



ARTÍCULO ESPECIAL

Investigación de la trombofilia venosa. Presente y futuro



N. Vilalta y J.C. Souto*

Unitat d'Hemostàsia i Trombosi, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, España

Recibido el 3 de marzo de 2014; aceptado el 4 de marzo de 2014

Disponible en Internet el 16 de abril de 2014

PALABRAS CLAVE

Trombofilia;
Genética;
Factores de riesgo;
Modelos predictivos;
Fenotipos
intermediarios

KEYWORDS

Thrombophilia;
Genetics;
Risk factors;
Predictive models;
Intermediate
phenotypes

Resumen La enfermedad tromboembólica venosa es de tipo complejo. Es consecuencia de la interacción de factores ambientales y genéticos que muchas veces se reflejan en los llamados fenotipos intermediarios. Estos se asocian por definición al riesgo de trombosis y por ello tienen una gran utilidad tanto diagnóstica como en la búsqueda de los factores causales últimos (ambientales y genéticos). Las investigaciones actuales van encaminadas a responder por qué se origina un trombo mediante la búsqueda de nuevos mecanismos que se añaden a la tríada descrita por Virchow. Los estudios de *genome wide asociation study* (GWAS) y las técnicas de secuenciación masiva han permitido identificar nuevas variantes genéticas. A estas técnicas se les suman nuevos campos en desarrollo como la epigenética, la transcriptómica y el estudio del metaboloma. El procesamiento de la inmensa información mediante los algoritmos adecuados y modelos matemáticos y bioinformáticos multiplicará la capacidad para responder cuestiones sobre el espectro mutacional de la trombosis y estimar el riesgo individual de padecerla. El área de investigación de mayor valor clínico aplicado en trombofilia debe ir encaminada al desarrollo de modelos predictivos que permitan estimar el riesgo individual de trombosis o de recidiva, si es el caso.

© 2014 SEACV. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Venous thrombophilia research. Present and future

Abstract Thrombosis is a complex human disease. It is the result of the interaction between the environment and genes. This interaction is manifested by «intermediary phenotypes». These intermediary phenotypes are useful for estimating the risk of developing the disease. The targets of current investigations are attempting to identify new mechanisms that underlie the classic Virchow's triad. Modern methodologies, such as genome wide association studies (GWAS) and high-throughput genotyping technology (massive sequencing techniques) are being used to identify genetic variants. The fields of epigenetics, transcriptomics and metabolomics are being developed to complement these studies. The vast amount of data to explain the environmental

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: jsouto@santpau.cat (J.C. Souto).

and genetic factors that predispose for the disease require informatic techniques, such as mathematical and bio-computer models to estimate the individual risk of thrombosis. The research area with the highest clinical application is the development of predictive models to estimate the individual risk of thrombosis.

© 2014 SEACV. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

El conocimiento actual de la etiología de la trombosis se basa en la primera descripción realizada a mediados del siglo XIX por el patólogo Virchow. Virchow postuló que las principales causas de trombosis se resumían en cambios en el vaso sanguíneo, el flujo y en los componentes de la sangre. Estas premisas actualmente siguen siendo válidas¹. La trombofilia puede considerarse un estado latente de la coagulación en el que la resistencia a la trombosis se encuentra disminuida, aumentando la posibilidad de formación de trombos arteriales y venosos². Los mecanismos que anticipó Virchow en un intento de explicar la trombosis, son el resultado de la interacción de factores de riesgo ambientales (o adquiridos) y genéticos.

En 1996, un comité de expertos de la OMS y la ISTH definió la *trombofilia hereditaria* como una tendencia genéticamente determinada al tromboembolismo venoso (TEV). Anomalías dominantes, en algunos casos, y combinaciones de defectos más leves, en otros, pueden causar TEV a edad de inicio temprana, recidivas frecuentes o historia familiar de trombosis. Los rasgos leves pueden ser solo revelados mediante investigación de laboratorio. Todavía no se conocen ni se han comprendido todas las influencias genéticas ni sus interacciones³. Esta definición implicaba que tan solo un subgrupo selecto de pacientes con TEV debía su enfermedad a variantes genéticas (algunas conocidas, como los déficits de antitrombina, proteína S o proteína C, o las mutaciones Factor V Leiden o PT20210A, y otras, todavía por descubrir). En contraposición, la gran mayoría de casos observados en la clínica diaria eran atribuidos a circunstancias ambientales o adquiridas, con muy poca o nula influencia genética.

Pocos años más tarde, se impuso la noción de que cualquier episodio de trombosis es el resultado de la interacción de genes y factores ambientales, obligando a entender la enfermedad tromboembólica venosa como un rasgo complejo. La base genética subyacente a esta complejidad parece ser la parte más importante, explicando entre un 50 y un 60% de la predisposición a la enfermedad⁴⁻⁶. Sin embargo, hasta la fecha, solo hemos conseguido detectar una parte muy pequeña, alrededor del 5%, de esta base genética o heredabilidad⁷.

Es necesario ampliar el campo de investigación de las causas de trombosis más allá de los clásicos estudios realizados hasta ahora. Principalmente se ha investigado en sujetos con trombosis espontáneas, con características de trombofilia hereditaria: de edad joven, con trombosis recidivante y con historia familiar positiva. Este grupo de pacientes supone un porcentaje muy pequeño de las trombosis observadas en la vida real. Si la base genética de la enfermedad juega un papel importante en cualquier situación clínica,

será conveniente incluir todo tipo de pacientes en estudios futuros, por ejemplo, casos de trombosis paraneoplásicas, las trombosis en pacientes de edad avanzada y las asociadas a factores de riesgo adquiridos, como la cirugía u otras comorbilidades. Idealmente, estas investigaciones deberían ofrecer respuestas de utilidad clínica a 3 preguntas importantes: 1.^a) ¿por qué un sujeto concreto sufre una trombosis? 2.^a) ¿cuál es el riesgo individual de sufrir una trombosis tanto en personas asintomáticas (riesgo basal) como en pacientes con trombosis previa (riesgo de recidiva)?, y la pregunta más difícil de responder y que necesita del conocimiento de las respuestas previas: 3.^a) ¿cuándo un sujeto concreto va a presentar una trombosis o una recidiva, si es el caso?

Causas de tromboembolismo venoso. ¿Por qué un paciente ha sufrido una trombosis?

En condiciones normales, ante la rotura de un vaso, se origina un trombo como mecanismo defensivo para evitar la pérdida de sangre. Cuando este proceso tiene lugar fuera de este contexto, es cuando nos encontramos con una trombosis patológica.

Utilizando la tríada de Virchow como matriz, podemos añadir nuevos mecanismos que en ausencia de traumatismo vascular ocasionan un trombo patológico. Atendiendo a una reciente revisión de Reitsma⁸ en la que se describen los factores de riesgo de trombosis más comunes, intentaremos realizar un análisis sintético para su comprensión. Uno de los factores de riesgo a considerar es la hipoxemia. En las zonas valvulares venosas, la concentración de oxígeno es menor, acentuándose en aquellos casos en que las válvulas se encuentran dañadas. La hipoxemia da lugar a unas condiciones proinflamatorias y procoagulantes que implican distintos agentes y mecanismos, entre ellos, las proteínas pro- y anticoagulantes, la vía del factor tisular, la p-selectina, las plaquetas, las micropartículas y la activación de la inmunidad innata (incluyendo monocitos y granulocitos) y adquirida.

1. *Las proteínas activadoras e inhibidoras de la coagulación*: Como es sabido, los determinantes de riesgo de trombosis mejor estudiados son los componentes de la coagulación plasmática tanto los factores procoagulantes como los inhibidores. Muchas de las variaciones, cuantitativas o cualitativas, en la concentración plasmática se explican por anomalías genéticas como el déficit de antitrombina, de proteína C, de proteína S, la mutación del factor V Leiden, la mutación de la protrombina y el grupo sanguíneo no O. Aunque estas alteraciones genéticas patofisiológicamente puedan explicar la tendencia a la coagulación, es necesaria la interacción con otros

mecanismos relacionados con el estilo de vida y los factores ambientales para que en un momento determinado alteren el equilibrio entre los factores protrombóticos y los inhibidores.

2. *El papel de la inmunidad:* Como consecuencia de los procesos inflamatorios e infecciosos que tienen lugar en la zona donde se originará el trombo, se produce la activación de la inmunidad innata involucrando la activación del endotelio, de los granulocitos y los monocitos. Los granulocitos neutrófilos activados pueden liberar material intranuclear formando redes extracelulares o *neutrophil extracellular traps* (NET). Las NET son una barrera física inicialmente destinada a evitar la diseminación de microorganismos, pero también suponen un andamiaje molecular sobre el que se desencadenan los procesos de coagulación y formación de fibrina. En un artículo publicado por van Montfoort et al.⁹, se describe la correlación entre el desarrollo de las NET (como consecuencia de la activación de los neutrófilos) y el riesgo de TEV. Una forma indirecta de objetivar la activación de los neutrófilos es mediante la medición de los complejos elastasa/alfa-1-antitripsina y los niveles de nucleosomas circulantes. Se ha visto que los nucleosomas no solo forman parte de las NET sino que también se detectan en procesos que comportan una destrucción celular, principalmente cuando implican la muerte de células endoteliales. De hecho, existen datos epidemiológicos que relacionan el aumento del riesgo de trombosis en el contexto de enfermedades infecciosas¹⁰.
3. *Las plaquetas:* Hasta ahora se había prestado escasa atención a las plaquetas como agentes relevantes en la patogénesis del TEV. Actualmente, se conoce que las plaquetas activadas son catalizadoras importantes de la activación de la protrombina (tanto a través de la vía intrínseca como de la vía extrínseca) para generar trombina y, finalmente, la red de fibrina¹¹. También se han visto involucrados en estos mecanismos los receptores plaquetarios, como la glucoproteína VI (receptor para el colágeno), que interviene en los procesos de agregación y adhesión celular y que posee variantes genéticas asociadas al riesgo de TEV¹². En apoyo al papel de las plaquetas en la etiología del TEV, cabe mencionar que los fármacos inhibidores de la función plaquetaria, como los antiagregantes, disminuyen la incidencia de TEV tanto primario como recurrente¹³. Esta afirmación se apoya en los resultados que ofrecieron los estudios ASPIRE¹⁴ y WAFASA¹⁵ en los que se reclutaron pacientes que habían padecido un TEV profundo proximal espontáneo. El objetivo primario era evaluar el riesgo de recurrencia de TEV en pacientes tras haber finalizado el tratamiento con fármacos anti-trombóticos. Un grupo recibió dosis bajas de aspirina frente al otro que recibió placebo. Ambos estudios demostraron una disminución en el riesgo de recurrencia de TEV y de eventos vasculares mayores (accidentes vasculares cerebrales, infartos agudos de miocardio) sin aumentar significativamente el riesgo de sangrado en el grupo tratado con antiagregantes.

Otro aspecto que cabe mencionar es el papel de los polifosfatos contenidos en los gránulos densos plaquetarios. Los polifosfatos son polímeros sencillos constituidos por fosfatos inorgánicos unidos entre sí. Su función es ser fuente de fosfatos para la síntesis de las moléculas

de ATP en casos de mayor demanda energética. En el plasma humano, la vida media de los polifosfatos es de 1,5 a 2 h ya que están sometidos a la degradación de las fosfatasas circulantes. Cuando se produce la activación plaquetaria, se libera el contenido de sus gránulos. Los polifosfatos intervienen en toda la vía de la coagulación. Por una parte, como son polímeros aniónicos, se unen a proteínas que iniciarían la fase de contacto de la coagulación o vía intrínseca. También aceleran la activación del factor v mediante la activación del factor x y la generación de trombina. Cuando el factor xa está unido al cofactor va, es indomable a la acción de la proteína inhibidora del factor tisular (TFPI), esta proteína no degrada el factor tisular y por lo tanto se favorece el proceso coagulativo. El factor xi se puede activar fundamentalmente por 3 vías: mediante el factor xiiia, por *feedback* positivo del factor xia y mediante la trombina. Estas 2 últimas son muy lentas fisiológicamente, viéndose aceleradas en condiciones en que aumentan los niveles de polifosfato. También contribuyen en la fase final de la cascada de la coagulación mediante la generación de mallas de fibrina de mayor longitud y grosor siendo más resistentes a la fibrinólisis¹⁶.

4. *Las micropartículas (MP):* Las MP son vesículas procedentes de la superficie celular con distintos orígenes. La mayoría (80%) se forman en la superficie de las plaquetas, pero también podemos encontrar procedentes de monocitos y de células endoteliales. Las proteínas que conforman su superficie reflejan su procedencia. Entre estas proteínas cabe destacar una de ellas: el factor tisular. Se ha establecido una correlación entre la expresión de factor tisular en la superficie de algunas MP y el riesgo de TEV por su actividad procoagulante capaz de activar la vía extrínseca¹⁷.

Factores de riesgo actualmente descritos

Los anteriores mecanismos, entre otros, son el resultado de una conjunción de factores causales algunos de ellos presentes en el ambiente del sujeto y otros pertenecientes a su base genética. Queda claro que cualquier TEV es de naturaleza multifactorial, es decir, resulta de la interacción de múltiples factores ambientales y genéticos. La identificación de estos factores nos permite entender, aunque parcialmente, los casos que observamos en la clínica diaria. Sin embargo, la comprensión de cada caso es todavía muy insuficiente por 3 motivos: porque aún desconocemos la mayor parte de determinantes genéticos, porque seguramente quedan factores ambientales desencadenantes por descubrir, y porque a pesar de identificar ciertos factores de riesgo, desconocemos cómo interactúan entre sí, o el valor relativo de cada uno de ellos en un paciente concreto.

Cualesquiera que sean las variantes genéticas de riesgo de trombosis que un paciente posea, o las circunstancias ambientales que le influyan, nunca observamos una afectación clínica continua. Incluso en los casos más llamativos de trombofilia, en la mayoría de pacientes, la trombosis sucede en episodios separados a menudo por periodos asintomáticos prolongados. Esta discontinuidad sugiere la necesidad de factores desencadenantes para cada episodio, tal vez estímulos directos, el deterioro temporal de resistencia intrínseca a la trombosis, o alguna combinación de

Tabla 1 Factores adquiridos o ambientales asociados con el riesgo de TEV

Factor de riesgo	Riesgo	Referencia	Comentario
Edad >75 años	2,25-12,60 (HR)	18	Según década, comparado con < 45 años
Sexo masculino	1,60 (RR)	19	Solo aumenta el riesgo de recidiva
Raza negra	1,60 (HR)	18	Comparado con raza blanca
Obesidad (IMC > 30)	2,33 (OR)	18,20	
Tabaquismo	1,06-1,49 (HR)	21	Según la intensidad de exposición
HTA	1,51 (OR)	20	
Diabetes mellitus	1,41 (OR)	18,20	
Varices	1,40 (HR)	21	
Cualquier enfermedad grave	1,70 (OR)	22	Variable entre 1,4 y 4,9 según tipo
ICC	1,30-1,40 (HR)	21	Variable según sexo
IRC	1,60-1,90 (HR)	21	Variable según sexo
Cáncer	1,80-2,20 (HR)	21	Variable según sexo
EPOC	1,40-1,60 (HR)	21	Variable según sexo
Enfermedad autoinmune	3,90-16,40 (SIR)	23,24	Variable según tipo
Infecciones	1,74-2,70 (RR)	24	Variable según tipo
Ingreso en hospital	1,90 (HR)	21	
Fármacos antipsicóticos	1,55-1,84 (HR)	21	Variable según sexo
AINE	2,50 (IRR)	25	
Tamoxifeno	1,50 (HR)	21	
Anticonceptivos orales	1,33 (HR)	21	
THS	1,20 (HR)	21	
Embarazo y puerperio	4,30 (RR)	26	
Traumatismo grave	4,80-8,60 (OR)	27	Variable según tipo
Cirugía general	9,50 (OR)	28	
Cirugía ortopédica	16,25 (OR)	28	
Estancia en cama	5,60 (OR)	28	
Escayolamiento	36,5 (OR)	20	
Viaje > 5 h, mes previo	2,80 (RR)	29	Variable según duración del viaje
Estación del año (invierno)	1,14 (RR)	30	
Polución ambiental	1,47 (OR)	31	
Consumo de café	0,70 (OR) /	32,33	Factor protector
Alcohol	0,75 (HR)	24,25	Factor protector

AINE: antiinflamatorios no esteroideos; EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica; HR: *hazard ratio*; HTA: hipertensión arterial; ICC: insuficiencia cardíaca congestiva; IMC: índice de masa corporal; IRC: insuficiencia renal crónica; IRR: *incidence rate ratio*; OR: *odds ratio*; RR: *relative risk*; SIR: *standardised incidence ratio*; THS: terapia hormonal sustitutiva.

estos. Este característico modo de presentación en forma de sucesos separados en el tiempo, subraya la importancia de la interacción con el ambiente. Para explicar cualquier episodio de TEV disponemos actualmente de una relación numerosa de factores de riesgo ambiental (tabla 1) y otra de riesgo genético (tabla 2). También se han identificado múltiples parámetros de laboratorio, técnicamente considerados como «fenotipos intermediarios» que se asocian con el riesgo de trombosis (tabla 3). Todos estos fenotipos intermediarios también son «complejos», es decir, son el resultado de la interacción de genes y ambiente. Su vinculación con la enfermedad puede ser utilizada para 3 propósitos de gran interés: a) explicar los casos clínicos, b) formar parte de los modelos de predicción (ver más adelante) y también c) en la búsqueda de factores genéticos aún desconocidos.

Resulta indudable que la combinación de distintos factores de riesgo (tanto genéticos como ambientales) siempre provoca un riesgo final mucho mayor que la mera suma de riesgos aislados. Por ejemplo, una enfermedad grave provoca un riesgo de 1,7, la inmovilización se asocia con un riesgo de 5,6 (tabla 1) y el aumento de niveles de FVIII con

un riesgo de 3,7 (tabla 3). La presencia de los 3 factores en un mismo sujeto le confiere un riesgo de TEV 88 veces superior, según datos del estudio MEGA²².

Futuro de la investigación en trombofilia

A continuación, proponemos 2 campos que consideramos clave en el avance del conocimiento, en el pronóstico y en la prevención de la trombosis.

Completar la base genética

Puesto que la constitución genética de los individuos explica entre un 50 y un 60% de su predisposición al TEV y las variantes genéticas de riesgo identificadas hasta la actualidad no suponen conjuntamente ni un 10% del riesgo, está claro que un área imprescindible de investigación debe ser el descubrimiento de los factores genéticos aún desconocidos. En la tabla 2 se registran 19 *loci* genéticos claramente asociados al riesgo y otros 22 potencialmente asociados (pie de tabla,

Tabla 2 Factores genéticos asociados con el riesgo de TEV

Gen o variante genética	RR	Cita	Comentario
<i>SERPINC1</i> (antitrombina)	10	7	Más de 130 mutaciones privadas con déficit AT en plasma
AT Cambridge II (Ala384Ser)	10	34	Muy difícil de detectar en plasma
<i>SERPINC1</i> rs2227589	1,30	7	
<i>PROC</i> (proteína C)	8	7	Más de 160 mutaciones privadas con déficit de PC
<i>PROCR</i> (receptor endotelial) rs867186	1,22	7	
<i>PROS1</i> (proteína S)	8	7	Más de 200 mutaciones privadas con déficit de PS
<i>F5</i> rs6025 (FV Leiden)	5	7	
<i>F5</i> rs4524	1,21	7	Independiente de FVL (no están en desequilibrio de ligam.)
<i>F5</i> Cambridge (Arg306Thr)	-	35	Provoca RPCA. Su riesgo relativo no se conoce
<i>F5</i> Hong-Kong (Arg306Gly)	-	36	Provoca RPCA. Su riesgo relativo no se conoce
<i>F2</i> rs1799963 (PT20210A)	3	7	
<i>ABO</i> rs8176719 y rs8176750	2-4	7	Corresponde con los portadores B y A1 del grupo ABO
<i>VWF</i> rs1063856-C	1,15	7	Aumenta los niveles de FvW y el riesgo de TEV
<i>STAB2</i> rs4981021	1,29	7	
<i>TC2N</i> rs1884841	1,22	7	
<i>STXBP5</i> rs1039084-G	0,78	7	Factor protector
<i>FGG</i> rs2066865	1,47	7	Este SNP disminuye la relación $\gamma A/\gamma'$ y aumenta riesgo TEV
<i>F11</i> rs2036914 y rs2289252	1,35	7	Estos SNP modulan los niveles de FxI en plasma
<i>GP6</i> rs1613662	1,15	7	
<i>HIVEP1</i> rs169713-C	1,20	7	
<i>KNG1</i> rs710446	1,19	7	Modula FxI, acorta el TTPA y aumenta riesgo de TEV
<i>F12</i> rs1801020 (FXII C46T)	5	37	El riesgo se asocia a los homocigotos T/T
<i>F13A1</i> rs5985 (FXIII Val34Leu)	0,85	38	Factor protector asociado al genotipo Leu/leu
<i>SERPINA10</i> rs2232698	3,30	39	SNP en el gen inhibidor de proteasa dependiente de Prot. Z
Trombomodulina (THBD) rs1042579	0,72	40	Relacionado con el aumento de la actividad de la Prot. C

AT: Antitrombina; RR: riesgo relativo; RPCA: resistencia a la proteína C activada; PC: Proteína C; PS: Proteína S; FxI: Factor onse; SNP: *single nucleotide polymorphism*; TEV: tromboembolismo venoso; TPA: tiempo de tromboplastina parcial activado; OR: *odds ratio*.

Otras variantes genéticas potencialmente relacionadas con el riesgo de TEV (pendientes de confirmación):

Soria et al.⁴¹: *ANX5* haplotipo M2 (OR 1,90); *APOA4* Gln360His (OR 0,34); *BAI3* rs9363864 (OR 0,58); *CYP4V2* rs13146272 (OR 1,20); *SELE* (gen de E-selectina) Leu554Phe (OR 0,39); *F2* A19911G (OR 1,43 para G/G); *F9* rs4149755 (OR 1,50); *F10* rs69333 (OR 0,80); *FGA* rs6050 (OR 1,40) y rs2070006 (OR 1,25); *FGB* rs1800788 (OR 1,30); *IL1RN* rs2232354 (OR 3,90); *IL4R* Ile50Val (OR 0,66); *LPL* Asn291Ser (OR 3,09); *SERPINA1* (gen del PAI-1) rs2267667 (OR 1,26); *KLKB1* rs3087505 (OR 1,27); *PROC* rs5937 (OR 1,37) y rs2069915 (OR 0,78); *PROCR* G4678C (OR 0,50); *CPB2* (gen del TAFI) rs17844078 (OR 0,52); *TFPI* rs2192824 (OR 1,25); *TNFSF4* -921C/T (OR 1,86).

De Haan et al.⁴²: *PROC* rs1799809 (OR 1,17); *PROCR* rs2069951 (OR 1,30); *F2* rs3136516 (OR 1,19); *F5* rs1800595 (OR 1,18); *F8* rs1800291 (OR 1,13); *NAT8B* rs2001490 (OR 1,10); *F13B* rs6003 (OR 1,09); *RGS7* rs670659 (OR 1,09); *F9* rs6048 (OR 1,08); *F11* rs3822057 (OR 1,06); *NR1I2* rs3742264 (OR 1,05); *F3* 1208indel (OR 1,06).

Gretarsdottir et al.⁴³: *DAB2IP* rs7025486 (OR: 1,2).

Kondkar et al.⁴⁴: *VAMP/8* endobrevin rs101.

pendientes de confirmación). Sin contar con las mutaciones privadas en los genes *SERPINC1*, *PROC* y *PROS1*, causantes de los déficits patogénicos de antitrombina, proteína C y proteína S, respectivamente. Estos 41 *loci* identificados albergan al menos 23 variantes de riesgo reconocido y otras 34 todavía por confirmar. La mayoría de estas 57 variantes se han identificado recientemente a través de estudios genómicos de asociación o GWAS. Los GWAS permiten estudiar centenares de miles de variantes genéticas y estimar su posible asociación con el riesgo de TEV mediante diseños epidemiológicos clásicos que comparan casos con controles sanos. Los marcadores genéticos utilizados para localizar los genes causales son del tipo *single nucleotide polymorphism* (SNP) con una frecuencia alélica relativamente alta (variables comunes).

A pesar de las esperanzas depositadas en estos estudios masivos, los resultados han sido frustrantes. Solo han permitido identificar variantes de alta frecuencia poblacional (presentes en más del 5% de los individuos) pero con un

riesgo relativo muy pequeño, menor de 1,50. De ahí que la atención se deba dirigir hacia variantes más raras, como la AT Cambridge³⁴ o la *SERPINA10* rs2232698³⁹, que suponen unos riesgos relativos muy notables para sus portadores (10 y 3,3 respectivamente). En este sentido se están postulando otros tipos de diseños epidemiológicos, implicando tamaños muestrales mucho menores pero en grupos selectos (por ejemplo, estudios familiares) como fuentes de nuevos descubrimientos. Y, lo que es todavía más importante, estudios que permitan no solamente aumentar nuestra lista de factores de riesgo, sino también mejorar la utilidad y la aplicabilidad clínica de los hallazgos a un nivel individual⁴⁶.

Sin duda, los avances espectaculares en las técnicas de laboratorio, como la secuenciación de nueva generación (NGS), servirán para identificar variantes raras (o muy raras) responsables de formas familiares. Al unir las técnicas de secuenciación masiva con los algoritmos apropiados, se multiplica la habilidad para responder cuestiones sobre el espectro de mutación de una enfermedad. Otro campo

Tabla 3 Fenotipos sanguíneos (intermediarios) asociados con el riesgo de TEV

Fenotipo intermediario	Riesgo	Cita	Comentario
Antitrombina	2,0 (OR)	45	Asociado con valores <i>borderline</i> bajos
Proteína C	2,2 (OR)	45	Asociado con valores <i>borderline</i> bajos
Proteína S	1,8 (OR)	45	Asociado con valores <i>borderline</i> bajos
Homocisteína	2,5 (OR)	4,46	Asociado con niveles > percentil 95
Factor II	2,1 (OR)	46	Asociado con niveles > 115%
Factor VII	2,4 (HR)	4,47	Asociado con niveles > percentil 95
Factor VIII	3,7 (OR)	4,46	Asociado con niveles > percentil 90
Factor IX	2,5 (OR)	4,46	Asociado con niveles > 130%
Factor XI	2,2 (OR)	4,46	Asociado con niveles > percentil 90
RPCA	1,7 (OR)	4,48	En ausencia de FVL
Fibrinógeno	2,9 (OR)	49	Asociado con niveles > percentil 90
Factor vW	4,0 (OR)	4,46,49	Asociado con niveles > percentil 90
PCI	1,6 (OR)	46	Asociado con niveles > percentil 95
TFPI	1,9 (OR)	46	Asociado con niveles < percentil 5
TTPA	2,4 (OR)	50	Asociado con valores inferiores a 0,90 (ratio)
Parámetros dinámicos del TTPA	-	51	Su riesgo relativo aún no se conoce
t-PA	1,8 (OR)	4,52	Asociado con niveles > percentil 75
PAI-1	1,6 (OR)	52	Asociado con niveles > percentil 75
TAFI	1,7 (OR)	46,53	Asociado con niveles > percentil 90
TLC	2,0 (OR)	54	Asociado con niveles > percentil 90
TGT (potencial endógeno de trombina)	1,03 (OR)	55	Por cada % de aumento
TEM (amplitud máxima)	-	56	Su riesgo relativo aún no se conoce
Volumen plaquetar medio (VPM)	1,30 (HR)	57	Asociado con VPM > 9,5 fL
Agregabilidad plaquetar	-	58	Asociado con aumento. No cuantificado el riesgo
Hematocrito	1,25 (HR)	59	Asociado con cada 5% de aumento
Proteína Z	2,20 (OR)	60	Asociado con descenso de niveles
Tiroxina libre (T4)	2,50 (OR)	46	Asociado con niveles > percentil 98
Folato sérico	-	61	Su riesgo relativo aún no se conoce
Complejo elastasa/alfa-1 antitripsina	3 (OR)	9	Asociado con niveles > percentil 80
Recuento de monocitos	2,8 (OR)	70	Cifras superiores a $0,55 \times 10^9/l$
RDW	3 (OR)	71	

HR: *hazard ratio*; OR: *odds ratio*; PAI-1: inhibidor de los activadores del plasminógeno; PCI: inhibidor de la proteína C; RDW: amplitud de distribución eritrocitaria; RPCA: resistencia a la proteína C activada; t-PA: activador tisular del plasminógeno; TAFI: inhibidor de la fibrinólisis activable por trombina; TEM: tromboelastometría; TFPI: inhibidor de la vía del factor tisular; TGT: test de generación de trombina; TLC: tiempo de lisis del coágulo; TTPA: tiempo de tromboplastina parcial activado.

novedoso está relacionado con la epigenética, que es el conjunto de procesos químicos que modifican la actividad del ADN sin alterar la secuencia. Su influencia actual en el TEV es prácticamente desconocida pero deberá ser explorada como candidata a explicar parte de los mecanismos genéticos. En concreto, los procesos de metilación/acetilación del ADN sobre la transcripción génica y los efectos de los micro-ARN sobre la síntesis de proteínas o fenotipos intermediarios involucrados (tabla 3) necesitan ser estudiados para dilucidar su aportación al riesgo de la enfermedad. En relación con estos procesos epigenéticos, los datos provenientes de análisis completos de la transcripción (transcriptómica) y el conocimiento de los elementos químicos que reflejan el estado metabólico de un organismo o metaboloma deberían contribuir a rellenar las actuales lagunas. Para desentrañar completamente la arquitectura genómica de la trombosis, en última instancia, se deberán conocer también otras formas de variabilidad, aparte de los SNP, como las variaciones del número de copias (CNV) y las interacciones gen-gen o gen-ambiente⁷. Este progreso gigante en la adquisición de datos solo tendrá sentido si, en paralelo, se desarrollan los métodos matemáticos y

bioinformáticos imprescindibles para analizar y explotar la descomunal información obtenida.

Modelos predictivos

Precisamente estos métodos de análisis y de procesamiento masivo de información, también serán imprescindibles en el desarrollo de modelos predictivos que permitan estimar el riesgo individual. El perfil de riesgo individual es el conjunto de variables clínicas y biológicas cuya evaluación combinada y ponderada permite estimar de forma cuantitativa y objetiva el riesgo de enfermedad en cada individuo. Idealmente, esto permitiría asignar a cualquier individuo y en cualquier momento, su nivel de riesgo de trombosis permitiendo adoptar las medidas preventivas adecuadas con gran selectividad.

En la actualidad existen múltiples modelos que de una forma bastante simplista (y con poca aplicabilidad individual) se han usado en ámbitos estancos: en pacientes oncológicos⁶¹, en modelos predictivos del riesgo de recidiva⁶², en el embarazo⁶³, en cirugía general⁶⁴, en cirugía ortopédica⁶⁵ o en pacientes médicos hospitalizados⁶⁶. Todos

ellos se han basado sobre todo en factores de riesgo clínico, muy específicos de cada situación y sin apenas contar con la base genética del individuo o los datos biológicos que sabemos que se asocian al riesgo de trombosis. En este sentido, resultan mucho más interesantes los esfuerzos para determinar el riesgo basal de un individuo, aunque solo sea con información clínica²¹. Recientemente ha quedado demostrado que la incorporación de datos genéticos mejora sustancialmente la capacidad predictiva de estos modelos⁴². Además, se puede también incorporar la información disponible, que es mucha, proporcionada por los fenotipos intermediarios, aumentando más el poder de los modelos⁶⁷. Otros avances necesarios deben producirse en los métodos matemáticos para abordar la cantidad y complejidad de la información^{67,68}. Por ejemplo, Eichenger et al. propusieron un *score* de riesgo de recurrencia en pacientes con trombosis espontánea previa. Un año más tarde, Hipsley-Cox²¹ y Heinemann⁶⁹ desarrollaron un *score* para predecir el riesgo de un primer evento de trombosis en individuos asintomáticos. De ellos, solo Heinemann utilizó factores genéticos (2, para ser más exactos) para calcular el riesgo. Más recientemente, de Haan⁴² aumentó el valor predictivo mediante la adición de más variables genéticas descubiertas en estudios de GWAS. Sin embargo, este trabajo solo consigue explotar la información aportada por 5 variantes genéticas, entre las más de 30 variantes distintas y asociadas independientemente al riesgo de trombosis, que incluye en sus modelos matemáticos. Esto nos invita a plantear la necesidad de utilizar nuevas herramientas matemáticas para responder a las preguntas que nos formulamos hoy en día.

Basta con comprender que las posibilidades combinatorias de los factores de riesgo actualmente aceptados (tablas 1–3) son inmensas, y que el número de perfiles individuales (compuestos por los datos genéticos, epigenéticos, ambientales, plasmáticos y sus interacciones) que definen el riesgo de cada sujeto también es enorme. Para ello, es necesario un buen procesamiento de la información mediante el diseño de estudios (casos y controles, cohortes prospectivas poblacionales) y la utilización de nuevos modelos matemáticos como *Multilinear principal component analysis*, *Independent component analysis*, *Support vector machines*, *Partial least squares* o *Neural network machine learning methods*. En el futuro deberíamos poder agrupar los múltiples niveles de riesgo individuales en categorías clínicamente equivalentes. Mediante estos progresos, en años venideros dispondríamos de un modelo unificado para estimar el riesgo de trombosis de cualquier persona y en cualquier situación clínica.

En los últimos años se ha progresado en el descubrimiento de factores de riesgo de trombosis y en los mecanismos por los que estos la producen. Sin embargo, a pesar de tener cada vez más información, seguimos sin poder explicar una parte no menospreciable de los TEV que vemos en la práctica diaria. Esto nos lleva a insistir en la búsqueda de algoritmos que nos permitan fusionar toda la información para definir el riesgo individual de padecer un evento de trombosis.

Responsabilidades éticas

Protección de personas y animales. Los autores declaran que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni en animales.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Conflicto de intereses

Los autores no declaran ningún conflicto de interés.

Agradecimientos

Trabajo realizado con el apoyo de: FIS PI 12/00612 y Red de Investigación Cardiovascular RD12/ 0042/0032.

Bibliografía

1. Virchow R. Phlogose und thrombose im Gefäßsystem Gesamelte Abhandlungen zur wissenschaftlichen Medizin. Frankfurt: Staatsdruckerei; 1856.
2. Rosendaal FR. Venous thrombosis: The role of genes, environment and behaviour. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2005;1–12.
3. Lane DA, Mannucci PM, Bauer KA, Bertina RM, Bochkov NP, Boulyjenkov V, et al. Inherited thrombophilia: Part 1. *Thromb Haemost*. 1996;76:651–62.
4. Souto JC, Almasy L, Borrell M, Blanco-Vaca F, Mateo J, Soria JM, et al. Genetic susceptibility to thrombosis and its relationship with physiological risk factors: The GAIT study. *Am J Hum Genet*. 2000;67:1452–9.
5. Heit JA, Phelps MA, Ward SA, Slusser JP, Petterson TM, de Andrade M. Familial segregation of venous thromboembolism. *J Thromb Haemost*. 2004;2:731–6.
6. Larsen TB, Sorensen HB, Skytte A, Johnsen SP, Vaupel JW, Christensen K. Major genetic susceptibility for venous thromboembolism in men: A study of Danish twins. *Epidemiology*. 2003;14:328–32.
7. Morange P, Trégouët DA. Current knowledge on the genetics of incident venous thrombosis. *J Thromb Haemost*. 2013;11 Suppl. 1:111–21.
8. Reitsma PH, Versteeg HH, Middeldorp S. Mechanistic view of risk factors for venous thromboembolism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2012;32:563–8.
9. van Montfort ML, Stephan F, Lauw MN, Hutten BA, van Mierlo GJ, Solati S. Circulating nucleosomes and neutrophil activation as risk factors for deep vein thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2013;33:14751.
10. Smeeth L, Cook C, Thomas S, Hall AJ, Hubbard R, Vallance P. Risk of deep vein thrombosis and pulmonary embolism after acute infection in a community setting. *Lancet*. 2006;367:1075–9.
11. Vanschoonbeek K, Feijge MA, van Kampen RJ, Kenis H, Hemker HC, Giesen PL, et al. Initiating and potentiating role of platelets in tissue factor-induced thrombin generation in the presence of plasma: Subject dependent variation in thrombogram characteristics. *J Thromb Haemost*. 2004;4:76–84.
12. Bezemer ID, Bare LA, Doggen CJ, Arellano AR, Tong C, Rowland CM, et al. Gene variants associated with deep vein thrombosis. *JAMA*. 2008;299:1306–14.
13. Watson HG, Chee YL. Aspirin and other antiplatelet drugs in the prevention of venous thromboembolism. *Blood Rev*. 2008;22:107–16.
14. Brighton TA, Eikelboom JW, Mann K, Mister K, Gallus A, Ockelford P, et al. Low dose aspirin for preventing recurrent venous thromboembolism. *N Engl J Med*. 2012;367:1979–87.

15. Beccatini C, Agnelli GA, Schenone A, Eichinger S, Bucherini E, Silingardi M, et al. Aspirin for preventing the recurrence of venous thromboembolism. *N Engl J Med*. 2012;366:1959–67.
16. Morrissey JH. Polyphosphate: A link between platelets, coagulation and inflammation. *Int J Hematol*. 2012;95:346–52.
17. Ye R, Ye C, Huang Y, Kiu L, Wang S. Circulating tissue factor positive microparticles in patients with acute recurrent deep venous thrombosis. *Thromb Res*. 2012;130:253–8.
18. Tsai AW, Cushman M, Rosamond WD, Heckbert SR, Polack JF, Folsom AR. Cardiovascular risk factors and venous thromboembolism incidence. The Longitudinal Investigation of Thromboembolism etiology. *Arch Intern Med*. 2002;162:1182–9.
19. McRae S, Tran H, Schulman S, Ginsberg J, Kearon K. Effect of patient's sex on risk of recurrent venous thromboembolism: A meta-analysis. *Lancet*. 2006;368:371–8.
20. Ageno W, Becattini C, Brighton T, Selby R, Kamphuisen PW. Cardiovascular risk factor and venous thromboembolism. A meta-analysis. *Circulation*. 2008;117:93–102.
21. Hippisley-Cox J, Coupland C. Development and validation of risk prediction algorithm (QThrombosis) to estimate future risk of venous thromboembolism: Prospective cohort study. *Br Med J*. 2011;343:d4656.
22. Ocak G, Vossen CY, Verduijn M, Dekker FW, Rosendaal FR, Cannegieter SC, et al. Risk of venous thrombosis in patients with major illnesses: Results from the MEGA study. *J Thromb Haemost*. 2013;11:116–23.
23. Zöller B, Li X, Sundquist J, Sundquist K. Risk of pulmonary embolism in patients with autoimmune disorders: A nationwide follow-up study from Sweden. *Lancet*. 2012;379:244–9.
24. Tichelaar YIGV, Kluin-Nelemans HJC, Meijer K. Infections and inflammatory diseases as risk factors for venous thrombosis. A systematic review. *Thromb Haemost*. 2012;107:827–37.
25. Schmidt M, Christiansen CF, Horváth-Puhó E, Glynn RJ, Rothman KJ, Sorensen HT. Non-steroidal anti-inflammatory drug use and risk of venous thromboembolism. *J Thromb Haemost*. 2011;9:1326–33.
26. Heit JA, Kobbervig CE, James AH, Petterson TM, Bailey KR, Melton LJ. Trends in the incidence of venous thromboembolism during pregnancy or postpartum: A 30-year population-based study. *Ann Intern Med*. 2005;143:697–706.
27. Geerts WH, Code KI, Jay MR, Chen E, Szalai JP. A prospective study of venous thromboembolism after major trauma. *N Engl J Med*. 1994;331:1601–6.
28. Samama MM. An epidemiologic study of risk factors for deep vein thrombosis in medical outpatients. The Sirius study. *Arch Intern Med*. 2000;160:3415–20.
29. Chandra D, Parisini E, Mozaffarian D. Travel and risk for venous thromboembolism. *Ann Intern Med*. 2009;151:180–90.
30. Dentali F, Ageno W, Rancan E, Donati AV, Galli L, Squizzato A, et al. Seasonal and monthly variability in the incidence of venous thromboembolism. A systematic review and meta-analysis of the literature. *Thromb Haemost*. 2011;106:439–47.
31. Franchini M, Mannucci PM. Thrombogenicity and cardiovascular effects of ambient air pollution. *Blood*. 2011;118:2405–12.
32. Roach REJ, Siegerink B, le Cessie S, Rosendaal FR, Cannegieter SC, Lijfering WM. Coffee consumption is associated with a reduced risk of venous thrombosis that is mediated through hemostatic factor levels. *J Thromb Haemost*. 2012;10:2519–25.
33. Gaborit FS, Overvad K, Norgaard M, Kristensen SR, Tjonne-land A, Severinsen MT. Alcohol intake and the risk of venous thromboembolism. A Danish follow-up study. *Thromb Haemost*. 2013;110:39–45.
34. Corral J, Hernández-Espinosa D, Soria JM, González-Conejero R, Ordoñez A, González-Porrás JR, et al. Antithrombin Cambridge II (A384S): An underestimated genetic risk factor for venous thrombosis. *Blood*. 2007;109:4258–63.
35. Williamson D, Brown K, Luddington R, Baglin C, Baglin T, Factor V. Cambridge: A new mutation (Arg306Thr) associated with resistance to activated protein C. *Blood*. 1998;91:1140–4.
36. Chan WP, Lee CK, Kwong YL, Lam CK, Liang R. A novel mutation of Arg306 of factor V gene in Hong-Kong Chinese. *Blood*. 1998;91:1135–9.
37. Tirado I, Soria JM, Mateo J, Oliver A, Souto JC, Santamaria A, et al. Association after linkage analysis indicates that homozygosity for the C46T polymorphism in the F12 gene is a genetic risk factor for venous thrombosis. *Thromb Haemost*. 2004;91:899–904.
38. Wells PS, Anderson JL, Scarvelis DK, Doucette SP, Gagnon F. Factor XIII Val34Leu variant is protective against venous thromboembolism: A huge review and meta-analysis. *Am J Epidemiol*. 2006;164:101–9.
39. Corral J, González-Conejero R, Soria JM, González-Porrás JR, Pérez-Ceballos E, Lecumberri R, et al. Nonsense polymorphism in the protein Z-dependent protease inhibitor increases the risk for venous thrombosis. *Blood*. 2006;108:177–83.
40. Navarro S, Medina P, Bonet E, Corral J, Martínez-Sales V, Martos L, et al. Association of the thrombomodulin gene c.1418c>T polymorphism with thrombomodulin levels venous thrombosis risk. *Arterioscl Throm Vasc Biol*. 2013;33:1435–40.
41. Soria JM, Cárdenas A, Souto JC. Nuevos factores genéticos implicados en el riesgo de trombofilia. *Haematologica/edición española*. 2010;95(Extra 1):81–92.
42. De Haan HG, Bezemer ID, Doggen CJM, le Cessie S, Reitsma PH, Arellano AR, et al. Multiple SNP testing improves risk prediction of first venous thrombosis. *Blood*. 2012;120:656–63.
43. Gretarsdottir S, Baas AF, Thorleifsson G, Holm H, den Heijer M, de Vries JP. Genome-wide association study identifies a sequence variant within the DAB2IP gene conferring susceptibility to abdominal aortic aneurysm. *Nat Genet*. 2010;42:692–7.
44. Kondkar AA, Bray MS, Leal SM, Nagalla S, Liu DJ, Jin Y. VAMP8/endobrevin is overexpressed in hyperreactive human platelets: Suggested role for platelet microRNA. *J Thromb Haemost*. 2010;8:369–78.
45. Bucciarelli P, Passamonti SM, Biguzzi E, Gianello F, Franchi F, Mannucci PM, et al. Low borderline plasma levels of antithrombin, protein C and protein S are risk factors for venous thromboembolism. *J Thromb Haemost*. 2012;10:1783–91.
46. Rosendaal FR. Etiology of venous thrombosis: The need for original small studies. *J Thromb Haemost*. 2012;10:2189–90.
47. Tsai AW, Cushman M, Rosamond WD, Heckbert SR, Tracy RP, Aleksic N, et al. Coagulation factors, inflammation markers, and venous thromboembolism: The longitudinal investigation of thromboembolism etiology (LITE). *Am J Med*. 2002;113:636–42.
48. Tans G, van Hylckama, Vlieg A, Christella M, Thomassen LGD, Curvers J, et al. Activated protein C resistance determined with a thrombin generation-based test predicts for venous thrombosis in men and women. *Br J Haematol*. 2003;122:465–70.
49. Flinterman LE, van Hylckama Vlieg A, Rosendaal FR, Doggen CJ. Venous thrombosis of the upper extremity: Effect of blood group and coagulation factors levels on risk. *Br J Haematol*. 2010;149:118–23.
50. Tripodi A, Chantarangkul V, Martinelli I, Bucciarelli P, Mannucci PM. A shortened activated partial thromboplastin time is associated with the risk of venous thromboembolism. *Blood*. 2004;104:3631–4.
51. Sorensen B, Ingerslev J. Dynamic APTT parameters: Applications in thrombophilia. *J Thromb Haemost*. 2012;10:244–50.
52. Meltzer ME, Lisman T, de Groot PG, Meijers JCM, le Cessie S, Doggen CJM, et al. Venous thrombosis risk associated with plasma hypofibrinolysis is explained by elevated plasma levels of TAFI and PAI-1. *Blood*. 2010;116:113–21.
53. Lisman T, de Groot PG, Meijers JCM, Rosendaal FR. Reduced plasma fibrinolytic potential is a risk factor for venous thrombosis. *Blood*. 2005;105:1102–5.

54. Wichers IM, Tanck MWT, Meijers JCM, Lisman T, Reitsma PH, Rosendaal FR, et al. Assessment of coagulation and fibrinolysis in families with unexplained thrombophilia. *Thromb Haemost.* 2009;101:465–70.
55. O'Donnell J, Riddell A, Owens D, Handa A, Pasi B, Hamilton G, et al. Role of the thromboelastograph as an adjunctive test in thrombophilia screening. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2004;15:207–11.
56. Braekkan SK, Mathiesen EB, Njolstad I, Wilsgaard T, Stormer J, Hansen JB. Mean platelet volume is a risk factor for venous thromboembolism: The Tromso study. *J Thromb Haemost.* 2010;8:157–62.
57. Weber M, Gerdtsen F, Gutenshon K, Schoeder V, Eifrig B, Hossfeld DK. Enhanced platelet aggregation with TRAP-6 and collagen in platelet aggregometry in patients with venous thromboembolism. *Thromb Res.* 2002;107:325–8.
58. Braekkan SK, Mathiesen EB, Njolstad I, Wilsgaard T, Hansen JB. Hematocrit and risk of venous thromboembolism in a general population. The Tromso study. *Haematologica.* 2010;95:270–5.
59. Sofi F, Cesari F, Abbate R, Gensini GF, Broze GJ, Fedi S. A meta-analysis of potential risks of low levels of protein Z for diseases related to vascular thrombosis. *Thromb Haemost.* 2010;103:749–56.
60. Souto JC, Almasy L, Borrell M, Stone WH, Blanco-Vaca F, Soria JM, et al. Thromboplastin-thrombomodulin-mediated time and serum folate levels are genetically correlated with the risk of thromboembolic disease. *Thromb Haemost.* 2002;87:68–73.
61. Khorana AA, Kuderer NM, Culakova E, Lyman GH, Francis CW. Development and validation of a predictive model for chemotherapy associated thrombosis. *Blood.* 2008;111:4902–7.
62. Eichinger S, Heinze G, Jandeck LM, Kyrle PA. Risk assessment of recurrence in patients with unprovoked deep vein thrombosis or pulmonary embolism. The Vienna prediction model. *Circulation.* 2010;121:1630–6.
63. Weiss N, Bernstein PS. Risk factor scoring for predicting venous thromboembolism in obstetric patients. *Am J Obstet Gynecol.* 2000;182:1073–5.
64. Rogers SO, Kilaru RK, Hosokawa P, Henderson WG, Zinner MJ, Khuri SF. Multivariable predictors of postoperative venous thromboembolic events after general and vascular surgery: Results from the patient safety in surgery study. *J Am Coll Surg.* 2007;204:1211–21.
65. Gearhart MM, Luchette FA, Proctor MC, Lutonski DM, Witsken C, James L, et al. The risk assessment profile score identifies trauma patients at risk for deep vein thrombosis. *Surgery.* 2000;128:631–40.
66. Zakai NA, Callas PW, Repp AB, Cushman M. Venous thrombosis risk assessment in medical inpatients: The medical inpatients and thrombosis (MITH) study. *J Thromb Haemost.* 2013;11:634–41.
67. Bakker B, Reitsma P, van Ooijen H, van de Ham R, Rosendaal F, Lijfering W. Optimal risk estimation for DVT requires measurement of coagulation protein concentrations. OC 59. 4. XXIV Congress ISTH. Amsterdam 2013. *J Thromb Haemost.* 2013;11 Suppl 2:85–9.
68. Souto JC, Soria JM. Predicting individual risk of venous thrombosis. *Blood.* 2012;120:500–1.
69. Heinemann LAJ, Dominh T, Assman A, Schramm W, Schürmann R, Hilpert J, et al. VTE risk assessment – a prognostic model: BATER cohort study of young women. *Thrombosis J.* 2005;3:5.
70. Rezende SM, Lijfering WM, Rosendaal FR, Cannegieter SC. Hematological variables and venous thrombosis: Red cell distribution with and blood monocytes are associated with an increased risk. *Haematologica.* 2014;99:194–200.
71. Zöller B, Melander O, Svensson P, Engström G. Red cell distribution width and risk for venous thromboembolism: A population-based cohort study. *Thromb Res.* 2014;133:334–9.