

## Coagulación y fibrinólisis plasmática. Estados de hipercoagulabilidad

---

La hemostasia normal consiste en un equilibrio entre acciones procoagulantes, que causan la producción de fibrina por efecto de las vías de la coagulación, y anticoagulantes. Las acciones anticoagulantes se ejercen a través de la fibrinólisis, que destruye la fibrina ya formada por su digestión por la plasmina, y a través de los inhibidores de la coagulación, de los cuales los principales son el sistema proteína C-proteína S, la antitrombina y el inhibidor de la vía del factor tisular. Las alteraciones sistémicas en el mecanismo hemostático dan lugar, de forma característica, a trombosis locales y segmentarias en el árbol vascular. Actualmente, se cree que la naturaleza focal de las lesiones trombóticas se comprende mejor en el contexto de unas vías específicas de señalización para el árbol vascular, lo que podría explicar la existencia de un fenotipo trombótico focal asociado con la pérdida de funciones anticoagulantes en la circulación sistémica.

**G. Espinosa<sup>a</sup> y J.C. Reverter<sup>b</sup>**

<sup>a</sup>Unidad de Enfermedades Autoinmunes Sistémicas.

<sup>b</sup>Servicio de Hemoterapia y Hemostasia.  
Hospital Clínic. Barcelona.

El sistema hemostático, constituido por componentes celulares y proteínas plasmáticas solubles, mantiene la sangre en estado fluido<sup>1</sup>. En respuesta a una lesión endotelial, las plaquetas se adhieren al subendotelio expuesto, se activan, agregan otras plaquetas circulantes y proporcionan la superficie fosfolipídica adecuada para el ensamblaje de diferentes compuestos enzimáticos de la cascada de la coagulación que generan gran cantidad de trombina en esa zona.

### El sistema de la coagulación

La coagulación sanguínea es el conjunto de reacciones que dan lugar a la formación de trombina, enzima clave de la coagulación, en el punto de lesión vascular (fig. 1)<sup>2</sup>. Este sistema se inicia en la superficie de las células endoteliales a través de la exposición del factor tisular al torrente sanguíneo. Éste se une al factor VII activado (FVIIa), y el complejo enzimático resultante activa los factores IX y X<sup>3</sup>. Los FVIIa, FIXa y FXa intervienen en un sistema de retroalimentación positiva al activar el factor VII unido al factor tisular. Por otra parte, el FIXa por la vía del factor tisular, activa el factor X, en una reacción que es acelerada por un cofactor, el FVIIIa. La exposición del factor tisular da lugar a la vía extrínseca de la coagulación y es el mecanismo por el cual se inicia la coagulación *in vivo* en respuesta a la lesión vascular. Otra vía de la coagulación es la vía intrínseca formada por el FXII, el quininógeno de alto peso molecular, la precalicreína y el FXI. El papel fisiopatológico de esta vía no está completamente aclarado ya que no interviene significativamente en la coagulación a partir de la lesión vascular y, además, los déficit congénitos de las proteínas de este sistema no provocan problemas hemorrágicos excepto la deficiencia del FXI. El resultado final de las dos vías descritas es la activación del FX. El FXa forma con su cofactor, el FV, el complejo protrombinasa que convierte el FII (protrombina) en FIIa (trombina). La activación del factor V se produce por el FXa y la trombina. En la etapa final de la coagulación, la trombina divide el fibrinógeno para generar monómeros de fibrina que se polimerizan uniéndose unos a otros para formar un coágulo que es estabilizado

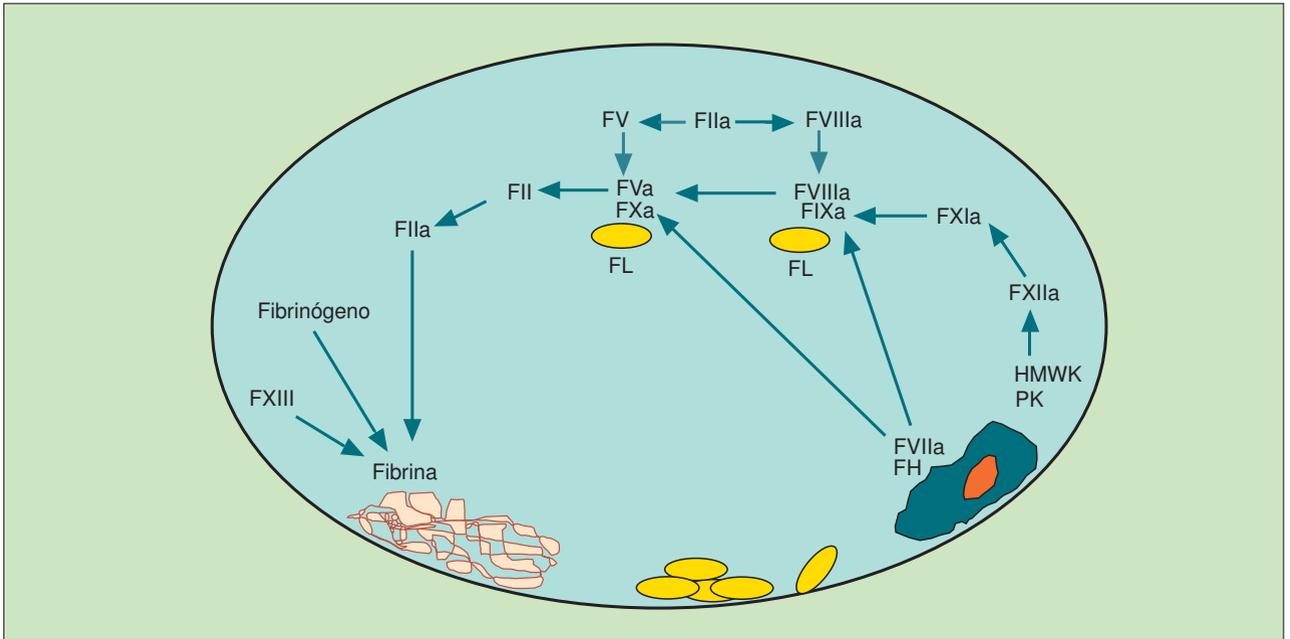


Fig. 1. Esquema de las vías intrínseca y extrínseca de la coagulación. FT: factor tisular; HMWK: kininógeno de alto peso molecular; PK: precalicreína; FL: fosfolípidos.

por el FXIII. La trombina también se retroalimenta activando al FVIII y al FIX. El FVIII circula unido al factor von Willebrand<sup>4</sup> y, una vez activado, se separa de éste y forma junto al FIXa en la superficie plaquetaria un complejo que activa al FX. La activación del FXI por la trombina es otro sistema de retroalimentación que da lugar a la generación de FIXa, el cual activa a su vez al FX<sup>5</sup>.

La cascada de la coagulación sanguínea tiene la capacidad de amplificar un pequeño estímulo inicial para po-

der formar un coágulo de fibrina. Sin embargo, la naturaleza explosiva de este sistema no puede existir sin mecanismos de regulación (o anticoagulantes naturales) que eviten una coagulación masiva (fig. 2). Así, el inhibidor de la vía del factor tisular (TFPI) es una proteína plasmática asociada a una lipoproteína que forma un complejo cuaternario con el factor tisular, el FXa y el FVIIa e inhibe la vía extrínseca de la coagulación<sup>6</sup>. Muchos de los factores activados durante la activación de la coagulación son inhibidos por la antitrombina. Se

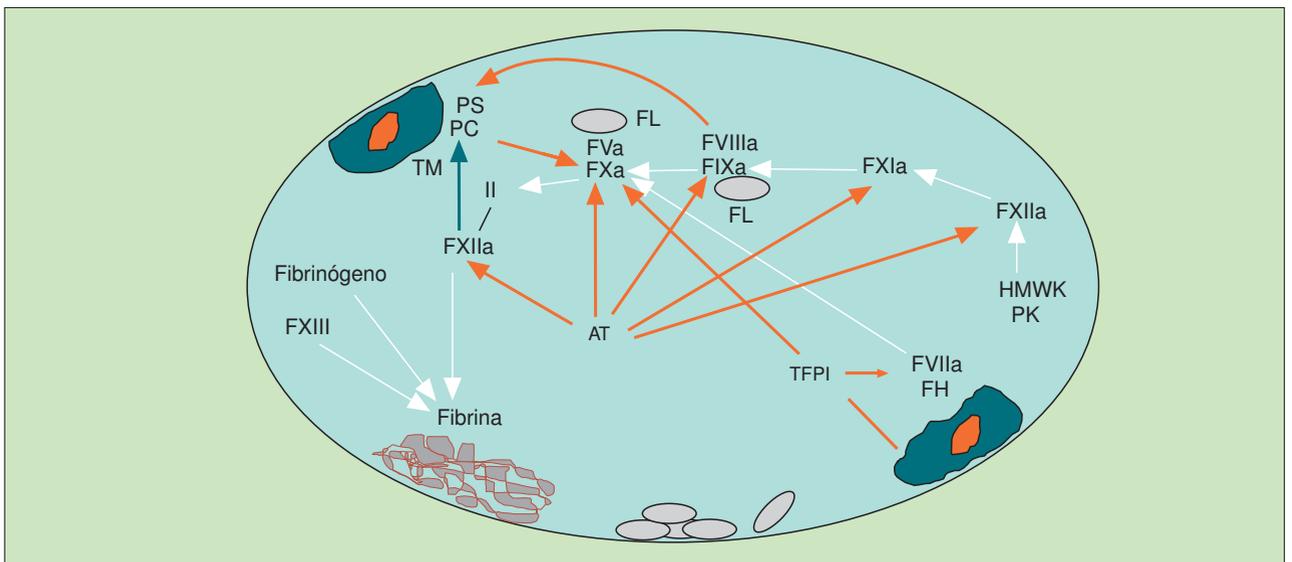


Fig. 2. Esquema de los sistemas anticoagulantes naturales de la coagulación. TFPI: inhibidor de la vía del factor tisular; AT: antitrombina; PC: proteína C; PS: proteína S; TM: trombomodulina.

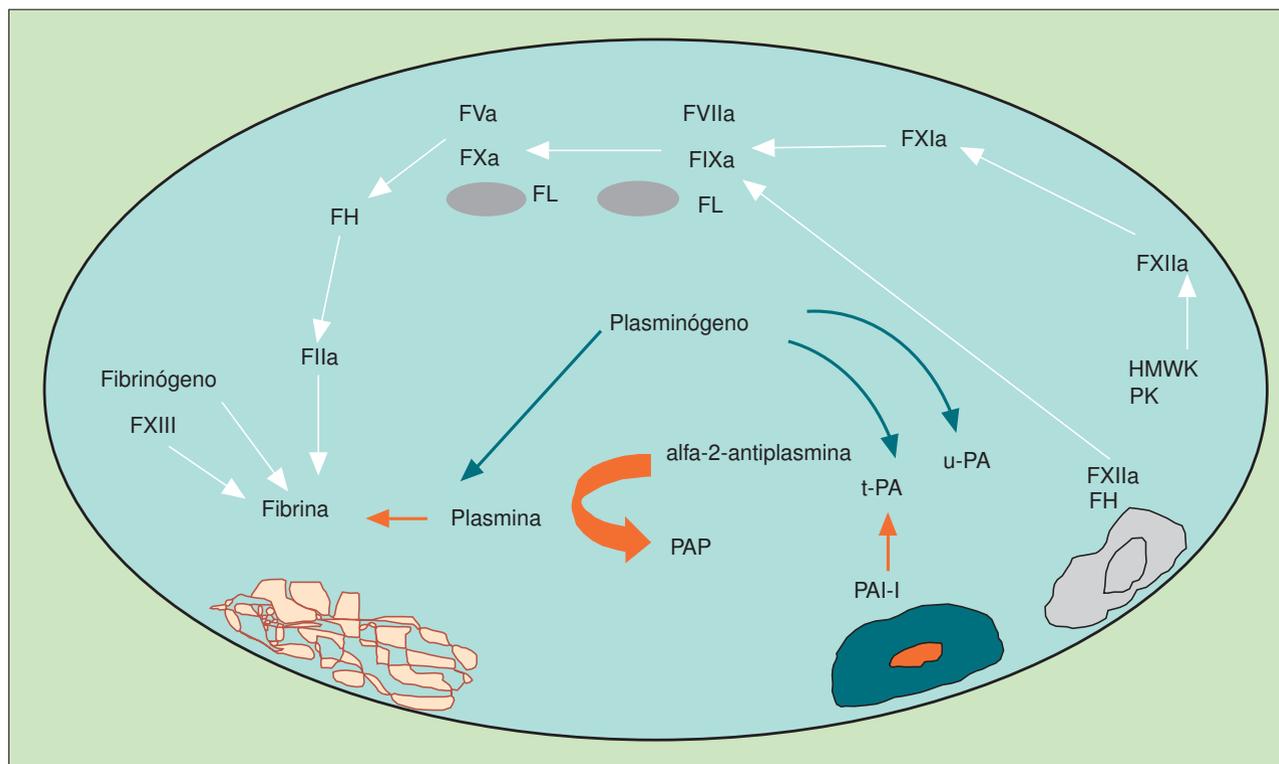


Fig. 3. Esquema de la fibrinólisis. t-PA: activador tisular del plasminógeno; PAI-1: inhibidor tipo 1 del t-PA; u-PA: urocinasa; PAP: complejos plasmina-antiplasmina.

trata de una proteína que inhibe la actividad de las enzimas de la vía intrínseca y común de la coagulación. En presencia del heparán sulfato endógeno, la tasa de inactivación se incrementa 200 veces más. En presencia de trombomodulina unida a las células endoteliales, la trombina activa la proteína C, que, a su vez, destruye el FVa y el FVIIIa<sup>7</sup>. Como otras reacciones de la hemostasia, la acción de la proteína C activada es acelerada por un cofactor, en este caso, la proteína S. Finalmente, diferentes reacciones del sistema de la fibrinólisis culminan con la formación de la fibrina, una serinproteasa que elimina el coágulo de fibrina del vaso. Por tanto, el correcto funcionamiento del sistema hemostático depende del adecuado balance entre las reacciones procoagulantes, por un lado, y las anticoagulantes y fibrinolíticas, por otro. Cualquier anomalía que afecte a este sistema puede alterar dicho equilibrio y ocasionar estados de riesgo trombótico o hemorrágico.

### El sistema de la fibrinólisis

El sistema de la fibrinólisis es una cascada enzimática que consta de una serie de activadores e inhibidores que regulan la conversión del plasminógeno en plasmina. La generación de plasmina libre en la superficie del trombo conduce a la lisis de la fibrina, dando lugar a los productos de degradación de la fibrina (fig. 3).

La regulación del sistema de la fibrinólisis está mediada por interacciones moleculares específicas entre sus principales componentes y por la síntesis y posterior liberación a partir de las células endoteliales de los activadores e inhibidores de los activadores del plasminógeno. Por tanto, un incremento de la actividad del sistema de la fibrinólisis favorece la aparición de trastornos hemorrágicos, mientras que el defecto de la actividad fibrinolítica puede predisponer a la trombosis.

### Componentes del sistema de la fibrinólisis

Las enzimas del sistema de la fibrinólisis son proteasas del tipo serina, es decir, su *locus* activo está compuesto por los aminoácidos serina, ácido aspártico e histidina, dando lugar a la llamada región catalítica. Este *locus* activo se localiza en la región carboxiterminal de las moléculas, mientras que las regiones aminoterminales contienen uno o más dominios estructurales y funcionales, como los dominios *finger* (por analogía con los *finger* de la fibronectina), el dominio factor de crecimiento epidérmico (EFG) y los dominios *kringle*. Los inhibidores del sistema de la fibrinólisis son miembros de la superfamilia de las serpinas (inhibidores de las serinproteasas). En este caso, en el extremo carboxiterminal poseen un péptido reactivo específico (arginina-X o

TABLA 1  
Características químicas y genéticas de los componentes de la fibrinólisis

	PM (kD)	NÚMERO	REGIÓN CATALÍTICA O LOCUS REACTIVO	CROMOSOMA
Plasminógeno	92	791	—	6
t-PA	68	530	His <sup>322</sup> Asp <sup>371</sup> Ser <sup>478</sup>	6
u-PA	54	411	His <sup>204</sup> Asp <sup>255</sup> Ser <sup>356</sup>	10
$\alpha_2$ -antiplasmina	70	464	Arg <sup>364</sup> Met <sup>365</sup>	18
PAI-1	52	379	Arg <sup>364</sup> Met <sup>347</sup>	7
PAI-2	47,60	393	Arg <sup>358</sup> Thr <sup>359</sup>	18
u-PAR	50,60	283*	—	19

\*Si bien u-PAR se sintetiza como una glucoproteína de 313 aminoácidos, ésta es posteriormente procesada en su extremo carboxiterminal en una de 283 aminoácidos que, precisamente, es la que se une a la membrana plasmática.

PM: peso molecular (expresado en kilodaltons). (Para las demás abreviaturas v. texto.)

lisina-X) que está unido a su enzima. Ello da lugar a una estructura inactiva con una función de inhibición enzimática. Las características químicas y genéticas de los principales componentes del sistema de la fibrinólisis quedan resumidas en la tabla 1.

#### Plasminógeno

El plasminógeno humano es una glucoproteína de cadena simple de 92 kD formada por 791 aminoácidos y 24 puentes disulfuro<sup>8</sup>. La molécula se organiza en siete dominios estructurales, repartidos en un «péptido de preactivación» (aminoácidos 1-77), cinco dominios secuenciales homólogos, denominados *kringle* (estructuras de tres bucles unidos por puentes disulfuro de 80 aminoácidos cada una de ellas), y el dominio proteasa (aminoácidos 562-791). Los dominios *kringle* contienen lisina en los puntos específicos que median la unión del plasminógeno a la fibrina y la interacción de la plasmina con la  $\alpha_2$ -antiplasmina. Por tanto, desempeñan un papel crucial en el reconocimiento de la fibrina, de la superficie celular y de la  $\alpha_2$ -antiplasmina. El plasminógeno se convierte en plasmina al romperse la unión Arg<sup>561</sup>-Val<sup>562</sup>. El gen del plasminógeno está localizado en el brazo largo del cromosoma 6, concretamente en las bandas q26 o q27, y consta de 19 exones y 18 intrones<sup>9</sup>. Cada uno de los cinco dominios *kringle* es codificado por dos exones separados por un intrón situado en el centro de cada estructura.

#### Activador tisular del plasminógeno

El activador tisular del plasminógeno (t-PA) es una proteasa serínica de 68 kD, compuesta por 530 aminoácidos<sup>10</sup>. La molécula está organizada en varios dominios como el dominio *finger*, que comprende los aminoácidos 4-50, el dominio EFG, con los aminoácidos 50-87, y dos dominios *kringle*, con los aminoácidos 87-176 y 176-262, que se localizan en el extremo aminoterminal de la molécula. Por el contrario, en el extremo carboxiterminal se localiza el dominio de la proteasa que comprende los aminoácidos 276-527, constituyendo la llamada región

catalítica<sup>10</sup>. Estos diferentes dominios median diferentes funciones de la enzima. Así, la unión del t-PA a la fibrina está mediada fundamentalmente por el dominio *finger* y el segundo de los dominios *kringle*. Por otra parte, el t-PA es degradado por la plasmina, por hidrólisis del puente Arg<sup>275</sup>-Ile<sup>276</sup>, a una estructura de dos cadenas inactiva. El gen del t-PA se localiza en el cromosoma 8 (bandas 8,p.12-q.11.2) y está compuesto por 14 exones y 13 intrones<sup>11</sup>.

#### Urocinasa

El scu-PA o prourocinasa es una glucoproteína de 54 kD que contiene 411 aminoácidos<sup>12</sup>. En este caso, la tríada catalítica se localiza igualmente en el extremo carboxiterminal, mientras que en el aminoterminal se localizan el dominio EFG y un dominio *kringle*. El dominio EFG es el responsable de la unión del scu-PA a su receptor, el cual está presente en la superficie de varios tipos celulares. La scu-PA se transforma en tcu-PA o urocinasa por la rotura de la unión Lis<sup>158</sup>-Ile<sup>159</sup>. El gen de la tcu-PA se localiza en el cromosoma 10. Contiene 11 exones y la organización intrón-exón del gen se asemeja bastante a la del gen del t-PA<sup>11</sup>.

#### Receptor del activador del plasminógeno tipo urocinasa

El receptor del activador del plasminógeno tipo urocinasa (u-PAR) es una glucoproteína de 50-60 kD compuesta por 313 aminoácidos que se une a la tcu-PA a través de los dominios EFG de ésta. Está formado por tres dominios estructurales homólogos, de los cuales el fragmento aminoterminal es el que se une a la tcu-PA<sup>13</sup>. La unión de scu-PA al u-PAR parece ser crucial para la activación de la tcu-PA. Esta unión provoca un aumento en la generación de plasmina debido, por una parte, a la activación del plasminógeno y, por otra parte, a la activación por retroalimentación de scu-PA en tcu-PA por la plasmina generada. El gen del u-PAR se localiza en el cromosoma 19, en las bandas q13.1-q13.2, y está constituido por 7 exones<sup>14</sup>.

### Alfa-2-antiplasmina

La molécula de  $\alpha_2$ -antiplasmina fue descrita originalmente como una glucoproteína de 452 aminoácidos. Actualmente, se sabe que en realidad son 464 aminoácidos los que forman la estructura de esta glucoproteína de 70 kD<sup>15</sup>. Posee una característica única entre las serpinas, ya que su extremo carboxiterminal de 51 aminoácidos contiene un *locus* secundario de unión que reacciona con los sitios de unión de lisina de los dominios *kringle* 1-3 del plasminógeno y de la plasmina<sup>16</sup>. El gen de la  $\alpha_2$ -antiplasmina está localizado en el cromosoma 18, bandas p11.1-q11.2. Contiene 10 exones, y el exón IV es el encargado de codificar la región aminoterminal donde se encuentra el punto de unión de la fibrina. El exón X, por su parte, es el que codifica la región carboxiterminal en donde se sitúa el lugar de unión para el plasminógeno.

### Inhibidor del activador tisular del plasminógeno

Los dos principales inhibidores del activador tisular del plasminógeno (PAI) son el PAI-1 y el PAI-2. El PAI-1 es una glucoproteína de cadena única de 52 kD compuesta por 379 aminoácidos<sup>17</sup>. La molécula de PAI-1 se estabiliza a través de su unión con la proteína S o vitronectina. El gen del PAI-1 se localiza en el cromosoma 7, bandas q21.3-q22, y está constituido por 9 exones. El PAI-2 es una serpina de 393 aminoácidos<sup>18</sup>, de la que existen dos formas diferentes con propiedades cinéticas similares; una forma intracelular no glucosilada de 47 kDa y una forma glucosilada de 60 kDa. La función de PAI-2 intracelular es desconocida ya que su enzima de unión, la t-PA, es extracelular. Se cree que podría comportarse como un *pool* del cual el PAI-2 podría secretarse en caso de lesión celular<sup>19</sup>. El gen del PAI-2 se localiza en el cromosoma 18, bandas q21-q23. Contiene 8 exones y su estructura varía ligeramente del del PAI-1.

### Activación del plasminógeno a plasmina

Todos los activadores del plasminógeno convierten a éste en plasmina a través de la rotura de la unión Arg<sup>561</sup>-Val<sup>562</sup>. La molécula de plasmina que se forma es de doble cadena y está compuesta por una cadena pesada que contiene los cinco *kringles* (extremo aminoterminal del plasminógeno) y una cadena ligera (extremo carboxiterminal) que contiene la región catalítica, compuesta por His<sup>603</sup>, Asp<sup>646</sup> y Ser<sup>741</sup>.

### Inhibición de la plasmina por $\alpha_2$ -antiplasmina

La  $\alpha_2$ -antiplasmina forma, junto a la plasmina, un complejo 1:1 inactivo. Esta inhibición se lleva a cabo mediante dos reacciones consecutivas: la primera, rápida, da lugar a un complejo inactivo reversible que es seguida por una segunda reacción, más lenta, de la que

resulta un complejo inactivo irreversible. La vida media de las moléculas de plasmina generadas en la superficie de la fibrina es 2 o 3 veces mayor que la de la fibrina libre o circulante<sup>20</sup>.

### Mecanismo de acción del activador tisular del plasminógeno

#### En presencia de fibrina

El t-PA es una enzima con poca actividad en ausencia de fibrina. Sin embargo, en presencia de ésta aumenta de manera notable el grado de activación sobre el plasminógeno<sup>21</sup>. La formación de los monómeros de fibrina mediada a partir de la trombina y su posterior polimerización son esenciales para la estimulación del plasminógeno a partir del t-PA. El grado óptimo de estimulación sólo se consigue después de la rotura prematura de la cadena A $\alpha$  del extremo carboxiterminal y de la cadena B $\beta$  del fragmento aminoterminal de la fibrina, lo que da lugar a los polímeros X<sup>22</sup>. Existen datos que sugieren que la fibrina actúa como la superficie en la cual el t-PA y el plasminógeno formarían un complejo ternario. La formación de este complejo da lugar a un aumento de la afinidad del t-PA por el plasminógeno<sup>23</sup>.

Recientemente, se ha caracterizado el inhibidor de la fibrinólisis activable por la trombina (TAFI), el cual se activa por el complejo trombina-trombomodulina<sup>24</sup>. Se trata de una carboxipeptidasa que inhibe la fibrinólisis, eliminando residuos Arg o Lys en el extremo carboxiterminal de la fibrina parcialmente degradada. Con ello inhibe la lisis de la fibrina por la plasmina activada por el t-PA.

#### En la superficie celular

Algunos tipos celulares poseen la capacidad de unir a los activadores del plasminógeno y al mismo plasminógeno en su superficie, lo que da lugar a un aumento de la activación de éste<sup>25</sup> y, a la vez, protege a la plasmina unida de su inhibición por la  $\alpha_2$ -antiplasmina<sup>26</sup>. Algunos estudios han demostrado que el endotelio regula la fibrinólisis pericelular al modular la expresión de los receptores del plasminógeno<sup>27</sup>. Una proteína de membrana de 40 kD (relacionada con la anexina II) se ha propuesto como el receptor funcional del t-PA<sup>28</sup>, de manera que el t-PA unido a la superficie celular mantiene su actividad enzimática y, además, queda protegido de la inhibición del PAI-1. Por tanto, la unión del plasminógeno y de sus activadores al endotelio vascular favorece la generación de plasmina y puede ejercer un papel importante en el mantenimiento del fluido sanguíneo.

Estos receptores celulares también pueden intervenir en la eliminación rápida del t-PA del torrente circulatorio. Así, las células endoteliales hepáticas poseen unos re-

ceptores que reconocen los *kringle* 1 y las células del parénquima hepático contienen un receptor dependiente del calcio que es capaz de interactuar con los dominios *finger* y/o EFG del t-PA. Los hepatocitos contienen, además, receptores de alta afinidad para la unión y degradación de los complejos t-PA/PAI siendo también capaces de unirse, aunque con menor afinidad, al t-PA circulante.

### Mecanismo de acción de la urocinasa

#### *En presencia de fibrina*

En el plasma, en ausencia de fibrina, la scu-PA es estable y no activa el plasminógeno. En presencia del coágulo de fibrina la scu-PA induce la lisis específica de este coágulo<sup>29</sup>. Además, la  $\alpha_2$ -antiplasmina impide la conversión de scu-PA a tcu-PA fuera del coágulo y mantiene su especificidad por la fibrina. El fragmento E-2 de la fibrina estimula específicamente la activación del plasminógeno por la scu-PA. Scu-PA es, por tanto, un activador deficiente del plasminógeno cuando éste se presenta unido a los residuos de lisina de la fibrina intacta, pero presenta una alta actividad por el plasminógeno unido a residuos de lisina del extremo carboxi-terminal formados a partir de la fibrina parcialmente degradada.

#### *En la superficie celular*

La unión de la scu-PA al u-PAR desempeña un papel crucial en su activación en condiciones fisiológicas. Como se ha mencionado anteriormente, esta unión provoca un aumento en la generación de plasmina debido, por una parte, a la activación del plasminógeno y por otra parte, a la activación por retroalimentación de scu-PA en tcu-PA por la plasmina generada<sup>30</sup>. La plasmina unida a la célula queda protegida de su inactivación por la  $\alpha_2$ -antiplasmina; además, favorece la activación de la scu-PA unida a su receptor. Este sistema se puede inhibir eficazmente por el PAI-1 y el PAI-2<sup>31</sup>. Si bien se ha sugerido que la activación del plasminógeno se produciría a partir de la formación de un complejo que dependería del u-PAR, los mecanismos por los que funciona este receptor son, hoy por hoy, desconocidos.

### Inhibición de los activadores del plasminógeno

En la inhibición del t-PA humano se han involucrado numerosos mecanismos. Así, el PAI-1 es un inhibidor rápido del t-PA que, en condiciones normales, se encuentra en el plasma a bajas concentraciones. Además, el t-PA se inhibe de forma más lenta por la  $\alpha_2$ -antiplasmina,  $\alpha_1$ -antitripsina y el C1-inhibidor. Sin embargo, la principal vía de eliminación del t-PA del torrente circulatorio es la hepática.

En el plasma humano, la tcu-PA es lentamente inhibida por varias proteasas, como  $\alpha_2$ -macroglobulina,  $\alpha_1$ -antitripsina, antitrombina,  $\alpha_2$ -antiplasmina y el PAI-3, que corresponde al inhibidor de la proteína C activada<sup>32</sup>, aunque el PAI-1 y el PAI-2 son responsables de su inhibición de forma más rápida y específica. A diferencia de la tcu-PA, la scu-PA no se inhibe por proteasas plasmáticas sino que el principal mecanismo de eliminación es la vía hepática.

El PAI-1 reacciona con el t-PA de cadena simple y de doble cadena y con la tcu-PA pero no con la scu-PA. Las regiones de la molécula de t-PA y de tcu-PA con carga positiva son las responsables de esta rápida reacción. El PAI-1 se elimina del torrente circulatorio a través de la vía hepática<sup>33</sup>. Por su parte, el PAI-2 inhibe más lentamente la tcu-PA que el PAI-1. También actúa de forma eficaz sobre el t-PA de doble cadena, de forma menos eficaz sobre el t-PA de cadena simple y no inhibe la scu-PA.

### Síntesis y secreción de los activadores del plasminógeno

Las células endoteliales sintetizan y secretan el t-PA al torrente circulatorio. Se ha demostrado que estas células sintetizan más t-PA si existe lesión arterial y que la estimulación del endotelio vascular en forma de oclusión venosa, infusión de DDAVP o epinefrina y el ejercicio físico provocan una rápida liberación (en minutos) de t-PA<sup>34</sup>. Esta respuesta es demasiado rápida para ser explicada con un aumento de la síntesis de t-PA y, por tanto, puede reflejar la liberación de los depósitos celulares de t-PA, aunque la existencia de éstos no ha sido confirmada. Algunas sustancias como la trombina que estimula la liberación de t-PA de las células endoteliales también estimula la secreción de PAI-1. La síntesis de t-PA por las células endoteliales también se incrementa por una gran variedad de sustancias como la trombina, la histamina, del factor de crecimiento fibroblástico y la proteína C activada. Sustancias vasoactivas como la histamina y la trombina, a través de la activación de la fosfolipasa C –a través de ésta, activando la proteinquinasa C– regulan la síntesis de t-PA. Mientras esta síntesis de t-PA tiene lugar fundamentalmente en las células endoteliales, la de scu-PA se produce en otras variedades celulares del organismo, como fibroblastos, células epiteliales y neumocitos.

### Síntesis y secreción de los inhibidores de los activadores del plasminógeno

La existencia de ARNm de PAI-1 en una gran variedad de tejidos sugiere que numerosos y diversos tipos celulares, como el endotelio o las células de músculo liso, pueden ser su lugar de producción. El PAI-1 se localiza en el plasma, las plaquetas, la placenta y la matriz extracelular.

lar. Excepto en las plaquetas, que contienen esencialmente PAI-1 inactivo, el PAI-1 no se almacena en las células y sí, en cambio, se secreta rápidamente después de su síntesis, de forma que posee un ritmo circadiano con una concentración plasmática más elevada por la mañana y más baja por la tarde y por la noche, mientras que el t-PA presenta una variación circadiana opuesta.

La síntesis y secreción de PAI-1 está modulada por varios agonistas, como hormonas, factores de crecimiento, endotoxinas y citocinas. En las células endoteliales, la expresión del gen del PAI-1 se estimula por los lipopolisacáridos, la interleucina 1, el factor de necrosis tumoral alfa, el factor de crecimiento fibroblástico, la trombina, las lipoproteínas de muy baja densidad y la insulina. Por otra parte, en las células endoteliales adyacentes al coágulo, en las células del músculo liso de la neointima y en los macrófagos, la expresión de ARNm está aumentada, detectándose PAI-1. Este aumento de su expresión en la pared arterial inducida por la trombosis puede provocar un desequilibrio entre la fibrinólisis y la trombosis a favor de esta última<sup>35</sup>.

El PAI-2 se ha identificado en la placenta y en el plasma de embarazadas y se secreta por los leucocitos y por las células de fibrosarcoma. Su secreción se activa por la endotoxina que estimula la transcripción del gen del PAI-2<sup>36</sup>.

### Factores de riesgo trombotico

Los llamados estados hipercoagulables congénitos están constituidos por anomalías protrombóticas bien establecidas, la mayoría de las cuales son hereditarias. Tradicionalmente, estas causas genéticas de trombofilia se han estudiado en el contexto de familias con tendencia a padecer trombosis. La prevalencia estimada de estas alteraciones en la población general es de 1 cada 3.000-5.000 habitantes, mientras que una o más de estas anomalías trombofílicas pueden encontrarse en un 40-60% de los pacientes con un primer episodio de

trombosis venosa<sup>37</sup>. Sin embargo, la prevalencia de estos factores en pacientes con trombosis es muy variable y oscila entre el 20% del factor V de Leiden y el 1% del déficit de antitrombina (tabla 2)<sup>37</sup>. Finalmente, se están evaluando en la actualidad nuevas anomalías, entre las que destacan un gran número de polimorfismos (de los factores II, VII, XII y XIII, de las proteínas C y S, del t-PA y t-PA y del PAI-1)<sup>38</sup>, de los que quizás los más prometedores sean los valores plasmáticos de FVIII y FXI. En dos situaciones pueden coexistir fenómenos tromboticos arteriales y venosos: el síndrome antifosfolipídico relacionado con la presencia de anticuerpos dirigidos contra complejos de fosfolípidos y proteínas y la hiperhomocisteinemia.

Existen, en segundo lugar, los denominados estados hipercoagulables adquiridos constituidos por un grupo heterogéneo de procesos en los que existe un riesgo elevado de aparición de trombosis cuando se compara con el de la población general. Entre ellos destacan el embarazo, la edad avanzada, la inmovilización, el uso de estrógenos, la cirugía, las neoplasias, el síndrome nefrótico, los síndromes mieloproliferativos y la hemoglobinuria paroxística nocturna, los cuales pueden cursar con trombosis arteriales y venosas<sup>39</sup>.

### Déficit de antitrombina

Se transmite de forma autosómica dominante y su prevalencia en la población general varía entre el 0,02% en donantes sanos<sup>40</sup> y el 0,5-1%<sup>41</sup> en una población de pacientes con trombosis no seleccionados. Se transmite de forma autosómica dominante y la forma homocigota es incompatible con la vida. Característicamente, los pacientes afectados desarrollan trombosis antes de los 25 años<sup>42</sup>. Es la alteración en la que la probabilidad de desarrollar trombosis en individuos afectados es más elevada. Menos del 1% de todos los fenómenos tromboticos se deben a este déficit<sup>43</sup>.

### Déficit de proteína C

La deficiencia heterocigota de proteína C se ha asociado a un aumento del riesgo trombotico<sup>44</sup>. Se transmite de forma autosómica dominante y su forma homocigota ocasiona graves trombosis neonatales. La prevalencia de trombosis en estos pacientes es del 3%<sup>41,45</sup> y su prevalencia en la población general es del 0,2%<sup>46</sup>. Todo ello hace que el riesgo relativo de trombosis asociado a este déficit de proteína C sea de 15<sup>43</sup>. Entre el 1 y el 2% de todos los fenómenos tromboticos se debe a este déficit<sup>32</sup>.

### Déficit de proteína S

Desde 1984 se han descrito familias con este déficit<sup>47</sup>, de manera que su herencia es autosómica dominante y

TABLA 2  
Prevalencia estimada de factores protrombóticos hereditarios en pacientes con trombosis venosa profunda y en la población general

	PACIENTES CON TROMBOSIS VENOSA (%)	POBLACIÓN GENERAL (%)
Déficit de antitrombina III	1-2	0,1-0,3
Déficit de proteína C	2-3	0,2-0,5
Déficit de proteína S	2-3	0,2-0,5
Factor V de Leiden	10-20	3-7
Hiperhomocisteinemia	10-20	2-6
Protrombina G20210A	5-6	1-3
Niveles elevados del factor VIII	10-15	6-8

Tomado de Lensing et al<sup>37</sup>.

su frecuencia es similar al déficit de proteína C. El mismo defecto genotípico puede dar lugar a variables fenotípicas como el tipo I (proteína S total baja y proteína S libre baja) o el tipo III (proteína S libre baja con proteína S total normal)<sup>48</sup>. Si a esto unimos el efecto de las variables adquiridas (sobre todo la edad), el espectro clínico de trombosis en este déficit es muy amplio<sup>48</sup>. Se ha comunicado que el 1% de todos los fenómenos trombóticos se deben a este déficit<sup>43</sup>.

### Resistencia a la proteína C activada y factor V de Leiden

En 1993, Dahlbäck et al<sup>49</sup> describieron tres pacientes con trombosis que eran portadores de un nuevo defecto en la vía anticoagulante de la proteína C en forma de una disminución de la actividad anticoagulante del plasma frente a la proteína C activada o resistencia a la proteína C activada (RPCA). Un año más tarde, el mismo autor<sup>50</sup> y Bertina<sup>51</sup> llegaron a la conclusión de que el 80% de todos los individuos con RPCA eran portadores de una mutación en el exón 10 del gen del factor V, constituyendo el llamado factor V de Leiden. La mutación consiste en un cambio G por A en la posición 1.691 del gen que codifica el factor V<sup>51</sup>, de forma que en la población caucásica constituye la mutación genética que da lugar a trombosis más prevalente<sup>52-54</sup>. Se presenta en el 20% de los pacientes con trombosis<sup>55</sup> y es, por tanto, la anomalía genética más frecuente en pacientes con trombosis. Su prevalencia en la población sana de origen caucásico varía entre el 2 y el 15%<sup>56</sup>. La presencia de la mutación está asociada a un riesgo incrementado de trombosis de 3 a 8 veces en la forma heterocigota y de al menos 80 veces en la forma homocigota<sup>53</sup>.

El estado de RPCA también puede aparecer en ausencia del factor V de Leiden. En este caso puede ser secundaria a causas de origen genético o adquiridas. Entre las primeras destaca la reciente descripción de otra mutación en el factor V (factor V de Cambridge), que afecta a otro punto de acción de la proteína C sobre el factor V, mientras que el embarazo, los anticonceptivos orales o la existencia de un anticoagulante lúpico son causas adquiridas de RPCA.

### Mutación G20210A del gen de la protrombina

Descrita en 1996, esta mutación constituye la segunda situación de riesgo trombótico más prevalente y está presente en el 6% de los pacientes con trombosis<sup>57</sup>. La mutación no afecta a la función de la protrombina, sino que se asocia a un aumento de la concentración plasmática de ésta. Su prevalencia en la población de raza blanca es del 2%<sup>58</sup> y se ha descrito un aumento del riesgo trombótico de 2 a 5 veces en relación con su presencia<sup>59</sup>.

### Hiperhomocisteinemia

Los valores plasmáticos elevados de homocisteína se asocian con un aumento del riesgo de trombosis arteriales y, de forma dudosa, de trombosis venosas<sup>60</sup>. La hiperhomocisteinemia puede ser consecuencia de factores adquiridos o genéticos<sup>61</sup> de manera que la mayoría de los individuos con un aumento de la misma no son portadores de ninguna variación genética, sino que presentan un deterioro del metabolismo de la metionina, en el que la hiperhomocisteinemia está producida por un consumo alimentario insuficiente de ácido fólico y vitaminas B<sub>6</sub> o B<sub>12</sub><sup>62</sup>. Entre las variaciones genéticas destacan las mutaciones de la cistationina β-sintetasa o de la metilén-tetrahidrofolato reductasa<sup>63</sup>. Un polimorfismo frecuente de esta última, el C677T, se asocia con la presencia de una enzima termolábil y valores elevados de homocisteína<sup>64</sup>, aunque su papel como factor de riesgo trombótico es controvertido<sup>64</sup>.

### Anticuerpos antifosfolipídicos

Los anticuerpos antifosfolipídicos, ya sea en forma de anticoagulante lúpico o anticuerpos anticardiolipina, constituyen un factor de riesgo trombótico adquirido que se relaciona con el desarrollo tanto de trombosis arteriales como venosas. Junto a la trombocitopenia y a los abortos de repetición, constituyen el llamado síndrome antifosfolipídico<sup>65</sup>. Actualmente, se sabe que, en realidad, estos anticuerpos están dirigidos contra un complejo de fosfolípido y proteína (o cofactor), de los cuales se han reconocido la β<sub>2</sub>-glucoproteína I<sup>66</sup> y la protrombina<sup>67</sup>. La presencia de anticoagulante lúpico estaría presente entre el 2 y el 14% del total de las trombosis<sup>43</sup>.

### Anomalías congénitas del fibrinógeno

Aproximadamente un 12% de las denominadas disfibrinogenemias presentan episodios trombóticos, de manera que se han descrito cuadros de trombosis graves, venosas o arteriales en 34 familias, mientras que otras 6 variantes presentaban simultáneamente hemorragias y trombosis<sup>68</sup>. Los mecanismos descritos en estas anomalías consisten en un aumento de la resistencia de la fibrina a la lisis por la plasmina o bien un defecto de la activación del plasminógeno por el t-PA en presencia de fibrina.

### Anomalías congénitas del plasminógeno

En 1978 se detectó la existencia de una displasminogenemia en una familia japonesa con tendencia trombótica grave. Desde entonces se han descrito diversas anomalías moleculares del plasminógeno, con alteración en el centro activo y activación defectuosa a plasmina,

asociadas a trombosis venosas recurrentes<sup>69</sup>. En la mayoría de casos en los que se conoce el defecto molecular, éste consiste en una sustitución en el lugar activo del amoninoácido lisina en posición 600 por treonina. En otros casos se trata de moléculas de plasminógeno con menor afinidad por sus activadores.

### Valores elevados de factor VIII

El FVIII actúa como un reactante de fase aguda y su origen es sólo parcialmente conocido. En aquellos pacientes que presenten valores plasmáticos persistentemente elevados a lo largo del tiempo puede existir una predisposición genética. La prevalencia de valores elevados de este factor en pacientes con trombosis venosa es de aproximadamente el 15%<sup>70</sup>, por lo que en el futuro su determinación se incluirá, muy probablemente, en el cribado de rutina de trombofilia.

### Valores elevados de factor XI

El déficit de FXI se asocia clínicamente a manifestaciones hemorrágicas. Su papel en las trombosis en humanos no está claramente definido, si bien existe un trabajo en el que se ha relacionado los niveles plasmáticos elevados de FXI con el desarrollo de trombosis venosas<sup>71</sup>. Según este estudio, el 11% de todos los casos de trombosis venosas en la población general pueden ser atribuidos a valores elevados de FXI.

## Indicaciones del estudio de hipercoagulabilidad

Existen una serie de indicaciones en las que este estudio se debe llevar a cabo de forma obligada (tabla 3). En estos casos una historia familiar de trombosis es un factor a tener en cuenta a la hora de realizar el estudio. Otras situaciones en las que parece estar indicado son las trombosis idiopáticas y las que aparecen en el curso del embarazo, el puerperio y el período neonatal, así

TABLA 3  
Situaciones que requerirán de un estudio de hipercoagulabilidad

Historia familiar de tromboembolismo venoso Trombosis idiopática recurrente Trombosis de aparición en sujetos jóvenes <sup>a</sup> Asociación de trombosis arteriales y venosas Asociación de trombosis y pérdidas fetales Trombosis en lugares inusuales <sup>b</sup> Necrosis cutánea inducida por cumarínicos Púrpura fulminante neonatal
---

<sup>a</sup>Menores de 50 años para la trombosis venosa profunda y de 40 años en trombosis arteriales.

<sup>b</sup>Trombosis axilar o viscerales (p. ej. cerebral o mesentérica).

como mujeres con pérdidas fetales de repetición, complicaciones gestacionales graves y aquellas que desarrollan trombosis tras el uso prolongado de anticoncepción oral<sup>72</sup>.

Este estudio se ha de posponer un mínimo de 2 meses desde la aparición de la trombosis para evitar el posible artefacto inducido por reactantes de fase aguda sobre diversos componentes hemostáticos. Además se ha de tener en cuenta el posible efecto del tratamiento recibido en el momento del estudio, ya que la heparina reduce la actividad funcional de la antitrombina y los anticoagulantes orales disminuyen la concentración de proteínas C y S<sup>73</sup>. Por tanto, y siempre que sea posible, se ha de realizar el estudio una vez completado el tratamiento anticoagulante y como mínimo 3 semanas después de haberlo suspendido.

La importancia de estos estudios se basa en que el conocimiento de una situación de hipercoagulabilidad puede orientar hacia la intensidad y duración del tratamiento anticoagulante (que puede ser indefinida) de forma más individualizada, marcar el rango de anticoagulación requerido, avisar del riesgo de complicaciones (como la necrosis cutánea por cumarínicos en el déficit de proteína C), sugerir la necesidad o intensidad de pautas de profilaxis y, en el caso de familiares asintomáticos de sujetos con hipercoagulabilidad, es importante identificar si el defecto está presente porque ello permitirá establecer pautas de profilaxis antitrombótica en situaciones de riesgo<sup>74</sup>.

## Bibliografía

- Rosenberg RD, Aird WC. Mechanism of disease: Vascular-bed-specific hemostasis and hypercoagulable states. *N Engl J Med* 1999; 340: 1555-1564.
- Dahlbäck B. Blood coagulation. *Lancet* 2000; 355: 1627-1632.
- Mann KG, Vant't Veer C, Cawthorn K, Butenas S. The role of the tissue factor pathway in initiation of coagulation. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1998; 9: S3-S7.
- Sadler JE. Biochemistry and genetics of von Willebrand factor. *Annu Rev Biochem* 1998; 67: 395-424.
- Gailani D, Broze GJ Jr. Factor XI activation in a revised model of blood coagulation. *Science* 1991; 253: 909-912.
- Broze GJ Jr. Tissue factor pathway inhibitor. *Thromb Haemost* 1995; 74: 90-93.
- Dahlbäck B. The protein C anticoagulant system: inherited defects as basis for venous thrombosis. *Thromb Res* 1995; 77: 1-43.
- Forsgren M, Raden B, Israelsson M, Larsson K, Heden LO. Molecular cloning and characterization of a full-length cDNA clone for human plasminogen. *FEBS Lett* 1987; 213: 254-260.
- Murray JC, Buetow KH, Donovan M et al. Linkage disequilibrium of plasminogen polymorphisms and assignment of the gene to human chromosome 6q26-6q27. *Am J Hum Genet* 1987; 40: 338-350.
- Pennica D, Holmes WE, Kohr WJ et al. Cloning and expression of human tissue-type plasminogen activator cDNA in *E. coli*. *Nature* 1983; 301: 214-221.
- Rajput B, Degen SF, Reich E et al. Chromosomal locations of human tissue plasminogen activator and urokinase genes. *Science* 1985; 230: 672-674.
- Holmes WE, Pennica D, Blaber M et al. Cloning and expression

- of the gene for prourokinase in *Escherichia coli*. Biotechnology 1985; 3: 923.
13. Lijnen HR, Bachmann F, Collen D et al. Mechanism of plasminogen activation. J Intern Med 1994; 236: 415-424.
  14. Borglum AD, Byskov A, Ragno P et al. Assignment of the urokinase-type plasminogen activator receptor gene (PLAUR) to chromosome 19q13.1-q13.2. Am J Hum Genet 1992; 50: 492-497.
  15. Bangert K, Johnsen AH, Christensen U, Thorsen S. Different N-terminal forms of  $\alpha_2$ -plasmin inhibitor in human plasma. Biochem J 1993; 291: 623-625.
  16. Collen D. The plasminogen (fibrinolytic) system. Thromb Haemost 1999; 82: 259-270.
  17. Pannekoek H, Veerman H, Lambers H et al. Endothelial plasminogen activator inhibitor (PAI): a new member of the serpin gene family. EMBO J 1986; 5: 2539-2544.
  18. Ye RD, Wun TC, Sadler JE. cDNA cloning and expression in *Escherichia coli* of a plasminogen activator inhibitor from human placenta. J Biol Chem 1987; 262: 3718-3725.
  19. Belin D. Biology and facultative secretion of plasminogen activator inhibitor-2. Thromb Haemost 1993; 70: 144-147.
  20. Wiman B, Collen D. On the kinetics of the reaction between human antiplasmin and plasmin. Eur J Biochem 1978; 84: 573-578.
  21. Hoylaerts M, Rijken DC, Lijnen HR, Collen D. Kinetics of the activation of plasminogen by human tissue plasminogen activator. Role of fibrin. J Biol Chem 1982; 257: 2912-2919.
  22. Thorsen S. The mechanism of plasminogen activation and the variability of the fibrin effector during tissue-type plasminogen activator-mediated fibrinolysis. Ann NY Acad Sci 1992; 667: 52-63.
  23. Wiman B. The fibrinolytic enzyme system. Hemat/Oncol Clin North Am 2000; 2: 325-338.
  24. Bajzar L, Manuel R, Nesheim ME. Purification and characterization of TAFI, a thrombin-activable fibrinolysis inhibitor. J Biol Chem 1995; 270: 14477-14484.
  25. Hajjar KA, Hamel NM, Harpel PC, Nachman RL. Binding of tissue plasminogen activator to cultured human endothelial cells. J Clin Invest 1987; 80: 1712-1719.
  26. Plow EF, Freaney DE, Plescia J, Miles LA. The plasminogen system and cell surfaces: evidence for plasminogen and urokinase receptors on the same cell type. J Cell Biol 1986; 103: 2411-2420.
  27. Félez J, Miles LA, Fàbregas P et al. Characterization of cellular binding sites and interactive regions within reactants required for enhancement of plasminogen activation by t-PA on the surface of leukocytic cells. Thromb Haemost 1996; 76: 577-584.
  28. Hajjar KA, Jacovina AT, Chacko J. An endothelial receptor for plasminogen/tissue plasminogen activator I. Identify with annexin II. J Biol Chem 1994; 269: 21191-21197.
  29. Gurewich V, Pannell R, Louie S, Kelley P, Suddith RL, Greenle R. Effective and fibrin-specific clot lysis by a zimogen precursor form of urokinase (pro-urokinase). A study *in vitro* and in two animal species. J Clin Invest 1984; 73: 1731-1739.
  30. Ellis V, Scully MF, Kakkar VV. Plasminogen activation initiated by single-chain urokinase-type plasminogen activator. Potentiation by U937 monocytes. J Biol Chem 1989; 264: 2185-2188.
  31. Ellis V, Wun TC, Behrendt N, Ronne E, Dano K. Inhibition of receptor-bound urokinase by plasminogen-activators inhibitors. J Biol Chem 1990; 265: 9904-9908.
  32. Lijnen HR, Stump DC, Collen D. Single-chain urokinase-type plasminogen activator: mechanism of action and thrombolytic properties. Semin Thromb Hemost 1987; 13: 152-159.
  33. Colucci M, Páramo JA, Collen D. Generation in plasma of a fast-acting inhibitor of plasminogen activator in response to endotoxin stimulation. J Clin Invest 1985; 75: 818-824.
  34. Smith D, Gilbert M, Owen WG. Tissue plasminogen activator release *in vivo* in response to vasoactive agents. Blood 1985; 66: 835-839.
  35. Sawa H, Fujii S, Sobel BE. Augmented arterial wall expression of type-1 plasminogen activator inhibitor induced by thrombosis. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1992; 12: 1507-1515.
  36. Schleaf RR, Loskutoff DJ. Fibrinolytic system of vascular endothelial cells. Role of plasminogen activator inhibitors. Haemostasis 1988; 18: 328-341.
  37. Lensing AWA, Prandoni P, Prins MH, Büller HR. Deep venous thrombosis. Lancet 1999; 353: 479-485.
  38. Corral J, González-Conejero R, Rivera J, Vicente V. Papel de los polimorfismos genéticos de los factores de la coagulación en el sistema hemostático. Rev Iberoamer Tromb Hemostasia 1999; 12 (Supl 1): 137-156.
  39. Páramo JA. Diagnóstico de hipercoagulabilidad. Rev Clin Esp 2001; 201: 30-32.
  40. Tait RC, Walker ID, Perry DJ et al. Prevalence of antithrombin deficiency in the healthy population. Br J Haematol 1994; 87: 106-112.
  41. Mateo J, Oliver A, Borrell M, Sala N, Fontcuberta J, the EMET Group. Laboratory evaluation of 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: 444-451.
  42. Hirsh J, Piovella F, Pini M. Congenital antithrombin III deficiency: incidence and clinical features. Am J Med 1989; 87 (Supl): 34-38.
  43. Rosendaal FR. Risk factors for venous thrombotic disease. Thromb Haemost 1999; 82: 610-619.
  44. Broekmans AW, Veltkamp JJ, Bertina RM. Congenital protein C deficiency and venous thromboembolism: a study of three Dutch families. N Engl J Med 1983; 309: 340-344.
  45. Koster T, Rosendaal FR, Briët E, Van der Meer FJM 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: 2756-2761.
  46. Tait RC, Walker ID, Reitsma PH et al. Prevalence of protein C deficiency in the healthy population. Thromb Haemost 1995; 73: 87-93.
  47. Schwarz HP, Fischer M, Hopmeier P, Batard MA, Griffin JH. Plasma protein S deficiency in familial thrombotic disease. Blood 1984; 64: 1297-1300.
  48. 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: 1343-1346.
  49. Dahlbäck B, Carlsson M, Svensson PJ. Familial thrombophilia due to a previously unrecognized mechanism characterized by poor anticoagulant response to activated protein C. Proc Natl Acad Sci USA 1993; 90: 1004-1008.
  50. Dahlbäck B, Hildebrand B. Inherited resistance to activated protein C is corrected by anticoagulant cofactor activity found to be a property of factor V. Proc Natl Acad Sci USA 1994; 81: 1396-1400.
  51. Bertina RM, Koeleman BPC, Koster T et al. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. Nature 1994; 369: 64-67.
  52. Rees DC, Cox M, Clegg JB. World distribution of factor V Leiden. Lancet 1995; 346: 1133-1134.
  53. Rosendaal FR, Koster T, Vanderbroucke JP, Reitsma PH. High distribution of thrombosis in patients homozygous for factor V Leiden (activated protein C resistance). Blood 1995; 85: 1504-1508.
  54. Ridker PM, Miletich JP, Hennekens CH, Buring JE. Ethnic distribution of factor V Leiden in 4047 men and women. JAMA 1997; 277: 1305-1307.
  55. Koster T, Rosendaal FR, De Ronde H, Briët E, Vanderbroucke JP, Bertina RM. Venous thrombosis due to a poor anticoagulant response to activated protein C: Leiden Thrombophilia Study. Lancet 1993; 342: 1503-1506.
  56. Bertina RM. Molecular risk factors for thrombosis. Thromb Haemost 1999; 82: 601-609.
  57. Poort SR, Rosendaal FR, Reitsma PH, Bertina RM. A common genetic variation in the 3'-untranslated region of prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. Blood 1996; 88: 3698-3703.
  58. Rosendaal FR, Doggen C, Zivelin A et al. Geographic distribution of the 20210 G to A prothrombin variant. Thromb Haemost 1998; 79: 706-708.
  59. Bertina RM. The prothrombin 20210 G to A variation and thrombosis. Curr Op Hematol 1998; 5: 339-342.
  60. Den Heijer M, Koster T, Blom HJ et al. Hyperhomocysteinemia as a risk factor for deep-vein thrombosis. N Engl J Med 1996; 334: 759-762.
  61. D'Angelo A, Selhub J. Homocysteine and thrombotic disease. Blood 1997; 90: 1-11.

62. Ubbink JB, Vermaak WJ, Van der Merwe A, Becker PJ. Vitamin B12, vitamin B6, and folate nutritional status in men with hyperhomocysteinemia. *Am J Clin Nutr* 1993; 57: 47-53.
63. Engbertsen AMT, Franken DG, Boers GHJ, Stevens EMB, Trijbels FJM, Blom HJ. Thermolabile 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase as a cause of mild hyperhomocysteinemia. *Am J Hum Genet* 1995; 56: 142-150.
64. 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: 111-113.
65. Khamashta MA, Hughes GRV. Antiphospholipid antibodies and antiphospholipid syndrome. *Curr Opin Rheumatol* 1995; 7: 389-394.
66. McNeil HP, Simpson RJ, Chesterman CN, Krilis SA. Antiphospholipid antibodies are directed to a complex antigen that includes a lipid-binding inhibitor of coagulation:  $\beta$ 2-glycoprotein I (apolipoprotein H). *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 4120-4124.
67. Bevers EM, Galli M, Barbui T, Comfurius P, Zwaal RF. Lupus anticoagulant IgG's (LA) are not directed to phospholipids only, but to a complex of lipid-bound human prothrombin. *Thromb Haemost* 1991; 66: 629-632.
68. Rocha E, Fernández J, Cuesta B, Páramo JA, Rifón J. Anomalías moleculares del fibrinógeno y la protrombina. *Sangre* 1989; 34: 210-220.
69. Robbins KC. Classification of abnormal plasminogens: dysplasminogenemias. *Sem Thromb Haemost* 1990; 96: 216-220.
70. 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.
71. Meijers JCM, Tekelenburg WLH, 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.
72. Gerhardt A, Eberhard S, 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: 374-380.
73. Páramo JA, Rocha E. Fisiopatología, clínica y diagnóstico biológico de los estados de hipercoagulabilidad. *Rev Clin Esp* 1994; 194: 25-32.
74. Sanson BJ, Simioni P, Tomene D et al. The incidence of venous thromboembolism in asymptomatic carriers of a deficiency of antithrombin, protein C, or protein S. A prospective cohort study. *Blood* 1999; 94: 3702-3706.