



# Prevalencia de factores protrombóticos de base genética (factor V Leiden y mutación $II_{20210}$ de la protrombina) en nefropatías glomerulares con o sin trombosis

J. Martínez Ara\*, R. Gómez Rioja\*\*, C. Riñón\*, M. S. García Muñoz\*\*, M. L. Ruiz Caravaca\*\* y J. L. Miguel\*

\*Servicio de Nefrología y \*\*Hematología Analítica. Hospital Universitario La Paz. Madrid.

## RESUMEN

Se investigó de forma prospectiva en 38 pacientes portadores de nefropatías glomerulares, con o sin antecedentes de síndrome nefrótico y/o manifestaciones tromboembólicas, la presencia de factores protrombóticos de base genética (factor V Leiden y mutación  $II_{20210}$  de la protrombina), comprobando una elevada prevalencia de factor V Leiden (36%) en aquellos que tenían antecedentes de manifestaciones tromboticas, 10 veces superior a la de la población normal en nuestra Área de Salud (4%), y similar a la de pacientes no nefrológicos con enfermedad tromboembólica venosa. La situación de portador de esta mutación podría ser un factor determinante en la aparición de trombosis, en asociación con otros trastornos adquiridos de la coagulación que tienen lugar en estos pacientes.

Por lo que respecta a la mutación  $II_{20210}$  de la protrombina estuvo presente sólo en un caso aunque en ausencia de manifestaciones de enfermedad tromboembólica venosa.

Creemos aconsejable, por tanto, la determinación de la resistencia a la proteína C activada y su genotipo más frecuente, el factor V Leiden, en enfermos con glomerulonefritis con vistas a posibles actuaciones de profilaxis tromboembólica.

Palabras clave: **Glomerulonefritis. Enfermedad tromboembólica venosa. Resistencia a la proteína C activada. Factor V Leiden. Mutación  $II_{20210}$  de la protrombina.**

## PREVALENCE OF GENETIC PROTROMBOTIC FACTORS (FACTOR V LEIDEN AND PROTROMBIN $II_{20210}$ MUTATION) IN GLOMERULAR NEPHROPATHIES WITH OR WITHOUT THROMBOSIS

## SUMMARY

The presence of genetic prothrombotic factors (factor V Leiden and the prothrombin  $II_{20210}$  mutation) was investigated in 38 patients with glomerulonephritis with or without a history of thrombotic events and/or nephrotic syndrome. We

Recibido: 23-IV-99.

En versión definitiva: 24-IX-99.

Aceptado: 27-IX-99.

**Correspondencia:** Dr. Jorge Martínez Ara  
Servicio de Nefrología  
Hospital La Paz  
Paseo de la Castellana, 261  
28029 Madrid

*found an increased prevalence (36%) of heterozygous factor V Leiden in those patients with a history of thrombotic events. This is ten times the prevalence in the normal Spanish population. Carrier status for this mutation may be a determining factor in the development of thrombotic events along with the acquired disorders of coagulation to which these patients are prone.*

*We found only one patient who was a carrier of the G-A II<sub>20210</sub> mutation of the prothrombin gene; this patient had no history of venous thrombosis or embolism.*

*Our findings suggest the need to measure activated protein C resistance and to look for the most frequent genotype causing it, Factor V Leiden, in patients with glomerulonephritis to identify those at risk who may benefit from prophylaxis against thrombosis.*

**Key words: Glomerulonephritis. Venous thromboembolic disease. Activated protein C resistance. Factor V Leiden. Prothrombin II<sub>21210</sub> mutation.**

## INTRODUCCIÓN

Las manifestaciones tromboembólicas son una complicación frecuente de las nefropatías glomerulares, especialmente en presencia de síndrome nefrótico (SN), con una incidencia cercana al 35% de enfermedad tromboembólica venosa (ETEV), y menor, aunque no despreciable, de trombosis arterial. Preferentemente aparece en pacientes con nefropatía membranosa (NM) y SN. En la patogénesis se implican trastornos adquiridos de la coagulación<sup>1,2</sup>. Recientemente se han descrito alteraciones protrombóticas de la coagulación de base genética de alta prevalencia en la población general, entre las que destaca la mutación factor V Leiden (2-10%)<sup>3,4</sup> y la mutación II<sub>20210</sub> del gen de la protrombina (1-5%)<sup>5,6</sup>. La mutación factor V Leiden es un cambio puntual que supone la sustitución de la arginina 506 del Factor V por glutamina, provocando una degradación por proteína C activada 10 veces más lenta. Esta mutación se encuentra en más del 95% de los pacientes con fenotipo de resistencia a la proteína C activada (RPCA). La mutación II<sub>20210</sub> es una sustitución G-A en la posición 20210 (región 3') del gen de la protrombina. Su presencia se asocia con niveles elevados de protrombina (factor II) en plasma. La presencia de estas anomalías supone un riesgo de base aumentado para la aparición de trombosis venosa y mucho menor de localización arterial<sup>7-10</sup>. El aumento estimado en el riesgo relativo de ETEV es 5-10 veces en heterocigotos, y 50-100 veces en homocigotos<sup>11</sup>. Los niveles elevados de factor VIII en plasma se asocian igualmente con un riesgo incrementado de trombosis venosa<sup>12</sup>.

Si bien ocasionalmente se ha atribuido al factor V Leiden como causa de trombosis venosa recurrente

en pacientes con SN<sup>13,14</sup>, Irish<sup>15</sup> no ha encontrado un aumento de prevalencia de Factor V Leiden en pacientes adultos con SN ni tampoco asociación con una mayor prevalencia de TV profunda clínica. Recientemente, Fabri y cols.<sup>16</sup> tampoco han encontrado que la presencia de trombofilia hereditaria represente un factor de riesgo para el desarrollo de trombosis recurrente en pacientes pediátricos con SN.

El objetivo del estudio fue valorar la presencia de estos factores protrombóticos de base genética en nuestra población de pacientes con nefropatías glomerulares con o sin complicaciones trombóticas y con o sin presencia de SN a lo largo de su evolución.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se estudiaron 38 pacientes consecutivos, durante un período de 4 meses, que acudieron a la consulta de nefropatías glomerulares del Hospital La Paz para revisión, 19 varones y 19 mujeres, con edad media de 47,5 ± 18 años, con diversas nefropatías glomerulares. Durante su evolución, 11 habían presentado fenómenos trombóticos y 26 SN, ninguno de los cuales lo presentaba en el momento del análisis (tabla I). La presencia clínica de trombosis venosa profunda o trombosis de la vena renal fue confirmada en todos los casos mediante flebografía.

Se realizó la determinación genética del factor V Leiden y de la mutación II<sub>20210</sub> mediante amplificación por PCR y estudio del patrón de digestión por endonucleasas (*MnII* y *Hind III*, respectivamente). Se estudió además el fenotipo RPCA, actividad de protrombina (AP %), tiempo de cefalina (TTPA), fibrinógeno, anticoagulante lúpico (AL) y factores VIII y II.

**Tabla I.** Población estudiada

Tipo de nefropatía	n	Trombosis (n)	SN (n)
Nefropatía membranosa	13	5	8
Nefropatía de mínimos cambios	2	0	2
GN membrano-proliferativa (I y III)	4	0	4
GN mesangial IgA	1	0	0
Glomeruloesclerosis focal y segmentaria	8	2	7
Nefropatía familiar (S. de Alport)	3	0	0
Vasculitis necrotizante	2	2	1
GN lúpica	5	2	4
TOTAL	38	11	26

El test de resistencia a la proteína C activada (RPCA) utilizado se basa en la observación del alargamiento del tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPA) producido por la adición de proteína C activada (Coatest APC-R, Chromogenix®, Suecia). Se determina midiendo el TTPA basal del paciente y realizando un nuevo test añadiendo proteína C activada en una concentración fija. Los resultados se expresan como ratio RPCA (TTPA con PCA/TTPA sin PCA). Los sujetos normales muestran un alargamiento (ratio) de aproximadamente 3 veces. Se consideran resistentes a los pacientes con ratios inferiores a 2,5.

La presencia de anticoagulante lúpico se investigó mediante dos test de despistaje (test de Exner y TTPA) y se confirmó mediante neutralización con fosfolípido en fase hexagonal (Sta clot LA, Stago®, Francia).

La actividad de los factores VIII y II se determinó en un test coagulativo en un paso tras dilución en plasma carente (Movaco®, España).

Los datos fueron procesados mediante el programa informático Statview v 4.5.

**Tabla III.** Presencia de factor V Leiden en grupos con y sin trombosis. Test Fisher,  $p = 0,00045$ 

	Antecedentes trombóticos	No trombosis	
<b>Total</b>			
No portadores	7	27	34
Portadores	4	0	4
TOTAL	11	27	38

## RESULTADOS

En la tabla II se recogen los resultados en la población con trombosis. Entre los 11 pacientes con antecedentes de trombosis encontramos 4 portadores heterocigotos de la mutación Factor V Leiden, con fenotipo RPCA (36,4%), y ningún portador entre los pacientes sin trombosis, siendo la diferencia estadísticamente significativa (test Fisher,  $p = 0,0045$ ) (tabla III). La prevalencia observada es similar a la entrada en pacientes con trombosis venosa sin nefropatía (entre el 20 y 40%). Los enfermos portadores de la mutación tenían nefropatía membranosa (NM), nefropatía lúpica y glomeruloesclerosis focal y segmentaria (GEFyS). Por otra parte, encontramos que los pacientes con GEFyS presentaban los mayores niveles de factor VIII en plasma (ANOVA  $p = 0,05$ , test de Fisher de contraste *a posteriori* muestra diferencia significativa entre GEFyS y NM u otras) (tabla IV).

Observamos un paciente con nefropatía lúpica y fenotipo RPCA, no portador de factor V Leiden. La presencia de anticoagulante lúpico en este paciente no fue confirmada mediante test de neutralización, pero los resultados sugieren la presencia de un anticoagulante lúpico débil.

Se observó un único portador de la mutación  $II_{20210}$ , sin antecedentes trombóticos, y un paciente

**Tabla II.** Pacientes con antecedentes de trombosis

Nº	Edad	Sexo	Nefropatía	SN	Trombosis	RPCA	FV Leiden	AL	$II_{20210}$
1	29	M	GN lúpica	No	TVP MMII	2,29	Heterocigoto	Neg.	Normal
2	76	M	Vasculitis necr.	No	TVP MMII	3,40	Normal	Neg.	Normal
3	73	V	N. membranosa	Sí	TVP MMII	3,31	Normal	Neg.	Normal
4	72	M	N. membranosa	Sí	TVP MMII	1,58	Heterocigoto	Neg.	Normal
5	45	V	N. membranosa	Sí	TEP, posible TVR	3,34	Normal	Neg.	Normal
6	42	V	N. membranosa	Sí	TVR + TEP	3,04	Normal	Neg.	Normal
7	36	V	N. membranosa	Sí	TVR + TVP	3,18	Normal	Neg.	Normal
8	67	V	GEFyS	Sí	Infarto cerebral	3,64	Normal	Neg.	Normal
9	45	M	Vasculitis necr.	Sí	AIT	3,34	Normal	Neg.	Normal
10	45	V	GEFyS	Sí	IAM	2,33	Heterocigoto	Neg.	Normal
11	45	V	GN lúpica	Sí	TVR + TEP + IAM	1,95	Heterocigoto	Pos.	Normal

Siglas: GEFyS: glomeruloesclerosis focal y segmentaria, TVP: trombosis venosa profunda, TEP: tromboembolismo pulmonar, TVR: trombosis vena renal, IAM: infarto agudo de miocardio, AIT: accidente isquémico transitorio, AL: anticoagulante lúpico, RPCA: resistencia a la proteína C activada (ratio) (Normal > 2,6).

**Tabla IV.** Antecedente de trombosis en la población estudiada. Prevalencia de factor V Leiden y valores de fibrinógeno (fgno), factor II (F II), factor VIII (F VIII) y resistencia a la proteína C activada (RPCA) según tipo de nefropatía

	n	Trombosis		Fgno mg/dl	F II	F VIII	RPCA	FV Leiden (n)
		n	%					
NM	13	5	38,5	372 ± 122	98 ± 23	131 ± 31	3,1 ± 0,6	1
N. lúpica	5	2	40,0	356 ± 70	112 ± 26	169 ± 40	2,4 ± 0,6	2
GEFyS	8	2	25,0	396 ± 149	109 ± 18	172 ± 30	3,7 ± 0,7	1
Vasculitis	2	2	100,0	314 ± 30	115 ± 11	142 ± 109	3,4 ± 0,1	0
Otras	10	0	0,0	307 ± 55	92 ± 9	111 ± 41	3,3 ± 0,3	0
TOTAL	38	11	28,9					4

con anticoagulante lúpico dentro del grupo con trombosis (diferencias no significativas, test de Fisher  $p > 0,9$  y  $p = 0,32$ , respectivamente).

No hallamos asociación entre la aparición de trombosis y antecedente de SN (test Fisher  $p = 0,44$ ).

Aunque las diferencias no fueron significativas frente al grupo sin trombosis, se observaron niveles superiores de factor VIII, factor II y fibrinógeno en el grupo con antecedentes tromboticos (*t* Student  $p = 0,81$ ,  $0,39$  y  $0,39$ , respectivamente) (fig. 1). Observamos una correlación positiva entre niveles de factor VIII y factor II en plasma ( $r = 0,41$ ,  $p = 0,001$ ), factor II y fibrinógeno ( $r = 0,44$ ,  $p = 0,008$ ) y factor VIII y fibrinógeno ( $r = 0,47$ ,  $p = 0,003$ ).

## DISCUSIÓN

Los estados trombofílicos hereditarios son un grupo de situaciones de base genética asociadas con una predisposición a la trombosis (factores de riesgo protrombótico), e incluyen, entre otros, la resistencia a la proteína C activada/factor V Leiden y la mutación  $II_{20210}$  de la protrombina. La mayoría se asocian preferentemente con trombosis venosas y menos frecuentes, arteriales<sup>17</sup>.

El estudio de un amplio número de pacientes con trombofilia<sup>18</sup> ha permitido identificar una predisposición genética a la trombosis en un 20-50% de pacientes con ETEV, y en la mayoría de los pacientes con trombosis familiar. En el 84% existía un déficit único, y en el 16% existían defectos combinados (trombofilia multifactorial). El defecto más frecuente fue la presencia de factor V Leiden, que tiene lugar casi exclusivamente en individuos caucásicos<sup>10</sup>, siendo su presencia más frecuente en pacientes con complicaciones venosas, mientras que en las arteriales, los hallazgos más frecuentes fueron la presencia del anticoagulante lúpico o de los anticuerpos anticardiolipina<sup>18</sup>. Otros autores, no obstante,

han encontrado una asociación entre la mutación factor V Leiden y el desarrollo de complicaciones tromboembólicas arteriales inexplicadas, especialmente en sujetos jóvenes sin enfermedad arteriosclerótica previa<sup>19</sup>.

Existe evidencia acumulada de que en personas con tendencia más marcada a la trombosis están presentes múltiples defectos coexistentes<sup>20</sup>. Entre los factores adicionales de riesgo genético se encuentran la hiperhomocisteinemia moderada en relación con la variante termolábil de la metilén tetrahydrofolato reductasa (MTHFR)<sup>21-23</sup>, la mutación  $II_{20210}$  del gen de la protrombina<sup>23-26</sup>, y defectos genéticos de la antitrombina III<sup>27</sup> y proteína C o S<sup>28</sup>.

En pacientes portadores del factor V Leiden, la aparición de ETEV es el resultado de la interacción con factores circunstanciales (contraceptivos orales—principalmente los de tercera generación—, tratamiento hormonal sustitutivo postmenopáusico, tra-

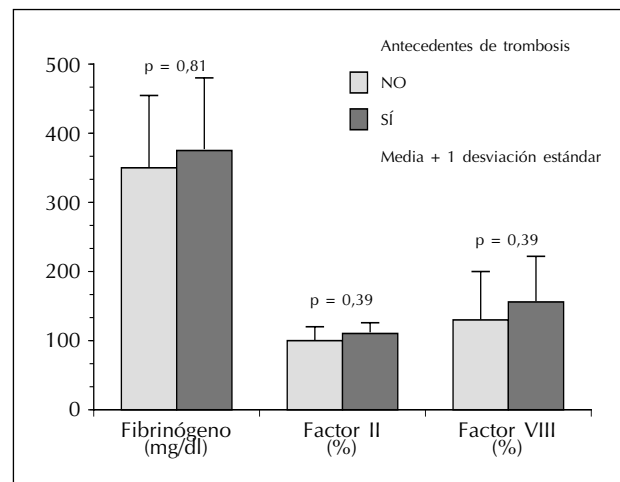


Fig. 1.—Comparación de niveles de fibrinógeno, factor II y VIII entre grupos con y sin antecedentes de trombosis.

matismo, embarazo —particularmente puerperio—, cirugía e inmovilización)<sup>17</sup>, o de su asociación con otras entidades clínicas. Entre éstas, el síndrome antifosfolípido<sup>29-31</sup>, como sucedió en uno de nuestros pacientes, la enfermedad de Behçet<sup>32</sup>, la enfermedad inflamatoria intestinal<sup>33</sup>, la homocistinuria<sup>34</sup> y la hiperhomocisteinemia<sup>35-36</sup>. Por tanto, puede ser conveniente la identificación de portadores de factor V Leiden en estas situaciones.

Los resultados de nuestro estudio muestran una incidencia de complicaciones trombóticas en la población de pacientes con nefropatías glomerulares del 28,9%, similar a la descrita en la literatura para pacientes con SN<sup>1,37</sup>. En nuestros pacientes con trombosis el 82% (9/11) tenía antecedente de SN en su evolución, aunque, debido al pequeño número de casos, no observamos relación entre antecedente de SN y aparición de trombosis. La prevalencia de portadores heterocigotos del factor V Leiden en aquellos que tenían antecedentes de trombosis fue del 36,4%, 10 veces superior a la de la población normal de nuestra Área de salud (4%), e incluso superior a la de la población general con trombosis venosa estudiada en nuestro hospital (15%)<sup>38</sup>.

Aunque ocasionalmente se han descrito casos individuales de asociación de factor V Leiden y complicaciones trombóticas en el SN<sup>13,14</sup>, Irish<sup>15</sup>, no ha encontrado asociación entre la presencia de factor V Leiden y la aparición de trombosis de la vena renal en adultos con SN, si bien este mismo autor no descarta la asociación y sugiere la necesidad de nuevos estudios. Por su parte, Fabri y cols.<sup>16</sup>, encuentran una prevalencia nula de factor V Leiden en la población pediátrica con SN, y concluyen que la presencia de otros factores trombofílicos (variante heterocigota de la protrombina y homocigosidad para la MTHFR-Termodabil) no representa un mayor riesgo de trombosis recurrente en estos pacientes. Nuestros resultados no son concordantes con estos estudios, ya que la presencia de factor V Leiden parece coincidir con una mayor incidencia de complicaciones trombóticas venosas e infarto de miocardio en pacientes jóvenes. El pequeño número de casos de este estudio no permite conclusiones definitivas, pero creemos que sugiere la utilidad de estos estudios en los pacientes con NG.

El paciente con anticoagulante lúpico asociado presentaba, por otra parte, el mayor número de complicaciones (trombosis venosa renal con tromboembolismo pulmonar, infarto agudo de miocardio y necrosis avascular de ambas cabezas femorales). No observamos en esta población un patrón histológico uniforme de la nefropatía, ya que se trataba de una GEFyS primaria, dos NM idiopáticas, y nefropatía lúpica con patrones histológicos de NM y GN proli-

ferativa difusa, en los otros dos. La NM es la nefropatía con mayor incidencia de complicaciones tromboembólicas venosas en su evolución. En nuestro estudio de 13 pacientes con NM, (38,5%) habían presentado trombosis venosa. En todos los casos había aparecido SN en el curso clínico. Dos de estos pacientes (40%) eran portadores de factor V Leiden.

Por lo que respecta a la mutación II<sub>20210</sub> del gen de la protrombina, hemos encontrado una prevalencia nula en nuestra población con trombosis, con la excepción de un único paciente que, por otra parte, no mostraba antecedentes trombóticos. Representa un riesgo moderado de eventos trombóticos venosos. La mutación 20210 aparece ser más frecuente en poblaciones blancas, entre los que la prevalencia de portadores heterocigotos varía entre el 1 y el 5%. Tampoco esta mutación parece ser un factor de riesgo importante para la trombosis arterial, a menos que estén también presentes otros factores de riesgo de enfermedad cardiovascular<sup>39</sup>. El pequeño número de casos en este estudio no permite suponer que la variante 20210 de la protrombina no sea igualmente un factor que contribuya a la aparición de ETEV en nefropatías glomerulares.

Se estudiaron también los niveles de factor VIII, II y fibrinógeno, en relación con el riesgo de trombosis venosa que supone su elevación<sup>40</sup>. Aunque los niveles de estos tres factores fueron superiores en el grupo con trombosis, las diferencias no son significativas debido al pequeño tamaño muestral. Hay que tener en cuenta además que tanto el factor VIII como el fibrinógeno se comportan como reactantes de fase aguda, elevándose de forma paralela, como hemos observado en la correlación entre estos factores.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Rabelink TJ, Zwaginga JJ, Koomans HA, Sixma JJ: Thrombosis and hemostasis in renal disease. *Kidney Int* 46: 287-296, 1994.
2. O'Meara YM, Levine JS: Management of complications of nephrotic syndrome. En: *Therapy in nephrology and hypertension*. Brady y Wilcox. Saunders. pp. 217-224, 1999.
3. Bertina RM, Koeleman BPC, Koster T, Rosendaal FR, Dirven RJ, De Ronde H, van der Velden PA, Reitsma PH: Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. *Nature* 369: 64-67, 1994.
4. Voorberg J, Roelse J, Koopman R, Buller H, Berends F, Ten Cate JW, Mertens K, van Mourik JA: Association of idiopathic venous thromboembolism with single point-mutation at Arg<sup>506</sup> of factor V. *Lancet* 343: 1535-1536, 1994.
5. 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* 88: 3698-3703, 1996.
6. Bertina RM: The prothrombin 20210G to A variation and thrombosis. *Curr Opin Hematol* 5: 339-342, 1998.

7. Dahlbäck B: Factor V gene mutation causing inherited resistance to activated protein C as a basis for venous thromboembolism. *J Intern Med* 237: 221-227, 1995.
8. Nichols WL, Heit JA: Activated protein C resistance and thrombosis. *Mayo Clin Proc* 71: 897-898, 1996.
9. Simioni P, Prandoni P, Lensing AWA, Scudeller A, Sardella C, Prins MH, Villalta S, Dazzi F, Girolami A: The risk of recurrent venous thromboembolism in patients with Arg<sup>506</sup>-to Gln mutation in the gene for factor V (factor V Leiden). *NEJM* 336: 399-403, 1997.
10. De Stefano V, Chiusolo P, Paciaroni K, Leone G: Epidemiology of factor V Leiden: clinical implications. *Semin Thromb Hemost* 24: 367-379, 1998.
11. Emmerich J, Alhene-Gelas M, Aiach M, Fiessinger JM: Resistance to activated protein C: role in venous and arterial thrombosis. *Biomed Pharmacother* 50: 254-260, 1996.
12. Van der Meer F, Koster T, Vanderbroucke JP, Briet E, Rosendaal R: The Leiden thrombophilia study (LETS). *Thromb Haemost* 78: 631-635, 1997.
13. Petäjä J, Jalanko H, Holmberg C, Kinnunen S, Syrjälä M: Resistance to activated protein C as an underlying cause of recurrent venous thrombosis during relapsing nephrotic syndrome. *J Ped* 127: 103-105, 1995.
14. Campisi S, Cavatorta F: A case of deep vein thrombosis in idiopathic nephrotic syndrome with resistance to activated protein C. *J Nephrol* 11: 76-77, 1998.
15. Irish AB: The factor V Leiden mutation and risk of renal vein thrombosis in patients with nephrotic syndrome. *Nephrol Dial Transplant* 12: 1680-1683, 1997.
16. Fabri D, Belangero VM, Annichino-Bizzacchi JM, Arruda VR: Inherited risk factors for thrombophilia in children with nephrotic syndrome. *Eur J Pediatr* 157: 939-942, 1998.
17. Rao AK, Kaplan R, Sheth S: Inherited thrombophilic states. *Semin Thromb Hemost* 24 (Supl. 1): 3-12, 1998.
18. Dumenco LL, Blair AJ, Sweeney JD: The results of diagnostic studies for thrombophilia in a large group of patients with a personal or family history of thrombosis. *Am J Clin Pathol* 110: 573-682, 1998.
19. Eskandari MK, Bontempo FA, Hassett AC, Faruki H, Makaroun MS: Arterial thromboembolic events in patients with the factor V Leiden mutation. *Am J Surg* 176: 122-125, 1998.
20. Murin S, Marelich GP, Arroliga AC, Matthay RA: Hereditary thrombophilia and venous thromboembolism. *Am J Respir Crit Care Med* 158: 1369-1373, 1998.
21. Hillier CE, Collins PW, Bowen DJ, Bowley S, Wiles CM: Inherited prothrombotic risk factors and cerebral venous thrombosis. *QJM* 91: 677-680, 1998.
22. Lalouschek W, Aull S, Schneider P, Mannhalter C, Pabinger-Fasching I, Deecke L, Zeiler K: C677T MTHFR mutation and factor V Leiden mutation in patients with TIA/minor stroke: a cas-control study. *Thromb Res* 93: 61-69, 1999.
23. Tosetto A, Rodeghiero F, Martinelli I, De Stefano V, Missiaglia E, Chiusolo P, Mannucci PM: Additional genetic risk factors for venous thromboembolism in carriers of the factor V Leiden mutation. *Br J Haematol* 103: 871-876, 1998.
24. Linfert DR, Reuzke WN, Tsongalis GJ: Rapid multiplex analysis for the factor V Leiden and prothrombin G20210A mutations associated with hereditary thrombophilia. *Conn Med* 62: 519-525, 1998.
25. Weih M, Meharaein S, Valdueza JM, Einhaupl KM, Vetter B, Kulozik AE: Coincidence of factor V Leiden mutation and a mutation in the prothrombin gene at position 20210 in a patient with puerperal cerebral venous thrombosis. *Stroke* 29: 1739-1740, 1998.
26. Leroyer C, Mercier B, Oger E, Chenu E, Abgrall JF, Ferec C, Mottier D: Prevalence of 20210 A allele of the prothrombin gene in venous thromboembolism patients. *Thromb Haemost* 80: 49-51, 1998.
27. Van Boven HH, Reitsma PH, Rosendaal FR, Bayston TA, Chowdhury V, Bauer KA, Scharrer I, Conard J, Lane DA: Factor V Leiden (FV R506Q) in families with inherited antithrombin deficiency. *Thromb Haemost* 75: 417-421, 1996.
28. Mustafa S, Manhalter C, Rintelen C, Kyrle PA, Knobl P, Lechner K, Pabinger J: Clinical features of thrombophilia in families with gene defects in protein C or protein S combined with factor V Leiden. *Blood Coagul Fibrinolysis* 9: 85-89, 1998.
29. Moore J, Ma DD, Conannon A: Non-malignant bone marrow necrosis: a report of two cases. *Pathology* 30: 318-320, 1998.
30. Picillo U, De Lucia D, Palatiello E, Scutto A, Marcialis MR, Pezella S, Tirri G: Association of primary antiphospholipid syndrome with inherited activated protein C resistance. *J Rheumatol* 25: 1232-1234, 1998.
31. Schutt M, Kluter H, Hagedorn-Greife M, Fehm HL, Weidemann GJ: Familial coexistence of primary antiphospholipid syndrome and factor V Leiden. *Lupus* 7: 176-182, 1998.
32. Oner AF, Gurgey A, Gurler A, Mesci L: Factor V Leiden mutation in patients with Behçet disease. *J Rheumatol* 25: 496-498, 1998.
33. Liebman HA, Kashani N, Sutherland D, McGehee W, Kam AL: The factor V Leiden mutation increases the risk of venous thrombosis in patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 115: 830-834, 1998.
34. Mandel H, Brenner B, Berant M, Rosenberg N, Lanir N, Jakobs C, Fowler B, Seligsohn U: Coexistence of hereditary homocystinuria and factor V Leiden. Effect on thrombosis. *NEJM* 334: 763-768, 1996.
35. Ridker PM, Hennekens CH, Selhub J, Miletich JP, Malinow MR, Stampfer MJ: Interrelation of hyperhomocyst(e) inemia, factor V Leiden, and risk of future venous thromboembolism. *Circulation* 95: 1777-1782, 1997.
36. Gemmati D, Serino ML, Moratelli S, Mari R, Ballerini G, Scapolì GL: Coexistence of antithrombin deficiency, factor V Leiden and hyperhomocysteinemia in a thrombotic family. *Blood Coagul Fibrinolysis* 9: 173-176, 1998.
37. Schnaper HW, Robson AM: Nephrotic syndrome: minimal change disease, focal glomerulosclerosis and related disorders. En: Schreier RW y Gottschalk CW (ed.). *Diseases of the Kidney*. Fifth edition. Boston, Toronto, London: Little Brown and Company; vol. II, pp. 1731-1784, 1993.
38. Gómez-Rioja R, López-Pastor A, Cuesta MV, García-Muñoz MS, Fernández-Chacón JL, Fernández-Pavón A: Prevalence of apc-resistance/factor V Leiden in venous or arterial thrombosis in Spain. *Thromb Haemost* 82 (Supl. I): 771-772, 1999.
39. Bertina RM: The prothrombin 20210G to A variation and thrombosis. *Curr Opin Hematol* 5: 339-342, 1998.
40. Rosendaal FR: Risk factors for venous thrombotic disease. *Thromb Haemost* 82: 610-619, 1999.