OR=2.82				OR=2.84

Πίνακας 15: Στατιστικός έλεγχος Fisher για την μετάλλαξη Leiden του γονιδίου του παράγοντα πήξης V του σε ηλικίες 41+

Άνδρες (N=120)				Γυναίκες (N=235)			
Κατάσταση Υγείας	Leiden <sup>+</sup>	Leiden <sup>-</sup>	Αποτελέσματα Fisher	Κατάσταση Υγείας	Leiden <sup>+</sup>	Leiden <sup>-</sup>	Αποτελέσματα Fisher
Ασθενείς	16	23	p=0.007	Ασθενείς	9	31	p=0.24
Υγιείς	14	67	φ=-0.26	Υγιείς	29	166	φ=-0.08

Πίνακας 16: Στατιστικός έλεγχος Fisher για την μετάλλαξη Leiden του γονιδίου του παράγοντα πήξης V



Συνολικά (N=355)			
Κατάσταση Υγείας	Leiden <sup>+</sup>	Leiden <sup>-</sup>	Αποτελέσματα Fisher
Ασθενείς	25	54	p=0.002
Υγιείς	43	233	φ=-0.17

Πίνακας 17: Στατιστικός έλεγχος Fisher για την μετάλλαξη Leiden του γονιδίου του παράγοντα πήξης V

Άνδρες 0-40 (N=40)					
Κατάσταση Υγείας	Leiden <sup>+</sup> / G20210A <sup>+</sup>	Leiden <sup>+</sup> / G20210A <sup>-</sup>	Leiden <sup>-</sup> / G20210A <sup>+</sup>	Leiden <sup>-</sup> / G20210A <sup>-</sup>	Αποτελέσματα Fisher
Ασθενείς	1	4	0	3	56 πίνακες
Υγιείς	0	6	3	23	P=0.039

Πίνακας 18: Στατιστικός έλεγχος Fisher για τον συνδυασμό της μετάλλαξης Leiden του γονιδίου του παράγοντα πήξης V και της μετάλλαξης G20210A του γονιδίου της προθρομβίνης σε άνδρες ηλικίας 0-40

Άνδρες 41+ (N=80)					
Κατάσταση Υγείας	Leiden <sup>+</sup> / G20210A <sup>+</sup>	Leiden <sup>+</sup> / G20210A <sup>-</sup>	Leiden <sup>-</sup> / G20210A <sup>+</sup>	Leiden <sup>-</sup> / G20210A <sup>-</sup>	Αποτελέσματα Fisher
Ασθενείς	2	9	5	15	476 πίνακες
Υγιείς	1	7	1	40	<b>P=0.007</b>

Πίνακας 19: Στατιστικός έλεγχος Fisher για τον συνδυασμό της μετάλλαξης Leiden του γονιδίου του παράγοντα πήξης V και της μετάλλαξης G20210A του γονιδίου της προθρομβίνης σε άνδρες ηλικίας 41+

Γυναίκες 0-40 (N=150)					
Κατάσταση Υγείας	Leiden <sup>+</sup> / G20210A <sup>+</sup>	Leiden <sup>+</sup> / G20210A <sup>-</sup>	Leiden <sup>-</sup> / G20210A <sup>+</sup>	Leiden <sup>-</sup> / G20210A <sup>-</sup>	Αποτελέσματα Fisher
Ασθενείς	0	4	4	12	P= Αδύνατο
Υγιείς	1	22	12	95	(N>120)

Πίνακας 20: Στατιστικός έλεγχος Fisher για τον συνδυασμό της μετάλλαξης Leiden του γονιδίου του παράγοντα πήξης V και της μετάλλαξης G20210A του γονιδίου της προθρομβίνης σε γυναίκες ηλικίας 0-40

Γυναίκες 41+ (N=85)					
Κατάσταση Υγείας	Leiden <sup>+</sup> / G20210A <sup>+</sup>	Leiden <sup>+</sup> / G20210A <sup>-</sup>	Leiden <sup>-</sup> / G20210A <sup>+</sup>	Leiden <sup>-</sup> / G20210A <sup>-</sup>	Αποτελέσματα Fisher
Ασθενείς	0	5	4	9	139 πίνακες
Υγιείς	0	8	6	53	<b>P=0.02</b>

Πίνακας 21: Στατιστικός έλεγχος Fisher για τον συνδυασμό της μετάλλαξης Leiden του γονιδίου του παράγοντα πήξης V και της μετάλλαξης G20210A του γονιδίου της προθρομβίνης σε γυναίκες ηλικίας 41+

➤ Ασθενείς με ανεύρυσμα σε σχέση με τα υγιή άτομα, στους οποίους είχε ληφθεί οικογενειακό ιστορικό (N=212):

Σε αυτή τη κατηγορία παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά στους άνδρες για τον συνδυασμό των δύο μεταλλάξεων (Πίνακας 22).

Άνδρες (N=93)					
Κατάσταση Υγείας	Leiden <sup>+</sup> / G20210A <sup>+</sup>	Leiden <sup>+</sup> / G20210A <sup>-</sup>	Leiden <sup>-</sup> / G20210A <sup>+</sup>	Leiden <sup>-</sup> / G20210A <sup>-</sup>	Αποτελέσματα Fisher
Ασθενείς	2	3	3	4	p=0.0015
Υγιείς	1	13	4	63	

Πίνακας 22: Στατιστικός έλεγχος Fisher για τον συνδυασμό της μετάλλαξης Leiden του γονιδίου του παράγοντα πήξης V και της μετάλλαξης G20210A του γονιδίου της προθρομβίνης σε άνδρες

Γυναίκες(N=119)					
Κατάσταση Υγείας	Leiden <sup>+</sup> / G20210A <sup>+</sup>	Leiden <sup>+</sup> / G20210A <sup>-</sup>	Leiden <sup>-</sup> / G20210A <sup>+</sup>	Leiden <sup>-</sup> / G20210A <sup>-</sup>	Αποτελέσματα Fisher
Ασθενείς	0	2	1	5	p=0.999
Υγιείς	1	30	18	62	

Πίνακας 23: Στατιστικός έλεγχος Fisher για τον συνδυασμό της μετάλλαξης Leiden του γονιδίου του παράγοντα πήξης V και της μετάλλαξης G20210A του γονιδίου της προθρομβίνης σε γυναίκες

➤ Ασθενείς με ανεύρυσμα σε σχέση με τα υγιή άτομα, στο σύνολο των εξεταζόμενων (N=277):

Σε αυτή τη κατηγορία παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά στους άνδρες για τον συνδυασμό των δύο μεταλλάξεων (Πίνακας 24).

Άνδρες (N=74)					
Κατάσταση Υγείας	Leiden <sup>+</sup> / G20210A <sup>+</sup>	Leiden <sup>+</sup> / G20210A <sup>-</sup>	Leiden <sup>-</sup> / G20210A <sup>+</sup>	Leiden <sup>-</sup> / G20210A <sup>-</sup>	Αποτελέσματα Fisher
Ασθενείς	2	3	3	4	p=0.0019
Υγιείς	1	11	2	48	

Πίνακας 24: Στατιστικός έλεγχος Fisher για τον συνδυασμό της μετάλλαξης Leiden του γονιδίου του παράγοντα πήξης V και της μετάλλαξης G20210A του γονιδίου της προθρομβίνης σε άνδρες

Γυναίκες (N=203)					
Κατάσταση Υγείας	Leiden <sup>+</sup> / G20210A <sup>+</sup>	Leiden <sup>+</sup> / G20210A <sup>-</sup>	Leiden <sup>-</sup> / G20210A <sup>+</sup>	Leiden <sup>-</sup> / G20210A <sup>-</sup>	Αποτελέσματα Fisher
Ασθενείς	0	1	1	5	p= Αδύνατο (N>120)
Υγιείς	1	30	18	147	

Πίνακας 25: Στατιστικός έλεγχος Fisher για τον συνδυασμό της μετάλλαξης Leiden του γονιδίου του παράγοντα πήξης V και της μετάλλαξης G20210A του γονιδίου της προθρομβίνης σε γυναίκες

➤ Εξεταζόμενοι στους οποίους είχε ληφθεί οικογενειακό ιστορικό, εκτός των ασθενών με ανεύρυσμα (N=209):

Σε αυτή τη κατηγορία παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά στο σύνολο των εξεταζόμενων σε όλες τις ηλικίες για τη μετάλλαξη Leiden του γονιδίου του παράγοντα πήξης V (Πίνακας 30) και στους άνδρες ηλικίας 41+ για τον συνδυασμό των δύο μεταλλάξεων (Πίνακας 32).

➤ Άνδρες 0-40 (N=31)				Γυναίκες 0-40 (N=64)			
Κατάσταση Υγείας	Leiden <sup>+</sup>	Leiden <sup>-</sup>	Αποτελέσματα Fisher	Κατάσταση Υγείας	Leiden <sup>+</sup>	Leiden <sup>-</sup>	Αποτελέσματα Fisher
Ασθενείς	2	3	p=0.58	Ασθενείς	4	9	p=1
Υγιείς	6	20	φ=-0.14	Υγιείς	14	37	φ=-0.03

Πίνακας 26: Στατιστικός έλεγχος Fisher για την μετάλλαξη Leiden του γονιδίου του παράγοντα πήξης V σε ηλικίες 0-40

Άνδρες 41+ (N=59)				Γυναίκες 41+ (N=55)			
Κατάσταση Υγείας	Leiden <sup>+</sup>	Leiden <sup>-</sup>	Αποτελέσματα Fisher	Κατάσταση Υγείας	Leiden <sup>+</sup>	Leiden <sup>-</sup>	Αποτελέσματα Fisher
Ασθενείς.	9	13	p=0.06	Ασθενείς	3	7	p=0.36
Υγιείς	6	31	φ=-0.27	Υγιείς.	7	38	φ=-0.14

Πίνακας 27: Στατιστικός έλεγχος Fisher για την μετάλλαξη Leiden του γονιδίου του παράγοντα πήξης V σε ηλικίες 41+

Άνδρες 0-40 (N=31)				Γυναίκες 0-40 (N=64)			
Κατάσταση			Αποτελέσματα	Κατάσταση			Αποτελέσματα
Υγείας	G20210A <sup>+</sup>	G20210A <sup>-</sup>	Fisher	Υγείας	G20210A <sup>+</sup>	G20210A <sup>-</sup>	Fisher
Ασθενείς	0	5	p=1	Ασθενείς	3	10	p=0.7
Υγιείς	2	24	φ=0.12	Υγιείς	9	42	φ=-0.06

Πίνακας 28: Στατιστικός έλεγχος Fisher για την μετάλλαξη G20210A του γονιδίου της προθρομβίνης σε ηλικίες 0-40

Άνδρες 41+ (N=59)				Γυναίκες 41+ (N=48)			
Κατάσταση			Αποτελέσματα	Κατάσταση			Αποτελέσματα
Υγείας	G20210A <sup>+</sup>	G20210A <sup>-</sup>	Fisher	Υγείας	G20210A <sup>+</sup>	G20210A <sup>-</sup>	Fisher
Ασθενείς	3	19	p=0.35	Ασθενείς	3	7	p=0.34
Υγιείς	2	35	φ=-0.14	Υγιείς	6	39	φ=-0.17

Πίνακας 29: Στατιστικός έλεγχος Fisher για την μετάλλαξη G20210A του γονιδίου της προθρομβίνης σε ηλικίες 41+

Σύνολο 0-40 (N=95)				Σύνολο 41+ (N=114)			
Κατάσταση Υγείας	Leiden <sup>+</sup>	Leiden <sup>-</sup>	Αποτελέσματα Fisher	Κατάσταση Υγείας	Leiden <sup>+</sup>	Leiden <sup>-</sup>	Αποτελέσματα Fisher
Ασθενείς	6	12	p=0.01	Ασθενείς	12	20	p=0.02
Υγιείς	20	57	φ=-0.06	Υγιείς.	13	69	φ=-0.24

Πίνακας 30: Στατιστικός έλεγχος Fisher για την μετάλλαξη Leiden του γονιδίου του παράγοντα πήξης V

Άνδρες 0-40 (N=31)					
Κατάσταση Υγείας	Leiden <sup>+</sup> / G20210A <sup>+</sup>	Leiden <sup>+</sup> / G20210A <sup>-</sup>	Leiden <sup>-</sup> / G20210A <sup>+</sup>	Leiden <sup>-</sup> / G20210A <sup>-</sup>	Αποτελέσματα Fisher
Ασθενείς	0	2	0	3	15 πίνακες
Υγιείς	0	6	2	18	P=0.72

Πίνακας 31: Στατιστικός έλεγχος Fisher για τον συνδυασμό της μετάλλαξης Leiden του γονιδίου του παράγοντα πήξης V και της μετάλλαξης G20210A του γονιδίου της προθρομβίνης σε άνδρες ηλικίας 0-40



Άνδρες 41+ (N=59)					
Κατάσταση Υγείας	Leiden <sup>+</sup> / G20210A <sup>+</sup>	Leiden <sup>+</sup> / G20210A <sup>-</sup>	Leiden <sup>-</sup> / G20210A <sup>+</sup>	Leiden <sup>-</sup> / G20210A <sup>-</sup>	Αποτελέσματα Fisher
Ασθενείς	1	8	2	11	168 πίνακες
Υγιείς	1	5	1	30	<b>P=0.046</b>

Πίνακας 32: Στατιστικός έλεγχος Fisher για τον συνδυασμό της μετάλλαξης Leiden του γονιδίου του παράγοντα πήξης V και της μετάλλαξης G20210A του γονιδίου της προθρομβίνης σε άνδρες ηλικίας 41+

Γυναίκες 0-40 (N=64)					
Κατάσταση Υγείας	Leiden <sup>+</sup> / G20210A <sup>+</sup>	Leiden <sup>+</sup> / G20210A <sup>-</sup>	Leiden <sup>-</sup> / G20210A <sup>+</sup>	Leiden <sup>-</sup> / G20210A <sup>-</sup>	Αποτελέσματα Fisher
Ασθενείς	0	4	3	6	192 πίνακες
Υγιείς	1	13	8	29	P=0.8

Πίνακας 33: Στατιστικός έλεγχος Fisher για τον συνδυασμό της μετάλλαξης Leiden του γονιδίου του παράγοντα πήξης V και της μετάλλαξης G20210A του γονιδίου της προθρομβίνης σε γυναίκες ηλικίας 0-40

Γυναίκες 41+ (N=55)					
<b>Κατάσταση Υγείας</b>	<b>Leiden<sup>+</sup>/ G20210A<sup>+</sup></b>	<b>Leiden<sup>+</sup>/ G20210A<sup>-</sup></b>	<b>Leiden<sup>-</sup>/ G20210A<sup>+</sup></b>	<b>Leiden<sup>-</sup>/ G20210A<sup>-</sup></b>	<b>Αποτελέσματα Fisher</b>
<b>Ασθενείς</b>	0	3	3	4	65 πίνακες
<b>Υγιείς</b>	0	7	6	32	P=0.12

Πίνακας 34: Στατιστικός έλεγχος Fisher για τον συνδυασμό της μετάλλαξης Leiden του γονιδίου του παράγοντα πήξης V και της μετάλλαξης G20210A του γονιδίου της προθρομβίνης σε γυναίκες ηλικίας 41+

- Το σύνολο των εξεταζόμενων, εκτός των ασθενών με ανεύρυσμα (N=330)- ως OR ορίζεται ο λόγος πιθανότητας (Cornfield, 1951; Edwards, 1963; Mosteller, 1968) και ποσοτικοποιεί την ένταση της σύνδεσης των ασθενών ή των υγείων με την παρουσία ή την απουσία της εκάστοτε μετάλλαξης σε κάθε πληθυσμό:

Σε αυτή τη κατηγορία παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά στους άνδρες ηλικίας 41+ για την μετάλλαξη Leiden του γονιδίου του παράγοντα πήξης V (Πίνακας 36), στους άνδρες για την μετάλλαξη Leiden του γονιδίου του παράγοντα πήξης V (Πίνακας 37), στο σύνολο των εξεταζόμενων για την μετάλλαξη Leiden του γονιδίου του παράγοντα πήξης V (Πίνακας 38) και στις γυναίκες 41+ για τον συνδυασμό των δύο μεταλλάξεων (Πίνακας 42).

Ανδρες 0-40 (N=37)				Γυναίκες 0-40 (N=144)			
<b>Κατάσταση Υγείας</b>	<b>Leiden<sup>+</sup></b>	<b>Leiden<sup>-</sup></b>	<b>Αποτελέσματα Fisher</b>	<b>Κατάσταση Υγείας</b>	<b>Leiden<sup>+</sup></b>	<b>Leiden<sup>-</sup></b>	<b>Αποτελέσματα Fisher</b>
<b>Ασθενείς</b>	2	3	p=0.56	<b>Ασθενείς</b>	4	10	p=0.47
<b>Υγιείς</b>	6	26	φ=-0.18	<b>Υγιείς</b>	23	107	φ=-0.08
			OR=2.89				OR=1.86

Πίνακας 35: Στατιστικός έλεγχος Fisher για την μετάλλαξη Leiden του γονιδίου του παράγοντα πήξης V σε ηλικίες 0-40

Άνδρες 41+ (N=72)				Γυναίκες 41+ (N=77)			
Κατάσταση Υγείας	Leiden <sup>+</sup>	Leiden <sup>-</sup>	Αποτελέσματα Fisher	Κατάσταση Υγείας	Leiden <sup>+</sup>	Leiden <sup>-</sup>	Αποτελέσματα Fisher
Ασθενείς	9	13	p=0.03	Ασθενείς	3	8	p=0.36
Υγιείς	8	42	φ=-0.27	Υγιείς	8	58	φ=-0.14
			OR=3.63				OR=2.44

Πίνακας 36: Στατιστικός έλεγχος Fisher για την μετάλλαξη Leiden του γονιδίου του παράγοντα πήξης V σε ηλικίες 41+

Άνδρες (N=109)				Γυναίκες (N=221)			
Κατάσταση Υγείας	Leiden <sup>+</sup>	Leiden <sup>-</sup>	Αποτελέσματα Fisher	Κατάσταση Υγείας	Leiden <sup>+</sup>	Leiden <sup>-</sup>	Αποτελέσματα Fisher
Ασθενείς	11	16	p=0.02	Ασθενείς	7	18	p=0.16
Υγιείς	14	68	φ=-0.24	Υγιείς	31	165	φ=-0.1

Πίνακας 37: Στατιστικός έλεγχος Fisher για την μετάλλαξη Leiden του γονιδίου του παράγοντα πήξης V

Συνολικά (N=330)			
Κατάσταση Υγείας	Leiden <sup>+</sup>	Leiden <sup>-</sup>	Αποτελέσματα Fisher
Ασθενείς	18	34	p=0.003
Υγιείς	45	233	φ=-0.17

Πίνακας 38: Στατιστικός έλεγχος Fisher για την μετάλλαξη Leiden του γονιδίου του παράγοντα πήξης V

Άνδρες 0-40 (N=23)					
Κατάσταση Υγείας	Leiden <sup>+</sup> / G20210A <sup>+</sup>	Leiden <sup>+</sup> / G20210A <sup>-</sup>	Leiden <sup>-</sup> / G20210A <sup>+</sup>	Leiden <sup>-</sup> / G20210A <sup>-</sup>	Αποτελέσματα Fisher
Ασθενείς	0	2	0	3	18 πίνακες
Υγιείς	0	6	3	23	P=0.73

Πίνακας 39: Στατιστικός έλεγχος Fisher για τον συνδυασμό της μετάλλαξης Leiden του γονιδίου του παράγοντα πήξης V και της μετάλλαξης G20210A του γονιδίου της προθρομβίνης σε άνδρες ηλικίας 0-40

Άνδρες 41+ (N=72)					
Κατάσταση Υγείας	Leiden <sup>+</sup> / G20210A <sup>+</sup>	Leiden <sup>+</sup> / G20210A <sup>-</sup>	Leiden <sup>-</sup> / G20210A <sup>+</sup>	Leiden <sup>-</sup> / G20210A <sup>-</sup>	Αποτελέσματα Fisher
Ασθενείς	1	8	2	11	240 πίνακες
Υγιείς	1	7	2	40	P=0.39

Πίνακας 40: Στατιστικός έλεγχος Fisher για τον συνδυασμό της μετάλλαξης Leiden του γονιδίου του παράγοντα πήξης V και της μετάλλαξης G20210A του γονιδίου της προθρομβίνης σε άνδρες ηλικίας 41+

Γυναίκες 0-40 (N=144)					
Κατάσταση Υγείας	Leiden <sup>+</sup> / G20210A <sup>+</sup>	Leiden <sup>+</sup> / G20210A <sup>-</sup>	Leiden <sup>-</sup> / G20210A <sup>+</sup>	Leiden <sup>-</sup> / G20210A <sup>-</sup>	Αποτελέσματα Fisher
Ασθενείς	0	4	3	7	P= Αδύνατο
Υγιείς	1	22	12	95	(N>120)

Πίνακας 41: Στατιστικός έλεγχος Fisher για τον συνδυασμό της μετάλλαξης Leiden του γονιδίου του παράγοντα πήξης V και της μετάλλαξης G20210A του γονιδίου της προθρομβίνης σε γυναίκες ηλικίας 0-40

Γυναίκες 41+ (N=77)					
Κατάσταση Υγείας	Leiden <sup>+</sup> / G20210A <sup>+</sup>	Leiden <sup>+</sup> / G20210A <sup>-</sup>	Leiden <sup>-</sup> / G20210A <sup>+</sup>	Leiden <sup>-</sup> / G20210A <sup>-</sup>	Αποτελέσματα Fisher
Ασθενείς	0	3	4	4	77 πίνακες
Υγιείς	0	8	6	52	<b>P=0.008</b>

Πίνακας 42: Στατιστικός έλεγχος Fisher για τον συνδυασμό της μετάλλαξης Leiden του γονιδίου του παράγοντα πήξης V και της μετάλλαξης G20210A του γονιδίου της προθρομβίνης σε γυναίκες ηλικίας 41+

➤ Το σύνολο των αποτελεσμάτων της στατιστικής ανάλυσης του δείγματος (Πίνακας 43, Πίνακας 44, Πίνακας 45)

	Εξεταζόμενοι στους οποίους είχε ληφθεί οικογενειακό ιστορικό	Το σύνολο των εξεταζόμενων	Ασθενείς με ανεύρυσμα σε σχέση με τα υγιή άτομα, στους οποίους είχε ληφθεί οικογενειακό ιστορικό	Ασθενείς με ανεύρυσμα σε σχέση με τα υγιή άτομα, στο σύνολο των εξεταζόμενων	Εξεταζόμενοι στους οποίους είχε ληφθεί οικογενειακό ιστορικό, εκτός των ασθενών με ανεύρυσμα	Το σύνολο των εξεταζόμενων, εκτός των ασθενών με ανεύρυσμα
Σύνολο	-	p=0.002	-	-	-	p=0.003
Σύνολο 0-40	p=0.44	-	-	-	p=0.01	-
Σύνολο 41+	p=0.02	-	-	-	p=0.02	-
Άνδρες	-	p=0.007	-	-	-	p=0.02
Άνδρες 0-40	p=0.036	p=0.025	-	-	p=0.58	p=0.56
Άνδρες 41+	p=0.023	p=0.062	-	-	p=0.06	p=0.03
Γυναίκες	-	p=0.24	-	-	-	p=0.16
Γυναίκες 0-40	p=0.46	p=1	-	-	p=1	p=0.47
Γυναίκες 41+	p=0.29	p=0.13	-	-	p=0.36	p=0.36

Πίνακας 43: Συγκεντρωτικός πίνακας για την μετάλλαξη Leiden στο γονίδιο του παράγοντα πήξης V



	Εξεταζόμενοι στους οποίους είχε ληφθεί οικογενειακό ιστορικό	Το σύνολο των εξεταζόμενων	Ασθενείς με ανεύρυσμα σε σχέση με τα υγιή άτομα, στους οποίους είχε ληφθεί οικογενειακό ιστορικό	Ασθενείς με ανεύρυσμα σε σχέση με τα υγιή άτομα, στο σύνολο των εξεταζόμενων	Εξεταζόμενοι στους οποίους είχε ληφθεί οικογενειακό ιστορικό, εκτός των ασθενών με ανεύρυσμα	Το σύνολο των εξεταζόμενων, εκτός των ασθενών με ανεύρυσμα
Σύνολο	-	-	-	-	-	-
Σύνολο 0-40	-	-	-	-	-	-
Σύνολο 41+	-	-	-	-	-	-
Άνδρες	-	-	-	-	-	-
Άνδρες 0-40	p=1	-	-	-	p=1	-
Άνδρες 41+	p=0.02	-	-	-	p=0.35	-
Γυναίκες	-	-	-	-	-	-
Γυναίκες 0-40	p=0.5	-	-	-	p=0.7	-
Γυναίκες 41+	p=0.68	-	-	-	p=0.34	-

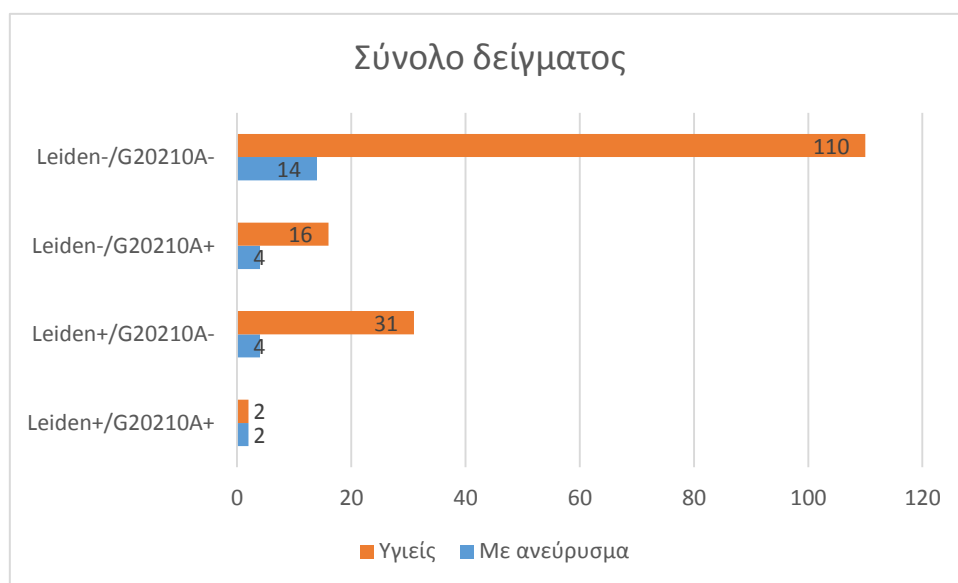
Πίνακας 44: Συγκεντρωτικός πίνακας για την μετάλλαξη G20210A στο γονίδιο του παράγοντα πήξης II

	Εξεταζόμενοι	Το σύνολο	Ασθενείς με ανεύρυσμα σε	Ασθενείς με ανεύρυσμα	Εξεταζόμενοι στους οποίους	Το σύνολο των
--	--------------	-----------	--------------------------	-----------------------	----------------------------	---------------

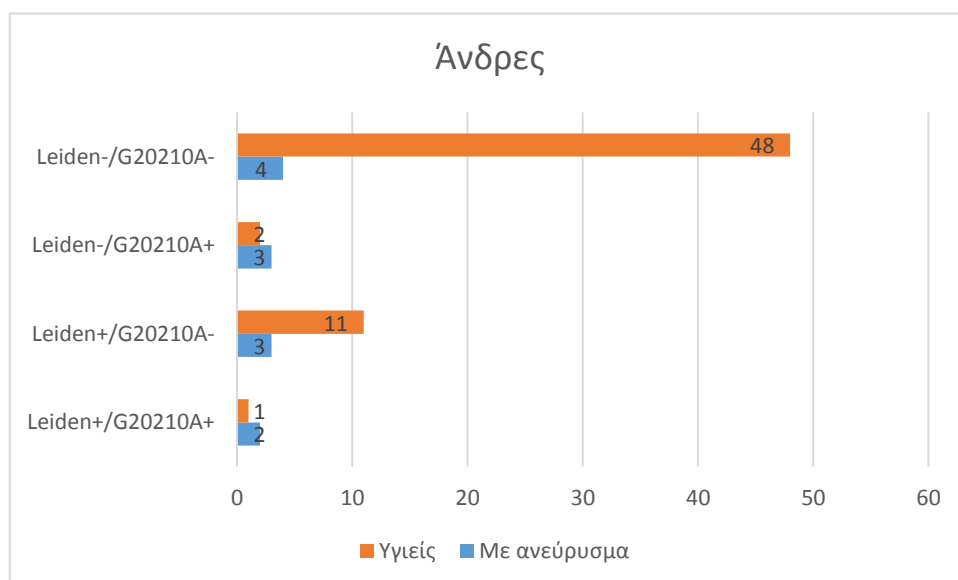
	στους οποίους είχε ληφθεί οικογενειακό ιστορικό	των εξεταζόμενων	σχέση με τα υγιή άτομα, στους οποίους είχε ληφθεί οικογενειακό ιστορικό	σε σχέση με τα υγιή άτομα, στο σύνολο των εξεταζόμενων	είχε ληφθεί οικογενειακό ιστορικό, εκτός των ασθενών με ανεύρυσμα	εξεταζόμενων, εκτός των ασθενών με ανεύρυσμα
Σύνολο	-	-	-	-	-	-
Σύνολο 0-40	-	-	-	-	-	-
Σύνολο 41+	-	-	-	-	-	-
Άνδρες	-	-	p=0.0015	p=0.0019	-	-
Άνδρες 0-40	p=0.11	p=0.039	-	-	p=0.72	p=0.73
Άνδρες 41+	p=0.024	p=0.007	-	-	p=0.046	p=0.39
Γυναίκες	-	-	p=0.999	p= αδύνατο	-	-
Γυναίκες 0-40	p=0.9	p= αδύνατο	-	-	p=0.8	p= αδύνατο
Γυναίκες 41+	p=0.46	p=0.02	-	-	p=0.12	p=0.008

Πίνακας 45: Συγκεντρωτικός πίνακας για τον συνδυασμό των 2 μεταλλάξεων

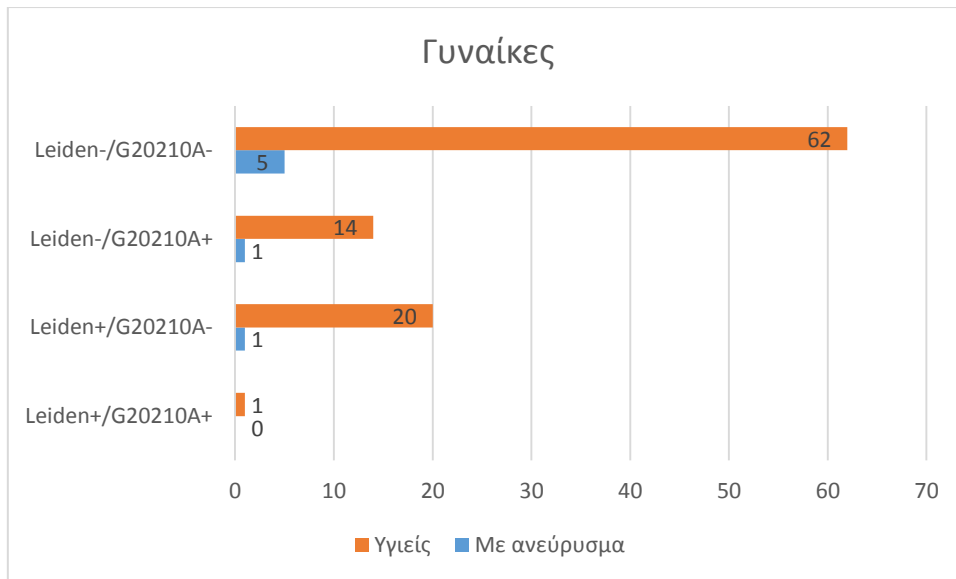
Επιπλέον, για τους ασθενείς με ανεύρυσμα σε σχέση με τα υγιή άτομα στο σύνολο του δείγματος, δημιουργήθηκαν σχεδιαγράμματα (Εικόνα 7, Εικόνα 8, Εικόνα 9), προκειμένου να οπτικοποιηθεί η στατιστική σημασία της σχέσης της ασθένειας με τις δύο μεταλλάξεις.



Εικόνα 7: Διάγραμμα του συνόλου των υγιών ατόμων σε σχέση με τα άτομα με ανεύρυσμα



Εικόνα 8: Διάγραμμα των αρσενικών υγιών ατόμων σε σχέση με τα αρσενικά άτομα με ανεύρυσμα



Εικόνα 9: Διάγραμμα των θηλυκών υγιών ατόμων σε σχέση με τα θηλυκά άτομα με ανεύρυσμα

### 3.4 Κατανομή του δείγματος

Η κατανομή του δείγματος των εξεταζόμενων στην Ελλάδα αναλύεται στους παρακάτω πίνακες (Πίνακας 46, Πίνακας 47, Πίνακας 48):

Περιφέρειες	Άτομα με ιστορικό	Leiden <sup>+</sup>	G20210A <sup>+</sup>	Leiden <sup>+</sup> / G20210A <sup>+</sup>
Θράκη	11	3	2	0
Μακεδονία	21	5	3	2
Ήπειρος	18	3	2	0
Θεσσαλία	10	0	2	0
Στερεά Ελλάδα	61	18	5	1
Πελοπόννησος	61	19	13	2
Νησιά Ιονίου Πελάγους	7	2	0	0
Νησιά Αιγαίου Πελάγους	28	3	2	0
Κρήτη	16	4	4	0
<b>Σύνολο</b>	<b>233</b>	<b>57</b>	<b>33</b>	<b>5</b>

Πίνακας 46: Η κατανομή του δείγματος των εξεταζόμενων ανά περιφέρεια

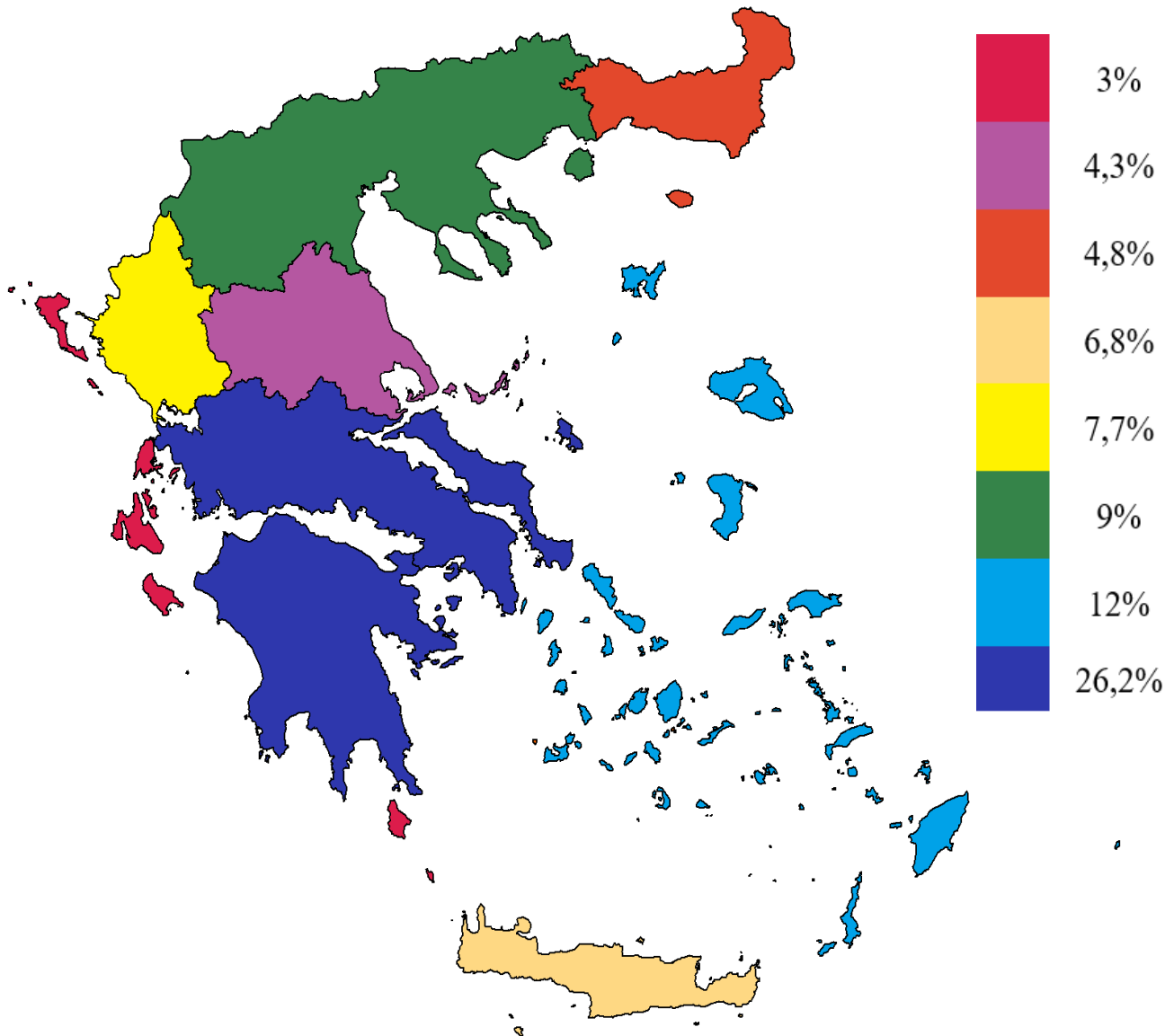
Περιφέρειες	Άτομα με ιστορικό	Ποσοστό των ατόμων με Leiden <sup>+</sup>	Ποσοστό των ατόμων με G20210A <sup>+</sup>	Ποσοστό των ατόμων με Leiden <sup>+</sup> /G20210A <sup>+</sup>
Θράκη	11	27,3%	18,2%	0%
Μακεδονία	21	23,8%	14,3%	9,5%
Ήπειρος	18	16,7%	11,1%	0%
Θεσσαλία	10	0%	20%	0%
Στερεά Ελλάδα	61	29,5%	8,2%	1,6%
Πελοπόννησος	61	31,1%	21,3%	3,3%
Νησιά Ιονίου Πελάγους	7	28,5%	0%	0%
Νησιά Αιγαίου Πελάγους	28	10,7%	7,1%	0%
Κρήτη	16	25%	25%	0%

Πίνακας 47: Η κατανομή του δείγματος των εξεταζόμενων σε ποσοστά επί των ατόμων της κάθε περιφέρειας.

<b>Περιφέρειες</b>	<b>Ποσοστό των ατόμων με ιστορικό (N=233)</b>	<b>Ποσοστό των ατόμων με Leiden<sup>+</sup> (N=57)</b>	<b>Ποσοστό των ατόμων με G20210A<sup>+</sup> (N=33)</b>
Θράκη	4,8%	5,3%	6%
Μακεδονία	9%	8,8%	9,3%
Ήπειρος	7,7%	5,3%	6%
Θεσσαλία	4,3%	0%	6%
Στερεά Ελλάδα	26,2%	31,6%	15,2%
Πελοπόννησος	26,2%	33,3%	39,4%
Νησιά Ιονίου Πελάγους	3%	3,4%	0%
Νησιά Αιγαίου Πελάγους	12%	5,3%	6%
Κρήτη	6,8%	7%	12,1%

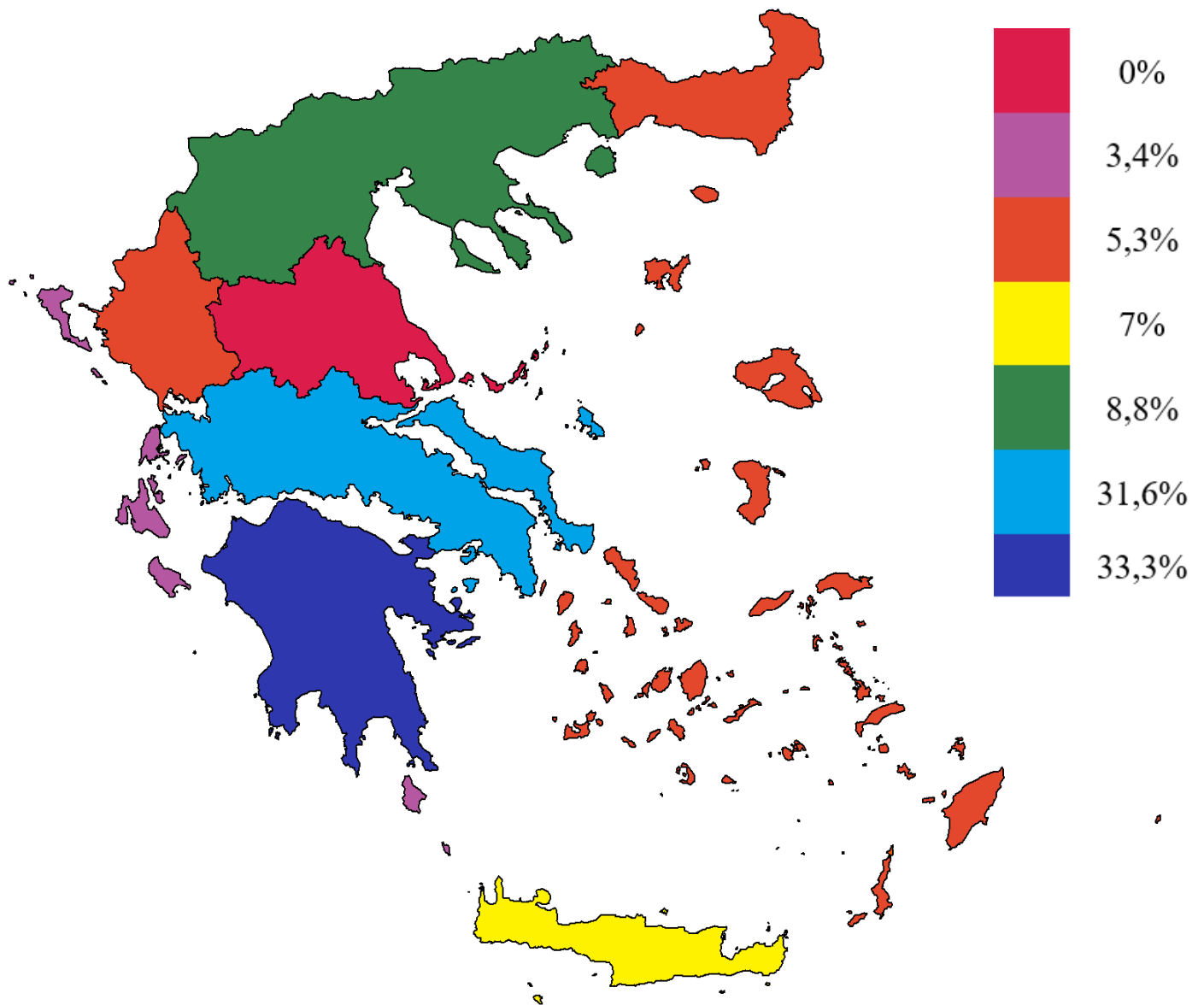
Πίνακας 48: Η κατανομή του δείγματος των εξεταζόμενων σε ποσοστό του συνόλου των ατόμων με ιστορικό, με Leiden<sup>+</sup> και G20210A<sup>+</sup> αντίστοιχα.

Η κατανομή του δείγματος των εξεταζόμενων στην Ελλάδα αναλύεται στους παρακάτω χάρτες (Εικόνα 10, Εικόνα 11, Εικόνα 12):

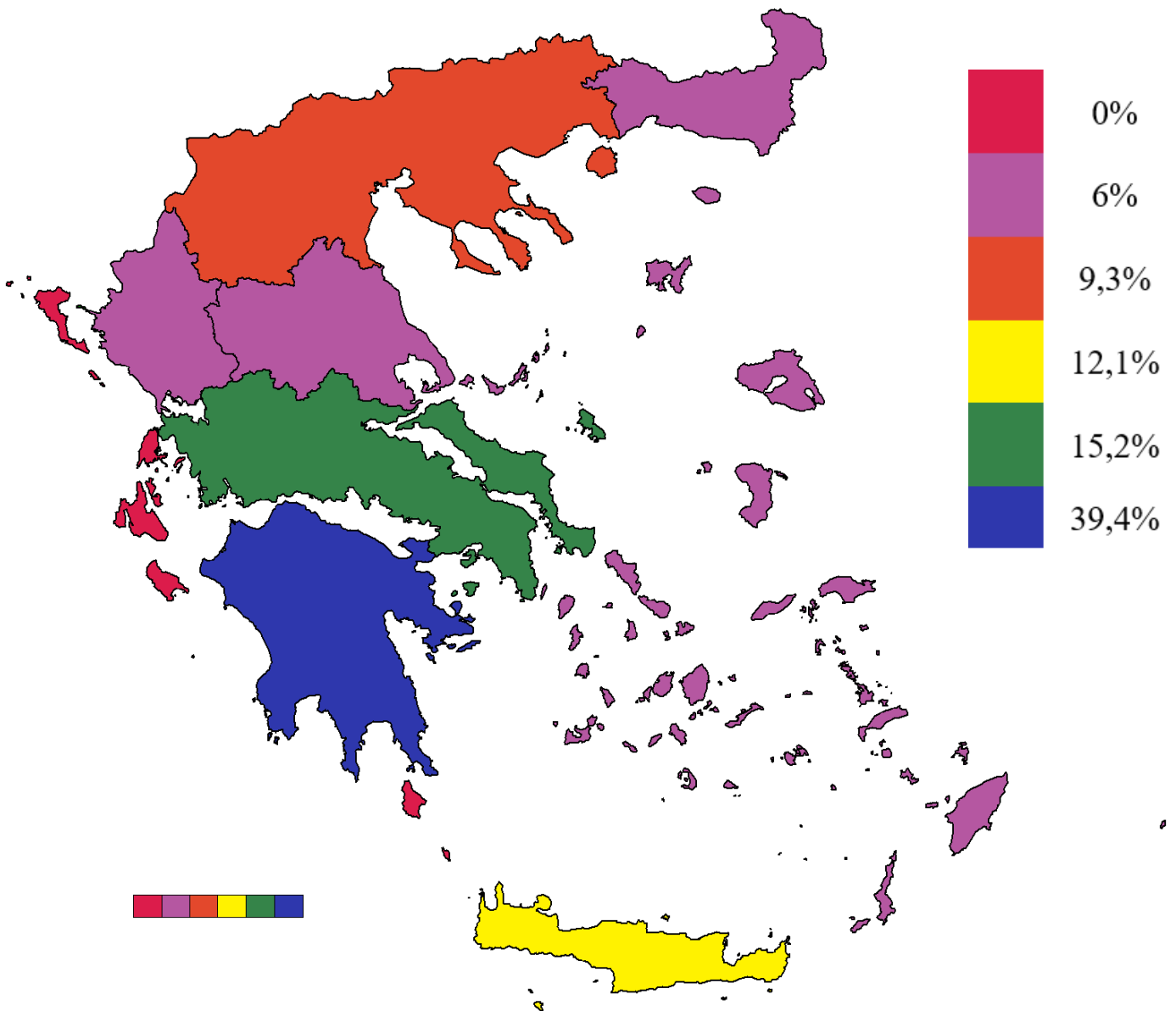


Εικόνα 10: Η κατανομή των εξεταζόμενων (N=233)





Εικόνα 11: Η κατανομή των φορέων της μετάλλαξης Leiden του παράγοντα πήξεως V (N=57).



Εικόνα 12: Η κατανομή των φορέων της μετάλλαξης G20210A του γονιδίου της προθρομβίνης (N=33)

## 4 Συζήτηση

Το σύνολο των ασθενών που εξετάστηκαν είναι ένα τυχαίο δείγμα του πληθυσμού της Ελλάδας. Σε αυτόν τον υποπληθυσμό παρατηρήθηκε ότι ισχύει η ισορροπία Hardy- Weinberg, συνεπώς δεν φαίνεται να υπάρχει φυσική επιλογή μεταξύ των μεταλλαγμένων και των φυσιολογικών αλληλομόρφων στα δύο γονίδια.

Επιπλέον παρατηρείται ύπαρξη στατιστικά σημαντικής διαφοράς μεταξύ ασθενών και υγιών σε σχέση με τα δύο γονίδια όσο αναφορά τους άνδρες. Αυτή η στατιστική σημασία αυξάνεται όταν αναφερόμαστε σε ασθενείς μόνο με ανεύρυσμα σε σχέση με τα υγιή άτομα όμως παραμένει και όταν αφαιρεθούν από τους ασθενείς οι ασθενείς με ανεύρυσμα.

Πιο συγκεκριμένα, στους εξεταζόμενους στους οποίους είχε ληφθεί οικογενειακό ιστορικό παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά στους άνδρες όλων των ηλικιών για τη μετάλλαξη Leiden του γονιδίου του παράγοντα πήξης V, στους άνδρες ηλικίας 41+ για τη μετάλλαξη G20210A του γονιδίου της προθρομβίνης, στο σύνολο των ατόμων ηλικίας 41+ για τη μετάλλαξη Leiden του γονιδίου του παράγοντα πήξης V και για του άνδρες ηλικίας 41+ για τον συνδυασμό των δύο μεταλλάξεων. Στο σύνολο των εξεταζόμενων παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά στους άνδρες ηλικίας 0-40 για την μετάλλαξη Leiden του γονιδίου του παράγοντα πήξης V, στους άνδρες για την μετάλλαξη Leiden του γονιδίου του παράγοντα πήξης V, στο σύνολο των εξεταζόμενων για την μετάλλαξη Leiden του γονιδίου του παράγοντα πήξης V, στους άνδρες όλων των ηλικιών για τον συνδυασμό των δύο μεταλλάξεων και στις γυναίκες 41+ για τον συνδυασμό των δύο μεταλλάξεων. Στους ασθενείς με ανεύρυσμα σε σχέση με τα υγιή άτομα, στους οποίους είχε ληφθεί οικογενειακό ιστορικό καθώς και στους ασθενείς με ανεύρυσμα σε σχέση με τα υγιή άτομα, συνολικά παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά στους άνδρες για τον συνδυασμό των δύο μεταλλάξεων. Στους εξεταζόμενους στους οποίους είχε ληφθεί οικογενειακό ιστορικό, εκτός των ασθενών με ανεύρυσμα, παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά στο σύνολο των εξεταζόμενων σε όλες τις ηλικίες για τη μετάλλαξη Leiden του γονιδίου του παράγοντα πήξης V και στους άνδρες ηλικίας 41+ για τον συνδυασμό των δύο μεταλλάξεων. Στους εξεταζόμενους συνολικά, εκτός των ασθενών με ανεύρυσμα παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά στους άνδρες ηλικίας 41+ για την μετάλλαξη Leiden του γονιδίου του

παράγοντα πήξης V, στους άνδρες για την μετάλλαξη Leiden του γονιδίου του παράγοντα πήξης V, στο σύνολο των εξεταζόμενων για την μετάλλαξη Leiden του γονιδίου του παράγοντα πήξης V και στις γυναίκες 41+ για τον συνδυασμό των δύο μεταλλάξεων.

Συμπερασματικά, παρατηρείται ότι κυρίως στους άνδρες ηλικίας 41+, όταν έχουν και τις δύο μεταλλάξεις, υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των υγιών και των ασθενών ατόμων, το οποίο θα μπορούσε να είναι δείκτης –εφόσον γίνουν περαιτέρω μελέτες- της πληθυσμιακής ομάδας στην οποία πρέπει να εντείνονται οι γενετικοί έλεγχοι. Το παραπάνω εύρημα εντοπίζεται και στην υπάρχουσα διεθνή βιβλιογραφία (Bleker et al., 2014).

Η προαναφερθείσα παρατήρηση αφορά στο σύνολο των ανδρών γενικά, όταν οι ασθενείς είναι μόνο ασθενείς με εγκεφαλικό ανεύρυσμα. Αντιθέτως, όταν αφαιρούνται από το δείγμα των ασθενών οι ασθενείς με εγκεφαλικό ανεύρυσμα, τότε φαίνεται ότι συνολικά υπάρχει μια στατιστική σημασία των δύο μεταλλάξεων (κυρίως της Leiden) ανάμεσα σε υγιείς και ασθενείς, αλλά εξακολουθεί να υπάρχει σε μικρότερο βαθμό η στατιστικά μεγαλύτερη σημασία της ύπαρξης των μεταλλάξεων στους άνδρες.

Τα δεδομένα της παρούσας μελέτης υποδεικνύουν ότι οι σχετιζόμενες με τη θρομβοφιλία μεταλλάξεις μπορούν να συμβάλλουν στην παθογένεια των ενδοκρανιακών ανευρυσμάτων σε ένα υποσύνολο του γενικού πληθυσμού, και κυρίως σε άτομα γένους αρσενικού.

Ωστόσο, τα ευρήματα της παρούσας έρευνας πρέπει να εξεταστούν υπό το πρίσμα ορισμένων περιορισμών που περιλαμβάνουν κυρίως τον μικρό αριθμό τόσο των συνολικών ασθενών όσο και αυτών με οικογενειακό ιστορικό θρομβοφιλίας για γενετικές αναλύσεις. Ως εκ τούτου, θα πρέπει να διεξαχθεί περαιτέρω έρευνα με ευρύτερες μελέτες προκειμένου να αποσαφηνιστεί αυτό το ζήτημα.

Ανατρέχοντας στην υπάρχουσα βιβλιογραφία, αναφέρονται σποραδικά ασθενείς με εγκεφαλικό ανεύρυσμα και συνυπάρχουσες μεταλλάξεις θρομβοφιλίας (Andreou et al., 2015; Caldeira et al., 2015; Ruigrok et al., 2010; Schilling et al., 2004; Semmler et al., 2008; Yarijakis et al., 2012), όμως δεν υπάρχουν αναφορές που να διαχωρίζουν τα δύο φύλα.

Επίσης, η κατανομή του δείγματος στην Ελλάδα δεν δείχνει συσσώρευση των ατόμων με τις μεταλλάξεις σε κάποιο συγκεκριμένο γεωγραφικό τόπο, αντιθέτως δείχνει διασπορά των ατόμων με τις παρούσες μεταλλάξεις σε όλη την γεωγραφική περιοχή της Ελλάδας. Βέβαια, το μέγεθος του δείγματος είναι αρκετά μικρό και άνισα κατανεμημένο (πχ. τα άτομα που εξετάστηκαν με καταγωγή από την Πελοπόννησο ήταν 41, ενώ τα άτομα που εξετάστηκαν με καταγωγή από την Δυτική Μακεδονία ήταν μόλις 3) ώστε να φανεί κάποια πιθανή μικρή συσσώρευση των ατόμων με τις συγκεκριμένες μεταλλάξεις σε κάποιο συγκεκριμένο γεωγραφικό τόπο.

Επιπλέον, ενδιαφέρον θα ήταν να μελετηθεί η κυριαρχία των δύο μεταλλάξεων. Παρόλο που υπάρχουν πολλά άρθρα που υποστηρίζουν την κυριαρχία τόσο της μετάλλαξης Leiden (G1691A) του παράγοντα V (Bertina et al., 1994; Cui et al., 2000; Rosendaal et al., 1995) όσο και της μετάλλαξης G20210A του γονιδίου της προθρομβίνης (Agnelli and Becattini, 2010; De Stefano et al., 2001; Doggen et al., 1998; Poort et al., 1996), τα δεδομένα –σύμφωνα με την πληθυσμιακή γενετική- είναι ελλιπή.

## Βιβλιογραφία

- Agnelli, G., and Becattini, C. (2010). Acute pulmonary embolism. *The New England journal of medicine* 363, 266-274.
- Agresti, A. (1992). A Survey of Exact Inference for Contingency Tables. *Statistical Science* 7, 131-153.
- Akar, N., Akar, E., Dalgin, G., Sozuoz, A., Omurlu, K., and Cin, S. (1997). Frequency of Factor V (1691 G --> A) mutation in Turkish population. *Thrombosis and haemostasis* 78, 1527-1528.
- Al-Jaouni, S.K. (2003). Primary thrombophilia in Saudi Arabia. *Saudi medical journal* 24, 614-616.
- Alberts, B. (2015). *Molecular biology of the cell*, Sixth edition. edn (New York, NY: Garland Science, Taylor and Francis Group).
- Almawi, W.Y., Keleshian, S.H., Borgi, L., Fawaz, N.A., Abboud, N., Mtiraoui, N., and Mahjoub, T. (2005). Varied prevalence of factor V G1691A (Leiden) and prothrombin G20210A single nucleotide polymorphisms among Arabs. *Journal of thrombosis and thrombolysis* 20, 163-168.
- Altinisik, J., Ates, O., Ulutin, T., Cengiz, M., and Buyru, N. (2008). Factor V Leiden, prothrombin G20210A, and protein C mutation frequency in Turkish venous thrombosis patients. *Clinical and applied thrombosis/hemostasis : official journal of the International Academy of Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis* 14, 415-420.
- Andersen, P.K., and Keiding, N. (2006). *Survival and event history analysis* (Chichester, West Sussex, England ; Hoboken, NJ: Wiley).
- Andreou, A., Papapetrou, C., Papadimitriou, K., Avgoustidis, D., and Yapijakis, C. (2015). Cerebrovascular Aneurysms May Be Associated with Thrombophilia-predisposing Mutations in Patients with Familial Risk. *In vivo* 29, 395-398.
- Andrew, M., Paes, B., Milner, R., Johnston, M., Mitchell, L., Tollefsen, D.M., and Powers, P. (1987). Development of the human coagulation system in the full-term infant. *Blood* 70, 165-172.
- Angelopoulou, K., Nicolaides, A., and Constantinou Deltas, C. (2000). Prevalence of genetic mutations that predispose to thrombophilia in a Greek Cypriot population. *Clinical and applied thrombosis/hemostasis : official journal of the International Academy of Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis* 6, 104-107.

- Antonarakis, S.E. (1989). Diagnosis of genetic disorders at the DNA level. *The New England journal of medicine* 320, 153-163.
- Antoniadi, T., Hatzis, T., Kroupis, C., Economou-Petersen, E., and Petersen, M.B. (1999). Prevalence of factor V Leiden, prothrombin G20210A, and MTHFR C677T mutations in a Greek population of blood donors. *American journal of hematology* 61, 265-267.
- Armitage, P., and Colton, T. (2005). *Encyclopedia of biostatistics*, 2nd edn (Chichester, West Sussex, England ; Hoboken, NJ: John Wiley).
- Ashjzadeh, N., Emami, S., Petramfar, P., Yaghoubi, E., and Karimi, M. (2012). Intracranial Blood Flow Velocity in Patients with beta-Thalassemia Intermedia Using Transcranial Doppler Sonography: A Case-Control Study. *Anemia* 2012, 798296.
- Austin, C.C., and Perkins, S.L. (2006). Parasites in a biodiversity hotspot: a survey of hematozoa and a molecular phylogenetic analysis of Plasmodium in New Guinea skinks. *The Journal of parasitology* 92, 770-777.
- Ayyildiz, O., Kalkanli, S., Batun, S., Aybak, M., Isikdogan, A., Tiftik, N., Bolaman, Z., Soker, M., and Muftuoglu, E. (2004). Prothrombin G20210A gene mutation with LightCycler polymerase chain reaction in venous thrombosis and healthy population in the southeast of Turkey. *Heart and vessels* 19, 164-166.
- Baglin, T., Gray, E., Greaves, M., Hunt, B.J., Keeling, D., Machin, S., Mackie, I., Makris, M., Nokes, T., Perry, D., *et al.* (2010). Clinical guidelines for testing for heritable thrombophilia. *British journal of haematology* 149, 209-220.
- Bagot, C.N., and Arya, R. (2008). Virchow and his triad: a question of attribution. *British journal of haematology* 143, 180-190.
- Balogh, I., Poka, R., Losonczy, G., and Muszbek, L. (1999). High frequency of factor V Leiden mutation and prothrombin 20210A variant in Romanies of Eastern Hungary. *Thrombosis and haemostasis* 82, 1555-1556.
- Bates, S.M., Greer, I.A., Pabinger, I., Sofaer, S., and Hirsh, J. (2008). Venous thromboembolism, thrombophilia, antithrombotic therapy, and pregnancy: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). *Chest* 133, 844S-886S.
- Bauduer, F., Ducout, L., and Freyburger, G. (2003). Assessment of the 20210 G to A prothrombin variant in a sample of patients from the French Basque Country with various thrombophilic conditions. *Annals of hematology* 82, 353-356.

Beauchamp, N.J., Daly, M.E., Hampton, K.K., Cooper, P.C., Preston, F.E., and Peake, I.R. (1994). High prevalence of a mutation in the factor V gene within the U.K. population: relationship to activated protein C resistance and familial thrombosis. *British journal of haematology* 88, 219-222.

Ben Salem-Berrabah, O., Fekih-Mrissa, N., N'Siri, B., Ben Hamida, A., Benammar-Elgaaied, A., Gritli, N., and Mrissa, R. (2012). Thrombophilic polymorphisms - factor V Leiden G1691A, prothrombin G20210A and MTHFR C677T - in Tunisian patients with cerebral venous thrombosis. *Journal of clinical neuroscience : official journal of the Neurosurgical Society of Australasia* 19, 1326-1327.

Bernstein, C.N., Sargent, M., Vos, H.L., and Rosendaal, F.R. (2007). Mutations in clotting factors and inflammatory bowel disease. *The American journal of gastroenterology* 102, 338-343.

Berredjeb Ben Slama, D., Fekih-Mrissa, N., Haggui, A., Nsiri, B., Baraket, N., Haouala, H., and Gritli, N. (2013). Lack of association between factor V Leiden and prothrombin G20210A polymorphisms in Tunisian subjects with a history of myocardial infarction. *Cardiovascular pathology : the official journal of the Society for Cardiovascular Pathology* 22, 39-41.

Bertina, R.M., Koeleman, B.P., Koster, T., Rosendaal, F.R., Dirven, R.J., de Ronde, H., van der Velden, P.A., and Reitsma, P.H. (1994). Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. *Nature* 369, 64-67.

Beye, A., and Pindur, G. (2017). Clinical significance of factor V Leiden and prothrombin G20210A-mutations in cerebral venous thrombosis - comparison with arterial ischemic stroke. *Clinical hemorheology and microcirculation* 67, 261-266.

Beyleveld, D., and Townend, D.M. (2004). When is personal data rendered anonymous? Interpreting Recital 26 of Directive 95/46/EC. *Medical law international* 6, 73-86.

Bland, M. (2015). *An introduction to medical statistics*, Fourth edition. edn (Oxford ;: Oxford University Press).

Bleker, S.M., Coppens, M., and Middeldorp, S. (2014). Sex, thrombosis and inherited thrombophilia. *Blood reviews* 28, 123-133.

Bock, G., and Collins, G.M. (1987). *Molecular approaches to human polygenic disease* (Chichester ; New York: Wiley).

Boncoraglio, G., Carriero, M.R., Chiapparini, L., Ciceri, E., Ciusani, E., Erbetta, A., and Parati, E.A. (2004). Hyperhomocysteinemia and other thrombophilic risk factors



in 26 patients with cerebral venous thrombosis. *European journal of neurology* 11, 405-409.

Borisssoff, J.I., Spronk, H.M., Heeneman, S., and ten Cate, H. (2009). Is thrombin a key player in the 'coagulation-atherogenesis' maze? *Cardiovascular research* 82, 392-403.

Borisssoff, J.I., Spronk, H.M., and ten Cate, H. (2011). The hemostatic system as a modulator of atherosclerosis. *The New England journal of medicine* 364, 1746-1760.

Boslaugh, S. (2012). *Statistics in a nutshell*, 2nd edn (Farnham, Surrey, England: O'Reilly).

Bosler, D., Mattson, J., and Crisan, D. (2006). Phenotypic Heterogeneity in Patients with Homozygous Prothrombin 20210AA Genotype. A paper from the 2005 William Beaumont Hospital Symposium on Molecular Pathology. *The Journal of molecular diagnostics : JMD* 8, 420-425.

Bouaziz, L., Hezard, N., Touhami, M., Potron, G., N'Siri, B., and Nguyen, P. (2004). Allelic frequency of the factor V Leiden mutation and of the pro-thrombin gene 20210A mutation in healthy Tunisian population. *Thrombosis and haemostasis* 91, 824-825.

Bourjeily, G., Paidas, M., Khalil, H., Rosene-Montella, K., and Rodger, M. (2010). Pulmonary embolism in pregnancy. *Lancet* 375, 500-512.

Brewer, D.B. (2006). Max Schultze (1865), G. Bizzozero (1882) and the discovery of the platelet. *British journal of haematology* 133, 251-258.

Brodsky, R.A. (2008). Narrative review: paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: the physiology of complement-related hemolytic anemia. *Annals of internal medicine* 148, 587-595.

Bykowska, K., Vertun-Baranowska, B., Windyga, J., and Lopaciuk, S. (2000). [Prevalence of G20210A prothrombin gene mutation in Poland]. *Polskie Archiwum Medycyny Wewnetrznej* 104, 729-733.

Caldeira, D., Barra, M., Pinto, F.J., Ferreira, J.J., and Costa, J. (2015). Intracranial hemorrhage risk with the new oral anticoagulants: a systematic review and meta-analysis. *Journal of neurology* 262, 516-522.

Carter, C.O. (1969). Genetics of common disorders. *British medical bulletin* 25, 52-57.

Carter, C.O. (1970). Multifactorial Genetic Disease. *Hospital Practice* 5, 45-59.

Cattaneo, M., Chantarangkul, V., Taioli, E., Santos, J.H., and Tagliabue, L. (1999). The G20210A mutation of the prothrombin gene in patients with previous first episodes of deep-vein thrombosis: prevalence and association with factor V G1691A, methylenetetrahydrofolate reductase C677T and plasma prothrombin levels. *Thrombosis research* 93, 1-8.

Cavalli-Sforza, L.L., and Bodmer, W.F. (1971). *The genetics of human populations* (San Francisco,: W. H. Freeman).

Chafa, O., Reghis, A., Aubert, A., and Fischer, A.M. (1997). Prevalence of the FVQ506 (factor V Leiden) mutation in the normal and thrombophilic Algerian population. *British journal of haematology* 97, 688-689.

Chaida, C., Gialeraki, A., Tsoukala, C., and Mandalaki, T. (1996). Prevalence of the FVQ506 mutation in the Hellenic population. *Thrombosis and haemostasis* 76, 127.

Chan, D.K., Hu, G., Tao, H., Owens, D., Vun, C.M., Woo, J., and Chong, B.H. (2000). A comparison of polymorphism in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene between Chinese and Caucasians in Australia. *British journal of haematology* 111, 1253-1255.

Chong, L.Y., Fenu, E., Stansby, G., Hodgkinson, S., and Guideline Development, G. (2012). Management of venous thromboembolic diseases and the role of thrombophilia testing: summary of NICE guidance. *Bmj* 344, e3979.

Coen, D., Zadro, R., Honovic, L., Banfic, L., and Stavljenic Rukavina, A. (2001). Prevalence and association of the factor V Leiden and prothrombin G20210A in healthy subjects and patients with venous thromboembolism. *Croatian medical journal* 42, 488-492.

Colaizzo, D., Amitrano, L., Tiscia, G.L., Grandone, E., Guardascione, M.A., and Margaglione, M. (2007). A new JAK2 gene mutation in patients with polycythemia vera and splanchnic vein thrombosis. *Blood* 110, 2768-2769.

Collins, F.S., Green, E.D., Guttmacher, A.E., Guyer, M.S., and Institute, U.S.N.H.G.R. (2003). A vision for the future of genomics research. *Nature* 422, 835-847.

Comp, P.C., Nixon, R.R., Cooper, M.R., and Esmon, C.T. (1984). Familial protein S deficiency is associated with recurrent thrombosis. *The Journal of clinical investigation* 74, 2082-2088.

Conroy, J.M., Trivedi, G., Sovd, T., and Caggana, M. (2000). The allele frequency of mutations in four genes that confer enhanced susceptibility to venous

thromboembolism in an unselected group of New York State newborns. *Thrombosis research* 99, 317-324.

Cornfield, J. (1951). A method of estimating comparative rates from clinical data; applications to cancer of the lung, breast, and cervix. *Journal of the National Cancer Institute* 11, 1269-1275.

Crow, J.F. (1999). Hardy, Weinberg and language impediments. *Genetics* 152, 821-825.

Crow, J.F., and Kimura, M. (1970). *An introduction to population genetics theory* (New York,: Harper & Row).

Crowther, M.A., and Kelton, J.G. (2003). Congenital thrombophilic states associated with venous thrombosis: a qualitative overview and proposed classification system. *Annals of internal medicine* 138, 128-134.

Cui, J., Eitzman, D.T., Westrick, R.J., Christie, P.D., Xu, Z.J., Yang, A.Y., Purkayastha, A.A., Yang, T.L., Metz, A.L., Gallagher, K.P., *et al.* (2000). Spontaneous thrombosis in mice carrying the factor V Leiden mutation. *Blood* 96, 4222-4226.

Cumming, A.M., Keeney, S., Salden, A., Bhavnani, M., Shwe, K.H., and Hay, C.R. (1997). The prothrombin gene G20210A variant: prevalence in a U.K. anticoagulant clinic population. *British journal of haematology* 98, 353-355.

Dahlback, B., and Hildebrand, B. (1994). Inherited resistance to activated protein C is corrected by anticoagulant cofactor activity found to be a property of factor V. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 91, 1396-1400.

Dajani, R., Arafat, A., Hakooz, N., Al-Abbadi, Z., Yousef, A.M., El Khateeb, M., and Quadan, F. (2013). Polymorphisms in Factor II and Factor V thrombophilia genes among Circassians in Jordan. *Journal of thrombosis and thrombolysis* 35, 83-89.

Dalen, J.E. (2008). Should patients with venous thromboembolism be screened for thrombophilia? *The American journal of medicine* 121, 458-463.

Davie, E.W., and Kulman, J.D. (2006). An overview of the structure and function of thrombin. *Seminars in thrombosis and hemostasis* 32 *Suppl 1*, 3-15.

Dawson, B., and Trapp, R.G. (2004). *Basic & clinical biostatistics*, 4th edn (New York: Lange Medical Books/McGraw-Hill, Medical Pub. Division).

- de Maat, M.P., Bladbjerg, E.M., Johansen, L.G., Gram, J., and Jespersen, J. (1998). Absence of prothrombin mutation in Inuit (Greenland Eskimos). *Thrombosis and haemostasis* 79, 882.
- de Maat, M.P., Kluft, C., Jespersen, J., and Gram, J. (1996). World distribution of factor V Leiden mutation. *Lancet* 347, 58.
- de Moerloose, P., and Boehlen, F. (2007). Inherited thrombophilia in arterial disease: a selective review. *Seminars in hematology* 44, 106-113.
- de Paor, A. (2014). Regulating genetic information--exploring the options in legal theory. *European journal of health law* 21, 425-453.
- De Stefano, V., Chiusolo, P., Paciaroni, K., and Leone, G. (1998). Epidemiology of factor V Leiden: clinical implications. *Seminars in thrombosis and hemostasis* 24, 367-379.
- De Stefano, V., and Leone, G. (1995). Resistance to activated protein C due to mutated factor V as a novel cause of inherited thrombophilia. *Haematologica* 80, 344-356.
- De Stefano, V., Martinelli, I., Mannucci, P.M., Paciaroni, K., Rossi, E., Chiusolo, P., Casorelli, I., and Leone, G. (2001). The risk of recurrent venous thromboembolism among heterozygous carriers of the G20210A prothrombin gene mutation. *British journal of haematology* 113, 630-635.
- Degen, S.J., and Davie, E.W. (1987). Nucleotide sequence of the gene for human prothrombin. *Biochemistry* 26, 6165-6177.
- Degen, S.J., McDowell, S.A., Sparks, L.M., and Scharrer, I. (1995). Prothrombin Frankfurt: a dysfunctional prothrombin characterized by substitution of Glu-466 by Ala. *Thrombosis and haemostasis* 73, 203-209.
- Dexter, L., and Folch-Pi, W. (1974). Venous thrombosis. An account of the first documented case. *Jama* 228, 195-196.
- Doggen, C.J., Cats, V.M., Bertina, R.M., and Rosendaal, F.R. (1998). Interaction of coagulation defects and cardiovascular risk factors: increased risk of myocardial infarction associated with factor V Leiden or prothrombin 20210A. *Circulation* 97, 1037-1041.
- Dominguez de Villota, E.D., Ruiz Carmona, M.T., Rubio, J.J., and de Andres, S. (1981). Equality of the in vivo and in vitro oxygen-binding capacity of haemoglobin in patients with severe respiratory disease. *British journal of anaesthesia* 53, 1325-1328.

- Dowling, N.F., Austin, H., Dilley, A., Whitsett, C., Evatt, B.L., and Hooper, W.C. (2003). The epidemiology of venous thromboembolism in Caucasians and African-Americans: the GATE Study. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* 1, 80-87.
- Dziadosz, M., and Baxi, L.V. (2016). Global prevalence of prothrombin gene mutation G20210A and implications in women's health: a systematic review. *Blood coagulation & fibrinolysis : an international journal in haemostasis and thrombosis* 27, 481-489.
- Edwards, A.W.F. (1963). The Measure of Association in a 2  $\times$  2 Table. *Journal of the Royal Statistical Society Series A (General)* 126, 109-114.
- Edwards, J.H. (1988). The importance of genetic disease and the need for prevention. *Philosophical transactions of the Royal Society of London Series B, Biological sciences* 319, 211-227.
- Egeberg, O. (1965). Inherited Antithrombin Deficiency Causing Thrombophilia. *Thrombosis et diathesis haemorrhagica* 13, 516-530.
- Eid, S.S., and Rihani, G. (2004). Prevalence of factor V Leiden, prothrombin G20210A, and MTHFR C677T mutations in 200 healthy Jordanians. *Clinical laboratory science : journal of the American Society for Medical Technology* 17, 200-202.
- Eid, S.S., and Shubeilat, T. (2005). Prevalence of factor V Leiden, prothrombin G20210A, and MTHFR G677A among 594 thrombotic Jordanian patients. *Blood coagulation & fibrinolysis : an international journal in haemostasis and thrombosis* 16, 417-421.
- Eikelboom, J.W., Baker, R.I., Parsons, R., Taylor, R.R., and van Bockxmeer, F.M. (1998). No association between the 20210 G/A prothrombin gene mutation and premature coronary artery disease. *Thrombosis and haemostasis* 80, 878-880.
- Emery, A.E.H. (1986). *Methodology in medical genetics : an introduction to statistical methods*, 2nd edn (Edinburgh ; New York: Churchill Livingstone).
- Emery, A.E.H., and Pullen, I.M. (1984). *Psychological aspects of genetic counselling* (London ; Orlando: Academic Press).
- Emmerich, J., Poirier, O., Evans, A., Marques-Vidal, P., Arveiler, D., Luc, G., Aiach, M., and Cambien, F. (1995). Myocardial infarction, Arg 506 to Gln factor V mutation, and activated protein C resistance. *Lancet* 345, 321.
- Epstein, J.A., and Richter, I.H. (1948). Essential thrombophilia; report of a case. *Annals of internal medicine* 29, 545-549.

- Ewens, W.J. (2004). *Mathematical population genetics*, 2nd edn (New York: Springer).
- Eyries, M., Michaud, A., Deinum, J., Agrapart, M., Chomilier, J., Kramers, C., and Soubrier, F. (2001). Increased shedding of angiotensin-converting enzyme by a mutation identified in the stalk region. *The Journal of biological chemistry* 276, 5525-5532.
- Fabris, A. (1952). [Essential thrombophilia (Nygaard and Brown's disease)]. *Minerva medica* 43, 477-482.
- Fawaz, N.A., Bashawery, L., Al-Sheikh, I., Qatari, A., Al-Othman, S.S., and Almawi, W.Y. (2004). Factor V-Leiden, prothrombin G20210A, and MTHFR C677T mutations among patients with sickle cell disease in Eastern Saudi Arabia. *American journal of hematology* 76, 307-309.
- Ferraresi, P., Marchetti, G., Legnani, C., Cavallari, E., Castoldi, E., Mascoli, F., Ardissino, D., Palareti, G., and Bernardi, F. (1997). The heterozygous 20210 G/A prothrombin genotype is associated with early venous thrombosis in inherited thrombophilias and is not increased in frequency in artery disease. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* 17, 2418-2422.
- Ferreira-Fernandes, H., Costa, P.N., Fernandes, H.F., Araujo-Neto, A.P., Motta, F.J., Canalle, R., Yoshioka, F.K., Guerreiro, J.F., Burbano, R.R., Rey, J.A., *et al.* (2013). Prevalence of variants that confer risk for venous thromboembolism in an elderly population of northeastern Brazil. *Genetics and molecular research : GMR* 12, 3698-3707.
- Ferrer-Antunes, C. (1998). Polymorphisms of coagulation factor genes--a review. *Clinical chemistry and laboratory medicine* 36, 897-906.
- Fisher, R.A. (1922). On the interpretation of  $\chi^2$  from contingency tables, and the calculation of P. *Journal of the Royal Statistical Society* 85, 87-94.
- Fisher, R.A. (1954). *Statistical methods for research workers*, 12th edn (Edinburgh,: Oliver and Boyd).
- Foster, J.J., Barkus, E., and Yavorsky, C. (2006). *Understanding and using advanced statistics* (London ; Thousand Oaks, Calif.: SAGE Publications).
- Frances, F., Portoles, O., Gabriel, F., Corella, D., Sorli, J.V., Sabater, A., Alfonso, J.L., and Guillen, M. (2006). [Factor V Leiden (G1691A) and prothrombin-G20210A alleles among patients with deep venous thrombosis and in the general population from Spain]. *Revista medica de Chile* 134, 13-20.

Freedman, M.L., Reich, D., Penney, K.L., McDonald, G.J., Mignault, A.A., Patterson, N., Gabriel, S.B., Topol, E.J., Smoller, J.W., Pato, C.N., *et al.* (2004). Assessing the impact of population stratification on genetic association studies. *Nature genetics* 36, 388-393.

Frere, C., Saut, N., Boukef, M.K., Zili, M., and Toumi, N.E. (2003). Factor V Leiden G1691A and prothrombin G20210A mutations are common in Tunisia. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* 1, 2451-2452.

Frosst, P., Blom, H.J., Milos, R., Goyette, P., Sheppard, C.A., Matthews, R.G., Boers, G.J., den Heijer, M., Kluijtmans, L.A., van den Heuvel, L.P., *et al.* (1995). A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nature genetics* 10, 111-113.

Furie, B., and Furie, B.C. (2005). Thrombus formation in vivo. *The Journal of clinical investigation* 115, 3355-3362.

Gadelha, T., Andre, C., Juca, A.A., and Nucci, M. (2005). Prothrombin 20210A and oral contraceptive use as risk factors for cerebral venous thrombosis. *Cerebrovascular diseases* 19, 49-52.

Garcia-Gala, J.M., Alvarez, V., Pinto, C.R., Soto, I., Urgelles, M.F., Menendez, M.J., Carracedo, C., Lopez-Larrea, C., and Coto, E. (1997). Factor V Leiden (R506Q) and risk of venous thromboembolism: a case-control study based on the Spanish population. *Clinical genetics* 52, 206-210.

Gelehrter, T.D. (1983). The family history and genetic counseling. Tools for preventing and managing inherited disorders. *Postgraduate medicine* 73, 119-126.

Gelehrter, T.D., and Collins, F.S. (1990). *Principles of medical genetics* (Baltimore: Williams & Wilkins).

Giangrande, P.L. (2003). Six characters in search of an author: the history of the nomenclature of coagulation factors. *British journal of haematology* 121, 703-712.

Goldstein, D.B., and Chikhi, L. (2002). Human migrations and population structure: what we know and why it matters. *Annual review of genomics and human genetics* 3, 129-152.

Gomes, M.P., and Deitcher, S.R. (2004). Risk of venous thromboembolic disease associated with hormonal contraceptives and hormone replacement therapy: a clinical review. *Archives of internal medicine* 164, 1965-1976.

- Gonzalez, J.V., Barboza, A.G., Vazquez, F.J., and Gandara, E. (2016). Prevalence and Geographical Variation of Prothrombin G20210A Mutation in Patients with Cerebral Vein Thrombosis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PloS one* 11, e0151607.
- Gonzalez Ordonez, A.J., Medina Rodriguez, J.M., Fernandez Alvarez, C.R., Sanchez Garcia, J., Martin Sanchez, L., Coto Garcia, E., and Alvarez Martinez, M.V. (1999). [20210A mutation of the prothrombin and venous thromboembolism gene]. *Sangre* 44, 13-18.
- Goodman, S.N. (1992). A comment on replication, p-values and evidence. *Statistics in medicine* 11, 875-879.
- Goodman, S.N. (1993). p Values, Hypothesis Tests, and Likelihood: Implications for Epidemiology of a Neglected Historical Debate. *American Journal of Epidemiology* 137, 485-496.
- Gregg, J.P., Yamane, A.J., and Grody, W.W. (1997). Prevalence of the factor V-Leiden mutation in four distinct American ethnic populations. *American journal of medical genetics* 73, 334-336.
- Griffin, J.H., Evatt, B., Zimmerman, T.S., Kleiss, A.J., and Wideman, C. (1981). Deficiency of protein C in congenital thrombotic disease. *The Journal of clinical investigation* 68, 1370-1373.
- Guo, S.W., and Thompson, E.A. (1992). Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. *Biometrics* 48, 361-372.
- Gupta, N., Khan, F., Tripathi, M., Singh, V.P., Tewari, S., Ramesh, V., Sinha, N., and Agrawal, S. (2003). Absence of factor V Leiden (G1691A) mutation, FII G20210A allele in coronary artery disease in North India. *Indian journal of medical sciences* 57, 535-542.
- Hagstrom, J.N., Walter, J., Bluebond-Langner, R., Amatniek, J.C., Manno, C.S., and High, K.A. (1998). Prevalence of the factor V leiden mutation in children and neonates with thromboembolic disease. *The Journal of pediatrics* 133, 777-781.
- Hainaut, P., Gala, J.L., Lesage, V., Lavenne, E., Azerad, M.A., Zech, F., Heusterspreute, M., Philippe, M., and Moriau, M. (1998). The prothrombin gene G20210A variant in an unselected thromboembolic population. A Belgian prospective clinical study. *Acta clinica Belgica* 53, 344-348.
- Hardy, G.H. (1908). Mendelian Proportions in a Mixed Population. *Science* 28, 49-50.



Harris, H. (1980). *The principles of human biochemical genetics*, 3d rev. edn (Amsterdam ; New York: Elsevier/North-Holland Biomedical Press ; sole distributors for the U.S.A. and Canada, Elsevier/North-Holland).

Hart, G.D. (2001). Descriptions of blood and blood disorders before the advent of laboratory studies. *British journal of haematology* *115*, 719-728.

Hatzaki, A., Anagnostopoulou, E., Metaxa-Mariatou, V., Melissinos, C., Philalithis, P., Iliadis, K., Kontaxis, A., Liberatos, K., Pangratis, N., and Nasioulas, G. (2003). The impact of heterozygosity for the factor V Leiden and factor II G20210A mutations on the risk of thrombosis in Greek patients. *International angiology : a journal of the International Union of Angiology* *22*, 79-82.

Hayden, E.C. (2013). Geneticists push for global data-sharing. *Nature* *498*, 16-17.

Hedrick, P.W. (1983). *Genetics of populations* (Boston: Science Books International).

Heit, J.A. (2007). Thrombophilia: common questions on laboratory assessment and management. *Hematology American Society of Hematology Education Program*, 127-135.

Heller, C., Heinecke, A., Junker, R., Knofler, R., Kosch, A., Kurnik, K., Schobess, R., von Eckardstein, A., Strater, R., Zieger, B., *et al.* (2003). Cerebral venous thrombosis in children: a multifactorial origin. *Circulation* *108*, 1362-1367.

Hicks, L.K., Bering, H., Carson, K.R., Kleinerman, J., Kukreti, V., Ma, A., Mueller, B.U., O'Brien, S.H., Pasquini, M., Sarode, R., *et al.* (2013). The ASH Choosing Wisely(R) campaign: five hematologic tests and treatments to question. *Blood* *122*, 3879-3883.

Hillarp, A., Zoller, B., Svensson, P.J., and Dahlback, B. (1997). The 20210 A allele of the prothrombin gene is a common risk factor among Swedish outpatients with verified deep venous thrombosis. *Thrombosis and haemostasis* *78*, 990-992.

Ho, C.H., Chau, W.K., Hsu, H.C., Gau, J.P., and Chih, C.M. (1999). Prevalence of factor V Leiden in the Chinese population. *Zhonghua yi xue za zhi = Chinese medical journal; Free China ed* *62*, 875-878.

Hoffman, M., and Monroe, D.M., 3rd (2001). A cell-based model of hemostasis. *Thrombosis and haemostasis* *85*, 958-965.

Holtzman, N.A. (1988). The future of genetic testing. *Progress in medical genetics* *7*, 220-245.

Holtzman, N.A. (1989). *Proceed with caution : predicting genetic risks in the recombinant DNA era* (Baltimore: Johns Hopkins University Press).

- Howard, T.E., Marusa, M., Boisza, J., Young, A., Sequeira, J., Channell, C., Guy, C., Benson, E., and Duncan, A. (1998). The prothrombin gene 3'-untranslated region mutation is frequently associated with factor V Leiden in thrombophilic patients and shows ethnic-specific variation in allele frequency. *Blood* 91, 1092.
- Huang, J.N., and Koerper, M.A. (2008). Factor V deficiency: a concise review. *Haemophilia : the official journal of the World Federation of Hemophilia* 14, 1164-1169.
- Humphries, S.E. (1988). DNA polymorphisms of the apolipoprotein genes--their use in the investigation of the genetic component of hyperlipidaemia and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 72, 89-108.
- Irdem, A., Devecioglu, C., Batun, S., Soker, M., and Sucakli, I.A. (2005). Prevalence of factor V Leiden and prothrombin G20210A gene mutation. *Saudi medical journal* 26, 580-583.
- Isshiki, I., Murata, M., Watanabe, R., Matsubara, Y., Kawano, K., Aoki, N., Yoshino, H., Ishikawa, K., Watanabe, G., and Ikeda, Y. (1998). Frequencies of prothrombin 20210 G-->A mutation may be different among races--studies on Japanese populations with various forms of thrombotic disorders and healthy subjects. *Blood coagulation & fibrinolysis : an international journal in haemostasis and thrombosis* 9, 105-106.
- Jordan, F.L., and Nandorff, A. (1956). The familial tendency in thrombo-embolic disease. *Acta medica Scandinavica* 156, 267-275.
- Jun, Z.J., Ping, T., Lei, Y., Li, L., Ming, S.Y., and Jing, W. (2006). Prevalence of factor V Leiden and prothrombin G20210A mutations in Chinese patients with deep venous thrombosis and pulmonary embolism. *Clinical and laboratory haematology* 28, 111-116.
- Junker, R., Nabavi, D.G., Wolff, E., Ludemann, P., Nowak-Gottl, U., Kase, M., Baumer, R., Ringelstein, E.B., and Assmann, G. (1998). Plasminogen activator inhibitor-1 4G/4G-genotype is associated with cerebral sinus thrombosis in factor V Leiden carriers. *Thrombosis and haemostasis* 80, 706-707.
- Juul, K., Tybjaerg-Hansen, A., Steffensen, R., Kofoed, S., Jensen, G., and Nordestgaard, B.G. (2002). Factor V Leiden: The Copenhagen City Heart Study and 2 meta-analyses. *Blood* 100, 3-10.
- Kazazian, H.H., Jr. (1989). Diagnosis by gene amplification. *The Journal of laboratory and clinical medicine* 114, 95-96.

- Kearon, C., Kahn, S.R., Agnelli, G., Goldhaber, S., Raskob, G.E., and Comerota, A.J. (2008). Antithrombotic therapy for venous thromboembolic disease: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). *Chest* 133, 454S-545S.
- Keeling, D., Davidson, S., Watson, H., Haemostasis, and Thrombosis Task Force of the British Committee for Standards in, H. (2006). The management of heparin-induced thrombocytopenia. *British journal of haematology* 133, 259-269.
- Keenan, C., Livingstone, W.J., White, B., Mynett-Johnson, L., Cusack, S., Lawler, M., and Smith, O.P. (2000). Prevalence of the prothrombin G20210A mutation in the Irish populations: use of a novel polymerase chain reaction approach. *Blood coagulation & fibrinolysis : an international journal in haemostasis and thrombosis* 11, 669-672.
- Kendler, K.S., and Kidd, K.K. (1986). Recurrence risks in an oligogenic threshold model: the effect of alterations in allele frequency. *Annals of human genetics* 50, 83-91.
- Kerem, B., Rommens, J.M., Buchanan, J.A., Markiewicz, D., Cox, T.K., Chakravarti, A., Buchwald, M., and Tsui, L.C. (1989). Identification of the cystic fibrosis gene: genetic analysis. *Science* 245, 1073-1080.
- Khan, S., and Dickerman, J.D. (2006). Hereditary thrombophilia. *Thrombosis journal* 4, 15.
- Kienle, A., Lilge, L., Vitkin, I.A., Patterson, M.S., Wilson, B.C., Hibst, R., and Steiner, R. (1996). Why do veins appear blue? A new look at an old question. *Applied optics* 35, 1151.
- King, R.A., Rotter, J.I., and Motulsky, A.G. (1992). *The Genetic basis of common diseases* (New York: Oxford University Press).
- Kittles, R.A., and Weiss, K.M. (2003). Race, ancestry, and genes: implications for defining disease risk. *Annual review of genomics and human genetics* 4, 33-67.
- Klai, S., Fekih-Mrissa, N., Mrissa, R., Rachdi, R., and Gritli, N. (2013). Maternal cerebral venous thrombosis, uncommon but serious disorder, pathologic predictors and contribution of prothrombotic abnormalities. *Blood coagulation & fibrinolysis : an international journal in haemostasis and thrombosis* 24, 269-272.
- Kontula, K., Ylikorkala, A., Miettinen, H., Vuorio, A., Kauppinen-Makelin, R., Hamalainen, L., Palomaki, H., and Kaste, M. (1995). Arg506Gln factor V mutation

(factor V Leiden) in patients with ischaemic cerebrovascular disease and survivors of myocardial infarction. *Thrombosis and haemostasis* 73, 558-560.

Kumar, V., and Robbins, S.L. (2007). *Robbins basic pathology*, 8th edn (Philadelphia, PA: Saunders/Elsevier).

Kurnit, D.M., Layton, W.M., and Matthyse, S. (1987). Genetics, chance, and morphogenesis. *American journal of human genetics* 41, 979-995.

Kvasnicka, J., Hajkova, J., Bobcikova, P., Kvasnicka, T., Duskova, D., Poletinova, S., and Kieferova, V. (2012). [Prevalence of thrombophilic mutations of FV Leiden, prothrombin G20210A and PAI-1 4G/5G and their combinations in a group of 1450 healthy middle-aged individuals in the Prague and Central Bohemian regions (results of FRET real-time PCR assay)]. *Casopis lekaru ceskych* 151, 76-82.

Kyrle, P.A., Rosendaal, F.R., and Eichinger, S. (2010). Risk assessment for recurrent venous thrombosis. *Lancet* 376, 2032-2039.

Landegren, U., Kaiser, R., Caskey, C.T., and Hood, L. (1988). DNA diagnostics--molecular techniques and automation. *Science* 242, 229-237.

Le Cam-Duchez, V., Bagan-Triquenot, A., Barbay, V., Mihout, B., and Borg, J.Y. (2008). The G79A polymorphism of protein Z gene is an independent risk factor for cerebral venous thrombosis. *Journal of neurology* 255, 1521-1525.

Leroyer, C., Mercier, B., Oger, E., Chenu, E., Abgrall, J.F., Ferec, C., and Mottier, D. (1998). Prevalence of 20210 A allele of the prothrombin gene in venous thromboembolism patients. *Thrombosis and haemostasis* 80, 49-51.

Lichy, C., Dong-Si, T., Reuner, K., Genius, J., Rickmann, H., Hampe, T., Dolan, T., Stoll, F., and Grau, A. (2006). Risk of cerebral venous thrombosis and novel gene polymorphisms of the coagulation and fibrinolytic systems. *Journal of neurology* 253, 316-320.

Lucotte, G., and Mercier, G. (2001). Population genetics of factor V Leiden in Europe. *Blood cells, molecules & diseases* 27, 362-367.

Ludemann, P., Nabavi, D.G., Junker, R., Wolff, E., Papke, K., Buchner, H., Assmann, G., and Ringelstein, E.B. (1998). Factor V Leiden mutation is a risk factor for cerebral venous thrombosis: a case-control study of 55 patients. *Stroke* 29, 2507-2510.

Macedo-Ribeiro, S., Bode, W., Huber, R., Quinn-Allen, M.A., Kim, S.W., Ortel, T.L., Bourenkov, G.P., Bartunik, H.D., Stubbs, M.T., Kane, W.H., *et al.* (1999). Crystal structures of the membrane-binding C2 domain of human coagulation factor V. *Nature* 402, 434-439.

- Macfarlane, R.G. (1964). An Enzyme Cascade in the Blood Clotting Mechanism, and Its Function as a Biochemical Amplifier. *Nature* 202, 498-499.
- Madhusudhan, T., Kerlin, B.A., and Isermann, B. (2015). The emerging role of coagulation proteases in kidney disease. *Nature Reviews Nephrology* 12, 94.
- Madonna, P., De Stefano, V., Coppola, A., Albinini, R., and Cerbone, A.M. (2000). G20210A PRTH gene mutation and other thrombophilic polymorphisms in patients with cerebral vein thrombosis. *Stroke* 31, 1787-1788.
- Marchini, J., Cardon, L.R., Phillips, M.S., and Donnelly, P. (2004). The effects of human population structure on large genetic association studies. *Nature genetics* 36, 512-517.
- Margaglione, M., Brancaccio, V., Ciampa, A., Papa, M.L., Grandone, E., and Di Minno, G. (2001). Inherited thrombophilic risk factors in a large cohort of individuals referred to Italian thrombophilia centers: distinct roles in different clinical settings. *Haematologica* 86, 634-639.
- Martinelli, I., Battaglioli, T., and Mannucci, P.M. (2003). Screening of thrombophilia in women with failure of embryo implantation: far from being recommended. *Haematologica* 88, ELT36.
- Masel, J. (2012). Rethinking Hardy-Weinberg and genetic drift in undergraduate biology. *BioEssays : news and reviews in molecular, cellular and developmental biology* 34, 701-710.
- Mathonnet, F., Nadifi, S., Serazin-Leroy, V., Dakouane, M., and Giudicelli, Y. (2002). Absence of factor V Leiden mutation and low prothrombin G 20210 A mutation prevalence in a healthy Moroccan population. *Thrombosis and haemostasis* 88, 1073-1074.
- Mazoyer, E., Ripoll, L., Gueguen, R., Tiret, L., Collet, J.P., dit Sollier, C.B., Roussi, J., Drouet, L., and Group, F.S. (2009). Prevalence of factor V Leiden and prothrombin G20210A mutation in a large French population selected for nonthrombotic history: geographical and age distribution. *Blood coagulation & fibrinolysis : an international journal in haemostasis and thrombosis* 20, 503-510.
- McKusick, V.A. (1969). *Human genetics*, 2d edn (Englewood Cliffs, N.J.: Prentice-Hall).
- McKusick, V.A. (2007). *Mendelian Inheritance in Man and its online version, OMIM*. *American journal of human genetics* 80, 588-604.

- Mehta, C.R., and Patel, N.R. (1983). A Network Algorithm for Performing Fisher's Exact Test in  $r \times c$  Contingency Tables. *Journal of the American Statistical Association* 78, 427-434.
- Mehta, C.R., and Patel, N.R. (1986). ALGORITHM 643: FEXACT: a FORTRAN subroutine for Fisher's exact test on unordered  $r \times c$  contingency tables. *ACM Trans Math Softw* 12, 154-161.
- Mehta, R., and Shapiro, A.D. (2008). Plasminogen deficiency. *Haemophilia : the official journal of the World Federation of Hemophilia* 14, 1261-1268.
- Middeldorp, S., and van Hylckama Vlieg, A. (2008). Does thrombophilia testing help in the clinical management of patients? *British journal of haematology* 143, 321-335.
- Miller, S.P., Wu, Y.W., Lee, J., Lammer, E.J., Iovannisci, D.M., Glidden, D.V., Bonifacio, S.L., Collins, A., Shaw, G.M., Barkovich, A.J., *et al.* (2006). Candidate gene polymorphisms do not differ between newborns with stroke and normal controls. *Stroke* 37, 2678-2683.
- Mortensen, S.P., Dawson, E.A., Yoshiga, C.C., Dalsgaard, M.K., Damsgaard, R., Secher, N.H., and Gonzalez-Alonso, J. (2005). Limitations to systemic and locomotor limb muscle oxygen delivery and uptake during maximal exercise in humans. *The Journal of physiology* 566, 273-285.
- Morton, N.E., and Collins, A. (1998). Tests and estimates of allelic association in complex inheritance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95, 11389-11393.
- Mosteller, F. (1968). Association and Estimation in Contingency Tables. *Journal of the American Statistical Association* 63, 1-28.
- Mullis, K., Faloona, F., Scharf, S., Saiki, R., Horn, G., and Erlich, H. (1986). Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology* 51 Pt 1, 263-273.
- Mullis, K.B. (1991). The polymerase chain reaction in an anemic mode: how to avoid cold oligodeoxyribonuclear fusion. *PCR methods and applications* 1, 1-4.
- Murphy, E.A., and Chase, G.A. (1975). *Principles of genetic counseling* (Chicago: Year Book Medical Publishers).
- Musunuru, K., and Kathiresan, S. (2008). HapMap and mapping genes for cardiovascular disease. *Circulation Cardiovascular genetics* 1, 66-71.
- Naeem, M.A., Anwar, M., Ali, W., Ayyub, M., and Nasiruddin, N. (2006). Prevalence of prothrombin gene mutation (G-A 20210 A) in general population: a pilot study.

Clinical and applied thrombosis/hemostasis : official journal of the International Academy of Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis *12*, 223-226.

Nar, H., Bauer, M., Schmid, A., Stassen, J.M., Wienen, W., Priepke, H.W., Kauffmann, I.K., Ries, U.J., and Huel, N.H. (2001). Structural basis for inhibition promiscuity of dual specific thrombin and factor Xa blood coagulation inhibitors. *Structure* *9*, 29-37.

Nei, M. (1975). *Molecular population genetics and evolution* (Amsterdam, New York: North-Holland Pub. Co. ; American Elsevier Pub. Co.).

Nishank, S.S., Singh, M.P., and Yadav, R. (2013). Clinical impact of factor V Leiden, prothrombin G20210A, and MTHFR C677T mutations among sickle cell disease patients of Central India. *European journal of haematology* *91*, 462-466.

Nusier, M.K., Radaideh, A.M., Ababneh, N.A., Qaqish, B.M., Alzoubi, R., Khader, Y., Mersa, J.Y., Irshaid, N.M., and El-Khateeb, M. (2007). Prevalence of factor V G1691A (Leiden) and prothrombin G20210A polymorphisms among apparently healthy Jordanians. *Neuro endocrinology letters* *28*, 699-703.

Olafsson, I., Hjaltadottir, S., Onundarson, P.T., Thorarinsdottir, R., and Haraldsdottir, V. (1997). [Factor VQ50f) and prothrombin 20210 A mutations in an Icelandic apparently healthy population and patients suffering from venous thrombosis.]. *Laeknabladid* *83*, 486-491.

Orikaza, C.M., Morelli, V.M., Matos, M.F., and Lourenco, D.M. (2014). Haplotypes of TAFI gene and the risk of cerebral venous thrombosis--a case-control study. *Thrombosis research* *133*, 120-124.

Osaki, T., and Kawabata, S. (2004). Structure and function of coagulogen, a clottable protein in horseshoe crabs. *Cellular and molecular life sciences : CMLS* *61*, 1257-1265.

Ozbek, U., and Tangun, Y. (1997). Frequency of factor V Leiden (Arg506Gln) in Turkey. *British journal of haematology* *97*, 504-505.

Oztuzcu, S., Ergun, S., Ulasli, M., Nacarkahya, G., Igci, Y.Z., Igci, M., Bayraktar, R., Tamer, A., Cakmak, E.A., and Arslan, A. (2014). Evaluation of Factor V G1691A, prothrombin G20210A, Factor XIII V34L, MTHFR A1298C, MTHFR C677T and PAI-1 4G/5G genotype frequencies of patients subjected to cardiovascular disease (CVD) panel in south-east region of Turkey. *Molecular biology reports* *41*, 3671-3676.

- Pandey, S.K., Meena, A., Kishor, K., Mishra, R.M., Pandey, S., and Saxena, R. (2012). Prevalence of factor V Leiden G1691A, MTHFR C677T, and prothrombin G20210A among Asian Indian sickle cell patients. *Clinical and applied thrombosis/hemostasis : official journal of the International Academy of Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis* 18, 320-323.
- Papadakis, E., Hoffman, R., and Brenner, B. (2010). Thrombohemorrhagic complications of myeloproliferative disorders. *Blood reviews* 24, 227-232.
- Parveen, F., Shukla, A., and Agrawal, S. (2013). Should factor V Leiden mutation and prothrombin gene polymorphism testing be done in women with recurrent miscarriage from North India? *Archives of gynecology and obstetrics* 287, 375-381.
- Pecheniuk, N.M., Marsh, N.A., Walsh, T.P., and Dale, J.L. (1997). Use of first nucleotide change technology to determine the frequency of factor V Leiden in a population of Australian blood donors. *Blood coagulation & fibrinolysis : an international journal in haemostasis and thrombosis* 8, 491-495.
- Phillips, M., and Knoppers, B.M. (2016). The discombobulation of de-identification. *Nature biotechnology* 34, 1102-1103.
- Poort, S.R., Rosendaal, F.R., Reitsma, P.H., and Bertina, R.M. (1996). A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. *Blood* 88, 3698-3703.
- Pourgheysari, B., Boroujeni, H.R., Hasheminia, A.M., and Drees, F. (2013). PLA2 polymorphism of platelet glycoprotein IIb/IIIa but not Factor V Leiden and prothrombin G20210A polymorphisms is associated with venous thromboembolism and more recurrent events in central Iran. *Blood coagulation & fibrinolysis : an international journal in haemostasis and thrombosis* 24, 471-476.
- Prandoni, P., Falanga, A., and Piccioli, A. (2005). Cancer and venous thromboembolism. *The Lancet Oncology* 6, 401-410.
- Rahimi, Z., Mozafari, H., Shahriari-Ahmadi, A., Alimogaddam, K., Ghavamzadeh, A., Aznab, M., Mansouri, K., Rezaei, M., and Parsian, A. (2010). Deep venous thrombosis and thrombophilic mutations in western Iran: association with factor V Leiden. *Blood coagulation & fibrinolysis : an international journal in haemostasis and thrombosis* 21, 385-388.
- Rahimi, Z., Vaisi-Raygani, A., Mozafari, H., Kharrazi, H., Rezaei, M., and Nagel, R.L. (2008). Prevalence of factor V Leiden (G1691A) and prothrombin (G20210A)



among Kurdish population from Western Iran. *Journal of thrombosis and thrombolysis* 25, 280-283.

Rai, R., and Regan, L. (2006). Recurrent miscarriage. *Lancet* 368, 601-611.

Raymond, M., and Rousset, F. (1995). GENEPOP (Version 1.2): Population Genetics Software for Exact Tests and Ecumenicism. *Journal of Heredity* 86, 248-249.

Rees, D.C., Cox, M., and Clegg, J.B. (1995). World distribution of factor V Leiden. *Lancet* 346, 1133-1134.

Renner, W., Koppel, H., Hoffmann, C., Schallmoser, K., Stanger, O., Toplak, H., Wascher, T.C., and Pilger, E. (2000). Prothrombin G20210A, factor V Leiden, and factor XIII Val34Leu: common mutations of blood coagulation factors and deep vein thrombosis in Austria. *Thrombosis research* 99, 35-39.

Ridker, P.M., Hennekens, C.H., and Miletich, J.P. (1999). G20210A mutation in prothrombin gene and risk of myocardial infarction, stroke, and venous thrombosis in a large cohort of US men. *Circulation* 99, 999-1004.

Ridker, P.M., Miletich, J.P., Hennekens, C.H., and Buring, J.E. (1997). Ethnic distribution of factor V Leiden in 4047 men and women. Implications for venous thromboembolism screening. *Jama* 277, 1305-1307.

Ringelstein, M., Jung, A., Berger, K., Stoll, M., Madlener, K., Klotzsch, C., Schlachetzki, F., and Stolz, E. (2012). Promotor polymorphisms of plasminogen activator inhibitor-1 and other thrombophilic genotypes in cerebral venous thrombosis: a case-control study in adults. *Journal of neurology* 259, 2287-2292.

Risch, N.J. (2000). Searching for genetic determinants in the new millennium. *Nature* 405, 847-856.

Rodrigues, C.A., Rocha, L.K., Morelli, V.M., Franco, R.F., and Lourenco, D.M. (2004). Prothrombin G20210A mutation, and not factor V Leiden mutation, is a risk factor for cerebral venous thrombosis in Brazilian patients. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* 2, 1211-1212.

Rosendaal, F.R. (2005). Venous thrombosis: the role of genes, environment, and behavior. *Hematology American Society of Hematology Education Program*, 1-12.

Rosendaal, F.R., Koster, T., Vandenbroucke, J.P., and Reitsma, P.H. (1995). High risk of thrombosis in patients homozygous for factor V Leiden (activated protein C resistance). *Blood* 85, 1504-1508.

Rosendaal, F.R., and Reitsma, P.H. (2009). Genetics of venous thrombosis. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* 7 *Suppl 1*, 301-304.

Rosendaal, F.R., Siscovick, D.S., Schwartz, S.M., Psaty, B.M., Raghunathan, T.E., and Vos, H.L. (1997). A common prothrombin variant (20210 G to A) increases the risk of myocardial infarction in young women. *Blood* 90, 1747-1750.

Rousset, F. (2008). genepop'007: a complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux. *Molecular ecology resources* 8, 103-106.

Royle, N.J., Irwin, D.M., Koschinsky, M.L., MacGillivray, R.T., and Hamerton, J.L. (1987). Human genes encoding prothrombin and ceruloplasmin map to 11p11-q12 and 3q21-24, respectively. *Somatic cell and molecular genetics* 13, 285-292.

Ruggeri, M., Gisslinger, H., Tosetto, A., Rintelen, C., Mannhalter, C., Pabinger, I., Heis, N., Castaman, G., Missiaglia, E., Lechner, K., *et al.* (2002). Factor V Leiden mutation carriership and venous thromboembolism in polycythemia vera and essential thrombocythemia. *American journal of hematology* 71, 1-6.

Ruigrok, Y.M., Slooter, A.J.C., Rinkel, G.J.E., Wijmenga, C., and Rosendaal, F.R. (2010). Genes influencing coagulation and the risk of aneurysmal subarachnoid hemorrhage, and subsequent complications of secondary cerebral ischemia and rebleeding. *Acta Neurochirurgica* 152, 257-262.

Ruiz-Irastorza, G., Crowther, M., Branch, W., and Khamashta, M.A. (2010). Antiphospholipid syndrome. *Lancet* 376, 1498-1509.

Rumbold, J.M., and Pierscionek, B. (2017). The Effect of the General Data Protection Regulation on Medical Research. *Journal of medical Internet research* 19, e47.

Saadatnia, M., Salehi, M., Movahedian, A., Shariat, S.Z., Salari, M., Tajmirriahi, M., Asadimobarakeh, E., Salehi, R., Amini, G., Ebrahimi, H., *et al.* (2015). Factor V Leiden, factor V Cambridge, factor II GA20210, and methylenetetrahydrofolate reductase in cerebral venous and sinus thrombosis: A case-control study. *Journal of research in medical sciences : the official journal of Isfahan University of Medical Sciences* 20, 554-562.

Sabbagh, A.S., Ibrahim, G., Kanaan, Z., Shammaa, D.M., Khalek, R.A., Ghasham, M., Greige, L., and Mahfouz, R.A. (2009). Prevalence of the prothrombin G20210A polymorphism in the Lebanese population: use of a reverse hybridization strip assay approach. *Molecular biology reports* 36, 399-403.

Sanger, F., Nicklen, S., and Coulson, A.R. (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 74, 5463-5467.

- Saour, J.N., Shoukri, M.M., and Mammo, L.A. (2009). The Saudi Thrombosis and Familial Thrombophilia Registry. Design, rationale, and preliminary results. *Saudi medical journal* 30, 1286-1290.
- Scarvelis, D., and Wells, P.S. (2006). Diagnosis and treatment of deep-vein thrombosis. *CMAJ : Canadian Medical Association journal = journal de l'Association medicale canadienne* 175, 1087-1092.
- Schilling, A.M., Heidenreich, J.O., Oldenburg, A.C., Pietilä, T., Stendel, R., and Wolf, K.-J. (2004). Multiple Cerebral Aneurysms in Factor VII Deficiency. *American Journal of Neuroradiology* 25, 784-786.
- Schobess, R., Junker, R., Auberger, K., Munchow, N., Burdach, S., and Nowak-Gottl, U. (1999). Factor V G1691A and prothrombin G20210A in childhood spontaneous venous thrombosis--evidence of an age-dependent thrombotic onset in carriers of factor V G1691A and prothrombin G20210A mutation. *European journal of pediatrics* 158 Suppl 3, S105-108.
- Scriver, C.R. (1985). Population screening: report of a workshop. *Progress in clinical and biological research* 163B, 89-152.
- Seligsohn, U., and Lubetsky, A. (2001). Genetic susceptibility to venous thrombosis. *The New England journal of medicine* 344, 1222-1231.
- Semmler, A., Linnebank, M., Krex, D., Gotz, A., Moskau, S., Ziegler, A., and Simon, M. (2008). Polymorphisms of homocysteine metabolism are associated with intracranial aneurysms. *Cerebrovascular diseases* 26, 425-429.
- Servedio, M.R., Brandvain, Y., Dhole, S., Fitzpatrick, C.L., Goldberg, E.E., Stern, C.A., Van Cleve, J., and Yeh, D.J. (2014). Not just a theory--the utility of mathematical models in evolutionary biology. *PLoS biology* 12, e1002017.
- Shabani, M., and Borry, P. (2018). Rules for processing genetic data for research purposes in view of the new EU General Data Protection Regulation. *European journal of human genetics : EJHG* 26, 149-156.
- Shampo, M.A., and Kyle, R.A. (2002). Kary B. Mullis--Nobel Laureate for procedure to replicate DNA. *Mayo Clinic proceedings* 77, 606.
- Shapiro, S.S. (2003). Treating thrombosis in the 21st century. *The New England journal of medicine* 349, 1762-1764.
- Simpson, E.L., Stevenson, M.D., Rawdin, A., and Papaioannou, D. (2009). Thrombophilia testing in people with venous thromboembolism: systematic review and cost-effectiveness analysis. *Health technology assessment* 13, iii, ix-x, 1-91.

Skeith, L., Carrier, M., Kaaja, R., Martinelli, I., Petroff, D., Schleussner, E., Laskin, C.A., and Rodger, M.A. (2016). A meta-analysis of low-molecular-weight heparin to prevent pregnancy loss in women with inherited thrombophilia. *Blood* 127, 1650-1655.

Smith, D.W., and Aase, J.M. (1970). Polygenic inheritance of certain common malformations. Evidence and empiric recurrence risk data. *The Journal of pediatrics* 76, 652-659.

Solbrig, O.T., and Solbrig, D.J. (1979). Introduction to population biology & evolution (Reading, Mass.: Addison-Wesley Pub. Co.).

Sottilotta, G., Mammi, C., Furlo, G., Oriana, V., Latella, C., and Trapani Lombardo, V. (2009). High incidence of factor V Leiden and prothrombin G20210A in healthy southern Italians. *Clinical and applied thrombosis/hemostasis : official journal of the International Academy of Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis* 15, 356-359.

Souto, J.C., Coll, I., Llobet, D., del Rio, E., Oliver, A., Mateo, J., Borrell, M., and Fontcuberta, J. (1998). The prothrombin 20210A allele is the most prevalent genetic risk factor for venous thromboembolism in the Spanish population. *Thrombosis and haemostasis* 80, 366-369.

Starr, C. (2017). *Biology : the unity and diversity of life*, 15th edition. edn (Boston, MA: Cengage Learning).

Stein, P.D., and Goldman, J. (2009). Obesity and thromboembolic disease. *Clinics in chest medicine* 30, 489-493, viii.

Steinberg, A.G. (1983). *Genetics of cardiovascular disease* (Philadelphia: Saunders).

Stolz, E., Valdueza, J.M., Grebe, M., Schlachetzki, F., Schmitt, E., Madlener, K., Rahimi, A., Kempkes-Matthes, B., Blaes, F., Gerriets, T., *et al.* (2007). Anemia as a risk factor for cerebral venous thrombosis? An old hypothesis revisited. Results of a prospective study. *Journal of neurology* 254, 729-734.

Tamim, H., Finan, R.R., and Almawi, W.Y. (2002). Prevalence and distribution of the prothrombin G20210A mutation. *American journal of hematology* 71, 235-236.

Tchaikovski, S.N., and Rosing, J. (2010). Mechanisms of estrogen-induced venous thromboembolism. *Thrombosis research* 126, 5-11.

They-They, T.P., Hamzi, K., Moutawafik, M.T., Bellayou, H., El Messal, M., and Nadifi, S. (2010). Prevalence of angiotensin-converting enzyme, methylenetetrahydrofolate reductase, Factor V Leiden, prothrombin and

- apolipoprotein E gene polymorphisms in Morocco. *Annals of human biology* 37, 767-777.
- Thorelli, E., Kaufman, R.J., and Dahlback, B. (1998). The C-terminal region of the factor V B-domain is crucial for the anticoagulant activity of factor V. *The Journal of biological chemistry* 273, 16140-16145.
- Todd, J.A., Bell, J.I., and McDevitt, H.O. (1987). HLA-DQ beta gene contributes to susceptibility and resistance to insulin-dependent diabetes mellitus. *Nature* 329, 599-604.
- Togrul, J., Rustamov, R., Gurgey, A., Altay, S., and Altay, C. (2000). Prevalence of the prothrombin gene G20210A mutation in Azerbaijan. *British journal of haematology* 108, 887-888.
- Tordai, A., Klein, I., Rajczy, K., Penzes, M., Sarkadi, B., and Varadi, A. (1997). Prevalence of factor V Leiden (Arg506Gln) in Hungary. *British journal of haematology* 99, 466-467.
- Tosetto, A., Missiaglia, E., Frezzato, M., and Rodeghiero, F. (1999). The VITA project: prothrombin G20210A mutation and venous thromboembolism in the general population. *Thrombosis and haemostasis* 82, 1395-1398.
- Tufano, A., Guida, A., Coppola, A., Nardo, A., Di Capua, M., Quintavalle, G., Di Minno, M.N., Cerbone, A.M., and Di Minno, G. (2014). Risk factors and recurrent thrombotic episodes in patients with cerebral venous thrombosis. *Blood transfusion = Trasfusione del sangue* 12 Suppl 1, s337-342.
- Tug, E., Aydin, H., Kaplan, E., and Dogruer, D. (2011). Frequency of genetic mutations associated with thromboembolism in the Western Black Sea Region. *Internal medicine* 50, 17-21.
- Valle, D. (1987). Genetic disease: an overview of current therapy. *Hosp Pract (Off Ed)* 22, 167-170, 173-165, 178 passim.
- Varga, E.A., and Moll, S. (2004). Cardiology patient pages. Prothrombin 20210 mutation (factor II mutation). *Circulation* 110, e15-18.
- Ventura, P., Cobelli, M., Marietta, M., Panini, R., Rosa, M.C., and Salvioli, G. (2004). Hyperhomocysteinemia and other newly recognized inherited coagulation disorders (factor V Leiden and prothrombin gene mutation) in patients with idiopathic cerebral vein thrombosis. *Cerebrovascular diseases* 17, 153-159.

- Villoutreix, B.O., and Dahlback, B. (1998). Structural investigation of the A domains of human blood coagulation factor V by molecular modeling. *Protein science : a publication of the Protein Society* 7, 1317-1325.
- Voetsch, B., Damasceno, B.P., Camargo, E.C., Massaro, A., Bacheschi, L.A., Scaff, M., Annichino-Bizzacchi, J.M., and Arruda, V.R. (2000). Inherited thrombophilia as a risk factor for the development of ischemic stroke in young adults. *Thrombosis and haemostasis* 83, 229-233.
- Vogel, F., and Motulsky, A.G. (1986). *Human genetics : problems and approaches*, 2nd, completely rev. edn (Berlin ; New York: Springer-Verlag).
- Vora, S., Ghosh, K., Shetty, S., Salvi, V., and Satoskar, P. (2007). Deep venous thrombosis in the antenatal period in a large cohort of pregnancies from western India. *Thrombosis journal* 5, 9.
- Vossen, C.Y., Conard, J., Fontcuberta, J., Makris, M., Van Der Meer, F.J., Pabinger, I., Palareti, G., Preston, F.E., Scharrer, I., Souto, J.C., *et al.* (2004). Familial thrombophilia and lifetime risk of venous thrombosis. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* 2, 1526-1532.
- Watzke, H.H., Schuttrumpf, J., Graf, S., Huber, K., and Panzer, S. (1997). Increased prevalence of a polymorphism in the gene coding for human prothrombin in patients with coronary heart disease. *Thrombosis research* 87, 521-526.
- Weatherall, D.J. (1991). *The new genetics and clinical practice*, 3rd edn (Oxford ; New York: Oxford University Press).
- Weih, M., Mehraein, S., Valdueza, J.M., Einhaupl, K.M., Vetter, B., and Kulozik, A.E. (1998). Coincidence of factor V Leiden mutation and a mutation in the prothrombin gene at position 20210 in a patient with puerperal cerebral venous thrombosis. *Stroke* 29, 1739-1740.
- Weinberg, W. (1908). Über den Nachweis der Vererbung beim Menschen. *Jahreshefte des Vereins für vaterländische Naturkunde in Württemberg* 64, 368-382.
- Wigginton, J.E., Cutler, D.J., and Abecasis, G.R. (2005). A note on exact tests of Hardy-Weinberg equilibrium. *American journal of human genetics* 76, 887-893.
- Williams, R.R. (1988). Nature, nurture, and family predisposition. *The New England journal of medicine* 318, 769-771.
- Wright, I.S. (1962). The nomenclature of blood clotting factors. *Canadian Medical Association journal* 86, 373-374.

Wu, O., and Greer, I.A. (2007). Is screening for thrombophilia cost-effective? *Current opinion in hematology* 14, 500-503.

Xenophontos, S.L., Hadjivassiliou, M., Ayrton, N., Karagrigoriou, A., Pantzaris, M., Nicolaides, A.N., and Cariolou, M.A. (2002). Spectrum and prevalence of prothrombotic single nucleotide polymorphism profiles in the Greek Cypriot population. *International angiology : a journal of the International Union of Angiology* 21, 322-329.

Yapijakis, C., Serefoglou, Z., Nixon, A.M., Vylliotis, A., Ragos, V., and Vairaktaris, E. (2012). Prevalence of thrombosis-related DNA polymorphisms in a healthy Greek population. *In vivo* 26, 1095-1101.

Yapijakis, C., Serefoglou, Z., and Voumvourakis, C. (2015). Common Gene Polymorphisms Associated with Thrombophilia. In *Common Gene Polymorphisms Associated with Thrombophilia, Thrombosis, Atherosclerosis and Atherothrombosis - New Insights and Experimental Protocols*, M. Božič-Mijovski, ed. (InTech).

Zalavras Ch, G., Giotopoulou, S., Dokou, E., Mitsis, M., Ioannou, H.V., Tsaousi, C., Tzolou, A., Kolaitis, N., and Vartholomatos, G. (2003). Prevalence of the G20210A prothrombin gene mutation in Northwestern Greece and association with venous thromboembolism. *International angiology : a journal of the International Union of Angiology* 22, 55-57.

Zivelin, A., Rosenberg, N., Faier, S., Kornbrot, N., Peretz, H., Mannhalter, C., Horellou, M.H., and Seligsohn, U. (1998). A single genetic origin for the common prothrombotic G20210A polymorphism in the prothrombin gene. *Blood* 92, 1119-1124.

Zoller, B., Norlund, L., Leksell, H., Nilsson, J.E., von Schenck, H., Rosen, U., Jepsson, J.O., and Dahlback, B. (1996). High prevalence of the FVR506Q mutation causing APC resistance in a region of southern Sweden with a high incidence of venous thrombosis. *Thrombosis research* 83, 475-477.

Zuber, M., Toulon, P., Marnet, L., and Mas, J.L. (1996). Factor V Leiden mutation in cerebral venous thrombosis. *Stroke* 27, 1721-1723.

Γαλάνης, Π., and Σπάρος, Λ. (2005). Ανάλυση δεδομένων: Μη παραγισιανή προσέγγιση. *Αρχαία Ελληνική Ιατρική* 22.

Λουκάς, Μ.Γ. (2003). Γενετική των πληθυσμών (Σταμούλη Α.Ε.).