

Kalitsal Trombofilide Genetik Varyant Dağılımının İncelenmesi

Investigation of Gene Variant Distribution in Hereditary Thrombophilia

Kaan Kuzu¹  Giray Bozkaya² 

¹ Sağlık Bilimleri Üniversitesi İzmir Bozyaka Eğitim ve Araştırma Hast., Tıbbi Biyokimya, İzmir, Türkiye

² Sağlık Bilimleri Üniversitesi İzmir Tıp Fakültesi, İzmir Şehir Hast., Tıbbi Biyokimya, İzmir, Türkiye

Received / Başvuru Tarihi: 17 Mayıs 2024

Accepted / Kabul Tarihi: 09 Temmuz 2024

ÖZET

Amaç: Kalitsal trombofili, pıhtılaşma sistemindeki bir genetik varyasyon nedeniyle pıhtı oluşumuna yatkınlığın arttığı bir durumdur. Trombofili ön tanılı olgularda genetik test, tanıyı doğrulamak, diğer olasılıkları ekarte etmek, tromboemboli tekrarlama riskini belirlemek için gereklidir. Bu çalışmanın amacı, İzmir ve çevresinde kalitsal trombofiliye yol açan genetik varyantların dağılımını incelemektir.

Materyal ve Metod: Hastanemizde 2013-2021 yılları arasında trombofili varyant analizi yapılan 955 kişinin moleküler analiz sonuçları geriye dönük olarak incelendi. Kan örnekleri, 4 mL'lik K3EDTA içeren tüplere alındı. Protrombin G20210A, Faktör V Leiden G1691A, MTHFR C677T ve A1298C, PAI-1 4G/5G, Beta Fibrinojen 455G>A, Faktör XIII V34L ve Glikoprotein IIIa L33P varyantları, Qiagen firmasının kitleri kullanılarak pyrosekans yöntemi ile araştırıldı.

Bulgular: Genetik test için laboratuvarımıza gönderilen 955 kişiden 5'inde (%0.5) hiçbir varyant bulunamadı. 950 kişide (%99.5) ise bir veya daha fazla varyant tespit edildi. Toplamda 3085 adet gen varyantı saptandı. Bu varyantların 825'i (%26.7) homozigot, 2260'ı (%73.3) heterozigot olarak belirlendi. En sık rastlanan varyant ise 931 adet (%30.2) ile PAI-1 4G/5G oldu.

Sonuç: Kalitsal trombofili olduğundan şüphelenilen hastalarda, bölgelere göre en sık görülen varyant dağılımını genetik test ile belirlemek, varyant analizi için istenecek genetik test çeşidi sayısını azaltabilir. Bu sayede, test sonuçlarının alınma süresi ve test maliyeti de düşürülebilir.

Anahtar Kelimeler: Trombofili, Emboli ve Tromboz, Genetik Varyasyon

Yazışma adresi: Kaan Kuzu

Sağlık Bilimleri Üniversitesi İzmir Bozyaka Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Biyokimya, İzmir, Türkiye
e-posta: kaan_kuzu_2042@hotmail.com

Etik onay: Sağlık Bilimleri Üniversitesi İzmir Bozyaka Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu, 11.01. 2023 tarihi ve 2023/03 sayılı kurul kararı

ABSTRACT

Aim: Hereditary thrombophilia is a condition where there is an increased tendency for clot formation due to a genetic variation in the coagulation system. Genetic testing in cases with a preliminary diagnosis of thrombophilia is necessary to confirm the diagnosis, eliminate other possibilities, and determine the risk of recurrent thromboembolism. The aim of this study is to examine the distribution of genetic variants that cause hereditary thrombophilia in and around İzmir.

Material and Methods: The results of 955 individuals who underwent thrombophilia variant analysis in our hospital between 2013 and 2021 were retrospectively reviewed. Blood samples were collected in 4 mL tubes containing of K3EDTA. Prothrombin G20210A, Factor V Leiden G1691A, Methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C, Plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G, Beta Fibrinogen 455G>A, Factor XIII V34L and Glycoprotein IIIa L33P variants were investigated by pyrosequencing method using DNA isolation and polymerase chain reaction kits of Qiagen company.

Results: Of the 955 individuals sent to our laboratory for genetic testing, no variant was found in 5 people (%0.5). One or more variants were detected in 950 individuals (%99.5). A total of 3085 gene variants were identified. Of these variants, 825 (%26.7) were homozygous and 2260 (%73.3) were heterozygous. The most common variant was PAI-1 4G/5G with 931 (%30.2) cases.

Conclusion: In patients suspected of having hereditary thrombophilia, determining the most common variant distribution by region with genetic testing may reduce the number of genetic test types required for variant analysis. This way, the time to obtain test results and test cost can also be reduced.

Key Words: Thrombophilia, Embolism and Thrombosis, Genetic Variation

GİRİŞ

Kalıtsal trombofili, genetik bir varyasyonun pıhtılaşma sisteminde görev alan bir proteinin miktarını veya işlevini etkileyerek pıhtılaşmaya eğilim yarattığı durumdur. En sık Faktör V ve Protrombin genlerindeki patojenik varyantlarla ilişkilidir. Faktör V genindeki Leiden varyasyonu Avrupa popülasyonlarında %1-7 oranında görülürken Japon, Afrikalı ve Kızılderililerde oldukça nadirdir (1).

Normal hemostazda, protein C, trombin-trombomodülün kompleksi ile aktive olur. Aktif protein C (APC), faktör Va ve VIIIa'yı parçalayarak pıhtılaşma kaskadını durdurur ve antikoagülan etki gösterir (2). APC, faktör V'in 506. pozisyonundaki (R506Q) bölünme bölgesine bağlanarak faktör Va'yı inaktive eder. Ancak bu pozisyonda bir nokta mutasyonu sonucu arjinin aminoasitinin yerine glutamin kodlanmasına bağlı olarak APC tarafından inaktivasyona dirençli Va faktörü (Faktör V Leiden – FVL) oluşur. APC direncinin hem kalıtsal hem de edinilmiş çeşitli tipleri vardır, ancak FVL en sık rastlanandır (3).

Protrombin varyasyonu, protrombin G20210A veya faktör II varyantı olarak da bilinir. Bu varyasyon, protrombin genindeki bir değişiklikten kaynaklanır ve protrombin seviyesi ile etkinliğinin artmasına yol açar (4). İlk kez 1996 yılında tanımlanmıştır ve beyaz ırkta %3'ünde, Afrika ve Asya kökenlilerde ise %0,06 oranında görülmektedir (2).

Varyantlardan herhangi birine sahip olan hastaların klinik bulguları farklılık gösterebilir, ancak en yaygın bulgu 40 yaşından önce sebebi bilinmeyen tromboz ataklarıdır (5). Eğer kişi bileşik heterozigot mutasyonu taşıyıcısıysa, risk daha da artar ve tromboz atakları daha erken yaşlarda görülür. Protrombin ve Faktör V mutasyonlarına sahip homozigot kişiler ise genel popülasyonda çok nadirdir. Bunların yanı sıra, Plazminojen aktivatör inhibitör – 1 (PAI-1), Metilentetrahidrofolat Redüktaz (MTHFR), Faktör XIII (FXIII) ve fibrinojen varyasyonları kalıtsal trombofililerde daha az görülen diğer nedenlerdir (6,7).

Hiperhomosisteinemi, metiyoninin sisteinine dönüşümünde meydana gelen bir bozulma sonucu, ara ürün olan homosisteinin

seviyesinin yükselmesi durumudur. Hiperhomosisteinemi, serum homosistein konsantrasyonunun >15 mmol/L olması şeklinde tanımlanır ve hem kalıtsal hem de edinsel olabilir. Genel popülasyonun %5'inde görülen bu durum, tromboz riskini 1.5 ila 2 kat artırır (8). Kalıtsal hiperhomosisteineminin nedenleri arasında MTHFR veya sistatyonin β -sentaz genlerindeki mutasyonlar sayılabilir. Hiperhomosisteineminin tromboz riskini hangi mekanizma ile arttırdığı tam olarak bilinmemektedir. Olası mekanizmalar arasında faktör V'in etkinleşmesi, protein C'nin baskılanması, endotel hücre fonksiyonunun bozulması sayılabilir (9).

Plazminojen Aktivatör İnhibitörü 1 geni (SERPINE1), 7. kromozomda yer alır ve insülin gibi bazı faktörlerle uyarılabilir. Bu gen, kan pıhtılaşmasında rol oynayan bir proteini kodlar. Bu protein, plazminojen aktivatörü olarak bilinen başka bir proteinin işlevini durdurur. Plazminojen aktivatörü, kan pıhtılarını çözen plazmin adlı bir enzimi aktive eder. Bu yüzden, PAI-1 geninin fazla ifade edilmesi, kan pıhtılaşmasını artırabilir. PAI-1 geninin ifadesini ve PAI-1 proteininin seviyesini etkileyen bir etmen de genin promotor bölgesindeki 4G/5G adı verilen bir değişimdir. Bu değişim, genin kaç kopya ürettiğini belirler. 4G alleli, 5G allele göre daha çok PAI-1 üretir. Bu nedenle, 4G/4G genotipine sahip kişilerde PAI-1 seviyesi daha yüksek olabilir (10). PAI-1 varyasyonunun polimorfizmleri, kalp hastalığı, inme, diyabet ve obezite gibi bazı sağlık sorunlarına yakınlığı etkileyebilir.

Komplikasyonları nedeniyle önemli bir hastalık olan kalıtsal trombofilinin varyant dağılımı, coğrafi bölgeye ve etnik yapıya göre farklılık göstermektedir (12 - 23). Çalışmamızda İzmir ve çevresinde trombofil gen varyant dağılımının geriye dönük olarak incelenmesi amaçlandı.

GEREÇ VE YÖNTEM

Hastanemiz bünyesindeki kliniklerde, 2013-2021 yılları arasında trombofil ön tanısı ile

değerlendirilen ve ardından moleküler tanı laboratuvarımıza sevk edilen toplam 955 bireyin kayıtları, laboratuvarımızın arşivinde retrospektif bir analizle incelendi. Ön tanısı trombofil olan tüm hastalar çalışmaya dahil edildi. Kan örnekleri, 4 mL'lik K₃EDTA içeren tüplere alındı. Bu örneklerden, EZ1 DNA Blood 200 μ L Kit in Advanced XL (Qiagen®, ABD) cihazı kullanılarak DNA izolasyonu yapıldı. Trombofiliye yakınlık gösteren sekiz genetik varyant (FII G20210A, FVL (G1691A), MTHFR C677T ve A1298C, PAI-1 4G/5G, Beta Fibrinojen 455G>A, FXIII V34L ve GPIIIa L33P) için Pyrosekans yöntemi ile Qiagen (Ipsogen, Qiagen Strasse 1, 40724 Hilden, Germany) firmasına ait kitlelerle DNA dizi analizi yapıldı. Elde edilen sonuçlar Microsoft Office Excel 2019 programında değerlendirildi.

Çalışmamız, Sağlık Bilimleri Üniversitesi İzmir Bozyaka Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu onayı (Karar No: 2023/03, Tarih: 11/01/2023) ile retrospektif olarak yapıldı.

BULGULAR

Laboratuvarımıza genetik test için gönderilen 955 kişiden 5'inde (%0.5) trombofiliye yakınlık gösteren hiçbir genetik varyant bulunmadı. 950 kişide (%99.5) ise bir veya daha fazla varyant tespit edildi. Toplamda 3085 adet genetik varyant saptandı. Bunların 825'i (%26.7) homozigot, 2260'ı (%73.3) heterozigot olarak belirlendi (Tablo 1). PAI-1 4G/5G, 931 (%30.2) adet ile en sık görülen varyanttı. Sırası ile MTHFR A1298C (%17.9), MTHFR C677T (%17,6), Fibrinojen 455G>A (%11.2) tespit ettiğimiz diğer sık varyantlar olarak karşımıza çıktı (Tablo 2). Genetik test istenen kişilerin ön tanıları arasında en fazla "serebrovasküler olay" (307 kişi) olduğu görüldü. Bu kişilerde de en yaygın varyasyon PAI-1 olarak saptandı (Tablo 3).

İncelenen 955 bireyin yaş ortalaması 41 olup yaş aralığı 16 ile 82 arasında değişmektedir. Bu bireylerden 41 yaş altı olanların sayısı 513 iken, 41 yaş üstü olanların sayısı 442'dir. 41

yaş altındaki bireylerin 50'sinde protrombin, 83'ünde FVL, 282'sinde MTHFR C677T, 319'unda MTHFR A1298C, 500'ünde PAI-1 4G/5G, 180'inde Beta Fibrinojen 455G>A, 56'sında Faktör XIII V34L ve 39'unda GPIIIa L33P varyantı tespit edilmiştir. 41 yaş üstündeki bireylerin ise 33'ünde protrombin, 70'inde FVL, 260'ında MTHFR C677T, 232'sinde MTHFR A1298C, 431'inde PAI-1

4G/5G, 167'sinde Beta Fibrinojen 455G>A, 48'inde Faktör XIII V34L ve 37'sinde GPIIIa L33P varyantı bulunmuştur. Araştırma kapsamında her bireyde birden fazla genetik varyasyon saptanmıştır. Cinsiyet bazında yapılan analizde ise, erkek ve kadın bireyler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir.

Tablo 1. Kişilerin Varyasyon Dağılımı
Table 1. Variation Distribution of People

Varyasyon	Genotip	Kişi Sayısı (n)	Yüzde (%)
Homozigot	FII G20210A	4	0.1
	GPIIIa L33P	15	0.5
	FV G1691A	17	0.6
	FXIII V34L	24	0.8
	β Fibrinojen 455G/A	51	1.7
	MTHFR C677T	110	3.6
	MTHFR A1298C	128	4.2
	PAI-1 4G/4G	235	7.6
	PAI-1 5G/5G	241	7.8
	Toplam	825	26.7
Heterozigot	FII G20210A	79	2.6
	FV G1691A	136	4.4
	GPIIIa L33P	205	6.6
	FXIII V34L	234	7.6
	β Fibrinojen 455G/A	296	9.6
	MTHFR A1298C	423	13.7
	MTHFR C677T	432	14.0
	PAI-1 4G/5G	455	14.8
	Toplam	2260	73.3

Tablo 2. Tespit Edilen Varyantların Sayısı ve Frekansı
Table 2. Number and Frequency of Detected Variants

Genotip	Varyant Sayısı (n)	Yüzde (%)
FII G20210A	83	2.7
FV G1691A	153	5.0
GPIIIa L33P	220	7.1
FXIII V34L	258	8.4
β Fibrinojen 455G/A	347	11.3
MTHFR C677T	542	17.6
MTHFR A1298C	551	17.9
PAI-1	931	30.2
Toplam	3085	100.0

Tablo 3. Tespit Edilen Varyantların Ön Tanılara Göre Dağılımı
Table 3. Distribution of Detected Variants According to Prediagnoses

Şikayet/Genotip	G20210A	G1691A	A1298C	C677T	PAI-1	455G/A	V34L	L33P	Toplam
Serebrovasküler Olay	6	6	58	60	98	34	27	18	307
İnme	2	5	44	36	75	39	14	20	235
Sinüs Ven Trombozu	1	2	11	11	22	4	8	6	65
Derin Ven Trombozu	1	4	8	7	8	4	6	4	42
İnfertilite	1	2	2	5	7	5	3	-	25
Geçici İskemik Atak	-	-	5	1	7	3	1	2	19
Tromboflebit	1	-	-	-	1	13	-	-	15
Geçici Körlük	-	-	-	2	3	1	1	1	8

TARTIŞMA

Trombofilii, pıhtılaşma sistemindeki dengenin bozularak pıhtı oluşumuna eğilimin artması olarak tanımlanabilir. Bu eğilim, pıhtılaşmayı etkileyen edinilmiş faktörler veya genetik varyasyonlar nedeniyle ortaya çıkabilir. Kalıtsal trombofilii, işte bu genetik varyasyonların pıhtılaşma sistemindeki bir proteinin miktarını veya işlevini etkileyerek pıhtılaşmaya eğilim yarattığı durumdur (11). Dünyada en yaygın görülen iki kalıtsal trombofilii nedeni FVL ve Protrombin G20210A gen varyasyonlarıdır. Her ne kadar bu iki varyasyon dünyada en sık görülen kalıtsal trombofilii nedeni olsa da çalışmamızda en seyrek görülen varyasyonlar olarak belirlendi. Bunun nedeni trombofilinin varyant dağılımının, coğrafi bölgeye ve etnik yapıya göre farklılık göstermesinden kaynaklanabilir.

Faktör V Leiden varyasyonu, beyaz ırkta %1-7 oranında görülen bir genetik bozukluktur (1,5,7,12). Türkiye’de ise bu oran, yapılan çalışmalara göre değişkenlik göstermektedir. Türk Hematoloji Derneği’nin kılavuzuna göre, Türk popülasyonunda FVL varyasyonunun heterozigot formu %2-10, homozigot formu ise %1.5 sıklıkta bulunmaktadır (13). Çalışmamızda ise bu oranlar sırasıyla %4.4 ve %0.6 olarak belirlendi. Akar’ın yaptığı Türkiye çapındaki bir çalışmada, İzmir’deki FVL sıklığı %7.6 olarak rapor edildi (14). Kabukçu ve ark.’nın Denizli’de yaptığı bir başka çalışmada ise bu oran %8.4 olarak belirlendi (15). Boyanovski ve ark.’nın Bulgaristan’da yaptığı bir çalışmada ise FVL

varyasyonunun genel popülasyondaki prevalansı %9 olarak bulundu (16).

Protrombin G20210A varyasyonu, coğrafi farklılıklara göre değişmekle beraber beyaz ırkta %1-3 oranında görülen bir genetik bozukluktur (5,7,12,17). Türk Hematoloji Derneği’nin kılavuzuna göre, Türk popülasyonunda da protrombin varyasyonunun sıklığı %1-3 arasındadır (13). Bizim sonucumuz ise %2.7 oranı ile Türk Hematoloji Derneği’nin vermiş olduğu aralığa uymaktadır. İrdem ve Ark.’nın Diyarbakır’da yaptığı bir çalışmada, heterozigot protrombin varyasyonunun sıklığı %0.7 olarak rapor edildi (18). Fidancı Balcı ve ark.’nın Mersin’de 171 hasta ile yaptığı bir başka çalışmada ise protrombin varyasyonunun sıklığı %3.5 olarak belirlendi (19).

Metilentetrahidrofolat redüktaz gen varyasyonu, MTHFR enziminin işlevini etkileyen bir genetik değişikliktir. Bu gende C677T ve A1298C olmak üzere iki yaygın varyasyon bulunmaktadır. Dünya genelinde olduğu gibi Türkiye’de de MTHFR C677T varyasyonu daha yaygındır. Türkiye’de yapılan tarama çalışmaları toplumda C677T varyantının heterozigot sıklığının %35, homozigot sıklığının ise %5 civarında olduğunu ortaya koymuştur (13). Çalışmamızda ise bu oranlar sırasıyla %14 ve %3.6 olarak bulundu. Uğuz ve ark.’nın Ankara’da 164 hastayla yaptığı çalışmada, C677T varyantının heterozigot sıklığı %54.3, homozigot sıklığı ise %12.2 olarak bulundu. Yine çalışmaya dahil edilen bireylerde A1298C varyantının heterozigot

sıklığı %46.3, homozigot sıklığı ise %11.6 olarak tespit edildi (20). Çalışmamızda ise bu oranlar sırasıyla %13.7 ve %4.2 olarak belirlendi.

Plazminojen aktivatör inhibitörü 1 geninin 4G/5G adlı bir polimorfizmi vardır. Bu polimorfizm, genin promotor bölgesindeki bir değişiklikten kaynaklanır. Bu polimorfizmin sıklığı, etnik gruplara göre değişiklik göstermektedir (21). Çulfacı Karasu ve ark.'nın İzmir'de yaptığı bir çalışmada, 5G/5G polimorfizminin sıklığı %18.3, 4G/4G polimorfizminin sıklığı %25, 4G/5G polimorfizminin sıklığı ise %56.7 olarak bulundu (22). Çalışmamızda ise bu oranlar sırasıyla %7.8, %7.6 ve %14.8 olarak tespit edildi. Her ne kadar iki çalışma da İzmir'de yapılmış olsa da hasta profili açısından çeşitlilik gösterdikleri için varyasyon dağılım oranları farklılık göstermektedir. Yıldırım ve ark.'nın Sivas'ta yaptığı başka bir çalışmada ise 5G/5G polimorfizminin sıklığı %25.6, 4G/4G polimorfizminin sıklığı %12.8, 4G/5G polimorfizminin sıklığı %61.6 olarak belirlendi (23).

Genetik test istenen kişilerde, ön tanılara göre varyant dağılımı incelendiğinde, PAI-1'in en yaygın olduğu görüldü. Bu kişilerin ön tanıları arasında en sık "serebrovasküler olay" (307 kişi) vardı. Diğer ön tanıları ise inme, sinüs ven trombozu, derin ven trombozu, infertilite ve geçici iskemik atak şeklindeydi. Bu durumlarla ilişkilendirilen en yaygın varyant PAI-1 olmuştur. Literatürde PAI-1 varyantının tek başına tromboz riskini belirgin şekilde yükseltmediği ifade edilmekle birlikte, diğer varyantlarla bir araya geldiğinde tromboz oluşumuna katkı sağlayabileceği öne sürülmektedir (24,25). Bu bağlamda, araştırmamız hastanemize müracaat eden bireylerde PAI-1 varyantının, özellikle tromboz riski yüksek olan FVL ve protrombin varyantları ile birlikte öncelikli olarak incelenmesi gerektiğini; böylece ülkemizde sık rastlanmayan ekstra varyant testlerinin gereksiz yere talep edilmesinin

önüne geçilebileceğini ortaya koymaktadır. Türk Hematoloji Derneği'nin en son kılavuzunda, trombofili riski taşıyan hastalardan istenen rutin kalıtsal trombofili paneli testleri arasında MTHFR ve PAI varyantları bulunmamaktadır (13). Ancak bu testlerin, rutin trombofili tarama testleri içerisine eklenmesinde kit sağlayıcı firmaların etkisi oldukça belirgindir. Klinik branşlar ve genetik laboratuvarlar ise bu rutini sürdürmektedir.

Bölgelere göre en sık görülen varyantların genetik test ile belirlenmesi hem tanı hem de tedavi açısından önemli faydalar sağlayabilir. Öncelikle, bu yaklaşım, test süresini kısaltmak ve test maliyetini düşürmek için yararlı olabilir. Bölgesel varyant dağılımı dikkate alınarak test kapsamının optimize edilmesi, gereksiz testlerin azaltılmasına ve sonuçların daha çabuk elde edilmesine olanak tanıyabilir. Bu optimizasyon sürecinde, tromboz riski yüksek olan FVL ve protrombin gen varyantlarının trombofili test panelinde bulunması da önem arz etmektedir. İkinci olarak, bu yaklaşım, hastaların trombofili riskinin daha doğru bir şekilde değerlendirilmesine ve kişiye özel tedavi ve önlemlerin planlanmasına imkan tanıyabilir. Çünkü, farklı varyantlar farklı tromboz riskleri ve antikoagülan duyarlılıkları taşımaktadır. Dolayısıyla, hastaların genetik profillerine göre en uygun ilaç dozunun ve süresinin belirlenmesi oldukça önemlidir. Aynı şekilde, trombofili riski olan gebelerin gebelik ve doğum sırasında alması gereken önlemler de genetik test sonuçlarına bağlı olarak değişebilir.

Sonuç olarak, kalıtsal trombofili şüphesi olan hastalarda, bölgelere göre en sık görülen varyantların genetik test ile belirlenmesi hem hastaların sağlığını korumak hem de sağlık sisteminin verimliliğini artırmak için yararlı olabilir. Bu nedenle, bu yaklaşımın daha yaygın olarak kullanılması için gerekli altyapının ve bilincin oluşturulması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Lim MY, Moll S. Thrombophilia. *Vascular Medicine* 2015;20(2):193-6.
2. Seligsohn U, Lubetzky A. Genetic susceptibility to venous thrombosis. *New England Journal of Medicine* 2001;344(16):1222-31.
3. Castoldi E, Rosing J. APC Resistance: biological basis for acquired influences. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2010;8(3):445-53.
4. Poort SR, Rosendaal FR, Reitsma PH, Bertina RM. A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associate with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. *Blood* 1996;88(10):3698-703.
5. Makris M, Rosendaal FR, Preston FE. Familial thrombophilia: genetic risk factors and management. *Journal of Internal Medicine* 1997;242:9-15.
6. van der Meer FJ, Koster T, Vandenbroucke JP, Briet E, Rosendaal FR. The Leiden Thrombophilia Study (LETS). *Thrombosis and Haemostasis* 1997;78(1):631-5.
7. Zangari M, Elice F, Tricot G, Fink L. *Thrombophilia. Drug Target Insights* 2008;3:568.
8. Lindhoff-Last E, Luxembourg B. Evidence-based indications for thrombophilia screening. *Vasa* 2008;37(1):19-30.
9. Martinelli I, Bucciarelli P, Mannucci P. Thrombotic risk factors: Basic pathophysiology. *Critical Care Medicine* 2010;38(2):3-9.
10. Mehta R, Shapiro AD. Plasminogen activator inhibitor type 1 deficiency. *Haemophilia* 2008;14:1255-60.
11. Feero WG. Genetic thrombophilia. *Primary Care: Clinics in Office Practice* 2004;31(3):685-709.
12. Wawrusiewicz-Kurylonek N, Krętownski AJ, Posmyk R. Frequency of thrombophilia associated genes variants: population-based study. *BMC Medical Genetics* 2020;21(1):1-5.
13. Türk Hematoloji Derneği. Kalıtsal Trombofilii; Tanı ve Tedavi Kılavuzu: Ulusal Tedavi Rehberi. 1. Baskı. Ankara: Dernek; Temmuz 2011.
14. Akar N. Factor V 1691 GA mutation distribution in a healthy Turkish population. *Turkish Journal of Hematology* 2009;26(1):9-11.
15. Kabukcu S, Keskin N, Keskin A, Atalay E. The frequency of factor V Leiden and concomitance of factor V Leiden with prothrombin G20210A mutation in healthy population of Denizli, Aegan region of Turkey. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis* 2007;13:166-71.
16. Boyanovsky B, Russev M, Ganev V, Penev M, Baleva M. Prevalence of factor V Leiden and prothrombin 20210 A variant in Bulgarian patients with pulmonary thromboembolism and deep venous thrombosis. *Blood Coagulation & Fibrinolysis* 2001;12:639-42.
17. Linnemann B, Hart C. Laboratory diagnostics in thrombophilia. *Hämostaseologie* 2019;39(1):49-61.
18. İrdem A, Devecioglu C, Batun S, Soker M, Sucakli IA. Prevalence of factor V Leiden and prothrombin G20210A gene mutation. *Saudi Medical Journal* 2005;26(4):580-83.
19. Fidancı Balcı Ş, Yaroğlu Yıldırım H, Ünal N, Güneş G, Alici Sert G, Sucu N et al. Venöz tromboz ön tanısı olan hastalarda Faktör V Leiden, Protrombin G20210A, MTHFR C677T ve MTHFR A1298C mutasyonlarının dağılımı. *Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 2010;3(3):30-34.
20. Uğuz N, Erden G, Güngör O, Bal C, Yıldırımkaya M. MTHFR geninde c677t ve/veya a1298c polimorfizmi tespit edilen bireylerde bu polimorfizm sıklıklarının incelenmesi. *Journal of Clinical & Experimental Investigations* 2012;3(4):472-76.
21. Franchini M, Veneri D, Salvagno GL, Manzato F, Lippi G. Inherited thrombophilia. *Critical reviews in clinical laboratory sciences* 2006;43(3):249-90.
22. Çulfacı Karasu F, Er M, Hasanoğlu HC, Ceylan G. Plazminojen aktivatör inhibitörü tip-1 gen (PAI-1) polimorfizmi ve pulmoner emboli arasındaki ilişki. *İzmir Göğüs Hastanesi Dergisi* 2020;34(1):43-49.
23. Yıldırım ME, Dağ Ş, Kurtulgan HK, Karakuş S. Plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1) 4G/4G polimorfizminin gebelik kayıplarıyla ilişkisi. *Cumhuriyet Medical Journal* 2014;36(3): 350-55.
24. Nikolopoulos GK, Tsantes AE, Bagos PG, Tsiara CG, Mantzios GP, Kapsimali V et al. Association between the Plasminogen Activator Inhibitor-1 4G/5G gene polymorphism and ischemic stroke; a meta-analysis *Blood* 2006;108(11):4010.
25. Attia J, Thakkinian A, Wang Y, Lincz L, Parsons M, Sturm J et al. The PAI-1 4G/5G gene polymorphism and ischemic stroke: an association study and meta-analysis. *Journal of stroke and cerebrovascular diseases* 2007;16(4):173-79.