

B. Pötzsch

Institut für Experimentelle Hämatologie und Transfusionsmedizin,
 Universitätsklinikum, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

FV-Leiden- und Prothrombin-G20210A-Mutation

Genetische Testung und Konsequenzen für die Behandlung

Einleitung

Das Entstehen einer venösen Thrombose wird durch exogene und endogene Risikofaktoren begünstigt. Zu den exogenen Risikofaktoren werden alle Situationen gerechnet, die das Thromboserisiko unabhängig von individuellen Faktoren erhöhen. Dazu zählen zum Beispiel stationäre Behandlungen, operative Eingriffe, Behandlungen mit Östrogenen und Langstreckenreisen. Auch das steigende Lebensalter ist ein Faktor, der das Thromboserisiko unabhängig von individuellen Einflussfaktoren erhöht.

Zur Gruppe der endogenen Risikofaktoren werden angeborene und erworbene Störungen des Hämostasesystems gerechnet, die unabhängig von thrombophilen Risikosituationen das Thromboserisiko erhöhen. Das damit verbundene Krankheitsbild der Thrombophilie ist dementsprechend durch die Entwicklung von Thrombosen außerhalb typischer Risikosituationen, sogenannten Spontanthrombosen, charakterisiert. Weitere Leitsymptome der Thrombophilie sind das frühe Erstmanifestationsalter, eine hohe Rezidivrate, die untypische Thromboselokalisierung mit Befall von Gefäßregionen, in denen venöse Thrombosen eher selten auftreten, und die familiäre Disposition.

Dem klinischen Phänotyp der Thrombophilie konnte mit dem Nachweis eines angeborenen Antithrombinmangels erstmals 1965 ein entsprechender molekularer Phänotyp zugeordnet werden [8]. Nachfolgend wurden mit dem Protein-C- und Protein-S-Mangel weitere thrombophile molekulare Phänotypen und Genotypen identifiziert. Trotzdem konnten diese Gerinnungsstörungen nur in einem geringen Prozentsatz der Thrombophiliepatienten die Thromboseneigung erklären. Dies änderte sich erst mit der Entdeckung der Resistenz gegen aktiviertes Protein C (APC) mit der zugrunde liegenden FV-Leiden-Mutation und der Prothrombinmutation.

APC-Resistenz und Faktor-V-Leiden-Mutation

Das Protein-C-System ist ein antikoagulatorisch wirkendes Enzymsystem, das im Sinn einer negativen Rückkopplung die Thrombinbildung reguliert. Wie in **Abb. 1** schematisch dargestellt ist, wird das Protein C (PC) an der Oberfläche von Endothelzellen durch einen Aktivierungskomplex – bestehend aus dem Enzym Thrombin und dem zellulären Kofaktor Thrombomodulin (TM) – aktiviert. Das generierte APC bildet mit dem Kofaktor Protein S (PS) einen Komplex, der die aktiven Kofaktoren V (FVa) und VIII (FVIa) durch proteolytische Spaltung inakti-

Tab. 1 Erhöhung des relativen Thromboserisikos in Abhängigkeit vom thrombophilen Risikofaktor nach van der Meer et al. [10]

Risikofaktor		Relative Risikoerhöhung
APC-Resistenz/FV-Leiden-Mutation	Heterozygot	4–8
	Homozygot	15–30
Prothrombin-G20210A-Mutation	Heterozygot	2–4
	Homozygot	12
FVIII-Aktivität >150%		5
Milde Hyperhomozysteinämie		2–6
Protein-C- und Protein-S-Mangel		*
Antithrombinmangel		*
Antiphospholipid-Antikörper		15–39

*Aufgrund zu geringer Fallzahlen nicht bestimmbar.

viert. Dadurch wird die enzymatische Aktivität des Tenase- (FIXa/FVIIIa) und des Prothrombinasekomplexes (FXa/FVa) erheblich reduziert und die weitere Thrombinbildung inhibiert.

Die antikoagulatorische Aktivität von APC kann in vitro durch die Verlängerung einer FVa- und FVIIIa-abhängigen Gerinnungszeit, wie der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit (APTT), erfasst werden. Wie in **Abb. 2** dargestellt, verlängert die Zugabe von APC zu Plasma konzentrationsabhängig die APTT. Mit einem derartigen diagnostischen Ansatz konnte Dahlbäck [7] 1993 erstmals den molekularen Phänotyp der APC-Resistenz nachweisen. Er konnte zeigen, dass bei einem Teil der Patienten mit einer Thrombophilie die APC-Zugabe nicht zu der erwarteten APTT-Verlängerung führte und prägte deswegen den Begriff der *APC-Resistenz*. Eine Arbeitsgruppe um Bertina [1] aus der niederländischen Stadt Leiden konnte eine Punktmutation im *FV*-Gen als Ursache für den APC-Resistenz-Phänotyp nachweisen (OMIM +227400.0001). Diese Punktmutation betrifft die APC-Spaltstelle in Aminosäureposition 506 in der schweren Kette des *FV*-Moleküls und führt durch einen Austausch der Aminosäure Arginin durch Glutamin zu einem Verlust dieser APC-Spaltstelle. Ebenfalls mit einem APC-Resistenz-Phänotyp verbunden sind zwei sehr seltene als *FV*-Cambridge und *FV*-Hongkong beschriebene Mutationen einer weiteren APC-Spaltstelle in Position 306 [3, 19].

Genotyp der Prothrombin-G20210A-Mutation

Die Prothrombin-G20210A-Mutation ist eine Punktmutation, die im 5'-nichtkodierenden Ende des Prothrombins lokalisiert ist (OMIM +176930.0009) [13]. Dementsprechend hat sie keinen Einfluss auf die molekulare Struktur des kodierten Prothrombinmoleküls. Merkmalsträger weisen im Vergleich mit Wildtypen einen erhöhten Prothrombinspiegel auf. Allerdings ist der Überlappungsbereich hoch, sodass von einem erhöhten Prothrombinplasmaspiegel nicht auf das Vorliegen einer Prothrombin-G20210A-Mutation geschlossen werden kann. Ei-

medgen 2008 · 20:218–222 DOI 10.1007/s11825-008-0105-z
© Springer Medizin Verlag 2008

B. Pötzsch

FV-Leiden- und Prothrombin-G20210A-Mutation. Genetische Testung und Konsequenzen für die Behandlung

Zusammenfassung

Die Faktor-V-Leiden-Mutation und die Prothrombin-G20210A-Mutation sind mit einer Inzidenz von 2–4% und etwa 1% die häufigsten genetisch determinierten thrombophilen Risikofaktoren. Während der thrombophile Mechanismus der *FV*-Leiden-Mutation auf einer Hemmung der antikoagulatorischen Aktivität von aktiviertem Protein C (APC) beruht, ist der molekulare Mechanismus der Prothrombin-G20210A-Mutation nicht eindeutig geklärt. Das Vorliegen beider Mutationen erhöht das Risiko für eine venöse Thrombose, hat aber keinen wesentlichen

Einfluss auf das Rezidivrisiko nach einer spontanen venösen Thrombose. Deswegen kann der Mutationsnachweis die klinische Diagnose einer Thrombophilie zwar bestätigen, beeinflusst aber – bis auf homozygote und compound-heterozygote Mutationsträger – das therapeutische Vorgehen nicht.

Schlüsselwörter

Venöse Thrombose · Thrombophilie · Faktor-V-Leiden · Prothrombin G20210A · Thrombophiliediagnostik

Factor V Leiden and prothrombin G20210A mutations. Genetic testing and its effect on treatment

Abstract

Factor V Leiden mutation and the prothrombin G20210A variant are the most common thrombophilic risk factors identified so far, with incidences of 2–4% and 1%, respectively. While the former is associated with the APC resistance phenotype, the prothrombotic phenotype of the prothrombin G20210A variant remains unclear. The presence of each of the mutations increases the risk of venous thromboembolism. However, the risk of recurrent venous thromboembolism is not

significantly enhanced. Testing for both prothrombotic mutations can confirm the clinical diagnosis of thrombophilia but has no effect on the anticoagulant management of these patients.

Keywords

Venous thrombosis · Thrombophilia · Factor V Leiden · Prothrombin G20210A · Thrombophilia testing

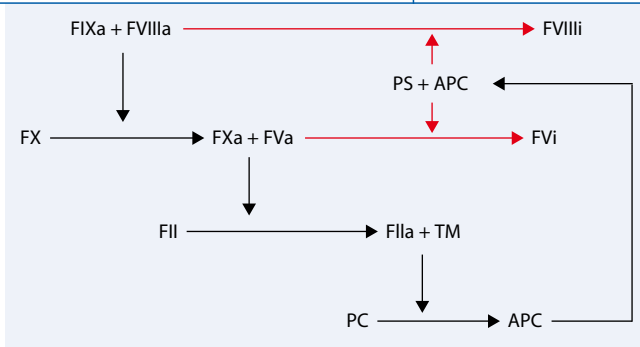


Abb. 1 ◀ Schematische Darstellung des Protein-C-Systems

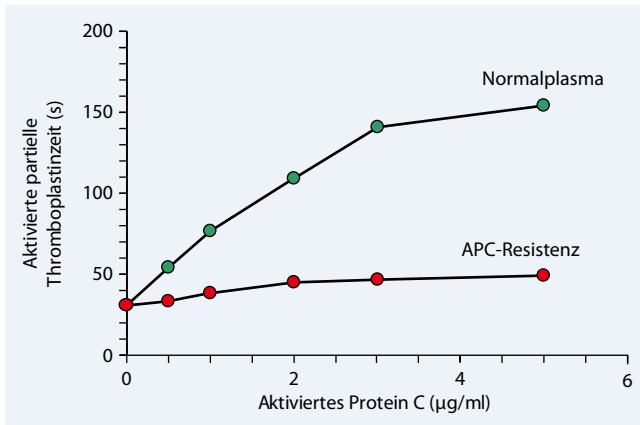


Abb. 2 ◀ In-vitro-Nachweis der APC-Aktivität. Durch Zugabe von APC zu Plasma (X-Achse) kommt es zu einer Verlängerung der Gerinnungszeit (Y-Achse). Bei Patienten mit einer APC-Resistenz (rote Symbole) ist diese antikoagulatorische Wirkung von APC eingeschränkt

ne erhöhte mRNA-Bildung trägt zum molekularen Phänotyp dieser Mutation bei, der aber bisher nicht eindeutig geklärt ist [9].

Klinische Wertigkeit der FV-Leiden- und der Prothrombin-G20210A-Mutation

Die klinische Wertigkeit einer thrombophilen Mutation ist davon abhängig, in welchem Ausmaß die Mutation das Thromboserisiko und das Risiko für ein Rezidivereignis nach einer Thrombose erhöht. Ein weiteres Bewertungskriterium ist der Einfluss einer thrombophilen Mutation auf das Abortrisiko, da durch thrombotische Mikrozirkulationsstörungen der Plazenta Aborte ausgelöst werden können.

Einfluss auf das Thromboserisiko

In Bevölkerungen mit kaukasischem Abstammungshintergrund tritt die Faktor-V-Leiden-Mutation mit einer Häufigkeit von 2–4% und die Prothrombin-G20210A-Mutation mit einer Häufigkeit von etwa 1% auf [14, 16]. Werden thrombophile Patientenkollektive untersucht,

steigt die Häufigkeit der FV-Leiden-Mutation auf 10–30% und die Prothrombin-G20210A-Mutation findet sich mit einer Häufigkeit von 8–12% [17]. Aus diesem signifikanten Häufigkeitsunterschied lässt sich bereits ableiten, dass beide Mutationen das Thromboserisiko signifikant erhöhen. Aus den Daten von alters- und geschlechtsangepassten Fall-Kontroll-Studien lassen sich die in **Tab. 1** zusammengefassten relativen Erhöhungen des Thromboserisikos ableiten [17]. Im Vergleich mit anderen thrombophilen Risikofaktoren ist die Erhöhung des Thromboserisikos im Heterozygotenstatus für beide Mutationen eher moderat. Dies erklärt, warum es nur bei einem Teil der Mutationsträger im Laufe des Lebens zu thrombotischen Ereignissen kommt und auch homozygot betroffene Mutationsträger trotz mehrfach durchlebter thrombophiler Risikosituationen keine Thrombosen entwickeln. Gleichzeitig zeigt das gesteigerte Thromboserisiko von compound-heterozygoten Mutationsträgern, dass beide Mutationen über unterschiedliche Mechanismen das Thromboserisiko erhöhen.

Mit zunehmendem Alter und in typischen thrombophilen Risikosituationen

steigt das Thromboserisiko von Mutationsträgern wesentlich stärker als bei nicht betroffenen Patienten. Durch die heterozygote FV-Leiden-Mutation verdoppelt sich beispielsweise das mit einem großen operativen Eingriff verbundene Thromboserisiko [4]. Das mit einer hormonellen Kontrazeption oder einer Hormonersatztherapie verbundene relative Thromboserisiko ist bei Vorliegen der FV-Leiden-Mutation etwa um das 50fache gesteigert. Bei Vorliegen der Prothrombin-G20210A-Mutation ist das Thromboserisiko etwa 30fach höher [15].

Rezidivrisiko nach einer venösen Thrombose

Das Risiko, nach einer venösen Thrombose ein erneutes thrombotisches Ereignis zu erleiden, liegt für alle Patienten bei etwa 5% pro Jahr und ist bei Patienten mit einer Spontanthrombose mit einer Rezidivrate von etwa 20% in den ersten beiden Jahren deutlich höher [18].

Inwieweit das Rezidivrisiko durch das Vorliegen der FV-Leiden- und der Prothrombin-G20210A-Mutation beeinflusst wird, wurde in einer Reihe von Fall-Kontroll-Studien untersucht [10, 12]. Diese Untersuchungen zeigen für heterozygote Mutationsträger ein leicht erhöhtes relatives Risiko (FV-Leiden: 1,2; Prothrombin-G20210A: 1,45) für die Entwicklung eines Thromboserezidivs, wenn in der Patientenselektion die Art der Thromboseentstehung nicht berücksichtigt wird. Werden ausschließlich Patienten mit einer Spontanthrombose eingeschlossen, wie dies in der Leiden-Thrombophilia-Study der Fall ist, zeigt sich in der Rezidivrate kein signifikanter Unterschied zwischen Mutationsträgern und Patienten ohne Mutation [5]. Lediglich homozygot betroffene Patienten und solche, die beide Mutationen tragen, zeigen ein signifikant erhöhtes Rezidivrisiko.

Abortrisiko von Merkmalsträgerinnen

Thrombotische Prozesse in der Mikrozirkulation der Plazenta können durch trophische Störungen zum Abort führen. Die bisher verfügbaren Daten zum Abortrisiko von Trägerinnen der FV-Leiden- und

Prothrombinmutation lassen eine geringgradige Erhöhung des Abortrisikos zu Beginn des zweiten Trimenons erkennen [2, 11]. In einer 32.683 Patientinnen umfassenden Fall-Kontroll-Studie wurde eine relative Erhöhung des Abortrisikos von 3,5 bzw. 2,6 nach der 10. Schwangerschaftswoche für die FV-Leiden- und die Prothrombinmutation ermittelt [11]. Tierexperimentelle Untersuchungen lassen vermuten, dass ein erhöhtes Abortrisiko insbesondere dann gegeben ist, wenn eine thrombophile Mutation des Fetus mit einer thrombophilen Mutation der Mutter koinzidiert [6].

Indikationen zur Diagnostik

Mögliche Indikationen einer Thrombophiliediagnostik sind:

- die Beurteilung des Thromboserisikos,
- die Ursachenfindung nach aufgetretener Thrombose und
- die Einschätzung des Rezidivrisikos.

Präexpositionelles Screening

Durch beide Mutationen wird das Thromboserisiko erhöht. Daraus kann abgeleitet werden, dass das Thromboserisiko von Mutationsträgern durch die Vermeidung exogener thrombophiler Risikosituationen oder durch eine prophylaktische bzw. höherdosierte Thromboseprophylaxe gesenkt werden sollte. Tatsächlich kann durch ein solches präexpositionelles Screening die Thromboserate und die Rate der Lungenembolien gesenkt werden. Im Einzelnen wurde dies bei Patientinnen vor Erstverschreibung einer hormonellen Antikonzeption oder einer Hormonersatztherapie, an schwangeren Patientinnen und an Patienten, die einem prothetischen Hüft- und Kniegelenkersatz unterzogen wurden, untersucht [4, 20]. Für diese verschiedenen Szenarien wurden auch Kosten-Nutzen-Analysen durchgeführt, die zu dem Schluss kommen, dass im Fall der Hormonersatztherapie die Kosten für ein präexpositionelles Screening durch die eingesparten Behandlungskosten und durch die vermiedenen Todesfälle ausgewogen werden. Alle diese Daten werden jedoch dadurch relativiert, dass die Thromboseanamnese in allen geteste-

ten Screeningszenarien besser dazu geeignet ist, Patienten mit einem erhöhten Thromboserisiko zu erkennen. Deswegen kann aus diesen Daten zurzeit keine Indikation zur Durchführung eines Mutationscreenings im Sinne einer Expositionsprophylaxe abgeleitet werden.

Ursachenabklärung und Bewertung des Rezidivrisikos

Der Nachweis einer FV-Leiden- oder einer Prothrombin-G20210A-Mutation kann die klinische Diagnose einer Thrombophilie bestätigen, aber nicht ausschließen. Insofern kann sie betroffenen Patienten eine Erklärung für das Auftreten der Thrombose liefern und ist geeignet, innerhalb betroffener Familien die mit einem erhöhten Thromboserisiko behafteten Familienmitglieder zu erkennen. Die Ursachenabklärung bei Verdacht auf das Vorliegen einer Thrombophilie und die Identifizierung betroffener Familienmitglieder stellt deswegen eine Indikation zur FV-Leiden- und Prothrombin-G20210A-Diagnostik dar.

Eine Aussage über das Rezidivrisiko nach einer spontan aufgetretenen venösen Thrombose ist mit Ausnahme der homozygot betroffenen und der compound-heterozygoten Mutationsträger nicht möglich. Deshalb hat der einfache heterozygote Mutationsnachweis keinen Einfluss auf die Planung der Dauer der medikamentösen Sekundärprophylaxe. Das signifikant erhöhte Rezidivrisiko der oben erwähnten Homozygoten oder Compound-Heterozygoten rechtfertigt jedoch die Durchführung dieser Diagnostik bei Patienten mit der klinischen Diagnose einer Thrombophilie.

Abortdiagnostik

Inwieweit die Mutationsdiagnostik im Rahmen einer Abortdiagnostik durchgeführt werden sollte, wird zurzeit strittig diskutiert. Die relativ geringe Risikoerhöhung und die Tatsache, dass auch Patientinnen, die nicht von Mutationen betroffen sind, von einer schwangerschaftsbegleitenden Heparinabgabe profitieren, spricht gegen die Diagnostik. Ein Argument für die Diagnostik ist die Beobachtung, dass möglicherweise mit der FV-

Hier steht eine Anzeige

 Springer

Leiden- oder Prothrombin-G20210A-Mutation verbundene Aborte nach der 10. Schwangerschaftswoche auftreten und deswegen bei Nachweis der Mutation die längerfristige Gabe eines niedermolekularen Heparins eher gerechtfertigt ist. Zur Klärung des Stellenwerts dieser Thrombophiliediagnostik im Rahmen der Abortdiagnostik sind Diagnose-Management-Studien erforderlich.

Therapeutische Konsequenzen

Entscheidend für die Beratung von Merkmalsträgern ist die Thromboseanamnese des Patienten und seiner Familienangehörigen. Im Folgenden werden allgemeine Empfehlungen ausgesprochen, die in jedem Einzelfall überprüft und angepasst werden müssen.

Mutationsträger mit einer negativen Thromboseanamnese (Eigen- und Familienanamnese) tragen ein leicht erhöhtes Thromboserisiko. Ab einem Lebensalter von >45 Jahren sollte in thrombophilen Risikosituationen, in denen sonst üblicherweise keine medikamentöse Thromboseprophylaxe verabreicht wird, wie Langstreckenflügen >6 h oder Immobilisationen >3 Tage, eine passagere Thromboseprophylaxe mit einem niedermolekularen Heparin erfolgen. Geeignet sind alle niedermolekularen Heparine in der zur Thromboseprophylaxe mit mittlerem bis hohem Risiko zugelassenen Dosierung. Die Indikationen zur Verschreibung einer hormonellen Antikonzeption und einer Hormonersatztherapie sollten kritisch überprüft und die betroffene Patientin in die Entscheidungsfindung einbezogen werden. Im Fall einer Schwangerschaft kann im letzten Trimenon bis einschließlich 6 Wochen post partum eine Thromboseprophylaxe mit einem niedermolekularen Heparin durchgeführt werden. Die Effektivität einer solchen Therapie ist durch Studien noch nicht belegt. In der Abwägung zwischen der möglichen Gefährdung durch die Gabe eines niedermolekularen Heparins und dem Benefit einer solchen antikoagulatorischen Therapie überwiegt jedoch der potenzielle Nutzen.

Mutationsträger mit positiver Thromboseanamnese sollten in einer spezialisierten Gerinnungs- bzw. Thromboseam-

balanz zur Beratung und weiteren Therapieplanung vorgestellt werden. Allgemein gilt, dass Patienten mit einer spontan aufgetretenen Thrombose von einer längerfristigen medikamentösen Thromboseprophylaxe profitieren und nach Beendigung dieser Sekundärprophylaxe in allen Situationen, die mit einem erhöhten Thromboserisiko einhergehen, eine medikamentöse Thromboseprophylaxe erhalten sollten.

Ausblick

Auch wenn mit dem Nachweis der FV-Leiden- und der Prothrombin-G20210A-Mutation das erhöhte Thromboserisiko bei etwa der Hälfte der thrombophilen Patienten erklärt werden kann, ist der zur Thrombophilie führende genetische Hintergrund nur partiell verstanden. Es ist damit zu rechnen, dass durch genomweite Untersuchungen und durch die Einbeziehung epigenetischer Phänomene neue thrombophile Genotypen identifiziert werden.

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. B. Pötzsch

Institut für Experimentelle Hämatologie und Transfusionsmedizin, Universitätsklinikum Bonn, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, Sigmund-Freud-Straße 25, 53105 Bonn
bernd.poetzsch@ukb.uni-bonn.de

Interessenkonflikt. Der korrespondierende Autor gibt an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Literatur

- Bertina RM, Koeleman BP, Koster T et al. (1994) Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. *Nature* 369: 64–67
- Brenner B, Aharon A (2007) Thrombophilia and adverse pregnancy outcome. *Clin Perinatol* 34: 527–541
- Chan WP, Lee CK, Kwong YL et al. (1998) A novel mutation of Arg306 of factor V gene in Hong Kong Chinese. *Blood* 91: 1140–1144
- Cohn DM, Roshani S, Middeldorp S (2007) Thrombophilia and venous thromboembolism: implications for testing. *Semin Thromb Hemost* 33: 573–581
- Christiansen SC, Cannegieter SC, Koster T et al. (2005) Thrombophilia, clinical factors, and recurrent venous thrombotic events. *JAMA* 293: 2352–2361

- Cleuren ACA, Vlijmen BJM van, Reitsma PH (2007) Transgenic mouse models of venous thrombosis: fulfilling the expectations? *Semin Thromb Hemost* 33: 610–616
- Dahlbäck B, Carlsson M, Svensson PJ (1993) Familial thrombophilia due to a previously unrecognized mechanism characterized by poor anticoagulant response to activated protein C: prediction of a cofactor to activated protein C. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90: 1004–1008
- Egeberg O (1965) Inherited antithrombin III deficiency causing thrombophilia. *Thromb Diath Haemorrh* 13: 516–530
- Gehring NH, Frede U, Neu-Yilik G et al. (2001) Increased efficiency of mRNA 3' end formation: a new genetic mechanism contributing to hereditary thrombophilia. *Nat Genet* 28: 389–392
- Ho WK, Hankey GJ, Quinlan DJ et al. (2006) Risk of recurrent venous thromboembolism in patients with common thrombophilia. *Arch Intern Med* 166: 729–736
- Lissalde-Lavigne G, Fabbro-Perray P, Cochery-Nouvellon E et al. (2005) Factor V Leiden and prothrombin G20210A polymorphisms as risk factors for miscarriage during a first intended pregnancy: the matched case-control, 'NOHA first' study. *J Thromb Haemost* 3: 2178–2184
- Marchiori A, Mosena L, Prins MH, Prandoni P (2007) The risk of recurrent venous thromboembolism among heterozygous carriers of factor V Leiden or prothrombin G20210A mutation. A systematic review of prospective studies. *Haematologica* 92: 1107–1114
- Poort SR, Rosendaal FR, Reitsma PH et al. (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
- Rees DC, Cox M, Clegg JB (1995) World distribution of factor V Leiden. *Lancet* 346: 106–112
- Reitsma PH, Rosendaal FR (2007) Past and future of genetic research in thrombosis. *J Thromb Haemost (Suppl 1)* 5: 264–269
- Rosendaal FR, Doggen CJ, Zivelin A et al. (1998) Geographic distribution of the 20210 G to A prothrombin variant. *Thromb Haemost* 79: 706–708
- Meer FJ van der, Koster T, Vandenbroucke JP et al. (1997) The Leiden Thrombophilia Study (LETS). *Thromb Haemost* 78: 631–635
- Dongen CJ, von Vink R, Hutten BA et al. (2003) The incidence of recurrent venous thromboembolism after treatment with vitamin K antagonists in relation to time since first event: a meta-analysis. *Arch Intern Med* 163: 1285–1293
- Williamson D, Brown K, Luddington R et al. (1998) Factor V Cambridge: a new mutation (Arg306→Thr) associated with resistance to activated protein C. *Blood* 91: 1135–1139
- Wu O, Robertson L, Twaddle S et al. (2006) Screening for thrombophilia in high-risk situations: systematic review and cost-effectiveness analysis. The Thrombosis: risk and economic assessment of thrombophilia screening (TREATS) study. *Health Technol Assess* 10: 1–110