

TROMBOFILIAS

Elvira Maria Guerra-Shinohara¹, Karina Soeiro Prestes², Vera Lúcia Blaia D'Ávila³

O termo trombofilia foi usado pela primeira vez em 1965 por Egeberg¹⁸ para designar uma enfermidade associada à trombose venosa por deficiência de antitrombina III. Desde então este termo tem sido amplamente utilizado para descrever os estados pré-trombóticos ou de hipercoagulação que predisõem a ocorrência e recorrência da trombose arterial ou venosa.

As trombozes têm sido descritas como uma das principais causas de morte em todo o mundo; além dos casos fatais, elas contribuem com o alto índice de morbidade.

As trombozes ocorrem em consequência do desequilíbrio no processo de hemostasia do paciente, predominando um estado de hipercoagulação causado pela deficiência dos inibidores fisiológicos da coagulação ou do sistema fibrinolítico.

Os inibidores fisiológicos da coagulação (ou anticoagulantes naturais) desempenham papel importante na modulação do processo de coagulação, pois, por meio do complexo proteína C ativada e proteína S há clivagem e destruição dos fatores Va e VIIIa, ao passo que a antitrombina III é responsável pela destruição da trombina e fator Xa.

Os inibidores naturais da coagulação estão presentes no plasma e agem de dois modos distintos: 1- como inibidores tipo serina proteases, representados pela anti-trombina III e co-fator II da heparina; 2- proteína C, um zimógeno, é ativada em presença de uma proteína integral da membrana das células endoteliais, a tromboomodulina, e pela trombina. A função da proteína C é intensificada pela presença de proteína S e fosfolípidos.³² Assim, a proteína S livre atua como cofator para a proteína C ativada, clivando e destruindo quantidades de fatores Va e VIIIa gerados. A proteína C ativada também favorece a fibrinólise por meio da neutralização do inibidor 1 do ativador do plasminogênio (PAI-1).⁴¹

A proteína S circula no plasma sob a forma ligada à fração C4b do complemento (C4b-BP), atuando como inibidora desta via, ou sob a forma livre (ou forma funcional), que corresponde a 40% da quantidade de proteína S, atuando como cofator para a ativação da proteína C.¹²

O papel do sistema fibrinolítico na ocorrência da trombose ainda não está bem esclarecido. Almer & Ohlin (1987),¹ no entanto, descreveram níveis aumentados de inibidores dos ativadores do plasminogênio (PAI-1) ocasionando diminuição na habilidade funcional do ativador tecidual do plasminogênio (TPA). Assim, parece ser indicada a dosagem deste inibidor no plasma de pacientes com trombofilia.

As trombofilias podem ser devidas a deficiências hereditárias ou adquiridas dos inibidores fisiológicos da coagulação. Por isto, elas podem ser classificadas como primárias (hereditárias) ou secundárias, de acordo com os fatores de risco presentes e a idade do paciente (Tabela I). As trombofilias primárias mais frequentes são decorrentes da resistência à proteína C ativada (RPCA) segui-

das pelas deficiências de proteína C, proteína S e anti-trombina III e por defeitos do sistema fibrinolítico. Em trabalho realizado no México, Ruiz-Argüelles em 1998⁵⁰ relatou prevalência de 5%, 2% e 0% de deficiência congênita de proteína C, proteína S e antitrombina III, respectivamente, em pacientes com quadro clínico de trombofilia primária.

Os dados clínicos que sugerem a presença de trombofilia primária são: trombose em pacientes com idade inferior a 40 anos, histórico familiar de trombose, trombose recorrente e em locais anatômicos pouco usuais e resistência à terapêutica com antitrombóticos.

As deficiências hereditárias da proteína C podem ser classificadas como do tipo I, na qual os níveis funcional e antigênico estão reduzidos ou do tipo II, com nível funcional reduzido e antigênico normal. As metodologias que determinam os níveis antigênicos são a eletroimunodifusão,^{35,36} ensaio imunoenzimático (ELISA) e os ensaios cromogênicos.

A função da proteína C pode ser determinada mediante provas coagulométricas e ensaios cromogênicos, também denominados de provas funcionais. Nestas metodologias é empregado o PROTAC®, um derivado do veneno de cobra (*Agkistrodon contortrix*), que, em poucos minutos, converte a proteína C humana em protease ativa.¹²

Para os ensaios cromogênicos para determinação da proteína C, o plasma do paciente é tratado previamente com PROTAC® e após colocado em contato com o substrato cromogênico específico. A função da proteína C é avaliada através da quantidade de p-nitroalanina produzida.⁴ No método coagulométrico, o princípio consiste na utilização do PROTAC® co-liofilizado junto ao reagente do TTPA. A adição deste reagente aumenta o tempo de coagulação do plasma normal para mais que 100 segundos, mas não provoca alteração do tempo de coagulação do plasma deficiente em proteína C. Quando o plasma de um paciente é misturado ao um plasma comercial deficiente em proteína C, o prolongamento do tempo de coagulação será diretamente proporcional à quantidade de proteína C no plasma do paciente.

Rev. Fac. Ciênc. Méd. Sorocaba, v. 1, n. 2, p. 35-39, 1999

¹ Professora doutora do Depto. de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.

² Graduanda do curso de Ciências Biológicas Modalidade Médica da Universidade de Marília.

³ Professora assistente do Depto. de Medicina do CCMB/PUC-SP.

Correspondência: Elvira Maria Guerra-Shinohara
Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo,
Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas.
Av. Lineu Prestes, 580, Cidade Universitária, São Paulo - SP
CEP 05.508-900

Deficiências adquiridas de proteína C têm sido observadas em doenças hepáticas, terapia com anticoagulantes orais, deficiência de vitamina K, pós-operatório, coagulação intravascular disseminada, recém-nascidos e presença de níveis aumentados de L-asparaginase.⁷

As deficiências hereditárias de proteína S foram classificadas por Comp¹⁰ em tipos I, IIa e IIb de acordo com os níveis plasmáticos de proteína S (livre e total) e atividade. O tipo I tem herança autossômica dominante e apresenta todos os parâmetros relativos à proteína S (níveis de proteína S livre, total e atividade) diminuídos. No tipo IIa, a proteína S livre e atividade estão diminuídos, no entanto, o nível da proteína total apresenta-se normal. E no tipo IIb, somente a atividade da proteína S está diminuída.

Deficiências adquiridas de proteína S foram descritas em pacientes que fazem uso de anticoagulantes orais, na gravidez, em mulheres que usam anticoncepcional oral, na deficiência de vitamina K, nas doenças hepáticas, diabetes do tipo I, inflamações agudas e em recém-nascidos.⁷

A proteína S total pode ser determinada no plasma por meio de metodologias de eletroimunodifusão e testes de enzimmunoensaio (ELISA). A proteína S livre pode ser separada da proteína ligada por meio da precipitação do complexo com polietilenoglicol (PEG), segundo Comp *et al* (1986)¹¹ e, posteriormente, dosada com as metodologias já descritas para a proteína S total.

O nível de anti-trombina III circulante no plasma pode ser determinado por ensaio cromogênico, baseado em método amido-lítico (colorimétrico), mediante o uso do substrato cromogênio sintético (H-D-CHT-ABut-Arg-pNA).¹²

Deficiências adquiridas de antitrombina III podem ser observadas em doenças hepáticas, síndrome nefrótica, coagulação intravascular disseminada, uso de contraceptivos orais e presença de níveis aumentados de L-asparaginase.⁷

laboratorial para a determinação da resistência à proteína C ativada, que recebeu o mesmo nome (RPCA), e baseia-se na determinação do tempo de tromboplastina parcial ativado (TTPA) do plasma do paciente, antes e após adicionar proteína C ativada (exógena) ao plasma. O resultado é obtido pela razão do valor do TTPA utilizando reagente contendo proteína C ativada, pelo valor do TTPA sem proteína C ativada. A prova RPCA é utilizada como triagem da presença de fatores V mutantes.

Em alguns casos especiais, cuja a prova TTPA já se encontra alterada devido à presença de anticoagulantes lúpicos, ou em pacientes que fazem uso de warfarina, recomenda-se a diluição dos plasmas destes pacientes com plasma deficiente em fator V na proporção de 1:9 para a realização da prova de resistência à proteína C ativada.⁵⁴

As alterações genéticas presentes nos pacientes que apresentam trombofilias estão relacionadas às mutações nos genes do fator V, protrombina (fator II) e genes relacionados ao metabolismo da homocisteína, o que poderiam explicar a ocorrência de trombose em indivíduos que não apresentam níveis diminuídos de inibidores da coagulação.

ALTERAÇÕES GENÉTICAS NO GENE DO FATOR V

Foram descritas pelo menos oito alterações no gene que codifica a síntese do fator V, relacionadas às substituições de nucleotídeos, originando proteínas mutantes (Tabela II).

Dentre as mutações do fator V, o fator de Leiden (Arg506Gln) e o fator V Cambridge (Arg306Thr) são as mais citadas.

O fator V de Leiden foi descrito por Bertina *et al* em 1994⁴ e está presente em cerca de 90% dos pacientes que apresentam RPCA. O defeito molecular corresponde a uma mutação pontual no exon 10 do gene que codifica a síntese do fator V, conservando a sua função procoagulante. No entanto, há como consequência da substituição da base nitrogenada no DNA, a troca de um aminoácido (arginina por glutamina na posição 506) exatamente em um dos sítios na qual a proteína C cliva a molécula do fator Va, inativando-a e fornecendo-lhe características diferentes do fator V, já que a proteína C ativada não reconhece o fator Va mutante.

O fator V de Leiden está presente em cerca de 5% da população caucasóide e ausente em negros e asiáticos.²³

Os outros 10% de pacientes com RPCA, teriam outras mutações no gene do fator V.

O fator V Cambridge corresponde a outra mutação na qual há a substituição do aminoácido arginina pela tirosina na posição 306 do peptídeo.⁵⁹

Tabela II - Alterações moleculares descritas para o fator V: número do códon na qual houve a substituição da base nitrogenada, nucleotídeo e aminoácido e os respectivos fenótipos.

| Codon | Nucleotídeo | Aminoácido | Fenótipo | Referências |
|-------|-------------|------------|--------------------------------|--|
| 221 | GCC-GTC | Ala-Val | Deficiência do fator V | Murray <i>et al</i> , 1995 ⁴⁵ |
| 306 | AGG-ACG | Arg-Thr | Trombose | Williamson <i>et al</i> , 1998 ⁵⁹ |
| 306 | cAGG-GGG | Arg-Gly | Trombose | Chan <i>et al</i> , 1998 ⁹ |
| 485 | AGA-AAA | Arg-Lys | Aumento de risco para trombose | Hiroshi <i>et al</i> , 1998 ³¹ |
| 506 | CGA-CAA | Arg-Gln | Trombose | Bertina <i>et al</i> , 1994 ⁴ |
| 506 | gCGA-TGA | Arg-Term | Deficiência de fator V | Kitzis, 1999 ³³ |
| 712 | gCGA-TGA | Arg-Term | Trombose | Lunghi <i>et al</i> , 1998 ⁴⁰ |
| 1299 | CAT-CGT | His-Arg | Trombose | Castman <i>et al</i> , 1997 ⁸ |

Tabela I - Fatores adquiridos e congênitos relacionados à trombose.

| ADQUIRIDOS | CONGÊNITOS |
|--|--|
| •Cirurgia | •Resistência à proteína C ativada, |
| •Trauma | •Fator V (Leiden) e outras mutações |
| •Imobilização | •Deficiência de antitrombina III |
| •Neoplasias | •Deficiência de proteína C |
| •Implantes de válvulas cardíacas | •Deficiência de proteína S |
| •Coagulação intravascular disseminada (CIVD) | •Defeitos na fibrinólise |
| •Hiperhomocistemia | •Mutação G20210A do gene da protombina |
| •Trombose prévia (causas nutricionais) | •Hiperhomocistemia (causas genéticas) |
| •Presença de anticorpos anti-fosfolipídios (anticoagulantes lúpicos) | |
| •Síndrome nefrótica | |
| •Gravidez | |
| •Uso de contraceptivos orais | |
| •Uso de estrógenos | |
| •Fumo | |

Fonte: Mitchell & Cotran, 1999⁴²

ALTERAÇÕES GENÉTICAS RELACIONADAS ÀS TROMBOFILIAS

A resistência à proteína C ativada (RPCA) é o estado trombofílico mais freqüente, sendo a maior causa de morbidade e mortalidade com incidência de 1 em 1000 por ano, principalmente em indivíduos de origem européia.²⁹

Dahlback *et al* (1993, 1994)^{13,14} propuseram uma prova la-

Gandrille *et al* (1995)²⁷ estudaram a frequência de mutação ARG506GLN e ARG485LYS em 113 pacientes com resistência à proteína C ativada (RPCA) e em 104 voluntários normais. Obtiveram que 14% dos pacientes com RPCA e 1% dos voluntários normais apresentavam a mutação ARG506GLN. Para a mutação ARG485LYS, as frequências foram de 6,2% no grupo com RPCA e 2,9% para os voluntários.

ALTERAÇÕES GENÉTICAS NO GENE DA PROTROMBINA

Outra mutação associada à trombose venosa e arterial é a mutação G20210A do gene da protrombina. Esta mutação está localizada em região não codificante do gene, portanto não determina a produção de proteína mutante. O mecanismo pelo qual essa mutação predispõe à ocorrência de tromboses parece estar associado à elevação dos níveis da protrombina determinada por uma maior estabilidade de seu RNAm.^{48,61} Este fator de risco genético está presente em cerca de 1 a 3% da população caucasóide não sendo descrito em populações negras e asiáticas.²³

De Stefano *et al* (1999)¹⁶ pesquisaram sobre o risco de trombose venosa recorrente em portadores heterozigotos para as mutações do fator V Leiden e para a mutação G20210A da protrombina e observaram que os portadores do fator V Leiden (heterozigotos) possuem o mesmo risco dos não portadores. Os pacientes que apresentam as duas mutações têm um risco maior de recorrência após o primeiro episódio e são candidatos ao uso de anticoagulantes orais por toda a vida.

ALTERAÇÕES GENÉTICAS RELACIONADAS À HIPERHOMOCISTEINEMIA

Atualmente a hiperhomocisteinemia é considerada como um dos mais importantes fatores de risco para ocorrência de trombose arterial e venosa,^{15,23} sendo o primeiro estudo de caso-controle publicado em 1991 por Bienvenu *et al*.⁵ O mecanismo pelo qual a hiperhomocisteinemia determina a ocorrência de tromboses compreende alterações vasculares, plaquetárias e dos fatores de coagulação.^{15,17,28,30,47,49}

Os principais fatores que influenciam a concentração da homocisteína são genéticos, nutricionais (deficiência de B₆, B₁₂, folatos e zinco) e patológicos (tais como, psoríase grave, câncer, leucemia aguda linfoblástica, insuficiência hepática e renal).⁵⁸

O defeito genético mais grave do metabolismo da homocisteína é a deficiência da cistationina-b sintetase, que é uma alteração rara (1 caso em 250.000).⁵⁸ Em sua forma homozigota, produz uma hiperhomocisteinemia grave (até 400 mmol/L) com excreção de homocisteína na urina (homocistinúria).⁵⁸ No entanto, mesmo a deficiência heterozigota da cistationina-b sintetase (prevalência de 1 em 70 a 200) já é considerada como fator de risco aumentado de aterosclerose e trombose arterial e venosa.⁴³

Outra alteração relacionada ao metabolismo da homocisteína é a deficiência da enzima metilenotetrahidrofolato redutase (MTHFR).⁴⁴ A deficiência homozigota desta enzima é bastante comum, chegando a 10% na população caucasóide no Brasil.³

As alterações genéticas relacionadas aos fatores V, protrombina e níveis séricos aumentados de homocisteína, podem ser estudadas pela biologia molecular.

TROMBOFILIAS SECUNDÁRIAS

As trombofilias secundárias mais frequentes ocorrem em estados pós-operatórios, traumatismos, pós-partos, neoplasias malignas, tratamentos com estrógenos e uso de anticoncepcional oral,⁵³ doenças autoimunes (com presença de anticorpos anti-fosfolípides) e lúpus eritematoso generalizado.

Em algumas situações, os níveis plasmáticos dos fatores I (fibrinogênio) e VIII estão aumentados, tais como procedimentos cirúrgicos, trauma, infarto do miocárdio e doenças agudas. Na gravidez além desses, estão aumentados os níveis dos fatores IX e X e diminuídos os níveis dos fatores XI, XIII e anti-trombina III.³²

Dentre as causas de trombofilias secundárias, o câncer tem sido descrito como a causa mais frequente em pacientes que apresentam trombofilias com idades superiores a 40 anos.⁴⁶

É conhecido que a presença de anticoagulantes lúpicos predispõe à trombose.^{6,26,38} Os anticoagulantes lúpicos estão presentes em gestantes com complicações obstétricas^{2,21,60} e após uso de alguns medicamentos.⁵²

A denominação de anticoagulantes lúpicos é incorreta, pois não são anticoagulantes e sim anticorpos antifosfolípides (imunoglobulinas do tipo IgG, IgM, IgA ou misturas delas), que interferem "in vitro" nos testes TTPA e no tempo de veneno de cobra de Russel diluído (DRVVT).³⁹ A presença destes anticorpos "in vivo" acarreta ao paciente tendência à trombose. Não são encontrados apenas em pacientes com lúpus eritematoso, mas também na população sadia na frequência de 0 a 14%. Os anticorpos lúpicos, em conjunto com os anticardiolipina e a reagina, fazem parte da família dos anticorpos antifosfolípides.

Os antígenos que desencadeiam a formação destes anticorpos incluem os complexos proteína-fosfolípides.^{22,57} Algumas proteínas têm sido consideradas como cofatores para a formação destes complexos, tais como protrombina, beta 2 glicoproteína I, ane-xina V, proteína C, proteína S, trombomodulina, cininogênio de alto peso molecular, entre outras.^{23,24}

As metodologias utilizadas para o diagnóstico laboratorial da presença de anticorpos antifosfolípides incluem: TTPA alterado e não corrigido com a diluição com plasma normal; tempo de coagulação com caolim; tempo de veneno de cobra de Russel diluído (DRVVT) e teste de neutralização com plaquetas.^{19,20,25,55,56}

Vários pesquisadores estudaram a relação entre as complicações obstétricas, tais como pré-eclâmpsia e retardado de crescimento intra-útero, e a maior tendência destas mulheres a desenvolverem trombofilias.^{34,37,60}

Lindqvist *et al* (1998)³⁷ fizeram um estudo retrospectivo com um grupo de 122 mulheres que tiveram pré-eclâmpsia ou retardado do crescimento intra-útero na última gravidez e um grupo controle de 465 gestantes saudáveis. Observaram que não houve diferença significativa entre as frequências de RPCA entre os grupos de mulheres com pré-eclâmpsia e retardado do crescimento intra-útero, quando comparadas com as observadas no grupo controle. No entanto, os autores observaram que o sub-grupo composto pelas mulheres que apresentavam resistência à proteína C ativada tinham menor risco de sangramento intra-parto, quando comparado com o sub-grupo das não resistentes à proteína C ativada. Este fato sugere que a mutação do fator V (representada pelos alelos dos FV:506) poderia ser um mecanismo evolutivo de seleção.

Kupfermine *et al* (1999)³⁴ estudaram a frequência de trombofilias devido às alterações genéticas (presença de fator V mutante, mutação da citosina para timina no nucleotídeo 677 no gene que codifica a enzima metilenotetrahidrofolato redutase e mutação da guanina pela adenina no nucleotídeo 20.210 no gene da protrombina) em mulheres que tiveram complicações na gravidez, por meio do estudo caso-controle, em dois grupos constituídos de 110 gestantes. Observaram que 57 (52%) mulheres com complicações na gravidez apresentaram algumas das alterações genéticas pesquisadas, diferindo significativamente do grupo controle que apresentou 17% das mulheres com alterações genéticas. Os autores concluíram que mulheres com complicações obstétricas graves apresentam incidência maior de mutações, o que as predis põem à trombose ou às outras formas de trombofilias congênitas ou adquiridas.

Atualmente, a doença tromboótica venosa, assim como a arterial, deve ser vista como uma doença causada pela interação de fatores adquiridos e genéticos,⁵¹ sendo estes últimos de natureza multigênica.^{16,23,27,34}

Descritores: coagulação sanguínea, tromboembolismo.

Key-words: blood coagulation; thromboembolism.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMÉR, L.O.; OHLIN, H. Elevated levels of the rapid inhibitor of plasminogen activator (t-PAI) in acute myocardial infarction. *Thromb. Res.*, v. 47, n.3, p.335-9, 1987.
- ARIAS, F.; ROMERO, R.; JOIST, H. *et al.* Thrombophilia: a mechanism of disease in women with adverse pregnancy outcome and thrombotic lesions in the placenta. *J. Matern. Fetal Med.* v. 7, n. 6, p. 277-86, 1998.
- ARRUDA, V.R.; SIQUEIRA, L.H.; GONÇALVES, M.S. *et al.* Prevalence of the mutation C677T in the methylene tetrahydrofolate reductase gene among distinct ethnic groups in Brazil. *Am. J. Med. Genet.*, v. 78, n. 4, p. 332-5, 1998.
- BERTINA, R.M.; KOELEMAN, B.P.; KOSTER, T. *et al.* Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. *Nature*, v.339, n.6475, p.64-7, 1994.
- BIENVENU, T.; ANKRI, A.; CHADEFaux, B. *et al.* Dosage de l'homocystéine plasmatique dans l'exploration des thromboses du sujet jeune. *Press. Med.* v.20, n.21, p.985-8, 1991.
- BICK, R.L.; BAKER, W.F. Antiphospholipid syndrome and thrombosis. *Semin. Thromb. Hemost.*, v. 25, n. 3, p. 330-50, 1999.
- CANTON, M.M. Introduction to thrombosis and anticoagulant therapy. In: HARMENING, D.M. *Clinical hematology and fundamentals of hemostasis*. Davis Company, 3.ed. Philadelphia, 1997, p.566-81.
- CASTAMAN, G.; LUNGHI, B.; MISSIAGLIA, E. *et al.* Phenotypic homozygous activated protein C resistance associated with compound heterozygosity for Arg506Gln (factor V Leiden) and His1299Arg substitutions in factor V. *Br. J. Haematol.*, v.99, n.2, p.257-61, 1997.
- CHAN, W.P.; LEE, C.K.; KWONG, Y.L. *et al.* A novel mutation of Arg306 of factor V gene in Hong Kong Chinese. *Blood*, v.91, n.4, p.1135-9, 1998.
- COMP, P.C. Laboratory evaluation of protein S status. *Semin. Thromb. Hemost.*, v.16, n.2, p.117-81, 1990.
- COMP, P.C.; DORAY, D.; PATTON, D. *et al.* An abnormal plasma distribution of protein S occurs in functional protein S deficiency. *Blood*, v.67, n.2, p.504-8, 1986.
- DACIE, J.V.; LEWIS, S.M. Investigation of thrombotic tendency. In: *Practical Haematology*. London, Churchill Livingstone, 1995, p. 351-366.
- DAHLBÄCK, B.; CARLSSON, M.; SVENSSON, P.J. Familial thrombophilia due to a previously unrecognized mechanism characterized by poor anticoagulant response to activated protein C: prediction of a cofactor to activated protein C. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, v.90, n.3, p.1004-8, 1993.
- DAHLBACK, 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*, v.91, n.4, p.1396-400, 1994.
- D'ANGELO, A.; SELHUB, J. Homocysteine and thrombotic disease. *Blood*, v.90, n.1, p.1-11, 1997.
- DE STEFANO, V.; MARTINELLI, I.; MANNUCCI, P.M. *et al.* - The risk of recurrent deep venous thrombosis among heterozygous carriers of both factor V Leiden and the G20210A prothrombin mutation. *N. Engl. J. Med.*, v.341, n. 11, p.801-6, 1999.
- DI MINO, G.; DAVI, G.; MARGAGLIONE, M. *et al.* Abnormal high thromboxane biosynthesis in homozygous homocystinuria. Evidence for platelet involvement and probucol-sensitive mechanism. *J. Clin. Invest*, v.92, n.3, p.1400-6, 1993.
- EGEBERG, O. Inherited antithrombin deficiency causing thrombophilia. *Thromb. Diath. Hemorrh.*, v.13, p.516, 1965.
- EXNER, T.; PAPADOPOULLOS, G.; KOUTTS, J. Use of a simplified dilute Russell's viper venom time (DRVVT) confirms heterogeneity among 'lupus anticoagulants'. *Blood Coagul. Fibrinolysis*, v. 1, n. 3, p. 259-66, 1990.
- EXNER, T.; TRIPLETT, D.A.; TABERNER, D.; *et al.* Guidelines for testing and revised criteria for lupus anticoagulants. *Thromb. Haemost.*, v.65, n. 3, p. 320-3, 1991.
- FEINSTEIN, D.I. Lupus anticoagulant thrombosis and fetal loss. *N. Engl. J. Med.* v.313, n. 21, p. 1348-50, 1985.
- FIELD, S.L.; HOGG, P.J.; DALY, Y.P. *et al.* Lupus anticoagulant form immune complexes with prothrombin and phospholipids that can augment thrombin production in flow. *Blood*, v.94, n. 10, p. 3421-31, 1999.
- FIGUEIREDO, M. Trombose: conceitos atuais. In: *Doenças hemorrágicas e tromboóticas*. Laboratório Fleury, 1998.
- FORASTIERO, R.; MARTINUZZO, M.; ADAMCZUK, Y. *et al.* Occurrence of anti-prothrombin and anti-beta2-glycoprotein I antibodies in patients with history of thrombosis. *J. Lab. Clin. Med.* v.134, n. 6, p. 610-5, 1999.
- GALLI, M.; FINAZZI, G.; BEVERS, E.M. *et al.* Kaolin clotting time and dilute Russell's viper venom distinguish between prothrombin dependent and beta-2-glycoprotein 1 dependent antiphospholipid antibodies. *Blood*, v.86, n. 2, p. 617-23, 1995.
- GALLI, M.; FINAZZI, G.; NORBIS, F. *et al.* The risk of thrombosis in patients with lupus anticoagulants is predicted by their specific coagulation profile. *Thromb. Haemost.*, v. 81, n. 5, p. 695-70, 1999.
- GANDRILLE, S.; GREENGARD, J.S.; ATHENE-GELAS, M. *et al.* Incidence of activated protein C resistance caused by the ARG 506 Gln mutation in factor V in 113 unrelated symptomatic protein C deficient patients. The French Network on the behalf of INSERM. *Blood*, v.86, n.1, p.219-24, 1995.
- GIANNINI, M.J.; COLEMAN, M.; INNERFIELD, I. Antithrombin activity in homocystinuria (Letter). *Lancet*, v.1, n.7915, p.1094, 1975.
- GREGG, J.P.; YAMANE, A.J.; GRODY, W.W. Prevalence of the factor V-Leiden mutation in four distinct American ethnic populations. *Am. J. Med. Genet.*, v.73, n.3, p.334-6, 1997.
- HARKER, L.A.; SLICHTER, S.J.; SCOTT, C.R. *et al.* Homocystinemia. Vascular injury and arterial thrombosis. *N. Engl. J. Med.*, v.291, n.11, p.537-43, 1974.
- HIROSHI, M.; ARNUTTI, P.; PRAYOONWIWAT, W. *et al.* A polymorphism nt 1628G→A (R485K) in exon 10 of the coagulation factor V gene may be a risk factor for thrombosis in the indigenous Thai population. *Thromb Haemost*, v.80, n.4, p.705-6, 1998.

32. JOBE, M.I. Mechanisms of coagulation and fibrinolysis. In: STIENE-MARTIN, EA; LOTSPEICH-STEININGER, CA; KOEPKE, JA. LIP-PINCOTT. *Clinical Hematology. Principles, Procedures, Correlations.*, Lippincott, 1998, p.612-34.
33. KITZIS, M. L. *Human Genet.*, v. 104, p. 290, 1999.
34. KUPFERMINE, M.J.; ELDOR, A.; STEINMAN, N. *Et al.* Increased frequency of genetic thrombophilia in women with complications of pregnancy. *N. Engl. J. Med.*, v. 340, n. 1, p. 9-13, 1999.
35. LAURELL, C.B. Electroimmunoassay. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, v. 29, suppl.124, p.21-7, 1972.
36. LAURELL, C.B. Quantitative estimation of proteins by electrophoresis in agarose gel containing antibodies. *Anal. Biochem.*, v.15, p.45-52, 1966.
37. LINDQVIST, P.G.; SVENSSON, P.J.; DAHLBACK, B. *et al.* Factor V Q506 mutation (activated protein C resistance) associated with reduced intrapartum blood loss - a possible evolutionary selection mechanism. *Thromb. Haemost.*, v. 79, n. 1, p. 69-73, 1998.
38. LOPEZ, F.F.; SWEENEY, J.D.; BLAIR, A.J. *et al.* Spontaneous venous thrombosis in a young patient with combined factor V Leiden and lupus anticoagulant. *Am. J. Hematol.*, v. 62, n. 1, p. 58-60, 1999.
39. LOVE, P.E.; SANTORO, S.A. Antiphospholipid antibodies: anticardiolipin and the lupus anticoagulant in systemic lupus erythematosus (SLE) and in non-SLE disorders. *Ann. Intern. Med.*, v. 112, n.9, p. 682-98, 1990.
40. LUNGHI, B.; CASTOLDI, E.; MINGOZZI, F. *et al.* A novel factor V null mutation detected in a thrombophilic patient with pseudo-homozygous APC resistance and in an asymptomatic unrelated subject. *Blood*, v.92, n.4, p.1463-4, 1998.
41. MARLAR, R.A.; KLEISS A.J.; GRIFFIN, J.H. Mechanism of action of human activated protein C, a thrombin-dependent anticoagulant enzyme. *Blood*, v.59, n.2, p.1067-72, 1982.
42. MITCHELL, R.N.; COTRAN, R.S. Hemodynamic disorders, thrombosis, and shock. In: COTRAN RS; KUMAR V; COLLINS T - *Robbins - Pathologic Basis of Disease*, 6.ed, Philadelphia, W.B. Saunders Company, 1999, p.113-38.
43. MUDD, S.H.; LEVY, H.L. Disorders of transsulfuration. In: STANBURY, J.B.; WYNGARDEN, J.B.; FREDERICKSON, D.S. *et al.* *The metabolic basis of inherited disease*. New York : McGraw-Hill Book Co, 1983. p.522-559.
44. MUDD, S.H.; LEVY, H.L. Plasma homocyst(e)ine or homocysteine? *N. Engl. J. Med.* v. 333, n. 5, p. 325, 1995.
45. MURRAY, J.M.; RAND, M.D.; EGAN, J.O. *et al.* Factor V New Brunswick: Ala221-to-Val substitution results in reduced cofactor activity. *Blood*, v.86, n.5, p.1820-7, 1995.
46. NORDSTROM, M.; LINDBLAD, B.; ANDERSON, H. *et al.* Deep venous thrombosis and occult malignancy: an epidemiological study. *B. M. J.*, v. 308, n. 6933, p. 891-4, 1994.
47. PALARETI, G.; COCCHERI, S. Lowered antithrombin III activity and other clotting changes in homocystinuria: effects of a pyridoxine-folate regimen. *Haemostasis*, v.19, suppl.1, p.24-8, 1989.
48. POORT, S.R.; ROSENDAAL, F.R.; REISTMA, P.H. *et al.* - 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*, v.88, n.10, p.3698-703, 1996.
49. ROSENBERG, R.D. Actions and interactions of antithrombin and heparin. *N. Engl. J. Med.*, v.292, n.3, p.146-51, 1975.
50. RUIZ-ARGÜELLES, G. Trombophilia. In: Ruiz-Argüelles G - *Fundamentos de Hematología*, México, Editorial Medica Panamericana. 1998, p.332-42.
51. SALOMON, O.; STEINBERG, D.M.; ZIVELIN, A. *Et al.* Single and combined prothrombotic factors in patients with idiopathic venous thromboembolism: prevalence and risk assessment. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, v. 19, n. 3, p. 511-8, 1999.
52. SCHWARTZ, M.; ROCHAS, M.; TOUBI, E. *et al.* The presence of lupus anticoagulant and anticardiolipin antibodies in patients undergoing long-term neuroleptic treatment. *J. Psychiatry Neurosci.* v. 24, n. 4, p. 351-2, 1999.
53. SPAGNAGLI, M.; DICK, A.; ASSMANN, A. *et al.* Resistance to activated protein C in women using oral contraceptives. *Semin. Thromb. Hemost.*, v. 24, n. 5, p. 423-30, 1998.
54. SUN, X.; EVATT, B.; GRIFFIN, J.H. Blood coagulation factor Va abnormality associated with resistance to activated protein C in venous thrombophilia. *Blood*, v.83, n.11, p.3120-5, 1994.
55. THIAGARAJAN, P.; PENG, V.; SHAPIRO, S.S. The use of dilute Russell's viper venom time for diagnosis of lupus anticoagulants. *Blood*, v.68, n. 4, p. 869-74, 1986.
56. TRIPLETT, D.A.; BRANDT, J.T. Laboratory identification of the lupus anticoagulants. *Br. J. Haematol.*, v. 73, n. 2, p. 139-42, 1989.
57. VERMYLEN, J.; ARNOU, J. Is the antiphospholipid syndrome caused by antibodies directed against physiologically relevant phospholipid-protein complexes? *J. Lab. Clin. Med.*, v.120, n. 1, p. 10-2, 1992.
58. VERSTRAETE, M. *Hiperhomocisteinemia como fator de risco para a doença arterial e venosa*. Boletim da Rede Sanofi, ano 3, n. 2, p.4-13.
59. WILLIAMSOM, D.; BROWN, K.; LUDDINGTON, R. *et al.* Factor V Cambridge: a new mutation (Arg306@Thr) associated with resistance to activated protein C. *Blood*, v.91, n.4, p.1140-41998.
60. YASUDA, M.; TAKAKUWA, K.; TOKUNAGA, A. *et al.* : Prospective studies of the association between anticardiolipin antibody and outcome of pregnancy. *Obstet. Gynecol.* v. 85, n. 4pt1, p. 555-9, 1995.
61. ZIVELIN, A.; ROSENBERG, N.; FAIER, S. *et al.* A single genetic origin for the common prothrombotic G20210A polymorphism in the prothrombin gene. *Blood*, v.92, n.4, p