

Ana Cristina Godoy Molías

Factores predictivos de retrombosis: clínica y trombofilia

Departamento
Medicina, Psiquiatría y Dermatología

Director/es
Lucía Cuesta, José Félix

<http://zaguan.unizar.es/collection/Tesis>

Tesis Doctoral

FACTORES PREDICTIVOS DE RETROMBOSIS: CLÍNICA Y TROMBOFILIA

Autor

Ana Cristina Godoy Molías

Director/es

Lucía Cuesta, José Félix

UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA

Medicina, Psiquiatría y Dermatología

2016

TESIS DOCTORAL

FACTORES PREDICTIVOS DE RETROMBOSIS: CLÍNICA Y TROMBOFILIA



Universidad Zaragoza

Ana Cristina Godoy Molías
Zaragoza, Octubre de 2015

JOSÉ FÉLIX LUCÍA CUESTA, doctor en medicina, Jefe de Sección de Hematología y Hemoterapia del Hospital Universitario Miguel Servet y profesor asociado de la Facultad de Medicina de la Universidad de Zaragoza hasta el año 2013 **CERTIFICA** que la Licenciada en Medicina y Cirugía Ana Cristina Godoy Molías ha realizado en el Departamento de Medicina Interna y bajo nuestra dirección, el trabajo cuya memoria presenta para optar al grado de Doctor en Medicina, con el título: "Factores predictivos de retrombosis: clínica y trombofilia"

Dando mi conformidad para que sea presentada, leída y defendida ante el Tribunal que le sea asignado para su juicio crítico y calificación. Y, para que así conste, firmo el presente certificado, en Zaragoza, a fecha 20 de Octubre de 2015.

Dr. José Félix Lucía Cuesta

DOCTOR EN MEDICINA Y PROFESOR ASOCIADO DE LA UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA.

CARLOS AGUILAR FRANCO, doctor en medicina y médico adjunto del Servicio de Hematología y Hemoterapia del Hospital Santa Bárbara de Soria **CERTIFICA** que la Licenciada en Medicina y Cirugía Ana Cristina Godoy Molías ha realizado en el Departamento de Medicina Interna y bajo nuestra dirección, el trabajo cuya memoria presenta para optar al grado de Doctor en Medicina, con el título: "Factores predictivos de retrombosis: clínica y trombofilia"

Dando mi conformidad para que sea presentada, leída y defendida ante el Tribunal que le sea asignado para su juicio crítico y calificación. Y, para que así conste, firmo el presente certificado, en Zaragoza, a fecha 20 de Octubre de 2015.

Dr. Carlos Aguilar Franco

SERVICIO DE HEMATOLOGÍA Y HEMOTERAPIA. HOSPITAL SANTA BÁRBARA. SORIA.

DEDICATORIA

A mi hijo Juan

A Juan

A mis padres, Joaquín y Maribel

A mi hermano

A mi tío y a Inés

A mis abuelos, que ya no están con nosotros

A Manuela, Roberto, Ester, Paco, Javier y Yayo

AGRADECIMIENTOS

Quiero dejar constancia de mi agradecimiento a todas aquellas personas que han contribuido de alguna forma a este trabajo:

A los/las pacientes que luchan día a día y que nos empujan a mejorar como profesionales.

A mis directores de tesis, Félix Lucía Cuesta y Carlos Aguilar Franco.

A todos los miembros del servicio de Hematología del Hospital Santa Bárbara de Soria, ya que sin ellos, este trabajo no hubiese sido posible. Su cariño y su acogida estarán siempre en mi corazón.

A mi jefa y compañera Pilar Delgado.

A mis compañeros del servicio de Hematología del Hospital Universitario Miguel Servet.

A todo el personal de enfermería, auxiliares, celadores y secretarías que trabajan en Hospitalización, Laboratorio de Hematología, Hospital de día y Consultas externas del servicio de Hematología del Hospital Miguel Servet.

Al resto de especialistas que han colaborado y sin los que este proyecto no se habría llevado a cabo, en especial al servicio de Bioquímica (Genética) del Hospital Universitario Miguel Servet.

A mis amigos: Manuela, Roberto, Ester, Valle, Mariangeles, Paco, Javier y Yayo.

A Pilar Rica, por su bondad.

A todos aquellos que no he nombrado y de los que aprendí algo a lo largo de todos estos años.

ÍNDICE

I.	ABREVIATURAS...	pág. 10
II.	INTRODUCCIÓN...	pág. 14
1.	Hemostasia...	pág. 15
1.1	Fase de iniciación...	pág. 16
1.2	Fase de amplificación...	pág. 17
1.3	Fase de propagación...	pág. 19
2.	Patogénesis de la trombosis venosa...	pág. 21
2.1	Inicio de la trombosis venosa...	pág. 21
2.2	Participación del modelo de las válvulas venosas en el inicio de la trombosis...	pág. 23
2.3	Importancia de las microvesículas portadoras de Factor Tisular (FT) en la trombosis venosa...	pág. 23
2.4	El papel de las células sanguíneas en la trombosis venosa...	pág. 26
2.5	Mecanismos potenciales que inducen trombosis venosa...	pág. 27
2.5.1	La triada de Virchow como modelo de consenso de TVP...	pág. 28
2.5.2	La hipótesis de la isquemia-hipoxia y la TVP...	pág. 32
3.	Incidencia de la TVP y el TEP...	pág. 34
4.	Factores de riesgo trombótico...	pág. 35
4.1	Trombofilia hereditaria...	pág. 35
4.1.1	Factor V de Leiden (FVL) y rPCA...	pág. 35
4.1.2	Mutación G20210 del gen de la protrombina...	pág. 52
4.1.3	Otras mutaciones del gen de la protrombina...	pág. 68
4.1.4	Déficit de la proteína C...	pág. 69
4.1.5	Déficit de la proteína S...	pág. 74
4.1.6	Déficit de Antitrombina (AT)...	pág. 80
4.1.7	Reurrencia de TEV en déficit de AT y otros anticoagulantes naturales...	pág. 87
4.1.8	Elevación del Factor VIII...	pág. 88
4.2	Trombofilia adquirida...	pág. 96
4.2.1	Anticuerpos antifosfolípido (AAF)...	pág. 96
4.2.2	Hiperhomocisteinemia...	pág. 110
4.2.3	Cáncer...	pág. 125
4.2.4	Embarazo y trombosis...	pág. 134
4.2.5	Cirugía y traumatismo...	pág. 139
4.2.6	Inmovilización...	pág. 141
4.2.7	Tratamiento con anticonceptivos orales...	pág. 144
III.	HIPÓTESIS Y OBJETIVOS...	pág. 150
IV.	MATERIAL Y MÉTODOS...	pág. 152
1.	Población a estudio...	pág. 153
1.1	Criterios de selección...	pág. 153
1.2	Tamaño de la muestra...	pág. 153
2.	Variables clínicas...	pág. 154
3.	Determinaciones plasmáticas...	pág. 154
3.1	Recogida de muestras, conservación...	pág. 154
3.2	Pruebas de coagulación del estudio de hemostasia básico...	pág. 155
3.3	Determinación mediante pruebas coagulométricas...	pág. 156

- 3.3.1 Dímero D...pág. 156
- 3.3.2 Antitrombina...pág. 157
- 3.3.3 Proteína C coagulante...pág. 157
- 3.3.4 Proteína S coagulante...pág. 158
- 3.3.5 R-PCA...pág. 158
- 3.3.6 Factor VIII...pág. 159
- 3.3.7 Anticoagulante lúpico...pág. 160
- 3.4 Análisis tipo inmuno-turbidimétrico...pág. 161
 - 3.4.1 Proteína S libre...pág. 161
- 3.5 Análisis tipo enzima inmunoensayo (ELISA)...pág. 162
 - 3.5.1 Determinación de Anticoagulante Lúpico...pág. 162
 - 3.5.2 Determinación de anticuerpos tipo anti-B2 glicoproteína...pág. 163
- 3.6 Determinación de Homocisteína plasmática total en ayunas...pág. 164
- 4. Estudio genético...pág. 165
 - 4.1 Detección de las mutaciones del factor V G1691A (FVR 506) (Leiden), mutación del gen de la protrombina (PTH G20210A) y mutación C677T de la metilentetrahidrofolato-reductasa (MTHFR)...pág. 165
- 5. Técnicas estadísticas del análisis de datos...pág. 168
 - 5.1 Análisis descriptivo...pág. 168
 - 5.2 Análisis inferencial...pág. 168
 - 5.2.1 Análisis de supervivencia...pág. 168

V. RESULTADOS...pág. 172

- 1. Estadística descriptiva...pág. 173
 - 1.1 Factores trombofílicos...pág. 174
 - 1.1.1 Antitrombina...pág. 174
 - 1.1.2 Proteína C coagulante...pág. 176
 - 1.1.3 Proteína S coagulante...pág. 177
 - 1.1.4 Proteína S libre...pág. 179
 - 1.1.5 Factor VIII coagulante...pág. 181
 - 1.1.6 Dímero D...pág. 183
 - 1.1.7 Resistencia a la Proteína C Activada...pág. 185
 - 1.1.8 Mutación del Factor V de Leiden...pág. 186
 - 1.1.9 Mutación G20210A del gen de la protrombina...pág. 187
 - 1.1.10 Mutación del gen de la MTHFR...pág. 188
 - 1.1.11 Homocisteína...pág. 189
 - 1.1.12 Anticoagulante lúpico...pág. 191
 - 1.1.13 Anticuerpos anticardiolipina Ig G...pág. 192
 - 1.1.14 Anticuerpos anticardiolipina IgM...pág. 193
 - 1.1.15 Anticuerpos anti B2-GPI IgG...pág. 194
 - 1.2 Factores clínicos...pág. 195
 - 1.2.1 Edad...pág. 195
 - 1.2.2 Sexo...pág. 196
 - 1.2.3 Localización del primer evento...pág. 197
 - 1.2.4 Trombosis espontánea como primer episodio...pág. 198
 - 1.2.5 Historia familiar de trombosis...pág. 199
 - 1.2.6 Inmovilización previa...pág. 200
 - 1.2.7 Antecedentes de neoplasia...pág. 201

1.2.8	Cirugía en los 2 meses previos al primer episodio trombótico...	pág. 202
1.2.9	Portadores de catéter venoso central ...	pág. 203
1.2.10	Traumatismo previo...	pág. 204
1.2.11	Embarazo y puerperio...	pág. 205
1.2.12	Obesidad...	pág. 206
1.2.13	Tabaquismo...	pág. 207
1.2.14	Tratamiento hormonal...	pág. 208
1.2.15	Insuficiencia venosa crónica...	pág. 209
2.	Estadística inferencial...	pág. 210
2.1	Kaplan-Meier...	pág. 211
2.1.1	Factores trombofílicos...	pág. 211
2.1.2	Factores clínicos...	pág. 226
2.2	Regresión de Cox...	pág. 242
VI.	DISCUSIÓN...	pág. 248
1.	Trombofilia y retrombosis...	pág. 249
1.1	Déficit de anticoagulantes naturales...	pág. 249
1.2	Niveles elevados de Factor VIII...	pág. 253
1.3	Dímero D...	pág. 256
1.4	Factor V de Leiden y mutación del gen de la protrombina...	pág. 258
1.5	Hiperhomocisteinemia ...	pág. 261
1.6	Anticuerpos antifosfolípido...	pág. 263
2.	Factores clínicos como predictores de retrombosis...	pág. 274
2.1	Edad...	pág. 274
2.2	Sexo...	pág. 275
2.3	Localización del primer episodio trombótico...	pág. 276
2.4	Tipo inicial de tromboembolismo venoso (idiopático o espontáneo)...	pág. 277
2.5	Cirugía e inmovilización ...	pág. 278
2.6	Cáncer ...	pág. 280
2.7	Embarazo/puerperio...	pág. 282
2.8	Obesidad...	pág. 282
2.9	Tratamiento con anticonceptivos orales...	pág. 283
2.10	Historia familiar de trombosis...	pág. 284
VII.	CONCLUSIONES...	pág. 286
VIII.	BIBLIOGRAFÍA...	pág. 288

I.ABREVIATURAS

Acs= Anticuerpos
 ACV= Accidente cerebrovascular
 ADP= Adenosina difosfato
 ADMA= dimetilarginina asimétrica
 ADN= Ácido desoxirribonucleico
 AIT= Accidente isquémico transitorio
 Anti-PT= Antiprotrombina
 AO= Anticonceptivos orales
 ARN= Ácido ribonucleico
 ARNm= Ácido ribonucleico mensajero
 AT= Antitrombina
 ATP= Adenosíntrifosfato
 $\beta 2$ -GPI= Beta 2-glucoproteína I
 Calcio = Ca^{2+}
 CBS= Cistationina β -sintasa
 CID= Coagulación intravascular diseminada
 Cols= Colaboradores
 C.V= Coeficiente de variación
 CVC= Catéter venoso central
 DD= Dímero D
 DDAH= dimetil-arginina dimetil-aminohidrolasa
 DSG= Desogestrel
 EDTA= Ácido etilendiaminotetraacético
 EGAPP= Evaluation of genomic applications in practice and prevention
 ETEV=Enfermedad tromboembólica venosa
 Etc=etcetera
 F1+2= Fragmentos de la protrombina 1 y 2
 FII= Factor II, protrombina
 FVL= Factor V Leiden
 FVII= Factor VII
 FVIIa= Factor VII activado
 FVa= Factor V activado
 FVIII=Factor VIII
 FVIII:C= Factor VIII coagulante
 FVIII: Ch= Factor VIII cromogénico
 FVIII: Ag= Factor VIII antigénico
 FIX= Factor IX
 FX= Factor X
 FXa= Factor X activado
 FXI= Factor XI
 FXIa= Factor XI activado
 FXIII= Factor XIII
 FPIA=Inmunoanálisis de polarización de la fluorescencia
 FT= Factor tisular
 FvW= Factor von Willebrand
 FvW= Antígeno del factor von Willebrand
 g= Gramos
 GAIT= Genetic Analysis of Idiopathic Thrombophilia
 °C= Grados centígrados
 GP Ib-V-IX=Glucoproteína plaquetar Ib-V-IX
 GP IIb-IIIa= Glucoproteína plaquetar IIb-IIIa
 GP IIIa= Glucoproteína plaquetar III-a
 GPVI= Glucoproteína plaquetar VI
 GSD= Gestogeno
 HBPM= Heparina de bajo peso molecular
 HNF= Heparina no fraccionada
 HR= Hazard ratio
 HR2= Haplotipo HR2
 IC= Intervalo de confianza
 IL-1= Interleuquina 1

IL-6= Interleuquina 6
 IL-8= Interleuquina 8
 Ig= Inmunoglobulina
 IMC= Índice de masa corporal
 INR= Relación internacional normalizada
 Kb= Kilobases
 Kd= Kilodaltons
 Kg=Kilogramo
 Kms= Kilómetros
 LDL= Lipoproteína de baja densidad
 LDLox= Lipoproteínas de baja densidad oxidadas
 LES= Lupus eritematoso sistémico
 LNG= Levonorgestrel
 M²= Metro cuadrado
 Mgs= Miligramos
 MGP= Mutación del gen de la protrombina
 Ml= Mililitro
 MTHFR= Metilen-tetrahidrofolato-reductasa
 µg= Microgramos
 µmol/L= Micromoles/litro
 NC= No consumidoras de anticonceptivos orales
 Ng= Nanogramos
 NICE= National Institute for Clinical Excellence
 Nm= Nanómetro
 ON= Óxido nítrico
 OR= odds ratio
 PAI-1= Inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1
 PAI-2=Inhibidor del activador del plasminógeno tipo 2
 Par 1= receptor plaquetario activado 1
 Par 4= receptor plaquetario activado 4
 PC= Proteína C
 PCA=Proteína C activada
 PCR= Reacción en cadena de la polimerasa
 Pcr= Proteína C reactiva
 PDI= proteína disulfido isomerasa
 Pm= peso molecular
 pNA= p-nitroanilida
 PS= Proteína S
 PSGL-1=P-selectina glicoproteína ligando-1
 RLU= Relative Light Unit
 rPCA= Resistencia a la proteína C activada
 Rpm= Revoluciones por minuto
 RR= Riesgo relativo
 SAF= Síndrome antifosfolípido
 SAH= S-adenosil-L-homocisteína
 Segs= Segundos
 TAO= Tratamiento anticoagulante oral
 TAC= Tomografía axial computerizada
 TAFI= Inhibidor de la vía del factor tisular
 TAO= Tratamiento anticoagulante oral
 TAT= Complejo trombina-antitrombina
 TCC= Tiempo de caolín
 TFPI= Inhibidor de la vía del factor tisular
 TEP= Tromboembolismo pulmonar
 TEV= Tromboembolismo venoso
 THS= Tratamiento hormonal sustitutivo
 TMS= Trombosis de miembros superiores
 TNFα= Factor de necrosis tumoral alfa
 TP= Tiempo de protrombina
 TPD= Tiempo de protrombina diluído

TT= Tiempo de trombina
TTPa= Tiempo de tromboplastina parcial activada
TTT= Tiempo de tromboplastina tisular
TVP= Trombosis venosa profunda
TVVRD= Tiempo de la víbora Russell diluído
UI= Unidades internacionales
VIH= Virus de la inmunodeficiencia humana
WODIT= Warfarin Optimal Duration Italian Trial
WRIGHT= World Health Organization Research In to Global Hazards of Travel

II.INTRODUCCIÓN

1. HEMOSTASIA:

La coagulación de la sangre es un sistema en equilibrio muy complejo. Es necesario que funcione correctamente para mantener la sangre en estado fluido. Cuando las funciones hemostáticas fallan se producen fenómenos hemorrágicos o tromboembólicos.

El modelo inicial de la coagulación consistía en una serie secuencial de pasos en los que la activación de un factor de la coagulación daba lugar al efecto de amplificación, que conducía finalmente a un aumento en la generación de trombina. El sistema de la coagulación fue dividido en las vías extrínseca e intrínseca. La vía extrínseca consistía en los factores VII activado (FVIIa) y factor tisular (FT). Los factores de la vía intrínseca fueron considerados intravasculares. Las dos vías podían activar al factor X, que junto a su cofactor, el factor V activado (FVa), tenían la capacidad de convertir la protrombina en trombina.

Posteriormente se reconoció que para poder explicar la hemostasia in vivo, las vías intrínseca y extrínseca no podían desarrollarse de forma independiente y que todos los factores debían estar interrelacionados.

Según la visión actual, la coagulación no ocurre como una “cascada”, sino que se produce en tres etapas interrelacionadas ⁽¹⁾.

La fase de iniciación que tiene lugar a nivel de las células que producen FT, como fibroblastos o monocito-macrófagos, la fase de amplificación se traslada a la superficie de las plaquetas, que son activadas por la trombina generada. Por último en la fase de propagación, las proteasas se combinan con los cofactores en la superficie plaquetar, promoviendo la generación de grandes cantidades de trombina que favorecen la formación de fibrina y su ulterior polimerización para formar un coágulo estable.

1.1 FASE DE INICIACIÓN:

La hemostasia se inicia cuando las células que expresan el FT se exponen a la sangre en el lugar de la lesión. El FT va actuar como un receptor para el factor VII (FVII). Una vez que el FVII se une al FT se convierte rápidamente en FVIIa. El complejo que se produce, FVII/FT, va a catalizar dos reacciones importantes, la activación de los factores IX (FIX) y factor X (FX). Por un lado, el factor X activado (FXa) se une con su cofactor Va para formar un complejo protrombinasa que dará lugar a una pequeña cantidad de trombina.

Cuando la pared vascular se rompe o se altera el endotelio, el colágeno y el FT son expuestos a la circulación sanguínea, iniciándose la formación del trombo.

En la sangre, el FT se encuentra asociado a unas microvesículas, denominadas microvesículas portadoras del FT, que tienen menos de 1000 nm de diámetro y que derivan de algunas células sanguíneas como son los monocito-macrófagos, plaquetas, células endoteliales y células de músculo liso ^(2,3). El FT requiere de la proteína disulfido isomerasa (PDI) para su activación y una vez activado se unirá al FVII circulante ⁽⁴⁾. Cuando se produce un daño directo a nivel tisular, el FT de la pared vascular o de la superficie celular puede existir en su forma activa y entonces no es necesaria la acción de la isomerasa.

El complejo formado FT/VIIa activa los factores IX y X. El factor Xa se asocia con su cofactor, FVa para formar el complejo protrombinasa en la célula portadora del FT ⁽⁵⁾, produciendo pequeñas cantidades de trombina. Por otro lado, las plaquetas se adhieren al colágeno y a otros componentes de la matriz extracelular en el lugar de la lesión. El proceso de adhesión activa parcialmente las plaquetas y promueve la secreción de FV activado

de los gránulos α . El FV puede ser activado por el factor Xa o por proteasas no coagulativas ⁽⁶⁾.

En condiciones normales, en el espacio extravascular existen niveles bajos de FT. Además, el FVII puede unirse al FT extravascular sin que se haya producido lesión vascular. Estos hallazgos son concordantes con el hallazgo de pequeñas cantidades de factores de coagulación activados, presentes en la sangre de sujetos normales. Este fenómeno se conoce con el nombre de “coagulación basal”⁽⁵⁾ y no genera la formación del coágulo en circunstancias normales, porque las plaquetas y el Factor VIII (FVIII)/Factor von Willebrand (FvW) permanecen dentro del espacio vascular.

Cuando el FXa se encuentra en la superficie celular está protegido de su inactivación por proteasas plasmáticas, en cambio, cuando se disocia de la célula portadora del FT es inhibido rápidamente por el inhibidor de la vía del FT (TFPI) o la antitrombina (AT). Al contrario de lo que ocurre con el f FXa, el FIXa puede pasar de la célula portadora del FT a través de la circulación a las plaquetas o a otras superficies celulares sin ser inhibido por el TFPI y lo es de forma mucho más lenta por la AT que el factor Xa.

1.2 FASE DE AMPLIFICACIÓN:

El proceso de la coagulación seguirá adelante solamente cuando se produzca daño vascular y las plaquetas, así como el FVIII/FvW se liberen al espacio extravascular para adherirse a la célula portadora del FT en el lugar de la lesión.

La pequeña cantidad de trombina generada en la fase anterior va a desempeñar varias funciones: la principal función va a ser la activación de las plaquetas, exponiendo sus receptores y los lugares de unión para los factores de la coagulación activados. Otra función de la trombina es la

activación de los cofactores V y VIII en la superficie de la plaqueta activada. En este proceso se va a producir la disociación del complejo FVIII/ FvW y de este modo el FvW mediará la adhesión y agregación plaquetaria en el lugar de la lesión. Pequeñas cantidades de trombina también activan el factor XI (FXI) a factor XI activado (FXIa) en la superficie plaquetaria.

La interacción de la glicoproteína plaquetar VI (GP VI) con el colágeno expuesto y de la glicoproteína Ib-V-IX plaquetar (GP Ib-V-IX) con el colágeno unido al FvW produce la adhesión de las plaquetas al lugar de la lesión ⁽⁴⁾. Las plaquetas van a adherirse a la matriz subendotelial, siendo activadas en los lugares en los que se ha expuesto el FT ⁽⁷⁾.

La trombina se une a la proteasa conocida como receptor plaquetario activado 4 (Par 4), (receptor plaquetario activado 1 en humanos, (Par 1)) en la superficie plaquetaria, produciendo la activación plaquetaria ⁽⁸⁾ y causa la liberación de adenosina difosfato (ADP), serotonina y tromboxano A₂. De este modo, estos agonistas activarán otras plaquetas y de esta forma, se amplificará la señal de formación del trombo. Ésta segunda vía (la de la trombina) no explica cómo las plaquetas son reclutadas al lugar de la lesión vascular donde el colágeno no está expuesto al torrente sanguíneo.

Las pequeñas cantidades de trombina que se han producido, amplificarán la señal procoagulante inicial activando los factores V, VIII y XI, que se ensamblan en la superficie plaquetar para promover ulteriores reacciones.

Según algunos estudios recientes en ratones alterados genéticamente, existen dos vías independientes de activación plaquetaria, una de ellas es la vía del FT. El FT activo se expresa en la pared vascular y requiere la proteína disulfido isomerasa (PDI) para generar fibrina, ya que el FT es activado por PDI. Una vez que el FT es activado, formará un complejo con el FVIIa, que dará lugar a la formación de trombina. Las plaquetas acuden

a la pared del vaso, se agregarán y se activarán una vez que la trombina se una al Par 4. La trombina es un potente activador plaquetario, mediante la vía del Par 4 en humanos) ⁽⁹⁾. Durante la activación plaquetaria, las plaquetas segregan de los gránulos α , FV parcialmente activado, ⁽¹⁰⁾ que se activará de forma completa por la trombina o FXa.

La otra vía se produce tras la exposición del colágeno subendotelial. Con la disrupción de la célula endotelial, se expone la matriz subendotelial y el colágeno entra en contacto con la circulación. Posteriormente la GP VI interactúa con el colágeno y la GP Ib-V-IX con el FvW y esto atraerá a más plaquetas. La interacción plaquetaria es mediada por la unión de $\alpha\text{IIb}\beta 3$ a fibrinógeno y a FvW y finalmente se produce la activación plaquetaria, que es mediada por el colágeno.

La trombina también tiene como misión activar el FXI en la superficie plaquetar ⁽¹¹⁾

1.3 FASE DE PROPAGACIÓN:

La fase de propagación ocurre en las plaquetas activadas. El FIXa producido en la fase de iniciación se une al FVIIIa en la superficie plaquetaria (complejo tenasa). El FIXa también va a provenir del FIXa que va unido a la superficie plaquetaria. El FXa se va a unir en la superficie de la plaqueta al FVa (complejo protrombinasa) y se producirá una gran cantidad de trombina de una magnitud tan importante como para producir un coágulo estable de fibrina.

La plaqueta es probablemente la única célula, en la cual la fase de propagación puede ocurrir de forma eficaz, ya que su superficie está especializada en el ensamblaje de los complejos tenasa y protrombinasa. Además un gran número de plaquetas podrán ser atraídas al lugar de la

lesión para proporcionar una mayor superficie, en la que pueda generarse una cantidad de trombina a gran escala.

La trombina generada activará al factor XIII (FXIII) o factor estabilizador de fibrina, y a un inhibidor fibrinolítico, inhibidor de la vía del FT (TAFI) necesarios para la formación de un coágulo de fibrina resistente a la lisis.

En resumen, según el modelo celular de la coagulación, la hemostasia fisiológica depende de la exposición de FT, que se pone en contacto en el lugar de la lesión con el FVIIa y del ensamblaje de las reacciones de coagulación a nivel de las superficies celulares como las plaquetas, lo que favorece la formación de trombina a nivel local y la generación de un coágulo estable de fibrina. Este modelo contempla una vía única y la focalización del proceso en las superficies celulares ⁽⁷⁾.

2. PATOGÉNESIS DE LA TROMBOSIS VENOSA:

2.1 INICIO DE LA TROMBOSIS VENOSA:

Cuando se produce la alteración del endotelio, las plaquetas se exponen al subendotelio. El contacto de las plaquetas y el subendotelio es mediado por el complejo GP Ib-IX-V que se une al FvW del subendotelio. Las plaquetas se adhieren a la pared vascular dañada a través de receptores transmembrana como son el GP Ib-IX-V y el receptor GP VI del colágeno va a producir la activación plaquetaria a través del cambio conformacional de varias integrinas como son la $\alpha\text{IIb}\beta 3$ y la $\alpha 2\beta 1$.

El calcio que se va a generar durante la activación plaquetaria induce la secreción de los gránulos α , con la liberación de varias moléculas procoagulantes, como los FV, FvW y fibrinógeno ⁽¹²⁾. Este modelo descrito anteriormente es el modelo de trombosis arterial.

La secuencia de procesos que generan el trombo venoso son bastante menos claros. Al contrario de lo que ocurre con la trombosis arterial, el daño de la pared vascular no parece ser algo habitual en la génesis de la trombosis venosa profunda (TVP). Ya lo demostró Sevitt en un estudio realizado en 41 autopsias de pacientes con TVP, en las cuales en 49 de 50 trombos venosos no se encontró evidencia de daño vascular.

Al igual que en otros estudios más recientes como los de Paterson y McLachlin, Sevitt descubrió que la mayoría de los trombos venosos están constituidos por dos regiones: una compuesta fundamentalmente de fibrina y eritrocitos (denominada trombo rojo) y otra compuesta fundamentalmente de agregados plaquetarios (trombo blanco). Estos hallazgos sugieren que la activación del sistema de la coagulación precede

a la activación y agregación plaquetaria en la formación del trombo venoso y explica la limitada eficacia de los antiagregantes plaquetarios en la trombosis venosa.

La trombosis venosa se inicia en las válvulas venosas (13, 14). Diversos estudios realizados en autopsias han demostrado que los senos valvulares venosos son un lugar frecuente de inicio de trombosis (15, 16).

Este fenómeno se ha asociado al estasis, uno de los componentes de la triada de Virchow. Por otro lado, el estasis que se produce en los senos valvulares, se ha asociado con hipoxia y con aumento de los niveles de hematocrito (17), lo que constituye un potencial microambiente de hipercoagulabilidad.

Proteínas con propiedades antitrombóticas como la trombomodulina y el receptor endotelial de la PC, se localizan a nivel de las válvulas venosas (18), y estas proteínas anticoagulantes, son sensibles a factores ambientales, como pueden ser cambios inflamatorios o la hipoxia, que podrían conllevar disminución de sus niveles, y en consecuencia contribuir al inicio de la trombosis. (19, 20)

Además la hipoxia puede generar un aumento de la actividad de proteínas procoagulantes, incluyendo al FT en el endotelio (21, 22, 23). Por otra parte la hipoxia también regula al alza la expresión de P-selectina en el endotelio, lo que produce un reclutamiento de micropartículas leucocitarias que contienen FT, las cuales pueden servir como nido para la génesis de la respuesta trombótica (24, 25).

2.2 PARTICIPACIÓN DEL MODELO DE LAS VÁLVULAS VENOSAS EN EL INICIO DE LA TROMBOSIS:

La TVP de las extremidades inferiores se origina generalmente en los bolsillos de las válvulas venosas, dado que es el lugar en el que el aislamiento del flujo, produce la recirculación e interacción de las plaquetas activadas, leucocitos y enzimas procoagulantes (25).

La región adyacente al origen de la válvula es proclive a la hipoxia, generando la activación de las células endoteliales. Este suceso regula al alza las moléculas de adhesión como P-selectina, la cual puede unirse a los leucocitos o micropartículas leucocitarias. Estas micropartículas contienen FT y la interacción con el endotelio activado desencadena la coagulación lo bastante rápido como para producir la formación del trombo.

2.3 IMPORTANCIA DE LAS MICROVESÍCULAS PORTADORAS DE FT EN LA TROMBOSIS VENOSA:

El proceso de la coagulación “in vivo” se inicia por el complejo de FT, una proteína transmembrana tipo I y el FVIIa, una serina-proteasa, que convierte el FX en factor Xa. El FXa se unirá a su cofactor el FVa, en la superficie de las plaquetas activadas rica en fosfatidilserina, para formar el complejo protrombinasa que convierte la protrombina en trombina.

Solamente en algunos casos, se ha documentado la expresión endotelial del FT.

Recientemente, se ha evidenciado, que el FT circula en condiciones normales en el plasma, asociado a las microvesículas derivadas de las células, en una forma soluble (26, 27). Dado que las microvesículas portadoras del FT expresan marcadores de superficie que son específicos de la línea

monocito-macrófago, como son CD14 y CD11b, existe un consenso generalizado de que derivan fundamentalmente de esas células. (28)

Parece ser que las microvesículas portadoras del FT participan en la trombosis venosa mediante la unión de las plaquetas al lugar de la lesión, un proceso que va a depender de la interacción entre P-selectina glicoproteína ligando-1 (PSGL-1) de las microvesículas y P-selectina, que es expresada en las plaquetas una vez que son activadas (28). Al fusionarse con las plaquetas, las microvesículas transfieren FT y otras proteínas a la membrana plaquetaria, aumentando la actividad de FT-VIIa, generando trombina y el depósito de fibrina en el lugar de la trombosis.

Myers demostró que los niveles elevados de microvesículas en el plasma se asocian con una mayor masa trombótica. Por otro lado, en muchos estudios realizados en pacientes con cáncer se ha visto que existen niveles elevados de FT y de la actividad de FT-VIIa en el plasma y esto se ha asociado con diversos tipos de cánceres (29).

López y otros autores postulan que las microvesículas portadoras del FT son cruciales en la patogénesis de la TVP en las enfermedades en las que hay estimulación monocitaria, expresándose FT. Ejemplos de estas enfermedades son la enfermedad inflamatoria intestinal y la insuficiencia cardíaca crónica congestiva, las cuales cursan con niveles elevados de factor de necrosis tumoral α (TNF- α), que es un potente inductor de las microvesículas portadoras de FT.

El daño vascular no suele ser un hecho frecuente en la trombosis venosa, pero Tracy en 1988 demostró que las células endoteliales activadas pueden proporcionar una superficie catalítica para la hemostasia. Al igual que las plaquetas, las células endoteliales contienen grandes cantidades de P-selectina dentro de sus gránulos y la expresan en su superficie, proporcionando un receptor para que se acoplen las microvesículas.

También las células endoteliales activadas expresan fosfatidilserina en su superficie, proporcionando un lugar dónde se unirán las microvesículas.

Los estudios histopatológicos evidencian que en la TVP, la coagulación ocurre en la superficie endotelial. Una vez que se inicia la coagulación, las plaquetas pueden ser atraídas al coágulo de fibrina mediante la interacción con GP Ib-IX-V y $\alpha\text{IIb}\beta 3$ y posteriormente contribuir al crecimiento del trombo ⁽³⁰⁾.

Hay muchos estímulos que pueden activar el endotelio, como son las infecciones, los catéteres vasculares, factores locales como el factor de TNF α , pero lo que más frecuentemente precipita la trombosis venosa, es el estasis sanguíneo. Este hecho ya fue descrito por Gibbs en 1957 ⁽³¹⁾ cuando tras revisar las autopsias de pacientes que habían estado encamados más de una semana, observó una prevalencia aumentada de trombosis venosa. También Warlow en 1976 ⁽³²⁾ encontraron que la trombosis venosa era más habitual en la extremidad afecta por un accidente cerebrovascular (ACV) y en cambio era igual de frecuente en las dos extremidades dañadas por paraplejia espinal.

Morris en 2004, ⁽³³⁾ demostró que la incidencia de TVP en pacientes hospitalizados disminuía drásticamente si los pacientes comenzaban de forma precoz la deambulaci3n y ello contribuy3 a afirmar que la inmovilidad y el estasis precipitan la TVP.

El estasis puede producir desaturaci3n de la hemoglobina, generando un da3o hip3xico al endotelio. Hamer en 1981, ⁽³⁴⁾ demostr3 que en las extremidades posteriores de perros, la tensi3n venosa de ox3geno ca3a hasta niveles indetectables, cuando el flujo sangu3neo se alteraba.

La hipoxia a nivel del endotelio puede producir activaci3n celular e incluso la muerte celular, en dependencia del grado y duraci3n de la hipoxia.

La isquemia rápidamente va a activar las células endoteliales, que expresarán P-selectina ⁽³⁵⁾. La expresión de P-selectina endotelial es esencial para que se produzca el infiltrado leucocitario en la pared del vaso y para la unión de las microvesículas portadoras de FT que iniciarán la coagulación y trombosis.

Parece ser que a parte de P-selectina, hay otros receptores de las microvesículas monocitarias a nivel del endotelio. E-selectina se une a PSGL-1 y es capaz de capturar leucocitos, pero a diferencia de P-selectina, requiere su síntesis “de novo” para expresarse en el endotelio activado.⁽³⁶⁾

Según el modelo de trombosis venosa que se ha argumentado previamente, las microvesículas portadoras del FT se fusionan con las células endoteliales previamente estimuladas. La PSGL-1 de las microvesículas se unirá a P-selectina o E-selectina del endotelio. La transferencia del FT a las células endoteliales iniciará las reacciones enzimáticas de la coagulación, en la superficie endotelial, generando trombina y depósito de fibrina.

Ya en 1856 Virchow propuso una triada de las causas de trombosis venosa, que incluía el estasis, los cambios en la pared vascular y la hipercoagulabilidad.

2.4 EL PAPEL DE LAS CÉLULAS SANGUÍNEAS EN LA TROMBOSIS VENOSA:

La hipoxia regula al alza la expresión de P-selectina en el endotelio, lo que produce el reclutamiento de leucocitos o micropartículas leucocitarias que contienen FT, el cual puede servir como punto de origen para el inicio del proceso trombótico ^(35, 37).

Existe un acuerdo general en el que la trombosis venosa incluye al FT como iniciador de la coagulación. El trombo también incluye a P-selectina, una molécula de adhesión que contribuye a la interacción entre células con

células que expresan PSGL-1, el ligando de P-selectina. El FT y P-selectina parecen ser necesarios para la formación del trombo y, ambos proceden de las micropartículas derivadas de los monocitos (37, 28).

2.5 MECANISMOS POTENCIALES QUE INDUCEN TROMBOSIS VENOSA:

En la microcirculación, la eficacia de los anticoagulantes naturales es muy importante (38,39), en parte debido a la extensa área de células endoteliales expuestas a la circulación a nivel capilar comparado con la arterias o venas. En situaciones de estasis aumenta el tiempo en el cual, la sangre permanece en los grandes vasos, y los mecanismos anticoagulantes naturales empeoran, con lo que aumenta la tendencia al desarrollo de trombosis. Este modelo es concordante con la importancia de los anticoagulantes naturales en prevenir la trombosis y con la observación de que el estasis es el principal contribuyente al riesgo trombótico (40,41).

El aumento de los niveles de algunos factores de la coagulación, como el FVIII, FvW, FVII y protrombina se asocian con un aumento del riesgo de trombosis (42, 43).

En el caso de la protrombina es por una parte un inhibidor de la proteína C activada (PCA) (44) y por otro, tiene una función doble, aumentar la producción de trombina y disminuir la inhibición de la activación de la protrombina.

Entre los principales cambios a nivel sanguíneo que contribuyen a producir hipercoagulabilidad, se encuentran los déficits de los anticoagulantes naturales.

Hay tres vías principales de anticoagulantes naturales:

- La vía de la heparina-antitrombina.
- La vía de la proteína C (PC)

- El inhibidor de la vía del FT

Estos tres sistemas pueden ser sensibles a enfermedades vasculares o a procesos que incluyan la inflamación o hipoxia.

2.5.1 La triada de Virchow como modelo de consenso de TVP:

La triada propuesta por Virchow de estasis, daño vascular e hipercoagulabilidad continúa siendo una explicación válida de la patogénesis de la formación del trombo ⁽⁴⁵⁾.

La mayoría de los autores opinan que la TVP está causada por la combinación de:

- Alteraciones en los constituyentes de la sangre (por ejemplo, estados de hipercoagulabilidad hereditarios o adquiridos).
- Alteraciones en el flujo sanguíneo (por ejemplo, el estasis).
- Daño vascular, concretamente del endotelio.

Esta triada se atribuyó en principio a Virchow, pero es preciso tener en cuenta algunos matices. Virchow no se interesó por las consecuencias de la trombosis venosa como pueden ser metástasis o émbolos a distancia. Estos puntos han sido explorados posteriormente ^(46, 47, 48, 49, 50) y él no fue el primero en investigar el proceso conocido como TVP y se ayudó de los diferentes estudios de sus predecesores ^(51, 52, 53).

Además Virchow nunca escribió sobre “hipercoagulabilidad” y rechazó explícitamente la idea de que el estasis se relaciona de forma causal con trombosis y embolismo. ^(54, 55).

En resumen no hay justificación para atribuir a Virchow el modelo de consenso actual de TVP, más bien al contrario.

Virchow describe la reducción de la velocidad del flujo sanguíneo como consecuencia no como causa de la formación del trombo. Él argumentó, que la concentración de fibrinógeno constituía un potencial determinante

del tromboembolismo y que la sangre se volvía más adhesiva pero este aumento de la adhesividad suele indicar una circulación, un flujo interrumpido e interacción con el endotelio, más que un cambio en los constituyentes de la sangre.

2.5.1.1 Hipercoagulabilidad:

El autor que describe la hipercoagulabilidad como un cambio en los constituyentes de la sangre fue Browse ⁽⁵⁶⁾, que explica que el trombo se forma cuando la sangre del paciente tiene una tendencia inapropiada para coagular, bien de forma localizada o sistémica, es decir el paciente tiene un estado de hipercoagulabilidad local o sistémica o trombofilia.

Las trombofilias son más prevalentes en los pacientes con TVP que en la población general. También la prevalencia de recurrencia es más alta en los pacientes con trombofilia.

2.5.1.2 El concepto de estasis y su implicación en la patogenia de la trombosis venosa:

El concepto de estasis como “ausencia de movimiento” y estasis como “enlentecimiento del movimiento normal” tiende a generar confusión.

En sentido estricto, el concepto de “estasis sanguíneo” contradice las bases de la teoría de Harvey. Solamente se produce el estasis, cuando se produce la muerte o cuando la circulación se interrumpe de forma artificial ⁽⁵⁷⁾. Algunos investigadores como Hewson y posteriormente Lister y Baumgarten demostraron que hasta que no transcurren varias horas de estasis, la sangre puede permanecer en estado fluido ^(58,59).

El riesgo de TVP durante el encamamiento prolongado fue descrito en el siglo XIX ⁽⁶⁰⁾ y fue en los años 20 cuando se describieron otros factores implicados en la TVP ^(61,62). Posteriormente, en 1952 Wright demostró con

sus experimentos, que la velocidad del flujo sanguíneo disminuía en las extremidades en reposo y fue en este momento cuando se llegó al consenso de que el “estasis” es causa de trombosis ^(63,64).

El bombeo muscular es esencial para mantener el flujo pulsátil, así como para asegurar el retorno venoso normal. La inmovilización prolongada de las extremidades inferiores dificulta el retorno venoso pero también disminuye de forma marcada la pulsatibilidad. La incidencia de TVP se correlaciona con la disminución del retorno venoso, vis a tergo y de la fracción de eyección, vis a fronte ⁽⁶⁵⁾.

La TVP podría desarrollarse, cuando la velocidad lineal de la sangre en la vena es relativamente rápida y la pulsatibilidad está deteriorada.

2.5.1.3 Daño endotelial y TVP:

Virchow argumentó que el daño endotelial es importante en el tromboembolismo, pero la mayoría de los investigadores del modelo de consenso han restado importancia a esta faceta de la triada.

Hay un interés reciente en el concepto de daño por isquemia-reperfusión. Este fenómeno fue descrito por Hearse ⁽⁶⁶⁾. Inicialmente se hablaba del daño hipóxico al tejido cardíaco y arterial, pero parte de estos estudios se extrapolaron a las venas.

Algunas publicaciones nos indican que el control del tono venoso endotelial se produce por la secreción de prostanoïdes, óxido nítrico (ON), adenosíntrifosfato (ATP) y otros factores y es regulado por los canales del sodio y del calcio ⁽⁶⁷⁻⁷²⁾.

La secreción de estos factores, se ve afectada por cambios en la velocidad local de la sangre y por las fuerzas de cizallamiento.

La hipoxemia y presumiblemente la hipoxia endotelial inicia un conjunto de vías de señalización en las células venosas endoteliales, que resultan en

la atracción de leucocitos y plaquetas y la producción posterior de fibrinógeno. (73)

El modelo de consenso de TVP puede resumirse en: el estasis causa hipoxia local endotelial. Se inician las vías de señalización, conllevando la atracción, el reclutamiento de plaquetas y leucocitos y la producción local y/o activación de los factores de coagulación.

Bajo estas condiciones de hipoperfusión y especialmente de hipercoagulabilidad, se produce la trombogénesis.

-Los bolsillos valvulares venosos: morfología, reología y su papel en la trombogénesis:

Las autopsias y otros estudios demuestran que los trombos surgen en las venas ricas en válvulas (especialmente, aquellas de los miembros inferiores) y generalmente implican a los bolsillos valvulares venosos. (74,75)

Ya en 1950, se demostró que los trombos se forman en los “nidos de golondrina” y fue Virchow, el que lo hizo por primera vez (76,77). Se observó que los trombos se inician como nidos microscópicos en el fondo de los bolsillos valvulares venosos adyacentes a las cúspides y el principal constituyente de estos nidos son leucocitos, plaquetas y fibrina (78,79). La infiltración leucocitaria de las cúspides dañadas proporciona un mecanismo plausible para la formación del principio protrombótico.

Diversos estudios demostraron que con la edad aumenta la cantidad de colágeno en la capa parietal de las venas y disminuye la cantidad de elastina. (80)

Los senos valvulares de las personas mayores tienen menos tejido conectivo y músculo y más depósito de grasa. Estos cambios podrían producir una disfunción valvular, que sugiere una posible conexión con el aumento en la incidencia de TVP con la edad.

En las válvulas, se produce un ciclo que consta de cuatro fases y que es esencial para mantener la pulsatibilidad de la sangre venosa, bajo condiciones fisiológicas (81, 82).

Los cambios patológicos en las válvulas que aparecen con la edad o con el acúmulo de leucocitos perjudicarán la eficiencia del ciclo valvular y la pulsatibilidad del flujo y esto causará la retención de las células sanguíneas dentro de los bolsillos valvulares venosos.

2.5.2 La hipótesis de isquemia-hipoxia y trombosis venosa profunda:

Según la hipótesis de la isquemia-hipoxia, la secuencia de acontecimientos que pueden conllevar a la trombogénesis y posteriormente al tromboembolismo venoso son los siguientes.

Si el bombeo muscular de las extremidades inferiores deja de funcionar adecuadamente por diversos factores, como el encamamiento prolongado, fármacos neurolépticos, anestesia general u otra causa, se produce una hipovolemia significativa. Cuando se produce una de estas circunstancias, la circulación de la sangre deja de ser no pulsátil y esta ausencia conduce al intercambio de la sangre entre el lumen venoso y los bolsillos valvulares venosos. El oxígeno disponible en los bolsillos valvulares venosos se consume por las células endoteliales y por las células sanguíneas localizadas a ese nivel. Si continúa la ausencia de pulsatibilidad durante más de dos, tres horas y no llega sangre nueva a los bolsillos valvulares, la hipoxia puede extenderse a la capa parietal del endotelio.

Cuando comienza de nuevo el bombeo de la sangre y se restaure el flujo, la sangre será sustituida por sangre fresca y esta nueva sangre estará dotada de oxígeno, de leucocitos y de plaquetas viables. Será entonces cuando se inicie la hemostasia, a partir de las plaquetas y de los leucocitos presentes

en la capa parietal hipoxémica del vaso. En realidad no hay nada patológico en el desarrollo de este proceso.

Sin embargo, un nuevo cese del flujo pulsátil causará hipoxemia recurrente provocando la muerte de leucocitos y plaquetas que se adherirán al endotelio necrótico y al restaurarse el flujo, la sangre hipoxémica de los bolsillos valvulares venosos será sustituida por sangre nueva. Estos acontecimientos empeoran el funcionamiento valvular, concretamente se altera la eficiencia del ciclo valvular y la pulsatibilidad del flujo local, favoreciéndose el desarrollo del trombo ⁽⁸³⁾.

Como resultado, disminuye la velocidad lineal de la sangre, se produce consumo de oxígeno por las células atrapadas y posteriormente muerte celular, iniciándose el crecimiento del trombo.

Esta progresión cíclica del proceso trombótico es responsable de la apariencia en capas del trombo: las líneas de Zahn. La “cola del trombo”, que es la que se forma inicialmente, es fundamentalmente de color blanco, mientras que la “cabeza” es predominantemente de color rojo o trombo cruorótico clásico.

En conclusión, la pulsatibilidad del flujo es esencial para asegurar que el endotelio de las cúspides valvulares reciban un adecuado aporte de oxígeno y la hipoxemia prolongada en los bolsillos venosos valvulares es crucial en el desarrollo de la trombogénesis.

3. INCIDENCIA DE LA TROMBOSIS VENOSA PROFUNDA Y EL TROMBOEMBOLISMO PULMONAR:

La incidencia de la trombosis venosa en la raza blanca de origen predominantemente europeo durante 1991-1997 fue de 117 a 117,7 por 100.000 habitantes-año ⁽⁸⁴⁾. Según datos recientes, el tromboembolismo venoso (TEV) sucede en 249.000 personas de raza blanca por año en los Estados Unidos. La incidencia parece ser similar o algo más alta en los africanos americanos y más baja en los asiáticos y americanos nativos ⁽⁸⁵⁻⁸⁹⁾. La incidencia global ajustada por edad y sexo fue de 77,6 por 100.000.

La enfermedad tromboembólica venosa (ETEV) es generalmente una enfermedad de la edad avanzada. La incidencia ajustada por edad y sexo para personas de edad ≥ 15 años es de 149-192 por 100.000 ^(84, 90)

Esta tasa de incidencia aumenta de forma marcada con la edad tanto para hombres como para mujeres y tanto en TVP como en tromboembolismo pulmonar (TEP) ^(84,90). La incidencia global ajustada por edad es mayor para hombres que para mujeres (130 por 100.000 y 110 por 100.000 respectivamente) ⁽⁸⁴⁾.

Las tasas de incidencia son algo mayores para mujeres que para hombres durante la infancia, mientras que después de los 45 años son generalmente mayores en hombres.

El TEP aumenta debido al aumento de la TVP a mayor edad, en los dos sexos ⁽⁸⁴⁾.

4. FACTORES DE RIESGO TROMBÓTICO:

El TEV es una enfermedad multicausal que incluye una o más alteraciones genéticas sumadas a factores de riesgo adquirido como son traumatismo, inmovilización, neoplasias, inflamación, embarazo, toma de anticonceptivos orales (AO) y enfermedades autoinmunes.

La trombofilia hereditaria es una predisposición genética al TEV. Las causas más frecuentes de los estados de hipercoagulabilidad hereditaria o primaria son la mutación del Factor V Leiden (FVL) y la mutación del gen de la protrombina (MGP), que juntas suceden en el 50-60 % de los casos. Otras causas son la deficiencia de PC, proteína S (PS) y antitrombina (AT) (conocida anteriormente como antitrombina III).

4.1 TROMBOFILIA HEREDITARIA:

4.1.1 FVL y resistencia a la proteína C activada (rPCA):

El FV es una glicoproteína de síntesis hepática. Es activado por la trombina y es el cofactor del complejo protrombinasa. (Xa-Va). El FVa se inactiva por la PCA cuando actúa sobre los residuos de arginina de las posiciones 306, 506 y 679.

El FVL es la causa más frecuente de trombofilia hereditaria en la población de raza blanca, alcanzando una frecuencia del 40-50 % de los casos.

En 1993, Dahlback identificó una familia, cuyos plasmas presentaban una escasa respuesta anticoagulante a PCA en un ensayo de tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa) ⁽⁹¹⁾

Posteriormente, un año después se descubrió el genotipo subyacente en la mayoría de los casos de rPCA, que consiste en una mutación puntual en el

nucleótido 1691 (G1691) del gen del FV que genera la sustitución de una Arginina por una Glutamina en la posición 506 ⁽⁹²⁾. Esta mutación afecta al lugar de unión con la PCA, confiriéndole una cierta resistencia a la inactivación por la PCA.

El FVa, inicialmente se escinde a nivel de la Arginina 506 y posteriormente en la Arg 306 y Arg 679 ⁽⁹³⁾

Las causas de rPCA pueden ser genéticas o adquiridas ⁽⁹⁴⁾.

4.1.1.1 Causas genéticas:

La mutación heterocigota del FVL ocurre en el 90-95% de los casos de rPCA y consiste en una mutación puntual en el nucleótido 1691 (G1691) del gen del FV que genera la sustitución de una Arginina por una Glutamina en la posición 506. La prevalencia de esta mutación en la raza blanca, incluyendo europeos, judíos, árabes, canadienses e indios, varía de 1 a 8,5 % y en la mayoría de los estudios europeos las tasas globales van del 5 al 8% ^(95,96)

En algunas zonas de Grecia, Suecia o el Líbano, la prevalencia alcanza hasta el 15% ^(97,98)

Por otra parte, la mutación del FVL no parece presentarse en africanos, chinos y japoneses.

En Estados Unidos la prevalencia de la mutación refleja la distribución mundial ⁽⁹⁹⁾

-5,2% de americanos de origen europeo.

-2,2% de hispanos americanos.

-1,2% de africanos americanos.

-1,25% de nativos americanos.

-0,45% de asiáticos americanos.

La frecuencia de la mutación homocigota del FVL es aproximadamente de 1:5.000. La alta prevalencia del FVL en la raza blanca parece ser un polimorfismo balanceado que produce alguna ventaja en la supervivencia cuando se presenta en estado heterocigoto. Algunos investigadores postulan que el estado moderado de hipercoagulabilidad que se produce tras la mutación, podría haber tenido un efecto beneficioso en la supervivencia, al reducir el sangrado que podía ocurrir tras el parto o traumatismo y que se asociaba con mayor mortalidad en épocas anteriores. ^(100,101)

En un estudio de screening realizado en 104 pacientes suecos con trombosis venosa, se encontró que el 33% presentaban rPCA. ⁽¹⁰²⁾.

Otro estudio de pacientes estadounidenses menores de 50 años y con trombosis venosa idiopática constató un 50% de casos con rPCA ⁽¹⁰³⁾.

4.1.1.2 Causas adquiridas:

Algunas situaciones pueden producir rPCA y entre ellas se encuentran, los niveles elevados de FVIII, el embarazo, la toma de AO y la presencia de anticuerpos antifosfolípido (AAF). En otros casos, la causa de la rPCA es desconocida ⁽¹⁰⁴⁾.

Actualmente, se desconoce la importancia clínica de este tipo de rPCA ⁽¹⁰⁵⁾.

Se han descrito casos de rPCA no debidos a la mutación del FVL en pacientes con enfermedad cerebrovascular ⁽¹⁰⁶⁾. El trabajo de van der Bom y su equipo dividió a los pacientes en varias categorías de respuesta a la PCA ⁽¹⁰⁶⁾. El análisis estadístico mostró que los pacientes con baja respuesta a la PCA tenían un aumento del riesgo de enfermedad cerebrovascular y esto era independiente de la mutación del FVL.

En el estudio Leiden, que incluía 474 pacientes con un primer episodio de TVP y 474 controles de la misma edad y sexo, tras excluirse a los portadores del FVL, se observó una correlación entre la sensibilidad de

PCA y el riesgo de trombosis ⁽¹⁰⁴⁾. La respuesta disminuida a la PCA se mantuvo como factor de riesgo de trombosis después de ajustar las posibles variables de confusión, siendo la odds ratio (OR) de 2,5 (1,5-4,2). En otro estudio de más de 14000 participantes no portadores del FVL, la OR ajustada para el desarrollo de TEV en aquellos con fenotipo de rPCA fue de 1,7 (1-2,7) ⁽¹⁰⁷⁾.

La rPCA ha sido hallada en algunos pacientes con Lupus eritematoso sistémico (LES) o con síndrome antifosfolípido (SAF) en ausencia del FVL.

También se ha encontrado la rPCA en pacientes con mieloma múltiple y otros tipos de cáncer ⁽¹⁰⁸⁾. Esto podría contribuir a la predisposición a la trombosis que presentan estos pacientes ⁽¹⁰⁹⁾.

El tratamiento con AO, sobre todo los de tercera generación se ha asociado con rPCA adquirida. También se ha descrito la rPCA después del tratamiento con terapia hormonal sustitutiva ⁽¹¹⁰⁾, ésto en parte podría tener un efecto aditivo para el riesgo trombótico en pacientes con FVL o sin FVL y con ratios bajas para la rPCA ⁽¹¹¹⁾.

4.1.1.3 Mecanismo de acción del FVL:

El FV circula en plasma como un cofactor inactivo. Se activa por la trombina, convirtiéndose en el FVa, el cual actúa como cofactor en la conversión de protrombina a trombina.

La mutación del FVL produce un estado de hipercoagulabilidad, debido a su posición crucial en las vías coagulantes y anticoagulantes ⁽¹¹²⁾. La forma activa del FVL es inactivada más lentamente por la PCA que el FV normal. De este modo, existirá más cantidad de FVa disponible en el complejo protrombinasa, favoreciendo la coagulación mediante el aumento de la generación de trombina.

Por otro lado, una vez que el FV es escindido en la posición 506, es también cofactor con la PS en el proceso de la PCA de la degradación del FVIII a (complejo tenasa), así como del FVa (complejo protrombinasa).^(113,114). Así, cuando se produce la mutación del FVL, la función del FV como cofactor se altera, disminuyendo sus propiedades anticoagulantes. Además, en los pacientes con FVL disminuye la actividad anticoagulante de la PCA.

4.1.1.4 Variantes alélicas patológicas del FVL:

Se han descrito dos mutaciones puntuales en el lugar de escisión de la Arginina 306, aunque sólo una se ha asociado con la rPCA. La mutación G por C (Guanina por Citosina) en el codón de la Arginina 306 produce el FV Cambridge y fue descrita en un paciente británico con historial de trombosis y rPCA en ausencia de la mutación del FVL⁽¹¹⁵⁾. La mutación produce la sustitución de Arginina por Treonina en la posición 306, que es el segundo de los tres lugares de escisión del FV por la PCA.

En varios estudios realizados en pacientes con TEV o con abortos recurrentes y también en individuos sanos no se ha encontrado el FV Cambridge, luego ello nos indica la rareza de esta mutación^(116,117).

Otra mutación que se produce en el mismo codón por sustitución de Arginina por Glicina en la posición 306 del FV, se identificó en 2 de los 43 pacientes chinos de Hong Kong con antecedentes de trombosis y en 1 control⁽¹¹⁸⁾. Esta mutación, tampoco se asoció con rPCA.

Los estudios disponibles actualmente sugieren que las mutaciones descritas anteriormente por sí sólo no son factores de riesgo trombótico y que sí que pueden ser factores contribuyentes cuando se combinan con otros factores genéticos o adquiridos. Existen algunos casos de doble heterocigosidad para el FV Cambridge y para el FVL o la mutación G20210A de la protrombina.

En cambio, sí que se ha observado un aumento del riesgo trombótico en los casos de FV Liverpool (Ile359Thr), que es debido a una disminución de la inactivación del FV por la PC, así como a una menor función de la PCA como cofactor en la inactivación del FVIII ⁽¹¹⁹⁾.

4.1.1.5 Correlación genotipo-fenotipo en FVL:

-rPCA pseudohomocigota:

Los heterocigotos del FVL que asocian un alelo nulo del FV, no solamente tienen disminuidos los niveles del FV sino que muestran también un fenotipo de rPCA, que es comparable a los homocigotos para el FVL ^(120,121)

Sucede en individuos que son doble heterocigotos para la mutación del FVL y para la mutación nula del factor V. Se produce una rPCA más intensa, fenotípicamente hablando, que se refleja en una ratio muy baja de rPCA ⁽¹²²⁾

Estos pacientes muestran una grado de rPCA que es indistinguible de los pacientes homocigotos para el FVL ⁽¹²²⁾

También son más propensos a tener trombosis que los heterocigotos para FVL y esto es sugestivo de que el fenotipo clínico es similar o más grave que los pacientes homocigotos para FVL ^(122, 123).

Estudios recientes sugieren que los pacientes que presentan rPCA pseudo-homocigota tienen un aumento del riesgo trombótico muy similar a los homocigotos para el FVL ⁽¹²⁴⁾

El diagnóstico de la rPCA pseudo-homocigota se basa en la combinación de la mutación heterocigoto del FVL (niveles de actividad de FVL disminuidos, aproximadamente un 50% de lo normal) y una baja ratio de

rPCA en el rango típico de la mutación homocigota. Se debe a la ausencia de expresión del alelo del FV no Leiden y como consecuencia la ausencia de FV normal en el plasma ⁽¹²⁵⁾.

La herencia concomitante del alelo del FV nulo sucede en aproximadamente 1:1000 heterocigotos del FVL ⁽¹²⁴⁾. La mayor parte de los individuos han tenido en algún momento trombosis. Por otra parte, también se ha descrito la rPCA pseudo-homocigota en pacientes doble heterocigotos para el FVL y el FV Cambridge ⁽¹²⁶⁾

En algunos raros casos, el alelo nulo y el FVL suceden en el mismo cromosoma, en configuración cis. El resultado es que la deficiencia cuantitativa del FV hace que no pueda expresarse el FVL ⁽¹²⁷⁾.

-Haplotipo HR2:

Un haplotipo del gen del factor V (Haplotipo HR2 (HR2)) que consiste en el polimorfismo R2 (Arg 1299) puede producir una leve resistencia a la PCA e interactuar con el FVL, generando un fenotipo más grave de rPCA ⁽¹²⁸⁾

El polimorfismo R2 se ha encontrado en más del 7,5 % de la población italiana ^(125,124)

Parece ser que la coexistencia del HR2 y FVL puede aumentar el riesgo de TEV 3 veces ⁽¹²⁹⁾

Sin embargo, esta asociación no se ha relacionado con el aumento del riesgo de abortos tanto tempranos como tardíos, al compararlo con la pacientes que eran solamente heterocigotos para el FVL ⁽¹¹⁷⁾

En un estudio realizado en pacientes del Líbano, 73 pacientes con TEV y 125 controles en los cuales se llevó a cabo el estudio del HR2. La prevalencia del HR2 fue encontrada en el 16,4%. Los pacientes con TEV y

FV normal tenían una probabilidad 2,7 veces mayor de presentar el HR2 al compararlos con los controles y FV normal ($p=0,036$, IC 95%= 1,04-7,06). La conclusión de este estudio es que el HR2 aumenta el riesgo de TEV en pacientes con FV normal.

Todavía no está del todo claro, que el HR2 por sí sólo, constituya un factor independiente de trombosis. Un metaanálisis que incluía 14 estudios, encontró un discreto aumento del riesgo de TEV, que llegó a ser significativo desde el punto de vista estadístico (OR: 1,24) ⁽¹³⁰⁾. Este leve aumento del riesgo de trombosis puede ser debido a una disminución de la actividad de la PCA como cofactor ⁽¹¹⁴⁾. Sin embargo, en otros estudios no se ha encontrado un incremento significativo del riesgo trombótico ^(128,131, 132).

-Otros factores genéticos que influyen en el FVL:

Hay estudios en humanos y ratones que sugieren que las alteraciones en el gen de la proteína Z (glicoproteína vitamino K dependiente, miembro de la cascada de la coagulación), pueden influir en los síntomas de TEV en los pacientes con FVL.

En un estudio se determinaron los efectos de 12 polimorfismos del gen del factor V en la sensibilidad de la ratio normalizada de la PCA mediante análisis multivariante. En los heterocigotos del FVL con alguno de estos polimorfismos, el riesgo de TEV aumentó alcanzándose una OR de 9,9 (IC del 95%, 1,2-80,5).

Como conclusión, los polimorfismos en el gen del FV pueden disminuir la concentración normal del FV en heterocigotos del FVL e incrementar el riesgo de ETEV. ⁽¹³³⁾

Los heterocigotos u homocigotos para el FVL cuyo grupo sanguíneo es distinto al O (A, B, AB) parecen tener un riesgo de TEV de 2 a 4 veces mayor que las personas del grupo O. (134,135)

El grupo Procare analizó como influían diversos polimorfismos en el fenotipo trombotico de pacientes homocigotos para el FVL y los individuos del grupo no O fueron mucho más frecuentemente portadores sintomáticos al compararlos con personas del grupo O (84% vs 57%, $p=0,0002$; OR 4,1, IC 95% 1,7-9,7), de hecho de todos los polimorfismos estudiados, solamente el grupo sanguíneo se comportó como un anticipador importante de trombosis en los homocigotos del FVL (136).

4.1.1.6 Clínica del FVL:

La manifestación clínica más frecuente del FVL es la TVP, acompañada o no de TEP.

La mutación es también un factor de riesgo de trombosis cerebral, mesentérica y portal (137, 138). El FVL es la alteración trombofílica que se asocia con más frecuencia a la trombosis venosa portal y el RR de trombosis venosa portal fue 6 veces mayor en los portadores de la mutación frente los controles. (139)

El FVL se asocia con un aumento del riesgo 3 a 4 veces mayor de trombosis cerebral. Un metaanálisis que incluyó 13 estudios con 469 casos y 3023 controles, demostró que la OR de trombosis venosa cerebral para los pacientes con la mutación del FVL fue de 3,38 (IC 95%: 2,27-5,05; $p<0,001$). (140)

También ha sido descrito en pacientes con oclusión de la vena central de la retina, trombosis de la vena hepática y trombosis ovárica.

Por otro lado, se ha observado un aumento de la frecuencia del FVL en niños con trombosis cerebral y de la vena renal ^(141,142).

El riesgo de presentar trombosis venosa superficial es 6 veces mayor en los pacientes con FVL ⁽¹⁴³⁾. Además en un estudio realizado en homocigotos para el FVL la complicación trombótica más frecuente fue la trombosis venosa superficial, que tiene la misma significación de gravedad que la TVP ⁽¹⁴⁴⁾

Hasta la fecha, hay múltiples estudios que han evaluado el papel del FVL en el riesgo de TEV. En un metaanálisis de 84 estudios, la mutación heterocigota del FVL se asoció con un RR de 5 para el TEV idiopático. Los homocigotos presentaron un riesgo 9 a 10 veces mayor. ⁽¹³⁰⁾

El estudio Leiden, comparaba 471 pacientes menores de 70 años con un primer episodio de TEV con 474 controles sanos y encontró una incidencia de rPCA de 21% comparada con un 5% en los controles. En dicho estudio concluyeron que la rPCA es la causa hereditaria más frecuente de trombosis venosa ⁽¹⁴⁵⁾

Otros estudios demuestran un RR de 7 para los heterocigotos del FVL, que aumenta hasta 80 en los homocigotos. Estos pacientes experimentan la trombosis a edades más jóvenes (31-44 años), pero dado que el riesgo trombótico aumenta con la edad, el riesgo absoluto va a ser más alto en los pacientes mayores, sean heterocigotos u homocigotos. Para los individuos homocigotos, el riesgo absoluto puede convertirse en varios puntos porcentuales por año y ello implica que la mayor parte de estos pacientes experimentarán al menos una trombosis venosa a lo largo de su vida ^(146,147).

Otro trabajo de 308 miembros familiares de 50 familias suecas, 146 no presentaron la mutación, 144 fueron heterocigotos y 18 homocigotos para el FVL. El 20% de los heterocigotos tuvieron una trombosis venosa a los 33 años, comparado con el 40% de los homocigotos y en cambio sólo el

8% de los no portadores presentaron trombosis venosa a una edad tan temprana ⁽¹⁴⁸⁾.

Tras analizar 104 pacientes suecos con trombosis venosa, se encontró que el 33% presentaban rPCA ⁽¹⁴⁹⁾. En cambio, en pacientes estadounidenses menores de 50 años y con trombosis venosa idiopática se constató un 50% de casos con rPCA ⁽¹⁰³⁾

El desarrollo de TEP es menos frecuente en los pacientes con FVL (6%), que en aquellos con la MGP (21%) o los que no presentan alteraciones trombofílicas (23%) ($p>0,0001$). Los pacientes con la mutación G20210A de la protrombina suelen tener el primer episodio de TEV a edades más tempranas y una tasa más alta de TVP asociada a TEP ($p=0,04$) que los portadores del FVL o los que no tienen ninguna alteración genética ^(150,151)

Aproximadamente el 20% de los pacientes con TVP aislada presentan la mutación del FVL, el 16% de los que desarrollan TEP y el 16% de los que cursan con TVP y TEP comparado con el 5% de los controles.

La prevalencia del FVL es más alta en pacientes con TVP, en presencia o ausencia de TEP concomitante. De hecho, el FVL constituye un factor de riesgo moderado de TEP, mientras que el riesgo de TVP aumenta de forma considerable en los portadores de la mutación. Se han estudiado múltiples mecanismos sobre el efecto diferencial del FVL en el riesgo de TVP y TEP, como la localización del trombo, el número de venas afectadas, el tiempo entre la producción del trombo y el diagnóstico, la formación y la densidad del coágulo “in vitro”.

A pesar de que algunas de estas características son diferentes en los portadores y no portadores de la mutación, así como en los pacientes con TEP y TVP, ninguno de estos mecanismos ofrece una explicación concluyente. Por ejemplo, las trombosis de localización más distal no suelen ir acompañadas de TEP ^(152,153) y en cambio parece que en algunos

estudios, los pacientes con la mutación del FVL tienen mayor riesgo de trombosis proximal que se asocia más frecuentemente con la aparición de TEP ^(154, 150).

Las venas del territorio ileo-femoral son la fuente fundamental de émbolos pulmonares ⁽¹⁵⁵⁾ y algunos estudios han demostrado que las personas con la mutación del FVL tienen menor afectación de las venas del territorio ileo-femoral ^(156, 157, 158).

En un estudio de cohortes no se encontró mayor riesgo de TVP comparado con el de TEP en los pacientes con la mutación del FVL ⁽¹⁵⁹⁾.

Respecto a la trombosis de miembros superiores (TMS), está peor definida que la trombosis de extremidades inferiores porque es menos frecuente.

El FVL ha sido descrito en un 9-20% de pacientes con TMS, con lo que la mutación parece conferir un aumento del riesgo de trombosis de 2 a 6 veces mayor.

Un estudio poblacional de casos-control con 179 pacientes de 18 a 70 años de edad con TMS y 2399 controles demostró que ser portador de un CVC es un factor de riesgo muy importante de TMS. Los heterocigotos para el FVL presentan un riesgo de TMS 6 veces mayor sin tener asociada una neoplasia ni ser portadores de un CVC. El riesgo aumenta de forma notable en los pacientes heterocigotos que presentan una neoplasia activa (OR= 7,7 IC 95% 4,6-13) ⁽¹⁶⁰⁾.

La prevalencia de las alteraciones trombofílicas en los pacientes con TMS no es bien conocida, ya que son pocos los estudios observacionales realizados hasta ahora y además tienen un tamaño muestral pequeño. Uno de los estudios más recientes, realizado en 150 pacientes con TMS del registro MAISTHRO, mostró que en un 34,2% de los pacientes al menos había una alteración trombofílica, esta cifra ascendía al 39,2% cuando la

trombosis no se relacionaba con la presencia de CVC y llegaba al 55,3% en los pacientes con TVP de los miembros inferiores ($p<0,001$) ⁽¹⁶¹⁾.

4.1.1.7 Asociación del FVL con otras alteraciones trombofílicas:

Las manifestaciones clínicas del FVL pueden verse influenciada por varios factores. Una de ellas es la expresión de la mutación en heterocigosis u homocigosis que va a dar lugar a un fenotipo distinto.

Por otra parte la coexistencia de otras anomalías genéticas, como puede ser la deficiencia de PC, deficiencia de PS, déficit de AT y la MGP van a aumentar el riesgo trombótico.

Parece ser que hay un aumento de la incidencia del FVL en pacientes con otras alteraciones trombofílicas. Concretamente, en un estudio de 18 familias con trombosis y deficiencia hereditaria de la PS, la mutación del FVL se encontró en un 39% de los pacientes ⁽¹⁶²⁾.

Otro estudio que comparaba 113 pacientes con deficiencia de PC con 104 controles, el FVL fue mucho más común en los que presentaron deficiencia de PC que en los controles (15% frente a 1%) ⁽¹⁶³⁾.

Se ha investigado la asociación de la mutación G20210 del gen de la protrombina con el FVL. En concreto, una cohorte retrospectiva de 165 individuos homocigotos para el FVL, de los cuales 129 habían padecido algún tipo de TEV, observándose que la MGP fue entre 4 y 5 veces más frecuente en los pacientes homocigotos para el FVL y TEV que en los controles sin historia trombótica. ⁽¹⁴⁴⁾

Al evaluar el riesgo trombótico de la presencia de las dos mutaciones, un análisis conjunto de 8 estudios caso-control investigó el riesgo trombótico de los pacientes portadores del FVL y/o la mutación G20210 del gen de la

protrombina y la OR para el riesgo de TEV en los dobles heterocigotos fue de 20, en cambio en los portadores del FVL y de la MGP la OR fue de 4,9 y de 3,8 respectivamente. ⁽¹⁶⁴⁾

Las alteraciones trombofílicas adquiridas que aparecen de forma concomitante con el FVL también aumentan el riesgo de ETEV.

En una cohorte prospectiva de 145 hombres sanos que posteriormente desarrollaron TEV y 646 hombres que no presentaron TEV durante un período de seguimiento de 10 años, se determinaron los niveles de homocisteína y aquellos con hiperhomocisteinemia tenían mayor riesgo de TEV idiopático (RR=3,4, p= 0,002). También se detectó en todos los individuos la presencia o no de la mutación del FVL y al valorar a los pacientes con los dos tipos de alteraciones, éstos tenían un riesgo de cualquier episodio de TEV 10 veces mayor que los que no presentaban ninguna alteración (RR= 9,65, p=0,009) y 20 veces mayor de TEV idiopático (RR= 21, p=0,0004). ⁽¹⁶⁵⁾

La incidencia de trombosis es mayor en los portadores del FVL que asocian niveles elevados de FVIII (≥ 150 UI/ dL), de hecho, el riesgo trombótico puede aumentar hasta 3 veces en este grupo de pacientes. ⁽¹⁶⁶⁾

Las mujeres heterocigotas para el FVL en tratamiento con AO tienen mayor riesgo trombótico y tienen tendencia a desarrollar las complicaciones trombóticas de manera más temprana, siendo el riesgo de trombosis mucho más alto durante el primer año de consumo de AO ⁽¹⁶⁷⁾.

Hirsch estudió la frecuencia de la mutación del FVL en 50 mujeres que habían presentado TEP o TVP durante el embarazo o puerperio o durante la toma de AO y observó que el 20% eran heterocigotas para el FVL. También compararon la incidencia de TEP o TVP en las mujeres portadoras del FVL con las mujeres no portadoras (60% vs 8%, p= 0,0009) ⁽¹⁶⁸⁾.

El estudio Leiden demostró que las mujeres heterocigotas en tratamiento con AO presentaban un riesgo de trombosis hasta 35 veces mayor, lo que indicaba, más que un efecto aditivo un efecto multiplicativo en la tasa global de trombosis.

Este efecto también fue observado en otros estudios, confirmándose unas OR que variaban de 11 a 41 cuando se combinaban ambos factores ^(169,170).

Por otra parte, las mujeres con FVL que toman AO tienen un riesgo hasta 30 veces mayor de trombosis venosa cerebral que las mujeres sin la mutación y que no toman AO ^(171,172).

Un total de 10 estudios proporcionan evidencia del mayor riesgo de TEV y de trombosis venosa cerebral (OR de 1,3-25,1) en consumidoras de AO con la mutación del FVL cuando se comparan con las no consumidoras que no tienen la mutación ⁽¹⁷³⁾.

En relación a las mujeres homocigotas para el FVL en tratamiento con AO, el riesgo de ETEV aumenta más de 100 veces y también se incrementa de forma notable en las que son dobles heterocigotos para el FVL y para la MGP, con OR que varían de 17 a 110 ⁽¹⁷³⁾.

Parece ser que de todos los AO, solamente los que son a base de progestagenos en monoterapia no aumentan el riesgo de ETEV, incluso en mujeres con alto riesgo trombótico como son las que asocian el FVL ⁽¹⁷⁴⁾.

Los AO que contienen progestagenos de tercera generación como desogestrel se asocian con un riesgo de ETEV 2 veces mayor que los de segunda generación. En las heterocigotas del FVL que toman AO que contienen desogestrel el riesgo aumenta 50 veces, al compararlas con las no portadoras que no consumen AO.

En cuanto al riesgo de recurrencia de TEV en mujeres con la mutación del FVL, incluyendo pacientes que tomaban AO durante el primer episodio de ETEV, no se ha encontrado asociación estadísticamente significativa (175).

Por último, también se ha evaluado la asociación de la mutación heterocigota del FVL en una cohorte de 660 pacientes durante un período de seguimiento de 10 años, con el riesgo de mortalidad y no se ha encontrado evidencia de que la mutación aumente la mortalidad de forma global (176).

4.1.1.8 Riesgo de retrombosis y FVL:

Hasta la fecha los estudios existentes en cuanto a la relación entre la mutación del FVL y el riesgo de recurrencia trombótica son contradictorios, con OR que varían de 0,9 a 3,62.

Tres metaanálisis proporcionan una tasas de retrombosis asociadas al FVL de 1,3, 1,36 y 1,41 respectivamente, es decir se evidencia un aumento del riesgo de retrombosis, pero este aumento no es demasiado llamativo (177,178, 179).

También en dos revisiones sistemáticas recientes se ha encontrado un modesto, pero significativo aumento del riesgo de retrombosis para los portadores del FVL, con tasas de 1,45 y 1,56 respectivamente (180,181).

En cambio, los resultados obtenidos tras el seguimiento de los participantes del estudio Leiden, muestran que los heterocigotos para el FVL no tienen mayor riesgo de retrombosis que los no portadores (182).

Además del estudio Leiden, hay otros estudios que no han encontrado aumento del riesgo de retrombosis en los portadores heterocigotos del FVL (183-187). Por ello, parece poco probable que el FVL en heterocigosis se asocie

a un incremento significativo del riesgo de recurrencia frente a los pacientes que no presentan dicha alteración trombofílica.

En una revisión sistemática que combina datos de 7 estudios e incluye 46 artículos, se encontró que los heterocigotos del FVL presentaban una OR para retrombosis de 1,56 (IC 95%, 1,14-2,12) y los homocigotos OR de 2,65 (IC 95%, 1,2-6) para el FVL tienen un aumento del riesgo de retrombosis 2 a 3 veces mayor. Estos datos indican que los homocigotos para el FVL tienen un riesgo importante de retrombosis, al compararlos con individuos sin el FVL ⁽¹⁸¹⁾.

También en el estudio de seguimiento Leiden, la tasa acumulativa de recurrencia a los 5 años fue de 12,5% en un pequeño grupo de pacientes con FVL en homocigosis que no recibieron anticoagulación oral a largo plazo ⁽¹⁸⁸⁾.

En resumen, aunque el riesgo de retrombosis en los homocigotos para el FVL no está todavía bien definido, parece ser más alto que en los heterocigotos.

Cuando la mutación del FVL se asocia a otras alteraciones trombofílicas, como la MGP, tal y como se observó en una cohorte retrospectiva de 624 pacientes con un primer episodio de TVP, los dobles heterocigotos para el FVL y para la protrombina presentan mayor riesgo de retrombosis que los portadores del FVL (RR 2,6; IC 95 % (1,3-5,1); $p=0,002$), sobre todo si el primer episodio de trombosis ha sido espontáneo (RR 5,4; IC 95% (2-14,1); $p<0,001$) ⁽¹⁸⁴⁾. Además hay datos que sugieren que la tasa de recidiva de ETEV en este grupo de pacientes es similar a los que presentan deficiencia de anticoagulantes naturales o AAF ⁽¹⁸⁶⁾.

En contraposición a estos hallazgos, en un estudio casos-control posterior no se encontró mayor riesgo de recurrencia en pacientes que presentan anomalías trombofílicas combinadas ⁽¹⁸⁹⁾.

4.1.2 MUTACIÓN G20210A DEL GEN DE LA PROTROMBINA:

La protrombina (factor II, (FII)) tiene actividades procoagulantes, anticoagulantes y antifibrinolíticas, tras ser activada por el complejo protrombinasa y transformada en trombina.

Es una glicoproteína de 72 kilodaltons (Kd) de una sola cadena multidominio vitamina K dependiente. Se sintetiza en el hígado y tiene una vida media de 3 a 5 días. Estructuralmente puede ser dividida en dos partes. La mitad aminoterminal, denominada fragmento 1,2 (F1+2) contiene 273 aminoácidos y dos cadenas de oligosacáridos. Su peso molecular (pm) es de unos 35000 daltons. Este fragmento presenta dos estructuras en forma de lazo o “kringle”. La otra mitad, que corresponde al extremo carboxiterminal y que se denomina protrombina 2, es la precursora de la trombina y contiene unos 306 aminoácidos y una cadena oligosacárida con un pm de 38.000 daltons.

La activación de la protrombina está mediada por el factor Xa, que la escinde en las uniones Arg271-Thr272 y Arg320-Ile321 para separar el dominio catalítico del dominio carboxi-terminal. Esta activación, se acelera hasta 300.000 veces en presencia de FVa, fosfolípidos y calcio.

El gen de la protrombina tiene una longitud de 21 Kb, está codificado por el cromosoma 11 (11p11-q12) y contiene 14 exones y 13 intrones.

Poort estudió a 28 familias con trombosis venosa inexplicable y encontraron un cambio nucleotídico (Guanina por Adenina) en la posición 20210 de la región no codificante 3'(c.*97G>A), en 5 probandos (18%).⁽¹⁹⁰⁾ Como resultado de su estudio, descubrieron un polimorfismo en el gen de la protrombina que creían condicionaba un aumento del riesgo trombótico. Los portadores de la mutación tienen un 30% de los niveles de protombina más altos que los sujetos normales.

Posteriormente, estudios de ligamiento realizados en 397 individuos de 21 familias españolas demostraron que la mutación G20210A es un polimorfismo funcional que se asocia con una mayor susceptibilidad a la trombosis ⁽¹⁹¹⁾.

En 474 pacientes no seleccionados con un primer episodio de trombosis venosa y 474 controles del estudio Leiden, la frecuencia de la mutación fue del 6,2% y 2,3% respectivamente. En dicho estudio, la OR de trombosis venosa asociada con la mutación del alelo G20210A del FII fue de 2,8 (IC 95%: 1,4 a 5,6). Curiosamente, la mutación G20210A del FII se asoció con un aumento de los niveles de protrombina en los heterocigotos frente a los no portadores (1,32 U/mL y 1,05 U/mL, respectivamente) y el nivel de protrombina en plasma es un factor de riesgo independiente para trombosis.

Estos hallazgos sugieren que la mutación G20210A del FII produce el aumento de los niveles de protrombina y ello da lugar a la generación de trombina ^(192,193).

El mecanismo molecular por el cual la mutación G20210A eleva los niveles plasmáticos de protrombina puede ser consecuencia de la alteración del correcto procesamiento del ácido ribonucleico mensajero (ARNm) y/o

alteración de la velocidad de desintegración del ARNm de la protrombina (194, 195, 196).

Otra explicación del papel de la MGP en la trombosis es que los niveles altos de protrombina pueden inhibir la PCA que media la inactivación del FVa (44).

Aunque la mayoría de los heterocigotos para la mutación G20210GA tienen una concentración de protrombina más alta que los controles sanos (aproximadamente un 30% más alta), los valores de protrombina varían de forma muy amplia en la población general (190,191), así que la concentración plasmática de protrombina no es un método fiable para el diagnóstico de esta alteración trombofílica.

4.1.2.1 Prevalencia:

La proporción de la mutación en heterocigosis varía de 0,7 a 6,5 % y la prevalencia más alta ha sido descrita en España (197-199).

La prevalencia en el sur de Europa es casi 2 veces más alta que en el norte de Europa (3 frente a 1,7%) (199).

La MGP es extremadamente rara en la raza negra y asiática (200). Parece ser que la mutación sucedió después de la separación de africanos y no africanos y de caucásicos y asiáticos (201)

El estudio Leiden, describió que la prevalencia de la mutación de la protrombina fue de 6,2% en los pacientes con un primer episodio de trombosis venosa idiopática vs 2,3% en los controles sanos. Frecuencias similares se encontraron en un estudio sueco de 99 pacientes, de los cuales 7,1% presentaron la mutación G20210A frente a 1,8% de los controles (202)

4.1.2.2 Riesgo de ETEV y MGP:

La principal manifestación clínica de la MGP es la ETEV. La TVP y el TEP son la forma de presentación más frecuente de la ETEV.

El RR de ETEV aumenta de 2 a 3 veces en los heterocigotos G20210GA y esta variante genética se encuentra en un 6% de los pacientes con trombosis venosa ⁽¹⁴⁷⁾. Por otro lado, en un metaanálisis de 79 estudios, los portadores de la MGP presentaron un riesgo de ETEV 3 veces mayor que los controles ⁽¹³⁰⁾.

Otro análisis de 8 estudios de casos-control evaluó el riesgo de trombosis en los portadores de FVL y de la MGP y la OR que se encontraron fueron: 3,8 para los heterocigotos del gen de la protrombina, 4,9 para los heterocigotos del FVL y de 20 para las dos mutaciones ⁽¹⁶⁴⁾.

Los pacientes con TVP heterocigotos para la mutación tienen una tasa más alta de TEP (32%) que los portadores del FVL (19%). Por otro lado, también tienen un riesgo mayor de desarrollar TEP de forma aislada ⁽²⁰³⁾.

El TEV sucede de manera más temprana en los portadores de la mutación frente a los no portadores. La media de edad de los portadores cuando presentan el primer episodio trombotico es de 35 años +/-17, vs 43 años +/-14 en los no portadores; $p=0,001$. Además, un porcentaje alto de trombosis venosas (38%) suceden de forma espontánea, mientras que los no portadores suelen presentar trombosis secundarias a factores de riesgo adquiridos ⁽²⁰⁴⁾

Diferentes estudios muestran que la heterocigosidad para la MGP, es un factor de riesgo independiente de TMS.

La prevalencia de la mutación es más alta en los individuos que presentan TMS idiopática que los que tienen trombosis relacionada con CVC ⁽²⁰⁵⁾

Las mujeres heterocigotas para G20210GA que toman AO tienen una OR de 9 para la TMS y las que están en tratamiento hormonal sustitutivo de 5 (160)

Por otro lado, los pacientes oncológicos portadores de la mutación tienen un riesgo 20 veces mayor de TMS que los oncológicos no portadores o que presentan otras alteraciones trombofílicas (160)

La MGP se ha relacionado con trombosis en localizaciones poco habituales, aunque son mucho menos frecuentes que la TVP y el TEP.

Es conocido que constituye un factor de riesgo de trombosis venosa cerebral, sobre todo cuando se asocia con la exposición a AO. De hecho, la OR para trombosis cerebral fue más alta en mujeres que toman éstos (OR 22,1) y mucho más alta cuando se consumen AO y está presente la mutación (7 de 40 pacientes frente a 1 de 120 controles, OR 149). (206, 207, 172)

En un metaanálisis de 9 estudios, en el que se evaluaron 360 pacientes y 2688 controles, la OR de desarrollar trombosis venosa cerebral fue de 9,27 (IC 95%, 5,85-14,67; $p=0,001$) para los pacientes con la mutación frente a los controles. (140)

La trombosis venosa hepática y portal es otra de las complicaciones que pueden ocurrir en los heterocigotos del gen de la protrombina. Se comparó la frecuencia de la MGP y del FVL en 10 pacientes con trombosis venosa idiopática portal, 10 pacientes con trombosis venosa portal no idiopática, 60 pacientes con TVP de las extremidades inferiores y 42 controles. Los pacientes con trombosis portal supuestamente idiopática presentaron una mayor incidencia de la MGP al compararlos con los controles (40% frente a 4,8%; $p=0,0001$), en cambio la frecuencia de la mutación del FVL fue similar en ambos grupos, siendo más alta en los pacientes con TVP ($p=0,0001$) (208).

La trombosis venosa superficial aumenta casi 4 veces más en los heterocigotos para G20210GA ⁽¹⁴³⁾

4.1.2.3 Mutación G20210A de la protrombina y riesgo de recurrencia trombótica:

Resulta controvertido si los portadores heterocigotos tienen una tasa mayor de retrombosis.

Un metaanálisis que incluyó 3.104 pacientes con un primer episodio de TEV concluyó que la mutación G20210GA se asociaba con un leve pero significativo aumento del riesgo de recurrencia después de presentar un TEV inicial (OR=1,72) ⁽¹⁷⁷⁾

Otro estudio prospectivo de largo tiempo de seguimiento de pacientes que habían discontinuado la anticoagulación oral tras un episodio de ETEV, los que presentaban la MGP en la forma heterocigota tuvieron un riesgo de recurrencia trombótica 2 veces mayor ⁽²⁰⁹⁾

En contra, en el estudio Leiden y en una revisión sistemática reciente que incluye los datos de 9 estudios ⁽¹⁸¹⁾ no se encontró un mayor riesgo de retrombosis en los portadores de la mutación frente a los no portadores ⁽¹⁸⁸⁾

También hay un metaanálisis que no mostró asociación con el aumento del riesgo de recurrencia (OR= 1,4; 95% IC 0,9-2) ⁽¹⁷⁸⁾

Como conclusión, la mayoría de los estudios no avalan que haya un aumento del riesgo de retrombosis en los heterocigotos de G20210GA.

Una revisión del grupo de trabajo sobre evaluación de la aplicación de la genómica en la práctica clínica y en la prevención (EGAPP) concluye que la MGP no es predictiva de recurrencia ⁽²¹⁰⁾

El riesgo de retrombosis en los homocigotos de G20210A no está bien definido. La mayor parte de los estudios no incluye un número adecuado de pacientes para poder evaluar adecuadamente el riesgo ^(181,210)

4.1.2.4 Coexistencia de la MGP con otras alteraciones trombofílicas:

4.1.2.4.1 Asociación de la MGP con otras anomalías genéticas:

En una revisión sistemática se encontró que los dobles heterocigotos para G20210A y para el FVL tenían una tasa de recurrencia trombótica 5 veces mayor ⁽¹⁸¹⁾; en cambio, otros estudios hallaron un aumento del riesgo en pacientes con más de un factor trombofílico pero no de forma específica para los dobles heterocigotos del gen de la protrombina y del FVL debido al pequeño número de casos ⁽²⁰⁹⁾.

Por otra parte, en un estudio de familias homocigotas para el alelo G20210GA o dobles heterocigotos para G20210GA y FVL no presentaron aumento del riesgo de retrombosis ni siquiera cuando el análisis se restringió a pacientes que habían tenido un primer episodio de TVP idiopática ⁽¹⁸⁹⁾

Los homocigotos para G20210GA tienden a desarrollar las trombosis a una edad más temprana, pero el riesgo es mucho menor que el que se asocia a los homocigotos para el déficit de PC o PS. En individuos con historia de ETEV, la presencia de la mutación G20210GA en homocigosis se ha observado entre 1,8 y 4,5% de los casos ^(211, 212).

En cambio, en otros estudios no se identificaron homocigotos para el gen de la protrombina ⁽¹⁹⁰⁾.

La combinación de la mutación heterocigota del gen de la protrombina y la presencia de otras alteraciones trombofílicas tienen un efecto aditivo en el riesgo trombótico global. Los pacientes con múltiples defectos trombofílicos desarrollan ETEV a una edad más joven y tienen un riesgo más alto de retrombosis que los que presentan un defecto único. En los dobles heterocigotos para G20210A y para el FVL, la mediana de edad del primer episodio trombótico fue de 22 años ⁽²¹³⁾.

En individuos con historial trombótico, se ha encontrado que de un 1 a un 5% son dobles heterocigotos para G20210GA y FVL comparado con 0-1% observado en los controles ⁽²¹⁴⁾.

Según algunos autores, el riesgo de trombosis puede aumentar hasta 20 veces cuando se asocian las dos mutaciones (MGP y FVL) ⁽¹⁶⁴⁾.

Por otro lado, una revisión sistemática concluyó que los dobles heterocigotos para ambos alelos trombofílicos tenían un aumento del riesgo trombótico de 4,81 al compararlos con los que no mostraban ninguna de las dos mutaciones. ^(181, 215, 216).

Los pacientes doble heterocigotos desarrollan complicaciones trombóticas a una edad más temprana y son más propensos a presentar trombosis en lugares poco frecuentes como son a nivel hepático, mesentérico o en las venas cerebrales, que los pacientes sin trombofilia o los portadores de una única mutación.

La combinación de la deficiencia de PS y el alelo G20210GA en heterocigosis se ha asociado con un riesgo casi 13 veces mayor de TEV, en comparación con un riesgo 4 veces mayor cuando la mutación G20210GA

se presenta en solitario ⁽²¹⁷⁾. Por el contrario, la herencia conjunta con el déficit de PC no parece aumentar el riesgo de trombosis. Así se demostró en un estudio realizado en una gran familia de 279 miembros de pedigrí o sus conyuges, de ascendencia canadiense francesa con déficit de PC tipo I, en ellos se valoró el efecto de la mutación G20210A de la protrombina sobre el riesgo de trombosis ⁽²¹⁸⁾.

Hay estudios preliminares que sugieren que la variante del gen que codifica el FXIII, Val34Leu, al asociarse con el alelo G20210A tiene un débil efecto protector sobre la ETEV. También se postula que la mutación del β -fibrinógeno 455 G/A pueda tener un efecto protector. Esta mutación se localiza en la región promotora del fibrinógeno β y es una de las variaciones genéticas más importantes que se asocian con niveles elevados de fibrinógeno plasmático ⁽¹³⁰⁾.

La mutación heterocigota del alelo 4G del gen SERPINA1 (gen que codifica el PAI-1) en combinación con la mutación G20210GA se asocia con un riesgo 6 veces mayor de trombosis venosa. Si la mutación del alelo 4G del gen SERPINA1 se presenta en forma homocigota y va asociada a la MGP en heterocigosis el riesgo de trombosis venosa es 13 veces mayor ⁽²¹²⁾.

Los antecedentes familiares también juegan un papel muy importante en estos pacientes, ya que los individuos con la mutación G20210A o la del FVL que tienen una historia familiar de trombosis presentan 3-4 veces más riesgo de ETEV.

4.1.2.4.2 Asociación de la MGP con alteraciones trombofílicas adquiridas:

1. MGP y AAF :

Un estudio realizado por DeSancho evaluó la prevalencia de trombofilia en pacientes en tratamiento con AO o terapia hormonal sustitutiva. De las 85 mujeres que desarrollaron TEV mientras recibían alguno de los anteriores tratamientos, 65 tuvieron al menos un factor de riesgo trombofílico y concretamente 5 presentaban el polimorfismo G20210A de la protrombina, observándose que los heterocigotos para G20210GA que además presentan AAF tienen 4 veces más riesgo de tener episodios trombóticos (OR= 4,4) (219).

2. Cáncer y MGP:

La mayor parte de los estudios que evalúan la presencia de la MGP en los pacientes con cáncer muestran un aumento sustancial del riesgo trombótico frente a los que no presentan dicha mutación. Además los pacientes con cáncer muestran “per sé” un mayor riesgo de trombosis venosa, sobre todo durante los primeros meses tras el diagnóstico y aquellos con metástasis a distancia (160). En concreto en el estudio de Blom, los pacientes con cáncer y heterocigotos para el FVL o G20210A tienen 20 veces más riesgo de desarrollar TMS que los que no tienen ningún factor trombofílico.

3. MGP e hiperhomocisteinemia:

Un estudio casos-control con 904 pacientes con una TVP y/o TEP probada y 904 controles estratificados por sexo, edad y factores de riesgo adquiridos comparó el efecto combinado de la hiperhomocisteinemia con el FVL o la MGP. No se detectó ninguna interacción multiplicativa entre hiperhomocisteinemia ($>15 \mu\text{mol/L}$) y la mutación del FVL o la variante del gen de la protrombina. La OR (IC del 95%) fue de 4 (1,5-11) y 6 (1,3 a 27) para la combinación de hiperhomocisteinemia con el FVL y la variante G20210A del gen de la protrombina, respectivamente (220).

Otros factores de riesgo que pueden interaccionar con la alteración trombofílica del gen de la protrombina son el uso de AO, el tratamiento hormonal sustitutivo, moduladores selectivos del receptor de los estrógenos, ser portador de un CVC, la cirugía, el trasplante de órganos, los viajes y el embarazo.

El 50% o más de las trombosis que suceden en pacientes portadores de dicha mutación son provocados por factores predisponentes, siendo el embarazo y puerperio el más frecuente de todos ellos (221).

4. Tratamiento hormonal y MGP:

- AO y MGP:

La presencia de la mutación G20210GA en mujeres con antecedentes de ETEV durante el tratamiento con AO se encuentra entre el 9 y el 13% de los casos (219, 169). El tratamiento con AO por sí solo se asocia con 2-4 veces más riesgo de ETEV. En el caso de los AO que contienen progestágenos de tercera generación, como el desogestrel, se asocian con un riesgo 2 veces

mayor de ETEV que los preparados de segunda generación. No hay estudios hasta la fecha que hayan evaluado el riesgo trombotico global en pacientes con trombofilia y AO que reciben anticoagulación (222).

El riesgo trombotico aumenta en las pacientes con presencia de alguna alteración trombofílica. De ese modo, el riesgo de TEV se incrementa de 16 a 59 veces más en las mujeres heterocigotas para G20210A que toman AO (169, 223).

Por otro lado, la toma de AO asociada a la MGP aumenta el riesgo de trombosis en localizaciones poco habituales, como puede ser la trombosis venosa cerebral (80 a 150 veces más riesgo, que las no portadoras) (206), así como el riesgo de TMS idiopática (9 a 14 veces más riesgo) (224)

En un metaanálisis, la combinación de un alelo G20210A y el uso de AO estaba asociado con un riesgo 16 veces mayor de padecer ETEV, sugiriendo también un efecto supra-aditivo sobre el riesgo trombotico (225)

El riesgo de ETEV también es marcadamente mayor en usuarias de AO que son dobles heterocigotas para G20210GA y el FVL, con OR que van desde 17 hasta 110 (164, 169,173).

No hay estudios que hayan estimado el riesgo de trombosis asociado con los AO en homocigotas para G20210GA debido a la relativa rareza de la situación. Debido al mayor riesgo trombotico de las mujeres homocigotas, es probable que el riesgo asociado con los AO sea sustancialmente mayor que el riesgo en las mujeres heterocigotas.

A pesar del marcado aumento en el RR, la incidencia absoluta de ETEV en este grupo de pacientes puede seguir siendo baja debido al bajo riesgo basal presente en mujeres jóvenes sanas. Es importante destacar que el riesgo de

trombosis es mucho mayor durante el primer año de tratamiento con anticonceptivos que durante los años siguientes ⁽¹⁶⁷⁾ y a este hecho puede contribuir el que las mujeres con alteraciones trombofílicas como la MGP, que toman AO tienden a desarrollar complicaciones trombóticas de forma más temprana que las pacientes sin trombofilia.

Los anticonceptivos a base de progestágenos se asocian con un riesgo más bajo de trombosis que los que contienen estrógenos, aunque no se ha definido el riesgo en mujeres con trombofilia. Parece ser que la progesterona oral no aumenta el riesgo de ETEV en mujeres de alto riesgo como son las que tienen historial trombótico y/o trombofilia, incluyendo un pequeño grupo de mujeres heterocigotas para G20210A y doble heterocigotas para G20210A y FVL ⁽¹⁷⁴⁾.

Sin embargo, no hay estudios prospectivos que confirmen la seguridad de los anticonceptivos con progestágenos solamente en heterocigotos para el gen de la protrombina.

El riesgo trombótico asociado a los preparados anticonceptivos transdérmicos o anillos vaginales parece ser al menos tan alto como el asociado a los AO. En el año 2007, Cole realizó un estudio para determinar la incidencia de TEV, infarto agudo de miocardio (IAM) e ictus en las usuarias de anticonceptivos transdérmicos, comparándolas con las mujeres que toman AO con 35 mcg de etinil-estradiol. La tasa de ETEV fue dos veces mayor en las pacientes en tratamiento con parches transdérmicos (OR=2,2, IC 95%:1,3-3,8), que cuando las mujeres tomaban AO.

-Terapia hormonal sustitutiva y MGP:

El THS por vía oral se asocia con un aumento del RR de ETEV 2 a 4 veces mayor en mujeres sanas postmenopáusicas al compararlas con mujeres que no toman dicho tratamiento (226, 227, 228, 229, 230).

El riesgo aumenta con las dosis más altas de estrógenos. La mayoría de los estudios muestran un riesgo similar para los preparados a base de estrógenos y para las combinaciones de estrógenos y progestágenos (231, 230)

Un estudio caso-control mostró que las mujeres portadoras del alelo G20210A o del FVL que consumían THS tenían un riesgo 25 veces mayor de ETEV comparado con las no portadoras (232). Por otra parte, un metaanálisis encontró que las pacientes en tratamiento con estrógenos orales que presentaban el alelo G20210A o el del FVL presentaban 8 veces más riesgo de trombosis venosa (233)

En otro estudio, se observó que había diferencias en el riesgo de ETEV según el tipo de hormona utilizado, es decir que el uso de estrógenos conjugados equinos en portadoras del alelo G20210A o del alelo del FVL se asociaba con 5 veces más riesgo de ETEV comparado con las mujeres tratadas con estrógenos esterificados (234)

El estudio de Canonico muestra que el tratamiento hormonal con parches transdérmicos a base de estrógenos está asociado a más bajo riesgo trombótico que el tratamiento con estrógenos orales, en mujeres postmenopáusicas con o sin alteraciones trombofílicas (231).

A priori, con los datos existentes parece ser que el uso de parches hormonales transdérmicos no confiere aumento del riesgo de trombosis en pacientes con trombofilia, sin embargo todavía no se han desarrollado

ensayos prospectivos randomizados que confirmen la seguridad del THS transdérmico en mujeres con trombofilia congénita o adquirida.

-MGP y moduladores selectivos del receptor estrogénico:

Los moduladores selectivos del receptor estrogénico como son el tamoxifeno o raloxifeno se asocian con un riesgo 2 veces mayor de ETEV.

(235, 236, 237)

Hay varios estudios realizados en mujeres portadoras de la MGP, que reciben tratamiento con tamoxifeno y en éstos no se ha observado aumento del riesgo trombótico arterial o venoso (235, 236). Es importante destacar que ambos estudios incluyeron un número de casos reducidos.

5. Embarazo y MGP

La MGP se ha identificado entre un 6 y un 26 % de mujeres no seleccionadas con historia de ETEV durante el embarazo o puerperio.

Un estudio poblacional casos-control mostró que los heterocigotos para G20210A tienen 31 veces más riesgo de desarrollar ETEV durante el embarazo o puerperio que las no gestantes que no son portadoras de dicho alelo (238).

Las portadoras de la mutación G20210A tienen un mayor RR de ETEV asociado al embarazo, sin embargo, el riesgo absoluto en las pacientes asintomáticas no está bien definido. En general, el riesgo absoluto es bajo en ausencia de otros factores predisponentes y la mayor parte de los episodios ocurren en el postparto. Así lo ponen de manifiesto diversos

estudios, como son dos estudios de cohortes prospectivos de mujeres gestantes no seleccionadas heterocigotas para G20210A que no presentaron ETEV durante el embarazo ni el puerperio (239, 240).

Las mujeres homocigotas para G20210A o doble heterocigotas para G20210A y FVL tienen un riesgo más alto de ETEV durante el embarazo. La ETEV aparece en un 17,8% de las mujeres doble heterocigotas para G20210A y FVL comparado con el 6,2 % que presentan las heterocigotas de G20210A, estos datos sugieren que la combinación de los dos factores trombofílicos confieren un riesgo casi 3 veces mayor que la MGP aislada (241).

La valoración del riesgo absoluto de trombosis venosa asociado al embarazo en las mujeres homocigotas del gen de la protrombina y en las pacientes dobles heterocigotas para el gen de la protrombina y para el FVL todavía no está del todo claro.

Un estudio familiar encontró bajo riesgo de TEV en el contexto del embarazo y doble heterocigosis, en dicho estudio no hubo episodios trombóticos durante la gestación y en el puerperio se produjeron un 1,8% de TVP (242).

6. Obesidad y MGP:

La obesidad (Índice de masa corporal (IMC) $>30 \text{ Kg/m}^2$) se asocia con un riesgo 2-3 veces mayor de ETEV. Las mujeres obesas con el alelo G20210A tienen casi 7 veces más riesgo de ETEV que las mujeres sin ningún factor de riesgo. También las mujeres con sobrepeso (IMC entre 25 y 30 Kg/m^2) que son portadoras del alelo tienen 5 veces más riesgo de ETEV (243).

7. Cirugía y MGP:

No se ha logrado dilucidar si la presencia del alelo G20210A aumenta el riesgo trombótico global en los pacientes que se someten a cirugía. El riesgo que genera el ser heterocigoto para la mutación es pequeño al compararlo con el riesgo trombótico producido por la cirugía.

4.1.3 OTRAS MUTACIONES DEL GEN DE LA PROTROMBINA:

Se han descrito otras mutaciones del gen de la protrombina.

- Protrombina C20209T:

Este polimorfismo ha sido descrito fundamentalmente en individuos descendientes de africanos, que han tenido trombosis y/o complicaciones obstétricas, pero también se ha descrito en 7 personas de raza blanca, 3 judíos de origen marroquí y 4 de un estudio francés.

En el año 2006, se descubrieron 16 nuevos casos heterocigotos para el polimorfismo C20209T, de ellos 12 fueron africanos, uno de origen hispano y otro blanco. De estos 16 casos y de los descritos previamente, en total 48 casos, el 79% (37) presentaron algún tipo de trombosis (TVP, TEP o ACV) y/o complicación durante la gestación. ⁽²⁴⁴⁾

Otro estudio previo que incluía 301 pacientes afroamericanos y 270 controles del mismo origen, así como 323 pacientes caucásicos y 344 controles, demostró al igual que la revisión realizada por Warshawsky, que la prevalencia del alelo C20209T era significativamente más alta en los afroamericanos frente a los caucásicos ($p= 0,047$); en cambio, no se

encontró una asociación estadísticamente significativa entre ETEV y la variante C20209T ⁽²⁴⁵⁾.

- Protrombina A19911G:

El polimorfismo del gen de la protrombina A19911G parece elevar los niveles de protrombina mediante el aumento de la eficiencia de empalme en el sitio cercano a 20210 ⁽²⁴⁶⁾.

Al investigarse este polimorfismo, se observó que aumentaba discretamente el riesgo de ETEV en los portadores de G20210A, ⁽²⁴⁷⁾ mientras que en otro estudio aumentó el riesgo de ETEV en los portadores del FVL, así como en los que no presentaban ningún factor trombofílico ⁽²⁰³⁾.

4.1.4 DEFICIENCIA DE PC:

La PC es una proteína vitamina K dependiente que se sintetiza en el hígado. Su pm es de unos 62 Kd aproximadamente y está formada por dos cadenas conectadas por un puente disulfuro. El gen de la PC está localizado en el cromosoma 2 (2q13-14) y parece estar relacionado con el gen del factor IX ^(248,249). La PC circula habitualmente como un zimógeno y para poder ejercer su acción anticoagulante debe ser activada, transformándose en la PCA ⁽²⁵⁰⁾

El proceso de activación de la PC se produce de forma eficiente cuando la trombina se une a la trombomodulina subendotelial. La PCA, inactiva los FVa y VIIIa, los cuales son necesarios para la generación de trombina y para la activación del FX ⁽²⁵⁰⁾. Este efecto de la PCA se aumenta de forma muy importante por la PS (cofactor de la PC).

Por otra parte la PCA tiene otras funciones a parte de intervenir en la hemostasia. Actúa en reacciones mediadas por el receptor endotelial de la PC y el PAR-1 directamente sobre las células, ejerciendo múltiples efectos citoprotectores como pueden ser actividad antiinflamatoria y protección de la barrera endotelial. (251,252)

La deficiencia heterocigota de la PC se hereda de forma autonómica dominante. La frecuencia de esta anomalía varía de 1 por 200 a 1 por 500 de la población general (253,254).

Podemos diferenciar dos subtipos de déficit de PC:

4.1.4.1 Déficit de PC tipo 1:

Es el déficit más frecuente. La mayoría de los pacientes afectados son heterocigotos con una concentración de PC en torno al 50% de lo normal tanto en ensayos inmunológicos como funcionales. (255). Las mutaciones que se han identificado con más frecuencia son las “missense” y “nonsense” (256, 257).

Otros tipos de mutaciones, incluyen mutaciones del promotor, anomalías del lugar de empalme, deleciones en la estructura, inserciones en la estructura, etc.

Hay una importante variabilidad fenotípica en los pacientes heterocigotos con déficit de PC tipo 1. Se han encontrado mutaciones similares en pacientes sintomáticos o asintomáticos, lo que implica que la mutación genética por sí sola no explica la variabilidad. (258,259)

4.1.4.2 Déficit de PC tipo 2:

Los pacientes con déficit de PC tipo 2 tienen niveles antigénicos normales de PC en plasma con disminución de la actividad funcional. Una mutación puntual que afecta a la función de la proteína, se ha identificado en este grupo de pacientes (256,260).

El déficit de PC adquirido es un trastorno clínicamente similar al déficit congénito que está causado por el desarrollo de anticuerpos contra la PC (250). Clouse estudió las propiedades estructurales y funcionales de la PC, así como el déficit de la PC hereditario y adquirido.

Entre las causas del déficit de PC adquirido se encuentran la infección grave y el shock séptico, así como la coagulación intravascular diseminada (CID), enfermedades hepáticas (261), síndrome de distress respiratorio agudo, pacientes con cáncer de mama en tratamiento con ciclofosfamida, metotrexate y 5-fluoracilo y también se ha descrito en el contexto de tratamiento con L-asparaginasa.

Existe una forma muy grave de déficit adquirido de PC que se caracteriza por púrpura fulminans y CID, que puede producirse en pacientes con infección vírica aguda o bacteriana, incluyendo la meningococemia (262).

4.1.4.3 Clínica del déficit de PC:

En los pacientes con ETEV, se estima que el déficit de PC está presente en un 2-5 % de los casos (263-265).

El estudio EMET realizado en 2132 pacientes no seleccionados con ETEV encontró que 12,9 % tenían déficit de algún anticoagulante natural y de éstos 3,2% déficit de PC, 7,3% déficit de PS y 0,5% déficit de AT (263). El

RR de deficiencia de PC aumenta en los casos con historia familiar de trombosis, trombosis espontáneas, episodios recurrentes de trombosis o aquellas que se producen en pacientes menores de 45 años.

La probabilidad de desarrollar trombosis a lo largo de la vida es aproximadamente 7,3 veces más alta para los pacientes con déficit de PC comparado con los que no muestran dicha alteración trombofílica. De este modo, en el estudio de trombofilia Leiden, los heterocigotos del déficit de PC presentaban casi 7 veces más riesgo de tener un primer episodio de trombosis venosa que la población general. (266)

En algunas familias, con importante afectación, podemos encontrar que hasta un 75% de los miembros con déficit de PC presentan uno o más episodios trombóticos (267, 268), en cambio en otras, la tasa de trombosis es mucho más baja (257, 269).

Uno de los factores de riesgo para presentar un fenotipo más grave es la presencia de otros defectos trombofílicos, sobre todo el FVL (270,271).

Los portadores de ambos defectos tienen un riesgo trombótico más alto que los que presentan una única alteración trombofílica. (272)

En un estudio de revisión, se observó que aproximadamente el 75 % de los individuos portadores de las dos alteraciones habían presentado trombosis comparados con el 10 % de los que presentaban un único defecto trombofílico. (270)

Alrededor del 70 % de los casos iniciales de trombosis en pacientes con déficit de PC suceden de manera espontánea, es decir sin que exista ningún factor desencadenante. El número de episodios trombóticos aumenta cuando los pacientes alcanzan los 50 años. La mediana de edad del primer

episodio fue de 45 años en los casos no seleccionados y de 30 años en los miembros de familias con trombofilia (273).

Además el 60% de los afectados desarrollaron retrombosis y cerca del 40% tuvieron signos de TEP (274)

Los lugares más frecuentes de afectación en el déficit de PC son las venas profundas de las piernas, las venas iliofemorales y las venas mesentéricas.

También la trombosis venosa cerebral se ha asociado con este déficit y sobre todo cuando se combina con factores de riesgo adquirido (275), como es la toma de AO (172)

En cuanto a la trombosis arterial, no se ha demostrado que el déficit de PC sea un factor de riesgo para el desarrollo de trombosis arterial (276,277), aunque se han descrito ACVs (de origen no hemorrágico) en pacientes jóvenes con déficit de PC. (278,279)

Otra de las manifestaciones del déficit de PC, generalmente producida en homocigotos o dobles heterocigotos, es la púrpura neonatal fulminans que se caracteriza por CID y necrosis cutánea hemorrágica.

La necrosis cutánea inducida por warfarina ocurre habitualmente durante el inicio de tratamiento con warfarina y a menudo se asocia con altas dosis de carga. Se caracteriza por lesiones cutáneas en las extremidades, mamas y pene. Inicialmente las lesiones son maculares y eritematosas y posteriormente se convierten en edematosas con una zona central purpúrica para transformarse finalmente en necróticas. Las manifestaciones de la necrosis cutánea inducida por warfarina son similares tanto clínica como anatomopatológicamente a las que se producen en la púrpura fulminans neonatal.

La necrosis cutánea por warfarina se produce más frecuentemente cuando se administran más de 10 miligramos (mg)/día de warfarina o en los pacientes con déficit de PC. Sin embargo, sólo un tercio de los pacientes con esta complicación tienen deficiencia de PC ⁽²⁸⁰⁾ y además es muy infrecuente en los heterocigotos. La mayoría de los casos han sido descritos asociados al déficit funcional adquirido de PC, déficit de PS heterocigoto y factor FVL ⁽²⁸¹⁻²⁸³⁾.

El tratamiento de esta entidad consiste en suspender la warfarina, administrar vitamina K e infusión de heparina a dosis terapéuticas. La administración de PC podría indicarse en pacientes con déficit hereditario de PC. También puede usarse plasma fresco congelado, pero los resultados son mejores cuando se emplea la administración de concentrado purificado de PC, que facilita la rápida normalización de los niveles de PC ⁽²⁸⁴⁾.

4.1.5 DÉFICIT DE PS:

La PS es una glicoproteína vitamina K-dependiente que actúa como cofactor del sistema de la PC. Fue descubierta originariamente en Seattle y por ello se denominó PS. Se sintetiza en los hepatocitos y megacariocitos y circula en dos formas, 40 a 50% como forma libre y el resto como un componente del complemento, proteína de unión a la fracción C4b del complemento (C4b- BP). Solamente la forma libre tiene actividad como cofactor de la PC ^(285,286).

La prevalencia del déficit familiar de la PS descrita en una cohorte de donantes de sangre del oeste de Escocia se encuentra entre 0,03 y 0,13% ⁽²⁸⁷⁾.

En un estudio español de 2132 pacientes no seleccionados con ETEV, 12,9 % presentaron déficit de anticoagulantes naturales: 7,3% déficit de PS, 3,2% déficit de PC y 0,5% AT ⁽²⁶³⁾.

Entre las funciones de la PS, se conoce que la PCa en presencia de la PS, inactiva al FVa y al FVIIIa produciendo una disminución de la generación de trombina ⁽²⁸⁸⁾.

Por otro lado, la PS actúa como cofactor de la PC aumentando la fibrinólisis y puede inhibir directamente la protrombina mediante la activación de otros factores de coagulación. ⁽²⁸⁹⁻²⁹¹⁾

El déficit de PS está causado por mutaciones en el gen PROS1 (3q11-q11.2). Este gen es el gen activo y contiene más de 80 Kilobases (Kb) y compromete 15 exones. Existe otro gen homólogo en el cromosoma 3, que es el PROS2, el cual no tiene archivos de lectura y es probablemente un pseudogen ^(292,293). El gran tamaño del gen PROS1 y la presencia del pseudogen ha dificultado la identificación de las distintas mutaciones genéticas, aunque se han descrito un importante número de mutaciones. Se han descrito mutaciones en el 70% de los pacientes con déficit de PC y se ha publicado una base de datos de las mutaciones del gen de la PS ^(294,295)

Se han identificado solamente unos pocos casos de grandes deleciones del gen de la PS. ^(296,297)

El déficit congénito de PS fue descrito inicialmente en 1984 ^(298, 299, 300). Se hereda fundamentalmente como un rasgo autonómico dominante y los individuos heterocigotos de estas familias tienen frecuentemente trombosis de repetición. ⁽³⁰⁰⁾ El déficit homocigoto de PS suele ser incompatible con la vida ^(301,302).

Existen tres tipos de deficiencia de PS:

4.1.5.1 Déficit de PS tipo I:

Es el tipo clásico y se asocia con un 50% de nivel antigénico normal de PS y reducciones más marcadas en la PS libre antigénica y en la actividad funcional de la PS (por ejemplo, defecto cuantitativo) (299, 303,304)

Se ha sugerido que el tipo I y tipo III que se asocian solamente con bajos niveles de proteína PS antigénica libre son variantes fenotípicas de la misma enfermedad.

4.1.5.2 Déficit de PS tipo II:

Se caracteriza por niveles normales de PS total y libre, pero la actividad funcional de la PS está disminuida. (es decir es un defecto cualitativo). Este fenotipo se ha identificado en pocas ocasiones, lo que sugiere que el ensayo actual no puede detectar todos los defectos funcionales existentes. Las cinco mutaciones descritas en estos pacientes fueron mutaciones del tipo “missense” localizadas en el extremo N-terminal que incluye el dominio que interactúa con la PCA. (305, 306, 307)

Dichas mutaciones pueden alterar la conformación de la PS o interferir con la carboxilación del dominio ácido gamma-carboxiglutámico de la molécula. (306)

4.1.5.3 Déficit de PS tipo III:

Estos pacientes presentan niveles antigénicos normales de PS y disminución de los niveles de PS libre y de la actividad funcional de la proteína a menos del 40% de lo normal.

En el déficit de tipo I, las mutaciones se distribuyen a través de la secuencia codificante, en cambio en el tipo III solamente se han

identificado mutaciones en el 44% de los pacientes. ⁽²⁹⁴⁾ Este hecho podría ser debido a que algunos casos de deficiencia tipo III están causados por anomalías adquiridas, como son la edad o factores genéticos ligados a la mutación propiamente dicha. ⁽²⁹⁵⁾

Hay estudios que demuestran la coexistencia del déficit de tipo I y del tipo III ^(308,309) y parece ser que estos dos tipos de deficiencia podrían ser variantes fenotípicas del mismo genotipo ⁽³¹⁰⁾.

Existe una mutación denominada PS Heerlen, que fue descrita inicialmente como un polimorfismo y consiste en la sustitución de Ser460 por Prolina en el dominio globulina de la PS, que se une a la hormona sexual. No está claro que esta mutación se asocie con un incremento del riesgo trombótico, ya que se ha identificado de forma similar en pacientes con trombosis y en la población general (0,7 y 0,5% respectivamente) ^(311, 312)

Entre las causas de déficit de PS adquirida, se incluyen el embarazo ⁽³¹³⁾ y el tratamiento con AO ^(314,315).

Otras causas del déficit adquirido son, la infección por VIH, en la cual hay una disminución de los niveles totales y sobre todo de los niveles de PS libre ⁽³¹⁶⁾, la CID ^(317, 318) y la ETEV ⁽³¹⁷⁾. La proteína de unión a la fracción C4b del complemento es un reactante de fase aguda; y lo que sucede en los procesos inflamatorios es que va aumentar esta proteína, transformando a la PS en una forma inactiva y provocando el descenso de su actividad ⁽³¹⁷⁾.

Por otra parte también el síndrome nefrótico se caracteriza por un aumento de la PS antigénica con un descenso de la actividad funcional de la PS ^(319,320). Esto se debe a una pérdida de la PS por orina y una elevación en plasma de las concentraciones de la proteína de unión a C4b. También la

hepatopatía ^(321, 314) y el tratamiento con L-Asparraginasas pueden producir un descenso moderado de los niveles total y libre de PS antigénica ⁽³²²⁾.

4.1.5.4 Clínica:

La presentación clínica más frecuente de los pacientes con déficit de PC es la TVP (74%), seguido de la tromboflebitis superficial (72%) y TEP (38%) ⁽³²³⁾. La mediana de edad del primer episodio trombótico fue de 28 años con un rango que va de los 15 a los 68 años. Más de la mitad de la trombosis fueron espontáneas y el resto fueron desencadenadas por un factor precipitante. También se han descrito trombosis en localizaciones menos habituales como mesentérico, cerebral y axilar, así como la necrosis cutánea inducida por warfarina que también puede aparecer en el déficit de PC.

La probabilidad de desarrollar trombosis a lo largo de la vida comparada con los pacientes que no presentaban trombofilia fue de 8,5 veces mayor para los portadores del déficit de PS, 8,1 para el déficit de AT y 7,3% para el déficit de PC. La tasa de trombosis para los afectados del déficit de PC fue de 11,5.

Resulta curioso comprobar que cuando se miden los niveles totales de PS antigénica se infraestima el riesgo de ETEV, en cambio cuando lo que se determina son los niveles de PS libre, dicho valor es predictivo de la mutación y del déficit. Por otra parte, cuando se realiza el estudio genético se observa que los familiares de primer grado de pacientes con la mutación del gen PROS1 tienen un riesgo de trombosis 5 veces mayor que los no portadores ⁽³²⁴⁾. Parece ser que las familias con déficit de PC o PS tienen

mayor incidencia de presentación de un segundo defecto trombofílico, fundamentalmente el FVL ^(326, 270).

En algunos estudios, hasta un 35-35% de los miembros familiares con déficit de PS permanecen libres de trombosis a los 45 años de edad ⁽³²³⁾. Aunque es necesario tener en cuenta que la mayoría de estos estudios son limitados por la precisión de los ensayos de laboratorio y por los efectos de la edad y sexo. Por otro lado, la probabilidad de estar libre de trombosis a los 30 años es tan sólo del 50% comparado con el 97% en personas sanas.

Los portadores de dos defectos trombofílicos parecen tener más riesgo de trombosis que los pacientes que presentan un único defecto. En términos cuantitativos, aproximadamente el 75% de los miembros familiares que presentan dos mutaciones experimentan trombosis comparado con el 10-30% de los pacientes que tienen una única mutación. ⁽³²⁵⁾

Existen casos de trombosis arterial descritos en pacientes jóvenes con déficit de PS, sin embargo se han realizado grandes estudios que no han demostrado de forma convincente que el déficit de la PS sea un factor de riesgo para el desarrollo de trombosis arterial ^(276, 326) y esto se basa en que los estudios desarrollados en pacientes jóvenes con ACV de origen isquémico que presentan niveles descendidos de anticoagulantes naturales, la mayor parte de ellos tienen una causa adquirida del déficit, como son el embarazo o la toma de AO ⁽²⁷⁶⁾.

El déficit de PS puede ser adquirido y, aparte del embarazo y el tratamiento con AO, otras causas adquiridas del déficit de PS son:

-El TEV agudo y la CID. La proteína de unión C4b es un reactante de fase aguda y aumenta en cuando hay un proceso inflamatorio, con lo cual el

descenso de la PS en estas situaciones se produce por un cambio de la proteína en el complejo a la forma inactiva ⁽³¹⁷⁾

- La infección por VIH produce descenso de PS total y PS libre. ⁽³¹⁶⁾

- El síndrome nefrótico, que se caracteriza por un aumento de la PS antigénica y una disminución de la PS funcional ^(319,320). Esto es debido a la pérdida de la PS libre en orina y la elevación en plasma de la proteína de unión C4b.

- En las hepatopatías se produce una disminución tanto de la PS total como de la PS libre.

- El tratamiento con L-asparaginasa también disminuye los niveles de PS.

- Igualmente se han descrito autoanticuerpos dirigidos contra la proteína PS en un paciente tras haber presentado varicela. ⁽³²⁷⁾

4.1.6 DÉFICIT DE AT:

El déficit de AT fue descrito por primera vez por Egeberg en 1965, en una familia escandinava, en la que sus miembros mostraban episodios graves de ETEV. La AT, conocida formalmente como AT III o cofactor I de la heparina, es un anticoagulante natural vitamina K independiente, que inhibe la trombina y otras serín-proteasas, como los factores Xa y IXa.

La molécula de AT es una α -2-globulina compuesta por 432 aminoácidos, que se sintetiza en el hígado y el gen que codifica la AT se encuentra en el brazo largo del cromosoma 1 y contiene 7 exones y 6 intrones. ⁽³²⁸⁾

Es un trastorno que se hereda con carácter autosómico dominante y la mayor parte de los casos son heterocigotos, afectando a ambos sexos por igual. Los casos homocigotos son muy raros, (no habiéndose descrito en humanos) y suelen producir muerte intraútero.

La prevalencia de este déficit va de 1/500 a 1/5000 en la población general.
(254, 329)

Este amplio rango de prevalencia se debe a varios factores, pero el más importante es que en algunos estudios se realiza una única determinación de la AT y es crucial repetir los niveles de AT siempre que se detecten valores por debajo de la normalidad, ya que en determinadas circunstancias podemos encontrar valores descendidos de AT como en la insuficiencia hepática, etc.

La AT se presenta en el plasma bajo dos formas, un monómero activo y una forma latente o inactiva ⁽³³⁰⁾. Una molécula de AT latente puede inactivar una molécula del monómero activo a través de la formación de un heterodímero, este proceso en sujetos sanos contribuye al recambio de la proteína en plasma y puede acelerarse por cambios en el pH y temperatura y esto podría explicar la aparición de trombosis en pacientes con déficit de AT que presentan fiebre o signos de enfermedad.

La AT tiene dos sitios activos funcionales, el centro reactivo Arg393-Ser394 y el lugar de unión a la heparina que se encuentra cerca del dominio aminoterminal. ⁽³³¹⁻³³²⁾

La unión de la heparina al lugar de unión de la AT produce un cambio conformacional que acelera el proceso de inactivación hasta 4000 veces.

Los rangos normales de AT varían de 80 a 120%. Los neonatos tienen niveles más bajos, alcanzándose valores similares a los adultos a los 6

meses de edad. A veces podemos encontrar niveles bajos de AT en mujeres que toman AO y en pacientes mayores, pero estas variaciones suelen ser moderadas y no suelen tener repercusión clínica. La mayoría de los pacientes con deficiencia heterocigota de AT tienen unos niveles entre el 40 y 60 %. ⁽³³³⁾.

Tipos de déficit de AT:

4.1.6.1 Déficit de AT tipo I:

Déficit cuantitativo de los niveles de AT. Disminución de la actividad funcional y de los niveles antigénicos de AT.

4.1.6.2 Déficit de AT tipo II:

Se caracteriza por presentar niveles antigénicos normales y niveles de actividad disminuidos, es decir, es una deficiencia cualitativa. ⁽³³³⁾

El déficit de tipo II puede clasificarse en tres tipos:

-IIa, afecta al dominio de unión a la trombina y cursa con actividad disminuida, así como niveles antigénicos generalmente normales. Las mutaciones afectan al dominio carboxiterminal.

-IIb, la mutación se produce en el dominio de unión a la heparina y parece ser menos trombogénico que el déficit tipo I. ⁽³³⁴⁾ Esta variante se caracteriza por mutaciones en el dominio aminoterminal de la molécula.

-IIc, grupo pleiotrópico de mutaciones en el que la actividad medida por cofactor de la heparina, así como los valores antigénicos de la AT son bajos. Incluye mutaciones en la región carboxiterminal de la molécula, entre los aminoácidos 402 y 429. Este tipo de mutaciones produce cambios conformacionales en la proteína y puede dar lugar a múltiples defectos que

incluyen disminución en el dominio de unión a la heparina y en la actividad de la AT.

Por otro lado el déficit de AT puede ser secundario a otras causas como son: cirrosis hepática, aumento de la pérdida de AT en el síndrome nefrótico o enteropatía pierdeproteínas, consumo aumentado secundario a sepsis, quemaduras, politrauma, enfermedad venooclusiva, metastasis tumorales, etc y déficit de AT inducido por fármacos como el tratamiento con L-Asparaginasa y tratamiento con heparina. (335)

No existen evidencias de que la deficiencia adquirida de AT contribuya a aumentar el riesgo trombótico y por tanto, en la práctica clínica no hay datos suficientes que avalen la administración de suplementos de AT en estos casos. (336-337)

Hay diversas causas que pueden producir déficit adquirido de AT.

-Aumento del consumo: en la trombosis aguda se reducen de forma transitoria los niveles de AT y lo mismo sucede en la CID y en la sepsis. (338, 339)

La cirugía mayor también se asocia a un moderado descenso de los niveles de AT, que alcanza el nadir en el tercer día postoperatorio y retorna a la normalidad en el quinto día postoperatorio. (336)

Las mujeres embarazadas con hipertensión, preeclampsia o eclampsia pueden presentar descenso de las cifras de AT (340).

-Disminución de la síntesis: los pacientes con hepatopatía, fundamentalmente cirrosis hepática tienen bajas concentraciones de AT (341, 342).

-Aumento de la excreción: en el síndrome nefrótico se ha descrito un descenso de los niveles de AT debido a las pérdidas urinarias y también

probablemente al consumo intravascular. ⁽³⁴³⁾ Sin embargo, no hay evidencia convincente de que el déficit de AT sea responsable de la tendencia trombótica de este síndrome.

-Fármacos: el tratamiento con L-asparaginasa, un citostático que se emplea en el tratamiento de la leucemia aguda linfoblástica, puede disminuir las concentraciones plasmáticas de AT por inhibición de la síntesis proteica ⁽³⁴⁴⁾. Se ha ensayado la administración de suplementos de AT para suprimir los efectos procoagulantes de la AT, pero por el momento se desconoce si llega a ser realmente eficaz.

Otro de los fármacos que puede disminuir los niveles de AT, son los AO ⁽³⁴⁵⁾

La prevalencia de los distintos tipos de déficit de AT depende de la población estudiada. En las familias que presentan trombofilia, el tipo I es más frecuente que el tipo II que afecta al dominio de unión a la trombina. Al estudiar a la población general, el tipo II que afecta al dominio de unión a la heparina es el más prevalente y la frecuencia relativa es de 1 en 500. ^(346, 347)

La mayoría de los pacientes con deficiencia de AT (estudiados en la población general) no tenían historial trombótico ni antecedentes familiares y presentaban el déficit tipo II con mutaciones que afectan al dominio de unión a la heparina ⁽³⁴⁷⁾.

4.1.6.3 Clínica del déficit de AT:

Los pacientes que presentan un primer episodio trombótico tienen una prevalencia de déficit de AT de aproximadamente 0,5-1 %.

En torno al 55% de los pacientes desarrollan TEV ⁽³⁴⁸⁾. Los episodios trombóticos son mucho menos frecuentes en los pacientes heterocigotos con defectos en el dominio de unión a la heparina ^(334, 349).

Por el contrario, los homocigotos para anomalías en el dominio de unión a la heparina pueden presentar clínica grave relacionada con la trombosis.

Menos de la mitad de los casos iniciales de trombosis suceden de forma espontánea, mientras que el resto ocurren asociados a embarazo, toma de AO, cirugía o traumatismo.

Las localizaciones más frecuentemente afectadas son las venas profundas de las piernas y las ilio-femorales. ⁽³⁵⁰⁾

Otras localizaciones menos frecuentes son la vena cava, renal, cerebral y las venas hepáticas (Síndrome de Budd-Chiari) ⁽³⁵¹⁻³⁵⁴⁾.

La trombosis arterial se ha descrito en los pacientes con déficit de AT, pero no es característica de este defecto trombofílico.

Alrededor del 60% de los pacientes desarrollan trombosis recurrente y un 40% presentan signos clínicos de embolismo pulmonar ⁽³⁵⁰⁾.

En un estudio español de 2132 pacientes no seleccionados con TEV, tan sólo el 0,5% presentaban déficit de AT, 7,3% con déficit de PS y 3,2% con déficit de PC. ⁽²⁶³⁾

Hallazgos similares fueron descritos en pacientes alemanes con TVP, de 277 pacientes, 8,3% tenían déficit aislado de AT, PC ó PS, ó plaminógeno, comparado con 2,2 % de los controles ⁽³⁵⁵⁾. La probabilidad a lo largo de la vida de desarrollar trombosis fue 8,5 veces mayor para los portadores del

déficit de PS, 8,1 para el déficit de AT, 7,3 para el déficit de PC y 2,2 para el FVL.

Los pacientes con déficit de AT tienen un riesgo alto de trombosis durante el embarazo. La TVP sucede en el 18% de las embarazadas con déficit de AT tipo I y en el 33% del postparto. En las pacientes con déficit de PC 7% presentaron trombosis durante el embarazo y 19% en el puerperio, ninguna de las pacientes con déficit de PS tuvo trombosis en el embarazo y en cambio un 17% desarrollaron trombosis en el puerperio.

La ETEV es infrecuente durante las dos primeras décadas de la vida, probablemente debido al efecto protector de los altos niveles del inhibidor de la trombina conocido como α 2-macroglobulina (356, 357, 358)

El riesgo de trombosis aumenta de forma significativa a partir de los 20 años y a los 50 años, prácticamente el 50% de los individuos presentaran un episodio de TEV. Los pacientes con el déficit tipo IIb tienen menor riesgo de trombosis que los pacientes con otro tipo de déficits (334).

Por otra parte, los pacientes con defecto de AT pueden tener resistencia al tratamiento con heparina y requerir dosis más altas para alcanzar niveles de TTPa terapéuticos.

Otra de las manifestaciones del déficit de AT son las complicaciones obstétricas, el riesgo de aborto aumenta en esta alteración trombofílica, 19,2% de abortos se producen en embarazadas con déficit de AT comparado con 12,2% en mujeres sin déficit de AT (359).

Sin embargo, en estudios prospectivos se ha puesto de manifiesto que hay embarazos que llegan a término, incluso en ausencia de trombopprofilaxis; concretamente en un 80% de las mujeres con déficit de AT se logra la finalización de la gestación sin recibir profilaxis antitrombótica (360). Otras complicaciones que pueden producirse son el retraso del crecimiento intrauterino, abruptio placentae, preeclampsia y eclampsia.

4.1.7 RECURRENCIA DE TEV EN DÉFICIT DE AT Y OTROS ANTICOAGULANTES NATURALES:

La deficiencia de los anticoagulantes naturales AT, PC y PS se encuentra en menos del 10% de los pacientes con ETEV. El riesgo de retrombosis existente en estos pacientes es difícil de cuantificar debido a la escasa frecuencia de estas alteraciones y al efecto, aunque débil de anomalías trombofílicas mucho más frecuentes como son el FVL y la MGP. En estudios retrospectivos, la tasa de recurrencia en pacientes con deficiencia de anticoagulantes naturales varía entre 36 y 62 %, con una incidencia de 4,8/100 pacientes-año antes del diagnóstico de trombofilia ^(361,362).

En varias cohortes prospectivas, el riesgo de retrombosis en los pacientes con déficit de anticoagulantes naturales aumentó de 1,4 a 1,8 veces y al analizarlos por separado, los portadores de déficit de AT presentaban 2,6 veces más riesgo de retrombosis ⁽³⁶³⁾.

El estudio europeo prospectivo de trombofilia analizó 73 pacientes con deficiencia de anticoagulantes naturales, siendo la incidencia de un nuevo episodio de ETEV/100 pacientes-años de 6,4 en ausencia de anticoagulación (10,5 para el déficit de AT, 5,1 para el déficit de PC y 6,5 para el déficit de PS) ⁽³⁶⁴⁾.

En otro estudio, que evaluó 602 pacientes con un TEV previo, 64 presentaron déficit de algún anticoagulante natural (AT=14, PC= 28, PS= 22). Tras ajustar según sexo, edad y otros factores, el déficit de AT resultó ser un factor de riesgo independiente de retrombosis (OR= 1,9, IC 95% 1-3,9) y los portadores del déficit de PC y PS tenían una OR de 1,4 (IC 95%: 0,9-2,2). ⁽³⁶⁵⁾

Aunque no son muchos los estudios realizados, dada la rareza de este déficit, hay varias publicaciones en las que se plasma que la deficiencia de AT es un factor de riesgo independiente de recurrencia y por ello estos pacientes son candidatos a tratamiento anticoagulante de forma indefinida. (366, 188, 365, 367). El riesgo aumenta cuando el primer episodio es espontáneo y cuando se asocian otros defectos trombofílicos concomitantes.

Por el contrario en el estudio de Baglin, realizado en 570 pacientes con TEV, la tasa de recurrencia en pacientes con deficiencia de anticoagulantes naturales fue de 17,5 % y en la población control del 11%, no habiendo diferencias estadísticamente significativas.(363)

4.1.8 ELEVACIÓN DEL FVIII:

El FVIII se sintetiza como un precursor de una única cadena de 2351 aminoácidos y tiene un peso molecular de 265 Kd. Su vida media es de 8 a 12 horas. Se procesa como un heterodímero de cadena pesada formado por proteólisis de la unión B-A3. La molécula completa comprende los dominios A1-A2-B y mediante asociación con cobre, se une a una cadena ligera que comprende a los dominios A3-C1-C2 (368). Su función primordial es actuar como cofactor de una enzima, el FIXa en presencia de fosfolípidos y calcio, formando el complejo tenasa y permitiendo la activación del FX. (369)

La deficiencia del FVIII produce la hemofilia A, que es la segunda enfermedad hemorrágica más frecuente del mundo después de la enfermedad de von Willebrand.

El gen del FVIII se localiza en el cromosoma X y se sintetiza fundamentalmente en los hepatocitos, bazo y ganglios linfáticos y se

secreta en forma de glicoproteína, circulando en el plasma en una concentración aproximadamente de 100-200 nanogramos/mililitro (ng/mL). La concentración del FVIII es regulada fundamentalmente por la concentración de FvW, ya que una molécula de FVIII se une a 50-100 moléculas de FvW ⁽³⁷⁰⁾. El FvW a parte de transportar al FVIII también lo estabiliza. ⁽³⁷¹⁾ La activación del FVIII se produce fundamentalmente por efecto de la trombina, que por otro lado lo separa del FvW.

El FVIII es una proteína clave para el buen funcionamiento del sistema de la coagulación, ya que es una proteína plasmática que funciona como cofactor del FIXa en la activación del FX.⁽³⁷²⁾

El FVIII comparte algunas semejanzas estructurales y funcionales con el FV y con la ceruloplasmina. ⁽³⁷³⁾ El FVIII y V comparten características entre sí: son cofactores inestables, son activados por la trombina y los inactiva la PCA. ⁽³⁷⁴⁾ Dadas las semejanzas existentes entre ambos y la importancia de las alteraciones del FV en la generación de trombofilia, puede suponerse que las alteraciones en el FVIII también pueden generar predisposición a la trombosis.

En la regulación de la concentración del FVIII intervienen múltiples factores, entre los cuales destaca la concentración del FvW. Por otro lado, la concentración del FvW depende de otros factores, principalmente del grupo sanguíneo y del grado de activación endotelial. Los individuos con grupo sanguíneo 0 tienen en general menor concentración de FvW y consecuentemente, de FVIII en comparación con los demás grupos sanguíneos ^(375, 376, 377, 378).

La causa de la influencia del grupo sanguíneo en la concentración del FvW parece ser debido a que el FvW y la membrana celular de los eritrocitos de los grupos diferentes al 0 comparten algunos oligosacáridos, esto hace más

lenta la degradación de los oligosacáridos del FvW y consecuentemente el aumento en la concentración del FvW ⁽³⁷⁹⁾.

La elevación de la concentración del FVIII y del FvW está relacionada con el mayor riesgo de trombosis que presentan los pacientes con grupo ABO no 0, como son los del grupo A1 (OR 2.6; 95% CI, 1.8-3.8) ⁽³⁸⁰⁾.

Los primeros estudios acerca de FVIII y coronariopatía se remontan a 1962. ⁽³⁸¹⁾ Posteriormente múltiples estudios de casos y controles han confirmado la asociación entre enfermedades aterotrombóticas y FVIII elevado ^(382,383).

Los niveles elevados de factor VIII son un factor predictivo independiente de trombosis. ⁽³⁸⁴⁻³⁸⁸⁾

El estudio Leiden fue el primero que asoció los niveles plasmáticos elevados de FVIII y el TEV. Se compararon 301 pacientes menores de 70 años diagnosticados de un primer episodio de TEV y sin neoplasia activa con 301 controles sanos mapeados por edad y sexo. En el análisis univariante, el grupo sanguíneo, la concentración de FvW y la concentración de FVIII se relacionaron con trombosis. En cambio, en el análisis multivariante, solamente el FVIII continúa siendo factor de riesgo, así como la correlación entre los niveles de FVIII y el riesgo de trombosis (los pacientes con concentraciones de FVIII en torno a 1500 UI/L tienen una OR ajustada de 4,8 (IC del 95% (2,3-10)). En este estudio se llegó a la conclusión que la elevación del FVIII es frecuente y representa un aumento del riesgo de trombosis que es similar al déficit de anticoagulantes naturales y a la rPCA. ⁽³⁸⁹⁾

La alta prevalencia de FVIII elevado en los pacientes con TVP o TEP ha sido confirmada en un importante número de estudios casos-control ^(384, 390, 391, 392, 385, 393, 394).

Los niveles de FVIII aumentan con la edad ⁽³⁹⁵⁾ y también se ven influenciados por la raza, siendo más elevados en los afroamericanos

comparados con los caucásicos ^(395,396). El mecanismo subyacente a la influencia de la raza, no está totalmente aclarado pero podría deberse en parte a la alta prevalencia del grupo sanguíneo 0 en la población caucásica. La mediana de los niveles de FVIII es más alta en pacientes japoneses con TEV comparado con controles sanos (154 vs 114 UI/dL) ⁽³⁹³⁾.

El FVIII también varía con el índice de masa corporal, el embarazo, cirugía, inflamación crónica, hepatopatía, hipertiroidismo, diabetes mellitus y con el ejercicio.

Tanto los niveles de FVIII:C como los del antígeno de FvW aumentan de forma importante durante la fase aguda del TEV. Por ello en la mayoría de los estudios se recomienda retrasar la determinación del FVIII hasta 3-6 meses después del episodio trombótico.

Los valores de FVIII:C tienen una gran variabilidad interindividual ⁽³⁹⁷⁾.

Varios estudios han mostrado que estas variaciones se deben a factores genéticos y ambientales. En el estudio GAIT (Genetic Analysis of Idiopathic Thrombophilia) se evaluaron los factores que regulan los niveles plasmáticos de FVIII:C en 397 individuos de 21 familias españolas y se concluyó que la variación en la heredabilidad del FVIII:C fue del 40%. De acuerdo con este estudio, otro trabajo calculó que el 57% de las variaciones del FVIII y el 66% del antígeno del FvW (FvW:Ag) fueron determinadas genéticamente ⁽³⁸⁷⁾.

El FVIII circula en el plasma unido a su proteína transportadora, el FvW ⁽³⁹⁸⁾. La interacción con el FvW sirve para estabilizar el heterodímero del FVIII y también para protegerlo de la degradación proteolítica. Los pacientes con historia de ETEV y niveles altos de FVIII:C tienen una disminución de la fracción libre de FVIII, con lo que la ratio FVIII:FvW aumenta de forma importante en estos pacientes al compararlos con los controles ⁽³⁹⁹⁾.

Los valores del complejo FVIII-FvW se ven muy influenciados por el grupo sanguíneo ABO. Los pacientes del grupo sanguíneo O tienen unas cifras del FvW:Ag y del FVIII:C que son un 25-30% más bajas que los pacientes con grupo distinto al O. Este efecto es modulado por los carbohidratos que se expresan en los glicanos del FVIII y del FvW ⁽⁴⁰⁰⁾.

Hay estudios que sugieren que los glicanos pueden influir en el aclaramiento in vivo del FvW y así determinar los niveles plasmáticos del complejo FvW-FVIII ⁽⁴⁰¹⁾.

Otros factores que se asocian al aumento de complejo FVIII-FvW incluyen el aumento de la edad, sexo (mujeres más que hombres), ejercicio, estrés, embarazo, cirugía y otras causas como la respuesta a la fase aguda (como por ejemplo, inflamación crónica o neoplasias) ⁽⁴⁰²⁾.

Diversos investigadores han valorado el posible papel de los niveles de FVIII como reactante de fase aguda y encontraron que la asociación de los niveles elevados de FVIII y trombosis es un factor independiente de los niveles de proteína C reactiva (Pcr) y de fibrinógeno. ^(389, 385, 391,384)

Diferentes estudios confirman que la elevación del FVIII aparece en más del 20% de los pacientes después de un primer episodio de TEV, futuros estudios de seguimiento han demostrado claramente que estos niveles elevados persisten durante muchos años ^(403, 385).

En pacientes con trombosis idiopática, la prevalencia de niveles elevados de FVIII fue del 25% ⁽³⁸⁴⁾.

Respecto a los mecanismos etiopatogénicos que contribuyen a los efectos trombogénicos del FVIII, dos grupos independientes de investigadores han demostrado que el FVIII plasmático elevado contribuye a la generación de trombina ^(404, 394).

Por otra parte, el FVIII puede dar lugar a trombosis mediante un mecanismo de disminución de la eficacia de los anticoagulantes naturales.

En concreto, se ha publicado que hay una relación inversa entre los niveles plasmáticos de FVIII:C y la rPCA y esto podría contribuir al fenotipo protrombótico que se observa en los pacientes con elevación del FVIII. (405, 392)

En un estudio de casos-control desarrollado en Holanda, los pacientes con niveles de FVIII mayores de 150 tenían una OR ajustada de trombosis de 4,8 para un primer episodio de trombosis comparado con los individuos que tenían niveles de FVIII por debajo del 100% (389).

Kraaijenhagen y su equipo de colaboradores, en otro estudio de casos y controles, llegaron a determinar que los niveles de FVIII:C superior a 200 UI/dL, tenían una OR para TEV de 11 (2-71) y una OR de 45 (6-370) en el caso de recurrencia trombótica. El estudio demostró que el FVIII:C es un factor de riesgo independiente de trombosis.

Legnani llevó a cabo un estudio muy interesante con la medición de los niveles de FVIII cromogénico y coagulante para concluir que los niveles altos de FVIII se asocian a un aumento de la tasa de retrombosis en los pacientes tras un primer episodio de TEV idiopático.

Estos resultados fueron corroborados posteriormente por Cosmi y su equipo, observando una OR de 2,76 (1,57-4,85) al estudiar la recurrencia trombótica en pacientes con niveles de FVIII por encima del percentil 75, tras ajustar la OR en función de la edad, sexo, trombofilia, duración del tratamiento anticoagulante y trombosis residual (406).

En otro estudio realizado en Austria con 360 pacientes que habían presentado un primer episodio de TEV espontáneo, se valoró la recurrencia de TEV que se produjo en 38 pacientes, constatándose que en ellos la mediana de los niveles plasmáticos de FVIII fue más alta que los que no se retrombosaron (182+/-66 vs 157+/-54 UI por decilitro, $p=0,009$). El riesgo relativo de retrombosis fue de 1,08 (IC 95%, 1,04-1,12; $p<0,001$) para cada aumento de 10 UI/dL en los niveles plasmáticos de FVIII.

Los individuos con valores de FVIII próximos al 90 percentil presentan un riesgo global de recidiva del 6,7 (95% de IC, 3-14,8) después de ajustar según edad, sexo, presencia o ausencia del FVL, MGP y duración de la anticoagulación oral. (407)

Pero no todos los estudios realizados hasta la fecha llegan a las mismas conclusiones, por ejemplo Shrivastva encontró una OR de 2 (1,2-3,4) para retrombosis y niveles elevados de DD, pero no demostró diferencias estadísticamente significativas para los pacientes con niveles de FVIII igual o superior a 150 UI/dL.

Otro aspecto importante que debe valorarse siempre es el probable impacto de la suma de factores de riesgo trombofílico en un paciente determinado (408). El riesgo trombótico aumenta con el consumo de AO, siendo dos veces mayor cuando la concentración de FVIII plasmático es mayor de 150 UI/dL y se usan este tipo de fármacos (390). Las pacientes en tratamiento con AO que tienen niveles de FVIII en el cuartil superior presentan un riesgo de TEV 13 veces mayor (OR: 13, IC 95% (4,92-34,3)).(409)

Parece ser que el riesgo protrombótico no es tan alto cuando se asocian alteraciones trombofílicas de carácter hereditario (FVL, MGP, déficit de AT, PC y PS), aunque existen datos que muestran que la presencia de FVIII plasmático elevado en portadores del FVL aumenta el riesgo de trombosis (410, 166).

Los pacientes asintomáticos con niveles de FVIII elevados e historia familiar de ETEV o trombosis arterial antes de los 50 años tienen una alta incidencia anual de ETEV y de trombosis arterial (411).

Los familiares de primer grado de pacientes con FVIII: C elevado y ETEV o trombosis arterial antes de los 50 años, tienen una incidencia de ETEV de 1,25% (0,46-2,73) por año cuando el FVIII:C se encuentra por encima de

la normalidad frente a 0,23% (0,03-0,82) en los que presentan valores normales (OR 5,5 (1,1-27,3)) ⁽⁴¹¹⁾.

Los niveles de FVIII elevados también pueden ser un fuerte predictor de riesgo trombótico en la población de raza negra y de hecho así fue demostrado en un estudio realizado en Reino Unido en 100 pacientes de origen africano o caribeño con trombosis venosa, de ellos el 34% tenían niveles de FVIII por encima del 90 percentil (OR 4,6) y tan sólo el 9% tenían una causa genética subyacente de trombosis (como por ejemplo: déficit de PC, PS o de AT)

El aumento de los niveles de FVIII en familiares de pacientes con ETEV sugiere que haya un componente hereditario, aunque no se ha identificado todavía el gen causal. ⁽⁴¹²⁻⁴¹⁶⁾

4.2 TROMBOFILIA ADQUIRIDA:

4.2.1 ANTICUERPOS ANTIFOSFOLÍPIDO (AAF):

Los AAF fueron descritos por primera vez en 1906 por Wassermann en pacientes con serología positiva para sífilis. Son un grupo heterogéneo de Acs dirigidos contra proteínas que se unen a los fosfolípidos, que a menudo se detectaban en pacientes con LES, por lo que se denominaron "anticoagulante lúpico" (AL). Hace unos 40 años Bowie y su equipo de investigadores descubrieron la asociación de trombosis en los pacientes con LES ⁽⁴¹⁷⁾.

Los AAF incluyen Acs que prolongan los estudios de coagulación basados en fosfolípidos, cuya diana molecular contiene cardiolipina (una proteína bovina cardíaca) y son conocidos como AL, anticuerpos anticardiolipina (aCL) y anti- β 2- glicoproteína I (anti- β 2-GPI) (los dos últimos detectados por ELISA).

La prevalencia de aCL y AL se estima que se encuentra entre el 1 y el 8% en la población general ^(418,419) y menos del 2% de los sanos tienen Acs de forma persistente ⁽⁴²⁰⁾.

Los AAF pueden aparecer de forma primaria, o en el contexto de una enfermedad subyacente que es habitualmente el LES. En los pacientes con LES la prevalencia de AAF se sitúa entre el 17-44% para aCL, del 15-34% para AL y del 23-50% de anti- β 2-GPI .

También se pueden encontrar en pacientes con infecciones como el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), sífilis, virus de la hepatitis C, enfermedad de Lyme y durante el tratamiento con algunos fármacos, como la Clorpromazina. En estos casos, los AAF suelen ser transitorios, no guardan relación con la β 2 –GPI (tipo "infeccioso" de AAF) y actúan

directamente contra los fosfolípidos aniónicos y no contra los cofactores proteínicos. En ocasiones, producen trombosis como es el caso de infecciones víricas agudas (por ejemplo, varicela, VIH) o infecciones como la fiebre Q ⁽⁴²¹⁾.

Se ha documentado que la prevalencia de los AAF es más alta (4-21%) en pacientes con trombosis. ^(422, 263)

4.2.1.1 Anticoagulante lúpico (AL):

Se trata de Acs que bloquean las superficies fosfolipídicas. Ellos disminuyen el potencial coagulativo del plasma y pueden prolongar cualquier tiempo de coagulación dependiente de fosfolípidos, tanto el TTPa, como el tiempo de protrombina (TP) en el caso de Acs antiprotrombina que pueden reducir los niveles de FII y asociar clínica hemorrágica ⁽⁴²³⁾

La ausencia de corrección del aumento del TTPa con una mezcla 1:1 con plasma libre en plaquetas y la corrección del tiempo de coagulación tras la adicción de exceso de fosfolípidos puede orientar a la presencia de AL ⁽⁴²⁴⁾, aunque no siempre, puesto que en AL débiles el test de mezclas puede ser negativo e incluso el TTPa se puede prolongar en algunos casos (efecto “cofactor”).

El patrón de test de mezcla puede ser muy variable (es el gran simulador). Puede también producir reducción de los niveles de factores de la coagulación (sobre todo FXII) debido a interacción inespecífica con la determinación de los mismos. La dilución de la muestra produce aumento de dichos niveles por reducción de dicha interferencia, al contrario de lo que ocurre con los inhibidores específicos.

Las guías de consenso recomiendan realizar el estudio de screening de AL con dos o más tests de coagulación que dependan de fosfolípidos, como son: el TTPa, tiempo de la víbora Russell diluido (TVVRD), tiempo de

Caolín (TCC), tiempo de protrombina diluido (TPD), tiempo de textarina ó tiempo de taipan. (425,426,427)

El denominado AL es una población heterogénea y no definida de Igs (IgG, IgM e IgA) con actividad anticoagulante, dirigidas fundamentalmente hacia la β 2-GPI y la protrombina como epítomos. Aproximadamente dos tercios de los AAF en pacientes con SAF tienen actividad antiprotrombina (428)

La determinación del AL es funcional y se basa en su efecto interferente al prolongar las pruebas de coagulación dependientes de fosfolípido, fundamentalmente: tiempo de tromboplastina tisular (TTT), TTPa, TCC, TPD y TVVRD.

Para el cribado es preciso realizar, al menos, dos pruebas distintas antes de descartar un AL, ya que no existe una determinación completamente específica. Es preferible la utilización de reactivos altamente sensibles a la detección del AL en el TTPa, es decir bajo contenido de fosfolípidos para el screening y alto contenido fosfolípidos para la confirmación (429).

El TVVRD es más sensible que el TCC como predictor del riesgo trombótico y se perfila como el de elección para el cribado (con baja concentración de fosfolípidos) y para la confirmación (con alta concentración de fosfolípidos) del AL. Si la prueba de cribado se realiza con diferentes concentraciones de fosfolípidos y se refiere a un plasma normal, se incrementa notablemente su sensibilidad (430)

La utilización de plaquetas como sustrato fosfolipídico no es recomendable. La determinación del AL tiene mayor especificidad, pero menor sensibilidad diagnóstica que la de los aCL para el SAF, aunque la mayoría de los pacientes con SAF son positivos a ambos (431).

La presencia de AL se muestra como el factor de riesgo más importante para el desarrollo de episodios trombóticos en pacientes con aCL (428) y la

asociación con otros AAF aumenta el riesgo trombótico (sobre todo la triple asociación).

4.2.1.2 Acs anticardiolípina (aCL):

Estos Acs muestran afinidad in vitro por las cardiolípinas, también conocidas como difosfatidil-glicerol y pueden ser detectados por ensayos inmunoenzimáticos. La cardiolípina es un extracto de las membranas celulares cardíacas y es la diana antigénica de los tests serológicos utilizados para el diagnóstico de sífilis.

Los isotipos de Igs pueden ser IgG, IgM ó IgA. Se postula que el isotipo IgG se asocia más potentemente con trombosis, aunque no se ha demostrado en estudios prospectivos. ⁽⁴³²⁾

Los resultados de los Acs aCL se informan como un título específico del isotipo IgG, IgM ó IgA y debido a que la fiabilidad de los resultados es limitada, las guías recomiendan informar los resultados de forma semicuantitativa (título bajo, medio ó alto) ⁽⁴³³⁾.

Los aCL pertenecen (al igual que el AL) a distintos isotipos, fundamentalmente a: IgG, IgM e IgA. La cardiolipina, también conocida como difosfatidilglicerol, es un complejo antigénico constituido principalmente por fosfolípidos de la membrana mitocondrial. El descubrimiento de que los Acs iban dirigidos, preferentemente, no hacia el antígeno cardiolipina, sino contra la β 2-GPI llevó a su utilización como cofactor en la determinación de aCL; este hecho y la introducción de placas de alta exposición antigénica han mejorado sustancialmente la sensibilidad analítica y clínica ⁽⁴²⁸⁾.

El isotipo IgG aCL es el que mejor se correlaciona con los fenómenos trombóticos.

Como la determinación de aCL presenta mayor sensibilidad diagnóstica para el SAF (aunque menor especificidad) que la del AL y los Acs anti- β 2GPI, puede ser un método adecuado de cribado para poblaciones de riesgo con baja razón de verosimilitud para el SAF como, por ejemplo, mujeres embarazadas o pacientes que han padecido algún episodio isquémico.

4.2.1.3 Acs anti- β 2GPI:

Los anti- β 2GPI son Acs de baja afinidad, cuya unión a los epítomos es dependiente de la densidad antigénica en el sistema analítico, requiriendo un umbral. De los isotipos de anti- β 2GPI: IgG, IgM e IgA, es la IgG (como en el caso de aCL) el que mejor se correlaciona con la presencia de AL y con los principales fenómenos del SAF. No obstante, algunos autores han observado también una excelente relación entre el isotipo IgA y algunas presentaciones clínicas de SAF y han aconsejando la determinación conjunta de los isotipos IgG e IgA. ⁽⁴³⁴⁾

Los anti- β 2-GPI son más específicos y poseen mayor valor predictivo positivo que los aCL para el SAF ⁽⁴³⁵⁾. Sin embargo, los anti- β 2GPI no se consideran un factor de riesgo trombótico independiente de los aCL ^(436, 432).

La β 2-GPI es la principal diana de los AAF en los ensayos anti- β 2-GPI. En el caso de fosfolípidos aniónicos, los Acs pueden unirse a la β 2-GPI, a otras proteínas que se unen a fosfolípidos ó posiblemente a los fosfolípidos de forma directa.

4.2.1.4 SAF:

El SAF fue definido por Hughes en 1983 y se caracteriza por ser una alteración trombofílica que predispone a trombosis arteriales (ACV, IAM) y venosas ó abortos de repetición asociados a AAF persistentes. Otras alteraciones que se asocian al síndrome son: trombocitopenia, hipoprotrombinemia, alteraciones de la función plaquetaria, inhibidores adquiridos de los factores de coagulación, vasculitis, alteraciones de las válvulas cardíacas, artralgias, migrañas, necrosis digital, livedo reticularis e hipertensión pulmonar. ⁽⁴³⁷⁾

Se han empleado diversos sinónimos para el SAF, que se conoce también como síndrome anticardiolipina, síndrome antifosfolípido, síndrome cofactor antifosfolípido, síndrome de Hughes, síndrome de Acs antifosfolípido; y en Francia es conocido como síndrome Soulier-Boffa.

Actualmente se considera una de las causas más frecuentes de trombofilia adquirida y ACV en menores de 50 años.

El SAF puede ser primario o asociado a otra enfermedad (más frecuentemente LES).

Raramente, algunos pacientes desarrollan un SAF catastrófico, en el cual se producen trombos en los vasos de pequeño y de gran calibre que en muchas ocasiones acaba con el desarrollo de un fracaso multiorgánico. El SAF catastrófico es desencadenado generalmente por una infección o cirugía recientes.

El diagnóstico del SAF primario se basa en criterios clínicos y presencia de AAF presentes en dos o más ocasiones separados al menos 12 semanas.

Criterios de clasificación de Sapporo revisados de SAF : (427)

-Criterios clínicos (uno o más):

- 1) Trombosis vascular: uno o más episodios de trombosis arterial o venosa confirmada de forma objetiva.
- 2) Complicaciones obstétricas:
 - Una ó más muertes fetales inexplicables, de un feto morfológicamente normal de \geq de 10 semanas de gestación.
 - Una ó más muertes prematuras de un neonato morfológicamente normal antes de la 34 semana de gestación por eclampsia, preeclampsia o insuficiencia placentaria.
 - Tres o más abortos inexplicados consecutivos antes de la semana 10 de gestación.

-Criterios de laboratorio (uno ó más, presentes en dos o más ocasiones, separados al menos 12 semanas y no antes de 5 años de las manifestaciones clínicas).

- a) AL, detectado según las guías de la Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasia.
- b) aCL IgG y/o IgM a título medio o alto (mayor de 40 GPL ó MPL, o por encima del 99 percentil), medidos por el método ELISA.
- c) Anti- β 2-GPI IgG y/o IgM presentes a título por encima del 99 percentil, medidos por el método ELISA.

4.2.1.5 Patogénesis de trombosis en pacientes con AAF:

La principal diana antigénica de los AAF con carácter trombogénico no son los fosfolípidos, sino que más bien son epítomos de las proteína de unión a fosfolípidos y la más importante de ellas parece ser la β 2-GPI. Los mecanismos de trombosis en los pacientes con AAF son desconocidos, aunque se manejan diversas hipótesis ⁽⁴³⁸⁾. Hay datos que sugieren que estos Acs inducen trombosis por uno o más de los siguientes mecanismos:

1) Uno de ellos sería la interferencia de los Acs con anticoagulantes endógenos :

1. Disrupción de la Anexina A5 ⁽⁴³⁹⁾

La anexina V ejerce una función trombomoduladora en la circulación placentaria. La eliminación de la anexina V de la superficie celular por los AAF deja expuesta la membrana apical de los sincitiotrofoblastos, con el consiguiente incremento de la actividad trombótica. ⁽⁴⁴⁰⁾

Los AAF interfieren en la formación de la capa antitrombótica de anexina V, lo que ocasiona una mayor disponibilidad de los fosfolípidos para el proceso coagulativo. Este mecanismo estaría implicado en el desarrollo de pérdidas fetales.

2. Inhibición de la vía de la PC y de la PS:

Estos Acs pueden inducir una resistencia adquirida de la PCA ⁽⁴⁴¹⁾

3. Inhibición de la AT.

4. Acs contra el inhibidor de la vía del FT.

5. Interferencia con los mecanismos de fibrinólisis:

Inhibiendo el activador tisular del plasminógeno, la anexina A2 ó aumento de los niveles del PAI-I.

6. Interacción con la β 2-GPI plaquetaria:

Disminuyendo la adhesión plaquetaria mediada por el FvW y la posterior activación.

2) AAF que generan moléculas de señalización protrombóticas o proadhesivas mediante:

1. Inducción de moléculas de superficie a nivel endotelial:

Los AAF reconocen, dañan y/o activan las células endoteliales cultivadas ⁽⁴⁴²⁾. Algunas de las propuestas terapéuticas del SAF tienen como objetivo prevenir la activación endotelial ⁽⁴⁴³⁾. Los pacientes con SAF y trombosis arterial tienen un aumento de los niveles plasmáticos de endotelina 1, que podría jugar un papel en modular el tono vascular y en la oclusión arterial trombótica.

2. Inducción de la expresión de FT en monocitos y células endoteliales:

Pueden aumentar la actividad del FT y la generación de FXa a través de suprimir la inhibición del FT ⁽⁴⁴⁴⁾

3. Aterosclerosis:

Tanto estudios in vivo como in vitro apoyan la hipótesis de que los AAF aceleran el desarrollo de las placas de ateroma ⁽⁴⁴⁵⁾, aunque otros autores no

apoyan estos datos ⁽⁴⁴⁶⁾. Se ha demostrado que las cardiolípinas oxidadas son epítomos para muchos aCL y que tanto la β 2-GPI como las lipoproteínas de baja densidad oxidadas (LDLox) comparten epítomos reconocidos por AAF monoclonales. También se ha observado que los títulos altos de aCL son un factor de riesgo independiente para el engrosamiento de la íntima media.

4. Activación de las plaquetas:

En pacientes con SAF se detecta la existencia de plaquetas activadas y los AAF pueden estimular la agregación plaquetaria, bien actuando directamente sobre las plaquetas aglutinadas o aumentando la concentración de agonistas. Los AAF pueden desequilibrar la síntesis de eicosanoides, confiriéndoles carácter protrombótico. También se ha descrito que estos Acs inducen la activación plaquetaria aumentando la expresión de marcadores de superficie glucoproteína plaquetar IIb/IIIa (GPIIb/IIIa (CD41a)) y glucoproteína plaquetar IIIa (GPIIIa (CD61)).

5. Activación de la cascada de complemento:

Es conocido que la activación del complemento a nivel placentario produce daño fetal ⁽⁴⁴⁷⁾.

4.2.1.6 Trombosis y AAF:

Los pacientes con AAF pueden presentar trombosis venosa o arterial en cualquier localización, pero la TVP de las extremidades inferiores es la localización más frecuente y sucede en aproximadamente la mitad de los pacientes afectados ^(448, 449).

Otras localizaciones de trombosis son el TEP, trombosis de venas torácicas (vena cava superior, vena subclavia o vena yugular) y trombosis abdominal o de las venas de la pelvis.⁽⁴⁴⁹⁾ Una cuarta parte de los pacientes debutan con trombosis arterial y el resto presentan de forma concomitante trombosis venosa y arterial.⁽⁴⁴⁹⁾ Otras formas de presentación son el ACV, TMS⁽⁴⁴⁸⁾, IAM , infarto de las glándulas adrenales, trombosis aórtica con infarto renal ⁽⁴⁵⁰⁾ y trombosis de la arteria mesentérica ⁽⁴⁵¹⁾

La trombosis puede suceder de forma espontánea o en presencia de otros factores de riesgo como la THS, los AO ^(452,453), el estasis vascular, cirugía o trauma.

Las mujeres tienen un alto riesgo de trombosis venosa durante el embarazo y el postparto ⁽⁴⁵²⁾. Algunos pacientes con SAF y trombosis venosa tienen otras alteraciones trombofílicas como puede ser el FVL ⁽⁴⁵⁴⁾

El factor de riesgo más importante de retrombosis en pacientes con SAF es el desarrollo de un episodio trombótico inicial, de hecho alcanza un 30% a los 4 años de seguimiento del primer suceso de TEV. El riesgo de recurrencia se correlaciona con el título de Acs ^(455, 456) y con la presencia de AL. Además, la presencia de Acs frente al dominio I de la β 2-GPI aumenta el riesgo de trombosis comparado con los Acs que no dependen del dominio I y con el AL que no es dependiente del dominio I ⁽⁴⁵⁷⁾.

La edad habitual de presentación de las trombosis suele ser en torno a los 35-45 años ⁽⁴⁵⁸⁾. Exceptuando a los pacientes con LES, ambos sexos se afectan por igual ⁽⁴⁵⁸⁾. Por otra parte no se han observado diferencias en la distribución de las trombosis en el SAF primario o secundario. ⁽⁴⁵²⁾ Los AAF se asocian con un aumento del riesgo de ETEV en pacientes con LES (OR de 6,32, IC95% (3,71-10,78), comparado con los pacientes que no tienen Acs. Ésto también sucede en los pacientes que no padecen LES (OR de 11,1, IC95% 3,81-32,3).

En general, la presencia de AL es un factor pretrombótico más potente que los niveles elevados de aCL ^(422, 459). En un metaanálisis de 25 estudios que incluye más de 7000 pacientes, la OR para trombosis fue de 1,6 para aCL y 11 para AL ^(459, 460). A pesar de estos metaanálisis, no existen grandes estudios prospectivos de pacientes no seleccionados, en los cuales se hayan determinado los AAF de manera previa a la aparición de la trombosis.

El riesgo absoluto de una nueva trombosis, con la presencia de AAF es bajo (<1% por año) en pacientes que no han tenido trombosis previa; puede aumentar de forma moderada (más de 10% por año) en mujeres con abortos de repetición y es más alto (más de 10% por año) si hay historia previa de trombosis y se ha interrumpido el tratamiento anticoagulante después de 6 meses. ⁽⁴⁶¹⁾

En los pacientes con LES, la incidencia de trombosis es de 2 por 100 pacientes/año en un estudio prospectivo de cohortes de 551 pacientes, de los cuales 49% tenían AL ó aCL ⁽⁴⁶²⁾. La OR de trombosis fue de 3,2 (IC 95%, 1,43-7,14) para el AL y de 6,8 (IC 95%, 1,53-30,2) para los títulos altos de aCL.

En el estudio de trombofilia Leiden, el AL fue hallado en 3,1% de los pacientes y 0,9% de los controles, con un riesgo relativo de 3,6 (IC del

95%, 1,2-10,9) ⁽⁴⁶³⁾. El riesgo de trombosis en este estudio solamente aumentó cuando se detectaron los anticuerpos anti- β 2-GPI, en estos casos la OR fue de 10 ⁽⁴⁶³⁾.

La manifestación inicial más frecuente en los pacientes con SAF es la TVP de miembros inferiores, que ocurre en el 32% de los pacientes que cumplen los criterios diagnósticos ⁽⁴⁶⁴⁾

El riesgo de fenómenos tromboembólicos, así como la certeza en el diagnóstico puede aumentar con el nivel de AAF y con el número de las diferentes pruebas de AAF presentes en una persona. Esto se puso de manifiesto en un estudio caso-control de 208 pacientes con sospecha de SAF y un número igual de controles pareados en edad y sexo ⁽⁴⁶⁵⁾

Cada incremento de 10 U de IgM o IgG de aCL se asoció con un aumento de 5 a 7% en el riesgo de tromboembolismo. Además, cada especificidad adicional de AAF (por ejemplo, aCL sólo versus aCL más AL frente a aCL más AL más anti- β 2-GPI se asocia con un aumento del 50 a 70 % en las probabilidades de episodios tromboembólicos arteriales o venosos ⁽⁴⁶⁵⁾.

La trombosis parece ser la causa de muchas complicaciones obstétricas asociadas al SAF. El riesgo de muerte fetal y de prematuridad en pacientes gestantes con AAF es más alto que en las mujeres que no presentan dichos Acs ^(466, 467), de hecho la prevalencia de los Acs en mujeres con abortos de repetición, es del 20%, 4 veces mayor que la que se observa en mujeres sanas ⁽⁴⁶⁸⁾. La asociación entre los AAF y los abortos de repetición, es más fuerte cuando los abortos suceden más allá de la décima semana de gestación.

La tasa de nacidos vivos es más baja cuando dichos Acs están presentes y varía de 62 al 84% comparado con el 90-98% que se observa cuando los Acs son negativos ⁽⁴⁶⁹⁾.

La relación entre los AAF y el riesgo de prematuridad debido a preeclampsia, eclampsia y retraso del crecimiento intrauterino continúa siendo controvertido, dado que los estudios que se han realizado al respecto son pequeños, retrospectivos y muestran resultados dispares ⁽⁴⁷⁰⁾

Por otra parte, los AAF también se asocian con un aumento del riesgo de ictus, fundamentalmente en pacientes jóvenes.

En cuanto al riesgo de recidiva trombótica y la presencia de AAF, estudios prospectivos demuestran que los pacientes con un episodio inicial de trombosis, incluso los que han completado 6 meses de tratamiento anticoagulante tienen un riesgo de retrombosis mayor, cuando se detectan aCL (29% frente a 14% para los que no tienen aCL ($p= 0,0013$)). El riesgo de recurrencia es más alto en los primeros meses de discontinuación del tratamiento anticoagulante y se sitúa entre el 50 y el 67% por año. ^(455, 471, 472, 473)

La incidencia de trombosis es más alta durante los primeros 6 meses de interrupción del tratamiento, con una tasa de de 1,3 episodios por año de seguimiento ⁽⁴⁷³⁾. Los pacientes con trombosis venosa suelen recurrir con episodios trombóticos venosos y los pacientes con trombosis arterial tienen recidivas a nivel del territorio arterial. ^(472, 456)

En resumen tanto estudios retrospectivos como prospectivos han demostrado que los pacientes con un primer episodio de TEV presentan un alto riesgo de recidiva si se suspende el tratamiento anticoagulante ^(455, 471)

y algunos expertos recomiendan prolongar el tratamiento anticoagulante oral (TAO) de forma indefinida después de producirse un episodio de TEV ⁽⁴⁷⁴⁾, aunque esto último no está aceptado universalmente ⁽⁴⁷⁵⁾.

La anticoagulación oral de intensidad moderada con Warfarina (Relación internacional normalizada (INR) 2-3) reduce el riesgo de trombosis recurrente de un 80 a 90% y también puede ser efectiva para prevenir la trombosis arterial recurrente. No existen todavía evidencias suficientes de que el tratamiento anticoagulante de alta intensidad (INR>3) sea más efectivo que el tratamiento de intensidad moderada.

Para pacientes con AAF y antecedentes de ACV, el tratamiento con ácido acetilsalicílico y la anticoagulación oral con warfarina a intensidad moderada parece ser efectivo para prevenir la recurrencia ⁽⁴⁶¹⁾, aunque no parece haber preferencias entre ambos ⁽⁴⁷⁶⁾.

4.2.2 HIPERHOMOCISTEINEMIA:

La homocisteína es un aminoácido que se forma por la conversión de metionina a cisteína. La homocistinuria es un trastorno autosómico recesivo caracterizado por aumento de la homocisteína en plasma y orina.

Las manifestaciones clínicas incluyen retraso mental, osteoporosis, anomalías oculares, ETEV y aterosclerosis temprana.

La elevación moderada de los niveles de homocisteína es relativamente común y su frecuencia oscila del 5 al 7%.⁽⁴⁷⁷⁾ La evidencia sugiere que la hiperhomocisteinemia moderada es un factor de riesgo independiente de enfermedad vascular aterosclerótica y de TEV recurrente.

4.2.2.1 Etiología de la hiperhomocisteinemia:

La homocisteína se metaboliza por una de las siguientes vías: transulfuración y remetilación. La transulfuración de la homocisteína a cisteína se cataliza por la cistationina- β -syntasa, este proceso requiere de la vitamina B6 como cofactor. La remetilación de la homocisteína produce metionina. Esta reacción se cataliza o bien por la metionina sintasa o por la betaina-homocisteína metiltransferasa. La vitamina B12 es el precursor de la metilcobalamina, que es cofactor de la metionina sintasa.

La elevación en plasma de los niveles de homocisteína puede deberse a alteraciones genéticas que afectan al metabolismo de la homocisteína, como la mutación de la metilen-tetrahidrofolato-reductasa (MTHFR T/T) o de la cistationina β -sintasa (CBS) ⁽⁴⁷⁸⁾.

También puede ser debida a deficiencias nutricionales de algunas vitaminas que actúan como cofactores, de hecho esto pudo confirmarse en un estudio realizado en pacientes vegetarianos en los cuales se observó que los niveles de homocisteína aumentaban en vegetarianos y que se correlacionaba únicamente y de forma negativa con los niveles de cobalamina ⁽⁴⁷⁹⁾.

Las concentraciones séricas de homocisteína son mucho más bajas en mujeres premenopáusicas que en postmenopáusicas y esta diferencia podría explicar la baja frecuencia de enfermedad cardiovascular en mujeres premenopáusicas. En los hombres, los valores en ayunas aumentan con la edad, de forma paralela a la disminución de los cofactores del metabolismo de la homocisteína (vitamina B12, folatos y piridoxina). En ambos sexos, los valores plasmáticos de homocisteína en ayunas se correlacionan de forma negativa con los niveles de folatos y de vitamina B12. ⁽⁴⁸⁰⁾

Otros factores como enfermedades crónicas y fármacos como los fibratos y el ácido nicotínico, pueden aumentar los niveles de homocisteína aproximadamente un 30%, sin embargo se desconoce la trascendencia clínica de este aumento ^(481, 482). El hábito de fumar también puede elevar los niveles de homocisteína. La insuficiencia renal crónica puede aumentar las cifras de homocisteína debido a un descenso en su eliminación y al deterioro de su metabolismo.

a) Variantes termolábiles de MTHFR:

La forma más común de hiperhomocisteinemia genética resulta de la producción de una variante termolábil de MTHFR con actividad enzimática reducida (mutación T) ⁽⁴⁸³⁾.

El gen que codifica esta variante contiene una sustitución en el nucleótido 677, de citosina a timina. ⁽⁴⁸⁴⁾

La frecuencia de este gen en la población, varía entre un 5 y un 14%. ⁽⁴⁸⁵⁾

La homocigosidad para la variante de la MTHFR (genotipo TT) es una causa relativamente frecuente de elevación moderada de los niveles de homocisteína, que a menudo se asocia con bajos niveles de folato sérico. ⁽⁴⁸⁶⁾

En un estudio realizado de 1992 a 1993 en 18043 individuos de entre 40 y 67 años de edad, 67 casos (0,4%) presentaban niveles de homocisteína \geq 40 micromoles/litro ($\mu\text{mol/L}$) y al compararlos con 329 controles, la mayoría tenían niveles de cobalamina y de fólico bajos en sangre o bien referían aumento del consumo de café o hábito tabaquico. ⁽⁴⁸⁷⁾

Otro estudio en 625 hombres, encontró que el 11,5% eran homocigotos para el genotipo TT y que también presentaban concentraciones bajas de folatos ⁽⁴⁸⁸⁾.

b) Déficit de vitaminas:

El aumento de los niveles sanguíneos de homocisteína puede reflejar la deficiencia de folatos, vitamina B6 y/o vitamina B12. ⁽⁴⁸⁹⁾

Un estudio de cohortes prospectivo con más de 80000 mujeres sin antecedentes de enfermedad vascular coronaria, cancer, dislipemia o diabetes cuyo objetivo principal fue evaluar la frecuencia de IAM no mortal y de enfermedad coronaria mortal en este subgrupo de pacientes, concluyó que la ingesta de ácido fólico y de vitamina B6 por encima de la cantidad diaria recomendada actual puede ser importante en la prevención primaria de la enfermedad coronaria en la mujer ⁽⁴⁹⁰⁾.

El ácido fólico y sobre todo, la vitamina B12 son fuertes determinantes de la concentración de homocisteína. Los niveles de homocisteína están inversamente relacionados con el consumo de ácido fólico, alcanzando un nivel de base estable cuando la ingesta de fólico supera los 400 microgramos (μg) /día. ^(491,492) La vitamina B6 es un determinante más débil. ⁽⁴⁹²⁾

En una cohorte de 1041 pacientes mayores, se evaluó la importancia del déficit vitamínico en la patogénesis de la hiperhomocisteinemia ⁽⁴⁹¹⁾, llegando a la conclusión de que dos terceras partes de los pacientes con niveles elevados de homocisteína tienen concentraciones bajas de folatos, vitamina B12 o piridoxina-5-fosfato (coenzima de la vitamina B6).

En un estudio de casos-control europeo, la prevalencia de deficit de vitamina B6, vitamina B12 y ácido fólico en hombres con hiperhomocisteinemia fue del 25%, 56,8% y 59,1% respectivamente y el suplemento diario vitamínico con 10 mg de piridoxina, 1 mg de ácido fólico y 0,4 mg de cianocobalamina normalizó las concentraciones elevadas de homocisteína en unas 6 semanas. ⁽⁴⁹²⁾

Estos datos sugieren que la ingesta subóptima de vitamina B12 o la malaabsorción, podrían desempeñar un papel importante en la elevación de la homocisteína y el riesgo de enfermedad coronaria posterior, sobre todo en pacientes mayores.

Por otro lado, el déficit de ácido fólico, lo suficientemente bajo como para aumentar la homocisteína en plasma puede ser relativamente común en la población general, en particular en los consumidores moderados de alcohol.

Los pacientes que reciben suplementos dietéticos, como cereales enriquecidos con ácido fólico presentan un aumento significativo de la concentración de ácido fólico y niveles más bajos de homocisteína. Además la prevalencia de hiperhomocisteinemia ($>13 \mu\text{mol/L}$), disminuye del 18,7 % antes de la suplementación al 9,8 % ⁽⁴⁹³⁾.

La evidencia del papel del ácido fólico y tal vez la vitamina B6 en la hiperhomocisteinemia proviene de un ensayo que asignó al azar a 158 hermanos sanos de 167 pacientes con aterotrombosis prematura a ácido fólico (5 mg al día) y vitamina B6 (250 mg al día) o bien a placebo.

Después 2 años de seguimiento, los niveles de homocisteína en ayunas y postmetionina disminuyeron de forma significativa, de 14,7 a 7,4 $\mu\text{mol/L}$ y de 64,9 a 34,9 $\mu\text{mol/L}$ respectivamente, mientras que no hubo cambios en los pacientes con placebo. ⁽⁴⁹⁴⁾

4.2.2.2 Trombosis e hiperhomocisteinemia:

La homocisteína tiene propiedades aterogénicas y protrombóticas. Las características histopatológicas de la lesión vascular inducida por homocisteína, incluyen: engrosamiento de la íntima, alteración de la lámina elástica, hipertrofia del músculo liso, acumulación de plaquetas y la formación de trombos ricos en plaquetas. La lesión de las células endoteliales inducida por homocisteína da lugar a aterosclerosis y es mediada por las plaquetas que producen proliferación de la íntima y de las células musculares lisas. ⁽⁴⁹⁵⁾

Los niveles plasmáticos de homocisteína se encuentran elevados en el 20-30% de los pacientes con aterosclerosis precoz.

La homocisteína produce un aumento de la proliferación de las células musculares lisas vasculares y un efecto inhibitorio sobre el crecimiento de las células endoteliales, esto representa un mecanismo importante en la génesis de la aterosclerosis inducida por la homocisteína ⁽⁴⁹⁶⁾.

Hay múltiples mecanismos por los cuales la homocisteína puede inducir daño vascular:

- El metabolito de la homocisteína, la tiolactona, puede unirse al LDL (lipoproteína de baja densidad)-colesterol y producir agregados, que son absorbidos por los macrófagos de la íntima arterial; estas células espumosas pueden posteriormente liberar los lípidos en las placas ateroscleróticas. ⁽⁴⁹⁷⁾
- La homocisteína aumenta la proliferación de las células musculares lisas y la producción de colágeno ⁽⁴⁹⁸⁾
- En los pacientes con síndrome coronario agudo se han observado concentraciones elevadas de homocisteína y esto puede provocar

aumento del FVIIa y de la generación de trombina.⁽⁴⁹⁹⁾ Estos hallazgos explican el efecto protrombótico de la homocisteína en el síndrome coronario agudo e incluyen la activación del FVIIa y FV, inhibición de la PC y del heparán-sulfato, aumento del fibrinopéptido A y de los fragmentos 1 y 2 de la protrombina, aumento de la viscosidad sanguínea y disminución de la actividad antitrombótica endotelial, así como disminución de los lugares de unión del activador tisular del plasminógeno en las células endoteliales ^{(500, 501, 502).}

- La homocisteína promueve el reclutamiento de leucocitos debido a la secreción de citoquinas como son la proteína-1 y de la interleuquina 8 (IL-8) ^{(503).}
- La exposición prolongada de las células endoteliales a la homocisteína disminuye la actividad de la dimetil-arginina dimetilaminohidrolasa (DDAH), que es la enzima que degrada la dimetilarginina asimétrica (ADMA), (un inhibidor endógeno de la síntesis de ON); esto produce un acúmulo de ADMA e inhibe la síntesis de ON, el cual se caracteriza por tener un efecto vasodilatador.

Mediante este mecanismo puede explicarse el efecto de la homocisteína de alterar la vasodilatación del endotelio mediada por ON ^{(504).}

- Se va a producir una acumulación de plaquetas, que puede ser secundaria a una alteración de la inhibición plaquetaria mediada por el endotelio o directamente al efecto proagregante de la homocisteína ^{(505).}
- Se han examinado los efectos tóxicos de la homocisteína en cultivo de células endoteliales y se ha podido comprobar que puede

producirse por la formación de peróxido de hidrogeno en una reacción catalizada por el cobre ⁽⁵⁰⁶⁾

La evidencia del papel de la homocisteína en la disfunción endotelial, está basada en diversos estudios que muestran que el suplemento de ácido fólico y la reducción de los niveles de homocisteína puede mejorar la función endotelial en pacientes con enfermedad arterial coronaria ⁽⁵⁰⁷⁾.

Una hipótesis alternativa es que la hiperhomocisteinemia no es directamente perjudicial, sino que inhibe indirectamente los flujos de metilo durante transmetilación de metionina; posteriormente, debido a la metilación del ácido desoxirribonucleico (ADN) se alterarán multitud de procesos fisiológicos, necesarios para que el ADN desarrolle sus funciones de forma normal ⁽⁵⁰⁸⁾.

Un estudio en pacientes con uremia, en tratamiento con hemodiálisis e hiperhomocisteinemia, descubrió un aumento en los niveles de hipometilación del ADN y consecuentemente expresión de genes alterados, que revirtió tras el tratamiento con ácido fólico ⁽⁵⁰⁹⁾.

Existen ensayos de laboratorio que permiten la cuantificación de la concentración plasmática de homocisteína; aproximadamente el 75-85% va unida a proteínas y de un 15-25% circula en forma libre ⁽⁵¹⁰⁾. Las concentraciones normales de homocisteína varían entre 5 y 15 $\mu\text{mol/L}$. La hiperhomocisteinemia se ha clasificado de la siguiente forma: moderada (15 a 30 $\mu\text{mol/L}$), intermedia (30 a 100 $\mu\text{mol/L}$) y grave ($>100 \mu\text{mol/L}$), aunque los rangos de normalidad pueden variar en dependencia de cada laboratorio.⁽⁵¹¹⁾

En los pacientes con sospecha de hiperhomocisteinemia que presentan niveles de normales de homocisteína en ayunas, puede administrarse una

carga oral de metionina (100 mg/kilogramo (kg)). Esta carga oral es más útil en pacientes con déficit de CBS que en aquellos con déficit de MTHFR. La concentración de homocisteína se mide inicialmente en ayunas y a las 4 y 8 horas después de la carga de metionina ⁽⁴⁸⁵⁾.

Podemos afirmar que el paciente tiene alterado el metabolismo de la homocisteína si a las 4 hs de la administración de metionina, la concentración de homocisteína se encuentra por encima de dos desviaciones estándar.

El significado pronóstico de esta prueba continúa siendo desconocido, de hecho en un estudio realizado en pacientes homocigotos para la variante termolábil de la MTHFR, solamente los pacientes con niveles elevados de homocisteína en ayunas presentaron asociación con la enfermedad arterial coronaria y no fue así en los que tenían concentraciones altas post-carga oral de metionina ⁽⁴⁸⁵⁾.

Al contrario de lo que ocurre con otros factores de hipercoagulabilidad, como por ejemplo el FVIII, los niveles de homocisteína se ven minimamente influenciados por las situaciones de estrés, como pueden ser el IAM o la angina inestable. ⁽⁴⁹⁹⁾

-Papel de la homocisteína en el TEV :

Hay diversos estudios, en los cuales se evidencia que la hiperhomocisteinemia es un factor de riesgo de TEV; uno de ellos realizado en Holanda comparó 269 pacientes con un primer episodio de TEV con 269 controles y en ellos se midieron los niveles de homocisteína, considerando hiperhomocisteinemia los niveles próximos al 95 percentil.

De los 269 pacientes, 28 (10%) tenían hiperhomocisteinemia frente a 13 de los controles (OR 2,5; IC 95% 1,2-5,2) ^(512.)

Por otro lado un metaanálisis que revisó todos los estudios casos-control realizados desde 1984 a 1997 encontró una OR de 2,5 (IC 95%, 1,8-3,5) para las concentraciones de homocisteína en plasma próximas al 95 percentil o con una media superior a dos desviaciones estándar y calculada a través de una distribución del grupo control. ⁽⁵¹³⁾

Otro metaanálisis mostró un riesgo significativo de TEV en pacientes con hiperhomocisteinemia que han presentado uno o varios episodios de TEV, además el riesgo parece ser mayor en pacientes con ETEV menores de 60 años ^{(514).}

La hiperhomocisteinemia moderada (15 a 30 $\mu\text{mol/L}$) puede ser también un factor de riesgo de trombosis venosa. Esta conclusión se obtiene de un estudio multicéntrico con pacientes con un único episodio de TEV idiopático que fueron evaluados prospectivamente tras la suspensión de la anticoagulación oral. La recidiva trombótica sucedió en 12 de 66 pacientes con hiperhomocisteinemia (18,2%) y en 16 de 198 pacientes sin hiperhomocisteinemia (8,1%). La probabilidad acumulada de recurrencia a los 24 meses de suspender la anticoagulación oral fue de 19,2% (IC 95%, 8,7-27) en pacientes con hiperhomocisteinemia y del 6,3% (IC 95%, 2,4-10,1; $p=0,001$) en aquellos sin hiperhomocisteinemia ^{(515).}

Algunos estudios sugieren que el riesgo de trombosis puede aumentar de 10 a 50 veces en los pacientes con hiperhomocisteinemia y alguna alteración trombofílica congénita asociada como por ejemplo el FVL. En relación a esta hipótesis existe un estudio de cohortes prospectivo, en el cual se determinaron los niveles de homocisteína y la mutación del FVL en 145 hombres sanos que posteriormente desarrollaron TEV y en 646 hombres

que no presentaron enfermedad vascular durante un período de seguimiento de 10 años. La hiperhomocisteinemia fue definida como los niveles de homocisteína próximos al 95 percentil (17,25 $\mu\text{mol/L}$). Los pacientes que presentaban hiperhomocisteinemia y la mutación del FVL tuvieron un riesgo 10 veces mayor de desarrollar cualquier tipo de TEV ($\text{RR}=9,65$, $p=0,009$) y 20 veces mayor de tener TEV idiopático ($\text{RR}=21,8$, $p=0,0004$)⁽⁵¹⁶⁾.

Sin embargo, otros estudios no han confirmado estos hallazgos, y estos resultados contradictorios pueden deberse a problemas estadísticos debido al pequeño número de pacientes que son portadores de las dos alteraciones trombofílicas, aunque la mayoría de los estudios muestran que la presencia de la mutación C677T MTHFR en homocigosis no aumenta el riesgo de trombosis cuando se asocia al FVL o a la MGP⁽⁵¹⁷⁾

Por otro lado, los resultados del estudio LITE, demostraron que los portadores del polimorfismo C677T de MTHFR en homocigosis no presentaban un mayor riesgo trombótico que los pacientes con genotipo normal ($\text{OR}=0,74$, $\text{IC } 95\% = 0,56-0,98$)⁽⁵¹⁸⁾

En la misma línea, el estudio MEGA concluyó que tanto el polimorfismo MTHFR C677T, como MTHFR 677TT no se asocian a mayor riesgo de trombosis venosa ($\text{OR } 0,99$, $\text{IC } 95\% (0,91-1,08)$ y $\text{OR } 0,94$, $\text{IC } 95\% (0,81-1,08$; respectivamente)⁽⁵¹⁹⁾.

Otro estudio prospectivo reciente, tampoco encontró correlación entre el genotipo MTHFR TT y el riesgo trombótico, aunque si que hubo una correlación positiva entre los niveles elevados de homocisteína y la trombosis venosa en hombres, no siendo así en mujeres⁽⁵²⁰⁾

Se han realizado varios estudios, algunos de ellos aleatorizados con el objetivo de evaluar la respuesta al tratamiento con diversas vitaminas (ácido fólico, vitamina B6, vitamina B12) en la prevención de la recidiva

de pacientes que han presentado un primer episodio de TEV, mediante la disminución de la concentración de la homocisteína. El tratamiento con suplementos vitamínicos no parece ser efectivo en este grupo de pacientes. (521,522).

- Homocisteína y trombosis arterial:

A pesar de que en algunos trabajos previos no es posible afirmar que las concentraciones elevadas de homocisteína se correlacionen con la enfermedad arterial coronaria o el ACV (524,525), un metaanálisis reciente de varios estudios observacionales prospectivos y retrospectivos sugiere que la elevación de homocisteína es un factor predictivo independiente de cardiopatía isquémica y de ACV. (526)

Estos resultados fueron confirmados en otro metaanálisis que incluyó 11162 pacientes homocigotos para la variante termolábil de MTHFR y 12758 controles. Los pacientes con el genotipo MTHFR 677TT tienen un 16% más de probabilidades de enfermedad arterial coronaria que los pacientes con genotipo CC (OR, 1,16; IC 95%: 1,05-1,28), sobre todo si se asocia a disminución de los niveles de ácido fólico. La alteración del metabolismo del ácido fólico produce elevación de las cifras de homocisteína, causando un aumento del riesgo de enfermedad arterial coronaria. (527)

Además, el genotipo MTHFR TT se asocia con un aumento del riesgo de infartos cerebrales silentes (528)

Sin embargo, aunque parece demostrado que la hiperhomocisteinemia es un factor de riesgo de trombosis arterial, no parece ser tan importante como otros factores como la hipercolesterolemia, el tabaquismo, la diabetes mellitus o la hipertensión.

La mayoría de los estudios realizados han encontrado un aumento del riesgo de enfermedad coronaria de un 20 a un 50% por cada incremento de la homocisteína de 5 $\mu\text{mol/L}$, que es independiente de los factores de riesgo clásicos de cardiopatía isquémica. Además la asociación de homocisteína y coronariopatía fue similar al analizarla por sexos, tiempo de seguimiento, calidad y diseño del estudio.⁽⁵²⁹⁾

A parte de la enfermedad coronaria, la homocisteína parece estar implicada en otras patologías como la insuficiencia cardíaca. Así lo demostró, un estudio de cohortes prospectivo realizado en 2491 pacientes (mediana de edad de 72 años, 1547 de ellos eran mujeres) que participaron en el estudio Framingham durante 1979-1982 y 1986-1990 y que al inicio del estudio no habían presentado de forma previa, IAM o insuficiencia cardíaca. Durante el período de seguimiento, 156 pacientes (88 mujeres) desarrollaron insuficiencia cardíaca y el análisis multivariante después de ajustarlo para los factores de riesgo conocidos de insuficiencia cardíaca, incluso un IAM previo, correlacionó los niveles elevados de homocisteína con una OR ajustada para insuficiencia cardíaca de 1,93 en mujeres (IC 95%, 1,19-3,14) y 1,84 en hombres (IC 95%, 1,06-3,17) ⁽⁵³⁰⁾.

Otras patologías arteriales con las que se ha relacionado a la hiperhomocisteinemia son entre otras: el IAM y su recidiva, insuficiencia cardíaca precoz, estenosis arterial carotídea, ACV y el AIT ⁽⁵³¹⁾.

Respecto al ACV, en 16 estudios que incluyeron 1487 pacientes con ictus y 2554 controles, la media de la concentración de homocisteína fue 2,32 $\mu\text{mol/L}$ más alta en los pacientes afectados de ACV agudo que en los controles (IC 95%; 1,6-3,04; $p < 0,001$). Por otro lado, en 19 estudios con 2788 pacientes con ACV y 3962 controles, la OR asociada al genotipo MTHFR 677TT fue de 1,23 (IC 95%, 0,96-1,58; $p = 0,1$), es decir que el

genotipo TT puede tener una pequeña influencia en determinar la susceptibilidad a padecer un ACV. (532, 533)

También se ha observado que la hiperhomocisteinemia es un factor de riesgo independiente de ictus recurrente (534)

Por ultimo, los niveles plasmáticos de homocisteína son un fuerte predictor de mortalidad en pacientes con enfermedad arterial coronaria confirmada desde el punto de vista angiográfico. (535)

La cuestión de si la homocisteína juega un papel causal en la enfermedad cardiovascular o si existe una asociación no causal, ha sido abordada por dos metaanálisis que han examinado varios estudios prospectivos y estudios de mutación MTHFR. OR similares para las enfermedades cardiovasculares se encuentran en ambos tipos de estudios (536,537).

Un metaanálisis posterior estudió la asociación entre el genotipo MTHFR C677T y el IAM, la oclusión arterial coronaria o ambos; no encontrando evidencia de asociación entre el polimorfismo MTHFR C677T y la enfermedad arterial coronaria en Europa, Australia y Norteamérica. Esta variabilidad geográfica puede deberse a la mayor ingesta de folato en América del Norte y Europa o a un sesgo de la publicación. La conclusión extraída de metanálisis anteriores con respecto a que el ácido fólico, mediante la disminución de los niveles de homocisteína, tiene un papel en la prevención de la enfermedad cardiovascular no se confirma en este estudio. (538)

La mayoría de los datos sugieren que la hiperhomocisteinemia es un factor de riesgo independiente para el ACV, la afectación vascular periférica, la enfermedad cardíaca coronaria, y el TEV. Sin embargo, esta correlación por sí sola no proporciona una evidencia suficiente para realizar el cribado

de la población ⁽⁵³⁹⁾. Actualmente existen diversos argumentos en contra de la realización del cribado de hiperhomocisteinemia en la población general. Uno de ellos es que continúa siendo desconocido, el posible beneficio de la disminución de los niveles de homocisteína tanto en la enfermedad cardiovascular como en el TEV. Otro punto a tener en cuenta, es que combinando la prevalencia del genotipo TT de la MTHFR y el riesgo relativo, tenemos la estimación del riesgo atribuible a la población, que sería equivalente a la proporción de enfermedad coronaria que se eliminaría si la alteración genética no existiera y este riesgo atribuible a la población, es tan sólo del 1-2%. ⁽⁵⁴⁰⁾

Por ultimo, la variabilidad en la medición de la concentración de homocisteína es un problema importante para poder determinar cuales son los candidatos idóneos para tratamiento ⁽⁵⁴¹⁾.

4.2.2.3 Hiperhomocisteinemia y otras patologías:

La variante termolábil de la MTHFR se ha asociado a complicaciones en el embarazo como pueden ser la preeclampsia grave, el abruptio placentae, retraso del crecimiento intrauterino y abortos en relación a trombosis arterial placentaria e inadecuada perfusión de la placenta. ⁽⁵⁴²⁾

Por otra parte, el polimorfismo de la MTHFR tanto en forma heterocigota como homocigota parece estar relacionado con un aumento del riesgo de defectos del tubo neural. ⁽⁵⁴³⁾

4.2.3 CÁNCER:

Los pacientes con cáncer pueden tener un estado de hipercoagulabilidad adquirido debido a la producción de sustancias con actividad procoagulante (por ejemplo, el FT). El TEV sucede en aproximadamente un 5% de este grupo de pacientes y suele ser una causa frecuente de empeoramiento clínico, sobre todo en pacientes mayores, así como en pacientes con enfermedad avanzada al diagnóstico (por ejemplo, cáncer de páncreas) (544,545,546,547).

La asociación entre la ETEV y el cáncer fue descrita en 1865 por Trousseau (548). Posteriormente numerosos estudios han confirmado que la ETEV es un fenómeno fuertemente asociado al hecho de padecer cáncer.

Las complicaciones tromboembólicas son un fenómeno frecuente en los individuos con cáncer y contribuyen de forma significativa a incrementar la morbi-mortalidad en estos pacientes. Aproximadamente el 20% de los episodios de TEV se desarrollan en relación con un cáncer activo y alrededor del 2-12% de los pacientes con cáncer padecerá una TEV. Los pacientes con cáncer que desarrollan una complicación tromboembólica tienen una mortalidad 5-6 veces superior a la de la población general, siendo la segunda causa de muerte entre ellos. (549)

Varios estudios demuestran que la presencia de un cáncer incrementa el riesgo de TEV de 4 a 7 veces y estiman que el cáncer es la causa de aproximadamente el 20% de los episodios de TEV observados en la comunidad (550,551)

La incidencia de ETEV en pacientes con cáncer es del 0,5%, frente a 0,1% de la población general. Esta incidencia es mayor si sólo se tienen en cuenta los pacientes con cáncer hospitalizados (rango:0,6-18%). La incidencia de la ETV varía según el tipo de tumor (552). El cáncer de

páncreas y los tumores cerebrales son los que presentan una mayor incidencia de ETEV (14 y 11%, respectivamente), mientras que el cáncer de mama presenta una incidencia muy baja (0,9%).

Algunos trabajos sugieren que las tasas de ETEV en pacientes con cáncer están infraestimadas, dado que en las revisiones de series de autopsias de pacientes con cáncer se han encontrado tasas de tromboembolia del 50-80% ⁽⁵⁵³⁾

Los pacientes con cáncer tienen mayor riesgo de recurrencia de ETEV que los pacientes sin cáncer. La incidencia acumulada va del 17,5% a los 2 años al 30,3% a los 8 años ⁽⁵⁵⁴⁾

En los pacientes con cáncer activo que presentan un episodio agudo de TEV, el riesgo de muerte aumenta un 8% respecto a los pacientes con TEV pero sin cáncer ⁽⁵⁵⁵⁾. La mortalidad de los pacientes con cáncer hospitalizados por un episodio de TEV es dos veces mayor que la de los pacientes con cáncer hospitalizados que no tienen TEV ((OR): 2,01; $p < 0,0001$) ⁽⁵⁴⁵⁾.

Los pacientes con cáncer que desarrollan un TEV, además experimentan el doble de complicaciones hemorrágicas y el triple de recidivas tromboembólicas que los pacientes con el mismo tipo de neoplasia pero que no desarrollan complicaciones tromboembólicas ⁽⁵⁵⁶⁾.

El riesgo de desarrollar un episodio de TEV no es igual en todos los pacientes con cáncer, y tampoco es igual en un mismo paciente a lo largo del tiempo, de manera que los distintos factores etiopatogénicos pueden interactuar de forma sincrónica o metacrónica.

El riesgo de TEV parece ser más alto durante el inicio de hospitalización y del tratamiento quimioterápico, así como cuando la enfermedad se

encuentra en progresión ⁽⁵⁵⁷⁾. En las primeras etapas de la enfermedad, del diagnóstico y del tratamiento antineoplásico, el riesgo se incrementa y el mayor riesgo se da durante la hospitalización. En el período de remisión de la enfermedad el riesgo se reduce, aunque vuelve a aumentar en la recidiva, la diseminación metastásica y la fase terminal ⁽⁵⁵⁸⁾.

El riesgo de trombosis aumenta notablemente cuando los pacientes son sometidos a cirugía (3 a 5 veces), ⁽⁵⁵⁹⁾ en los que presentan mutaciones genéticas y en los portadores de CVC, en los cuales la prevalencia de trombosis venosa puede llegar a ser del 12%. ^(560,561)

El tratamiento con determinados citostáticos puede aumentar el riesgo de TEV en los pacientes con cáncer. ⁽⁵⁶²⁾

Las complicaciones tromboembólicas pueden ser un síntoma de la existencia de un cáncer oculto. La incidencia de un cáncer oculto se sitúa en torno al 4-13% entre los primeros 6 meses y 2 años después de un primer episodio de TEV. El 40% de los pacientes diagnosticados de cáncer tras un primer episodio de TEV tiene metástasis en el momento del diagnóstico. Aproximadamente el 20% de pacientes con TVP sintomática tienen una neoplasia activa conocida ⁽⁵⁶³⁾

El TEV puede constituir en sí mismo un signo oculto de neoplasia ⁽⁵⁶⁴⁾. En una serie de pacientes hospitalizados por TVP bilateral, el 25% tenían una neoplasia al ingreso y el 26% fueron diagnosticados de cáncer durante el ingreso ⁽⁵⁶⁴⁾

En un estudio retrospectivo de más de 63000 pacientes daneses hospitalizados entre 1977 y 1992 con diagnóstico de TEV, 18% habían sido diagnosticados previamente de una neoplasia ⁽⁵⁶⁵⁾

La mayoría de los cánceres asociados a episodios tromboembólicos producen sintomatología clínica y han sido diagnosticados de forma previa

al desarrollo de la trombosis, de hecho en el estudio danés el 78% de los cánceres fueron diagnosticados antes de producirse la trombosis.

Los cinco tumores más frecuentes que suelen diagnosticarse de forma concomitante a la trombosis venosa son:

- Pulmón (17%)

- Páncreas (10%)

- Colón y recto (8%)

- Riñón (8%)

- Próstata (7%)

Los tipos de cáncer que se diagnostican con más frecuencia tras un episodio de TEV son los de páncreas, ovario, hígado y cerebro.

Por otra parte, el TEV puede preceder al diagnóstico de neoplasia ^(566,567).

En un estudio de 250 pacientes con TVP sintomática, en 105 se identificó un factor de riesgo de trombosis ⁽⁵⁶⁶⁾. 5 de los 153 pacientes (3,3%) en los que no se identificó ningún factor de riesgo trombótico, presentaron una neoplasia al mismo tiempo que la trombosis. Tras un período de seguimiento de 2 años, hubo un aumento de incidencia de neoplasias en los pacientes con trombosis idiopática comparado con los 105 pacientes con trombosis secundaria (8% vs 2%). La incidencia de cáncer fue también más alta (17%) en los 35 pacientes con trombosis venosa idiopática.

Otros estudios no han encontrado una asociación tan importante entre el TEV y el cáncer. Un estudio danés evaluó a 27000 pacientes con TEV; la

ratio de incidencia ajustada para cáncer fue sólo de 1,3 al compararla con los pacientes sin TVP ó TEP. ⁽⁵⁶⁸⁾

En varios estudios se ha postulado si puede ser beneficioso realizar un protocolo intensivo de estudios diagnósticos en busca de un cáncer oculto en pacientes que han sufrido un episodio de TEV, concretamente en un estudio italiano ⁽⁵⁶⁹⁾. 210 pacientes fueron aleatorizados a seguir una estrategia de búsqueda intensiva de un cáncer oculto o bien a un seguimiento estándar. El estudio intensivo identificó un cáncer oculto en 13 de 99 pacientes (13,1%) al inicio del estudio. Tras un seguimiento de 2 años, la incidencia de cáncer fue de 1 caso (1%) para el grupo de protocolo intensivo y de 10 casos (9,8%) para el grupo control (RR: 9,7%, IC del 95% 1,3-36,8; $p < 0,01$). No hubo diferencias estadísticamente significativas en la mortalidad por cáncer entre los dos grupos de pacientes (diferencia absoluta RR: 1,9%, IC del 95% de -5,5 a 10,9).

Hasta el momento no está claro si la detección precoz de cáncer oculto tras un episodio de TEV mejora el pronóstico de estos pacientes.

En una revisión sistemática realizada por Carrier en el 2008 se valoraron 36 estudios sobre la prevalencia de neoplasia oculta al diagnóstico, a los 6 y a los 12 meses después de un TEV. La prevalencia de neoplasia oculta en pacientes con TEV espontáneo fue de 6,1% (IC 95%, (5-7,1%) y de 10% (IC, 8,6-11,3%) a los 12 meses.

En el estudio SOMIT pacientes que presentaron TEV agudo espontáneo fueron randomizados a un estudio de detección de neoplasia oculta o bien a no realizar ningún tipo de estudio durante un período de seguimiento de 2 años. De los 201 pacientes, 99 se asignaron al grupo de screening de neoplasia oculta y 102 a no screening. En 13,1% de los pacientes se identificó una neoplasia oculta. En el grupo de screening una sólo neoplasia

apareció durante el período de seguimiento, mientras que en el grupo control se detectaron 10 neoplasias (9,8%) (RR 9,7 (IC 95%, 1,3-36,8; $p < 0,01$).

En general, en el grupo de screening las neoplasias se detectaron en un estadio más precoz y el tiempo al diagnóstico se redujo de 11,6 meses a 1 mes ($p < 0,001$). A pesar de estos datos la mortalidad durante el período de seguimiento de ambos grupos no mostró diferencias estadísticamente significativas. ⁽⁵⁶⁹⁾

Los datos del ensayo SOMIT fueron usados para desarrollar una estrategia de detección, que consistió en realizar a los pacientes con TEV espontáneo un screening que incluiría TAC abdomino-pélvico con o sin mamografía y/o citología de esputo ⁽⁵⁷⁰⁾. En este estudio, los autores concluyen que la realización de esta estrategia es potencialmente útil, aunque son necesarios más estudios para confirmar si es ó no costo-efectiva.

El NICE (National Institute for Clinical Excellence) examinó estos datos y concluyó que la estrategia basada en la TAC abdomino/pélvica más mamografía en mujeres parecía ofrecer la mejor relación calidad-precio, dando lugar a una débil recomendación para realizar más estudios para llegar al diagnóstico de cáncer en pacientes mayores de 40 años, con un primer episodio de TVP ó TEP espontáneo sin signos ni síntomas de cáncer. (NICE, 2012)

Etiopatogenia de la enfermedad tromboembólica en el paciente oncológico:

Las células cancerosas interaccionan con los distintos mecanismos de la coagulación de forma bidireccional: el tumor libera sustancias procoagulantes que activan la coagulación sanguínea produciendo trombina que, a su vez, favorece la angiogénesis y el crecimiento tumoral. Además, la activación de la hemostasia induce la formación de fibrina, que media la adhesión de las células tumorales al endotelio vascular facilitando la emigración hacia los tejidos y contribuyendo así a la progresión tumoral ⁽⁵⁷¹⁾

La etiología de la enfermedad tromboembólica es multifactorial e incluye una serie de procesos fisiopatológicos ^(571,572).

La interacción entre las células tumorales, los factores que liberan y las células del sistema inmunitario, produce:

1) La liberación de sustancias procoagulantes con actividad tromboplastina-like:

- Las cisteína-proteasas liberadas por las células tumorales, que pueden activar el factor X de la coagulación.
- El FT liberado por los macrófagos, que induce la activación directa del factor VII.
- La fracción de ácido siálico de la mucina de los adenocarcinomas causa una activación no enzimática del factor X.

2) Activación de las plaquetas: las superficies trombogénicas de los catéteres, la formación de fibrina y diversas citocinas producidas por las células tumorales pueden dar lugar a la activación plaquetaria.

- 3) Una disfunción endotelial: los monocito-macrófagos liberan factor de necrosis tumoral (TNF), interleuquina 1 (IL-1) e interleuquina 6 (IL-6) que causan lesión endotelial, haciendo que el endotelio se convierta en una superficie trombogénica.

Se han identificado una gran diversidad de factores relacionados con el desarrollo de complicaciones tromboembólicas.

1-Factores relacionados con la propia neoplasia:

La OR de riesgo de TEV en pacientes con tumores sólidos y metástasis es de 19,8 respecto a los pacientes sin metástasis. El riesgo de TEV en pacientes con cáncer de mama aumenta 5-6 veces cuando las pacientes tienen metástasis respecto a las que tienen enfermedad localizada ⁽⁵⁵³⁾. Si en el momento del diagnóstico del cáncer hay enfermedad metastásica, es el factor pronóstico más potente de ETEV, pues aumenta el riesgo 4-6 veces más ⁽⁵⁵⁵⁾.

El riesgo de ETEV varía con el tipo de tumor ⁽⁵⁵³⁾: los tumores cerebrales y el cáncer de páncreas son los que presentan una mayor incidencia de ETEV (11 y 14% respectivamente), mientras que el cáncer de mama presenta una incidencia muy baja (0,9%).

2-Factores de riesgo relacionados con el paciente:

La existencia de comorbilidades como obesidad, infecciones, insuficiencia renal, respiratoria o cardíaca, el sexo femenino, el embarazo y el consumo de tabaco condicionan un riesgo aumentado de TEV ⁽⁵⁷³⁾.

La historia previa de TEV se ha identificado como un factor de riesgo para el desarrollo de un nuevo episodio de TEV ^(574,575). La incidencia acumulada de TEV recurrente a 12 meses del primer episodio en pacientes con tratamiento anticoagulante fue del 20,7% para pacientes con cáncer y del 6,8% para pacientes sin cáncer ⁽⁵⁷⁶⁾. La hospitalización y la inmovilización prolongada incrementan el riesgo de complicaciones tromboembólicas. En un estudio casos-control se constató una OR de riesgo de desarrollo de TEV de 21,72 y 7,98 en pacientes hospitalizados o encamados en domicilio en comparación con pacientes ambulatorios ⁽⁵⁶²⁾.

En cuanto a los estados de trombofilia primaria en los pacientes con cáncer, la mutación del FVL, presente en el 5% de la población, implica un riesgo 3-8 veces mayor de TEV, y la mutación de la protrombina G20210A, presente en el 2% de la población, conlleva un riesgo de TEV dos veces superior ⁽⁵⁷⁷⁾.

Otros factores de riesgo de TEV ⁽⁵⁷⁷⁾ son: cifra de plaquetas $\geq 350000/\text{mm}^3$, de leucocitos $\geq 11000/\text{mm}^3$ o de hemoglobina < 10 gramos (g)/mL, previas a la administración de quimioterapia; la elevación del DD, la P-selectina, la Pcr y la expresión de FT en las células tumorales.

También son factores de riesgo aumentado de TEV: el sexo femenino, la raza negra, edad mayor o igual a 65 años, el embarazo, el consumo de tabaco, el tratamiento quimioterápico y la existencia de comorbilidades como obesidad, infecciones, insuficiencia renal, cardíaca o respiratoria.⁽⁵⁷³⁾

La administración de quimioterapia incrementa hasta 6 veces el riesgo de padecer TEV. La OR de desarrollar TEV fue de 6,53 en pacientes con cáncer en tratamiento con quimioterapia y 4,05 en pacientes sin quimioterapia ⁽⁵⁶²⁾. En otro estudio, la incidencia anual de TEV fue del 10,9% en pacientes con cáncer colorrectal tratados con quimioterapia ⁽⁵⁷⁸⁾

Existe evidencia de la asociación entre ciertos fármacos antiangiogénicos y el riesgo de desarrollar TEV. Bevacizumab, sobre todo cuando se asocia a quimioterapia aumenta el riesgo de TEV ⁽⁵⁷⁹⁾. Talidomida o Lenalidomida, fármacos que se usan en el mieloma múltiple (sobre todo combinadas con doxorubicina y dexametasona, respectivamente) se asocian a aumento de incidencia de TEV ^(580, 581). Cuando al tratamiento quimioterápico se asocia el uso de moduladores selectivos del receptor estrogénico como tamoxifeno o raloxifeno, el riesgo de TEV también aumenta ^(582,583).

Las eritropoyetinas recombinantes, utilizadas en el tratamiento de la anemia de los pacientes con cáncer, han sido asociadas a un aumento del riesgo de TEV en la mayoría de los metanálisis y ensayos clínicos aleatorizados, con un aumento del RR de aparición de fenómenos tromboembólicos del 6,7% (HR: 1,67; IC del 95%: 1,35-2,06) ⁽⁵⁸⁴⁾.

Por último, hay que señalar que los pacientes oncológicos, al igual que la población general, que han desarrollado TEV tienen un aumento importante del riesgo de retrombosis ⁽⁵⁷⁶⁾.

4.2.4 EMBARAZO Y TROMBOSIS:

La ETEV es una complicación grave del embarazo y puerperio. El riesgo aumenta a lo largo del embarazo y la incidencia promedio es de 1 por 1000.

En una gestación normal se produce un aumento de la concentración del FVII, FVIII, FX y del FvW, así como un aumento significativo de los niveles de fibrinógeno. Los niveles libres de PS están disminuidos durante el embarazo. El PAI-1 aumenta hasta 5 veces y los niveles de PAI-2 aumentan sustancialmente durante el tercer trimestre. También aumentan los marcadores de generación de trombina, como el fragmento 1 y 2 de la protrombina y el complejo trombina-antitrombina. Estos cambios coagulativos generan un estado de hipercoagulabilidad que perdura incluso más allá de las 8 semanas postparto y tienen como misión proteger a la gestante de la hemorragia asociada al parto o a un aborto.

Aunque en los países en desarrollo, la hemorragia sigue siendo la principal causa de muerte materna, en Europa occidental y en Estados Unidos, la causa más importante de muerte materna es la ETE. ⁽⁵⁸⁵⁾

Aproximadamente, el 20% de los episodios trombóticos son arteriales y el 80% son venosos. ⁽⁵⁸⁶⁾

Durante el embarazo, el riesgo de TEV aumenta de 4 a 5 veces ^(587, 238). En otros estudios, el riesgo de un episodio trombótico durante el embarazo, es al menos 10 veces mayor en las mujeres embarazadas que en las no gestantes. ⁽⁵⁸⁸⁾

Aunque el riesgo trombótico parece ser mayor en el tercer trimestre, se observa un claro aumento del riesgo desde el primer trimestre de la gestación, es decir antes de que se produzcan muchos cambios anatómicos inherentes al embarazo ^(589,590). El riesgo aumenta todavía más en el

puerperio, siendo de 20 a 80 veces más alto en las primeras 6 semanas postparto, sobre todo, si el parto es por cesárea (en especial de urgencia) y 100 veces mayor en la primera semana. (587, 238)

La incidencia de TEV en la gestación, en la última década varía de 0,49 a 1,72 por 1000 partos. (591, 592, 293)

En el estudio de Kierkegaard, la incidencia de TVP fue de 0,71 por 1000 partos, con 0,5 que sucedieron durante el embarazo y 0,21 en el puerperio. La incidencia de TEP fue de 0,15 por 1000 partos, 0,07 antes del parto y 0,08 en el puerperio. En conjunto, alrededor de 1/3 de los episodios ocurrieron en el puerperio.

El RR de ETEV durante el embarazo y puerperio es de 4,29 (IC: 95%, 3,49-5,22; $p < 0,001$) y el riesgo absoluto es de 199,7 por 100000 mujeres-año. La incidencia anual es 5 veces mayor en el postparto que durante la gestación (511,2 vs 95,8 por 100000) y la incidencia de TVP es 3 veces mayor que de TEP (151,8 vs 47,9 por 100000).

El TEP es mucho más frecuente en el puerperio que durante la gestación (10,6 vs 159,7 por 100000), pero aunque parece ser que la incidencia de TEV durante el embarazo permanece constante, la de TEP en el puerperio ha disminuido más de dos veces.

En líneas generales, en la mujer gestante, el período de mayor riesgo tanto para el TEV como para el TEP es el del puerperio, así que en el caso de ser necesaria la utilización de profilaxis, es muy importante que se prolongue durante todo este período (587).

El TEV causa 1,1 muertes por 1000 partos, de un 5 a un 10% de todas las muertes maternas. Alrededor del 80% de las trombosis asociadas al embarazo son TVP y un 20 a un 25% son TEP. (586,592)

Cuando la trombosis sucede durante el embarazo, es más frecuente a nivel proximal y en la extremidad inferior izquierda, el lado izquierdo se ve más

afectado debido a la estenosis parcial de la vena iliaca común, aunque el mecanismo subyacente es desconocido ^(589, 590).

La trombosis de las venas de la pelvis, que suelen ser en torno al 1% de todos los casos de TVP, alcanzan el 10-12% de todos los episodios de TEV en el embarazo y puerperio. ⁽⁵⁸⁹⁾

Un 2% de las TVP asociadas al embarazo afectan a las extremidades superiores y la mayoría de los casos ocurren en mujeres que se han sometido a técnicas de reproducción asistida y que presentan como complicación el síndrome de hiperestimulación ovárica. ^(593, 594)

Los cambios fisiológicos que acompañan al embarazo y parto como las alteraciones hormonales inducen aumento de la capacitancia venosa y alteración del retorno venoso ⁽⁵⁹⁵⁾, y otros factores como son: la obstrucción mecánica producida por el útero ⁽⁵⁹⁶⁾, la disminución de la movilidad ^(597, 598, 599) y el daño vascular, son variables muy importantes implicadas en el desarrollo de TEV asociado al embarazo.

Pero el factor de riesgo más importante de TEV en el embarazo, es tener una historia previa de trombosis. El riesgo de recurrencia en el embarazo aumenta de 3 a 4 veces (RR 3,5, IC 95% 1,6-7,8) ⁽⁶⁰⁰⁾ y este riesgo es mayor aún, en aquellos casos que han sufrido un episodio de ETEV durante el curso de un tratamiento hormonal previo.

En estudios recientes se ha confirmado que la tasa de recidiva disminuye de forma significativa, cuando las mujeres reciben anticoagulación profiláctica durante la gestación (0-2,4% en pacientes anticoaguladas frente a 2,4 a 12,2% en pacientes no anticoaguladas) ^(601,602).

Después del antecedente de trombosis, el siguiente factor de riesgo de ETEV en la gestación, es la trombofilia. ^(586,589)

La trombofilia se presenta en el 20-50% de las mujeres que experimentan un episodio de trombosis venosa durante el embarazo o puerperio. Tanto las alteraciones congénitas como las adquiridas aumentan el riesgo.

Por otra parte, en los últimos años se han realizado amplios estudios que han identificado otros factores de riesgo como son diversas enfermedades médicas, como pueden ser enfermedades autoinmunes como el LES, la diabetes mellitus, etc, y otras complicaciones de la gestación, como puede ser la preeclampsia y eclampsia que aumentan el riesgo de TEV ^(591,592,593).

A pesar del mayor riesgo de TEV asociado al embarazo y puerperio, la mayoría de las mujeres gestantes no requieren anticoagulación, ya que en la mayor parte de los casos, los riesgos de la anticoagulación superan los beneficios. Las mujeres que podrían beneficiarse del tratamiento anticoagulante para prevenir la trombosis en el embarazo, son aquellas en las cuales el riesgo de TEV es mayor que el riesgo de complicaciones hemorrágicas, que en el caso del tratamiento con heparina de bajo peso molecular (HBPM) puede llegar al 2%. ^(602, 603,604)

Las pacientes que pueden beneficiarse de anticoagulación son las que presentan un historial de trombosis y también aquellas que presentan trombofilia congénita o adquirida y abortos de repetición; aunque no todas las mujeres con trombofilia, son candidatas a profilaxis antitrombótica durante el embarazo. Depende del tipo de trombofilia y de la existencia y tipo de episodio trombótico previo.

En el SAF, hay varios estudios que han demostrado que el tratamiento con heparina más aspirina a dosis bajas, puede mejorar la proporción de embarazos que llegan a término.

También parece posible que la anticoagulación con heparina pueda mejorar el pronóstico del embarazo de mujeres con historia de complicaciones placentarias tengan o no trombofilia y así lo sugiere un ensayo reciente realizado con dalteparina en este grupo de pacientes ⁽⁶⁰⁵⁾.

La evaluación de las mujeres que pueden requerir anticoagulación durante la gestación, debería hacerse si es posible antes de la concepción o sino en etapas precoces del embarazo.

En un gran estudio realizado en Escocia con más de 72000 partos y una incidencia de TVP y de TEP de 0,86 por 1000 partos, se confirmó que las alteraciones trombofílicas afectan al riesgo de trombosis durante el embarazo, sobre todo el déficit de AT. La deficiencia de AT se identificó en el 12% de las pacientes (IC 95%, 3-21) y la mutación del FVL en un 8% (IC 95%, 0,5-15,5). ⁽⁶⁰⁶⁾

Otro estudio reciente de cohortes histórico realizado en Dinamarca entre 1995 y 2009, tuvo como objetivo principal describir el TEV en el embarazo y puerperio y validar el diagnóstico de TEV. En 1.297.037 embarazadas, 1436 tuvieron un primer episodio de TEV, 1210 mujeres (84,3%) fueron hospitalizadas y todas las pacientes diagnosticadas de TVP tuvieron síntomas relacionados. En 796 casos, (65,8%) el diagnóstico fue confirmado por una prueba objetiva, iniciándose el tratamiento anticoagulante. Un 72,6% de los casos fueron diagnosticados en el primer trimestre, y un 53,7%, 58,5% y 79,1% en el segundo, tercer trimestre y puerperio respectivamente. De los 796 casos, 624 fueron TVP y 133 TEP. Durante el embarazo, la localización más frecuente fue el miembro inferior izquierdo (83,8%), así como en el período puerperal (67,9%) ⁽⁶⁰⁷⁾.

4.2.5 CIRUGÍA Y TRAUMATISMO:

La cirugía y sobre todo algunos tipos, comporta un alto riesgo de trombosis venosa en ausencia de tromboprofilaxis. El riesgo más alto se produce en la cirugía ortopédica y en la neurocirugía, llegando a alcanzar el 30-50% en la cirugía de rodilla y de cadera. (608,609)

También se ha descrito un riesgo de más del 30% en la cirugía abdominal, ginecológica y en la urológica (en concreto, en la prostatectomía abierta).

(610, 611, 612)

En general, cuanto mayor es el tiempo de intervención mayor es el riesgo, pero en la cirugía traumatológica, incluso intervenciones menores como la realización de una artroscopia, tienen riesgo de trombosis venosa.

La incidencia de trombosis venosa es también elevada en los pacientes politraumatizados y sucede en el 50-60% de los pacientes con traumatismo craneal, daño medular, fracturas de pelvis, fémur y tibia.

En 1994, se desarrolló un estudio sobre una cohorte de 716 pacientes ingresados en una unidad de traumatología que no recibieron profilaxis antitrombótica.

La TVP de extremidades inferiores se diagnosticó mediante venografía en el 58% de los pacientes, y la trombosis venosa proximal en el 63%. El 50% de los pacientes sometidos a cirugía mayor que afectaba a cara, tórax o abdomen manifestaron TVP (65 de 129 pacientes), así como el 53,8% de los pacientes que debutaron con traumatismo craneal, 62% de los traumatismos medulares y 69% de los que fueron sometidos a cirugía traumatológica de las extremidades inferiores.

El análisis multivariante identificó 5 factores de riesgo independientes de TVP: la edad avanzada (OR, 1,05 por año de edad, IC del 95%, 1,03-1,06), la transfusión sanguínea (OR, 1,74; IC 95%, 1,03-2,93), cirugía (OR 2,3; IC 95% , 1,08-4,89), fractura de fémur o tibia (OR, 4,82; IC 95%, 2,79-8,33) y daño del canal medular (OR, 8,59; IC 95% 2,92 -25,28) (613,614).

Diversos ensayos randomizados han demostrado que en los pacientes que se someten a reemplazo total de cadera o rodilla, la tromboprofilaxis de duración prolongada reduce significativamente la frecuencia de TEV sintomático. La reducción del riesgo es equivalente a unos 20 episodios sintomáticos por cada 1000 pacientes tratados.

A pesar de la instauración de la profilaxis de la ETEV, cirugías de alto riesgo como las de cadera o rodilla continúan generando trombosis venosa sintomática en 1-3% de los pacientes ⁽⁶¹⁵⁾.

Koster ya describió en 1995, un riesgo de trombosis 6 veces mayor para los pacientes que eran intervenidos quirúrgicamente ⁽⁶¹⁶⁾.

En un estudio más reciente de más de 4000 pacientes con una primera trombosis venosa que fueron comparados con un número similar de controles, se describió que los individuos sometidos a cirugía traumatológica o cirugía mayor no traumatológica tenían 4 veces más riesgo de TEV ⁽⁶¹⁷⁾.

4.2.6 INMOVILIZACIÓN:

El estasis es la principal causa de trombosis. El riesgo aumenta en todas las situaciones que se asocian a la inmovilización de las extremidades, como parálisis, encamamiento, yesos y viajes prolongados ^(31, 32,74).

El denominador común de la inmovilización en el desarrollo del TEV, es que ésta interfiere en la función de la musculatura de las piernas para bombear la sangre a través de las venas.

Se han descrito casos de TVP durante las huelgas masivas de transporte público de París, debido a los grandes atascos que se producían ⁽⁶¹⁸⁾ y también de manera algo más reciente, el caso de un hombre joven que pasaba más de 12 horas frente al ordenador ⁽⁶¹⁹⁾.

Aunque los primeros casos de trombosis venosa después de viajar en avión fueron descritos en 1954, la muerte de un joven pasajero por TEP poco después de un vuelo desde Australia en el Reino Unido reavivó el interés por esta asociación ⁽⁷⁴⁾

La trombosis asociada a los viajes aéreos de largo recorrido se conoce como “el síndrome de la clase turista” y varios estudios controlados han demostrado un verdadero aumento del riesgo trombótico en los vuelos de larga duración ^(620,621).

Un estudio publicado en 1986 recoge las muertes súbitas producidas en el aeropuerto de Heathrow de Londres y si se producen en la sala de llegada o de embarque del aeropuerto. Se descubrió que se producen más muertes en la sala de llegada, con un RR de alrededor de 6 ⁽⁶²²⁾.

Asimismo, el estudio de Lapostolle y cols demuestra una clara asociación entre el riesgo de TEP y la duración del vuelo, con una diferencia del riesgo de 50 entre vuelos de menos de 2500 kilómetros (Kms) y de más de 10000 kilómetros (Kms) ⁽⁶²³⁾.

Varios estudios controlados en los que se incluyeron pacientes con trombosis venosa presentan resultados contradictorios, inclusive algunos no muestran aumento del riesgo trombótico, reflejando tal vez que el número de pacientes de los estudios es pequeño. ^(624, 625, 626)

Martinelli demostró que los viajes aéreos recientes podían duplicar el riesgo de trombosis y ese riesgo podía llegar a ser 14 veces mayor en individuos con trombofilia o en el caso de mujeres que tomaban anticonceptivos orales (AO) ⁽⁶²⁶⁾

Esto fue confirmado en un estudio mucho más grande conocido como “MEGA-study” que analizó datos de 1851 individuos con un primer episodio de TVP y 1851 controles pareados. El hecho de viajar se asoció

con 3 veces más riesgo de trombosis, independientemente del modo en el que se viajara. El riesgo aumentó sobre todo para los individuos con FVL, obesos y para las consumidoras de AO.

En el estudio WRIGHT (World Health Organization Research Into Global Hazards of Travel), se observó que mujeres con uno o dos factores de riesgo como el FVL o la toma de AO mostraban signos de activación de la coagulación basados en aumento del complejo trombina-antitrombina (TAT), fragmentos de la protrombina 1+2 (F1+2) y DD durante el vuelo en avión ⁽⁶²⁷⁾.

En cambio, en otros estudios no se ha observado activación de la coagulación en voluntarios sanos que han realizado viajes aéreos. Parece ser que el hecho de volar puede generar una respuesta hipercoagulante solamente en una minoría de pacientes, principalmente aquellos con otros factores de riesgo ⁽⁶²⁸⁾.

Varios estudios destinados a detectar trombosis asintomáticas después de viajes aéreos, han encontrado que las tasas de trombosis se reducen en los viajeros que usan medias elásticas o fármacos antitrombóticos ^(629,630)

No está clara todavía la importancia de detectar trombosis asintomáticas tras viajar en avión, pero en un estudio en el que se reclutaron 1000 individuos, de los que 878 cumplieron los criterios de inclusión y todos los participantes volaron al menos 10 horas, con una mediana de duración del viaje aéreo de 39 horas. La frecuencia de TEV fue del 1% (9/878, IC 95% 0,5-1,9), que incluyó 4 casos de TEP y 5 de TVP. Del global de pacientes con TEV, 6 tenían factores clínicos de riesgo predisponentes y 2 factores trombofílicos.

En resumen, los resultados de este estudio muestran una asociación entre los vuelos de larga distancia y el TEV, incluso en pacientes con riesgo trombótico bajo y moderado ⁽⁶³¹⁾

4.2.7 TRATAMIENTO CON ANTICONCEPTIVOS ORALES:

Los AO aparecieron por primera vez en el mercado en 1959 y en 1961 fue descrito el primer caso de TEP en una paciente que tomaba estos fármacos como tratamiento de la endometriosis ⁽⁶³²⁾

Posteriormente, grandes estudios controlados han demostrado que incluso las dosis bajas de AO aumentan el riesgo de trombosis arterial y venosa de 2 a 5 veces ⁽⁶³³⁻⁶³⁷⁾.

No existen datos suficientes sobre el riesgo de retrombosis en mujeres con antecedentes trombóticos asociados o no al uso de AO debido a que la mayoría de los médicos tradicionalmente han desaconsejado el uso de dichos fármacos en este grupo de mujeres debido al temor a una recurrencia trombótica ⁽⁶³⁸⁾.

Los AO incluyen una combinación de estrógeno y progestágeno. El progestágeno es el agente anovulatorio y ha ido cambiando a lo largo de los años, los de primera generación, que ya no suelen usarse, los de segunda generación (levonorgestrel) y los de tercera generación (desogestrel, gestodeno).

Mientras que hay evidencia de que la reducción de dosis altas de etinilestradiol a dosis moderadas como son de 30 a 50 µg se acompaña de una disminución del riesgo de trombosis venosa, no está tan claro que más reducciones de dosis se acompañen de menor riesgo trombótico ⁽⁶³⁹⁻⁶⁴²⁾.

Además, los cambios introducidos en el tipo de progestágeno (los llamados gestágenos de tercera generación) han compensado la reducción del riesgo de ETEV, conseguida con la disminución del estrógeno e incluso aumentado el mismo, potenciando la idea de la influencia de los progestágenos en el riesgo de ETEV ^(643,644).

Generalmente, los AO son usados por mujeres jóvenes, que tienen un riesgo trombótico basal bajo. El riesgo absoluto de trombosis venosa en mujeres en edad reproductiva es menor de 1 por 10000 por año. En las mujeres que consumen AO, este riesgo se convierte en 2-3 por 10000/año (645,646).

Este riesgo es aceptablemente bajo para la mayoría de las mujeres, sin embargo, dado que muchas mujeres consumen AO, estos fármacos continúan siendo la principal causa de trombosis venosa en mujeres jóvenes.

El uso de gestágenos en solitario en mujeres que han sufrido un episodio previo de ETEV idiopática podría considerarse “aceptable” dado su menor riesgo trombótico, si este tratamiento es realmente necesario; si es un episodio previo de ETEV secundaria a un factor de riesgo transitorio, el riesgo de retrombosis es menor, por lo que su empleo podría considerarse (más precaución, si la trombosis se ha producido durante un embarazo).

El riesgo de trombosis venosa es más alto durante el primer año de tratamiento, alcanzando un riesgo absoluto de trombosis de 12 por 10000 mujeres por año para los anticonceptivos con progestágenos de segunda generación. (647,648)

Los dos principales componentes de los AO, estrógenos y progestágenos afectan al riesgo de trombosis, pero los estrógenos actúan de forma intensa sobre el sistema coagulativo, incrementando los niveles de factores procoagulantes como el FVII, IX, X, XII y XIII y disminuyendo la concentración de factores anticoagulantes como la PS y la AT. La mayoría de estos efectos, son más importantes en los AO que contienen desogestrel o gestodeno (progestágenos de tercera generación), generando un estado protrombótico más marcado (649, 650, 651).

Los AO que contienen acetato de ciproterona aumentan notablemente el riesgo de trombosis venosa, con un riesgo incluso mayor que los AO de tercera generación ⁽⁶⁵²⁾. También los AO que tienen drospiridona (sobre todo Yasmin) tienen un rango más alto de riesgo.

Tabla 1.- Riesgo de ETEV de distintos AO ⁽⁶⁵⁵⁾

Estudio, año	Casos/controles	Comparación	RR ETEV (IC 95%)
OMS, 1995 ⁶³⁶	1143/2998	AO vs NC	4.15 (3.09-5.57)
OMS, 1995 ⁶⁴⁴	769/ 1979	LNG vs NC	3.5 (2.6-4.7)
		DSG vs NC	9 (4.9-17)
		GSD vs NC	9.1 (4.9-16)
		DSG/GSD vs LNG	2.6 (1.4-4.8)
GPRD, 1995 ⁶⁵³	238.180/--*	DSG vs LNG	1.9 (1.1-3.2)
		GSD vs LNG	1.8 (1-3.2)
LETS, 1993 ⁶⁵⁴	126†/159	LNG vs NC	2.2 (0.8-6.5)
		DSG vs NC	8.7 (3.9-19.3)
		DSG vs LNG	2.2 (0.9-5.4)
		DSG vs resto AO	2.5 (1.2-5.2)
Transnational, 1996 ⁶⁴³	471/1772	GSD vs NC	4 (3.1-5.3)
		GSD/DSG vs LNG	1.5 (1.1-2.1)

En todos los casos los AO contienen dosis de etinilestradiol <35µg

NC: No consumidoras de AO

*Estudio de cohortes

LNG: Levonorgestrel

DSG: Desogestrel

GSD: Gestodeno

† Mujeres con ETEV previa en tratamiento AO en el momento de la trombosis

Los AO van a producir cambios en el sistema hemostático, que pueden resumirse en:

- Elevación de los niveles de FVIII, FvW y fibrinógeno.
- Descenso de los niveles de PS total y libre, AT e inhibidor de la vía del factor intrínseco.
- Elevación de los niveles de algunos factores vitamina K dependientes inducidos por gestágenos de tercera generación, en especial el factor VIIa⁽⁶⁵⁶⁾, pero también de los factores II, IX y X⁽⁶⁵⁷⁾.

La activación global de la hemostasia va a ponerse de manifiesto en la elevación de los niveles de determinados marcadores moleculares, como los F1+2, que se generan durante la activación de la protrombina, los TAT o el fibrinopéptido A (producido durante la conversión del fibrinógeno en fibrina).

Existen mujeres que tienen más riesgo de trombosis venosa que otras, cuando consumen AO. Éstas son las mujeres de más edad, las que presentan obesidad y las portadoras de alteraciones trombofílicas. Las mujeres con sobrepeso ($IMC > 25$ kg/metro cuadrado (m^2)) u obesidad ($IMC > 30$ kg/ m^2) tienen 10 veces más riesgo de trombosis cuando toman AO⁽⁶⁵⁸⁾.

4.2.7.1 AO y trombofilia :

Los AO aumentan el riesgo de ETEV producido por los defectos trombofílicos, siendo el riesgo de la combinación muy superior al riesgo individual promovido por cada uno de los factores por separado.

Las mujeres con alteraciones trombofílicas que toman por primera vez tratamiento con AO desarrollan complicaciones trombóticas más frecuentemente y de forma más precoz; de este modo el RR aumenta 19

veces durante los 6 primeros meses de tratamiento y 11 veces el primer año. Por ello, la aparición de ETEV precoz durante el tratamiento con AO, hace necesario descartar la presencia de un defecto trombofílico (648).

La asociación entre AO, trombofilia y trombosis venosa es también válida para la trombosis de los senos venosos cerebrales. Los AO elevan el riesgo de trombosis venosa cerebral hasta una OR de 30, si además se asocia alguna alteración trombofílica, con respecto a las mujeres que no presentan ninguno de estos dos factores de riesgo (172,659).

El riesgo de trombosis venosa cerebral es máximo en las portadoras heterocigotas de la mutación G20210A del gen de la protrombina, siendo todavía la causa de esta asociación desconocida (206).

Los niveles por encima del percentil 90 de algunos factores procoagulantes como el FII, FVIII, FIX, FX y FXI, confieren hasta 3 veces más riesgo trombótico y este riesgo aumenta con la toma de AO, sobre todo en los pacientes con elevación del FII, V y XI. (660,661, 662)

A pesar de que existen estudios limitados que demuestran que los AO aumentan el riesgo trombótico en las pacientes con déficit de AT, PC o PS y ésto es debido a que no existen series amplias de mujeres con estos trastornos; se recomienda evitar el tratamiento con AO en este grupo de pacientes al no poder excluirse un aumento del riesgo (663).

Los portadores del FVL o de la G20210A de la protrombina tienen 15-30 veces más riesgo de trombosis si están en tratamiento con AO (223, 645)

Todos los estudios realizados en relación al riesgo de ETEV y la ingesta de AO en portadoras del FVL, coinciden en señalar que existe un sinergismo entre la presencia de FVL y el uso de AO con respecto al riesgo de ETEV

que se produce cuando ambos factores de riesgo trombótico se presentan de forma separada.

El riesgo de ETEV en mujeres que toman AO es de 3 por 10000 mujeres y año y de 5,7 por 10000 mujeres y año en las portadoras del FVL. En las mujeres que presentan ambos factores de riesgo, la incidencia de ETEV se eleva a 28,5 por 10000 mujeres y año (RR: 34,7) con respecto a las no consumidoras ni portadoras de FVL.

Con estos datos, la mayoría de los autores recomiendan usar otro tipo de tratamiento como control de la natalidad en las portadoras del FVL, únicamente podría considerarse “aceptable” el uso de progestágenos en solitario dado su menor riesgo trombótico, si este tratamiento es realmente necesario.

El RR de ETEV en las homocigotas para FVL es de 100, por lo que el tratamiento con AO está totalmente contraindicado ⁽¹⁴⁶⁾.

La asociación entre AO y la mutación heterocigota G20210A de la protrombina entraña un aumento moderado del riesgo trombótico (RR: 3,5) en relación a mujeres sanas que no toman AO ⁽⁶⁶⁴⁾.

Aunque no hay datos al respecto de las portadoras homocigotas y su relación con los AO y el riesgo trombótico, cabe esperar que el riesgo de esta combinación sea alto.

Se ha descrito un aumento del riesgo de ETEV en mujeres con niveles de FVIII >150 UI/dL que consumen AO. Se ha encontrado una OR de 10,3 (IC 95%:3,7-28,9) en relación a mujeres que no toman AO y tienen niveles de FVIII normales ⁽⁶⁶⁵⁾.

En cuanto a los defectos trombofílicos combinados, no hay datos basados en series amplias de pacientes con este tipo de defectos que evalúen el riesgo adicional de ETEV ⁽⁶⁶⁵⁾.

III. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

La naturaleza multifactorial de la ETEV es evidente debido a la continua identificación de factores de riesgo adquiridos y/o genéticos en los pacientes con trombosis.

Aunque se han logrado avances muy importantes en el campo de la ETEV, aún está pendiente de dilucidar totalmente la relación entre la trombofilia genética y/o adquirida y su trascendencia clínica.

Por ello, nos planteamos realizar el presente trabajo en un intento de esclarecer el mayor número posible de aspectos relacionados con la recurrencia del TEV, así como de aportar información acerca de los factores predictivos de retrombosis.

Nuestros objetivos fueron los siguientes:

- 1) Determinar la relación entre los distintos factores trombofílicos genéticos o adquiridos y la presencia de retrombosis en pacientes que han presentado un episodio de ETEV previo.
- 2) Evaluar la relación entre los niveles elevados de FVIII y el riesgo de retrombosis.
- 3) Determinar la relación de distintos factores clínicos y el desarrollo de retrombosis en pacientes que han presentado un episodio de ETEV.

IV. MATERIAL Y MÉTODOS

1. POBLACIÓN A ESTUDIO:

1.1 CRITERIOS DE SELECCIÓN:

- Pacientes residentes en el área de Soria, que hayan presentado un episodio de ETEV al menos 3 meses antes del estudio, que fueron remitidos a consulta externa de Hematología para estudio de trombofilia.
- Período de estudio: enero de 1998 a diciembre de 2010.
- Tipo de estudio: estudio de cohortes retrospectivo.
- Edad menor a 80 años.
- Se consideró el diagnóstico de TVP, cuando el mismo se haya realizado por métodos objetivos (ecografía venosa de compresión). El diagnóstico de TEP fue realizado por angioTAC helicoidal; asimismo, el diagnóstico de trombosis venosa cerebral, trombosis venosa mesentérica y trombosis de la vena renal también fue objetivado por TAC.
- No estar recibiendo tratamiento anticoagulante oral en los últimos 30 días antes del estudio.
- No historia previa de enfermedad hepática o insuficiencia renal crónica para evitar la elevación del FVIII y/o inhibidores naturales de la coagulación.

1.2 TAMAÑO DE LA MUESTRA:

242 pacientes diagnosticados de un primer episodio de ETEV en el área de Soria desde enero de 1998 a diciembre de 2010 fueron estudiados en Consulta Externa de Hematología en relación a la existencia de algún trastorno trombofílico. De éstos, finalmente 199 serán evaluables. El resto fueron excluidos por presentar 2 o más episodios de TEV antes del estudio, antecedentes de enfermedad hepática o insuficiencia ren

2. VARIABLES CLÍNICAS:

Los datos clínicos de todos los individuos se recogieron mediante revisión de las historias clínicas de los pacientes incluidos en el estudio.

Estos datos incluían la edad del primer evento trombótico, su localización y los factores de riesgo que podían predisponer a trombosis venosa.

Se recogió la presencia de historia familiar de ETEV, definida como la existencia de uno o más familiares de primer grado de los probandos con antecedentes de esta patología, factores de riesgo desencadenantes de trombosis como cirugía previa, traumatismo, inmovilización, embarazo/puerperio y uso de AO, así como otros factores trombofílicos como obesidad, tabaquismo.

También se recogieron los datos referentes a edad, sexo y otras características como el tipo de primer episodio trombótico (TVP de miembros inferiores, TEP u otro tipo de trombosis del territorio venoso), y el tiempo transcurrido en meses entre el primer y el segundo episodio en los casos de ETEV recurrente.

3. DETERMINACIONES PLASMÁTICAS:

3.1 RECOGIDA DE MUESTRAS, CONSERVACIÓN:

La sangre se obtuvo en los pacientes en ayunas, por punción venosa en 3 tubos de vidrio siliconado (Vacutainer, Beckton Dickinson) que contiene el anticoagulante citrato trisódico a una concentración 0,129 M, en una proporción 1:9 volumen de citrato y sangre.

- a) Una muestra de plasma anticoagulada con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) dipotásico y posteriormente congelada se envió a laboratorio Reference (Barcelona) para analizar la homocisteína plasmática total en ayunas.
- b) Una muestra de suero para estudio de aCL y anti β 2-GPI (realizadas en el laboratorio de Hematología del Hospital Santa Bárbara de Soria)
- c) Para la determinación de las proteínas de la coagulación se obtuvo plasma pobre en plaquetas. Las muestras anticoaguladas con citrato sódico se centrifugaron a 3500 revoluciones por minuto (rpm) (1600 g) durante 15 minutos a temperatura ambiente (doble centrifugación 15 minutos a 2500 rpm para obtener plasma pobre en plaquetas). Posteriormente el plasma pobre en plaquetas se separaba del botón celular y se congelaba tras ser alicuotado a -80 grados centígrados (°C) para luego ser procesado en el laboratorio de Hematología Hospital Santa Bárbara Soria.
- d) Por último una muestra de 10 mL de plasma con EDTA dipotásico fue utilizada para la determinación por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) seguida de hibridación inversa de las mutaciones del FVL, MGP y C677T MTHFR. El estudio genético por PCR fue realizado en el Laboratorio de Genética (Servicio de Bioquímica) del Hospital Universitario Miguel Servet.

3.2 PRUEBAS DE COAGULACIÓN DEL ESTUDIO DE HEMOSTASIA BÁSICO:

En el coagulómetro automático STA-R R y STA-R Evolution (Diagnostica Stago, Asnieres sur Seine, Francia) se determinaron: el tiempo de trombina (TT) con trombina bovina, el TTPa utilizando cefalina bovina (fuente

fosfolípido) y silica (como activador) y el TP con tromboplastina humana. Estas determinaciones se realizaron en todos los pacientes para poder excluir el uso de TAO o defectos de la hemostasia.

3.3 DETERMINACIONES MEDIANTE PRUEBAS

COAGULOMÉTRICAS:

Todas ellas se analizaron en el coagulómetro automático STA-R y STA-R Evolution (Diagnostica Stago, Asnieres sur Seine, Francia).

3.3.1 Dímero D:

Se empleó para su determinación el reactivo STA LIATEST D-DI (Diagnostica Stago, Asnieres sur Seine, Francia), al menos 4 semanas después de suspender el TAO. Las partículas de látex recubiertas de anticuerpos monoclonales aglutinaron en presencia de productos de degradación de la fibrina estabilizada (DD). Esta aglutinación provoca una mayor dispersión de la luz que se mide como un aumento de densidad óptica. Posteriormente se procede a extraer el cambio de la densidad óptica a partir de una curva de calibración. El punto de corte para considerar un aumento del riesgo de retrombosis en pacientes con un episodio de ETEV según nuestro laboratorio fue de $<0,5 \mu\text{g/mL}$.

3.3.2 Antitrombina:

El reactivo empleado es STA-Antithrombin III (Diagnostica Stago, Asnières sur Seine, Francia), método coagulativo, mediante la técnica basada en neutralización de la trombina.

La muestra se incuba con una cantidad definida de trombina en exceso bajo la presencia de heparina. La trombina restante se cuantifica por su acción amidolítica sobre el sustrato cromógeno sintético CBS 61.50 (la liberación de p-nitroanilida (pNA) se mide a 405 nanómetros (nms). Dado que la trombina neutralizada en el primer paso de la reacción es proporcional a la concentración de AT presente en nuestra muestra, la cantidad de trombina residual en el segundo paso de la reacción (medida por la liberación de pNA) es inversamente proporcional a la concentración de AT de la muestra.

Los valores de normalidad según nuestro laboratorio se encuentran entre 75-120%.

3.3.3 PC coagulante:

Se realizó mediante el reactivo STA PC Clotting (Diagnostica Stago, Asnières sur Seine, Francia), A la muestra prediluida se le añade cefalina, plasma deficiente en PC y un activador específico de la PC (Protac) para activar la PC de la muestra e iniciar simultáneamente la activación del sistema de contacto de la coagulación intrínseca. También se suma a la muestra cloruro cálcico para desencadenar la cascada de la coagulación. El TTPa transcurrido bajo estas condiciones se determina únicamente mediante la actividad de la PC de la muestra, ya que al añadir el plasma deficiente, la mezcla de la reacción contiene todos los otros factores en exceso. La PCA escinde los FVa y VIIIa prolongando el TTPa. La

actividad de la PC es directamente proporcional a la prolongación del TTPa.

Los valores de normalidad se encuentran entre 70 y 130 %.

3.3.4 PS coagulante:

Se analiza el tiempo de coagulación en presencia de calcio (Ca^{2+}), de un sistema que contiene todos los factores excepto la PS que aporta el plasma diluido del individuo y que está enriquecido con FVa y PCA ⁽⁶⁶⁶⁾.

Utilizamos el reactivo “Protein S Clotting-Test (Diagnostica Stago, Asnières sur Seine, Francia)”, que se basa en la actividad de cofactor de la PS que potencia la acción anticoagulante de la PCA. Esta potenciación se refleja mediante la prolongación del tiempo de coagulación de un sistema enriquecido del FVa, el cual es un sustrato fisiológico para la PCA. Con este test se consigue la medición cuantitativa del nivel de PS funcional basada en el principio de inhibición del FVa ⁽⁶⁶⁶⁾.

El rango de normalidad considerado fue 75% a 140% para los hombres y en el caso de mujeres de 55% a 120%.

3.3.5 r-PCA:

El reactivo usado es Staclot APCR (Diagnostica Stago, Asnières sur Seine, Francia), mediante una prueba de coagulación funcional para la medición de la resistencia del FVL a la PCA debida a una mutación en el FVL (FV:Q⁵⁰⁶).

El principio de la detección de la rPCA se basa en un alargamiento anormalmente débil del tiempo de coagulación del plasma sometido a prueba en presencia de PCA y en medio cálcico. En el sistema STA®-Staclot®APC-R, la coagulación de la muestra diluida se lleva a cabo en presencia de plasma deficiente en FV y de veneno de *Crotalus viridis*

helleri. Este veneno, que actúa como un activador del FX, pone en marcha la coagulación a este nivel y elimina la interacción de los factores situados con anterioridad en la cascada.

El alargamiento del tiempo de coagulación de un plasma normal en presencia de PCA se debe a la capacidad de la PCA aportada por el reactivo que contiene PCA de origen humano en medio cálcico liofilizado, para inactivar el FVa del plasma sometido a prueba.

El valor de normalidad de rPCA según nuestra metodología es ≤ 110 segundos (secs) ^(91,92, 667)

3.3.6 FVIII:C:

El método empleado para su determinación es una técnica en un tiempo coagulativa.

El tiempo de coagulación fue realizado en presencia de plasma deficiente en FVIII (STA Factor VIII, Diagnostica Stago, Asnières sur Seine, Francia), de cefalina (STA APTT Diagnostica Stago, Asnières sur Seine, Francia) y Ca^{2+} (STA Calcium Chloride 0,025 M). Es un sistema donde todos los factores están presentes en exceso a excepción del FVIII que es aportado por el plasma citratado diluido del individuo ⁽⁶⁶⁸⁾.

El incremento del tiempo de coagulación es inversamente proporcional a la actividad del FVIII y se indica como porcentaje de la actividad normal. Los valores de normalidad de considerados por nuestro laboratorio se expresaron en unidades internacionales (UI)/mL y son de 55-150%.

3.3.7 Anticoagulante lúpico:

3.3.7.1 El screening es realizado mediante las siguientes técnicas:

-TTPA sensible a AL (bajas concentración fosfolípidos): PTT-LA (Diagnostica Stago, Diagnostica Stago, Asnières sur Seine, Francia).

Rango normal PTT-LA ratio ≤ 1.3 .

-dRVVT screening (Diagnostica Stago Asnières sur Seine, Francia).

Rango normal < 1.2 .

3.3.7.2 Para la confirmación, procedemos a las siguientes técnicas:

-TTPA con elevada concentración de fosfolípidos (Staclot LA; Diagnostica Stago Asnières sur Seine, Francia). Criterio positividad Staclot LA II-I > 8 seg

-dRVVT confirmación (elevada concentración fosfolípidos). Ratio normalizado < 1.2 ; (Diagnostica Stago Asnières sur Seine, Francia) (424,426).

- PTT-LA (Reactivo TTPA sensibilizado para la detección de AL con baja concentración de fosfolípidos):

Determinación del tiempo de cefalina + activador (TTPa) según Langdell y cols (669,670).

Consiste en medir el tiempo de recalcificación plasmática en presencia de cefalina y activador. La base teórica es que la presencia de AAF del plasma problema pueden inhibir los fosfolípidos de un plasma control y alargar el tiempo de TTPa. El resultado es positivo si la curva de los tiempos de coagulación respecto a la concentración de plasma del paciente es convexa en la zona de menor proporción de plasma problema. La sensibilización del reactivo permite acentuar específicamente el alargamiento debido a la presencia de un AL.

-Staclot DRVV screen y Staclot DRVV confirm (Diagnostica Stago Asnières sur Seine, Francia)

Estos dos reactivos contienen el veneno de la víbora Russell, que es un activador del FX, así como fosfolípidos, un inhibidor de la heparina no fraccionada (HNF), y calcio, desencadenando la coagulación a este nivel y eliminando la interacción de los factores de etapas anteriores ⁽⁶⁷¹⁾.

El test Staclot dRVV Screen se realiza en presencia de una concentración baja de fosfolípidos lo que, en presencia de AL, alarga el tiempo de coagulación.

El test Staclot dRVV Confirm tiene una concentración mayor de fosfolípidos que neutralizan los anticoagulantes lúpicos presentes en el plasma a analizar. Por tanto el tiempo de coagulación con esta prueba es más corto que el encontrado en el test anterior, en el caso de que el screening fuese positivo.

3.4 ANÁLISIS TIPO INMUNOTURBIDIMÉTRICO:

3.4.1 PS libre:

El reactivo empleado es Liatest Free Protein S (Diagnostica Stago, Asnières sur Seine, Francia)

La dosificación antigénica de PS libre se basó en el método de Wolf ⁽⁶⁷²⁾ y consiste en el aumento de la turbidez de una suspensión de micropartículas de látex medida por inmunoturbidimetría (método inmunológico). Cuando las microesferas de látex, sobre cuya superficie se han fijado por covalencia anticuerpos monoclonales específicos de la PS libre, se ponen en presencia de la PS libre del plasma que se está probando, la reacción antígeno-

anticuerpo provoca la aglutinación de las microesferas. Este fenómeno conduce al aumento de la turbidez de la mezcla de reacción y por lo tanto a un aumento de la absorbancia del medio. La magnitud de este aumento es función de la cantidad de PS libre contenida en el plasma analizado.

Los valores de referencia considerados en la mujer fueron de 50-130 % y en el hombre de 70-140%.

3.5 ANÁLISIS TIPO ENZIMAINMUNOENSAYO (ELISA):

3.5.1 Determinación de aCL:

Método utilizado según Gharavi ⁽⁶⁷³⁾. Fundamentalmente se basa en la insolubilización del antígeno a determinar (por ejemplo: cardiolípina) en los pozos de una placa de poliestireno (placas ELISA Costar Serocluster). Se incuba el plasma problema (diluido en suero bovino adulto que es rico en β 2-GPI), que aporta los Acs, en caso de tenerlos (ejemplo: tipo IgG aCL) y se añade un 2º Ac marcado con peroxidasa de conejo (Dako) (ejemplo: anti IgG humano marcado con peroxidasa). Este enzima rompe el substrato ortofenildiamina, dando un color que se puede cuantificar en un espectrofotómetro a 492 nm y que es proporcional a la concentración de Ac (ejemplo: IgG aCL) en el plasma.

Con este método ⁽⁶⁷³⁾ se analizan los aCL tipo IgG e IgM y se utiliza la cardiolipina como antígeno respectivamente.

Los valores de normalidad según nuestro laboratorio fueron para aCL tipo IgG <10 Unidades GPL/mL y para anticardiolipina tipo IgM <10 Unidades MPL/mL.

3.5.2 Determinación de Acs tipo anti- β 2-GPI IgG:

El reactivo ZENIT RA β 2-GLYCOPROTEIN I IgG (Menarini, Badalona, España) para la determinación cuantitativa de las IgG específicas anti- β 2-GPI utiliza un método inmunológico indirecto de dos pasos, basado en el principio de la quimioluminiscencia. La β 2-GPI se utiliza para recubrir las partículas magnéticas (fase sólida); un Ac anti-IgG humana se marca con un derivado del éster de acridinio (conjugado). Durante la primera incubación, los Acs específicos presentes en la muestra, en los calibradores o en los controles se ligan a la fase sólida. Durante la segunda incubación, el conjugado reacciona con los Acs anti- β 2-GPI IgG capturados en la fase sólida. Después de cada incubación, el material no ligado a la fase sólida se elimina por aspiración y sucesivo lavado. La cantidad de conjugado marcado que queda ligado a la fase sólida se evalúa activando la reacción de quimioluminiscencia y midiendo la señal luminosa. La señal generada, expresada en unidades relativas de luz (RLU (Relative Light Unit)), indica la concentración de Acs específicos presentes en la muestra, calibradores y controles.

El valor de referencia de normalidad en nuestro laboratorio para anti- β 2-GPI tipo IgG es <7 UI/ml.

3.6 DETERMINACIÓN DE HOMOCISTEÍNA PLASMÁTICA EN AYUNAS:

Técnica de inmunoanálisis de polarización de la fluorescencia (FPIA) que utiliza el autoanalizador IMx de los laboratorios Abbott. La homocisteína en forma oxidada se reduce a homocisteína libre y ésta se convierte enzimáticamente en S-adenosil-L-homocisteína (SAH), se añade un Ac monoclonal, la SAH y el trazador marcado con fluoresceína compiten por los sitios de unión del Ac monoclonal, la intensidad de la luz polarizada se mide con el sistema óptico FPIA (C.V:1,9%). Valores de normalidad en nuestro laboratorio 5-12 $\mu\text{mol/L}$)

4. ESTUDIO GENÉTICO:

4.1 DETECCIÓN DE LAS MUTACIONES DEL FACTOR VG1691A (FVR506Q) (LEIDEN), MGP (PTH G20210A) Y C677T DE LA MTHFR:

- Se utilizó el “ test FV-PTH-MTHFR Strip-Assay (VIENNALAB)”, que es un test diseñado para la detección de las mutaciones del factor VG1691A (FVR506Q) (Leiden), la protrombina (PTH G20210A) y el gen MTHFR C677T basado en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) e hibridación inversa.

-El procedimiento consta de 3 pasos:

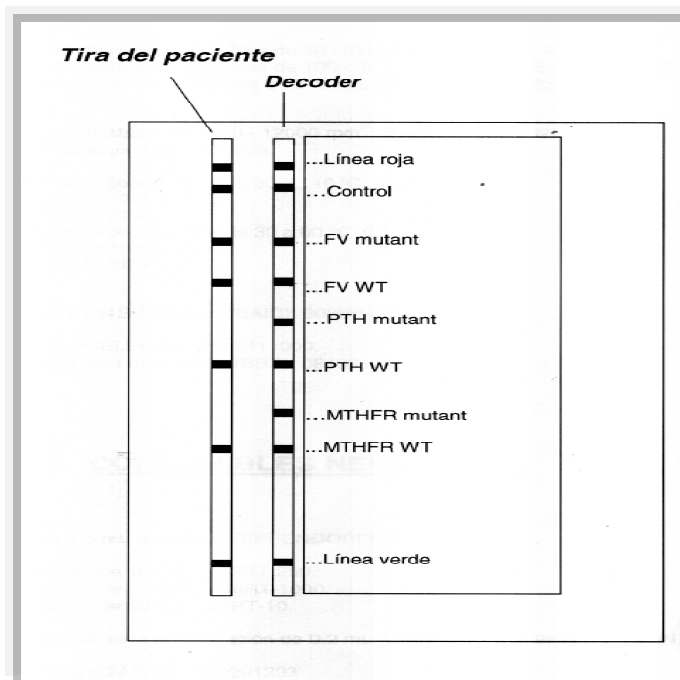
a) Aislamiento del ADN

b) Amplificación mediante PCR utilizando primers marcados con biotina.

c) Hibridación/revelado de los productos de amplificación en una tira que contiene sondas de oligonucleótido alelo-específico fijadas en líneas paralelas. Las secuencias marcadas con biotina unidas a la tira, se detectan utilizando estreptavidina-fosfatasa alcalina y sustrato de color.

- Como resultado del test se obtiene “un patrón de bandas” que se interpreta con la ayuda de una plantilla (tira control)

Figura 1. Plantilla con tira control y tira del paciente



Las sondas (oligonucleótidos) de ADN complementarias a los genes normales o mutados están pegadas en la superficie de las tiras.

Figura 2. Sondas de DNA adheridas a la superficie de la tira

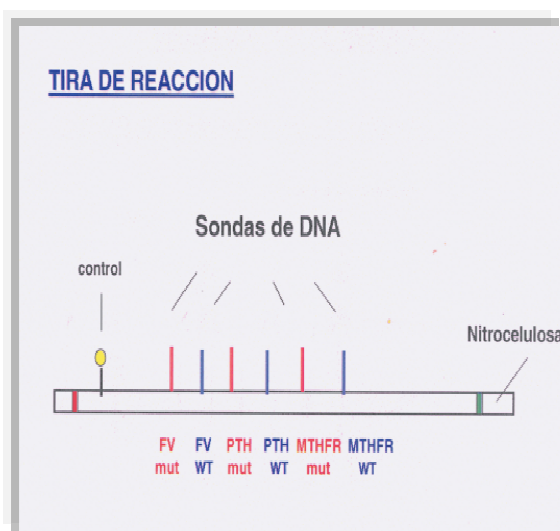
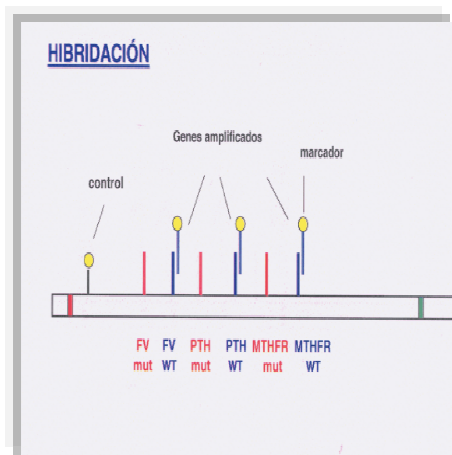


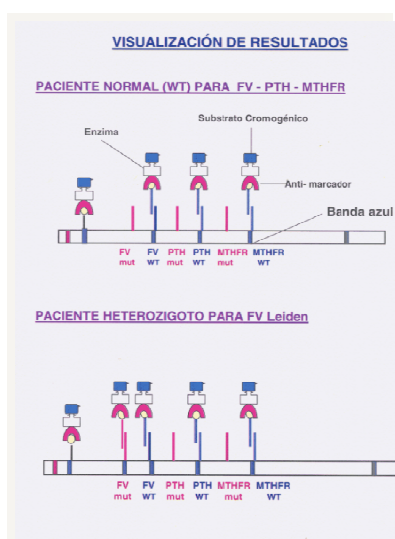
Figura 3. Hibridación de los productos de amplificación



El gen normal se unirá a las sondas complementarias del gen normal (bandas) y el gen mutado se unirá a las sondas complementarias del gen mutado.

Figura 4. Visualización resultados.

Zona superior figura 4: paciente normal para FV, PTH y MTHFR. Zona inferior figura 4: paciente heterocigoto FVL.



El conjugado que lleva la enzima se une al marcador y el sustrato al reaccionar con el enzima se transforma en un producto de color azul.

5. TÉCNICAS ESTADÍSTICAS DEL ANÁLISIS DE DATOS:

Se ha realizado un estudio retrospectivo con un total de 199 pacientes que han presentado un episodio de ETEV previo, en el área de salud de Soria desde enero de 1998 a diciembre de 2010 remitidos para estudio de trombofilia a consultas externas de Hematología. El objetivo del trabajo es analizar la relación entre distintos factores trombofílicos genéticos o adquiridos y factores clínicos, y la presencia de retrombosis.

El análisis estadístico se ha dividido en dos partes fundamentalmente:

5.1 Análisis descriptivo.

5.2 Análisis inferencial.

5.1 ANÁLISIS DESCRIPTIVO:

Las variables en estudio se han descrito utilizando medidas descriptivas tales como frecuencias, porcentajes, mínimos, máximos, medianas, medias y gráficos (histogramas y de sectores), según el paciente haya presentado retrombosis o no.

5.2 ANÁLISIS INFERENCIAL:

5.2.1 Análisis de supervivencia:

El objetivo del siguiente análisis es determinar qué variables o factores (clínicos ó trombofílicos genéticos o adquiridos) influyen o modifican el

riesgo de padecer retrombosis en pacientes que han presentado un episodio de ETEV previo, considerando el tiempo transcurrido en meses desde que se produjo el primer episodio trombótico hasta que se produce el segundo episodio trombótico, si lo ha habido, o hasta que finalizó el tiempo de seguimiento sin haberse producido el evento, o se dejó de tener información acerca del paciente (casos censurados). Las variables en estudio han sido:

- Factores trombofílicos: déficit de AT, déficit de PC coagulante, déficit de PS coagulante, déficit de PS libre, niveles elevados de FVIII:C ($>150\%$), valores elevados de DD ($\geq 0,5 \mu\text{g/ml}$), rPCA, mutación del factor VG1691A (FVR506Q) (Leiden), mutación G20210A del gen de la protrombina, mutación C677T MTHFR, valores normales de homocisteína ($\leq 12 \text{ mcmol/L}$), AL, aCL IgG, aCL IgM, anti- $\beta 2$ -GPI IgG.

- Factores clínicos: grupos de edad, sexo, localización del primer evento, tipo de primer episodio (idiopático o secundario a algún factor de riesgo conocido), historia familiar de trombosis, inmovilización previa, antecedentes de neoplasia (sin presentar signos de cáncer activo en el momento del ETEV, es decir al menos 5 años en remisión completa) cirugía en los dos meses previos al primer episodio trombótico, portadores CVC, traumatismo previo, embarazo/puerperio, obesidad, tabaquismo, tratamiento hormonal (fundamentalmente AO), insuficiencia venosa crónica.

Para ello se ha utilizado un conjunto de técnicas estadísticas denominadas “Análisis de Supervivencia”, estas técnicas son de tipo no paramétrico, ya que únicamente se pretende contrastar cómo se modifica el riesgo de fallo por efecto de variables externas, y no se dispone de información acerca de la distribución que sigue dicho riesgo, en todo caso y de forma intuitiva se

examinarán los gráficos (función de supervivencia y función de riesgo acumulado estimados) que proporcionarán una idea aproximada de cómo evoluciona el riesgo en función del tiempo transcurrido desde que se inició el seguimiento.

- Kaplan-Meier

Se ha procedido a analizar de una forma puramente descriptiva la función de supervivencia y la función de riesgo acumulado (estimador producto límite de Kaplan-Meier), contrastando si la función de riesgo es diferente en función de la presencia de ciertos factores, para ello se ha utilizado el estimador producto límite de Kaplan-Meier, haciendo el contraste de Mantel-Haenszel (log-rank) por parejas de grupos para variables cualitativas, y el de tendencia lineal para variables ordinales o continuas. Anteriormente se ha contrastado la hipótesis de riesgo proporcional que exige el contraste. Esta hipótesis exige que las curvas de supervivencia de los distintos grupos no se crucen, y que los logaritmos de los estimadores de la función de riesgo acumulado en los grupos sean líneas paralelas.

- Regresión de Cox:

Se ha llevado a cabo regresión de Cox de riesgo proporcional para contrastar el efecto simultáneo, de las variables en estudio que resultan significativas en el análisis de Kaplan-Meier.

El modelo de regresión de Cox que se pretende ajustar es el siguiente:

$$h(t) = [h_0(t)] \cdot e^{(B_1X_1+B_2X_2+\dots+B_pX_p)}$$

Este modelo implica que la función de riesgo $h(t)$, viene dada por una función de riesgo base $h_0(t)$ (que depende del tiempo y es común a todos

los individuos), y por un factor ($\exp(B_I X_I + \dots + B_P X_P)$) que depende del valor que tomen las covariables (y no del tiempo).

Las estimaciones de los coeficientes son los valores de B que hay que sustituir en el modelo. La interpretación, no obstante, se debe de llevar a cabo con $\exp(B)$ que indica el ratio entre las funciones de riesgo de las personas que tienen la característica a aquellas que no la tienen (variables cualitativas) o el porcentaje de cambio de la función de riesgo por unidad de incremento en la covariable (variables cuantitativas).

Se han probado diferentes algoritmos de construcción del modelo de regresión de Cox multivariante (incluyendo más de una covariable): método introducir, paso a paso hacia delante de razón de verosimilitud, paso a paso hacia atrás de razón de verosimilitud, paso a paso hacia delante manual y paso a paso hacia atrás manual.

Anteriormente a la estimación del modelo se ha contrastado la hipótesis de riesgo proporcional que exige esta regresión. Esta hipótesis exige que la ratio entre los riesgos para dos casos debe ser constante a lo largo del tiempo (674-677).

V. RESULTADOS

1. ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA

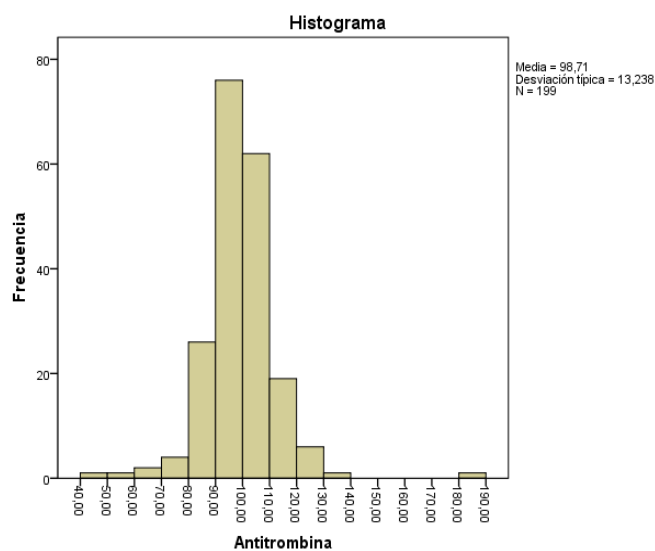
1.1 FACTORES TROMBOFÍLICOS:

1.1.1 Antitrombina (AT):

Antitrombina	Frecuencia	Mínimo	Máximo	Mediana	Media	Desv. Típica
Retromb. Sí	52	49,00	118,00	97,00	96,19	11,30
Retromb. No	147	53,00	185,00	99,00	99,61	13,78
Total	199	49,00	185,00	98,00	98,71	13,24

La media de los valores de AT en el grupo de pacientes que presentaron retrombosis fue de 96,19%, con un rango de 49 a 118% y de 99,61%, con rango de 53 a 185% en el grupo que no presentó recidiva.

En el siguiente histograma se muestran las frecuencias observadas.

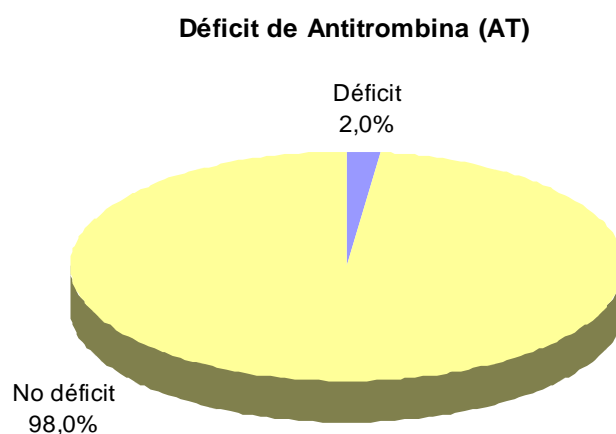


1.1.1.1- Déficit de Antitrombina (AT):

<i>Déficit de Antitrombina (AT)</i>	<i>Retrombosis</i>					
	Sí		No		Total	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>N</i>	%
Déficit	2	3,8	2	1,4	4	2,0
No déficit	50	96,2	145	98,6	195	98,0
Total	52	100,0	147	100,0	199	100,0

Tan solo 4 pacientes (2%) presentaron déficit de AT y de estos la mitad sufrieron una recidiva trombótica, frente a 195 (98%) sin déficit de AT de los cuales 50 se retombosaron.

El gráfico muestra los porcentajes de pacientes con déficit de AT y sin déficit de AT.

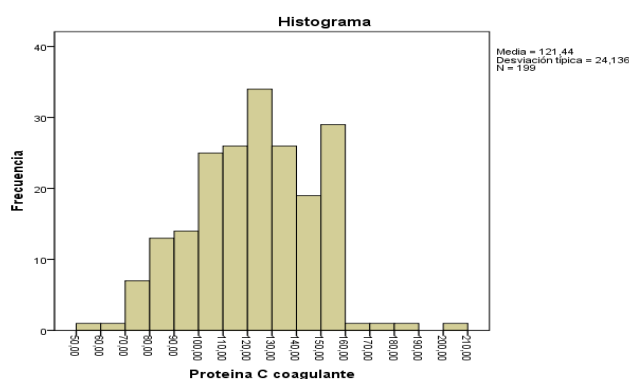


1.1.2- PC coagulante:

Proteína C coagulante	Frecuencia	Mínimo	Máximo	Mediana	Media	Desv. Típica
Retromb. Sí	52	71,00	156,00	118,50	116,45	21,09
Retromb. No	147	57,00	200,00	126,00	123,20	24,95
Total	199	57,00	200,00	122,00	121,44	24,14

En los pacientes estudiados, prácticamente no se observaron diferencias en los valores de PC coagulante, siendo la media de 116,45% en el grupo que experimentó retrombosis y de 123,20% en el grupo que no sufrió dicha recidiva.

El gráfico expuesto a continuación muestra las frecuencias observadas.



1.1.2.1- Déficit de PC coagulante:

Déficit de proteína C (PC) coagulante	Retrombosis					
	Sí		No		Total	
	n	%	n	%	n	%
Déficit	0	0,0	2	1,4	2	1,0
No déficit	52	100,0	145	98,6	197	99,0
Total	52	100,0	147	100,0	199	100,0

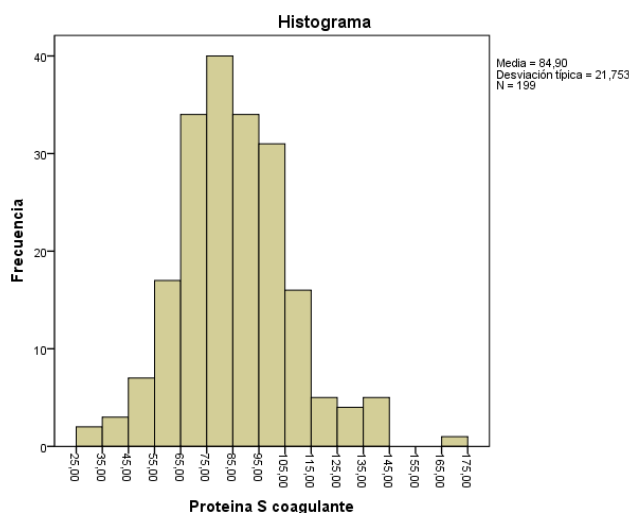
El 1% del total de los pacientes (2 casos) mostró déficit de PC coagulante y ninguno de ellos presentó recurrencia trombótica.

1.1.3- PS coagulante:

Proteína S coagulante	Frecuencia	Mínimo	Máximo	Mediana	Media	Desv. Típica
Retromb. Sí	52	28,00	140,00	86,00	84,75	22,23
Retromb. No	147	29,00	165,00	82,00	84,96	21,66
Total	199	28,00	165,00	84,00	84,90	21,75

Las medias de la PS coagulante en el grupo de pacientes que se retrombosaron y en el grupo que no presentó recurrencia trombótica fueron muy similares siendo de 84,75% y 84,96% respectivamente.

El histograma representa las frecuencias de los niveles de PS coagulante en los 199 pacientes estudiados.



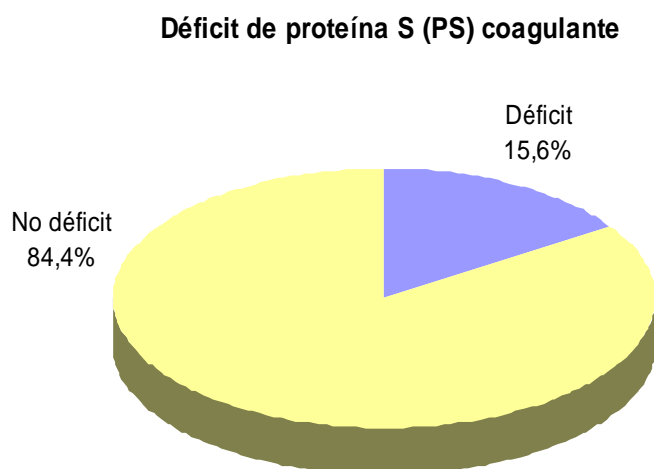
La mediana de los valores de PS coagulante fue de 84% (28-165%)

1.1.3.1- Déficit de PS coagulante:

<i>Déficit de proteína S (PS) coagulante</i>	<i>Retrombosis</i>					
	Sí		No		Total	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>N</i>	%
Déficit	10	19,2	21	14,3	31	15,6
No déficit	42	80,8	126	85,7	168	84,4
Total	52	100,0	147	100,0	199	100,0

En cuanto al déficit de PS coagulante, en nuestra muestra observamos 31 pacientes (15,6%) con déficit de PS coagulante, de ellos 10 (19,6%) experimentaron una retrombosis; en cambio en el grupo de pacientes sin déficit de PS coagulante (n=168) tan sólo 42 (25%) sufrieron una recidiva trombótica frente a 126 sin retrombosis.

El gráfico muestra el porcentaje de pacientes con déficit de PS coagulante con respecto al total de la muestra.

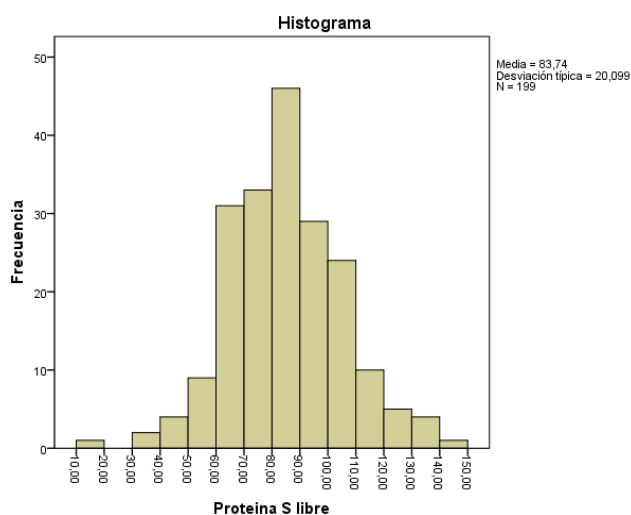


1.1.4- PS libre:

Proteína S libre	Frecuencia	Mínimo	Máximo	Mediana	Media	Desv. Típica
Retromb. Sí	52	30,00	135,00	80,00	81,62	21,17
Retromb. No	147	10,00	148,00	85,00	84,49	19,73
Total	199	10,00	148,00	85,00	83,74	20,10

Tampoco se observaron diferencias importantes en los valores de PS libre entre los dos grupos de pacientes estudiados, siendo la media en el grupo de retrombosis de 81,62% y de 84,49% en el grupo de no retrombosis. La mediana de los valores de PS libre fue de 85% (10-148%).

En el gráfico aparecen las frecuencias de la PS libre en nuestra muestra.

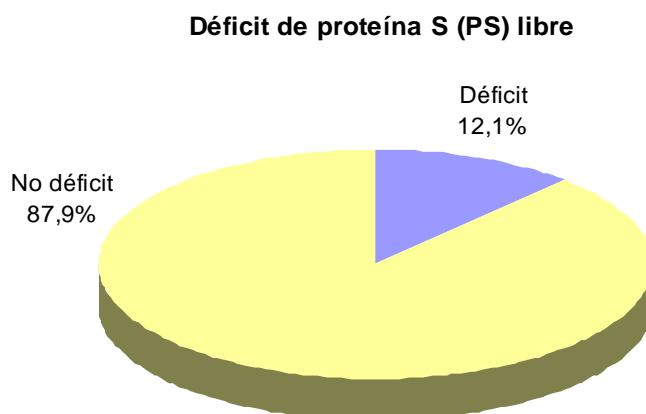


1.1.4.1- Déficit de PS libre:

<i>Déficit de proteína S (PS) libre</i>	<i>Retrombosis</i>					
	Sí		No		Total	
	<i>n</i>	<i>%</i>	<i>n</i>	<i>%</i>	<i>n</i>	<i>%</i>
Déficit	11	21,2	13	8,8	24	12,1
No déficit	41	78,8	134	91,2	175	87,9
Total	52	100,0	147	100,0	199	100,0

24 pacientes (12,1%) presentaron déficit de PS libre y de éstos 11 (45,83%) recidivaron, frente a 41 retrombosis de los 175 (23,42%) pacientes sin déficit de PS libre.

En el diagrama expuesto a continuación podemos observar el porcentaje de pacientes con y sin déficit de PS libre.

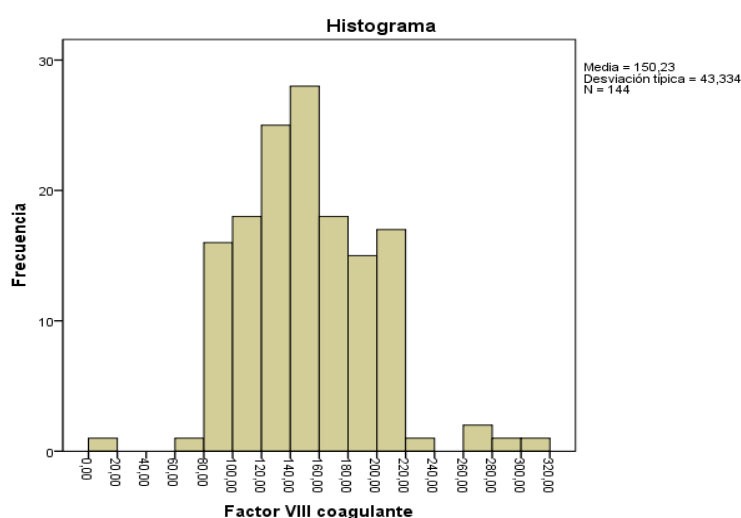


1.1.5- FVIII:C:

Factor VIII coagulante	Frecuencia	Mínimo	Máximo	Mediana	Media	Desv. Típica
Retromb. Sí	38	96,00	300,00	159,00	170,79	49,06
Retromb. No	106	11,00	262,00	144,50	142,86	38,75
Total	144	11,00	300,00	148,00	150,23	43,33

Al analizar los valores de FVIII:C en nuestra muestra, se observa que los pacientes con retrombosis tienen unas cifras de FVIII:C más elevadas (media de 170,79%) que los pacientes que no experimentaron una recidiva trombótica, los cuales tienen una media de 142,86%. La mediana de los valores de FVIII:C fue de 148%.

En el histograma se muestran las frecuencias observadas, así como la media y la desviación típica.



1.1.5.1- Niveles elevados de FVIII:C (>150 %):

Niveles elevados de Factor VIII coagulante (FVIII:C)	<i>Retrombosis</i>					
	Sí		No		Total	
	<i>n</i>	%	<i>N</i>	%	<i>n</i>	%
Nivel elevado	23	60,5	41	38,7	64	44,4
No nivel elevado	15	39,5	65	61,3	80	55,6
Total	38	100,0	106	100,0	144	100,0

De los 144 pacientes en los que se estudió el FVIII:C, 38 presentaron retrombosis y de éstos 23 (60,5%) tenían niveles elevados de FVIII:C. En los 106 pacientes que no recidivaron, 41(38,7%) mostraban elevación del FVIII:C, frente a 65 (61,3%) que no tuvieron niveles altos de FVIII:C.

El diagrama representa el porcentaje de pacientes con niveles de FVIII:C >150%.



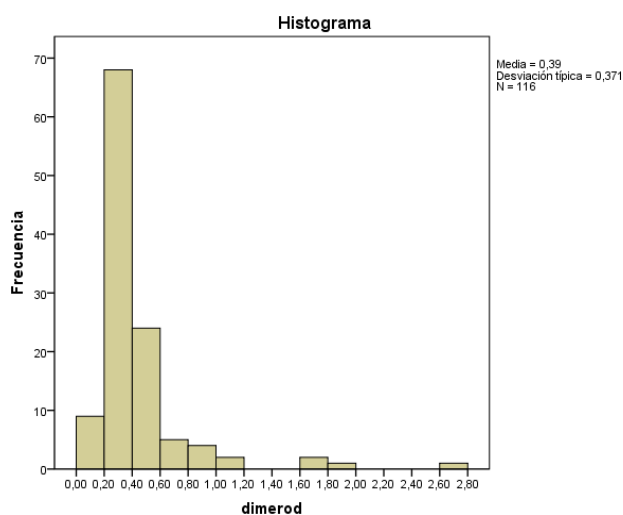
1.1.6- DD:

Dímero D	Frecuencia	Mínimo	Máximo	Mediana	Media	Desv. Típica
Retromb. Sí	30	0,10	1,80	0,30	0,43	0,34
Retromb. No	86	0,04	2,77	0,23	0,37	0,38
Total	116	0,04	2,77	0,26	0,39	0,37

Los valores de DD fueron ligeramente más altos en los pacientes con retrombosis, con una media de 0,43 µg/mL, frente a 0,37 µg/mL que fue la media encontrada en los pacientes sin recurrencia trombótica.

La mediana del valor de DD fue de 0,26 µg/mL, con un mínimo de 0,04 y un máximo de 2,77 µg/mL.

En el histograma podemos ver las frecuencias de DD, que se observan en nuestro estudio.



1.1.6.1- Valores elevados de DD ($\geq 0,5 \mu\text{g/ml}$):

Valores elevados de dímero D	Retrombosis					
	Sí		No		Total	
	<i>N</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
Sí	8	26,7	14	16,3	22	19,0
No	22	73,3	72	83,7	94	81,0
Total	30	100,0	86	100,0	116	100,0

Los niveles de DD fueron estudiados en 116 pacientes. Tan sólo 22 pacientes (19%) tuvieron valores $\geq 0,5 \text{ mg/mL}$, de los cuales 8 (36,36%) presentaron retrombosis. De los 94 pacientes (81%) sin elevación del DD, 22 (23,4%) se retrombosaron y 72 (76,95%) no lo hicieron.

En el gráfico aparecen representados el porcentaje de pacientes con niveles elevados de DD.

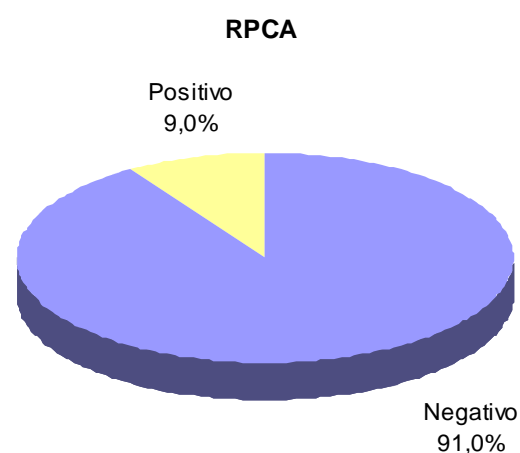


1.1.7- rPCA:

<i>rPCA</i>	<i>Retrombosis</i>					
	Sí		No		Total	
	<i>n</i>	%	<i>N</i>	%	<i>n</i>	%
Negativo	49	94,2	132	89,8	181	91,0
Positivo	3	5,8	15	10,2	18	9,0
Total	52	100,0	147	100,0	199	100,0

Al estudiar la presencia de rPCA, 18 pacientes (9%) presentan rPCA, de los cuales 3 (16,66%) tuvieron un nuevo episodio trombótico, en cambio 181 (91%) fueron negativos para rPCA, con 49 (27,07%) retrombosis y 132 (72,92%) que no presentaron recidiva.

El diagrama representa los pacientes positivos y negativos para la rPCA respecto al total de la muestra.

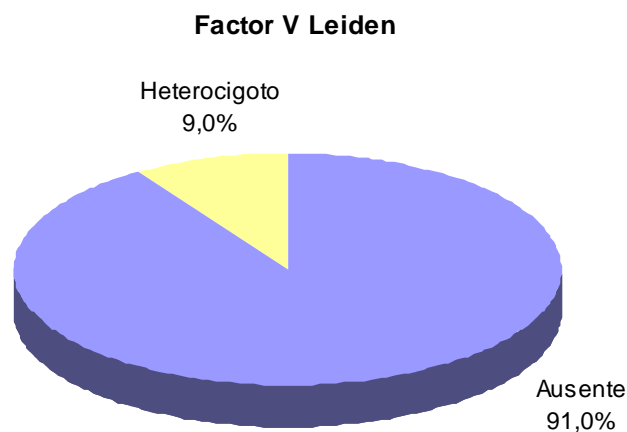


1.1.8- Mutación del FVL:

<i>Factor V Leiden</i>	<i>Retrombosis</i>					
	Sí		No		Total	
	<i>N</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
Ausente	49	94,2	132	89,8	181	91,0
Heterocigoto	3	5,8	15	10,2	18	9,0
Total	52	100,0	147	100,0	199	100,0

En nuestra muestra no hubo ningún paciente homocigoto para la mutación del FVL, 18 (9%) fueron heterocigotos y 181 (91%) negativos para la mutación. 3 pacientes (16,66%) recidivaron en el grupo de heterocigotos versus 49 (27,07%) retrombosis en los pacientes sin la mutación.

Tal y como podemos observar, el porcentaje de pacientes portadores de la mutación del FVL es concordante con la positividad para la rPCA.



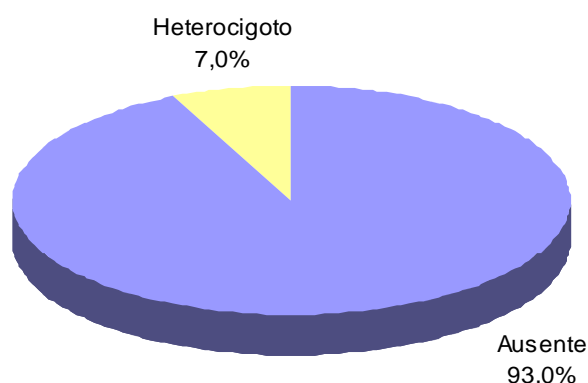
1.1.9- Mutación G20210A del gen de la protrombina:

<i>Mutación protrombina</i>	<i>Retrombosis</i>					
	Sí		No		Total	
	<i>N</i>	<i>%</i>	<i>n</i>	<i>%</i>	<i>n</i>	<i>%</i>
Ausente	51	98,1	134	91,2	185	93,0
Heterocigoto	1	1,9	13	8,8	14	7,0
Total	52	100,0	147	100,0	199	100,0

Al igual que en la mutación del FVL, en nuestra muestra ningún paciente era homocigoto para G20210A. Observamos 14 portadores de la mutación G20210A del gen de la protrombina, de los cuales 1 (7,1%) sufrió retrombosis frente a 51 retrombosis (27,56%) de 185 pacientes con ausencia de la mutación.

En el diagrama expuesto a continuación, aparece el porcentaje de pacientes sin la mutación y el porcentaje de pacientes heterocigotos.

Mutación protrombina

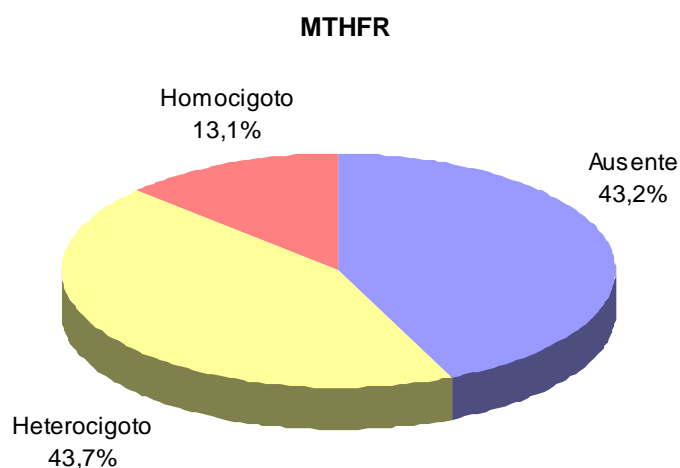


1.1.10- Mutación del gen de la MTHFR (C677T MTHFR):

<i>MTHFR</i>	<i>Retrombosis</i>					
	Sí		No		Total	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
Ausente	22	42,3	64	43,5	86	43,2
Heterocigoto	22	42,3	65	44,2	87	43,7
Homocigoto	8	15,4	18	12,2	26	13,1
Total	52	100,0	147	100,0	199	100,0

La relación de esta mutación con la ETEV ha sido descartada. Únicamente describiremos la frecuencia de portadores y homocigotos de C677T MTHFR, ya que en todos los pacientes se realiza el estudio genético en conjunto de las 3 mutaciones factor VG1691A (FVR506Q) (Leiden), G20210PTH y C677T MTHFR.

26 pacientes fueron homocigotos (13,1%) para C677T MTHFR, 87 heterocigotos (43,7%) y 86 (43,2%) no presentaron la mutación.

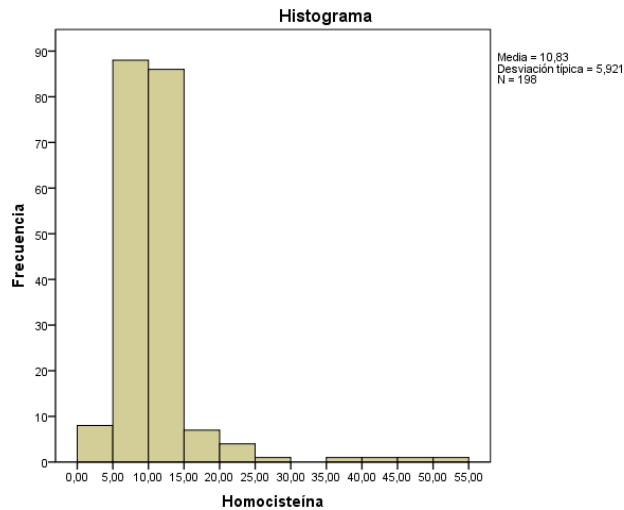


1.1.11- Homocisteína:

Homocisteína	Frecuencia	Mínimo	Máximo	Mediana	Media	Desv. Típica
Retromb. Sí	51	3,04	44,00	11,00	11,93	6,75
Retromb. No	147	1,60	50,00	10,00	10,45	5,58
Total	198	1,60	50,00	10,00	10,83	5,92

La media de los valores de homocisteína en el grupo de pacientes con retrombosis (11,93 $\mu\text{m/L}$) no difiere de la del grupo sin retrombosis (10,45 $\mu\text{m/L}$).

En el siguiente histograma podemos ver las frecuencias de los valores de homocisteína, la media y la desviación típica.

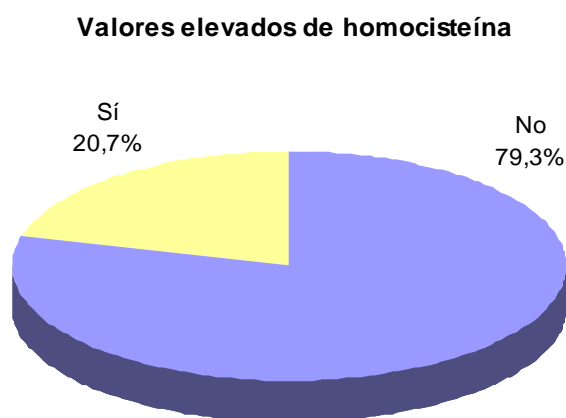


1.1.11.1- Valores elevados de homocisteína (>12 μmol/L):

Valores elevados de homocisteína	Retrombosis					
	Sí		No		Total	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
No	38	74,5	119	81,0	157	79,3
Sí	13	25,5	28	19,0	41	20,7
Total	51	100,0	147	100,0	198	100,0

Los niveles de homocisteína se valoraron en 198 pacientes. 41 (20,7%) tuvieron elevación de dichos niveles, 13 (31,7%) se retrombosaron y 28 (68,29%) no, frente a 157 (79,3%) que no mostraron elevación de homocisteína con 38 (24,2%) retrombosis y 119 (75,79%) sin retrombosis.

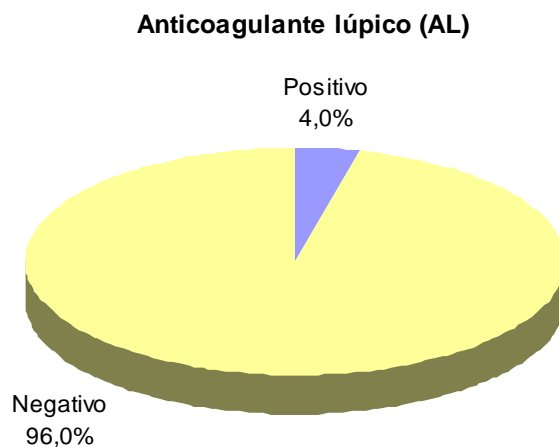
El gráfico expuesto a continuación nos ayuda a diferenciar el porcentaje de pacientes con elevación de homocisteína y el porcentaje que no presenta elevación de homocisteína.



1.1.12- AL:

AL	Retrombosis					
	Sí		No		Total	
	n	%	n	%	n	%
Positivo	5	9,6	3	2,0	8	4,0
Negativo	47	90,4	144	98,0	191	96,0
Total	52	100,0	147	100,0	199	100,0

Al estudiar el AL, tan sólo 8 (4%) pacientes tenían AL positivo, con 5 (62,5%) retrombosis, mientras que 191 (96%) no presentaban AL, con 47 (24,6%) retrombosis.

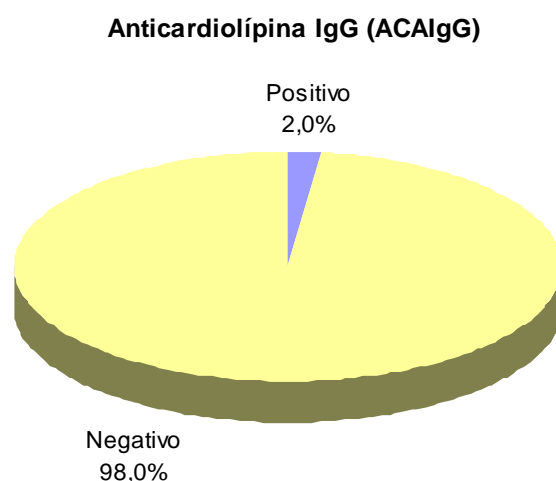


1.1.13- aCL IgG:

<i>aCL IgG</i>	<i>Retrombosis</i>					
	Sí		No		Total	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>N</i>	%
Positivo	2	3,8	2	1,4	4	2,0
Negativo	50	96,2	145	98,6	195	98,0
Total	52	100,0	147	100,0	199	100,0

4 pacientes (2%) fueron positivos para aCL IgG y de ellos 2 (50%) presentaron un nuevo episodio de ETEV. Por otra parte 195 (98%) pacientes fueron negativos y 50 tuvieron una nueva trombosis (25,64%).

El gráfico nos muestra la escasa frecuencia de los pacientes positivos para aCL IgG.

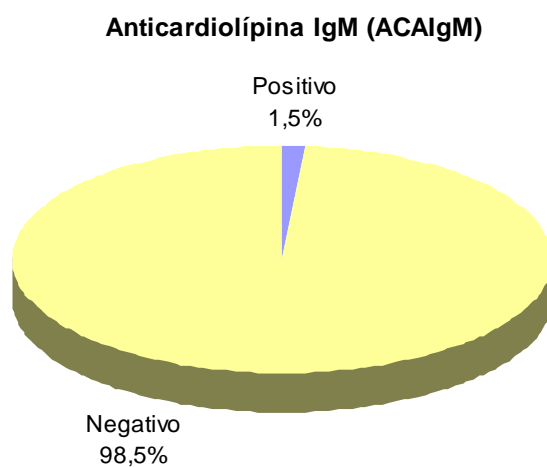


1.1.14- aCL IgM :

<i>aCL IgM</i>	<i>Retrombosis</i>					
	Sí		No		Total	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
Positivo	1	1,9	2	1,4	3	1,5
Negativo	51	98,1	145	98,6	196	98,5
Total	52	100,0	147	100,0	199	100,0

Al igual que para aCL IgG, también nos encontramos con muy pocos casos positivos para aCL IgM. 3 pacientes fueron positivos para este anticuerpo y 1 (33,33%) tuvo una nueva trombosis, mientras que 196 fueron negativos, con 51 (26,02%) retrombosis.

En el diagrama aparecen el porcentaje de casos positivos para aCL IgM y el porcentaje de casos negativos.



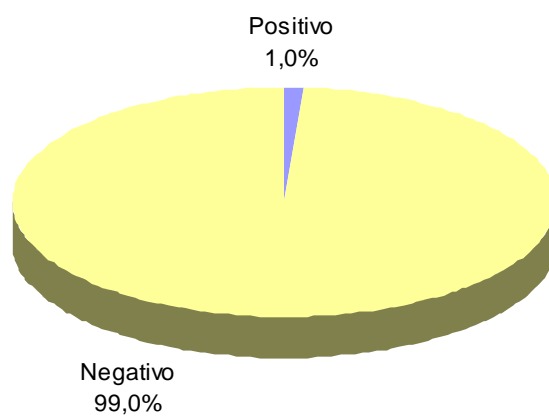
1.1.15- anti-β2-GPI:

<i>anti-β2-GPI</i>	<i>Retrombosis</i>					
	Sí		No		Total	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
Positivo	1	1,9	1	0,7	2	1,0
Negativo	51	98,1	146	99,3	197	99,0
Total	52	100,0	147	100,0	199	100,0

Tan sólo 2 pacientes (1%) fueron positivos para el anti-β2-GPI y 1 de ellos presentó un nuevo episodio de ETEV, en cambio hubo 51 retrombosis en los 197 pacientes (99%) negativos para anti-β2-GPI.

Se puede observar en el gráfico el escaso porcentaje de pacientes positivos para anti-β2-GPI.

Anti β 2-glicoproteína IgG (anti- β 2-GPI)

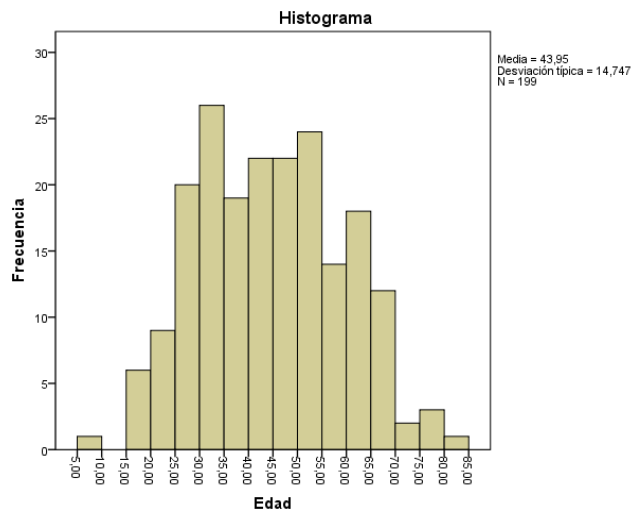


1.2- FACTORES CLÍNICOS:

1.2.1- Edad:

Edad	Frecuencia	Mínimo	Máximo	Mediana	Media	Desv. Típica
Retromb. Sí	52	20,00	80,00	53,50	49,19	15,33
Retromb. No	147	9,00	78,00	41,00	42,10	14,13
Total	199	9,00	80,00	42,00	43,95	14,75

La mediana de edad de los pacientes de nuestro estudio fue de 42 años.



1.2.2- Sexo:

Sexo	Retrombosis					
	Sí		No		Total	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
Hombre	33	63,5	80	54,4	113	56,8
Mujer	19	36,5	67	45,6	86	43,2
Total	52	100,0	147	100,0	199	100,0

113 (56,8%) pacientes fueron hombres y 86 (43,2%) mujeres.

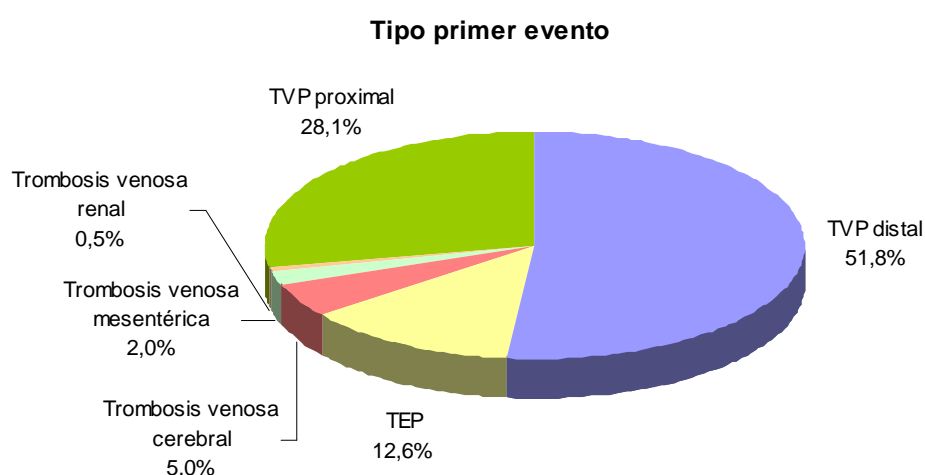


1.2.3- Localización del primer evento:

Localización primer evento	Retrombosis					
	Sí		No		Total	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
TVP distal	29	55,8	74	50,3	103	51,8
TEP	2	3,8	23	15,6	25	12,6
Trombosis venosa cerebral	1	1,9	9	6,1	10	5,0
Trombosis venosa mesentérica	0	0,0	4	2,7	4	2,0
Trombosis venosa	0	0,0	1	0,7	1	0,5

renal						
TVP proximal	20	38,5	36	24,5	56	28,1
Total	52	100,0	147	100,0	199	100,0

En cuanto al tipo de primer episodio de trombosis venosa, lo más frecuente fue la TVP de miembros inferiores, con 103 casos (51,8%) de TVP distal y 56 casos de TVP proximal (28,1%), seguida del TEP, con 25 casos (12,6%). A mucha distancia quedan otros tipos de trombosis venosa menos frecuentes como son la trombosis venosa cerebral, la trombosis venosa mesentérica y la trombosis venosa renal que suponen el 5 %, el 2% y el 0,5% respectivamente.

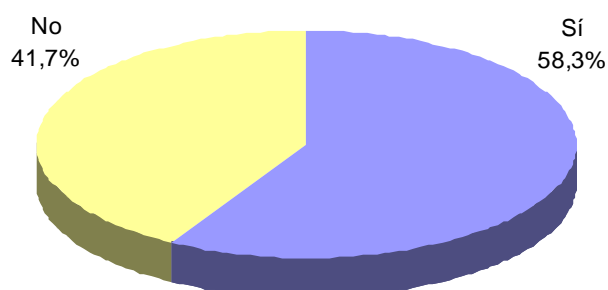


1.2.4- Trombosis espontánea como primer episodio:

Trombosis espontánea primer episodio	Retrombosis					
	Sí		No		Total	
	n	%	n	%	n	%
Sí	34	65,4	82	55,8	116	58,3
No	18	34,6	65	44,2	83	41,7
Total	52	100,0	147	100,0	199	100,0

Más de la mitad de los pacientes (58,3%) presentaron una trombosis espontánea como primer episodio, mientras que el 41,7% tuvieron una trombosis secundaria. En la tabla superior, se observa que el número de retrombosis es mayor en los pacientes con trombosis espontánea inicial (34 de 116 (29,31%), frente a 18 de 83 (21,68%)

Trombosis espontánea como primer episodio



1.2.5- Historia familiar de trombosis:

Historia familiar de trombosis	Retrombosis					
	Sí		No		Total	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
Sí	12	23,1	38	25,9	50	25,1
No	40	76,9	109	74,1	149	74,9
Total	52	100,0	147	100,0	199	100,0

Prácticamente no se observaron diferencias entre los pacientes con antecedentes familiares de trombosis y aquellos que no tenían historia familiar trombótica, de hecho, 50 pacientes (25,1%) tenían algún antecedente familiar de trombosis y de éstos 12 (24%) tuvieron recurrencia trombótica, frente a 40 (26,8%) retrombosis que sucedieron en los 149 pacientes (74,9%) sin antecedentes familiares.

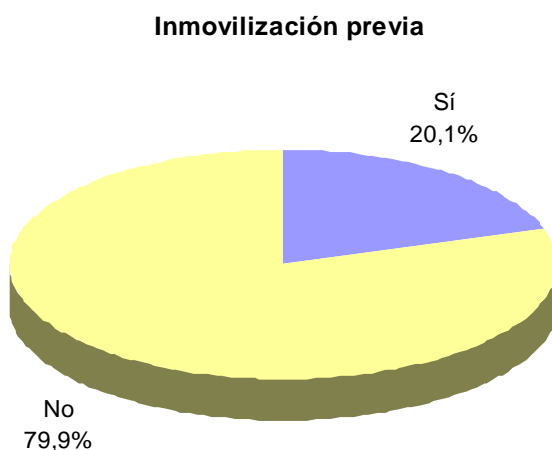
En la imagen podemos apreciar que la mayor parte de los pacientes no presentaban antecedentes familiares de trombosis.



1.2.6- Inmovilización previa:

<i>Inmovilización previa</i>	<i>Retrombosis</i>					
	Sí		No		Total	
	<i>n</i>	<i>%</i>	<i>n</i>	<i>%</i>	<i>n</i>	<i>%</i>
Sí	10	19,2	30	20,4	40	20,1
No	42	80,8	117	79,6	159	79,9
Total	52	100,0	147	100,0	199	100,0

Casi el 80% de los pacientes no habían tenido inmovilización previa en los 60 días antes de la primera trombosis venosa. No se observan diferencias en cuanto a retrombosis en los pacientes que estuvieron inmovilizados frente a los que no lo estuvieron.

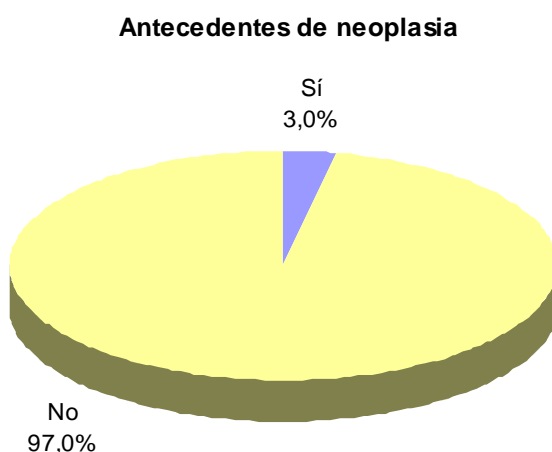


1.2.7- Antecedentes de neoplasia:

<i>Antecedentes de neoplasia</i>	<i>Retrombosis</i>					
	Sí		No		Total	
	<i>n</i>	<i>%</i>	<i>n</i>	<i>%</i>	<i>n</i>	<i>%</i>
Sí	1	1,9	5	3,4	6	3,0
No	51	98,1	142	96,6	193	97,0
Total	52	100,0	147	100,0	199	100,0

6 pacientes (3%) tenían antecedentes de neoplasia y de ellos, sólo 1 presentó recurrencia trombótica. Destacar que el número de casos con antecedentes oncológicos es muy escaso y además en el momento del estudio todos los pacientes se encontraban en remisión, en relación a su patología oncológica.

El gráfico nos muestra que la mayor parte de los pacientes (97%) no presentaban antecedentes de neoplasia y solamente un 3% tenían antecedentes oncológicos.



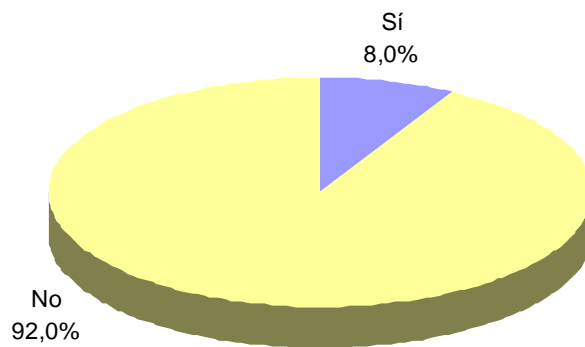
1.2.8- Cirugía en los 2 meses previos al primer episodio trombótico:

Cirugía	Retrombosis					
	Sí		No		Total	
	n	%	n	%	n	%
Sí	8	15,4	8	5,4	16	8,0
No	44	84,6	139	94,6	183	92,0
Total	52	100,0	147	100,0	199	100,0

El 50% de los pacientes que fueron intervenidos en los dos meses previos a la primera trombosis recidivaron y en cambio, el 24,04% de los que no fueron operados previamente sufrieron retrombosis. Es necesario reseñar que el número de pacientes que se sometieron a cirugía antes del primer episodio trombótico es muy pequeño.

El gráfico nos diferencia el porcentaje de pacientes que fueron intervenidos en los dos meses previos al primer episodio trombótico (8%) frente al porcentaje sin cirugía previa (92%)

Cirugía en los dos meses previos al primer episodio trombótico

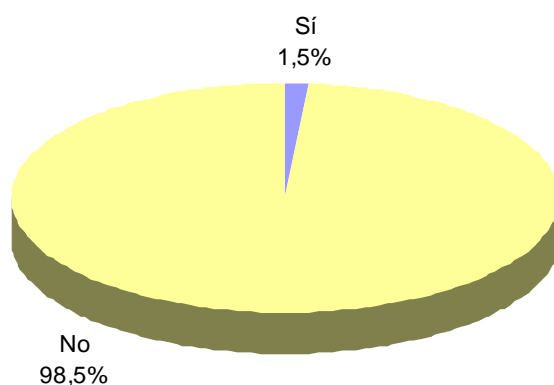


1.2.9- Portadores de CVC:

CVC	Retrombosis					
	Sí		No		Total	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
Sí	1	1,9	2	1,4	3	1,5
No	51	98,1	145	98,6	196	98,5
Total	52	100,0	147	100,0	199	100,0

En nuestra muestra, tan sólo 3 pacientes eran portadores de catéter venoso central y 1 (33,33%) tuvo un nuevo episodio de ETEV, mientras que 51 (26,02%) de los no portadores (196) de catéter presentaron recurrencia trombótica.

Portadores de catéter venoso central (CVC)



1.2.10- Traumatismo previo:

Traumatismo previo	Retrombosis					
	Sí		No		Total	
	n	%	n	%	n	%
Sí	1	1,9	3	2,0	4	2,0
No	51	98,1	144	98,0	195	98,0
Total	52	100,0	147	100,0	199	100,0

Únicamente, el 2% de los pacientes habían sufrido un traumatismo previo a la primera ETEV y un 25% de éstos recidivó. Del 98% restante, el 26,15% tuvieron una nueva trombosis, con lo cual se puede concluir que no se observan diferencias entre el grupo que sufrió o no un traumatismo previo.

La imagen nos muestra el alto porcentaje de pacientes sin traumatismo previo (98%) frente a un 2% que tuvieron un traumatismo antes de la primera trombosis.

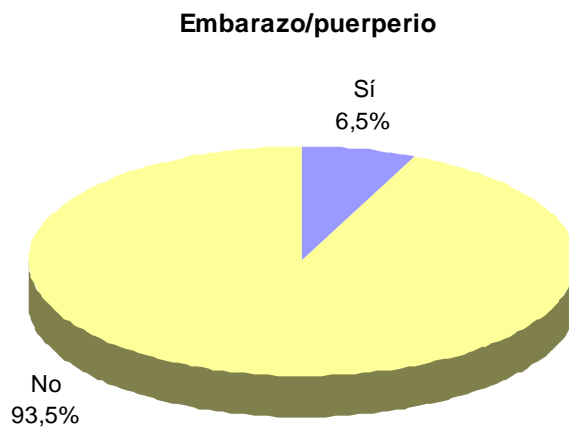


1.2.11- Embarazo/puerperio:

<i>Embarazo/ puerperio</i>	<i>Retrombosis</i>					
	Sí		No		Total	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
Sí	4	7,7	9	6,1	13	6,5
No	48	92,3	138	93,9	186	93,5
Total	52	100,0	147	100,0	199	100,0

13 pacientes (6,5%) del total estaban embarazadas o en el período puerperal y 4 (30,76%) sufrieron una nueva trombosis frente a 48 (25,86%) retrombosis que se produjeron en el resto de pacientes (93,5%).

El gráfico refleja que la mayor parte de los pacientes (93,5%) no se encontraban en el período del embarazo/puerperio, mientras que un pequeño porcentaje eran gestantes o púerperas (6,5%).

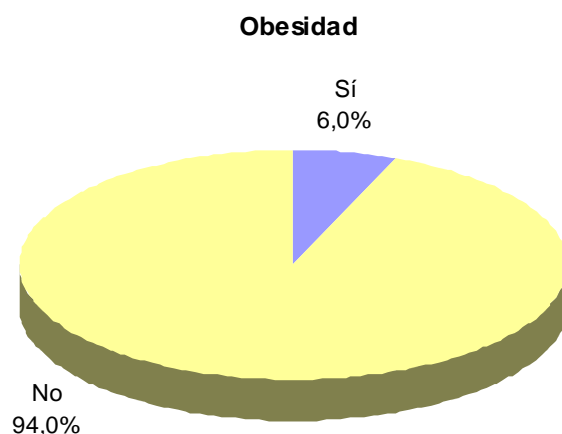


1.2.12- Obesidad:

Obesidad	Retrombosis					
	Sí		No		Total	
	n	%	n	%	n	%
Sí	5	9,6	7	4,8	12	6,0
No	47	90,4	140	95,2	187	94,0
Total	52	100,0	147	100,0	199	100,0

La obesidad parece ser un factor de riesgo protrombótico. En nuestra muestra, 12 pacientes (6%) eran obesos, de ellos casi la mitad presentaron retrombosis (41,66%). De los 187 pacientes (94%) no obesos, 47 (25,13%) presentaron recurrencia trombótica.

Tal y como se observa en la imagen, la mayoría de los pacientes no eran obesos (94%), frente al 6% de obesos.

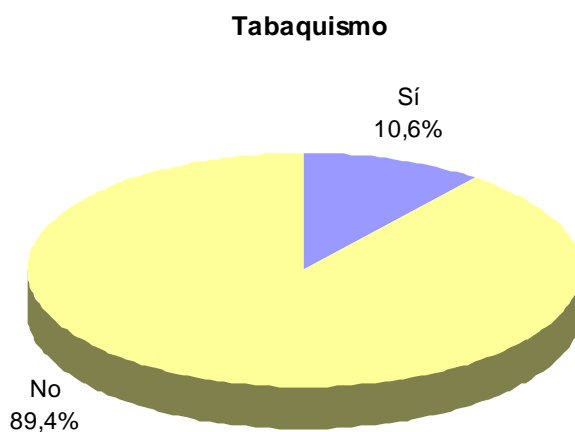


1.2.13- Tabaquismo:

<i>Tabaquismo</i>	<i>Retrombosis</i>					
	Sí		No		Total	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
Sí	4	7,7	17	11,6	21	10,6
No	48	92,3	130	88,4	178	89,4
Total	52	100,0	147	100,0	199	100,0

21 pacientes eran fumadores (10,6%) y solo 4 (19,04%) tuvieron una nueva trombosis, frente a 48 (26,96%) retrombosis de 178 (89,4%) no fumadores.

En el gráfico aparecen los porcentajes de los pacientes con hábito tabáquico (10,6%) y sin hábito de fumar (89,4%).

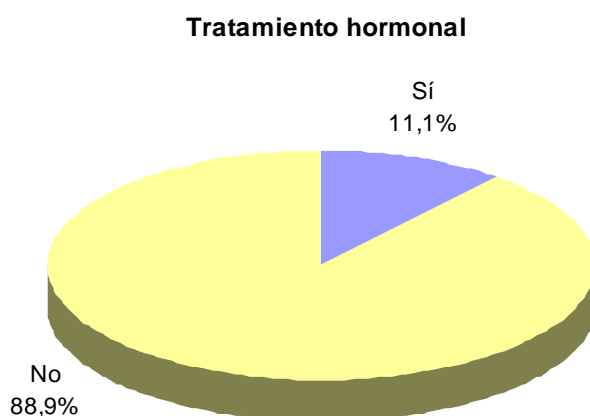


1.2.14- Tratamiento hormonal:

<i>Tratamiento hormonal</i>	<i>Retrombosis</i>					
	Sí		No		Total	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
Sí	2	3,8	20	13,6	22	11,1
No	50	96,2	127	86,4	177	88,9
Total	52	100,0	147	100,0	199	100,0

Diversos estudios han demostrado que el tratamiento hormonal en forma de AO o la terapia hormonal sustitutiva aumentan el riesgo de TEV. Tan sólo 22 pacientes (11,1%) se encontraban en tratamiento hormonal en el momento de la primera trombosis venosa y únicamente 2 (9,09%) recidivaron, por el contrario, el número de retrombosis fue de 50 (28,24%) en el grupo que no tomaba tratamiento hormonal: 177 (88,9%).

La imagen expuesta a continuación nos diferencia el grupo que recibió tratamiento hormonal (11,1%) y el grupo sin tratamiento (88,9%)

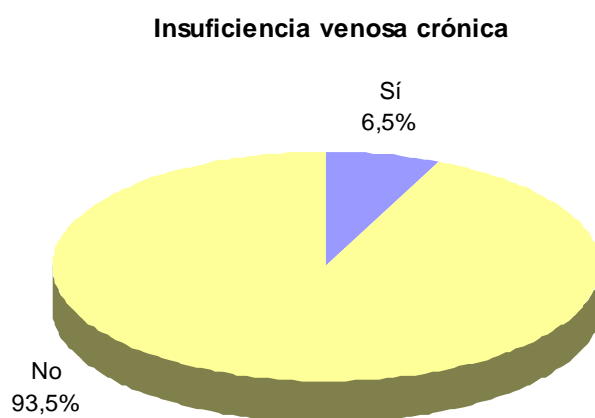


1.2.15- Insuficiencia venosa crónica :

<i>Insuficiencia venosa crónica</i>	<i>Retrombosis</i>					
	Sí		No		Total	
	<i>n</i>	%	<i>N</i>	%	<i>n</i>	%
Sí	6	11,5	7	4,8	13	6,5
No	46	88,5	140	95,2	186	93,5
Total	52	100,0	147	100,0	199	100,0

De los 199 pacientes evaluados, 13 (6,5%) estaban diagnosticados de IVC antes de la primera trombosis venosa, casi la mitad, 6 (46,15%) sufrieron retrombosis, mientras que de los 186 pacientes (93,5%) sin IVC, 46 (24,73%) tuvieron una nueva ETEV.

El diagrama muestra el porcentaje de pacientes con IVC (6,5%) respecto al total.

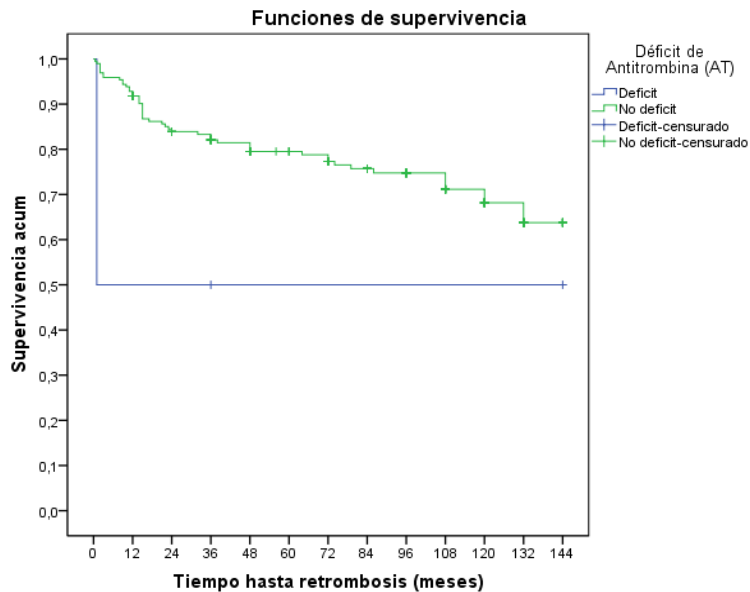


2. ESTADÍSTICA INFERENCIAL

2.1 KAPLAN MEIER:

2.1.1 Factores trombofílicos:

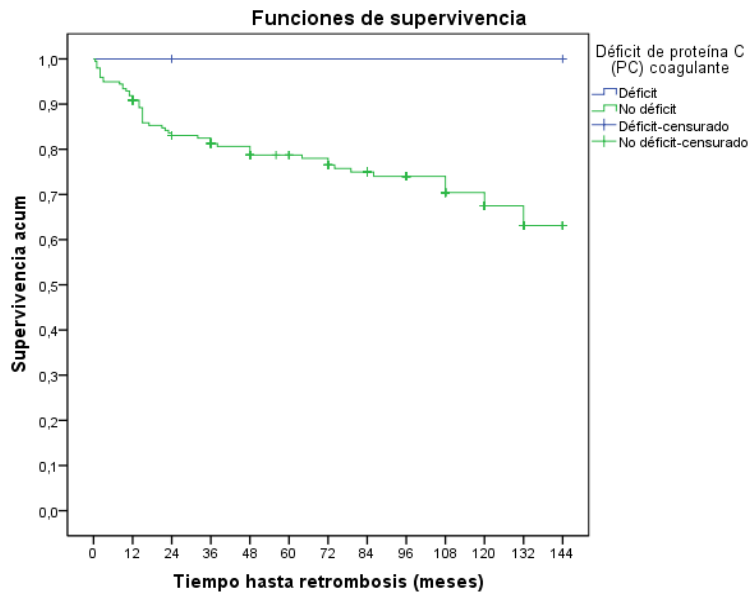
2.1.1.1- Déficit de AT:



Al observar las curvas de supervivencia libre de retrombosis (SLR), se observa que entre los dos grupos no existen diferencias significativas (estadístico=2,560; $p=0,110$). Hay que reseñar que hay pocos casos y eventos en el grupo de déficit de AT y esto puede ser debido a que esta entidad es infrecuente.

Déficit de Antitrombina (AT)	Evento Retrombosis					
	<i>Total</i>	<i>Nº eventos</i>	<i>Nº censurado</i>	<i>% censurado</i>	<i>Mediana</i>	<i>P₇₅</i>
Déficit	4	2	2	50,0%	1,00	1,00
No déficit	195	50	145	74,4%	-	86,00
Total	199	52	147	73,9%	-	86,00

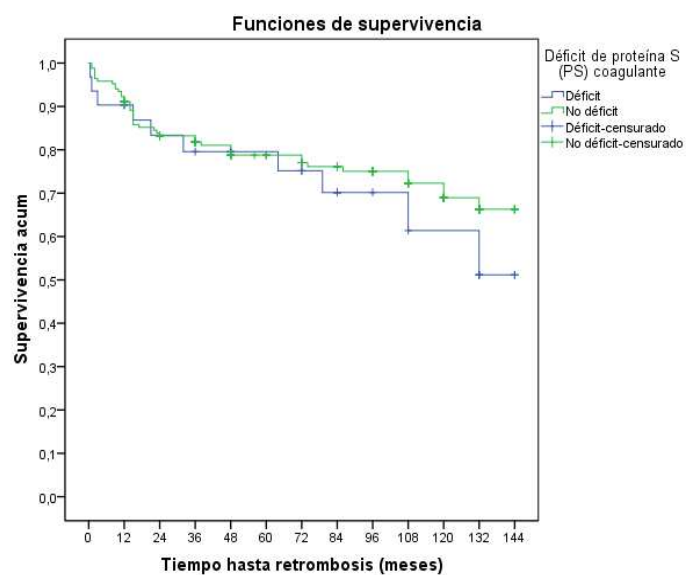
2.1.1.2- Déficit de PC coagulante:



Tal y como muestra el gráfico de las curvas de SLR, no se aprecian diferencias significativas en el tiempo hasta retrombosis entre los dos grupos (estadístico=0,647; $p=0,421$). Se hace notar que solamente hay dos casos y ninguna retrombosis en el grupo de déficit de PC coagulante.

Déficit de proteína C (PC) coagulante	Evento Retrombosis					<i>P</i> ₇₅
	<i>Total</i>	<i>Nº eventos</i>	<i>Nº censurado</i>	<i>% censurado</i>	<i>Mediana</i>	
Déficit	2	0	2	100,0%	-	-
No déficit	197	52	145	73,6%	-	79,00
Total	199	52	147	73,9%	-	86,00

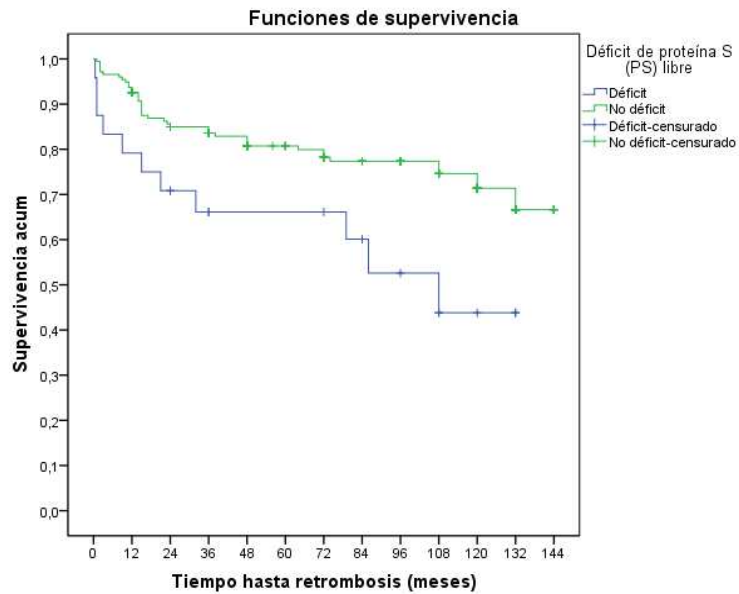
2.1.1.3- Déficit de PS coagulante:



Los pacientes con déficit de PS coagulante no presentaron mayor incidencia de retrombosis (32,3 % vs 25%; $p=0,421$).

Déficit de proteína S (PS) coagulante	Evento Retrombosis				Mediana	P_{75}
	Total	Nº eventos	Nº censurado	% censurado		
Déficit	31	10	21	67,7%	-	79,00
No déficit	168	42	126	75,0%	-	108,00
Total	199	52	147	73,9%	-	86,00

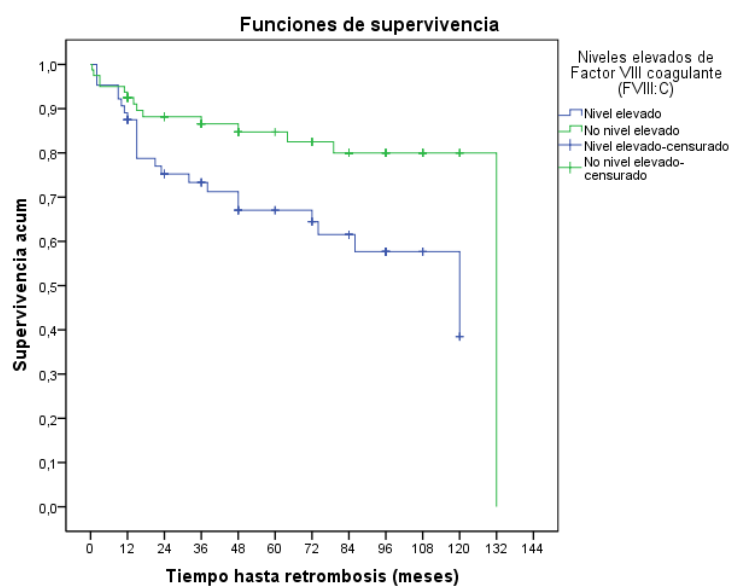
2.1.1.4- Déficit de PS libre:



El tiempo hasta retrombosis es menor en el grupo de pacientes con déficit de PS libre, así que se observan diferencias significativas entre los dos grupos ($p=0,011$).

Déficit de proteína S libre	Evento Retrombosis				Mediana	P_{75}
	Total	Nº eventos	Nº censurado	% censurado		
Déficit	24	11	13	54,2%	108,00	15,00
No déficit	175	41	134	76,6%	-	108,00
Total	199	52	147	73,9%	-	86,00

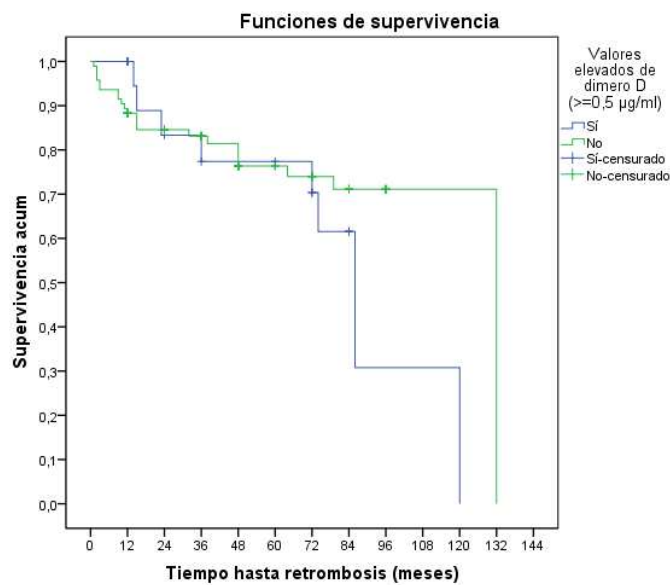
2.1.1.5- Niveles elevados de FVIII:C (>150 %):



Los pacientes con niveles altos de FVIII:C (>150%) tuvieron una incidencia de retrombosis mayor que los pacientes con niveles normales de FVIII:C (36,9% vs 18,7%; $p=0,011$)

Niveles elevados de Factor VIII coagulante (FVIII:C)	Evento Retrombosis						
	Total	Nº eventos	Nº censurado	% censurado	Mediana	I.C. L.I.	I.C. L.S.
Nivel elevado	64	23	41	64,1%	120,00	62,93	177,07
No nivel elevado	80	15	65	81,3%	132,00	-	-
Total	144	38	106	73,6%	132,00	-	-

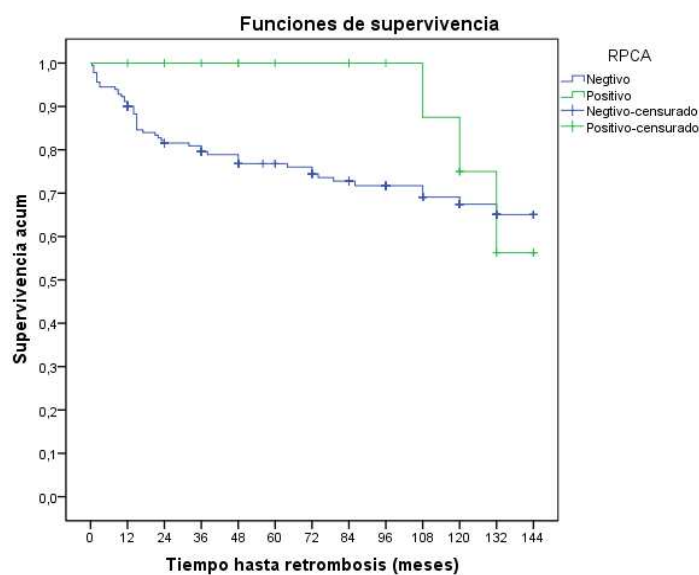
2.1.1.6- Valores elevados de DD ($\geq 0,5$ $\mu\text{g/ml}$):



No se observan diferencias significativas ($p=0,391$) en el tiempo hasta retrombosis en función de la elevación o no de DD.

Valores elevados de dímero D	Evento Retrombosis				Mediana	I.C. L.I.	I.C. L.S.
	Total	Nº eventos	Nº censurado	% censurado			
Sí	22	8	14	63,6%	86,00	68,66	103,34
No	94	22	72	76,6%	132,00	-	-
Total	116	30	86	74,1%	120,00	72,29	167,71

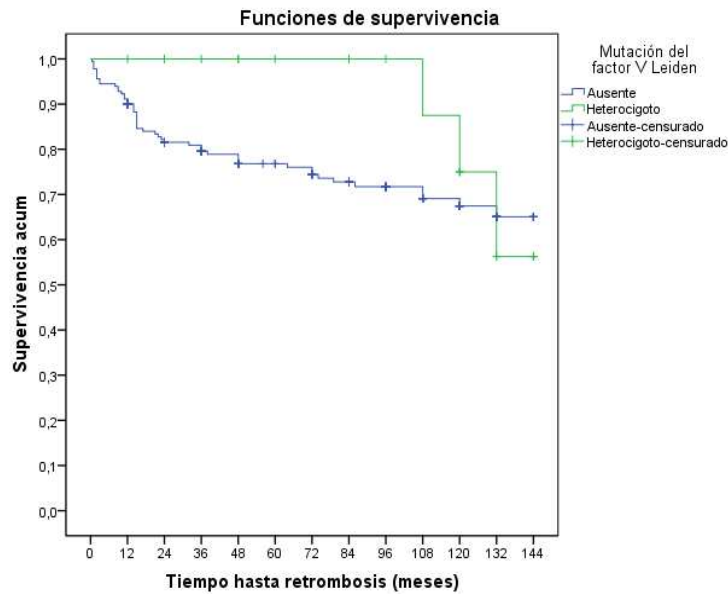
2.1.1.7- rPCA:



La incidencia de retrombosis en los pacientes con presencia de rPCA fue de 16,7% vs 27,1 %, por lo que no se observaron diferencias estadísticamente significativas en el tiempo hasta retrombosis ($p=0,255$).

RPCA	Evento Retrombosis					
	Total	Nº eventos	Nº censurado	% censurado	Mediana	P ₇₅
Negativo	181	49	132	72,9%	-	72,00
Positivo	18	3	15	83,3%	-	120,00
Total	199	52	147	73,9%	-	86,00

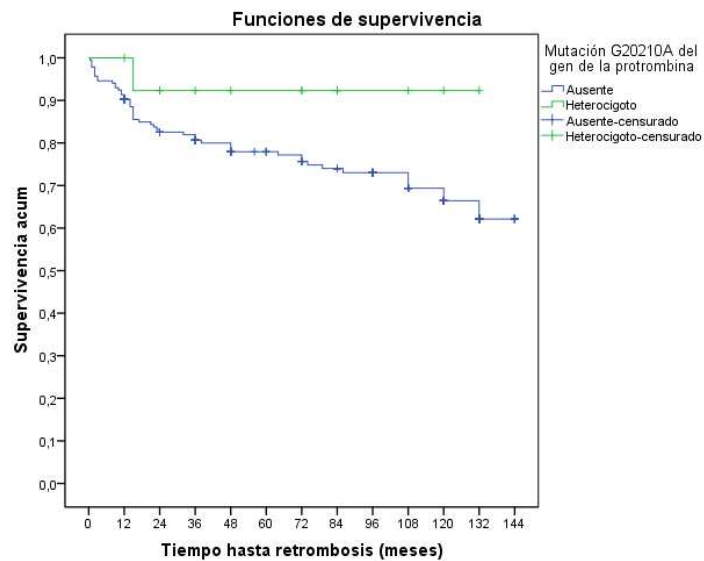
2.1.1.8- Mutación del FVL:



Al igual que con la rPCA, no se observan diferencias estadísticamente significativas en relación a ser portador o no del FVL ($p=0,255$). En la muestra, ningún paciente fue homocigoto para el FVL.

Factor V Leiden	Evento Retrombosis				Mediana	P_{75}
	Total	Nº eventos	Nº censurado	% censurado		
Ausente	181	49	132	72,9%	-	72,00
Heterocigoto	18	3	15	83,3%	-	120,00
Total	199	52	147	73,9%	-	86,00

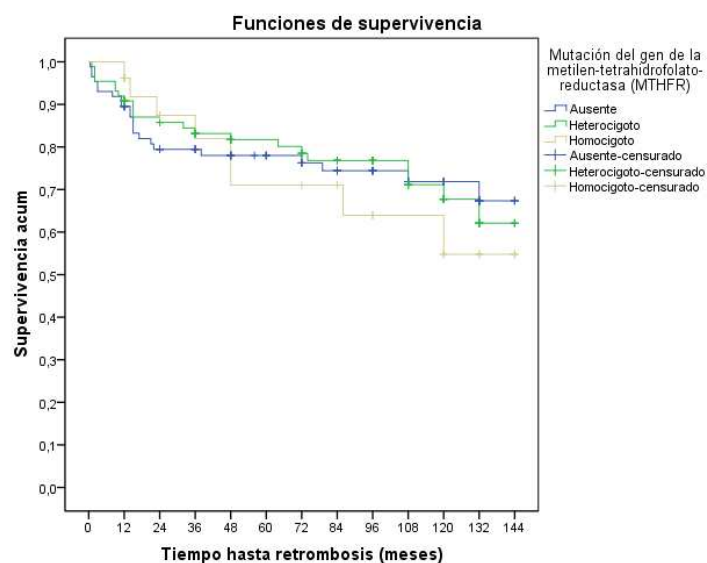
2.1.1.9- Mutación G20210A del gen de la protrombina:



La incidencia de retrombosis en los pacientes portadores de la mutación G20210A de la protrombina fue de 7,1% vs 27,6% para los pacientes sin la mutación, no encontrándose diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos ($p=0,153$).

Mutación Protrombina	Evento Retrombosis				Mediana	P_{75}
	Total	Nº eventos	Nº censurado	% censurado		
Ausente	185	51	134	72,4%	-	74,00
Heterocigoto	14	1	13	92,9%	-	-
Total	199	52	147	73,9%	-	86,00

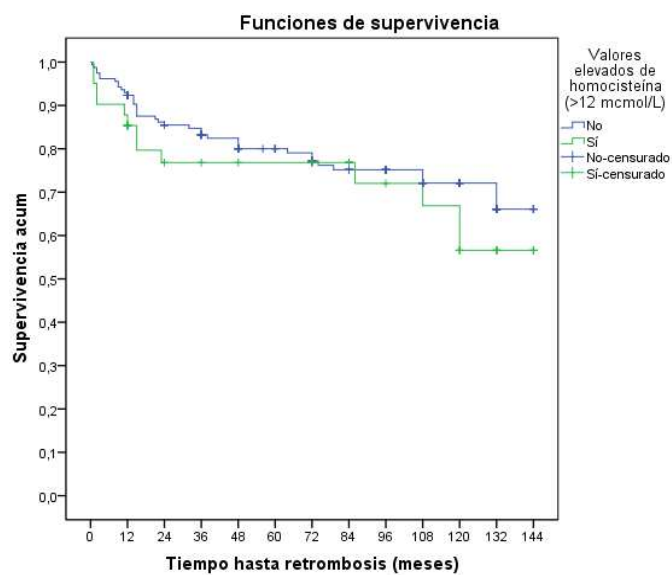
2.1.1.10- Mutación C677T del gen MTHFR:



No se observaron diferencias estadísticamente en el tiempo hasta retrombosis en función de la ausencia, o ser homocigoto para la mutación C677T del gen de la MTHFR. ($p=0,863$).

MTHFR	Evento Retrombosis					<i>P</i> ₇₅
	Total	Nº eventos	Nº censurado	% censurado	Mediana	
Ausente	86	22	64	74,4%	-	79,00
Heterocigoto	87	22	65	74,7%	-	108,00
Homocigoto	26	8	18	69,2%	-	48,00
Total	199	52	147	73,9%	-	86,00

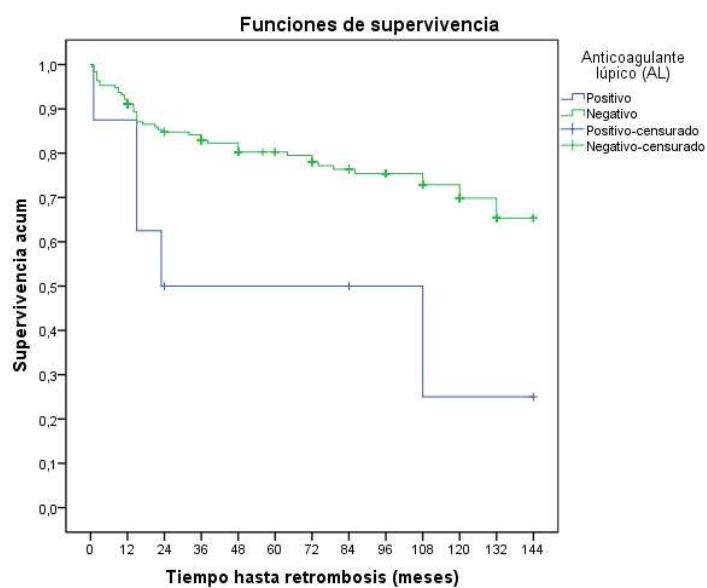
2.1.1.11- Valores elevados de homocisteína (>12 $\mu\text{mol/L}$):



Aunque la incidencia de retrombosis fue mayor en los pacientes con niveles elevados de homocisteína (31,7% vs 24,2%), las diferencias no alcanzan significación estadística ($p=0,355$).

Valores elevados de homocisteína	Evento Retrombosis					
	Total	Nº eventos	Nº censurado	% censurado	Mediana	P ₇₅
No	157	38	119	75,8%	-	108,00
Sí	41	13	28	68,3%	-	86,00
Total	198	51	147	74,2%	-	86,00

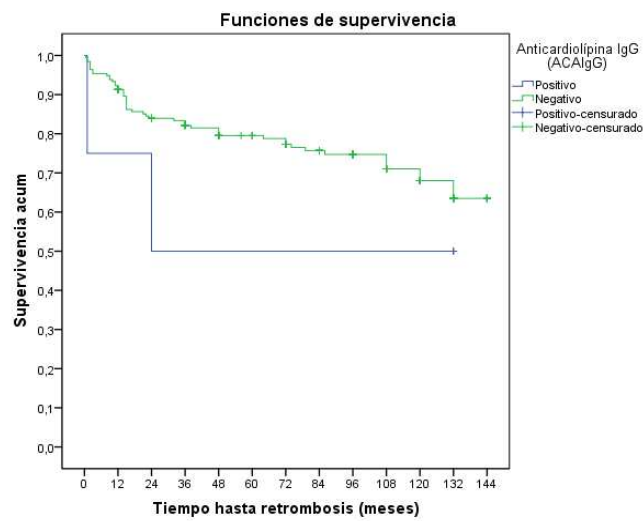
2.1.1.12- AL:



La incidencia de retrombosis en los pacientes con AL fue de 62,5% vs 24,6%, por lo que, si que se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el tiempo hasta retrombosis ($p=0,012$).

Anticoagulante lúpico	Evento Retrombosis					
	<i>Total</i>	<i>Nº eventos</i>	<i>Nº censurado</i>	<i>% censurado</i>	<i>Mediana</i>	<i>P₇₅</i>
Positivo	8	5	3	37,5%	23,00	15,00
Negativo	191	47	144	75,4%	-	108,00
Total	199	52	147	73,9%	-	86,00

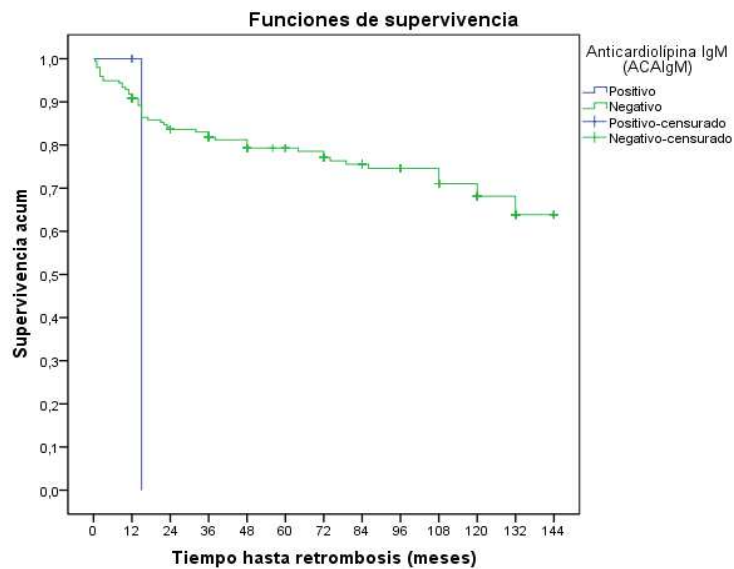
2.1.1.13- aCL IgG:



No se aprecian diferencias significativas en el tiempo hasta retrombosis ($p=0,377$) en relación a la positividad o no para aCL IgG.

Anticardiolipina IgG	Evento Retrombosis					
	Total	Nº eventos	Nº censurado	% censurado	Mediana	P ₇₅
Positivo	4	2	2	50,0%	24,00	1,00
Negativo	195	50	145	74,4%	-	86,00
Total	199	52	147	73,9%	-	86,00

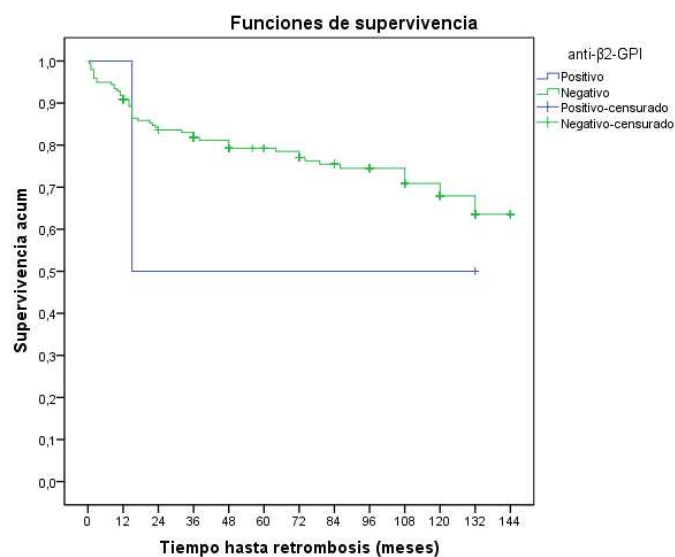
2.1.1.14- aCL IgM:



Tal y como ocurre en el caso anterior, no se observan diferencias significativas en el tiempo hasta retrombosis, en función de la presencia o no de aCL IgM.

Anticardiolipina IgM	Evento Retrombosis					
	Total	Nº eventos	Nº censurado	% censurado	Mediana	P ₇₅
Positivo	3	1	2	66,7%	15,00	15,00
Negativo	196	51	145	74,0%	-	86,00
Total	199	52	147	73,9%	-	86,00

2.1.1.15- Anti-β2-GPI:



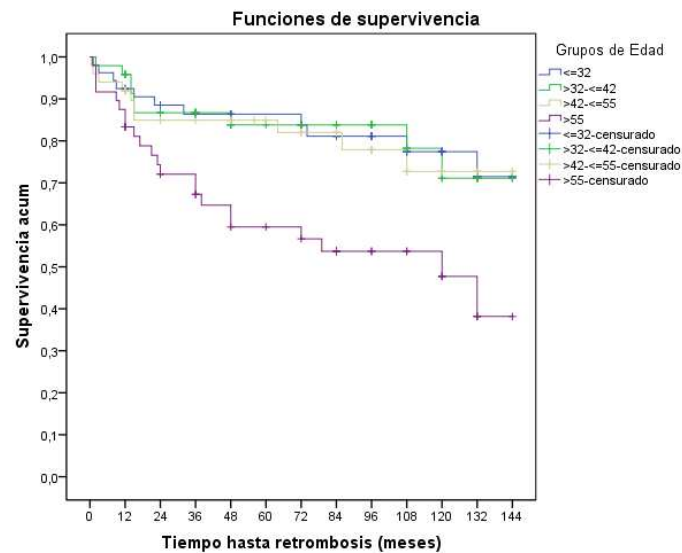
En cuanto a anti-β2-GPI, la tasa de retrombosis para los positivos fue de 50% vs 25,9% para los negativos, sin existir diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos ($p=0,595$).

<i>anti-β2-GPI</i>	Evento Retrombosis					
	<i>Total</i>	<i>Nº eventos</i>	<i>Nº censurado</i>	<i>% censurado</i>	<i>Mediana</i>	<i>P₇₅</i>
Positivo	2	1	1	50,0%	15,00	15,00
Negativo	197	51	146	74,1%	-	86,00
Total	199	52	147	73,9%	-	86,00

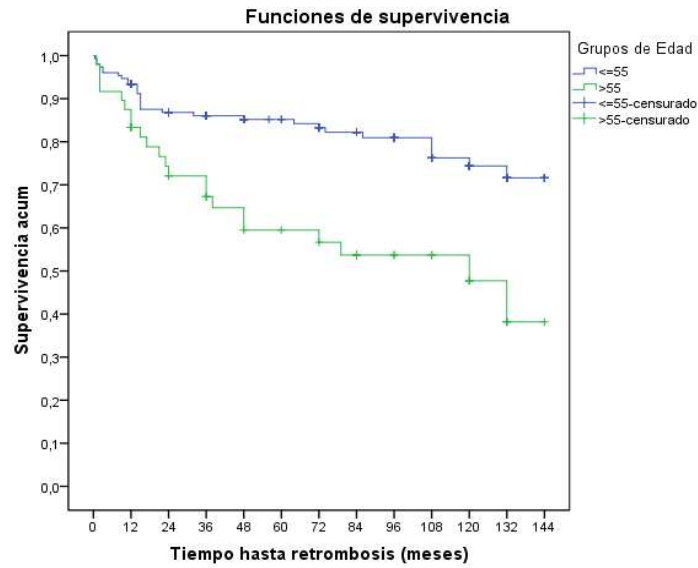
2.1.2 Factores clínicos:

2.1.2.1- Grupos de edad:

Se va a trabajar con la variable categorizada, formando los grupos a partir de los valores de los cuartiles.



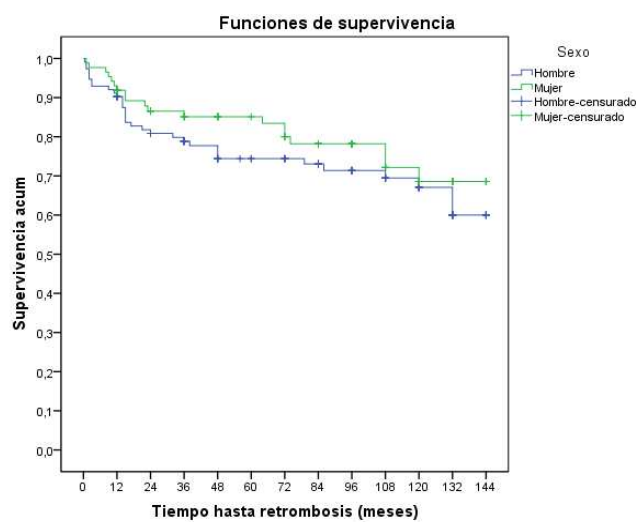
La variable edad se ha categorizado en grupos de edad, en función de la distribución de la población en cuartiles: ≤ 32 , 33-42, 43-55, >55 . No se aprecian diferencias significativas entre los grupos de menor edad, por ello se han agrupado a los pacientes ≤ 55 años en una sola variable, como se muestra en el siguiente gráfico.



El tiempo hasta la retrombosis es menor en el grupo de pacientes > 55 años, existiendo diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de edad ≤55 años y > 55 años. (p= 0,001)

Grupos de edad	Evento Retrombosis					
	Total	Nº eventos	Nº censurado	% censurado	Mediana	P ₇₅
≤55	151	30	121	80,1%	-	120,00
>55	48	22	26	54,2%	120,00	23,00
Total	199	52	147	73,9%	-	86,00

2.1.2.2- Sexo:



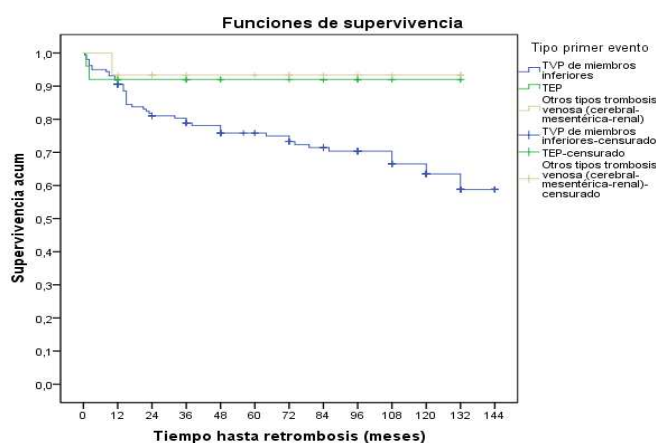
La incidencia de retrombosis en las mujeres fue de 29,2% vs 22,1% para los hombres, sin observarse diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos ($p=0,325$).

Sexo	Evento Retrombosis					
	Total	Nº eventos	Nº censurado	% censurado	Mediana	P ₇₅
Hombre	113	33	80	70,8%	-	48,00
Mujer	86	19	67	77,9%	-	108,00
Total	199	52	147	73,9%	-	86,00

2.1.2.3- Localización del primer evento:

Se han agrupado la TVP distal con TVP proximal por ser ambas TVP de miembros inferiores y por otro lado la trombosis venosa cerebral, mesentérica y renal en “otros tipos de trombosis venosa” al ser trombosis menos frecuentes.

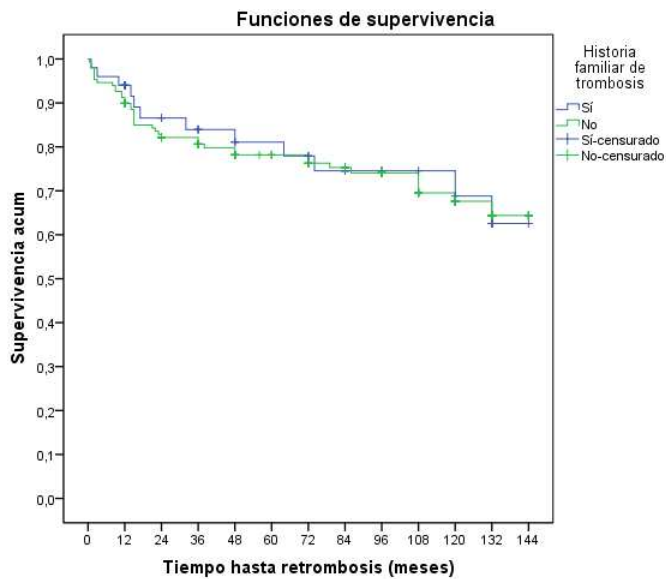
Finalmente el tipo de primer episodio trombótico se ha dividido en 3 categorías, tal y como muestra la siguiente imagen: TVP de miembros inferiores, TEP y otros tipos de trombosis venosa (cerebral, mesentérica, y renal)



Se aprecia una tendencia hacia la significación estadística en el tiempo hasta retrombosis entre los 3 grupos, sin alcanzarla ($p=0,052$).

Tipo primer evento	Evento Retrombosis				Mediana	P ₇₅
	Total	Nº eventos	Nº censurado	% censurado		
TVP de miembros inferiores	159	49	110	69,2%	-	64,00
TEP	25	2	23	92,0%	-	-
Otros tipos de trombosis venosa (cerebral-mesentérica-renal)	15	1	14	93,3%	-	-
Total	199	52	147	73,9%	-	86,00

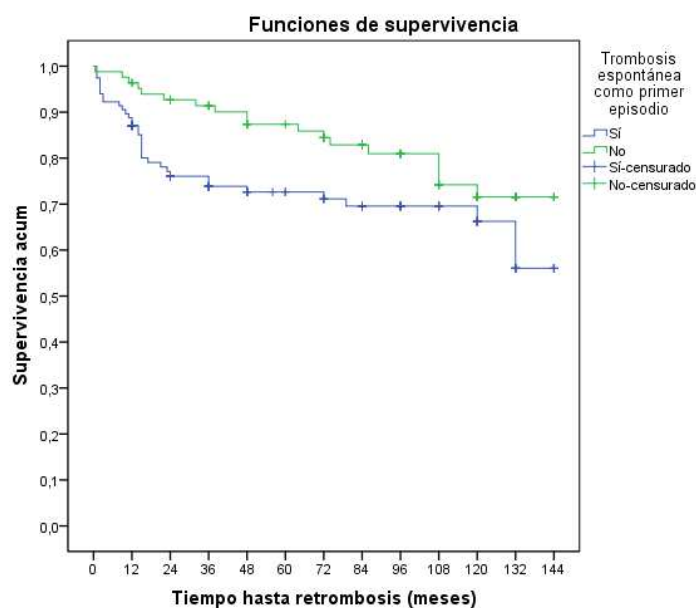
2.1.2.4- Historia familiar de trombosis:



La incidencia de retrombosis en los pacientes con historia familiar de ETEV fue de 24% vs 26,8% para los que no tenían antecedentes familiares de trombosis, sin encontrarse diferencias estadísticamente significativas en el tiempo hasta retrombosis ($p=0,838$).

Historia familiar de trombosis	Evento Retrombosis				Mediana	P_{75}
	Total	Nº eventos	Nº censurado	% censurado		
Sí	50	12	38	76,0%	-	74,00
No	149	40	109	73,2%	-	86,00
Total	199	52	147	73,9%	-	86,00

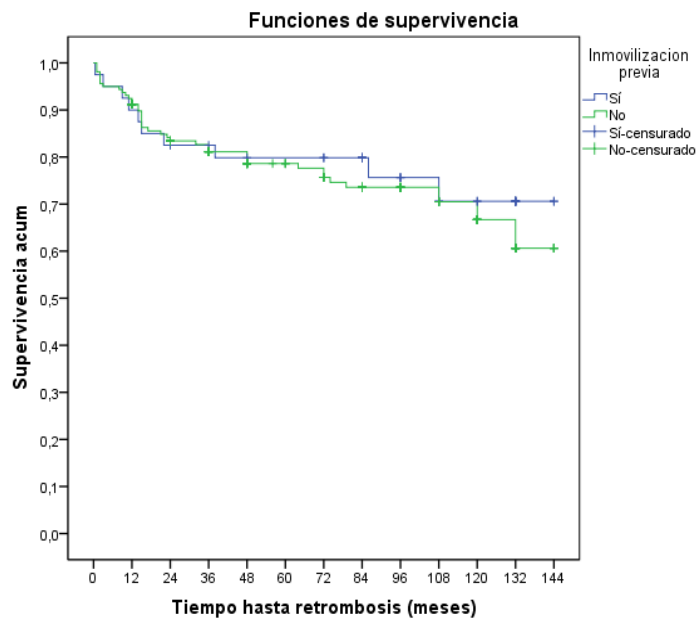
2.1.2.5- Trombosis espontánea como primer episodio:



El tiempo hasta la retrombosis fue menor en los pacientes con trombosis espontánea como primer episodio, observándose diferencias estadísticamente significativas ($p=0,038$).

Trombosis espontánea como primer episodio	Evento Retrombosis					
	<i>Total</i>	<i>Nº eventos</i>	<i>Nº censurado</i>	<i>% censurado</i>	<i>Mediana</i>	<i>P₇₅</i>
Sí	116	34	82	70,7%	-	36,00
No	83	18	65	78,3%	-	108,00
Total	199	52	147	73,9%	-	86,00

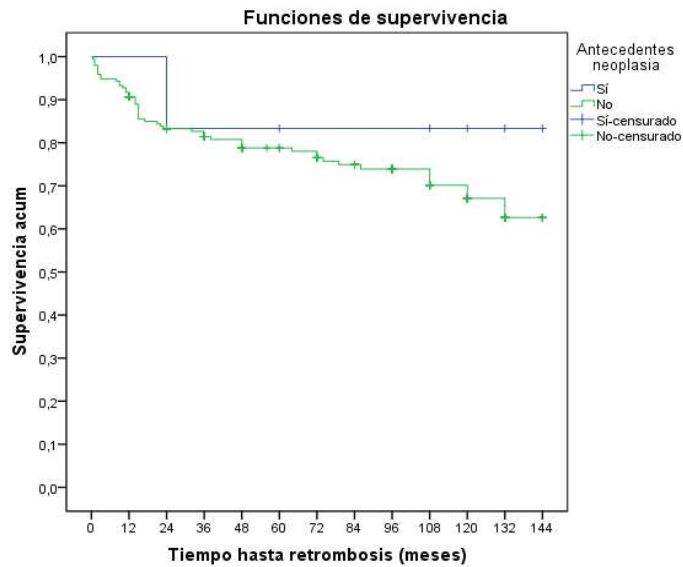
2.1.2.7- Inmovilización previa:



Los pacientes que habían sido sometidos a inmovilización previa antes de la primera trombosis no tuvieron mayor incidencia de retrombosis que los que no habían estado inmovilizados (25% vs 26,4%; $p=0,569$).

Inmovilización previa	Evento Retrombosis					
	<i>Total</i>	<i>Nº eventos</i>	<i>Nº censurado</i>	<i>% censurado</i>	<i>Mediana</i>	<i>P₇₅</i>
Sí	40	10	30	75,0%	-	108,00
No	159	42	117	73,6%	-	74,00
Total	199	52	147	73,9%	-	86,00

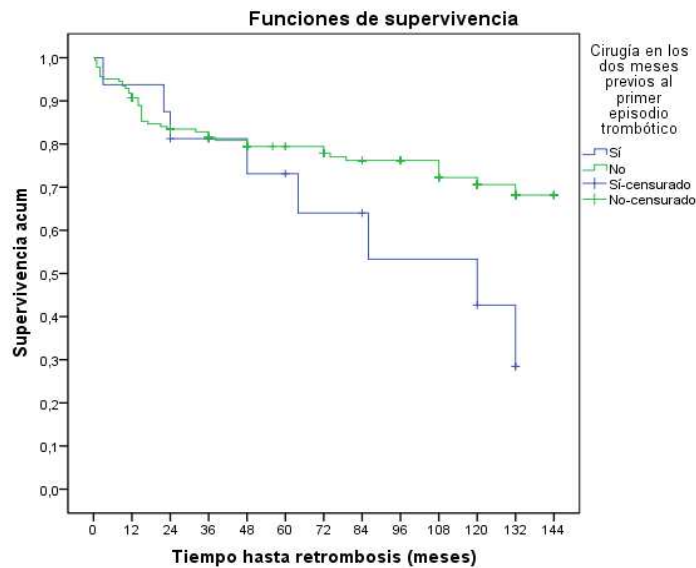
2.1.2.7- Antecedentes de neoplasia:



No se observaron diferencias estadísticamente significativas en el tiempo hasta retrombosis entre el grupo con antecedentes de neoplasia y el grupo sin antecedentes ($p=0,455$).

Antecedentes de neoplasia	Evento Retrombosis					
	Total	Nº eventos	Nº censurado	% censurado	Mediana	P ₇₅
Sí	6	1	5	83,3%	-	-
No	193	51	142	73,6%	-	79,00
Total	199	52	147	73,9%	-	86,00

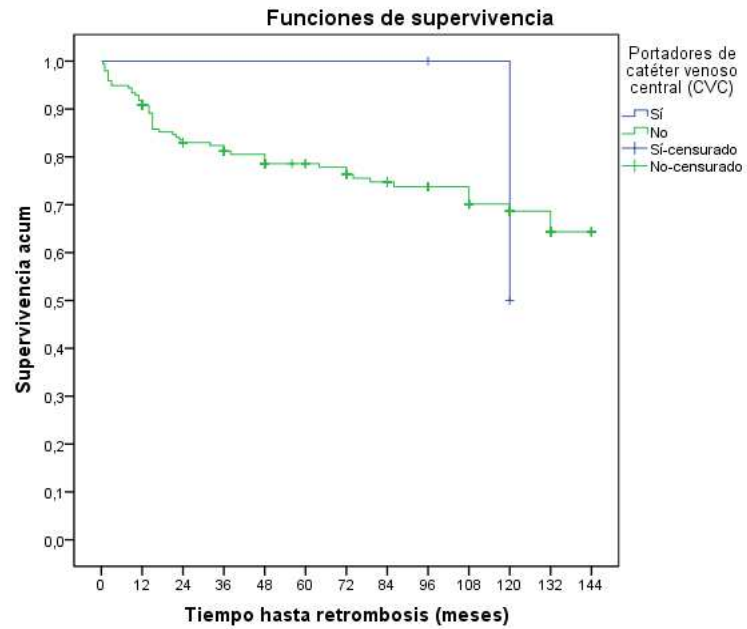
2.1.2.8- Cirugía en los 2 meses previos al primer episodio trombótico:



La incidencia de retrombosis en los pacientes intervenidos quirúrgicamente en los dos meses antes del primer episodio de trombosis fue de 50% vs 24% para los que no fueron operados ($p=0,070$). Existe una tendencia que no alcanza la significación estadística debido al escaso número de pacientes que fueron intervenidos quirúrgicamente.

Cirugía	Evento Retrombosis					
	Total	Nº eventos	Nº censurado	% censurado	Mediana	P ₇₅
Sí	16	8	8	50,0%	120,00	48,00
No	183	44	139	76,0%	-	108,00
Total	199	52	147	73,9%	-	86,00

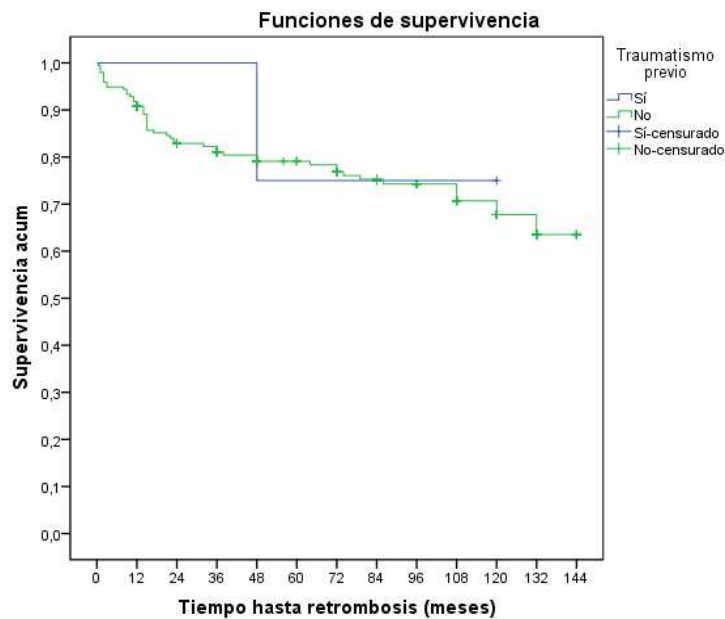
2.1.2.9- Portadores de catéter CVC:



La incidencia de retrombosis en los portadores de CVC fue de 33,7% vs 26% en los no portadores, sin encontrarse diferencias estadísticamente significativas ($p=0,950$)

CVC	Evento Retrombosis					
	Total	Nº eventos	Nº censurado	% censurado	Mediana	P ₇₅
Sí	3	1	2	66,7%	120,00	120,00
No	196	51	145	74,0%	-	79,00
Total	199	52	147	73,9%	-	86,00

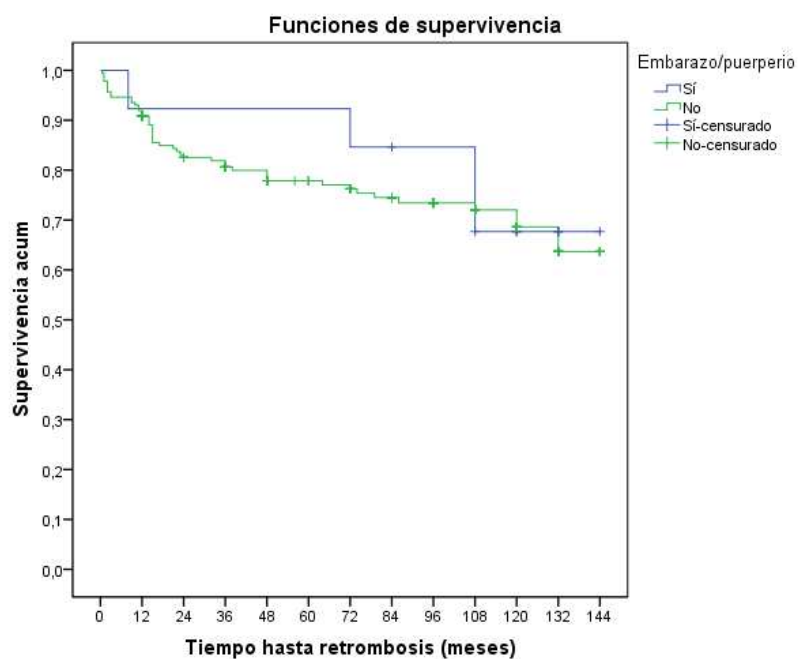
2.1.2.10- Traumatismo previo:



La incidencia de retrombosis en los pacientes con traumatismo antes del primer episodio de trombosis venosa fue de 25% vs 26,2% para los que no tenían antecedentes de traumatismo, sin observarse diferencias estadísticamente significativas ($p=0,863$).

Traumatismo previo	Evento Retrombosis				Mediana	P_{75}
	Total	Nº eventos	Nº censurado	% censurado		
Sí	4	1	3	75,0%	-	48,00
No	195	51	144	73,8%	-	86,00
Total	199	52	147	73,9%	-	86,00

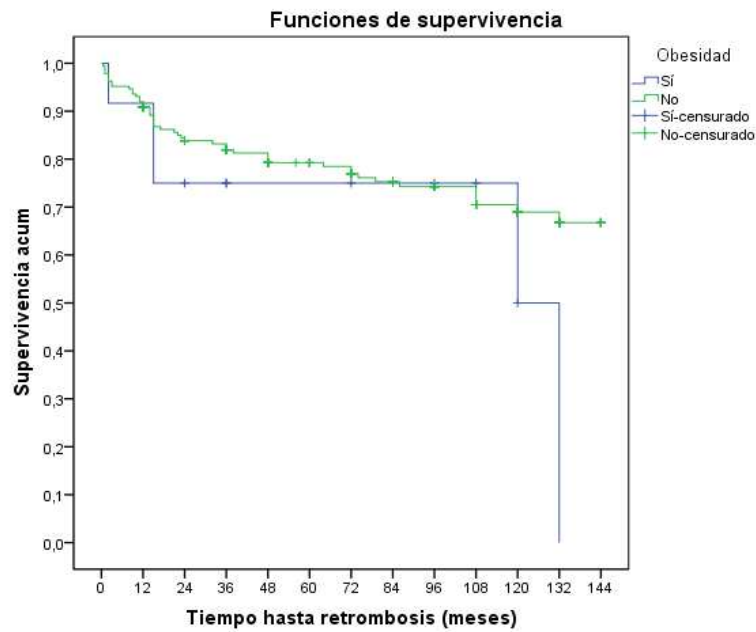
2.1.2.11- Embarazo/puerperio:



No se observaron diferencias estadísticamente significativas en el tiempo hasta retrombosis en el grupo de pacientes gestantes/ puérperas vs las no gestantes/puérperas ($p=0,778$).

Embarazo/ Puerperio	Evento Retrombosis					
	<i>Total</i>	<i>Nº eventos</i>	<i>Nº censurado</i>	<i>% censurado</i>	<i>Mediana</i>	<i>P₇₅</i>
Sí	13	4	9	69,2%	-	108,00
No	186	48	138	74,2%	-	79,00
Total	199	52	147	73,9%	-	86,00

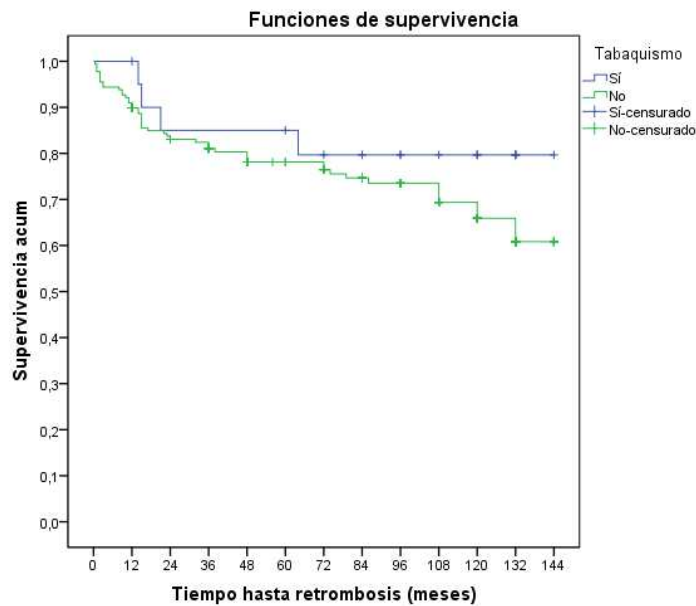
2.1.2.12- Obesidad:



La incidencia de retrombosis en los pacientes obesos fue de 32,7% vs 25,1% para los no obesos, sin observarse diferencias estadísticamente significativas ($p=0,245$).

Obesidad	Evento Retrombosis					
	Total	Nº eventos	Nº censurado	% censurado	Mediana	P ₇₅
Sí	12	5	7	58,3%	120,00	15,00
No	187	47	140	74,9%	-	86,00
Total	199	52	147	73,9%	-	86,00

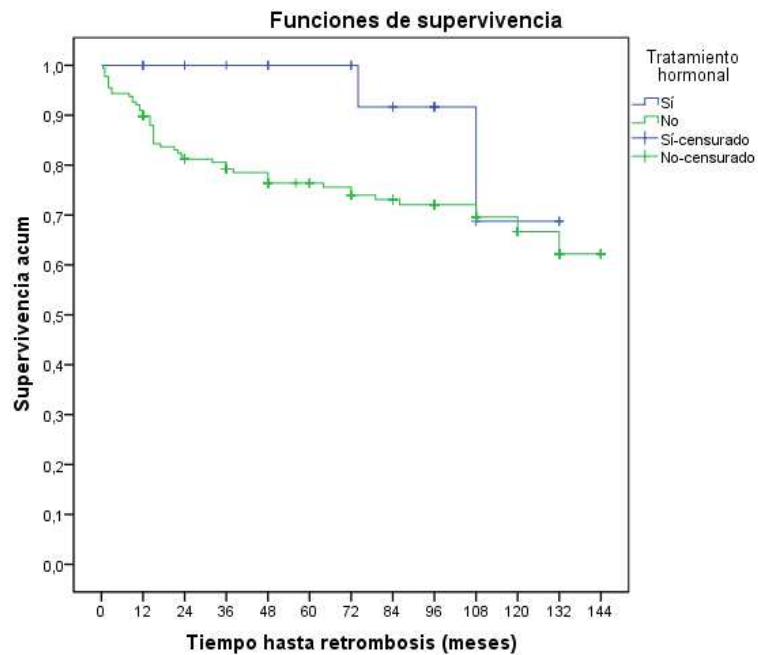
2.1.2.13- Tabaquismo:



La incidencia de retrombosis en los fumadores fue de 19% vs 27% para los no fumadores, sin objetivarse diferencias estadísticamente significativas ($p=0,276$).

Tabaquismo	Evento Retrombosis				Mediana	P_{75}
	Total	Nº eventos	Nº censurado	% censurado		
Si	21	4	17	81,0%	-	-
No	178	48	130	73,0%	-	79,00
Total	199	52	147	73,9%	-	86,00

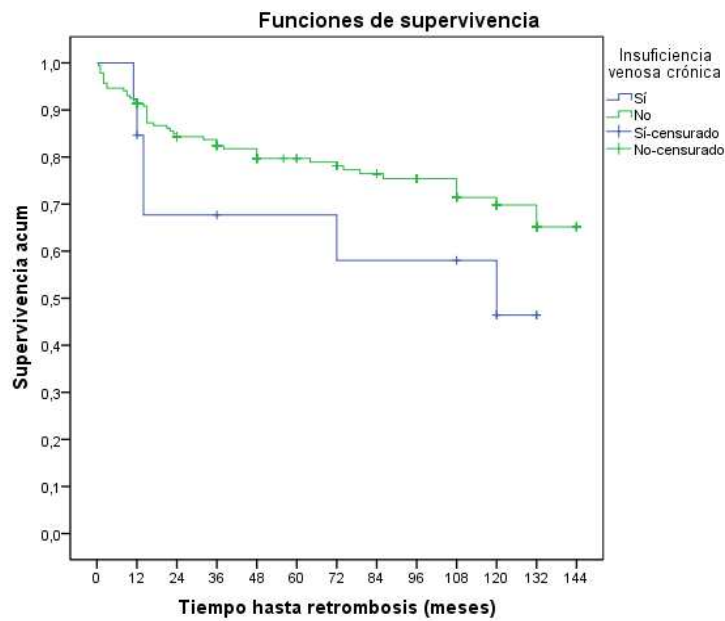
2.1.2.14- Tratamiento hormonal:



El tratamiento hormonal no se asoció a un menor tiempo hasta retrombosis, sin existir diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos ($p= 0,092$).

Tratamiento hormonal	Evento Retrombosis					P_{75}
	Total	Nº eventos	Nº censurado	% censurado	Mediana	
Sí	22	2	20	90,9%	-	108,00
No	177	50	127	71,8%	-	72,00
Total	199	52	147	73,9%	-	86,00

2.1.2.15- Insuficiencia venosa crónica:



No se observaron diferencias estadísticamente significativas en el tiempo hasta retrombosis en el grupo de pacientes con insuficiencia venosa crónica vs no insuficiencia venosa crónica ($p=0,131$).

Insuficiencia venosa crónica	Evento Retrombosis					P_{75}
	Total	Nº eventos	Nº censurado	% censurado	Mediana	
Sí	13	6	7	53,8%	120,00	14,00
No	186	46	140	75,3%	-	108,00
Total	199	52	147	73,9%	-	86,00

2.2 REGRESIÓN DE COX:

Se ha utilizado el modelo de riesgo proporcional de Cox para identificar qué variables (factores trombofílicos y clínicos) influyen en el tiempo de supervivencia hasta el evento retrombosis (tiempo hasta retrombosis), de forma conjunta. Las covariables de las que se pretende estudiar la influencia, variables que han sido detectadas como significativas con Kaplan-Meier, son:

Covariable	Valor	Significado del valor
Déficit de proteína S libre	1 2*	Déficit No déficit
Niveles elevados de Factor VIII coagulante	1 2*	Nivel elevado No nivel elevado
Anticoagulante lúpico	1 2*	Positivo Negativo
Grupos de edad	1* 2	≤55 años >55 años
Trombosis espontánea como primer episodio	1 2*	Sí No

* categoría de referencia

El modelo de regresión de Cox que se pretende ajustar es el siguiente:

$$h(t) = [h_0(t)] \cdot e^{(B_1X_1 + B_2X_2 + \dots + B_pX_p)}$$

Este modelo implica que la función de riesgo $h(t)$, viene dada por una función de riesgo base $h_0(t)$ (que depende del tiempo y es común a todos los individuos), y por un factor ($\exp(B_1X_1 + \dots + B_pX_p)$) que depende del valor que tomen las covariables (y no del tiempo).

Se han probado diferentes algoritmos de construcción del modelo de regresión de Cox multivariante (incluyendo más de una covariable):

método introducir, paso a paso hacia delante de razón de verosimilitud, paso a paso hacia atrás de razón de verosimilitud, paso a paso hacia delante manual y paso a paso hacia atrás manual.

1- En un primer análisis, se ha seleccionado el método paso a paso hacia atrás de razón de verosimilitud, por ser el que nos proporcionaba un mejor ajuste. En el siguiente cuadro se muestra información más detallada acerca del modelo (144 pacientes).

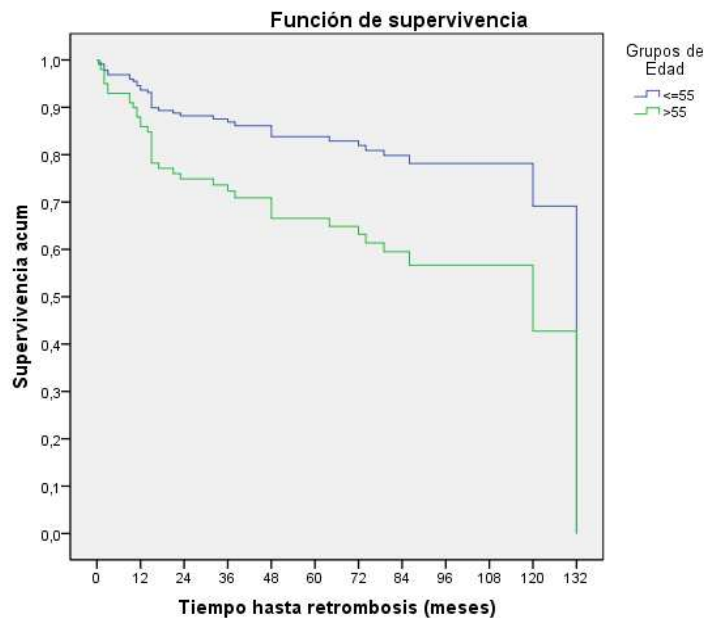
Covariable	Estimación del coeficiente (B_i)	S.E. de la estimación	Sig.	Exp(B) (H.R.)	IC (H.R.) 95%
Grupos de edad	0,834	0,330	0,012	2,304	1,206-4,402
Déficit de proteína S libre	0,927	0,395	0,019	2,527	1,166-5,478
Niveles elevados de Factor VIII coagulante	0,821	0,355	0,021	2,273	1,134-4,556

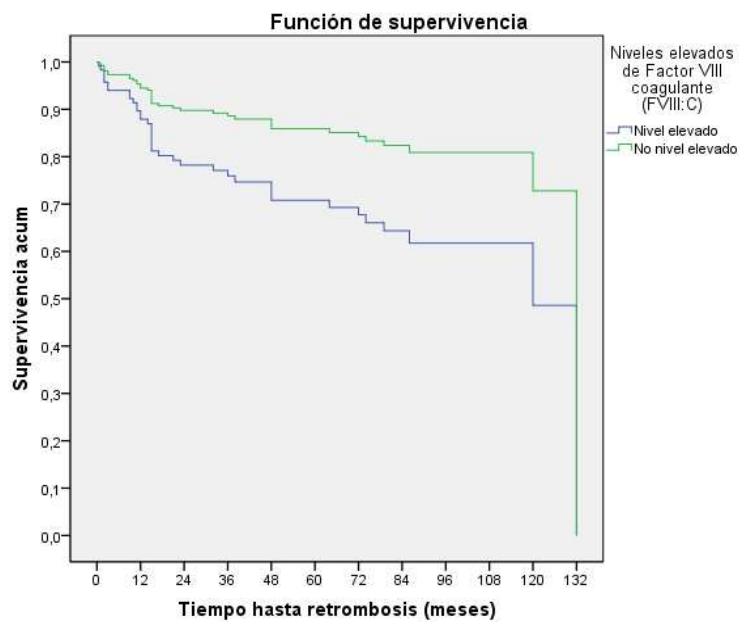
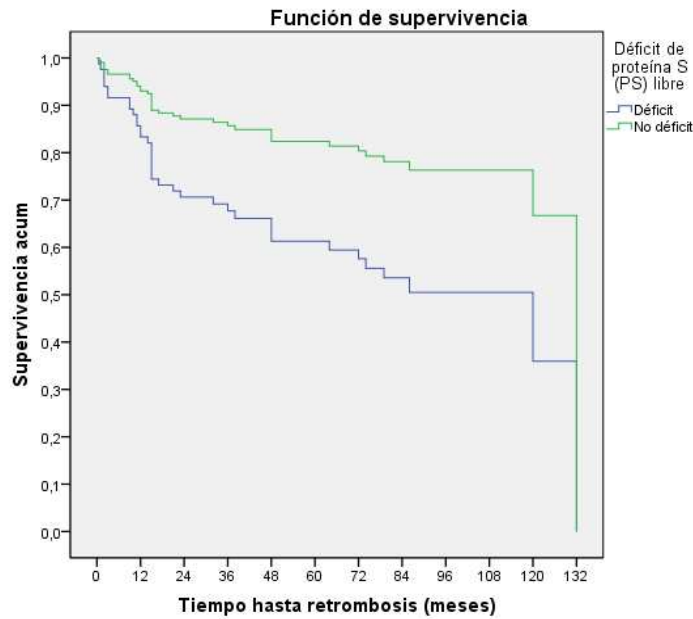
Las estimaciones de los coeficientes son los valores B que hay que sustituir en el modelo. La interpretación, no obstante, se debe llevar a cabo con $\exp(B_i)$ que indica el porcentaje de cambio de la función de riesgo por unidad de incremento en la covariable.

- Los pacientes con una edad >55 incrementan el riesgo de retrombosis 2,304 veces.
- Los pacientes con un déficit de PS libre tienen un riesgo 2,527 veces mayor que los pacientes sin déficit de PS libre.
- El riesgo de retrombosis es 2,273 veces mayor en los pacientes con niveles elevados de FVIII:C (>150%).

El modelo de regresión de Cox exige, tal y como se puede apreciar por la ecuación, que el ratio entre riesgos sea constante a lo largo del tiempo y que el efecto de las covariables sobre la función de riesgo sea log-lineal. Lo cual se ha comprobado en el modelo, y es factible.

En los siguientes gráficos se muestran las funciones de supervivencia estimadas con el modelo propuesto, para los distintos niveles de los factores influyentes categóricos.





2- Dado que al contar para la estimación del modelo con la variable niveles elevados de Factor VIII:C se pierden 55 casos (lo que supone un 27,6% de los casos) debido a que no se disponía del resultado de esta variable durante los 2 primeros años del estudio, se va a realizar la regresión de Cox sin esta

variable, para aprovechar al máximo todos los datos disponibles del resto de variables. Para ello se ha seleccionado el método paso a paso hacia adelante de razón de verosimilitud, por ser el que nos proporcionaba un mejor ajuste. En el siguiente cuadro se muestra información más detallada acerca del modelo (199 pacientes).

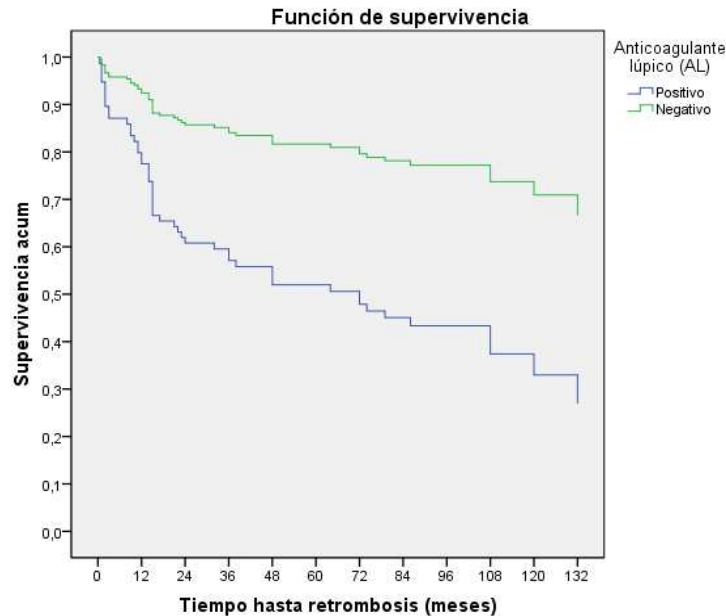
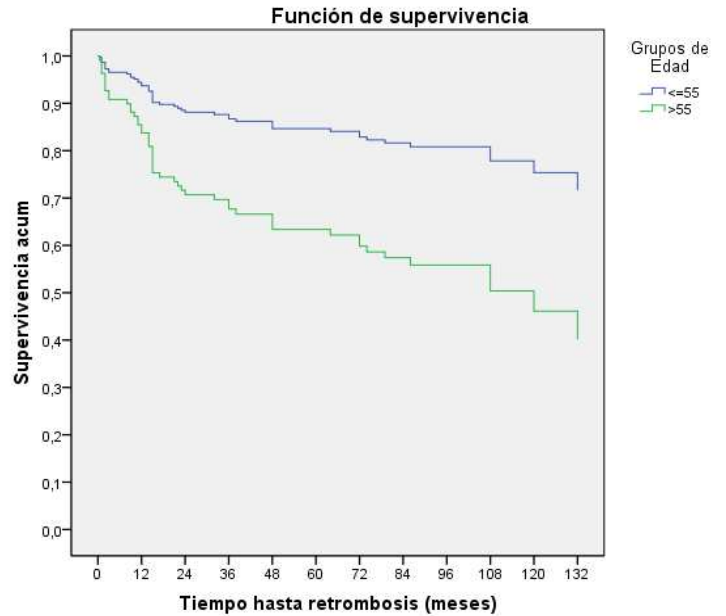
Covariable	Estimación del coeficiente (B_i)	S.E. de la estimación	Sig.	Exp(B) (H.R.)	IC (H.R.) 95%
Grupos de edad	1,007	0,282	0,000	2,737	1,574-4,757
Anticoagulante lúpico	1,172	0,473	0,013	3,229	1,277-8,165

Las estimaciones de los coeficientes son los valores B que hay que sustituir en el modelo. La interpretación, no obstante, se debe llevar a cabo con $\exp(B_i)$ que indica el porcentaje de cambio de la función de riesgo por unidad de incremento en la covariable.

- Los pacientes con una edad >55 incrementan el riesgo de retrombosis 2,737 veces sobre los pacientes con una edad ≤ 55 años, en cualquier unidad de tiempo.
- Los pacientes con AL positivo incrementan el riesgo de retrombosis 3,229 veces sobre los pacientes que presentan AL negativo, en cualquier unidad de tiempo.

El modelo de regresión de Cox exige, tal y como se puede apreciar por la ecuación, que el ratio entre riesgos sea constante a lo largo del tiempo y que el efecto de las covariables sobre la función de riesgo sea log-lineal. Lo cual se ha comprobado en el modelo, y es factible.

En los siguientes gráficos se muestran las funciones de supervivencia estimadas con el modelo propuesto, para los distintos niveles de los factores influyentes categóricos.



VI. DISCUSIÓN

Son numerosos los factores que pueden contribuir al desarrollo de TEV, algunos de ellos son reversibles, como cirugía, inmovilización, encamamiento, viajes de larga distancia, tratamiento con estrógenos, embarazo, y otros irreversibles como los factores trombofílicos. El efecto de los diferentes factores sobre el riesgo de recidiva trombótica continúa siendo controvertido.

1. TROMBOFILIA Y RETROMBOSIS:

1.1 DÉFICIT DE ANTICOAGULANTES NATURALES:

El déficit congénito de anticoagulantes naturales: AT, PC y PS están presentes en menos del 10% de los pacientes con TEV, pero los individuos con estas deficiencias tienen alto riesgo de TEV ^(678, 357, 679, 680, 681)

Cuando correlacionamos en nuestro trabajo el déficit de AT con retrombosis observamos que el 50% de los pacientes con déficit de AT sufrieron alguna recidiva trombótica frente al 25,6% de los que no tienen déficit, con lo que hay una tendencia a la retrombosis, aunque cabe reseñar que hay pocos casos y pocos episodios en el grupo de déficit y esto podría justificar que no se alcance significación estadística.

En cuanto al déficit de PC coagulante, no observamos diferencias significativas entre los dos grupos, se hace notar que solamente hay dos casos de déficit de PC. Respecto al déficit de PS, nos encontramos con diferencias significativas entre los pacientes con déficit de PS libre (45,8% frente a 23,4%) y los que no muestran déficit ($p=0,011$), así como una tendencia a la recidiva en el grupo de déficit de PS coagulante (32,3% vs

25%), que probablemente alcanzaría significación si el tamaño muestral fuera mayor.

De Stefano y cols evalúan 1380 pacientes con TVP ó TEP previo entre 1994 y 2004, de los cuales 180 recidivaron. La incidencia de recurrencia fue de 48,4% en los pacientes con déficit congénito de anticoagulantes naturales vs 27,7% para el grupo control ($p=0,001$), sin existir diferencias entre los subgrupos de pacientes con déficit de AT, de PC o de PS ($p=0,25$). En este mismo estudio, al analizar el riesgo de recidiva por separado, aumentó 1,9 veces en los portadores del déficit de AT y no fue significativo en los pacientes con déficit de PC o PS ⁽⁶⁸²⁾.

De los 570 pacientes que estudió Baglin, en 485 se determinó el déficit de AT, siendo 8 positivos, de los cuales 2 sufrieron un nuevo episodio de trombosis (RR: 2,59, IC 95% (0,8-8,8), 5 de 431 tenían niveles descendidos de PC, de ellos 1 sufrió una retrombosis (RR: 1,84, (0,3-10,8) y 27 de 428 niveles bajos de PS, con 4 retrombosis, incluyendo 1 paciente con defecto combinado con FVL heterocigoto (RR:1, (0,3-3,01). La tasa de retrombosis en los pacientes con déficit de anticoagulantes naturales fue de 17,5% (7 de 40), pero este resultado no fue estadísticamente diferente de la tasa de recidiva global, que es del 11%.

En nuestro trabajo, la incidencia de retrombosis en el grupo de déficit de anticoagulantes naturales fue de 43,3% (13 de 30), superior a la incidencia global, que fue de 36,4% y bastante más elevada que la encontrada en el estudio de Baglin (43,3% frente a 17,5%).

Al realizar el análisis multivariante (regresión de cox) en nuestro estudio, el déficit de PS libre aumenta el riesgo de retrombosis 2,527 veces (IC 95%, (1,166-5,478), cifras muy similares a las descritas por Mannucci en una revisión reciente ⁽⁶⁸³⁾.

Brouwer evaluó el riesgo de recurrencia en una cohorte de 130 pacientes con déficit de PC, PS y AT e historia de TEV. 53 con déficit de PC, 52 con déficit de PS y 25 con déficit de AT. 81 pacientes de los 130, recidivaron en una mediana de seguimiento de 4,6 años. La incidencia anual de retrombosis fue de 8,4% (IC 95%: 5,8-11,7%) para el déficit de PS, 6% (IC 95%, 3,9-8,7%) para el déficit de PC y 10% (IC 95%, 6,1-15,4%) para el déficit de AT, con una incidencia global de 7,7% (IC 95%, 6,1-9,5%). El RR de recidiva fue de 1,4 (0,7-2,6) para los pacientes con un sólo déficit y 1,4 para dos o más déficits. En cambio, la incidencia anual de retrombosis fue de tan sólo el 1% (0,03-5,5%) para los 8 pacientes sin alteraciones trombofílicas.

La tasa de recidiva trombótica fue de 14%, 32% y 50% respectivamente a los 1, 5 y 10 años de seguimiento en pacientes sin alteraciones trombofílicas asociadas y de 14%, 40% y 54% respectivamente en los que presentaban uno o más defectos concomitantes.

El riesgo fue más alto en los pacientes con déficit de anticoagulantes naturales y trombosis espontánea como primer episodio, ya que el RR fue de 1,5 (IC 95%: 0,95-2,3) frente a 1 para los que debutaron con trombosis secundaria ($p=0,08$). Podemos destacar que aunque se observa una tendencia a la retrombosis, no alcanza significación, y por ello la realización del estudio de trombofilia en pacientes con un primer episodio de TEV no predice el riesgo de recaída en los 2 primeros años tras la finalización del tratamiento anticoagulante ⁽³⁶⁷⁾.

Los investigadores del grupo WODIT (Warfarin Optimal Duration Italian Trial) se plantearon estudiar la incidencia de retrombosis (TVP y/o TEP) en pacientes con o sin alteraciones trombofílicas ⁽⁶⁸⁴⁾.

Los datos se obtuvieron de un estudio multicéntrico prospectivo cuyo objetivo era valorar el beneficio de prolongar la anticoagulación de 3 meses a 1 año después de un primer episodio de TVP idiopática ⁽⁶⁸⁵⁾.

De 195 pacientes, 3 fueron deficientes para AT con ninguna retrombosis, 2 tuvieron déficit de PC y los 2 se retrombosaron y 2 déficit de PS con 1 retrombosis ⁽⁶⁸⁴⁾.

Otro trabajo prospectivo con 474 pacientes observó un aumento moderado del riesgo de retrombosis en aquellos con alguna deficiencia de los anticoagulantes naturales (AT, PC o PS) (OR, 1,8; IC 95% (0,9-3,7) ⁽¹⁸⁸⁾.

Es importante destacar que hay pocos estudios y con un número limitado de pacientes que han evaluado el riesgo de retrombosis en pacientes con déficit de anticoagulantes naturales, debido en parte a la escasa frecuencia de estas alteraciones trombofílicas y a la dificultad de poder reclutar un número importante de casos ^(363,188). Además en la mayoría de los estudios el riesgo de recidiva de TEV fue similar en el grupo de déficit frente a la población sin alteraciones trombofílicas.

2.2 NIVELES ELEVADOS DE FVIII:

En nuestra muestra, los pacientes con niveles elevados de FVIII:C (>150%) tuvieron una incidencia de retrombosis mayor que los que tuvieron niveles menores de 150% (36,9% vs 18,7%; $p=0,011$).

Por otro lado, al aplicar el modelo de Regresión de Cox para identificar las variables que influyen en el tiempo hasta retrombosis, observamos que el RR de retrombosis es 2,273 veces mayor en pacientes con niveles altos de FVIII:C (>150%) con un IC 95% (1,134- 4,556).

La primera publicación que muestra la asociación entre niveles altos de FVIII y retrombosis fue un estudio casos-control con 301 pacientes con un primer episodio de TEV y un número similar de controles. 25% de los pacientes tenían niveles de FVIII >150 UI/dL frente a 11% de los controles. El análisis univariante demostró que el FVIII:C, FvWAg y el grupo sanguíneo no O se asociaban con aumento del riesgo trombogénico. Al realizar el análisis multivariante, solamente los niveles de FVIII:C permanecieron como factor de riesgo independiente de nueva trombosis (389).

La hipótesis de que los niveles elevados de FVIII:C influyen en el riesgo de retrombosis fue desarrollada en un gran estudio prospectivo austriaco sobre recidiva en TEV (407).

El estudio incluye 360 pacientes con un primer episodio de TEV, que tras suspenderse el tratamiento anticoagulante fueron seguidos durante un periodo de 30 meses. La retrombosis se observó en 38 pacientes (10,6%). Los niveles de FVIII:C fueron mas altos en la cohorte que se retrombosó (182 ± 66 vs 157 ± 54 UI/dL; $p=0,009$) y la incidencia de retrombosis en

pacientes con niveles plasmáticos de FVIII en torno al 90 percentil fue del 27%.

Los hallazgos de Kraaijenhagen y cols en el año 2000 demostraron que el riesgo de retrombosis dependía de los niveles de FVIII:C, pero esta relación entre el aumento de FVIII:C y retrombosis no era lineal, aunque los pacientes con niveles de FVIII:C en torno al percentil 90 ($>234\text{UI/dL}$) tuvieron un riesgo alto de desarrollar retrombosis ⁽³⁸⁵⁾. y en este grupo el RR de recidiva fue de 6,7 (IC 95%: 3-14,8). En esta cohorte, el riesgo de nuevo TEV tras 2 años de ausencia de tratamiento anticoagulante fue de 37% frente a solo el 5% para pacientes con niveles normales de FVIII:C; $p<0,001$.

Un trabajo prospectivo más reciente incluyó 564 pacientes con un primer TEV y una mediana de seguimiento de 19,7 meses. Se detectaron 53 casos de retrombosis. La incidencia de recidiva trombótica fue más alta en los casos de TEV idiopático comparado con los TEV secundarios a un factor de riesgo conocido (12,6% vs 5,5%; $p= 0,007$). El riesgo de recaída fue 4 veces mayor para los casos con FVIII:C en torno al 90 percentil (294UI/dL), en cambio no hubo aumento del riesgo trombótico en los casos con TEV secundario a un factor de riesgo transitorio con niveles similares de FVIII ⁽⁶⁸⁶⁾.

En cuanto a la mejor forma de determinar el FVIII, existen varios métodos: el método coagulativo (FVIII:C), el cromogénico (FVIII:Ch) o por ELISA: Factor VIII antigénico (FVIII:Ag). Estudios previos nos hablan de que el método coagulativo es muy sensible a pequeñas cantidades de FVIII, lo que podría sobreestimar los niveles plasmáticos de FVIII cuando la coagulación está activada; actualmente varios trabajos han demostrado que tanto el FVIII:C, FVIII:Ch y FVIII:Ag se elevan con el TEV ^(687,391,686, 393), por tanto

parece factible que usemos el método coagulativo para la determinación del FVIII y pasados al menos 3 meses del episodio trombótico agudo.

Al igual que en los estudios de Kraaijenhagen, Kyrle y Cristina, en nuestro trabajo los niveles elevados de FVIII: C se correlacionan con mayor riesgo de retrombosis. Cabría plantearnos si este subgrupo con mayor riesgo de trombogenicidad podría beneficiarse de prolongar el tratamiento anticoagulante con el objetivo de disminuir o evitar la retrombosis.

La única publicación al respecto es un trabajo prospectivo con pacientes con TEV espontáneo y niveles de FVIII >230 UI/dL que fueron randomizados a anticoagulación oral durante 6 meses o a continuar con el tratamiento 24 meses. 34 casos cumplieron los criterios de inclusion. 2 de los 17 que dejaron el tratamiento anticoagulante y 2 de los 17 que prolongaron el tratamiento sufrieron una nueva trombosis durante los 2 años de seguimiento. La probabilidad de retrombosis a los 2 años de finalizar la anticoagulación oral fue del 30% (IC 95%, 13-46%).

Aunque el continuar con la anticoagulación oral parece ser efectivo en prevenir la retrombosis en pacientes con elevación de los niveles de FVIII, este beneficio no se mantiene al suspender el tratamiento ⁽⁶⁸⁸⁾.

1.3 DÍMERO D:

La determinación de los valores de DD pudo ser valorada en 116 casos, con 36,4% de retrombosis en los casos con niveles $\geq 0,5 \mu\text{g/mL}$ frente a 23,4% para los pacientes con niveles más bajos ($p=0,391$).

Fue Palareti en 2002 quién describió por primera vez la asociación entre los niveles de DD y retrombosis. Evaluó el valor predictivo del DD en el riesgo de recidiva después de suspender la anticoagulación oral. 396 pacientes fueron seguidos durante 21 meses desde el día que finalizaron el TAO. Los niveles de DD se midieron el día de retirada de la anticoagulación, a las 3-4 semanas y a los 3 meses. En un 50,2% de los pacientes, los niveles se elevaron en al menos una determinación. La OR para retrombosis fue significativamente más alta en pacientes con valores de DD elevado ($>500 \text{ ng/mL}$) frente a los que tenían valores normales a los 3 meses de suspender el tratamiento anticoagulante (OR: 2,45, IC 95% (1,28-4,53); $p<0,01$) ⁽⁶⁸⁹⁾.

Otro estudio prospectivo algo posterior con 610 pacientes tratados al menos durante 3 meses con anticoagulación oral tras un primer TEV con medición de las cifras de DD al suspender el tratamiento anti-vitamina K. 13% de los pacientes recidivaron y estos casos tuvieron unos valores de DD superiores a los casos sin retrombosis. (553 ng/ml frente a 427 ng/mL, $p=0,01$). La probabilidad acumulada de retrombosis a los 2 años fue de 3,7% en pacientes con DD de menos de 250 ng/mL comparado con 11,5% en pacientes con niveles más altos ($p=0,001$) ⁽⁶⁹⁰⁾.

Datos del estudio PROLONG ⁽⁶⁹¹⁾ concluyeron que el riesgo de recurrencia trombótica en aquellos pacientes que 1 mes después de suspender el TAO mostraban una positividad del DD y no reiniciaban la anticoagulación oral

presentaban al cabo de un período de seguimiento de 18 meses un riesgo significativamente más elevado que pacientes similares en los que se reiniciaba TAO (RR 4,29) o aquellos en los que el DD era negativo (RR 2,27); un análisis posterior limitó el valor predictivo de este parámetro a los pacientes menores de 70 años.

El siguiente paso fue analizar el valor del DD no en una determinación aislada 1 mes después de suspender el TAO sino en un seguimiento prospectivo en el transcurso de 1 año tras el cese del TAO (estudio PROLONG II) ⁽⁶⁹²⁾. En este caso se concluyó que aquellos pacientes en los que el DD era negativo de modo mantenido (65% del total), el riesgo de retrombosis era el más bajo (2,9% pacientes-años); en aquellos casos en los que el DD pasaba de ser negativo a positivo y luego persistía dicha positividad, el riesgo era máximo (27% pacientes-años). En estos estudios la técnica de DD empleada era de tipo cualitativo como forma de homogeneizar los resultados, lo cual limitaba la valoración de los mismos.

De forma más reciente, Eichinger y otros autores de acuerdo con los datos de Palareti observan que los pacientes con TEV espontáneo y DD <250 ng/mL 3 semanas después de suspender la anticoagulación tienen un riesgo de recidiva trombótica de 3,7% después de 2 años. Además cuando estudiaron el RR de retrombosis asociado a los niveles de DD en los 150 pacientes de los 553 con un primer episodio de TEV no provocado observaron que se modificaba a lo largo del tiempo, obteniendo un RR de 1,30 (IC 95%, 1,07-1,58), 1,27 (IC 95%, 1,06-1,51), 1,20 (IC 95% 1,02-1,41) y 1,13 (IC95% 0,95-1,36), a las 3 semanas, 3 meses, 9 y 15 meses tras suspender el TAO respectivamente. Finalmente concluyen que hay varios factores que pueden predecir el riesgo de recidiva trombótica como son: el sexo, la localización del primer episodio y las mediciones seriadas de DD ⁽⁶⁹³⁾.

1.4 FVL Y MGP :

En este trabajo no observamos diferencias estadísticamente significativas en los pacientes heterocigotos para el FVL o para la MGP y el riesgo de padecer una nueva trombosis, al compararlos con pacientes que no presentan dichas mutaciones.

Hasta la fecha los estudios existentes en cuanto a la relación entre la mutación del FVL y el riesgo de recurrencia trombótica ofrecen resultados contradictorios.

Por una parte, varios metaanálisis muestran un aumento de la incidencia de retrombosis, que es en conjunto poco relevante. Concretamente, en el metaanálisis de Ho de 2006, que es el resultado de 10 estudios con 3104 pacientes con un primer TEV demostró que el FVL estaba presente en 21,4% de los pacientes y se asociaba con un OR de retrombosis de 1,41 (IC 95% 1,14-1,75; $p=0,08$). Otros 9 estudios con 2903 pacientes con una primera trombosis venosa demostraron que la MGP aparecía en 9,7% pacientes con una OR 1.72 (95% CI, 1.27-2.31; $p=0,19$) ⁽¹⁷⁷⁾.

Cifras similares en cuanto a incidencia de retrombosis, se encuentran en el metaanálisis de Vink del 2003 ⁽¹⁷⁸⁾ y en un metaanálisis algo más reciente, en la que se ha encontrado un modesto aumento del riesgo de retrombosis para los portadores de FVL, y de la MGP con tasas de 1,56 y 1,45 respectivamente ^(180, 181).

Una revisión sistemática que incluía 46 artículos ⁽¹⁸¹⁾ y estudió la incidencia de recaída trombótica en individuos con TEV y FVL o MGP, describió 161 retrombosis en 979 heterocigotos para FVL y 473 retrombosis en 3751 individuos libres de la mutación, con una OR 1,56; (IC 95% 1,14-2,12),

mientras que el FVL homocigoto generaba más riesgo trombogénico (OR 2,65; IC 95% 1,2-6) y así lo demostró el trabajo del grupo Procare ⁽⁶⁹⁴⁾

La misma revisión sistemática, tras revisar 9 artículos observó 38 recidivas en 281 heterocigotos para la MGP y 385 de 3355 pacientes sin la mutación, con una OR de 1,45 (IC 95% 0,96-2,2) y no se dispusieron de datos suficientes sobre el impacto de la MGP en homocigosis debido a la escasa frecuencia de la alteración genética ^(215, 695, 696, 209, 697, 471, 698).

Otro trabajo prospectivo realizado con más de 1000 pacientes por Sveinsdottir en el 2012, describió un aumento del riesgo de retrombosis venosa estadísticamente significativo en los heterocigotos FVL, OR: 2,4 (IC 95%, 1,6-3,6; $p < 0,01$) ⁽⁶⁹⁹⁾.

Por otra parte, en participantes del estudio Leiden: 474 pacientes de 18-70 años diagnosticados y tratados de un primer TEV, se determinó la relación entre retrombosis y diversas alteraciones trombofílicas, obteniendo una OR en heterocigosis para FVL de 1,2 (IC 95%, 0,7-1,9) y para la MGP de 0,7 (IC 5%, 0,3-2), no observando diferencias estadísticamente significativas ⁽¹⁸⁸⁾.

Posteriormente, un metaanálisis de 2007 con 11 estudios incluidos muestra que el RR en heterocigotos de FVL fue 1,39 (IC 95%, 1,15-1,67), es decir aumento moderado del riesgo trombogénico que no alcanza significación estadística ⁽¹⁸⁰⁾. En esta misma revisión sistemática, de los 10 estudios que examinaron el riesgo riesgo trombótico en portadores de FVL, 4 cumplían criterios de alta calidad y de ellos solamente el de Palareti encontró un aumento del riesgo con significación estadística (RR: 2,69, IC 95% 1,58-4,58) ^(696, 187, 188, 697).

Otros 10 estudios evaluaron el riesgo en heterocigotos para la MGP. De 3208 individuos con un primer TEV, hubo 38 retrombosis en 212 portadores de la MGP (17,9%) y 428 de 2996 sin presencia de la mutación

(14,3%). El RR de TEV en portadores de MGP fue de 1,2 (IC 95%, 0,89-1,61), sin hallarse diferencias estadísticamente significativas ($p=0,53$).

Ninguno de los 3 estudios con criterios de alta calidad demostraron aumento del riesgo de retrombosis (696, 188, 697).

Por último, una revisión más reciente del grupo de trabajo sobre evaluación de la aplicación de la genómica en la práctica clínica y en la prevención (EGAPP) concluye que la MGP no es predictiva de recurrencia, así como la heterocigosidad del FVL confiere un riesgo débil de recidiva trombótica (OR: 1,56) y el FVL homocigoto aumenta el riesgo de forma importante (OR: 2,65) (210).

El riesgo de retrombosis en los homocigotos de G20210A no está bien definido pero se supone que presumiblemente será más alto que en los heterocigotos. La mayoría de los estudios no incluye un número adecuado de pacientes para poder evaluar adecuadamente el riesgo y en nuestra muestra debido a la ausencia de homocigotos para la mutación, no ha sido posible valorar el riesgo de retrombosis.

En general el FVL y la MGP sólo parecen potenciar de modo débil la recidiva trombótica por lo que algunas guías ponen en duda el valor de análisis aun en pacientes con un primer episodio de ETEV idiopática (701).

1.5 HIPERHOMOCISTEINEMIA:

De 198 pacientes valorados por nuestra parte, 31,7% con niveles elevados de homocisteína ($>12 \mu\text{mol/mL}$) se retrombosaron frente a 24,2% retrombosis en pacientes con valores normales de homocisteína ($p=0,355$). Como podemos observar, hay diferencias, aunque éstas no alcanzan significación estadística.

En un trabajo multicéntrico dirigido por Eichinger con 264 pacientes y un episodio idiopático de TEV que fueron seguidos de forma prospectiva tras suspender la anticoagulación oral. Se clasificaron como hiperhomocisteinémicos si los niveles de homocisteína superaban el percentil 95 respecto a los controles. 25% de los casos tuvieron valores altos de homocisteína y 75% valores normales. El RR de retrombosis fue más alto en los individuos con hiperhomocisteinemia (RR 2,7 (1,3-5,8), $p=0,009$) y este trabajo concluye que la hiperhomocisteinemia predice un riesgo alto de retrombosis y por ello debe ser incluida en los estudios de trombofilia ⁽⁵¹⁵⁾.

La publicación de Santamaria de 2005 determinó la incidencia de recidiva de TEV en pacientes con o sin trombofilia tratados con anticoagulación. Entre las diversas alteraciones trombofílicas evaluadas, encontramos la hiperhomocisteinemia, 7 de 195 (3,6%) la presentaron, de ellos 4 (8,2%) se retrombosaron frente a 3 (2,1%) que no tuvieron nuevos episodios de TEV. A parte de los valores de homocisteína, estudiaron otros factores trombofílicos adquiridos como los AAF y defectos trombofílicos hereditarios como son: el déficit de AT, déficit de PC, déficit de PS, FVL y MGP. En global, la probabilidad acumulada de retrombosis en individuos con alteraciones trombofílicas o no, fue de 1,78 (IC 95% 1,002-3,140, $p=0,046$). Al hacer el análisis ajustado para defectos adquiridos o hereditarios

se observó que la diferencia en el riesgo era superior para el grupo de las alteraciones adquiridas (entre ellas, la hiperhomocisteinemia) (HR: 3,31, IC95% 1,579-6,920, $p=0,002$) ⁽⁶⁸⁵⁾.

Otro trabajo del mismo año, cuyo objetivo primordial fue valorar en 474 pacientes los episodios trombóticos recurrentes según diversos factores trombofílicos como fueron los niveles elevados de homocisteína (con 3 diferentes puntos de corte: 16,7, 19,8 o 20,3 $\mu\text{mol/L}$, debido a diversos momentos de procesamiento de las muestras en los 3 centros donde se determinaron, elevación de FVIII, IX, XI, fibrinógeno y déficit de anticoagulantes naturales, así como factores clínicos como el sexo, tipo de episodio inicial y la toma de AO.

De los 474 pacientes, 83 (18%) presentaban hiperhomocisteinemia, de éstos, 14 sufrieron una recidiva trombótica y la HR de recidiva ajustada para edad, sexo y tiempo de anticoagulación, como no ajustada fue de 0,9 (0,5-1,6), sin observarse un aumento del riesgo protrombótico para esta alteración trombofílica ⁽¹⁸⁸⁾.

Un metaanálisis de 2005 estimó que el aumento de los niveles de homocisteína en 5 mM se asociaban con un aumento del 27% en la incidencia de futuros episodios de TEV (OR 1,27; IC 95%, 1,01-1,59) ⁽⁷⁰²⁾.

La hiperhomocisteinemia leve y moderada ha sido identificada como factor de riesgo de trombosis venosa y también se ha asociado con otras enfermedades cardiovasculares, como la enfermedad arterial coronaria. Como hemos mencionado, la homocisteína se relaciona con la enfermedad arterial coronaria, aunque parece ser independiente del genotipo MTHFR. La vitamina B6, vitamina B12 y el ácido fólico regulan los niveles de homocisteína, por lo que los suplementos vitamínicos a expensas de estos

preparados disminuyen los niveles elevados de homocisteína, pero parece ser que no tienen efecto en disminuir los episodios cardiovasculares (703).

Una revisión de la Cochrane muy reciente sugiere que hasta la fecha no hay evidencia de que el disminuir los valores de homocisteína con suplementos en forma de vitamina B6, B9 o B12 sólo o en combinación prevenga la enfermedad cardiovascular salvo que exista déficit vitamínico confirmado (704).

1.6 ANTICUERPOS ANTIFOSFOLÍPIDO:

Los AAF pueden ser encontrados en más del 25% de pacientes con TEV (422, 705) y a menudo se recomienda mantener el TAO de forma indefinida para este grupo de pacientes.

En nuestro trabajo, de 199 pacientes con antecedentes de TEV, 62,5% de los individuos con AL positivos sufrieron una recidiva trombótica frente a un 24,6% en pacientes con AL negativos ($p=0,012$). Observamos diferencias claramente significativas desde un punto de vista estadístico. Al realizar el análisis multivariante, los pacientes AL positivo presentaron un riesgo de retrombosis 3,229 veces superior a aquellos pacientes con AL negativo.

Un 50% de los pacientes con aCL IgG positivos presentaron recidiva trombótica frente a un 25,6% en los que éstos estaban ausentes ($p=0,377$). Probablemente no se observan diferencias estadísticamente significativas debido al escaso número de pacientes con dicha alteración.

En cuanto a los aCL IgM se describen 33,3% retrombosis para los pacientes con la presencia de estos Acs frente a 26% para los individuos

que no tienen dichos Acs ($p=0,249$). De nuevo, destacar que existen muy pocos casos positivos para aCL IgM.

Por último, otro grupo de Acs que forma parte de la familia de los AAF son los anti- $\beta 2$ -GPI IgG. Al evaluarlos, hemos observado 50% de nuevos episodios de TEV en individuos positivos y 25,9% en pacientes negativos ($p=0,595$); hay diferencias importantes que muestran una tendencia a mayor riesgo de retrombosis y que probablemente alcanzasen significación estadística si el tamaño muestral fuera mayor.

Desde hace más de 20 años, es conocido que los pacientes con SAF que presentan trombosis venosa tienen un alto riesgo de sufrir recidivas tromboticas. De hecho, ya en 1992 Rosove y su equipo encontraron un patrón evidente de recurrencia en 70 pacientes con SAF, de los cuales un 53% sufrieron nuevos episodios tromboticos, con un seguimiento de más de 5 años.

Dos años después Rance en una publicación de 153 pacientes con TEV objetivó que la incidencia de recidiva es más alta (20%) en pacientes con AL o aCL comparado con el grupo control (9%).

Varios estudios evalúan el RR de retrombosis, en relación a la presencia o no de aCL positivos. El primero de ellos es el de Kearon en 1999, realizado con 162 pacientes con TEV idiopático, en el cual el RR para aCL es de 2,3 (IC 95%, 0,5-11) y el RR para AL es bastante superior, siendo de 6,8 (IC 95%, 1,5-31), en cambio en un trabajo posterior, de 2006, en 60 pacientes con TVP el RR para aCL fue más alto que el encontrado en el estudio previo, llegando a ser de 6 (IC 95%, 1,2-29,5) ⁽⁷⁰⁶⁾.

Otros trabajos como el de García-Fuster en 2005 y el de Kim en 2009 estudian el RR de retrombosis para pacientes diagnosticados de SAF que

han presentado de forma previa un episodio de TEV, siendo de 8,5 (IC 95%, 2,84-25,5) y de 4,3 (IC 95%, 1-19) respectivamente.

Más recientemente Rodger y su equipo de investigadores en el 2008 hacen un seguimiento en 384 pacientes con AAF positivos y antecedentes de trombosis venosa, de ellos 56 presentaron nuevos episodios de trombosis, en cambio, 235 pacientes no presentaban AAF y en 31 la trombosis recidivó, con un RR de 1,11 (0,74-1,66).

En los pacientes con LES la prevalencia de AAF tipo AL y aCL es de un 11-30% y de 17-39% respectivamente, en cambio los pacientes sin LES tienen una prevalencia de AAF de 1-56%. Algunos estudios sugieren que incluso en la población sin evidencia de enfermedad autoinmune con AAF positivos el riesgo de un primer episodio trombótico puede ser lo suficientemente importante como para realizar un manejo específico, es decir que algunos autores plantean profilaxis antitrombótica primaria fundamentalmente en situaciones de riesgo protrombótico.

Un metaanálisis de 1998 concluye que el riesgo de TEV aumenta hasta 10 veces en pacientes con AL positivo y un 50% en pacientes con aCL positivo (460).

Otra revisión más reciente (707) seleccionó los estudios casos-control y de cohortes de pacientes sin LES con presencia de AAF y trombosis. 30 estudios fueron incluidos entre 1990 a 2010, con un total de 16441 pacientes, de ellos 14 estudios se refirieron al igual que nuestro estudio a episodios de TEV, 2 estudios a trombosis venosa y arterial y 18 sólo a trombosis arterial. De los 16 estudios que investigaron trombosis venosa, 13 fueron casos-control y 3 de cohortes, 5 investigaron la asociación con AL y 10 con aCL, 4 con anti-B2-GPI, 3 con Acs antiprotrombina (anti-PT), uno con Acs antifosfatidilserina y 2 con Acs antifosfatidiletanolamina. Al

considerar todos los estudios los valores de corte para el tipo de AAF variaron entre los estudios mostrando diferencias en el modo de determinar el punto de corte.

Todos los estudios casos-control se refirieron al primer episodio y los estudios de cohortes a episodios recurrentes.

Cinco estudios (1650 pacientes), todos ellos estudios casos-control, investigaron la asociación entre AL y el riesgo de trombosis venosa. Se encontró una asociación estadísticamente significativa con una OR =6,14 (IC 95%:2,74-13,8), $p<0,001$, sin heterogeneidad significativa entre los estudios. 12 estudios (5375 pacientes), incluidos 3 estudios de cohortes investigaron los aCL y mostraron una asociación no tan significativa con trombosis venosa (OR=1,46 (IC 1,06-2,03), $p=0,02$)

Los resultados del metaanálisis de Reynaud confirman los de Wahl ⁽⁴⁶⁰⁾ con un riesgo de trombosis que aumenta 6 veces en los pacientes con AL positivo comparado con los pacientes AL negativo, con una tendencia a aumentar el riesgo trombótico en los pacientes con aCL positivos. Teniendo en cuenta solamente los estudios en los que los casos se asociaban a los controles o ajustados por cohortes, el metaanálisis no concluye que los aCL sean un factor predictivo de trombosis. También el metaanálisis de Wahl sugiere que el riesgo de ETEV es más alto en los pacientes con AL que en los pacientes con aCL, incluso cuando se detectan títulos altos de Acs. Otros tipos de AAF, más recientemente identificados como Acs anti-PT, antifosfatidilserina y antifosfatidiletanolamina no se asociaron con TVP o TEP, y podría explicarse por el pequeño número de estudios incluidos, lo que hace que se pierda poder estadístico o por la verdadera ausencia de correlación.

Características de los estudios casos-control/cohortes y trombosis venosa

incluidos en el metaanálisis de Reynaud:

Estudio y referencia (estudiosCasos/control)	Nºpacientes/controles	Ajustes	Ac AAF	AAF: punto de corte	Determinación punto de corte	OR(IC 95%)
Bongard, 1992	107;186	No	aCL Ig G	5 aCL	ND	2,53 (0,78;8,2)
			aCL Ig M	0,49 U/mL	Externa	
Ginsgurg, 1992	90;90	Si	aCL Ig G	5 GPL	ND	1,56 (0,77;3,16)
Fijnheer, 1994	72;94	No	AL	ND	ND	
			aCL	ND	ND	4,73 (1,96; 11,4)
Simioni, 1994	46;73	No	AL	ND	ND	
			aCL IgG	15 UPL/mL	ND	1,61 (0,22;11,8)
Ginsberg, 1995	65;179	No	AL	ND	Externa	
			aCL	30 UPL/mL	Externa	0,74 (0,33;1,65)
Simioni, 1996	59;117	No	AL	ND	Externa	43,2 (0,77;2429)
Palosuo, 1997	265;265	Sí	aCL IgG	30 GPL	Interna	1,08 (0,69;1,69)
Runchey, 2002	317;655	Sí	aCL Ig G	15 GPL	Externa	0,94 (0,67;1,31)
			aCL Ig M	12,5 MPL	Externa	
De Groot, 2005	473;472	Sí	AL	Ratio>1,2	Externa	3,57 (1,17;10,9)
Naess, 2006	508; 1464	Sí	aCL	ND	Externa	1,45 (0,58;3,62)
Hirmerova, 2010	140;136	Sí	aCL IgG	ND	Interna	1,27
			aCL IgM	ND	Interna	(0,46;3,5)
Estudio de cohortes Schulman, 1998	68; 344	No	aCL IgG	5 GPL	ND	2,18

ND= no disponible. Externa= laboratorio externo centralizado de referencia. Interna=laboratorio del propio centro

En 1995 Simioni incluyó 176 pacientes, 59 con TVP confirmada por venografía y un grupo control de 117 pacientes con sospecha de TVP y venografía normal. La presencia de AL fue detectada en un 8,5% de los pacientes con TVP, frente a 0 para los 117 controles ($p=0,007$); cifras algo menores hemos encontrado en nuestra muestra (frecuencia de AL de 4%, 8 positivos de 199 pacientes). Según Simioni la OR para TVP en pacientes con AL fue de 10,7 (IC 95%; 1,2-94,2) ⁽⁷⁰⁸⁾.

Ese mismo año, Ginsberg correlacionó la presencia de AAF en pacientes con TVP o TEP sin LES confirmando que tanto la TVP como el TEP se asocian de forma muy importante con la positividad para AL y sin embargo no encuentran asociación estadísticamente significativa entre aCL y TVP o TEP a pesar de aumentar el punto de corte. Al igual que en este estudio, nuestros resultados muestran una discordancia evidente entre los datos para AL y para aCL, que ya ha sido demostrada en otros trabajos para los pacientes sin LES ⁽⁷⁰⁹⁾.

El estudio de cohortes de Schulman reclutó pacientes con un primer o segundo episodio de TEV (la mayoría de ellos con TVP) desde abril de 1988 a abril de 1991. Después de 4 años de seguimiento hubo 67 retrombosis. El riesgo de retrombosis fue de 29% (20 de 68) en pacientes con aCL y 14 % (47 de 334) en pacientes sin aCL ($p=0,0013$), con un RR de 2,1 (IC 95% (1,3-3,3)). La tasa de retrombosis fue de 0,1 por año para los pacientes con aCL y 0,04 por año para los que no presentaban aCL. A diferencia de nuestro trabajo, solamente evalúan la presencia de aCL IgG y el punto de corte es de 5 GPL, en cambio nosotros hemos valorado tanto aCL IgG como IgM y el punto de corte es de 10 GPL y de 10 MPL respectivamente. Nuestros resultados son dispares con los de Schulman, ya que para los pacientes con aCL IgG la tasa de retrombosis fue de 50% vs 25,6% sin existir diferencias en el tiempo hasta retrombosis ($p= 0,377$) y

para aCL IgM la tasa de retrombosis fue de 33,3% vs 26% para los aCL IgM negativos, con lo que no hemos encontrado mayor riesgo de retrombosis en los pacientes con presencia de aCL.

El trabajo de trombofilia Leiden ⁽⁷¹⁰⁾ es un estudio de casos y controles para determinar los factores de riesgo de TVP. 473 pacientes y 472 controles fueron incluidos en el estudio. De los controles, 4 fueron positivos para AL (0,9%), mientras que del grupo de pacientes, 3,1% fueron positivos (14). El riesgo de TVP fue 3,6 veces mayor en los individuos positivos para AL respecto a los negativos (OR 3,6, IC 95%: 1,2-10,9). Cuando los pacientes en TAO (n=48) fueron excluidos del análisis, la OR disminuye discretamente (OR 3,1, IC 95%: 1-9,8). Al evaluar el valor predictivo de los diferentes puntos de corte para AL observaron que el riesgo trombótico aumentaba para los diferentes puntos de corte, aunque finalmente usaron la ratio de 1,2 como valor positivo para el AL, ya que fue la que se asoció a mayor OR para trombosis (OR: 3, (IC 95%: 0,6-15,1). Por otro lado, 49 individuos fueron positivos para anti- β 2-GPI, 3,4% de los controles (15) y 7,5% (34) de los 473 pacientes que presentaron TVP.

Según el trabajo de De Groot la presencia de anti- β 2-GPI se asoció a una OR para trombosis de 2,4 (IC 95%:1,3-4,2).

En nuestro grupo, de los 199 pacientes tan sólo 2 (1%) fueron positivos para anti- β 2-GPI presentando uno de ellos retrombosis y en los pacientes negativos (197), 51 sufrieron nuevos episodios de trombosis. En cuanto a la retrombosis y los Acs anti- β 2-GPI no hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas en el grupo de positivos vs negativos (p=0,595)

El metaanálisis de García y cols ⁽⁷¹¹⁾ revisa el riesgo de retrombosis después de un primer episodio de TEV en pacientes con AAF e incluye 8 estudios, 6 de ellos ensayos randomizados y 2 de cohortes, con un total de 3114 pacientes. La determinación del AAF variaba con respecto al Ac analizado (aCL, Ig G, M o A) y/o AL, algunos estudios determinaban solo un tipo de Ac y otros varios. Había estudios que realizaron un tipo específico de Ac (por ejemplo aCL, AL), mientras que otros, analizaron varios subtipos de AAF.

La determinación de AAF también varió con respecto al criterio usado para definir el test como positivo, si el AAF fue confirmado en una segunda ocasión, el método utilizado para la detección de cada tipo de Ac, si la muestra fue obtenida cuando los pacientes estaban recibiendo tratamiento anticoagulante o no, y el intervalo de tiempo entre el diagnóstico del primer episodio de TEV y la obtención de los AAF.

Dos estudios incluyeron pacientes con TEV espontáneo ^(712,471) mientras que 5 incluyen tanto pacientes con TEV espontáneo como secundario. El primer episodio de TEV fue o bien TVP o TEP en 7 de los 8 estudios y TVP en 1 estudio.

	AAF	No AAF	RR		
Estudio	Episodios	Total	Episodios	Total	IC: 95%
Ginsberg,1995	2	11	6	34	1,03 (0,24-4,39)
Kearon,1999	4	6	12	71	3,94 (1,83-8,48)
Kearon, 2004	1	17	6	124	1,22 (0,16-9,49)
Rodger 2008	56	384	31	235	1,11 (0,74-1,66)
Schulman 2006	38	116	194	694	1,17 (0,88,1,56)
Tailani 2009	3	6	76	291	1,91 (0,84-4,36)
Whalander 2005	5	48	49	465	0,99 (0,41-2,36)
Total episodios/pacientes	109	588	374	1914	1,41 (0,99-2)

Al evaluar la recurrencia trombótica en los pacientes sin tratamiento anticoagulante en este metaanálisis:

8 estudios describen la asociación entre AAF y retrombosis en pacientes no anticoagulados; en el estudio de Bank ⁽⁷¹³⁾ el RR no pudo ser calculado por el pequeño número de pacientes y en los pacientes con AAF no hubo episodios de TEV.

Los otros 7 estudios incluidos muestran 109 retrombosis en 588 pacientes con AAF y 374 retrombosis en 588 pacientes sin AAF, con un RR no ajustado de 1,41 (IC 95%, 0,99-2,36, p=0,09).

6 estudios especifican si los pacientes presentan o no aCL ^(709, 713, 698, 715), de los 6, se incluyen 3 en los cuales hubo 45 retrombosis en 169 pacientes con aCL y 255 retrombosis en 1230 pacientes sin AAF, con un RR no ajustado de 1,53 (IC 95%, 0,76-3,11, p=0,04)

En relación al AL, 4 estudios describen los pacientes positivos o no para AL (709, 713, 698, 471), los 3 incluidos muestran 5 retrombosis en 19 pacientes con AL y 24 en 229 pacientes sin AAF, con un RR de 2,83 (IC 95%, 0,83-9,64; $p=0,44$).

Por otra parte cuando analizaron el grupo de pacientes en tratamiento anticoagulante, 2 estudios analizan la asociación entre AAF (aCL, AL o ambos) y la recidiva trombótica. En el de Ginsberg no se describen episodios de TEV en 16 pacientes con AAF y en el de Walhander los pacientes se randomizaron a continuar anticoagulación con Ximelagatran o a no proseguir con TAO, con 2 retrombosis en 45 pacientes con AAF (sólo se determinó aCL) y 5 retrombosis en 483 pacientes sin aCL, con un RR no ajustado de 3,16 (IC 95%, 0,75-13,3)

El metaanálisis sugiere que los pacientes con un primer episodio de TEV que tienen AAF presentan mayor riesgo de recurrencia que los pacientes sin AAF, sin embargo la evidencia es de baja calidad. El AL está asociado a retrombosis de forma más fuerte que los aCL (459), esta última conclusión es concordante con nuestros resultados, ya que los individuos con AL positivo tienen un riesgo elevado de retrombosis, algo que no hemos podido demostrar para el grupo aCL positivo.

En cuanto a la presencia de AAF en el contexto de SAF la revisión de Galli mostró que los estudios que midieron AL y aCL, 5 compararon sus OR para trombosis con un IC del 95% y éstos últimos describieron una OR para AL y trombosis que variaba de 5,71 a 9,4, en cambio los aCL no se asociaron en ninguno de los estudios de forma significativa a trombosis venosa o arterial. Los estudios que evaluaron sólo AL tienen una OR tanto para ACV como para ETEV que varía de 4,09 a 16,2 con un IC del 95%.

Podemos concluir que parece ser que en los pacientes con SAF la presencia de AL aumenta el riesgo trombótico de forma significativa ⁽⁴⁵⁹⁾.

Estudios retrospectivos demuestran que la recidiva trombótica está alrededor del 70% en pacientes con SAF. Esta tasa de recurrencia justifica el hecho de mantener la anticoagulación de forma indefinida en pacientes con SAF que han tenido un episodio de tromboembolismo.

Algunos autores han estudiado el concepto de triple positividad de los AAF (AL, aCL y anti- β 2-GPI) y han propuesto que pueden servir para identificar un subgrupo de pacientes con mayor riesgo de desarrollar episodios tromboembólicos a pesar del TAO ⁽⁷¹⁶⁾. Este perfil de Acs también confiere un mayor riesgo de retrombosis en portadores asintomáticos ⁽⁷¹⁷⁾. De forma parecida en el trabajo de De Groot, se demuestra que el riesgo de TVP es de 3,6, 2,4 y 1,4 para la presencia de AL, anti- β 2-GPI y anti-PT respectivamente y este riesgo aumenta a 10,1 si el AL coexiste con anti- β 2-GPI, en cambio el riesgo desaparece cuando los pacientes presentan AL en ausencia de positividad para anti- β 2-GPI ⁽⁷¹⁰⁾.

2. FACTORES CLÍNICOS COMO PREDICTORES DE RETROMBOSIS:

2.1 EDAD:

En nuestro trabajo solamente el 19,9% de los pacientes ≤ 55 años presentaron recurrencia trombótica tras un primer episodio de TEV frente al 45,8% de los mayores de 55 años. ($p = 0,001$).

El riesgo de TEV aumenta con la edad, las manifestaciones de TEV suceden de forma infrecuente antes de la pubertad. La incidencia anual de TEV es de 1 por 10000 en los jóvenes (<40) y 1 por 1000 en los mayores de 75 años. (718, 7.19, 720)

Algunas de las razones que pueden explicar el aumento del riesgo trombótico en la población anciana son la mayor incidencia de neoplasias, la cirugía protésica articular y el aumento de la fibrinogénesis. Las alteraciones trombofílicas pueden aumentar el riesgo protrombótico asociado a la edad, ya que se ha observado que los individuos varones con FVL tienen más riesgo de TEV a mayor edad (721).

La evidencia actual sugiere que el desarrollo de TEV en pacientes mayores puede asociarse con mayor riesgo de recidiva (722, 723, 562, 185, 724).

La edad es un factor de riesgo importante de TEV y de retrombosis. El riesgo de TVP y de TEP es 4-6 veces más alto en pacientes en torno a 70 años comparado con pacientes más jóvenes (720,725) y este riesgo se duplica con cada década de la vida (726). Los pacientes mayores tienen una mayor tasa de mortalidad debido un número más alto de TEP de extrema gravedad

(OR de 2,31 en pacientes >75 años) ⁽⁷²⁷⁾, a la coexistencia de comorbilidades y a los casos de TEV de presentación atípica, que pueden impedir un diagnóstico precoz ⁽⁷²⁸⁾.

El riesgo global de retrombosis aumenta un 17% por cada década de mayor edad ⁽⁷²⁶⁾.

2.2 SEXO:

El porcentaje de retrombosis en nuestra cohorte es muy similar en hombres y mujeres siendo de 29,2% en hombres y 22,1% en mujeres respectivamente ($p=0,325$).

En el año 2004 Kyrle publicó un estudio de cohortes prospectivo con 826 pacientes después de un primer episodio de TEV espontáneo que demostró que los hombres tenían 3,6 veces más riesgo de desarrollar retrombosis que las mujeres (20% frente a 6%; RR 3,6 (IC 95% 2,3-5,5) ⁽⁷²⁹⁾.

El metaanálisis de McRae con 15 estudios que incluyeron 5416 pacientes estimó un RR de recidiva en hombres de 1,6 (IC 95% 1,2-2) comparado con el de las mujeres ⁽⁷³⁰⁾. Resultados similares se encuentran en un metaanálisis algo más reciente con 2554 pacientes con un seguimiento de 27 meses. De los casos con TEV espontáneo, los hombres tuvieron dos veces más riesgo de sufrir una recidiva trombótica que las mujeres (HR 2,2; IC 95% 1,7-2,8). Por el contrario, no hubo diferencias entre hombres y mujeres después de un primer episodio de TEV secundario (HR 1,2; IC 95% 0,6-2,4) ⁽⁷³¹⁾.

Por último, un metaanálisis de 2014 observó que teniendo en cuenta los factores de riesgo hormonales y reproductivos de TEV, los hombres tienen 2,1 más riesgo de un primer TEV que las mujeres (IC 95%, 1,9-2,4). Por tanto, según este estudio, los hombres tienen dos veces más riesgo de TEV

tanto inicial como recurrente. Estos datos sugieren que el sexo es una variable muy importante a considerar cuando evaluamos el riesgo de recidiva de TEV ⁽⁷³²⁾.

2.3 LOCALIZACIÓN DEL PRIMER EPISODIO

TROMBÓTICO:

En nuestro estudio, los pacientes que tuvieron una TVP de extremidades inferiores como primer episodio trombótico presentaron un mayor riesgo de retrombosis que los pacientes con TEP u otros tipos de trombosis venosa (31,8% vs 8% vs 6,7%). A pesar de estas diferencias, no llega a alcanzarse significación estadística ($p=0,052$) por el pequeño tamaño muestral en el grupo de individuos con TEP y en el de otros tipos de trombosis.

El trabajo de Boutitie con 2925 hombres o mujeres que presentan un primer TEV tratados con TAO mostró que el riesgo de retrombosis durante los 24 meses de seguimiento fue más bajo en pacientes con TVP distal que aquellos con TVP proximal (RR 0,49, 0,34-0,71; $p<0,001$) o TEP (RR 0,41, 0,27-0,63; $p<0,001$). Al analizar en profundidad las causas de estas diferencias, parece ser que el mayor riesgo de recidiva en los individuos con TEP sucedía en el grupo que recibió TAO durante un período de tiempo corto (1 mes o mes y medio), con lo cual concluyen que no hay evidencia de que la localización del TEP altere el riesgo de retrombosis ⁽⁷³³⁾.

A diferencia del estudio de Boutitie, los pacientes incluidos en nuestro trabajo recibieron TAO al menos durante 3 meses consecutivos tras el primer TEV, además la importante diferencia numérica a favor de la TVP de extremidades inferiores frente al TEP y otros tipos de trombosis más

inusuales (trombosis venosa cerebral, mesentérica, etc) hace muy difícil extraer conclusiones en cuanto a la relevancia de la localización trombótica inicial como predictor de retrombosis.

2.4 TIPO INICIAL DE TEV (IDIOPÁTICO O SECUNDARIO):

Cuando nos detenemos a evaluar si el tipo inicial de TEV (primario o secundario a un factor de riesgo conocido y transitorio como puede ser cirugía previa, inmovilización prolongada, traumatismo o antecedentes de tratamiento hormonal) influye en el riesgo de recidiva, encontramos 34 retrombosis en 116 TEV espontáneos o primarios (29,3%) frente a 18 recidivas trombóticas de 83 TEV secundario (21,7%), observándose diferencias claramente significativas ($p=0,038$).

La trombosis venosa secundaria se asocia con bajo riesgo de recidiva (sobre todo, la asociada a tratamiento hormonal o cirugía). El bajo riesgo de retrombosis postquirúrgica fue objetivado por primera vez en un estudio multicéntrico llevado a cabo en 1992, en el cual los pacientes con TVP o TEP postoperatorio tuvieron una tasa de fallo de tratamiento y de recurrencia baja (2,6%), en cambio, esta misma tasa fue de 12,8% en los pacientes con ETEV no postquirúrgica. Finalmente, el estudio concluyó que los pacientes que desarrollaron TEV después de la cirugía podrían recibir tratamiento anticoagulante sólo durante 4 semanas y los casos con TEV, TEP o ambos sin factor de riesgo o causa subyacente deberían recibir 3 meses de tratamiento anticoagulante ⁽⁷³⁴⁾.

Estudios posteriores confirmaron que el riesgo de retrombosis venosa es mucho menor cuando la trombosis inicial es secundaria a un factor de riesgo reversible frente a los pacientes que presentan trombosis espontánea ^(726, 735, 363, 188, 209).

2.5 CIRUGÍA E INMOVILIZACIÓN:

Al evaluar en nuestro trabajo al grupo de pacientes que habían sido sometidos a cirugía en los 2 meses previos al primer episodio trombótico, observamos que la mitad de los pacientes intervenidos sufrían una recidiva trombótica frente al 24 % de retrombosis objetivadas en pacientes no operados, ($p=0,070$); no observándose diferencias estadísticamente significativas.

Prandoni en un estudio de cohortes prospectivo demostró que la cirugía y el traumatismo reciente o fractura se asocian con riesgo más bajo de retrombosis que los casos con TEV espontáneo (HR: 0,36; IC 95%, 0,21-0,62; y HR: 0,51%; IC 0,32-0,87, respectivamente). En 1626 pacientes con una primera TVP proximal o TEP en seguimiento durante más de 10 años se objetivó una tasa de incidencia acumulada de recurrencia del 15% (IC 95%, 12,6-17,4) en el primer año, 40,8% (36,5-45,1) después de 5 años y 52,6% (45,6-59,5) después de 10 años en pacientes con TEV espontáneo, comparado con 6,6% al año, 16,1% a los 5 años, y 22,5% a los 10 años en pacientes con TEV secundaria. La HR ajustada para retrombosis fue de 2,30 (IC 95%, 1,82-2,9) en pacientes con TEV espontáneo (209).

Por otra parte Baglin y su equipo de investigadores, siguieron a un grupo de 570 pacientes con un primer episodio de TEV durante dos años y encontraron que la incidencia de recidiva fue más baja en el caso de trombosis secundaria a cirugía (0%, que después de TEV espontáneo (19,4%) ($p<0,001$). Inicialmente reclutaron 781 pacientes, de los cuales 211 fueron excluidos (neoplasia activa, SAF, trombosis venosa cerebral, tratamiento anticoagulante indefinido, muerte o recidiva de TEV confirmado después de completar el tratamiento anticoagulante). La mediana de edad del grupo seleccionado fue de 67 años, siendo en general

una población de edad avanzada, es decir con un riesgo trombogénico mayor. En cambio en nuestra cohorte, la mediana de edad es de 42 años.

Baglin divide a los pacientes en cuatro grupos diferenciales: un primer grupo que ha sido intervenido quirúrgicamente en las 6 semanas previas, otro grupo que incluye mujeres con TEV asociado a la gestación, incluyendo episodios en los 2 meses siguientes al parto, pacientes con TEV espontáneo en los que no se han identificado factores de riesgo clínicos, y pacientes con factores de riesgo no quirúrgicos (como pueden ser: fracturas o inmovilización, tratamiento con AO, etc).

Como conclusiones encontraron que los pacientes con TEV postoperatorio tuvieron muy bajo riesgo de recurrencia y baja incidencia de alteraciones trombofílicas. Por otro lado, las personas con TEV espontáneo tenían una tasa acumulada de recidiva a los 2 años del 20%, además el 27 % presentaron defectos trombofílicos, sin ser predictivos de mayor riesgo de retrombosis. Y por último los pacientes con factores de riesgo no quirúrgicos en el primer TEV presentaron menor riesgo de retrombosis (8%) al compararlos con los que no tienen ningún factor de riesgo trombogénico conocido (20%) ⁽³⁶³⁾.

Los autores de la novena edición de las guías americanas de tratamiento antitrombótico ⁽⁴⁷⁶⁾, basándose en diferentes estudios observacionales ^(209,735) estimaron que el riesgo de retrombosis en el primer año tras suspender la anticoagulación después de TVP ó TEP espontánea es del 10%.

Las guías ⁽⁴⁷⁶⁾ sugieren que el riesgo de recidiva tras un TEV secundario a un factor de riesgo conocido es lo suficientemente bajo como para no justificar el TAO más allá de 6 meses. En cambio, en los pacientes de alto riesgo trombótico (como por ejemplo: pacientes con metástasis), se recomienda mantener la anticoagulación de forma indefinida. Continúa siendo controvertido prolongar el TAO por encima de 6 meses en pacientes

de riesgo intermedio, incluyendo aquí a individuos con TEV espontáneo o secundario que presentan más de un episodio trombótico.

2.6 CÁNCER:

Uno de los criterios de exclusión a la hora de seleccionar a los pacientes de nuestro trabajo es la presencia en el momento del estudio de neoplasia activa. Al revisar qué sucede con los individuos con antecedentes de neoplasia no activa (5 años o más en remisión completa), observamos que el 16,7% de los pacientes con antecedentes de cáncer experimentan una recidiva trombótica comparado con 26,4% de retrombosis en pacientes sin antecedentes de tumor maligno ($p=0,455$), no evidenciando diferencias estadísticamente significativas.

La existencia de un episodio de ETEV en un paciente con cáncer se asocia a mal pronóstico evolutivo (menor supervivencia global).

Heit demostró que los pacientes con cáncer tenían un riesgo de nuevo TEV 2,2 veces más alto que los pacientes sin cáncer y los que estaban recibiendo tratamiento quimioterápico presentaban un riesgo 4,2 veces mayor ⁽⁷²⁵⁾.

Dos años después Prandoni y su equipo objetivaron una tasa de retrombosis del 20,7% (IC 95% 15,6-25,8%) en pacientes con neoplasia frente a 6,8% (IC 95% 3,9-9,7%) para pacientes sin cáncer activo. La frecuencia de revidiva se ve influenciada por el estadiaje TNM, siendo de 54,1 por 100 pacientes-años, 44,1 y 14,5 para los estadiajes IV, III y I ó II respectivamente ⁽⁵⁷⁶⁾.

Louzada en 2012 desarrolló un modelo de riesgo de TEV en pacientes con cáncer y para ello realizó un estudio de cohortes retrospectivo en pacientes con TEV y cáncer tratados en la Unidad de trombosis del hospital de Ottawa que incluyó 543 pacientes, 36,8% tratados con warfarina y 63,2% con HBPM. 10% de los pacientes (55) desarrollaron un nuevo TEV durante

los primeros 6 meses de tratamiento anticoagulante. El análisis multivariante identificó 4 factores independientes de retrombosis: sexo, localización del tumor primario, estadiaje, e historia previa de trombosis y se asignó 1 punto positivo a las variables que predijeron mayor riesgo de recidiva: sexo femenino, cáncer de pulmón y antecedentes de TEV y 1 punto o 2 negativos para factores asociados con bajo riesgo de recaída (cáncer de mama y estadio I respectivamente). Los pacientes con score de 0 presentaron un 4,5% de riesgo de retrombosis, mientras que los que tenían score ≥ 1 , tuvieron un alto riesgo de recidiva trombótica (19%) ⁽⁷³⁶⁾.

Más recientemente Chee publicó un estudio retrospectivo sobre pacientes con cáncer que habían experimentado TEV entre 1996 y 2000. Durante el seguimiento de 1533 personas-años, 29% experimentaron un nuevo episodio de ETEV y 89,6% de los que no recidivaron murieron. Tras el análisis multivariante, los factores independientes de retrombosis fueron: cáncer de páncreas metastásico (HR 6,38), cáncer cerebral (HR 4,57), síndrome mieloproliferativo o síndrome mielodisplásico (HR 3,49), cáncer de ovario (HR 3,22), cáncer metastásico no pancreático (HR 2,85), cáncer de pulmón (HR 2,73) y neoplasia en progresión (HR 2,14). Los pacientes con uno o más de estos factores tenían un riesgo mucho más alto de recidiva trombótica (HR 3,02; IC 95% 2,43-3,76; $p < 0,001$), sin embargo los pacientes con tumor maligno sin ninguno de estos factores tenían un riesgo de retrombosis similar a la población sin cáncer ⁽⁷³⁷⁾.

Como se ha expuesto previamente, son numerosos los estudios que avalan que la existencia de cáncer activo aumenta de forma significativa el riesgo de retrombosis.

2.7 EMBARAZO/PUERPERIO:

El riesgo de TEV es más alto en el post-parto inmediato, pero permanece elevado durante 6-12 semanas postparto (587, 238).

En 2008 White demostró, que de forma similar a otras trombosis secundarias, el riesgo de recidiva trombótica fue más bajo si se asociaba al embarazo frente a las mujeres que presentaban TEV de forma espontánea (5,8% vs 10,4%, HR 0,6; (IC 95% 0,4-0,9); $p=0,02$) (738).

En nuestro estudio no objetivamos mayor riesgo de retrombosis en las pacientes con TEV asociado al embarazo/puerperio.

Sin embargo, cuando White estudió la incidencia global de retrombosis en los siguientes embarazos, observó que fue más alta para las mujeres con TEV asociado al embarazo frente a las pacientes con TEV espontánea (4,5% vs 2,7%, RR 1,7, IC 95% 1-2,8) (738). Estos datos indican que dado el alto riesgo del TEV asociado al embarazo, es fundamental una adecuada tromboprofilaxis para las próximas gestaciones en las pacientes afectas. La dosis apropiada de anticoagulación con HBPM continúa siendo objeto de debate (profiláctica, intermedia o terapéutica), ya que se han descrito episodios de TEV en mujeres que han recibido dosis profilácticas de HBPM (739).

2.8 OBESIDAD:

La obesidad se ha asociado con un aumento del riesgo de TEV tanto inicial como recurrente (740-742).

En nuestro trabajo el 41,7% de los pacientes obesos presentaron una recidiva trombótica frente al 25,1% de los pacientes con normopeso ($p=0,245$), hay notables diferencias que no alcanzan significación y este hecho está relacionado con el pequeño número de pacientes obesos existentes en nuestra muestra (12 de 199).

En el estudio austriaco de Eichinger, 1107 pacientes fueron evaluados prospectivamente durante 46 meses después de completar TAO tras un primer episodio de TEV espontáneo. La probabilidad de recidiva 4 años después de suspender el TAO fue 9,3% (IC 95% 6-12,7%) para pacientes con IMC menos de 25 kg/m², 16,7% (IC 95% 11-22,3%) para pacientes con IMC de 25-30 kg/m², y 17,5% (IC 95% 13-22%) para pacientes con IMC>30 kg/m². La tasa ajustada de retrombosis fue de 1,3 (IC 95% 0,9-1.9) (p=0,20) para los individuos con sobrepeso frente a los que tenían normopeso y de 1,6 (IC 95% 1,1-2,4) (p= 0,02) para los obesos ⁽⁷⁴²⁾.

Olie en un pequeño estudio prospectivo encontró que la obesidad en mujeres aumenta el riesgo de retrombosis 2,8 veces (IC 95% 1,3-6) comparado con mujeres con peso normal ⁽⁷⁴³⁾.

2.9 TRATAMIENTO CON AO:

En las mujeres que sufren un episodio de TEV asociado a tratamiento hormonal, la tasa de recurrencia depende del momento en el que se suspende dicho tratamiento. Christiansen en el estudio MEGA, observa que la exposición al tratamiento con AO después de un evento trombótico aumenta el riesgo de retrombosis (9,7 por 1000 pacientes-años (IC 95% 4,3-21,5) frente a 27,3 por 1000 pacientes-años (IC 95% 14,7-50,7) ⁽¹⁸⁸⁾

Al igual que el trabajo de Christiansen, nuestro estudio no ha encontrado diferencias en la tasa de retrombosis en las pacientes que habían recibido AO de forma previa al TEV inicial.

Un metaanálisis más reciente encontró que las mujeres con TEV asociado a tratamiento hormonal tuvieron un riesgo de recidiva un 50% más bajo que

las mujeres sin TEV asociado a hormonoterapia (HR 0,5; IC 95% 0,3-0,8) (744).

Pueden existir circunstancias que hagan imprescindible continuar el tratamiento hormonal, en esos casos, se recomienda mantener la anticoagulación ya que ha demostrado ser efectiva a la hora de prevenir la retrombosis en pacientes que precisan hormonoterapia (745).

2.10 HISTORIA FAMILIAR DE TROMBOSIS:

Al estudiar la historia familiar de trombosis en nuestro grupo de pacientes, 24% de los que tienen antecedentes familiares trombóticos recidivan frente a 26,8% de los que no tienen historia familiar de trombosis, ($p=0,838$) no observándose al igual que en otros trabajos diferencias significativas entre los dos grupos.

Los investigadores del grupo REVERSE incluyeron 649 pacientes con antecedentes de TEV desde octubre de 2001 a marzo 2006, con una mediana de edad de 53 años y observaron que 112 (17,3%) tenían historia familiar de TEV en algún pariente de primer grado afecto y 147 (22,7%) historia familiar con al menos un pariente de primer o segundo grado afecto. De los 649 casos, objetivaron 142 retrombosis. La tasa de retrombosis para pacientes con historia de al menos 1 familiar de primer grado con trombosis fue de 4,82 (IC 95%, 3,02-7,3) por 100 pacientes-años y la incidencia de retrombosis para individuos sin historia familiar trombótica fue de 5,95 (IC 95%, 4,93-7,11) por 100 pacientes-años. Como conclusiones de este estudio, no se observaron diferencias en la tasa de recidiva para pacientes con o sin historia familiar de trombosis y por tanto la historia trombogénica familiar no es predictor de recurrencia de TEV en pacientes con TEV espontánea (746).

Los resultados de Gauthier confirman los hallazgos previamente publicados en un gran estudio de cohortes prospectivo publicado en 2006 por Hron, que analizó la tasa de retrombosis en 826 pacientes con un primer episodio de TEV espontáneo. A los 5 años, la incidencia de recidiva trombótica fue de 20% para pacientes con historia familiar de TEV y del 18% para pacientes sin historia familiar trombótica ($p=0,9$) ⁽⁷⁴⁷⁾.

VII. CONCLUSIONES

-En nuestro estudio, hemos demostrado que la presencia de un factor trombofílico genético como es el déficit de PS libre aumenta el riesgo de retrombosis.

-Se ha observado asociación entre los niveles elevados de FVIII:C y el riesgo de recidiva trombótica. Este hallazgo podría hacernos plantear el desarrollo de un nuevo estudio prospectivo a largo plazo que valorase el posible beneficio de mantener la anticoagulación a pacientes con elevación del FVIII:C y ETEV.

-Al igual que en la mayor parte de la literatura, en nuestro trabajo no se observa asociación entre el FVL y la MGP en heterocigosis y el riesgo de recidiva trombótica.

-Al contrario que en otros estudios, no hemos confirmado que los valores elevados de DD o la hiperhomocisteinemia se asocien a mayor riesgo de retrombosis.

-La presencia de AL positivo se relaciona con un riesgo de retrombosis 3,229 veces mayor con respecto a la ausencia de AL.

-Hemos objetivado que la edad mayor de 55 años es un factor predictivo de retrombosis.

-Acorde con otros estudios, hemos confirmado que presentar un TEV espontáneo como primer episodio aumenta el riesgo de recidiva trombótica, en cambio el TEV secundario a un factor de riesgo conocido no se asocia a mayor riesgo de retrombosis.

VIII. BIBLIOGRAFIA

1. Hoffman M, Monroe D.M: A cell-based model of hemostasis. *Thromb Haemost.* Jun;85(6):958-65. 2001).
2. Giesen PL, Rauch U, Bohrmann B, et al. Blood-borne tissue factor: another view of thrombosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96:2311-5.
3. Morel O, Toti F, Hugel B, et al. Procoagulant microparticles: disrupting the vascular homeostasis equation? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006;26:2594-604.
4. Furie B, M.D; Furie BC, Ph.D. Mechanisms of thrombus formation. *N Engl J Med.* 2008 ;359(9):938-49
5. Hoffman M. Remodeling the blood coagulation cascade. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis* 16 (1/2), 17-20, 2003
6. Monroe D.M, Hoffman M. What does it take to make the perfect clot? *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006 Jan;26(1):41-8
7. Paramo J.A, Panizo E, Pegenaute C, Lecumberri R. Coagulación 2009: una visión moderna de la hemostasia. *Rev Med Univ Navarra/Vol 53, nº 1, 2009, 19-23*
8. Vu TK, Hung DT, Wheaton VI, Coughlin SR. Molecular cloning of a functional thrombin receptor reveals as a novel proteolytic mechanism of receptor activation. *Cell* 1991; 64: 1057-68
9. Hung DT, Vu TK, Wheaton VI, Ishii K, Coughlin SR. Cloned platelet thrombin receptor is necessary for thrombin-induced platelet activation. *J Clin Invest* 1992; 89: 1350-3.
10. Monkovic DD, Tracy PB. Functional characterization of human platelet released factor V and its activation by factor Xa and thrombin. *J Biol Chem* 1990; 265: 17132-40.
11. Baglia FA, Walsh PN. Prothrombin is a cofactor for the binding of factor XI to the platelet surface and for platelet-mediated factor XI activation for thrombin. *Biochemistry.* 1998 Feb 24;37(8):2271-81
12. López JA, Kearon C, Lee AY. Deep venous Thrombosis. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2004:439-56.
13. Aird WC. Vascular bed-specific thrombosis. *J Thromb Haemost* 2007; 5 Suppl 1:283–291
14. Friedman, SA. Peripheral Venous Disease. In: Beers, MH.; Berkow, R., editors. *The Merck Manual of Geriatrics.* Vol. 3rd. Whitehouse Station, NJ: Merck Research Laboratories; 2000. p. 923-932
15. Sevitt S. The structure and growth of valve-pocket thrombi in femoral veins. *J Clin Pathol* 1974; 27: 517–528.
16. Gottlob, M.; May, R. Part III. Pathologic Venous Valves. In: Gottlob, R.; May, R., editors. *Venous Valves: Morphology, Function, Radiology, Surgery.* New York, NY: Springer-Verlag; 1986. p. 82-9)
17. Hamer JD, Malone PC, Silver IA. The PO₂ in venous valve pockets: its possible bearing on thrombogenesis. *Br J Surg* 1981;68:166–170
18. Brooks EG, Trotman W, Wadsworth MP, Taatjes DJ, Evans MF, Ittleman FP, et al. Valves of the deep venous system: the overlooked risk factor . *Blood.* 2009 Aug 6; 114(6): 1276–1279
19. Esmon CT. Inflammation and the activated protein C anticoagulant pathway. *Sem Thromb Hemost* 2006;32(Suppl 1):49–60.
20. Dufourcq P, Seigneur M, Pruvost A, et al. Membrane thrombomodulin levels are decreased during hypoxia and restored by cAMP and IBMX. *Thromb Res* 1994;77:305–310.

21. Ogawa S, Gerlach H, Esposito C, Pasagian-Macaulay A, Brett J, Stern D. Hypoxia modulates the barrier and coagulant function of cultured bovine endothelium: increased monolayer permeability and induction of procoagulant properties. *J Clin Invest* 1990;85:1090–1098
22. Shreeniwas R, Ogawa S, Cozzolino F, et al. Macrovascular and microvascular endothelium during long-term hypoxia: Alterations in cell growth, monolayer permeability, and cell surface coagulant properties. *Journal of Cellular Physiology* 1991;146:8–17
23. Yan SF, Mackman N, Kisiel W, Stern DM, Pinsky DJ. Hypoxia/hypoxemia-induced activation of the procoagulant pathways and the pathogenesis of ischemia-associated thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:2029–2035
24. Myers DD, Hawley AE, Farris DM, et al. P-selectin and leukocyte microparticles are associated with venous thrombogenesis. *J Vasc Surg* 2003;38:1075–1089
25. Lowe GD. Virchow's triad revisited: abnormal flow. *Pathophysiol Haemost Thromb*. 2003 Sep-2004 Dec;33(5-6):455-7.
26. Albrecht S, Kotzsch M, Siegert G, Luther T, Grossmann H, Grosser M, Müller M. Detection of circulating tissue factor and factor VII in a normal population. *Thromb Haemost*. 1996 May;75(5):772-7.
27. Bogdanov VY, Balasubramanian V, Hathcock J, Vele O, Lieb M, Nemerson Y. Alternatively spliced human tissue factor: a circulating , soluble, thrombogenic protein. *Nat Med*. 2003 Apr;9(4):458-62.
28. Falati S, Liu Q, Gross P, Merrill-Skoloff G, Chou J, Vandendries E, Celi A, Croce K, Furie BC, Furie B. Accumulation of tissue factor into developing thrombi in vivo is dependent upon microparticle P-selectin glycoprotein ligand and platelet P-selectin. *J Exp Med*. 2003 Jun 2;197(11):1585-98.
29. Rao LV. Tissue factor as a tumor procoagulant. *Cancer Metastasis Rev* 1992; 11: 249–66
30. Endenburg SC, Hantgan RR, Lindeboom-Blokzijl L, et al. On the role of von Willebrand factor in promoting platelet adhesion to fibrin in flowing blood. *Blood*. 1995 Dec 1;86(11):4158-65
31. Gibbs NM. Venous thrombosis of the lower limbs with particular reference to bed rest. *Br J Surg*. 1957;45:209
32. Warlow C, Ogston D, Douglas AS. Deep venous thrombosis of the legs after strokes. Part I—incidence and predisposing factors. *Br Med J*. 1976;1:1178-1181
33. Morris RJ, Woodcock JP. Evidence-based compression: prevention of stasis and deep vein thrombosis. *Ann Surg*. 2004;239:162-171.
34. Hamer JD, Malone PC, Silver IA. The PO₂ in venous valve pockets: its possible bearing on thrombogenesis. *Br J Surg*. 1981;68:166-170.
35. Closse C, Seigneur M, Renard M et al. Influence of hypoxia and hypoxia-reoxygenation on endothelial P-selectin expression. *Thromb Res*. 1997;85:159-164.
36. McEver RP. Adhesive interactions of leukocytes, platelets, and the vessel wall during hemostasis and inflammation. *Thromb Haemost*. 2001;86:746-756.
37. Myers DD, Hawley AE, Farris DM, et al. P-selectin and leukocyte microparticles are associated with venous thrombogenesis. *J Vasc Surg* 2003;38:1075–1089
38. Esmon CT, Owen WG. Identification of an endothelial cell cofactor for thrombin-catalyzed activation of protein C. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 1981;78:2249–2252.

39. Esmon CT. The roles of protein C and thrombomodulin in the regulation of blood coagulation. *J Biol Chem* 1989;264:4743–4746.
40. Lane DA, Mannucci PM, Bauer KA, et al. Inherited thrombophilia: Part 1. *Thromb Haemost* 1996;76:651–662.
41. Lane DA, Mannucci PM, Bauer KA, et al. Inherited thrombophilia: Part 2. *Thromb Haemost* 1996;76:824–834.
42. Bertina RM. Elevated clotting factor levels and venous thrombosis. *Pathophysiol Haemost Thromb* 2004; 33:399–400.
43. Lane DA, Grant PJ. Role of hemostatic gene polymorphisms in venous and arterial thrombotic disease. *Blood* 2000; 95:1517–1532.
44. Smirnov MD, Safa O, Esmon NL, Esmon CT. Inhibition of activated protein C anticoagulant activity by prothrombin. *Blood* 1999; 94:3839–3846.
45. Peterson CW. Venous thrombosis: an overview. *Pharmacotherapy* 1986; 6 :12–17S
46. Anning ST. The historical aspects of venous thrombosis. *Med Hist* 1957; 1 28–37.
47. Brinkhous KM. The problem in perspective. In: Sherry S, ed. *Thrombosis* Washington, National Academy of Sciences, 1969:37–48.
48. Owen CA. *An History of Blood Coagulation* Rochester, Mayo Foundation for Medical Education and Research, 2001.
49. Brotman DJ, Deitcher SR, Lip GY, Matzdorff AC. Virchow's triad revisited. *South Med J* 2004; 97 :213–14.
50. Dickson BC. Venous thrombosis: on the history of Virchow's triad. *Univ Toronto Med J* 2004; 81 :166–71
51. Burton W. *An Account of the Life and Writings of Herman Boerhaave* 2nd edn. London, Henry Linton, 1746.
52. Hunter J. Observations on the inflammation of the internal coats of veins. *Trans Soc Improv Med Chir Knowledge* 1793; 1 18–41.
53. Cruveilhier J. Inflammation of the pulmonary artery and lobular pneumonia followed by phlebitis. In: Long ER, ed. *Selected Readings in Pathology* London, Bailliere Tindal and Cox, translated 1929
54. Virchow RLK. Thrombosis and Embolie 1846–1856. In: Barth JA, ed. *Klassiker der Medizin* herausgegeben von Karl Sudhoff, Leipzig, 1910; translated by Matzdorff AC, Bell WR. Canton, Science History Publications, 1998.
55. Virchow RKL. *Gesammelte Abhandlungen zur wissenschaftlichen Medizin* von Rudolf Virchow Frankfurt am Main, Meidinger, 1856:514–15
56. Browse NL, Burnand KG, Lea Thomas M. Aetiology of DVT. In: Browse NL, ed. *Diseases of the Veins* London, Edward Arnold, 1988:447–60
57. Harvey W. *Exercitatio anatomica de motu cordis et sanguinis in animalibus* Frankfort, 1628. Translated by Willis W. *On the Motion of the Heart and Blood in Animals* Harvard Classics, vol. 38. New York, Collier and Son, 1910
58. Lister JL. On the coagulation of the blood. Croonian Lecture. *Proc Roy Soc* 1863; 12 :580–611.
59. Baumgarten P. U ber die sog. Organisation des thrombus. *Zentralbl Wissensch* 1876; 14 :593–7.
60. Malpother ED. Phlebitis of the lower extremities: a secondary complication of injuries to the head. *Br Med J* 1880; 483.
61. McCartney JS. Pulmonary embolism: a report of seventy-three cases. *Arch Path* 1927; 3:921–37.

62. Owre A. Studies of the clinic and etiology of post-operative thrombosis. *Acta Chir Scand* 1929; 65 :1–111.
63. Wright HP, Osborn SB. Venous velocity in bedridden medical patients. *Lancet* 1952; 2:699–700.
64. Zweifach BW. Peripheral vascular factors in the genesis of stasis and thrombosis. *Fed Proc* 1963; 22 :1351–5
65. Schina MJ Jr, Neumyer MM, Healy DA, Atnip RG, Thiele BL. Influence of age on venous physiologic parameters. *J Vasc Surg* 1993;18 :749–52.
66. Hearse DJ. Reperfusion of the ischemic myocardium. *J Mol Cell Cardiol* 1977; 9:605–16.
67. Pinsky DJ, Yan SF, Lawson C, Naka Y, Chen JX, Connolly ES Jr, Stern DM. Hypoxia and modification of the endothelium: implications for regulation of vascular homeostatic properties. *Semin Cell Biol* 1995; 6:283–94.
68. Dormandy JA. Influence of blood cells and blood flow on venous endothelium. *Int Angiol* 1996; 15:119–23.
69. Faller DV. Endothelial cell responses to hypoxic stress. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1999; 26:74–84.
70. Michiels C, Arnould T, Remacle J. Endothelial cell responses to hypoxia: initiation of a cascade of cellular interactions. *Biochim Biophys Acta* 2000; 497:1–10.
71. Karimova A, Pinsky DJ. The endothelial response to oxygen deprivation: biology and clinical implications. *Intensive Care Med* 2001; 27:19–31.
72. Gonzalez NC, Wood JG. Leukocyte-endothelial interactions in environmental hypoxia. *Adv Exp Med Biol* 2001; 502:39–60.
73. Ten VS, Pinsky DJ. Endothelial response to hypoxia: physiologic adaptation and pathologic dysfunction. *Curr Opin Crit Care* 2002; 8:242–50.
74. Homans J. Thrombosis of the leg veins due to prolonged sitting. *N Engl Med.* 1954; 250: 148–149.
75. Sevitt S, Gallacher NG. Prevention of venous thrombosis and pulmonary embolism. A clinicopathological study in injured and burned patients. *Br J Surg* 1961; 48:475–89
76. McLachlin J, Paterson JC. Some basic observations on venous thrombosis and pulmonary embolism. *Surg Gynae Obstet* 1951; 93:1–8.
77. Paterson JC, McLachlin J. Precipitating factors in venous thrombosis. *Surg Gynae Obstet* 1954; 98:96–102.
78. Sevitt S. Pathology and pathogenesis of deep vein thrombosis. In: Poller L, ed. *Recent Advances in Thrombosis*. Edinburgh, Churchill Livingstone, 1973:17–38.
79. Sevitt S. Organization of valve pocket thrombi and the anomalies of double thrombi and valve cusp involvement. *Br J Surg* 1974; 61:641–9.
80. Saphir O, Lev M. The venous valve in the aged. *Am Heart J* 1952; 32:843–50.
81. Lurie F, Kistner RL, Eklof B. The mechanism of venous valve closure in normal physiologic conditions. *J Vasc Surg* 2002; 35:713–17.
82. Lurie F, Kistner RL, Eklof B, Kessler D. Mechanism of venous valve closure and the role of the valve in circulation: a new concept. *J Vasc Surg* 2003; 38:955–61.
83. Karino T, Goldsmith HL. Rheological factors in thrombosis and haemostasis. In: Bloom AL, Thomas DP, eds. *Haemostasis and Thrombosis*. Edinburgh, Churchill Livingstone, 1987: Chapter 42.

84. Silverstein MD, Heit JA, Mohr DN, Petterson TM, O'Fallon WM, Melton LJ III. Trends in the incidence of deep vein thrombosis and pulmonary embolism: a 25-year population-based study. *Arch Intern Med* 1998; 158: 585–93.
85. White RH, Zhou H, Romano PS. Incidence of idiopathic deep venous thrombosis and secondary thromboembolism among ethnic groups in California. *Ann Intern Med* 1998; 128: 737–40.
86. Klatsky AL, Armstrong MA, Poggi J. Risk of pulmonary embolism and/or deep venous thrombosis in Asian-Americans. *Am J Cardiol* 2000; 85: 1334–7.
87. Stein PD, Kayali F, Olson RE, Milford CE. Pulmonary thromboembolism in Asians/Pacific Islanders in the United States. *Am J Med* 2004; 116: 435–42.
88. Hooper WC, Holman RC, Heit JA, Cobb N. Venous thromboembolism hospitalizations among American Indians and Alaska Natives. *Thromb Res* 2002; 108: 273–8.
89. Stein PD, Kayali F, Olson RE, Milford CE. Pulmonary thromboembolism in American Indians and Alaskan Natives. *Arch Intern Med* 2004; 164: 1804–6.
90. Cushman M, Tsai AW, White RH, Heckbert SR, Rosamond WD, Enright P, Folsom AR. Deep vein thrombosis and pulmonary embolism in two cohorts: the Longitudinal Investigation of Thromboembolism Etiology. *Am J Med* 2004; 117: 19–25.
91. Dahlbäck B, Carlsson M, Svensson PJ. 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 USA* 1993; 90: 1004–8.
92. Bertina RM, Koeleman BP, Koster T, et al. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. *Nature* 1994; 369: 64–7.
93. Kalafatis M, Bertina RM, Rand MD, Mann KG. Characterization of the molecular defect in factor V R506Q. *J Biol Chem* 1995; 270: 4053–7.
94. Castoldi E, Rosing J. APC resistance: biological basis and acquired influences. *J Thromb Haemost.* 2010 Mar;8(3):445–53.
95. Rees DC, Cox M, Clegg JB. World distribution of factor V Leiden. *Lancet.* 1995 Oct 28;346(8983):1133–4.
96. Lee DH, Henderson PA, Blajchman MA. CMAJ. Prevalence of factor V Leiden in a Canadian blood donor population. 1996 Aug 1;155(3):285–9.
97. Awidi A, Shannak M, Bseiso A, et al. High prevalence of factor V Leiden in healthy Jordanian Arabs. *Thromb Haemost.* 1999 Apr;81(4):582–4.
98. Taher A, Khalil I, Shamseddine A, et al. High prevalence of factor V Leiden mutation among healthy individuals and patients with deep venous thrombosis in Lebanon: is the Eastern Mediterranean region the area of origin of this mutation? *Thromb Haemost.* 2001 Aug;86(2):723–4.
99. Ridker PM, Miletich JP, Hennekens CH, Buring JE. Ethnic distribution of factor V Leiden in 4047 men and women. Implications for venous thromboembolism screening. *JAMA.* 1997 Apr 23–30;277(16):1305–7.
100. Zivelin A, Griffin JH, Xu X, Pabinger I, et al. A single genetic origin for a common Caucasian risk factor for venous thrombosis. *Blood.* 1997 Jan 15;89(2):397–402.
101. Dahlbäck B. Advances in understanding pathogenic mechanisms of thrombophilic disorders. *Blood.* 2008 Jul 1;112(1):19–27.
102. Svensson PJ, Dahlbäck B. Resistance to activated protein C as a basis for venous thrombosis. *N Engl J Med* 1994; 330:517–522.

- 103.Griffin JH, Evatt B, Wideman C, Fernández JA. Anticoagulant protein C pathway defective in majority of thrombophilic patients. *Blood* 1993; 82: 1989-1993
- 104.de Visser MC, Rosendaal FR, Bertina RM. A reduced sensitivity for activated protein C in the absence of factor V Leiden increases the risk of venous thrombosis. *Blood*. 1999 Feb 15;93(4):1271-6.
- 105.Tosetto A, Simioni M, Madeo D, Rodeghiero F. Intraindividual consistency of the activated protein C resistance phenotype. *Br J Haematol*. 2004 Aug;126(3):405-9.
- 106.van der Bom JG, Bots ML, Haverkate F, et al. Reduced response to activated protein C is associated with increased risk for cerebrovascular disease.*Ann Intern Med*. 1996 Aug 15;125(4):265-9.
- 107.Rodeghiero F, Tosetto A. Activated protein C resistance and factor V Leiden mutation are independent risk factors for venous thromboembolism. *Ann Intern Med*. 1999 Apr 20;130(8):643-50.
108. Nijziel MR, van Oerle R, Christella M, et al. Acquired resistance to activated protein C in breast cancer patients. *Br J Haematol*. 2003 Jan;120(1):117-22.
109. Elice F, Fink L, Tricot G, et al. Acquired resistance to activated protein C (aAPCR) in multiple myeloma is a transitory abnormality associated with an increased risk of venous thromboembolism. *Br J Haematol*. 2006 Aug;134(4):399-405.
- 110.Post MS, Rosing J, Van Der Mooren MJ, et al. Increased resistance to activated protein C after short-term oral hormone replacement therapy in healthy post-menopausal women. *Br J Haematol*. 2002 Dec;119(4):1017-23.
- 111.Legnani C, Cini M, Cosmi B, et al. Oral contraceptive use in women with poor anticoagulant response to activated protein C but not carrying the factor V Leiden mutation increases the risk of venous thrombosis. *Thromb Haemost*. 2004 Apr;91(4):712-8.
- 112.Nicolaes GA, Dahlbäck B. Factor V and thrombotic disease: description of a janus-faced protein. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002 Apr 1;22(4):530-8.
- 113.Thorelli E, Kaufman RJ, Dahlbäck B. Cleavage of factor V at Arg 506 by activated protein C and the expression of anticoagulant activity of factor V. *Blood*. 1999 Apr 15;93(8):2552-8.
- 114.Castoldi E, Brugge JM, Nicolaes GA, et al. Impaired APC cofactor activity of factor V plays a major role in the APC resistance associated with the factor V Leiden (R506Q) and R2 (H1299R) mutations. *Blood*. 2004 Jun 1;103(11):4173-9.
- 115.Williamson D, Brown K, Luddington R, Baglin C, Baglin T. Factor V Cambridge: a new mutation (Arg306-->Thr) associated with resistance to activated protein C. *Blood*. 1998;91:1140-4.
116. Djordjevic V, Rakicevic LJ, Mikovic D, et al. Prevalence of factor V leiden, factor V cambridge, factor II G20210A and methylenetetrahydrofolate reductase C677T mutations in healthy and thrombophilic Serbian populations. *Acta Haematol*. 2004;112:227-9.
117. Zammiti W, Mtiraoui N, Mercier E, et al. Association of factor V gene polymorphisms (Leiden; Cambridge; Hong Kong and HR2 haplotype) with recurrent idiopathic pregnancy loss in Tunisia. A case-control study. *Thromb Haemost*. 2006;95:612-7.
118. Chan WP, Lee CK, Kwong YL, Lam CK, Liang R. A novel mutation of Arg306 of factor V gene in Hong Kong Chinese. *Blood*. 1998;91:1135-9.

119. Steen M, Norström EA, Tholander AL, et al. Functional characterization of factor V-Ile359Thr: a novel mutation associated with thrombosis. *Blood* 2004; 103:3381
120. Greengard JS, Alhenc-Gelas M, Gandrille S, et al. Pseudo-homozygous activated protein C resistance due to coinheritance of heterozygous factor V-R506Q and type I factor V deficiency associated with thrombosis. *Thromb Haemost.* 1995; 73:1361,
121. Simioni P, Scudeller A, Radossi P et al. Pseudohomozygous activated protein C resistance due to double heterozygous factor V defects (factor V Leiden mutation and type I quantitative factor V defect) associated with thrombosis: report of two cases belonging to two unrelated kindreds. *Thromb Haemost.* 1996; 75: 422-426
122. Brugge JM, Simioni P, Bernardi F, et al. Expression of the normal factor V allele modulates the APC resistance phenotype in heterozygous carriers of the factor V Leiden mutation. *J Thromb Haemost.* 2005;3:2695–702
123. Duckers C, Simioni P, Tormene D, et al. Factor V Leiden pseudo-homozygotes have a more pronounced hypercoagulable state than factor V Leiden homozygotes. *J Thromb Haemost* 2011; 9:864
124. Simioni P, Castoldi E, Lunghi B, Tormene D, Rosing J, Bernardi F. An underestimated combination of opposites resulting in enhanced thrombotic tendency. *Blood.* 2005;106:2363–5
125. Castoldi E, Kalafatis M, Lunghi B, et al. Molecular bases of pseudohomozygous APC resistance: the compound heterozygosity for FV R506Q and a FV null mutation results in the exclusive presence of FV Leiden molecules in plasma. *Thromb Haemost.* 1998; 80: 403-406
126. Santamaria A, Soria JM, Tirado I, et al. Double heterozygosity for Factor V Leiden and Factor V Cambridge mutations associated with low levels of activated protein C resistance in a Spanish thrombophilic family. *Thromb Haemost.* 2005;93:1193–5.
127. Dargaud Y, Trzeciak MC, Meunier S, et al. Two novel factor V null mutations associated with activated protein C resistance phenotype/genotype discrepancy. *Br J Haematol.* 2003;123:342–5
128. de Visser MC, Guasch JF, Kamphuisen PW, et al. The HR2 haplotype of factor V: effects on factor V levels, normalized activated protein C sensitivity ratios and the risk of venous thrombosis. *Thromb Haemost.* 2000;83:577–82.
129. Faioni EM, Franchi F, Bucciarelli P, et al. Coinheritance of the HR2 haplotype in the factor V gene confers an increased risk of venous thromboembolism to carriers of factor V R506Q (factor V Leiden). *Blood.* 1999;94:3062–6.
130. Gohil R, Peck G, Sharma P. The genetics of venous thromboembolism. A meta-analysis involving approximately 120,000 cases and 180,000 controls. *Thromb Haemost.* 2009;102:360.
131. Dindagur N, Kruthika-Vinod TP, Christopher R. Factor V gene A4070G mutation and the risk of cerebral veno-sinus thrombosis occurring during puerperium. *Thromb Res.* 2007;119:497–500.
132. Luddington R, Jackson A, Pannerselvam S, Brown K, Baglin T. The factor V R2 allele: risk of venous thromboembolism, factor V levels and resistance to activated protein C. *Thromb Haemost.* 2000;83:204–8.
133. Segers O, Simioni P, Tormene D, et al. Genetic modulation of the FV(Leiden)/normal FV ratio and risk of venous thrombosis in factor V Leiden heterozygotes. *J Thromb Haemost.* 2012;10(1):73

134. Robert A, Aillaud MF, Eschwège V, et al. ABO blood group and risk of venous thrombosis in heterozygous carriers of factor V Leiden. *Thromb Haemost.* 2000;83(4):630
135. Morelli VM, De Visser MC, Vos HL, Bertina RM, Rosendaal FR. ABO blood group genotypes and the risk of venous thrombosis: effect of factor V Leiden. *J Thromb Haemost.* 2005;3(1):183
136. Procare-GEHT Group. ABO blood group but not haemostasis genetic polymorphisms significantly influence thrombotic risk: a study of 180 homozygotes for the Factor V Leiden mutation. *Br J Haematol.* 2006;135(5):697
137. Stolz E, Kemkes-Matthes B, Pötzsch B, et al. Screening for thrombophilic risk factors among 25 German patients with cerebral venous thrombosis. *Acta Neurol Scand.* 2000;102(1):31-6
138. Ağaoğlu N, Mustafa NA, Türkyilmaz S. Prothrombotic disorders in patients with mesenteric vein thrombosis. *J Invest Surg.* 2003;16(5):299-304
139. El-Karakasy H, El-Koofy N, El-Hawary M, et al. Prevalence of factor V Leiden mutation and other hereditary thrombophilic factors in Egyptian children with portal vein thrombosis: results of a single-center case-control study. *Ann Hematol.* 2004;83(11):712-5
140. Dentali F, Crowther M, Ageno W, et al. Thrombophilic abnormalities, oral contraceptives, and risk of cerebral vein thrombosis: a meta-analysis. *Blood.* 2006 Apr 1;107(7):2766-73.
141. Heller C, Heinecke A, Junker R, et al. Cerebral venous thrombosis in children: a multifactorial origin. *Circulation.* 2003;108:1362–7.
142. Kuhle S, Massicotte P, Chan A, Mitchell L. A case series of 72 neonates with renal vein thrombosis. Data from the 1-800-NO-CLOTS Registry. *Thromb Haemost.* 2004;92:729–33.
143. Martinelli I, Cattaneo M, Taioli E, et al. Genetic risk factors for superficial vein thrombosis. *Thromb Haemost.* 1999;82:1215–7.
144. Ehrenforth S, Nemes L, Mannhalter C, et al. Impact of environmental and hereditary risk factors on the clinical manifestation of thrombophilia in homozygous carriers of factor V:G1691A. *J Thromb Haemost.* 2004; 2:430–6.
145. Koster T, Rosendaal FR, de Ronde H, et al. Venous thrombosis due to poor anticoagulant response to activated protein C: Leiden Thrombophilia Study. *Lancet.* 1993;342(8886-8887):1503-6
146. Rosendaal FR, Koster T, Vandenbroucke JP, Reitsma PH. High risk of thrombosis in patients homozygous for factor V Leiden (activated protein C resistance). *Blood.* 1995;85(6):1504-8
147. Rosendaal FR, Reitsma PH. Genetics of venous thrombosis. *J Thromb Haemost.* 2009;7 Suppl 1:301–4
148. Zöller B, Svensson PJ, He X, Dahlbäck B. Identification of the same factor V gene mutation in 47 out of 50 thrombosis-prone families with inherited resistance to activated protein C. *J Clin Invest.* 1994;94(6):2521-4
149. Svensson PJ, Dahlbäck B. Resistance to activated protein C as a basis for venous thrombosis. *N Engl J Med* 1994; 330:517-22
150. Martinelli I, Battaglioli T, Razzari C, et al. Type and location of venous thromboembolism in patients with factor V Leiden or prothrombin G20210A and in those with no thrombophilia. *J Thromb Haemost.* 2007;5:98–101
151. Vandenbroucke JP, Bertina RM, Holmes ZR. Factor V Leiden and fatal pulmonary embolism. *Thromb Haemost.* 1998;79:511–6

152. Girard P, Musset D, Parent F, et al. High prevalence of detectable deep venous thrombosis in patients with acute pulmonary embolism. *Chest*. 1999;116:903–908.
153. Seinturier C, Bosson JL, Colonna M, et al. Site and clinical outcome of deep vein thrombosis of the lower limbs: an epidemiological study. *J Thromb Haemost*. 2005;3:1362–1367.
154. van Stralen KJ, Doggen CJ, Bezemer ID, et al. Mechanisms of the factor V Leiden paradox. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2008a;28:1872
155. Björgell O, Nilsson PE, Nilsson JA, Svensson PJ. Location and extent of deep vein thrombosis in patients with and without FV:R 506Q mutation. *Thromb Haemost*. 2000;83:648–51
156. Bounameaux H. Factor V Leiden paradox: risk of deep-vein thrombosis but not of pulmonary embolism. *Lancet*. 2000;356:182–3.
157. de Moerloose P, Reber G, Perrier A, Perneger T. Prevalence of factor V Leiden and prothrombin G20210A mutations in unselected patients with venous thromboembolism. *Br J Haematol*. 2000;110:125–9
158. Huisman MV, Klok FA, Karami Djurabi R, et al. Factor V Leiden is associated with more distal location of deep vein thrombosis of the leg. *J Thromb Haemost*. 2008;6:544–5
159. Juul K, Tybjaerg-Hansen A, Schnohr P, Nordestgaard BG. Factor V Leiden and the risk for venous thromboembolism in the adult Danish population. *Ann Intern Med*. 2004;140:330–7
160. Blom JW, Doggen CJ, Osanto S, Rosendaal FR. Old and new risk factors for upper extremity deep venous thrombosis. *J Thromb Haemost*. 2005b;3:2471–8
161. Linnemann B, Meister F, Schwonberg J, et al. Hereditary and acquired thrombophilia in patients with upper extremity deep-vein thrombosis. Results from the MAISTHRO registry. *Thromb Haemost*. 2008a;100:440–6
162. Zöller B, Berntsdotter A, García de Frutos P, Dahlbäck B. Resistance to activated protein C as an additional genetic risk factor in hereditary deficiency of protein S. *Blood* 1995; 85: 3518–23
163. Gandrille S, Greengard JS, Alhenc-Gelas M, et al. Incidence of activated protein C resistance caused by the ARG 506 GLN mutation in factor V in 113 unrelated symptomatic protein C-deficient patients. The French Network on the behalf of INSERM. *Blood*. 1995;86(1):219–24.
164. Emmerich J, Rosendaal FR, Cattaneo M, et al. Combined effect of factor V Leiden and prothrombin 20210A on the risk of venous thromboembolism--pooled analysis of 8 case-control studies including 2310 cases and 3204 controls. Study Group for Pooled-Analysis in Venous Thromboembolism. *Thromb Haemost*. 2001;86(3):809–16.
165. Ridker PM, Hennekens CH, Selhub J, et al. Interrelation of hyperhomocyst(e)inemia, factor V Leiden, and risk of future venous thromboembolism. *Circulation*. 1997b;95:1777–82.
166. Lensen R, Bertina RM, Vandenbroucke JP, et al. High factor VIII levels contribute to the thrombotic risk in families with factor V Leiden. *Br J Haematol*. 2001;114(2):380
167. Bloemenkamp KW, Rosendaal FR, Helmerhorst FM, Vandenbroucke JP. Higher risk of venous thrombosis during early use of oral contraceptives in women with inherited clotting defects. *Arch Intern Med*. 2000;160:49–52

168. Hirsch DR, Mikkola KM, Marks PW, et al. Pulmonary embolism and deep venous thrombosis during pregnancy or oral contraceptive use: prevalence of factor V Leiden. *Am Heart J.* 1996;131:1145–8
169. Legnani C, Palareti G, Guazzaloca G, et al. Venous thromboembolism in young women; role of thrombophilic mutations and oral contraceptive use. *Eur Heart J.* 2002;23:984–90.
170. Sidney S, Petitti DB, Soff GA, et al. Venous thromboembolic disease in users of low-estrogen combined estrogen-progestin oral contraceptives. *Contraception.* 2004;70:3–10
171. Martinelli I, Battaglioli T, Pedotti P, et al. Hyperhomocysteinemia in cerebral vein thrombosis. *Blood.* 2003a;102:1363–6.
172. de Bruijn SFTM, Stam J, Koopman MMW, et al. For Cerebral Vein Sinus Thrombosis Study Thrombosis Group. Case-control study of risk of cerebral sinus thrombosis in oral contraceptive users who are carriers of hereditary prothrombotic conditions. *Br Med J.* 1998;316: 589-592
173. Mohllajee AP, Curtis KM, Martins SL, Peterson HB. Does use of hormonal contraceptives among women with thrombogenic mutations increase their risk of venous thromboembolism? A systematic review. *Contraception.* 2006;73:166–78)
174. Conard J, Plu-Bureau G, Bahi N, et al. Progestogen-only contraception in women at high risk of venous thromboembolism. *Contraception.* 2004;70:437–41
175. Laczkovics C, Grafenhofer H, Kaider A, et al. Risk of recurrence after a first venous thromboembolic event in young women. *Haematologica.* 2007;92:1201–7
176. Heijmans BT, Westendorp RG, Knook DL, et al. The risk of mortality and the factor V Leiden mutation in a population-based cohort. *Thromb Haemost.* 1998;80(4):607
177. Ho WK, Hankey GJ, Quinlan DJ, Eikelboom JW. Risk of recurrent venous thromboembolism in patients with common thrombophilia: a systematic review. *Arch Intern Med.* 2006;166(7):729
178. Vink R, Kraaijenhagen RA, Levi M, Büller HR. Individualized duration of oral anticoagulant therapy for deep vein thrombosis based on a decision model. *J Thromb Haemost.* 2003;1(12):2523
179. Marchetti M, Pistorio A, Barosi G. Extended anticoagulation for prevention of recurrent venous thromboembolism in carriers of factor V Leiden--cost-effectiveness analysis. *Thromb Haemost.* 2000;84(5):752
180. Marchiori A, Mosen L, Prins MH, et al. The risk of recurrent venous thromboembolism among heterozygous carriers of factor V Leiden or prothrombin G20210A mutation. A systematic review of prospective studies. *Haematologica.* 2007;92:1107–14.
181. Segal JB, Brotman DJ, Necochea AJ, et al. Predictive value of factor V Leiden and prothrombin G20210A in adults with venous thromboembolism and in family members of those with a mutation: a systematic review. *JAMA.* 2009;301:2472–85
182. Lijfering WM, Christiansen SC, Rosendaal FR, Cannegieter SC. Contribution of high factor VIII, IX and XI to the risk of recurrent venous thrombosis in factor V Leiden carriers. *J Thromb Haemost.* 2009b;7:1944–6.
183. Eichinger S, Pabinger I, Stümpflen A, et al. The risk of recurrent venous thromboembolism in patients with and without factor V Leiden. *Thromb Haemost.* 1997;77(4):624-8.

184. De Stefano V, Martinelli I, Mannucci PM, et al. The risk of recurrent deep venous thrombosis among heterozygous carriers of both factor V Leiden and the G20210A prothrombin mutation. *N Engl J Med*. 1999;341(11):801-6.
185. Lindmarker P, Schulman S, Sten-Linder M, et al. The risk of recurrent venous thromboembolism in carriers and non-carriers of the G1691A allele in the coagulation factor V gene and the G20210A allele in the prothrombin gene. DURAC Trial Study Group. Duration of Anticoagulation. *Thromb Haemost*. 1999;81(5):684-9
186. Margaglione M, D'Andrea G, Colaizzo D, et al. Coexistence of factor V Leiden and Factor II A20210 mutations and recurrent venous thromboembolism. *Thromb Haemost*. 1999;82(6):1583-6
187. Eichinger S, Weltermann A, Mannhalter C, et al. The risk of recurrent venous thromboembolism in heterozygous carriers of factor V Leiden and a first spontaneous venous thromboembolism. *Arch Intern Med*. 2002;162(20):2357-60
188. Christiansen SC, Cannegieter SC, Koster T, et al. Thrombophilia, clinical factors, and recurrent venous thrombotic events. *JAMA*. 2005;293:2352–61
189. Lijfering WM, Middeldorp S, Veeger NJ, et al. . Risk of recurrent venous thrombosis in homozygous carriers and double heterozygous carriers of factor V Leiden and prothrombin G20210A. *Circulation*. 2010;121(15):1706-12.
190. Poort SR, Rosendaal FR, Reitsma PH, Bertina RM. 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*. 1996;88(10):3698-703
191. Soria JM, Almasy L, Souto JC, et al. Linkage analysis demonstrates that the prothrombin G20210A mutation jointly influences plasma prothrombin levels and risk of thrombosis. *Blood*. 2000;95(9):2780
192. Butenas S, van't Veer C, Mann KG. Normal Thrombin generation. *Blood*. 1999 Oct 1;94(7):2169-78
193. Kyrle PA, Mannhalter C, Béguin S, et al. Clinical studies and thrombin generation in patients homozygous or heterozygous for the G20210A mutation in the prothrombin gene. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1998 Aug;18(8):1287-91
194. Carter AM, Sachchithananthan M, Stasinopoulos S, et al. Prothrombin G20210A is a bifunctional gene polymorphism. *Thromb Haemost*. 2002;87(5):846-53
195. Pollak ES, Lam HS, Russell JE. The G20210A mutation does not affect the stability of prothrombin mRNA in vivo. *Blood*. 2002;100(1):359-62
196. Gehring NH, Frede U, Neu-Yilik G, et al. Increased efficiency of mRNA 3' end formation: a new genetic mechanism contributing to hereditary thrombophilia. *Nat Genet*. 2001;28(4):389-92
197. Leroyer C, Mercier B, Oger E, et al. Prevalence of 20210 A allele of the prothrombin gene in venous thromboembolism patients. *Thromb Haemost*. 1998;80(1):49.
198. Souto JC, Coll I, Llobet D, et al. The prothrombin 20210A allele is the most prevalent genetic risk factor for venous thromboembolism in the Spanish population. *Thromb Haemost*. 1998;80(3):366.
199. Rosendaal FR, Doggen CJ, Zivelin A, Geographic distribution of the 20210 G to A prothrombin variant. *Thromb Haemost*. 1998;79(4):706.

200. Miyata T, Kawasaki T, Fujimura H, et al. The prothrombin gene G20210A mutation is not found among Japanese patients with deep vein thrombosis and healthy individuals. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 1998;9(5):451
201. Zivelin A, Rosenberg N, Faier S, et al. A single genetic origin for the common prothrombotic G20210A polymorphism in the prothrombin gene. *Blood*. 1998;92(4):1119
202. Hillarp A, Zöller B, Svensson PJ, Dahlbäck B. The 20210A allele of the prothrombin gene is a common risk factor among Swedish outpatients with verified deep vein thrombosis. *Thromb Haemost* 1997; 78: 990-992
203. Martinelli I, Battaglioli T, Tosi A, et al. Prothrombin A19911G polymorphism and the risk of venous thromboembolism. *J Thromb Haemost*. 2006;4:2582–6
204. Bank I, Libourel EJ, Middeldorp, et al. Prothrombin 20210A mutation: a mild risk factor for venous thromboembolism but not for arterial thrombotic disease and pregnancy-related complications in a family study. *Arch Intern Med*. 2004;164:1932–7
205. Lechner D, Wiener C, Weltermann A, et al. Comparison between idiopathic deep vein thrombosis of the upper and lower extremity regarding risk factors and recurrence. *J Thromb Haemost*. 2008;6:1269–74
206. Martinelli I, Sacchi E, Landi G, et al. High risk of cerebral-vein thrombosis in carriers of a prothrombin-gene mutation and in users of oral contraceptives. *N Engl J Med*. 1998;338(25):1793.
207. Reuner KH, Ruf A, Grau A, et al. Prothrombin gene G20210-->A transition is a risk factor for cerebral venous thrombosis. *Stroke*. 1998;29(9):1765.
208. Chamouard P, Pencreach E, Maloisel F, et al. Frequent factor II G20210A mutation in idiopathic portal vein thrombosis. *Gastroenterology*. 1999;116:144–8
209. Prandoni P, Noventa F, Ghirarduzzi A, et al. The risk of recurrent venous thromboembolism after discontinuing anticoagulation in patients with acute proximal deep vein thrombosis or pulmonary embolism. A prospective cohort study in 1626 patients. *Haematologica* 2007; 92: 199-205.
210. Berg AO, Botkin J, Calonge N, et al. EGAPP Working Group; Recommendations from the EGAPP Working Group: routine testing for Factor V Leiden (R506Q) and prothrombin (20210G>A) mutations in adults with a history of idiopathic VTE and their adult family members. *Genet Med*. 2011;13:67–76
211. Margaglione M, Brancaccio V, Giuliani N, et al. Increased risk for venous thrombosis in carriers of the prothrombin G-->A20210 gene variant. *Ann Intern Med*. 1998;129:89–93.
212. Barcellona D, Fenu L, Cauli C, et al. Allele 4G of gene PAI-1 associated with prothrombin mutation G20210A increases the risk for venous thrombosis. *Thromb Haemost*. 2003;90:1061–4
213. Ferraresi P, Marchetti G, Legnani C, et al. 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. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1997;17:2418–22
214. Salomon O, Steinberg DM, Zivelin A, et al. Single and combined prothrombotic factors in patients with idiopathic venous thromboembolism: prevalence and risk assessment. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999;19:511–8
215. Simioni P, Prandoni P, Lensing AW, et al. Risk for subsequent venous thromboembolic complications in carriers of the prothrombin or the factor V

- gene mutation with a first episode of deep-vein thrombosis. *Blood*. 2000;96(10):3329-3333.
216. Miles JS, Miletich JP, Goldhaber SZ, et al. G20210A mutation in the prothrombin gene and the risk of recurrent venous thromboembolism. *J Am Coll Cardiol*. 2001;37(1):215-218.)
 217. Tirado I, Mateo J, Soria JM, et al. Contribution of prothrombin 20210A allele and factor V Leiden mutation to thrombosis risk in thrombophilic families with other hemostatic deficiencies. *Haematologica*. 2001;86:1200–8
 218. Bovill EG, Hasstedt SJ, Callas PW, et al. The G20210A prothrombin polymorphism is not associated with increased thromboembolic risk in a large protein C deficient kindred. *Thromb Haemost*. 2000;83:366–70
 219. De Sancho MT, Dorff T, Rand JH. Thrombophilia and the risk of thromboembolic events in women on oral contraceptives and hormone replacement therapy. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2010b;21:534–8
 220. Oger E, Lacut K, Le Gal G, et al. Interrelation of hyperhomocysteinemia and inherited risk factors for venous thromboembolism. Results from the E.D.I.T.H study: a hospital –based case-control study. *Thromb Res* 2007;120 (2):207-14
 221. Gerhardt A, Scharf RE, Beckmann MW, et al. Prothrombin and factor V mutations in women with a history of thrombosis during pregnancy and the puerperium. *N Engl J Med*. 2000;342:374–80
 222. Culwell KR, Curtis KM. Use of contraceptive methods by women with current venous thrombosis on anticoagulant therapy: a systematic review. *Contraception*. 2009;80:337–45
 223. Martinelli I, Taioli E, Bucciarelli P, et al. Interaction between the G20210A mutation of the prothrombin gene and oral contraceptive use in deep vein thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999b;19:700–3
 224. Martinelli I, Battaglioli T, Bucciarelli P, et al. Risk factors and recurrence rate of primary deep vein thrombosis of the upper extremities. *Circulation*. 2004;110:566–70
 225. Wu O, Robertson L, Langhorne P, et al. Oral contraceptives, hormone replacement therapy, thrombophilias and risk of venous thromboembolism: a systematic review. The Thrombosis: Risk and Economic Assessment of Thrombophilia Screening (TREATS) Study. *Thromb Haemost*. 2005;94:17–25
 226. Hulley S, Grady D, Bush T, et al. Randomized trial of estrogen plus progestin for secondary prevention of coronary heart disease in postmenopausal women. Heart and Estrogen/progestin Replacement Study (HERS) Research Group. *JAMA*. 1998;280:605–13
 227. Grady D, Wenger NK, Herrington D, et al. Postmenopausal hormone therapy increases risk for venous thromboembolic disease. The Heart and Estrogen/progestin Replacement Study. *Ann Intern Med*. 2000;132:689–96.
 228. Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL, et al. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA*. 2002;288:321–33
 229. Canonico M, Oger E, Plu-Bureau G, et al. Estrogen and Thromboembolism Risk (ESTHER) Study Group; Hormone therapy and venous thromboembolism among postmenopausal women: impact of the route of estrogen administration and progestogens: the ESTHER study. *Circulation*. 2007;115:840–5.
 230. Renoux C, Dell'Aniello S, Suissa S. Hormone replacement therapy and the risk of venous thromboembolism: a population-based study. *J Thromb Haemost*. 2010;8:979–86

231. Canonico M, Fournier A, Carcaillon L, et al. Postmenopausal hormone therapy and risk of idiopathic venous thromboembolism: results from the E3N cohort study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2010;30:340–5.
232. Straczek C, Oger E, Yon de Jonage-Canonico MB, et al. Estrogen and Thromboembolism Risk (ESTHER) Study Group; Prothrombotic mutations, hormone therapy, and venous thromboembolism among postmenopausal women: impact of the route of estrogen administration. *Circulation.* 2005;112:3495–500
233. Canonico M, Plu-Bureau G, Lowe GD, et al. Hormone replacement therapy and risk of venous thromboembolism in postmenopausal women: systematic review and meta-analysis. *BMJ.* 2008;336:1227–31
234. Smith NL, Heckbert SR, Lemaitre RN, et al. Conjugated equine estrogen, esterified estrogen, prothrombotic variants, and the risk of venous thrombosis in postmenopausal women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006;26:2807–12).
235. Duggan C, Marriott K, Edwards R, et al. Inherited and acquired risk factors for venous thromboembolic disease among women taking tamoxifen to prevent breast cancer. *J Clin Oncol.* 2003;21:3588–93.
236. Abramson N, Costantino JP, Garber JE, et al. Effect of Factor V Leiden and prothrombin G20210-->A mutations on thromboembolic risk in the national surgical adjuvant breast and bowel project breast cancer prevention trial. *J Natl Cancer Inst.* 2006;98:904–10.
237. Barrett-Connor E, Mosca L, Collins P, et al. Raloxifene Use for The Heart (RUTH) Trial Investigators; Effects of raloxifene on cardiovascular events and breast cancer in postmenopausal women. *N Engl J Med.* 2006;355:125–37
238. Pomp ER, Lenselink AM, Rosendaal FR, Doggen CJ. Pregnancy, the postpartum period and prothrombotic defects: risk of venous thrombosis in the MEGA study. *J Thromb Haemost.* 2008;6:632–7
239. Said JM, Higgins JR, Moses EK, et al. Inherited thrombophilia polymorphisms and pregnancy outcomes in nulliparous women. *Obstet Gynecol.* 2010;115:5–13.
240. Silver RM, Zhao Y, Spong CY, et al. Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development Maternal-Fetal Medicine Units; Prothrombin gene G20210A mutation and obstetric complications. *Obstet Gynecol.* 2010;115:14–20
241. Samama MM, Rached RA, Horellou MH, et al. Pregnancy-associated venous thromboembolism (VTE) in combined heterozygous factor V Leiden (FVL) and prothrombin (FII) 20210 A mutation and in heterozygous FII single gene mutation alone. *Br J Haematol.* 2003;123:327–34
242. Martinelli I, Battaglioli T, De Stefano V, et al. The risk of first venous thromboembolism during pregnancy and puerperium in double heterozygotes for factor V Leiden and prothrombin G20210A. *J Thromb Haemost.* 2008;6:494–8
243. Pomp ER, le Cessie S, Rosendaal FR, Doggen CJ. Risk of venous thrombosis: obesity and its joint effect with oral contraceptive use and prothrombotic mutations. *Br J Haematol.* 2007;139:289–96
244. Warshawsky I, Makkar V, et al. Prothrombin 20209C>T: 16 new cases, association with the 19911A>G polymorphism, and literature review. *J Thromb Haemost* 2009 Sep; 7 (9): 1585-7
245. Hooper WC, Roberts S, Dowling N, et al. The prevalence of the prothrombin gene variant C20209T in African-Americans and Caucasians and lack of association with venous thromboembolism. *Thromb Res.* 2006;118(6):767
246. von Ahnen N, Oellerich M The intronic prothrombin 19911A>G polymorphism influences splicing efficiency and modulates effects of the 20210G>A

- polymorphism on mRNA amount and expression in a stable reporter gene assay system. *Blood*. 2004;103(2):586
247. Pérez-Ceballos E, Corral J, Alberca I, et al. Prothrombin A19911G and G20210A polymorphisms' role in thrombosis. *Br J Haematol*. 2002;118(2):610
 248. Foster DC, Yoshitake S, Davie EW. The nucleotide sequence of the gene for human protein C. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1985;82(14):4673.
 249. Plutzky J, Hoskins JA, Long GL, et al. Evolution and organization of the human protein C gene. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1986;83(3):546.
 250. Clouse LH, Comp PC. The regulation of hemostasis: the protein C system. *N Engl J Med*. 1986;314(20):1298
 251. Mosnier LO, Zlokovic BV, Griffin JH. The cytoprotective protein C pathway. *Blood* 2007;109(8):3161
 252. Danese S, Vetrano S, Zhang L, et al. The protein C pathway in tissue inflammation and injury: pathogenic role and therapeutic implications. *Blood*. 2010;115(6):112
 253. Miletich J, Sherman L, Broze G Jr. Absence of thrombosis in subjects with heterozygous protein C deficiency. *N Engl J Med*. 1987;317(16):991.
 254. Tait RC, Walker ID, Reitsma PH, et al. Prevalence of protein C deficiency in the healthy population. *Thromb Haemost*. 1995;73(1):87
 255. Broekmans AW, Bertina RM. Protein C. In: *Recent Advances in Blood Coagulation*, Poller L (Ed), Churchill Livingstone, New York 1985. Vol 4, p.117
 256. Reitsma PH, Bernardi F, Doig RG, et al. Protein C deficiency: a database of mutations, 1995 update. On behalf of the Subcommittee on Plasma Coagulation Inhibitors of the Scientific and Standardization Committee of the ISTH. *Thromb Haemost*. 1995;73(5):876.
 257. Reitsma PH, Poort SR, Allaart CF, Briët E, Bertina RM. The spectrum of genetic defects in a panel of 40 Dutch families with symptomatic protein C deficiency type I: heterogeneity and founder effects. *Blood*. 1991;78(4):890.
 258. Aiach M, Gandrille S, Emmerich J. A review of mutations causing deficiencies of antithrombin, protein C and protein S. *Thromb Haemost*. 1995;74(1):81.
 259. Petrini P, Segnestam K, Ekelund H, Egberg N. Homozygous protein C deficiency in two siblings. *Pediatr Hematol Oncol*. 1990;7(2):165.
 260. Lind B, Johnsen AH, Thorsen S. Naturally occurring Arg(-1) to His mutation in human protein C leads to aberrant propeptide processing and secretion of dysfunctional protein C. *Blood*. 1997;89(8):2807
 261. Tripodi A, Salerno F, Chantarangkul V, et al. Evidence of normal thrombin generation in cirrhosis despite abnormal conventional coagulation tests. *Hepatology*. 2005;41(3):553
 262. Gerson WT, Dickerman JD, Bovill EG, Golden E. Severe acquired protein C deficiency in purpura fulminans associated with disseminated intravascular coagulation: treatment with protein C concentrate. *Pediatrics*. 1993;91(2):418
 263. Mateo J, Oliver A, Borrell M, et al. Laboratory evaluation and clinical characteristics of 2,132 consecutive unselected patients with venous thromboembolism--results of the Spanish Multicentric Study on Thrombophilia (EMET-Study). *Thromb Haemost*. 1997;77(3):444.
 264. Gladson CL, Scharrer I, Hach V, et al. The frequency of type I heterozygous protein S and protein C deficiency in 141 unrelated young patients with venous thrombosis. *Thromb Haemost*. 1988;59(1):18.

265. Heijboer H, Brandjes DP, Büller HR, et al. Deficiencies of coagulation-inhibiting and fibrinolytic proteins in outpatients with deep-vein thrombosis. *N Engl J Med.* 1990;323(22):1512.
266. Koster T, Rosendaal FR, Briët E, et al. Protein C deficiency in a controlled series of unselected outpatients: an infrequent but clear risk factor for venous thrombosis (Leiden Thrombophilia Study. *Blood.* 1995;85(10):2756
267. Griffin JH, Evatt B, Zimmerman TS, Kleiss AJ, et al. Deficiency of protein C in congenital thrombotic disease. *J Clin Invest.* 1981;68(5):1370
268. Broekmans AW, Velthkamp JJ, Bertina RM. Congenital protein C deficiency and venous thromboembolism. A study of three Dutch families. *N Engl J Med.* 1983;309(6):340
269. Bovill EG, Bauer KA, Dickerman JD, et al. The clinical spectrum of heterozygous protein C deficiency in a large New England kindred. *Blood.* 1989;73(3):712
270. Mustafa S, Mannhalter C, Rintelen C, et al. Clinical features of thrombophilia in families with gene defects in protein C or protein S combined with factor V Leiden. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 1998;9(1):85.
271. Aiach M, Borgel D, Gaussem P, et al. Protein C and protein S deficiencies. *Semin Hematol.* 1997;34(3):205).
272. Koeleman BP, Reitsma PH, Allaart CF, Bertina RM. Activated protein C resistance as an additional risk factor for thrombosis in protein C deficient families. *Blood* 1994. Aug 15; 84 (4): 1031-5
273. Lensen RP, Rosendaal FR, Koster T, et al. Apparent different thrombotic tendency in patients with factor V Leiden and protein C deficiency due to selection of patients. *Blood.* 1996;88(11):4205
274. Broekmans AW, Bertina RM. Protein C. In: *Recent Advances in Blood Coagulation*, Poller L (Ed), Churchill Livingstone, New York 1985. Vol 4, p.117
275. Wintzen AR, Broekmans AW, Bertina RM, et al. Cerebral haemorrhagic infarction in young patients with hereditary protein C deficiency: evidence for "spontaneous" cerebral venous thrombosis. *Br Med J (Clin Res Ed).* 1985;290(6465):350
276. Douay X, Lucas C, Caron C, et al. Antithrombin, protein C and protein S levels in 127 consecutive young adults with ischemic stroke. *Acta Neurol Scand.* 1998;98(2):124.
277. Munts AG, van Genderen PJ, Dippel DW, et al. Coagulation disorders in young adults with acute cerebral ischaemia. *J Neurol.* 1998;245(1):21. Ganesan V, McShane MA, Liesner R, et al. Inherited prothrombotic states and ischaemic stroke in childhood. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1998;65(4):508
278. Grewal RP, Goldberg MA. Stroke in protein C deficiency. *Am J Med.* 1990;89(4):538
279. Camerlingo M, Finazzi G, Casto L, et al. Inherited protein C deficiency and nonhemorrhagic arterial stroke in young adults. *Neurology.* 1991;41(9):1371
280. Broekmans AW, Teepe RG, van DER Meer, et al. Protein C (PC) and coumarin-induced skin necrosis. *Thromb Res.* 1986; 6:137
281. Teepe RG, Broekmans AW, Vermeer BJ, et al. Recurrent coumarin-induced skin necrosis in a patient with an acquired functional protein C deficiency. *Arch Dermatol.* 1986;122(12):1408-12
282. Sallah S, Abdallah JM, Gagnon GA. Recurrent warfarin-induced skin necrosis in kindreds with protein S deficiency. *Haemostasis.* 1998;28(1):25-30

283. Makris M, Bardhan G, Preston FE. Warfarin induced skin necrosis associated with activated protein C resistance. *Thromb Haemost.* 1996;75(3):523-4
284. Schramm W, Spannagl M, Bauer KA, et al. Treatment of coumarin-induced skin necrosis with a monoclonal antibody purified protein C concentrate. *Arch Dermatol.* 1993;129(6):753
285. Leroy-Matheron C, Gouault-Heilmann M, Aiach M, Gandrille S. A mutation of the active protein S gene leading to an EGF1-lacking protein in a family with qualitative (type II) deficiency. *Blood.* 1998;91(12):4608.
286. Rezende SM, Simmonds RE, Lane DA. Coagulation, inflammation, and apoptosis: different roles for protein S and the protein S-C4b binding protein complex. *Blood.* 2004;103(4):1192-201
287. Dykes AC, Walker ID, McMahon AD, et al. A study of Protein S antigen levels in 3788 healthy volunteers: influence of age, sex and hormone use, and estimate for prevalence of deficiency state. *Br J Haematol.* 2001;113(3):636
288. Esmon CT. Protein S and protein C Biochemistry, physiology, and clinical manifestation of deficiencies. *Trends Cardiovasc Med.* 1992;2(6):214-9
289. Dahlbäck B. The protein C anticoagulant system: inherited defects as basis for venous thrombosis. *Thromb Res.* 1995;77(1):1
290. Hackeng TM, van 't Veer C, Meijers JC, et al. Human protein S inhibits prothrombinase complex activity on endothelial cells and platelets via direct interactions with factors Va and Xa. *J Biol Chem.* 1994;269(33):21051-8
291. Takeyama M, Nogami K, Saenko EL, et al. Protein S down-regulates factor Xase activity independent of activated protein C: specific binding of factor VIII(a) to protein S inhibits interactions with factor IXa. *Br J Haematol.* 2008;143(3):409
292. Ploos van Amstel JK, van der Zanden AL, Bakker E, et al. Two genes homologous with human protein S cDNA are located on chromosome 3. *Thromb Haemost.* 1987;58(4):982.
293. Schmidel DK, Tatro AV, Phelps LG, et al. Organization of the human protein S genes. *Biochemistry.* 1990;29(34):7845
294. Borgel D, Gandrille S, Aiach M. Protein S deficiency. *Thromb Haemost.* 1997;78(1):351.
295. Gandrille S, Borgel D, Sala N, et al. Plasma Coagulation Inhibitors Subcommittee of the Scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis Protein S deficiency: a database of mutations--summary of the first update. *Thromb Haemost.* 2000;84(5):918
296. Schmidel DK, Nelson RM, Broxson EH Jr et al. A 5.3-kb deletion including exon XIII of the protein S alpha gene occurs in two protein S-deficient families. *Blood.* 1991;77(3):551.
297. Holmes ZR, Bertina RM, Reitsma PH. Characterization of a large chromosomal deletion in the PROS1 gene of a patient with protein S deficiency type I using long PCR. *Br J Haematol.* 1996;92(4):986
298. Comp PC, Esmon CT. Recurrent venous thromboembolism in patients with a partial deficiency of protein S. *N Engl J Med.* 1984;311(24):1525.
299. Schwarz HP, Fischer M, Hopmeier P. Plasma protein S deficiency in familial thrombotic disease. *Blood.* 1984;64(6):1297.
300. Comp PC, Nixon RR, Cooper MR, Esmon CT. Familial protein S deficiency is associated with recurrent thrombosis. *J Clin Invest.* 1984;74(6):2082

301. Saller F, Brisset AC, Tchaikovski SN, et al. Generation and phenotypic analysis of protein S-deficient mice. *Blood*. 2009;114(11):2307.
302. Burstyn-Cohen T, Heeb MJ, Lemke G. Lack of protein S in mice causes embryonic lethal coagulopathy and vascular dysgenesis. *J Clin Invest*. 2009;119(10):2942-53
303. Broekmans AW, Bertina RM, Reinalda-Poot J, et al. Hereditary protein S deficiency and venous thrombo-embolism. A study in three Dutch families. *Thromb Haemost*. 1985;53(2):273.
304. Amiral J, Grosley B, Boyer-Neumann C, et al. New direct assay of free protein S antigen using two distinct monoclonal antibodies specific for the free form. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 1994;5(2):179
305. Gandrille S, Borgel D, Eschwege-Gufflet V, et al. Identification of 15 different candidate causal point mutations and three polymorphisms in 19 patients with protein S deficiency using a scanning method for the analysis of the protein S active gene. *Blood*. 1995;85(1):130.
306. Simmonds RE, Ireland H, Kunz G, Lane DA. Identification of 19 protein S gene mutations in patients with phenotypic protein S deficiency and thrombosis. Protein S Study Group. *Blood*. 1996;88(11):4195.
307. Hayashi T, Nishioka J, Shigekiyo T, et al. Protein S Tokushima: abnormal molecule with a substitution of Glu for Lys-155 in the second epidermal growth factor-like domain of protein S. *Blood*. 1994;83(3):683
308. Brouwer JL, Veeger NJ, van der Schaaf W, et al. Difference in absolute risk of venous and arterial thrombosis between familial protein S deficiency type I and type III. Results from a family cohort study to assess the clinical impact of a laboratory test-based classification. *Br J Haematol*. 2005;128(5):703
309. Zöller B, García de Frutos P, Dahlbäck B. Evaluation of the relationship between protein S and C4b-binding protein isoforms in hereditary protein S deficiency demonstrating type I and type III deficiencies to be phenotypic variants of the same genetic disease. *Blood*. 1995;85(12):3524
310. Simmonds RE, Zöller B, Ireland H, et al. Genetic and phenotypic analysis of a large (122-member) protein S-deficient kindred provides an explanation for the familial coexistence of type I and type III plasma phenotypes. *Blood*. 1997;89(12):4364
311. Borgel D, Duchemin J, Alhenc-Gelas M, et al. Molecular basis for protein S hereditary deficiency: genetic defects observed in 118 patients with type I and type IIa deficiencies. The French Network on Molecular Abnormalities Responsible for Protein C and Protein S Deficiencies. *J Lab Clin Med*. 1996;128(2):218.
312. Bertina RM, Ploos van Amstel HK, van Wijngaarden A, et al. Heerlen polymorphism of protein S, an immunologic polymorphism due to dimorphism of residue 460. *Blood*. 1990;76(3):538
313. Comp PC, Thurnau GR, Welsh J, Esmon CT. Functional and immunologic protein S levels are decreased during pregnancy. *Blood*. 1986;68(4):881
314. Gilabert J, Fernandez JA, España F, Aznar J, Estelles A. Physiological coagulation inhibitors (protein S, protein C and antithrombin III) in severe preeclamptic states and in users of oral contraceptives. *Thromb Res*. 1988;49(3):319.
315. Boerger LM, Morris PC, Thurnau GR, et al. Oral contraceptives and gender affect protein S status. *Blood*. 1987;69(2):692

316. Stahl CP, Wideman CS, Spira TJ, et al. Protein S deficiency in men with long-term human immunodeficiency virus infection. *Blood*.1993;81(7):1801
317. D'Angelo A, Vigano-D'Angelo S, Esmon CT, Comp PC. Acquired deficiencies of protein S. Protein S activity during oral anticoagulation, in liver disease, and in disseminated intravascular coagulation. *J Clin Invest*. 1988;81(5):1445.
318. Heeb MJ, Mosher D, Griffin JH. Activation and complexation of protein C and cleavage and decrease of protein S in plasma of patients with intravascular coagulation. *Blood*. 1989;73(2):455
319. Gouault-Heilmann M, Gadelha-Parente T, Levent M, et al. Total and free protein S in nephrotic syndrome. *Thromb Res*. 1988;49(1):37.
320. Vigano-D'Angelo S, D'Angelo A, Kaufman CE Jr, et al. Protein S deficiency occurs in the nephrotic syndrome. *Ann Intern Med*. 1987;107(1):42
321. Comp PC, Doray D, Patton D, Esmon CT. An abnormal plasma distribution of protein S occurs in functional protein S deficiency. *Blood*. 1986;67(2):504
322. Pui CH, Chesney CM, Bergum PW, et al. Lack of pathogenetic role of proteins C and S in thrombosis associated with asparaginase-prednisone-vincristine therapy for leukaemia. *Br J Haematol*. 1986;64(2):283
323. Engesser L, Broekmans AW, Briët E, et al. Hereditary protein S deficiency: clinical manifestations. *Ann Intern Med*. 1987;106(5):677
324. Makris M, Leach M, Beauchamp NJ, et al. Genetic analysis, phenotypic diagnosis, and risk of venous thrombosis in families with inherited deficiencies of protein S. *Blood*. 2000;95(6):1935)
325. Koeleman BP, Reitsma PH, Bertina RM. Familial thrombophilia: a complex genetic disorder. *Semin Hematol*. 1997;34(3):256
326. Allaart CF, Aronson DC, Ruys T, et al. Hereditary protein S deficiency in young adults with arterial occlusive disease. *Thromb Haemost*. 1990;64(2):206
327. D'Angelo A, Della Valle P, Crippa L, et al. Brief report: autoimmune protein S deficiency in a boy with severe thromboembolic disease. *N Engl J Med*. 1993;328(24):1753
328. Bock SC, Harris JF, Balazs I, Trent JM . Assignment of the human antithrombin III structural gene to chromosome 1q23-25. *Cytogenet Cell Genet*. 1985;39(1):67
329. Wells PS, Blajchman MA, Henderson P, et al. Prevalence of antithrombin deficiency in healthy blood donors: a cross-sectional study. *Am J Hematol* 1994; 45: 321–324
330. Zhou A, Huntington JA, Carrell RW. Formation of the antithrombin heterodimer in vivo and the onset of thrombosis. *Blood* 1999; 94:3388.
331. Perry DJ. Antithrombin and its inherited deficiencies. *Blood Rev*. 1994;8(1):37-55
332. Hirsh J. Heparin. *N Engl J Med*. 1991;324(22):1565-74
333. Lane DA, Bayston T, Olds RJ, et al. Antithrombin mutation database: 2nd (1997) update. For the Plasma Coagulation Inhibitors Subcommittee of the Scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. *Thromb Haemost* 1997; 77: 197-211
334. Finazzi G, Caccia R, Barbui T. Different prevalence of thromboembolism in the subtypes of congenital antithrombin III deficiency: review of 404 cases. *Thromb Haemost* 1987; 58:1094.
335. Maclean PS, Tait RC. Hereditary and acquired antithrombin deficiency: epidemiology, pathogenesis and treatment options. *Drugs* 2007; 67 (10): 1429-40
336. Lechner K, Kyrle PA. Antithrombin III concentrates--are they clinically useful? *Thromb Haemost* 1995; 73:340.

337. Büller HR, ten Cate JW. Acquired antithrombin III deficiency: laboratory diagnosis, incidence, clinical implications, and treatment with antithrombin III concentrate. *Am J Med* 1989; 87:44S-48S.
338. Damus PS, Wallace GA. Immunologic measurement of antithrombin III-heparin cofactor and alpha2 macroglobulin in disseminated intravascular coagulation and hepatic failure coagulopathy. *Thromb Res* 1975; 6:27.
339. Mammen EF. Antithrombin: its physiological importance and role in DIC. *Semin Thromb Hemost* 1998; 24:19.
340. Weenink GH, Treffers PE, Vijn P, et al. Antithrombin III levels in preeclampsia correlate with maternal and fetal morbidity. *Am J Obstet Gynecol* 1984; 148:1092
341. Raya-Sánchez JM, González-Reimers E, Rodríguez-Martín JM, et al. Coagulation inhibitors in alcoholic liver cirrhosis. *Alcohol* 1998; 15:19.
342. Segal H, Cottam S, Potter D, Hunt BJ. Coagulation and fibrinolysis in primary biliary cirrhosis compared with other liver disease and during orthotopic liver transplantation. *Hepatology* 1997; 25:683.
343. Chen TY, Huang CC, Tsao CJ. Hemostatic molecular markers in nephrotic syndrome. *Am J Hematol* 1993; 44:276
344. Buchanan GR, Holtkamp CA. Reduced antithrombin III levels during L-asparaginase therapy. *Med Pediatr Oncol* 1980; 8:7.
345. Weenink GH, Kahlé LH, Lamping RJ, et al. Antithrombin III in oral contraceptive users and during normotensive pregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1984; 63:57
346. Meade TW, Dyer S, Howarth DJ, et al. Antithrombin III and procoagulant activity: sex differences and effects of the menopause. *Br J Haematol* 1990; 74:77
347. Tait RC, Walker ID, Perry DJ, et al. Prevalence of antithrombin deficiency in the healthy population. *Br J Haematol* 1994; 87:106.
348. Demers C, Ginsberg JS, Hirsh J, et al. Thrombosis in antithrombin-III-deficient persons. Report of a large kindred and literature review. *Ann Intern Med* 1992; 116:754.
349. Girolami A. The incidence of thrombotic manifestations in AT III abnormalities. *Thromb Haemost* 1987; 57:123-4
350. Thaler E, Lechner K. Antithrombin III deficiency and thromboembolism. In: *Clinics in Haematology*, Prentice CR (Ed), Saunders, London 1981. Vol 10, p.369
351. Bertram B, Remky A, Arend O, et al. Protein C, protein S, and antithrombin III in acute ocular occlusive diseases. *Ger J Ophthalmol* 1995; 4:332.
352. Ellis D. Recurrent renal vein thrombosis and renal failure associated with antithrombin-III deficiency. *Pediatr Nephrol* 1992; 6:131.
353. Daif A, Awada A, al-Rajeh S, et al. Cerebral venous thrombosis in adults. A study of 40 cases from Saudi Arabia. *Stroke* 1995; 26:1193.
354. Das M, Carroll SF. Antithrombin III deficiency: an etiology of Budd-Chiari syndrome. *Surgery* 1985; 97:242.
355. Heijboer H, Brandjes DP, Büller HR, et al. Deficiencies of coagulation-inhibiting and fibrinolytic proteins in outpatients with deep-vein thrombosis. *N Engl J Med* 1990; 323:1512.
356. Crowther MA, Kelton JG et al, Congenital thrombophilic status associated with venous thrombosis. *Ann Intern Med* 2003; 138:128-34

357. Martinelli I, Mannucci PM, De Stefano V, et al. Different risks of thrombosis in four coagulation defects associated with inherited thrombophilia: a study of 150 families. *Blood* 1998; 92: 2353-8
358. Bucciarelli P, Rosendaal FR, Tripodi A, et al. Risk of venous thromboembolism and clinical manifestations in carriers of antithrombin, protein C, protein S deficiency, or activated protein C resistance: a multicenter collaborative family study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 1026-33
359. Preston FE, Rosendaal FR, Walker ID, et al. Increased fetal loss in women with hereditary thrombophilia. *Lancet* 1996; 348:913-6
360. Vossen CY, Preston FE, Conard J, et al. Hereditary thrombophilia and fetal loss: a prospective follow-up study. *J Thromb Haemost* 2004; 2: 592-6
361. De Stefano V, Leone G, Mastrangelo S, et al. Clinical manifestations and management of inherited thrombophilia; retrospective analysis and follow-up after diagnosis of 238 patients with congenital deficiency of antithrombin III, protein C, protein S. *Thromb Haemost* 1994 Sep; 72 (3): 352-8.
362. Van den Belt AG, Sanson BJ, Simioni P, et al. Recurrence of venous thromboembolism in patients with familial thrombophilia. *Arch Intern Med.* 1997 Oct 27;157(19):2227-32).
363. Baglin T, Luddington R, Brown K, Baglin C. Incidence of recurrent venous thromboembolism in relation to clinical and thrombophilic risk factors: prospective cohort study. *Lancet.* 2003 Aug 16;362(9383):523-6
364. Vossen CY, Isobel D, Walker ID, Svensson P, et al. Recurrence Rate After a First Venous Thrombosis in Patients With Familial Thrombophilia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005 ; 25:1992-1997
365. De Stefano V, Simioni P, Rossi E, et al. The risk of recurrent venous thromboembolism in patients with inherited deficiency of natural anticoagulants antithrombin, protein C and protein S. *Haematologica* 2006; 91:695-698
366. Prandoni P, Lensing AW, Cogo A, et al. Prandoni P, et al. The long-term clinical course of acute deep venous thrombosis. *Ann Intern Med* 1996, 125: 1-7
367. Brouwer JL, Lijfering WM, Ten Kate MK, et al. High long-term absolute risk of recurrent venous thromboembolism in patients with hereditary deficiencies of protein S, protein C or antithrombin. *Thromb Haemost* 2009; 101: 93-99.
368. Kaufman RJ, Pipe SW, Tagliavacca L, et al, Biosynthesis, assembly and secretion of coagulation factor VIII. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1997; 8 (Suppl.2): S3-S14.
369. Mertens K, van Wijngaarden A, Bertina RM. The role of factor VIII in the activation of human blood coagulation factor X by activated factor IX. *Thromb Haemost* 1985; 54: 654-60
370. Kaufman RJ, Dorner AJ, Fass DN. von Willebrand factor elevates plasma factor VIII without induction of factor VIII messenger RNA in the liver. *Blood* 1999; 93:193-7
371. Gitschier J, Wood WI, Goralka TM, et al. Characterization of the human factor VIII gene. *Nature* 1984; 312: 326-30
372. Eaton D, Rodriguez H, Vehar GA, et al. Proteolytic processing of human factor VIII. Correlation of specific cleavages by thrombin, factor Xa, and activated protein C with activation and inactivation of factor VIII coagulant activity. *Biochemistry* 1986; 25: 505-12
373. Chruch WR, Jernigan RL, Toole J, et al. Coagulation factors V and VIII and ceruloplasmin constitute a family of structurally related proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984; 81: 6934-7

374. Fulcher CA, Gardiner JE, Griffin JH, et al. Proteolytic inactivation of human factor VIII procoagulant protein by activated human protein C and its analogy with factor V. *Blood* 1984; 63: 486-9
375. Souto JC, Almasy L, Muñiz-Diaz E, et al. Functional effects of the ABO locus polymorphism on plasma levels of von Willebrand factor, factor VIII and activated partial thromboplastin time. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 2024-8
376. Gill JC, Endres-Brooks J, Bauer PJ, et al. The effect of ABO blood group on the diagnoses of von Willebrand disease . *Blood* 1987; 69: 1691-5
377. Jeremic M, Weisert O, Gedde-Dahl TW. et al, Factor VIII (AHG) levels in 1016 regular blood donors: the effects of age, sex, and ABO blood groups. *Scand J Clin Lab Invest* 1976; 36: 461-6
378. Orstavik KH, Magnus P, Reisner H, et al. Factor VIII and factor IX in a twin population: evidence for a major effect of ABO locus on factor VIII level. *Am J Hum Genet* 1985; 37: 89-101
379. Sodetz JM, Paulson JC, McKee PA, et al. Carbohydrate composition and identification of blood group A, B and H oligosaccharide structures on human factor VIII/ von Willebrand factor. *J Biol Chem* 1979; 254: 10754-60
380. Tirado I, Mateo J, Soria JM et al. The ABO blood group genotype and factor VIII levels as independent risk factors for venous thromboembolism. *Thromb Haemost.* 2005 Mar;93(3):468-74
381. Egeberg O, et al, Clotting factor levels in patients with coronary atherosclerosis. *Scand J Clin Lab Invest* 1962; 14: 253-8
382. Rice GI, Grant PJ. Factor VIII coagulant activity and antigen in subjects with ischaemic heart disease. *Thromb Haemost* 1998; 80:757-62
383. Rumley A, Lowe GD, Sweetnam PM, et al, Factor VIII, von Willebrand factor and the risk of major ischaemic Heart disease in the Caerphilly Heart Study. *Br J Haematol* 1999; 105: 110-16
384. O'Donnell J, Tuddenham EG, Manning R, et al. High prevalence of elevated factor VIII levels in patients referred for thrombophilia screening: role of increased synthesis and relationship to the acute phase reaction. *Thromb Haemost.* 1997;77(5):825
385. Kraaijenhagen RA, in't Anker PS, Koopman MM, et al. High plasma concentration of factor VIIIc is a major risk factor for venous thromboembolism.. *Thromb Haemost.*2000; 83(1):5.
386. Tsai AW, Cushman M, Rosamond WD, et al. Coagulation factors, inflammation markers, and venous thromboembolism: the longitudinal investigation of thromboembolism etiology (LITE). *Am J Med.* 2002;113(8):636.
387. Bombeli T, de Conno E, Jutzi M, et al. In patients symptomatic for deep-vein thrombosis factor VIII elevation is found twice as frequent as in patients symptomatic for pulmonary embolism. *Thromb Haemost.* 2003;89(1):198.
388. Jenkins PV, Rawley O, Smith OP , et al. Elevated factor VIII levels and risk of venous thrombosis. *Br J Haematol.* 2012 Jun;157(6):653-63.
389. Koster T, Blann AD, Briët E, et al. Role of clotting factor VIII in effect of von Willebrand factor on occurrence of deep-vein thrombosis. *Lancet* 1995; 345, 152-155
390. Bloemenkamp KW, Helmerhorst FM, Rosendaal FR, et al. Venous thrombosis, oral contraceptives and high factor VIII levels. *Thromb Haemost* 1999 Sep; 82 (3): 1024-7

391. Kamphuisen PW, Rosendaal FR, Eikenboom J, et al. Factor V antigen levels and venous thrombosis: risk profile, interaction with factor V Leiden, and relation with factor VIII antigen levels. *Arteriosclerosis Thrombosis and vascular biology* 2000a; 20, 1382-1386
392. De Mitrio V, Marino R, Scaraggi FA, et al. Influence of factor VIII/von Willebrand complex on the activated protein C-resistance phenotype and on the risk for venous thromboembolism in heterozygous carriers of the factor V Leiden mutation. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 1999 Oct;10(7):409-16.
393. Ota S, Yamada N, Ogihara Y, et al. High plasma level of factor VIII: an important risk factor for venous thromboembolism. *Circ J*. 2011; 75 (6): 1472-5
394. Ryland JK, Lawrie AS, Mackie IJ, Machin SJ. Persistent high factor VIII activity leading to increased thrombin generation a prospective cohort study. *Thromb Res*. 2012 Apr; 129 (4): 447-52.
395. Conlan MG, Folsom AR, Finch A, et al. Associations of factor VIII and von Willebrand factor with age, race, sex and risk factors for atherosclerosis. The atherosclerosis risk in Communities (ARIC study). *Thromb Haemost*. 1993 Sep 1;70(3):380-5
396. Miller CH, Dilley A, Richardson L, et al. Population differences in von Willebrand factor levels affect the diagnosis of von willebrand disease in African-american women. *American Journal Hematology*, 2001, 67, 125-129
397. Souto JC, Almasy L, Borrell M, et al. Genetics determinants of hemostasis phenotypes in spanish families. *Circulation*. 2000 Apr 4;101(13):1546-51
398. Vlot, A.J, Koppelman SJ, Meijers JC, et al. Kinetics of factor VIII-von Willebrand factor association. 1996. *Blood*, 87, 1809-1816
399. Schambeck C.M, Grossmann R, Zonnur S, et al, High factor VIII levels in venous thromboembolism: role of unbound FVIII. 2004. *Trombosis and Haemostasis*, 89, 837-841
400. O'Donnel J, Boulton FE, Manning RA, Laffan MA. Amount of H antigen expressed on circulating von Willebrand factor is modified by ABO blood group genotype and is a major determinant of plasma von Willebrand factor antigen levels. 2002. *Arteriosclerosis, Trombosis and Vascular Biology*, 22, 335-341
401. Gallinero L, Cattini MG, Sztukowska M, et al. A shorter von Willebrand factor survival in O blood group subjects explains how ABO determinants influence plasma von Willebrand factor, 2008. *Blood*, 111, 3540-3545
402. Terraube V, O'Donnell JS, Jenkins PV et al. Factor VIII and von Willebrand factor interaction: biological, clinical and therapeutic importance. *Haemophilia*. 2010, 16, 3-13
403. O'Donnell J, Mumford AD, Manning RA, Laffan M. Elevation of FVIII: C in venous thromboembolism is persistent and independent of the acute phase response. *Trombosis and Haemostasis*, 2000, 83, 10-13
404. Machlus KR, Colby EA, Wu JR, et al, Effects of tissue factor, thrombomodulin and elevated clotting factor levels on thrombin generation in the calibrated automated thrombogram. *Trombosis and Haemostasis* 2009, 102, 936-944
405. Laffan MA, Manning R. The influence of factor VIII on measurement of activated protein C resistance. 1996. *Blood Coagulation and Fibrinolysis*, 7, 761-765
406. Cosmi B, Legnani C, Cini M, et al. D-dimer and factor VIII are independent risk factors for recurrence after anticoagulation withdrawal for a first idiopathic deep vein thrombosis. *Thromb Res*. 2008; 122 (5):610-7

407. Kyrle PA, Minar E, Hirschl M, et al. High plasma levels of factor VIII and the risk of recurrent venous thromboembolism. *N Engl J Med* 2000; 343: 457-462
408. Miletich JP. Thrombophilia as a multigenic disorder. *Semin Thromb Hemost* 1998; 24:13-20
409. Legnani C, Cini M, Cosmi B, et al. Risk of deep vein thrombosis: interaction between oral contraceptives and high factor VIII levels. *Haematologica*. 2004 Nov;89(11):1347-51
410. Kamphuisen PW, Lensen R, Houwing-Duistermaat JJ et al. Heritability of elevated factor VIII antigen levels in factor V Leiden families with thrombophilia. *Br J Haematol* 2000; 109; 519-22
411. Bank I, van de Poel MH, Coppens M, et al Absolute annual incidences of first events of venous thromboembolism and arterial vascular events in individuals with elevated FVIII:C. A prospective family cohort study. *Thromb Haemost*. 2007;98(5):1040
412. Morange PE, Tregouet DA, Frere C, et al. Biological and genetic factors influencing plasma factor VIII levels in a healthy family population: results from the Stanislas cohort. *Br J Haematol*. 2005;128(1):91.
413. Smith NL, Chen MH, Dehghan A, et al. Novel associations of multiple genetic loci with plasma levels of factor VII, factor VIII, and von Willebrand factor: The CHARGE (Cohorts for Heart and Aging Research in Genome Epidemiology) Consortium. *Circulation*. 2010;121(12):1382.
414. Mansvelt EP, Laffan M, McVey JH, Tuddenham EG. Analysis of the F8 gene in individuals with high plasma factor VIII: C levels and associated venous thrombosis. *Thromb Haemost*. 1998;80(4):561.
415. Berger M, Mattheisen M, Kulle B, et al. High factor VIII levels in venous thromboembolism show linkage to imprinted loci on chromosomes 5 and 11. *Blood*. 2005;105(2):638.
416. Viel KR, Machiah DK, Warren DM, et al. A sequence variation scan of the coagulation factor VIII (FVIII) structural gene and associations with plasma FVIII activity levels. *Blood*. 2007;109(9):3713
417. Bowie EJW, Thompson JH Jr, Pascuzzi CA, et al. Thrombosis in systemic lupus erythematosus despite circulating anticoagulants. *J Lab Clin Med* 1963; 62:416-430
418. Petri M. Epidemiology of the antiphospholipid antibody syndrome. *J Autoimmun* 2000; 15:145-51.
419. McIntyre JA, Wagenknecht DR, Waxman DW. Frequency and specificities of antiphospholipid antibodies (aPL) in volunteer blood donors. *Immunobiology* 2003;207:59-63.54
420. Vila P, Hernández MC, López-Fernández MF, Batlle J. Prevalence, follow-up and clinical significance of the anticardiolipin antibodies in normal subjects. *Thromb Haemost*. 1994; 72; 209-213
421. Aguilar C, Irtega JL, Caro N. Autoimmune type antiphospholipid antibodies in a patient with Q fever. *Haematologica*. 2005 Mar;90(3): ECR12
422. Ginsberg JS, Wells PS, Brill-Edwards P, et al. Antiphospholipid antibodies and venous thromboembolism. *Blood*. 1995; 86: 3685-3691
423. Triplett DA. Antiphospholipid antibodies. *Arch Pathol Lab Med* 2002; 126: 1424-1429
424. Brandt JT, Triplett DA, Alving B, Scharrer I. Criteria for the diagnosis of lupus anticoagulants: an update. *Thromb Haemost*. 1995; 74: 1185-1190

425. Arnout J. Antiphospholipid síndrome: Diagnostic aspects of lupus anticoagulants. *Thromb Haemost* 2001; 86: 83-91.
426. Pengo V, Tripodi A, Reber G, et al. Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection. *J Thromb Haemost* 2009; 7: 1737-1740
427. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost* 2006; 4: 295-306
428. Galli M, Barbui T. Prevalence of different anti-phospholipid antibodies in systemic lupus erythematosus and their relationship with the antiphospholipid syndrome. *Clin Chem* 2001;47:985-7
429. Ames PR, Iannaccone L, De Iasio R, Brancaccio V. Improved confirmation of weak lupus anticoagulants by employing sensitive and insensitive reagents to the lupus anticoagulant. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2001;12:563-7
430. Jacobsen EM, Barna-Cler L, Taylor JM, et al. The evaluation of clotting times in the laboratory detection of lupus anticoagulants. *Thromb Res* 2001;104:275-82
431. Pierangeli SS, Gharavi AE, Harris EN. Testing for antiphospholipid antibodies: problems and solutions. *Clin Obstet Gynecol* 2001; 44:48-57
432. Harris EN, Pierangeli SS. Revisiting the cardiolipin test and its standardization. *Lupus*. 2002; 11: 269-275
433. Harris EN. Special report: the second international anticardiolipin Standardization workshop/ the Kingston anti-phospholipid antibody study (KAPS) group. *Am J Clin Pathol*. 1990; 94: 476-484
434. Lee SS, Cho ML, Joo YS, et al. Isotypes of anti-beta2-glycoprotein I antibodies: association with thrombosis in patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 2001;28:520
435. Audrain MA, El-Kouri D, Hamidou MA, et al. Value of autoantibodies to beta(2)-glycoprotein I in the diagnosis of antiphospholipid syndrome. *Rheumatology (Oxford)* 2002;41:550-3.
436. Previtali S, Barbui T, Galli M. Anti-beta2-glycoprotein I and anti-prothrombin antibodies in antiphospholipid-negative patients with thrombosis: a case control study. *Thromb Haemost* 2002; 88:729-32
437. Asherson RA, Antiphospholipid antibodies. Clinical complications reported in medical literature. In: Harris EN, Exner T, Hughes GRV, Asherson RA (eds): *Phospholipid-binding antibodies*. Boston CRC Press, Inc; 1991; pp. 388-402
438. Pierangeli SS, Chen PP, Raschi E, et al. Antiphospholipid antibodies and the antiphospholipid síndrome: pathogenic mechanisms. *Semin Thromb Hemost*. 2008; 34: 236-250
439. Rand JH, Wu XX, Quinn AS, Taatjes DJ. Resistance to annexin A5 anticoagulant activity: a thrombogenic mechanism for the antiphospholipid síndrome. *Lupus*. 2008; 17:922-930
440. Reutelingsperger CP. Annexins: key regulators of haemostasis, thrombosis and apoptosis. *Thromb Haemost* 2001;86:413-9
441. Gennari LC, Blanco AN, Alberto MF, et al. Antiphospholipid antibodies impact the protein C (PC) pathway behavior. *Am J Hematol* 2002;71:128-30.
442. Riboldi P, Gerosa M, Raschi E, et al. Endothelium as a target for antiphospholipid antibodies. *Immunobiology* 2003;207:29-36
443. Burcoglu-O'Ral A, Erkan D, Asherson R. Treatment of catastrophic antiphospholipid syndrome with defibrotide, a proposed vascular endothelial cell modulator. *J. Rheumatol* 2002;29:2006-11

444. Adams MJ, Donohoe S, Mackie IJ, Machin SJ. Anti-tissue factor pathway inhibitor activity in patients with primary antiphospholipid syndrome. *Br J Haematol* 2001;114:375-9
445. Kobayashi K, Kishi M, Atsumi T, et al. Circulating oxidized LDL forms complexes with beta 2-glycoprotein I: implication as an atherogenic autoantigen. *J Lipid Res* 2003
446. Sherer Y, Shoenfeld Y. Antiphospholipid antibodies: are they pro-atherogenic or an epiphenomenon of atherosclerosis? *Immunobiology* 2003;207:13-6
447. Sebire NJ, Regan L, Rai R. Biology and pathology of the placenta in relation to antiphospholipid antibody-associated pregnancy failure. *Lupus* 2002;11:641-3
448. Martinelli I, Cattaneo M, Panzeri D, et al. Risk factors for deep venous thrombosis of the upper extremities. *Ann Intern Med* 126:707, 1997
449. Provenzale JM, Ortel TL, Allen NB: Systemic thrombosis in patients with antiphospholipid antibodies: Lesion distribution and imaging findings. *AJR Am J Roentgenol* 170:285, 1998
450. Poux JM, Boudet R, Lacroix P, et al: Renal infarction and thrombosis of the infrarenal aorta in a 35-year-old man with primary antiphospholipid syndrome. *Am J Kidney Dis* 27:721, 1996
451. Kojima E, Naito K, Iwai M, et al: Antiphospholipid syndrome complicated by thrombosis of the superior mesenteric artery, co-existence of smooth muscle hyperplasia. *Intern Med* 36:528, 1997.)
452. Krnic BS, O'Connor CR, Looney SW, et al: A retrospective review of 61 patients with antiphospholipid syndrome. Analysis of factors influencing recurrent thrombosis. *Arch Intern Med* 157:2101, 1997.
453. Girolami A, Zanon E, Zanardi S, et al: Thromboembolic disease developing during oral contraceptive therapy in young females with antiphospholipid antibodies. *Blood Coagul Fibrinolysis* 7:497, 1996.
454. Montaruli B, Borchellini A, Tamponi G, et al: Factor V Arg506 Gln mutation in patients with antiphospholipid antibodies. *Lupus* 5:303, 1996.
455. Schulman S, Svenungsson E, Granqvist S: Anticardiolipin antibodies predict early recurrence of thromboembolism and death among patients with venous thromboembolism following anticoagulant therapy. Duration of Anticoagulation Study Group. *Am J Med* 104:332, 1998.
456. Finazzi G, Brancaccio V, Moia M, et al: Natural history and risk factors for thrombosis in 360 patients with antiphospholipid antibodies: A four-year prospective study from the Italian Registry. *Am J Med* 100:530, 1996
457. de Laat HB, Derksen RH, Urbanus RT, et al: IgG antibodies that recognize epitope Gly40-Arg43 in domain I of beta 2-glycoprotein I cause LAC, and their presence correlates strongly with thrombosis. *Blood* 2005;105:1540
458. Stone JH, Amend WJ, Criswell LA: Outcome of renal transplantation in systemic lupus erythematosus. *Semin Arthritis Rheum.* 1997 Aug; 27(1):17-26
459. Galli M, Luciani D, Bertolini G, Barbui T. Lupus anticoagulant are stronger risk factors for thrombosis than anticardiolipin antibodies in the antiphospholipid syndrome: a systematic review of the literature. *Blood.* 2003; 101: 1827-1832
460. Wahl DG, Guillemin F, de Maistre E, et al. Meta-analysis of the risk of venous thrombosis in individuals with antiphospholipid antibodies without underlying autoimmune disease or previous thrombosis. *Lupus* 1998; 7: 15-22
461. Lim W, Crowther MA, Eikelboom JW. Management of antiphospholipid antibody syndrome: a systematic review. *JAMA.* 2006 Mar 1;295(9):1050-7

462. Petri M. Thrombosis and systemic lupus erythematosus: the Hopkins Lupus Cohort perspective. *Scand J Rheumatol.* 1996; 25: 191-193
463. Rosendaal FR. Venous thrombosis: the role of genes, environment and behavior Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2005:1-12.
464. Cervera R, Piette JC, Font J, et al. Antiphospholipid syndrome: clinical and immunologic manifestations and patterns of disease expression in a cohort of 1.000 patients. *Arthritis Rheum.* 2002; 46: 1019-1027
465. Neville C, Rauch J, Kassis J, et al. Thromboembolic risk in patients with high titre anticardiolipin and multiple antiphospholipid antibodies. *Thromb Haemost* 2003; 90:108.
466. Lockwood CJ, Romero R, Feinberg RF, et al. The prevalence and biologic significance of lupus anticoagulant and anticardiolipin antibodies in a general obstetric population. *Am J Obstet Gynecol.* 1989; 161: 369-373
467. Pattison NS, Chamley LW, McKay EJ, et al. Antiphospholipid antibodies in pregnancy: prevalence and clinical associations. *Br J Obstet Gynaecol.* 1993; 100: 909-913
468. Oshiro BT, Silver RM, Scott JR, et al. Antiphospholipid antibodies and fetal death. *Obstet Gynecol.* 1996; 87: 489-493
469. Rai RS, Clifford K, Cohen H, Regan L. High prospective fetal loss rate in untreated pregnancies of women with recurrent miscarriage and antiphospholipid antibodies. *Hum Reprod.* 1995; 10: 3301-3304
470. Out HJ, Bruinse HW, Christiaens GC et al. A prospective controlled multicenter study on the obstetric risks of pregnant women with antiphospholipid antibodies. *Am J Obstet Gynecol.* 1992; 167:26-32
471. Kearon C, Gent M, Hirsh J, et al. A comparison of three months of anticoagulation with extended anticoagulation for a first episode of idiopathic venous thromboembolism. *N Engl J Med.* 1999; 340: 901-907
472. Rosove MH, Brewer PM. Antiphospholipid thrombosis: clinical course after the first thrombotic event in 70 patients. *Ann Intern Med.* 1992; 117:303-308,
473. Khamasha MA, Cuadrado MJ, Mujic F, et al. The management of thrombosis in the antiphospholipid –antibody syndrome. *N Engl J Med.* 1995; 332: 993-997
474. Wahl D, Perret-Guillaume C, Piette JC, et al. The management of thrombosis in the antiphospholipid antibody syndrome: insights from recent clinical trials and remaining unsolved issues. *Rev Med Interne* 2008 Sep; 29 (9): 731-4
475. Kearon C, Akl EA. Duration of anticoagulant therapy for deep vein thrombosis and pulmonary embolism. *Blood* 2014 Mar 20;123(12):1794-801
476. Kearon C, Akl EA, Comerota AJ, et al. Chest. 2012. Antithrombotic therapy for VTE disease: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. 141(suppl 2):e419S-e494S.
477. Ueland PM, Refsum H. Plasma homocysteine, a risk factor for vascular disease: plasma levels in health, disease, and drug therapy. *J Lab Clin Med* 1989; 114:473.
478. Gaustadnes M, Rüdiger N, Rasmussen K, Ingerslev J. Intermediate and severe hyperhomocysteinemia with thrombosis: a study of genetic determinants. *Thromb Haemost.* 2000;83(4):554-8
479. Mezzano D, Muñoz X, Martínez C, et al. Vegetarians and cardiovascular risk factors: hemostasis, inflammatory markers and plasma homocysteine. *Thromb Haemost.* 1999;81(6):913-17

480. Andersson A, Brattström L, Israelsson B, et al. Plasma homocysteine before and after methionine loading with regard to age, gender, and menopausal status. *Eur J Clin Invest*. 1992;22(2):79-87
481. Desouza C, Keebler M, McNamara DB, Fonseca V. Drugs affecting homocysteine metabolism: impact on cardiovascular risk. *Drugs*. 2002;62(4):605-16
482. Dierkes J, Westphal S, Luley C. The effect of fibrates and other lipid-lowering drugs on plasma homocysteine levels. *Expert Opin Drug Saf*. 2004;3(2):101-11
483. Kang SS, Wong PW, Susmano A, et al. Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase: an inherited risk factor for coronary artery disease. *Am J Hum Genet*. 1991;48(3):536-45
484. Frosst P, Blom HJ, Milos R, et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet*. 1995;10(1):111
485. Gallagher PM, Meleady R, Shields DC, et al. Homocysteine and risk of premature coronary heart disease. Evidence for a common gene mutation. *Circulation*. 1996;94(9):2154-8
486. Kluijtmans LA, Young IS, Boreham CA, et al. Genetic and nutritional factors contributing to hyperhomocysteinemia in young adults. *Blood*. 2003;101(7):2483-8
487. Guttormsen AB, Ueland PM, Nesthus I, et al. Determinants and vitamin responsiveness of intermediate hyperhomocysteinemia (≥ 40 micromol/liter). The Hordaland Homocysteine Study. *J Clin Invest*. 1996;98(9):2174-83
488. Harmon DL, Woodside JV, Yarnell JW, et al. The common 'thermolabile' variant of methylene tetrahydrofolate reductase is a major determinant of mild hyperhomocysteinemia. *QJM*. 1996;89(8):571-7
489. Robinson K, Arheart K, Refsum H, et al. Low circulating folate and vitamin B6 concentrations: risk factors for stroke, peripheral vascular disease, and coronary artery disease. European COMAC Group. *Circulation* 1998; 97:437.
490. Rimm EB, Willett WC, Hu FB, et al. Folate and vitamin B6 from diet and supplements in relation to risk of coronary heart disease among women. *JAMA* 1998; 279:359.
491. Selhub J, Jacques PF, Wilson PW, et al. Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population. *JAMA* 1993; 270:2693.
492. Ubbink JB, Vermaak WJ, van der Merwe A, Becker PJ. Vitamin B-12, vitamin B-6, and folate nutritional status in men with hyperhomocysteinemia. *Am J Clin Nutr* 1993; 57:47.
493. Jacques PF, Selhub J, Bostom AG, et al. The effect of folic acid fortification on plasma folate and total homocysteine concentrations. *N Engl J Med* 1999; 340:1449.
494. Vermeulen EG, Stehouwer CD, Twisk JW, et al. Effect of homocysteine-lowering treatment with folic acid plus vitamin B6 on progression of subclinical atherosclerosis: a randomised, placebo-controlled trial. *Lancet* 2000; 355:517.
495. Harker LA, Ross R, Slichter SJ, Scott CR. Homocystine-induced arteriosclerosis. The role of endothelial cell injury and platelet response in its genesis. *J Clin Invest* 1976; 58:731.
496. Tsai JC, Perrella MA, Yoshizumi M, et al. Promotion of vascular smooth muscle cell growth by homocysteine: a link to atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91:6369.

497. McCully KS, Carvalho AC. Homocysteine thiolactone, N-homocysteine thiolactonyl retinamide, and platelet aggregation. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1987; 56:349.
498. Majors A, Ehrhart LA, Pezacka EH. Homocysteine as a risk factor for vascular disease. Enhanced collagen production and accumulation by smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997;17(10):2074
499. Al-Obaidi MK, Stubbs PJ, Amersey R, Noble MI. Acute and convalescent changes in plasma homocysteine concentrations in acute coronary syndromes. *Heart* 2001; 85:380.
500. Hajjar KA. Homocysteine-induced modulation of tissue plasminogen activator binding to its endothelial cell membrane receptor. *J Clin Invest.* 1993;91(6):2873-9
501. Lentz SR, Sadler JE. Inhibition of thrombomodulin surface expression and protein C activation by the thrombogenic agent homocysteine. *J Clin Invest.* 1991;88(6):1906
502. Hayashi T, Honda G, Suzuki K. An atherogenic stimulus homocysteine inhibits cofactor activity of thrombomodulin and enhances thrombomodulin expression in human umbilical vein endothelial cells. *Blood.* 1992;79(11):2930
503. Poddar R, Sivasubramanian N, DiBello PM, et al. Homocysteine induces expression and secretion of monocyte chemoattractant protein-1 and interleukin-8 in human aortic endothelial cells: implications for vascular disease. *Circulation.* 2001;103(22):2717-23
504. Stühlinger MC, Tsao PS, Her JH, et al. Homocysteine impairs the nitric oxide synthase pathway: role of asymmetric dimethylarginine. *Circulation.* 2001;104(21):2569-75
505. Stamler JS, Osborne JA, Jaraki O, et al. Adverse vascular effects of homocysteine are modulated by endothelium-derived relaxing factor and related oxides of nitrogen. *J Clin Invest.* 1993;91(1):308
506. Starkebaum G, Harlan JM. Endothelial cell injury due to copper-catalyzed hydrogen peroxide generation from homocysteine. *J Clin Invest.* 1986;77(4):1370-6
507. Willems FF, Aengevaeren WR, Boers GH, et al. Coronary endothelial function in hyperhomocysteinemia: improvement after treatment with folic acid and cobalamin in patients with coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol.* 2002;40(4):766.
508. van Guldener C, Stehouwer CD. Hyperhomocysteinaemia and vascular disease--a role for DNA hypomethylation? *Lancet.* 2003;361(9370):1668
509. Ingrosso D, Cimmino A, Perna AF, et al. Folate treatment and unbalanced methylation and changes of allelic expression induced by hyperhomocysteinaemia in patients with uraemia. *Lancet.* 2003;361(9370):1693
510. Kang SS, Wong PW, Susmano A, et al. Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase: an inherited risk factor for coronary artery disease. *Am J Hum Genet* 1991; 48:536.
511. Kang SS, Wong PW, Malinow MR. Hyperhomocyst(e)inemia as a risk factor for occlusive vascular disease. *Annu Rev Nutr.* 1992; 12:279-98
512. den Heijer M, Koster T, Blom HJ, et al. Hyperhomocysteinemia as a risk factor for deep-vein thrombosis. *N Engl J Med* 1996; 334:759.
513. den Heijer M, Rosendaal FR, Blom HJ, et al. Hyperhomocysteinemia and venous thrombosis: a meta-analysis. *Thromb Haemost* 1998; 80:874.

514. Ray JG. Meta-analysis of hyperhomocysteinemia as a risk factor for venous thromboembolic disease. *Arch Intern Med* 1998; 158:2101.
515. Eichinger S, Stümpflen A, Hirschl M, et al. Hyperhomocysteinemia is a risk factor of recurrent venous thromboembolism. *Thromb Haemost* 1998; 80:566.
516. Ridker PM, Hennekens CH, Selhub J, et al. Interrelation of hyperhomocyst(e)inemia, factor V Leiden, and risk of future venous thromboembolism. *Circulation* 1997; 95:1777.
517. De Stefano V, Casorelli I, Rossi E, et al. Interaction between hyperhomocysteinemia and inherited thrombophilic factors in venous thromboembolism. *Semin Thromb Hemost* 2000; 26:305.
518. Tsai AW, Cushman M, Tsai MY, et al. Serum homocysteine, thermolabile variant of methylene tetrahydrofolate reductase (MTHFR), and venous thromboembolism: Longitudinal Investigation of Thromboembolism Etiology (LITE). *Am J Hematol* 2003; 72:192.
519. Bezemer ID, Doggen CJ, Vos HL, Rosendaal FR. No association between the common MTHFR 677C->T polymorphism and venous thrombosis: results from the MEGA study. *Arch Intern Med* 2007; 167:497.
520. Naess IA, Christiansen SC, Romundstad PR, et al. Prospective study of homocysteine and MTHFR 677TT genotype and risk for venous thrombosis in a general population--results from the HUNT 2 study. *Br J Haematol* 2008; 141:529.
521. den Heijer M, Willems HP, Blom HJ, et al. Homocysteine lowering by B vitamins and the secondary prevention of deep vein thrombosis and pulmonary embolism: A randomized, placebo-controlled, double-blind trial. *Blood* 2007; 109:139.
522. Ray JG, Kearon C, Yi Q, et al. Homocysteine-lowering therapy and risk for venous thromboembolism: a randomized trial. *Ann Intern Med* 2007; 146:761.
523. Clarke R, Daly L, Robinson K, et al. Hyperhomocysteinemia: an independent risk factor for vascular disease. *N Engl J Med* 1991; 324:1149.
524. Christen WG, Ajani UA, Glynn RJ, Hennekens CH. Blood levels of homocysteine and increased risks of cardiovascular disease: causal or casual? *Arch Intern Med* 2000; 160:422.
525. Cleophas TJ, Hornstra N, van Hoogstraten B, van der Meulen J. Homocysteine, a risk factor for coronary artery disease or not? A meta-analysis. *Am J Cardiol* 2000; 86:1005.
526. Homocysteine Studies Collaboration. Homocysteine and risk of ischemic heart disease and stroke: a meta-analysis. *JAMA*. 2002;288(16):2015-2022
527. Klerk M, Verhoef P, Clarke R, et al. MTHFR 677C-->T polymorphism and risk of coronary heart disease: a meta-analysis. *JAMA* 2002; 288:2023.
528. Kohara K, Fujisawa M, Ando F, et al. MTHFR gene polymorphism as a risk factor for silent brain infarcts and white matter lesions in the Japanese general population: The NILS-LSA Study. *Stroke* 2003; 34:1130.
529. Humphrey LL, Fu R, Rogers K, et al. Homocysteine level and coronary heart disease incidence: a systematic review and meta-analysis. *Mayo Clin Proc* 2008; 83:1203.
530. Vasan RS, Beiser A, D'Agostino RB, et al. Plasma homocysteine and risk for congestive heart failure in adults without prior myocardial infarction. *JAMA* 2003; 289:1251
531. Kim NK, Choi BO, Jung WS, et al. Hyperhomocysteinemia as an independent risk factor for silent brain infarction. *Neurology* 2003; 61:1595.

532. Kelly PJ, Rosand J, Kistler JP, et al. Homocysteine, MTHFR 677C-->T polymorphism, and risk of ischemic stroke: results of a meta-analysis. *Neurology*. 2002;59(4):529.
533. Tanne D, Haim M, Goldbourt U, et al. Prospective study of serum homocysteine and risk of ischemic stroke among patients with preexisting coronary heart disease. *Stroke* 2003; 34:632.
534. Boysen G, Brander T, Christensen H, et al. Homocysteine and risk of recurrent stroke. *Stroke* 2003; 34:1258.
535. Nygård O, Nordrehaug JE, Refsum H, et al. Plasma homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 1997; 337:230.
536. Wald DS, Law M, Morris JK. Homocysteine and cardiovascular disease: evidence on causality from a meta-analysis. *BMJ* 2002; 325:1202.
537. Casas JP, Bautista LE, Smeeth L, et al. Homocysteine and stroke: evidence on a causal link from mendelian randomisation. *Lancet* 2005; 365:224.
538. Lewis SJ, Ebrahim S, Davey Smith G. Meta-analysis of MTHFR 677C->T polymorphism and coronary heart disease: does totality of evidence support causal role for homocysteine and preventive potential of folate? *BMJ* 2005; 331:1053.
539. Smith SC Jr, Milani RV, Arnett DK, et al. Atherosclerotic Vascular Disease Conference: Writing Group II: risk factors. *Circulation* 2004; 109:2613.
540. Wilson PW. Homocysteine and coronary heart disease: how great is the hazard? *JAMA* 2002; 288:2042.
541. Rosenson RS, Tangney CC. Preanalytical sources of measurement error: the conundrum of the homocysteine hypothesis. *Atherosclerosis* 2007; 194:520.
542. Kupferminc MJ, Eldor A, Steinman N, et al. Increased frequency of genetic thrombophilia in women with complications of pregnancy. *N Engl J Med* 1999; 340:9.
543. Kirke PN, Mills JL, Molloy AM, et al. Impact of the MTHFR C677T polymorphism on risk of neural tube defects: case-control study. *BMJ* 2004; 328:1535.
544. Elting LS, Escalante CP, Cooksley C, et al. Outcomes and cost of deep venous thrombosis among patients with cancer. *Arch Intern Med* 2004; 164:1653.
545. Khorana AA, Francis CW, Culakova E, et al. Thromboembolism in hospitalized neutropenic cancer patients. *J Clin Oncol* 2006; 24:484.
546. Stein PD, Beemath A, Meyers FA, et al. Pulmonary embolism as a cause of death in patients who died with cancer. *Am J Med* 2006; 119:163.
547. Ku GH, White RH, Chew HK, et al. Venous thromboembolism in patients with acute leukemia: incidence, risk factors, and effect on survival. *Blood* 2009; 113:3911
548. Trousseau A. *Phlegmasia alba dolens*. Clinique Medicale de l'Hotel-Dieu de Paris, 2^a ed. Paris: J. B. Bailliére, vol 3; 1865; 654-712
549. Cohen AT, Alikhan R, Arcelus JL, et al. Assessment of venous thromboembolism risk and Benefits of thromboprophylaxis in medical patients. *Thromb Haemost* 2005; 94(4): 750-759
550. Salah S, Wan JY, Nguyen NP. Venous thrombosis in patients with solid tumors: determination of frequency and characteristics. *Thromb Haemost*. 2002;87:575-579
551. Heit JA, O'Fallon WM, Petterson TM, et al. Relative impact of risk factors for deep vein thrombosis and pulmonary embolism: a population- based study. *Arch Intern Med*. 2002; 162: 1.245-1.248

552. Chew HK, Wun T, Harvey D, et al. Incidence of venous thromboembolism and its effect on survival among patients with common cancers. *Arch Intern Med.* 2006; 166 (4): 458-464
553. Khorana AA, Rao MV. Approaches to risk-stratifying cancer patients for venous thromboembolism. *Thromb Res.* 2007; 120 Supl 2: S41-S50
554. Prandoni P. Cancer and thromboembolic disease: how important is the risk of thrombosis? *Cancer Treat Rev.* 2002; 28 (3):133-136
555. Buller HR, Van Doormal FF, Van Sluis GL, et al. Cancer and thrombosis: from molecular mechanisms to clinical presentations. *J Thromb Haemost.* 2007; 5 Supl 1: 246-254
556. Sorensen HT, Mellekjaer L, Olsen JH, Baron JA. Prognosis of cancer associated with venous thromboembolism. *N Engl J Med.* 2000; 343 (25):1846-1850
557. Lyman GH. Venous thromboembolism in the patient with cancer: focus on burden of disease and benefits of thromboprophylaxis. *Cancer* 2011; 117:1334 .
558. Isla Casado MD. Factores de riesgo y pronóstico del paciente. En: Colomer Bosch R, Martín Jiménez M, eds. Consenso SEOM sobre enfermedad tromboembólica en pacientes con cáncer. Madrid: Prodrug Multimedia , 2009; 19-27
559. Lee AY, Levine MN, Butler G, et al. Incidence, risk factors, and outcomes of catheter-related thrombosis in adult patients with cancer. *J Clin Oncol.* 2006; 24: 1.404-1.408
560. Mohren M, Markmann I, Jentsch-Ullrich K, et al. Increased risk of venous thromboembolism in patients with acute leukaemia. *Br J Cancer* 2006; 94:200.
561. Gerber DE, Segal JB, Levy MY, et al. The incidence of and risk factors for venous thromboembolism (VTE) and bleeding among 1514 patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation: implications for VTE prevention. *Blood* 2008; 112:504.
562. Heit JA, Silverstein MD, Mohr DN, et al, Risk factors for deep vein thrombosis and pulmonary embolism: a population-based case control study. *Arch Intern Med* 2000; 160: 809-815
563. Bauer KA. Venous thromboembolism in malignancy. *J Clin Oncol.* 2000;18(17): 306
564. Bura A, Cailleux N, Bienvenu B, et al, Incidence and prognosis of cancer associated with bilateral venous thrombosis : a prospective study of 103 patients. *J Thromb Haemost* 2004, 2: 441-444
565. Sørensen HT, Mellekjaer L, Olsen JH, Baron JA. Prognosis of cancers associated with venous thromboembolism. *N Engl J Med.* 2000;343(25):1846
566. Prandoni P, Lensing AW, Büller HR, et al. Deep-vein thrombosis and the incidence of subsequent symptomatic cancer. *N Engl J Med.* 1992;327(16):1128
567. Douketis JD, Gu C, Piccioli A, et al. The long-term risk of cancer in patients with a first episode of venous thromboembolism. *J Thromb Haemost.* 2009;7(4):546
568. Sørensen HT, Mellekjaer L, Olsen JH, et al. The risk of a diagnosis of cancer after primary deep venous thrombosis or pulmonary embolism. *N Engl J Med.* 1998; 338 (17): 1169.
569. Piccioli A, Lensing AW, Prins MH, et al. Extensive screening for occult malignant disease in idiopathic venous thromboembolism: a prospective randomized clinical trial. *J Thromb Haemost.* 2004; 2 (6): 884-889

570. Di Nisio M, Otten HM, Piccioli A, et al. Decision analysis for cancer screening in idiopathic venous thromboembolism. *J Thromb Haemost.* 2005 Nov;3(11): 2391-6
571. Falanga A. Thrombophilia in cancer. *Semin Thromb Hemost.* 2005; 31 (1): 555-568
572. Haadad TC, Greeno EW. Chemotherapy-induced thrombosis. *Thromb Res.* 2006; 118(5): 555-568
573. Khorana AA, Francis CW, Culakova E, et al. Frequency, risk factors and trends for venous thromboembolism among hospitalized cancer patients. *Cancer.* 2007; 110: 2.339-2.346
574. Kroger K, Weiland D, Ose C, et al. Risk factors for venous thromboembolic events in cancer patients. *Ann Oncol.* 2006; 17:297-303
575. Prandoni P, Lensing AW, Prins MH, et al. Residual venous thrombosis as a predictive factor of recurrent venous thromboembolism. *Ann Intern Med.* 2002; 137: 955-960
576. Prandoni P, Lensing AW, Piccioli A, et al. Recurrent venous thromboembolism and bleeding complications during anticoagulant treatment in patients with cancer and venous thrombosis. *Blood.* 2002; 100: 3.484-3.488
577. Blom JW, Doggen CJ, Osanto S, et al. Malignancies, prothrombotic mutations, and the risk of venous thrombosis. *JAMA.* 2005; 293: 715-722
578. Otten HM, Mathijssen J, ten Cate H, et al. Symptomatic venous thromboembolism in cancer patients treated with chemotherapy. *Arch Intern Med* 2004; 164: 190-194
579. Scappaticci FA, Skillings JR, Holden SN, et al. Arterial thromboembolic events in patients with metastatic carcinoma treated with chemotherapy and bevacizumab. *J Natl Cancer Inst.* 2007; 99: 1.232-1.239.
580. Bennet CL, Angelotta C, Yarnold PR, et al. Thalidomide and Lenalidomide-associated thromboembolism among patients with cancer. *JAMA* 2006; 296: 2558-2560.
581. El Accaoui RN, Shamseddeen WA, Taher AT, et al. Thalidomide and thrombosis: a meta-analysis. *Thromb Haemost: a meta-analysis.* *Thromb Haemost.* 2007; 97: 1031-1036.
582. Fisher B, Constantino J, Redmond C, et al. A randomized clinical trial evaluating tamoxifen in the treatment of patients with node-negative breast cancer who have estrogen receptor-positive tumors. *N Engl J Med.* 1989; 320: 479-484.
583. Cummings SR, Eckert S, Krueger KA, et al. The effect of raloxifene on risk of breast cancer in postmenopausal women: results from the MORE randomized trial. Multiple Outcomes of Raloxifene Evaluation. *JAMA.* 1999; 281: 2189-2197.
584. Bohlius J, Schmidlin K, Brillant C, et al. Recombinant human erythropoiesis-stimulating agents and mortality in patients with cancer: a meta-analysis of randomised trials. *Lancet* 2009; 373 (9.674): 1532-1542
585. Chang J, Elam-Evans LD, Berg CJ, et al. Pregnancy related mortality surveillance—United States, 1991—1999. *MMWR Surveill Summ.* 2003;52:1-8
586. James AH, Jamison MG, Brancazio LR, et al. Venous thromboembolism during pregnancy and the postpartum period: incidence, risk factors, and mortality. *Am J Obstet Gynecol.* 2006;194:1311-1315
587. Heit JA, Kobbervig CE, James AH, et al. Trends in the incidence of venous thromboembolism during pregnancy or postpartum: a 30-year population-based study. *Ann Intern Med.* 2005;143:697-706

588. Kierkegaard A. Incidence and diagnosis of deep vein thrombosis associated with pregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 1983;62(3):239-43
589. James AH, Tapson VF, Goldhaber SZ. Thrombosis during pregnancy and the postpartum period. *Am J Obstet Gynecol.* 2005;193:216-219.
590. Ray JG, Chan WS. Deep vein thrombosis during pregnancy and the puerperium: a meta-analysis of the period of risk and the leg of presentation. *Obstet Gynecol Surv.* 1999;54:265-271
591. Lindqvist P, Dahlback B, Marsal K. Thrombotic risk during pregnancy: a population study. *Obstet Gynecol.* 1999;94:595-599.
592. Simpson EL, Lawrenson RA, Nightingale AL, et al. Venous thromboembolism in pregnancy and the puerperium: incidence and additional risk factors from a London perinatal database. *BJOG.* 2001;108:56-60.
593. Jacobsen AF, Skjeldestad FE, Sandset PM. Incidence and risk patterns of venous thromboembolism in pregnancy and puerperium—a register-based casecontrol study. *Am J Obstet Gynecol.* 2008;198:233 e231-237
594. Goldhaber SZ, Tapson VF. DVT FREE Steering Committee. A prospective registry of 5,451 patients with ultrasound-confirmed deep vein thrombosis. *Am J Cardiol.* 2004;93:259-262
595. Macklon NS, Greer IA, Bowman AW. An ultrasound study of gestational and postural changes in the deep venous system of the leg in pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol.* 1997;104:191-197
596. Whitty J, Dombrowski M. Respiratory diseases in pregnancy. In: Gabbe S, Nieblyl J, Simpson J, eds. *Normal and Problem Pregnancies* (ed 4th). NYC: Churchill Livingstone; 2002:1033-1064
597. Danilenko-Dixon DR, Heit JA, Silverstein MD, et al. Risk factors for deep vein thrombosis and pulmonary embolism during pregnancy or post partum: a population-based, case-control study. *Am J Obstet Gynecol.* 2001;184:104-110
598. Kovacevich GJ, Gaich SA, Lavin JP, et al. The prevalence of thromboembolic events among women with extended bed rest prescribed as part of the treatment for premature labor or preterm premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 2000; 182:1089-1092.
599. Sikovanyecz J, Orvos H, Pal A, et al. Leiden mutation, bed rest and infection: simultaneous triggers for maternal deep-vein thrombosis and neonatal intracranial hemorrhage? *Fetal Diagn Ther.* 2004;19:275-277
600. Pabinger I, Grafenhofer H, Kyrle PA, et al. Temporary increase in the risk for recurrence during pregnancy in women with a history of venous thromboembolism. *Blood.* 2002;100:1060-1062
601. Brill-Edwards P, Ginsberg JS, Gent M, et al; Recurrence of Clot in This Pregnancy Study Group. Safety of withholding heparin in pregnant women with a history of venous thromboembolism. *N Engl J Med.* 2000; 343:1439-1444.
602. Sanson BJ, Lensing AW, Prins MH, et al. Safety of lowmolecular-weight heparin in pregnancy: a systematic review. *Thromb Haemost.* 1999;81:668-672
603. Lepercq J, Conard J, Borel-Derlon A, et al. Venous thromboembolism during pregnancy: a retrospective study of enoxaparin safety in 624 pregnancies. *BJOG.* 2001; 108:1134-1140.
604. Greer IA, Nelson-Piercy C. Low-molecular-weight heparins for thromboprophylaxis and treatment of venous thromboembolism in pregnancy: a systematic review of safety and efficacy. *Blood.* 2005; 106:401-407

605. Rey E, Garneau P, David M, et al. Dalteparin for the prevention of recurrence of placental-mediated complications of pregnancy in women without thrombophilia: a pilot randomized controlled trial. *J Thromb Haemost*. 2009;7:58-64
606. McColl MD, Ramsay JE, Tait RC, et al. Risk factor for pregnancy associated venous thromboembolism. *Thromb Haemost*. 1997 Oct;78(4):1183-8
607. Virkus RA, Løkkegaard EC, Lidegaard O, et al. Venous thromboembolism in pregnancy and the puerperal period. A study of 1210 events. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2013 Jul 19
608. Cohen SH, Ehrlich GE, Kaufman MS, Cope C. Thrombophlebitis following knee surgery. *J Bone Joint Surg*. 1973;55:106-111.
609. Hull RD, Raskob GE. Prophylaxis of venous thromboembolic disease following hip and knee surgery. *J Bone Joint Surg*. 1986;68:146-150
610. Nicolaides AN, Field ES, Kakkar VV, et al. Prostatectomy and deep-vein thrombosis. *Br J Surg*. 1972;59:487-488.
611. Mayo M, Halil T, Browse NL. The incidence of deep vein thrombosis after prostatectomy. *Br J Urol*. 1971;43:738-742.
612. Walsh JJ, Bonnar J, Wright FW. A study of pulmonary embolism and deep vein thrombosis after major gynaecological surgery using labelled fibrinogen, phlebography and lung scanning. *J Obstet Gynaecol Br Commonw*. 1974;81:311-316
613. Geerts WH, Code KI, Jay RM, et al. A prospective study of venous thromboembolism after major trauma. *N Engl J Med*. 1994;331:1601-1606.
614. Myllynen P, Kammonen M, Rokkanen P, et al. Deep venous thrombosis and pulmonary embolism in patients with acute spinal cord injury: a comparison with nonparalyzed patients immobilized due to spinal fractures. *J Trauma*. 1985; 25:541-543
615. Eikelboom JW, Quinlan DJ, Douketis JD. Extended-duration prophylaxis against venous thromboembolism after total hip or knee replacement: a meta-analysis of the randomised trials. *Lancet*. 2001;358:9-15
616. Koster T. Deep-vein thrombosis. A population-based casecontrol study: Leiden Thrombophilia Study; Thesis. Leiden, Rijksuniversiteit Leiden, 1995
617. Bannink L, Doggen CJM, Nelissen RGHH, Rosendaal FR. Increased risk of venous thrombosis after orthopedic and general surgery: results of the MEGA study (abstract). *J Thromb Haemost*. 2005;3 (Suppl1):P1653
618. Eschwège V, Robert A. Strikes in French public transport and resistance to activated protein C. *Lancet*. 1996;347:206
619. Beasley R, Raymond N, Hill S, Nowitz M, Hughes R. eThrombosis: the 21st century variant of venous thromboembolism associated with immobility. *Eur Respir J*. 2003;21:374-376
620. Symington IS, Stack BHR. Pulmonary thromboembolism after travel. *Br J Dis Chest*. 1977;71:138-140.
621. Cruickshank JM, Gorlin R, Jennett B. Air travel and thrombotic episodes: the economy class syndrome. *Lancet*. 1988;ii:497-498
622. Sarvesvaran R. Sudden natural deaths associated with commercial air travel. *Med Sci Law*. 1986;26:35-38
623. Lapostolle F, Surget V, Borron SW, et al. Severe pulmonary embolism associated with air travel. *N Engl J Med*. 2001;345:779-783
624. Kraaijenhagen RA, Haverkamp D, Koopman MM, et al. Travel and risk of venous thrombosis. *Lancet*. 2000;356:1492-1493.

625. Arya R, Barnes JA, Hossain U, et al. Longhaul flights and deep vein thrombosis: a significant risk only when additional factors are also present. *Br J Haematol.* 2002;116:653-654.
626. Martinelli I, Taioli E, Battaglioli T, et al. Risk of venous thromboembolism after air travel: interaction with thrombophilia and oral contraceptives. *Arch Intern Med.* 2003;163:2771-2774
627. Schreijer AJM, Cannegieter SC, Meijers JCM, et al. Coagulation in aviation: activation of the coagulation system during air travel (the WRIGHT Volunteers Study) (abstract). *J Thromb Haemost.* 2005;3 (suppl 1):OR289
628. Boccalon H, Boneu B, Emmerich J, et al. Long-haul flights do not activate hemostasis in young healthy men. *J Thromb Haemost.* 2005;3:1539-1541
629. Belcaro G, Cesarone MR, Shah SS, et al. Prevention of edema, flight microangiopathy and venous thrombosis in long flights with elastic stockings. A randomized trial: The LONFLIT 4 Concorde Edema-SSL Study. *Angiology.* 2002;53:635-645.
630. Cesarone MR, Belcaro G, Nicolaides AN, et al. Venous thrombosis from air travel: the LONFLIT3 study—prevention with aspirin vs low-molecular-weight heparin (LMWH) in high risk subjects: a randomized trial. *Angiology.* 2002;53:1-6).
631. Hughes RJ, Hopkins RJ, Hill S, et al. Frequency of venous thromboembolism in low to moderate risk long distance air travellers: the New Zealand Air Traveller's Thrombosis (NZATT) study. *Lancet.* 2003;362:2039-2044
632. Jordan WM. Pulmonary embolism. *Lancet.* 1961;ii:1146-1147
633. World Health Organization. Haemorrhagic stroke, overall stroke risk, and combined oral contraceptives: results of an international, multicentre, case-control study. WHO Collaborative Study of Cardiovascular Disease and Steroid Hormone Contraception. *Lancet.* 1996; 348:505-510.
634. Kemmeren JM, Tanis BC, van den Bosch MA, et al. Risk of Arterial Thrombosis in Relation to Oral Contraceptives (RATIO) study: oral contraceptives and the risk of ischemic stroke. *Stroke.* 2002;33:1202-1208.
635. van den Bosch MAAJ, Kemmeren JM, Tanis BC, et al. The RATIO study: oral contraceptives and the risk of peripheral arterial disease in young women. *J Thromb Haemost.* 2003;1:439-444.
636. World Health Organization. Venous thromboembolic disease and combined oral contraceptives: results of international multicentre case-control study. World Health Organization Collaborative Study of Cardiovascular Disease and Steroid Hormone Contraception. *Lancet.* 1995;346:1575-1582.
637. Tanis BC, van den Bosch MA, Kemmeren JM, et al. Oral contraceptives and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med.* 2001;345:1787-1793.
638. Koster T, Small RA, Rosendaal FR, Helmerhorst FM. Oral contraceptives and venous thromboembolism: a quantitative discussion of the uncertainties. *J Int Med* 1995;238:31-7
639. Gerstman BB, Piper JM, Tomita DK, et al. Oral contraceptive estrogen dose and the risk of deep venous thromboembolic disease. *Am J Epidemiol.* 1991;133:32-37.
640. Farmer RDT, Preston TD. The risk of venous thromboembolism associated with low-oestrogen oral contraceptives. *J Obst Gynecol.* 1995;15:195-200.
641. Vandenbroucke JP, Rosing J, Bloemenkamp KW, et al. Oral contraceptives and the risk of venous thrombosis. *N Engl J Med.* 2001;344:1527-1535.

642. Rosendaal FR, Helmerhorst FM, Vandenbroucke JP. et al. Female hormones and thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002;22:201-210
643. Spitzer WO, Lewis MA, Heinemann LAJ, Thorogood M, MacRae KD. Third generation oral contraceptives and risk of venous thromboembolic disease: an international case-control study. *BMJ* 1996; 312:83-8.
644. WHO Collaborative Study of Cardiovascular Disease and Steroid Hormone Contraception. Effect of different progestagens in low oestrogen oral contraceptives, on venous thromboembolic disease. *Lancet* 1995;346:1582-8
645. Vandenbroucke JP, Koster T, Briët E, et al. Increased risk of venous thrombosis in oral-contraceptive users who are carriers of factor V Leiden mutation. *Lancet.* 1994;344:1453-1457.
646. Jick H, Kaye JA, Vasilakis-Scaramozza C, et al. Risk of venous thromboembolism among users of third generation oral contraceptives compared with users of oral contraceptives with levonorgestrel before and after 1995: cohort and case-control analysis. *Br Med J.* 2000;321:1190-1195
647. Herings RMC, Urquhart J, Leufkens HGM. Venous thromboembolism among new users of different oral contraceptives. *Lancet.* 1999;354:127-128.
648. Bloemenkamp KWM, Rosendaal FR, Helmerhorst FM, et al. Higher risk of venous thrombosis during early use of oral contraceptives in women with inherited clotting defects. *Arch Intern Med.* 2000;160:49-52
649. Middeldorp S, Meijers JCM, van den Ende AE, et al. Effects on coagulation of levonorgestrel- and desogestrel containing low dose oral contraceptives: a cross-over study. *Thromb Haemost.* 2000;84:4-8.
650. Tans G, Curvers J, Middeldorp S, et al. A randomized cross-over study on the effects of levonorgestrel- and desogestrel-containing oral contraceptives on the anticoagulant pathways. *Thromb Haemost.* 2000;84:15-21.
651. Meijers JCM, Middeldorp S, Tekelenburg W, et al. Increased fibrinolytic activity during use of oral contraceptives is counteracted by an enhanced factor XI-independent down regulation of fibrinolysis: a randomized crossover study of two low-dose oral contraceptives. *Thromb Haemost.* 2000;84:9-14
652. Vasilakis-Scaramozza C, Jick H. Risk of venous thromboembolism with cyproterone or levonorgestrel contraceptives. *Lancet.* 2001;358:1427-1429
653. Jick H, Jick SS, Gurewich V, et al. Risk if idiopathic cardiovascular death and non-fatal venous thromboembolism in women using oral contraceptives with differing progestagen components *Lancet* 1995; 36: 1589-1593.
654. Bloemenkamp KWM, Rosendaal FR, Helmerhorst FM, et al. Enhancement by factor V Leiden mutation of risk of deep-vein thrombosis associated with oral contraceptives containing third-generation progestagen. *Lancet* 1995; 346: 1593-1596.
655. Aguilar C. Anticonceptivos orales y riesgo de enfermedad tromboembólica venosa. *Rev Clin Esp.* 2002;202:275-7 - Vol. 202 Num.5
656. Plu-Bureau G, Amiral J, Guize L, Scarabin PY. Safety of oral contraceptive pills. *Lancet* 1996;347:549
657. Daly L, Bonnar J. Comparative studies of 30 µg ethinylestradiol combined with gestodene and desogestrel on blood coagulation, fibrinolysis and platelets. *Am J Obstet Gynecol* 1990;163:430-7.
658. Abdollahi M, Cushman M, Rosendaal FR. Obesity: risk of venous thrombosis and the interaction with coagulation factors and oral contraceptive use. *Thromb Haemost.* 2003;89:493-498

659. Martinelli I, Rosendaal FR, Vandenbrouck JP, Mannucci PM. Oral contraceptives are a risk factor for cerebral vein thrombosis. *Thromb Haemost* 1996;76:477-8
660. van Hylckama Vlieg A, Van der Linden IK, Bertina RM, Rosendaal FR. High levels of factor IX increase the risk of venous thrombosis. *Blood*. 2000;95:3678-3682.
661. Meijers JC, Tekelenburg WL, Bouma BN, Bertina RM, Rosendaal FR. High levels of coagulation factor XI as a risk factor for venous thrombosis. *N Engl J Med*.2000;342:696-701.
662. van Hylckama Vlieg A, Rosendaal FR. Interaction between oral contraceptive use and coagulation factor levels in deep venous thrombosis. *J Thromb Haemost*.2003;1:2186-2190.
663. Pabinger I, Schneider B; the GTH study group. Thrombotic risk of women with hereditary antithrombin III-, protein C and protein S-deficiency taking oral contraceptive medication. *Thromb Haemost*. 1994;71:548-552
664. Aznar J, Vayá A, Estellés A, Mira Y, Seguí R, Villa P, et al. Risk of venous thrombosis in carriers of the prothrombin G20210A variant and factor V Leiden and their interaction with oral contraceptives. *Haematologica* 2000;85:1271-6
665. Aguilar C; Lucía J.F. Anticonceptivos orales y enfermedad tromboembólica venosa. *Rev Iberoamer Thromb Hemostasia* 2001; 14 (3): 129-137
666. Wolf M, Boyer Neumann, Martinoli JL, et al. A new functional assay for human protein S activity using activated factor V substrate. *Thromb Haemostasis* 1989; 62: 1144-1145
667. Kalafatis M, Rand M.D, Mann KG. The mechanism of inactivation of human factor V and human factor Va by activated protein C. *J. Biol. Chem* 1994; 269: 50, 31869-31880
668. Caen J, Larrieu MJ, Samana M. L'hémostase. Méthodes d'exploration et diagnostic pratique. L'Expansion Scientifique, Paris: 1975
669. Langdell RD, Wagner RH, Brinkhous KM. Effect of antihemophilic factor on one-stage clotting tests 1953; *J. Lab.Clin.Med*; 41, 637-647
670. Larrieu M J, Weilland C. Utilisation de la céphaline dans les tests de coagulation. 1957 ; *Nouv.Rev. Fr. Hématol*; 12, 2, 199-210
671. Thiagarajan P, Pengo V, Shapiro SS: The use of the dilute Russell viper venos time for the diagnosis of lupus anticoagulants *Blood* 1986; 68, 4,869-874
672. Wolf M, Boyer –Neumann C, Peynaud-Debayle E, et al. Clinical applications of a direct assay of free protein S antigen using monoclonal antibodies. A study of 59 cases. *Blood* 1994; *Coag. Fibrinolysis*, 5, 187-192
673. Gharavi AE, Harris EN, Asherson RA, Hughes GR. Anticardiolipin antibodies: isotype distribution and phospholipid specificity. *Ann Rheum Dis*. 1987 Jan;46(1):1-6
674. Estadística no paramétrica de Sydney Siegel, Ed. Trillas, Tercera edición en español, junio 1990
675. Probabilidad y Estadística, Aplicaciones y Métodos de George C. Canavos, Ed. McGRAW-HILL, 1988
676. Estadística, Modelos y Métodos.2. Modelos lineales y series temporales”. Daniel Peña Sanchez de Rivera ,1989
677. BMDP Statistical Software Manual University of California Press, 1992.
678. De Stefano V, Finazzi G, Mannucci PM. Inherited thrombophilia: pathogenesis, clinical syndromes, and management. *Blood* 1996;87:3531-44.

679. Simioni P, Sanson BJ, Prandoni P, Tormene D, Friederich PW, Girolami B, et al. Incidence of venous thromboembolism in families with inherited thrombophilia. *Thromb Haemost* 1999;81:198-202.
680. Vossen CY, Conard J, Fontcuberta J, Makris M, Van Der Meer FJ, Pabinger I, et al. Familial thrombophilia and life- time risk of venous thrombosis. *J Thromb Haemost* 2004;2:1526-32.
681. Vossen CY, Conard J, Fontcuberta J, Makris M, Van Der Meer FJ, Pabinger I, et al. Risk of a first venous thrombotic event in carriers of a familial thrombophilic defect. The European Prospective Cohort on Thrombophilia (EPCOT). *J Thromb Haemost* 2005; 3: 459-64.
682. De Stefano V. Inherited thrombophilia and life-time risk of venous thromboembolism: is the burden reducible ? *J Thromb Haemost* 2004; 2: 1522-5.
683. Mannucci PM, Franchini M. The real value of thrombophilia markers in identifying patients at high risk of venous thromboembolism. *Expert Rev. Hematol* 2014; 7(6), 757-765
684. Santamaria MG, Agnelli G, Taliani MR, et al. Warfarin Optimal Duration Italian Trial (WODIT) Investigators. Thrombophilic abnormalities and recurrence of venous thromboembolism in patients treated with standardized anticoagulant treatment. *Thromb Res.* 2005;116(4):301-6
685. Agnelli G, Prandoni P, Santamaría MG, et al. Three months versus one year of oral anticoagulant therapy for idiopathic deep venous thrombosis. *N Engl J Med* 2001; 345: 165-9
686. Cristina L, Benilde C, Michela C, et al. High plasma levels of factor VIII and risk of recurrence of venous thromboembolism. *British Journal of Haematology* 2004; 124, 504-510
687. O'Donnell J, Tuddenham EG, Manning R, et al. High prevalence of elevated factor VIII levels in patients referred for thrombophilia screening: role of increased synthesis and relationship to the acute phase reaction. *Thrombosis and Haemostasis* 1997; 77, 825-828
688. Eischer L, Gartner V, Schulman S, et al. 6 versus 30 months anticoagulation for recurrent venous thrombosis in patients with high factor VIII. *Annals of Hematology* 2009; 88, 485-490
689. Palareti G, Legnani C, Cosmi B, et al. Risk of venous thromboembolism recurrence: high negative predictive value of D-dimer performed after oral anticoagulation is stopped. *Thromb Haemost.* 2002, 87: 7-12
690. Eichinger S, Minar E, Bialonczyk C, et al. D-dimer levels and risk of recurrent venous thromboembolism. *JAMA* 2003 Aug 27; 290 (8): 1071-4
691. Palareti G, Cosmi B, Legnani C, et al. D-dimer testing to determine the duration of anticoagulation therapy. *N Engl J Med* 2006; 355: 1780-1789
692. Cosmi B, Legnani C, Tosetto A, et al. PROLONG Investigators. Usefulness of repeated D- dimer testing after stopping anticoagulation for a first episode of unprovoked venous thromboembolism: the PROLONG II Prospective Study. *Blood* 2010; 115:481-488.
693. Eichinger S, Heinze G, Kyrle PA. D-dimer levels over time and the risk of recurrent venous thromboembolism: an update of the vienna prediction model. *J Am Heart Assoc.* 2014; Jan 2;3(1):e000467
694. ProcureGroup. Is recurrent venous thromboembolism more frequent in homozygous patients for the factor V Leiden mutation than heterozygous patients? *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2003;14(6):523-529

695. Palareti G, Legnani C, Cosmi B, et al. Predictive value of D-dimer test for recurrent venous thromboembolism after anticoagulation withdrawal in subjects with a previous idiopathic event and in carriers of congenital thrombophilia. *Circulation*. 2003; 108(3):313-318
696. Gonzalez-Porras JR, Garcia-Sanz R, Alberca I, et al. Risk of recurrent venous thrombosis in patients with G20210A mutation in the prothrombin gene or factor V Leiden mutation. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2006;17(1):23-28
697. Wahlander K, Eriksson H, Lundstrom T, et al. THRIVEIII Investigators. Risk of recurrent venous thromboembolism or bleeding in relation to thrombophilic risk factors in patients receiving ximelagatran or placebo for long-term secondary prevention of venous thromboembolism. *Br J Haematol*. 2006; 133(1):68-77
698. Kearon C, Julian JA, Kovacs MJ, et al; ELATE Investigators. Influence of thrombophilia on risk of recurrent venous thromboembolism while on warfarin: results from a randomized trial. *Blood*. 2008;112 (12): 4432-4436
699. Sveinsdottir SV, Saemundsson Y, Isma N, et al. Evaluation of recurrent venous thromboembolism in patients with factor V Leiden mutation in heterozygous form. *Thromb Res*. 2012 Sep; 130 (3): 467-71
700. Baglin T, Gray E, Greaves M, et al. Clinical guidelines for testing for heritable thrombophilia. *Br J Haematol* 2010 Apr; 149 (2): 209-20
701. den Heijer M, Lewington S, Clarke R. Homocysteine, MTHFR and risk of venous thrombosis: a meta-analysis of published epidemiological studies. *J Thromb Haemost* 2005; 3:292-299
702. Hickey SE, Curry CJ, Toriello HV. ACMG Practice Guideline: lack of evidence for MTHFR polymorphism testing. *Genet Med* 2013;15(2):153-156
703. Martí-Carvajal AJ, Solà I, Lathyris D. Homocysteine-lowering interventions for preventing cardiovascular events. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015 Jan 15; 1: CD006612
704. Roldan V, Lecumberri R, Muñoz-Torrero JF, Vicente V, Rocha E, Brenner B, et al; RIETE Investigators. Thrombophilia testing in patients with venous thromboembolism. Findings from the RIETE registry. *Thromb Res*. 2009;124(2): 174-177
705. de Godoy JM, de Godoy MF, Braile DM. Recurrent thrombosis in patients with deep vein thrombosis and/or venous thromboembolism associated with anticardiolipin antibodies. *Angiology*. 2006; 57:79-83
706. Reynaud Q, Lega J-C, Mismetti P, et al. Risk of venous and arterial thrombosis according to type of antiphospholipid antibodies in adults without systemic lupus erythematosus: a systematic review and meta-analysis. *Autoimmunity reviews*, 2014
707. Simioni P, Prandoni P, Zanon E, et al. Deep venous thrombosis and lupus anticoagulant. A case-control study. *Thromb Haemost* 1996; 76:187-9
708. Gingsberg JS, Wells PS, Brill-Edwards P, Donovan D, Moffat K, Johnston M, et al. Antiphospholipid antibodies and venous thromboembolism. *Blood* 1995; 86:3685-91
709. de Groot PG, Lutters B, Derksen RHW, Lisman T, Meijers JCM, Rosendaal FR. Lupus anticoagulants and the risk of a first episode of deep venous thrombosis. *J Thromb Haemost* 2005; 3: 1993-7e
710. García D, Akl Elie A, Carr R, and Kearon C. Antiphospholipid antibodies and the risk of recurrence after a first episode of venous thromboembolism: a systematic review. *Blood*. 2013; 122 (5): 817-824

711. Taliani MR, Becattini C, Agnelli G et al; Warfarin Optimal Duration Italian Trial (WODIT) Investigators. Duration of anticoagulant treatment and recurrence of venous thromboembolism in patients with and without thrombophilic abnormalities. *Thromb Haemost*. 2009; 101(3): 596-598
712. Bank I, Tick LW, Hutten BA, Kramer M H H, Middelporp S, Buller H R. Acquired and inherited thrombophilic factors and the risk for residual venous thrombosis. *Pathophysiol Haemost Thromb* 2003/2004;33:192-196
713. Kearon C, Ginsberg JS, Anderson DR, et al. SOFAST Investigators. Comparison of 1 month with 3 months of anticoagulation for a first episode of venous thromboembolism associated with a transient risk factor. *J Thromb Haemost*. 2004; 2 (5): 743-749
714. Schulman S, Lindmarker P, Holmstrom M, et al. Post-thrombotic syndrome, recurrence, and death 10 years after the first episode of venous thromboembolism treated with warfarin for 6 weeks or 6 months. *J Thromb Haemost*. 2006; 4 (4): 734-742
715. Pengo V, Ruffatti A, Legnani C. et al. Clinical course of high –risk patients diagnosed with antiphospholipid syndrome. *J Thromb Haemost* 2010; 8:237-42
716. Pengo V, Ruffatti A, Legnani C. et al. Incidence of a first thromboembolic event in asymptomatic carriers of high-risk antiphospholipid antibody profile: a multicenter prospective study. *Blood* 2011; 118:4714-8
717. Salzman EW, Hirsh J. The epidemiology, pathogenesis and natural history of venous thrombosis. In: Hemostasis and Thrombosis. Basic Principles and Clinical Practice. Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Salzman EW, eds. Philadelphia: JB Lippincott 1994; 1275-96
718. Nordström M, Lindblad B, Bergqvist D, Kjellström T. A prospective study of the incidence of deep-vein thrombosis within a defined urban population. *J Intern Med* 1992; 232: 155-60.
719. Anderson FA, Wheeler HB, Goldberg RJ, et al. A population based perspective of the hospital incidence and case-fatality rates of deep vein thrombosis and pulmonary embolism. The Worcester DVT study. *Arch Intern Med* 1991;151: 933-8
720. Ridker PM, Glynn RJ, Miletich JP, et al. Age-specific incidence rates of venous thromboembolism among heterozygous carriers of factor V Leiden mutation. *Ann Intern Med* 1997; 126: 528-31
721. Hansson PO, Sorbo J, Eriksson H. Recurrent venous thromboembolism after deep vein thrombosis: incidence and risk factors. *Arch Intern Med*. 2000; 160:769-774.
722. Kearon C. Long-term management of patients after venous thromboembolism. *Circulation*. 2004
723. Kyle PA, Minar E, Bialonczyk C, et al. The risk of recurrent venous Thromboembolism in men and women. *N Engl J Med*. 2004;350:2558
724. Stein PD, Hull RD, Kayali F, et al. Venous thromboembolism according to age: the impact of an aging population. *Arch Intern Med* 2004, 164:2260–2265
725. Heit JA, Mohr DN, Silverstein MD, et al. Predictors of recurrence after deep vein thrombosis and pulmonary embolism: a population-based cohort study. *Arch Intern Med* 2000;160:761–768
726. Laporte S, Mismetti P, Decousus H, et al. Investigators R: Clinical predictors for fatal pulmonary embolism in 15,520 patients with venous thromboembolism: findings from the Registro Informatizado de la Enfermedad TromboEmbolica venosa (RIETE) Registry. *Circulation* 2008, 117:1711–1

727. Bauersachs RM: Use of anticoagulants in elderly patients. *Thromb Res* 2012, 129:107–115
728. Kyrle PA, Minar E, Bialonczyk C, et al. The risk of recurrent venous thromboembolism in men and women. *N Engl J Med* 2004, 350: 2558-2563
729. McRae S, Tran H, Schulman S et al. Effect of patient's sex on risk of recurrent venous thromboembolism: a meta-analysis. *Lancet* 2006, 368: 371-378
730. Douketis J, Tosetto A, Marcucci M et al. Risk of recurrence after venous thromboembolism in men and women: patient level meta-analysis. *BMJ* 2011, 342: d813
731. Roach RE, Lijfering WM, Rosendaal FR, et al. Sex difference in risk of second but not of first venous thrombosis: paradox explained. *Circulation* 2014, 129: 51-56
732. Bouillon F, Pinede L, Schulman S, et al. Influence of preceding length of anticoagulant treatment and initial presentation of venous thromboembolism on risk of recurrence after stopping treatment: analysis of individual participants' data from seven trials. *BMJ*. 2011 May 24;342:d3036
733. Optimum duration of anticoagulant for deep vein thrombosis and pulmonary embolism. Research Committee of the British Thoracic Society. *Lancet*. 1992; 340: 873-876
734. Agnelli G, Prandoni P, Becattini C, Silingardi M, et al. Extend oral anticoagulant therapy after a first episode of pulmonary embolism. *Ann Intern Med* 2003; 139: 19-25
735. Rodger MA, Kahn SR, Wells PS, et al. Identifying unprovoked thromboembolism patients at low risk for recurrence who can discontinue anticoagulant therapy. *CMAJ* 2008;179:417-26
736. Louzada ML, Carrier M, Lazo-langner A, et al. Development of a clinical prediction rule for risk stratification of recurrent venous thromboembolism in patients with cancer-associated venous thromboembolism. *Circulation* 2012; 126: 448-454
737. Chee CE, Ashrani AA, Marks RS, et al. Predictors of venous thromboembolism recurrence and bleeding among active cancer patients: a population-based cohort study. *Blood* 2014; 123:3972-3978
738. White RH, Chan WS, Zhou H, et al. Recurrent venous thromboembolism after pregnancy-associated versus unprovoked thromboembolism. *Thromb Haemost* 2008;100: 246-252
739. Roeters van Lennep JE, Meijer E, Klumper FJ, et al. Prophylaxis with low-dose low-molecular-weight heparin during pregnancy and postpartum: is it effective? *J Thromb Haemost* 2011; 9: 473-480
740. Stein PD, Beemath A, Olson RE. Obesity as a risk factors in venous thromboembolism. *Am J Med* 2005; 118: 978-980.
741. Samana MM. An epidemiologic study of risk factors for deep vein thrombosis in medical outpatients: the Sirius study. *Arch Intern Med* 2000; 160: 3415-3420.
742. Eichinger S, Hron G, Bialonczyk C, et al. Overweight, obesity, and the risk of recurrent venous thromboembolism. *Arch Intern Med* 2008; 168: 1678-1683
743. Olie V, Zhu T, Martinez I, et al. Sex-specific risk factors for recurrent venous thromboembolism. *Thromb Res* 2012; 130: 16-20
744. Douketis J, Tosetto A, Marcucci M, et al. Patient-level meta-analysis: effect of measurement timing, threshold, and patient age on ability of D-dimer testing to assess recurrence risk after unprovoked venous thromboembolism. *Ann Intern Med* 2010; 153: 523-531

- 745. Hutten BA, Prins MH. Duration of treatment with vitamin K antagonists in symptomatic venous thromboembolism. *Cochrane Database Syst Rev* 2000; (3): CD001367
- 746. Gauthier K, Kovacs MJ, Wells PS, et al. Family history of venous thromboembolism (VTE) as a predictor for recurrent VTE in unprovoked VTE patients. *J Thromb Haemost*. 2013 Jan;11(1):200-3
- 747. Hron G, Eichinger S, Weltermann A, et al. Family history for venous thromboembolism and the risk of recurrence. *Ann J Med* 2006; 119: 50-3.

