

---

## **Trombofilia e ictus**

### ***Thrombophilia and stroke***

---

**M.T. Orúe**

---

#### **INTRODUCCIÓN**

La trombofilia biológica se define como una condición caracterizada por defectos o anomalías, congénitas o adquiridas, de diversos componentes del mecanismo hemostático que van a favorecer la formación, aparición o persistencia del trombo.

Se han identificado diversas alteraciones hereditarias, que afectan generalmente a un solo factor de la coagulación o de la fibrinólisis y que producen el defecto o disfunción de alguna de las proteínas involucradas en esos sistemas. Así mismo hay alteraciones adquiridas asociadas con un aumento del riesgo trombótico, arterial o venoso y otros factores en los cuales influencias externas pueden actuar sobre variaciones genéticas no determinantes (Tabla 1).

#### **ATIII**

La ATIII es el inhibidor fisiológico más importante de los factores de la coagulación. Es una glicoproteína con un peso molecular de aproximadamente 58.000 D. Se sintetiza en el hígado y posee un centro activo para fijarse a la trombina y dos centros más para unirse a la heparina. Forma complejos inactivos con la trombina y también con los factores Xa, IXa, y XIa. Cuando se une a la heparina la velocidad de inactivación se aumenta hasta 100 veces.

Un descenso en la actividad del 50% fue descrito por primera vez en una familia noruega en 1905. Posteriormente se han descrito numerosas familias con este defecto, todas ellas con una tendencia trombótica aumentada aunque la ATIII residual fuera del 50%<sup>1</sup>. Los homocigotos para el déficit fueron descritos por primera vez en 1989 en dos familias con muertes neonatales en los miembros afectados. Un 50% de los individuos heterocigotos van a sufrir un episodio trombótico antes de los 25 años, y no es raro la aparición de trombosis antes de los 16 años<sup>2</sup>.

En el déficit de ATIII pueden diferenciarse dos tipos según exista un descenso en la síntesis global de la proteína, el tipo I, o una anomalía en su molécula, con niveles de proteína normales pero funcionalmente inactivos, el tipo II. A su vez en el tipo II puede estar afectada la parte de su molécula con acción serpina, Tipo IIa, o el lugar de unión a la heparina: tipo IIb. Las consecuencias clínicas de la alteración son similares en cualquiera de los tipos excepto en el IIb en el que la frecuencia de episodios trombóticos es menor.

La prevalencia del déficit es de 0,02% en la población general y del 1% cuando se estudian los individuos afectados de trombosis. Es interesante reseñar que en todos los casos la trombosis es solamente venosa

ANALES Sis San Navarra 2000; 23 (Supl. 3): 39-45.

Servicio de Hematología. Hospital de Navarra. Pamplona

**Correspondencia**  
M<sup>ª</sup> Teresa Orúe  
Servicio de Hematología  
Hospital de Navarra  
Irunlarrea, 3  
31008 Pamplona

y que el riesgo de trombosis en el árbol arterial es similar al de la población no afectada.

**Tabla 1.** Factores de riesgo trombótico.

<i>Congénitos</i>
- Déficit de ATIII
- Déficit de proteína C
- Déficit de proteína S
- FV Leiden
- Protombina 20210
<i>Adquiridos</i>
- Síndrome Antifosfolípidos
<i>Complejos</i>
- Hiperhomocistinemia
- Alteraciones del sistema fibrinolítico
- Factor VIII
- Fibrinógeno
- Factor XII

## PROTEÍNA C

Mammen y col reconocieron la actividad anticoagulante de la proteína C en 1960. En 1976 Stenflo la identificó con uno de los picos de la cromatografía de las proteínas vit K dependientes (el pico C) por lo que la denominó proteína C, pero fue en 1981 cuando Griffin y col describieron el primer déficit de proteína C en un joven de 21 años con tromboflebitis de repetición.

Sabemos ahora que la proteína C es un zimógeno que se convierte en activo (APC) por la trombina fijada a la trombomodulina. APC ejerce su acción anticoagulante mediante la inactivación de las formas activas de los factores V y VIII.

Para el estudio de la proteína C deben realizarse análisis cuantitativos y cualitativos (amidolíticos o coagulativos) para diferenciar los dos tipos existentes de déficit de proteína C: el tipo 1 en el cual está disminuida la síntesis de la molécula, lo cual produce un descenso en los niveles de la proteína y de su función, y el tipo 2 en los que existe una proteína funcionalmente anómala pero con niveles cuantitativos normales. Esta última puede subdividirse en dos tipos el 2a y 2b según se ponga de

manifiesto la alteración cuando se determina con el método coagulativo o amidolítico.

El déficit de proteína C se hereda de forma autosómica dominante con penetrancia incompleta. Miletich y col<sup>3</sup> encontraron que uno de cada 200 ó 300 adultos sanos eran portadores del déficit. Según los criterios utilizados para su diagnóstico, la prevalencia del déficit varía entre 0,2-0,4% en controles sanos y 2,7-4,6% en pacientes con trombosis. La alteración puede ser difícil de diagnosticar por la amplitud de rangos de normalidad. Los autores recomiendan repetir las determinaciones en pacientes con valores límites y en estos casos el estudio familiar es de gran importancia.

En algunos estudios familiares se ha visto que los miembros afectados tienen un riesgo de sufrir una trombosis venosa de 3-7 veces más que la población no afectada<sup>4,5</sup> con un gradiente de riesgo de acuerdo a los niveles de la proteína. Pero no hay que ignorar la gran variabilidad de la expresión clínica que se observa en las diferentes familias. En algunos casos los cuadros trombóticos son escasos y afectan a pocos miembros aunque la anomalía esté ampliamente representada. Quizá hay diferentes tipos de anomalía o bien el cuadro clínico aparece sólo cuando otras alteraciones están también presentes.

Parece por tanto que en muchos casos hace falta un factor de riesgo añadido para la trombosis.

## PROTEÍNAS

En 1977 Seattle y col descubrieron una proteína vit K dependiente a la que llamaron proteína S. Tres años más tarde Walker demostró que actuaba como cofactor de la proteína C aumentando su capacidad de inactivar el FVa.

La proteína S circula fijada de forma reversible a otra proteína, la C4b-BP. Sólo la forma libre, que representa un 40% de la proteína S total, tiene actividad de cofactor de la APC. Por ello, tanto la cantidad de proteína S como de C4b-BP puede influir en la tendencia trombofílica. La C4b-BP es un reactante de fase aguda por lo que cualquier proceso agudo puede influir en los niveles de

proteína S libres. Además, los niveles de proteína S pueden variar por influencias hormonales, por lo que pueden disminuir en mujeres premenopáusicas, embarazadas, y con las terapias hormonales.

Los valores normales de proteína S varían de 60-130% de los valores de referencia con un 40% de forma libre y un 60% asociado a la proteína C4b-BP.

Los estados deficitarios se clasifican en tipo I y II basados en los análisis cuantitativos, y funcionales con una subclasificación del tipo II. En el IIa hay niveles normales de proteína S total con descenso de las formas libres y por tanto de la actividad. El tipo IIb tiene niveles normales de proteína S total y libre pero con un descenso de su actividad sugiriendo la existencia de una proteína S anómala.

Desde 1984 se han descrito muchas familias con trombofilia asociada a déficit de proteína S aunque el riesgo real de trombosis en las personas afectadas no se conoce ya que está sin determinar su prevalencia en la población sana<sup>5</sup>.

### RESISTENCIA A LA PROTEÍNA C ACTIVADA (APC)

En 1993 la resistencia a la APC fue descrita como una nueva causa de trombofilia hereditaria en tres familias diferentes. En estos individuos, la adición de APC al plasma no produce el esperado alargamiento del tiempo de formación del coágulo. Se pensó al principio que se debía a algún defecto en un cofactor de la APC, pero en 1994 Dahlbäck localizó el defecto genético en el FV<sup>6</sup>, defecto que fue posteriormente identificado como una mutación puntual en el gen del FV. La mutación es una sustitución de G a A en la posición 1691 del gen del FV. La forma mutante se denomina habitualmente

como FV Leiden o FV:Q506A. Ocasionalmente se ha encontrado APC hereditaria sin el alelo FV Q506A por lo que se piensa que puede estar causada en ocasiones por alteraciones aún no identificadas. Las mutaciones que afecten a otros lugares de unión del FV o el FVIII podrían dar lugar a APC, hipercoagulabilidad y aumento del riesgo trombótico, pero hasta la fecha no se han encontrado en el FVIII, aunque sí en el FV (FV Cambridge y FV Hong Kong)<sup>7,8</sup>. El estudio de la APC se realiza mediante tests funcionales y técnicas de biología molecular.

La prevalencia de esta mutación en pacientes con trombosis varía del 10 al 20%, y del 3 al 8% en población control sana, con grandes variaciones en la distribución geográfica de la misma incluso entre poblaciones de un mismo país<sup>9</sup>. Estos datos la convierten en el factor genético de riesgo trombótico más prevalente ya que las deficiencias de ATIII, PC y PS juntas no llegan al 10% (Tabla 2).

Un gran número de estudios han demostrado la relación entre APC y trombosis venosa como la principal manifestación de la alteración aunque también se asocia a tromboflebitis y embolismo pulmonar<sup>10</sup>.

La incidencia de trombosis es de 0,18% entre los parientes con genotipo normal, 0,37% para los portadores heterocigotos y 1% para los homocigotos. Los estudios casos-control sugieren un aumento de 5 a 10 veces en el riesgo de trombosis para los heterocigotos y de 50 a 100 veces para los homocigotos<sup>10</sup>.

### PROTROMBINA 20210

La mutación G20210A de la protrombina fue descrita en 1996 por Poort y col<sup>11</sup>. El estudio inicial se hizo sobre 28 individuos

**Tabla 2.** Prevalencia de los factores de riesgo.

	Población general	% de pacientes con trombosis
Déficit de proteína C	0,2-0,4	3
Déficit de proteína S	No conocido	1-2
Déficit de ATIII	0,02	1
FV Leiden	5	20
Protrombina 20210	2	6
Hiperhomocistinemia	5	10

pertenecientes a familias con historia de trombosis de repetición. Encontraron esta mutación en el 18% de los individuos afectados frente al 1% en los individuos sanos. El ensayo funcional de la protrombina puso de manifiesto unos niveles mayores del 115% del normal en el 85% de los portadores de la mutación, aunque estudios posteriores han encontrado que la relación entre los niveles plasmáticos de la protrombina y la mutación son escasos por lo que no puede utilizarse la prueba funcional como "screening".

La prevalencia de esta mutación presenta diferencias geográficas significativas pero puede estimarse en un 6% en pacientes con trombosis y un 2% en la población sana<sup>9</sup>.

Rosendaal y col<sup>12</sup> en un estudio multicéntrico que comprendía nueve países diferentes encontraron que la prevalencia de portadores en la población general es de 1 al 4% con grandes diferencias en su distribución, siendo más frecuente en los países del sur que en los del norte de Europa.

Hay resultados contradictorios sobre la asociación de esta mutación con la trombosis arterial<sup>13</sup>. Martinelli y col hallaron la mutación en un 20% de pacientes afectados de trombosis venosa cerebral y concluyeron que este gen multiplica el riesgo de trombosis venosa cerebral en 10,2 veces. Otros autores han llegado a la misma conclusión aunque las cifras obtenidas varían con respecto a las anteriores.

En la tabla 2 puede verse la frecuencia de déficits genéticos encontrados entre la población sana y la afectada con episodios trombóticos inexplicados.

### SÍNDROME ANTIFOSFOLÍPIDO

El síndrome antifosfolípido (SAFLP) es un cuadro que se manifiesta por tendencia a las trombosis, pérdidas fetales y la presencia en plasma de anticuerpos antifosfolípidos (AAF). El origen de los AAF es desconocido. Algunos surgen como respuesta a infecciones tales como la sífilis, la hepatitis C o el VIH; otros como consecuencia de lesiones celulares o apoptosis en el curso de enfermedades autoinmunes o cánceres; y en ocasiones, sin patología demostrable. Por ello se denomina "prima-

rio" cuando se presenta aislado y "secundario" cuando existe una infección o enfermedad autoinmune.

En la práctica hay dos formas de identificar los AAF, midiendo su reactividad con los fosfolípidos aniónicos mediante ELISA en fase sólida, o por su inhibición de las fases de coagulación dependientes de fosfolípidos (AL). Los AL son heterogéneos y en ocasiones difíciles de valorar.

El SAFL está relacionado con la trombosis tanto venosa como arterial. Un 9-14% de las trombosis venosas idiopáticas presentan AAF que se acompañan de índices de recurrencia muy elevados de hasta un 20-25% a los dos años de cesación de la terapia anticoagulante<sup>14</sup>.

Los AAF también se asocian a enfermedad arterial. Aproximadamente un tercio de los pacientes con ictus isquémico menores de 50 años presentan AAF o AL. Se trata por lo general de cuadros neurológicos menores, AITs, migrañas, etc, pero con gran tendencia a la recurrencia. Afectan a jóvenes y a menudo se asocian con otros factores de riesgo: hiperlipidemias, tabaquismo u otros tipos de enfermedad vascular, cardíaca o periférica<sup>15</sup>. Así mismo, estudios prospectivos han demostrado que los AAF pueden predecir el índice de recurrencia y muerte en pacientes con IAM menores de 65 años.

Los cuadros trombóticos aparecen preferentemente asociado a títulos elevados de AAF, más de 40 GPL<sup>16</sup> y asociados a anticuerpos anti B2-GP1, pero ningún análisis tiene por sí sólo un alto nivel predictivo para identificar a los pacientes en riesgo trombótico.

### HIPERHOMOCISTEINEMIA

La hiperhomocistinemia se asoció por primera vez a la enfermedad arterioesclerótica en 1969 cuando McCully reconoció la relación entre niveles elevados de homocisteína en pacientes con homocistinuria y la enfermedad vascular prematura. En 1976 Wilcken y col fueron los primeros en relacionar niveles moderados de homocisteína con enfermedad arterial coronaria. Posteriormente, otros trabajos<sup>17</sup> han apoyado la idea de que la hiperhomocistinemia es un factor de riesgo independiente

para la enfermedad cerebrovascular, carotídea, arterial periférica y venooclusiva. En 1994 Bushey y col<sup>18</sup> realizaron un meta-análisis sobre 27 trabajos, incluyendo estudios hechos en enfermedad arterial coronaria, cerebrovascular y arterial periférica. En él se puso de manifiesto que los niveles elevados de homocisteína son un factor de riesgo independiente para la enfermedad arterial. Un aumento de 5  $\mu\text{M}$  en la homocisteína total se asocia con un odds ratio de 1,6 en hombres y 1,8 en mujeres para la enfermedad coronaria y de 1,5 para la enfermedad vascular cerebral. La arteriopatía periférica también estaba relacionada con la homocisteína total.

En 1994 Verhoef y col midieron la homocisteína en 109 pacientes con ictus y 427 controles y encontraron que la homocisteína está relacionada con un pequeño pero no significativo aumento del riesgo de ictus isquémico<sup>19</sup>. En 1993 Malinow en un estudio caso-control de 287 individuos midió el grosor de la capa íntima de la carótida y encontró una correlación entre el engrosamiento de la misma y los niveles de homocisteína<sup>20</sup>. Estudios posteriores han reafirmado esta idea.

También la homocisteína se ha relacionado con la enfermedad venooclusiva aunque no todos los estudios han obtenido las mismas conclusiones.

Hiperhomocistinemia se produce cuando el metabolismo de la homocisteína está disminuido. La homocisteína se metaboliza por trasulfuración a cistationina o por remetilación a metionina. Déficits de enzimas que catabolizan la homocisteína o en los enzimas que catalizan la trasulfuración y la remetilación producen una acumulación de homocisteína. En esta vía de la remetilación juega un papel clave el enzima MTHFR (metilen tetrahidrofolato reductasa) que requiere la vit B12 como sustrato. En la vía de la trasulfuración es clave la CBS (cistationina-b-sintetasa).

Los factores que contribuyen a la hiperhomocistinemia incluyen diversos procesos adquiridos como trastornos de la nutrición, la edad, y algunas procesos patológicos como la diabetes, el hipotirodismo y la enfermedad renal, así como mutaciones genéticas de la MTHFR y la

CBS de las cuales se han descrito varias. Muy interesante es el hallazgo en algunos estudios de que la ingesta de 200  $\mu\text{gr}/\text{día}$  de ácido fólico se asocia con una disminución de 4  $\mu\text{M}$  de homocisteína.

La variante del enzima MTHFR se ha demostrado que es la responsable del aumento de incidencia de la enfermedad arterial pero sólo en los individuos homocigotos que tienen asociado un déficit de folatos. En estos casos, la identificación de los portadores de la mutación permitiría prevenir la enfermedad arterial mediante un apropiado tratamiento con folatos.

### SISTEMA FIBRINOLÍTICO

La eficacia del sistema fibrinolítico se basa en el balance entre factores profibrinolíticos y sus inhibidores. Se han estudiado varios defectos hereditarios de los diversos componentes del sistema como factores de riesgo trombotico. Algunos estudios epidemiológicos (ECAT)<sup>21</sup> han señalado que los niveles basales de tPA-Ag están elevados en individuos sanos con riesgo para un futuro episodio trombotico arterial coronario o cerebrovascular. Aunque la capacidad fibrinolítica parece ligada a factores genéticos, la influencia de factores ambientales es muy fuerte. El tabaquismo, la obesidad, los estrógenos y el alcohol afectan al balance PAI-1/tPA por lo que la valoración de riesgo trombotico a nivel individual es sumamente difícil. Sin embargo, el papel del sistema fibrinolítico en la etiología de la trombosis no se ha establecido de forma segura ya que son necesarios estudios más amplios.

Un análisis detallado de los casos publicados parece indicar que es necesaria la asociación con otros factores de riesgo, como si el papel de las alteraciones del sistema fibrinolítico fuera el de retardar la disolución de un coágulo formado por un estado de trombofilia subyacente.

### Factor VIII

En 1995 Koster publicó un trabajo sobre la relación entre FVIII, FvW y grupos sanguíneos en el que se puso de manifiesto que los niveles elevados de FVIII constituían un factor de riesgo independiente para la trombosis. Estas conclusiones han



sido corroboradas por otros autores<sup>22,23</sup> que han hallado cifras de FVIII superiores al 150% en un 25% de pacientes con trombosis inexplicadas, constituyendo además un riesgo de recurrencia dosis dependiente. Aunque el mecanismo de actuación se desconoce, no parece deberse únicamente a sus características del reactante de fase aguda, sino que es posible que los valores elevados de la concentración de FVIII en plasma estén determinados genéticamente, aunque los estudios sobre los polimorfismo del gen del FVII no han dado de momento ningún resultado positivo.

### Factor XII

Se ha descrito un polimorfismo del gen del FXII que se manifiesta con niveles plasmáticos del factor descendidos, pero no se ha encontrado relación con la enfermedad cardiovascular y está aún sin estudiar su posible relación con la arteriopatía periférica y la enfermedad vascular cerebral.

### FIBRINÓGENO

El fibrinógeno ha aparecido en varios estudios hechos sobre enfermedad isquémica como un predictor independiente de riesgo de trombosis y también de arterioesclerosis, tan potente como los niveles de colesterol<sup>24</sup> además de haber aparecido en algún estudio como el principal factor hemostático implicado en el engrosamiento de la arteria carótida<sup>25</sup>. El fibrinógeno es un reactante de fase aguda, y como tal sus niveles plasmáticos pueden aumentar como parte de la reacción inflamatoria, además de que pueden modificarse por factores externos tales como el alcohol, el estrés, el tabaco, etc. Sin embargo, parecen existir también factores hereditarios, con variaciones genéticas asociadas a polimorfismos de las cadenas alfa y beta. El genotipo h1h2 produce niveles de fibrinógeno más elevados que el h1h1.

### CONCLUSIONES

La trombosis tanto arterial como venosa es una enfermedad de etiología múltiple, desencadenada por la asociación de factores genéticos, factores adquiridos y la influencia del medio ambiente. La presencia de las alteraciones hemostáticas rela-

cionadas con la aparición de fenómenos trombóticos supone un riesgo relativo, que con frecuencia necesita de la asociación de factores ambientales para manifestarse. En los pacientes con alguna de estas alteraciones el riesgo trombótico aumenta de forma exponencial cuando se asocian situaciones de riesgo: intervenciones quirúrgicas, traumatismos, tratamientos hormonales y sobre todo la edad. Es frecuente además que individuos con defectos similares tengan comportamientos clínicos distintos, y a la inversa, no se encuentran alteraciones detectables en algunos pacientes con episodios trombóticos de repetición o en familias con alta incidencia de las mismas.

Los factores de riesgo no son los mismos para la trombosis arterial que para la venosa. En contraste con la trombosis venosa, la arterial es la consecuencia de un proceso crónico que se inicia con la formación de la placa de aterosclerosis seguida por la aparición del trombo y la incapacidad del sistema fibrinolítico para lisarlo.

Los déficits de ATIII, proteína C y proteína S se asocian a trombosis venosa y sólo mínimamente con la arterial. El fibrinógeno y las alteraciones del sistema fibrinolítico están relacionadas con la trombosis arterial y no con la trombosis venosa. La hiperhomocistinemia parece ser uno de los pocos marcadores que se asocian tanto con la trombosis venosa como con la arterial; lo mismo sucede con el SAFLP en el cual aparecen fenómenos trombóticos tanto arteriales como venosos, en ocasiones de forma simultánea en un mismo paciente.

### BIBLIOGRAFÍA

1. THALER E, LECHMER K. Antithrombin III deficiency and thromboembolism. *Clin Haematol* 1981; 10: 369-390.
2. HIRSH J, PIOVELLA F, PINI M. Congenital antithrombin III deficiency. Incidence and clinical features. *Am J Med* 1989; 87 (Suppl 3B): 34S-38S.
3. MILETICH J, SHERMAN L, BROZE G. Absence of thrombosis in subjects with heterozygous protein C deficiency. *N Engl J Med* 1987; 317: 991-994.
4. ALAART CF, POORT SR, ROSENDAAL FR, REITSMAS PH, BERTINA RM, BRIËT E. Increased risk of

- venous thrombosis in carriers of hereditary protein C deficiency defect. *Lancet* 1993; 341: 134-138.
5. KOSTER T, ROSENDAAL FR, BRIËT E, VAN DER MEER FS, COLLY LP, TRIENEKUS PH et al. Protein C deficiency in a controlled series of unselected outpatients: an infrequent but clear risk factor for venous thromboembolism. (Leiden Thrombophilic Study). *Blood* 1995; 85: 2756-2761.
  6. DAHLBÄCK B. Inherited resistance to activated protein C, a major cause of venous thrombosis is due to a mutation in the factor V gene. *Haemostasis* 1994; 24: 139-151.
  7. BERNARDI F, FAIONI EM, CASTOLDI E, LUNGI B, CASTAMAN G, SACCHI E et al. A factor V genetic component differing from factor V R506Q contributes to the activated protein C resistance phenotype. *Blood* 1997; 90: 1552-1557.
  8. LUNGI B, IACOVIELLO L, GEMMATI D, DILASIO MG, CASTOLDI E, PINOTTI M et al. Detection of new polymorphic markers in the factor V gene. Association with factor V levels in plasma. *Thromb Haemost* 1996; 75: 45-48.
  9. MONTES R, ZABALEGUI N, AYAPE M, ORUE MT, PALOMA MJ, PÁRAMO JA et al. Incidence of factor V Leiden and the Prothrombin variant 20210 G to A in the Navarrese patients with venous thrombosis. *Fibrinolysis Proteolysis* 1998; 12 (Suppl 1): 89.
  10. MANTEN B, WESTENDORP RG, KOSTER T, REITSMA PH, ROSENDAAL FR. Risk factors profiles in patients with different clinical manifestations of venous thromboembolism. A focus on the factor V Leiden mutation. *Thromb Haemost* 1996; 76: 510-513.
  11. POORT SR, ROSENDAAL FR, REIRSMAN PH, BERTINA R. A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with the elevated plasma prothrombin in levels and an increase in venous thrombosis. *Blood* 1996; 88: 3698-3703.
  12. ROSENDAAL FR, DOGGEN CMJ, ZIVELIN A, ARRUDA VR, AIACH M, SISCOVICH DS et al. Geographic distribution of the 20210 G to A prothrombin variant. *Thromb Haemost* 1998; 79: 706-708.
  13. DE STEFANO V, CHIUSOLO P, PACIARONI K, CASORELLI I, ROSSI E, MOLINARI M et al. Prothrombin G20210A mutant genotype is a risk for cerebrovascular ischemic disease in young patients. *Blood* 1998; 91: 3562-3565.
  14. PALOSUO T, VIRTAMO J, HAUKKA J, TAYLOR PR, AHO K, PUURUNEN M et al. High antibody levels to prothrombin imply a risk of deep venous thrombosis and pulmonary embolism in middle-age men. A nested case-control study. *Thromb Haemost* 1997; 78: 1187-1182.
  15. VERRA P, LEVINE SR, TIETJEN GE. Cerebrovascular ischemic events with high positive anticardiolipin antibodies. *Stroke* 1998; 29: 2245-2253.
  16. LEVINE SR, SALOWICH-PALM L, SAWAYA KL, PERRY M, SPENCER HJ, WINKLER HJ et al. IgG anticardiolipin antibody titer >40GPL and the risk of subsequent thrombo-occlusive events and death. A prospective cohort study. *Stroke* 1997; 28: 1660-1664.
  17. CLARKE R, DALY L, ROBINSON K, NAUGHTEN E, CAHALANE S, FOWLER B et al. Hyperhomocysteinemia: an independent risk factor for vascular disease. *N Engl J Med* 1991; 324: 1149-1155.
  18. BOUSHEY C, BERESFORD S, OMMEN G, MOTULSKY A. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. *JAMA* 1995; 274: 1049-1057.
  19. VERHOEF P, HENNEKENS C, MALINOW MR, KOK FJ, WILLETT WC, STAMPFER MJ. A prospective study of plasma homocysteine and risk of ischemic stroke. *Stroke* 1994; 25: 1924-1930.
  20. MALINOW M, NIETO F, SZKLO M, CHAMBLESS L, BOND G. Carotid arterial intimal-medial wall thickening and plasma homocysteine in asymptomatic adults. *Circulation* 1993; 87: 1107-1113.
  21. JUHAN-VAGE I, PYKE SDM, ALESSI MC, JESPERSEN J, HAVERKATE F, THOMPSON SG. Fibrinolytic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. *Circulation* 1997; 94: 442-447.
  22. O'DONELL J, TUDDENHAM EGD, MANNING R, KEMBALL-COOK G, JHONSON D, LAFFAN M. 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: 825-828.
  23. O'DONELL J, MUMFORD AD, MANNING RA, LAFFAN M. Elevation of Factor VIII C in venous thromboembolism is persistent and independent of the acute phase reaction. *Thromb Haemost* 2000; 83: 10-13.
  24. ERNST E, RESCH KL. Fibrinogen as a cardiovascular risk factor: a meta-analysis and review of the literature. *Ann Intern Med* 1993; 118: 956-963.
  25. FOLSOM AR, WU KK, SAHAR E, DAVIES CD. Association of hemostatic variables with prevalent cardiovascular disease and asymptomatic carotid artery atherosclerosis. *Arterioscler Thromb* 1993; 13: 1829-1836.