

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
FACULTAD DE MEDICINA**



**INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA
"IGNACIO CHÁVEZ"**

**"ALTERACIONES DE LA FIBRINOLISIS (LISIS DE
EUGLOBULINAS POSTOCCLUSIÓN VENOSA) EN PACIENTES
JÓVENES SUPERVIVIENTES DE INFARTO DE MIOCARDIO"**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE LA
ESPECIALIDAD DE CARDIOLOGÍA**

P R E S E N T A :

DRA. MARIBERL ALVARADO MONTES DE OCA

T U T O R

DR. RAÚL IZAGUIRRE ÁVILA



MÉXICO, D.F.

FEBRERO 2006



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



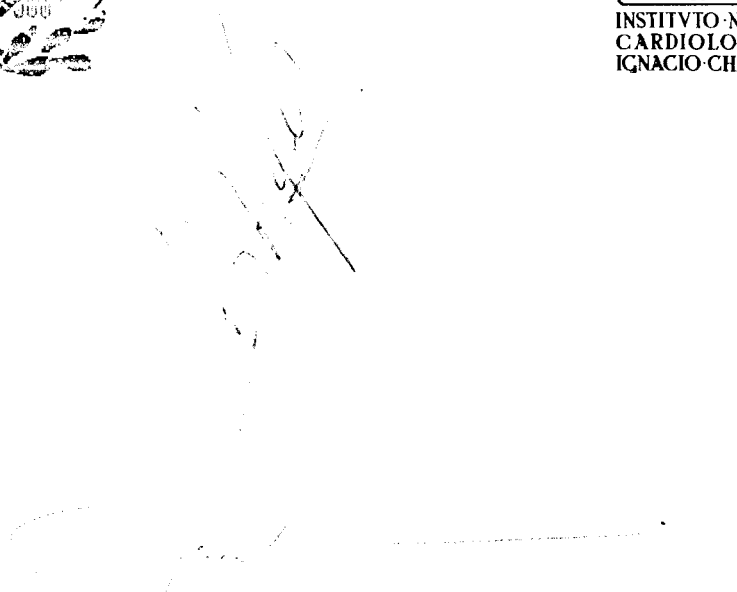
UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso


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.




Tutor: Dr. Raúl Izaguirre Ávila
Jefe del Servicio de Hematología del
Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez"


Dr. José Fernando Guadalajara Boo
Director de Enseñanza del
Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez"

AGRADECIMIENTOS.

Mil gracias al Dr. Izaguirre sin usted no hubiera logrado este trabajo, gracias por su tiempo.

Creame en este tiempo aprendí muchas cosas, no solo a como realizar la tesis
Concluyo diciendole que es alguien admirable!!.

Al Dr. Yigal Piña quién ayudo al análisis estadístico de esta tesis.

Gracias a la secretaria Angela Carmona.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES.

A ti te agradezco infinitamente la oportunidad que me das de vivir y poder seguir adelante, sabes que sin ti jamás lograría mis metas que aunque difíciles contigo es fácil. Gracias Dios.

A ustedes Rafael y Consuelo que me regalaron la vida los amo, gracias por su apoyo incondicional y por su amor.

A mis viejitos María, Gloria y Rafael, gracias por su amor, su paciencia y su ejemplo de perseverancia.

A ti Oscar, Bety, Ivonne y Coco infinitas gracias por quererme como soy. De cada uno guardo lo mejor. Los quiero mucho.

Tía gracias por apoyarme siempre y por ser como mi hermana mayor .

Erick, Axel y Danae, luchan por sus objetivos los quiero.

A mis amigos de siempre: Mónica León, Gabriela Juárez, Gabriela Meléndez, Ana Julia Botello, Alfonso Narvaéz, Luis Bojorquez, Guillermo Corpus, Ernesto García y Alfonso Fuentes de verdad son excelentes!!!!, Infinitas gracias por ser mis amigos. Les dedico estas líneas en especial a Poncho y Raskin: los quiero mucho!!!

A mis nuevos amigos: Jesús, Ana Berni, Pedro, Erick, Juan Carlos, Hilda, Ricardo gracias por estar conmigo en momentos especiales..... saben que cuentan conmigo.

A Mizraym de ti he aprendido muchas cosas y aunque tengo mucho que agradecerte solo te mencionaré algunas: gracias por tenerme paciencia, por ayudarme a salir adelante y sobre todo infinitas gracias por dejarme disfrutar tu alegría y tristeza.

Gracias por tu tiempo y amistad cosas que jamás te podré pagar. Que Dios te cuide siempre.

INDICE.

I. Antecedentes	3.
1.Sistema Fibrinolítico.....	3.
2. Efectos Hemodinámicos.....	7.
3. Endotelio.....	9.
4. Plaquetas.....	13.
5. Coagulación.....	18.
II. Fibrinólisis.....	24.
1. Mecanismos moleculares.....	24.
2. Función del plasminógeno.....	27.
3. Activadores del plasminógeno.....	29.
4. Urokinasa.....	31.
5. Activadores de la fibrinólisis.....	33.
6. Inhibidores y atenuación de la fibrinólisis.....	33.
7. Activadores de plasmina en la fibrinólisis.....	35.
8. Acciones no fibrinolíticas de la plasmina.....	35.
III. Patogénesis de la trombosis.....	36.
IV. Cuantificación de la fibrinólisis.....	39.
V. Mediciones de los productos de degradación.....	45.
1. Tiempo de lisis de euglobulinas post oclusión venosa.....	45.
2. Tiempo de lisis del coágulo de sangre entera diluida.....	47.
3. Respuesta fibrinolítica a la estasis venosa.....	48.
4.Determinación de la actividad fibrinolítica en la placa de fibrina.....	49.

VI. Justificación de la tesis.....	50.
VII. Pregunta de investigación.....	50.
VIII. Objetivos primarios.....	51.
IX. Objetivos secundarios.....	51.
X. Material y métodos.....	52.
XI. Características de la población.....	53.
XII. Descripción operacional de las variables.....	54.
XIII. Criterios de inclusión.....	56.
XIV. Criterios de exclusión.....	56.
XV. Pruebas especiales.....	57.
XVI. Resultados.....	58.
XVII. Metodología.....	59.
XVIII. Análisis estadístico.....	61.
XIX. Discusión.....	72.
XX. Conclusiones.....	74.

ANTECEDENTES

Sistema fibrinolítico

Los constituyentes sanguíneos normalmente no tienen una interacción con el endotelio vascular íntegro. Esta interfase entre los componentes sanguíneos, que son muy reactivos y las estructuras vasculares no endoteliales (componentes muy trombogénicos) se mantiene por múltiples mecanismos activos y pasivos (Figura 1). La alteración mecánica de los vasos sanguíneos inicia una respuesta hemostática localizada en la que participan el endotelio vascular, las plaquetas, la coagulación y la fibrinólisis. Al inicio el factor tisular (FT) que se expresa en las células de la adventicia, se une ávidamente con el factor VII/VIIa plasmático que conduce a la activación de los factores IX y X y la subsecuente generación de trombina a través de complejos cofactor-enzima en la superficie de los fosfolípidos.

La trombina activa a las plaquetas, al fibrinógeno y al factor XIII produciendo un tapón hemostático constituido por plaquetas adherentes y coherentes, fibrina insoluble, leucocitos y eritrocitos atrapados. Este tapón hemostático es estabilizado por puentes cruzados de fibrina. Los tapones hemostáticos son sometidos a una eliminación lítica gradual a través de la fibrinólisis mediada por plasmina. La hemostasis se altera por cambios funcionales en el endotelio, las plaquetas, la coagulación o la fibrinólisis ^{1 2 3}.

La denudación endovascular ó las superficies de un flujo a través de una prótesis inician la trombogénesis e involucran el depósito de plaquetas, fibrina insoluble, leucocitos y eritrocitos en patrones variables dependientes de flujo que producen masas mecánicas que pueden ocluir el flujo sanguíneo vascular o se pueden desprender y embolizar para ocluir el flujo sanguíneo.

Las anomalías en la sangre, en el flujo sanguíneo y los vasos sanguíneos contribuyen a la formación del trombo (triada de Virchow) ⁴. Las condiciones del flujo arterial producen trombos ricos en plaquetas (trombo blanco), el flujo venoso estático produce trombos ricos en fibrina y eritrocitos (trombo rojo). La fibrinólisis endógena elimina en forma gradual los trombos formados y los mecanismos endoteliales limitan la extensión y la propagación del trombo. El sitio, el tamaño, la composición del trombo, así como la tromboembolia están determinados por los efectos mecánicos hemodinámicos, la cantidad y trombogenicidad de las superficies expuestas no endotelizadas, las concentraciones y reactividad del plasma y constituyentes sanguíneos y la efectividad de los mecanismos de protección fisiológica, particularmente las proteínas inhibidoras de las proteasas, la vía de la anticoagulación de la proteína C y la fibrinólisis.

Los tejidos vasculares que son dañados en forma mecánica y la ruptura de una placa aterosclerótica inician la generación de trombina dependiente de factor tisular que convierte el fibrinógeno en fibrina y regula el reclutamiento de las

plaquetas por la separación de los receptores de trombina acoplados a la proteína G (RT), en la formación de trombosis vascular estabilizada por fibrina que produce oclusión trombótica o tromboembólica de las arterias enfermas, resultando en infartos al miocardio, eventos vasculares cerebrales o isquemia periférica que amenazan la vida.

Las complicaciones trombo-oclusivas también se desarrollan en pacientes sometidos a procedimientos vasculares intervencionistas por enfermedad vascular aterosclerótica sintomática que incluye, angioplastia, varios tipos de aterectomías, endarterectomía, colocación de stent endovascular ó implante de injertos vasculares de pequeño calibre. Además, la reoclusión trombótica puede comprometer la terapia trombolítica para el infarto agudo de miocardio. La trombosis venosa y la tromboembolia también producen una incapacidad importante y muerte ^{1 2 3}.

Los efectos de cicatrización vascular tardíos de la lesión vascular mecánica o espontánea involucran la activación catalítica de los receptores de trombina, las plaquetas, los leucocitos, las células de músculo liso de la capa media vascular, el endotelio y otras células mesenquimatosas. Las células del músculo liso de la media proliferan y migran a la íntima, conduciendo a una proliferación de las células de músculo liso en la íntima y a la síntesis de la matriz extracelular que resultan en la formación local de estenosis ^{5 6 7 8 9 10}.

FACTORES PLAQUETARIOS.

Antitrombóticos.

- *NO
- *PGI₂.
- *Ecto-ADPasa.

Protrombóticos.

- * Secreción de vWF
- *Factor activador de plaquetas.
- * Expresión de Factor Tisular

FACTORES FIBRINOLITICOS

Antitrombóticos.

- *Secreción de tPA.
- *Secreción de scuPA.
- *Ligandos de los factores fibrinolíticos

Protrombóticos.

- *Secreción de PAI-1

FACTORES DE COAGULACIÓN.

Antitrombóticos

- *Trombomodulina.
- *Heparán sulfato.
- *TFPI

Protrombóticos.

- *Ligandos de los factores IX y X.
- *Fosfolípidos de membrana.
- *Secreción del factor V.

FACTORES VASOMOTORES.

Antitrombóticos

- *NO
- *PGI₂

Protrombóticos.

- *TxA₂.
- *Endotelio.

Figura -1

EFFECTOS HEMODINÁMICOS.

La sangre fluye normalmente con patrones de flujo que tienen características de una corriente que involucra capas de sangre cilíndricas y concéntricas con un flujo mínimo en la pared de los vasos y de forma sucesiva con un flujo más rápido a nivel de la corriente central.

La corriente central de eritrocitos desplaza a las plaquetas (que son más pequeñas y con carga similar) hacia la pared vascular, con una tendencia mínima hacia la migración radial interna.

En la formación del trombo, los agregados plaquetarios en formación tienen mayores tiempos de permanencia y mayor probabilidad de adhesión a la pared vascular. Cuando el flujo sanguíneo se altera (como en los patrones de vórtice que se producen en el sitio distal a una estenosis), las plaquetas activas, los factores de coagulación o los factores que inducen daño vascular se concentran y retienen en la pared del vaso.

Los trombos ricos en plaquetas se forman en sitios de estrechez arterial que tienden a embolizar debido a un incremento en las fuerzas de estrés y a una dilución más rápida de las plaquetas activas. Por lo tanto, la formación de un trombo oclusivo es poco probable hasta que exista una alteración y retraso en el flujo sanguíneo. Cuando el flujo sanguíneo se detiene, la formación del trombo se propaga en los segmentos proximales vasculares estancados y en los segmentos vasculares distales^{11 12}.

En las venas el flujo es lento y en ocasiones se interrumpe. Los trombos venosos generalmente comienzan en sitios de estasis máxima, frecuentemente como agregados plaquetarios en los reservorios de las válvulas venosas o en los sinusoides venosos intramusculares de las piernas¹³.

Cuando la estasis se combina con una lesión vascular focal existe una formación facilitada de trombos venosos debido a la activación local de las plaquetas y de las proteínas de la coagulación. La alteración en los mecanismos de protección también predispone a eventos trombóticos venosos. Un ejemplo

es el incremento en los eventos tromboembólicos venosos en los pacientes con deficiencias hereditarias de: antitrombina III, proteína C, proteína S, mutación Leiden (resistencia a la proteína C activada) y una actividad fibrinolítica reducida^{14 15}. De igual forma, existe un incremento importante en la probabilidad de trombosis venosa cuando la estasis se asocia con la circulación de especies protrombóticas (como las asociadas a enfermedades malignas) o con daño tisular remoto. También el desarrollo de trombosis venosa es predecible (ejemplo: la alta probabilidad de trombosis venosa como complicación por una cirugía ortopédica) cuando hay una combinación de estasis con lesión vascular local y la activación sistémica de las plaquetas y los factores de la coagulación¹⁶.

ENDOTELIO.

En el sistema circulatorio el endotelio constituye la interfase estructural y funcional entre la sangre y los sistemas vasculares que incluyen, el proceso de hemostasis, la formación de trombo y la aterogénesis. La localización anatómica endotelial, el área de superficie interactiva extensa y la magnitud de la masa tisular contribuyen a sus papeles funcionales como una membrana con permeabilidad selectiva, compatibilidad sanguínea, con respuestas inflamatorias y respuestas vasomotoras, regulación de factores de crecimiento y respuesta hormonal^{17 18 19}.

La extensión descontrolada de trombo a través del sistema vascular se evita por múltiples mecanismos sanguíneos y dependientes del endotelio diseñados para limitar la formación del trombo en el sitio de lesión vascular. La eficacia de estos mecanismos relacionados al endotelio son más importantes en la microcirculación,

debido a que la relación del área de superficie endotelial sobre el volumen sanguíneo es mayor en los capilares.

La carga negativa luminal, los glucosaminoglucanos no reactivos y el extenso glucocálix endotelial aislan la pared del vaso de los elementos sanguíneos.

El endotelio intacto también elimina las aminas vasoactivas e inactiva proagregantes como el difosfato de adenosina (ADP por sus siglas en inglés adenosine diphosphate) por medio de la ADPasa de la membrana ¹⁹.

Los mecanismos endoteliales más importantes para limitar la extensión del trombo están relacionados con la inactivación de la trombina, la reducción en la generación de la trombina y la producción de factores antitrombóticos y vasodilatadores (estimulados por trombina) por el endotelio intacto. La trombina que ingresa a la circulación es inactivada en forma directa por los inhibidores de proteasa plasmáticos ²⁰. La antitrombina III, una proteína plasmática de 58,000 daltons, inhibe a la trombina y a los factores XIa, Xa y IXa (pero no al factor VIIa en la ausencia de FT). Sin embargo, la antitrombina III inactiva de forma lenta a las proteasas de serina. El proceso se acelera varias veces en magnitud cuando la antitrombina III se une a la heparina. La inactivación por la antitrombina III se facilita de forma similar por los glucosaminoglucanos parecidos a la heparina, particularmente el heparán sulfato y la trombomodulina sobre las superficies endoteliales. La protección proporcionada por la antitrombina III se muestra por la predisposición trombótica de los pacientes con deficiencia heterocigota de antitrombina III plasmática. Otra proteína unida al endotelio, el inhibidor del factor tisular (TFPI por sus siglas en inglés tissue factor pathway inhibitor) inactiva los factores VIIa y Xa al formar complejos cuaternarios (TFPI,

FT y factores VIIa y Xa) en la presencia de los fosfolípidos de superficie y los iones de calcio²¹.

La trombina estimula al endotelio para producir prostaciclina y óxido nítrico (ON ó factor relajante derivado del endotelio - EDRF- endothelial -derived relaxing factor) dos potentes vasodilatadores locales antiagregantes^{19 22}. Estas moléculas contribuyen de forma significativa a la protección antitrombótica de los lechos microvasculares distales a los sitios de formación del trombo.

Además, la trombina induce la liberación endotelial del activador tisular de plasminógeno (t-PA por sus siglas en inglés:tissue-plasminogen activador) y urokinasa (u-PA) en el endotelio intacto^{19 23 24}.

El t-PA se une con la fibrina presente en el trombo y forma un complejo trimérico con el plasminógeno circulante o unido que resulta en la formación de plasmina y por lo tanto un incremento en la fibrinólisis.

El endotelio proporciona la superficie de fosfolípidos para la construcción de la actividad fibrinolítica que condiciona la formación de plasmina²⁵.

La trombina también se une con la trombomodulina, una proteína constitutiva de la membrana endotelial (100,000 copias por célula endotelial) formando un complejo termomolecular con la proteína C que de forma catalítica activa al cimógeno de la proteína C (un antitrombótico natural)^{26 27}.

La trombomodulina está constituida por seis dominios tipo factores de crecimiento epidérmico (EGF: epidermal growth factor). Las repeticiones de la trombomodulina tipo EGF 2 a 6 facilitan la activación de la proteína C por la trombina y las repeticiones 5 y 6 proporcionan el sitio para la unión a la trombina. La proteína C es un cimógeno plasmático de 56,000 dalton vitamina K dependiente que circula

en una concentración de 0.1 $\mu\text{mol/L}$. Tanto la proteína C y la proteína C activada contienen residuos de residuos ácidos gama-carboxiglutámico y beta-hidroxiaspartico, por lo tanto retienen los complejos formados calcio dependientes unidos a la superficie de las células endoteliales. La proteína C activada, inactiva en forma catalítica al factor Va unido a la superficie^{15 27}.

La importancia de la activación de la proteína C en la protección contra la formación de trombos no deseados, es evidente en las consecuencias trombóticas que ponen en riesgo la vida de los recién nacidos con deficiencia homocigota y la predisposición a trombosis en algunos individuos heterocigotos.

La proteína S es un cofactor para la activación de la proteína C a nivel de las plaquetas y el endotelio con gran importancia biológica pero poco conocida.

La proteína S favorece la eficacia de la inactivación del factor Va y el factor VIIIa unidos a membrana mediada por la activación de la proteína C. La proteína S circula en la sangre como una proteína libre y activa en asociación no covalente con una multisubunidad proteica del sistema de complemento (C4bBP) en un estado inactivo. Los pacientes con estados de deficiencia hereditaria heterocigota están predispuestos a eventos trombóticos. Por lo tanto, las vías de la proteína C, la trombomodulina y la proteína S proporcionan un importante mecanismo protector dependiente de trombina que inicia una regulación de retroalimentación negativa para disminuir la producción de trombina misma.

PLAQUETAS.

Las plaquetas se agregan en la superficie no-endotelizada por adherencia, activación, y diseminación con un subsecuente reclutamiento aumentando de forma rápida el trombo de plaquetas. Este proceso involucra (a) la adhesión plaquetaria en el subendotelio; (b) la activación plaquetaria a fondo que lleva a la expresión de los receptores de membrana plaquetarios integrinas para el fibrinógeno y otras proteínas de adhesión, que inician el proceso contráctil que cambia la forma y secreción del contenido granular; (c) cohesión plaquetaria, que es a través de puentes interplaquetarios de fibrinógeno; y (d) el reclutamiento plaquetario mediado por la trombina, ADP y tromboxano A2 (TxA2), tres potentes agonistas interactivos ^{1,3 28}

La adhesión plaquetaria involucra el transporte difuso de las plaquetas en la superficie reactiva y la interacción de los receptores de la glucoproteína de superficie plaquetaria en la lesión de la pared o con proteínas de adhesión de la superficie de biomateriales.¹²

Las plaquetas son reactivas a las proteínas de adhesión de la matriz celular del subendotelio que incluyen el factor de von Willebrand (vWF), fibrinógeno, fibronectina, laminina, vitronectina y trombospondina. Los receptores de membrana y su respectivo acoplamiento de los ligandos extracelulares capaces de mediar la adhesión plaquetaria incluyen (a) GPIIb/IX-vWF; (b) GPIa/IIa-colágeno; (c) GPIIc/IIa-fibronectina, (d) GPIIc/IIa-laminina; (e) recepto vitronectina/vWF/fibronectina/trombospondina; (f) GPIIb/IIIa-fibronectina/trombospondina/vitronectina; y (g) GPIV-trombospondina/colágeno^{29 30 31}.

Las plaquetas inactivadas se adhieren al sitio de lesión vascular desnuda, por las proteínas de la matriz, proteínas de adhesión (vWF, fibrinógeno, trombospondina, laminina, fibronectina y vitronectina) se expresan en una conformación capaz de ligar de forma directa con los receptores plaquetarios GPIb/IX, en particular bajo ciertas condiciones, vWF, fibrinógeno y fibronectina. El GPIb/IX, un complejo heterodímero, es la más prominente sialoglicoproteína de la membrana plaquetaria (25000 copias por plaqueta) que contribuye a su carga negativa.

GPIb/IX media la adhesión plaquetaria y sirve como receptor de factor de vW. Inmoviliza o expone el subendotelio vascular. El dominio citoplasmático de GPIb/IX conecta la membrana plaquetaria a los ligandos de las proteínas de actina que cruzan con la polimerización de los filamentos de actina del esqueleto de la submembrana. La agregación plaquetaria se inicia por señales intracelulares que llevan a diseminar la expresión funcional de los receptores de fibrinógeno alfa IIb beta tres y la secreción plaquetaria. Los pacientes en los que falta GPIb/IX (enfermedad de Bernard-Soulier) tienen alteraciones hemorrágicas causados por la disfunción plaquetaria. En forma similar los pacientes con factor vWF disfuncional o reducido (enfermedad de vWF) manifiestan alteraciones para la formación del tapón hemostático. GPIV es el principal receptor plaquetario para trombospondina y puede ser una alternativa como receptor para colágena.

Los receptores de integrinas comprenden una familia de receptores de membrana plaquetaria que están constituidas por dos subunidades, alfa y beta. El sitio de los ligandos de los receptores de las integrinas parece estar formado por

secuencias de ambas subunidades y sus dominios citoplasmáticos que tienen conexión con el citoesqueleto. GPIIb/IIIa está restringido a los megacariocitos, y a los productos plaquetarios, mientras los receptores de vitronectina también se expresan por los macrófagos y por las células hematopoyéticas.^{29 31}

La trombina es un activador crítico importante en el proceso de la formación del tapón hemostático, como se muestra por las consecuencias letales de la eliminación de los genes, por el sustrato de la protrombina, o por otros factores que llevan a la producción.³²

La trombina también es el más importante agonista fisiológico en el proceso de reclutamiento de plaquetas en la formación de trombos después de la lesión vascular.

Hay siete receptores de trombina transmembrana, moléculas de proteína G acoplada con relativa extensión de dominios extracelulares amino-terminal que reciben la activación por la trombina mediante el corte de los péptidos terminales y la producción de la secuencia de péptidos neoaminoterminal que activan a los receptores y unen a los ligandos.³³

Los receptores de transmembrana también se expresan en los leucocitos, endotelio y células de músculo liso. Los mecanismos catalíticos para los receptores se explican por la potencia de trombina que es un agonista plaquetario, y por la alta concentración de antitrombina III la cual requiere la activación de los receptores.³⁴

El segundo receptor transmembrana está designado como un activador de las proteasas receptor 3 (PAR-3)^{35 36}, de forma discriminativa los clásicos

receptores de membrana conocidos como PAR-1, y un análogo de la activación de proteasas receptor-2 (PAR-2) son activados por tripsina.³⁷

El PAR-3 se expresa en varios tejidos, incluyendo células hematopoyéticas, plaquetas de sangre periférica, y es activado por trombina y produce un neoaminoterminal con la secuencia Thr-Phe-Arg-Gly-Ala que inicia con señales³⁶ intracelulares fosfoinositol dependientes.

Ambos PAR-1 y PAR-3 contribuyen a la activación de los receptores transmembrana. Solo el TR antagonista previene la trombosis vascular in vivo.³⁸

La activación plaquetaria inicia con señales intracelulares que reconfiguran la conformación de señales intracelulares de la membrana plaquetaria alfa IIb beta 3, creando receptores de membrana para fibrinógeno y otras proteínas de adhesión.^{29 30 31}

Los ligandos interplaquetarios dependientes de calcio pueden entonces activar la expresión de los receptores plaquetarios, fibrinógeno bivalente, vWF, fibronectina, vitronectina, y trombospondina. El vWF puede sustituir al fibrinógeno cuando éste es deficiente o defectuoso. La trombospondina, fibronectina y vitronectina normalmente también parecen contribuir al proceso de reclutamiento plaquetario.

Las plaquetas generalmente contienen cerca de 50,000 copias de α IIb β 3 (1% a 2% del total de proteínas plaquetarias) distribuidas al azar en la superficie plaquetaria.

La subunidad α IIb consiste en una cadena pesada que se une por puentes disulfuro a una cadena ligera. La cadena ligera tiene un dominio transmembrana,

la subunidad β tres es una cadena polipeptídica simple que contiene un dominio transmembrana y 41 residuos citoplasmáticos en la cola.³⁹

La secuencia de Arg-Gly-Asp (RDG) se encuentra en la secuencia de las proteínas de adhesión, fibrinógeno, vWF, fibronectina, trombospodina, laminina, vitronectina; y colágeno. La capacidad de α IIb- β 3 es la de ligar proteínas de adhesión; esto se debe a la presencia común de la secuencia RDG. El fibrinógeno contiene esta secuencia en cada cadena alfa, una en el N-terminal (residuo 95-97) y una segunda cerca del C-terminal (residuo 572-574). Un sitio adicional del fibrinógeno es que liga el alfa IIb-Beta3 este es el carboxi-terminal dodecapéptido de cada cadena gama.

Los defectos genéticos que alteran al α IIb- β 3 o ambas unidades pueden causar la enfermedad de Glazmann, la cual se manifiesta como alteraciones en la hemostasia plaquetaria.^{29 30 31}

La expresión del ligando fibrinógeno α IIb β 3 está determinado bajo control intracelular, que se inibe por el incremento de AMPc.

Los cambios conformacionales de α IIb- β 3 se inician por señales intracelulares, la fosforilación específica de la tirosina o la treonina en beta 3 y la unión entre alfa IIb-b 3 en el citoesqueleto. Las señales de transducción inducen la activación de las células que involucran las proteínas G dependientes, activación de la fosfolipasa C, generación del inositol 1,4,5 trifosfato y diacilglicerol, la activación de la protein cinasa y la liberación de calcio citosolico del sistema tubular.⁴⁰

La importancia de la activación de los procesos es que induce la producción de dos agonistas plaquetarios: TXA2 (que son también potentes inductores de

vasoconstricción), generados por la vía del ácido araquidónico la conversión de diacilglicerol y endoperoxidasas, ADP, secretados por los gránulos densos. La trombina, ADP y TxA2 se unen a receptores específicos, que inician las señales que reducen la actividad de AMPc, inducen cambios y activan la contractilidad de las plaquetas, elementos que forman extensiones irregulares (pseudopodia) y secretan el contenido granular (ADP, ATP, serotonina y calcio de los gránulos densos, proteínas de adhesión y factores de coagulación de los gránulos alfa). Aunque la epinefrina y posiblemente la serotonina son agonistas plaquetarios, pueden promover la agregación plaquetaria en combinación con otros agentes estimulantes.

El colágeno y la trombina son claramente los más potentes inductores de la activación plaquetaria.^{29 30 31 40}

COAGULACIÓN.

La trombina es generada con rapidez en respuesta a la lesión vascular y juega un papel central en el reclutamiento y formación de la fibrina insoluble.⁴¹

^{42 43} La respuesta trombótica es localizada, amplificada y modulada. Las reacciones locales de la cascada de coagulación son activadas por ligandos reversibles de la circulación, células vasculares, elementos del subendotelio (especialmente colágeno), plaquetas y monocitos/macrófagos. Figura 2.

Estos eventos llevan al ensamblaje de los complejos enzimáticos que rápidamente liberan productos en la región local. La formación de los complejos

enzimáticos, las propiedades, los sustratos y la resistencia de los complejos ante los sistemas inhibitorios potentes son importantes características de la amplificación de los procesos.

Cada complejo comprende una proteasa vitamina K-dependiente⁴⁴ y un accesorio o cofactor protéico en asociación con la superficie de la membrana. La presencia de calcio es esencial para el ensamblaje y actividad de los complejos enzimáticos. Aunque cada complejo enzimático exhibe sustratos discretos y específicamente proteolíticos, los complejos tienen características comunes:

- a) Los complejos están constituidos funcional y estructuralmente de forma homóloga.
- b) La unión de los complejos tienen un patrón similar.
- c) La unión de los complejos amplifica la localización catalítica y la regulación de la conversión o la expresión de las proteínas de membrana o sus formas activas.

Los procesos de la activación proteolítica incluyen a los cofactores y sus formas activas Va y VIIa, la expresión proteínica del FT de la membrana integral, trombomodulina y la expresión y función de la reactividad de la membrana celular para estos complejos enzimáticos.

Ambos, la trombina y la activación de factor X (factor Xa), amplifican la formación y catálisis de la activación del factor VII a factor VIIa y la activación de factor V y VIII a factor Va y VIIIa. La activación de la trombina funciona para la expresión de los ligandos celulares y para la unión de los complejos de vitamina K-dependientes.

Los cimógenos de la vitamina K dependientes están formados en el hígado y se caracterizan por un dominio amino terminal Gla; este dominio contiene de nueve a doce ácidos glutámicos.

La protrombina también incluye dos kringle, que son dominios estructurales que facilitan los ligandos factor Xa y Va que son constituyentes de los complejos de protrombina.

Los otros cimógenos vitamina K dependientes, factores VII, IX y X, y proteína C substituyen dos dominios del factor de crecimiento epidermoide, los cuales tienen propiedades en la unión de los complejos.

La protrombina, factor VII y el factor IX se sintetizan en el hígado y circulan como proteínas de cadena ligera. El factor X y la proteína C circulan en el plasma como dos cadenas de proteínas, sin embargo durante la activación proteolítica el factor X, IX y la proteína C, activan a los péptidos específicos.

Los ligandos dependientes de calcio de los factores de vitaminas K dependientes o los ácidos fosfolipídicos de la membrana involucran la transición conformacional de los residuos aminotermianles 1 a 35.

Las reconfiguraciones conformacionales dependen de la carboxilación gama postranslacional de los sitios glutamato. La interrupción del proceso de carboxilación por la deficiencia dietética de los antagonistas de la vitamina K tales como las warfarina producen moléculas que no pueden interactuar con las membranas y eliminan la participación en la formación de los complejos enzimáticos.

Las 4 proteínas condicionan actividad de los coagulantes, factor V y VIII , circulan como proteínas plasmáticas inactivas, donde el factor tisular y la

trombomodulina son proteínas integrales de la membrana ancladas en los dominios de la transmembrana.

El factor tisular es una proteína que se encuentra en la membrana y no requiere activación.^{45 46} Esta consiste en el dominio citoplasmático que contiene cisteína. El dominio transmembrana y la macromolécula extracelular se une al dominio. El factor tisular abunda en las células extravasculares y también puede expresarse en los monocitos y posiblemente en las células endoteliales cuando hay una estimulación por químicos, citoquinas, endotoxinas aunque el factor tisular se expresa por las células endoteliales.⁴⁷ El factor tisular es un importante gatillo para iniciar la cascada de la coagulación en la ruptura de las lesiones ateromatosas causando una importante presencia de las placas y exposición a la sangre después de la ruptura de la íntima.⁴⁸

Los factores V y VIII son homólogos en parte en una configuración estructural común triplicada en los dominios A y duplicada en los C con estructura divergente B .

El factor V circula en plasma como una simple cadena proteica con una concentración de 20nmol/L. El factor V está también presente en los gránulos alfa de las plaquetas, y aproximadamente el 20% del factor V en la sangre contribuye para el proceso de coagulación.⁴⁹ La secreción del compartimento plaquetario parece esencial en el mantenimiento de la hemostasis normal.^{50 51}

El factor VIII circula en múltiples fragmentos junto con vWF en una concentración de 1nmol/L. Durante la activación de la trombina el factor Xa del dominio B está expuesto, lleva a la asociación de A1A2 con dominios A3C1C2. En el caso del factor Va, la activación de los heterodímeros

compuestos de derivados aminoterminales, cadenas pesadas(A1A2) y cadenas carboxiterminal (A3C1C2) que interactúan y tienen uniones no covalentes en presencia de los cationes divalentes.

La trombina actúa en el factor VIII, resultando un péptido NH₂ terminal del dominio A3 y de la liberación de vWF. La activación del factor VIII ocurre por la unión de los dominios de A1 y A2 resultando el heterodímero inestable factor molecular VIIIa. Ambos, el factor Va y VIIIa, se unen a la membrana que contiene fosfolípidos. La unión parece realizada en los dominios A3 y C2, los cuales son cadenas ligeras de las moléculas. Aunque las cadenas pesadas del factor Va son las responsables de la unión de la protrombina, el factor Xa se une dependiendo de de ambas cadenas ligeras y pesadas y de la molécula de Va.

Los factores Va y VIIIa se pueden inactivar por plasmina, formando péptidos pequeños polidispersos, y por APC por la unión de Va a los 2 sitios y factor VIIIa a un sitio simple produciendo proteínas inactivas.

La formación de los complejos de protrombinasa en la superficie de la membrana inicialmente involucra a los factores Va y Xa a la membrana. Esto es seguido por los complejos superficiales de la membrana y orientan a las proteínas y llevan a la unión de los complejos con una disociación constante de cerca de 1nmol/L. La reacción de la membrana tiene una afinidad constante en tres ordenes de mayor magnitud que se observan por la solución de fase entre los factores Va y Xa. Este enlace puede ser debido a cambios conformacionales en las dos proteínas que orientan a la reducción en la

permisible orientación de las reacciones moleculares. La activación de los factores intrínsecos IX y X funcionan facilitando y coordinando.

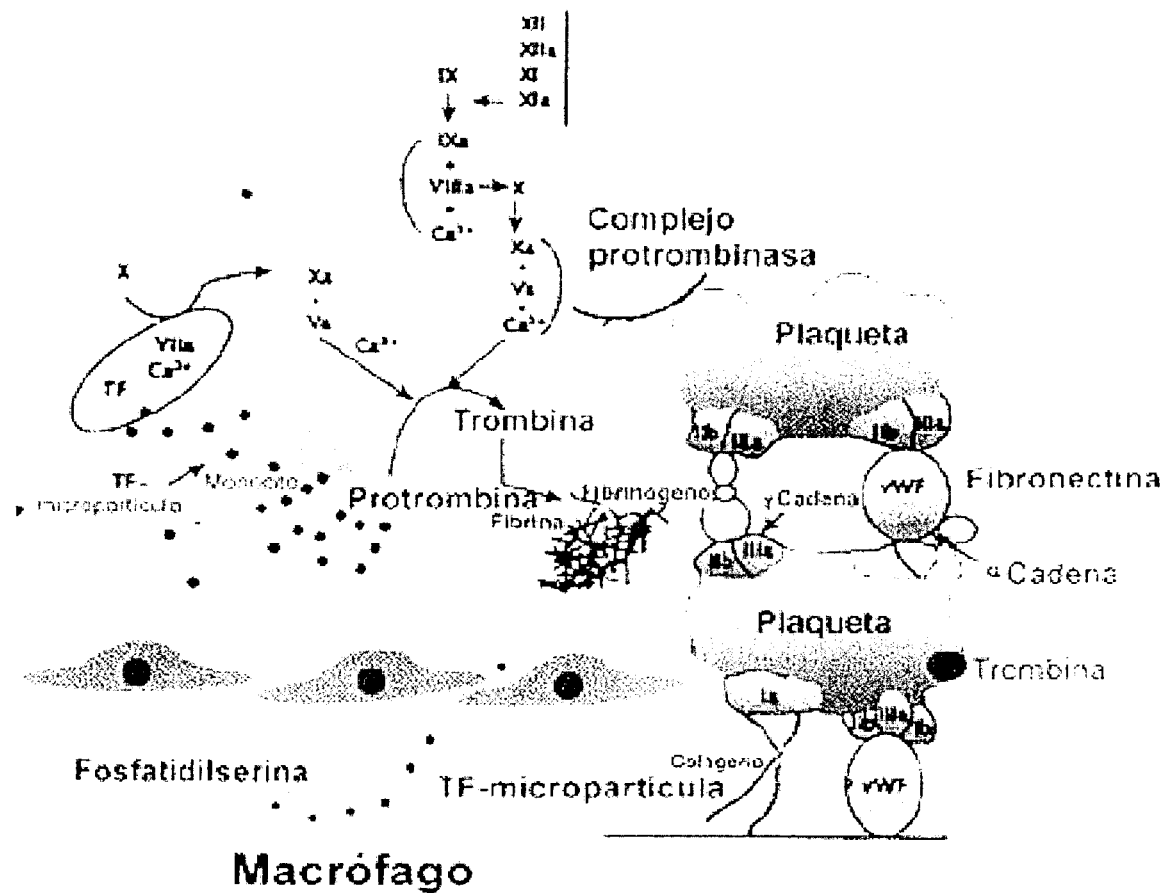


Figura 2.

En la gráfica se ilustran las reacciones locales de la cascada de la coagulación activada por ligandos reversibles de la circulación.

FIBRINOLISIS.

La fibrinolisis juega un importante papel en la disolución de la fibrina y en el mantenimiento del sistema vascular. El sistema fibrinolítico remueve la fibrina por digestión proteolítica de fibrina en los fragmentos solubles. En este proceso, la plasmina, una proteasa de serina está formada por el cimógeno plasminógeno por la acción de t-PA o plasminógeno activador de urokinasa (u-PA). La plasmina une fibrina y produce progresivamente una pequeña digestión de los productos, conteniendo 2 dominios D (dímero); cada monómero de fibrina es diferente y tiene uniones covalentes entre los factores XIIIa mediante la tranamidación y estabilización del fibrinógeno y resiste a la lisis de plasmina. La inhibición de la fibrinolisis puede ocurrir a nivel de t-PA y u-PA por inhibidores del activador específico (PAI-1 y PAI-2), por los niveles de plasmina, o por la alfa 2-antiplasmina.^{52 53}

MECANISMOS MOLECULARES DE LA FIBRINOLISIS.

La activación de la coagulación genera trombina, que convierte fibrinógeno en fibrina y activa a las plaquetas. Figura 3.

La plasmina es la mayor proteasa fibrinolítica y procede del plasminógeno(PLG)⁵⁴, que es un cimógeno que circula en el plasma, que puede ser convertido en forma activa por el activador tisular (tPA), o bien por la urokinasa.

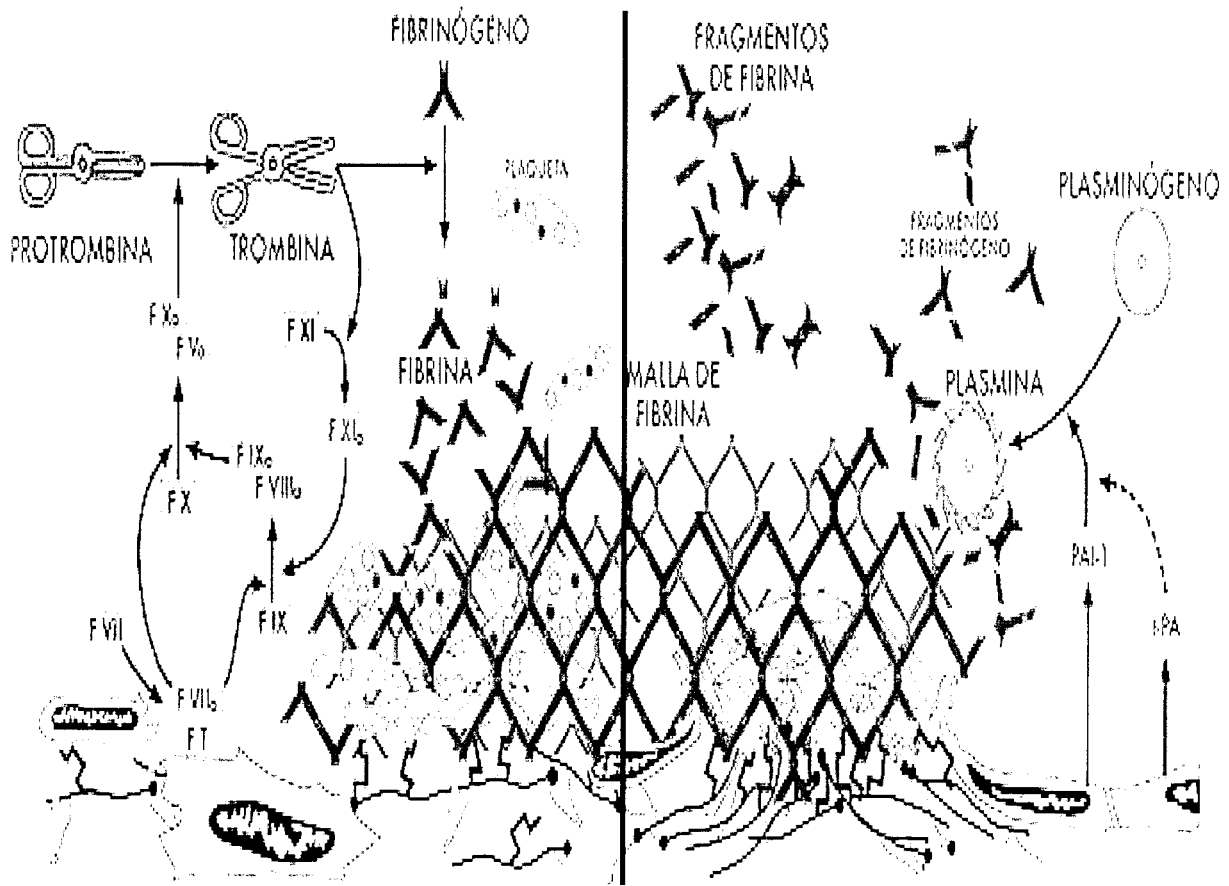


Figura 3. Formación de trombina por medio de la activación de la coagulación.

La fibrina es el mayor sustrato de la plasmina, y regula la digestión al unir PLG y tPA en la superficie.

La eficiencia catalítica de la activación del plasminógeno se facilita en presencia de fibrina, la afinidad entre tPA y PLG⁵⁴ es baja en ausencia de fibrina, pero se incrementa significativamente al estar presente.

La activación de la trombina remueve al inhibidor de la fibrinólisis activado por trombina (TAFI), estabiliza el trombo de fibrina y regula la conexión entre la coagulación y la fibrinólisis.

La disolución fibrinaria está también regulada por la inhibición del plasminógeno. Zorio, Castello ⁵⁵ hablan en relación al polimorfismo de los genes en relación al incremento de la actividad del TAFI, así como la disminución de los antígenos TAFI en pacientes jóvenes con síndrome coronario agudo. Concluyen refiriendo que dicho grupo de pacientes tuvo elevación de la actividad de TAFI con niveles bajos de Ag TAFI los cuales confrontó con los niveles de PAI-1, inhibidores de la proteína C, así como el tiempo de lisis de euglobulinas.

Las células endoteliales, macrófagos, neutrófilos y algunas células tumorales, ligan PLG así como tPA y uPA. Sus receptores se localizan en la superficie celular para su actividad fibrinolítica. Sirven estos cofactores a la generación de plasmina y protegen de la inhibición en la circulación plasmática.

El plasminógeno es una proenzima y circula en el plasma en una concentración de 1.5mmol/L; tiene 791 aminoácidos con 24 puentes disulfuro; 16 de los cuales tienen 5 homólogos llamados kringles. Modula las interacciones con la fibrina los receptores celulares y otras proteínas.

La activación del plasminógeno se lleva a cabo por un cambio simple del péptido de arginina-valina en la posición 560-561 y de esta forma a la proteasa plasmina. La plasmina tiene una proteasa sérica catalítica y exhibe el sustrato específico sin limitar la fibrina. El ácido glutámico amino terminal circula con el plasminógeno.

La hidrólisis de lisina 77, 78 lleva a modificar las formas del cimógeno, este tiene 10 a 20 veces más actividad que Glu-PLG. Lys -PLG normalmente no circula en el plasma pero se encuentra en las superficies celulares.

El plasminógeno contiene 52.5kb de DNA en el cromosoma 6q26 y el gen del plasminógeno consiste en 19 exones; este gen está unido estructuralmente a la apoproteína (a) una apoproteína relacionada altamente con la aterogénesis y las proteínas de baja densidad.

La apoproteína a, y PLG están relacionados con otras proteínas que contienen kringles tales como tPA, uPA, factor de crecimiento hepático y proteína estimuladora de macrófagos.

Función del plasminógeno.

El plasminógeno¹, está presente en el plasma humano con una concentración de cerca de 2 microgramos. El plasminógeno se convierte en dos cadenas de proteasas de serina llamados plasmina, la plasmina puede catalizar la preactivación del péptido Glu- plasminógeno, formando plasminógeno digerido, con lisina amino terminal, valina o metionina llamada plasminógeno Lis. El plasminógeno -lis, es más fácilmente activado a plasmina que plasminógeno-glu.

La plasmina digiere un gran número de proteínas incluyendo fibrina, fibrinógeno, factor V y VIII. El plasminógeno puede ser transformado a plasmina por varios activadores del plasminógeno.

El principal activador de plasminógeno circulante es el activador tisular del plasminógeno (tPA). La molécula tPA es una proteinasa de serina la cual es una molécula nativa y consiste en simples cadenas peptídicos. El tPA es convertido por la plasmina en dos canales por hidrólisis de arginina. El tPA tiene importante actividad catalítica; la región amino terminal está compuesta

por dominios con homologías a otras proteínas (a un dominio finger, a un factor de crecimiento, y 2 estructuras Kringles).

La región constituida por residuos 276 a 527 representa la parte de la proteasa de serina, sitio en la cual se encuentra la actividad catalítica, compuesta por His, Asp y Ser; estos distintos dominios de tPA se encuentran involucrados en las diferentes funciones de las enzimas, incluyendo la unión de la fibrina y la activación del plasminógeno específico y la unión a los receptores de la células endoteliales. La fibrina parece concentrar t-PA y plasminógeno.

El activador de plasminógeno del tipo de urokinasa contiene 411 aminoácidos; la concentración es de scu- PA es de 2ng/mL. La triada catalítica está localizada en el polipéptido carboxi-terminal y está compuesto por Asp, His, y Ser. La cadena amino terminal contiene un factor de crecimiento y un dominio Kringle. El receptor de u-PA es esencial para la localización de u-PA mediante la formación de plasmina.

Se ha mostrado relación en cuanto a la embriogénesis, al desarrollar daño al gen o deficiencia de plasminógeno y en las oclusiones vasculares con la aparición de trombos en el hígado, estómago, colon, pulmón y páncreas. Los depósitos de fibrina se observan en el hígado en las lesiones ulcerativas y en el tracto gastrointestinal.

El plasminógeno no es estrictamente necesario, sin embargo es esencial para mantener la fibrina postnatal, la homeostasis intravascular y extravascular.

Activadores del plasminógeno.

El tPA está formado por 527 aminoácidos; contiene 5 glicoproteínas dominantes estructurales, que incluyen en la molécula finger fibronectina, 2 estructuras kringle homólogos del PLG, factor de crecimiento epidérmico, y una proteasa dominante. El tPA con una cadena es menos activo que con dos en la fase de fluido; ambas formas demuestran una actividad equivalente cuando se une a la fibrina.

Las dos formas de glucosilación de tPA son distinguibles por la presencia (tipo 1) o ausencia (tipo 2) de un complejo N-linked oligosacárido en Asn 448 y en O-linked oligosacárido Asn 184; ambos tipos tienen altos contenidos de carbohidratos Asn 117, complejo oligosacárido Asn 448 y en O-linked alfa glucosa en thr61.

El tPA puede modular la actividad y funcionalidad, regula los ligandos a las superficies celulares y especifica la digestión.

El gen que modifica la síntesis se localiza en el cromosoma 8q11, el gen humano para el activador tisular de plasminógeno consiste en el exón 14 de un total de 36,6 kb.

Los agentes que regulan la expresión del activador tisular de plasminógeno independientemente del inhibidor de plasminógeno tisular-1, incluyen histamina, butirato, retinoides, niveles arteriales, estrés, dexametasona que incrementan la

adenosina 3,5 monofosfato (cAMP); o se ha reportado que disminuyen la síntesis de tPA y PAI-1.

El tPA se sintetiza y secreta primariamente en las células endoteliales. La expresión de tPA parece estar restringida a 7-30nm de diámetro precapilar arteriolar, las venúlas postcapilares y los vasa vasorum; tiene un expresión mucho menor en las células endoteliales, arterias femorales, venas femorales, arterias carótidas o la aorta.

El tPA se modifica por una variedad de estímulos tales como la trombina, histamina, bradicinina, adrenalina, acetilcolina, arginina vasopresina, gonadotropinas, ejercicio y oclusión venosa. Tienen una vida media en la circulación de 5 min, aunque se expresa por las células extravasculares, tPA parece tener mejor activación intravascular que el PLG.

Se han realizado estudios en los cuales se han demostrado que alteraciones en el activador tisular del plasminógeno se encuentran relacionados con infarto de miocardio. En un estudio⁵⁷ se demostró la asociación del polimorfismo de tPA con las concentraciones del mismo y la prevalencia de infarto de miocardio

Van der Bom y Knijff⁵⁸ refieren en su estudio de casos y controles en el cual incluyen pacientes con historia de infarto de miocardio, y controles en los cuales se determinaron niveles de antígeno tPA y la actividad plasmática así como el genotipo, en el cual se concluyó que hay una asociación en el polimorfismo inserción/delección en el gen de TPA ante presencia de infarto de miocardio no fatal. El incremento del antígeno TPA está asociado con incremento de riesgo de infarto de miocardio, y esta asociación no fue dependiente de factores de riesgo cardiovasculares.

Cuando se ajusta con índice de peso corporal, HDL, el colesterol total, la presión sistólica y diastólica así como tabaquismo, el riesgo asociado con las concentraciones de antígeno tPA se encontró atenuado; el aumento de la actividad tPA se asoció un incremento de riesgo de infarto.

Urokinasa:

Es el segundo activador de plasminógeno endógeno una simple cadena de urokinasa o prourokinasa 54000 glucoproteína que contiene 411 aminoácidos, la urokinasa posee un factor de crecimiento dominante, un simple PLG-like kringle y una proteasa de serina catalítica.

Se localiza en el cromosoma 10q26, el gene humano urokinasa está codificado por el exón 11 y se expresa en las células macrófagos, células epiteliales y algunas células tumorales.

Las 2 cadenas de urokinasa son capaces de activar plasminógeno sólo la de alto peso molecular forma ligandos del receptor de UPA (uPAR).

La uPA tiene mucha más baja afinidad por la fibrina que tPA y ésta tiene un efectivo activador plasminógeno en ambos la presencia o ausencia de la fibrina.

Activadores de Fibrinolisis:

Las proteasas que tradicionalmente se clasifican con un lado intrínseco de la coagulación ha mostrado la activación de plasminógeno; de estos incluyen

calicreína, factor XIa, factor XIIa; normalmente no se cuenta con más del 15% del total de la generación de plasmina. Las metaloproteasas parecen extirpar la actividad fibrinolítica en la ausencia del plasminógeno y puede explicar el fenotipo medio observado por el plasminógeno deficiente.

El factor VIIa es una proteasa que también se ha reportado sirve como activador en vivo.

No se han publicado ejemplos clínicos de la deficiencia de tPA o de uPA en humanos. En ratones se ha estudiado su deficiencia y se ha relacionado con trastornos en la embriogénesis así como en la fertilidad. La doble deficiencia (uPA y tPA) en ratones se ha asociado a prolapso rectal, sin ulceraciones con un extenso depósito de fibrina en el hígado, intestino, gónadas y pulmón. Se ha demostrado que tPA y uPA no son esenciales en la embriogénesis, pero son cruciales para la trombolisis y fibrinólisis y la supervivencia en adultos.

Inhibidores y atenuación de la fibrinólisis.

La α_2 -antiplasmina, está presente en el plasma en una concentración de cerca de 1 $\mu\text{mol/L}$; está constituido de 464 aminoácidos y cerca de 13% de carbohidratos. Se encuentran 2 formas de α_2 antiplasmina en casi una misma proporción en preparados purificados de los inhibidores. El amino terminal Glu residuo puede cruzar a las cadenas de aminoácidos de fibrina, un proceso que requiere calcio y es catalizado por la actividad del factor XIII. Otras serpinas son α_2 macroglobulina y α_1 antitripsina. Todas las serpinas forman un complejo irreversible.

El PAI es una glucoproteína constituida de 379 aminoácidos; el sitio reactivo de este inhibidor es Arg, Met. Este inhibidor es estabilizado por vitronectina . El PAI-2 tiene 2 formas, con propiedades cinéticas comparables y éstas sólo son detectadas durante el embarazo.

El más ubicuo de los PAIs es PAI-1; es una macromolécula de 52,000 daltons con una cadena de cisteína, (cis)-Lis es una glucoproteína que se encuentra en las células endoteliales, monocitos, macrófagos, hepatocitos, adipocitos, y plaquetas.

PAI-I se encuentra estimulado por muchas citoquinas, entre ellas factores de crecimiento y lipoproteínas presentes en las respuesta inflamatoria. El gen de PAI esta constituido por 9 exones en el cromosoma 7q21.

El PAI se ha asociado con la expresión de las citoquinas inflamatorias, interleucina 1, factor de necrosis tumoral alfa, factor de crecimiento de los fibroblastos, lipoproteínas de baja densidad, lipoproteína (a), angiotensina II y trombina.

El PAI-1 es el más importante y más rápido inhibidor de ambos tPA y uPA.

Se ha estudiado la deficiencia de PAI en ratones y se ha encontrado una relación con alteraciones de la fertilidad, viabilidad, alteraciones en la histología desarrollo y no hay evidencia de hemorragia.

El inhibidor del activador del plasminógeno está constituido de 393 aminoácidos y es miembro de la familia de las serpinas; se purifica de la placenta humana. El gen está localizado en el cromosoma 18q21 y contiene 8 exones. Se secreta de los leucocitos, así como de las células del fibrosarcoma.

Sólo durante el embarazo se encuentran niveles significativos de PAI-2. La anexina proviene de la superfamilia dependiente de calcio; se encuentra expresada en las células endoteliales, monocitos/macrófagos, células mieloides, células neuro hormonales y se encuentra constituido por un núcleo C terminal, así como una cola N terminal.

Sabovic y Krzisnik mencionan que el PAI, que se encuentra asociado en la trombosis subaguda y aguda después de la dilatación y colocación de stent probablemente esto es debido condiciones trombogénicas en los casos de síndrome coronario agudo, sin embargo, el estado del sistema protrombótico media y facilita la trombosis después de la dilatación y en la colocación de stent. La hiperfibrinogenemia incrementa el riesgo de eventos cardiacos después de la colocación de stent.

Urano, Castellinoy Suzuki refieren que la activación de proteína C atenúa la coagulación asociada a la sobre expresión de la actividad fibrinolítica por supresión de trombina dependiente de la inactivación de PAI-1. En este estudio se evaluó la relevancia fisiológica de estos mecanismos usados en el tiempo de lisis de euglobulinas, ante la presencia y ausencia de Calcio, la cual controla PAI-1, y la fisiología de la trombosis

Acción de la Plasmina en la fibrinólisis.

Cuando los activadores del plasminógeno se usan para el tratamiento de la trombosis, el fibrinógeno circulante puede ser digerido por la plasmina .

La plasmina es digerida en fragmentos conocidos como dímeros D, estos fragmentos demuestran la diseminación intravascular de la coagulación asociados con un exceso de fibrinólisis por plasmina. La ruptura de la fibrina puede tener acciones importantes como inhibición plaquetaria, potencialización de los efectos de la bradicinina, quimiotáxis y modulación inmune.

Acciones no fibrinolíticas de la plasmina

La plasmina puede activar o inactivar a los factores de la coagulación V, VIII y XI, también activa a las metaloproteasas 1 y 3 facilitando la digestión de las proteínas de matriz, tales como las colágena, laminina, fibronectina, vitronectina y elastina.

La plasmina puede actuar ante los factores de crecimiento y en la respuesta proliferativa de los vasos sanguíneos, en la conversión laterante de factor de crecimiento β .

PATOGENESIS DE LA TROMBOSIS.

Numerosas angiografías patológicas y angioscopías han documentado la presencia de trombos intramurales en la angina inestable y en el infarto de miocardio.

En contraste con la alta incidencia de trombos intraluminales en el infarto de miocardio, la angina inestable varía con gran diferencia en cuanto a los síntomas que presenta. Se puede presumir que los paciente con dolor agudo anginoso presentan lesión oclusiva posteriormente es suboclusiva y más tarde se lisa.

Los factores de riesgo trombogénicos sistémicos o locales pueden favorecer la ruptura de la placa, el tiempo de depósito del trombo y los diferentes síndromes patológicos clínicos.

Los depósitos de plaquetas incrementan significativamente una mayor estenosis, induciendo activación celular. Esto sugiere que la gravedad de la respuesta plaquetaria a la ruptura de la placa depende en parte de los cambios súbitos en el grado de la estenosis seguido de la ruptura de la placa.

Los depósitos de fibrinógeno son significativamente mayores a nivel de la región estenótica que en la postestenótica (recirculación de flujo) área de lesiones endoteliales graves y son similares en áreas estenóticas y postestenóticas ante lesiones moderadas. A nivel subendotelial, con la recirculación de flujo hay una mayor cantidad de fibrina/plaquetas.

Los efectos de las lesiones graves excéntricas son debidos a los depósitos de fibrina. La fibrina y los depósitos de plaquetas fueron mayores en la punta en las estenosis, en donde el grado de ruptura es extremadamente alto.⁵⁷

Los depósitos de fibrina se observan menos dependientes del alto riesgo de ruptura a diferencia de los depósitos de plaquetas y esto no se ve influido por el tiempo. Al final los depósitos de fibrina se observan predominantemente en las capas del trombo adyacentes a la lesión endotelial en la pared vascular. La lisis del trombo no ocurre espontáneamente en la angina inestable ni en el infarto.

En los pacientes que han tenido infarto a quienes se les realiza trombolisis la presencia de trombo mural residual predispone a la recurrencia trombótica condicionando oclusión del vaso.

Dos factores contribuyen al desarrollo de la retrombosis. El primero el trombo mural residual puede invadir el lumen del vaso, lo cual da como resultado activación y depósitos de plaquetas en la lesión y como ya se comentó previamente estos depósitos plaquetarios condicionan alto grado de estenosis. El segundo es la presencia del trombo fragmentado parece uno de los factores más trombogénicos.

Un incremento gradual de los depósitos plaquetarios en el área de máxima estenosis es seguida de una abrupta disminución; esto es debido a la embolización trombótica o a la disgregación plaquetaria. Esto es seguido de un rápido incremento de los depósitos de plaquetas por los remanentes del trombo que tienen alto efecto trombogénico.

Los depósitos de plaquetas se incrementan de dos a cuatro veces, comparan con el trombo residual y la lesión de la pared arterial profunda

La formación del trombo mural en las lesiones arteriales es muy trombogénica, pero la inhibición directa de la trombina podría bloquear el crecimiento del

trombo mejor que los inhibidores indirectos de la trombina, inhibidores de la ciclooxigenasa o ambos.

Después de la lisis del trombo, la trombina puede seguir expuesta en la circulación llevando a la activación y a la formación del coágulo y posteriormente a la trombosis.

La actividad antitrombínica de la heparina es limitada por tres razones: la primera es que el trombo residual contiene trombina activa a la fibrina, lo cual es de pobre acceso a los complejos de heparina-antitrombina III; la segunda es que el trombo arterial es rico en plaquetas y contiene factor 4, el cual inhibe a la heparina; el tercero es que el monómero de fibrina II, formado por la acción de trombina y fibrinógeno, también inhibe a la heparina.

Finalmente algunos estudios recientes comentan, que alrededor del coágulo reinicia la actividad de la trombina, recientes estudios refieren que la actividad de las plaquetas o de la trombina aumentan los efectos de los agentes trombolíticos.

Estas observaciones fueron realizadas en base a la presencia del incremento a nivel plasmático urinario de metabolitos del tromboxano A₂, incremento del fibrinopéptido A, que resulta de la acción de trombina, el fibrinógeno y más importante del incremento de los complejo trombina-antitrombina III.

La trombosis focal puede llevarse a cabo por estados hipercoagulables o trombogénicos de la circulación, que pueden favorecer la progresión por la recurrencia del trombo.

Hay una evidencia experimental y evidencia clínica que el estado hipercoagulable o el estado trombogénico pueda favorecer la trombosis.

Experimentalmente la agregación plaquetaria y la generación de trombina pueden activar las catecolaminas de la circulación. Esta interrelación puede ser importante ya que se pueden ligar a condiciones de estrés, variaciones circadianas (por la mañana) por efecto de las catecolaminas que condiciona el desarrollo de infarto de miocardio.

El incremento de la actividad plaquetaria en fumadores esta dado por efecto de las catecolaminas. Después de discontinuar el hábito se ha observado que disminuyen los eventos vasculares asociados con trombosis.

CUANTIFICACIÓN DE FIBRINOLISIS.

El tiempo de lisis de eugobulinas es una prueba para cuantificar la actividad fibrinolítica utilizada desde los años 50s, a continuación se mencionan estudios en los cuales se muestra su utilidad.

En el estudio realizado por Chiarugi y Prisco⁵⁶ se han mostrado los nuevos factores de riesgo en enfermedad coronaria, en los cuales se han incluido a la lipoproteína (a), parámetros fibrinolíticos y anticuerpos anticardiolipina ante la reestenosis después de la angioplastia coronaria percutánea con balón sin stent. En 167 pacientes a los cuales se les realizó angioplastia se solicitaron mediciones de lipoproteína (a), niveles de anticuerpos anticardiolipina, tiempo de lisis de euglobulinas, niveles de inhibidor del activador de plasminógeno y el activador tisular de plasminógeno; mediciones realizadas antes del procedimiento.

Durante el seguimiento, 29 pacientes tuvieron recurrencia de reestenosis; los niveles de lipoproteína fueron significativamente mayores en pacientes con reestenosis en comparación con los que no tuvieron reestenosis. Se concluyó que la lipoproteína (a) se encuentra elevada y hay anticuerpos anticardiolipina positivos en pacientes con reestenosis. En este estudio se demostró que la positividad de anticuerpos anticardiolipina acelera la reestenosis.

Dart y Bridget⁵⁷ realizaron mediciones de la función fibrinolítica y trombótica en 55 pacientes en los cuales se identificó enfermedad coronaria. Estas mediciones fueron particularmente dirigidas a los factores y procesos que puedan alterar la función endotelial e incluyeron el tiempo de lisis de euglobulinas y los niveles plasmáticos del factor de vW, así mismo se incluyeron mediciones de proteína C y S, estas mediciones se realizaron antes y después de un periodo de veno-oclusión combinado con ejercicio.

La antropometría, hemodinámica y las mediciones bioquímicas (lípidos, apolipoproteínas, glucosa e insulina) se obtuvieron y correlacionaron con los parámetros hematológicos.

La proteína S y el factor de vW fueron significativamente mayores, ambos antes y después de la veno-oclusión y un periodo de ejercicio, a diferencia de los asintomáticos. El tiempo de lisis de euglobulinas no fue diferente solo se acortó después de la veno-oclusión en pacientes sin enfermedad coronaria.

Los niveles de proteína S se correlacionaron con la presión sanguínea, el colesterol total, los triglicéridos, los fosfolípidos plasmáticos, los niveles de glucosa sérica y los niveles de lipoproteína A1 y B. El factor de vW no fue significativo en este estudio ya que no tuvo correlación con otras variables. El

tiempo de lisis de euglobulinas pre-ejercicio se excedió 6 hrs y fue significativamente mayor ante el índice de masa corporal, el colesterol total, los triglicéridos, los fosfolípidos, insulina, glucosa, niveles de HDL bajos, con lisis menor de 6 hrs.

Este estudio mostró correlación con la disfunción endotelial y la producción de enfermedad vascular.

En el estudio de Rotterdam⁵⁸ se cuantificó la capacidad fibrinolítica por medio de tiempo de lisis de euglobulinas y mediciones de los parámetros fibrinolíticos plasmáticos, valorados en pacientes con infarto de miocardio. Este estudio mostró la asociación del polimorfismo del gen del activador del plasminógeno tisular y las concentraciones plasmáticas del activador tisular (actividad antigénica) con la prevalencia de infarto de miocardio. Se concluyó que hay una asociación con los niveles de antígeno del activador tisular de plasminógeno y el infarto de miocardio.

Otro estudio que valora la actividad fibrinolítica es el de Sabovic y Keber⁵⁹ quienes realizaron cuantificación de la actividad fibrinolítica a nivel local en las venas de las piernas en donde no ha sido completamente estudiado.

La sangre del atrio derecho puede ser usada como un valor de referencia para cuantificar la fibrinólisis local. Los parámetros fibrinolíticos que se cuantificaron fueron los siguientes: activador de plasminógeno tisular, inhibidor del activador de plasminógeno, tiempo de lisis de euglobulinas. Estas muestras se obtuvieron a la realización de cateterismo cardiaco, así mismo se tomaron a nivel de la vena femoral.

Los resultados mostraron una actividad del factor tisular de plasminógeno mayor, una actividad del inhibidor de la actividad de fibrinógeno relativamente baja y un tiempo de lisis de euglobulinas acortado en las muestras sanguíneas de la vena femoral comparadas con las muestras tomadas del atrio derecho. En conclusión se demostró que la actividad fibrinolítica en la vena femoral es mayor que en el atrio derecho.

Nuevamente Sabovic y Salobir⁶⁰ mencionan en su trabajo las alteraciones en la coagulación y los parámetros fibrinolíticos ahora en pacientes femeninos jóvenes después de sufrir un infarto de miocardio, infarto lacunar y ante una trombosis venosa profunda.

Se valoraron en tres grupos de pacientes (con los padecimientos ya mencionados) y se compararon con un grupo de pacientes sanas de 52 años de edad.

En las mujeres que sufrieron infarto de miocardio se observó elevación del antígeno del activador del plasminógeno tisular, el cual tuvo correlación en pacientes que tenían síndrome plurimetabólico.

En las pacientes con infarto lacunar se encontró elevación de fibrinógeno y se correlacionó con las siguientes variables, presión arterial sistólica, tabaquismo y sedimentación.

El tiempo de lisis de euglobulinas prolongado, la elevación del antígeno del factor tisular de fibrinógeno y el antígeno del inhibidor del activador de plasminógeno también mostraron correlación con las pacientes que tenían síndrome plurimetabólico, las mujeres eran obesas pero no ingerían anticonceptivos. En

aquellas que ingerían anticonceptivos se consideró el gatillo para desencadenar trombosis venosa.

Los autores Urano y Nishikawa⁶¹ cuantificaron el tiempo de lisis de euglobulinas en la variabilidad de pH. Ellos demostraron que el activador de plasminógeno tisular es la enzima responsable de la lisis de euglobulinas. Se demostró una correlación del tiempo de lisis de euglobulinas con la cuantificación del activador de plasminógeno libre, el cual puede primariamente ser determinado entre el balance de los niveles de activador tisular de plasminógeno y el inhibidor del activador de plasminógeno, los resultados mostraron que hay variabilidad significativa cuando la fracción de euglobulinas fueron preparadas en diferentes pH y los valores del tiempo de lisis de euglobulinas se encontraron alargados cuando el pH al que se obtuvo fue alrededor de 5.2 (4.9-5.5).

Otro estudio realizado por Mavri y Solobir⁶² menciona la variabilidad de los factores de riesgo hemostáticos y metabólicos en pacientes con y sin enfermedad coronaria en relación con las estaciones del año. En 82 pacientes (47 sin enfermedad coronaria y en 35 sobrevivientes de infarto) se realizaron mediciones tales como: índice de masa corporal, lipoproteínas, glucosa, insulina, inhibidor del activador de plasminógeno, tiempo de lisis de euglobulinas, fibrinógeno, y cuantificación plaquetaria. Se hicieron 2 mediciones en meses fríos (diciembre y marzo), dos mediciones en meses calurosos (Junio y septiembre).

Se encontró significancia estadística ante el índice de masa corporal (p menor de 0.01), la glucosa (p menor de 0.05), colesterol total (p menor de 0.05), lipoproteínas de baja densidad (p menor de 0.05), triglicéridos (p menor de 0.01), lipoproteína (a) (p menor de 0.01), niveles de fibrinógeno (con p menor de

0.00001), cuantificación plaquetaria (con p menor de 0.01). Se demostró significancia estadística en los meses fríos con los niveles de activador tisular de plasminógeno en los pacientes con infarto de miocardio a diferencia de los sujetos sanos.

Monagle y Chan ⁶³ mencionan que la incidencia de eventos tromboembólicos se incrementa como complicación secundaria en niños con serias enfermedades. Los mecanismos que eliminan estos trombos por la vía del sistema trombolítico en los niños es desconocido. La base del sistema fibrinolítico es dependiente de la edad con una diferencia significativa ante los niños y adultos.

En este estudio se se determinó la respuesta fibrinolítica tras la oclusión venosa en adolescentes sanos y adultos sanos.

Las muestras sanguíneas tras la oclusión pre y post fueron realizadas usando técnicas estandarizadas. De cada muestra se cuantificó el activador tisular de plasminógeno, el inhibidor del activador de plasminógeno, el plasminógeno, la α (2) antiplasmina, la α (2) macroglobulina, los dímeros D, el tiempo de lisis de euglobulinas y el fibrinógeno.

Los resultados mostraron que los adolescentes tuvieron una disminución significativa en los niveles del antígeno del activador de plasminógeno y una elevación en la activación el inhibidor de plasminógeno después de la oclusión venosa dando como resultado prolongación en el tiempo de lisis de euglobulinas.

Mediciones de los productos de degradación de la fibrinolisis:

** Productos de degradación de la fibrina: Ensayo de aglutinación en latex.

** Ensayo de aglutinación en fragmento de dímero D.

** Medición de plasminógeno.

** Niveles de α antiplasmina.

** Lisis de euglobulinas.

TIEMPO DE LISIS DE EUGLOBULINAS.

La gran mayoría de los métodos que se utilizan para realizar la determinación del tiempo de lisis de euglobulinas, se basan en precipitar en medio ácido las euglobulinas del plasma donde se encuentra el fibrinógeno, el plasminógeno y los activadores del plasminógeno, quedando en solución la mayor parte de los inhibidores, el precipitado de euglobulinas esta disuelto con preferencia en medio alcalino y luego en coagulado, el tiempo de lisis de este coágulo es inversamente proporcional a la actividad fibrinolítica plasmática. Un tiempo acortado refiere aumento de plasmina y un aumento de activadores.

Una vez que se toma la muestra debe mantenerse conservada en hielo, hasta su procesamiento, el procesamiento debe llevarse a cabo posterior a 20 minutos.

La sangre se centrifuga 10 minutos a 3.000 revoluciones por minuto, la prueba debe realizarse por duplicado, se agrega el plasma a un tubo de centrifuga que contiene agua destilada y se lleva a pH ácido, agregando en cada tubo el ácido acético o el clorhídrico, los tubos se mezclan por inversión y se dejan 20 minutos en la heladera a 4 grados centígrados para que se complete la precipitación de las euglobulinas, luego se centrifuga a 3000 revoluciones por minuto, se descarta el sobrenadante y se colocan los tubos invertidos sobre un papel de filtro, durante 2 minutos, para que escurra todo el líquido, se agrega en cada tubo tapón o solución de borato, en cantidad similar al volumen original del plasma a 37 grados y luego se mezcla con un varilla, hasta la disolución total del precipitado, se agrega el coagulante (trombina o cloruro de calcio) y se registra el tiempo al cual la mezcla coagula.

Los tubos se dejan 37 grados centígrados, se inspeccionan cada 15 minutos y se registra el tiempo de lisis total del coágulo.

Resultados: El coágulo debe permanecer formado 120 minutos.

En esta técnica las principales fuentes de error es la contaminación de los reactivos y la dificultad en la disolución del precipitado de las euglobulinas, esto puede ocasionar la falta de formación del coágulo que si no se tiene la suficiente vigilancia, se puede confundir con una lisis anormal, por lo tanto es muy importante que el coágulo se ha formado y después valorará su desaparición, una lisis anormalmente acortada puede ocurrir por hipofibrinogenemia, en este caso puede agregarse a las euglobulinas disueltas del paciente, fibrinógeno purificado o solución de euglobulinas del control

normal, siendo esto último de utilidad en la evaluación de los tratamientos trombóticos.

TIEMPO DE LISIS DEL COAGULO DE SANGRE ENTERA DILUIDA.

La dilución de la sangre entera en la cual se mantiene la proporción normal de los componentes del sistema fibrinolítico, facilita la acción de los activadores fibrinolíticos y acorta el tiempo de lisis de los coágulos formados por acción de la trombina.

La prueba se realiza por duplicado con sangre del paciente y de controles normales, se recoge la sangre en tubos plásticos, que contienen citrato trisódico 3,8%.

En dos tubos de vidrio que contienen 1,7 mililitros del tapón y 0,1 de trombina (50U7MI) se agregan 0,2ml de sangre se mezclan por inversión y se dejan 30 minutos a 4 grados centígrados después se llevan a 37 grados y se registra el tiempo (tiempo "O") y se inspecciona cada tubo periódicamente hasta observar la lisis total del coágulo.

Los valores normales= mayor de 18hrs. (cada laboratorio obtiene su propio rango de normalidad, utilizando controles de edades y sexo comparables).

La extracción de sangre no debe realizarse con isquemia prolongada. Si el fibrinógeno es muy bajo (menor de 0,5g/l) la observación del punto final puede ser dificultosa. En estados hiperfibrinolíticos el coágulo puede lisarse antes de 2 horas.

RESPUESTA FIBRINOLÍTICA AL ESTASIS VENOSO.

El estímulo más utilizado es más fácil de estandarizar es la isquemia por oclusión venosa habiéndose utilizado, también el ejercicio, drogas vasoactivas como, nicotinato de sodio, etc.

En controles normales se observa una marcada diferencia entre las muestras pre y post compresión.

La falta de respuesta esperada en la técnica desarrollada se ha interpretado como una menor liberación de activador tisular de plasminógeno, por parte del endotelio vascular.

DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD FIBRINOLÍTICA EN PLACAS DE FIBRINA.

El método consiste en colocar el material a estudiar (el plasma, las euglobulinas, la orina, líquido cefalorraquídeo etc), sobre una superficie de coágulo de fibrina que recubre el fondo de una placa de Petri y medir el área de digestión de la fibrina, luego de la incubación. Estudia de forma semicuantitativa la presencia de plasmina, los activadores del plasminógeno e inhibidores de los activadores del plasminógeno.

Se debe colocar 100 centímetros cúbicos de tapón de Michaelis en un recipiente plástico de boca ancha, en la solución realizada a 37 grados centígrados, espolvorear 1,2 g de fibrinógeno sobre el tapón y dejar en conservación con hielo durante 5hrs por lo menos y sin agitar, a modo de lograr una dilución completa de fibrinógeno. Para estudiar activadores del plasminógeno se aconseja utilizar fibrinógeno a través de filtro ó algodón mojados de tampón de Michaelis. Depositar 0,2 mL de trombina de 20 UI/mL en un borde de la placa y en el borde opuesto 7 mL de solución de fibrinógeno. Estos valores están calculados para cubrir una placa de 8,5cm de diámetro y deben adaptarse al diámetro de la placa de Petri con las que se trabaje, considerando que se quiere cubrir homogéneamente toda la placa, con un coágulo de fibrina que debería tener espesor aproximado de 2 mm. Colocar la placa sobre una superficie lisa y nivelada, mezclar con movimientos circulares suaves durante 5-10 seg. Dejar coagular a temperatura ambiente durante 30 minutos y trasladar la placa nivelada a la estufa, para incubación a 37 grados centígrados durante 30 min. Utilizar siempre fibrinógeno recién preparado y placas de fibrina prepradas en el día ya que el fibrinógeno diluido y congelado o las placas preparadas y guardadas en heladeras, son más sensibles a la lisis. Si se desea utilizar placas libres en el plasminógeno, incubarlas (habiendo utilizado fibrinógeno pobre en plasminógeno) a 80 grados centígrados, durante 60 min.

JUSTIFICACIÓN DE TESIS.

Utilizar métodos diagnósticos más adecuado a las posibilidades y facilidades que tengan adecuada especificidad y sensibilidad.

La lisis de euglobulinas, a pesar de ser un método diagnóstico poco utilizado, ha demostrado tener importancia estadística.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.

- 1.- ¿Cuál es la prevalencia de la lisis de euglobulinas negativa post oclusión venosa en los enfermos supervivientes de infarto de miocárdio?
- 2.- ¿A que factores de riesgo se encuentra más asociado la lisis de euglobulinas negativas post oclusión venosa en pacientes supervivientes de infarto de miocardio?
3. ¿ A que región miocárdica infarata se encuentra predominantemente más asociada la lisis de euglobulinas negativa post oclusión venosa, así como número de vasos coronarios afectados según la angiografía coronaria?

OBJETIVOS PRIMARIOS.

1° Valorar la capacidad fibrinolítica con lisis de euglobulinas post oclusión venosa en pacientes jóvenes con infarto de miocardio,

2° Valorar los factores de riesgo para cardiopatía isquémica en los pacientes jóvenes supervivientes de infarto, en quienes tuvieron tiempo de lisis de euglobulinas negativa en la post oclusión venosa.

OBJETIVOS SECUNDARIOS.

Valorar la lisis de euglobulinas post oclusión venosa en pacientes jóvenes con infarto de miocardio y asociarlos a variables como: edad, sexo, dislipidemia, hipertensión arterial, diabetes, obesidad, tabaquismo, número de vasos afectados y región miocárdica afectada.

MATERIAL Y MÉTODOS.

DISEÑO DEL ESTUDIO.

1° Fase: estudio transversal, observacional, descriptivo.

2° Fase: estudio de cohorte, observacional, descriptivo, prospectivo.

LUGAR.

Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez" . Departamento de Consulta Externa de Cardiología y Departamento de Hematología. México D.F

CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO.

Pacientes jóvenes supervivientes de infarto de miocardio (menores de 45 años) a los cuales se les realizó lisis de euglobulinas pre y post oclusión venosa.

DESCRIPCIÓN OPERATIVA DE LAS VARIABLES A ESTUDIAR.

Infarto de miocárdio (categórica, nominal, dicotómica): dolor torácico asociado a esfuerzo, que cede con el reposo, secundario a isquemia miocárdica.

Edad (numérica, continua): el número de años de vida de una persona.

Sexo (categórica, nominal, dicotómica): condición que distingue a los machos de las hembras en los seres humanos. Conjunto de seres que pertenecen a un mismo sexo. Sexo masculino, sexo femenino.

Glucosa (numérica, continua): monosacárido formado por 6 átomos de carbono, en mg/dL.

Hipertensión arterial sistémica (categórica, nominal, dicotómica): medición de cifras de presión arterial sistólica > 140 mmHg y/o presión arterial diastólica > 90 mmHg, de acuerdo con el Séptimo Reporte del Comité Nacional para la Prevención de la **Diabetes mellitus** (categórica, nominal, dicotómica): medición de glucosa en ayunas > 126 mg/dL de acuerdo a la Asociación Americana de Diabetes (AAD) ó glucosa > 200 mg/dL de acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS). **Diagnóstico, Evaluación y Tratamiento de la Presión Sanguínea Elevada** (JNC 7 report)

Colesterol (numérica, continua): alcohol esteroídico que participa en la estructura de membranas celulares, hormonas esteroideas y algunas lipoproteínas, en mg/dL.

Síndromes coronarios agudos (nominal, dicotómica): angina inestable, infarto del miocardio sin elevación del segmento ST e infarto del miocardio con elevación del segmento ST. De acuerdo con los criterios de la American Heart Association y American College of Cardiology (AHA/ACC).

Triglicéridos (numérica, continua): molécula formada por un alcohol (glicerol) y tres moléculas de ácidos grasos libres, medición en sangre en mg/dL.

Lisis de euglobulinas (nominal, dicotómica): se consideró que no hay actividad fibrinolítica cuando el coágulo de fibrina permanece formado después de 120 min .

Lisis de euglobulinas post oclusión venosa: la respuesta esperada en un individuo sano en una disolución del coágulo de fibrina antes de 120 min. Si el coágulo no se mantiene por más de 120 min, se interpretó como fibrinólisis deficiente.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN.

1. Pacientes jóvenes supervivientes de infarto de miocardio de 45 o menos años.
2. Que el infarto se haya corroborado por dos de tres criterios clínicos, electrocardiográficos o enzimáticos.
3. Pacientes que durante su estancia hospitalaria a consecuencia del infarto de miocardio se les hubiera realizado prueba de lisis de euglobulinas post oclusión venosa.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.

1. Se excluyeron pacientes mayores de 45 años de edad.
2. Pacientes a los cuales no se les realizó la prueba de lisis de euglobulinas.
3. Pacientes jóvenes con otras toxicomanías como adicción a cocaína y otros.

SELECCIÓN DE LA MUESTRA.

Se realizó la revisión de expedientes en la consulta externa de cardiología en base a un muestreo no aleatorizado de tipo secuencial y a conveniencia.

PRUEBAS GENERALES.

Biometría hemática, plaquetas, química sanguínea, perfil de lípidos

PRUEBAS ESPECIFICAS.

Respuesta fibrinolítica al estasis venoso.

El estímulo más utilizado y más fácil de estandarizar es la isquemia por oclusión venosa, habiéndose utilizado; también el ejercicio, drogas vasoactivas como nicotinato de sodio, etc.

La muestra se obtiene:

1. Muestra pre oclusión del brazo del paciente en reposo total; se toma una muestra de sangre de la vena antecubital con un éstasis venoso mínimo
2. No usar torniquete o aplicar a menos de un minuto
3. Muestra post oclusión: colocar en el brazo del paciente un esfigmomanómetro, a una presión media entre la presión diastólica y sistólica, durante 20 minutos. Algunos autores la realizaron con 10 minutos de compresión. Se extrae sangre venosa antecubital, mientras se va disminuyendo la presión del esfigmomanómetro.
4. Con las muestras pre y post oclusión se puede realizar distintas pruebas que exploran el sistema fibrinolítico como el tiempo de lisis de euglobulinas, el tiempo de lisis de coágulo de sangre entera diluida, en placas de fibrina, determinación de t-PA etc.

Según la técnica seleccionada se usa la metodología detallada oportunamente.

Resultados.

En controles normales, en todas la pruebas se debe observar una marcada diferencia entre las muestras pre y post oclusión venosa.

La falta de respuesta esperada en la técnica desarrollada se ha interpretado como una menor liberación de activador tisular de plasminógeno por parte del endotelio vascular.

Tiempo de lisis de euglobulinas pre oclusión venosa mayor de 120 minutos es adecuado.

Tiempo de lisis de euglobulinas post oclusión acortado se consideró normal.

METODOLOGÍA.

De la población de 44 pacientes seleccionados se estudiaron las variables que se dividieron en variables dependientes de los pacientes jóvenes infartados.

- a) Variables dependientes: infarto de miocardio, región miocárdica afectada, número de vasos ocluidos.
- b) Variables independientes: colesterol, diabetes mellitus, edad, glucosa, hipertensión arterial sistémica, sexo, tabaquismo, triglicéridos .

PERSONAL QUE PARTICIPÓ EN LA INVESTIGACIÓN.

Investigador principal.

Personal del laboratorio de trombosis y fibrinólisis del Departamento de Hematología. Médicos residentes, médicos pasantes de servicio social.

LÍMITE DE TIEMPO DE LA INVESTIGACIÓN.

EL estudio se realizará en el periodo de tiempo comprendido entre enero de 2003 y agosto de 2005.

CONSIDERACIONES ÉTICAS

Por las características de ser un estudio con diseño observacional y descriptivo.

En esta investigación no existe trasgresión de los aspectos de la ética médica.

ANALISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó el programa SPSS 12, las variables continuas se expresaron como medias, las variables cualitativas en frecuencias y porcentajes.

Se utilizó la prueba de exacta de Fisher para valorar la significancia estadística.

**PACIENTES SUPERVIVIENTES DE INFARTO DE MIOCARDIO CON LISIS DE
EUGLOBULINAS POST OCLUSIÓN > 120 MINUTOS (n=44)**

n	SEXO	EDAD AL PRIMER IM
1	MUJER	41
2	HOMBRE	34
3	HOMBRE	37
4	HOMBRE	34
5	HOMBRE	30
6	MUJER	37J
7	HOMBRE	36
8	HOMBRE	44
9	HOMBRE	44
10	HOMBRE	44
11	HOMBRE	27
12	MUJER	45
13	HOMBRE	45
14	HOMBRE	24
15	HOMBRE	36
16	MUJER	35
17	MUJER	35
18	MUJER	38
19	HOMBRE	29
20	MUJER	35
21	MUJER	36
22	MUJER	40
23	HOMBRE	44
24	HOMBRE	18
25	HOMBRE	26
26	HOMBRE	30
27	HOMBRE	43
28	HOMBRE	25
29	HOMBRE	16
30	HOMBRE	28
31	HOMBRE	41
32	MUJER	42
33	HOMBRE	37
34	HOMBRE	40

Mínima 16 Máxima 44

La población estudiada demuestra que la máxima presentación de infarto fue de 45 años y un mínimo de 16 años. De los cuales 27 (61.3%) son hombres y 17 mujeres (38.4%).

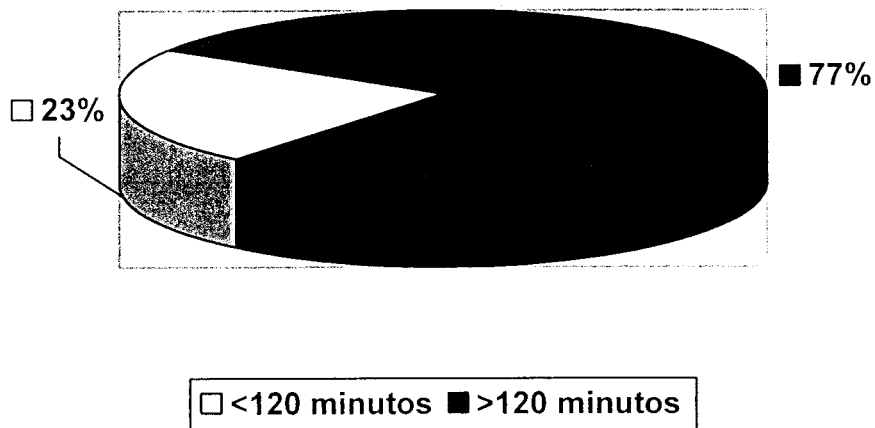
Los resultados de lisis de euglobulinas post oclusión venosa mostraron 34 (7.2%) alteraciones en la fibrinólisis y 10 (22.7%) obtuvieron resultados normales.

SUPERVIVIENTES DE INFARTO DE MIOCARDIO CON LISIS DE EUGLOBULINAS POST OCLUSIÓN < DE 120 MINUTOS (n=44)

n	SEXO	EDAD
1	HOMBRE	40
2	MUJER	31
3	MUJER	30
4	MUJER	37
5	HOMBRE	25
6	HOMBRE	42
7	MUJER	17
8	MUJER	31
9	MUJER	27
10	HOMBRE	42

Mínima 17 Máxima 42

PREVALENCIA DE LISIS DE EUGLOBULINAS NEGATIVA EN PACIENTES JÓVENES SUPERVIVIENTES DE INFARTO DE MIOCARDIO (n=44)

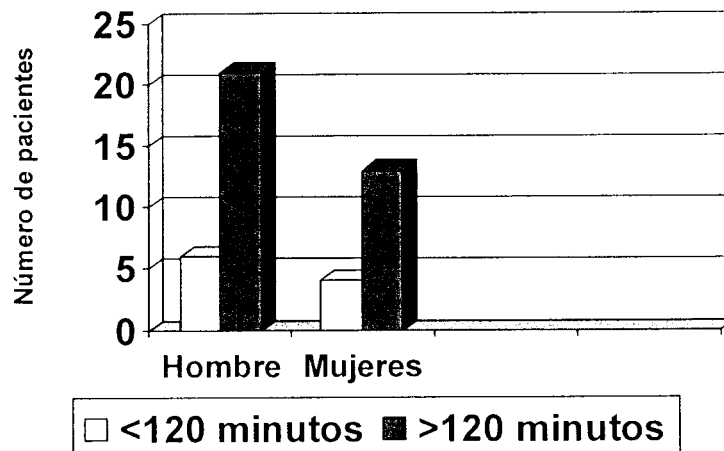


RESULTADO DE LA LISIS DE EUGLOBULINAS DE ACUERDO AL SEXO EN PACIENTES JOVENES CON INFARTO DE MIOCARDIO .

		POST OCLUSIÓN VENOSA		P
		>120 minutos	< 120 minutos	
SEXO	Masc	21 (47%)	6 (13.6%)	.599
	Fem	13 (29%)	4 (9 %)	
Total		34	10	

En la gráfica se pueden observar que presentan predominantemente alteraciones en la capacidad de fibrinólisis aquellos pacientes supervivientes de infarto hasta un 77.2% de la población estudiada.

RESULTADOS DE TIEMPO DE LISIS DE EUGLOBULINAS POST OCLUSIÓN VENOSA POR SEXO.



De la población estudiada se reportó que el 61.3% eran hombres contra 38.6% de las mujeres, lo cual se correlaciona con la literatura en cuanto a la presentación del infarto en gente joven, así mismo en la tabla se observa los pacientes con lisis post oclusión en tiempo mayor de 120 minutos y menor de 120 minutos.

Por lo cual muestra los resultados con lisis de euglobulina mayor 120 minutos que es un 47% de los hombres de la población contra un 29.5% de mujeres.

VARIABLES BIOQUIMICAS ANALIZADAS EN LA POBLACIÓN

	COLESTEROL 42	HDL 18	LDL 18	TRIGLIÉRIDOS 41	GLUCOSA 41	Fibrinógeno 35	Albúmina 34
Media	184.2	41.11	104.66	177.07	96.975	2.940	4.078
Moda	140.0	35.00	117.00	241.00	79.00	2.20	4.30
Sd	52.10	11.134	46.90	81.676	24.006	.7685	.4513
Mínimo	88.00	21.00	44.00	54.00	74.00	1.90	3.24
Máximo	329.00	61.00	198.00	417.00	204.00	5.50	5.17

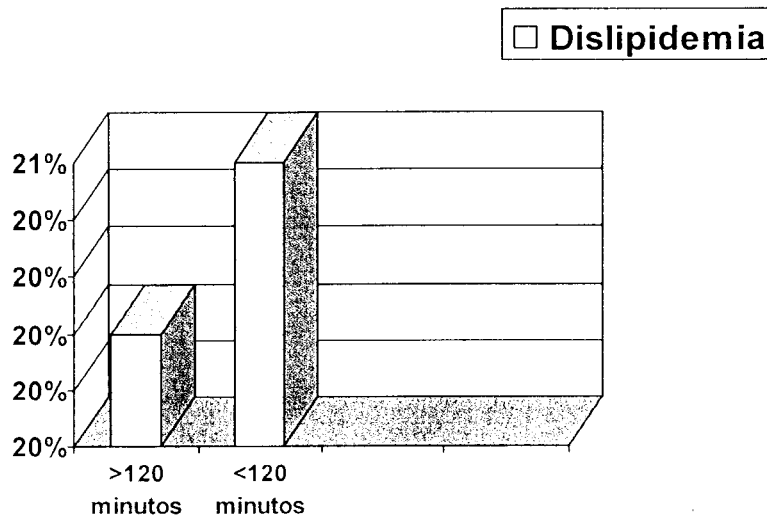
En las cifras bioquímicas para descartar otras enfermedades que puedan alterar las lisis de euglobulinas se encuentra la hipofibrinogenemia, sin embargo en la tabla se observa que estos pacientes manejaron cifras de 1.90g/L como mínimo y máximo de de 5.50 y según la literatura se consideran niveles bajos cuando estos son de 0.5g/L

**PREVALENCIA DE DISLIPIDEMIA EN PACIENTES SUPERVIVIENTES DE
INFARTO CON LISIS DE EUGLOBULINAS POST OCLUSIÓN VENOSA
SEGÚN SEXO**

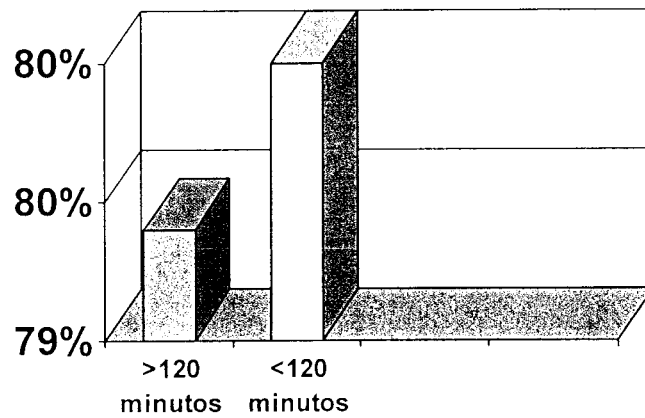
			Post oclusión venosa		P
			> de 120 minutos	< de 120 minutos	
DISLIPIDE ****	SI	N	7	2	.672
		%	20.6%	20%	
	No	N	27	8	
		%	79.4%	80%	
Total		N total	34	10	

De los 34 pacientes con infarto de miocardio que tuvieron lisis de euglobulinas negativa, 7 tenían dislipidemia (20.6%). Entre los diez enfermos que tuvieron lisis de euglobulinas positiva antes de 120 minutos, dos tenían dislipidemia, lo que representa el 20%. Esto significa que la prevalencia de dislipidemia en ambos grupos es similar, a juzgar por el valor encontrado de p (0.672)

**PREVALENCIA DE DISLIPIDEMIA ENTRE PACIENTES JOVENES
SUPERVIVIENTES DE INFARTO DE MIOCARDIO CON LISIS DE
EUGLOBULINAS POST OCLUSIÓN VENOSA.**



PACIENTES JOVENES SUPERVIVIENTES DE INFARTO DE MIOCARDIO CON LISIS DE EUGLOBULINAS POST OCLUSIÓN VENOSA SIN DISLIPIDEMIA



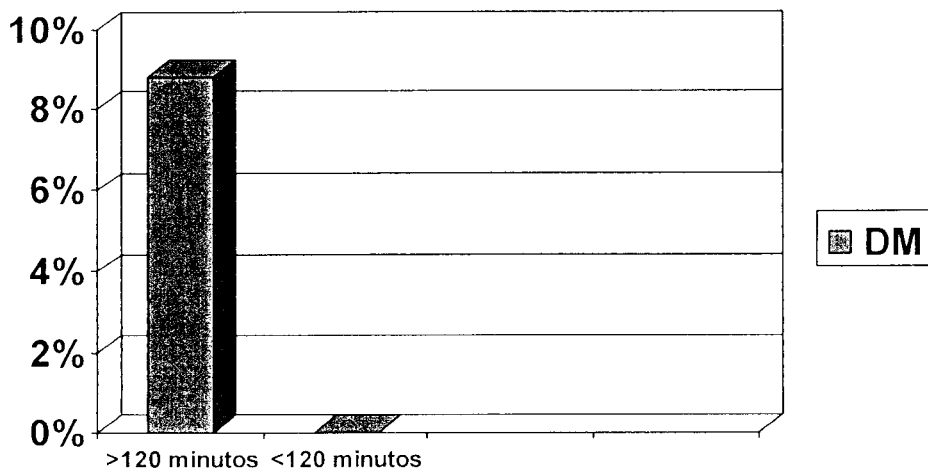
De los 34 pacientes con infarto de miocardio que tuvieron lisis de euglobulinas negativa, 27 se encontraron sin dislipidemia (79.5%). Entre los enfermos que tuvieron lisis de euglobulinas positiva antes de 120 minutos, 8 no tenían dislipidemias, lo que representa el 80%. Por lo anterior encontramos que no se encontró correlación entre la dislipidemia y la insuficiencia fibrinolítica.

PREVALENCIA DE DIABETES MELLITUS ENTRE LOS PACIENTES JÓVENES SUPERVIVIENTES DE INFARTO DE MIOCARDIO CON LISIS DE EUGLOBULINAS.

		Post oclusión venosa		P
		Más 120min	menos 120	
Diabetes Mellitus	Si	3 (8.8%)	0	.672
	no	31 (91.1%)	10 (100%)	
Total		34	10	

De los 34 pacientes con infarto de miocardio que tuvieron lisis de euglobulinas negativa, 3 tenían diabetes mellitus (8.8%). Ninguno de los diez enfermos que tuvieron lisis de euglobulinas positiva antes de 120 minutos era diabético. Esto significa que hay una tendencia a que la diabetes mellitus sea más frecuente en los pacientes con insuficiencia fibrinolítica a pesar de que no hubo una diferencia estadísticamente significativa, debido muy probablemente a la pequeña población estudiada.

COMPARACION DE LA PREVALENCIA DE DIABETES MELLITUS ENTRE LOS PACIENTES JÓVENES SUPERVIVIENTES DE INFARTO DE MIOCARDIO CON LISIS DE EUGLOBULINAS NEGATIVA O POSITIVA DESPUES DE 120 MINUTOS.

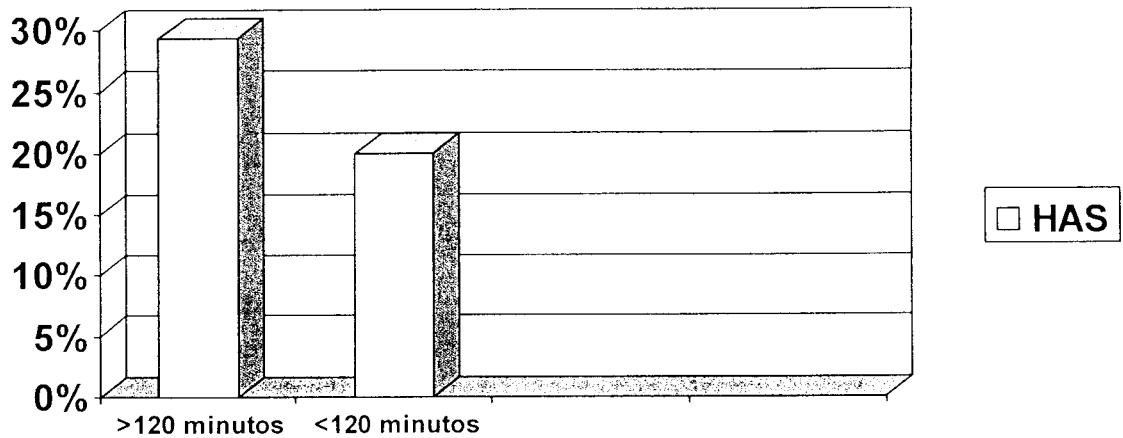


PREVALENCIA DE HIPERTENSION ARTERIAL ENTRE LOS PACIENTES JÓVENES SUPERVIVIENTES DE INFARTO DE MIOCARDIO CON LISIS DE EUGLOBULINAS POST OCLUSIÓN NEGATIVA Y POSITIVA A LOS 120 MINUTOS.

			Post oclusión venosa		P
			>120 minutos	< 120 minutos	
HTA	SI	Número	10	2	.441
		%	29.4%	20%	
	NO	Número	24	8	
		%	70%	80%	
Total		No Total	34	10	

De los 34 pacientes con infarto de L. miocardio que tuvieron lisis de euglobulinas negativa, 10 tenían hipertensión arterial (29.4%). Entre los diez enfermos que tuvieron lisis de euglobulinas positiva antes de 120 minutos, dos tenían hipertensión, lo que representa el 20%. Esto significa que la prevalencia de hipertensión arterial sistémica en ambos grupos es similar, a juzgar por el valor encontrado de p (.441)

PACIENTES JÓVENES SUPERVIVIENTES DE INFARTO DE MIOCARDIO CON LISIS DE EUGLOBULINAS POST OCLUSIÓN VENOSA CON HIPERTENSIÓN ARTERIAL

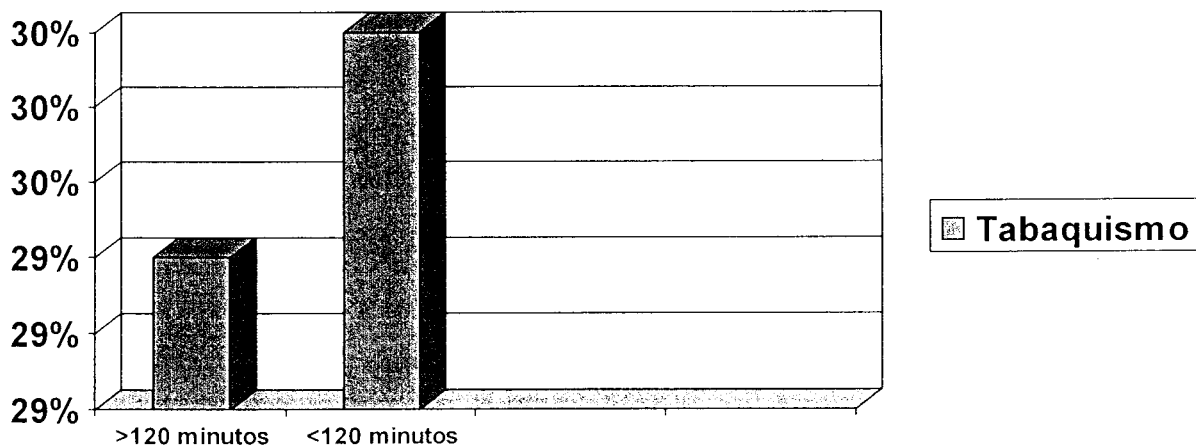


De los 34 pacientes con infarto de L miocardio que tuvieron lisis de euglobulinas negativa, 24 no tenían hipertensión arterial (70%). Entre los diez enfermos que tuvieron lisis de euglobulinas positiva antes de 120 minutos, 8 no tenían hipertensión arterial sistémica, lo que representa el 80%. Esto significa que la prevalencia de hipertensión arterial sistémica no tiene un valor significativo para la población estudiada (P 0.441.)

**PREVALENCIA DE TABAQUISMO EN PACIENTES JOVENES
SUPERVIVIENTES DE INFARTO DE MIOCARDIO CON LISIS DE
EUGLOBULINAS POST OCLUSION VENOSA**

				Post oclusión		P
				> 120 minutos	< 120 minutos	
TABACO	Si	Número	10	3	.629	
		%	29.4%	30%		
	NO	Número	24	7		
		%	70.5%	70%		
Total		Número	34	10		

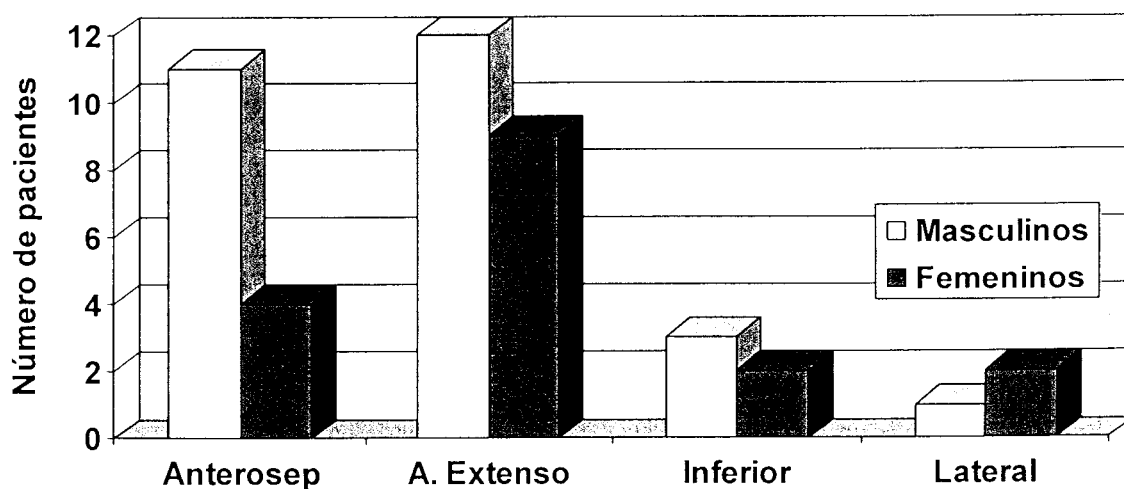
**PACIENTES JÓVENES SUPERVIVIENTES DE INFARTO DE MIOCARDIO
CON LISIS DE EUGLOBULINS CON TABAQUISMO**



De los 34 pacientes con infarto de miocardio que tuvieron lisis de euglobulinas negativa, 10 tenían hábito tabáquico (29.4%). Entre los diez enfermos que tuvieron lisis de euglobulinas positiva antes de 120 minutos, tres tenían tabaquismo, lo que representa el 30%.

Lo anterior nos indica que en este estudio no se encontró asociación entre el hábito de fumar y el grado de insuficiencia fibrinolítica. La P entre los dos grupos de enfermos estudiados fue de 0.629, seguramente por el tamaño limitado de la muestra. Se requiere de un número mayor de enfermos para estudiar una posible asociación entre el cigarrillo y la insuficiencia fibrinolítica en nuestro medio.

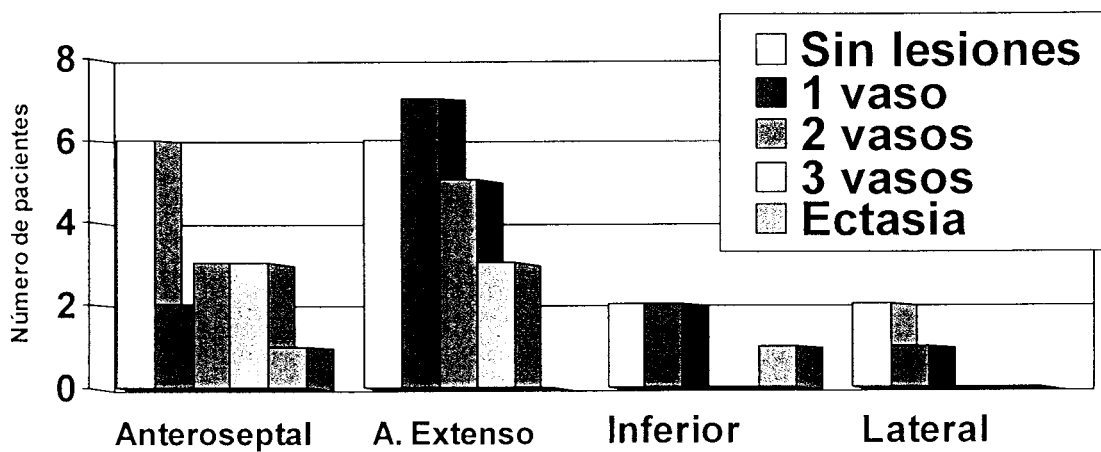
PREVALENCIA DE LA REGIÓN MIOCÁRDICA AFECTADA EN PACIENTES JOVENES SUPERVIVIENTES DE INFARTO DE MIOCARDIO CON LISIS DE EUGLOBULINAS POST OCLUSIÓN VENOSA



PREVALENCIA DE INFARTO DEL MIOCARDIO EN PACIENTES JÓVENES SUPERVIVIENTES SEGÚN REGIÓN MIOCÁRDICA AFECTADA.

			REGION INFARTADA				P
			ANTEROS EPTAL	ANTERIOR EXTENSO	INFERIOR	LATERAL	
SEXO	Hombres	Número	11	12	3	1	.560
		%	25.0%	27.3%	6.8%	2.3%	
	Mujeres	Número	4	9	2	2	
		%	9.1%	20.5%	4.5%	4.5%	
Total		Número	15	21	5	3	
		% total	34.1%	47.7%	11.4%	6.8%	

PACIENTES JÓVENES SUPERVIVIENTES DE INFARTO DE MIOCARDIO SEGÚN NÚMERO DE VASOS AFECTADOS



El estudio mostró que los vasos coronarios no tenían una afectación significativa.

Las lesiones menores del 75% se encontraron con la frecuencia y distribución que sigue: en la región anteroseptal, 13.6%; 13.6% en la región anterior extensa; 4.5% en la región inferior y 4.5% en la región lateral .

Cuando hubo un vaso afectado el 4.5% fue para la región anteroseptal, 15.9% en la región anterior extensa, 4.5% en la región inferior y 2.3% en la región lateral.

La afectación de 2 vasos se encontró en el 6.8% de la región anteroseptal, y 11.4% en la región anterior extensa.

La afectación de 3 vasos se presentó en un 6.8% para la región anteroseptal y 6.8% para la región anterior extensa.

Sólo se encontró ectasia coronaria en el 2.3% de la región anteroseptal, al igual que en la región inferior.

**PACIENTES JÓVENES SUPERVIVIENTES DE INFARTO DE MIOCARDIO
SEGUN REGIÓN AFECTADA Y NÚMERO DE VASOS AFECTADOS.**

			REGION MIOCARDICA AFECTADA				P
			ANTER OSEPT AL	ANTERIO R EXTENSO	INFERI OR	LATER AL	
CTC	SIN LESIONES	Número	6	6	2	2	.605
		%	13.6%	13.6%	4.5%	4.5%	
	1 VASO	Número	2	7	2	1	
		%	4.5%	15.9%	4.5%	2.3%	
	2 VASOS	Número	3	5	0	0	
		%	6.8%	11.4%	.0%	.0%	
	3 VASOS	Número	3	3	0	0	
		%	6.8%	6.8%	.0%	.0%	
	ECTASIA CORONARI A	Número	1	0	1	0	
		%	2.3%	.0%	2.3%	.0%	
Total	Número	15	21	5	3		
	% Total		34.1%	47.7%	11.4%	6.8%	

DISCUSIÓN.

Características de la población estudiada.

La población estudiada estuvo formada por 44 pacientes jóvenes supervivientes de infarto de miocardio a los que se les realizó lisis de euglobulinas post oclusión venosa. Predominaron los hombres, con un 61.3% contra un 38.4% de mujeres. La edad mínima de presentación de infarto fue de 16 años y la máxima de 45 años.

Prueba de lisis de euglobulinas post oclusión venosa.

La prueba de lisis de euglobulinas post oclusión venosa en los pacientes jóvenes supervivientes de infarto de miocárdio tuvo una prevalencia de 77.2% cuando el resultado de lisis fue negativo (tiempo de lisis post oclusión venosa de 120 minutos) y 22.7% positivo (tiempo de lisis menor de 120 minutos).

Según el género se obtuvieron 47% hombres con tiempo de lisis post oclusión de 120 minutos y las mujeres con un 29.4%.

Variables asociadas.

Se valoraron, además de la lisis de euglobulinas, las variables bioquímicas y se obtuvo la media, así como máxima y mínima, con los siguientes resultados:

Colesterol de 184.2mg/L, HDL de 41.2mg/L, LDL de 104.6mg/L, triglicéridos de 177.6 mg/L, glucosa de 96.9, fibrinógeno de 2.6 g/L, albúmina de 4.0 mg/L.

No se obtuvo un valor significativo de P para esas variables.

Para obtener resultados confiables en la prueba de lisis de euglobulinas, se debe descartar la presencia de hipofibrinogenemia. Por tal motivo, en nuestros enfermos se practicó la determinación de esta prueba. En ninguno de ellos se encontró un valor de fibrinógeno menor de 0.5 g/L, por lo que se puede afirmar que ha quedado debidamente validada la realización de la prueba. En el grupo total, se encontraron cifras normales de este parámetro, con una tendencia a los valores altos de fibrinógeno. La máxima cifra fue de 5.50 g/L y la mínima fue de 1.90g/L. Se ha descrito una concentración plasmática de fibrinógeno incrementada entre individuos con cardiopatía aterosclerosa y este parámetro se considera actualmente como un factor de riesgo cardiovascular. El incremento de fibrinógeno entre nuestros enfermos puede explicarse a esa asociación ampliamente descrita en la literatura.

Es interesante mencionar que del grupo total de 44 pacientes estudiados, sólo tres fueron diabéticos y ellos tuvieron insuficiencia fibrinolítica. Lo anterior representa que hay una tendencia de la Diabetes Mellitus a estar presente ante la incapacidad fibrinolítica. Esta es una observación que concuerda con comunicados anteriores, en que la diabetes se asocia con incremento en los

inhibidores de la fibrinólisis, en particular el PAI-1. Aunque en nuestro estudio no tenemos esta última determinación, se abre un prospecto para realizar un nuevo proyecto de investigación que explore esta asociación en nuestro medio.

La dislipidemia tuvo una prevalencia de 20% en los pacientes jóvenes supervivientes de infarto de miocárdio con lisis de euglobulinas negativa, contra 20% de los pacientes que tenían lisis de euglobulinas positiva (P: 0.672).

El tabaquismo fue otra variable analizada y en este grupo de pacientes tuvo una prevalencia de 22.7% dentro de los pacientes jóvenes supervivientes de infarto de miocárdio con lisis de euglobulinas negativas contra 30% con un valor de P de 0.629.

La hipertensión mostró una prevalencia de 29% en los pacientes supervivientes de infarto de miocárdio con lisis de euglobulinas negativas, contra 20% de los pacientes que tenían lisis de euglobulinas positiva. Lo anterior demuestra que no tiene significancia estadística.

La región miocárdica fue otra de las variables; la región más afectada fue anterior extensa con una prevalencia de 27.3% en hombres comparativamente con 20.7% en mujeres, en la región anteroseptal con prevalencia de 25% en hombres comparativamente con 9.1% en mujeres, en la región inferior con prevalencia de 6.8% en hombre y 4.5% en mujeres. En la región lateral con prevalencia de 2.5% en hombres con 4.5% en mujeres.

En relación a las lesiones diagnosticadas por angiografía, cuando se encontró sin lesiones significativas se observó una prevalencia de 13% con afectación anteroseptal, 13% a nivel anterior extenso, 4.5% en la región inferior y otro 4.5% a nivel lateral.

Cuando se afectó solo un vaso se encontró una prevalencia de 15.9% con afectación en la región anterior extensa, 4.5% en la región anteroseptal, 4.5% inferior y 2.3% cuando la afectación fue en la región lateral.

Al lesionarse tres vasos se encontró una prevalencia del 11.4% en la región anterior extensa y 6.8% a nivel anteroseptal.

Cuando la afectación fue de tres vasos se obtuvo una prevalencia de 6.8% para la región anteroseptal y otro 6.8% para la región anterior extensa.

Las angiografías que mostraron ectasias coronarias tuvieron una prevalencia del 2.3% para la región anteroseptal e inferior.

CONCLUSIONES.

1. Entre los pacientes jóvenes supervivientes de infarto de miocardio del Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez a los que se les realizó lisis de euglobulinas post oclusión venosa, la prevalencia de resultado negativo después de 120 minutos fue de 77.2%. Esto nos indica un predominio de insuficiencia de la fibrinólisis, en contra de un 22.7% que tienen un resultado positivo (tiempo de lisis menor de 120 minutos) que nos traduce normalidad en esta función.
2. Se descartó hipofibrinogenemia (0.5g/L) en la población, obteniéndose una media del valor de fibrinógeno de 2.94 g/L, un valor mínimo de 1.90 g/L y un valor máximo de 5.50 g/L. Con los valores mencionados descartamos la posibilidad de hipofibrinogenemia en nuestro grupo de estudio.
3. La prevalencia de lisis de euglobulinas post oclusión venosa negativa por género mostró un predominio entre los hombres (47.%) comparativamente con las mujeres (29%).
4. Las variables estudiadas mostrarán lo siguiente: de los pacientes con lisis de euglobulinas post oclusión venosa negativa, los factores de riesgo que mostraron tendencia a asociarse fueron la diabetes mellitus, la dislipidemia, el tabaquismo y la hipertensión arterial aunque no mostraron diferencia alguna desde el punto de vista estadístico.

5. La región miocárdica con mayor afectación fue la anterior extensa con una prevalencia de 27.3% para los hombres y 20.7% para las mujeres. Según las lesiones identificadas por cateterismo, la lesión de un vaso en la región anterior extensa tuvo una prevalencia de 15.9%.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

-
- ¹ Colman RW, Hirsh J, Salzman EW: Hemostasis and Thrombosis. Basic principles and clinical practice. Philadelphia: Lippincott, 1994: 1223-1227.
- ² Bloom AL, Thomas DP: Haemostasis and Thrombosis. New York: Churchill Livingstone. 1994:1321-1327.
- ³ Loscalzo J, Schafer A: Thrombosis and Hemorrhage. Boston. Blackwell; 1994: 1-1337.
- ⁴ Virchow R: Phlogose und Thrombose in Gefass-system. Virchow R (ed). Gesammelte Abhandlungen zur Wissenschaftlichen Medizin. Frankfurt: von Meidinger Sohn; 1856: 458-636.
- ⁵ Davies MJ: Mechanisms of thrombosis in atherosclerosis. In: Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Salzman EW (eds). Hemostasis and Thrombosis. Philadelphia; Lippincott, 1994: 1224-1237.
- ⁶ George BS, Voorhees WD, Roubin GS, et al: Multicenter investigation of coronary stenting to treat acute or threatened closure after percutaneous

transluminal coronary angioplasty, clinic and angiographic outcomes. *J Am Coll Cardiol*; 1993; 22:135-143.

⁷ Topol EJ, Leya F, Pinkerton CA, et al: CAVEAT Study Group. A comparison of directional atherectomy with coronary angioplasty in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med*; 1993; 329: 221-227.

⁸ King S, Lembo N, Weintraub WS, et al: Emory angioplasty versus surgery trial (EAST). A randomized trial comparing coronary angioplasty with coronary bypass surgery. *N Engl J Med* 1994; 331: 1044-1050.

⁹ Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990's. *Nature* 1993; 326: 801-809.

¹⁰ Dzau VJ, Gibbons GH, et al: Vascular biology and medicine in the 1990s: scope, concepts, potentials, and perspectives (Review). *Circulation*: 1993; 87: 705-719.

¹¹ Goldsmith HL, Turitto V: Rheological aspects of thrombosis and hemostasia: basic principles and applications. *Thromb Haemost* 1986; 55: 415.

¹² Turrilo Vt, Baumgarther HR: Initial deposition of platelets and fibrin on vascular surfaces in flowing blood in: Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Salzman EW (eds). Hemostasis and Thrombosis. Philadelphia: Lippincott, 1994; 805-22.

¹³ Sevit S: The structure and growth of valve-pocket thrombi in femoral veins. J Clin Pathol, 1947; 27: 517-528.

¹⁴ Hirsh J, Prins MH, Samama M: Approach to the thrombophilic patient for hemostasis and thrombosis: basic principles and clinical practice. In: Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Salzman EW (eds) Hemostasis and Thrombosis. Philadelphia: Lippincott, 1994: 1543-1561.

¹⁵ Dahlback B: Inherited thrombophilia: resistance to activated protein C as a pathogenic factor of venous thromboembolism. Blood 1995; 85: 607-614.

¹⁶ Dalen JE, Hirsh J: Fourth ACCP consensus conference on antithrombotic therapy. Chest 1995;108(suppl): 225-522.

¹⁷ Gimbrone MA Jr: Vascular Endothelium in Hemostasis and Thrombosis. Edinburg: Churchill Livingstone. 1986: 1-250.

¹⁸ Schwartz SM, Majesky M: Structure and function of the vessel wall. In: Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Salzman EW (eds) Hemostasis and Thrombosis: Basic Principles and Clinical Practice. Philadelphia: Lippincott, 1994; 718-744.

¹⁹ Jaffe EA: Biochemistry, immunology, and cell biology of endothelium. In: Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Salzman EW (eds) Hemostasis and Basic Principles and Clinical Practice. Philadelphia: Lippincott:1994: 718-744.

²⁰ Rosenberg RD, Bauer KA: The heparin-antithrombin system: a natural anticoagulant mechanism. In: Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Salzman EW (eds) Hemostasis and Thrombosis: Basic Principles and Clinical Practice. Philadelphia: Lippincott, 1994: 837-860.

²¹ Broze G Jr: The tissue factor pathway of coagulation. In: Loscalzo J, Schafer Ai (eds) Thrombosis and Hemorrhage. Boston: Blackwell; 1994: 57-58.

²² Smith JA, Henderson AH, Randall MD: Endothelium-derived relaxing factor, prostanoids and endothelins. In: Bloom AI, Forbes CD, Thomas DP, Tuddenham EGD (eds). Hemostasis and Thrombosis. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1994: 183-197.

²³ Collen D, Lijnen H: Molecular and cellular basis of fibrinolysis In: Hoffman R, Benz EJ Jr, Dhattil SJ, Furie B Cohen HJ (eds) hematology: Basic Principles and Practice New York:Churchill Livingstone,1991:1232-1242.

²⁴ Shatos M, Orfeo T, Doherty JM, et al: Alfa-thrombin stimulates urokinase production and DNA synthesis in cultured human cerebral microvascular endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1995;15:903-911.

²⁵ Bu G, Warshawsky I, Schwartz AL: Cellular receptor for the plasminogen activator. *Blood* 1994; 83: 3427-3436.

²⁶ Esmon CT: Molecular events that control the protein C anticoagulant pathway. *Thromb Haemost* 1993; 70: 29-35.

²⁷ Dahlback B, Stenflo J: A natural anticoagulant pathway: proteins C, S, C4b-binding protein and thrombomodulin. In: Bloom AL, Forbes CD, Thomas DP, Tuddenham EGD (eds). *Haemostasis and Thrombosis*. Edinburg:Churchill Livingstone, 1994: 671-698.

²⁸ Kashiwagi H, Eigenthaler M, et al: Affinity modulation of the platelet fibrinogen receptor by 3-endonexin, a selective binding partner of the α 3 integrin cytoplasmic tail. *Blood* 1996; 88: 140-152.

²⁹ Nurden AT: Human platelet membrane glycoproteins In: Bloom AI, Forbes CD, Thomas DP, Tuddenham EGD(eds). *Haemostasis and Thrombosis*: Churchill Livingstone; 1994;115-165.

³⁰ Ginsberg MH, Frelinger AI, Lam SC-T: Analysis of platelet aggregation disorders based on flow cytometric analysis of membrane glycoprotein IIb-IIIa with conformation-specific monoclonal antibodies. *Blood* 1990;76: 2017-2023.

³¹ Ware JA, Collier BS: Platelet morphology, biochemistry, and function. In Beutler E, Lichtman MA, Collier BS, Kipps TJ (eds). *Haematology*. New York: McGraw-Hill, 1995: 1161-1201.

³² Cui J, O'Shea KS, Purkayastha A, Saunders TL, Ginsburg D: Fatal hemorrhage and incomplete block to embryogenesis in mice lacking coagulation factor V. *Nature* 1996; 384: 66-68.

³³ Vu H, Hung T, Wheaton I: Characterization of a functional thrombin receptor reveals a novel proteolytic mechanism of receptor activation. *Cell* 1991; 64: 1057-1068.

³⁴ Coughlin SR, Vu T-KH, Hung DT, Wheaton VI: Characterization of functional receptors. Issues and opportunities. *J Clin Invest* 1992; 92: 351-355.

³⁵ Connolly A, Ishihara H, Kahn L, Farese RV Jr, Coughlin SR: Role of the thrombin receptor in development and evidence for a second thrombin receptor. *Nature* 1996; 381: 516-519.

³⁶ Ishihara H, Connolly AJ, Zeng D, et al: Protease-activated receptor 3 is a second thrombin receptor in humans. *Nature* 1997; 386: 502-506.

³⁷ Santulli RJ, Derian CK, darrow AI, et al: Evidence for the presence of a proteasa-actived receptor distinc from the trombin receptor in human keratinocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995; 92: 9511-9155.

³⁸ Cook J, Sitko Gr, Bednar B, et al: An Antibody aganist the exosite of the cloned thrombin receptor inhibits experimental arterial thrombosis in the African green monkey. *Circulation* 1995; 91: 2961-2971.

³⁹ Doolittle F, Watt K, Cottrell BA, Strong DD, Riley M: The amino acid sequence of the alfa-chain of human fibrinogen. *Nature* 1979; 280: 464-467.

⁴⁰ Brass LF. The Biochemistry of platelet activation. In: Hoffman R, Benz EJ Jr, Shatitil SJ, Furie B, Cohen HJ (eds). *Hematology: Basic Principles and Practice*. New York: Churchill Livingstone, 1991: 1176-1197.

⁴¹ Mann K, Nesheim E, Church WE, Haley P, Krishnaswamy S. Surface-dependent reactions of the vitamin K-dependent enzyme complexes. *Blood* 1990; 76: 1-16.

⁴² Bovill EG, Tracy P, Hayes E, Jenny RJ, et al: Evidence that thrombin is an intermediate product in the clotting of whole blood. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995; 15: 754-758.

⁴³ Mann K, Gaffney D, Bovill E: Molecular biology, biochemistry and lifespan coagulation factors In: Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, Kipps TJ (eds). *Hematology*: New York: McGraw-Hill, 1995; 1206-1226.

⁴⁴ Furie B, Furie B: Molecular and cellular biology of blood coagulation. *N Engl J Med* 1992, 326: 800-806.

⁴⁵ Morrissey H, Fakharai H, Edgington T: Molecular cloning of the cDNA for tissue factor, the cellular receptor for the initiation of the coagulation protease cascade. *Cell* 1987; 50: 129-135.

⁴⁶ Spicer E, Horton R, Bloem L: Isolation of cDNA clones coding for human tissue factor: primary structure of the protein and cDNA *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987; 84: 50: 129-135.

⁴⁷ Krishnaswamy S, Field A, Edgington S, Morrissey H, Mann K: Role of the membrane surface in the activation of human coagulation factor X. *J Biol Chem* 1992; 267: 26110-26120.

⁴⁸ Wilcox N, Smith K, Schawrtz S, Gordon D: Localization of tissue factor in the normal vessel wall and in the atherosclerotic plaque. Proc Natl Acad Sci U S A 1989; 60: 59-63.

⁴⁹ Tracy B, Eide L, Bowie JW, Mann K: Radioimmunoassay of factor V in human plasma and platelets. Blood 1982; 60: 59-63.

⁵⁰ Tracy P, Giles A, Mann G, Eide L, Hoogendoorn H, Rivard E: Factor V deficiency. J Clin Invest 1984; 74: 1221-1281.

⁵¹ Nesheim E, Nichols L, Cole I: Isolation and study of an acquired inhibitor of human coagulation factor V. J Clin Invest 1986; 77: 405-415.

⁵² Carmeliet P, Stassen M, Schoonjans L, et al: Plasminogen activator inhibitor-1 gene-deficient mice: II. Effects on hemostasis, thrombosis and thrombolysis. J Clin Invest 1993; 92: 2756.

⁵³ Carmeliet P, Schoonjans L, Kieckens L, et al: Physiological consequences of loss of plasminogen activator gene function in mice. Nature 1994; 368: 419-424.

⁵⁴ Cesarman G, Hajjar K: Molecular mechanisms of Fibrinolysis. British Journal Medicine; 2005: 1-14.

⁵⁵ Zorio E, Castello R: Thrombin-activable fibrinolysis inhibitor in young patients with myocardial infarction and its relationship with the fibrinolytic function and the protein C system. *British Journal of Haematology*; 2003; 122: 958-965.

⁵⁶ Chiaguri L, Prisco D: Lipoprotein (a) and anticardiolip antibodies are risk factors for clinically relevant reestenosis after elective ballon percutaneous transluminal coronary angioplasty. *Atherosclerosis*; 2001;154: 129-135.

⁵⁷ Dart A, Bridget C: Relationships between protein C , protein S, Von Willebrand factor and euglobulin lysis and cardiovascular risk factors in subjects with and without coronary heart disease. *Atherosclerosis*; 1998;- 140: 55-64.

⁵⁸ Van der Bom J, Knijff P: Tissue plasminogen activator and risk of myocardial infarction. *Circulation* 1997; 95: 2623-2627.

⁵⁹ Sabovic M, Prevodnik VK: Comparasion of fibrinolytic activity in the femoral vein and the righth atrium. *Blood Coagul Fibrinolysis*; 2004;15: 245-8.

⁶⁰ Sabovic M, Salobir B: Vascular bed specific alterations in coagulation and fibrinolytic parameters in young women following myocardial infarction, lacunar cerebral infarction and deep vein thrombosis. *Pathophysiol Heamost Thromb*. 2003; 3382: 96-101

⁶¹ Urano T, Castellino H: Activated protein C attenuates coagulation-associated over-expression of fibrinolytic activity by suppressing the thrombin-dependent inactivation of PAI-1. *Journal Thrombosis and Hemostasis*. 2003; 1: 2615-2620.

⁶² Mavri A, Guzic- Salobir B: Blood Coagul Fibrinolysis. Seasonal variation and haemostatic risk factors in subjects with and without coronary artery disease. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2001; 85: 359-65.

⁶³ Monagle P, Chan: Fibrinolytic system in adolescents: response to venous occlusion stress test. *Pediatric Res*; 2003; 53: 333-7.