



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

11262

28

FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

"EXPRESION DEL FACTOR TISULAR COMO  
FACTOR PRONOSTICO PARA RECAIDA EN  
PACIENTES CON LINFOMA NO HODGKIN  
DIFUSOS DE CELULAS B."

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRIA EN CIENCIAS MEDICAS  
P R E S E N T A :  
CARLOS MARTINEZ MURILLO

Facultad de Medicina

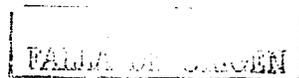


TUTOR. DR. ABRAHAM MAJLUF CRUZ

MÉXICO, D. F.

2003

A





Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

**TESIS  
CON  
FALLA DE  
ORIGEN**

---

**Agradecimiento Especial a:**

A la Dra. Natividad Neri del Servicio de Hematología del Hospital de Oncología del CMN, Siglo XXI.

Al QFB Javier Bautista Juárez del Banco Central de Sangre del CMN, Siglo XXI.

Un reconocimiento especial a la QBP Elizabeth Gaminio Gómez por todo su apoyo para la realización de esta tesis.

TESIS COMPLETADA  
FALLA DE ENTREGA

---

## INDICE

1.1	RESUMEN	5
1.2	ABSTRACT	6
2.	ANTECEDENTES	7
2.1	Cáncer y Hemostasia	7
2.2	Mecanismos patogénicos asociados a la activación de la coagulación	9
2.3	Factor Tisular	12
2.4	Factor Tisular y Cáncer	14
2.5	Factor Tisular y Neoplasias Hematológicas	15
2.6	Factor Tisular y Linfomas	15
3.	JUSTIFICACION	17
4.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	19
5.	HIPOTESIS	20
6.	OBJETIVOS	21
7.	MATERIAL Y METODOS	22
7.1	Diseño	22
7.2	Universo de trabajo	22
7.3	Lugar de Investigación	22
7.4	Criterios de selección	23
7.5	Definición de las variables	24
7.6	Descripción general del estudio	26
7.7	Cálculo del tamaño de muestra	28
7.8	Análisis estadístico	29
7.9	Aspectos éticos	31
7.10	Recursos	32
8.	RESULTADOS	33
9.	DISCUSION	41
10.	CONCLUSIONES	46
11.	BIBLIOGRAFIA	47
12.	ANEXOS	52

2



## Abreviaturas

APC	Actividad procoagulante del cáncer.
AT	Antitrombina
ATRA	Acido trans retinoico
DHL	Deshidrogenasa Láctica
ETV	Enfermedad tromboembólica venosa
FT/VIIa	Complejo de activación factor tisular y factor VII activado
FT	Factor Tisular
HBPM	Heparinas de bajo peso molecular
IPI	Indice Pronóstico Internacional
IVFT	Inhibidor de la vía del factor tisular
LLA	Leucemia linfoblástica aguda
LMA	Leucemia mieloblástica aguda
L No H	Linfoma No Hodgkin
OR	Razón de momios
PAI-1	Inhibidor del activador tisular del plasminógeno
PC	Proteína C
PS	Proteína S
RR	Riesgo Relativo
RPCa	Resistencia a la proteína C activada
RC	Remisión Completa
t-PA	Activador tisular del plasminógeno
TTPa	Tiempo de tromboplastina parcial activada
TP	Tiempo de protrombina
TT	Tiempo de trombina
VEGF	Factor de crecimiento epidérmico derivado del endotelio.
FvW	Factor de von Willebrand



---

**Armand Trousseau (1801 - 1867)**

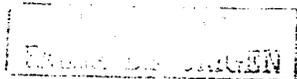


Lectura en el Hôtel-Dieu, Paris, 1865.

"... quiero hablar acerca de la *phlegmasia alba dolens*. Ustedes recordarán que estudiamos el edema blanco doloroso en mujeres de reciente parto pero muy a menudo en pacientes con tisis pulmonar o tumores internos. Estos son raros ejemplos de coagulación intravenosa generalizada en las cuatro extremidades. ¿Cuáles son las condiciones en las que la sangre adquiere esta tendencia a la coagulación espontánea?. Ustedes saben señores, que en estados caquéticos en general, tuberculosis y caquexia por cáncer en particular, la sangre se modifica..."

Trousseau A. *Phlegmasia alba dolens*. In: *Clinique Medicale de l'Hôtel de Paris*. The New Sydenham Society, London 1865;3:94-96.

4



## 1.1 RESUMEN

### EXPRESIÓN DEL FACTOR TISULAR (FT) COMO FACTOR PRONÓSTICO PARA RECAÍDA EN PACIENTES CON LINFOMA NO HODGKIN (LNOH) DIFUSOS DE CÉLULAS B. Martínez-Munillo C, Majluf Cruz A, Gaminio Gómez E, Bautista JJ, Neri N.

**Objetivo.** Establecer si el incremento en la expresión del FT representa un mayor riesgo de recaídas en pacientes con Linfoma No Hodgkin difuso de células B

**Material y Métodos.** Diseño del estudio- cohorte prolectiva. Se incluyeron en el estudio a 59 pacientes con el diagnóstico de LNoH difusos de células B. 30 mujeres y 29 hombres con una media de edad de  $43.3 \pm 14.5$  (rango 20 a 59). A todos los pacientes se les determinó al momento del diagnóstico (tiempo 0) las concentraciones de FT, complejo FT/VIIa, (American Diagnostics, EUA) y otras variables hemostáticas (PC, PS, AT, y RPCa) (Roche-STAGO, Asnieres, Francia) además del DHL y el Índice Pronóstico Internacional. El seguimiento fue de 12 meses para establecer el desenlace; remisión completa (RC) o recaída.

**Resultados.** De los 59 pacientes incluidos en el estudio 31 (52.5%) se encontraron en RC al momento de evaluar el desenlace y 28 de ellos (47.5%) en recaída. Al efectuar el análisis comparativo mediante la prueba de U-Mann Whitney, del FT y del complejo FT/VIIa entre los grupos de Remisión Completa y de Recaída se observa una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en el grupo de pacientes en recaída. Al evaluar la proporción de pacientes con FT bajo y alto se encontró a 29 pacientes con FT bajo vs 30 con FT alto y al establecer el análisis de la fuerza de asociación entre FT bajo y alto con el desenlace, se observó un mayor número de recaídas en el grupo de FT alto (19) en comparación del grupo de FT bajo (9) ( $X^2 = 0.013$ ). En la estimación de riesgos, el FT tuvo un RR de 3.8 (IC 95% 1.3 a 11.3).

**Conclusiones.** La elevación del FT fue mayor en el grupo de pacientes con recaída al igual que el complejo FT/VIIa, lo que implica una mayor activación de la coagulación que puede estar asociado a mayor angiogénesis. De tal suerte que el FT constituye un factor pronóstico independiente para recaída en pacientes con LNoH con un RR de 3.8.

Sería importante adecuar el Índice Pronóstico Internacional con la inclusión del FT con objeto de tener mayor precisión en la estadificación pronostica de los enfermos y adecuar la terapia antitumoral de acuerdo a estos riesgos.



---

## 1.2 ABSTRACT

### THE TISSUE FACTOR IS A MAJOR RISK FACTOR FOR RELAPSED IN NON HODGKIN LYMPHOMA PATIENTS.

Martínez-Murillo C, Majluf Cruz A, Gamínio Gómez E, Bautista JJ, Neri N.

Thromboembolic disorders are a common complication in cancer patients and may even be the first sign of malignancy. It has been estimated that 50% of all cancer patients, and 95% of those with metastasis, exhibit abnormalities in blood clotting. Tumor-associated activation of blood coagulation may occur by either direct (tumor cell mediated) or indirect (host cell-mediated) mechanisms.

**Aim.** The purpose of the present study was to elucidate whether the interaction of tissue factor and TF/VIIa could induce relapsed in non Hodgkin Lymphoma patients.

**Patients and Methods.** We therefore performed a prospective study (cohort) to evaluate the risk of TF in non Hodgkin Lymphoma patients without a previous episode of venous thromboembolism. 59 patients 30 women and 29 men were enrolled in this study. The median age was  $43.3 \pm 14.5$  (range 20 to 59).

The TF and FT/VIIa activity was performed on fresh plasma (American Diagnostics, EUA), and other tests (PC, PS, AT and activated protein C resistance)(Roche-STAGO, Asnières, Francia).

**Results.** Among 59 non Hodgkin Lymphoma patients, 31 (52.5%) had complete remission and 28 (47.5%) had relapsed. The difference in the mean values of the TF in the groups of patients (complete remission versus relapsed) were statistically significant ( $p < 0.05$ ) The relative risk of increase of TF was (IC 95% 1.3 a 11.3).

**Discussion.** Our study has shown that the TF and TF/VIIa activity in non Hodgkin Lymphoma patients was related to relapsed and this finding provides further evidence that TF is a major risk factor for relapsed in non Hodgkin Lymphoma patients.

6



---

## 2. ANTECEDENTES.

### 2.1 Cáncer y Hemostasia.

El cáncer es una de las principales causas de muerte en el mundo occidental, por lo que constituye un problema de salud pública. Muchos tipos de cáncer son tumores sólidos y la muerte habitualmente es consecuencia de la metástasis por lo que el entendimiento de los factores que afectan la metástasis es esencial para el desarrollo de tratamientos antitumorales apropiados.

Existen fases importantes en el proceso de metástasis como: neovascularización (angiogénesis), desplazamiento celular del sitio primario, invasión de células tumorales al torrente sanguíneo, movimiento de células a otros sitios del organismo, adherencia al vaso sanguíneo, extravasación y crecimiento de las células tumorales en el sitio de la metástasis<sup>1</sup>. Este proceso de metástasis es multifactorial y complejo, sin embargo, la identificación de otros factores que participan en la metástasis como el sistema de la hemostasia resulta importante con objeto de establecer las mejores alternativas terapéuticas.

La evidencia existente donde se establece una relación directa entre hemostasia y cáncer ha sido derivado de numerosos estudios histopatológicos, clínicos, de laboratorio y farmacológicos. La primera asociación entre cáncer y trombosis fue sugerida desde 1872 por el Profesor Armand Trousseau<sup>2</sup>, quien identificó en pacientes con cáncer de páncreas la presencia de trombosis. Posteriormente Billroth<sup>3</sup> en 1878 describió la presencia de células cancerígenas dentro del trombo e interpretó este hallazgo como evidencia de la diseminación del tumor por el tromboembolismo. Por otro lado los estudios histopatológicos en pacientes con cáncer han demostrado que el depósito de fibrina acompaña comúnmente a la formación de tumores sólidos y este depósito de fibrina puede ser necesario para el crecimiento del tumor<sup>4</sup>. Estudios de casos de autopsia de pacientes con cáncer, en más de la mitad se ha observado evidencia de tromboembolismo<sup>5-6</sup>.

Estas evidencias establecen un significado dual del sistema de la hemostasia en pacientes con cáncer; la primera en la asociación con cáncer y la segunda por su participación en la metástasis. Esto establece una bidireccionalidad de la hemostasia en los pacientes con cáncer y una función importante de las células y proteínas del sistema de la hemostasia en la biología del tumor.



**Trombosis y Cáncer.** Los estudios epidemiológicos han demostrado que aproximadamente el 10% de los pacientes con diagnóstico de enfermedad tromboembólica venosa (ETV) idiopática pueden tener o desarrollar algún tipo de cáncer durante el primer año posterior al diagnóstico<sup>5-7</sup>. Prandoni y cols<sup>8</sup> realizaron un estudio en el cual incluyeron 145 pacientes con ETV idiopática y 105 con ETV secundaria y en el seguimiento a 1 año encontraron que en el grupo de ETV idiopática 11/145 (7.6%) desarrollaron cáncer en los 12 meses después del diagnóstico (la mayoría en los primeros 6 meses) y 2/105 (1.9%) en el grupo de ETV secundaria.

En estudios prospectivos se ha estimado el riesgo de desarrollar cáncer después de presentar ETV y se ha estimado de 4 a 7. La razón de momios (OR) se puede incrementar hasta 9 cuando se estudia a pacientes con ETV idiopática recurrente<sup>9</sup>.

Las enfermedades malignas parecen incrementar el riesgo enfermedad tromboembólica venosa (ETV), particularmente posterior a cirugías oncológicas. En casos de autopsia se ha encontrado que más del 50% de los pacientes con cáncer presentan evidencias de trombosís<sup>6, 9</sup>. Sin embargo, se ha estimado un riesgo general (OR) de 2, pero, existen variaciones en cuanto al tipo de específico de cáncer. Los tipos de cáncer más frecuentemente asociados a ETV son: páncreas, pulmón y estómago; en el caso específico de las mujeres los más frecuentes son: ginecológicos, colorectal y páncreas<sup>10</sup>. Por otro lado del 5 al 10% de los pacientes con linfoma pueden desarrollar ETV<sup>11</sup>.

La trombosis en los pacientes con cáncer habitualmente tiene una presentación migratoria, involucra a venas superficiales, sitios de presentación poco usuales y falta de respuesta al tratamiento anticoagulante<sup>12</sup>.

El tratamiento de la trombosis en pacientes que tienen cáncer con antitrombóticos tienen un significado especial debido al efecto que pueden provocar en la biología y evolución del cáncer. Los anticoagulantes y/o antiagregantes plaquetarios, mejoran la supervivencia libre de enfermedad<sup>13</sup>. Asimismo, dos estudios que compararon la efectividad de la heparina no fraccionada contra las heparinas de bajo peso molecular (HBPM) en el tratamiento de trombosís venosas profundas y cáncer, demostraron una diferencia intrigante en la mortalidad relacionada al cáncer; los pacientes tratados con HBPM tuvieron una menor



progresión del tumor, probablemente por ejercer un efecto inhibitorio sobre el crecimiento tumoral <sup>14, 15</sup>.

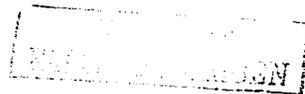
## 2.2 Mecanismos Patogénicos Asociados con Activación de la coagulación.

La ETV constituye un problema importante en pacientes con cáncer y su patogénesis es compleja y multifactorial. Los mecanismos que probablemente contribuyen a la activación de la coagulación incluyen factores generales relacionados a la respuesta del huésped al tumor como reacción de fase aguda, metabolismo anormal de proteínas, neovascularización, necrosis, alteraciones hemodinámicas, etc <sup>4</sup>. **Tabla 1**

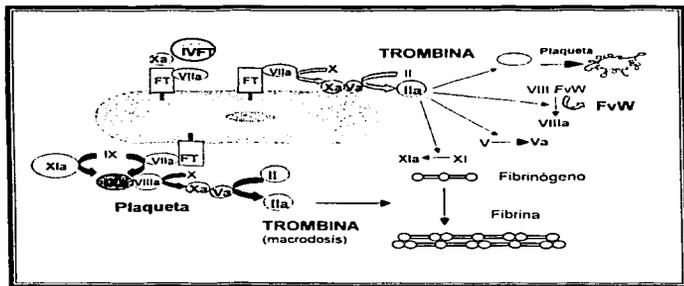
GENERAL	ESPECIFICO
Inflamación Necrosis local Reacción de fase aguda Disproteinemia Alteraciones hemodinámicas	Acciones de la célula tumoral -Procoagulante -Fibrinolítica -Interacción con plaquetas. -Interacción con céls. mononucleares -Interacción con céls. endoteliales. neovascularización (Angiogénesis). -Quimioterapia.

**Tabla 1. Mecanismos posibles de activación de la coagulación en pacientes con cáncer.**

**Cáncer y anomalías en la circulación sanguínea.**- las alteraciones hemodinámicas en cáncer están asociadas con cambios en la resistencia al flujo sanguíneo o con su viscosidad, esto a su vez está relacionado con cambios en que ocurren en las neoplasias como estasis venosa por falta de movilidad, sepsis o compresión externa por masa voluminosa. Otra posibilidad que la formación anormal del vaso sanguíneo por angiogénesis y cáncer, pueda causar las alteraciones en el flujo sanguíneo probablemente por liberación de mediadores vasoactivos (prostaciclina).



**Cáncer y activación de la coagulación.**- Las células cancerígenas pueden activar directamente al sistema de la coagulación y el fibrinolítico. El sistema de la coagulación constituye un sistema de defensa donde interaccionan elementos celulares y plasmáticos con objeto de hacer cesar una hemorragia. En este sistema participan plaquetas, célula endotelial, leucocitos y factores de la coagulación. **Figura 1.**



**Figura 1.** Modelo Actual de Activación de la Coagulación, en este modelo el papel central lo tiene el factor tisular (FT), como el iniciador de la activación.

La activación del sistema de la coagulación puede depender de diversos factores como; daño endotelial mecánico o estímulo celular a través de mediadores que provocan la expresión del principal iniciador de la activación de la coagulación, el factor tisular (FT). Fisiológicamente existe un equilibrio entre sustancias procoagulantes y anticoagulantes y cuando esta se altera por la célula tumoral se favorecen los mecanismos procoagulantes y se desarrolla un estado pro-trombótico que genera la asociación con trombosis <sup>4-7, 16</sup>.

Las modificaciones hemostáticas relacionadas al cáncer <sup>1,3,4, 9</sup> se mencionan en la **Tabla 2.**



MODIFICACIONES HEMOSTATICAS EN CÁNCER.	
✓	Liberación de sustancias tromboplastinicas.
✓	Activación y agregación plaquetaria
✓	Expresión del FT
✓	Liberación de APC (Actividad procoagulante del cáncer)
✓	Incremento de factores de coagulación:
	Fibrinógeno,
	F. VII
	F.VIII
	F.II
✓	Elevación del TAT (trombina antitrombina)
✓	Modificación en Fibrinólisis:
	Incremento:
	Plasminógeno, .
	Urokinasa (u-PA),
	Receptor de la urokinasa (u-PAR),
	Inhibidor del activador tisular del plasminógeno tipo 1 (PAI-1)
✓	Incremento de anexina II

Tabla 2. Modificaciones en el sistema de la hemostasia en pacientes con cáncer.

Las moléculas procoagulantes producidas por la célula maligna como el incremento en la expresión del FT en la superficie de macrófagos y constituye una superficie catalítica para el ensamblaje del complejo protrombinasa de la coagulación y generación de trombina. Además, la célula tumoral puede expresar otra proteína con actividad procoagulante asociada a cáncer (APC), una proteasa de cisteína con activación directa sobre factor X de la coagulación y esta relacionada con un potencial metastático de la célula tumoral. La APC es una proteasa con actividad dependiente de la vitamina K.

El estado procoagulante asociado a cáncer se produce por el incremento de sustancias procoagulantes y disminución de las anticoagulantes como: sistema de la proteína C-S, antitrombina y del inhibidor de la vía del FT (IVFT). Con todo esto el VEGF (factor de crecimiento epidérmico endotelial) producida por el tumor induce incremento en la permeabilidad del sistema vascular con incremento en la perfusión de células malignas y factores de la coagulación. Esto genera un incremento de la actividad procoagulante con activación de la coagulación con depósito de fibrina alrededor del tumor lo que parece contribuir al crecimiento y protección del tumor y quizás en la angiogénesis <sup>17</sup>.

---

La información refiere con particular importancia el incremento en la expresión del factor tisular (FT) por parte de monocitos y del endotelio, y una mayor generación del F.VII con una mayor predisposición no sólo para el desarrollo de trombosis, sino una mayor progresión tumoral<sup>10-14</sup>.

### 2.3 Factor Tisular.

El re-descubrimiento del FT ha tenido un notable impacto en el conocimiento de la fisiología de la coagulación, no sólo por ser el iniciador de la coagulación, sino por las implicaciones fisiopatológicas en diversas enfermedades.

El FT es un receptor transmembranaral localizado en la superficie de la célula, que normalmente se expresa al exterior de la membrana de la célula. Al exponerse al plasma el FT se une de manera reversible al F.VII de la coagulación y forma el complejo FT/VIIa con una gran afinidad, sirviendo de regulador alostérico (cofactor principal) para que el FVIIa active eficientemente sus sustratos fisiológicos, dos zimógenos proteasas de serina, el FXa y el F.IXa. y potencialmente genera trombina que favorece la activación de varios factores de la coagulación, plaquetas y la formación del coágulo dependiente de la fibrina (Figura 2).



Figura 2. Imagen cristalográfica del Factor Tisular

Estructuralmente el FT es una glucoproteína de 263 aminoácidos (aa) de 54 Kd de P.M. (tromboplastina; CD142) es miembro de una superfamilia de proteínas con una gran complejidad molecular y una similitud con la familia de los receptores de las citocinas. El FT consiste de tres regiones: una región extracelular elongada de 219 aa compuesta de dos tipos de dominios de la fibronectina tipo III con uniones termino-terminales en un ángulo de aproximadamente 120 grados, la región transmembranal de 23 aa y una región citoplasmática de 21 aa que contiene algunos sitios de fosforilación. **Tabla 3.**

CARACTERISTICAS	
Clasificación	-Receptor transmembrana. -Miembro de la superfamilia de las citocinas.
Codificación genética	Cromosoma 1
Estructura	263 aminoácidos.
Peso Molecular	54. 000 daltons
Regiones	3 regiones. -extracelular -transmembranal -citoplasmática
Interacción	Unión a F.VII y formación del complejo FT/FVIIa.
Función	Iniciador de la coagulación.
Anticuerpo Monoclonal	CD 142

**Tabla 3. Características del Factor Tisular**

El FT consta de una parte extracelular funcional y una parte citoplasmática que sirve de anclaje a la proteína, lo que a su vez le permite interaccionar funcionalmente con las proteínas<sup>13, 14</sup>. La unión del FT con su ligando induce cambios en el calcio intracelular y fosforilación de residuos específicos de serina en el dominio citoplasmático lo que indica un potencial en la señalización interna dependiendo del FT y esto puede tener una función en la interacción entre las células vasculares.

El gene del FT se expresa tempranamente por el estímulo de factores de crecimiento y citocinas, a través de su dominio intracitoplasmático efectúa una señal interna que se traduce en producción de factores de crecimiento y esto ha sido implicado en la función inmune, migración de células del músculo liso y en la metástasis<sup>15</sup>.



---

El FT participa en la fisiopatología de enfermedades como: trombosis, aterosclerosis, enfermedad arterial coronaria, enfermedad vascular cerebral, coagulación intravascular diseminada y recientemente en cáncer (metástasis y angiogénesis)<sup>15-17</sup>.

Los mecanismos involucrados en la activación sistémica de la coagulación en pacientes con cáncer, parecen depender principalmente de la expresión del FT sobre las células neoplásicas, o mediante la liberación de mediadores por parte de la célula tumoral que estimulan a los monocitos y/o células endoteliales a sintetizar FT. Esto plantea la posibilidad que los monocitos de pacientes con diferentes tipos de neoplasias incrementan la expresión del FT y esto favorezca la progresión tumoral<sup>1, 15-17</sup>.

#### 2.4 Factor Tisular y Cáncer.

Los estudios de cultivos de líneas celulares tumorales han demostrado un incremento en la expresión del FT; estudios *in vivo* de neoplasias, también han demostrado el incremento en la expresión del FT antigénico y funcional<sup>15-17</sup>.

Hamada K y cols<sup>15</sup> encontraron una asociación entre el incremento en la expresión del FT con el grado histológico en seis líneas celulares del glioma. Por otra parte, Kakkar AK y cols<sup>17</sup>, demostraron que el grado de expresión del FT en el adenocarcinoma del páncreas esta asociado con la progresión del tumor y el análisis de su expresión puede proporcionar información pronóstica en diferentes neoplasias.

Shigemori C y cols<sup>18</sup> estudiaron por inmunohistoquímica la expresión del FT en 79 casos de cáncer colorectal con metástasis hepáticas en 17 pacientes y observaron que el 57% de los pacientes expresaron el FT, pero, esta fue más significativa en las metástasis hepáticas ( $p=0.01$ ) en el 88%, incluso esta asociación fue mayor en los estadios más avanzados.

Sawada M y cols<sup>19</sup> encontraron en líneas celulares de cáncer de pulmón de células no pequeñas, obtenidas de lesiones metastásicas, altos niveles del FT ( $48 \pm 23.5$  ng) vs FT ( $0.2 \pm 0.1$  ng) de líneas celulares obtenidas de las lesiones primarias. En 55 pacientes estudiados, 28 tuvieron metástasis y de estos, 10 FT fuertemente positivos, 16 moderadamente positivos y 2 fueron negativos, en contraste de los 27 pacientes sin metástasis únicamente 2 tuvieron FT fuertemente positivo.

*Koomagi y cols.*<sup>20</sup> encontraron en líneas celulares de cáncer de pulmón de células no pequeñas que la curva de supervivencia libre de enfermedad por Kaplan-Meier fue más larga en los pacientes con tumor FT (-) en comparación con los pacientes con tumor FT (+).

## **2.5 Factor Tisular y Neoplasias Hematológicas.**

También se ha demostrado consistentemente el incremento en la expresión del FT en blastos de pacientes con leucemia mieloblástica aguda (LMA), particularmente en la LMA M3 (promielocítica) y ocasionalmente en blastos de la leucemia linfoblástica aguda (LLA)<sup>1</sup>.

Los mecanismos involucrados para los cambios funcionales observados en pacientes con linfomas es desconocido, sin embargo, estudios inmunohistoquímicos previos en tejidos de pacientes con síndromes linfoproliferativos han sugerido que la activación de la coagulación en estos pacientes parece depender de la actividad mediada por macrófagos. Además se ha postulado que la síntesis del FT por los macrófagos activados puede deberse a la producción de citocinas por las células malignas. Algunas de las citocinas involucradas en linfomas son: interleucina 1, interleucina 2, factor de necrosis tumoral, factor de permeabilidad vascular y factores de crecimiento. Así pues es posible que una o más de estas citocinas pueda activar a monocitos-macrófagos del huésped en sitios distantes del tumor e incrementar la expresión del FT<sup>21-22</sup>. El significado biológico del incremento en la expresión del FT en tejidos de pacientes con linfomas es desconocido y su papel como marcador pronóstico, actividad tumoral y progresión neoplásica también se desconoce.

## **2.6 Factor Tisular y Linfomas.**

*Semeraro N y cols*<sup>21</sup> evaluaron la capacidad de las células mononucleares de sangre periférica para producir actividad procoagulante, expresión del FT y de la actividad fibrinolítica determinada por la expresión del activador tisular del plasminógeno (t-PA) y de sus inhibidores tipo 1 y 2 (PAI-1 y PAI-2) en 12 niños con diagnóstico de enfermedad de Hodgkin (EH) y LNoH (4 EH y 8 LNoH) y observaron un incremento en la expresión del FT en los dos grupos, además de un incremento del PAI-1 y PAI-2, sin embargo, en este estudio no se evaluó al FT como indicador de progresión tumoral, pero es claro que existió un incremento en la expresión del FT en comparación con los 12 controles sanos.



---

*Ruco LP y cols* <sup>22</sup> estudiaron algunos marcadores de activación de la hemostasia (glucoproteínas plaquetarias IIb-IIIa, E-selectina y expresión del FT) en 27 casos de EH, 10 casos de nodulos linfáticos reactivos y en 5 casos de Linfomas No Hodgkin (LNoH) anaplásicos, y encontraron que el incremento en la expresión del FT y de la E-selectina se asocio con el grado de depósito de fibrina y necrosis en las biopsias, sin embargo, este estudio no determino la asociación entre la expresión del FT con el grado de progresión del tumor. Otros autores también han confirmado el incremento en la expresión del FT en este tipo de pacientes<sup>23</sup>.

Por su parte, *Shibakura M y cols* <sup>24</sup>, informan del efecto anticoagulante del ácido trans retinoico (all-trans-retinoico acid ATRA) que se emplea en el tratamiento de la LAM M<sub>3</sub>, al observar incrementar en la expresión de la trombomodulina y disminuir la expresión del FT en células de la LAM M<sub>3</sub>, esto a través de la unión a receptores específicos en el interior de la célula.

*Falanga A y cols* <sup>25</sup>, informan este mismo efecto en las células leucemia promielocítica aguda de la línea celular NB4, donde demuestran que el ATRA regula la expresión del FT vía receptores retinoicos nucleares, con un efecto independiente de la regulación de la actividad procoagulante asociada a cáncer. Estos resultados tienen importantes implicaciones en el tratamiento de tumores, si se comprueba que el FT es un indicador de progresión tumoral, ya que existe la manera de disminuir su expresión.

El papel que juega el FT en pacientes con LNoH no ha sido aún determinado, sin embargo, al considerar las evidencias indirectas, el FT además de ejercer un efecto procoagulante, favorece la progresión tumoral. La importancia en determinar el papel de esta proteína en el grado de progresión radica en la posibilidad de emplearlo como factor predictivo para recurrencia y muerte.

### 3. JUSTIFICACION.

Los LNH son un grupo heterogéneo de neoplasias malignas cuyos síntomas y signos están dados básicamente por la variedad histológica.

En EUA <sup>26</sup> los LNH constituyen la séptima causa de muerte por neoplasias. En 1984 se diagnosticaron 31 mil casos nuevos de linfomas de los cuales 7 mil 100 correspondieron a Enfermedad de Hodgkin y 23 mil 700 fueron LNH. Cada año más de 55 mil pacientes son diagnosticados por LNH con un marcado incremento en los casos de LNH de células grandes.

En México <sup>27</sup>, del total de neoplasias reportadas en el trienio 1993-1995, los linfomas ocuparon el sexto lugar con 6776 casos, lo que corresponde al 3.9% del total registrado, la distribución por edad demostró mayor frecuencia en el grupo de más de 75 años, seguido por el de 15 a 19. En niños, los linfomas son la tercera neoplasia maligna más frecuente. El IMSS concentró el mayor número de linfomas con el 37.9%.

Desde la introducción de la quimioterapia en el tratamiento de los linfomas, existe un incremento en la tasa de respuesta completa con una supervivencia del 40 al 50% a 5 años. En cambio los pacientes con alto riesgo con el mismo esquema de tratamiento la sobrevida libre de enfermedad a 5 años es únicamente del 11%. De los pacientes que reciben quimioterapia e integran remisión completa (RC), aproximadamente el 50% presenta recurrencia de la enfermedad y en el transcurso de los siguientes 18 meses puede presentarse aproximadamente un 10% más de recaídas<sup>28</sup>.

El incremento en la expresión del FT ha sido consistentemente observado en pacientes con glioma, cáncer de pulmón, cáncer de páncreas, cáncer de colon, cáncer de mama, y melanoma. Además se ha estimado una asociación entre el incremento del FT con la variedad histopatológica del tumor, estadio de la enfermedad y con la presencia o ausencia de metástasis.



---

En pacientes con LNoH no se ha determinado si el incremento en la expresión del FT se asocia a mayor progresión tumoral.

La significancia clínica y biológica del FT en pacientes con LNoH no ha sido establecida y la asociación entre la expresión del FT con la recaída de la enfermedad es incierta.



---

#### 4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Los LNoH de células grandes de estirpe B constituyen la variedad histopatológica de linfomas más frecuente en el mundo y los porcentajes de respuesta al tratamiento y sobrevida libre de enfermedad esta en relación directa con la presencia de ciertos factores pronósticos.

La importancia biológica del incremento en la expresión del FT en pacientes con LNoH no se conoce, sin embargo, por estudios indirectos se ha atribuido que el incremento en la expresión del FT se asocia con mayor progresión tumoral, metástasis y muerte.

La determinación del FT parece involucrar un mecanismo biológico diferente a los factores conocidos y al momento actual no se conoce la asociación de esta proteína con la evolución de los pacientes con el diagnóstico de LNoH. Lo que nos lleva a formularnos la siguiente pregunta:

¿El incremento de la expresión del FT en pacientes con L No H difuso de células B tendrán un mayor riesgo de recaída en comparación al grupo de pacientes que presentan FT disminuido?



---

## 5. HIPOTESIS.

Los pacientes con L No H difuso de células B que presenten un incremento de la expresión del FT tendrán un mayor riesgo de recaída en comparación al grupo de pacientes con L No H difuso de células B que presenten una disminución en la expresión del FT.





---

## **7. MATERIAL Y METODOS**

### **7.1 Diseño del Estudio:**

Cohorte Prolectiva <sup>31</sup>.

### **7.2 Universo:**

Sujetos con el diagnóstico de Linfoma No Hodgkin Difuso de Células B

### **7.3 Lugar de la Investigación:**

Se efectuó en el Servicio de Hematología del Hospital de Oncología del CMN S.XXI la selección y seguimiento de los enfermos. Los estudios de Laboratorio se llevaron a cabo en el Laboratorio de Investigación de Hematología (Unidad 204) del Hospital General de México.



## 7.4 Criterios de Selección:

### Criterios de Inclusión:

- Diagnóstico histopatológico confirmado de Linfoma No Hodgkin difuso de células B\*

*\*Clasificación de Linfomas (de acuerdo a la Revised European-American Clasificación-REAL) <sup>29</sup>*

Los L No H difusos de células grandes de estirpe B esta compuesto por células grandes (del doble del tamaño de un linfocito pequeño) con núcleo vesiculado, nucleolo prominente, citoplasma basófilo con una fracción de proliferación de moderada a alta. En muchos casos las células parecen centroblastos (células grandes no hendidas) o un inmunoblasto, sin embargo, en la mayoría de las ocasiones existe un patrón mixto con células que parecen ambos tipos celulares.

- Ambos sexos
- Edad: 18 años a 60 años
- Tratados con quimioterapia de primera línea

### Criterios de No Inclusión:

- Pacientes tratados con quimioterapia fuera del Servicio de Hematología del HO CMN, Siglo XXI.
- Pacientes en tratamiento con quimioterapia de segunda intención.
- Diagnóstico previo de otro tipo de Cáncer.
- Discrepancia en el diagnóstico histopatológico
- Antecedente de Trombosis arterial o venosa (<1 año)

### Criterios de Eliminación

- Coagulación Intravascular diseminada
- Trombosis
- Tratamiento anticoagulante
- No alcanzar la remisión completa después de la quimioterapia de primera intención



## 7.5 Definición de las Variables

### -Predictiva:

#### Factor Tisular

**Definición Conceptual.** Es una glucoproteína integral de las membranas de las células endoteliales y de los monocitos.

**Definición operacional.** La determinación de la capacidad funcional del FT por método cromogénico e identifica cualitativamente a la molécula del FT.  
Valores de referencia: *de 1 – 30 pM.*

**Tipo de Variable.** cuantitativa continúa

**Escala de Medición.** cuantitativa de razón

### -De desenlace:

#### Recaida

**Definición conceptual.** es cuando el paciente después de haber recibido tratamiento y haber integrado remisión completa presenta la reaparición del tumor durante el seguimiento:

**Definición operacional.** Es la identificación de la reaparición del tumor determinado por la evaluación clínica, estudios de laboratorio (citometría hemática, pruebas de función hepática, deshidrogenasa láctica, médula ósea) y de gabinete (tele de torax, tomografía axial computarizada, resonancia magnética) y confirmación histopatológica mediante biopsia.

**Tipo de variable.** Cualitativa nominal dicotómica

**Escala de medición.** Cualitativa nominal.



## Remisión Completa

**Definición conceptual.** es cuando el paciente después de haber recibido tratamiento e integrado remisión completa con desaparición de toda evidencia del tumor, permanece en esta condición durante el seguimiento (12 meses).

**Definición operacional.** Es la ausencia del tumor determinado por la evaluación clínica, estudios de laboratorio (citometría hemática, pruebas de función hepática, deshidrogenasa láctica, médula ósea) y de gabinete (tele de torax, tomografía axial computarizada, resonancia magnética) por más de 12 meses postratamiento.

**Tipo de variable.** Cualitativa nominal dicotómica

**Escala de medición.** Cualitativa nominal.

## -Otras Variables:

### Complejo FT/VIIa.

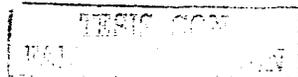
**Definición Conceptual.** Es la determinación del complejo funcional de la coagulación FT/VIIa que inicia la activación del proceso enzimático de la coagulación .

**Definición operacional.** Es la determinación de la capacidad funcional del complejo FT/VIIa por método coagulométrico.

**Valores de referencia:** de 41 a 170 mU/mL.

**Tipo de Variable.** cuantitativa continúa

**Escala de Medición.** cuantitativa de razón



## 7.6 Descripción General del Estudio:

### Integración de la cohorte.

Se Integraron a la cohorte a pacientes con el diagnóstico inicial de de Linfoma No Hodgkin Difuso de Células B, según la clasificación de la REAL<sup>29-30</sup> del Servicio de Hematología del Hospital de Oncología del CMN S.XXI.

### Características que comparten.

- Diagnóstico de LNoH de céls. B
- Recibir mismo esquema de Tratamiento:  
dosis altas de ciclofosfamida, antraciclina, vincristina y corticosteroides.
- Seguimiento de 12 meses.

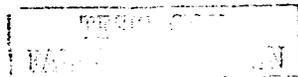
### El tiempo cero (basal)

Se conformó con pacientes que se encontraron con diagnóstico histopatológico establecido.

### Estratificación

Los pacientes se agruparon por estratos de acuerdo al consenso internacional<sup>31</sup> en tres grupos: **Bajo (0 a 2 puntos), Intermedio (3 puntos), Alto 4 y 5 puntos.**

Conformacion Tiempo 0	Determinacion de Variables Independientes	Integracion de grupos	Administracion de QTP (Hasta 7 meses)	Estado Postquimioterapia	Seguimiento (hasta 12 meses)	Desenlace
-Diagnostico de LNoH de céls B	FT Complejo FT/VIa	FT bajo FT alto	-Ciclofosfamida -Epirrubicona -Vincristina -Prednisona	Remision Completa	→ →	RECAIDA REMISION



## Invitación y recolección de datos.

A los pacientes se les efectuó la invitación para participar en el estudio con carta de consentimiento (Anexo 1). Posteriormente se completo la hoja de recolección de datos (Anexo 2). La selección de los pacientes e invitación para participar en el estudio lo realizó el investigador responsable y colaboradores.

## Seguimiento.

Los sujetos que se incluyeron en el estudio fueron seguidos con evaluaciones bimensuales y a los 12 meses de seguimiento se determinó el desenlace de acuerdo a los criterios definidos.

Todos los pacientes recibieron el mismo esquema de tratamiento consistente en dosis altas de ciclofosfamida y antraciclinas. El tiempo de tratamiento fue de 6 meses con ciclos de quimioterapia mensual

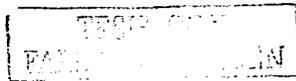
## Técnica de Laboratorio.

Cuando el paciente se integraba a la cohorte se les efectuaba la toma de muestra de sangre venosa de 10 ml que se distribuyó en 3 tubos de plástico con citrato de sodio al 3.8% (9:1, vol:vol).

Inmediatamente después de su recolección, los tubos se centrifugaron a 5000 rpm por 10 min para obtener plasma pobre en plaquetas. La obtención de este último se realizó con pipetas Pasteur y se alícuotizaron en tubos de Eppendorf de plástico de 2 ml y almacenados a -80°C.

La actividad funcional del FT se determino mediante una prueba amidolítica que emplea un sustrato cromogénico específico, conocido como método cromogénico. La determinación de la actividad del complejo FT/FVII se realizó por método coagulométrico.

Estas pruebas se efectuaron en un equipo automatizado ST Compact de la compañía Roche-Stago (Asnières, Francia).



## 7.7 Cálculo del Tamaño de Muestra.

En base a la siguiente fórmula:

$$N = \frac{(1/q_1 + 1/q_2) S^2 (Z\alpha + Z\beta)^2}{E^2}$$

-Tamaño del efecto:

Para una diferencia del 50% en la expresión del FT

$$0.5 \times 50.4 \text{ mg/mL} = 25.2$$

-Tamaño Estandarizado del efecto:

$$25.2/23.6 = 1.06$$

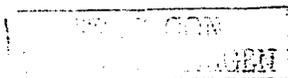
-Potencia  $\beta$

$$\beta = 1 - 0.95 = 0.05$$

$$\alpha = 0.05 \text{ unilateral (una cola)}$$

-Tamaño de muestra:

44 pacientes



---

## **7.8 Análisis Estadístico.**

### **Recolección de datos:**

Se diseñó y evaluó la hoja de recolección de datos.

### **Organización de los datos:**

Se ordenaron por distribución de frecuencias simples y de intervalo.

### **Presentación de los datos:**

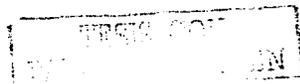
Se presentan en tablas y gráficos

### **Estadística descriptiva:**

El análisis estadístico se realizó en el programa SPSS versión 11.

Se determinó el tipo de distribución de las variables utilizando la prueba de Kolmogorov-Smirnov, que señala el cumplimiento de las premisas de normalidad.

A cada variable se le efectuó medidas de tendencia central y de dispersión; media, desviación estándar, mediana y percentiles 25 y 75.



---

**Estadística Inferencial:**

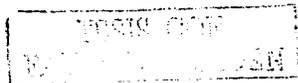
Para establecer la diferencias en las concentraciones del FT, FT/VIIa y otras variables hemostáticas entre los grupos de remisión completa y recaída, se aplicó la prueba de U-Mann Whitney.

La comparación de la proporción de FT y de otras variables hemostáticas entre los grupos de remisión completa y recaída fue realizada empleando la prueba de  $X^2$  y/o prueba exacta de Fisher cuando fue necesario.

Se empleó el riesgo relativo (RR).

**Significado estadístico:**

Se consideró significativo un valor de  $p < 0.05$



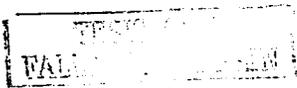
---

### 7.9 Aspectos éticos.

El presente trabajo se realizó bajo los lineamientos que rigen y reglamentan los proyectos de investigación en humanos, mismos que están definidos en la Declaración de Helsinki por la Organización Mundial de la Salud, con su modificación posterior de Tokio.

Todos los sujetos participantes estuvieron informados del objetivo del estudio y firmaron carta de consentimiento informado (anexo 1)

Este proyecto fue aprobado previamente por el Comité de Investigación del Banco Central de Sangre del Centro Médico Nacional Siglo XXI.



---

## 7. 10 Recursos.

### **Recursos humanos:**

Los médicos y químicos del Hospital de Oncología y Banco Central de Sangre del Centro Médico Nacional, Siglo XXI y del Hospital General de México.

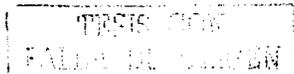
### **Recursos materiales:**

El equipo y material del Hospital General de México

### **Recursos financieros:**

El estudio se realizó con el apoyo de la Coordinación de Investigación en Salud del IMSS a través del Fondo de Fomento a la Investigación (FOFOI-IMSS) con número FP-2003/077.

Este estudio también contó con apoyo de la subdirección de postgrado del CONACYT a través de una beca de manutención.



## 8. RESULTADOS

### 8.1 Características Generales.

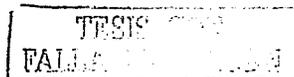
Se estudiaron un total de 59 pacientes con el diagnóstico de Linfoma No Hodgkin (LNoH) de células B, 30 mujeres y 29 hombres con una media de edad de  $43.3 \pm 14.5$  (rango 20 a 59).

Del total de los pacientes incluidos el 44% (26) se encontró en el estadio clínico IV y únicamente el 14% se encontró en el estadio clínico I (Tabla 4).

Estadio Clínico	número	Frecuencia
• I	8	14%
• II	13	22%
• III	12	20%
• IV B	26	44%
Total	59	100%

Tabla 4. Estadio Clínico de acuerdo a la clasificación de Ann Arbor en los pacientes con Linfoma No Hodgkin de células B.

Además de la estadificación de Ann Arbor, los pacientes fueron estadificados de acuerdo al Índice Pronóstico Internacional vigente y se integraron en cuatro criterios que se mencionan en la siguiente tabla (Tabla 5)



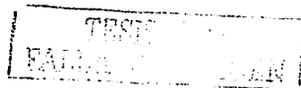
Índice Pronóstico Internacional	número	Frecuencia
Bajo (1)	5	8.5 %
Bajo Intermedio (2)	21	35.5%
Alto Intermedio (3)	15	25.5%
Alto (4)	18	30.5%
Total	59	100%

Tabla 5. Distribución de pacientes con LNH según Índice Pronóstico Internacional (IPI)

En cuanto a la localización del LNH al momento del diagnóstico se encontró que el mayor porcentaje de los pacientes tuvo presentación ganglionar (74%) y únicamente el 12% tuvo presentación centrofacial (Tabla 6).

Localización del Linfoma	Número	Frecuencia
Sitio extranodal	7	12%
Centrofacial	8	14%
Ganglionar	44	74%
Total	59	100%

Tabla 6. Localización del Linfoma al integrarse a la cohorte.



## 8.2 Pruebas de Hemostasia.

**Pruebas Básicas.** A todos los pacientes incluidos en el estudio se les efectuaron las pruebas de hemostasia con objeto de determinar variaciones que pudieran modificar las concentraciones del factor tisular (FT). En los resultados que se muestran en la Tabla 7, se observan los valores de la mediana y percentiles de las pruebas de hemostasia que incluyeron: cuenta de plaquetas, tiempos de coagulación, cuantificación de factores de la coagulación y dímeros-D. Estos valores no mostraron variaciones clínicamente significativas con respecto a los valores normales de referencia.

	Mediana	Percentiles (25 - 75)	Valores Normales
Cuenta plaquetas	243	163 - 300	150 - 450 x 10 <sup>3</sup> /L
Tiempo protrombina (TP)	13.3	12.6 - 15	12.1-14.6 segs.
Tiempo de tromboplastina parcial activada. (TTPa)	32	29 - 37	25 -35 segs
Tiempo de trombina (TT)	18	17 - 19.5	18 - 20 segs.
Fibrinógeno	307	239 - 447	200 - 400 mg/dL
Tiempo de reptilasa	19.4	16.7 - 22	< 21 segs.
Factor X (F X.C)	125	100 159	50 - 150 UI/dL
Factor II (F.II:C)	100	86 - 150	50 - 150 UI/dL
Dímeros-D	500	500 - 1000	< 500 ng/mL

Tabla 7. Resultados de las pruebas de hemostasia en los 59 pacientes con LNoH.



**Factor Tisular.** Las concentraciones de las variables involucradas en la iniciación de la coagulación como: FT, complejo FT/VIIa y F.VII:C mostraron una distribución anormal, la mediana fue 28 (12 – 74) y el complejo FT/VIIa fue de 212 (89 – 472). (Tabla 8).

	Mediana	Percentiles (25 – 75)	Valores Normales
Factor Tisular	28	12 - 74	< 30 pM
Complejo FT/VIIa	212.5	89 - 472	41 – 170 mU/mL
Factor VII (F.VII:C)	149	100 - 180	50 – 150 UI/dL

Tabla 8. Valores obtenidos de FT, Complejo FT/VIIa y F.VII:C en los 59 pacientes con LNOH

**Marcadores de Hipercoagulabilidad.** Al realizar la determinación de marcadores de hipercoagulabilidad se encontró que la proteína C, proteína S, antitrombina, plasminógeno y PAI-1 se encontraron dentro de los valores normales, algunos pacientes presentaron valores extremos, pero sin tener repercusión clínica. En relación a la resistencia a la actividad de la proteína C, no se encontró ningún caso con este defecto (Tabla 9).

	Mediana	Percentiles (25 – 75)	Valores Normales
Proteína C	90	75 - 110	70 – 130 %
Proteína S	90	75 - 110	65 – 140 %
Antitrombina	90	78 - 100	80 – 120 %
Plasminógeno	90	80 - 100	80 – 120 %
Resistencia a la Proteína C (RPCa)	227	200 - 250	> 120 segs.
Inhibidor del activador tisular del Plasminógeno (PAI-1)	4.09	3.2 – 6.3	< 10 UA

Tabla 9. Marcadores de Hipercoagulabilidad en pacientes con LNOH



### 8.3 Análisis comparativo entre los grupos de Remisión Completa y Recaída.

De los 59 pacientes incluidos en el estudio 31 (52.5%) se encontraron en RC al momento de evaluar el desenlace y 28 de ellos (47.5%) en recaída.

El promedio del seguimiento en meses fue de 12 para el grupo de RC y de 6.4 para el de recaída ( $P < 0.001$ ).

**Factor Tisular.** Al efectuar el análisis comparativo mediante la prueba de U-Mann Whitney, del FT entre los grupos de Remisión Completa y de Recaída se observa un incremento significativo ( $p = 0.005$ ) en el grupo de pacientes en recaída (Gráfico 1).

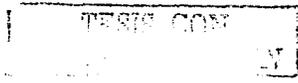
**Complejo de FT/VIIa.** El complejo de activación FT/VIIa también mostró una diferencia significativa entre los dos grupos estudiados ( $P = 0.019$ ) con una mayor activación en el grupo de pacientes en recaída. (Tabla 10)

**Otras variables no hemostáticas.** La deshidrogenasa láctica fue una de las variables que más peso estadístico tuvo con un incremento considerable en el grupo de pacientes en recaída ( $p = 0.0001$ ). (Tabla 10).

	Remisión Completa (Media $\pm$ DE)	Recaída (Media $\pm$ DE)	p*
Factor Tisular	40.1 $\pm$ 56.9	84.6 $\pm$ 81	0.005
Complejo FT/VIIa	521.2 $\pm$ 825.7	681.6 $\pm$ 950.5	0.019
DHL	191.7 $\pm$ 142.1	472.1 $\pm$ 282.7	0.0001

Tabla 10. Diferencia de promedios entre los grupos de Remisión Completa y Recaída.

\*p= valor estadístico de acuerdo a la prueba de U-Mann Whitney. \*NS: No significativo



#### 8.4 Asociación entre los niveles de FT y el desenlace.

Al evaluar la proporción de pacientes con FT bajo y alto se encontró a 29 pacientes con FT bajo vs 30 con FT alto y al establecer el análisis de la fuerza de asociación entre FT bajo y alto con el desenlace, se observó un mayor número de recaídas en el grupo de FT alto (19) en comparación del grupo de FT bajo (9) ( $X^2 = 0.013$ ). Igualmente al efectuar la asociación entre el complejo FT/VIIa bajo (27) vs el complejo FT/VIIa alto entre los grupos de estudio se encontró una  $X^2 = 0.046$ . Otros factores que tuvieron asociación entre los niveles de FT y el desenlace fueron; deshidrogenasa láctica ( $F = 0.001$ ) y el Índice pronóstico internacional ( $F = 0.001$ ). **Tabla 11.**

	REM. COMPLETA	RECAIDA	TOTAL	VALOR P
<b>FACTOR TISULAR</b>				
Normal	20	9	29	0.013
Aumentado	11	19	30	
<b>COMPLEJO FT/VIIa</b>				
Normal	18	9	27	0.46
Aumentado	13	19	32	
<b>DESHIDROGENASA LACTICA</b>				
Normal	27	6	33	0.001
Aumentado	4	22	26	
<b>INDICE PRONOSTICO INTERNACIONAL (IPI)</b>				
1-2	25	1	26	0.001
3	3	12	15	
4	3	15	18	

**Tabla 11. Asociación entre las variables hemostáticas y el desenlace.**  
 $X^2$  y prueba exacta de Fisher.

#### 8.5 Estimación de Riesgos.

Al establecer un valor de corte en función de los valor de normalidad del factor tisular y así establecer valores bajos y altos e integrar a dos grupos de pacientes se realizó una tabla de riesgos que se muestra en la siguiente **tabla 11.**

El FT tuvo un RR de 3.8 (IC 95% 1.3 a 11.3), lo que constituye un riesgo para recaída en pacientes con FT alto, asimismo el complejo FT/VIIa tuvo un riesgo de 2.98. las variables con el mayor RR fueron la DHL (24.7) y el IPI (112.5).

	Riesgo Relativo (RR)	IC (95%)
Factor Tisular	3.8	1.3 – 11.3
Complejo FT/Vita	2.92	1.006 – 8.494
DHL	24.75	6.19 – 98.8
IPI	112.5	12.6 – 1000.9

Tabla 11. Estimación de riesgos.

### 8.6 Regresión Lineal Múltiple

Para determinar la influencia de las diferentes variables sobre el desenlace se efectuó un análisis de regresión múltiple y se observó que el FT, la DHL y el IPI son las variables que influyen significativamente sobre el desenlace ( $p < 0.05$ ) (Tabla 12)

	Coefficientes No Estandarizados		Coefficientes Estandarizados	Valor p
	B	Error Estandar	Beta	
Factor Tisular	.212	.090	.212	.023
DHL	3.695E-04	.000	.191	.090
Índice pronóstico Internacional (IPI)	.284	.057	.555	.000

Tabla 12. Regresión Lineal Múltiple



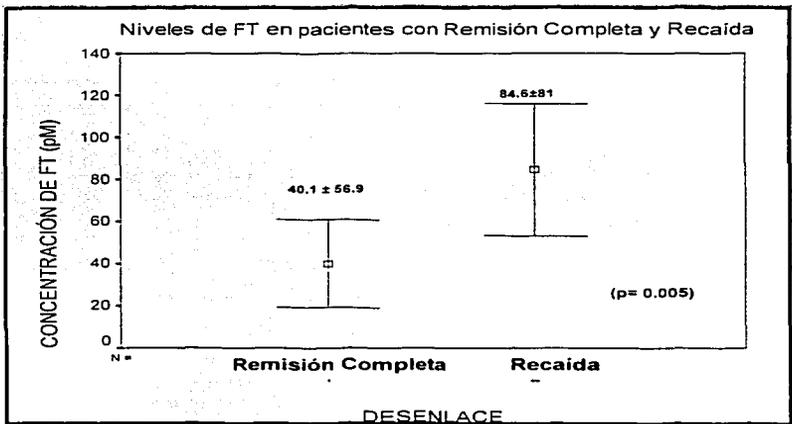


Gráfico 1. Comparación de la concentración del FT entre el grupo de pacientes con remisión completa y de recaída.



## 9. DISCUSION.

La activación de la coagulación asociada al cáncer puede ocurrir por vía activación tumoral directa o vía indirecta a través de los mecanismos de respuesta del huésped. La activación directa de la coagulación sanguínea es asociada con agentes procoagulantes asociados al tumor que incluyen al factor tisular y a una proteinasa de cisteína <sup>34-36</sup>.

El mecanismo responsable para la activación sistémica de la coagulación en cáncer parece ser resultado de la expresión del FT. La expresión del FT en líneas celulares tumorales resultan en una mayor invasión y angiogénesis. El FT también sirve como una molécula de señalización al unirse al FVIIa con una mayor activación de la coagulación, el ligando citoplasmático para el FT es una proteína de unión a la actina (ABP-280). El complejo FT/FVIIa resulta en la generación de proteasas de serina como FXa y trombina. La trombina también actúa como un factor de crecimiento proangiogénico, por lo tanto la expresión del FT estimula la angiogénesis en la vasculatura tumoral favoreciendo su crecimiento <sup>37</sup>.

La interacción entre crecimiento tumoral y activación de la coagulación es ampliamente reconocida <sup>14</sup>. Datos experimentales han sugerido que la coagulación y la fibrinólisis juegan un papel importante en el crecimiento, invasión, diseminación y formación de metástasis. Varias moléculas participan en este proceso en pacientes con cáncer. El FT quien es el iniciador de la coagulación se expresa en una gran variedad de tumores sólidos y líneas celulares tumorales. La expresión del FT en las células tumorales parece estar relacionada con el estadio de la enfermedad; estadios más avanzados se asocian con mayor expresión del FT <sup>38</sup>. Además, el incremento en la expresión del FT en las células tumorales puede también estar relacionado al desarrollo subsecuente de metástasis hepáticas <sup>19</sup>. Algunos estudios indican que el FT juega una función en el crecimiento, invasión y diseminación del tumor, así como una función importante en la angiogénesis.

Evidencia clínica y experimental sugiere que las funciones endoteliales del huésped pueden encontrarse alteradas por la presencia de células tumorales lo que ocasiona activación endotelial y mayor expresión del factor tisular y la expresión del factor tisular en la célula



---

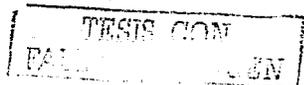
endotelial dentro de la vasculatura tumoral correlaciona fuertemente con el fenotipo de la malignidad <sup>39</sup>.

La activación de la coagulación sanguínea en algunos tipos de tumores como en los gliomas pueden tener dos consecuencias; (1) activación del sistema de la coagulación y el desarrollo de eventos tromboembólicos y (2) estimulación del crecimiento e invasión tumoral. El FT tiene una función importante en esta dualidad del tumor al generar trombina y favorecer un estado protrombótico. sin embargo, tal vez el papel más importante del FT en cáncer se su asociación con la progresión del tumor a través de la angiogénesis, información que ha sido documentado por diferentes autores <sup>40</sup>.

Las complicaciones trombóticas en pacientes con LnoH habitualmente se originan en trayectos venosos largos que pueden estar o no asociados no al empleo de la quimioterapia. Algunos autores han informado la presencia de casos aislados de trombosis en pacientes con LnoH. Luboshitz J y cols <sup>41</sup> informa del caso de un paciente con trombosis venosa y necrosis cutánea probablemente por la generación de citocinas por parte del tumor. Shaw B y cols <sup>42</sup> informan en un paciente con LnoH presencia de mutación Leiden y anticoagulante lúpico positivo asociado a trombosis arterial progresiva que finaliza con amputación distal de la pierna.

La trombosis es una complicación poco reconocida en los LnoH y en la Enfermedad de Hodgkin (EH) el mecanismo de la trombosis es aún desconocido, sin embargo, Haire WD y cols <sup>43</sup> han determinado un incremento importante en la expresión del FTR en monocitos de sangre periférica, en 14 pacientes con EH en recaída. Los pacientes con las elevaciones más marcadas del factor tisular tuvieron mayores complicaciones trombóticas. Estos datos sugieren que dentro de las variables a analizar en los pacientes con EH es el factor tisular puesto que puede implicar un factor pronóstico para el desarrollo de trombosis.

En el estudio que llevamos a cabo encontramos que la mayor parte de los pacientes se encontraron en estadios III y IV de Ann Arbor y más del 50% de los pacientes tuvieron un Índice Pronóstico Internacional de 3 y 4. Desde el momento de integrarse a la cohorte hasta culminar este estudio no se documentó clínicamente ni por laboratorio ningún caso de trombosis.



---

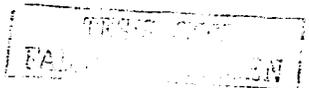
En el análisis de las pruebas básicas de hemostasia efectuadas al total de pacientes no se encontraron variaciones anormales en las pruebas básicas (Cuenta plaquetas, TP, TTPa, TT, TR) y en el análisis de la cuantificación de factores de coagulación los factores II, VII y X los valores fueron normales. a excepción del fibrinógeno que en las percentiles 25 – 75 tuvo valores mayores a los valores de referencia, esto puede estar en relación a que el fibrinógeno es una proteína de fase aguda y se incrementa en la actividad tumoral. En los marcadores de hipercoagulabilidad (Tabla 5) no se encontraron deficiencias de los inhibidores naturales como; Proteína C, Proteína S, Antitrombina, Plasminógeno y Dímeros D. por otra parte el marcador fibrinolítico PAI-1 mostró valores normales.

Al efectuar el análisis comparativo del FT entre los grupos de RC y Recaída se observó una diferencia estadísticamente significativa ( $P = 0.005$ ), al igual que el complejo de activación FT/VIIa con un valor de  $p = 0.019$ . Otra variable que tuvo diferencia significativa fue la DHL.

EL RR para los enfermos con FT alto fue de 3.8 (IC 1.3 – 11.3) y para el complejo FVII/FT fue de 2.31 (IC 95% 1.006 – 8.494) valores que confirman la importancia del FT como factor pronóstico para recaída en pacientes con LNoH. Al estimarse la fuerza de la asociación mediante la prueba de X2 se encontró un valor de  $p < 0.05$ .

Estos resultados confirman por primera vez en pacientes con LNoH de células B que el incremento en el factor tisular si tiene una asociación con la recaída, evidencia que se confirmó al efectuar la regresión lineal múltiple donde se encontró que el FT, la deshidrogenasa láctica y el Índice Pronóstico Internacional son factores que influyen significativamente sobre el desenlace (recaída).

Smeraro y cols <sup>13, 21</sup> han informado que la activación de la coagulación y el depósito de fibrina son hallazgos comunes en pacientes con Linfomas y en su estudio de marcadores de coagulación en 12 pacientes con Linfomas encontraron una mayor actividad procoagulante en comparación al grupo control de sujetos sanos y en todos los pacientes identificó altas



---

concentraciones del FT con una dependencia a la unión con el FVII, además de elevación significativa del PAI-1 y de Dímeros D. El estudio concluye que los monocitos en los pacientes con linfomas probablemente presentan anomalías funcionales que ocasionan una hiperexpresión del FT y una mayor actividad antifibrinolítica, de tal suerte que estas anomalías que se observan en estos pacientes con linfoma que se traducen en activación de la coagulación e inhibición fibrinolítica pueden jugar un papel importante en el depósito de fibrina asociado a linfomas. Sin embargo, Smeraro no determina si el FT tiene una función como marcador predictivo asociado a malignidad.

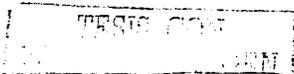
Estos datos coinciden por un lado con lo obtenido en nuestro estudio donde se observó un incremento significativo del FT, del complejo FT/FVII y una disminución del PAI-1. Pero en nuestro estudio además se pudo establecer la asociación entre la elevación del FT y la recaída con una RR de cercano a 4.

Los resultados obtenidos en nuestro estudio son consistentes con los publicados por otros autores <sup>44</sup> en relación a la asociación entre incremento en la expresión del FT y mayor malignidad e invasividad de algunos tumores. Kakkar y cols <sup>37</sup> ha demostrado niveles altos de FT y FVII en pacientes con tumores sólidos y esto sugiere que puede ser un mecanismo importante para la activación de la coagulación en el cáncer. Las células del Tumor pueden inducir también la expresión del FT por el sistema de monocitos macrófagos.

La elevación del FT en pacientes con L No H puede estar asociado a la influencia directa del tumor sobre la generación de factores angiogénicos. La función del FT en la angiogénesis parece depender en la capacidad de incrementar la regulación del gen del factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) y mejorar la angiogénesis tumoral la cual es crucial en el crecimiento tumoral y en la metástasis.

La determinación del FT en pacientes con L No H difusos de células B puede tener las siguientes implicaciones:

1. Como factor pronóstico puede permitir estratificar a pacientes con alto riesgo de recaída y establecer alternativas terapéuticas apropiadas para este tipo de pacientes.
2. El empleo terapéutico de inhibidores del FT en pacientes con FT incrementados, como lo he informado Falanga y cols<sup>25</sup>, donde observó una disminución en la expresión del FT en pacientes con Leucemia aguda promielocítica tratados con ATRA. Además, actualmente se



---

investigan otros mecanismos de terapia anticáncer que implican la regulación de la expresión de FT como la administración del FVII inactivado (FVIIai) o FVII mutado que limitará la formación del complejo FT/VIIa y esto probablemente evitaría la señalización interna que realiza el FT. Asimismo, también se investiga en ratones inoculados con células de melanoma humano la administración de un anticuerpo monoclonal antiFT, el H36, con propiedades inhibitorias sobre el complejo FT/VIIa.

Estas nuevas modalidades terapéuticas podrán asociarse a la administración de la poliquimioterapia con el objetivo de disminuir el riesgo de recaídas y aumentar la sobrevida libre de enfermedad.

El estudio del FT en pacientes con L No H abre un campo de posibilidades pronósticas y terapéuticas en estudios futuros asociados a la poliquimioterapia.



---

## 10. CONCLUSIONES

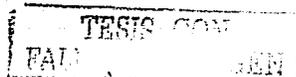
1. El incremento en la expresión del Factor Tisular se asocia significativamente con mayor porcentaje de recaídas en pacientes con Linfomas No Hodgkin de células B con un riesgo relativo de 3.8.
2. El Factor Tisular constituye un factor pronóstico independiente de la deshidrogenasa láctica y del Índice Pronóstico Internaciona para recaída en pacientes con L No H difuso de células B..
3. En el seguimiento de los pacientes incluidos en la cohorte no se documentó ningún caso de trombosis lo que confirma su baja prevalencia en esta población de pacientes.
4. El futuro del tratamiento de las enfermedades oncológicas es promisorio debido a los hallazgos sobre el empleo de la terapia anticoagulante<sup>45</sup>, específicamente las heparinas de bajo peso molecular y su potencial efecto anticancerígeno, así como el empleo del ácido transretinoico (ATRA) en pacientes con incremento en la expresión del factor Tisular.

---

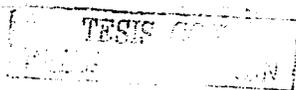
## 11. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS:

- 1.- Francis JL, Biggerstaff, Amirkhosravi A. Hemostasis and malignancy. *Sem Tromb Hemost* 1998; 2:93-109
- 2.- Trousseau A. Phlegmasia alba dolens. In: Anonymous. Clinique Medicale de l'Hotel de Paris. *The New Sydenham Society, London 1865;3:94-96.*
- 3.- Billroth T. Lectures on surgical pathology and therapeutics. A handbook for students and practitioners. Ed. 8. London, *New Sydenham Society, 187, p 1877-1878.*
- 4.- Donati MB, Falanga A. Pathogenetic mechanisms of thrombosis in malignancy. *Acta Haematol* 2001; 106: 18-24.
- 5.- Rajan R, Levine M, Gent M, Hirsh J, Geerts W, Skingley P, Julian J. The occurrence of subsequent malignancy in patients presenting with deep vein thrombosis: Results from a historical cohort study. *Thromb Haemost* 1998;79:19-22.
- 6.- Agnelli G. Venous thromboembolism and cancer: a two way clinical association. *Thromb Haemost* 1998;78:117-20.
- 7.- Prins MH, Hettiarachchi RJK, Lensing AWA, Hirsh J. Newly diagnosed malignancy in patients with venous thromboembolism. Search or wait and see?. *Thromb Haemost* 1998;78:121-5.
- 8.- Prandoni P, Lensing AWA, Buller HR, Cogo A, Prins MH, Cattelan AM, Cuppini S, Noventa F, Ten Cate JW. Deep-vein thrombosis and the incidence of subsequent symptomatic cancer. *N Engl J Med* 1992;327: 1128-1133.
- 9.- Rickles FR, Levine MN. Epidemiology of thrombosis in cancer. *Acta Haematol* 2001; 106: 6-12.
- 10.- Sack GH, Levin J, Bell WR. Trousseau's syndrome and other manifestations of chronic disseminated coagulopathy in patients with neoplasms. *Medicine* 1977; 56: 1-37.
- 11.- Cantwell BMJ, Carmichael J, Ghani SE, Harris AL. Thrombosis and thromboemboli in patients with lymphoma during cytotoxic chemotherapy. *BMJ* 1998; 297: 179-180.

- 
- 12.- Francis JL, Biggerstaff J, Amirkhosravi A. Hemostasis and malignancy. **Sem thromb Haemost 1998; 2: 93-109.**
- 13 - Lebeau B, Chastang C, Brechot JM. Subcutaneous heparin treatment increases survival in small cell lung cancer "Petites cellules" group. **Cancer 1994;74:38-45.**
- 14.- Gallus AS. Prevention of post-operative deep leg vein thrombosis in patients with cancer. **Thromb Haemost 1998;78:126-32.**
- 15.- Prandoni P. Antithrombotic strategies in patients with cancer. **Thromb Haemost 1998;78:141-4.**
- 16 - Thibault-Gouin, Achkar A, Samama M. The thrombophilic state in cancer. **Acta Haematol 2001; 106: 33-42.**
- 17 - Gale AJ, Gordon SG. Update on tumor cell procoagulant factors. **Acta Haematol 2001; 106: 25-32.**
- Martin DM, Boys WG, Ruf W. Tissue factor: molecular recognition and cofactor function. FASEB 1995; 10: 852- 859**
- 9.- Schmitt M, Harbeck N, Thomssen C, Wilhelm O, Magdolen V, Reuning U, Ulm K, Höfler H, Janicke F, Graeff H. Clinical impact of the plasminogen activation system in tumor invasion and metastatic prognostic relevance and target for therapy. **Thromb Haemost 1998;78:285-96.**
- 10.- Edgington TS, Dickinson CD, Ruf W. The structural basis of function of the TF-VIIa complex in the cellular initiation of coagulation. **Thromb Haemost 1997; 78:401-5**
- 11 - Banner DW. The factor VIIa/ tissue factor complex. **Thromb Haemost 1997; 78:512-5.**
- 12.- Bajaj MS, Bajaj SP. Tissue factor pathway inhibitor: potential therapeutic applications. **Thromb Haemost 1997; 78:471-7**
- 13.- Semeraro N, Colucci M. Tissue factor in health and disease. **Thromb Haemost 1997; 78:759-64.**
- 14.- Osterud B. Tissue factor : a complex biological role. . **Thromb Haemost 1997; 78:765-69.**



- 
- 15.- Carmeliet P, Collen D. Tissue factor. *Int J Biochem Cell Biol* 1998; 30:661-67.
- 16.- Hamada K, Kuratsu J, Saitoh Y, Takeshima H, Nishi T, Ushio Y. Expression of tissue factor correlates with grade of malignancy in human glioma. *Cancer* 1996;77:1877-83.
- 17.- Kakkar AK, Lemoine NR, Scully MF, Tebbutt S, Williamson RC. Tissue factor expression correlates with histological grade in human pancreatic cancer. *Br J Surg* 1995;82:1101-4.
- 18.- Shigemori C, Wada H, Matsumoto K, Shiku H, Nakamura S, Suzuki H. Tissue factor expression and metastatic potential of colorectal cancer. *Thromb Haemost* 1998;80:894-98.
- 19.- Sawada M, Miyake S, Ohdama S, Matsubara O, Masuda S, Yakumaru K, Yoshizawa Y. Expression of tissue factor in non-small-cell lung cancers and its relationship to metastasis. *Br J Cancer* 1999;79:472-77.
- 20.- Koomagi R, Volm M. Tissue factor expression in human non-small-cell-lung carcinoma measured by immunohistochemistry: correlation between tissue factor and angiogenesis. *Int J Cancer* 1998;79:19-22.
- 21.- Semeraro N, Montemurro P, Giordano P, Santoro N, De Mattia D, Colucci M. Increased mononuclear cell tissue factor and type-2 plasminogen activator inhibitor and reduced plasma fibrinolytic capacity in children with lymphoma. *Thromb Haemost* 1994;72(1):54-7.
- 22.- Ruco LP, Pittiglio M, Dejana E, Baroni CD. Vascular activation in the histopathogenesis of Hodgkin's disease: potential role of endothelial tissue factor in intravascular thrombosis and necrosis. *J Pathol* 1993;171:131-6.
- 23.- Adida C, Ambrosini G, Plescia J, Crotty PL, Costa J, Altieri DC. Protease receptors in Hodgkin's disease: expression of the factor Xa receptor, effector cell protease receptor-1, in Reed-Sternberg cells. *Blood* 1996;88: 1457-64.
- 24.- Shibakura M, Koyama T, Saito T, Shudo K, Miyasaka N, Kamiyama R, Hirokawa S. Anticoagulant effects of synthetic retinoids mediated via different receptors on human leukemia and umbilical vein endothelial cells. *Blood* 1987;90:1545-51.



---

25.- Falanga A, Consonni R, Marchetti M, Locatelli G, Garattini E, Passerini CG, Gordon SG, Barbui T. Cancer procoagulant and tissue factor are differently modulated by all-trans-retinoic acid in acute promyelocytic leukemia. *Blood* 1998;92:143-51.

26.- Armitage JO, Weisenburger for the Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project. New Approach to classifying Non-Hodgkin's lymphomas: clinical features of the major histologic subtypes. *J Clin Oncol* 1998; 16:2780-95.

27.- Dirección General de Epidemiología. Compendio del registro histopatológico de neoplasias en México. *Secretaría de Salud, México* 1997; 73-6.

28.- Aviles A, Diaz Maqueo JC, Talavera A. Effect of granulocyte colony stimulating factor on the treatment of diffuse large cell lymphoma. *Leuk Lymph* 1994;15:153-7.

29.- Harris NL, Jaffe ES, Stein H, Banks PM, Chan JKC, Cleary ML, Delsol G, De Wolf-Peters C, Falini B, Gatter KC, Grogan TM, Isaacson PG, Knowles DM, Mason DY, Müller-Hermelink HK, Pileri SA, Pines MA, Ralfkiaer E, Warnke RA. A revised European-American classification of Lymphoid Neoplasms: A proposal from the international lymphoma study group. *Blood* 1994;84: 1361-92.

30.- Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project. A clinical evaluation of the international lymphoma study group classification of non-hodgkin's lymphomas. *Blood* 1997; 89:3909-18.

31.- Hernández Ávila M, Garrido-Latorre F, López-Moreno S. Diseño de estudios epidemiológicos. *Rev Salud Pública* 42(3):144-54.

32.- The International non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project. A predictive model for aggressive non Hodgkin's Lymphoma prognostic factors project. *N Engl J Med* 1993;329:987-94.

33.- Lazcano-Ponce E, Fernández E, Salazar Martínez E, Hernández Ávila M. Estudios de Cohorte. Metodología, sesgos y aplicación. *Rev Salud Pública* 42(3):230-41.

34.- Maiolo A, Tua A, Grignani G. Hemostasis and cancer: tumor cells induce the expression of tissue factor-like procoagulant activity on endothelial cells. *Haematologica* 2002; 87:624-628.

- 
35. Sorensen HT, Møllekjær L, Steffensen FH, Olsen JH, Nielsen GL. The risk of a diagnosis of cancer after primary deep venous thrombosis or pulmonary embolism. *N Engl J Med* 1998; **338**:1169-73.
36. Hillen HF. Thrombosis in cancer patients. *Ann Oncol* 2000; **11**:273-6.
37. Kakkar AK, Chinswangwatanakul V, Lemoine NR. Role of tissue factor expression on tumour cell invasion and growth of experimental pancreatic adeno-carcinoma. *Br J Surg* 1999; **86**: 890-894.
38. Nakasaki T, Wada H, Shigemori C, Miki C, Gabazza EC, Nobori T. Expression of tissue factor and vascular endothelial growth factor is associated with angiogenesis in colorectal cancer. *Am J Hematol* 2002; **69**(4): 247-54.
39. Contrino J, Hair G, Kreutzer DL, Rickles FR. In situ detection of tissue factor in vascular endothelial cells: correlation with the malignant phenotype of human breast disease. *Nat Med* 1996; **2**:209-15.
40. Fernandez PM, Rickles, Frederick R. Tissue factor and angiogenesis in cancer. *Current Opinion in Hematology* 2002; **9**:401-406.
41. Luboshitz J, Bairey O, Blickstein D, Vaknin H, Okon E, Lahav J, Prokocimer M. Cutaneous necrosis as a terminal paraneoplastic thromboembolic event in a patient with non-Hodgkin's lymphoma. *J Intern Med* 1999; **245**:301-5
42. Shaw BE, Perry D, Hoffbrand AV. Progressive arterial thrombosis in a patient with non-Hodgkin's lymphoma, a lupus anticoagulant, factor V Leiden mutation and paraprotein, following chemotherapy. *Leuk Lymphoma* 2001; **42**:221-3
43. Haire WD, Pirruccello SJ, Carson SD. Monocyte tissue factor in treated Hodgkin's disease. *Leuk Lymphoma* 1994; **12**:259-63
44. Hoffman R, Haim N, Brenner B. Cancer and thrombosis revisited. *Blood Reviews* 2001; **15**: 61-67
45. Bick RL. Cancer-Associated Thrombosis. *New Engl J Med* 2003; **2**:109-111.
46. Lykke J, Nielsen HJ. The role of tissue factor in colorectal cancer. *EJSO* 2003 ; **29**:417-422

