

28

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA

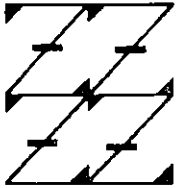
"DETERMINACION DE LOS NIVELES DE
ANTITROMBINA III EN PACIENTES CON
COAGULACION INTRAVASCULAR DISEMINADA"

290839

T E S I S
PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A N :
CARINA GUTIERREZ IGLESIAS
ENRIQUE ESCALERA ZUÑIGA

UNAM
FES
ZARAGOZA

DIRECTOR: QUIMICO RAUL NIETO CAMACHO



LO HUMANO ES
DE NUESTRA REFLEXIÓN

MEXICO, D.F.

200¢



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

El libre acceso al edificio de la ciencia esta permitido no sólo a quienes idearon el proyecto, trazaron los dibujos, prepararon los materiales o colocaron los ladrillos. Sino también a todos aquellos que están ansiosos por conocer íntimamente el plan y no desean vivir en sus criptas.

Dimitri Mendeleev

Conocer algo de manera meramente cualitativa es conocerlo de manera vaga. Si tenemos el conocimiento cuantitativo, estamos comenzando a conocerlo a profundidad, comprendemos algo de su belleza y accedemos a su poder y al conocimiento que proporciona.

Carl Sagan

DEDICATORIAS

A mis padres:

Rocio y Daniel, gracias por mi educación, su apoyo, su esfuerzo y sobre todo por su amor y cariño, que fue lo que me ha ayudado y me alienta a seguir adelante.

A mis hermanas:

Gracias hermanitas Cis, Eli y Nelly porque juntas con su cariño y entusiasmo hemos alcanzando nuestros logros y siempre seguiremos apoyándonos.

A mi Tita:

July, no puedo dejar de agradecerte todo lo que has hecho por nosotras, ya que siempre te has preocupado y esmerado en apoyarnos y en guiarnos con tus consejos como nuestra mami.

A mis abuelitos:

A mi abuelita Vicenta y a los que ya no están conmigo.

Gracias a Dios puedo tenerlos conmigo y contar con ustedes en todo momento.

Los quiere muchísimo: *Carina*

DEDICATORIAS

Dedico este trabajo a:

Mi madre Elisa Zuñiga Bautista:

Dor todos sus sacrificios hechos con la ilusión de que saliera adelante.

A mis hermanos Jesús, Juan, Adriana, Hugo y Samuel

Dor su apoyo incondicional.

A mis Sobrinos con cariño:

Bere, Ricky, Juanito, Nachito, Miry y Jesse

A mis tíos Esperanza Zuñiga y José Canizal:

Que son como mis segundos padres, por su apoyo y paciencia.

En memoria de quienes se fueron y que pese a ello los llevo presente: a mi abuelita Josefina Bautista R., a mi hermano Ignacio Escalera Zuñiga y a mi mami Josefina Rodríguez A., espero no haberles fallado.

Enrique Escalera Zuñiga

EL PRESENTE TRABAJO SE REALIZO EN EL
LABORATORIO DE HEMATOLOGIA DEL HOSPITAL
DE ESPECIALIDADES DEL CENTRO MEDICO
NACIONAL SIGLO XXI. BAJO LA DIRECCION DEL
QUIMICO RAUL NIETO CAMACHO

AGRADECIMIENTOS

Químico Raúl Nieto Camacho

Le agradecemos profundamente a nuestro Director de tesis por sus enseñanzas, su amistad y su confianza en dejar en nuestras manos este proyecto.

También queremos agradecer a las siguientes personas por su apoyo incondicional para la realización de nuestro proyecto:

Dr. Antonio Montante del Departamento de Coagulación de Behring Diagnostics.

Química Guadalupe Montiel, Laboratorio de Coagulación Especial del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI.

Químico Alejandro Morales de la Vega, Laboratorio de Coagulación del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI.

Así mismo queremos extender nuestro agradecimiento a los profesores que de manera amable revisaron nuestra tesis:

Q.F.B. Araceli García del Valle

Q.F.B. Ma. Del Rocío Broceda Hernández

Q.F.B. Patricia Vidal Millán

Q.F.B. José Oscar González Moreno.

También agradecemos el apoyo de Luz María.

Finalmente a todos nuestros profesores de la Carrera de Q.F.B.

Gracias

DEDICATORIAS

A las maestras Angeles García y Estelita Valencia:

Gracias que siempre se preocuparon por ayudarnos y darnos ánimos en los momentos cuando lo necesitamos.

A mis maestros:

A los maestros Pilar Cedillo, Pierce, Antonino S., Angel Davón, que siempre nos han ayudado en lo que ha estado a su alcance.

A mis amigos:

A mis compañeros de generación que me brindaron su amistad y apoyo incondicional: Adriana, Vero Fuerte, Vero Peres, Lety, Caro Reyes, Victor, Gerardo, Marcos, Caro Jimenez.

Enrique Escalera:

Emprendimos juntos un camino que nos ha dejado este logro, por el que agradezco tu paciencia, tu apoyo, tu amistad.

A Rosa Jiménez:

Gracias amiga por contar contigo y por demostrarnos con tu ejemplo que aún en los momentos difíciles se tiene el valor y la fortaleza para seguir adelante.

A Adolfo:

Gracias por brindarme tu apoyo, amistad y cariño durante tanto tiempo y por ayudarme a levantarme en los momentos difíciles.

Carina Gutiérrez J.

DEDICATORIAS

A las maestras:

Angeles García Fernández, Estela Valencia Plata, Ma. Del Pilar Cedillo por su apoyo y cariño.

A los maestros:

Biol. Joel, Davón, Pierce y Antonino

A todos mis maestros por sus enseñanzas.

A mis amigos... y a los que dijeron serlo.

A mis amigas:

Rosa Jiménez, Adriana Loera, Vero Fuerte y Vero Peres

A quién en el futuro, crea que este trabajo pueda serle de utilidad.

CON ORGULLO, CARÍO Y RESPETO A LA
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Enrique Escalera Luñiga

No te vayas aún, déjame darte las gracias. A tiempo me despertaste, pues aún me queda bastante trecho por recorrer*.

Gracias a Dios, cualquiera que sea la idea de él, por que gracias a él y frente a él, todos somos iguales.

Gracias a mis padres, por poner de su parte lo necesario para mi existencia.

Gracias al amigo, que me enseñó que dos es mejor que uno.

Gracias al que cuando solicité su compañía, me colmó de soledad.

Gracias a los que se fueron, porque aún en la ausencia, siguieron siendo ellos.

Gracias a los que se quedaron , por permanecer y andar conmigo.

Mi camino es poco transitado, tanto así que no alcanzo a ver huella alguna.

No tengo miedo de avanzar, mas si alguien lo tuviese, mi pie planto firme para que si le sirve se anime a seguirlo...

Enrique Escalera Luñiga

* Friedrich Nietzsche. ASÍ HABLÓ ZARATHUSTRA

TABLA DE CONTENIDO

<i>INTRODUCCIÓN</i>	1
<i>FISIOLOGÍA DE LA COAGULACIÓN</i>	3
MECANISMO VASCULAR	3
HEMOSTASIA PRIMARIA	6
HEMOSTASIA SECUNDARIA	14
FACTORES DE LA COAGULACION.....	14
CASCADA DE COAGULACION.....	16
CONTROL FISIOLÓGICO DE LA HEMOSTASIA.....	18
CIRCULACION SANGUÍNEA.....	18
DEPURACION HEPATICA.....	18
INHIBICION POR RETROALIMENTACION.....	18
INHIBIDORES BIOQUÍMICOS.....	19
INHIBIDORES DE LAS SERINOPROTEASAS (SERPINAS).....	19
INHIBIDORES DE LOS FACTORES Va y VIIIa.....	20
SISTEMA FIBRINOLITICO.....	21
INHIBIDORES DE LA FIBRINOLISIS.....	23
ANTITROMBINAS	25
CARACTERÍSTICAS DE LA ANTITROMBINA III	25
ESTRUCTURA MOLECULAR DE AT III.....	25
SINTESIS.....	26
GENETICA.....	27
FUNCION.....	27
MECANISMO DE INHIBICION POR AT III.....	27
ANTITROMBINA Y HEPARINA.....	28
CARACTERISTICAS DE LA HEPARINA.....	28
FUNCION.....	28
TIPOS DE HEPARINAS.....	29
MECANISMO DE ACCION DE LA HEPARINA.....	29
METABOLISMO DEL COMPLEJO CON AT III.....	30
OBTENCION DE CONCENTRADOS DE AT III.....	31
TRASTORNOS DE LA HEMOSTASIA POR DEFICIENCIA DE AT III	32
DEFICIENCIA CONGENITA.....	32
DEFICIENCIA ADQUIRIDA.....	33
CUANTIFICACION DE LOS NIVELES DE AT III	35
COAGULACION INTRAVASCULAR DISEMINADA	37
DEFINICION	37
ETIOLOGIA	37
FISIOPATOLOGIA	39
MECANISMOS DE CONTROL	41
DIAGNOSTICO CLINICO	43
DIAGNOSTICO POR EL LABORATORIO	44
TRATAMIENTO	46
TRATAMIENTO CAUSAL.....	46
TRATAMIENTO PATOGENICO.....	47
Terapéutica con heparina.....	47

Tratamiento con hirudina.....	47
Inhibidores de la fibrinólisis.....	48
Medicación antifuncionalismo plaquetario.....	48
TRATAMIENTO SUSTITUTIVO.....	48
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	50
OBJETIVOS.....	52
HIPÓTESIS.....	53
DISEÑO DE INVESTIGACIÓN.....	54
METODOLOGÍA.....	55
DETERMINACIÓN DE ANTITROMBINA III.....	55
DETERMINACION DEL COMPLEJO TAT.....	57
DETERMINACIÓN DE FIBRINÓGENO.....	58
DETERMINACION DE PLASMINOGENO.....	58
DETERMINACION DE α_2- ANTIPLASMINA.....	59
RESULTADOS.....	60
ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	68
CONCLUSIONES.....	73
ANEXOS.....	75
BIBLIOGRAFIA.....	79

INTRODUCCIÓN

La sangre es el único tejido líquido circulante del ser humano. Sin embargo, el estado líquido le confiere la desventaja de poder derramarse cuando el sistema vascular sufre una pérdida de continuidad.

La hemostasia es el conjunto de mecanismos fisiológicos que detienen espontáneamente la salida de sangre desde el espacio vascular mediante el cambio de estado líquido a sólido, a través de una serie de reacciones bioquímicas fundamentalmente enzimáticas.

En la hemostasia participan tres mecanismos básicos: el vascular, la hemostasia primaria (plaquetaria) y la coagulación plasmática.^{72, 96}

Las células endoteliales sintetizan varias moléculas, algunas de las cuales promueven formación del coágulo y otras lo inhiben.⁷² El endotelio y el subendotelio dañados, a través de la colágena, fijan plaquetas para formar el tapón hemostático primario. Simultáneamente se activa la coagulación plasmática en la que interactúan una serie de reacciones enzimáticas complejas para generar fibrina que dará consistencia y estabilidad al coágulo.⁹⁶

Una vez iniciado el proceso de coagulación aparenta ser imposible de detener debido a que es un proceso continuo, sin embargo, existen mecanismos de regulación que limitan la respuesta hemostática y confinan su acción al sitio de la lesión vascular.^{96, 120}

Los mecanismos fisiológicos encargados del control de la coagulación son: circulación sanguínea, depuración hepática, inhibición por retroalimentación, fibrinólisis e inhibidores bioquímicos. Dentro de este último grupo se encuentran la antitrombina III (AT III), proteína C, proteína S, macroglobulina α_2 , antitripsina α_1 e inactivador de C1.⁷²

Sin embargo, aunque se lleven a cabo mecanismos de regulación de la hemostasia, existen procesos fisiológicos exagerados, en los que se activa la cascada de coagulación, dando lugar a una generación patológica de trombina en el compartimento vascular. Como consecuencia de ello se produce un trastorno complejo que recibe el nombre de coagulación intravascular diseminada (CID).⁹⁷

La liberación de sustancias tromboplastínicas de los tejidos (tumores, músculo y hueso lesionado, tejidos placentarios, etc.) o la endotoxina liberada de bacterias gramnegativas en pacientes sépticos constituyen los agentes inductores principales de éste síndrome, aunque también son desencadenantes la presencia de complejos Ag-Ac, alteraciones del sistema hematopoyético o alteraciones vasculares.^{15, 63}

La formación de trombina intravascular conduce a la formación de fibrina. Los factores V y VIII son virtualmente eliminados y hay una disminución de los factores VII, IX y X que normalmente no se consumen, además de que también hay una disminución en los niveles de fibrinógeno y plaquetas, mientras que la protrombina es normal.^{16, 51, 63}

El consumo de plaquetas y factores de coagulación conduce a la aparición de hemorragias y las trombosis obstructivas de la microcirculación a necrosis y disfunciones orgánicas.

Adicionalmente la antitrombina III también puede ser consumida durante este proceso y una deficiencia de antitrombina III puede contribuir a una trombosis adicional.⁵⁰

Dependiendo de la duración de éste síndrome (CID), éste puede ser agudo o crónico, además dependiendo del grado de consumo o utilización de factores y plaquetas puede ser compensado, o descompensado si el consumo excede la síntesis o la producción de los

factores y plaquetas, disminuyendo los valores circulantes de los mismos.⁶³

No hay una prueba de laboratorio simple que establezca el diagnóstico ni una combinación de pruebas que sea específica para CID. Muchos laboratorios ofrecen una serie de estudios que incluyen cuenta plaquetaria, TP, TTP, TT y determinación de fibrinógeno.

Un procedimiento nuevo que se populariza, es el análisis de antitrombina III, cuya concentración disminuye pronto ya que se combina con la trombina y la inactiva, y también con otras serinaproteasas activadas.⁷²

La medida directa de los niveles de trombina, teóricamente puede ser usada para la detección de la trombosis venosa. Sin embargo, la trombina es rápidamente unida a la antitrombina III dando como resultado un complejo trombina-antitrombina III (TAT), que resulta ser inactivo. Por lo que las perspectivas de las pruebas clínicas para el diagnóstico en pacientes que se sospecha tienen trombosis vascular se establecerá mediante los ensayos del complejo trombina-antitrombina III.³²

FISIOLOGÍA DE LA COAGULACIÓN

Normalmente, la sangre circula dentro de un sistema cerrado de vasos. Los vasos se revisten de una capa sencilla, confluyente, de células endoteliales. Estas células proporcionan un medio ambiente natural para los elementos celulares de la sangre y los constituyentes disueltos en el plasma.⁷² Normalmente, numerosos componentes salen del compartimiento vascular para cumplir funciones diversas, como algunas proteínas, electrolitos, nutrientes, reguladores, etcétera. Algunos elementos formes, como los leucocitos, deben abandonar la circulación y dirigirse a los tejidos. A diferencia de ellos, el volumen circulante total ha de permanecer constante en el torrente intravascular.

El estado líquido de la sangre le confiere la desventaja de poder derramarse cuando el sistema vascular sufre una pérdida de continuidad.

La hemostasia es el conjunto de mecanismos fisiológicos que detienen espontáneamente la salida de sangre desde el espacio vascular mediante el cambio de estado físico. El cambio de estado líquido a sólido se logra mediante la formación de un coágulo, a través de una serie de reacciones bioquímicas, fundamentalmente enzimáticas.

La hemostasia cumple las funciones de sellar provisionalmente el sitio de ruptura vascular y de iniciar los mecanismos de reparación, por lo que es un fenómeno transitorio en el tiempo, autolimitado en su formación y confinado en su ubicación a una región específica.⁹⁶ En la hemostasia participan tres mecanismos básicos: el vascular, hemostasia primaria y coagulación plasmática.^{1, 72, 96} Por lo tanto, tres componentes contribuyen al proceso hemostático; vasos sanguíneos, plaquetas y proteínas plasmáticas solubles.⁷² Los tres componentes tienen un sistema de interrelación compleja para verificación y equilibrio.¹

MECANISMO VASCULAR

La estructura básica de todos los tipos de vasos sanguíneos, es semejante. La pared interior del vaso se reviste de una capa única continua de células endoteliales aplanadas que separa la sangre de los tejidos subyacentes.⁷² A ésta primera capa que está en contacto directo con el flujo sanguíneo se le llama íntima, la capa media está constituida por células de músculo liso y su función consiste en regular el flujo sanguíneo por medio de la contracción al producirse daño vascular, por lo que el calibre del vaso disminuye y limita el flujo hacia la zona lesionada. El mecanismo funciona sobretodo en arterias y arteriolas. La capa externa o adventicia está formada por tejido de sostén.² Con mucho, el papel preponderante de los vasos radica en el endotelio dada sus numerosas funciones metabólicas, hemorreológicas, mecánicas, etcétera.

El endotelio tiene funciones de regulación sobre la hemostasia ya que es capaz de liberar productos químicos que preservan el flujo sanguíneo normal.^{1, 2} El endotelio también sintetiza diversos factores. El factor relajante derivado del endotelio (EDRF), también conocido como óxido nítrico, y las prostaglandinas (PGI₂) provocan vasodilatación, incrementan el flujo sanguíneo y mantienen las plaquetas lejos de las paredes de los vasos normales.

Las proteínas adhesivas, fibronectina, vitronectina, tromboespondina y el factor de von Willebrand se elaboran en la célula endotelial y participan en el mecanismo de

coagulación. Una proteína importante, el factor de von Willebrand en donde se almacena hasta que se libera a la circulación según se requiera para la hemostasia. El factor de von Willebrand es una proteína adhesiva que hace que se peguen las plaquetas entre sí con las células del endotelio durante el proceso de coagulación. Las demás proteínas adhesivas tienen funciones similares a este factor.

Cuando el endotelio experimenta algún daño, se libera factor tisular y forma un complejo con el factor VII iniciando la activación del sistema de coagulación. La colágena expuesta reacciona con las plaquetas en circulación y provoca la agregación de las mismas. Las plaquetas generan trombina formando las primeras cadenas de fibrina y se libera fibrinógeno de las mismas. A medida que crece el tapón plaquetario el vaso se sella y la hemorragia cesa.

Al continuar el proceso de coagulación las células del endotelio cercano, que se encuentran intactas, comienzan a regular la formación de fibrina activando los inhibidores naturales de la generación de trombina. También se inicia la lisis del coágulo debido a que las células del endotelio secretan plasminógeno y activador del plasminógeno de los tejidos (t-PA) para activar la vía fibrinolítica. En la tabla 1 se presenta un resumen de las funciones de las células del endotelio en la hemostasia.

Tabla 1. Funcionamiento de las células endoteliales.²

FUNCIÓN	OBJETIVO
Liberación de EDRF y PGI ₂	Mantener flujo sanguíneo normal
Producción de proteínas adhesivas Fibronectina Tromboespondina Vitronectina Factor de von Willebrand	Se usa en el mecanismo de coagulación Mantiene unidas unas plaquetas con otras Mantiene unidas las plaquetas con las células del endotelio
Liberación de factor tisular	Activa el sistema de coagulación
Secreción de Plasminógeno Activador del plasminógeno tisular	Lisis del coágulo Lisis del coágulo

EDRF= Factor relajante derivado del endotelio

PGI₂= Prostaglandina GI₂

Las prostaglandinas también desempeñan una función importante mediante la regulación de las respuestas de las células del endotelio y las plaquetas. Los fosfolípidos de la membrana celular se transforman en ácido araquidónico debido a la enzima fosfolipasa A₂, como se muestra en la figura 1. A continuación la ciclooxigenasa transforma el ácido araquidónico en intermediarios de prostaglandina G₂ (PGG₂) y la prostaglandina H₂ (PGH₂).

Hasta este punto, las reacciones se verifican en muchas membranas celulares. La membrana de la plaqueta contiene una enzima singular, la sintetasa de tromboxano que a continuación transforma el PGH₂ en tromboxano A₂. Este último genera agregación plaquetaria y vasoconstricción. En la célula del endotelio, la enzima sintetasa de

prostaciclina transforma la PGH_2 en prostaciclina. La prostaciclina dilata los vasos e inhibe la agregación plaquetaria. Así, los efectos de la prostaciclina son opuestos a los del tromboxano A_2 .

Por último, el tromboxano A_2 y la prostaciclina afectan la enzima ciclasa de adenina; el tromboxano A_2 la inhibe y la prostaciclina la estimula. En resumen, cuando las plaquetas producen tromboxano A_2 éste inhibe directamente la ciclasa de adenina, eleva los niveles de calcio en la plaqueta y provoca la agregación plaquetaria. Las células del endotelio producen prostaciclina para mantener las plaquetas lejos del endotelio hasta que éste experimente algún daño. La aspirina, o cualquier medicamento que contenga esta sustancia, inactiva en forma irreversible la enzima ciclooxigenasa, inhibe la formación del tromboxano A_2 o PGI_2 y reduce los mecanismos de defensa naturales de las plaquetas y las células endoteliales.¹

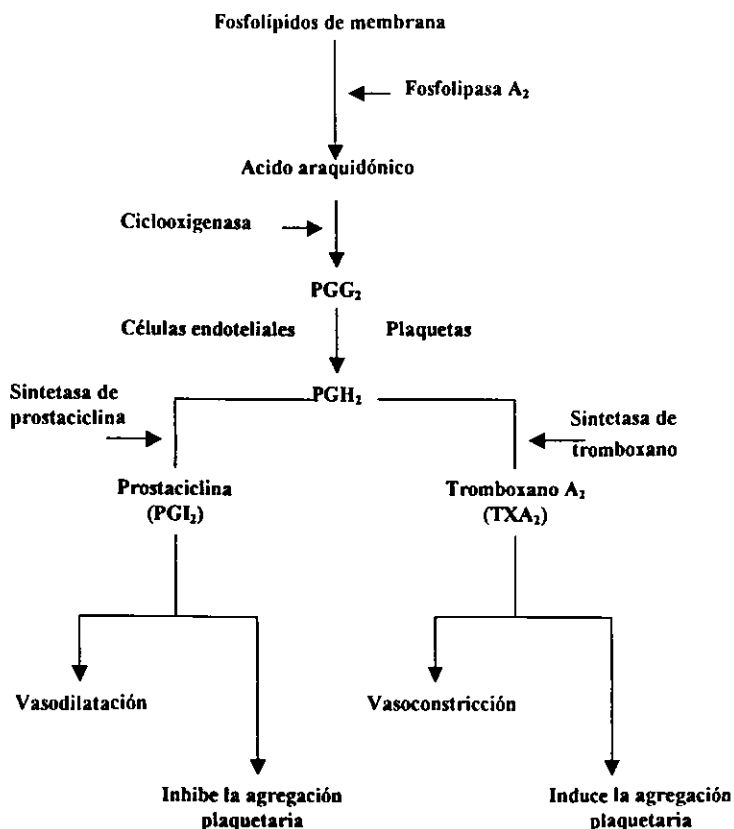


Figura 1. Regulación de las respuestas de las plaquetas y las células endoteliales.²

HEMOSTASIA PRIMARIA

Una vez que ocurre lesión vascular, las plaquetas se adhieren a la colágena expuesta en un tiempo aproximado de 1 a 3 segundos. A este fenómeno temprano se le llama hemostasia primaria y depende exclusivamente de la capacidad funcional de las plaquetas.⁹⁶

Las plaquetas son producidas a nivel medular por fragmentación del citoplasma de los megacariocitos y por lo tanto carecen de núcleo. Son liberadas a la sangre periférica en forma de discos planos. En reposo las plaquetas aparecen como un disco liso mientras que al ser activadas toman forma esférica recubierta de pseudópodos. Su diámetro aproximado es de 2 a 3 μ y con un volumen de 6 a 7 fl. Existen de 150 000 a 400 000 células/ μ l.^{39,96}

Cerca del 80% de ellas circulan y 20% están en el bazo, por lo que las plaquetas se mueven con libertad entre estos dos fondos.⁹³ Tienen una vida media de 7 a 10 días en la circulación, después son retiradas por el sistema mononuclear fagocítico.⁹⁶

Al igual que los vasos sanguíneos, éstos elementos son también necesarios para evitar la extravasación de la sangre ya sea a través de la función hemostática propiamente dicha o por su acción tromboplastínica. La primera se realiza por el taponamiento mecánico en los vasos sanguíneos y la segunda, por la liberación de componentes químicos plaquetarios.³⁹

ESTRUCTURA PLAQUETARIA

Las plaquetas están constituidas por tres grandes zonas estructurales:

1. *Zona periférica* (Glucocáliz): Participa en la adherencia y desencadenamiento de la activación plaquetaria.
2. *Zona citoplásmica* (Sol-Gel): Participa en la contracción.
3. *Zona de orgánulos y sistemas de membranas*: La primera participa en la secreción y los sistemas de membranas en el secuestro de calcio y la comunicación entre el interior y el exterior.

La *zona periférica* comprende una capa superficial (glucocáliz) de glucoproteínas, la membrana plasmática bilaminar y una zona submembranosa. La capa superficial participa en las reacciones de adherencia y acumulación, y contiene sitios de captación específicos para trombina, ADP, adrenalina, fibrinógeno y una proteína plasmática conocida como factor de von Willebrand. La membrana es rica en fosfolípidos que son esenciales para su interacción con las proteínas de la coagulación y que suministran ácido araquidónico para la biosíntesis de prostaglandinas.

La zona submembranosa tal vez sea importante en la transmisión de señales de la membrana al interior de la célula.

La *zona citoplásmica* contiene proteínas estructurales y contráctiles (actina, miosina, α -actina y tropomiosina). Haces de microtúbulos compuestos de tubulina rodean la plaqueta, formando un citoesqueleto estabilizador que permite al elemento circular conservar su forma de disco. Hay actina y miosina en la zona citoplásmica, y puede formar microfilamentos que se encargan del movimiento centrípeto y de la fusión de gránulos que se lleva a cabo durante la acumulación plaquetaria, además de la extensión de pseudópodos, cambios de la forma y retracción del coágulo.^{39, 45, 93}

Los componentes de la *zona de orgánulos* incluyen gránulos, mitocondrias, partículas que contienen glucógeno y peroxisomas. Pueden distinguirse tres tipos de gránulos incluidos en la membrana:

- a) Gránulos α , contienen ciertas proteínas secretables, incluyendo el factor plaquetario 4, con potente actividad de neutralización de la heparina, beta-tromboglobulina, fibrinógeno, factor von Willebrand y factores que estimulan la mitosis de células de músculo liso y fibroblastos.
- b) Gránulos densos, que contienen calcio, ADP, ATP, serotonina y fosfatos inorgánicos.
- c) Gránulos lisosómicos, que contienen enzimas, por ejemplo, β -glucoronidasa y catepsina.

Las tres poblaciones de gránulos constituyen los organelos secretores de la plaqueta, y liberan su contenido en reacción a estímulos como trombina, colágena, ADP o adrenalina. El umbral de liberación de cada tipo de gránulos es diferente, siendo los gránulos alfa los más sensibles y los gránulos lisosómicos los menos sensibles. El metabolismo intermediario es activo en las mitocondrias; se genera ATP por glucólisis y el calcio del ácido tricarboxílico, y se sintetizan ácidos grasos. Los sistemas de membranas plaquetaria incluyen:

- El sistema tubular denso, que es el sitio de secuestro de calcio, importante en el desencadenamiento de los sucesos contráctiles y que contiene las enzimas para la biosíntesis de prostaglandinas.

- El sistema de conductillos abiertos que es una prolongación de la membrana plasmática plaquetaria, y constituye el conducto para la penetración de sustancias del plasma y la salida de sustancias secretadas.⁹³

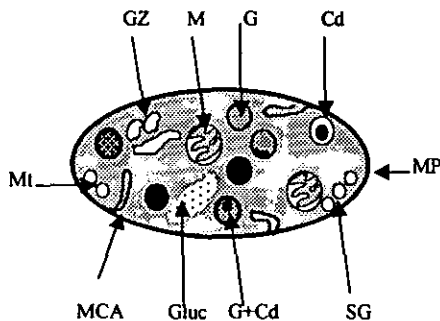


Figura 2. Estructura plaquetaria.⁷²

M= Mitocondria, Mt= Microtúbulos, MP= Membrana Plasmática, Glu= Glucógeno, Gz= Glucocaliz, Cd= Cuerpo Denso, G= Gránulos, MCA= Microfilamentos, G+Cd= Gránulos + Cuerpo Denso, SG= Sistema Canicular Conectado a la Superficie.

FORMACIÓN DEL TAPÓN HEMOSTÁTICO PRIMARIO

Las plaquetas se conservan inertes y discoidales en el entorno de un endotelio normal. No obstante, cuando el endotelio se altera con exposición de sus estructuras subyacentes, en particular colágena, las plaquetas se activan y participan en la formación del tapón hemostático. El proceso se desarrolla bajo una secuencia específica: adherencia, activación, agregación primaria, secreción y agregación secundaria. El paso inicial se amplifica muchas veces y, por último, se han agregado suficientes plaquetas para formar una barrera mecánica sobre la porción lesionada del vaso, ocluyéndolo.

Las plaquetas participan también en las subsecuentes reacciones de formación de fibrina y de retracción del coágulo que fortalecen al tapón primario y lo anclan con firmeza a la pared vascular.

ADHESIÓN PLAQUETARIA

La adherencia de las plaquetas es el primer paso en la formación del tapón hemostático primario.

En condiciones fisiológicas, la pared interior de los vasos se halla revestida de células endoteliales con actividades antitrombóticas (glicosaminoglicanos potenciadores de la antitrombina III y trombospondina para la activación de la proteína C, sobre su superficie, y capacidad de liberación de prostaciclina para reducir la activación plaquetaria). La disrupción de esta capa endotelial da lugar a la exposición de los elementos de la membrana basal o matriz extracelular de la célula endotelial en la que se encuentran proteínas adhesivas, especialmente colágeno, factor de von Willebrand (vWF), fibronectina, trombospondina y laminina que servirán de base para la adhesión de la plaqueta al subendotelio. Ésta a su vez posee receptores en su membrana para la unión a las proteínas adhesivas, las glicoproteínas de membrana (GP). Concretamente el complejo de GP Ib-IX es el receptor específico para el vWF en la superficie de la plaqueta aún no estimulada.^{39,45} Por lo tanto, vWF se describe de una manera simplista como un puente que conecta plaqueta y colágeno.⁷²

Otros complejos de GP, como el Ia-IIa (receptor del colágeno), juegan también un papel en la adhesión al subendotelio.

Tabla 2. Glicoproteínas (GP) de la membrana plaquetaria.^{39, 45, 48, 54}

GLICOPROTEÍNAS	ACTUA COMO RECEPTOR PARA:
Ib-IX	vWF en plaqueta no estimulada
IIb-IIIa	Fibrinógeno, fibronectina y vWF en plaqueta estimulada
Ia-IIa	Colágeno
Ic-IIa	Fibronectina
Ic'-IIa	Laminina
IV	Trombospondina y colágeno

La plaqueta, como consecuencia de la interacción con los elementos del subendotelio, sufre un proceso de activación que incluye:

- Una reestructuración de la membrana celular, haciendo más funcional la disposición de las GP y convirtiéndola en soporte eficaz para el asentamiento de los factores de la coagulación (función conocida habitualmente como factor 3 plaquetario).
- Un cambio de forma, pasando de la discoidal a la esférica y desarrollando múltiples prolongaciones pseudopódicas (esfera espinosa).
- Por último, la secreción activa del contenido de los gránulos plaquetarios (reacción de liberación).^{45, 48}

ACTIVACIÓN PLAQUETARIA

La primera característica de la activación plaquetaria es el cambio de la forma discoide a esférica con proyecciones espiculares en su superficie. Dentro de las proyecciones o pseudópodos, se forman microfilamentos por polimerización de moléculas amorfas de actina. Esos pseudópodos ayudan a aumentar la posibilidad de contacto entre plaquetas, permitiendo que se adhieran entre sí. Así mismo, como parte del cambio de forma, la capa de microtúbulos se contrae, reuniendo a gránulos y organelos en una área pequeña del centro de la esfera. Las plaquetas que se adhieren a la colágena se dispersan por toda la superficie, llenando los espacios entre pseudópodos al cabo de un tiempo. De este modo, las plaquetas se ensamblan con un efecto de "rompecabezas".

La segunda característica de la activación plaquetaria comprende cambios en la cubierta superficial y la membrana plasmática de modo que las GP actúan como receptores para diversos estímulos conocidos como inductores o agonistas. Se dice que la superficie se vuelve "pegajosa". Cuando éstas sustancias se adhieren a sus receptores plaquetarios, los mensajes se transmiten a través de la membrana al interior de la plaqueta. El efecto inmediato de todos los agonistas es semejante. La concentración citoplásmica de los iones de calcio aumenta por desplazamiento de su sitio de almacenaje en el sistema tubular denso. Éste incremento de calcio citoplásmico inhibe a la enzima adenilatociclasa y, en consecuencia, se reduce el AMPc plaquetario. Con ésta reducción aumenta aún más la movilización del calcio. Éste efecto provoca una serie de seis respuestas, exigiendo cada una de ellas potencia creciente de estimulación y, por lo tanto de concentración de calcio.

- Cambio en la forma.
- Agregación plaquetaria.
- Separación de ácido araquidónico de los fosfolípidos membranales.
- Secreción de gránulos α .
- Secreción de gránulos densos.
- Secreción de las enzimas hidrolasas ácidas.

Los estimulantes pueden ser débiles o potentes, dependiendo de la respuesta que son capaces de inducir. ADP y adrenalina son estimulantes débiles, puesto que sólo pueden inducir las dos primeras respuestas plaquetarias, cambio de forma y agregación. Por otra parte, colágena y trombina son estimulantes potentes, y pueden desencadenar las seis

respuestas. Una vez activada, la respuesta plaquetaria se autopropaga, ya que las sustancias liberadas estimulan una respuesta más poderosa e incorporan nuevas plaquetas que a su vez se activan.

La tercera característica de la plaqueta activada comprende a los fosfolípidos de la membrana que, en condiciones normales se concentran en la mitad interior de la bicapa lipídica, en especial fosfatidilserina y que, en la activación, se reordenan y exponen en la mitad exterior. Estos cambios permiten que las proteínas de la coagulación se unan a la superficie plaquetaria.

AGREGACIÓN PRIMARIA

Cuando el calcio citosólico alcanza la concentración adecuada, las plaquetas nuevas que entran al área lesionada, empiezan a adherirse a las ya existentes. La unión de plaquetas entre sí, se conoce como agregación plaquetaria. Al parecer esta agregación se efectúa en dos etapas denominadas primaria y secundaria.

La agregación primaria es el conglomerado plaquetario laxo que se forma al principio sin secreción plaquetaria y es reversible.

La agregación secundaria se desarrolla a continuación de la agregación primaria, es irreversible y se media por la secreción plaquetaria de ADP no metabólico de los gránulos densos y de tromboxano A₂.

SECRECIÓN PLAQUETARIA

Después de la adherencia, cambio de forma y agregación primaria las plaquetas comienzan a liberar sustancias al medio circundante a través del sistema canicular abierto (OCS). El proceso se conoce como reacción de secreción o liberación. Requiere energía para expulsar el contenido de los gránulos profundos por el OCS. La liberación plaquetaria requiere un estímulo más potente y una concentración citoplásmica más elevada de calcio que la agregación primaria.⁷²

La secreción es inducida por trombina, monómeros solubles de fibrina, endotoxinas, complejos inmunes circulantes, diversos virus, catecolaminas, ácidos grasos libres, ADP, productos de degradación del fibrinógeno, así como numerosas enzimas entre las que se encuentran la tripsina, papaína, venenos de serpientes, elastasa, etc.⁹⁶

Los productos liberados son el ácido araquidónico de la membrana y el contenido de los gránulos. Los siguientes productos se enumeran en orden creciente de estímulos necesarios para su liberación:

- Tromboxano A₂
- Contenido de los gránulos α
- Contenido de los gránulos densos
- Contenido de los lisosomas

El factor de crecimiento derivado de las plaquetas (mitógeno), de los gránulos α , estimula el desarrollo de las células del músculo liso y posiblemente de los fibroblastos.⁷²

Tabla 3. Sustancias segregadas por las plaquetas. ⁴⁸

Cuerpo denso (gránulo γ)	Agonistas de ADP y ATP Serotonina Calcio
Citoplasma	Factores citoplasmáticos Factor XIII PDECGF
Gránulos α	Proteínas adhesivas Fibrinógeno Fibronectina FvW Trombospondina Vitronectina Moduladores del crecimiento PDGF CTAP III TGF beta Factor plaquetario 4 Trombospondina Factores de coagulación Factor V HMWK CI INH Fibrinógeno Factor XI Proteína S PAI-1
Lisosomas	Enzimas lisosomales

PDECGF: Factor de crecimiento celular endotelial derivado de la plaqueta

PAI 1: Inhibidor del activador del plasminógeno 1

HMWK: Cimógeno de alto peso molecular

CI INH: Inhibidor de CI

PDGF: Factor de crecimiento derivado de la plaqueta

TGF: Factor de crecimiento transformante

CTAP III: Peptido III activante del tejido conectivo

AGREGACIÓN SECUNDARIA

La agregación secundaria es irreversible, ocurre después de la secreción plaquetaria. ADP, adrenalina, colágena y trombina pueden causar agregación.

La colágena y trombina tienen capacidad para inducir la síntesis de tromboxano A_2 . La estimulación plaquetaria activa a una enzima fosfolipasa de la membrana. Esta enzima separa el ácido araquidónico, un ácido graso insaturado, constituyente principal de los fosfolípidos, de las moléculas de éstos últimos en la membrana. Por acción de dos enzimas adicionales, ciclooxigenasa y tromboxano sintetasa, el ácido araquidónico se convierte a tromboxano A_2 . Esta sustancia estimula agregación y secreción adicionales. Así mismo, potencia la vasoconstricción.

Las sustancias liberadas de los gránulos plaquetarios tienen varias funciones, algunas de ellas definidas y otras desconocidas. Las sustancias amplifican la formación del tapón plaquetario al atraer nuevas plaquetas que se adhieren, secretan y agregan, formando por

último un tapón mecánico que sella la lesión e impide la fuga ulterior de sangre. Este tapón es la causa del cese del sangrado de una herida. El tiempo de sangrado, hasta que cese, depende de la profundidad del corte y el tamaño del vaso. Las heridas superficiales en que sólo capilares y vasos pequeños se afectan dejan, por lo general, de sangrar en 10 minutos.⁷²

Durante los 10 a 20 segundos que siguen a la adhesión de las plaquetas al endotelio, se activa simultáneamente la coagulación plasmática y la aparición de trombina favorece el crecimiento del tapón de plaquetas; además, se genera fibrina y se forma una red entre plaquetas y fibrina en la que quedan atrapados eritrocitos y leucocitos. Después de 5 minutos, la fibrina se estabiliza y el coágulo adquiere mayor resistencia y se vuelve insoluble. Aproximadamente 30 minutos después, el coágulo sufre una retracción, con lo que queda adherido de manera firme a la pared vascular. Esta retracción depende fundamentalmente de la contracción de las proteínas fibrilares del citoesqueleto, de las glucoproteínas receptoras de membrana, de las proteínas de unión al endotelio y en menor grado, de la fibrina.

Los coágulos formados en territorio arterial son fundamentalmente de plaquetas y se denominan trombos blancos; los que se forman en territorio venoso contienen mayor cantidad de fibrina y elementos formes, sobre todo eritrocitos, por lo que se denominan trombos rojos.⁹⁶

La formación primaria del tapón de plaquetas tiene una inestabilidad relativa y se desprende con facilidad. El tapón plaquetario inicial se estabiliza y sujeta con firmeza a la pared vascular al agregarse la fibrina y aún más por la contracción final de la masa entera plaquetas-fibrina. Las plaquetas participan en los dos procesos, formación de fibrina y retracción del coágulo. La activación de las plaquetas expone los sitios de fijación para las proteínas de la coagulación que intervienen en la formación de fibrina. Se piensa que la exposición se debe al movimiento de inversión de los fosfolípidos de la membrana. Al unirse los factores de coagulación a los receptores plaquetarios específicos, las moléculas proteínicas se orientan en la posición adecuada para generar las reacciones correspondientes y la formación de trombina. La capacidad de las plaquetas estimuladas para catalizar el proceso de coagulación por sus fosfolípidos de membrana, se conoce como *factor plaquetario tres* o actividad plaquetaria coagulante. El tapón plaquetario estabilizado por fibrina se llama *tapón hemostático secundario*.

El paso final en el proceso de coagulación es la contracción del coágulo. Cuando ella ocurre, el suero se expulsa.

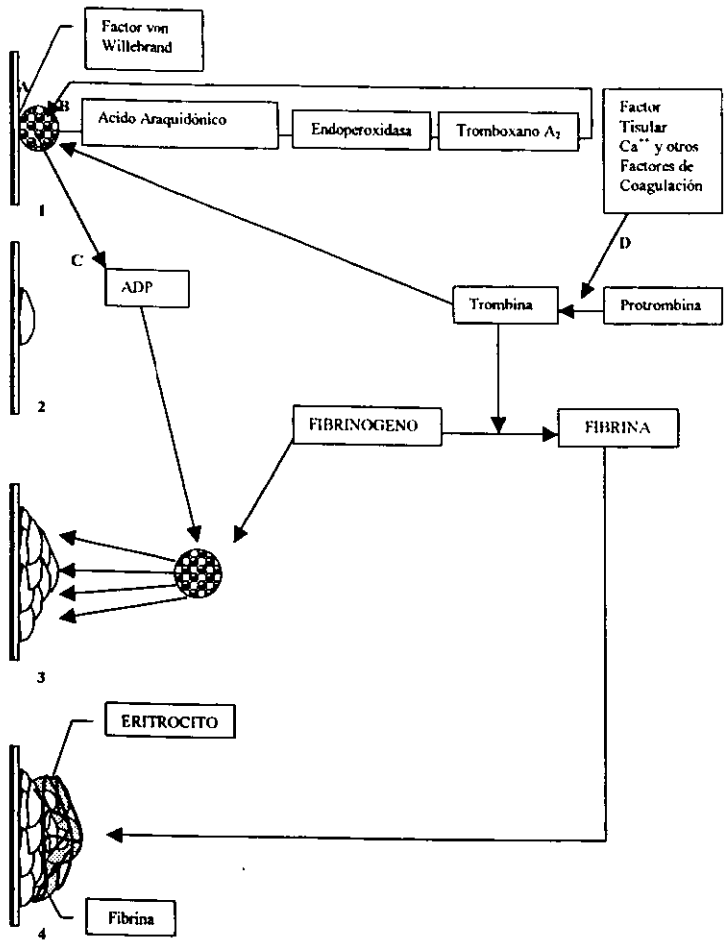


Figura 3. Interacción secuencial y secreción plaquetaria y factores de coagulación en la formación de fibrina y estabilización del tapón hemostático.⁵⁰ (1) Contacto de la plaqueta con la colágena en presencia del factor de von Willebrand (a) iniciación de la vía del ácido araquidónico (b), con la estimulación de la secreción de ADP de los gránulos densos (c). (2) La plaqueta adherida cambia de forma, se extiende y degranula. Mientras tanto se forman los complejos protrombinasas que convierten la protrombina a trombina (d), la trombina estimula la superficie plaquetaria para así comenzar de nuevo la vía del ácido araquidónico y también actúa sobre el fibrinógeno para formar fibrina. (3) El ADP induce la expresión de los receptores de fibrinógeno, sobre la superficie plaquetaria, causando la unión de plaquetas dentro de un agregado activado. (4) Las cadenas de fibrina producidas por la trombina, se cruzan sobre las plaquetas y algunas células rojas pueden ser atrapadas en la red.

HEMOSTASIA SECUNDARIA

La hemostasia secundaria ocurre cuando las proteínas plasmáticas solubles llamadas comúnmente factores de la coagulación, interactúan en una serie de reacciones enzimáticas compleja para convertir el fibrinógeno soluble en fibrina insoluble. Las reacciones se producen en una cascada donde los factores de coagulación inertes circulantes (cimógenos), activan en secuencia a enzimas. Por lo tanto, cada cimógeno sirve primero como sustrato y luego que se activa, como enzima. La activación de la cascada empieza cuando los cimógenos se exponen al subendotelio de los vasos. Todas las enzimas de la cascada excepto el factor XIII (una transamidasa), son serinoproteasas que actúan como enzimas separadas con actividad de proteasa en el sitio de un residuo de serina. Las reacciones originales se amplifican muchas veces por medio de factores de la coagulación no enzimáticos (cofactores) y retroalimentación positiva.

FACTORES DE LA COAGULACION

Los factores de la coagulación se han designado por los numerales romanos, I a XIII, de acuerdo con el orden de su descubrimiento, no de su secuencia en la reacción. Cada factor tiene también uno o más nombres comunes o sinónimos.

Tabla 4. Factores de coagulación. ^{2, 35, 72, 109}

Factor	Sinónimo	Vía
I	Fibrinógeno	Común
II	Protrombina	Común
III	Tromboplastina	
V	Proacelerina	Común
VII	Proconvertina	Extrínseca
VIII	Factor antihemofílico	Intrínseca
	Factor von Willebrand (vW)	
IX	Componente tromboplastínico del plasma	Intrínseca
X	Stuart-Prower	Común
XI	Antecedente tromboplastínico del plasma	Intrínseca
XII	Hageman	Intrínseca
XIII	Factor estabilizador de fibrina	Común
Fletcher	Precalicreína	Intrínseca
Fitzgerald	HMWK (Cimógeno de alto peso molecular)	Intrínseca

Cuando un factor se activa, es decir, funciona como enzima, se agrega la letra "a" a la designación numérica (por ejemplo, el factor XII activado es XIIa).

Los factores de la coagulación, con excepción del factor VIII, se sintetizan en el parénquima hepático. El plasminógeno, del sistema fibrinolítico y los inhibidores de las proteasas, se sintetizan también en el hígado.⁷²

PROPIEDADES DE LOS FACTORES DE LA COAGULACION

Desde el punto de vista bioquímico se pueden dividir en tres grupos:

Grupo I (del fibrinógeno). Comprende los factores I, V, VIII y XIII. Estos tienen características comunes: su peso molecular es elevado, generalmente superior a 250 000; se les encuentra en los gránulos alfa de las plaquetas; son digeridos por la plasmina; no se afectan por los anticoagulantes orales porque su síntesis no depende de vitamina K; son lábiles al calor (I, V y VIII) y al almacenamiento (V y VIII); se incrementan durante la inflamación aguda; se consumen totalmente durante la coagulación, y no se absorben con sulfato de bario o sales similares.

Grupo II (protrombínico). Incluye los factores II, VII, IX y X, y las proteínas C y S. Son péptidos de bajo peso molecular casi siempre de 55 000 a 70 000, que contienen residuos de gamma-carboxiglutamato. Se sintetizan en los hepatocitos, para lo que requieren de vitamina K, se afectan por la ingestión de anticoagulantes orales. No se consumen por completo durante la coagulación, por lo que pueden encontrarse remanentes en el suero. Son estables en almacenamiento y lábiles al calor, excepto el factor II. En el laboratorio se precipitan con sulfato de bario o hidróxido de aluminio.

Grupo III (sistema de activación por contacto). Comprende los factores XII, XI, cininógeno de alto peso molecular y precalicreína. Son moléculas de peso molecular intermedio, de 80 000 a 200 000, no se consumen totalmente durante la coagulación y se precipitan con sulfato de bario o hidróxido de aluminio o caolín.⁹⁶

Tabla 5. Propiedades de los factores de coagulación. ^{2, 35, 72, 109}

Factor	Peso Molecular (Daltons)	Biosíntesis	Concentración $\mu\text{g} / \text{ml}$	T $\%$ Horas	Nivel mínimo %
I	340 000	Hígado	2 500	72-120	50-10
II	69 000	Hígado	100	67-106	40
III		Mayoría de tejidos	0		
V	200-400 000	Hígado	5-12	12-36	5-10
VII	63 000	Hígado	1	4-6	5-10
VIII	1 200 000	Endotelio y megacariocito	7	22-40	30
IX	55 000	Hígado	4	18-40	30
X	55 000	Hígado	5	24-60	8-10
XI	160 000	Hígado	4	48-84	20-30
XII	80 000		29	52-60	0
XIII	320 000	Hígado	10	72-168	1
Fletcher	88 000	Hígado	50		
Fitzgerald	110 000	Hígado	70		

CASCADA DE COAGULACION

La coagulación plasmática consiste en la transformación del fibrinógeno (que es soluble) en fibrina (insoluble) merced a la trombina, enzima proteolítica que se transforma por activación de la protrombina. El proceso tiene lugar mediante una reacción en "cascada" de los factores de coagulación en la que ocurre la activación de proenzimas. El proceso queda limitado a la lesión vascular gracias a los *inhibidores naturales* de los factores activados. La coagulación del plasma intensifica y asegura la hemostasia temporal iniciada con la vasoconstricción y desarrollada por las plaquetas.³⁵

La cascada de coagulación puede dividirse en tres vías que se entrelazan: intrínseca, extrínseca y común. Cada vía comprende reacciones entre un grupo específico de factores como indica la figura 4.

VÍA INTRINSECA

Se inicia con la activación del factor XII producida por el contacto con una superficie desprovista de endotelio, por la exposición de la colágena y la membrana basal (estructuras vasculares subendoteliales).⁷² El factor XII, que es una serinoproteasa, en contacto con una superficie cargada negativamente sufre un cambio de conformación que determina su conversión a factor XIIa por acción proteolítica de la calicreína. Esta conversión es acelerada por la presencia del cininógeno de alto peso molecular. La calicreína, a su vez, deriva de la precalicreína por efecto del factor XIIa. El factor XIIa reacciona con el factor XI para proporcionar el factor XIa, que también es una serinoproteasa. La activación del factor IX por el factor XI requiere calcio. En la activación del factor X intervienen los factores VII y IXa, calcio y fosfolípido. Se admite como probable la activación previa del factor VIII por la trombina. Los fosfolípidos que intervienen como catalizante en el sistema intrínseco, son proporcionados por las plaquetas (factor plaquetario 3).

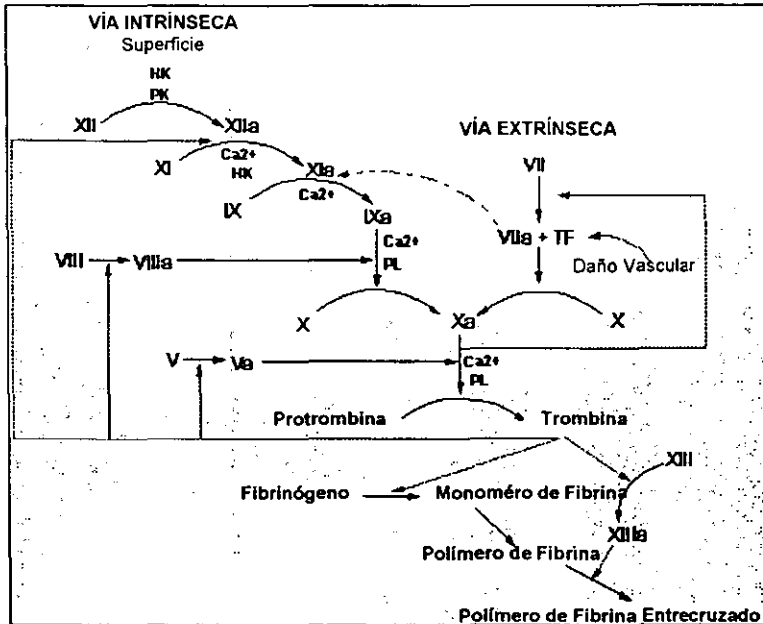
VÍA EXTRINSECA

Se desencadena cuando la sangre contacta con el factor histico, que es un complejo lipoproteico procedente de las células endoteliales y los leucocitos. En este sistema interviene el factor VII que es una serinoproteasa que se encuentra, al igual que el factor VIII, en mínimas cantidades en el plasma. Su actividad enzimática se incrementa por el componente proteico del factor histico mientras que los componentes fosfolípidos favorece la interacción de los factores VII y X. La activación de este último ocurre del mismo modo que en la vía intrínseca.

VÍA COMÚN

La conversión de protrombina en trombina por el factor Xa requiere fosfolípidos, calcio y factor V. El factor V, que es activado por la trombina, hace que la protrombina sea más accesible al efecto proteolítico del Xa. Si el proceso de activación de la protrombina se ha desencadenado por la vía extrínseca, la superficie fosfolípídica de esta fase final es proporcionada por el factor histico. En cambio, si ha ocurrido por la vía intrínseca, la superficie fosfolípídica procede de las plaquetas.

Los dos sistemas de activación de la protrombina no son completamente independientes. Una deficiencia en el sistema extrínseco, que es muy rápido, origina un retraso en la activación de los factores VIII y V. El producto de reacción del factor histórico, el factor VII y el calcio activan el factor IX en la misma proporción que el factor XIa. La fase de contacto no solo inicia el sistema intrínseco, sino que también actúa en el sistema extrínseco, ya que la caliceína puede aumentar indirectamente la actividad del factor VII en el plasma al generar los factores XIIa y IXa. Finalmente, el factor VII también puede ser activado por el factor Xa y la trombina.



HK= Caliceína de alto peso molecular, PK= Precaliceína, TF= Factor tisular, PL= Plaquetas

Figura 4. Cascada de la coagulación.^{d.f.e}

TRANSFORMACION DEL FIBRINOGENO EN FIBRINA

El fibrinógeno es una glucoproteína con peso molecular de aproximadamente 340 000 daltons. Está formada de tres pares de cadenas de péptidos α , β y γ conectados por puentes de disulfuro. Su concentración plasmática es de 200 a 400 mg/dL. Su síntesis es efectuada en el hígado y tiene una vida media de 3 a 4.5 días. Dada su naturaleza, el fibrinógeno es relativamente insoluble, debido a que en su composición se encuentra un 3 a 5% de carbohidratos y la fracción proteica está constituida por 1482 aminoácidos. Así mismo posee sitios de alta afinidad al calcio.^{2,60}

La transformación del fibrinógeno en fibrina se debe a la acción de la trombina, la

cual libera de la molécula de fibrinógeno cuatro péptidos de bajo peso molecular llamados fibrinopéptidos A y B de las cadenas α y β , respectivamente. Una vez liberados los fibrinopéptidos, el resto del fibrinógeno constituye el monómero de fibrina. La liberación de los fibrinopéptidos ocasiona una redistribución de las densidades de carga eléctrica en la molécula del fibrinógeno, que determina la unión de los monómeros constituyendo polímeros. Al principio estas uniones electrostáticas son poco estables por lo que la estabilización de la fibrina es llevada a cabo por el factor XIII, activado por la trombina, en presencia de calcio.³⁵

CONTROL FISIOLÓGICO DE LA HEMOSTASIA

El proceso de amplificación necesita que la coagulación se confine al sitio de la lesión y regule por la formación de un coágulo de fibrina de tamaño justo para controlar el sangrado. Sin alguna forma de regulación, la coagulación podría diseminarse a todo el cuerpo. Aún con la estimulación intensa de la coagulación existen mecanismos fisiológicos de regulación que son circulación sanguínea, depuración hepática, inhibición por retroalimentación, inhibidores bioquímicos y disolución fibrinolítica de la fibrina.

CIRCULACION SANGUÍNEA

El flujo normal de sangre a través del área lesionada limita la coagulación al diluir en forma continua los factores activados y llevarlos lejos. En un principio, la formación del coágulo se potencia por vasoconstricción, que hace lento el paso de la sangre por el vaso dañado. Sin embargo, la vasoconstricción es sólo temporal. Los coágulos no se forman en un vaso a menos que ocurran dos fenómenos, vasoconstricción y activación de los factores de la coagulación. Aunque la estasis favorece la formación de coágulos, ésto no producirá sólo trombosis. De igual modo, las serinproteasas no promoverán la formación del coágulo si la sangre sigue circulando con libertad. Es por esto que la vasoconstricción inicial para hacer lento el flujo de la sangre por la zona dañada, es importante para la formación adecuada del coágulo de fibrina.

DEPURACION HEPATICA

Cuando la sangre con los factores de coagulación activados atraviesa el hígado, los hepatocitos los retiran de ella en forma selectiva. La plasmina del sistema fibrinolítico y los complejos de fibrina degradada los depura también el hígado.

INHIBICION POR RETROALIMENTACION

Algunos de los factores activados tienen potencial para destruir otras proteasas de la cascada de coagulación. La trombina tiene la propiedad de activar en forma temporal a los factores V y VIII, pero cuando la concentración de trombina aumenta estos factores experimentan destrucción proteolítica por la misma enzima. El factor Xa tiene un efecto similar sobre el factor VII; primero incrementa su actividad y a continuación lo destruye. Por este sistema de inhibición por retroalimentación, éstas enzimas limitan su propia producción. La coagulación se controla también en forma indirecta por su producto final, fibrina. Esta tiene una fuerte afinidad por la trombina. Una vez que se adsorbe en el complejo de fibrina la trombina se libera con suma lentitud, lo que limita la cantidad de la enzima disponible para degradar fibrinógeno adicional a fibrina, proceso que se podría interpretar como un mecanismo anti-trombina.⁷²

INHIBIDORES BIOQUÍMICOS

Los inhibidores bioquímicos son proteínas plasmáticas solubles que regulan las reacciones enzimáticas de las serinoproteasas, previniendo la iniciación o la amplificación de la cascada de coagulación.

En los sistemas de la coagulación y la fibrinólisis existen tres tipos de inhibidores de la coagulación sanguínea que están dados por los inhibidores de las serinoproteasas y los inhibidores de los factores V y VIIIa, por último el sistema fibrinolítico que es importante para mantener localizado el proceso de la coagulación y para disolver los coágulos que se forman.^{35, 97}

INHIBIDORES DE LAS SERINOPROTEASAS (SERPINAS)

Las SERPINAS (SERine Proteinase INhibitors) son una familia de proteínas de importancia médica y con implicaciones clínicas, cuando existe alguna disfunción de éstas. Las implicaciones más comunes son los defectos en la regulación de la coagulación sanguínea, enfisema y cirrosis.

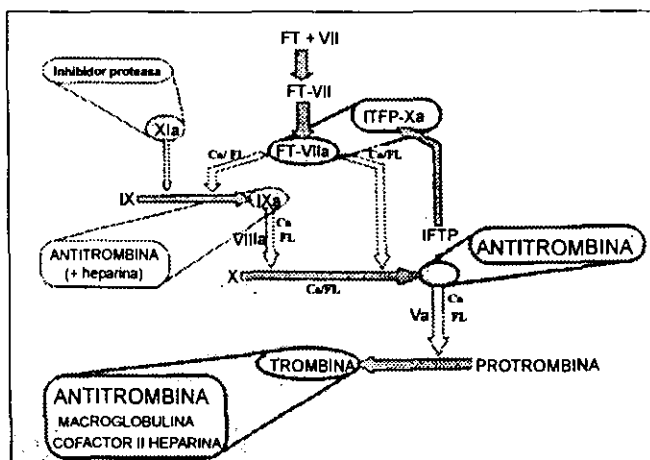


Figura 5. Principales Inhibidores de la Coagulación.¹²⁰ El tamaño de los nombres indican las velocidades de inhibición de las enzimas blanco.

Las serpinas contienen una estructura básica constituida por tres hojas y nueve hélices (A-I) donde la hoja principal contiene el sitio reactivo (hélice A). El centro reactivo contiene los residuos que van a interactuar con la correspondiente proteína. Cuando se lleva a cabo dicha interacción existe un cambio conformacional del centro reactivo, que aunque es el más obvio no es el único puesto que la hélice F también sufre un movimiento durante el acoplamiento proteína-inhibidor. A estos cambios se les denomina transición SR.

TRANSICION SR

La transición SR (Stressedrelaxed) es el cambio conformacional de los inhibidores, donde se expone el sitio reactivo, acompañado por un incremento en la termoestabilidad y la disminución de la actividad inhibitoria. En la transición SR (Stressed → relaxed), (compresión → relajación) el residuo N-terminal se acopla hacia el interior de la hoja mayor.

Por medio de datos cristalográficos ahora se conocen tres diferentes tipos de conformaciones de las serpinas, incluyendo estados no modificados (nativa y latente) y un estado modificado. La forma nativa o estado S es la estructura que puede actuar con la proteína correspondiente, debido a que su centro reactivo se encuentra listo para actuar mientras que en el estado latente el sitio activo se inserta hacia la hoja principal impidiendo el acoplamiento.^a

Las serinoproteasas con actividad anticoagulante comprenden principalmente las siguientes proteínas:

Antitrombina III (AT III). Es el principal inhibidor de la trombina, con la que forma un complejo irreversible. La AT III y la trombina reaccionan entre sí de forma estequiométrica, formando un complejo inactivo. Corresponde a la AT III el 75% del efecto antitrombínico del plasma y también tiene un potente efecto antifactor Xa. Las inhibiciones de la AT III son favorecidas por la heparina o por sustancias endógenas similares.

α_2 -Macroglobulina. Constituye el 25% del total de actividad de antitrombina del plasma. También inhibe la calicreina. A parte es una antiplasmina.

Otros inhibidores de menor trascendencia son: α_1 -antitripsina (inhibe XIa), C1 inhibidor (neutraliza los factores de contacto), α_2 -antiplasmina (inhibe la calicreina, los factores XIIa, XIa y Xa y la trombina) y el cofactor II de la heparina. Este último es una glucoproteína que, *in vitro*, tiene un efecto similar a la AT III. Sin embargo, inhibe muy lentamente al factor Xa y ello no se acelera por la heparina por lo que no existe certeza de que este inhibidor tenga trascendencia *in vivo*.

INHIBIDORES DE LOS FACTORES Va y VIIIa

Tabla 6. Inhibidores naturales de la coagulación.³⁵

Inhibidor	Peso molecular (Daltons)	Concentración por mL de plasma
Antitrombina III (AT III)	58 000	100-150 μ g
C1 Inhibidor (C1-INH)	105 000	180 μ g
α_1 -antitripsina (α_1 -AT)	55 000	2.5 μ g
α_2 -macroglobulina (α_2 -M)	725 000	2.5 μ g
α_2 -antiplasmina (α_2 -AP)	70 000	70 μ g
Cofactor II de la heparina (HC II)	66 000	?
Proteína C (PC)	62 000	4 μ g
Proteína S (PS)	69 000	35 μ g

ANTITROMBINAS

Estos inhibidores, conocidos con el nombre de *antitrombinas*, término introducido por Morawitz en 1905, son sustancias que fisiológicamente están presentes en el plasma e inhiben la trombina. Con el uso de materiales purificados y métodos específicos han sido descritas varias antitrombinas. Su numeración fué introducida por Fell y Seegers.

Antitrombina I. Es uno de los frenos naturales de la coagulación; el exceso de trombina es adsorbido sobre la fibrina. Si esta es desnaturalizada, la actividad trombinica puede ser liberada aparentemente inalterada.⁶⁸

Antitrombina II. Denominada también cofactor plasmático de la heparina, actúa junto con ésta impidiendo la reacción trombina-fibrinógeno.^{49,68,120}

Antitrombina III. Es un inhibidor de proteasas séricas que se une preferentemente a la trombina así como a otras proteasas séricas de la cascada de coagulación, y neutraliza su actividad. Es el inhibidor anticoagulante específico más importante.^{84,97}

Antitrombina IV. Es el término usado por Fell y col. para designar una rápida inactivación ocurrida en el transcurso de la coagulación. No fue demostrada la presencia de ninguna sustancia con esa propiedad y parecería más lógico considerar un efecto cinético de la reacción.

Antitrombina V. Es un potente inhibidor de la trombina que fué observado por primera vez por Loeliger y Hers en un paciente con artritis reumatoide y luego descrito en otros sujetos con macroglobulinemia. Este efecto sería producido por elevados niveles de inmunoglobulina que interferiría en la normal polimerización de la fibrina.⁶⁸

Antitrombina VI. Son considerados así los productos de degradación de fibrinógeno-fibrina. Aquellos de alto peso molecular interferirían en la reacción trombina-fibrinógeno y en la polimerización de los monómeros de fibrina ya formados, y los de bajo peso molecular lo harían solo en dicha reacción.^{68,120}

CARACTERÍSTICAS DE LA ANTITROMBINA III

ESTRUCTURA MOLECULAR DE AT III

La antitrombina III es una glucoproteína con peso molecular de 65 000 daltons.² Presenta una movilidad electroforética de α_2 - globulina, constituida por 432 aminoácidos con tres puentes disulfuros y cuatro oligosacáridos ramificados.⁶²

Mediante el análisis de difracción de rayos X, se encontró que la AT III está constituida por un dímero (AT-AT) en donde una de ellas es activa mientras que la segunda se encuentra latente. A la forma o unidad activa se le denomina cadena A o α y por consiguiente a la otra cadena B o β . Goldsmith y Mottonen identificaron que el sitio reactivo se encuentra ubicado en la cadena A, constituido por una única secuencia de unidades de monosacáridos sulfatados y no sulfatados en forma alternada.^{10,41}

Ya un estudio cristalográfico realizado por Schreuder y Hol indicaron las características de ambas cadenas, encontrándose que ambas tienen 432 aminoácidos y que el peso molecular de A es de 49,028 y 48,932 para B.^c

La secuencia de los 432 aminoácidos es de tal manera que forman 9 hélices (A-I) y 3 hojas β -plegadas. En la parte interna existen 4 cadenas de oligosacáridos.^{28,58} De los 432

aminoácidos, 6 son cisteínas formando tres enlaces disulfuro intramoleculares, y sus posiciones son Cys8-Cys128, Cys21-Cys95 y Cys247-Cys430. Existen 4 sitios de glicosilación que son asparinas Asn96, Asn135, Asn155 y Asn192. Un 10 a 15% de la antitrombina total tiene una sustitución en el Asn135 por una serina por lo que esta microheterogeneidad parece ser atribuida a su punto isoeléctrico que va de 4.5 a 5.7. Además posee un peso molecular aparentemente bajo, baja carga eléctrica negativa y elevada afinidad hacia la heparina, comparada con la AT III (A) así como bajos niveles de hexosamina, azúcares neutros y ácido siálico. Esta variación no tiene importancia clínica.¹⁹ Su estructura es aproximadamente un 30% idéntica en su secuencia a la α 1-antitripsina.²⁸

58

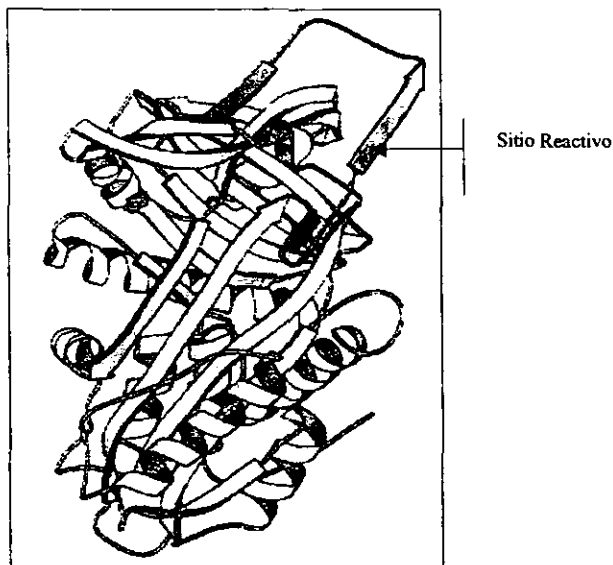


Figura 9. Estructura de la Antitrombina III.^{28, 41}

En el plasma humano normal, la antitrombina III se encuentra en dos variedades fisiológicas, la tipo α y la tipo β . La AT III α es la de mayor proporción (90-95%). La especie de AT III β está presente del 5-10% del total de la AT III.^{22, 106}

SINTESIS

La AT III se produce en el hígado, células endoteliales y probablemente en los megacariocitos.^{2, 50, 72}

Debido a que su principal producción se lleva a cabo en el hígado, esta se ve afectada al existir una hepatopatía o algún trastorno de consumo como la coagulación intravascular diseminada.¹⁰⁶

El proceso de la síntesis de la AT III no se conoce totalmente, pero varios estudios demuestran que es un proceso similar al que ocurre con la síntesis del fibrinógeno. Para que

el fibrinógeno se sintetice es necesario que los productos de la degradación de éste, se unan a los macrófagos. Esta unión sirve como promotor para la producción de interleucina 6 (IL-6) que a su vez estimula al hepatocito para la síntesis de nuevo fibrinógeno. Este proceso permite el control de la síntesis. En el caso de la AT III se asume que existe un proceso muy similar. En este caso se presume que el complejo TAT se une a los macrófagos lo cual podría estimular la producción de un promotor para la síntesis de AT III en el hígado.

Una hipótesis alterna que se puede considerar es la unión del complejo TAT al hepatocito.⁸⁴

GENETICA

La AT III es codificada por un gen (con 13,480 bp) en el cromosoma humano número 1(q23-25).^{19, 42, 58, 73, 98, 105, 108, 109, b}

Algunos estudios revelan una variedad de defectos genéticos los cuales vienen a reducir la producción de AT III estructuralmente normal o bien la producción adecuada de AT III pero estructuralmente anormal. La completa delección del locus de AT III ocurre en muy raros individuos, ocasionalmente son delecciones 1q22-24 o bien del 1q21-25.¹³

FUNCION

Pertenece a la familia de las serinas, que son inhibidores de las proteinasas, y es capaz de neutralizar todas las enzimas de coagulación, porque todas tienen serina en su centro de actividad enzimática.^{2, 13, 19, 58}

Se encuentra en el plasma a una concentración de 18 a 30 mg/100 ml. Su vida media es de 2.5 días.

Su acción parece dirigirse principalmente contra las proteínas de serina que dependen de la vitamina K, principalmente trombina, factor IXa y Xa.^{2, 50, 106}

La AT III se une sin intermediarios con los factores IIa, IXa, Xa, XIa, XIIa, plasmina, quimi tripsina y tripsina, en presencia de la heparina con el factor VII, calicreína y factores del complemento.⁶²

Es con mucho, el inhibidor más importante de la coagulación, explicando más o menos el 80% de la inactivación.^{72, 117}

MECANISMO DE INHIBICION POR AT III

Ésta acción inhibidora es lenta y progresiva. La AT III forma un complejo estequiométrico 1:1 inactivo e irreversible con la trombina, mediante la interacción del centro activo serina de la trombina con un sitio reactivo arginina en la AT III.^{54, 62, 72}

El mecanismo por el cual la antitrombina inhibe a los factores se efectúa en dos etapas. La primera consiste en una asociación débil cuya constante de disociación es de 1.4×10^{-3} mol/L, este complejo es estabilizado a una velocidad de 10 complejos por segundo. La estabilización del complejo, que es la segunda etapa, involucra la formación de un enlace altamente estable entre el sitio reactivo de los factores (Ser394), con el residuo Arg393 del sitio activo de la antitrombina que se encuentra en la región carboxiterminal (conocido como residuo P1).^{10, 19, 68}

La capacidad de la AT III de neutralizar la actividad de la trombina se intensifica rápidamente con la presencia de heparina.^{54, 62, 72}

ANTITROMBINA Y HEPARINA

CARACTERISTICAS DE LA HEPARINA

La heparina no es una sustancia homogénea, sino una mezcla dispersa de moléculas de polisacáridos de peso molecular muy variable (entre 4 000 y 40 000 D), en los que se alternan ácidos urónicos y glucosamina, cuyos grupos amino están sulfatados. Estos radicales son necesarios para que la molécula tenga efecto anticoagulante.^{35, 86}

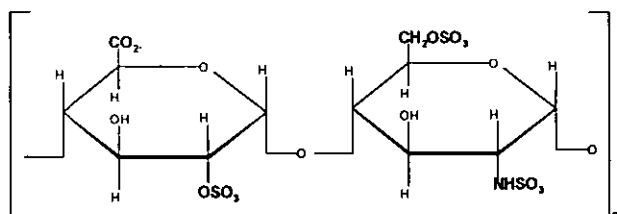


Figura 10. Estructura básica de la Heparina.⁵²

La heparina no está presente en la sangre en condiciones fisiológicas, pero algunos glucosaminoglicanos sulfatados de la superficie endotelial podrían desarrollar una acción similar.^{72, 86} La heparina comercial se extrae de la mucosa intestinal de porcinos y bovinos, y del tejido pulmonar de bovinos.^{35, 52}

FUNCION

Además de su acción anticoagulante, la heparina posee un efecto lipolítico, por activación de las lipoproteinlipasas.^{35, 86}

Se emplea en el tratamiento de ciertos estados trombóticos, y actúa como cofactor con la AT III, amplificando la velocidad de formación del complejo trombina-AT III de 1000 a 10 000 veces.⁷²

Yin y col. demostraron que en ausencia de heparina 2µg de AT III inhiben una unidad de factor Xa, mientras que en presencia de 0.01U/mL de heparina, 1µg de AT III inhibe 15 unidades de factor Xa. Como una unidad de factor Xa puede producir 50 unidades de trombina, 1µg de AT III es capaz de inhibir la formación potencial de 750 unidades de trombina.⁶²

La unión de la heparina a la AT III acelera la inactivación de la trombina y del factor Xa; en ausencia de este anticoagulante la vida media de la trombina es de 40 segundos y en presencia de AT III y de heparina es de 2 segundos.

En estudios realizados se ha observado la influencia del peso molecular de la heparina sobre el grado de inhibición del factor Xa o de la trombina.^{62, 68}

TIPOS DE HEPARINAS

Recientemente se han introducido heparinas de bajo peso molecular (3000 a 7000 D); obteniéndose a partir de heparina estándar mediante distintas despolimerizaciones químicas o enzimáticas. Sus características son: poca interacción con las plaquetas, baja actividad antitrombínica, alta actividad anti Xa, amplia biodisponibilidad por vía subcutánea y escasa actividad lipolítica.³⁵

La inactivación del factor Xa es fuertemente potenciada por fracciones de heparina de bajo peso molecular (LMWH), que tiene a su vez poco efecto inhibitor sobre la trombina, porque cuando la heparina unida a la AT III interacciona con la trombina, se requiere un sitio adicional en la heparina para la unión a la trombina que no es necesario para unirse al factor Xa u otras enzimas de la coagulación, ya que la heparina de bajo peso molecular no es lo suficientemente larga para unirse al sitio extra de la trombina.^{62, 68}

Las fracciones de heparina de alto peso molecular (HMWH) y gran afinidad por la AT III inhiben la coagulación de manera intensa.⁵²

Tabla 8. Diferencias entre la heparina de alto y bajo peso molecular.⁸³

CARACTERISTICA	HMWH	LMWH
Unidades de sacáridos	10-50	6-30
Peso Molecular	Aprox. 15000	Aprox. 4500
Afinidad por AT (Ka nM)	25	No Determinado
Inhibición de Xa U/mg	180	170
Inhibición Trombina IC ₅₀ ng/mL	3.3	27

MECANISMO DE ACCION DE LA HEPARINA

La unión de la heparina a la AT III es dependiente del grado de sulfatación y de la carga negativa de los polisacáridos. Rosenberg y Damus demostraron que la modificación a las lisinas afecta la unión heparina-AT III. Así, es razonable la propuesta de que las lisinas contenidas en la AT III están involucradas en la formación del complejo.^{106, 105} Además diferentes secuencias de aminoácidos en la vecindad del sitio reactivo determina la especificidad para la unión de la proteinasa a la antitrombina.¹¹⁵

El mecanismo de acción de la heparina sobre la AT III se ha establecido mediante la siguiente hipótesis.

a) La trombina y la antitrombina se unen simultáneamente por atracción de los residuos sulfatados negativos de una molécula simple de heparina a las lisinas contenidas en AT III y a las argininas en caso de la trombina para formar un complejo ternario no covalente. El grupo hidroxilo de la serina (-OH) en el sitio activo de la trombina es atraído más cercanamente con el sitio de unión de la AT que es un péptido (-CONH-).

La AT III se fija por un residuo arginina de su molécula al centro activo serina de la trombina y se genera un complejo inactivo AT III-trombina, en donde la estequiometría es 1:1.

b) Posteriormente la heparina unida induce un cambio conformacional en la antitrombina de modo que la arginina (posición 47) se une fuertemente a la heparina y a su vez la AT III exhibe su sitio arginina (posición 393) que facilita la unión a la región serina de las proteínas específicas, de ahí la aceleración de la reacción entre AT III y trombina

c) La trombina rompe el sitio reactivo de la antitrombina y llega a ser atrapada en un complejo acetil-éster covalente.^{10, 28, 68, 106, 105, 115}

Después de la interacción trombina-AT III, la heparina se desprende del complejo quedando libre para iniciar el ciclo de nuevo por lo que actúa en realidad como un catalizador del fenómeno.^{37, 54, 62, 72, 86}

Esto explica el éxito de las minidosis de heparina en la profilaxis de la enfermedad tromboembólica.⁷²

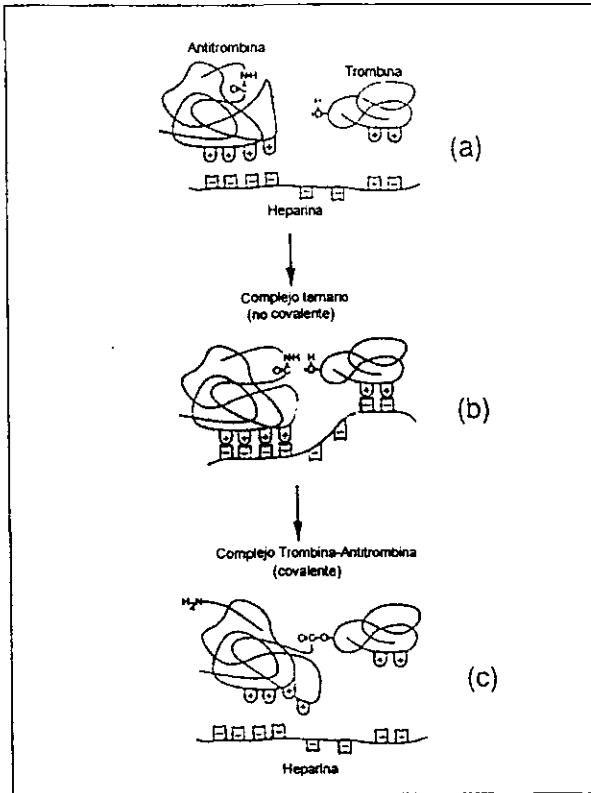


Figura 11. Mecanismo de acción de la heparina sobre la AT III.^{48, 115}

METABOLISMO DEL COMPLEJO CON AT III

Parte de la AT III se encuentra circulando en su forma activa y otra parte se encuentra unida a los glicosaminoglicanos (heparán sulfato y dermatán sulfato) de la superficie endotelial de la pared de los vasos. Es así como la trombina es neutralizada por la AT formando el complejo TAT que será liberado a la circulación, dejando un sitio libre en la pared de los vasos que será ocupado por otra molécula de AT III activa.^{10, 15, 85}

Cuando la AT III u otras serinproteasas actúan sobre su sustrato el complejo resultante es reconocido por uno de dos receptores hepáticos llamados receptores serpin1 y 2 (SR1 ySR2), ya que con el cambio conformacional del complejo se hace más accesible el sitio de unión hacia el hepatocito.⁸⁴

SR1 se une a complejos proteínicos de AT III, inhibidor α_1 -proteínasa (α_1 -PI), α_1 -antiquimiotripsina (α_1 -ACT) y α_2 -antiplasmina (α_2 -AP) y cofactor II de la heparina. SR2 se une a complejos de α_2 -AP con serinproteinasas como la plasmina.

Algunos complejos proteínasa-AT III son llevados a las células hepáticas en una reacción irreversible mientras que otros se mantienen en circulación, lo cual mantiene un equilibrio que favorece la disociación de los complejos unidos al endotelio.⁸⁶

Los complejos que se unen al hepatocito presentan una digestión a nivel de los lisosomas para después eliminar los productos de degradación.

En el tabla siguiente se presenta el tiempo de vida media para el aclaramiento de los complejos serpin-proteínasa para un receptor común en el hepatocito.^{84, 85}

Tabla 9. Tiempo de vida media de serpin-proteinasas.^{84, 85}

Complejo	Tiempo de vida media (min)
α_1 -PI-tripsina	15-20
α_1 -PI-elastasa del neutrófilo	5
α_1 -ACT-quimiotripsina	12
α_1 -ACT-catepsina	12
AT III-trombina	3
AT III-tripsina	7
AT III-Xa	1.5
Cofactor de la heparina II-trombina	10

La eliminación de los complejos proteínasa-ATIII ocurre rápidamente, pues tienen tiempo de vida media de tan solo algunos minutos. Este proceso es independiente de la serina que se use, sin embargo el mecanismo es general para la eliminación de los complejos que se unen a SR1.

Al parecer los complejos circulantes son eliminados por el sistema retículo endotelial mientras que otros se disocian en proteinasas activas (factores) e inhibidores inactivos (AT III).^{68, 86}

OBTENCION DE CONCENTRADOS DE AT III

Los concentrados de AT III pueden obtenerse por dos métodos. El primero consiste en la obtención y purificación de la AT III a partir de plasmas obtenidos de donadores sanos. La AT III así obtenida puede almacenarse por periodos de 2 a 3 años a una temperatura de 2-8 °C, y la actividad obtenida va de 50-100 UI/mL del material una vez reconstituido.^{13, 79} La purificación puede llevarse a cabo por cromatografía de intercambio iónico o por cromatografía de afinidad, utilizando heparina de alta pureza.^{13, 63}

La AT III es típicamente purificada de plasma por cromatografía de afinidad sobre heparina inmovilizada en agarosa. Esta técnica puede ser utilizada para la producción a gran escala. En los últimos años se ha encontrado que la preparación de AT III puede ser tratada por calentamiento (pasteurización) sin que su actividad se afecte significativamente. Esta observación tiene gran importancia, ya que elimina el riesgo de transmisión de

enfermedades por medio de derivados sanguíneos.^{74, 86}

El otro método hace uso de la ingeniería genética, obteniéndose AT III a partir de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* fusionada con *Schizosaccharomyces pompe*, o bien por el empleo de plásmidos inyectados a *E. Coli* o a óvulos de hamster chinos.^{13, 24, 30, 122}

TRASTORNOS DE LA HEMOSTASIA POR DEFICIENCIA DE AT III

Tabla 10. Estados de trombofilia.⁹⁶

Anormalidades	Mecanismos
1. Hereditarias	
a) Resistencia a la PC activada	Falla de inhibición proteolítica de Va.
b) Deficiencia de AT-III	Neutralización inadecuada de proteasas (Trombina, IXa y Xa)
c) Deficiencia de PC o PS	Falla de inhibición proteolítica de VIIIa y Va.
d) Homocisteinuria	Daño endotelial.
e) Disfibrinogenemias	Neutralización inadecuada de la trombina.
f) Displasminogenemia	Insuficiente producción de plasmina.
2. Adquiridas	
a) Cirugía, Traumatismo, Puerperio	Varios factores de riesgo
b) Cáncer	Exposición de la sangre a células tumorales o sus productos tromboplastínicos.
c) Padecimientos Hematológicos malignos	Liberación de tromboplastina.
Leucemia promielocítica de los gránulos	Hiperviscosidad, trombocitosis, trombocitopatía.
Policitemia vera, trombocitosis maligna	Trombocitopatía.
Hemoglobinuria paroxística nocturna	Varios mecanismos relacionados con anticuerpos antifosfolípidos.
d) Anticuaagulante Lúpico	Hiperfibrinogenemia, aumento de factor VIII, déficit de AT-III, trombocitopatía.
e) Nefropatías	
f) Yatrógenas	
Anovulatorios	Lesión endotelial, aumento de factores procoagulantes.
Concentrados de Protrombina	Infusión de intermediarios activados de los factores de coagulación.
Heparina	Agregación intramuscular de plaquetas (Trombocitopenia inducida por heparina).

DEFICIENCIA CONGENITA

La deficiencia de AT III se hereda como un rasgo autosómico dominante. Se considera que ésta deficiencia tiene una prevalencia de 1 por cada 2 000 a 5 000 personas, de manera que es una de las más comunes con respecto a inhibidores de coagulación. Todos los casos de deficiencia de AT III identificados hasta la fecha han sido heterocigotos con niveles en plasma de AT III de 20 a 60%. La ausencia total de AT III no se ha descrito, por lo que se supone que el estado homocigoto es letal in útero.^{1, 2, 13, 37, 50, 96, 115}

Algunos estudios revelan una gran variedad de defectos genéticos en la estructura de la antitrombina III, en la que existe una baja producción de AT III estructuralmente normal o la producción de cantidades normales de AT III estructuralmente anormal. La mayoría de los casos sugiere una alteración en la síntesis o secreción de la molécula.¹³

Las bases moleculares de estos desórdenes se pueden deber, como ya fue mencionado, por pequeñas deleciones, inserciones o sustituciones de bases simples,

teniendo como resultado la detención prematura del codón.^{58, 19}

Desde el punto de vista molecular el déficit congénito de AT III es heterogéneo, habiéndose descrito dos grupos principales y algunas variantes dentro de cada uno de ellos.

Tipo I. Pertenecen a este tipo la mayor parte de pacientes y corresponde al déficit cuantitativo, existiendo una paralela reducción de la actividad funcional y de concentración antigénica, aunque en algunas familias la molécula de AT III presenta una afinidad reducida por la heparina.

Tipo II. Incluye defectos funcionales que dan lugar a una actividad reducida en discrepancia con los niveles antigénicos normales, coexistiendo dos poblaciones moleculares, normal y anómala. Se distinguen tres subgrupos.

RS. Presenta un defecto sobre el sitio reactivo de la antitrombina hacia sus sustratos.

HBS. La presencia de un defecto sobre el sitio de unión hacia la heparina.

PE. La presencia de efectos pleiotrópicos (tipos de AT con mutaciones sustitutivas).^{58, 19}

Tabla 11. Deficiencia de AT III congénita.^{19, 58}

Tipo II RS	Tipo II HBS	Tipo II PE
Haslar	Rouen 1-4	Rosny
Hamilton	Basel	Torino
Charleville	Paris 1,2	La Rochelle
Vicenza	Padua 1,2	Paris 3
Cambrigde I	Budapest 2,3,7	Budapest 1,5
Glasgow 1,2,3	Barcelona 2	Oslo

Según algunos autores las manifestaciones clínicas trombóticas se inician entre los 10 y 35 años en la mayoría de los casos, aumentando su frecuencia con la edad, de modo que solo un 10% de pacientes sufren trombosis antes de los 15 años, pero más del 85% la han padecido por encima de los 50 años.^{100, 115}

En pacientes con historia de trombosis venosa profunda o embolismo pulmonar de etiología desconocida, la prevalencia de la deficiencia de la AT III es del 2 al 3%.⁷⁴

DEFICIENCIA ADQUIRIDA

La deficiencia adquirida de AT III, como ocurre con las otras proteínas de la coagulación puede ser la consecuencia de una disminución de la tasa de síntesis, de un aumento de las pérdidas, de un proceso de consumo con formación excesiva de complejos AT III-proteinasas o inducida por drogas.

Disminución en la síntesis de AT III

En las hepatopatías parenquimatosas, agudas o crónicas, existe una síntesis reducida de AT III la cual puede deberse a una reducción en lo que es el radio capilar por lo que disminuye el flujo, por lo que se acompaña, en general, de una reducción paralela de las serinoproteasas vitamina K dependientes, creándose un nuevo equilibrio, no siendo frecuentes los accidentes tromboembólicos en este tipo de pacientes.¹¹² Para asegurar la función del hígado, una comparación con los niveles de albúmina y complejo protrombina

debe ser realizado.^{21, 25}

Aumento de la excreción de AT III

En el síndrome nefrótico, la excreción urinaria anormal de proteínas produce una pérdida acelerada de AT III, y se observa una correlación directa entre la depuración renal y la deficiencia sérica de AT III. Cerca del 20% de los nefróticos pueden presentar fenómenos trombóticos y en ellos los niveles de AT III son menores del 70% del valor normal.⁶²

Algunas enfermedades gastrointestinales tales como colitis ulcerativa, en la enteropatía perdedora de proteínas y en las resecciones extensas del intestino delgado también se encuentra aumentada la excreción de AT III.^{13, 16, 62, 81, 25}

Disminución de AT III por consumo

La AT III disminuye durante la cirugía mayor y en el postoperatorio y se comprueba que con niveles preoperatorios menores del 70% aumenta el riesgo de desarrollar trombosis posquirúrgica, sobre todo en el reemplazo total de cadera. El incremento de los niveles de AT III a niveles fisiológicamente normales se observa a partir del quinto día después de la operación. El descenso de los niveles es determinado por el tipo de operación a la cual se someta. Así mismo en coagulación intravascular diseminada se encuentra elevado el consumo.^{25, 62}

Deficiencia de AT III inducida por drogas

El tratamiento con L-asparaginasa disminuye los niveles plasmáticos de AT III.

Los pacientes tratados con anticancerosos (diethylstilbestrol) como es el caso de cáncer de próstata, reduce la AT III 0.24 U/mL bajo la administración de una dosis diaria de 15 mg de este.^{13, 25, 37, 68, 115}

Los anticoagulantes orales que contienen estrógenos pueden reducir los niveles plasmáticos de AT III, y las dosis más altas se relacionan con un riesgo mayor de trombosis. Los niveles bajos de AT III se encuentran relacionados con la dosis de los estrógenos. En mujeres con deficiencia conocida de AT III nunca deben utilizarse anticonceptivos orales.^{25, 62, 81, 97}

El tratamiento prolongado con heparina endovenosa reduce la AT III hasta en un 31% de su nivel basal, pero los valores se normalizan dos a tres días después de terminado el tratamiento.⁶²

La disminución de AT III no necesariamente indica que esos pacientes tienen CID o presentan un alto riesgo de desarrollar trombosis.²¹

Tabla 12. Condiciones que afectan los niveles de AT III. ¹¹⁵

Condición	Rango AT III (% de lo normal)
Drogas	
Anticoagulantes orales	Normal
Heparina	40-78 (media 54)
L-asparaginasa	
25 000-50 000 U/m ² diarias	32-35
25 000-50 000 U/m ² semanal	37-67 (media 54)
Anticonceptivos orales	Normal o ligeramente bajo
Enfermedades	
Cirrosis hepática	
por etanol	24-135 (media 67)
por hepatitis B	39-110 (media 76)
Síndrome nefrótico de 7-28 g de proteínas/24 horas	32-100 (media 62)
Coagulación intravascular diseminada	31-137 (media 69)

Alrededor del 70% de los individuos con trombosis venosa profunda o embolismo pulmonar tienen disminuidos los niveles de AT III; sin embargo alguno de estos individuos deben la disminución al consumo y solamente una pequeña tienen efectos trombóticos a causa de la deficiencia adquirida de AT III. Existe en general una correlación entre la severidad del evento trombótico y el grado de descenso en los niveles de AT III en la mayoría de los casos adquiridos. El grado de descenso correlaciona generalmente con una coagulación intravascular diseminada (máximo descenso), trombosis ileofemoral, embolización pulmonar, trombosis bilateral de pantorrilla y trombosis simple de pantorrilla (disminución mínima).^{16,37}

Los infantes prematuros presentan niveles bajos de AT III debido a la inmadurez hepática. Los prematuros de 28-32 semanas pueden tener niveles de alrededor del 20-38%. Se ha encontrado que niveles inferiores del 60% predisponen al paciente a incrementar la tendencia de una trombosis. Los valores a partir del 60% no se considera un factor desencadenante a un proceso trombótico. Lo mismo sucede con pacientes hemofílicos que tienen 60% del factor VIII y sin embargo son considerados normales.⁶⁸

CUANTIFICACION DE LOS NIVELES DE AT III

Las técnicas clásicas comprenden técnicas de inmunodifusión radial y técnicas electroforéticas. Sin embargo, estos métodos consumen tiempo y tienden a ser gradualmente reemplazadas por ensayos nefelométricos acoplados a láser, radioinmunoensayos e inmunoensayos enzimáticos. Las últimas técnicas tienen una alta precisión y sensibilidad.

Generalmente los ensayos inmunológicos y funcionales para la determinación de la AT III, proveen resultados similares. La variación de los resultados pueden observarse en deficiencias de AT III hereditaria de tipo II, plasma neonatal y en concentrados de AT III humanos con un decremento en los radios de actividad antigénica.^{25, 115}

Teniendo en cuenta la posibilidad de anomalías hereditarias con reducción de la

actividad y nivel antigénico normal, se comprende que será siempre preferible la valoración funcional.

VALORACION FUNCIONAL DE AT III

Método amidolítico.

El método más utilizado es el amidolítico descrito por Odegard en 1975. La prueba consiste en incubar la muestra de plasma a valorar con heparina y con trombina en exceso, formándose complejos Heparina-AT III-Trombina y quedando un excedente de trombina libre que será tanto mayor cuanto más baja sea la concentración de AT III en la muestra. Esta trombina libre actuará sobre un sustrato cromogénico añadido, llamado así por contener, aparte de un péptido específicamente sensible a la acción proteolítica de la trombina, una molécula de p-nitroanilina que adquiere color al ser separado del péptido por la proteólisis. Cuanto menor sea la AT III plasmática mayor será la trombina excedente y por tanto mayor su acción sobre el sustrato y el color generado en la muestra.

Método cinético.

La valoración se puede realizar por método cinético, es decir midiendo el incremento de absorción por minuto, que está relacionado linealmente con la concentración de AT III, o por punto final, deteniendo la reacción por acidificación y midiendo luego el color formado que es estable durante horas. En ambos casos los resultados obtenidos son leídos sobre una línea de calibración. Esta se realiza mediante diluciones de una mezcla de plasmas normales. La primera dilución será igual que la de los problemas (100%) y las siguientes corresponderán al 75, 50 y 25% de la normalidad y se procesarán de igual forma que aquellos. Los resultados de la calibración se llevarán a un papel gráfico lineal (no logarítmico) enfrentando la concentración en % de normalidad o en unidades (abcisas) con la absorción o el Δ absorción/minuto (ordenadas).^{13, 25, 80, 82}

Método inmunológico.

En el procedimiento de la electroinmunodifusión (Rocket Laurell) la AT III contenida en la muestra problema se hace migrar bajo la influencia de un campo eléctrico en un gel de agarosa en el cual los anticuerpos anti-AT III han sido incorporados. A un pH aproximado de 8.8, donde la migración toma lugar, la AT III tiene una carga negativa por lo cual su movilidad electroforética está en la dirección del cátodo (-) al ánodo (+). Durante la migración la AT III es precipitada por la acción de los anticuerpos contenidos en la agarosa. Cuando toda la AT III contenida en la muestra es neutralizada, se observa un alto pico (cohete), el cual es directamente proporcional a la concentración de la AT III presente en la muestra.^{71, 82}

COAGULACION INTRAVASCULAR DISEMINADA

DEFINICION

La coagulación intravascular diseminada (CID) es el término más comúnmente usado para un síndrome clinicopatológico que consiste en la generación extensa de trombina en la sangre circulante con el consiguiente consumo de factores de coagulación y plaquetas con posible obstrucción de la microcirculación y activación secundaria de la fibrinólisis. El consumo de plaquetas y factores de coagulación (coagulopatía) conduce a la aparición de hemorragias, y las trombosis obstructivas de la microcirculación a necrosis y disfunciones orgánicas.^{15, 91}

Debido a que en la CID no sólo se produce coagulación sino también fibrinólisis y esta no siempre es diseminada, muchos autores han propuesto el uso de términos más descriptivos como coagulopatía por consumo, síndrome de desfibrinación, síndrome de coagulación intravascular-fibrinólisis (CIF) y coagulación intravascular generalizada. No obstante CID continúa siendo el término más común.^{17, 31, 72, 121}

Tabla 13. Criterio mínimo aceptable para definir CID.¹⁷

Es un desorden trombohemorrágico sistémico observado en situaciones clínicas bien definidas, y existen evidencias de laboratorio como son:

- Activación procoagulante (Grupo I)
- Activación fibrinolítica (Grupo II)
- Consumo de inhibidores (Grupo III)
- Evidencia bioquímica de falla orgánica (Grupo IV).

En centros médicos que están alerta de la posibilidad de CID, la incidencia es de 12 a 49 pacientes por año, desde luego en hospitales de alta especialidad o de gineco-obstetricia éste hallazgo es mayor.¹⁵

ETIOLOGIA

En el desarrollo de la CID humana cabe distinguir distintos factores (agentes desencadenantes) capaces de poner en marcha la formación de trombina intravascular. Estos agentes desencadenantes pueden ser directos o indirectos.

Desencadenantes directos. Son considerados aquellos que pueden activar la coagulación en el plasma desprovisto de elementos celulares. Los más importantes son el factor tisular y varias enzimas proteolíticas. Así cuando hay ruptura de las membranas celulares y los extractos tisulares se liberan a la circulación sanguínea, se inicia directamente la CID. Las enzimas proteolíticas que desencadenan CID inducen la formación de fibrina activando factores procoagulantes, clivando el fibrinógeno o neutralizando la antitrombina o la antiplasmina. Pueden ser endógenos, precedentes del páncreas, granulocitos (por liberación de proteasas), endotelio (produce y libera citocinas así como el factor necrosante tisular), plaquetas (liberan sustancias procoagulantes), hematíes (activan complemento) o células malignas, o exógenos (venenos de serpientes).^{65, 90, 91, 101, 107}

Desencadenantes indirectos. Se consideran aquellos que no son capaces de

desencadenar la coagulación en plasma desprovisto de elementos celulares. Estos desencadenantes indirectos actúan a través de la liberación o la activación de un mediador o una serie de mediadores que, a su vez, actúan como desencadenantes directos. Los más importantes son virus y gérmenes gramnegativos, cuyas endotoxinas probablemente desempeñen un importante papel.^{5, 12, 43, 91, 94}

Tabla 14. Mecanismos promotores de la CID.^{4, 36, 38, 46, 63, 64, 92, 77, 110}

Agente desencadenante	Situaciones clínicas
Productos bacterianos (p.ej. endotoxinas)	Septicemia por gramnegativos Enterocolitis necrosante
Material tromboplastínico (Daño tisular)	Shock Daño endotelial (infecciones) Traumas/quemaduras Fluido ascítico Hipoxia/acidosis por un síndrome respiratorio severo Enfermedades malignas Causas obstétricas
Complejo Ag-Ac	Reacción hemolítica transfusional Enfermedad inmune
Estasis sanguíneo	Shock anafiláctico Generalizado: Shock Localizado: Hemangioma gigante
Caso particular	Hemólisis postransfusional

- Los accidentes obstétricos conllevan a una CID debido a algunas enzimas liberadas por la placenta y útero, incluyendo tromboplastina ligada a algún otro material. Estas enzimas pueden ser liberadas al útero o a la circulación materna activando la coagulación.^{3, 9}
- La hemólisis intravascular de cualquier etiología es una causa común de CID. Durante la hemólisis, la membrana del glóbulo rojo libera adenosín difosfato (ADP) o las propias fosfolipoproteínas constituyentes de los hematíes activan el sistema procoagulante.
- En las septicemias, las endotoxinas activan al factor XII, induciendo la actividad plaquetaria, causando así daño al endotelio con la posterior activación de factores XII u XI que induce a una CID. El mecanismo exacto de mucopolisacárido no está bien establecida sin embargo podría ser semejante a la propuesta para la endotoxina.^{55, 87, 104}
- Las viremias desencadenan CID por el complejo Ag-Ac que activa el factor XII con su consecuente activación plaquetaria liberando estas sus enzimas con lo que llegan a alterar la integridad del subendotelio y membrana basal.
- El mecanismo por el cual un paciente con quemaduras extensas, desarrolla CID es debido a la gran cantidad de microhemólisis con la liberación correspondiente de enzimas activadoras de coagulación. Así mismo, el tejido necrosado también libera enzimas procoagulantes.
- Las enfermedades cardiovasculares pueden llevar a CID compensadas, y ocasionalmente pacientes con infarto agudo al miocardio desarrollan CID compensada o fulminante. El mecanismo no está muy claro pero puede deberse a shock, hipoxia y acidosis con el

consecuente daño endotelial y/o activación de factores de contacto.^{16, 17, 31}

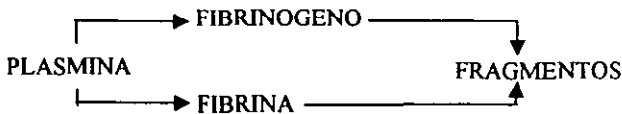
FISIOPATOLOGIA

Después de que la coagulación ha sido activada y la trombina y la plasmina entran a la circulación, la fisiopatología de la CID es similar en todos los desórdenes citados. Cuando la trombina circula sistemáticamente, los fibrinopéptidos A y B son desprendidos del fibrinógeno llevando detrás monómeros de fibrina. Los monómeros de fibrina se polimerizan dentro de la fibrina (coágulo) en la circulación conduciendo a una trombosis microvascular y macrovascular e interfiriendo con el flujo sanguíneo, produciendo una isquemia periférica y por consiguiente una falla orgánica irreversible. Como la fibrina es depositada dentro la microcirculación las plaquetas llegan a ser atrapadas produciéndose adhesividad que incrementa el tamaño del coágulo y provocando trombocitopenia. Por otro lado, la plasmina que también se encuentra circulando sistemáticamente, ésta actúa sobre el fibrinógeno y lo reduce a productos de degradación de fibrinógeno (PDF). La plasmina también libera rápidamente los péptidos específicos, B-beta 15-45 y péptidos relacionados que sirven como marcadores de diagnóstico molecular. Los productos de degradación de fibrina o fibrinógeno (PDF) pueden combinarse con los monómeros de fibrina circulantes antes de la polimerización, y los monómeros de fibrina llegan a ser solubilizados. Este complejo de PDF y monómeros de fibrina es llamado monómero de fibrina soluble.^{17,118} Como los PDF's intervienen con la polimerización de la fibrina ésta altera la hemostasis y conduce a hemorragias. Los fragmentos D y E tienen alta afinidad por las membranas plaquetarias y esto induce un gran defecto en la función plaquetaria. Por lo tanto las plaquetas que permanecen en circulación son disfuncionales y pueden conducir o contribuir a una hemorragia clínicamente significativa.

Por su parte la plasmina circulante puede activar C1 y C3 con la eventual activación de C8 y C9 produciendo una subsecuente lisis de glóbulos rojos y plaquetas. La lisis de los glóbulos rojos libera ADP y fosfolípidos de la membrana proporcionando más material procoagulante; así mismo sucede con las plaquetas. La activación del complemento incrementa la permeabilidad vascular conduciendo a hipotensión y a shock.

La activación del sistema de las cininas es un evento patofisiológicamente importante por la generación del factor XIIa en CID, la subsecuente conversión de precalicreína a calicreína y la más tarde conversión del cininógeno de alto peso molecular dentro de la circulación. Este evento también conduce a un aumento en la permeabilidad vascular, hipotensión y shock.

Apreciando los conceptos de la fisiopatología puede entenderse porqué la mayoría de los pacientes con CID presentan tanto hemorragias como trombosis de aquí que también se le denomine síndrome trombohemorrágico.¹⁷



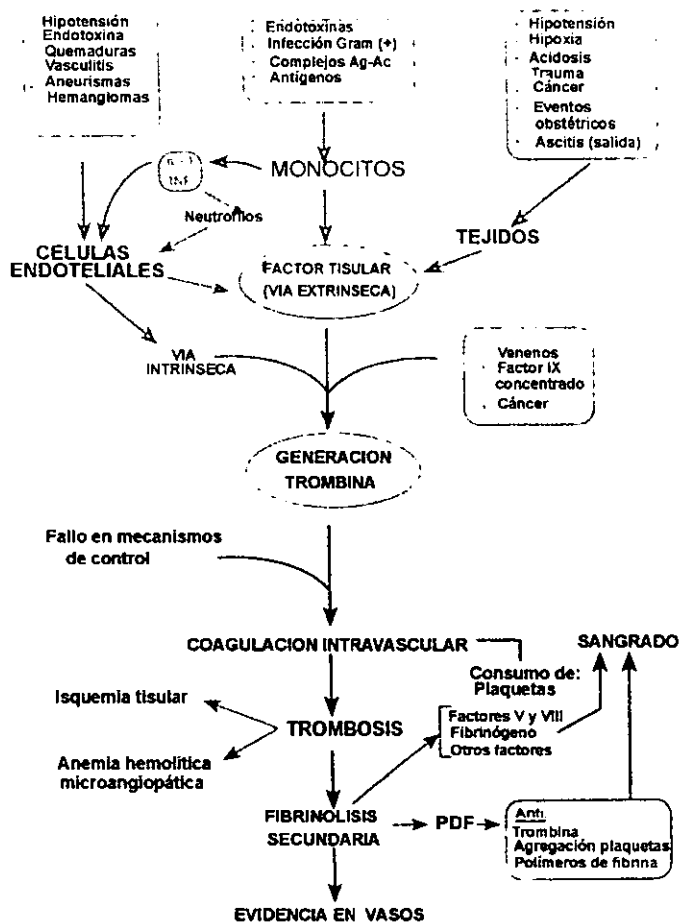


Figura 12. Principales Rutas de Iniciación de la CID.¹²⁰

Los cuadros muestran disparadores que pueden activar:

1. Sistema Extrínseco de la Coagulación por factor tisular expresado en la superficie celular.
2. Sistema Intrínseco de la Coagulación por daño causado a células endoteliales.
3. Factores de Coagulación, por ejemplo F-X por células cancerosas, F-II por venenos de víbora.

Todos ellos conducen a la formación de trombos que en caso de fallo en los mecanismos de control de la hemostasia, resulta en una CID. Esta en tunc puede conducir a trombos (o puede ser minimizada por disparo de fibrinólisis secundaria) y a consumo de plaquetas, F-I, y otros factores de coagulación. El sangrado puede ser causado por una depleción de éstos componentes hemostáticos esenciales y por adicional depleción de los factores I, V, VIII, por plasmina si es generada en exceso por fibrinólisis o si no es inhibida por la disminución de la antiplasmina.

MECANISMOS DE CONTROL

Hay varios mecanismos protectores que neutralizan componentes que inician CID o que corrigen sus consecuencias. La trombina generada en CID puede ser efectivamente removida por la enorme área de superficie de las células endoteliales de la microcirculación, por medio de la formación de un complejo con la antitrombina III (complejo TAT) que está unida a los glicosaminoglicanos (heparán sulfato y dermatán sulfato) de la superficie endotelial. Cuando se forma el complejo TAT, la afinidad de la AT III a la trombina disminuye y el complejo se libera de la pared de los vasos, dejando un sitio libre que será ocupado por otra molécula de AT III activa. Por su parte, la trombomodulina de la superficie endotelial se une también a la trombina suprimiendo los efectos procoagulantes de la trombina sobre el fibrinógeno, factor XIII y plaquetas promoviendo la activación de la proteína C (PC). La PC en turno inactiva factores Va y VIIIa estimulando la fibrinólisis por neutralización del inhibidor del activador del plasminógeno 1 (PAI-1) la liberación del t-PA y la liberación del inhibidor plaquetario PGI₂. La proteína S (PS) aumenta la unión de la PC a los fosfolípidos contenidos en las membranas y es capaz de acelerar su actividad. El complejo C4b-proteínas se une a la PS dando como resultado una reducción en su actividad funcional.

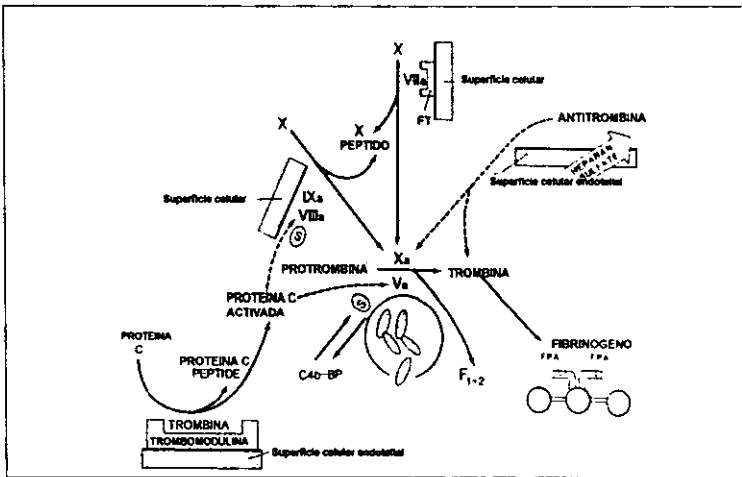


Figura 13 . Mecanismos de control de la hemostasia. ^{15, 48, 120}

Así tan pronto como el flujo sanguíneo es mantenido, es efectiva la neutralización del material anticoagulante, a menos que cantidades exageradas del material hallan entrado a la circulación. ^{10, 15, 84}

Al continuar el flujo sanguíneo las células rojas pasan a través de una red de hilos de fibrina, donde dichas células son fragmentadas en diversas formas y tamaños. ¹²

La producción de productos de degradación de fibrina (PDF) inhiben varios pasos de la coagulación, produciendo un polímero de fibrina estructuralmente defectuoso deteriorando las funciones plaquetarias y pudiendo estrechar la vascularización pulmonar. Es evidente ahora, que la presencia de grandes cantidades de PDF en la circulación es un

factor primordial en la producción de hemorragias en los pacientes con CID. Como consecuencia de la formación de complejos entre los monómeros de fibrina, diversos PDF y el fibrinógeno queda una gran cantidad de fibrina en estado soluble. Este hecho está considerado como una defensa final contra la oclusión vascular.¹²¹

Hay evidencia de que la mayoría de los productos de la coagulación intravascular (fibrina libre, protrombinasa, actividad de factor plaquetario 3, diversos tipos de PDF y sus complejos), así como diversos iniciadores del proceso (fragmentos tisulares, endotoxina, complejos antígeno-anticuerpo, tromboplastinas y estroma eritrocitario) son removidos de la circulación por el sistema retículo endotelial teniendo particular importancia las células de Kupffer del hígado.^{60, 121}

Las células del parénquima hepático también despejan factores activados como el IX, X, XI, t-PA y complejos proteinasas-inhibidor de la circulación, y posteriormente reabastece los factores de coagulación depletados, plasminógeno, α_2 -antiplasmina y proteínas inhibitorias (AT III, PC y PS).

Por su parte la médula incrementa la producción de plaquetas.

El sistema mononuclear fagocítico también participa en la protección para la CID. Este puede remover factor tisular soluble y los complejos solubles de monómeros de fibrina.

Los mecanismos de control pueden ser seriamente comprometidos por la no delineada enfermedad que inició CID. Por ejemplo, las leucemias pueden depletar o suprimir el compartimento megacariocítico, una enfermedad hepática puede empeorar la síntesis y la función de aclaramiento del hígado o un shock séptico puede disminuir la neutralización de trombina por la disminución en el flujo sanguíneo a través de la microcirculación.¹⁵

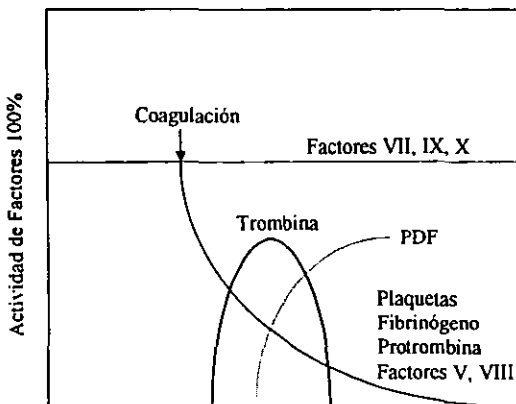


Figura 14. Cuadro biológico de la CID.³⁵ La aparición de trombina en la circulación da lugar a una disminución de las plaquetas y de factores que se consumen en el proceso de la coagulación (fibrinógeno, protrombina, factores V y VIII) y aparición de PDF .

DIAGNOSTICO CLINICO

Las manifestaciones de CID dependen de la magnitud y la velocidad de exposición al disparador del síndrome.¹⁵

La forma de presentación más común de la CID es mediante hemorragias en una o varias localizaciones del organismo, púrpura, hematomas, hemorragias en los tejidos lesionados en intervenciones quirúrgicas o por una enfermedad subyacentes.

Otras manifestaciones frecuentes son fiebre en caso de infecciones o cianosis en las partes acras. Raras veces los datos de laboratorio constituyen el único hallazgo de la CID. La evidencia de la alteración de un órgano en particular puede presentarse de las siguientes formas: trastornos neurológicos; hipoxia en la CID pulmonar, paro cardíaco e hipotensión cuando está implicado el corazón; petequias, púrpura y hematomas en relación con la afección de la piel y del tejido celular subcutáneo o algunas veces gangrena; proteinuria, oliguria o anuria en la frecuente localización renal, y acidosis, oligoemia e hipotensión en el caso de que la sangre se almacene en tejido muscular.

La aparición del shock sin el síndrome hemorrágico importante que lo justifique es una característica de la CID, que se explicaría por alteraciones de la dinámica circulatoria ocasionada por los depósitos de fibrina y plaquetas, por la activación de las cinasas, por el efecto vasoactivo de los productos de degradación de fibrinógeno-fibrina (PDF) y por la sangre y el plasma que quedan atrapados en los tejidos lesionados o en las cavidades serosas.^{7, 16, 9f, 15}

Los órganos más frecuentemente afectados por microtrombos difusos son los pulmones y riñones, seguidos por el cerebro, corazón, hígado, bazo, adrenales, páncreas e intestino.^{15, 44}

La enfermedad tromboembólica puede ocurrir de igual manera en hombres y mujeres con deficiencia de antitrombina y se han reportado con mayor frecuencia trombosis venosa profunda de piernas o embolismo pulmonar. La trombosis cerebral, renal, hepática o de venas mesentéricas tienen una baja incidencia.

La trombosis puede ocurrir espontáneamente o después de un evento desencadenante. Típicamente las personas afectadas de enfermedad tromboembólica son mayores de 15 años y se ha estimado que alrededor del 85% de personas heterocigóticas tienden a desarrollar un episodio trombótico alrededor de los 50 años de edad.¹¹⁵

De la experiencia obtenida en la práctica clínica, se le ha dividido a la CID en las siguientes etapas:

Periodo de activación. Corresponde al inicio de la activación de la coagulación por múltiples patologías que no necesariamente tienen que dar lugar a CID ya que los mecanismos inhibidores de la coagulación son suficientes para neutralizar a los factores de coagulación activados y el sistema retículo endotelial es capaz de depurarlos de la circulación.

Periodo de bajo grado (compensado o crónico). Indica un periodo evolutivo de la enfermedad, todavía con poco compromiso orgánico, pues aún no hay bloqueo de la microcirculación, y por lo mismo es el momento ideal para iniciar el tratamiento.

Periodo de alto grado (descompensado o agudo). Se iniciará al establecerse los compromisos orgánicos que pueden ser de moderados a severos, pero no significan una falla funcional evidente que, aunque podría no ser aparente, de establecerse afecta diferentes órganos y tejidos como los riñones, los pulmones, el hígado, el intestino, etc.

Periodo clínico. Es cuando las fallas orgánicas se han establecido y dan lugar a la

aparición del cuadro hemorrágico y/o trombótico que afecta a diferentes órganos y tejidos y que se manifiesta por hematomas subcutáneos difusos, hematemesis, melena, metrorragias, hemoptisis, acrocianosis, etc.^{1, 70}

DIAGNOSTICO POR EL LABORATORIO

Los métodos disponibles para valorar el aumento de la actividad de coagulación incluyen técnicas radiológicas y de laboratorio que, si bien muchas veces no son definitivas, permiten identificar el lugar de trombosis y la extensión y gravedad de la coagulopatía. En algunos casos, el laboratorio puede identificar los factores y componentes causantes del trastorno.

Para enfocar un trastorno trombótico clínico se necesita revisar cuidadosamente la historia del paciente con el fin de distinguir los trastornos congénitos y adquiridos, y excluir síndromes clínicos bien definidos que se acompañan de hipercoagulabilidad. La identificación de la zona afectada (arterial o venosa) puede luego comprobarse utilizando técnicas invasoras, o no invasoras, con el fin de estimar la extensión de la trombosis y, más tarde, determinar la eficacia del tratamiento.

Luego pueden elegirse técnicas de laboratorio basándose en la historia y la identificación de la afección, arterial o venosa. En presencia de enfermedad venosa, procede una valoración de antitrombina III, y una medición de fibrinógeno y productos de degradación de fibrina. La determinación de la AT III es un procedimiento que se está popularizando cada vez más, ya que su concentración disminuye pronto debido a su unión con las serinproteasas.

La medición de los productos liberados por las plaquetas, y la agregación plaquetaria, tendría valor si se demuestra enfermedad arterial. Por otra parte si hay hemorragia, si la historia indica la presencia de un trastorno asociado con coagulopatía, procede valorar los factores utilizados durante la coagulación (plaquetas, fibrinógeno, y quizá factores V y VIII y AT III).^{34, 40, 67}

Tabla 15. Criterios de laboratorio para el diagnóstico de CID.¹⁷

Pruebas que evidencian la activación procoagulante (Grupo I)

- Incremento de fragmentos protrombínicos 1+2
- Incremento de fibrinopéptidos A y B
- Incremento del complejo Trombina-antitrombina (TAT)
- Incremento del dímero D (D-D)

Pruebas que evidencian la activación fibrinolítica (Grupo II)

- Incremento del dímero D
- Incremento del PAF
- Incremento de la plasmina
- Incremento del complejo plasmina-antiplasmina (PAP)

Pruebas que evidencian consumo de inhibidores (Grupo III)

- Disminución de antitrombina
- Disminución de α_2 - antiplasmina
- Disminución del cofactor II de heparina
- Disminución de proteína S y C
- Incremento de complejos TAT y PAP

Pruebas que evidencian falla o daño orgánico

- Incremento de la deshidrogenasa láctica (DHL)
- Incremento de la creatinina
- Disminución del pH
- Disminución de la presión parcial de oxígeno (PaO₂)

Una sola alteración de los grupos I, II y III y al menos dos alteraciones del grupo IV son satisfactorias para un diagnóstico de CID por medio del laboratorio.

Debido a la destrucción y pérdida de glóbulos rojos, la anemia es muy común en CID, y desafortunadamente la muerte es frecuente.¹²

Pueden hallarse alteraciones morfológicas en los hematíes (hematíes fragmentados, células de Burr, esquistocitos, microsferocitos, etc.), que probablemente tiene su fundamento en las tensiones físicas que el hematíe sufre al obstruirse las arteriolas, las vénulas y los capilares, cuya luz se halla reducida por el proceso trombosante. Como se sabe, tales trastornos son expresivos de las microangiopatías y sólo aparecen en una tercera parte de los casos de CID.

Valoración de los datos de coagulación. Se han distinguido tres tipos de patrones biológicos en la CID:

1. Descompensadas. Se caracterizan por una alteración de todas las pruebas convencionales (tiempo de protrombina, fibrinógeno, PDF y plaquetas).
2. Compensadas. Uno o dos de los datos anteriores se presentan normales, generalmente el fibrinógeno, las plaquetas o el tiempo de protrombina.
3. Sobrecompensadas. Está aumentado por lo menos uno de los constituyentes que en la forma descompensada se halla disminuidos, generalmente las plaquetas y/o el fibrinógeno.

Estas distintas formas se basan en los mecanismos de descompensación del hígado en la síntesis de fibrinógeno, y de la médula ósea en la producción de plaquetas, frente a la generación de trombina escasa y lenta. La capacidad compensadora puede sobrepasar los

límites de lo necesario alcanzando el fibrinógeno y/o las plaquetas valores superiores a la normalidad. Por lo tanto, las manifestaciones biológicas de la CID dependen del grado de compensación que son capaces de proporcionar el hígado y la médula ósea.

El patrón biológico de la CID descompensada está bien establecido: indica un proceso desarrollado que puede conducir a diátesis hemorrágica espontánea, aunque no es posible saber si su desarrollo es reciente o anterior. De aquí se deduce la necesidad de realizar siempre pruebas de coagulación seriadas.

El patrón de CID compensada es más confuso, ya que se puede tratar de una CID ligera o subaguda que posiblemente procede en pocas horas a un episodio agudo. La CID sobrecompensada indicaría una fase de recuperación de un proceso agudo o bien el inicio de un proceso de CID, antes de producirse un extenso depósito de fibrina, o también la presencia de una CID crónica.^{38, 91}

Desafortunadamente no hay un "estándar de oro" para el diagnóstico de CID. Generalmente, el diagnóstico es basado en una combinación de la presentación clínica y una batería de pruebas, las que uno desee para obtener un valor predictivo.

TRATAMIENTO

La conducta terapéutica ante un cuadro de CID, aparte del tratamiento del proceso causal que en cada caso corresponda, no está definitivamente establecida. Esto se debe a la gran heterogeneidad de los factores que intervienen y se asocian con este síndrome, lo que imposibilita realizar ensayos clínicos con el fin de valorar objetivamente distintos procedimientos terapéuticos. En cualquier caso, la conducta terapéutica se basa en : a) tratamiento del proceso causal; b) tratamiento patogénico, y c) tratamiento sustitutivo en caso de hemorragia.^{8, 11, 20, 56, 57, 76, 113}

TRATAMIENTO CAUSAL

La identificación y cura de la condición desencadenante son también de principal importancia para seleccionar una respuesta terapéutica.¹⁸ Este tipo de tratamiento tiene la finalidad de corregir o revertir los hechos desencadenantes iniciales. En los traumatismos masivos, la sepsis, el shock cardiogénico y otras catástrofes clínicas, éste tiende a ser difícil.^{38, 91}

En algunos casos si la causa es removida la CID a menudo desaparece drásticamente.¹²

En este tratamiento de etiología responsable (sepsis, etc.) también se incluye la terapéutica de soporte en lo concerniente a la recuperación de la volemia si está disminuida y al control de la acidosis y del equilibrio electrolítico.^{33, 67}

TRATAMIENTO PATOGENICO

Existen distintas opciones, entre las que hay que mencionar la terapéutica con anticoagulantes, la medicación trombolítica, la administración de inhibidores de la fibrinólisis y la medicación antifuncionalismo plaquetario.

Terapéutica con heparina

La heparina debe reservarse para casos en los cuales hay trombosis, además de CID. La oliguria y el valor creciente de creatinina harán sospechar la presencia de microtrombina en los vasos renales, que acabará en infarto y necrosis. La heparina puede proteger en esas circunstancias. Debe utilizarse con cautela solamente después de haber controlado la hemorragia mediante plaquetas.^{18,34}

El único inconveniente de la heparina es que puede provocar accidentes hemorrágicos. Parece adecuado desaconsejarlo en la CID asociada a procesos obstétricos y quirúrgicos, sobre todo si se puede suprimir el agente desencadenante a corto plazo, ya que en tales situaciones existen importantes heridas vasculares que aumentan la probabilidad de complicaciones hemorrágicas. La experiencia clínica de algunos casos de síndrome urémico hemolítico y de púrpura fulminante, dicho tratamiento permitió recuperar, respectivamente, el funcionalismo renal y la integración cutánea mediante lisis de la fibrina intravascular.^{91, 102}

La acción anticoagulante excesiva de la heparina se trata mediante la supresión del uso. Si además hay hemorragia, está indicada la administración de un antagonista específico, como el sulfato de protamina. Su efecto antagonista se da mediante la formación de un complejo (protamina-heparina) estable con pérdida de la función anticoagulante de la heparina. Sin embargo, debe evitarse el exceso de protamina, ya que también tiene efecto anticoagulante.^{35, 52, 59, 62}

La vida media de la heparina es de 1-2 horas después de su inyección intravenosa con variaciones entre los distintos individuos.^{35, 52, 60, 72, 120, 121}

La mayoría de los hematólogos usan heparina a dosis que a menudo necesitan ser altas para producir la prolongación del tiempo de trompoplastina parcial. Algunos autores han recomendado que la heparina no debe ser administrada sola y aconsejan su administración junto con concentrados comerciales de AT III.^{13, 26}

Tratamiento con hirudina

La hirudina es un anticoagulante extraído primitivamente de la saliva de la hirudo medicinalis (sanguijuela) que actúa neutralizando directamente la actividad de la trombina sin necesidad de un cofactor plasmático. En ello aventaja a la heparina que necesita de la antitrombina III. Sólo actualmente, a través de la posibilidad de obtener grandes cantidades de hirudina por recombinación genética, pudieron realizarse estudios de su efectividad en diversas condiciones clínicas. Uno de los inconvenientes de la hirudina es su corta vida media, alrededor de 50 minutos. Zawilska y col., utilizaron un compuesto en donde la hirudina está complejada con polietilenglicol (PEG-hirudina) lo que prolonga sensiblemente su vida media a alrededor de 7 horas.¹

Se aconseja también el uso de anticoagulantes antagonistas de la vitamina K como derivados de la cumarina y warfarina, que parecen prevenir complicaciones tromboembólicas en pacientes con deficiencia de AT III.^{6, 13, 40}

Inhibidores de la fibrinólisis

En ocasiones, en el cuadro de CID predomina hiperfibrinólisis consecutiva al depósito de fibrina en la microcirculación, que en lugar de compensar el cuadro es el motivo fundamental de la aparición de hemorragias incoercibles. En tales casos puede estar justificado el tratamiento con antifibrinolíticos sintéticos como el ácido épsilon-aminocaproico (EACA) o el ácido 1-aminoetilciclohexano-4-carboxílico (AMCHA o ácido tranexámico). Pero si se cree necesario administrar este tipo de medicación, siempre se deberá realizar bajo tratamiento con heparina.

Medicación antifuncionalismo plaquetario

Teniendo en cuenta que las plaquetas constituyen un mediador, aunque no imprescindible, en el desencadenamiento de la CID, los medicamentos antifuncionalismo plaquetario que se han empleado en clínica podrían ser útiles en la profilaxis o en el tratamiento en las fases iniciales de este síndrome.

En favor de ello está el hecho de que la trombopenia suele ser signo precoz de la CID crónica.

TRATAMIENTO SUSTITUTIVO

La aparición de importantes hemorragias en el síndrome de CID por disminución o desaparición de los componentes de la hemostasia obliga a reemplazar el volumen de la sangre perdida. En principio, se debe administrar sangre total o sus fracciones, sin pretender normalizar los distintos factores plasmáticos y plaquetas descendidas. Si bien no se ha demostrado que las fracciones hemostáticas sean perjudiciales en el sentido de acrecentar el proceso de CID, tampoco se ha podido evaluar su eficacia.

A excepción de la CID que aparece en las leucemias agudas, en la que existe trombopenia amegacariocítica, no es aconsejable la transfusión de concentrados de plaquetas, ya que la mayoría de ellos contienen plaquetas alteradas que pueden proporcionar mediadores, los cuales, según se ha demostrado, favorecen el desencadenamiento de la coagulación intravascular.

Sabiendo que los niveles de la AT III se encuentran disminuidos en la CID, el descenso de éste inhibidor alcanza valores inferiores al 10%.^{70, 91, 111} Se han utilizado los concentrados de AT III en infusión ya sea solo o en combinación con heparina. Uno de los beneficios tras la administración de concentrados de AT III, sería incrementar los niveles plasmáticos y a su vez reestablecer el tiempo de vida media, ya que se ha visto que en pacientes con CID disminuye de 2-3 días a 8 a 14 horas.^{68, 118}

En casos de shock séptico los concentrados de AT III mejoran considerablemente la supervivencia desde 20% hasta un 70% comparado con la administración de heparina sola.^{12, 27, 117}

El beneficio de la AT III parece ser mayor cuando el tratamiento se inicia tempranamente y con dosis suficientes para aumentar el nivel plasmático de AT III a más de 70%. Para aumentar su actividad en 1% se debe administrar a razón de 1UI por Kg de peso. Las reacciones secundarias, aunque poco frecuentes, son la aparición del estado nauseoso, vómitos, reacciones anafilácticas e hipotensión.^{15, 21, 25, 66, 70, 103}

En resumen, sin poder dogmatizar por falta de ensayos clínicos valorables, según los resultados de la experimentación animal y sopesando las ventajas e inconvenientes de cada recurso terapéutico, las líneas generales del tratamiento de la CID pueden ser:

- Tratamiento del proceso causal.
- Terapéutica sustitutiva en caso de hemorragia con la finalidad de paliar las pérdidas producidas por la hemorragia.
 - El tratamiento ideal con heparina sería el profiláctico, antes de activarse el proceso de coagulación. Una vez desarrollada la CID parece aconsejable en las formas no agudas cuando no existen heridas vasculares.
 - El tratamiento antifibrinolítico podría estar justificado excepcionalmente, asociado siempre a tratamiento heparínico, en los casos graves cuando los accidentes hemorrágicos por hiperfibrinólisis dominan el cuadro.⁹¹

En un estudio publicado por Brandtzaeg, se hace uso de la plasmaféresis en un grupo de 7 pacientes con síntomas de CID causado por shock séptico, como tratamiento a dicho padecimiento, teniéndose como resultado la desaparición de los síntomas de CID y la normalización de los demás parámetros. Este tratamiento aún debe ser estudiado a profundidad.²⁰

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La coagulación intravascular diseminada (CID), es un síndrome adquirido que consiste en la generación patológica de trombina en el compartimento intravascular, en la cual se produce consumo de factores de la coagulación, plaquetas y fibrinógeno. Como consecuencia de este consumo se presentan hemorragias y trombosis obstructivas.^{16, 35, 97}

El origen de éste síndrome está asociado a un gran número de desordenes clínicos en los que la activación sostenida, aguda o crónica del mecanismo de coagulación determina la evolución de la CID. Diversas patologías activan el proceso de coagulación y en general no desembocan en una CID, ya que los mecanismos inhibidores son suficientes para neutralizar a los factores de la coagulación activados y el sistema mononuclear fagocítico es capaz de depurarlos del torrente circulatorio.⁴⁴

Entre los inhibidores fisiológicos que actúan sobre los factores de la coagulación, la antitrombina III (AT III) es el inhibidor más importante de la coagulación, ya que lleva a cabo alrededor del 80% de la inactivación.⁷²

La AT III inactiva factores de coagulación después de que éstos son activados, principalmente el factor Xa y trombina. Ésta acción inhibidora es lenta y progresiva. La AT III forma un complejo estequiométrico 1:1 inactivo e irreversible con la trombina, mediante la interacción del centro activo serina de la trombina con un sitio reactivo arginina en la AT III. La capacidad de la AT III de neutralizar la actividad de la trombina se intensifica rápidamente hasta 1000 veces con la presencia de heparina.

La heparina forma un complejo con la AT III y adquiere poder anticoagulante. La heparina por sus residuos sulfatados negativos, se fija sobre los sitios lisina de la AT III e induce un cambio de conformación de la proteína de modo que su sitio arginina se hace más accesible a las proteinasas, de ahí la aceleración de la reacción entre AT III y trombina. Cuando se produce la formación del complejo AT III-trombina la heparina se disocia del complejo por lo que actúa en realidad como un catalizador del fenómeno.^{34, 62, 72}

En pacientes con CID en los que la etiología no puede modificarse sustancialmente en forma rápida, la estrategia es el tratamiento precoz con heparina para interferir en la formación de trombina o de inhibir la trombina en formación tan pronto como los estudios de laboratorio indiquen la posibilidad diagnóstica de una CID. Sin embargo, con cierta frecuencia no se obtienen buenos resultados tras la administración de heparina y esto es debido a que la concentración de AT III se encuentra excesivamente descendida.^{1, 32} Si el nivel de AT III se halla significativamente reducida, la heparina no sólo producirá escaso beneficio, sino también conlleva a cierto riesgo, dada su capacidad potencial de disminuir aún más los niveles circulantes de AT III. Ante un déficit de AT III se debe recurrir a la infusión de plasma fresco como única fuente disponible de AT III.⁶²

Se han encontrado casos en los que la concentración plasmática de AT III se mantiene dentro del rango normal (20-30 mg/dL) pero la respuesta a la heparina es escasa. Esto hace pensar que existe una deficiencia funcional de la AT III en la que se encuentra reducida su afinidad hacia la heparina, produciendo escaso beneficio en el paciente, ya que se sigue presentando un cuadro clínico con síndrome trombohemorrágico y los datos de laboratorio no se modifican.

Sin embargo, hasta la fecha no se ha reportado ningún estudio que relacione la afuncionalidad de la AT III en CID.

Por lo tanto si se detectan aquellos casos en los que la AT III es afuncional, el

objetivo a seguir es determinar la utilidad pronóstica para hacer posible el uso de concentrados de AT III en estos pacientes.

Es por ello que se ha propuesto determinar la concentración plasmática de AT III en pacientes que reciben tratamiento con heparina, y además, evaluar la calidad funcional aún cuando los niveles de AT III sean normales y la respuesta al tratamiento con heparina sea ineficaz.

OBJETIVOS

- Establecer los niveles de AT III en pacientes con coagulación intravascular diseminada (CID).
- Determinar la funcionalidad de la AT III utilizando un método cromogénico.
- Determinar los niveles del complejo trombina-antitrombina (TAT) en los mismos pacientes.
- Determinar la relación que existe entre la determinación de antitrombina III en comparación con la determinación de los niveles de α_2 -antiplasmina, plasminógeno y fibrinógeno.
- Establecer si los parámetros encontrados tienen valor pronóstico.

HIPÓTESIS

- Si la relación estequiométrica del complejo trombina-AT III es 1:1, un aumento de su concentración nos indicará que la concentración de antitrombina III está disminuida por su consumo, mientras que ante una disminución o escasa concentración del complejo TAT habrá una deficiencia por falta de síntesis.
- Si la determinación de antitrombina III guarda correlación con la determinación de α 2-antiplasmina, plasminógeno y fibrinógeno, la determinación de alguna de estas pruebas podrá utilizarse como una evaluación indirecta de los niveles de AT III.

DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

POBLACIÓN DE ESTUDIO:

Pacientes con CID internados en los servicios que presta el hospital de especialidades del CMN siglo XXI en el periodo 1998 a 1999 y que están bajo tratamiento con anticoagulantes del tipo de la heparina.

TAMAÑO DE LA MUESTRA DE ESTUDIO:

30 pacientes bajo tratamiento con anticoagulantes.
30 sujetos sanos

CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN:

Criterios de inclusión:

-Datos clínicos:

Síndrome trombohemorrágico

-Datos de laboratorio:

Plaquetas	Disminuidas
TTP	Prolongado
TP	Prolongado
TT	Prolongado
PDF	Positivo
Dímero D	Positivo

Criterios de exclusión:

Los pacientes que no cumplan por lo menos con un criterio de inclusión, ya sea clínico o de laboratorio no serán considerados para el estudio.

METODOLOGÍA

REACTIVOS

- ¹FIBRI-PREST®
- ¹Stachrom® AT III
- ²Enzygnost® TAT
- ⁴IL Test™ α_2 -Antiplasmin
- ⁴IL Test™ Antithrombin III
- ⁴IL Test™ Plasminogen

MATERIAL Y EQUIPO

- ¹Equipo STA STAGO®
- ¹Equipo ST 888 Diagnóstica STAGO®
- ³Lector de Elisa Benchmark®
- ⁴ACL System®
- Tubos de ensayo
- Micropipetas de 100 y 200 μ l

- ¹Marca registrada de Diagnostica Stago
- ²Marca registrada de Behring Diagnostics Inc
- ³Marca registrada de Bio-Rad Laboratories Inc
- ⁴Marca registrada de Instrumentation Laboratory (IL)

MATERIAL BIOLÓGICO

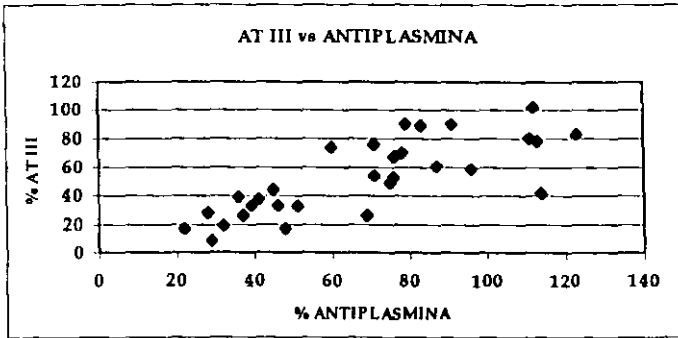
- Plasma citratado
- Pool de plasma normal

DETERMINACIÓN DE ANTITROMBINA III

Fundamento:

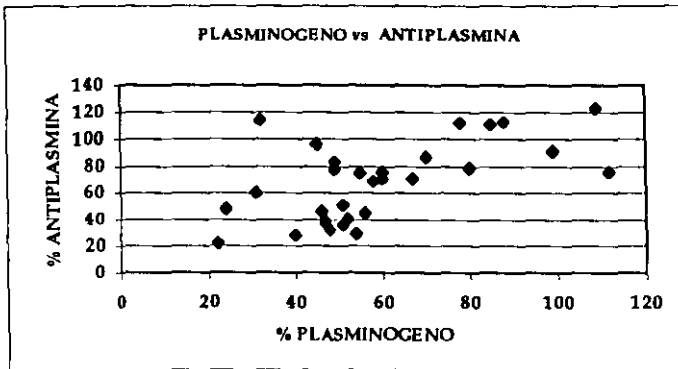
La prueba consiste en incubar la muestra de plasma a valorar con heparina y con trombina en exceso, formándose complejos Heparina-AT III-Trombina y quedando un excedente de trombina libre que será tanto mayor cuanto más baja sea la concentración de AT III en la muestra. Esta trombina libre actuará sobre un sustrato cromogénico añadido, llamado así por contener, aparte de un péptido específicamente sensible a la acción proteolítica de la trombina, una molécula de p-nitroanilina que adquiere color al ser separado del péptido por la proteólisis. Cuanto menor sea la AT III plasmática mayor será la trombina excedente y por tanto mayor su acción sobre el sustrato y el color generado en la muestra. La valoración por punto final, se realiza deteniendo la reacción por acidificación y midiendo luego el color formado que es estable durante horas.¹⁸

Gráfica 8.- Dispersión entre los valores de AT- α_2 -Antiplasmina.



R	0.7796
R ²	0.6077

Gráfica 9.- Dispersión entre los valores de Plasminógeno- α_2 -Antiplasmina



R	0.5932
R ²	0.3519

DETERMINACIÓN DE AT III (METODO MANUAL)

Incubar tubos de ensaye a 37°C	
Plasma	200 µl
Estándar	200 µl
Incubar a 37°C	2-4 min
Trombina	200 µl
Mezclar e incubar	1 min
Substrato Cromogénico	200 µl
Mezclar e Incubar	Exactamente 30 seg
Acido acético (puro o al 50%)	200 µl
Agua destilada	200 µl
Mezclar	200 µl
Leer a 405 nm contra <i>Blanco de Reactivos</i> e Interpolar en la Curva de Calibración	
Blanco de Reactivos	
Acido acético	200 µl
Plasma o Estándar	200 µl
Trombina	200 µl
Mezclar	
Substrato Cromogénico	200 µl
Agua destilada	200 µl
Curva de Calibración	
*Diluciones de un pool normal o Estándar	
1:30 y 1:60 con Buffer	
Buffer sólo	
Leer cada tubo a 405 nm y graficar	

* Las diluciones 1:30 y 1:60, corresponden a un 100% y 50% respectivamente (si se utiliza un pool de plasma normal), mientras que el buffer sólo al 0%. En caso de utilizar el estándar o calibrador, el valor es aquel que indique la casa distribuidora del kit.

DETERMINACIÓN DE AT III (METODO AUTOMATIZADO)

Adicionar a diferentes tubos:	
Plasma	5µl
Estándar	5µl
A los dos tubos:	
Buffer	200µl
Incubar a 37°C	2-4 min.
Trombina	200µl
Incubar	60 seg
Substrato Cromogénico	200µl
Medir D.O. a 405 nm a una temperatura de 37°C, en un tiempo no mayor a 30 seg	

DETERMINACION DEL COMPLEJO TAT

Fundamento:

Es un inmunoensayo tipo sandwich, que en la primera incubación el TAT presente en la muestra se une a los anticuerpos antitrombina adheridos en la placa. Esta unión se efectúa por la parte de la trombina. Los constituyentes no unidos se eliminan por lavado, y en una segunda reacción, los conjugados de peroxidasa-anticuerpos anti AT-III se unen a los determinantes correspondientes. El exceso del conjugado-anticuerpo se remueven por lavado. La reacción enzimática entre el peróxido de hidrógeno y el cromógeno es determinado por la adición de ácido sulfúrico diluido. La intensidad de color es proporcional a la concentración del complejo TAT medida fotométricamente. El rango de concentración es de 2.5-4.9µg/L.

Procedimiento.

Por cada pocillo	
Buffer TAT	50µl
Muestra (estándar o control)	50µl
Agitar placa	
Cubrir con parafilm e incubar	15 min (±2 min) a 37°C
Aspirar y adicionar solución de lavado*	0.3 ml
Aspirar y lavar de nuevo*	2 o más veces
Sacudir para eliminar exceso*	
Conjugado	100µl
Cubrir con parafilm e incubar	15 min (±2 min) a 37°C
Mientras se efectúa la incubación, preparar la solución cromogénica de la siguiente manera:	
Transferir 10 ml de la solución buffer sustrato a un vial de cromógeno, mezclar perfectamente.	
Remover la cubierta y lavar	Repetir los pasos marcados (*)
Solución cromogénica	100µl
Cubrir con parafilm e incubar protegido de la luz	30 min (±2 min) 20 a 25°C
Remover cubierta	
Solución de "stopping"	100µl

Leer contra agua destilada a 492 nm (490-500 nm) dentro de la primera hora.

DETERMINACIÓN DE FIBRINÓGENO

Fundamento:

En la presencia de un exceso de trombina, el tiempo de coagulación de una muestra de plasma diluido es directamente proporcional a los niveles de fibrinógeno en el plasma.

DETERMINACIÓN DE FIBRINÓGENO CON COAGULÓMETRO®

En un tubo de Ensayo a 37°C	
Muestra (Problema o Estándar)	0.2 ml
Incubar a 37°C	2 min
*Adicionar reactivo 1	0.2 ml
Anotar el tiempo de coagulación	

*Este reactivo contiene trombina cálcica humana y un inhibidor de heparina

DETERMINACION DE PLASMINOGENO

Fundamento:

El procedimiento comprende dos pasos:

En el primero un exceso de estreptocinasa es adicionado a la muestra a determinar. La estreptocinasa y el plasminógeno forman un complejo.

La cantidad de estreptocinasa-plasminógeno formado es medido por la acción de un sustrato sintético. La cuantificación se efectúa por la medición de la p-nitroanilina resultante, a 405 nm.

Procedimiento.

En un tubo de ensayo a 37°C	
Muestra (estándar) a determinar	200 µl
Incubar por	1-2 min
Estreptocinasa	200 µl
Mezclar e incubar por exactamente	3 min
Sustrato cromogénico	200 µl
Mezclar e incubar por exactamente	30 seg
Acido acético	200 µl
Mezclar	
El color puede ser estable por algunas horas.	
Transferir a una cubeta de 1 cm y Leer la DO a 405 nm contra un blanco obtenido como sigue:	
Acido acético	200 µl
Estreptocinasa	200 µl
Muestra (o estándar) a determinar	200 µl
Mezclar	
Sustrato cromogénico	200 µl

DETERMINACION DE α_2 - ANTIPLASMINA

Fundamento:

En la presencia de plasmina adicionada, el plasma problema exhibe una rápida y poderosa inhibición de la plasmina y esta inhibición es debida a la presencia de antiplasmina en el plasma. Este método evalúa la antiplasmina en dos pasos. Incubación del plasma problema con exceso de plasmina. Teniéndose un complejo plasmina-antiplasmina más plasmina residual.

La plasmina residual es evaluada por la actividad amidolítica de un cromógeno sintético el cual se lee a una longitud de onda de 405 nm.

En un tubo de ensaye a 37°C	
Muestra (estándar) a determinar	200 μ l
Incubar por	1-2 min
Reactivo 1 (plasmina)	200 μ l
Mezclar e incubar por exactamente	30 seg
Reactivo 2 (sustrato cromogénico)	200 μ l
Mezclar e incubar por exactamente	60 seg
Acido acético	200 μ l
Mezclar	
Transferir a una cubeta de 1 cm y Leer la DO a 405 nm contra un blanco obtenido como sigue:	
Acido acético	200 μ l
Reactivo 1 (plasmina)	200 μ l
Muestra (o estándar) a determinar	200 μ l
Reactivo 2 (sustrato cromogénico)	200 μ l
Mezclar	

RESULTADOS

Grupo I. Pacientes del año 1998 a quienes se les realizaron las determinaciones de antitrombina III (AT III) y fibrinógeno (F-I)

ID	CLAVE	AT-III	F-I
12	29-35	55	227
120	14-605	34	450
109	19-557	56	394
87	30-514	115	500
61	26-186	76	414
59	29-230	47	319
139	25-589	76	346
121	26-578	58	230
48	29-172	91	289
120	26-577	106	68
110	30-565	39	348
5	29-21	101	277
125	28-571	92	302
99	24-520	140	98
93	25-519	46	119
132	24-568	81	305
107	24-531	85	534
118	23-556	51	382
107	23-541	119	31
116	23-555	31	421
115	22-575	116	268
114	8-549	126	310
75	10-515	71	321
111	11-545	92	373
108	11-543	5	169
161	11-602	25	57

ID	CLAVE	AT-III	F-I
110	14-576	137	344
54	18-208	61	135
121	19-530	110	561
97	22-534	108	260
161	22-635	95	583
121	8-560	56	158
100	22-546	100	344
81	8-231	52	105
83	8-506	128	445
96	7-531	137	335
80	7-514	110	104
128	7-535	118	212
81	6-502	76	510
114	2-251	95	491
38	14-153	116	279
101	22-547	49	536
159	1-595	50	151
71	2-513	111	434
114	27-545	40	176
110	27-538	109	218
132	1-561	74	409
117	2-256	62	473
129	2-610	60	338
111	2-572	94	311
119	2-589	120	200

ID= Número de identificación asignado por el hospital al paciente.

Clave= Número asignado por el laboratorio al paciente.

Grupo 2. Pacientes del año 1999 a quienes se les realizaron las determinaciones de antitrombina III, plasminógeno, α_2 -antiplasmina, complejo TAT y fibrinógeno.

Clave	ATIII%	Plasm%	Antiplas%	TAT $\mu\text{g/L}$	Fibrinógeno
23/511	90	80	79	10.158	330
30/598	70	49	78		244
18/546	33	46	46	2.647	277
36/601	49	55	75	3.303	203
28/502	83	109	123	8.535	293
12/594	26	47	37	5.016	253
06/120	39	51	36	32.409	297
28/655	61	70	87	51.724	459
18/590	59	45	96	86.583	269
18/602	19	48	32	60.538	274
29/548	78	88	113	8.72	721
16/553	76	67	71	19.087	291
30/613	54	60	71	7.146	244
13/530	89	49	83	65.713	257
18/562	33	51	51	3.982	253
12/595	17	22	22	21.76	253
06/120	33	47	39	64.367	297
04/517	42	32	114	32.251	273
06/634	67	112	76	35.588	297
25/654	26	58	69	32.015	
13/595	9	54	29	4.402	322
13/538	17	24	48	28.824	216
25/530	38	52	41	9.465	262
30/650	102	78	112	8.905	
28/543	53	60	76	26	230
23/536	80	85	111	26	287
28/580	28	40	28	27.214	299
21/613	44	56	45	108.939	282
60/600	74	31	60	134.449	
30/572	90	99	91	13.016	244

Clave: Número asignado por el laboratorio al paciente.

ATIII% = Actividad de la antitrombina III.

Plasm% = Actividad del plasminógeno.

α_2 -Antiplas% = Actividad de la α_2 -Antiplasmina

TAT $\mu\text{g/L}$ = Concentración del complejo trombina-antitrombina

Estudio Estadístico I. Análisis de Varianza (ANDEVA)*

TRATAMIENTO	HIPOTESIS		F _{cal.}	F _{teo.}
AT III vs TAT	Ho	No existe diferencia significativa entre las determinaciones de AT-III y el complejo TAT.	6.825	4
	Ha	Si existe diferencia significativa entre las determinaciones de AT-III y el complejo TAT.		
AT III vs α_2 -Antiplasmina	Ho	No existe diferencia significativa entre las determinaciones de AT-III y la α_2 -antiplasmina.	4.5	4
	Ha	Si existe diferencia significativa entre las determinaciones de AT-III y la α_2 -antiplasmina.		
AT III vs Plasminógeno	Ho	No existe diferencia significativa entre las determinaciones de AT-III y el Plasminógeno.	0.957	4
	Ha	Si existe diferencia significativa entre las determinaciones de AT-III y el Plasminógeno.		
Plasminógeno vs α_2 -Antiplasmina	Ho	No existe diferencia significativa entre las determinaciones del Plasminógeno y la α_2 -Antiplasmina.	1.6210	4
	Ha	Si existe diferencia significativa entre las determinaciones del Plasminógeno y la α_2 -Antiplasmina.		
TAT vs Plasminógeno	Ho	No existe diferencia significativa entre las determinaciones del complejo TAT y el Plasminógeno.	12.851	4
	Ha	Si existe diferencia significativa entre las determinaciones del complejo TAT y el Plasminógeno.		
AT III vs Fibrinógeno ¹	Ho	No existe diferencia significativa entre las determinaciones de AT-III y el Fibrinógeno.	120.20	3.92
	Ha	Si existe diferencia significativa entre las determinaciones de AT-III y el Fibrinógeno.		
AT III vs Fibrinógeno ²	Ho	No existe diferencia significativa entre las determinaciones de AT-III y el Fibrinógeno.	181.96	4
	Ha	Si existe diferencia significativa entre las determinaciones de AT-III y el Fibrinógeno.		

*El ANDEVA se realizó con una $\alpha = 5\%$.

Los números 1 y 2 indican los grupos de estudio.

Si $F_{cal} > F_{teo}$ no se acepta la Ho, por lo que se acepta Ha.

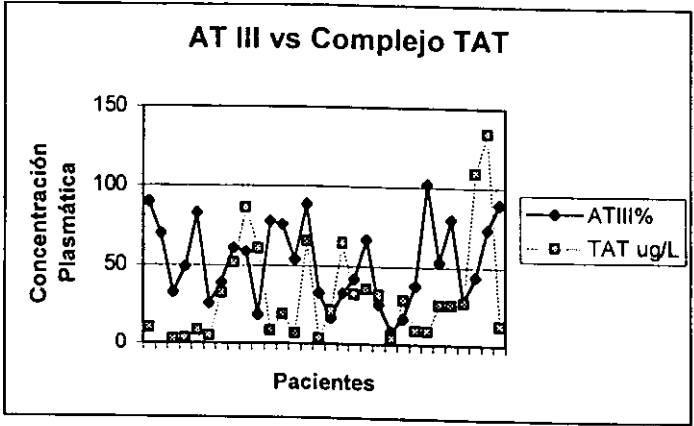
Ho: Hipótesis Nula.

Ha: Hipótesis Alterna.

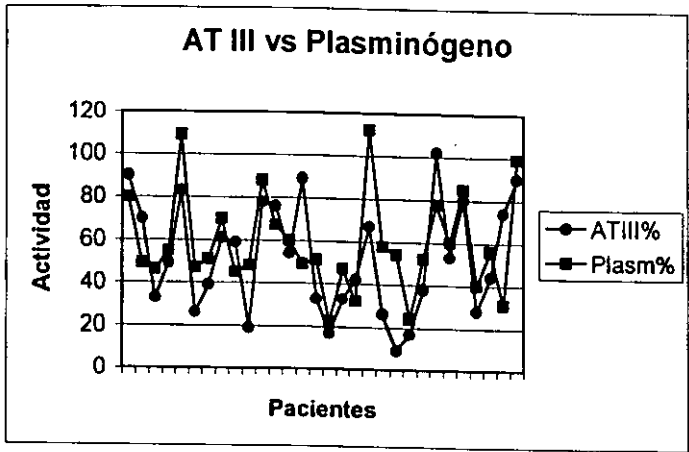
F_{cal.}: Valor de F calculado con los datos experimentales.

F_{teo.}: Valor de F calculado por medio de tablas.

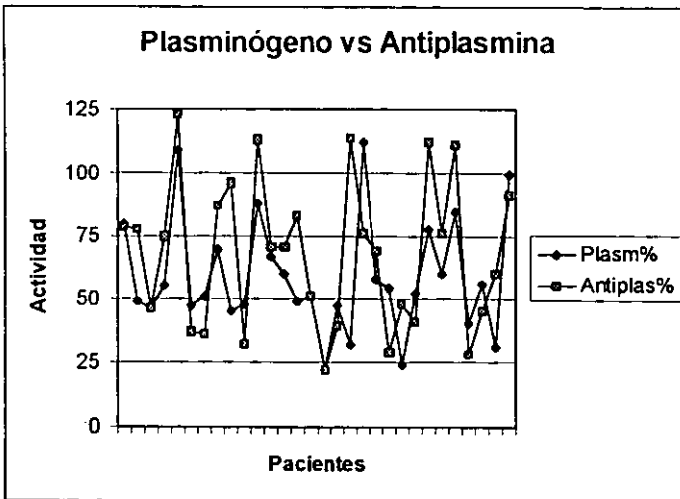
Gráfica 1. Comportamiento de la AT-III frente al complejo TAT.



Gráfica 2. Comportamiento de la AT-III frente al Plasminógeno.

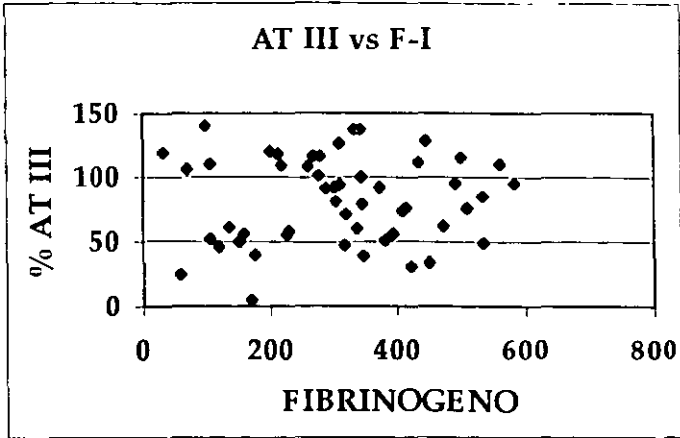


Gráfica 3. Comportamiento del Plasminógeno frente a la α_2 -Antiplasmina.



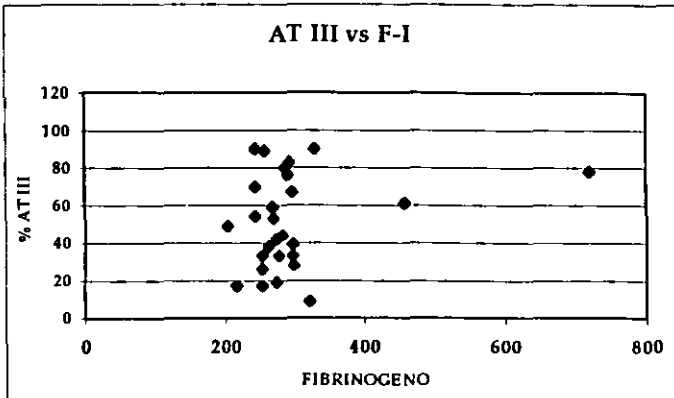
Estudio Estadístico 2. Coeficientes de Correlación

Gráfica 4.- Dispersión entre los valores de AT III-F-I¹.



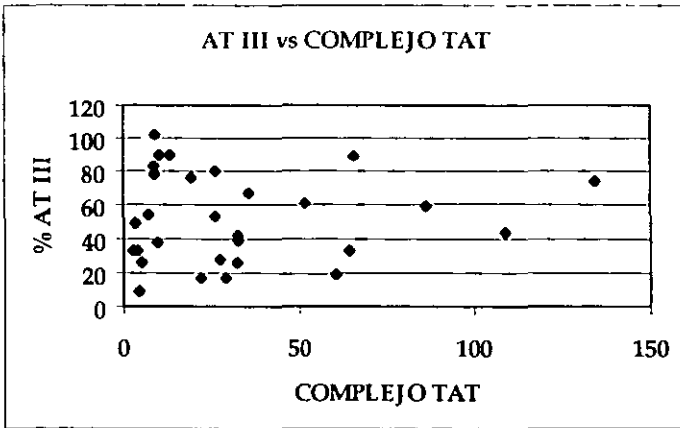
R	0.0546
R ²	0.0030

Gráfica 5.- Dispersión entre los valores de AT III-F-I².



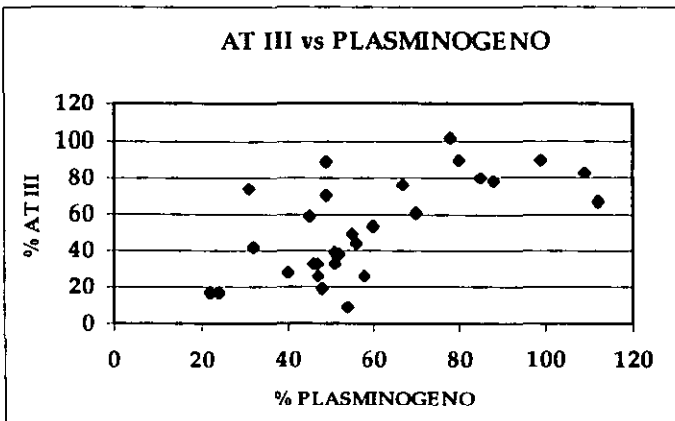
R	0.2527
R ²	0.0623

Gráfica 6.- Dispersión entre los valores de AT III-TAT.



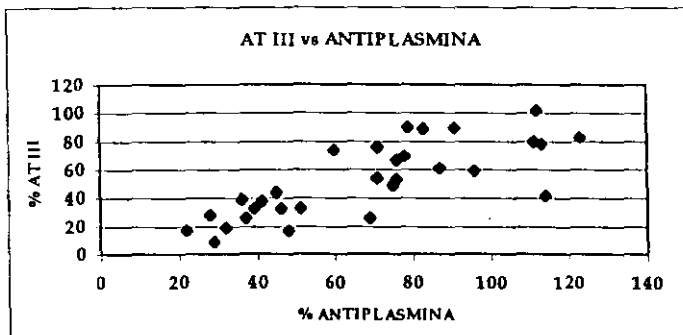
R	0.0541
R ²	0.0029

Gráfica 7.- Dispersión entre los valores de AT III-Plasminógeno.



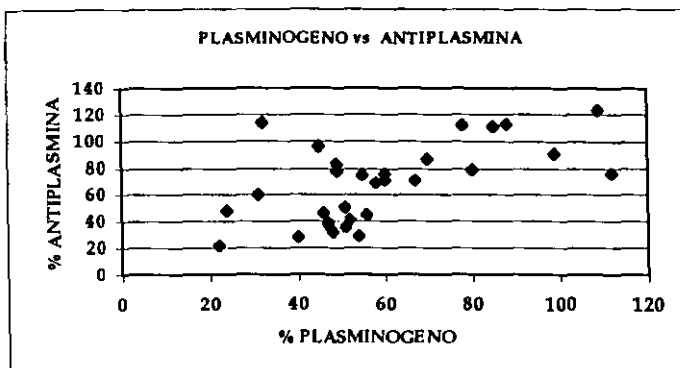
R	0.6447
R ²	0.4156

Gráfica 8.- Dispersión entre los valores de AT- α_2 -Antiplasmina.



R	0.7796
R ²	0.6077

Gráfica 9.- Dispersión entre los valores de Plasminógeno- α_2 -Antiplasmina



R	0.5932
R ²	0.3519

ANÁLISIS DE RESULTADOS

Uno de los objetivos de esta tesis fue determinar los niveles de AT III en pacientes con CID para comprobar en que casos se encontraba una disminución del inhibidor, ya que se ha observado su descenso en pacientes con trombosis tempranas recurrentes y al realizar dicha determinación nos puede orientar si el paciente presenta trombosis recurrentes por una disminución en AT III debido a una deficiencia de su síntesis, o bien que la causa que origina su disminución sea una enfermedad o una asociación de enfermedades que estén causando su consumo.

En los primeros resultados obtenidos, aquellos que se refieren a la determinación del fibrinógeno y antitrombina III, pueden observarse tres casos específicos.

Caso 1 El Fibrinógeno aumentado y AT III disminuida: Este caso es típico de una CID ya que de acuerdo a los criterios de Bick, entra dentro de ésta patología.

Caso 2 El Fibrinógeno normal y la AT III disminuida: En este caso podría considerarse que no existe peligro de una CID, sin embargo, es importante recordar que existen varios estados de este síndrome, en donde uno de ellos es la tipo compensada, en la cual puede estar normal o no el fibrinógeno, estando alterados los demás parámetros.

Así mismo es posible identificar que los criterios de 16 casos se cumplen. Existe evidencia de una activación procoagulante y fibrinolítica, debido a la presencia de los dímeros D, ya que como la antitrombina se encuentra disminuida, se considera pues la evidencia de un consumo de inhibidores. La evidencia de falla orgánica no fue realizada por nosotros directamente, sin embargo al revisar los expedientes de los pacientes, se encontraron en la mayoría daños orgánicos, donde el más frecuente fue el daño hepático, con esto se cumple el cuarto criterio.

Caso 3 El Fibrinógeno aumentado y la AT III normal: En la CID es de esperar siempre, o casi siempre, el comportamiento del caso 1. Sin embargo existen aquellos en los que no resulta así, aquí debemos considerar que la CID se encuentra en una etapa inicial por lo que la AT III no se ha depletado considerablemente y fisiológicamente se encuentra dentro de los valores de referencia normales. En estos casos los mecanismos inhibitorios son suficientes para neutralizar los factores de coagulación activados y el sistema reticuloendotelial es capaz de depurarlos del sistema circulatorio de forma satisfactoria. Ahora bien, para poder explicar el porque el Fibrinógeno se encuentra elevado si no hay una disminución de la AT III que sugiera una CID, debemos considerar y tener en cuenta que el fibrinógeno es una proteína de fase aguda, lo que indica que se incrementará cuando haya en el organismo un proceso de tipo inflamatorio.

Los casos en los que la AT III se encuentra aumentada, se puede decir que se debe a una *hiper-heparinemia*.^{7b}

Como se puede observar con estos resultados en casi todos los casos existe una disminución en la concentración de AT III y al observar los expedientes se encontró que algunos tenían enfermedades subyacentes.

Con estos resultados no se puede determinar la causa que está originando esta

disminución así que otro de los objetivos planteado fue la determinación del complejo trombina-AT III, ya que la presencia de este complejo nos indica que sí se está produciendo AT III y que posee actividad anticoagulante sobre la trombina. Esta técnica sólo mide la cantidad de AT III en forma de complejo y la determinación de AT III evalúa la actividad de la AT III que se encuentra en circulación, por lo tanto la AT III guarda una relación inversa con el complejo TAT.

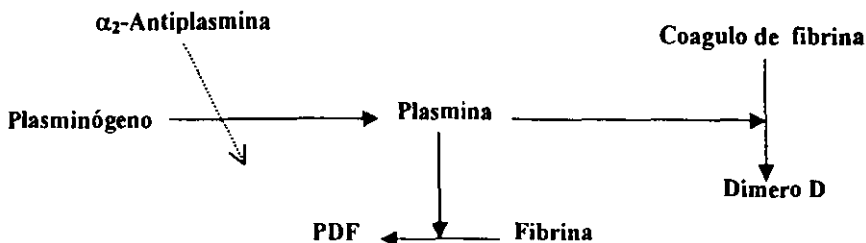
Por esta razón se realizó un estudio de las siguientes pruebas: AT-III, complejo TAT, α_2 -Antiplasmina y Plasminógeno, que corresponden a los siguientes criterios de Bick:

- Activación Procoagulante: Complejo TAT
- Activación Fibrinolítica: Dímero D y Plasmina
- Consumo de Inhibidores: AT-III y α_2 -Antiplasmina

En los resultados correspondientes a dichas pruebas se observa que en algunos casos cuando la AT III se encuentra disminuida y también el complejo TAT está disminuido junto con el plasminógeno y α_2 -antiplasmina esta puede tratarse de una probable deficiencia de AT III, ya que en caso de existir disminución de AT III y no encontrarse formando el complejo esto nos indicará la presencia de una deficiencia congénita o adquirida de la síntesis del inhibidor.

Los casos en los que la antitrombina está disminuida y el complejo TAT está aumentado nos demuestran que la AT III está disminuida por consumo, ya que sí hay producción, pero al estar activa debe existir AT III formando el complejo TAT, y además el plasminógeno y la α_2 -antiplasmina también están disminuidos por activación del sistema fibrinolítico.

Así dentro de los resultados encontramos que se encuentran disminuidos la α_2 -Antiplasmina y el plasminógeno. Esto se puede explicar de manera más sencilla al revisar el siguiente esquema:



De acuerdo al esquema anterior se puede determinar que el plasminógeno es un precursor de la plasmina. Esta es una enzima importante durante la fibrinólisis. Cuando la plasmina se incrementa para cumplir su función, el plasminógeno se ve disminuido, por lo tanto su inhibidor también. Esto quiere decir que es obvio esperar en este caso una disminución de las concentraciones del plasminógeno y de sus inhibidores como son la α_2 -Antiplasmina y la α_2 -macroglobulina, y por consiguiente un incremento en las concentraciones de plasmina, dímero D y PDF's.

Es preciso señalar que no se realizó la determinación de plasmina, pero consideramos

que para fines prácticos, al evaluar el plasminógeno lo hacemos de forma indirecta para la plasmina.

En los casos en los que la antitrombina es normal y el TAT está presente aunque en pequeña cantidad lo cual quiere decir que hay activación de la cascada de coagulación pero esta posee el equilibrio normal entre el sistema de coagulación y el fibrinolítico.

En cuanto al fibrinógeno prácticamente se encuentra normal con excepción de dos pacientes en los que está elevado. Puede decirse que en los casos en los que se encuentra normal es por que el sistema fibrinolítico está activado por lo tanto hay degradación del fibrinógeno a PDF's y D-D, su positividad fue necesaria para incorporar a dichos pacientes en este estudio mediante los criterios de inclusión. En cuanto a los dos casos que cursan con fibrinógeno aumentado, uno de ellos presenta además una disminución de AT III y una elevación en el complejo TAT, el plasminógeno y la α_2 -antiplasmina son casi normales, con lo cual puede decirse que se está consumiendo AT III por la presencia del complejo y además que por el aumento en el fibrinógeno esta situación puede conducir al paciente a un estado de hipercoagulabilidad, condición que favorece la presentación de trombosis. Cabe señalar que aunque el fibrinógeno no esté aumentado la presencia de los D-D pueden también conducir a trombosis, ya que su presencia en la circulación no es normal, por lo que pueden causar oclusión.

El otro caso presenta AT III casi normal y TAT bajo e incluso el plasminógeno y α_2 -antiplasmina son normales, por lo tanto puede decirse que hay activación de la coagulación y del sistema fibrinolítico, pero cursa con fase compensada.

Al realizar la determinación de fibrinógeno, plasminógeno y α_2 - antiplasmina además de observar como se encontraban se tenía como objetivo determinar si existe alguna correlación en la determinación de alguna de estas pruebas con respecto a la evaluación de AT III y a la del complejo trombina-AT III y así poder sustituir una de estas en tanto con alguna de las anteriores, de tal forma que al realizar alguna de estas pudiéramos evaluar estas dos pruebas a su vez. Esto se estableció debido a que estas dos pruebas son pruebas especiales y su costo es muy elevado por lo que no son accesibles para todos los pacientes y por lo tanto no se pueden implementar en los laboratorios de primer nivel como pruebas de rutina en caso de existir correlación entre ellas sería posible implementar alguna de estas como pruebas de rutina ya que son más baratas y accesibles.

Para determinar si existía o no correlación entre las pruebas antes mencionadas en este trabajo se realizaron dos estudios estadísticos, el análisis de varianza o ANDEVA y la regresión lineal esto con la finalidad de obtener una mayor información y así comprobar la existencia de correlación entre los parámetros.

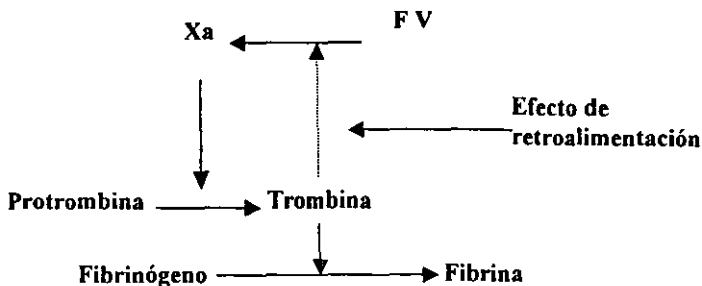
El ANDEVA se aplica ampliamente en estudios de investigación, pues está íntimamente relacionado con el diseño experimental. Este se realizó para encontrar la posible relación entre parámetros analizados, es decir, evaluar si existe o no alguna variación estadísticamente significativa entre cada uno de los eventos.

Con los datos encontrados en ANDEVA se puede decir que entre la AT III y el complejo TAT, si existe una diferencia significativa lo cual concuerda con lo reportado en la literatura (Gráfica 1). El valor aquí encontrado no nos dice exactamente que comportamiento es el que sigue, sin embargo, por lo ya citado se establece que la diferencia encontrada se debe a que son inversamente proporcional, una con respecto a la otra.

Algo muy semejante ocurre con los resultados del complejo TAT y el Plasminógeno, la diferencia se puede explicar al considerar que cuando el complejo TAT aumenta, se debe a que existe una alteración hemostática por lo que se encuentra activada la cascada de coagulación y por lo tanto los mecanismos antagónicos.

Para los grupos de parámetros AT III-Plasminógeno y Plasminógeno- α_2 -Antiplasmina no se encontró diferencia estadísticamente significativa (Gráficas 2 y 3). Esto se debe a que la AT III es un inhibidor de la coagulación y los otros de la regulación de la fibrinólisis, si sus concentraciones fisiológicas son adecuadas, se puede establecer que el proceso aún se encuentra en etapa inicial. Recordemos que al activarse este proceso el plasminógeno y la α_2 -antiplasmina se pueden encontrar disminuidos no así la plasmina y los productos de la fibrinólisis.

El análisis del Fibrinógeno-AT III indican que si existe una diferencia estadísticamente significativa, esto se debe a que la AT III se encuentra en cantidades fisiológicamente normales, el fibrinógeno también lo está, esto es un equilibrio hemostático. Cuando por alguna causa la AT III disminuye la Trombina tiende a aumentar y como consecuencia lógica el fibrinógeno también se incrementa para seguir produciendo la fibrina. Hay que considerar que al estar presente la trombina ésta además de activar al fibrinógeno para la formación de fibrina por sí misma produce su activación debido a un efecto de retroalimentación



Esto pues explica el porqué cuando la AT III disminuye el fibrinógeno aumenta, teniendo una relación inversa.

En cuanto a la determinación de la F calculada comparada con la F teórica en las parejas de AT III-TAT, AT III-F-I y AT III- α_2 -Antiplasmina se obtuvo como resultado que se rechaza la hipótesis nula por lo que sí existe diferencia significativa en la determinación de un parámetro con respecto al otro.

Por lo que se refiere a la determinación de la F calculada en las parejas AT III-plasminógeno y Plasminógeno- α_2 Antiplasmina se obtiene que se acepta la hipótesis nula por lo que estos resultados poseen gran relevancia en nuestros objetivos.

El otro método estadístico empleado fue la regresión lineal para determinar el coeficiente de correlación. Como es sabido éste es un método utilizado para fijar la interrelación entre la variable independiente con la variable dependiente, realizando los ajustes necesarios para la linealización de la recta evitando lo más posible las desviaciones.

Sin embargo, en nuestro trabajo observamos que para los parámetros evaluados existe una dispersión considerable con coeficientes de correlación (r) "bajos", lo cual también puede observarse en las gráficas.

De acuerdo a Norman y Streiner, los coeficientes de correlación en los experimentos de tipo biológico tienen un margen de variación que van de 0.15 a 0.70 y son aceptables. Así muchos investigadores consideran que un valor de r de 0.7 es favorable (por lo que se considera que hay una correlación). Para otros un valor de 0.30 es estadísticamente significativa para muestras poblacionales de alrededor de 30-40 individuos.⁷⁸

Considerando lo anterior y con nuestros resultados de la regresión lineal encontramos que de las cinco parejas de estudio, tres de ellas (AT III-Plasminógeno, AT III- α_2 -Antiplasmina y Plasminógeno- α_2 -Antiplasmina) tienen un coeficiente que están entre 0.60 y 0.70, esto nos indica una correlación según la referencia antes mencionada (Gráficas 7, 8 y 9). Las parejas de estudio correspondientes a AT III-Fibrinógeno y complejo TAT-AT III poseen valores de 0.05 lo que indica que no hay una correlación (Gráficas 4, 5 y 6). Esto concuerda claramente con lo obtenido en el análisis de varianza, en la que encontramos que no existe diferencia significativa entre los parámetros de AT III-Plasminógeno y Plasminógeno- α_2 -Antiplasmina por lo que sí hay correlación, no así con el Fibrinógeno, Complejo TAT y AT III que tienen diferencia significativa y por lo obtenido en la regresión lineal no existe correlación.

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en el ANDEVA y en su coeficiente de correlación, se concluye que:

- La determinación de AT III y la del plasminógeno no tienen diferencia estadísticamente significativa lo cual nos está indicando que si se realiza la determinación de plasminógeno que es más accesible para los laboratorios, estamos evaluando indirectamente el comportamiento de la AT III que es menos accesible por su costo. Esto quiere decir que al haber una disminución en el plasminógeno los valores de la AT III también estarán disminuidos lo cual podría coadyuvar con el diagnóstico y tratamiento de los pacientes, ya que ante una disminución de AT III por consumo resultan convenientes las infusiones de concentrados de AT III para evitar episodios trombóticos en quienes pueda ser probable el desencadenamiento de una CID en los que se encuentra positividad para D-D y PDF.
- En los casos que se requiera conocer si la disminución de AT III es por consumo o por deficiencia de su síntesis es necesario realizar la determinación del complejo TAT.
- Debido a que las coagulopatías por consumo son manifestaciones secundarias de procesos primarios, muchas manifestaciones clínicas subyacentes que pueda indicar una coagulación intravascular diseminada, debería ser tratada tan pronto como sea posible. Sólo así y restaurando las funciones circulatorias dañadas por la enfermedad causal, llevando a cabo medidas para estabilizar la coagulación y la fibrinólisis a través de la terapia anticoagulante, reponer los fluidos corporales, sangre y productos sanguíneos y cuidados de mantenimiento general es posible en la mayoría de los casos frenar la coagulopatía de consumo y reparar sus secuelas.
- Las manifestaciones clínicas y de laboratorio son extremadamente variables entre los pacientes que presentan CID debido en parte a las enfermedades subyacentes por lo que la evaluación clínica del paciente debe ser global y considerar no solamente las manifestaciones clínicas y de laboratorio de la CID sino también la enfermedad desencadenante. Debido a esto, el tratamiento debe ser individualizado para cada paciente dependiendo de la naturaleza de CID, edad, etiología, sitio y severidad de la hemorragia o trombosis y situación hemodinámica. Además si se realiza una revisión global de las enfermedades en las que la CID es probable, el continuo monitoreo de las manifestaciones clínicas y la evaluación de las pruebas de laboratorio resultan ser las estrategias para controlar la efectividad de la terapia.
- La determinación de AT III así como del complejo TAT son una medida real de los niveles de AT III, lo cual puede asegurar un mejor resultado del tratamiento con heparina en estos pacientes al evitar que ésta disminuya aún más los niveles de AT III. Por tal motivo la actividad de la AT III debe ser determinada en personas con ataques tempranos de trombosis recurrentes, especialmente si una historia familiar está presente para poder brindar resultados que ayuden a un tratamiento oportuno, ya que de hacer caso omiso de las causas de trombosis se tiene el riesgo de una repetición del episodio vaso-oclusivo con

mayor gravedad, o puede ser posible que ocurra en otro miembro de la familia en situaciones de trombofilia familiar.

- Por último, creemos necesario remarcar que en ningún momento pretendemos sustituir alguna determinación por otra, pues estamos conscientes de la importancia que reviste cada parámetro. Lo que deseamos es que mediante pruebas más económicas se tenga una idea de las condiciones hemostáticas en el paciente en las etapas tempranas de éste síndrome con el fin de iniciar el tratamiento antes de que se presente el cuadro hemorrágico y/o trombótico para lo cual realizando pruebas como el plasminógeno se pueda tener un diagnóstico presuntivo, y de esta manera se realicen pruebas especiales como son antitrombina III y complejo TAT para confirmar dicho diagnóstico.

ANEXOS

Anexo 1. MÉTODO ESTADÍSTICO

Características del Estudio Estadístico

El estudio realizado tiene las siguientes características: ^{69, 99}

De acuerdo a la época en que se capta la información	Prospectivo
Por el número de población estudiada	Descriptivo
Por el número de mediciones	Transversal
Por el control de la variable	Observacional
Por el tipo de resultado	Cuantitativo
Por la extensión de su inferencia	Fijo

Fórmulas para el Análisis de Varianza ⁹⁹

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de cuadrados	Media de Cuadrados	F Calculada
Tratamiento τ_i	n-1	$\sum \frac{Y^2_i}{n_i} - \frac{Y^2_{..}}{N} = S.C.T.$	$\frac{S.C.T.}{n-1} = M.C.T.$	$\frac{M.C.T.}{M.C.E.}$
Error Experimental $E_{j(i)}$	N-n	$\sum \sum Y^2_{ij} - \sum \frac{Y^2_{i.}}{n_i} = S.C.E.$	$\frac{S.C.E.}{N-n} = M.C.E.$	

S.C.T. = Suma de Cuadrados del Tratamiento.

M.C.T. = Media de Cuadrados del tratamiento.

S.C.E. = Suma de Cuadrados del Error.

M.C.E. = Media de Cuadrados del Error.

N = Total de Unidades Experimentales.

n_i = Número de Unidades de la i-ésima nivel del Factor.

Fórmulas para la Regresión Lineal ⁹⁹

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	F calculada
Regresión	1	SCR	MCR=SCR	$\frac{MCR}{M CER}$
Error de regresión	n-2	SCER	MCER=SCER/n-2	
Total	n-1	SCT=SCR+SCER		

Donde:

$$SCR = m^2 \left[\sum X^2_i - \frac{(\sum X_i)^2}{n} \right]$$

$$SCER = \sum Y^2_i - m \sum X_i Y_i - b \sum Y_i$$

$$SCT = \sum Y^2_i - \frac{(\sum Y_i)^2}{n}$$

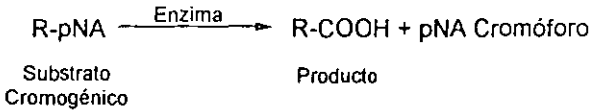
El coeficiente de determinación r^2 :

$$r^2 = \frac{SCR}{SCT} = \frac{SCR}{SCR + SCER} = \frac{m^2 \left[\sum X^2_i - \frac{(\sum X_i)^2}{n} \right]}{\sum Y^2_i - \frac{(\sum Y_i)^2}{n}}$$

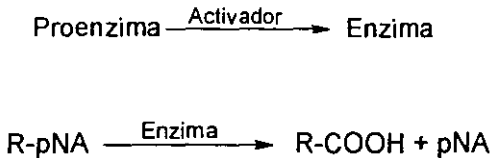
Anexo 2. TÉCNICAS ANALÍTICAS BÁSICAS PARA EVALUAR LA HEMOSTASIA

Existen cuatro técnicas analíticas básicas empleadas para la evaluación hemostática usando substratos cromogénicos. Estas son las siguientes:

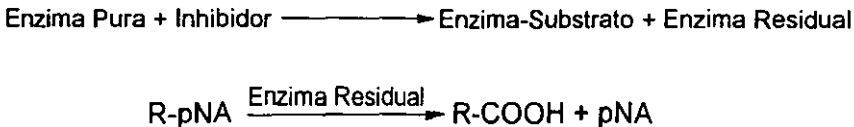
Ensayos directos: Las enzimas cortan directamente el substrato cromogénico.



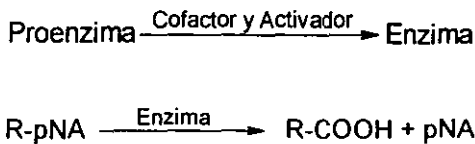
Ensayos indirectos: Mide cualquiera de los dos ya sea la proenzima o el activador por cuantificación de la enzima generada.



Ensayos inhibitorios: La actividad cuantitativa de un inhibidor endógeno es medida por la adición de una enzima pura.



Ensayos con cofactor: La actividad cuantitativa de un cofactor normalmente presente, acelera la velocidad de una reacción enzimática particular.



Nota: R es cualquier radical que involucre una secuencia de aminoácidos.
 ACL Coagulation Systems Introduction/Tecnology. February/1992: 1-77,78.

Anexo 3. VALORES DE REFERENCIA DE LOS PARÁMETROS DE COAGULACIÓN^{14, 114}

Componente	Intervalo de Referencia		
	Unidades Convencionales	Factor	Unidades SI
Antitrombina III (AT)			
Inmunológica	20-30 mg/dL	10	200-300 mg/L
Funcional	80-120 U/dL	10	800-1200 U/L
Complejo Trombina-Antitrombina (TAT)	2.5-4.9 ng/mL	1000	2.5-4.9 µg/L
Fibrinógeno	200-400 mg/dL	0.01	2.0-4.0 g/L
Plasminógeno			
Inmunológica	10-20 mg/dL	10	100-200 mg/L
Funcional	80-120 U/dL	10	800-1200 U/L
α ₂ -Antiplasmina	80-120 U/dL	10	800-1200 U/L
Productos de Degradación de Fibrina (PDF)	<5 µg/mL	1000	<5 mg/L
Dímeros D (D-D)	<0.5 µg/mL	1000	<0.5mg/L
Proteína C	70-140 U/dL	10	700-1400 U/L
Proteína S (total)	70-140 U/dL	10	700-1400 U/L
Factores de Coagulación	50-150 U/dL	10	500-1500 U/L
Inhibidor del Activador del Plasminógeno 1	4-43 ng/mL	1000	4-43 µg/L

BIBLIOGRAFIA

1. Altman R, Aznar J, Rouvier J, Scazzioa A y Reussi R. Revista Iberoamericana de Trombosis y Hemostasia; Cuadernos de Trombosis. Buenos Aires: Edición Especial Diagnostica Stago 1995.
2. Anderson CS, Cockayne S. Química clínica. México: Editorial Interamericana / McGraw-Hill; 618-34, 1995.
3. Angelov A. Intravascular coagulation in relation to pregnancy and delivery. Zentralbl Gynakol 111(17): 1169-75. 1989.
4. Asakura H. Treatment of Disseminated intravascular coagulation. Rinsho Ketsueki 31(6): 756-62. 1990.
5. Audra P. Severe postpartum hemorrhage. Revue Francaise de Gynecologie et d'Accouchement; 80(7): 515-8.
6. Bailes BK. Disseminated intravascular coagulation. Principles, treatment, nursing management. Aorn Journal. 55(2): 517-29.
7. Baker WF Jr. Clinical aspects of Disseminated intravascular coagulation: a clinician's point of view. Semin Thromb Hemost 15(1): 1-57. 1969.
- 7b. Balcells A. La clínica y el laboratorio. 16ª Ed. México. Editorial Masson-Salvat. Pag. 199, 1996.
8. Barkagan ZS; Shoikhet N. Substantiation, tactics and effectiveness of frozen plasminogen inhibitor therapy in septicemia and infectious-destructive processes. Gematol Transfuziol. 34(10): 8-12. 1989.
9. Barton DP; Turner MJ; Stronge JM. Fetal survival following coagulopathy at 17 weeks' gestation. Obstet Gynecol. 74(3 Pt 2): 468-9. 1989.
10. Bauer KA and Rosenberg RD. Role of Antithrombin III as a Regulator of vivo Coagulation. Seminars in Hematology. 28(1); 10-18, 1991.
11. Bell WR. Disseminated intravascular coagulation. Johns Hopkins Medical Journal. 146(6): 289-99.
12. Bell WR. The pathophysiology of disseminated intravascular coagulation. Semmin Hematology; 31 (Supl 1): 19-24, 1994.
13. Beresford CH, Owen MC. Antithrombin III. Int J Biochem ; 2 : 121-128, 1990
14. Bernard Henry J. Todd-Sanford- Davidsohn: Diagnóstico y Tratamiento Clínicos por el Laboratorio. 9ª Edición. Editorial Masson-Salvat. España. 1426-1429. 1994.
15. Beutler MD; Ernest; Marshall; Lichtman; William Hematology. U.S.A. McGraw-Hill. 1497-1510, 1532-34. 1995.
16. Bick RL and Ucar K. Hypercoagulability and thrombosis ; Hematology/Oncology Clinics of North America ; 6 ; 1421-1431, 1992.
17. Bick RL. Disseminated intravascular coagulation: Objective criteria for clinical and laboratory diagnosis and assessment of therapeutic response. Clin Appl Thrombosis / Hemostasis; 1: 3-23, 1995.
18. Boccaccio P. Disseminated intravascular coagulation: II Therapeutic problems. Minerva Médica 73(7), 309-20.
19. Boven HH and Lane DA; Antithrombin and its inherited deficiency states. Seminars in hematology. 34 (3), 188-204, 1997.
20. Brandtzaeg P. Plasmapheresis in the treatment of severe meningococcal pneumococcal septicemia with DIC and fibrinolysis. Preliminary data on eight patients. Scandinavian

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA.

Journal of clinical and laboratory investigation. Supp. 178: 53-5.

21. Breadbacka S; Blomback M. Laboratory methods for detecting Disseminated Intravascular Coagulation (DIC): new aspects. *Acta Anesthesiol Scand* 37: 125-30: 1993.
22. Brennan SO, George PM and Jordan RE. Physiological variant of antithrombin III lacks carbohydrate sidechain at Asn 135 ; *FEBS* ; 2 ; 431-436, 1987.
23. Briët E, van der Meer JM, Rosendaal FR, Houwing-Duistermaat JJ and van Houwelingen HC. The family history and inherited thrombophilia; *British Journal of Haematology*. 87, 348-52, 1994.
24. Broecker R, Ragg H and Karges HE. Expression of human antithrombin III in *Saccharomyces cerevisiae* and *Schizosaccharomyces pombe*. *Biochim. Biophys. Acta*, 908 (3), 203-13, 1987.
25. Büller HR, ten Cate JW. Acquired antithrombin III deficiency: Laboratory diagnosis , incidence, clinical implications and treatment with antithrombin III concentrate. *The American Journal of Medicine*. 87 (supp 3B), 445-485, 1989.
26. Cade JF. Disseminated intravascular coagulation. *Aust NZJ Surg*. 46(4):314-8. 1976.
27. Carr ME Jr. Disseminated intravascular coagulation: pathogenesis, diagnosis and therapy. *Journal of Emergency Medicine* 5(4), 311-22
28. Carrel RW, Stein PE, Fermi G and Wardell MR. Biological implications of a 3A structure of dimeric antithrombin. *Structure*; 2: 257-70, 1994.
29. Clark P and Walker ID. Antithrombin levels during cardiopulmonary bypass in normal and deficient individuals . *Blood*, 4 April 1995.
30. Clark BS, Wion-KL, Vehar GA and Lawn RM. Cloning and expression of the c DNA for human antithrombin III. *Nucleic Acids Res* 10 (24), 8113-25, 1982.
31. Creasey AA, Stevens P, Kenney J y col. Endotoxin and cytokine profile in baboons challenged, Wityh lethal and sublethal *Escherichia coli* circ shick; 33: 84-91, 1991.
32. Deykin D. The clinical challenge of disseminated intravascular coagulation. *N Engl J Med*; 283: 636-44, 1970.
33. Drummond SB. Disseminated intravascular coagulation. *Naacogs Clinical issues in perinatal and womens health nursing* 3(3): 530-7.
34. Espinoza Zarza R. *Clinicas Médicas de Norteamérica: Trastornos Hematológicos*. México. Editorial Interamericana. Vol. 4. 1980.
35. Ferreras R. *Medicina interna*. 12a. ed. España: Editorial DOYMA; vol. 1: 1610-6, 1750-7, 1992
36. Finley BE. Acute coagulopathy in pregnancy. *Medical Clinics of North America*. 73(3): 723-43.
37. Francis JL. Laboratory Investigation of Hypercoagulability. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*. 24(2); 111-122, 1998.
38. Fukao H, Ueshima S, Okada K, Yamamoto K, Matsuo T, Matsuo O. Tissue-type plasminogen activator, type 1 plasminogen activator inhibitor and their complex in plasma with disseminated intravascular coagulation. *Throm Res*; 68: 57-65, 1992.
39. Gerrard JM, Friesen LL; Platelets En Poller L. *Recent Advances in Blood Coagulation*. London. Churchill Livingstone. 139-68, 1985.
40. Gilbert JA Jr; Scalzi RP. Disseminated intravascular coagulation. *Emerg Med Clin North Am* 11(2): 465-80. 1993.
41. Goldsmith EJ and Mottonen J. Serpins: The uncut version; *Structure*; 2:241-44, 1994.
42. Grouchy J y Turleau C. *Atlas de las enfermedades cromosomicas*. España : Edit.

- Marin ; 12-14,1978.
43. Habscheid W. Acute pregnancy fatty liver with survival of the mother and child. *Journal suisse de medecine.* 119(13-14): 446-9.
 44. Hardaway RM. Organ damage in shock, disseminated intravascular coagulation, and stroke. *Comp Ther;* 18: 17-21, 1992.
 45. Harker LA; Zimmerman TS. Measurements of platelet function. London. Churchill Livingstone. 185, 1983.
 46. Hasbun J; Muñoz H. Prolongación exitosa de gestación gemelar de pretermino complicada con un feto muerto y coagulación intravascular diseminada. *Rev Chil Obstet Ginecol* 57(4): 293-6. 1992.
 47. Hillman RS, Finch CA, Boogs DR, Winkelstein A y Harker LA. Manual de Hematología , México, Manual Moderno, 195, 1977.
 48. Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, Furie B, Cohen HJ and Silberstein LE. Hematology Basic, principles and practice, Second edition ; U.S.A. Churchill Livingstone ; 1804, 1995.
 49. Ióvine E y Selva AA. El laboratorio en la clínica 3a de ; Argentina ; Editorial Médica Panamericana ; 184-186, 1991.
 50. Jandl JH. Blood, textbook of hematology. U.S.A.: Little Brown and company; 1147-68, 1987
 51. Kario K, Matsuo T, Kodama K, Matsuo M, Yamamoto K, Kobayashi. Imbalance between thrombin and plasmin activity in disseminated intravascular coagulation. Assessment by thrombin-antithrombin III complex / plasmin-alpha-2-antiplasmin complex ratio. *Haemostasis;* 22: 179-86, 1992.
 52. Katzung BG. Farmacología Básica y Clínica. México: Editorial El Manual Moderno; 389-91, 1986.
 53. Keeling DM, Perry DJ, Borg J-Y, Stein PE and Carrell RW. A Bridging defect in antithrombin causing thromboembolic disease: Roven VIII Arg 425 *Thr. Blood,* 3-6 April 1995
 54. Koepke JA. Practical laboratory hematology. U.S.A. Churchill Livingstone Inc; 435-6, 470, 1991.
 55. Kohno S; Inoue Y. Disseminated intravascular coagulopathy in infection compared with that in malignant neoplasia. *Kansenshogaku Zasshi* 69(3): 247-53. 1995
 56. Korte W; Blatter G. Kasabach-Merritt syndrome. Intraoperative heparin therapy with follow-up combination therapy of heparin and triclopidine for the control of intravascular coagulation. *Dtsch Med Wochenschr.* 118(11): 371-6. 1993.
 57. Kunzer W. Therapy of consumption coagulopathies. *Monatsschrift Kinderheilkunde.* 136(12): 788-94.
 58. Lane DA, *et al* & Aiach M. Antithrombin III mutation database; first update. *Thromb. Haemost.* 70:361-9,1993.
 59. Leavell BS. Thorup OA. Hematología clínica. 4a ed. México: Editorial Interamericana; 544-7, 1978.
 60. Lee GR, Bthell CT, Foerster J, W. Athens J, Lukens N. Wintrobe's clinical hematology. Ninth edition. U.S.A.; vol. 1,2: 1481, 1993.
 61. Lester EP; Roth DG. Disseminated intravascular coagulation in pregnancy. *J Reprod Med.* 19(4): 223-32. 1977.
 62. Lovesio C, B. Miroli A. Hemorragias y trombosis; en la clínica y cirugía. Argentina: Editorial el Ateneo; 45-9, 1987.

63. Lusher JM; Barnhart; MI. Acquired Bleeding Disorders in Children; Abnormalities of Hemostasis. Vol. 3. U.S.A. Edt. Masson Publishing. 27-39, 115-26, 1981.
64. Maione M; Ozzola G. Obstetric complications associated with DIC. Importance of D-dimer in the diagnosis and treatment. A clinical case. *Minerva Ginecol* 44(4): 205-7. 1992.
65. Maki M; Terao T; Ikenoue T; Takemura T; Sekiba K; Shirakawa K; Soma H. Clinical evaluation of antithrombin III concentrate (BI 6.013) for disseminated intravascular coagulation in obstetrics. Well-controlled multicenter trial. *Gynecol Obstet Invest.* 23(4): 230-40. 1987.
66. Makris M and Preston FE. The use of antithrombin III concentrate in pregnant women with familiar antithrombin III deficiency. *Blood*, 3-6 April 1995
67. Maly J; Pecka M et al. Diagnosis and therapy of Disseminated intravascular coagulation. *Cas Lek Cesk.* 133(23): 719-22. 1994.
68. Mammen EF. Clinical relevance of antithrombin deficiencies; *Seminars in Hematology*; 32(4); (Suppl 2); 2-6, 1995.
69. Marques de Cantú MJ. Probabilidad y Estadística para Ciencias Químico-Biológicas. UNAM. México 1988.
70. Martínez MC; Quintana GS; Manual de hemostasia y trombosis. México: Editorial Prado; 225-41, 1996.
71. McKay EJ. Immunochemical studies on antithrombin III. *Thromb Haemostasis.*42: 179, 1979.
72. McKenzie BS. Hematología clínica México: Editorial El Manual Moderno; 384,403-5, 462-3, 1991.
73. McKusick VA. The morbid anatomy of the human genome : A review of gene mapping in clinical medicine : *Medicine* ; 1 ; 5-7, 1987.
74. Menache D. Antithrombin III: Introduction. *Seminars in Hematology.* 28(1); 1-2, 1991.
75. Nagaizumi K, Inaba H, Yoshida S, Suzuki M, Arai M & Fukutake K. Identification of five point mutations in the gene of patients with antithrombin deficiency. *Blood*; 90 (10 supp 1), 469a, noviembre 15 1997.
76. Nakagawa M. Heparin, low molecular weight heparin, heparinoid and antithrombin III therapy of disseminated intravascular coagulation. *Nippon Rinsho* 51(1): 87-92. 1993.
77. Naumann RO. Disseminated intravascular coagulation. The clinician's dilemma. *Obstetrical and Gynecological Survey.* 40(8): 487-92.
78. Norman GR y Streiner DL. Bioestadística. España. Edit. Mosby/Doyma Libros. Pag. 100-107. 1996.
79. Nunez H and Drohan WN. Purification of antithrombin III (human). *Seminars in hematology* . 28 (1), 24-30, 1991.
80. Odegard OR, Lie M, Abildgaard U. Heparin cofactor activity measured with and amidolytic method. *Thromb Res*; 6: 287-94, 1975.
81. Pabinger I, Schneider B and The GTH study group on Natural inhibitors. Thrombotic risk of women with hereditary antithrombin III, protein C and protein S deficiency taking oral contraceptive medication. *Thrombosis and Haemostasis.* 71 (5), 548-52, 1994.
82. Pelzer H, Schwarz A and Heimburger N. Determination of human thrombin-antithrombin III complex in plasma with an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay; *Thrombosis and Haemostasis* ; 59 ; 101-106, 1988.
83. Petitou M; Héroult JP et al. Synthesis of thrombin-inhibiting heparin mimetics without

- side effects. *Nature* vol. 398 (1 April); 417-22, 1999.
84. Pizzo SV. The physiologic role of antithrombin III as an anticoagulant. *Seminars in Hematology* ; 2 Suppl. 1 : 4-7, 1994.
 85. Pizzo, SV. Serpin Receptor I: A Hepatic Receptor That Mediates The Clearance of Antithrombin III-Proteinase Complex. *The American Journal of Medicine*. 87(Suppl 3B); 10S-13S, 1989.
 86. Pratt, CW and Church CF. Antithrombin: Structure and Function. *Seminars in Hematology*. 28(1); 3-9, 1991.
 87. Prentice CR. Acquired coagulation disorders. *Clin Haematol*. 14(2): 413-42. 1985.
 88. Prochownik EV, Antonarakis S, Bauer KA, Rosenberg RD, Fearon ER & Orkin SH. Molecular heterogeneity of inherited antithrombin III deficiency. *The New England Journal of Medicine*; 308 (26). 1549-52, 1983.
 89. Prochownik, EV, Clark, SB. And Orkin SH. Intron Structure of the Human Antithrombin III Gene Differs from that of other Members of the Serine Protease Inhibitor Superfamily. *The Journal of Biological Chemistry*; 260(17): 9608-12, 1985.
 90. Prompeler HJ; Wilhelm C. Disseminated intravascular coagulation disorder in the 2d trimester of pregnancy. Case report from the 16th week of pregnancy with spontaneous parturition at term. *Geburtshilfe Frauenheilkd*. 49(7): 679-81. 1989.
 91. Reabel CB, Cofiño RC, Brich LF, Peret PP, Corrons JLV y Casas SW. *Hematología Clínica 3ª ed, España, Editorial Mosby-Doyma, 537-41, 1994.*
 92. Ricat R; Palot M. Indications of the different components of blood and outcome of transfusion practices in postpartum hemorrhage. *Cah Anesthesiol*. 42(3): 385-9. 1994.
 93. Rifkind RA, Bank A, Marks RA, Kaplan KL, Ellison RR y Lindenbaum J. *Hematología Clínica 3ª ed, México, Interamericana, 168-9, 1988.*
 94. Rochette A. Disseminated intravascular coagulation. Retrospective study of 14 acute obstetrical cases. *Annales Francaises D'Anesthesie et de Reanimation* 2(4), 259-65.
 95. Rubin RN; Colman RW. Disseminated intravascular coagulation. Approach to treatment. *Drugs* 44(6): 963-71. 1992.
 96. Ruiz Argüelles GJ. *Fundamentos de hematología. México: Editorial Médica Panamericana; 190-204, 1995.*
 97. Sacher RA, McPherson RA. Widmann, interpretación clínica de las pruebas de laboratorio. España: Editorial JIMS; 247-53, 1992.
 98. Salamanca, FG. *Citogenética Humana, México; Edt. Médica Panamericana; 58-66, 77-79, 1993.*
 99. Sánchez Ruiz JF. *Introducción al Análisis de Datos en Farmacia y Química Clínica. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. México 1997.*
 100. Sas G; Hereditary antithrombin III deficiency: Biochemical aspects. *Haematology* 17:81-86, 1984.
 101. Schregel W. Successful therapy of consumption coagulopathy in EPH gestosis with multiple organ failure. *Anesthesie, Intensivtherapie, Notfallmedizin*. 19(4): 201-3.
 102. Schuster HP. AT-III in septicemia with DIC. *Intensive Care Med*. 19(Suppl. 1): s 16-8. 1993.
 103. Schwartz, R.S. Clinical Studies Using Antithrombin III in Patients with Acquired Antithrombin III Deficiency. *Seminars in Hematology*; 31(2), 52-59, 1994.
 104. Sevcik P; Matyskova M. Disseminated intravascular coagulation and sepsis. *Vnitř Lek* 37(5): 514-7. 1991

105. Smith JW and Knauer DJ. A heparin binding site in antithrombin III, identification, purification and amino acid sequence; *The Journal of Biological Chemistry*; 265(25); 11964-11972, 1987.
106. Sorensen PJ, Sas G, Petó I, Blaskó Gy, Kremmer T and Samu A. Distinction of two pathologic antithrombin III molecules: Antithrombin III "Aalborg" and antithrombin III "Budapest"; *Thrombosis Research*; 26; 211-219, 1982.
107. Spechter HJ; Mauermann W; Dörner HH. The treatment of a case of postpartum uterine atony with consumption coagulopathy by therapeutic pharmac angiography. *Geburtshilfe Frauenheilkd.* 37(11): 934-6, 1977.
108. Stamatoyannopoulos G, Nienhuis W, Majerus WP, Varmus H. The molecular basis of blood diseases. 2th ed. U.S.A.: W.B. Saunders Company; 637, 1994.
109. Stein HJ. *Medicina interna* 3a. ed. México: Salvat Editores; vol. 1: 1032-4, 1991.
110. Taenaka N. Survival from DIC following amniotic fluid embolism. Successful treatment with a serine proteinase inhibitor; *FOY. Anaesthesia.* 36(4): 389-93.
111. Takahashi H. Principles of the therapy for Disseminated intravascular coagulation: current status and new trends. *Nippon Rinsho* 51(1): 79-86. 1993.
112. Thaler E, Balzar E, Kopsie H, Pinggera WF; Acquired antithrombin III deficiency in patients with glomerular proteinuria. *Haemostasis*; 16:257-72, 1978.
113. Thiagarajah S; Wheby MS; Jain R; May HV; Bourgeois J; Kitchin JD. Disseminated intravascular coagulation: The role of heparin therapy. *J Reprod Med* 26(1): 17-20. 1981.
114. Tietz Norbert W. *Guía Clínica de Pruebas de Laboratorio.* Argentina Editorial Médica Panamericana. 84-86, 396-97. 1992.
115. Tollefsen DM. Laboratory diagnosis of antithrombin III and heparin cofactor II deficiency. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis.* 16 (2), 162-66, 1990.
116. Turgeon ML. *Clinical hematology: Theory and procedures*; U.S.A. Little Brown and Company; 276-292, 395-397, 1988.
117. Vinazzer HA. Antithrombin III in shock and disseminated intravascular coagulation; *Clin Appl Thrombosis/Hemostasis*; 1; 62-65, 1995.
118. Wada H, Wakita Y, Nakase T, Shimura M, Hiyoyama K, Nagaya S, Deguchi H, Mori Y, Kaneko T, Deguchi K, Fujii J and Shiku H. Increased plasma-soluble fibrin monomer levels in patients with disseminated intravascular coagulation. *American Journal of Hematology*; 51: 255-260, 1996.
119. Wasson AW; Stubblefield PG. Use of a coagulation analyzer in managing disseminated intravascular coagulation after midtrimester pregnancy termination. A case report. *J Reprod Med.* 39(10): 835-7. 1994.
120. Williams JW, Beutler E. *Hematología.* 2a. ed. España: Editorial Salvat; 1353-6, 1983.
121. Wintrobe MM. *Hematología clínica* 4a. ed. Argentina: Intermedica; 161-3, 1979.
122. Zettlmeissl G, Ragg H and Karges HE. Expression of Biologically Active Human Antithrombin III in Chinese hamster Ovary Cells. *Biotechnology*; 5(7), 720-25, 1987.

REFERENCIAS ELECTRONICAS

No.	Descripción	Dirección
a	Academia Nacional de Ciencias Norteamericana	www.pnas.org/cgi
b	Actualización de Enfermedades Genéticas	www.ncbi.nlm.nih.gov
c	Base de Datos de Estructuras Proteicas,PDB con 13270 estructuras (hasta 27-Sep-00)	http://pdb.ccdc.cam.ac.uk
d	Biomednet.- Información y Base de datos médicas	www.bmn.com
e	Dr. Robin W. Carrell.- Autor de la referencia 28	rwc1000@cus.cam.ac.uk
f	Elsevier.- Información y Base de datos médicas	www.elsevier.com
g	Medline.- Referencias Bibliográficas Médicas	www.medscape.com