



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
SERVICIO DE PATOLOGÍA CLÍNICA
UNIDAD MÉDICA DE ALTA ESPECIALIDAD CARDIOLOGÍA
CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI

**EFFECTO DEL RIVAROXABAN SOBRE LA AGREGACIÓN
PLAQUETARIA**

TESIS
PARA OBTENER EL TÍTULO DE
ESPECIALISTA EN PATOLOGÍA CLÍNICA
PRESENTA:
RODRIGO MANCILLA PADILLA

DIRECTOR DE TESIS:
Dr. ABRAHAM MAJLUF CRUZ



MÉXICO, D.F. JUNIO 2015



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.

AUTORIZACIONES

Dr. Martín Horacio Garrido Garduño

Director Médico

U.M.A.E Hospital de Cardiología Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS

Dr. Jesús Salvador Valencia Sánchez

Director de Educación e Investigación en Salud

U.M.A.E Hospital de Cardiología, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS

Dr. Alberto de Jesús Treviño Mejía

Profesor Titular de Curso de Posgrado de la Especialidad de Patología Clínica

U.M.A.E Hospital de Cardiología Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS

Dr. Abraham Salvador Majluf Cruz

Director de Tesis

Director de la Unidad de Investigación Médica en Trombosis Hemostasia y Aterogénesis

INDICE

Autorizaciones.....	2
Glosario.....	4
Resumen.....	5
Abstract.....	6
1. Introducción.....	7
2. Antecedentes.....	19
3. Materiales y Métodos.....	20
4. Resultados.....	24
5. Discusión.....	26
6. Conclusiones.....	27
7. Bibliografía.....	28
8. Anexos.....	32

GLOSARIO

Plaquetas: Célula oval de la sangre de los vertebrados, desprovista de núcleo, que interviene en el proceso de la coagulación.

Agregación: Acción y efecto de agregar.

Anticoagulante: Dicho de una sustancia o de un producto: Que impiden la coagulación de la sangre.

ADP: Adenosin difosfato

AMP: Adenosin monofosfato

FvW: Factor de Von Willebrand

Plasma: Parte líquida de la sangre o de la linfa, que contiene en suspensión sus células componentes.

Sangre: Líquido, generalmente de color rojo, que circula por las arterias y venas del cuerpo de los animales. Se compone de una parte líquida o plasma y de células en suspensión: hematíes, leucocitos y plaquetas. Su función es distribuir oxígeno, nutrientes y otras sustancias a las células del organismo, y recoger de estas los productos de desecho.

RESUMEN

Rivaroxabán es un anticoagulante oral que actúa directamente en el factor X activado. Se ha informado recientemente de que rivaroxabán puede afectar la función plaquetaria *in vitro*, sin embargo, poco se sabe sobre el impacto clínico de este probable efecto antiplaquetario y si este efecto es dosis-dependiente. Nuestro objetivo fue determinar si rivaroxabán en cuatro dosis diferentes puede inhibir la agregación plaquetaria. Se incluyeron pacientes adultos, tanto hombres como mujeres, que fueron asignados a uno de los siguientes grupos en función de la dosis prescrita de rivaroxabán: 5, 10, 15 y 20 mg. En 80 pacientes (20 pacientes por cada grupo), el porcentaje de la agregación plaquetaria (PAP) se determinó mediante pruebas de agregometría plaquetas antes y después del uso de rivaroxabán. Se obtuvieron muestras basales antes de comenzar el uso de rivaroxabán y un mes después del tratamiento, ambos 2 y 24 h después de la última dosis del medicamento (12 h en el caso de rivaroxabán de 5 mg). Utilizamos tres agonistas plaquetarios: ADP (10 μ M); epinefrina (10 μ M); y ácido araquidónico (0,5 mM). El PAP fue similar antes y después de su uso rivaroxabán independientemente de la dosis administrada y el agonista usado. En conclusión, rivaroxabán en varias dosis terapéuticas no afecta a la agregación plaquetaria. Nuestros resultados muestran claramente que rivaroxabán incluso a la dosis más alta aceptada no afecta a la función plaquetaria.

ABSTRACT

Rivaroxaban is a direct oral anti-FXa anticoagulant. It has recently informed that rivaroxaban may affect platelet function in vitro however, little is known about the clinical impact of this likely antiplatelet effect and if this effect is dose-dependent. Our aim was to determine whether rivaroxaban at four different doses may inhibit platelet aggregation. We included adult patients, both male and female, who were allocated to one of the following groups depending on the prescribed dose of rivaroxaban: 5, 10, 15, and 20 mg. In 80 patients (20 patients/group), the percentage of platelet aggregation (PPA) was determined by means of platelet aggregometry tests before and after rivaroxaban use. Basal samples were obtained before starting rivaroxaban and one month after treatment, both 2 and 24 h after the last dose of the drug (12 h in the case of rivaroxaban 5 mg). We used three platelet agonists: ADP (10 μ M); epinephrine (10 μ M); and arachidonic acid (0.5mM). PPA was similar before and after rivaroxaban use independently of the dose administered and the agonist used. In conclusion, rivaroxaban at several therapeutic doses does not affect platelet aggregation. Our results clearly shown that rivaroxaban even at the highest accepted dose does not affect platelet function.

1. INTRODUCCIÓN.

ANTICOAGULANTES.

Durante décadas, la anticoagulación oral para el tratamiento y prevención de la tromboembolia venosa ha sido posible gracias a la utilización de fármacos antagonistas de la vitamina K (AVKs). Los AVKs también han hecho posible la prevención del infarto cerebral en pacientes con fibrilación auricular (FA), la prevención de embolias y trombosis en portadores de válvulas mecánicas cardíacas y para otras indicaciones. El número de pacientes anticoagulados en nuestro medio es muy elevado. Se calcula que en España 13,2/1.000 habitantes reciben AVKs. Los AVKs son fármacos cuyo manejo es complejo. Su margen terapéutico es estrecho y requiere monitorearlos periódicamente para conseguir mantener niveles razonables de seguridad y eficacia. Además, los AVKs tienen múltiples interacciones con otros fármacos, con la ingesta dietética de vitamina K o alcohol, con enfermedades intercurrentes y otros factores. Se han realizado avances significativos en el manejo de los AVKs mediante unidades de control del tratamiento anticoagulante y con la introducción del autocontrol y automanejo por los propios pacientes. No obstante, en la práctica habitual siguen existiendo muchos problemas y se calcula que los AVKs están implicados en gran número de ingresos hospitalarios, urgencias y complicaciones hemorrágicas. En Estados Unidos son los fármacos más frecuentemente implicados en hospitalizaciones urgentes de ancianos¹.

La investigación para encontrar una alternativa a los AVKs se ha concentrado en el desarrollo de un anticoagulante oral con amplio margen terapéutico y escasa variabilidad intraindividual e interindividual que pueda administrarse con una dosis fija sin necesidad de monitorear sistemáticamente la coagulación y con pocas interacciones medicamentosas o alimentarias. El anticoagulante ideal, además, tendría que ser más seguro y eficaz que los AVKs. En la actualidad existen tres inhibidores directos del factor X activado (rivaroxabán, apixabán y edoxabán) y un inhibidor directo de la trombina (dabigatrán) con indicaciones aprobadas en profilaxis y tratamiento antitrombótico en diferentes situaciones².

Dado que, en el futuro, contaremos con diversos anticoagulantes disponibles es preciso entender bien la farmacología, la farmacocinética, la farmacodinámica y su papel terapéutico. Es poco probable que un único fármaco reemplace a los AVKs en todas las indicaciones y, como habrá diversas opciones, será necesario un proceso de selección específico ajustado para cada paciente.

NUEVOS ANTICOAGULANTES ORALES APROBADOS Y DESARROLLADOS.

Los cuatro nuevos anticoagulantes con desarrollo clínico más avanzado son dabigatrán, rivaroxabán, apixabán y edoxabán. Al contrario que los anticoagulantes disponibles hasta el momento, estos fármacos inhiben sus dianas terapéuticas (la trombina o el factor Xa) directamente, en lugar de a través de un cofactor u otros mecanismos indirectos. Aunque su unión a la zona catalítica de la trombina o del factor Xa es reversible, actualmente no existen antídotos. Su inicio de acción es rápido, tanto como el de las heparinas subcutáneas. Hay otros fármacos en desarrollo, como el darexabán y el betrixabán (inhibidores del factor Xa y de la trombina)³

Rivaroxabán.

Es un inhibidor potente y selectivo del factor Xa. Se une al centro activo del factor Xa y lo inhibe de manera reversible y competitiva. Inhibe al factor Xa libre y al Xa unido en el complejo protrombinasa. Se absorbe por vía oral y su biodisponibilidad es >80%. La comida no interfiere en su absorción. El pico plasmático se consigue a las 3 h y la semivida es de 5-9 h en adultos jóvenes y 11-13 h en ancianos. Un tercio se excreta vía renal sin metabolizar y el resto de forma inactiva vía renal y en heces en partes iguales. Como otros inhibidores directos del factor Xa, rivaroxabán prolonga el tiempo de protrombina y reduce el tiempo de tromboplastina parcial activado (TTPA). La mejor prueba para monitorear su concentración en plasma es la dosificación de unidades de inhibición del factor Xa (anti-Xa). Carece de antídoto, pero hay datos preclínicos de que la administración de concentrado de factores del complejo protrombínico puede ser de utilidad para

corregir las alteraciones biológicas en la hemostasia. No obstante, esto puede no reflejar su eficacia en la hemorragia producida por rivaroxabán⁴.

Apixabán.

Es un inhibidor selectivo y reversible del centro activo del factor Xa. Al igual que rivaroxabán, inhibe al factor Xa libre y al que está unido en el complejo protrombinasa. El fármaco se absorbe vía oral y su biodisponibilidad es >50%. El pico plasmático se consigue a las 3 h y su semivida puede oscilar entre 8 y 15 h. Aproximadamente, 25% se excreta vía renal, mientras el resto aparece en las heces. La alteración de las pruebas de hemostasia es similar a la que produce el rivaroxabán. Carece de antídoto y es posible que la administración de concentrado de factores del complejo protrombínico sea de utilidad.

Dabigatrán etexilato.

Se transforma por esterasas en dabigatrán, su metabolito activo. Es un inhibidor directo de la trombina. La biodisponibilidad vía oral es baja, sólo del 6%. El pico plasmático se consigue en 2 h y la semivida es de 8 h tras una dosis única y de 12-17 h tras múltiples dosis. El 80% se elimina vía renal sin metabolizar. El dabigatrán prolonga el TTPA y tiene un efecto mínimo en el tiempo de protrombina. Prolonga el tiempo de trombina de una manera dependiente de la dosis, aparentemente. Aunque esta es una prueba habitual en los laboratorios de hemostasia y es muy sensible a fármacos inhibidores de la trombina, no es útil para monitorear su efecto por ser demasiado sensible. Existe una variación del tiempo de trombina, el tiempo de trombina diluido con plasma, que tiene una excelente correlación con la concentración plasmática del dabigatrán. El dabigatrán también prolonga el tiempo de ecarina de manera dependiente de la dosis. El tiempo de ecarina y el tiempo de trombina diluido con plasma son las pruebas más recomendables para evaluar las concentraciones de dabigatrán⁵

PLAQUETAS.

Las plaquetas son restos celulares plasmáticos que circulan en la sangre y que tienen un papel central en la hemostasia normal, en la trombosis, en varios trastornos hemorrágicos y en algunos eventos trombóticos hereditarios o adquiridos. Es, por lo tanto, indispensable la comprensión y el estudio minucioso de la función plaquetaria para identificar los diferentes grados y tipos de disfunción o hiperfunción de las plaquetas y para la vigilancia de la efectividad de los tratamientos antiplaquetarios modernos.

La historia del estudio de la función plaquetaria se remonta a más de 100 años, cuando las plaquetas se identificaron como células circulantes de características únicas con participación clave en la hemostasia y la trombosis. Sin embargo, a pesar de esta descripción temprana, en la mayor parte del siglo XX sólo se dispuso del conteo manual de plaquetas, de la observación de su morfología en el frotis de sangre periférica y del tiempo de hemorragia. Uno de los principales problemas en el estudio de la función plaquetaria es la dificultad para simular la hemostasia *in vitro* ya que las plaquetas son sensibles a la manipulación y se activan de manera artificiosa en los tubos de vidrio. La mejor comprensión de la fisiología de la hemostasia y la coagulación facilitó el desarrollo de un método de medición objetiva y de mayor exactitud de la función de las plaquetas: la agregometría plaquetaria.⁶

Origen y estructura plaquetarios.

Las plaquetas son las “células” sanguíneas de menor tamaño y tienen varias características que las distinguen de otras células:

- 1) Derivan de los megacariocitos a través de un proceso endomitótico más que por duplicación celular directa.

- 2) Su desarrollo se realiza de manera predominante bajo el control de la trombopoyetina la cual, a diferencia de la eritropoyetina, se sintetiza en órganos diferentes al riñón e hígado, como el músculo liso y la médula ósea. La trombopoyetina se elimina por las plaquetas, por lo que la disminución en el número de estas aumenta las concentraciones de trombopoyetina circulante.

3) Las plaquetas son células anucleadas con forma discoidea de aproximadamente $0.5 \times 3.0 \mu\text{m}$. Sus principales organelos son mitocondrias, lisosomas, peroxisomas, gránulos (cuerpos) alfa y gránulos densos. Los gránulos alfa contienen gran número de factores que intervienen en la coagulación, como selectina P, factor V, factor VIII, factor de von Willebrand -FvW-, trombospondina, fibronectina, fibrinógeno, β -tromboglobulina, factor plaquetario 4 y factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF por sus siglas en inglés). Los gránulos densos almacenan adenosin difosfato (ADP), calcio y serotonina. El citoplasma puede contener otras sustancias, como: serotonina, epinefrina, norepinefrina, óxido nítrico y citocinas.

Las plaquetas participan en la hemostasia y la trombosis por adherencia al endotelio dañado. Su interacción con el ambiente y con otras plaquetas representa procesos complejos que se inician en la superficie de la membrana plaquetaria, por lo que ésta proporciona una interface reactiva entre las plaquetas y su medio externo mediante receptores en la superficie, los cuales son decisivos en la transducción de señales y los estímulos externos al interior de la plaqueta.⁷

La activación plaquetaria se lleva a cabo mediante la interacción entre los diferentes receptores de membrana y un gran número de moléculas pequeñas, enzimas y complejos proteicos macromoleculares que inducen contracción del citoesqueleto de la plaqueta. El cambio en su forma discoide a la forma esférica con extensiones (pseudópodos) que facilitan la adhesión con el endotelio y entre otras células, la interacción con otras plaquetas y liberación del contenido de sus gránulos. Son varios los estímulos responsables de la secuencia de eventos que conducen a la activación plaquetaria e incluyen: trombina, tripsina, colágeno, ADP, epinefrina, metabolitos del ácido araquidónico, factor activador de plaquetas y epinefrina. Algunos de los principales receptores plaquetarios de membrana son los siguientes:

Receptores de ADP. El adenosin difosfato (ADP) juega un papel central en la hemostasia al actuar como cofactor esencial de la activación plaquetaria. El ADP está presente en concentraciones altas en los gránulos densos y se libera por activación plaquetaria y ejerce un reforzamiento para la agregación plaquetaria.⁸

Receptores de epinefrina. La estimulación plaquetaria por epinefrina ocurre sin cambios en la forma de la plaqueta y está mediada por receptores α 2-adrenérgicos. Estudios farmacológicos sugieren que se expresan aproximadamente 300 receptores de este tipo en cada plaqueta.⁷

Receptores de serotonina. La serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT) es otra molécula pequeña capaz de estimular y activar a las plaquetas. Las plaquetas activas liberan serotonina de los gránulos densos, lo que amplifica la respuesta plaquetaria a través de receptores específicos 5-HT_{2A}.

Receptores de tromboxano A₂ (TxA₂). Diversos agonistas de la activación plaquetaria generan señales para la activación de fosfolipasa A₂, que separa al ácido araquidónico de los fosfolípidos de la membrana, el cual se metaboliza en sustancias activas en las plaquetas e incluyen a los tromboxanos y su precursor PGH₂, que estimula el cambio de forma, la secreción y la agregación plaquetaria. De estos, el TxA₂ es el de mayor potencia y reconoce receptores específicos en las plaquetas.

Receptores de vasopresina. La vasopresina interactúa con las plaquetas para inducir cambios de forma, secreción de los gránulos y agregación.

Receptor del factor activador de plaquetas (FAP). Único entre los agonistas plaquetarios porque no hay otro fosfolípido que estimule las plaquetas en concentraciones nanomolares. Este agonista se sintetiza por varias células inflamatorias y las propias plaquetas e induce cambios de forma, secreción y agregación.⁹

Receptores de trombina. La trombina es el activador plaquetario más potente.

Receptores de colágeno. Existen varias proteínas de la membrana plaquetaria participan en la activación y adhesión que induce el colágeno: GPIa-IIa, GPIV, GPVI y GPV.¹⁰

Receptores para la adhesión plaquetaria. La participación de las glicoproteínas (GP) de la superficie de la membrana es crítica para la adhesión de las plaquetas al subendotelio expuesto (colágeno, fibronectina y factor de von Willebrand -FvW-) y para la interacción con otras plaquetas y componentes de la sangre (fibrinógeno

y FvW). Se enumeran de la I (de mayor tamaño) a la IX (más pequeña).¹¹ Pertenecen a la familia de las integrinas, las cuales son complejos proteicos heterodiméricos α/β . La glicoproteína más abundante es la IIb/IIIa (α IIb/ β 3), responsable de la unión a fibrinógeno, colágeno, protrombina, FvW, trombospondina y vitronectina y es el principal promotor de la agregación plaquetaria. El complejo GP Ib-IX-V es el segundo receptor plaquetario más abundante y participa principalmente en la adhesión plaquetaria al subendotelio mediante la unión al FvW. También promueve la unión a la trombina y facilita la activación de otras plaquetas.

FUNCIÓN PLAQUETARIA.

La hemostasia primaria es el proceso inicial de la coagulación y tiene el objeto de crear un tapón plaquetario en respuesta a daño al endotelio vascular y consiste en fases: adhesión, activación, secreción y agregación plaquetaria. En condiciones normales, las plaquetas no tienen contacto con la matriz de tejido conectivo del subendotelio vascular. Cuando se rompe la integridad endotelial, se exponen fibras de colágena, FvW y otras proteínas de la matriz subendotelial, y es la interacción de las plaquetas con estas sustancias la que proporciona la superficie para la adhesión plaquetaria y sirve como un fuerte estímulo para la activación de las plaquetas. En condiciones de rozamiento alto por flujo sanguíneo (arterias y capilares), esta interacción consiste de manera primordial en la unión de la GP Ib al FvW el cual se adhiere al colágeno subendotelial.¹² En condiciones de rozamiento bajo, la GP Ia/IIa puede unirse de manera directa al colágeno.

La unión de los receptores de la superficie de las plaquetas a sus ligandos activa varias reacciones bioquímicas en cascadas de señalización intracelular a través de segundos mensajeros, como tirosín cinasas, calcio, fosfolipasa C, fosfoinositol 3 cinasa y AMP cíclico, entre otros.¹³ Esta señalización produce cuatro cambios mayores en las plaquetas:

1. El rearrreglo del citoesqueleto de actina causa aplanamiento de las plaquetas y extensión de pseudópodos (filópodos y lamelópodos) para sellar el defecto endotelial.²⁰

2. La activación de la fosfolipasa A2 libera ácido araquidónico de los fosfolípidos de la membrana y se convierte en prostaglandinas y TxA₂ el cual, además, aumenta la vasoconstricción e inducen un taponamiento local.
3. Los gránulos intracelulares se unen con el sistema canalicular abierto de la membrana y liberan su contenido en el plasma circundante. Los gránulos densos liberan ADP y serotonina, entre otras sustancias, que interactúan con los receptores celulares de superficie de otras plaquetas, amplificando la activación y estimulando la agregación.¹⁴
4. La activación plaquetaria aumenta la concentración de GPIIb/IIIa en la membrana e induce cambios en su conformación lo cual permite su unión a fibrinógeno soluble y la agregación de las plaquetas. También se efectúa la activación plaquetaria por la trombina y la epinefrina circulantes cuyos efectos se realizan a través de receptores específicos. La agregación plaquetaria se regula de manera primaria por la unión de GPIIb/IIIa a fibrinógeno y en menor medida a FvW y fibronectina y, puesto que estas moléculas son polivalentes, pueden fungir como unión entre varias plaquetas a la vez. Esta unión plaqueta-fibrinógeno-plaqueta inicia el proceso de agregación del coágulo de plaquetas. Una vez que se forma el coágulo de plaquetas, éste se estabiliza mediante el desarrollo de una red circundante de fibrina a través de la cascada de la coagulación, proceso que se inicia de manera simultánea con la activación de las plaquetas. Además, las plaquetas juegan una función decisiva en la activación y regulación del proceso de la coagulación. Las membranas de las plaquetas activadas contienen el fosfolípido fosfatidilserina en concentración abundante, el cual funciona como cofactor para la unión y activación de los factores de la coagulación. También, las plaquetas son fuente de factores de coagulación que se secretan de los gránulos alfa y de calcio de los gránulos densos. Por último, el factor Va unido a plaquetas se mantiene en relativa “protección” para no ser desactivado por el complejo proteína C/S.¹⁵

AGREGOMETRÍA PLAQUETARIA.

La medición de la agregación de las plaquetas o agregometría plaquetaria fue descrita en 1962 por Born¹⁶ como una técnica para estimar la cinética de la agregación de las plaquetas por medio de turbidometría (medición de la turbidez o densidad óptica). El método se convirtió de manera rápida en el patrón de referencia para el estudio de la función plaquetaria. En la actualidad existen dos métodos diferentes para el estudio de la agregación plaquetaria: el método óptico original con plasma rico en plaquetas (PRP) y el método de impedancia con sangre completa.

Agregación plaquetaria por método óptico.

Este estudio mide en tiempo real la agregación de las plaquetas en una muestra de plasma rico en plaquetas (PRP) mediante aclaramiento óptico. Esta prueba requiere un agregómetro (espectrofotómetro) en el que se deposita la muestra de PRP en un recipiente o cubeta de incubación a 37°C la cual se encuentra entre una fuente de luz y una fotocelda de medición que calcula la densidad óptica o turbidez del PRP. La preparación del PRP requiere la separación de los eritrocitos y leucocitos del plasma y las plaquetas en una muestra de sangre completa, mediante centrifugación lenta (1,000 rpm) durante 15 min. También se requiere la preparación de una muestra de plasma pobre en plaquetas (PPP), que se obtiene por centrifugación rápida (3,000 rpm). La calibración de la transmisión de la luz a través del PPP (plasma claro) se ajusta al 100%; la transmisión de luz a través del PRP (plasma turbio u opaco) entonces se ajusta a 0%.¹⁷

Después, se agrega una de varias sustancias conocidas por su efecto agonista sobre las plaquetas, con la finalidad de inducir agregación de las plaquetas y simular *in vitro* lo que sucede *in vivo*. En un estudio de rutina se incluyen: epinefrina, ADP, colágena, ácido araquidónico, trombina y ristocetina (un antibiótico que estimula la agregación por aumento de la unión de FvW a la GPIIb). Mientras se realiza este proceso, la luz pasa a través de la cubeta con el PRP y se captura por el detector o fotocelda en el lado opuesto. Conforme las plaquetas se agregan en respuesta al agonista, el PRP se aclara y se transmite mayor cantidad

de luz. La transmisión de la luz se mide en tiempo real y se grafica el porcentaje del aclaramiento de la muestra; a mayor agregación plaquetaria, mayor transmisión de la luz y viceversa.¹⁷ Su graficación genera una curva de la agregación plaquetaria en porcentaje y tiempo. Se debe estudiar un agente agregante (agonista) a la vez. Los agonistas que comúnmente se utilizan son ADP, epinefrina, colágena y ristocetina; es común que en algunos centros se utilice al ácido araquidónico y serotonina como agentes agregantes; sin embargo, el último ha caído en desuso. La curva típica de la agregación plaquetaria tiene cinco fases distintas con dos curvas.^{17,18} Este método tiene varias limitaciones inherentes; consume tiempo, es laborioso y complejo, por lo que se requiere un equipo humano bien adiestrado y con experiencia en la realización de la técnica. La interpretación de los resultados también requiere experiencia y conocimiento de la técnica y fisiología y fisiopatología de la hemostasia y la coagulación. La muestra debe obtenerse por punción venosa directa y se colecta en tubos con anticoagulante a base de citrato (tubos para tiempos de coagulación con tapón de color lila). La prueba se debe realizar en las tres horas después de obtener la muestra. La centrifugación puede dañar o activar las plaquetas y no se debe realizar en muestras hemolizadas, lipémicas o con contaminación por eritrocitos.¹⁹ La agregometría en PRP es sensible a la cifra de plaquetas. Como en otros estudios de la función plaquetaria, la trombocitopenia $<100 \times 10^9/l$ o la trombocitosis $> 400 \times 10^9/l$ pueden alterar los resultados y se debe tener en cuenta para su interpretación. En el caso de la cifra de plaquetas $>400 \times 10^9/l$ se recomienda diluir la muestra con PPP (aproximadamente a $200 \times 10^9/l$).⁹ Este ajuste, sin embargo, agrega una variable adicional, ya que el PPP contiene nucleótidos de adenina que pueden inhibir la agregación plaquetaria por ADP o colágena.²⁰

Las dosis de los agentes agregantes pueden variar en los diferentes centros. Las dosis estandarizadas son las siguientes: la epinefrina, por lo regular, se utiliza en dos dosis, la dosis alta en concentración de 2.5×10^{-5} y la dosis baja en concentración de 2.5×10^{-6} . El ADP también se utiliza en dos concentraciones, la dosis alta en concentración de 2.0×10^{-5} y la dosis baja de 2.5×10^{-6} ; el colágeno se

utiliza en concentración final de 0.19 mg/ml; la ristocetina en concentración de 1.25 mg/ml y ácido araquidónico en concentración de 0.5 mg/ml.

Agregometría plaquetaria en sangre total por método de impedancia.

En 1980, Cardinal y Flower²¹ desarrollaron un método por el que la agregación plaquetaria se puede medir en sangre completa mediante impedancia eléctrica. Se coloca una muestra de sangre en una cubeta o recipiente a 37°C, se colocan dos electrodos de platino a distancia fija y entre los electrodos se aplica una corriente eléctrica.²² La adición de un agonista (ADP, epinefrina, colágena o ristocetina) estimula la agregación de las plaquetas en la superficie de los electrodos, lo que impide el flujo de la corriente eléctrica. El aumento en la resistencia al flujo de electricidad es proporcional a la agregación de las plaquetas en torno a los electrodos y se genera una curva de agregación.²³ Este método elimina varias de las variables confusas en la preparación de PRP, ya que no se requiere, además de ser más simple y fácil de realizar. En estudios comparativos se reporta que esta técnica proporciona resultados similares a los que se obtienen con el método clásico (turbidimétrico) y que puede ser mejor para vigilar tratamientos antiplaquetarios y en el diagnóstico y seguimiento de estados de hiperactividad plaquetaria. Al igual que la agregometría convencional, la agregación por impedancia en sangre completa es relativamente insensible a la presencia de agregados de plaquetas. Este examen también requiere de técnicos expertos y es significativamente más costoso.

Medición del efecto de rivaroxabán.

Rivaroxabán (5-cloro-N-[[[(5S)-2oxo-3-[4-(3-oxomorfolin-4-il) fenil] -1,3-oxazolidina-5-il] metil] tiofen-2-carboxamida), es un inhibidor directo del factor X activado con efectos anticoagulantes potentes. Su peso molecular es 436 g/mol y su selectividad para el factor X activado es 10,000 veces mayor que otras proteasas de serina²⁴. Su vida media es de 7 a 11 horas y con un efecto máximo después de 2-3 horas posteriores a su ingesta por vía oral ²⁵. Rivaroxabán fue aprobado en 2008 en Europa para la prevención de la enfermedad tromboembólica venosa

(ETV) en pacientes que requirieron cirugía ortopédica mayor²⁶⁻²⁷. Actualmente, rivaroxabán ha sido aprobado en varios estudios clínicos para tratamiento de la ETV sintomática aguda²⁸, prevención de eventos cardioembólicos en pacientes con fibrilación auricular no valvular²⁹, para el tratamiento de la embolia pulmonar³⁰, y en el tratamiento de los pacientes en la fase aguda de los síndromes coronarios agudos³¹. Las dosis aceptadas de rivaroxabán para estas entidades clínicas son 5, 10, 15 y 20 mg una o dos veces al día.

No se requiere monitoreo de laboratorio del efecto anticoagulante de rivaroxabán un hecho que representa una gran ventaja en comparación con los AVKs. El efecto anticoagulante de rivaroxabán depende de un efecto inhibidor directo sobre el factor X activado en la vía común de la fase fluida de la hemostasia. Como resultado, se observa una caída en la generación de trombina, así como la actividad de complejo de protrombinasa³². Estos efectos pueden ser evidentes en algunos casos cuando las pruebas de tiempo de protrombina y el TTPA suelen prolongarse dependiendo tanto de la dosis administrada así como de los reactivos utilizados en los ensayos³³. Debido a que la trombina juega un papel importante en la agregación plaquetaria se ha descrito que rivaroxabán también puede tener algunos efectos inhibidores sobre la función plaquetaria. De hecho, algunos efectos antiplaquetarios de rivaroxabán sobre la función de plaquetas han sido publicados³³⁻³⁷. Aunque este efecto antiplaquetario probable de rivaroxabán parece bastante atractivo en pacientes con síndromes coronarios agudos en los que las plaquetas tienen un papel principal en la fisiopatología³¹, no hay ninguna evidencia convincente que demuestra un papel inhibitorio de este medicamento sobre la función plaquetaria. Por otra parte, no se sabe si los efectos antiplaquetarios probables de rivaroxabán son dependientes de la dosis. Por lo tanto, nuestro objetivo fue determinar si rivaroxabán, en varias dosis, puede afectar la agregación plaquetaria *in vitro*.

2. ANTECEDENTES.

La activación plaquetaria en la falla cardiaca congestiva contribuye a aumentar el riesgo de complicaciones tromboembólicas. Rivaroxabán, el primer inhibidor directo del factor X activado, está aprobado para su uso en México y en el IMSS para la prevención y tratamiento de la trombosis venosa, embolismo pulmonar y en la prevención de eventos tromboembólicos en la FA. Dado que la falla cardiaca es un factor de riesgo importante para tromboembolismo y el aumento de la agregación plaquetaria es común en la falla cardiaca, se investigó el efecto potencial del tratamiento con rivaroxabán sobre las plaquetas en un modelo experimental de falla cardiaca congestiva. Se indujo infarto miocárdico en ratas macho Winstar por medio de ligadura coronaria y fueron aleatorizadas para recibir placebo o rivaroxabán (3 o 10 mg/kg una vez al día). Después de 10 semanas se evaluó la agregación plaquetaria. El fibrinógeno unido a plaquetas detectado por criometría de flujo, fue significativamente mayor en el grupo placebo ($p < 0.05$) pero se redujo después del tratamiento con rivaroxabán ($p < 0.05$). La agregación inducida por ADP fue significativamente menor en el grupo con tratamiento ($p < 0.05$) y se normalizó después de la inhibición crónica del factor X activado ($p < 0.05$ vs grupo placebo). En experimentos *in vitro*, la agregación plaquetaria atenuada estuvo presente después de incubar sangre entera directamente con rivaroxabán pero ausente cuando el experimento se llevó a cabo solo en plasma rico en plaquetas. Por lo tanto, se puede excluir un efecto directo sobre las plaquetas. Los autores concluyen que la inhibición crónica directa del factor X activado utilizando rivaroxabán reduce la activación plaquetaria en ratas con falla cardiaca crónica al atenuar la fase secundaria de la agregación plaquetaria inducida por ADP. Así, rivaroxabán podría ser una medida útil para prevenir complicaciones tromboembólicas y reducir la activación plaquetaria en la falla cardiaca congestiva simultáneamente.³⁸

3. MATERIAL Y MÉTODOS.

Selección de la muestra.

En este estudio controlado, prospectivo, longitudinal, se analizaron muestras de sangre de pacientes adultos, hombres y mujeres, que estaban en tratamiento con rivaroxabán. Los pacientes fueron reclutados de la Clínica de Anticoagulación del Hospital General Regional Carlos McGrégor Sánchez Navarro del Instituto Mexicano del Seguro Social. El rivaroxabán (Xarelto™, Bayer Healthcare, Alemania), siempre se indicó siguiendo las recomendaciones de la compañía farmacéutica. Los pacientes fueron reclutados de uno de los siguientes grupos de acuerdo a la dosis terapéutica requerida de rivaroxabán: Grupo 1: 10 mg c/24 h; Grupo 2: 15 mg cada 24h; 3: 20 mg cada 24h. El grupo 4 incluyó voluntarios sanos que recibieron rivaroxabán 2,5 mg dos veces al día. Se les recomendó a los pacientes evitar cualquier otro medicamento con efectos antiplaquetarios conocidos durante al menos 15 días antes de la extracción de sangre basal y durante todo el estudio. Para ser incluidos, los sujetos debían tener una cuenta plaquetaria basal >50% para todos los agonistas plaquetarios utilizados en las pruebas. Las muestras se obtuvieron antes y 30 días después del tratamiento con rivaroxabán. Para los grupos 1, 2 y 3, se obtuvieron muestras de sangre 2 y 24 h después de la última dosis del anticoagulante luego de un mes de tratamiento. Para el grupo 4, las muestras después del tratamiento se obtuvieron 2 y 12 h después de la última dosis de rivaroxabán.

Recolección de la muestra.

El estudio se realizó durante un período de 6 meses. De todos los pacientes y voluntarios sanos que tomaron rivaroxabán así como de los controles (donantes de sangre sanos), se obtuvieron 10.8 ml de sangre en cuatro tubos de vacío con 3,2% de citrato de sodio (vol:vol = 1:9) (Vacutainer, Beckton Dickinson, Rutherford, NJ, EE.UU.). Se obtuvieron muestras sanguíneas basales y post-tratamiento antes del desayuno, excepto en las muestras necesarias para las pruebas realizadas 2 h después de la ingesta de rivaroxabán (porque rivaroxabán se absorbe mejor

después de la ingesta de alimentos). Después de la extracción de sangre, las muestras se dejaron reposar a temperatura ambiente durante 30 min antes de la centrifugación. Se obtuvo plasma rico en plaquetas (PRP) y plasma pobre en plaquetas (PPP) después de la centrifugación a 800 g durante 10 min y 1,500 g durante 10 min, respectivamente. El plasma se eliminó usando pipetas Pasteur de plástico. Para las pruebas de control de calidad interno, se obtuvieron muestras de plasma como se mencionó anteriormente a partir de donantes de sangre sanos. La selección de donadores de sangre y los estudios de agregación de plaquetas fueron similares a los ya mencionados para los pacientes.

Tamaño de la muestra.

Para obtener el tamaño de la muestra se utilizó el porcentaje de agregación plaquetaria (PAP) obtenido a partir de la agregación plaquetaria inducida por ADP de los controles. Se calculó el tamaño de la muestra utilizando un valor de 75 ± 15 del PAP (media \pm 1SD), con $\alpha = 0,05$ y $1-\beta = 0,9$. Sobre estas bases y teniendo en cuenta que un valor del PAP es clínicamente significativo cuando es $<55\%$, el tamaño obtenido fue de 12 pacientes por grupo. Se utilizaron finalmente 20 sujetos por grupo con el fin de tener una muestra más representativa.

Prueba de agregometría plaquetaria.

Todas las muestras lipémicas, hemolizadas o ictericas fueron dadas de baja. Utilizamos un equipo comercial de agregometría plaquetaria 810-CA Chronolog (Chronolog, Havertown, PA, EE.UU.). La concentración de plaquetas en el PRP se ajustó a $250 \times 10^3/\mu\text{l}$. El PPP se usó como blanco y como medio de dilución del PRP. El agregómetro requiere $450 \mu\text{l}$ de la PRP. Las muestras se mantuvieron en la cuveta durante 1 min a 37°C y antes de añadir los antagonistas también es requerido un período de 1 min de incubación con el fin de evaluar la presencia de auto-agregación de la muestra (como un indicador de la activación plaquetaria anterior). Se utilizaron tres agonistas plaquetarios a concentraciones finales estandarizados: ADP ($10 \mu\text{M}$), epinefrina ($10 \mu\text{M}$), y ácido araquidónico ($0,5 \text{ mM}$).

El PAP máximo se obtuvo entre 5 y 7 min. El mismo procedimiento se utilizó para las muestras de control.

Análisis estadístico.

Se utilizó el programa estadístico Sigma-Stat versión 3.5 (Systat Software Inc., San Jose, CA, USA). Para la descripción de los datos demográficos, se utilizaron medidas de tendencia central y dispersión. Se utilizaron las percentilas 2.5 y 97.5 para establecer los valores de referencia para el PAP en el grupo control. Los resultados de PAP antes y después del tratamiento con rivaroxabán se expresan como $\text{media} \pm \text{desviación estándar}$. Los resultados de PAP basal contra los resultados de PAP post-tratamiento se compararon mediante una prueba t pareada. La comparación de los resultados obtenidos de los diferentes grupos de estudio se realizó con un análisis unidireccional de la varianza (ANOVA). Se utilizó una prueba de Student-Newman-Keuls para realizar comparaciones múltiples. Se utilizó una prueba t de Student para comparar los resultados de los PAP que se obtuvieron 2 h frente a 12 y 24 h después de la última dosis de rivaroxabán. Se utilizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov para determinar si la distribución de datos fue consistente con una curva de distribución normal. Un valor de $p < 0,05$ fue considerado significativo.

CONSIDERACIONES ÉTICAS.

El protocolo del estudio fue aprobado por el Comité de Ética de nuestra institución. Aunque la agregación de plaquetas es una prueba de diagnóstico de uso común, este ensayo no se realiza comúnmente en individuos que reciben rivaroxabán. Se obtuvo el consentimiento informado después de haber recibido información acerca de la naturaleza del estudio, antes de tomar la primera muestra de sangre. Confidencialidad de los resultados siempre estuvo garantizada. Sólo los investigadores tuvieron acceso a los datos completos de los participantes. El cegamiento se rompió en el caso de anomalías clínicas o de laboratorio significativos. El estudio se llevó a cabo de acuerdo con las siguientes normas

nacionales e internacionales para la investigación clínica: Ley de General de Salud, de la Declaración de Helsinki, y el Código de Nuremberg.

4. RESULTADOS.

Originalmente se inscribieron ciento veinte y ocho pacientes en el estudio, pero se obtuvieron muestras basales y post-tratamiento sólo en 80 de ellos (40 mujeres y 40 hombres). Todos los grupos estaban formados por 20 pacientes, 10 hombres y 10 mujeres. La mediana de edad para los hombres fue de 40 años (rango 18-65), 55 años (rango 30-77), 71 años (rango 55-75) y 60 años (rango 39-77), para los grupos 1, 2, 3 y 4, respectivamente. Para las mujeres, la edad media fue de 45 años (rango 26-65), de 55 años (rango 18-90), de 70 años (rango 68-66), y de 69 años (rango 43-90), para los mismos grupos, respectivamente. No hubo diferencias significativas en cuanto a la edad entre hombres y mujeres y entre los grupos de estudio ($p > 0,05$).

Agregometria plaquetaria basal.

Debido a que no se observaron diferencias significativas en el PAP entre hombres y mujeres ($p > 0.05$), los resultados de los cuatro grupos de estudio se muestran en su conjunto en las Tablas 1, 2 y 3. La Tabla 1 muestra los resultados basales del PAP de acuerdo con los cuatro grupos de estudio. Los resultados del grupo de control se utilizaron para establecer los valores de referencia para el PAP para los tres agonistas utilizados. El basal del PAP fue similar entre los cuatro grupos de tratamiento y para los tres agonistas de plaquetas (Tabla 1). No encontramos diferencias significativas entre el PAP basal del grupo de control en comparación con el PAP de los grupos 1, 2, y 3 ($p > 0,05$) (datos no mostrados). En el grupo 4, el PAP basal de los voluntarios sanos en tratamiento con rivaroxabán fue significativamente mayor que el PAP basal de los grupos 1, 2, y 3 ($p < 0.05$) (datos no mostrados). Sin embargo, estas diferencias que se encuentran en el grupo 4 no influyeron en los resultados ya que la media del PAP se encuentra entre los valores de referencia.

Efecto de rivaroxabán sobre la agregometría plaquetaria.

Después de 30 días de tratamiento con rivaroxabán observamos algunos cambios aleatorios y no significativos en el PAP en los cuatro grupos de estudio (Tabla 2). En los grupos 1 y 2, el PAP con ADP disminuyó de 77% a 75% y de 81 a 78%, respectivamente. Por otra parte, aumentos no significativos después del tratamiento rivaroxabán se observaron con los tres agonistas en los cuatro grupos de estudio. Debido a que no hubo diferencias significativas en el PAP entre las fases basal y post-tratamiento, no realizamos algún análisis estadístico para determinar las diferencias en el PAP post-tratamiento entre los grupos de estudio.

PAP 2 h vs. 12h y 24h después de la última dosis con rivaroxabán.

Cuando se compararon los resultados de los PAP 2 h vs. 12 o 24 h después de la última dosis de rivaroxabán no encontramos diferencias significativas entre los cuatro grupos y entre los tres agonistas plaquetarios utilizados (Tabla 3). Es digno mencionar que, en algunos pacientes el PAP después de 2 h de la ingesta de rivaroxabán fue superior al valor basal aunque los valores medios estuvieron siempre entre los valores de referencia.

5. DISCUSIÓN.

Farmacológicamente, rivaroxabán no fue concebido como un agente antiplaquetario. Desde este punto de vista, nuestros resultados muestran claramente que este anticoagulante no puede sustituir a algún agente antiplaquetario y que, si es necesario utilizarlo en combinación con uno de tales agentes, no añade ningún efecto sobre la función plaquetaria.

Decidimos analizar el probable efecto antiplaquetario post-tratamiento de rivaroxabán en dos momentos diferentes después de la última dosis indicada. Por supuesto, como se muestra en los estudios farmacocinéticos, la elección del efecto anticoagulante anti-factor X activado se produce 2 h después de la dosis de rivaroxabán. Por lo tanto, analizamos el posible efecto de este medicamento sobre las plaquetas en el momento esperado más alto de actividad anti-factor X activado, el efecto agudo de la medicación. Sin embargo, podría ser posible que tal efecto agudo en las plaquetas puede no ser tan evidente, pero tal vez si un efecto antiplaquetario tardío. Como consecuencia de ello, decidimos realizar el ensayo con el PAP a las 24 h (para 10, 15 y 20 dosis mg) o a las 12 h (para la dosis de 5 mg), después de la última dosis de rivaroxabán. Nuestros resultados muestran claramente que rivaroxabán tampoco tuvo efectos antiplaquetarios tardíos al final del período de actividad de este anticoagulante.

Algunos datos sobre el diseño de nuestro estudio deben ser revisados. En primer lugar, analizamos el PAP de los pacientes o voluntarios sanos después de un período de 1 mes de tratamiento con rivaroxabán. Podría ser posible que algún efecto antiplaquetario llegara a observarse después de la exposición a este medicamento durante períodos de tiempo más largos. Sin embargo, no hay evidencia directa o indirecta para sostener esta suposición. En segundo lugar, se evaluó la función de las plaquetas por medio de agregometría plaquetaria, un ensayo que tal vez no refleje completamente toda la actividad de las plaquetas. Sin embargo, la agregometría plaquetaria todavía se considera el estándar de oro para el análisis de la función de las plaquetas como se muestra cuando se llevan a cabo estudios sobre la resistencia a la aspirina o los antagonistas de ADP.

6. CONCLUSIONES.

El rivaroxabán, un anticoagulante con efecto directo sobre la actividad del factor X activado, no tiene efecto sobre las plaquetas cuando se utiliza en dosis crecientes ni cuando se evalúa en tiempos diferentes luego de su ingesta.

7. BIBLIOGRAFÍA.

1. Budnitz DS, Lovegrove MC, Shehab N, Richards CL. Emergency hospitalizations for adverse drug events in older Americans. *N Engl J Med*. 2011;365:2002-12.
2. Wittkowsky AK. Novel oral anticoagulants and their role in clinical practice. *Pharmacotherapy*. 2011;31:1175-91.
3. Eriksson BI, Quinlan DJ, Weitz JI. Comparative pharmacodynamics and pharmacokinetics of oral direct thrombin and factor Xa inhibitors in development. *Clin Pharmacokinet*. 2009;48:1-22.
4. Godier A, Miclot A, Le Bonniec B, Durand M, Fischer AM, Emmerich J, et al. Evaluation of prothrombin complex concentrate and recombinant activated factor VII to reverse rivaroxaban in a rabbit model. *Anesthesiology*. 2012;116:94-102.
5. Stangier J, Rathgen K, Stähle H, Gansser D, Roth W. The pharmacokinetics, pharmacodynamics and tolerability of dabigatran etexilate, a new oral direct thrombin inhibitor, in healthy male subjects. *Br J Clin Pharmacol*. 2007;64:292-303.
6. Born GV. Aggregation of blood platelets by adenosine and its reversal. *Nature* 1962; 194:927.
7. Ware JA, Collier BS. Platelet morphology, biochemistry and function. En: Beutler E, Lichtman MA, Collier BS, et al. eds. *Williams hematology*, 5th ed. New York: McGraw-Hill, 1995;p: 1161-1201.
8. Mills DC. ADP receptors on platelets. *Thromb Haemost* 1996;76:835-856.
9. Shukla SD. Platelet activating factor and platelets. En: Rao G, Ed. *Handbook of platelets physiology and pharmacology*. Boston: Kluwer Academic Publishers, 1999;p:120-141.
10. Clemetson KJ, Clemetson JM. Platelet collagen receptors. *Thromb Haemost* 2001;86:189-197.
11. Bennet JSW. The molecular biology of platelets membrane proteins. *Semin Hematol* 1990; 27:186 -204.
12. Andrews RK, López JA, Berndt MC. Molecular mechanisms of platelet adhesion and activation. *Int J Biochem Cell Biol* 1997;29:91-105.

13. Gibbins JM. Platelet adhesion signaling and the regulation of thrombus formation. *J Cell Sci* 2004;117:3415-3425.
14. Gachet C. ADP receptors of platelets and their inhibition. *Thromb Haemost* 2001;86: 222-232.
15. Jackson, SP. The growing complexity of platelet aggregation. *Blood* 2007; 109:5087.
16. Born GRV. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. *Nature* 1962;194: 927-029.
17. Adam Seegmiller, Ravindra Sarode. Laboratory Evaluation of platelet function. *Hematol Oncol Clin N Am* 2007; 21: 731-742.
18. Rodgers G. Qualitative platelet disorders and von Willebrand disease. En: Kjeldsberg CR, Ed. *Practical diagnosis of hematologic disorders*. 4th edition. Chicago: ASCP Press; 2006. p. 327-344.
19. Newhouse P, Clark C. The variability of platelet aggregation. En: Triplet DA Ed. *Platelet function: laboratory evaluation and clinical application*. Chicago: ASCP; 1978. p. 63-107.
20. Lecchi A, Zighetti ML, Lussana F, et al. Platelet aggregation studies: autologous platelet-poor plasma inhibits platelet aggregation when added to platelet-rich plasma to normalize platelet count. *J Thromb Haemost* 2005; 3 (Suppl 1): p0965.
21. Cardinal DC, Flower RJ. The electric aggregometer: a novel device for assessing platelet behavior in blood. *J Pharmacol Methods* 1980; 3: 135-158.
22. Mackie IJ, Jones R, Machin SJ. Platelet impedance aggregation in whole blood assay and its inhibition by antiplatelet drugs. *J Clin Pathol* 1984; 37: 874.
23. Ingerman-Wojenski CM, Silver MJ. A quick method for screening platelet dysfunction using the whole blood lumiaggregometer. *Thromb Haemost* 1984; 51: 154-156.
24. Perzborn E, Roehrig S, Straub A, Kubitzka D, Mueck W, Laux V. Rivaroxaban: a new oral factor Xa inhibitor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2010;30:376-381.
25. Yeh CH, Fredenburgh JC, Weitz JI. Oral direct factor Xa inhibitors. *Circ Res*. 2012; 111:1069-1078.

26. Eriksson BI, Borris LC, Friedman RJ, Haas S, Huisman MV, Kakkar AK, Bandel TJ, Beckmann H, Muehlhofer E, Misselwitz F, Geerts W. Rivaroxaban versus enoxaparin for thromboprophylaxis after hip arthroplasty. *N Engl J Med.* 2008;358:2765-2775.
27. Lassen MR, Ageno W, Borris LC, Lieberman JR, Rosencher N, Bandel TJ, Misselwitz F, Turpie AG. Rivaroxaban versus enoxaparin for thromboprophylaxis after total knee arthroplasty. *N Engl J Med.* 2008;358:2776-2786.
28. Bauersachs R, Berkowitz SD, Brenner B, Buller HR, Decousus H, Gallus AS, Lensing AW, Misselwitz F, Prins MH, Raskob GE, Segers A, Verhamme P, Wells P, Agnelli G, Bounameaux H, Cohen A, Davidson BL, Piovella F, Schellong S. Oral rivaroxaban for symptomatic venous thromboembolism. *N Engl J Med.* 2010;363:2499-2510.
29. Patel MR, Mahaffey KW, Garg J, Pan G, Singer DE, Hacke W, Breithardt G, Halperin JL, Hankey GJ, Piccini JP, Becker RC, Nessel CC, Paolini JF, Berkowitz SD, Fox KA, Califf RM. Rivaroxaban versus warfarin in nonvalvular atrial fibrillation. *N Engl J Med.* 2011;365:883-891.
30. Buller HR, Prins MH, Lensin AW, Decousus H, Jacobson BF, Minar E, Chlumsky J, Verhamme P, Wells P, Agnelli G, Cohen A, Berkowitz SD, Bounameaux H, Davidson BL, Misselwitz F, Gallus AS, Raskob GE, Schellong S, Segers A. Oral rivaroxaban for the treatment of symptomatic pulmonary embolism. *N Engl J Med.* 2012; 366:1287-1297.
31. Mega JL, Braunwald E, Wiviott Sd, Bassand JP, Bhatt DL, Bode C, Burton P, Cohen M, Coo-Bruns N, Fox KA, Goto S, Murphy SA, Plotnikov AN, Schneider D, Sun X, Verheugt FW, Gibson CM, ATLAS ACS 2-TIMI 51 Investigators. Rivaroxaban in patients with a recent acute coronary syndrome. *N Engl J Med.* 2012;366:9-19.
32. Mega JL, Braunwald E, Wiviott Sd, Murphy SA, Plotnikov A, Gotcheva N, Ruda M, Gibson CM. Comparison of the efficacy and safety of two rivaroxaban doses in acute coronary syndrome (from ATLAS ACS 2-TIMI 51). *Am J Cardiol.* 2013;112:472-478.

33. Graff J, von Hentig N, Misselwitz F, Kubitza D, Becka M, Breddin HK, Harder S. Effects of the oral, direct factor Xa inhibitor rivaroxaban on platelet-induced thrombin generation and prothrombinase activity. *J Clin Pharmacol.* 2007;47:1398-1407.
34. Hillar A, Baghaei F, Fagerberg Blixter I, Gustafsson KM, Stigendal L, Sten-Linder M, Strandberg K, Lindahl TL. Effects of the oral, direct factor Xa inhibitor rivaroxaban on commonly used coagulation assays. *J Thromb Haemost.* 2011;9:133-139.
35. Flierl U, Fraccarollo D, Micka J, Bauersachs J, Schafer A. The direct factor Xa inhibitor Rivaroxaban reduces platelet activation in congestive heart failure. *Pharmacol Res.* 2013;74:49-55.
36. Ringwala SM, Dibattiste, PM, Schneider DJ. Effects on platelet function of a direct acting antagonist of coagulation factor Xa. *Thromb Thrombolysis* 2012;34:291-296.
37. Wong PC, Jiang X. Apixaban, a direct factor Xa inhibitor, inhibits tissue-factor induced human platelet aggregation in vitro: comparison with direct inhibitors of factor VIIa, Xia and thrombin. *Thromb Haemost* 2010;104:302-310.
38. Ulrike Flierla, Daniela Fraccarolloa, The direct factor Xa inhibitor Rivaroxaban reduces platelet activation in congestive heart failure. *Pharm Res* 2013;74:49-55.

8. ANEXOS.

Tabla 1. Resultados basales en porcentaje de la agregación plaquetaria (PAP) en los grupos de estudio					
Agonista	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	VR
Ácido araquidónico	79 ± 11	81 ± 14	76 ± 14	92 ± 8*	50 - 100
ADP	77 ± 10	81 ± 15	74 ± 13	87 ± 10*	55 - 100
Epinefrina	79 ± 12	79 ± 15	79 ± 14	88 ± 9*	52 - 95

Valores de referencia: RV. Los resultados se expresan como media ± desviación estándar. Un ANOVA de una vía y una prueba de Student Newman Keuls se utilizaron para el análisis de los resultados. La prueba de Kolmogorov-Smirnov mostró que los resultados basales de PAP en los cuatro grupos de estudio fueron normales ($p \geq 0.05$). n = 20 pacientes/grupo. *= $P \leq 0.05$ rivaroxabán 5 mg vs. rivaroxabán 10, 15 y 20 mg

Tabla 2. Efectos de rivaroxabán sobre la agregación plaquetaria			
Agonista	PAP basal	PAP 24h post-Tx	P
Grupo 1			
Ácido araquidónico	79 ± 11	86 ± 9	0.056
ADP	77 ± 10	75 ± 10	0.207
Epinefrina	79 ± 12	83 ± 15	0.602
Grupo 2			
Ácido araquidónico	81 ± 14	85 ± 14	0.487
ADP	81 ± 15	78 ± 13	0.876
Epinefrina	79 ± 15	80 ± 14	0.960
Grupo 3			
Ácido araquidónico	76 ± 14	78 ± 11	0.573
ADP	74 ± 13	75 ± 10	0.802
Epinefrina	79 ± 14	80 ± 14	0.777
Grupo 4			
Ácido araquidónico	92 ± 8	96 ± 8	0.789
ADP	87 ± 10	91 ± 9	0.867
Epinefrina	88 ± 9	92 ± 11	0.627
<p>PAP: porcentaje de la agregación plaquetaria. Los resultados se expresan como media ± desviación estándar. Una prueba t pareada se utilizó para el análisis de los resultados. Los resultados de PAP posteriores al tratamiento mostraron una (prueba de Kolmogorov-Smirnov; p≥0.05) distribución normal. n = 20 pacientes/grupo</p>			

Tabla 3. Porcentaje de agregación plaquetaria (PAP) 12 o 24 h frente a 2 h después de la ingesta de rivaroxabán

Agonista	Grupo 1		Grupo 2		Grupo 3		Grupo 4	
	24 h	2 h	24 h	2 h	24 h	2 h	12 h	2 h
Ácido araquidónico	86 ± 9	90 ± 13	85 ± 14	91 ± 10	78 ± 11	80 ± 12	96 ± 8	90 ± 13
ADP	75 ± 10	81 ± 10	78 ± 13	83 ± 5	75 ± 10	80 ± 7	91 ± 9	87 ± 11
Epinefrina	83 ± 15	83 ± 11	80 ± 14	77 ± 16	80 ± 14	74 ± 17	92 ± 11	86 ± 14

Los resultados se expresan como media ± desviación estándar. Una prueba t del estudiante se utilizó para el análisis de los resultados. No hubo diferencias significativas entre todos los resultados evaluados en todos los grupos entre 2 y 24 h y entre 12 y 24 h. Los resultados obtenidos del PAP en los cuatro grupos de estudio mostraron una distribución normal ($p \geq 0.05$).

CARTA DECLARACIÓN DE CONSENTIMIENTO INFORMADO:

INFORMACIÓN PARA PARTICIPAR EN EL ESTUDIO *EFFECTO DEL RIVAROXABÁN SOBRE LA AGREGACION PLAQUETARIA*

Lo invitamos a participar en este estudio de investigación que se lleva a cabo en la Unidad de Investigación Médica en Trombosis, Hemostasia y Aterogénesis del HGR Carlos MacGrégor Sánchez Navarro del Instituto Mexicano del Seguro Social. La siguiente información es importante para que Usted tenga un conocimiento más amplio del porqué estamos haciendo esta investigación para que pueda tomar una decisión bien razonada antes de ingresar al estudio. Usted puede hacer las preguntas que quiera acerca de este documento en el momento que así lo desee.

Los antitrombóticos se utilizan por millones de pacientes en el mundo porque son efectivos para tratar y prevenir los eventos de trombosis (taponamiento de una vena o una arteria). Las trombosis son enfermedades muy importantes porque pueden producir infartos, discapacidad, falla de algunos órganos, entre otras cosas. Por lo tanto, las trombosis son alteraciones devastadoras para la salud. Trombofilia es un estado en el cual un ser humano tiene una tendencia a sufrir una trombosis. Una de las razones para que se produzca una trombosis en un ser humano es que la coagulación se altere.

La trombosis es una enfermedad que tiene muchos factores de riesgo, como la edad, hipertensión arterial, tabaquismo, sedentarismo, consumo de alimentos ricos en grasas, y enfermedades como el cáncer, entre otras. Sin embargo, algunos casos de trombosis se deben a alteraciones genéticas. Por lo tanto, una trombosis puede afectar importantemente la vida de una persona desde el punto de vista de la salud, económico, social, laboral y familiar.

Este estudio tiene como propósito conocer si el rivaroxabán, un fármaco anticoagulante muy efectivo para prevenir o tratar las trombosis tiene efecto sobre la función de las plaquetas del pacientes. Esto es importante porque si tiene este efecto, habría que manejarlo con cautela en caso de que se requiera tratamiento con ácido acetil salicílico o bien para estar preparados si es que ocurre una hemorragia. Normalmente, cuando existe una hemorragia en un paciente que está tomando rivaroxabán, se aplican las medidas correspondientes tratando de inutilizar su efecto anticoagulante, sin embargo, si existe un efecto sobre las plaquetas las estrategias terapéuticas podrían cambiar sustancialmente.

Por todo lo antes mencionado, lo invitamos a ingresar a este estudio en el cual pretendemos invitar a 60 personas que requieren este tratamiento y que se encuentran en la zona de influencia del Hospital General Regional Carlos MacGrégor Sánchez Navarro. Debe Usted saber que su participación en este estudio es completamente voluntaria. Por favor lea la información que le proporcionamos, y haga las preguntas que desee antes de decidir si desea o no participar.

Riesgo de la investigación.

El único riesgo al que Usted será sometido es al de una toma de sangre antes de iniciar el tratamiento con rivaroxabán y otra toma más al final de un periodo de 4 semanas. Este es un procedimiento que se practica todos los días en muchos pacientes y en todo el mundo

y sus riesgos son muy bajos.

Contribuciones y beneficios del estudio para los pacientes y la sociedad.

Debe Usted saber que no recibirá ningún pago por su participación en este estudio. Sin embargo, un posible beneficio de su participación en este estudio es que los resultados del efecto de este tratamiento antitrombótico nos permitan saber si hay que actuar con cautela en caso de que se requiera además de tratamiento con ácido acetil salicílico o de cómo tratar de la mejor manera posible una hemorragia mientras un paciente esté tomando rivaroxabán. El tener este conocimiento acerca del medicamento indicado en su persona puede ser un beneficio de participar en este estudio. Si encontráramos un efecto negativo del anticoagulante sobre sus plaquetas le recomendaríamos alguna estrategia para disminuir el peligro o bien podríamos considerar la posibilidad de que no use Usted este tipo de medicamentos, ya que el riesgo puede ser inaceptable. Por último, si bien los beneficios directos para Usted pudieran no existir, los resultados que arroje esta investigación contribuirán al avance del conocimiento acerca del uso de este medicamento. Es factible que con los resultados se pueda brindar una mejor atención a los usuarios del medicamento.

Privacidad y confidencialidad.

La información que nos proporcione puede ser utilizada para localizarlo (nombre, teléfono y dirección). Debe Usted saber que esta información será guardada confidencialmente y por separado al igual que sus respuestas a las preguntas que se le hagan. Asimismo, los resultados de los estudios que realizaremos también serán estrictamente confidenciales. El equipo de investigadores de esta unidad y las personas que estén involucradas en el cuidado de su salud sabrán que usted está participando en este estudio. Sin embargo, nadie tendrá acceso a la información que nos proporcione sobre Usted durante su participación en este estudio, al menos de que Usted así lo desee. Sólo proporcionaremos su información si fuera necesario para proteger sus derechos o bienestar (por ejemplo, si llegara a sufrir algún daño físico o si llegara a necesitar cuidados de emergencia), o si lo requiere la ley. Cuando los resultados de este estudio sean publicados o presentados en conferencias, nunca se dará alguna información que pudiera revelar su identidad. En todo momento su identidad permanecerá protegida y oculta. Para lograr que su identidad siempre esté protegida, en todo el estudio le asignaremos un número que será utilizado para identificar sus datos y sus muestras de sangre. Este número será utilizado en lugar de su nombre en los archivos en donde la información queda guardada.

Resultados o información nueva sobre alternativas de tratamiento.

Durante el transcurso de este estudio, le informaremos de cualquier hallazgo nuevo (ya sea bueno o malo) que sea importante para la decisión de participar en este estudio; por ejemplo, si hubieran cambios en los riesgos o beneficios por su participación en esta investigación o si hubieran nuevos datos científicos que pudieran cambiar su opinión sobre su participación en este estudio. Si llegara a generarse información nueva también le pediremos su consentimiento para seguir participando en este estudio.

¿Qué se va a hacer en el estudio y cómo se va a hacer?

En caso de que Usted decida aceptar en participar en este estudio debe saber que ocurrirá lo siguiente:

1. Le haremos algunas preguntas muy generales como su nombre, edad, número de

filiación en el IMSS, dirección y teléfono. Tiene Usted el derecho de no contestar a cualquiera de estas preguntas. Esta información se obtendrá siempre discreta y confidencialmente en una entrevista en la que sólo estará presente el investigador principal de este estudio. Esta información será guardada de manera tal que Usted nunca podrá ser identificado por otra persona que no sea el investigador principal de este proyecto.

2. Usted podrá tener acceso a sus resultados en cada consulta a la que acuda en el periodo de estudio tal y como ha ocurrido hasta ahora en la Clínica de Anticoagulación de este hospital.

Participación o retiro.

Su participación en este estudio es completamente voluntaria. Usted tiene el derecho de recibir una respuesta clara ante cualquier pregunta, duda o aclaración que surja acerca de los procedimientos, riesgos, beneficios y cualquier otro asunto relacionado con este estudio. Si Usted decide no participar, de cualquier manera seguirá recibiendo la atención médica que recibe en el IMSS y se le continuarán ofreciendo todos los procedimientos establecidos en esta misma institución. Esto quiere decir que si Usted no acepta participar, esto no afectará su relación con el IMSS ni tampoco su derecho a obtener los beneficios a los que tiene derecho dentro de la institución. Además, si en un principio desea participar y finalmente cambia de opinión, Usted tiene todo el derecho de abandonar el estudio en cualquier momento. Este abandono del estudio tampoco modificará los beneficios que le otorga el IMSS.

Personal de contacto para dudas y aclaraciones sobre el estudio.

Si tiene preguntas o quiere hablar con alguien sobre este estudio de investigación puede comunicarse de 9:00 a 16:00 horas de lunes a viernes con el Dr. Abraham Majluf Cruz, quien es el investigador responsable del estudio, a los teléfonos 5639-5822, extensión 20855. Asimismo, puede acudir a esta misma Unidad de Investigación Médica en Trombosis, Hemostasia y Aterogénesis en los mismos horarios. En caso de alguna emergencia Usted deberá acudir a cualquiera de los servicios de Urgencias de su Unidad de Medicina Familiar o del Hospital General Regional Carlos MacGrégor Sánchez Navarro. Por otra parte, si Usted tiene dudas o preguntas sobre sus derechos al participar en un estudio de investigación, puede comunicarse con los responsables de la Comisión de Ética en Investigación del Instituto Mexicano del Seguro Social a los teléfonos 5627-6900, en la extensión 21216, de 9 a 16:00 horas de lunes a viernes. Si así lo prefiere, también puede obtener información si escribe a la dirección electrónica conise@cis.gob.mx. La Comisión de Ética en Investigación se encuentra ubicada en el Edificio del Bloque B, Unidad de Congresos piso 4, Centro Médico Nacional XXI, Avenida Cuauhtémoc 330, Colonia Doctores, CP 06725, México D. F.

DECLARACIÓN DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN EL ESTUDIO

EFECTO DEL RIVAROXABÁN SOBRE LA AGREGACION PLAQUETARIA

Se me ha explicado con claridad en qué consiste este estudio. Además, he leído (o alguien me ha leído) el contenido de este formato de consentimiento. Se me ha dado la oportunidad de hacer preguntas y todas mis preguntas han sido contestadas a mi satisfacción. Se me ha dado una copia de este formato. Al firmar este formato estoy de acuerdo en participar en la investigación que aquí se describe.

Nombre y firma del participante (huella) _____
Fecha

Firma del encargado de obtener el consentimiento informado.

Le he explicado el estudio de investigación al participante y he contestado todas sus preguntas. Creo que él/ella entiende la información descrita en este documento y libremente da su consentimiento a participar en este estudio de investigación.

Dr. Abraham Majluf Cruz
Encargado de obtener el consentimiento informado

Dr. Abraham Majluf Cruz _____
Fecha
(encargado de obtener el consentimiento informado)

Firma de los testigos

Mi firma como testigo certifica que el participante firmó este formato de consentimiento informado en mi presencia, de manera voluntaria. Reconozco el compromiso que implica solicitar y aplicar una carta de consentimiento informado.

Nombre y firma del testigo 1 Parentesco con la participante _____
Fecha

Nombre y firma del testigo 2 Parentesco con la participante _____
Fecha