



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán

**Efecto del rivaroxabán en los tiempos de coagulación de pacientes
con trombosis**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE LICENCIADA EN BIOQUÍMICA
DIAGNÓSTICA**

Presenta

Patricia Cruz Puente

Asesor:

Dr. Jesús Hernández Juárez

Coasesora:

M. en C. Idalia Carmen Avila Miyazawa

Cuautitlán Izcalli, Estado de México, 2016



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUELLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: M. EN A. ISMAEL HERNÁNDEZ MAURICIO
Jefe del Departamento de Exámenes Profesionales
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el Tesis y Examen Profesional

Efecto del rivoroxaban en los tiempos de coagulación de pacientes con trombosis.

Que presenta la pasante: Patricia Cruz Puente

Con número de cuenta: 308161378 para obtener el Título de la carrera: Licenciatura en Bioquímica Diagnóstica

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 12 de Mayo de 2016.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	<u>M. en C. Lidia Carmen Avila Miyazawa</u>	
VOCAL	<u>M. en C. Gloria Leticia Arriaga Martínez</u>	
SECRETARIO	<u>Q.F.B. Ma. de Lourdes Galván Ruiz</u>	
1er. SUPLENTE	<u>Q.F.B. Beatriz Lucía González Maldonado</u>	
2da. SUPLENTE	<u>M. en C. Bernabé Rodríguez Pérez</u>	

NO Afirmados es cup antes 2016. Alfirmados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 32/).

HM/ige*

DEDICATORIAS

A mi corazón chiquito Victoria, que es la alegría de mis días, la sorpresa que vino a cambiarme la vida y a quien más amo.

Mamá, porqué eres lo más cercano a la perfección que conozco, siempre me has dado más de lo que debes y el amor que tienes me lleva a admirarte cada día más.

A mi papá, por creer siempre en mí, por apoyarme y brindar su ejemplo, haciéndome una mejor persona.

Lili, la mejor hermana, compañera y amiga, porque cuando parece difícil el camino simplemente recordar que la tengo lo hace más ligero.

Lalo, siempre serás mi orgullo, contigo las risas no faltan con tus eternas discusiones y pláticas ingeniosas, el mejor hermano.

A Sergio, por ser mi amigo y el consejero más sincero, pero sobre todo por ser mi compañero y respaldar mis propósitos y sueños.

A mis tías y tíos, que gracias a ellos muchas cosas son posibles y la presencia y el cariño que me tienen no se ve mermado por la distancia.

AGRADECIMIENTOS

A mi asesor, el Dr. Jesús Hernández Juárez, excelente persona, que me ha ayudado a hacer posible este trabajo, apoyando y aconsejando no importando día ni hora, ha puesto en mí la confianza para llegar a alcanzar este y futuros logros.

A mi asesora, la M. en C. Idalia Avila Miyazawa, por mostrarme y atraparme en la Hematología, haciendo que no deje de sentir satisfacción y gusto al estudiarla. Sin duda ha marcado mi destino como estudiante y también como profesionalista.

Agradezco a las coincidencias que me hicieron llegar a la UIMTHA del IMSS, donde encontré a un excelente equipo de trabajo, dirigido por el Dr. Abraham Majluf, quien me abrió las puertas desde el día que lo conocí y no ha escatimado en mostrarme su apoyo. A mis compañeros Memo, Paola, Julieta, Anahí, Rubicel y Víctor por ayudarme a ampliar mis conocimientos y a mejorar en muchos aspectos.

A las profesoras Leticia Arellano, Lourdes Galván, Beatriz González y Betsabé Rodríguez, que me asistieron y orientaron, lo cual fue esencial para la realización de este trabajo, sin embargo, la gratitud también se debe al esfuerzo y empeño que brindaron en cada una de sus clases.

Porque de las mejores cosas que me dio la Universidad fueron los amigos, gracias por convencerme de no siempre ir en horas libres a la biblioteca, pues de los libros aprendí mucho, pero lo que disfruté riendo con ustedes no fue menos. Gracias Chicharo, Miguel, Moisés, Sebastián y claro, también Juan P., César, Joaquín y todos aquéllos que tal vez no estén sus nombres, pero sus recuerdos siempre perdurarán.

Gracias a la UNAM por darme la oportunidad de estudiar lo que siempre deseé, por brindarme una ventana al mundo del conocimiento y hacer posibles los sueños en un entorno tan difícil.

ÍNDICE

ABREVIATURAS	I
ÍNDICE DE TABLAS, FIGURAS Y GRÁFICAS	III
RESUMEN	IV
ABSTRACT	V
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO TEÓRICO	2
2.1 Fisiología de la hemostasia	2
2.2 Hemostasia primaria	3
2.3 Hemostasia secundaria	6
2.4 Anticoagulantes naturales	12
2.5 Fibrinólisis	13
2.6 Fisiopatología de la enfermedad tromboembólica venosa	14
2.7 Síndrome de anticuerpos antifosfolípidos	18
2.8 Rivaroxabán	19
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	23
4. JUSTIFICACIÓN	24
5. HIPÓTESIS	25
6. OBJETIVO GENERAL	25
6.1 Objetivos específicos	25
7. MATERIAL Y MÉTODOS	26
7.1 CARACTERÍSTICAS DEL ESTUDIO	26
7.1.1 Tipo de estudio	26
7.1.2 Descripción de las variables	26

7.1.3	Universo de estudio	26
7.1.4	Tamaño de muestra	26
7.1.5	Criterios de inclusión, no inclusión y exclusión	27
7.2	MÉTODOS	28
7.2.1	Equipo	28
7.2.2	Materiales	28
7.2.3	Reactivos	28
7.2.4	Biológicos	29
7.2.5	Selección de pacientes	29
7.2.6	Recolección de muestras	29
7.2.7	Pruebas de función hepática y creatinina	30
7.2.8	Tiempo de protrombina (TP)	30
7.2.9	Tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa)	30
8.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	32
9.	RESULTADOS	33
9.1	Efectos del RIV en los tiempos de coagulación	33
9.2	Efectos del RIV en las pruebas de función hepática y renal	39
10.	DISCUSIÓN	42
11.	CONCLUSIONES	51
12.	PERSPECTIVAS	51
13.	CONSIDERACIONES ÉTICAS	52
14.	REFERENCIAS	53
15.	ANEXOS	61

ABREVIATURAS

t-PA	Activador tisular de plasminógeno
ADP	Adenosín difosfato
AVK	Antagonistas de vitamina K
AL	Anticoagulante lúpico
aACL	Anticuerpo anticardiopina
aFL	Anticuerpo antifosfolípido
AI	Albúmina
ALT	Alanina aminotransaminasa
AMPc	AMP cíclico
AST	Aspartato aminotransferasa
AT	Antitrombina
BD	Bilirrubina directa
BI	Bilirrubina indirecta
BT	Bilirrubinas totales
HMWK	Cininógeno de alto peso molecular
CT	Colesterol total
DHL	Deshidrogenasa láctica
ETV	Enfermedad tromboembólica venosa
FA	Fosfatasa alcalina
FVa	Factor V activado
FVII	Factor VII
FVIIa	Factor VII activado
FVIII	Factor VIII
FVIIIa	Factor VIII activado
FIXa	Factor IX activado
FX	Factor X
FXa	Factor X activado
FXII	Factor XII
FXIII	Factor XIII
FvW	Factor de von Willebrand
FKVD	Factor Vitamina K dependiente
FT	Factor tisular
Fla	Fibrina
FI	Fibrinógeno o factor I

GGT	Gamma glutamiltransferasa
GMPc	GMP cíclico
Glb	Globulinas
TFPI	Inhibidor de la vía del FT
ON	Óxido nítrico
PPN	Pool de plasma normal
PDF	Productos de degradación de fibrina
FII	Protrombina o factor II
RIV	Rivaroxabán
SAAF	Síndrome de anticuerpos antifosfolípidos
SIHT	Sociedad Internacional para el estudio de la hemostasia y trombosis
TEP	Tromboembolia pulmonar
TP	Tiempo de protrombina
Tr	Trombina
TTPa	Tiempo de tromboplastina parcial activada
dRVVT	Tiempo de veneno de víbora de Russell diluido
TVP	Trombosis venosa profunda
UK	Urocinasa
VK	Vitamina K

ÍNDICE DE TABLAS, FIGURAS Y GRÁFICAS.

Tabla 1.	Factores de riesgo que predisponen al desarrollo de trombosis.	15
Tabla 2.	Propiedades farmacológicas de: Warfarina, rivaroxabán, apixabán y edoxabán.	20
Tabla 3.	Efecto del RIV en el TP y TTPa de los pacientes con ETV (sin AL) antes y después del tratamiento con RIV (n= 256).	37
Tabla 4.	Efecto del RIV en el TP y TTPa de los pacientes con ETV (con AL) antes y después del tratamiento con RIV (n= 37).	38
Tabla 5.	Resultados de la concentración de bilirrubinas en pacientes con ETV antes y a los 6 meses de tratamiento con RIV (n= 293).	39
Tabla 6.	Resultados de los niveles séricos de ALT, AST, GGT, FA y DHL en pacientes con ETV en tratamiento con RIV (n=293).	40
Tabla 7.	Resultados de la concentración plasmática de fibrinógeno en pacientes con ETV antes y después del tratamiento con RIV (n= 293).	40
Figura 1.	Modelo celular de la hemostasia.	8
Figura 2.	Ciclo de la γ - carboxilación.	9
Figura 3.	Triada de Virchow.	17
Figura 4.	Acción de la inhibición del FXa en la cascada de coagulación.	21
Gráfica 1.	Medias de los resultados del TP de pacientes con ETV sin AL.	34
Gráfica 2.	Resultados del TP de pacientes con ETV sin AL.	35
Gráfica 3.	Medias de los resultados del TTPa de pacientes con ETV sin AL.	35
Gráfica 4.	Resultado del TTPa de pacientes con ETV sin AL.	36
Gráfica 5.	Resultados del TP y TTPa de pacientes con ETV sin AL (n=256) en tratamiento con RIV.	37
Gráfica 6.	Resultados del TP y TTPa de pacientes con ETV y AL (n=37) en tratamiento con RIV.	38
Gráfica 7.	Resultados de la concentración de fibrinógeno en pacientes con ETV tratados con RIV.	41

RESUMEN

Introducción. El rivaroxabán (RIV) es un anticoagulante que inhibe al factor X activado (FXa), se utiliza en el tratamiento de la enfermedad tromboembólica venosa (ETV) y en la trombosis arterial. El RIV prolonga los tiempos de coagulación dependiendo de la dosis y de los reactivos utilizados. Sin embargo, se desconoce si estos efectos se mantienen con el uso crónico del RIV. **Objetivo.** Determinar si la prolongación de los tiempos de coagulación puede ser un parámetro de laboratorio para evaluar la actividad anti-FXa del RIV en el tratamiento crónico de pacientes con ETV. **Métodos.** Analizamos las muestras de pacientes con ETV, adultos, ambos sexos, con resultados positivos (+) y negativos (-) para el anticoagulante lúpico (AL). Determinamos: tiempo de protrombina (TP) y tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa) antes, 1, 3, 6 y 12 meses después de iniciada la terapia anticoagulante con RIV 10 mg/ 24 h. Se evaluó la función hepática y renal de los pacientes. Se utilizó estadística descriptiva e inferencial para el análisis de los resultados. **Resultados.** Pacientes con ETV (AL-): El TP y TTPa se prolongaron transitoriamente al inicio del tratamiento (1-3 meses) y se normalizaron a los 6 meses de usar RIV. Pacientes con ETV (AL+): Se observaron cambios mínimos y al azar en el TP y TTPa de los pacientes. Para ambos grupos de estudio los efectos del RIV sobre los tiempos de coagulación fueron clínicamente irrelevantes. **Conclusiones.** El RIV prolonga transitoriamente el TP y el TTPa, de los pacientes con ETV. El TP y TTPa no son pruebas sensibles para evaluar la inhibición del FXa por el uso crónico de RIV. **Perspectivas.** Evaluar si a dosis altas de RIV, el TP y el TTPa se prolongan. Evaluar la actividad del FXa y otros factores hemostáticos durante el tratamiento crónico con RIV.

ABSTRACT

Introduction. Rivaroxaban (RIV) is an anticoagulant that inhibits factor X activated (FXa), is used for the treatment of venous thromboembolism (VTE) and arterial thrombosis. RIV does not require clinical monitoring. RIV prolongs clotting times depending on the dose and reagents used. However, it is unknown whether these effects are maintained with the chronic use of RIV. **Aim.** Determine whether the prolongation of clotting times might be used as a laboratory parameter to assess the anti-FXa activity of RIV in the chronic treatment of VTE patients. **Methods.** We included samples of VTE patients, adult, both sexes, with positive (+) and negative (-) results for lupus anticoagulant (LA). We determined in all patients prothrombin time (PT) and activated partial thromboplastin time (aPTT) before and 1, 3, 6 and 12 months after starting anticoagulant therapy with RIV 10 mg OD. Hepatic and renal function of patients was also evaluated. Descriptive and inferential statistics were used to analysis the results. **Results.** VTE patients (LA -): PT and aPTT were transiently prolonged at the beginning of treatment (1-3 months) and were normalized after 6 months of using RIV. VTE patients (LA +): we observed slight and random changes for PT and aPTT of VTE patients. For both study groups the effects of RIV on clotting times were clinically irrelevant. **Conclusions.** RIV transiently prolongs the PT and aPTT in VTE patients. PT and aPTT are not sensitive tests to assess the inhibition of FXa by the chronic use of RIV. **Perspectives.** Assess whether the use of high doses of RIV (15 and 20 mg OD) prolong the clotting times of VTE patients. Evaluate the activity of FXa and other clotting factors during the chronic use of RIV.

1. INTRODUCCIÓN

La ETV involucra a la trombosis venosa profunda (TVP) y la tromboembolia pulmonar (TEP). Los avances en la profilaxis, diagnóstico y tratamiento de la ETV han sido importantes, no obstante, en la actualidad la ETV es una causa de elevada morbilidad y mortalidad en pacientes hospitalizados y ambulatorios, con una incidencia de 1 caso/10000 adultos jóvenes a 1/100 adultos mayores.

Debido a que la ETV es devastadora, es trascendental para toda sociedad contar con fármacos que eviten o contrarresten sus efectos¹. Los antagonistas de vitamina K (AVK) fueron el tratamiento de elección de la ETV durante muchos años, sin embargo, ahora se cuenta con nuevos fármacos anticoagulantes dirigidos a factores específicos de la fase plasmática de la hemostasia² como el RIV, un inhibidor directo del FXa. A pesar de que diversos estudios clínicos demuestran que el RIV es más seguro y efectivo que los AVK⁴, no existe una prueba de laboratorio aceptada para evaluar su efecto anticoagulante.

Los tiempos de coagulación se prolongan dependiendo la dosis de RIV y los reactivos usados. Sin embargo, se desconoce si la prolongación de los tiempos de coagulación puede ser un parámetro de laboratorio utilizado para intentar evaluar el efecto anticoagulante del RIV durante el tratamiento crónico de los pacientes con trombosis. Evidentemente, estos estudios permitirán conocer si es necesario diseñar tiempos de coagulación con características específicas que incrementen su sensibilidad al efecto anticoagulante del RIV, para intentar establecer índices de anticoagulación tal y como sucedió con los AVK.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Fisiología de la hemostasia

La hemostasia es un sistema complejo que tiene tres funciones principales: a) mantener la sangre fluida en circulación; b) detener la hemorragia a través de la formación de un coágulo y c) degradar el coágulo después de la reparación tisular⁴. La hemostasia se divide en hemostasia primaria y secundaria; en la hemostasia primaria interaccionan las plaquetas con el vaso sanguíneo, mientras que en la hemostasia secundaria se desencadenan reacciones enzimáticas que culminan con la formación de la malla de fibrina, en esta fase de la hemostasia participan los factores hemostáticos y elementos celulares^{5, 6}.

La vasoconstricción es un mecanismo biológico trascendental para la hemostasia ya que permite disminuir el flujo sanguíneo en el sitio de la lesión favoreciendo el reclutamiento e interacción de los elementos celulares y plasmáticos para detener la hemorragia⁷. En condiciones normales, el endotelio tiene un fenotipo anticoagulante; sin embargo, después de una lesión o disfunción endotelial su fenotipo cambia a uno procoagulante, el cual se caracteriza por la exposición o expresión de factor tisular (FT), produciéndose trombina en las membranas de las plaquetas activadas con la subsecuente adhesión y activación plaquetaria que culmina en la formación de un coágulo de plaquetas, el cual engloba también leucocitos y eritrocitos⁸.

Los eritrocitos contribuyen con la hemostasia liberando adenosín difosfato (ADP), un agonista plaquetario que induce agregación plaquetaria. Por el contrario, los neutrófilos inhiben la activación plaquetaria en el sitio de la lesión limitando el crecimiento del coágulo al tamaño de la lesión vascular⁴. Después

de la reparación tisular, el coágulo sanguíneo debe ser degradado para evitar que su desprendimiento o embolización ocluya la luz vascular en sitios no deseados.

El sistema de la fibrinólisis es el responsable de la degradación enzimática de la fibrina convirtiendo a ésta última en fragmentos pequeños que serán eliminados en su paso por el hígado⁹.

2.2 Hemostasia primaria

Se caracteriza por la vasoconstricción, la adhesión plaquetaria y la formación de agregados plaquetarios ¹⁰.

Cuando se pierde la continuidad vascular el colágeno expuesto y las plaquetas interaccionan entre sí iniciando el proceso de adhesión plaquetaria, el cual oscila de 2 – 4 s. Lo anterior se efectúa en respuesta a la vasoconstricción que disminuye el flujo sanguíneo en el sitio de la lesión ⁶.

De manera inicial, la atracción electrostática entre la carga del ácido siálico de las plaquetas y la de las fibras de colágeno inician el proceso de adhesión plaquetaria ¹¹. La adhesión plaquetaria requiere de la secreción endotelial del factor de von Willebrand (FvW). El FvW forma un puente fisiológico entre la glicoproteína Ib de las plaquetas y el colágeno del subendotelio. Las plaquetas adheridas se activan y liberan el contenido de sus gránulos (serotonina, ADP y tromboxano A2). El ADP activa a las plaquetas en el sitio de la lesión, mientras que el tromboxano A2 activa la bomba de calcio para que éste último estimule al sistema contráctil para que se liberen más agonistas plaquetarios¹², contribuyendo así a los procesos de agregación plaquetaria y de vasoconstricción¹⁰.

Tanto el colágeno (mediado por el FvW) como la trombina (trazas o microdosis de trombina) producida en la hemostasia secundaria activan a las plaquetas mediante la inducción de señales intracelulares que culminan en la formación de un agregado plaquetario. Las plaquetas poseen factores que intervienen en la reparación vascular (factor de crecimiento plaquetario).

Entre las reacciones que inducen activación plaquetaria se encuentra la activación de la fosfolipasa C, una enzima que hidroliza los fosfolípidos de inositol. Los productos de esta reacción activan la proteína cinasa C y aumentan la concentración intraplaquetaria de Ca^{2+} dando lugar a:

- Cambio de forma de las plaquetas (las plaquetas pasan de ser discoides a esféricas con pseudópodos), los gránulos se sitúan en el centro de las plaquetas (por acción del sistema actina-miosina), se establecen comunicaciones entre los gránulos y el sistema canicular abierto¹².
- Activación de la glicoproteína IIb/IIIa, receptor del fibrinógeno, fibronectina, vitronectina, osteonectina, laminina y FvW⁶. La interacción del receptor glicoproteína IIb/IIIa con sus ligandos favorece la agregación plaquetaria.
- El ácido araquidónico (liberado de los fosfolípidos de membrana plaquetaria) oxida a la prostaglandina H₂, genera tromboxano A₂ y produce vasoconstricción.
- Las plaquetas secretan ADP que activa a las plaquetas adheridas al subendotelio y a las circulantes en el sitio de la lesión.
- En las membranas de las plaquetas activadas se exponen fosfolípidos sobre los cuales se desarrollarán las reacciones enzimáticas que

culminan en la formación de fibrina, la cual da estabilidad al coágulo plaquetario.

- Se favorece la retracción del coágulo mediante la activación de una cinasa de miosina. Este proceso da mayor firmeza al coágulo plaquetario.

Por otro lado, el sistema vascular consta de tres tipos de vasos sanguíneos: arterias, venas y capilares. Los vasos sanguíneos en los cuales se desencadenan los procesos de la hemostasia son las arteriolas y las vénulas¹³. Los vasos sanguíneos consisten de una cavidad central a través de la cual fluye la sangre; ésta cavidad está recubierta por una capa continua de células aplanadas llamadas células endoteliales, misma que separan la sangre de los tejidos circundantes y proporcionan un ambiente protector para los elementos celulares y los constituyentes disueltos del plasma.

Los tejidos situados debajo de la membrana basal varían en espesor y composición según el tamaño y tipo de vaso. Los elementos celulares que se sitúan por debajo de las células endoteliales conforman el subendotelio o matriz subendotelial¹⁴.

El endotelio consta de diversas funciones básicas que permiten mantener la sangre fluida dentro de los vasos sanguíneos a través de la formación o disolución de un coágulo ¹³; entre estas podemos mencionar las siguientes:

Antihemostático:

- Superficie endotelial cargada negativamente que repele a las plaquetas y proteínas hemostáticas.

- Secreción de heparan-sulfato, trombomodulina (ambos inhibidores de la trombina), prostacilina (PGI₂) y óxido nítrico (NO). La PGI₂ y el NO son inhibidores de la agregación plaquetaria.

Fibrinolítico:

- Síntesis del activador tisular de plasminógeno (t-PA) y su inhibidor, el inhibidor del activador tisular del plasminógeno tipo 1 (PAI-1).

Prohemostático

- Síntesis y almacenamiento del FvW en los cuerpos de Weidle-Palade, este factor tiene la función de transportar a factor VIII (FVIII) en el plasma e interviene en la adhesión y agregación plaquetaria.

2.3 Hemostasia secundaria

Después de la formación del agregado plaquetario, éste debe recubrirse de una malla de fibrina que le proporciona estabilidad⁴. Por lo tanto, el objetivo de la hemostasia secundaria también llamada fase fluida de la hemostasia o fase plasmática es convertir al fibrinógeno (FI), una proteína soluble en el plasma en otra insoluble, la fibrina.

El FI se convierte en fibrina por acción de la Trombina (Tr), la cual proviene de una serie de reacciones en cadena conocidas anteriormente como cascadas de la coagulación, pero que ahora sabemos que este modelo no explica lo que fisiológicamente ocurre en el plasma de un ser humano. El modelo de las cascadas de la coagulación, continúa siendo útil para el laboratorio y con fines didácticos. Este modelo muestra que la formación de Tr ocurre por las reacciones

generadas en dos vías distintas, la vía extrínseca y la vía intrínseca, que convergen en la vía común.

La vía extrínseca se activa cuando la sangre se pone en contacto con los tejidos, y recibe este nombre debido a que el único factor extrínseco a la sangre es el factor tisular (FT), lipoproteína liberada por las células endoteliales activadas o expuesto en el subendotelio durante la lesión vascular. En presencia de Ca^{2+} , el FT activa al factor VII (FVII)^{4, 12}.

La vía intrínseca de la fase plasmática de la hemostasia recibe este nombre debido a que todos sus factores se encuentran en la circulación sanguínea; inicia cuando el FXII interacciona con superficies o sustancias con carga negativa; *in vitro*, se emplean diversas sustancias con carga negativa como el cristal, caolín, ácido elálgico, sílica gel, endotoxina, entre otras, como componentes de la prueba de tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa); *in vivo*, el colágeno es el principal componente del subendotelio que aporta cargas negativas para el inicio de la activación de la vía intrínseca, sin embargo, las cargas negativas de los fosfolípidos de las membranas plaquetarias activadas también contribuyen a la activación de esta vía a través de la activación de los componentes la fase de contacto (factor XII (FXII), precalicreína y cininógeno de alto peso molecular (HMWK)). Las vías extrínseca e intrínseca de la hemostasia tienen el objetivo de activar al FX, a partir de este paso las siguientes reacciones enzimáticas comprenden a la vía común.

En la fase plasmática de la hemostasia, los zimógenos se convierten en enzimas y éstas últimas activan a otros zimógenos en una serie de reacciones en cadena o en cascada^{4, 15}. Las reacciones hemostáticas ocurren sólo en presencia de membranas activadas de plaquetas, leucocitos o endotelio, lo que limita la formación del coágulo al sitio de lesión⁴.

La fase plasmática de la hemostasia inicia cuando el FT entra en contacto con la sangre, ya sea después de una lesión endotelial o durante la inflamación¹⁶. El complejo FVIIa-FT activa a los factores IX y X^{17, 18}. La amplificación y propagación de las reacciones enzimáticas se produce en las membranas de las plaquetas activadas. Sobre estas membranas activadas se desarrolla la formación de dos complejos enzimáticos trascendentales para la producción de Tr, el complejo diezasa (FVIIIa, FIXa, Ca²⁺ y fosfolípidos) y el complejo protrombinasa (FXa, FVa, Ca²⁺ y fosfolípidos). La Tr tiene diferentes funciones; convierte al fibrinógeno (factor I; FI) en fibrina¹⁹, activa a los factores V, VIII, XI y XIII, activa a las plaquetas y autorregula su producción activando al sistema anticoagulante de la proteína C. La Figura 1 muestra un esquema simplificado del modelo celular de la fase plasmática de la hemostasia.

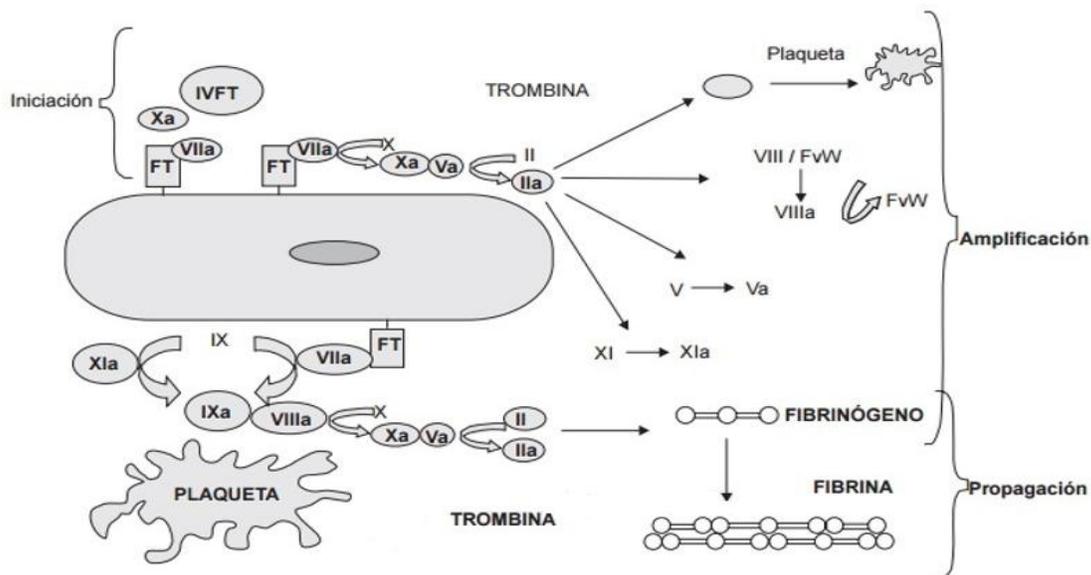


Figura 1. Modelo celular de la hemostasia. La primera fase o iniciación se lleva a cabo en células que expresan factor tisular (endotelio-subendotelio); en la segunda fase amplificación, el sistema se prepara para la producción a gran escala de trombina, y finalmente, la tercera fase o propagación ocurre en la membrana de las plaquetas activadas. Revista Médica Universitaria Navarro 2009 Paramo, J. A.

A continuación, se describen brevemente algunas de las características biológicas de los factores de coagulación y su clasificación. De manera general, los factores de la coagulación los podemos clasificar en proteasas de serina, cofactores, transglutamidasa y sustrato. A su vez, los factores proteasas de serina se clasifican en vitamina K (VK) dependientes y en VK no dependientes (ver Figura 2).

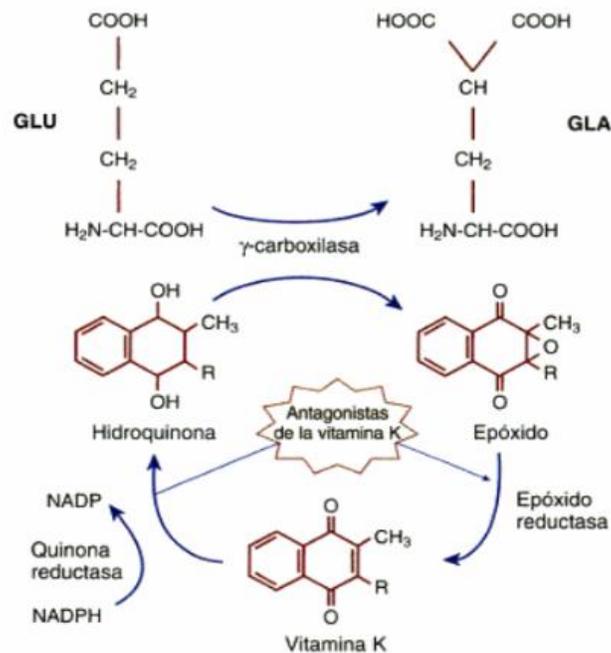


Figura 2. El ciclo de γ - carboxilación. Requiere vitamina K y se interrumpe por antagonistas de vitamina K como la warfarina. Hematología, fundamentos y aplicaciones clínicas 2002 Rodak, F. B.

Proteasas de serina:

a) Vitamina K no dependientes:

- Factor XII: Factor de Hageman, se activa en contacto con superficies extrañas por medio de calicreína asociada a HMWK, convierte a FXI a FXIa. Vida media de 48 - 70 h con una concentración plasmática 3 mg/dL.

- Factor XI: Tromboplastina plasmática, se activa normalmente por FXIIa y ocasionalmente la Tr lo puede activar en ausencia de fase de contacto. Vida media 48 - 84 h y su concentración en el plasma es de 0.5 mg/dL.
- Precalicroína: Zimógeno, proteasas de serina, de síntesis hepática, con un PM de 85 - 100 kDa y vida media de 35 h.
- Factor XIII: Zimógeno, protransglutamidasa activada por Tr en presencia de Ca^{2+} , de síntesis hepática, circula asociado al fibrinógeno. Su PM de 75-80 kDa, la vida media es de 150 h y su concentración plasmática es 1.5 – 2.1 μ g/dL. Se encuentra también en plaquetas, monocitos y macrófagos.

b) Vitamina K dependientes:

Factor II: Protrombina, se convierte en trombina por el FXa. La trombina cataliza la polimerización de fibrina a partir de fibrinógeno. Vida media de 60 h y concentración plasmática de 10 mg/dL.

- Factor VII: Proconvertina, participa en la vía extrínseca, forma un complejo con los factores III y Ca^{2+} que activa al factor X. Vida media 6 h, concentración plasmática de 0.05 mg/dL.
- Factor IX: Factor de Christmas, convierte en FIXa por acción de FXIa. En conjunto con su cofactor, el FVIIIa activan al FX para que éste último convierta al FII en Tr. Vida media de 24 h, concentración plasmática 0.3 mg/dL.
- Factor X: Factor de Stuart – Prower, activa el complejo FVIII y Ca^{2+} en la vía extrínseca, es responsable de la hidrólisis de FII a Tr. Vida media de 48 – 52 h y una concentración plasmática de 1 mg/ dL.

Cofactores:

- Factor V: Proteína termolábil, actúa como cofactor del FXa²⁰. En conjunto forman el complejo protrombinasa, de síntesis hepática y en megacariocitos. Vida media de 24 h y su concentración plasmática es de 1 mg/dL.
- Factor VIII: Factor antihemofílico, termolábil, indispensable para la acción del FX junto con el FIXa²¹ en conjunto forman el complejo diezasa. Vida media de 12 h, concentración plasmática de 0.01 mg/L.
- Factor tisular: Tromboplastina, se libera con el daño celular; participa junto con el FVIIa en la activación del FX por la vía extrínseca. Se encuentra de forma latente y es constitutivo.
- Factor XIII: Pretransglutaminidasa o factor estabilizante de fibrina, forma enlaces covalentes entre residuos de lisina y glutamina contiguos de los filamentos de fibrina estabilizándolos. Vida media es de 150 h y concentración plasmática de 2 mg/dL.
- Precalicroína: Factor de Fletcher, activa a la calicroína, y conjuntamente con el HMWK activa al FXII. Vida media de 35 h y concentración plasmática de 35 – 50 µg/dL
- Cininógeno de alto peso molecular (HMWK): Factor de Fitzgerald, participa en la activación del FXII por la calicroína. Vida media 156 h y concentración plasmática 5 mg/dL.

Sustrato:

Factor I: Fibrinógeno, se convierte a Fibrina por acción de la trombina. La fibrina constituye la red que forma el coagulo. Vida media de 100 – 150 h, concentración plasmática de 200 – 400 mg/dL.

2.4 Anticoagulantes naturales

El inicio, crecimiento y mantenimiento del coágulo, están estrechamente regulados en tiempo y espacio. Dos fenómenos limitan el crecimiento de un coágulo, el endotelio anticoagulante y la dependencia hemostática y fibrinolítica de una superficie celular activada⁴. En la actualidad se conocen más de un sistema de regulación natural de la hemostasia. Sin embargo, es bien reconocido que los sistemas de la proteína C (PC) y el de la antitrombina (AT) son los más importantes.

En condiciones fisiológicas, el endotelio evita la trombosis a través de la inhibición de las plaquetas y factores de coagulación, y la activación del sistema de la fibrinólisis^{9, 21}. Normalmente el balance entre los factores anticoagulantes y procoagulantes favorece a los primeros. Cuando ocurre daño vascular, el sistema anticoagulante es inhibido y los factores procoagulantes prevalecen permitiendo la formación del coágulo. En el vaso intacto la Tr paradójicamente, activa al sistema anticoagulante de la PC^{22, 23}, al unirse con gran afinidad a su receptor endotelial, la trombomodulina (Tm), que activa a la PC, la cual inactiva a los factores VIIIa y Va^{23, 24} disminuyendo así la generación de Tr. Los componentes esenciales del sistema de la PC, además de esta proteína, son la Tr, Tm, proteína S (PS) y el FV.

La AT por su parte, pertenece a la familia de los inhibidores de proteasas de serina²⁵. Inhibe principalmente a los factores IIa y Xa libres²⁶. Además de su efecto anticoagulante, la AT disminuye la actividad plaquetaria al liberar prostaciclina mediante su interacción con los glicosaminoglucanos (GAG) en la superficie de las células endoteliales²⁷. Por sí sola, la AT inhibe a la Tr pero

incrementa su actividad enzimática hasta 1000 veces cuando está unida a una secuencia específica ubicada en los GAG²⁸.

2.5 Fibrinólisis

Aunque opuestos aparentemente, la fibrinólisis y la coagulación se relacionan estrechamente formando y degradando a la fibrina⁴. La fibrinólisis o disolución del coágulo de fibrina establece un balance con el depósito de fibrina evitando la obstrucción del flujo sanguíneo mientras el vaso es reparado^{10, 29}.

La enzima responsable de la disolución del coágulo de fibrina es la plasmina, una potente enzima proteolítica presente en el plasma como una molécula no activada, el plasminógeno. La fibrinólisis ocurre sólo en las membranas activadas de las plaquetas recubiertas de fibrina⁴. En condiciones patológicas la plasmina hidroliza al fibrinógeno (fibrinógenolisis) y a la fibrina (fibrinólisis) produciendo productos de degradación del fibrinógeno y de la fibrina³⁰. La plasmina degrada al fibrinógeno primero en dos grandes segmentos X y Y, luego en segmentos más pequeños D y E. Estos segmentos de la fibrina son solubles, pasan a la circulación y se llaman productos de degradación del fibrinógeno (PDF). La fibrina expone residuos de lisina sobre los cuales se fija el plasminógeno. El plasminógeno se transforma en plasmina cuando sus activadores producen una ruptura de un puente arginina-valina en su molécula. Los principales activadores del plasminógeno son el t-PA y el activador tisular del plasminógeno tipo urocinasa (UK). El primero es un activador débil del plasminógeno circulante pero su actividad incrementa cuando el plasminógeno está unido a la fibrina. Por su parte, la UK se presenta de dos formas, una de cadena simple y otra de doble cadena, ambas con diferentes funciones. Las células endoteliales secretan la UK

de cadena simple, que al igual que el t-PA no activa plasminógeno circulante, pero si al unido a fibrina. La UK de doble cadena es un activador potente del plasminógeno circulante y del unido a la fibrina. El epitelio de órganos excretores que contienen túbulos, también secretan UK para mantener la luz tubular permeable (riñones, glándula mamaria).

2.6 Fisiopatología de la enfermedad tromboembólica venosa

Un coágulo y un trombo se forman exactamente de la misma manera; sin embargo, la formación del coágulo es una respuesta homeostática de altísimo valor biológico ya que evita la muerte del individuo por hemorragia, mientras que la formación de un trombo es un fenómeno siempre patológico⁴.

La trombosis se define como la obstrucción local del flujo de sangre en algún vaso sanguíneo arterial o venoso, que provoca que los tejidos irrigados por ese vaso sufran de isquemia, pudiendo producirse una lesión en las células que puede llegar a la muerte celular y provocar un infarto⁶.

La causa de la tendencia a sufrir una trombosis, fenómeno también llamado trombofilia, se puede identificar sólo en algunos pacientes^{31, 32}. Se caracteriza por ser una situación en la que está latente la posibilidad de que se formen trombos arteriales y venosos. El término se usó por primera vez en 1937 para designar una enfermedad asociada con trombosis venosa, considerándose como un antónimo de la hemofilia³³. Los estados trombofílicos pueden ser hereditarios como la mutación Leiden del FV, también pueden ser adquiridos como en el embarazo o por el uso de anticonceptivos hormonales. Pueden ser propios del sistema de la coagulación y se conocen como trombofilias primarias: incremento en la concentración del FVIII o deficiencia de la AT³⁴, o bien, pueden

ser parte de una enfermedad de otro sistema y reciben el nombre de trombofilias secundarias, los factores de riesgo que predisponen al desarrollo de trombosis se muestran en la Tabla 1. Las trombofilias pueden ser agudas (traumatismos, coagulación intravascular diseminada, quimioterapia), o crónicas (cáncer, aterosclerosis, etc)³⁵.

Tabla 1. Factores de riesgo que predisponen al desarrollo de trombosis

Factores de riesgo	
Hereditarios	Adquiridos
Síndrome de plaquetas pegajosas	Edad > 45 años
Deficiencia de antitrombina	Obesidad
Deficiencia de proteína C	Cáncer
Deficiencia de proteína S	Insuficiencia cardíaca
Resistencia a proteína activada	Inmovilización prolongada
Deficiencia de plasminógeno	Viajes prolongados
Hiperhomocisteinemia	Cirugía
Mutación A20210 del gen de la protrombina	Embarazo y puerperio
	Terapia hormonal
	Aterosclerosis
	Síndrome de anticuerpos antifosfolípidos

Nota. Recuperado. *Factores de riesgo que predisponen al desarrollo de trombosis*. 2005 Revista de Hematología Murillo, C. y Quintana, G. S.

Virchow postuló tres situaciones que predisponen a la enfermedad tromboembólica venosa (ETV), aunque hoy sabemos que también explican a la trombosis arterial: alteraciones en la pared vascular, cambios en las

características del flujo sanguíneo y alteraciones procoagulantes en la sangre o trombofilias. La alteración en algunos de sus componentes o su desequilibrio provoca la aparición de un estado protrombótico^{31, 34}.

El flujo sanguíneo es uno de los principales mecanismos anticoagulantes del organismo. El movimiento continuo de la sangre evita la acumulación de factores hemostáticos y plaquetas activadas en un sitio específico. En las arterias la sangre circula a gran velocidad y a una presión muy alta. Los trombos arteriales se forman sobre todo en vasos que tienen una placa ateromatosa o que están expuestos a zonas de turbulencia importante, como lo son las bifurcaciones vasculares. Debido a este entorno, el trombo arterial se forma principalmente de plaquetas con una discreta malla de fibrina lo que da el aspecto típico de un trombo blanco³¹.

Por el contrario, el trombo venoso se genera en vasos en los que la velocidad y la presión de la sangre son muy bajas. En las piernas, la ETV se inicia en torno a las válvulas venosas en las que existen turbulencias de la sangre. Si disminuye la velocidad del flujo se generan cambios en el sistema de la coagulación, como la activación plaquetaria y de la fase plasmática de la hemostasia, con la consecuente caída de las proteínas anticoagulantes naturales y de la fibrinólisis. Además, durante la lesión tisular, se liberan sustancias tromboplásticas con la subsecuente activación de la fase plasmática de la hemostasia y de las plaquetas.

Todo lo anterior determina que en estos trombos la malla de fibrina sea el componente más importante englobando una gran cantidad de eritrocitos y muy pocas plaquetas³¹.

La ETV ocurre preferentemente en las venas de los miembros inferiores. Los factores de riesgo de ETV son diversos ^{36, 37, 38}, sin embargo, todos ellos recaen en alguno de los tres componentes de la triada de Virchow (ver Figura 3).

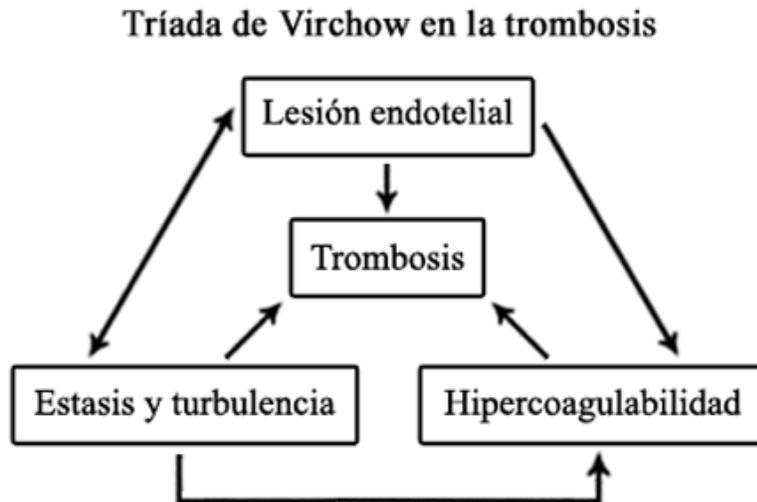


Figura 3. Triada de Virchow. Muestra los tres principales factores que inducen a la trombosis. Revista de Hematología 2005 por Murillo, C. y Quintana, G. S.

En la actualidad se sabe que se requieren múltiples trombofilias simultáneamente para generar una trombosis lo que evidencia que se trata de un proceso multifactorial en el que participan factores hereditarios y adquiridos simultáneamente ^{39, 40}.

Los pacientes con más de un factor de riesgo hereditario tienen un riesgo mayor de ETV que los pacientes que sólo tienen uno o ninguno de estos factores^{41, 42, 43}. Los pacientes con trombofilias hereditarias y que también poseen factores adquiridos como el embarazo, uso de hormonales o cirugía, tienen un riesgo más elevado de ETV que los pacientes con las mismas características pero sin una condición trombofílica hereditaria^{44, 45}.

2.7 Síndrome de anticuerpos antifosfolípidos

El Síndrome de anticuerpos antifosfolípidos (SAAF) es un desorden autoinmune caracterizado por la presencia de anticuerpos antifosfolípidos (aFL), los cuales se asocian con eventos trombóticos (venosos y arteriales), pérdidas fetales recurrentes y trombocitopenia ^{46, 47, 48}.

Los aFL incluyen al anticoagulante lúpico (AL), anticuerpos anticardiolipina (aACL) y anticuerpos anti-beta 2-glicoproteína I ($\alpha\beta_2$ GPI) ⁴⁷. En los tres casos, la beta 2-glicoproteína I sigue considerándose el antígeno por excelencia de los aFL. El SAAF se clasifica como primario, cuando no se asocia a otra enfermedad y secundario, cuando se encuentra ligado a otras condiciones clínicas, principalmente lupus eritematoso sistemático⁴⁹. Se han reportado casos de pacientes con aFL sin datos clínicos de SAAF; entre éstos se encuentran los pacientes seropositivos a infecciones virales tales como VIH, virus Epstein-Barr, parvovirus, hepatitis A, virus de la rubéola, sífilis, enfermedad de Lyme, tuberculosis, lepra y endocarditis infecciosa ⁵⁰.

El estudio del AL involucra tres pasos estratégicos con base en las recomendaciones de la Sociedad Internacional para el estudio de la Hemostasia y la Trombosis (SIHT) ²⁶.

1. Pruebas de escrutinio: tienen el propósito de demostrar que la prolongación del tiempo de coagulación es dependiente de fosfolípidos ^{51, 52}, las pruebas más usadas son el TTPa y el tiempo de veneno de víbora de Russell diluido (dRVVT).

2. Prueba de mezclas: confirman la presencia de un inhibidor en el plasma y excluyen la deficiencia de un factor de coagulación⁵³.

3. Pruebas confirmatorias: hacen evidente la dependencia del inhibidor por los fosfolípidos y no que el inhibidor este dirigido contra algún factor de la coagulación^{53, 54}.

El presente trabajo incluyó el estudio del AL debido a que el TTPa puede verse afectado en pacientes con ETV sin tratamiento anticoagulante. Por lo tanto, los resultados de los tiempos de coagulación se analizaron de manera independiente en los pacientes con AL, éste se determinó mediante técnicas coagulométricas comerciales disponibles. Se empleó veneno de víbora de Russell que activa directamente al FX en presencia de calcio. Esta prueba no se modifica por la deficiencia de los factores VIII y IX, sus inhibidores o por alteraciones en la fase de contacto. La prueba de escrutinio utiliza una concentración baja de fosfolípidos, por lo tanto, si el AL está presente, el tiempo de coagulación se prolongará. La prueba confirmatoria utiliza una concentración alta de fosfolípidos que indirectamente neutralizan al AL en el plasma, por lo que el tiempo de coagulación se acortará respecto a la prueba de escrutinio.

2.8 Rivaroxabán

El rivaroxabán (RIV) (5 - cloro - N - [[[(5S) – 2 - oxo - 3 - [4 - (3-oxomorfolin- 4 - il) fenil] - 1,3 - oxazolidina - 5 - il] metil] tiofen – 2 - carboxamida)) es un inhibidor oral directo y competitivo del FXa. Tiene un peso molecular de 436 g/mol, su selectividad por el FXa es 10,000 veces mayor con respecto a otras proteasas de serina⁵⁵. Su vida media es de 7 a 11 h y su máximo efecto se presenta entre las 2 y 3 h después de su administración⁵⁶.

A diferencia de los AVK los cuales interfieren con la síntesis de diferentes factores hemostáticos, los inhibidores orales del FXa (RIV, edoxabán y apixabán) son específicos de este factor. También, las propiedades farmacológicas de los

inhibidores orales directos del FXa difieren de las descritas para los AVK. Su biodisponibilidad por vía oral es buena, su efecto farmacológico es tan rápido que no requiere del uso previo de fármacos antitrombóticos como la heparina y, además, el uso de estos fármacos no necesita de una dieta específica.

Aunado a lo anterior, todos los inhibidores orales directos del FXa comparten un mecanismo dual de excreción a través de la orina y las heces el cual ha mostrado tener beneficios, ya que disminuye la acumulación de los fármacos en el riñón de los pacientes con alteraciones renales³. Las principales características farmacológicas de los inhibidores directos del FXa en comparación con la warfarina, un AVK, se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Propiedades farmacológicas de warfarina, rivaroxabán, apixabán y edoxabán.

Característica	Warfarina	Rivaroxaban	Apixaban	Edoxaban
Blanco farmacológico	FVKD	FXa	FXa	FXa
PM (g/mol)	308	436	460	548
Biodisponibilidad (%)	100	80	50	50
Dosis	1/día	1-2/día	2/día	1/día
Efecto máximo	4-5 días	2-3 h	1-2 h	1-2 h
Vida media (h)	40	7-11	12	5-11
Depuración renal (%)	----	33	25	35
Monitoreo	Si	No	No	No
Interacciones	múltiple	3A4/P-gp	3A4/P-gp	P-pg
Antídoto	Si	No	No	No

Nota. Recuperado de *Evolving use of new oral anticoagulants for treatment of venous thromboembolism*. 2014 Journal Blood. Calvin, H. Y. y Peter, L. G.

El uso de RIV se aprobó en Europa en 2008 para la prevención de la ETV en pacientes con artroplastia de cadera y de rodilla^{57, 58}. En la actualidad, el RIV ha mostrado beneficios en el tratamiento de la trombosis venosa profunda sintomática⁵⁹, la prevención de eventos isquémicos en pacientes con fibrilación auricular no valvular⁶⁰, en el tratamiento de la tromboembolia pulmonar⁶¹ y en la tromboprolifaxis de pacientes con síndrome coronario agudo⁶². El RIV se usa en dosis de 5, 10, 15 y 20 mg dependiendo del estado clínico de cada paciente. A diferencia de los antagonistas de la vitamina K (AVK), el RIV no requiere de una prueba de laboratorio que monitoree su efecto anticoagulante, tiene un inicio de acción rápida, dosis estandarizadas, y no requiere de un control alimenticio estricto como cuando se usan AVK⁶³. El efecto del RIV se origina por la inhibición del FXa en vía común de la fase plasmática de la hemostasia como se muestra en la Figura 4.

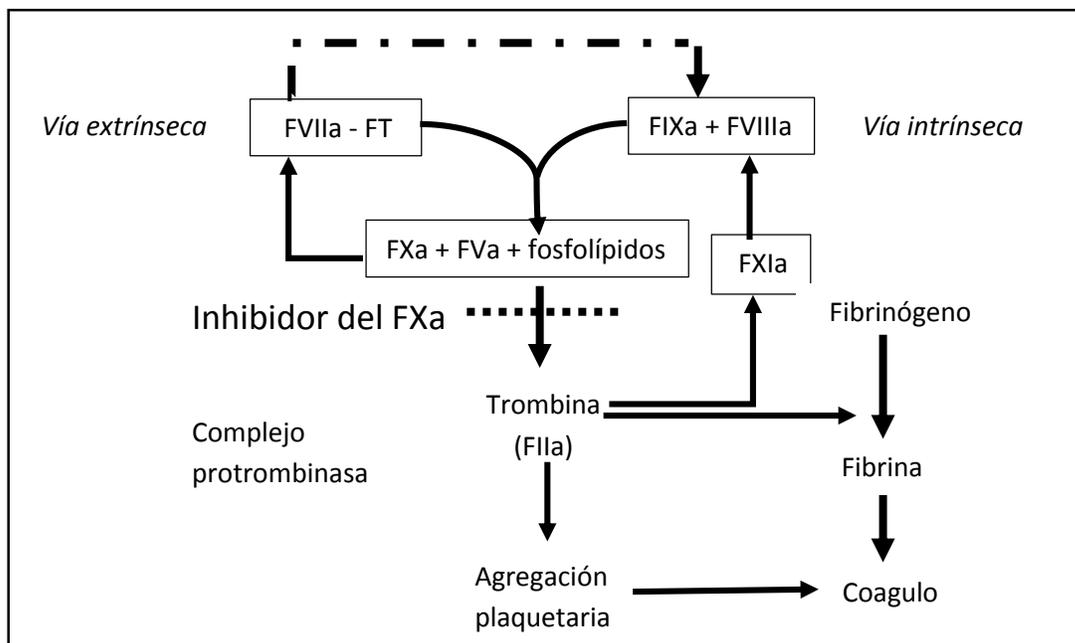


Figura 4. Inhibición del Factor Xa en la cascada de coagulación. The Journal of Clinical Pharmacology, 2007 por Graff, J., vonHentig, N., Misselwitz, F. y Becka, M.

Como resultado de la inhibición la generación de trombina y la actividad del complejo protrombinasa disminuyen⁶⁴. Lo anterior se hace evidente en los resultados de las pruebas de coagulación, ya que el TP y el TTPa se prolongan dependiendo de la dosis de RIV usada ⁶⁵.

La guía de prescripción farmacológica de RIV emitida por la compañía fabricante menciona que no se requiere una monitorización sistemática del estado hemostático de los pacientes. Además, menciona que la evaluación de la actividad anti-FXa del RIV sólo es útil en situaciones de sobredosis o cirugía de emergencia⁶⁶. Lo más interesante de esta guía, es que menciona que la determinación del TP y TTPa en pacientes con ETV, dará como resultado tiempos de coagulación prolongados⁶⁷. Sin embargo, en la práctica clínica, a partir de la experiencia el RIV pareciera tener un comportamiento totalmente diferente.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

A nivel mundial, se estima que la prevalencia de ETV es de 1.1 y 1.3/ 1000 hombres y mujeres respectivamente. La incidencia de ETV es de 2.5 - 5%/año en la población adulta⁵². Durante muchos años el tratamiento de la ETV se basó en el empleo de AVK, actualmente se han desarrollado nuevos fármacos anticoagulantes dirigidos a factores específicos de la fase plasmática de la hemostasia². Entre estos fármacos se encuentra el RIV, un inhibidor directo y competitivo del FXa que a diferencia de los AVK no se ha podido desarrollar una prueba de laboratorio que permita monitorear su efecto anticoagulante. A pesar de este inconveniente, se ha demostrado la efectividad y seguridad del RIV como fármaco anticoagulante, ya que el riesgo hemorrágico y los casos de trombosis recurrentes no es mayor al observado con los AVK³. Frecuentemente, se solicita al laboratorio medir la actividad anti-FXa del RIV, sin embargo, la SIHT no reconoce a ninguna prueba de laboratorio para cumplir con este objetivo. En la mayoría de los casos, las pruebas que se están utilizando para evaluar la actividad anti-FXa se diseñaron hace algunos años para monitorizar el efecto antitrombótico de las heparinas y no para los inhibidores de factores específicos de la coagulación.

La compañía farmacéutica que produce RIV especifica que no se requiere de una monitorización del efecto del fármaco sobre el sistema de la coagulación de los pacientes con ETV. Sin embargo, la determinación de los niveles plasmáticos de RIV a través de sus efectos en los tiempos de coagulación puede ser útil en caso de sobredosis o cirugía de emergencia. En este sentido, la compañía informa que los resultados de las pruebas de coagulación TP y TTPa se prolongan en los pacientes que reciben tratamiento con RIV⁶⁹. Sin embargo, en la práctica clínica es muy frecuente observar que los tiempos de coagulación se

alteren (acorten, prolonguen o no se modifiquen) de distintas maneras entre los pacientes o en un mismo individuo. Aunque *in vitro* se ha demostrado que el uso de RIV en dosis altas prolonga los tiempos de coagulación dependiendo la marca del reactivo y el activador empleado, no existe evidencia que sustente si el uso de RIV en dosis terapéuticas prolonga los tiempos de coagulación en pacientes con ETV. Con base en lo anterior, me he planteado la siguiente pregunta de investigación: ¿En pacientes con ETV, la inhibición del FXa por efecto del RIV prolongará los tiempos de coagulación durante el tratamiento anticoagulante?

4. JUSTIFICACIÓN

El empleo de los AVK esta quedando en desuso. El RIV es un inhibidor directo del FXa que ha demostrado no incrementar el riesgo hemorrágico y disminuir el riesgo de trombosis. A pesar de sus efectos benéficos, no existen pruebas de laboratorio que monitoreen su efecto farmacológico, lo que quizá represente la principal complicación del tratamiento. Por lo tanto, es indispensable realizar investigación que aporte información sobre los efectos no deseados del RIV. De tal manera que los resultados que se obtengan de este estudio, contribuirán al conocimiento de la seguridad de este medicamento y demostrarán si de alguna manera es posible utilizar los resultados de los tiempos de coagulación para monitorear el efecto anticoagulante del RIV.

5. HIPÓTESIS

Si el RIV inhibe la actividad del FXa entonces, los tiempos de coagulación de pacientes con ETV estarán prolongados durante el tratamiento anticoagulante.

6. OBJETIVO GENERAL

Determinar si la prolongación de los tiempos de coagulación puede ser un parámetro de laboratorio para evaluar la actividad anti-FXa del RIV en el tratamiento crónico de pacientes con ETV.

6.1 Objetivos específicos

- 1) Determinar el tiempo de protrombina y de tromboplastina parcial activada antes de la administración de RIV para evaluar el estado hemostático basal de los pacientes con ETV.
- 2) Evaluar mediante las pruebas bioquímicas de FA, LDH, GGT, ALT, AST, BT, BD, BI la función hepática y los niveles séricos de creatinina en los pacientes con ETV antes y durante el tratamiento con RIV.
- 3) Determinar si la inhibición del FXa por efecto del RIV prolonga los tiempos de protrombina y de tromboplastina parcial activada de pacientes con ETV, transcurridos 1, 3, 6 y 12 meses de tratamiento, para demostrar que el efecto anticoagulante del fármaco no depende del tiempo de tratamiento.
- 4) Conocer en pacientes con ETV si la inhibición indirecta e *in vitro* de los factores de la vía intrínseca de la coagulación por el AL interfiere con el efecto del RIV en los tiempos de protrombina y tromboplastina parcial activada después de 1, 3, 6 y 12 meses de tratamiento, para demostrar que el efecto anticoagulante del RIV no debe monitorizarse usando métodos coagulométricos en pacientes con AL.

7. MATERIAL Y MÉTODOS

7.1 CARACTERÍSTICAS DEL ESTUDIO

7.1.1 Tipo de estudio

Descriptivo, observacional y longitudinal.

7.1.2 Descripción de las variables

Dependiente: tiempos de coagulación.

Independiente: tratamiento con RIV.

7.1.3 Universo de trabajo

Pacientes con ETV que inicien tratamiento con RIV.

7.1.4 Tamaño de la muestra

Se calculó con base en la comparación de medias de muestras relacionadas usando el programa estadístico Sigma Stat. Para esto hicimos uso de la media y desviación estándar de las pruebas TP y TTPa obtenidas de un grupo control (n=120). Considerando que para el TP la media = 13.0 s y la SD = 1.7 s, y que un resultado del TP se considera prolongado cuando la diferencia en segundos es ≥ 3.0 s contra el TP del plasma testigo, el tamaño de muestra estimado fue de 10 pacientes con ETV. Con base en el TTPa, consideramos una media = 29.7, SD = 2.5, y un valor de TTPa prolongado cuando la diferencia en segundos con respecto al plasma testigo es ≥ 5.0 s. De esta manera el tamaño de muestra estimado fue 8 pacientes con ETV. Por lo tanto, elegimos 10 pacientes con ETV como tamaño de muestra. En ambos casos (TP y TTPa) consideramos que $\alpha =$

0.05 y un poder estadístico de 90 % ($1 - \beta = 0.9$). Considerando que un poder estadístico de 80 % es aceptable en la investigación científica, no tenemos ninguna duda de que los resultados del análisis estadístico en este estudio son confiables. Por otro lado, elegimos una $\alpha = 0.05$ ya que la significancia estadística en las ciencias médico-biológicas está dada por un valor de $p \leq 0.05$ (error tipo 1 o probabilidad de rechazar un valor siendo verdadero). A pesar del cálculo estadístico de la muestra, en el estudio se analizaron las muestras de 256 pacientes con ETV ya que se tiene el objetivo de publicar los resultados. Adicionalmente, analizamos las muestras de 37 pacientes con ETV y SAAF.

7.1.5 Criterios de inclusión, no inclusión y exclusión

Inclusión:

- Hombres y mujeres >18 años.
- Diagnóstico de ETV.
- Inicien tratamiento con RIV (10 mg/ 24 h).

No inclusión:

- Disfunción hepática y/o renal
- Tratamiento anticoagulante con AVK, heparina o RIV.

Exclusión:

- No completen el estudio.
- Muestras con evidencia de hemolisis, ictericia y lipemia.

7.2 MÉTODOS

7.2.1 Equipo

- Synchron LX 20 (Beckman Coulter, Fullerton, CA, USA).
- STA-Compaq (Stago, Ansnieres, Francia).

7.2.2 Materiales

- Tubos de plástico al vacío con citrato de sodio al 3.2 % (BD Vacutainer, Franklin Lakes, USA).
- Tubos de plástico al vacío con activador de la coagulación (BD Vacutainer, Franklin Lakes USA).
- Aguja estéril, 21G x 38 mm (BD Vacutainer, Franklin Lakes USA).
- Micropipetas de 20 – 200 μ L.
- Micropipetas de 100 – 1000 μ L.
- Puntas de plástico para micropipeta 20 – 200 μ l (SARSTEDT, Numbrecht, Germany).
- Puntas de plástico para micropipeta 100 – 1000 μ l (SARSTEDT, Numbrecht, Germany).

7.2.3 Reactivos

- TP (Neoplastine, Stago, Ansnieres, Francia).
- TTPa (aPTT, Stago, Ansnieres, Francia).
- Cloruro de calcio 25mM.

7.2.4 Biológicos

- Plasma testigo (mezcla de plasma de 20 donadores, 10 hombres y 10 mujeres).
- Control normal. Plasma humano con concentraciones plasmáticas normales de los factores de la coagulación.
- Control patológico. Plasma humano con concentraciones deficientes en los factores de coagulación.

7.2.5 Selección de los pacientes

La selección de los pacientes estuvo a cargo del médico hematólogo responsable de la clínica de anticoagulación del Hospital General Regional No. 1 Dr. Carlos Mac Gregor Sánchez Navarro (HGR No. 1 CMSN) del IMSS.

7.2.6 Recolección de muestras

La obtención de las muestras sanguíneas se llevó a cabo en la Unidad de Investigación Médica en Trombosis, Hemostasia y Aterogénesis del HGR No.1 Dr. CMSN del IMSS. Antes de la toma de muestras, los pacientes fueron informados acerca de la naturaleza del estudio. Después de aceptar participar en el estudio, a todos los pacientes les solicitamos firmar su consentimiento informado. Posteriormente, se procedió a la extracción de las muestras sanguíneas (5 mL de sangre no anticoagulada y 2.7 mL de sangre anticoagulada). Se repitió este mismo procedimiento a los 3, 6 y 12 meses de iniciar el tratamiento con RIV.

7.2.7 Pruebas de función hepática y creatinina.

Se determinaron los niveles séricos de creatinina, FA, LDH, GGT, AST, ALT, BT, BD, BI y fibrinógeno. Se utilizó el equipo Synchron LX 20 (Beckman Coulter, Fullerton, CA, USA) para el estudio de la química sanguínea.

7.2.8 Tiempo de protrombina (TP).

Este ensayo establece la eficacia global de la vía extrínseca. Esta prueba determina el tiempo de coagulación del plasma en presencia de una concentración óptima de tromboplastina tisular y CaCl_2 , e indica la eficiencia global de la vía extrínseca de la fase plasmática de la hemostasia^{28, 71}. Es sensible a los cambios en la actividad de los factores V, VII y X y, en menor medida, del factor II (protrombina). No resulta adecuada para detectar cambios menores en el nivel de fibrinógeno. Sin embargo, el TP puede resultar anormal ante un nivel de fibrinógeno muy bajo o ante la presencia de un inhibidor. La sensibilidad del ensayo se ve influenciada por el reactivo y la técnica utilizados. Es por ello que es importante establecer un rango de referencia dentro del laboratorio utilizando los resultados de plasmas normales⁷⁰. Los resultados se expresan como la media de las lecturas por duplicado en segundos y se comparan con el tiempo medio de las determinaciones por duplicado del plasma testigo (ver anexo).

7.2.9 Tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa).

Consiste en un análisis no específico de la vía intrínseca. Si el TTPa se mide junto con el TP normal, resulta la prueba de rastreo más útil para detectar la deficiencia de los factores VIII, IX, XI y XII. El TTPa será prolongado ante cualquier deficiencia de factores de la vía intrínseca (VIII, IX, XI y XII), vía común

(V, X, II y, en menor medida, de fibrinógeno) y ante la presencia de inhibidores. La presencia de algunos inhibidores terapéuticos de la coagulación, como la heparina, también prolongan el TTPa⁷⁰. El ensayo mide el tiempo de coagulación del plasma después de la activación del FXII en ausencia de factor tisular, por lo tanto, indica la eficiencia global de la vía intrínseca. Para estabilizar la activación de los factores de contacto el plasma es preincubado, en el que se expone a un activador de contacto como el caolín, sílice o ácido elálgico^{28, 71}. Los resultados son expresados como la media de las lecturas por duplicado en segundos y se comparan con el tiempo medio de las determinaciones por duplicado del plasma testigo (ver anexo).

El plasma testigo tiene niveles plasmáticos de los factores II, V, VII, IX, X, XI, XII, HMWK y precalicreína de alrededor de 1 U/ml o 100 U/dL. Los niveles del factor VIII (FVIII) y FvW varían ampliamente en los plasmas testigos. El plasma testigo se obtiene de la mezcla de plasmas de al menos 20 donadores aparentemente sanos, se recomienda incluir la misma cantidad de hombres y mujeres, en un rango de edad de 20 a 50 años.

8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Para el análisis estadístico se usó el programa Sigma Stat versión 3.5. Las características generales de los pacientes se analizaron usando estadística descriptiva. La prueba de bondad de ajuste de Kolmogorov-Smirnov fue utilizada para establecer la distribución estadística de los resultados de cada variable. Las pruebas t de student y U de Mann Whitney se usaron para comparar los resultados entre hombres y mujeres. Las pruebas análisis de varianza (variables paramétricas) y Kruss Karwallis (variables no paramétricas) se utilizaron para el análisis de los resultados de las determinaciones basales y a los 3, 6 y 12 meses del tratamiento con RIV. Estas mismas pruebas se usaron para comparar los resultados de las pruebas de la química sanguínea. Para realizar comparaciones múltiples, hicimos uso de la prueba de Student Newman Keuls. Consideramos diferencia significativa cuando $p \leq 0.05$.

9. RESULTADOS

Se muestreó a un total de 293 pacientes con ETV (37 pacientes con AL y 256 sin AL) que iniciaron tratamiento con RIV. De los pacientes con ETV sin AL, 78 (30.5 %) fueron hombres y 178 (69.5 %) fueron mujeres, con una la edad promedio de 50 años para los hombres y las mujeres (Rango = 18 a 88 años). No se observaron diferencias significativas entre la edad de hombres y mujeres ($p = 0.076$).

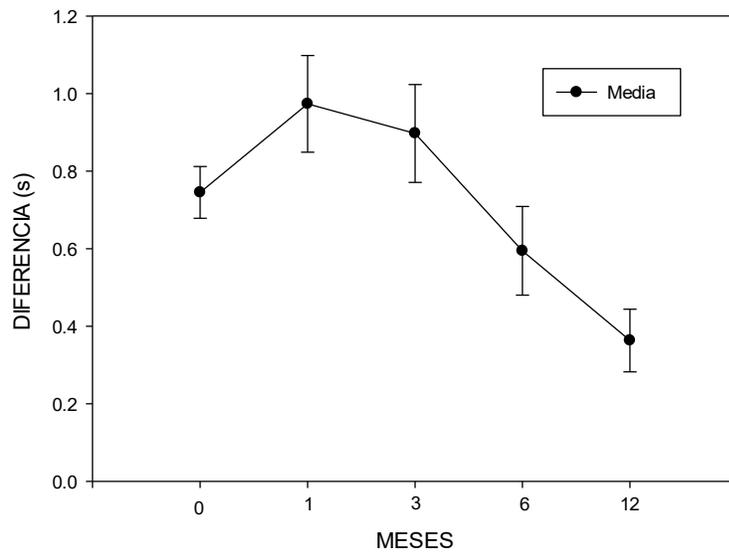
En el grupo de pacientes con ETV y AL, 23 pacientes (62.2 %) fueron mujeres y 14 hombres (37.8 %), con una edad promedio de 46 y 44 años en los hombres y mujeres, respectivamente. No se observaron diferencias significativas en la edad de los pacientes entre hombres y mujeres ($p = 0.87$). El rango de edad en este grupo de pacientes fue de 18 a 72 años.

9.1 Efectos del RIV en los tiempos de coagulación.

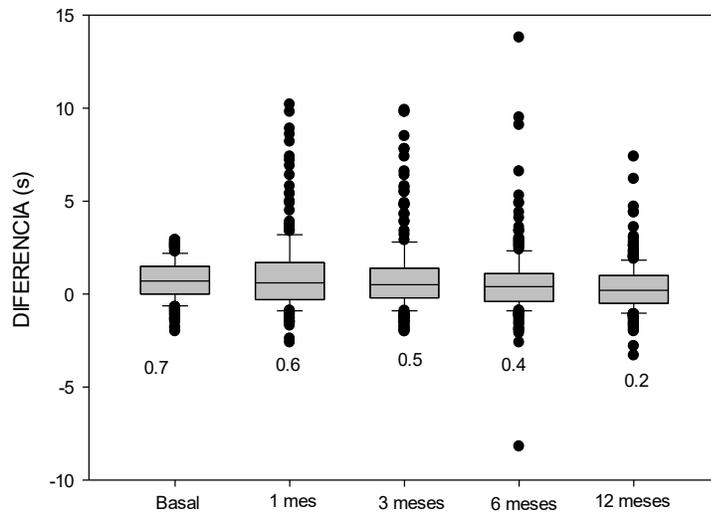
Los efectos del RIV sobre los tiempos de coagulación para los pacientes con ETV sin AL se muestran en las gráficas 1 y 2. Para el TP, se observó un acortamiento significativo entre la determinación basal y a los 6 y 12 meses en tratamiento con RIV ($p < 0.05$). Para el TTPa, no se observaron diferencias significativas entre la determinación basal y las determinaciones pos-tratamiento con RIV ($p = 0.063$). No se realizó el análisis entre hombres y mujeres debido a que no observamos diferencias significativas en los resultados del TP ($p = 0.190$) y TTPa ($p = 0.132$).

Para el grupo de pacientes con ETV y AL, no se observaron diferencias significativas en los resultados de los tiempos de coagulación entre las determinaciones basales y durante el tratamiento con RIV ($p > 0.05$). Prácticamente los resultados de los tiempos de coagulación se mantuvieron

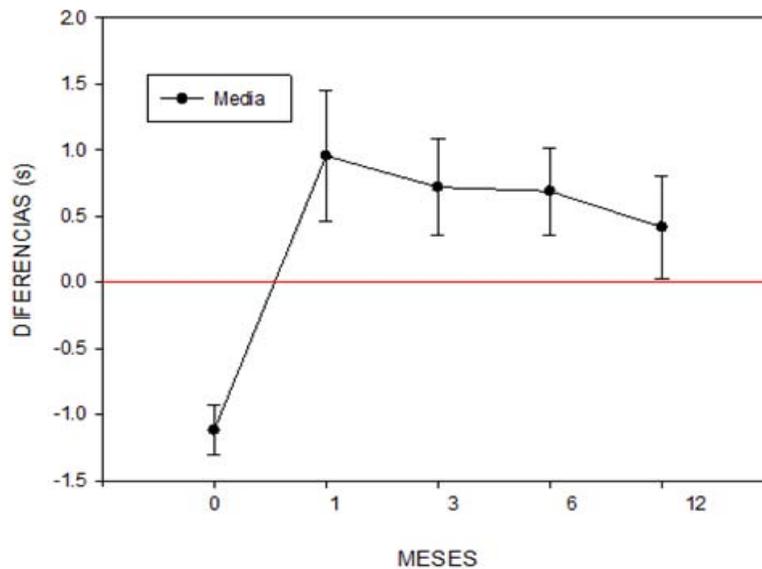
similares antes y durante el tratamiento con RIV. Únicamente en un paciente se apreció un acortamiento considerable del TTPa, obteniendo una diferencia entre el plasma del paciente y el plasma testigo de: -2.5s al mes de iniciar el tratamiento y -3.6s a los 3 meses.



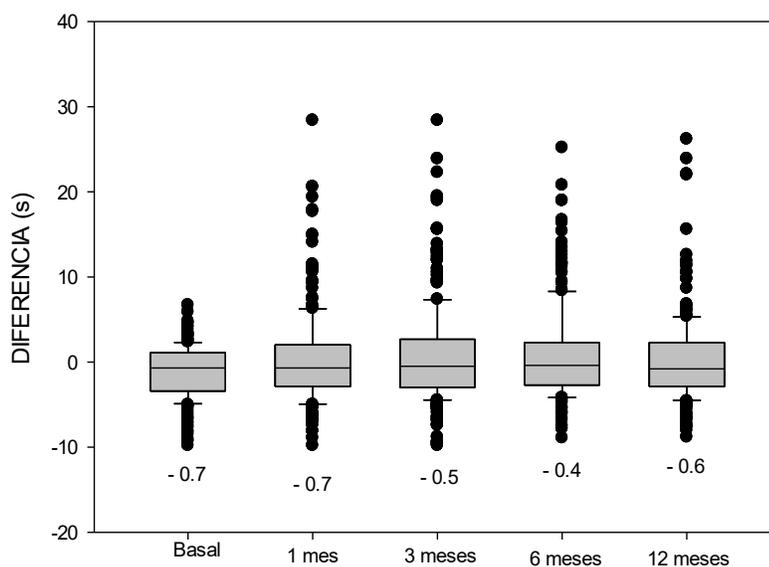
Grafica 1. Resultados del TP de pacientes con ETV sin AL en tratamiento con RIV. Los resultados se obtuvieron de la diferencia del TP del paciente menos el TP testigo, y se expresan como la media (círculo negro) \pm la desviación estándar. Acortamiento significativo entre la determinación basal y a los 6 y 12 meses en tratamiento con RIV ($p < 0.05$).



Gráfica 2. Resultados del TP en los pacientes con ETV sin AL. Los resultados se expresan en gráficas de cajas y corresponden a las diferencias obtenidas al restar el TP de los pacientes y el TP del plasma testigo. No hay diferencias significativas entre la determinación basal y las determinaciones pos-tratamiento con RIV ($p = 0.063$)



Gráfica 3. Medias de los resultados del TTPa de pacientes con ETV en tratamiento con RIV. Los resultados se obtuvieron de la diferencia del TTPa del paciente menos el TTPa testigo, y se expresan como la media (círculo negro) \pm la desviación estándar. No hay diferencias significativas entre las determinaciones basales y durante el tratamiento con RIV ($p > 0.05$).



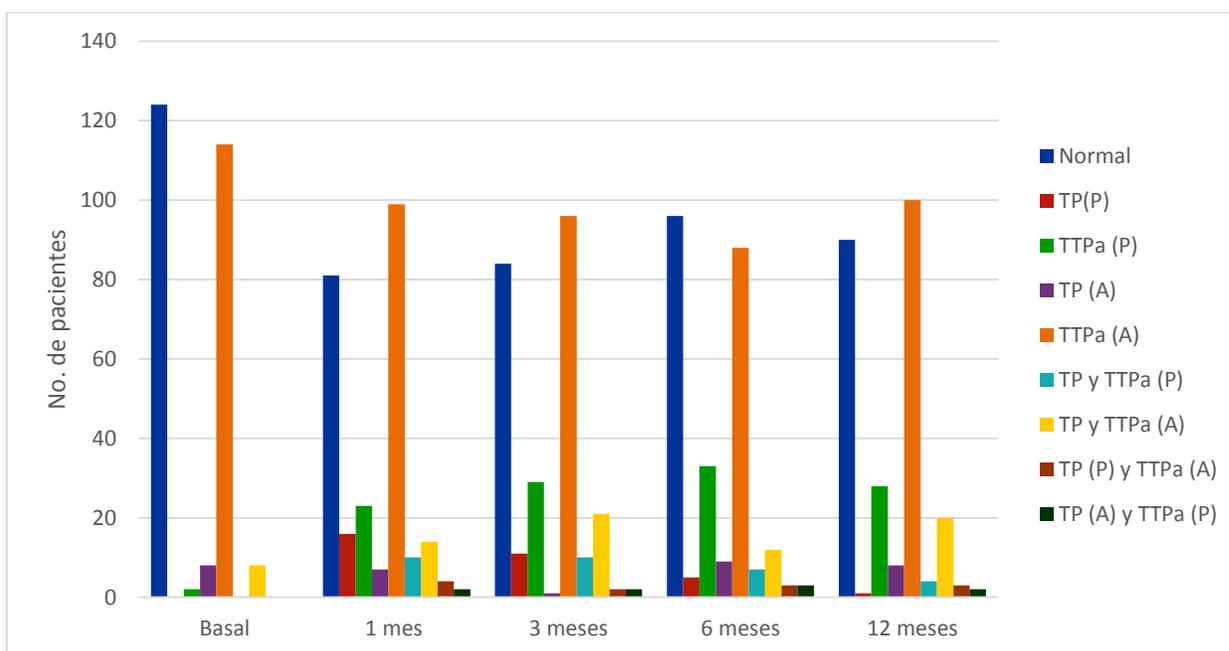
Gráfica 4. Resultados del TTPa en los pacientes con ETV. Los resultados se expresan en gráficas de cajas y corresponden a las diferencias obtenidas al restar el TTPa de los pacientes y el TTPa del plasma testigo. No se observaron diferencias significativas en el TTPa entre los diferentes meses del tratamiento con RIV.

Las tablas 3 y 4, y las gráficas 5 y 6 muestran la cantidad de pacientes con resultados de las pruebas de TP y TTPa prolongados, acortados y normales, con respecto a los resultados obtenidos de un plasma testigo. Se consideró un TP acortado cuando la diferencia entre el TP del paciente y el plasma testigo fue ≥ -1 s, prolongado cuando la diferencia fue ≥ 3 s y normal, cuando la diferencia fue < 3 s. Para el TTPa, un resultado fue acortado cuando la diferencia entre el TTPa del paciente y el plasma testigo fue ≥ -1 s, prolongado cuando la diferencia fue ≥ 5 s y normal, cuando la diferencia fue < 5 s.

Tabla 3. Efecto del RIV en el TP y TTPa de los pacientes con ETV (sin AL) antes y después del tratamiento con RIV (n= 256).

Resultado	Basal		1 mes		3 meses		6 meses		12 meses	
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
Normal	124	48.5	81	31.6	84	32.8	96	37.5	90	35.2
TP (P)	0	0	16	6.2	11	4.3	5	1.9	1	0.4
TTPa (P)	2	0.8	23	9.0	29	11.3	33	12.9	28	11.0
TP (A)	8	3.1	7	2.7	1	0.4	9	3.5	8	3.1
TTPa (A)	114	44.5	99	38.7	96	37.5	88	34.4	100	39.0
TP y TTPa (P)	0	0	10	3.9	10	3.9	7	2.7	4	1.6
TP y TTPa (A)	8	3.1	14	5.5	21	8.2	12	4.7	20	7.8
TP (P) y TTPa (A)	0	0	4	1.6	2	0.8	3	1.2	3	1.1
TP (A) y TTPa (P)	0	0	2	0.8	2	0.8	3	1.2	2	0.8

La letra (P) corresponden a los resultados prolongados del TP y TTPa, mientras que la (A) a los resultados acortados. Se usó la prueba estadística de U de Mann Whitney para analizar los resultados.

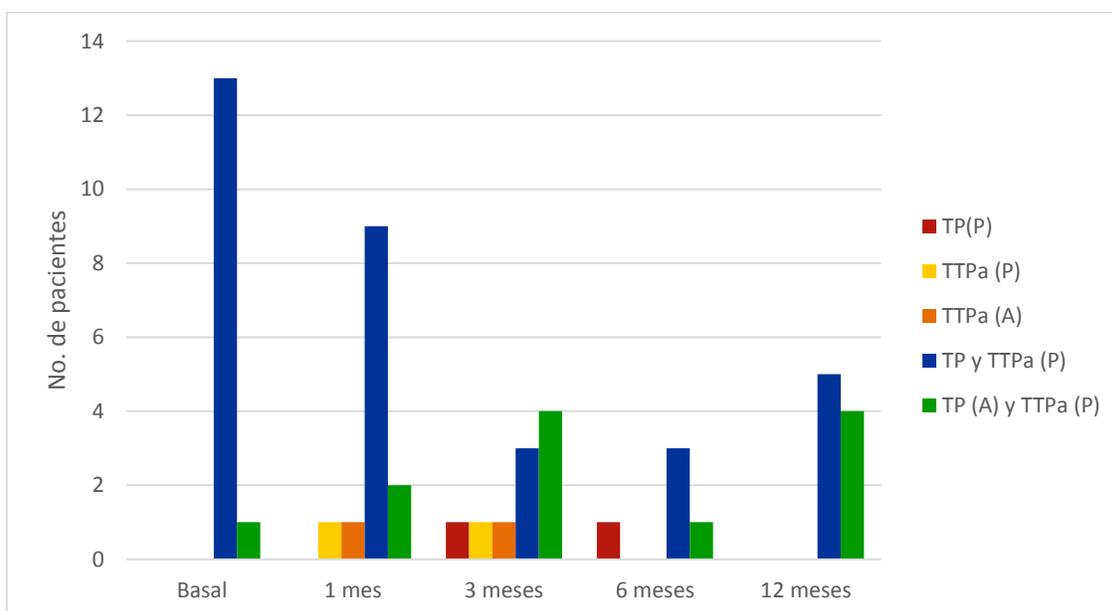


Gráfica 5. Resultados del TP y TTPa de pacientes con ETV sin AL (n=256) en tratamiento con RIV. Se considera un resultado prolongado cuando la diferencia entre el tiempo del paciente menos el tiempo del testigo es > 3s en el caso del TP y > 5s en el TTPa.

Tabla 4. Efecto del RIV en el TP y TTPa de los pacientes con ETV (con AL) antes y después del tratamiento con RIV (n= 37).

Resultado	Basal		1 mes		3 meses		6 meses		12 meses	
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
Normal	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TP (P)	0	0	0	0	1	2.7	1	2.7	0	0
TTPa (P)	23	62.2	24	64.9	28	75.7	32	86.5	28	75.7
TP (A)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TTPa (A)	0	0	1	2.7	1	2.7	0	0	0	0
TP y TTPa (P)	13	35.1	9	24.3	3	8.1	3	8.1	5	13.5
TP y TTPa (A)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TP (P) y TTPa (A)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TP (A) y TTPa (P)	1	2.7	3	8.1	4	10.8	1	2.7	4	10.8

Las letra (P) corresponden a los resultados prolongados del TP y TTPa, mientras que la (A) a los resultados acortados. Se empleó la prueba de U de Mann Whitney para el análisis de los resultados. No se observó diferencias significativas entre las variables.



Gráfica 6. Resultados del TP y TTPa de pacientes con ETV y AL (n=37) en tratamiento con RIV. Se considera un resultado prolongado cuando la diferencia entre el tiempo del paciente menos el tiempo del testigo es > 3 segundos en el caso del TP y > 5 segundos en el TTPa.

9.2 Efectos del RIV en las pruebas de función hepática y renal.

Los resultados se muestran en las tablas 5, 6 y 7, y en la gráfica 7. Los resultados de los pacientes con ETV con AL y sin AL se muestran de manera conjunta, con la excepción del fibrinógeno. Se observó que los niveles séricos de GGT y FA se modificaron discretamente al inicio del tratamiento con RIV. La GGT disminuyó 4 UI/dL al primer mes de tratamiento con RIV, mientras que la FA disminuyó e incremento 10 UI/dL en el primer y tercer mes de tratamiento, respectivamente (Tabla 5). Sin embargo, en ambos casos los resultados carecen de relevancia clínica ya que los niveles séricos de estas enzimas se mantuvieron dentro de valores normales de referencia.

La concentración de fibrinógeno disminuyó significativamente durante el tratamiento con RIV (3, 6 y 12 meses) en los pacientes con ETV sin AL (Tabla 6, gráfica 7). La disminución fue de 25 mg/dL aproximadamente. Al igual que las enzimas hepáticas, la disminución de fibrinógeno no representa un riesgo para la salud de los pacientes debido a que su concentración se mantiene dentro de valores normales de referencia.

Tabla 5. Resultados de la concentración de bilirrubinas en pacientes con ETV antes y a los 6 meses de tratamiento con RIV (n= 293).

Determinación	BT mg/dL	BI mg/dL	BD mg/dL
Valor de referencia	0.2 – 1.2	0.1 – 0.7	0.0 – 0.5
Basal	0.5 ± 0.19	0.1 ± 0.06	0.4 ± 0.16
6 meses	0.5 ± 0.21	0.1 ± 0.05	0.4 ± 0.17

Los resultados se expresan como la media ± la DE. BT: bilirrubina total; BD: bilirrubina directa; BI: bilirrubina indirecta. Se usó la prueba estadística de análisis de varianza para analizarlos.

Tabla 6. Resultados de los niveles séricos de AST, ALT, GGT, FA y DHL en pacientes con ETV en tratamiento con RIV (n=293).

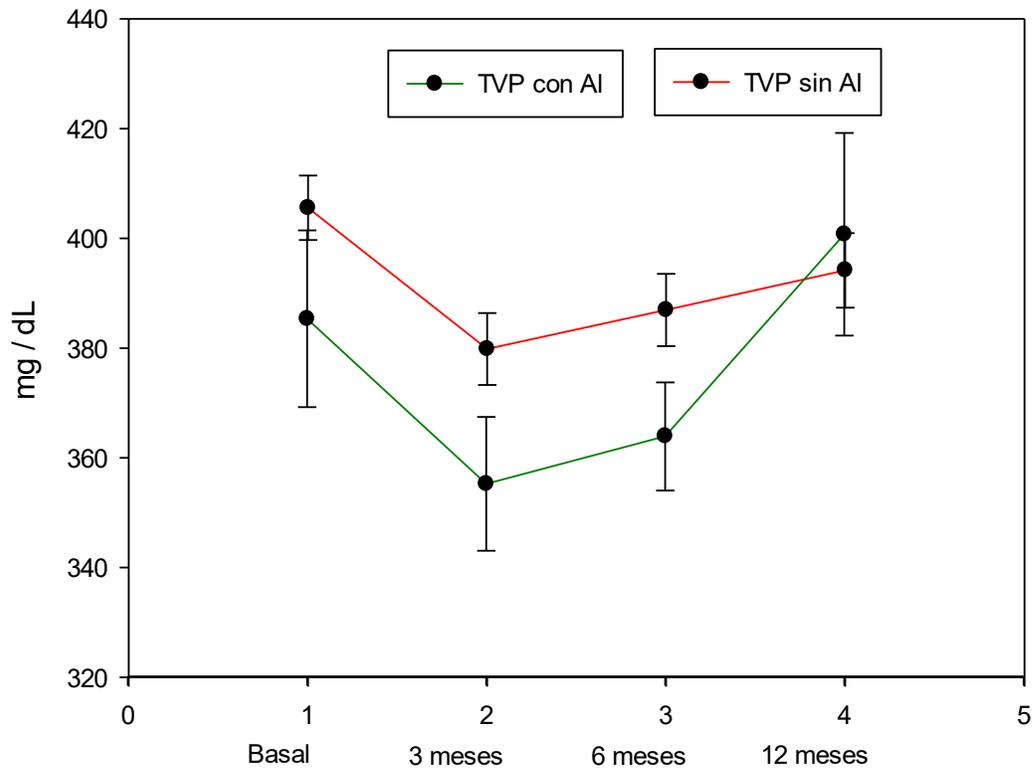
Determinación	AST	ALT	GGT	FA	DHL
	UI/L	UI/L	UI/L	UI/L	UI/L
Valor de referencia	15 – 37	8 – 35	8 – 65	34 – 104	106 – 274
Basal	22 ± 10	26 ± 17	51 ± 30	104 ± 33	165 ± 29
1 mes	24 ± 11	26 ± 13	46 ± 42*	94 ± 38*	160 ± 31
3 meses	21 ± 8	26 ± 9	57 ± 28	114 ± 32*	162 ± 22
6 meses	21 ± 7	26 ± 10	55 ± 27	106 ± 33	164 ± 25
12 meses	21 ± 8	26 ± 11	53 ± 27	106 ± 35	161 ± 22

Los resultados se expresan como la media ± la DE. * = p < 0.05. Se usó la prueba estadística de análisis de varianza para analizar los resultados.

Tabla 7. Resultados de la concentración plasmática de fibrinógeno en pacientes con ETV antes y después del tratamiento con RIV. (n= 293).

	Basal	3 meses	6 meses	12 meses
	mg /dL	mg /dL	mg / dL	mg / dL
ETV sin AL	405.6±95.9	379.9±106.7*	386.9±107.5*	394.2±110.7*
ETV con AL	385.2±97.9	355.1±74.3	363.7±60.1	400.6±112.3

Los resultados se expresan como la media ± la DE. * = p < 0.05. Se empleó la prueba estadística de análisis de varianza para el análisis de los resultados.



10. DISCUSIÓN

Durante nuestra vida adquirimos una gran cantidad de hábitos y condiciones que dañan a nuestro sistema hemostático, su inmensa variabilidad hace difícil identificar con precisión qué factores contribuyen al desarrollo de las trombosis o determinar cuáles tienen mayor influencia²⁹. Sin embargo, es un hecho que una gran cantidad de personas están expuestas a sufrir eventos trombóticos, y muchas más están sufriendo las consecuencias de haber padecido esta devastadora enfermedad.

La trombosis es una enfermedad multifactorial en la que convergen trombofilias hereditarias y adquiridas. Las consecuencias de la trombosis pueden ser desastrosas si consideramos que muchos pacientes quedan discapacitados de por vida, afectando su productividad académica, laboral, y con el paso del tiempo, a la economía de su familia y a la de todo un país¹. Lo anterior hace indispensable que las autoridades de salud a nivel mundial mejoren las estrategias preventivas para disminuir la incidencia alarmante de trombosis, e introduzcan nuevos fármacos antitrombóticos³⁰ que eviten que esta enfermedad se manifieste en repetidas ocasiones en un mismo individuo deteriorando mucho más su calidad de vida.

Durante muchas décadas el tratamiento anticoagulante de elección en la ETV ha sido el uso de los AVK². Sin embargo, con el desarrollo de los nuevos anticoagulantes que inhiben directamente a factores hemostáticos activados y que no requieren de monitorización para el control de su efecto anticoagulante, es probable que en poco tiempo los AVK sean olvidados⁶³. No obstante, el hecho de no poder evaluar el efecto farmacológico de los nuevos medicamentos debería ser considerado estrictamente como una desventaja.

El RIV inhibe la actividad del FXa disminuyendo la generación de Tr^{64, 66}. El FX es un zimógeno, proteasa de serina que requiere de VK para ser un factor de la coagulación funcional⁷⁴, se sitúa en un sitio clave en la fase plasmática de la hemostasia donde convergen las vías intrínseca y extrínseca. Evidentemente, este conocimiento ha permitido que la industria farmacéutica dedicada al desarrollo de anticoagulantes centre su atención sobre este factor en específico^{55, 58}. Además, considerando que la Tr, el mediador final de la fase plasmática de la hemostasia, induce tanto la activación de las reacciones plasmáticas como la activación de las plaquetas, la disminución en la generación de Tr a través de la inhibición del FXa pareciera ser una estrategia farmacológica para lograr la inhibición simultánea de la formación de fibrina y activación plaquetaria. Nuevamente, este conocimiento resulta de interés para la industria dedicada a la producción de medicamentos.

Con base en lo anterior, la inhibición del FXa podría monitorizarse mediante la medición del TP y TTPa, ambas pruebas se alteran cuando el paciente tiene alguna deficiencia en los factores de la vía común⁷⁰, entre estos el FX. Por lo tanto, si el RIV inhibe a la vía común de la fase plasmática de la hemostasia los resultados del TP y TTPa deberían estar prolongados con respecto a un plasma normal. En este sentido, la compañía productora de RIV hace mención de que la actividad anti-FXa se puede medir con métodos ya estandarizados⁶⁹; no obstante, la SIHT no ha aceptado hasta nuestros días una prueba de laboratorio mediante la cual se pueda evaluar el efecto anticoagulante del RIV⁶⁵. El empleo de pruebas de laboratorio que evalúan el efecto de las heparinas en el control de la terapia anticoagulante con RIV es una estrategia utilizada en la actualidad.

Con los AVK, el INR es el parámetro de laboratorio que regula el efecto anticoagulante disminuyendo el riesgo hemorrágico y trombótico ocasionados

por la dosificación no óptima de los fármacos ^{9, 14, 71}. El INR depende del TP, ya que los AVK inducen una deficiencia farmacológica persistente del factor VII y de los otros factores VK dependientes ^{9, 14}. Por lo tanto, el TP al ser una prueba estandarizada para la identificación de deficiencias de los factores de la coagulación es sin lugar a dudas un método sencillo y sensible para evaluar el efecto de los AVK ⁷⁰. Por otro lado, el RIV no induce deficiencia de los factores de coagulación⁶³, por lo que la prolongación del TP y/o TTPa dependerá de la concentración de FXa que se inhiba durante las pruebas de coagulación *in vitro*, lo cual a su vez dependerá directamente de la actividad del FX *per se* del paciente y de las características de los reactivos empleados. A diferencia de los AVK, el RIV no mantiene un efecto anticoagulante crónico o persistente, la inhibición del FXa solo ocurre si el sistema hemostático del paciente está activado⁶⁶, lo cual complica aún más el desarrollo y la estandarización de una prueba de laboratorio sensible al efecto del RIV. Por otro lado, el hecho de que el RIV solo actúa cuando se produce FXa explica en parte por qué quizá no se requiera medir el efecto anticoagulante del fármaco.

Los efectos del RIV sobre las pruebas de laboratorio que evalúan al sistema hemostático han sido poco estudiados. En estudios *in vitro* y *ex vivo*⁶⁷ se ha observado que el efecto del RIV en los tiempos de coagulación y en las pruebas que se basan en la formación de un coágulo varía dependiendo de la dosis de RIV usada y de las características de los reactivos ⁶⁸. Sin embargo, hasta donde se tiene entendido después de una búsqueda bibliográfica, no hay evidencia que demuestre que el efecto del RIV sobre los tiempos de coagulación sea el mismo a lo largo del tratamiento.

En el presente estudio se evalúa si el RIV afectaba los tiempos de coagulación de pacientes con ETV durante 1 año de tratamiento. Si los pacientes reciben la

misma dosis de RIV durante su tratamiento anticoagulante es factible pensar que al utilizar pruebas estandarizadas de laboratorio como lo son los tiempos de coagulación, los resultados de éstas deberían ser al menos similares durante todo el tratamiento anticoagulante, dependiendo del estado hemostático de los pacientes.

Se analizaron las muestras de pacientes con ETV que iniciaron tratamiento anticoagulante con RIV 10 mg. En todos los pacientes se evaluaron pruebas bioquímicas como FA, LDH, GGT, ALT, AST, BT, BD, BI y creatinina, para conocer la función del hígado y de forma muy general, la del riñón, ya que si estos órganos estaban alterados la farmacocinética del RIV podría verse afectada ⁶⁹ y por consiguiente los cambios observados en los tiempos de coagulación estarían más relacionados con el estado de salud del paciente y no con la inhibición del FXa, en ninguno de los pacientes se identificaron alteraciones bioquímicas importantes que pusieran en riesgo su salud, sólo se apreciaron cambios discretos, pero estadísticamente significativos en los niveles séricos de las enzimas FA y ALT al inicio del tratamiento. En parte, los resultados eran de esperarse al tratarse de enzimas involucradas en la farmacocinética del RIV⁵⁵, aunque, si esto fuera completamente cierto, los cambios observados en ambas enzimas debieron mantenerse a lo largo del tratamiento y no sólo durante los primeros meses. Mientras GGT permanece elevada durante todo el tratamiento, a pesar de ser un efecto secundario del mismo tratamiento ^{66, 69}, descartamos esta idea debido a que en la determinación basal ya se encontraba elevada esta enzima, sin embargo esto se puede atribuir a diversas condiciones del paciente ¹⁴ como es la diabetes, ingesta de alcohol, consumo frecuente de fármacos, entre otros.

Los efectos en los tiempos de coagulación no fueron los esperados si consideramos lo informado por la compañía que produce el RIV⁶⁹. Excluimos a los pacientes con alteraciones en las determinaciones basales del TP o TTPa teniendo en cuenta que algunos pacientes habían estado siendo tratados con AVK o heparina. Por supuesto, siempre se verificó si la prolongación del TP, TTPa o ambos se debía a una deficiencia de alguno de los factores de coagulación o a la presencia de un inhibidor, incluyendo al anticoagulante lúpico. Para esto se hicieron diluciones y correcciones del plasma problema⁵⁰, sin embargo, los resultados de estas pruebas no se muestran en los resultados de la tesis.

Debido a que entre los pacientes con ETV uno de los factores de riesgo es el síndrome de anticuerpos antifosfolípidos^{46, 47, 48}, específicamente el anticoagulante lúpico, decidimos analizar las muestras de estos pacientes en un grupo independiente ya que de manera *per se* los tiempos de coagulación se ven afectados, principalmente el TTPa.

Los efectos del RIV en el TP y TTPa se pusieron de manifiesto cuando los resultados de los pacientes se compararon contra los obtenidos de un plasma testigo. Es decir, el análisis estadístico se hizo analizando las diferencias obtenidas al restar los resultados del TP o TTPa del paciente menos los resultados del plasma testigo.

Para el TP de los pacientes con ETV y sin AL, los resultados de las determinaciones basales fueron los esperados obteniéndose tiempos de coagulación discretamente prolongados con respecto al plasma testigo. Esto es de esperarse considerando que el plasma testigo tiene una actividad de todos los factores de coagulación cerca o mayor al 100 %⁷⁰. Contrario a lo descrito en la literatura, el TP presentó cambios significativos durante el tratamiento con RIV.

En los primeros tres meses de tratamiento el TP tendió a prolongarse, pero a los 6 y 12 meses de tratamiento el tiempo de coagulación disminuyó significativamente con respecto a la determinación basal. Explicar estos resultados no es nada fácil, sin embargo, parecen guardar alguna relación con lo observado en las enzimas hepáticas ALT y FA. Una hipótesis propuesta es que la actividad del FX era menor al inicio del tratamiento con RIV comparada con los meses siguientes. Aproximadamente el 90 % de los pacientes incluidos en el estudio usaban AVK como tratamiento anticoagulante antes de ser tratados con RIV. Aunque la toma de muestras basales se desarrolló después de dos semanas de que los pacientes con ETV suspendieron el uso de AVK, es probable que el FX y los otros factores VK dependientes estuvieran todavía inhibidos aun cuando se verificó que los valores de INR estuvieran por abajo del rango terapéutico. Es decir, si el INR era menor de 2 los pacientes se incluían en el estudio. No obstante, esta hipótesis se descartó considerando que el efecto de los AVK persiste aproximadamente por 15 días, y la prolongación del TP en los pacientes con ETV en tratamiento con RIV se observó durante los primeros 3 meses de tratamiento. Por otro lado, tampoco podemos suponer que durante el tratamiento con RIV el anticoagulante por mecanismos desconocidos pierde su efecto farmacológico considerando que los resultados del TP se normalizan transcurridos 6 meses del tratamiento. Evidentemente, los resultados y el diseño de este estudio no permiten hacer mayores aseveraciones con respecto a lo observado con el TP. Sin embargo, lo que sí está claro, es que el TP no se prolonga ni se mantiene así durante el tratamiento con RIV como lo describe la compañía que produce al anticoagulante ⁶⁹. Además, los resultados también contribuyen a lo descrito por otros autores ^{65, 66} que sugieren no usar el TP o TTPa para monitorizar el efecto anticoagulante del RIV.

Debido a que la concentración de fibrinógeno se derivó del TP es probable que los cambios observados a los 3 y 6 meses, se deban a los efectos del RIV sobre los factores de coagulación. No obstante, los resultados obtenidos son de gran importancia debido a que con frecuencia los resultados de los tiempos de coagulación en pacientes bajo tratamiento anticoagulante se acompañan del resultado de fibrinógeno, por lo cual, es importante aclarar a los pacientes que este valor de fibrinógeno no representa la concentración plasmática de la proteína, y que el resultado puede variar dependiendo del grado de anticoagulación al que está siendo sometido cada paciente. Los resultados obtenidos de este estudio son una evidencia más de que la determinación de la concentración plasmática de fibrinógeno derivada del TP no tiene utilidad clínica. Sin embargo, esto no representa que en los pacientes anticoagulados con RIV o AVK se deba determinar la concentración plasmática de fibrinógeno por otros métodos, ya que al igual que el fibrinógeno derivado, la concentración plasmática real de la proteína no se requiere para valorar si la anticoagulación en los pacientes es la adecuada.

Con lo que respecta al TTPa, los resultados fueron muy similares a lo observado con el TP. Al inicio del tratamiento con RIV el TTPa tendió sólo a prolongarse para después normalizarse durante el tratamiento. Resulta interesante que los resultados del TTPa basal fueron más cortos con respecto a los del plasma testigo. En estudios previos realizados en el mismo laboratorio se ha observado esta tendencia a lo largo de más de 1000 pacientes con ETV, que el incremento en la actividad del FVIII⁷³ sea la responsable de estos resultados. Sin embargo, no se sabe si otros factores están contribuyendo. Lo anterior pudiera explicar en parte los resultados observados en el TTPa de los pacientes con ETV en tratamiento con RIV. Si en los pacientes con ETV la actividad del FVIII está

incrementada es probable que la dosis usada de RIV no fuera la suficiente para inhibir al FXa considerando que en estos pacientes el complejo diezasa activa más FX de lo normal. De acuerdo con lo anterior, sería importante evaluar si los efectos del RIV sobre el TTPa son más pronunciados cuando se utilizan dosis mayores del anticoagulante.

A pesar de los efectos del RIV en el TP y TTPa, éstos fueron clínicamente irrelevantes. La magnitud de los efectos del RIV en los tiempos de coagulación se midió evaluando el número de pacientes con resultados prolongados y acortados de estas pruebas. Un resultado prolongado del TP y TTPa indica que la actividad del FX está por debajo de los valores normales de referencia (< 70 UI/dL)⁷⁰, mientras que un valor acortado indica que la actividad del FX está incrementada (>130 UI/dL)⁷⁴.

Los pacientes con ETV no presentaban alteraciones hemofílicas de la fase plasmática de la hemostasia antes de usar RIV, tan sólo 2 pacientes mostraron resultados prolongados del TTPa (0.8%). En cambio, como era de esperarse, 122 pacientes (47.6%) mostraron resultados compatibles con un fenotipo procoagulante, 114 pacientes (44.5%) con resultados acortados del TTPa y 8 pacientes (3.1%) más con resultados acortados del TP y TTPa. Después de 1 mes de tratamiento con RIV, se observó que 16 (6.2%) pacientes con ETV presentaron resultados prolongados del TP durante el tratamiento con RIV. Por el contrario, el número de pacientes con ETV con resultados acortados del TP en la determinación basal incrementó de 8 (3.1%) a 9 (3.5 %) pacientes. Para el TTPa, el número de pacientes con resultados acortados de esta prueba disminuyó de 114 (44.5%) en la determinación basal a 88 pacientes (34.4%) a los 6 meses de usar RIV. De la misma manera, el número de pacientes con ETV

con resultados acortados del TP y TTPa en la determinación basal (n = 8, 3.1%) incremento con el uso del RIV (n = 21, 8.2%).

Después de lo anterior queda claro que los efectos del RIV sobre los tiempos de coagulación no siguen ninguna tendencia clara en los pacientes con ETV, al menos con la dosis del anticoagulante usada.

También se evaluaron los efectos del RIV en pacientes con ETV y AL. Evidentemente, los pacientes con AL tenían prolongado el TTPa antes de usar el RIV como se hace evidente en la Tabla 4 que muestra que, el 62.2% de los pacientes con trombosis y AL tienen prolongado el TTPa y 35.1% tiene el TP y TTPa prolongado. Por lo mismo, la interpretación de los resultados en este grupo de estudio es compleja ya que la prolongación del TTPa durante el tratamiento puede deberse a un incremento en el título de anticuerpos antifosfolípidos del paciente ^{46, 47, 48, 49, 50} y no precisamente al efecto del RIV. Un paciente con AL mostró resultados acortados del TTPa a los 3 y 6 meses de usar RIV, la explicación de estos resultados es incierta ya que sugiere que los anticuerpos antifosfolípidos perdieron la actividad lúpica y que además el RIV no inhibe al FXa. De la misma manera es difícil explicar cómo algunos pacientes con AL acortaron su TP después de usar el RIV.

En resumen, el RIV induce cambios en los tiempos de coagulación de pacientes con ETV los cuales carecen de relevancia clínica. No obstante, nuestros resultados demuestran que el RIV no prolonga significativamente los tiempos de coagulación como se menciona en la literatura ^{63, 65, 66}, ni mantiene este efecto durante el tratamiento. Hay que resaltar que el estudio se basó en el uso de una sola dosis de RIV (10mg) dejando abierta la posibilidad de realizar otros estudios evaluando dosis más altas del anticoagulante.

11. CONCLUSIONES

1. El uso crónico de RIV (10 mg) en el tratamiento anticoagulante de pacientes con ETV, no prolonga los tiempos de coagulación.
2. El RIV no afecta la función hepática y probablemente, la función renal de los pacientes con ETV, debido a que las pruebas de GGT, ALT, AST, FA, DHL, BD, BT, BI y creatinina no mostraron cambios clínicamente relevantes.
3. El RIV no potencializa el efecto *in vitro* del AL sobre el TTPa.
4. Los tiempos de coagulación TP y TTPa, no deben usarse para evaluar el efecto anticoagulante del RIV en pacientes con ETV.

12. PERSPECTIVAS

1. Determinar en estudios *in vitro*, si el RIV afecta la actividad otros factores hemostáticos distintos del FXa, realizando una evaluación cualitativa y cuantitativa de los mismos.
2. Determinar si los efectos del RIV en los tiempos de coagulación de pacientes con ETV dependen de la dosis del fármaco. Para esto se compararán los tiempos de coagulación de pacientes con ETV tratados con 5, 10, 15 y 20 mg de RIV.
3. Determinar si los cambios inducidos por el RIV en los tiempos de coagulación dependen de la actividad basal del FX en los pacientes con ETV. Se determinará la actividad del FX previo al uso del RIV, y en aquellos pacientes con resultados anormales del FX ($FX \leq 74\%$ de actividad o $FX > 130\%$ de actividad), se analizará si el uso crónico de RIV afecta los tiempos de coagulación. De manera inicial se realizará un estudio retroprolectivo con los resultados obtenidos de esta tesis.

13. CONSIDERACIONES ÉTICAS

Este es un estudio de riesgo mínimo por incluir un procedimiento que habitualmente no se efectúa en los pacientes en tratamiento con RIV. Para asegurar la confidencialidad de la información, sólo el investigador responsable tuvo los datos completos de los resultados obtenidos de cada paciente, por lo menos hasta que se analicen los datos con la intención de ser publicados. En ningún momento, el investigador responsable hizo público el nombre de los pacientes de los cuales provienen las muestras a menos que haya sido una solicitud de los mismos.

Todos los pacientes recibieron información amplia y suficiente acerca de la investigación. Todos sin excepción debieron firmar una carta de consentimiento informado.

El proyecto fue aprobado por el Comité Local de Investigación y ética del Hospital General Regional No.1 Dr. Carlos MacGregor Sánchez Navarro del IMSS. Se siguieron las leyes y normas tanto nacionales como internacionales para investigación clínica y aplicada en humanos: Ley General de Salud, artículos 20, 100, 103 y pertinentes; declaración de Helsinki revisada, código de Nuremberg.

14. REFERENCIAS

1. Cabrera, R. A. y Nellen, H. N. (2007). Epidemiología de la enfermedad tromboembólica venosa. *Gac Méd Méx*, 143(1).
2. Soff, G. A. (2012). A New Generation of Oral Direct Anticoagulants. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 32(3):569-574.
3. Kono, S., Yamashita, T., Dequcqi, K., Omote, Y., Yunoki, T., Sato, K., Hishikawa, N. y Abe, K. (2014). Rivaroxaban and apixaban reduce hemorrhagic transformation after thrombolysis by protection of neurovascular unit in rat. *Stroke*, 45(8):2404-10.
4. Majluf, C. M. y Espinosa, E. F. (2007). Fisiopatología de la trombosis. *Gac Méd Méx*, 143(1).
5. Murillo, M. C. (2003). Bases de la hemostasia y trombosis. *Gac Méd Méx*, 139(2):28-30.
6. Murillo, C. M. (2008). Hemostasia y Trombosis. (2a ed.). México, México: Prado.
7. Fischbach, D. P. (1985). Coagulación, Fundamentos. Buenos Aires, Argentina: Médica Panamericana.
8. Geng, J. G., Bevilacqua M. P., Moore, K. L., McIntyre, T. M., Prescott, S. M., Kim, J. M., Bliss, G. A., Zimmerman, G. A. y McEver, R. P. (1990). Rapid neutrophil adhesion to activated endothelium mediated by GMP-140. *Nature*, 343(6260):757-760.
9. Lichtman, M. A., Kaushansky, K., Kipps, T. J., Prchal, J. T. y Levi, M. M. (2005). *Williams Hematology*. (7a ed.). New York, USA: McGraw-Hill.
10. Otero, A. M. (2006). Hemostasis y Trombosis (2a ed.). Montevideo, Uruguay: Arena.
11. Ruoslahti, E. y Pierschbacher, M. D. (1987). New perspectives in cell adhesion: RGD and integrins. *Science*, 238(4826): 491-497.

12. **San Miguel, J. F. y Sánchez-Guijo, F.M. (2009). Hematología, Manual básico razonado (3a ed.). Barcelona, España: Elsevier.**
13. **Jaffe, E. A. (1990). Vascular function in hemostasis. In Hematology (4a ed.). New York, USA: McGraw-Hill.**
14. **McKenzie, S. B. (2000). Hematología clínica (2a ed.). México, México: El Manual Moderno.**
15. **Furie B, Furie B. C. (1992). Molecular and cellular biology of blood coagulation. N Engl J Med, 326(12):800-806.**
16. **Bevilacqua, M. P., Pobre, J. S., Majeau, G. R., Cotran, R. S. y Gimbrone M. A. (1984). Interleukin 1 (IL-1) induces biosynthesis and cell surface expression of procoagulant activity in human vascular endothelial cells. J Exp Med, 160(2):618-623.**
17. **Yamamoto, M. Nakagaki, T. y Kisiel, W. (1992). Tissue factor-dependent autoactivation of human blood coagulation factor VII. J Biol Chem, 267(24):19089-19094.**
18. **Osterud, B. y Rapaport, S. I. (1977). Activation of factor IX by the reaction product of tissue factor and factor VII: Additional pathway for initiating blood coagulation. Proc Natl Acad Sci USA, 74(12):5260-5264.**
19. **Blombäck, B., Magareta, B. (1972). The molecular structure of fibrinogen. Ann NY AcadSci, 202:77-97.**
20. **Samama, M. (1990). Coagulation: En Physiologie et exploration de L´hemostase. Paris, Francia: Doin Editors.**
21. **Rodak, B. F. (2014). Hematología, Fundamentos y aplicaciones clínicas (4a ed.). Madrid, España: Médica Panamericana.**
22. **Esmon, C. T. (1993). Cell mediated events that control blood coagulation and vascular injury. Annu Rev Cell Biol, 9:1-26.**

23. Esmon, C. T. (1993). Molecular events that control the protein C anticoagulant pathway. *Thromb Haemost*, 70:29-35.
24. Guinto, E.R. y Esmon, C. T. (1984). Loss of prothrombin and of factor Xa-factor Va interactions upon inactivation of factor Va by activated protein C. *J Biol Chem*, 259(22):13986-13992.
25. Olds, R. J., Lane, D. A., Mille, B., Chowdhury, V. y Thein, S. L. (1994). Antithrombin: the principal inhibitor of thrombin. *Semin Thromb Hemost*, 20(4):333-372.
26. Brandt, J. T. (1984). The role of natural coagulation inhibitors in hemostasis. *Clin Lab Med*. 4(2):245-284.
27. Okajima, K. (2001). Regulation of inflammatory responses by natural anticoagulants. *Immunol Rev*, 184(23):258-274.
28. Lane, D. A., Philippou, H. y Huntington, J. A. (2005). Directing Thrombin. *Blood*, 106(8):2605-2612.
29. Collen, D. y Lijnen, H. (2004). Tissue-type plasminogen activator: a historical perspective a personal account. *J Thromb Haemost*, 2(4):541-546.
30. Flierl, U., Fraccarollo, D., Micka, J., Bauersachs, J. y Schäfer, A. (2013). The direct factor Xa inhibitor Rivaroxaban reduces platelet activation in congestive heart failure. *Pharmacol Res*, 74:49-55.
32. Walker, I. D., Greaves, M. y Preston, F. E. (2001) Investigation and management of heritable thrombophilia. *Br J Haematol*, 13:512-528.
33. Nygaard, K. y Brown, G. (1937). Essential thrombophilia. Report of five cases. *Arch Intern Med*, 59:82-106.
34. Girolami, A., Simioni, P. y Zanardi, S. (1993). The hereditary thrombosis. *Rev Iberoamer Trom Hemost*, 6(2):113-117.
35. Rosendaal, F. R. (1999). Factors for venous thrombotic disease. *Thromb Haemost*, 82(2):610-619.

36. Clagett, G. P. y Reish, J. S. (1988). Prevention of venous thromboembolism in general surgical patients. *Ann Surg*, 208(2):227-240.
37. Anderson, F. A., Wheeler, B., Goldberg, R. J., Hosmer, D. W. y Forcier, A. (1992). The prevalence of risk factors for venous thromboembolism among hospital patients. *Arch Intern Med*, 152(8):1660-1664.
38. Gensini, G. F., Prisco, D., Falciani, M., Comeglio, M. y Colella, A. (1997). Identification of candidates for prevention of venous thromboembolism. *Sem Thromb Hemost*, 23(1):55-67.
39. Rosendaal, F. R. (1997). Risk Factors for venous thrombosis: prevalence, risk and interaction. *Sem Hematol*, 34(3):171-187.
40. Rosendaal, F. R. (1999). Venous thrombosis: a multicausal disease. *Lancet*, 353(9159):1167-1173.
41. Salomon, O., Steinberg, D. M., Zivelin, A., Gitel, S., Dardik, R. y Rosenberg, N. (1999). Single and combined prothrombotic factors in patients with idiopathic venous thromboembolism: prevalence and risk assessment. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 19(3):511-518.
42. De Stefano, V., Martinelli, I., Mannucci, P. M., Paciaroni, K., Chiusolo, P. y Casorelli I. (1999). The risk of recurrent deep venous thrombosis among heterozygous carriers of both factor V Leiden and the G20210A prothrombin mutation. *N Engl J Med*, 341:801-806.
43. Morange, P. E., Henry, M., Tregouët, D., Granel, B., Aillaud, M. F. y Alessi, M. C. (2000) The A -844G polymorphism in the PAI-1 gene is associated with a higher risk of venous thrombosis in factor V Leiden carriers. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*, 20: 1387-1391.
44. McColl, M. D., Walker, I. D. y Greer, I. A. (1999). The role of inherited thrombophilia in venous thromboembolism associated with pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol*, 106:756-766.

45. **Lowe, G. D., Haverkate, F., Thompson, S.G., Turner, R.M., Bertina, R.M. y Turpie, A. G. (2008). Prediction of deep vein thrombosis after elective hip replacement surgery by preoperative clinical and haemostatic variables: the ECAT DVT. *Thromb Haemost*, 81:879-886.**
46. **Evia, J. R. (2003). Síndrome de anticuerpos antifosfolípido. *Rev Mex Patol Clin*, 50(1):20-32 .**
47. **Cervera, G. E. (2008). Antiphospholipid syndrome. *Arthritis Research & Therapy*, 10:230.**
48. **Lawrence, L. Horstman, W. J. (2009). Antiphospholipid antibodies: Paradigm in transition . *Journal of Neuroinflammation* , 6:3.**
49. **F, V. (1997). Síndrome antifosfolípido (SAF): posibles mecanismos patogénicos de trombosis. *Sangre*, 475-481.**
50. **Barba, E. J. (2003). Síndrome de anticuerpos antifosfolípido. *Rev Mex Patol Clin*, 50(1): 20-32.**
51. **Galli, M., Luciani, D., Bertolini, G. y Barbui, T. (2003). Lupus anticoagulants are stronger risk factors for thrombosis than anticardiolipin antibodies in the antiphospholipid syndrome: a systematic review of the literature. *Blood*, 101:1827-1832.**
52. **Jennings, I., Kitchen, S., Woods, T. A., Preston, F. E. y Greaves, M. (2007). Potentially clinically important inaccuracies in testing for the lupus anticoagulant: an analysis of results from three surveys of the UK National External Quality Assessment Schemarcellona D, Tripodi A. Survey of lupus anticoagulant diagnosis by central evaluation of positive plasma samples. *J Thromb Haemost*, 5: 925-930.**
53. **Greaves, M., Cohen, H., MacHin, S. J. y Mackie, I. (2000). Guidelines on the investigation and management of the antiphospholipid syndrome. *Br J Haematol*, 109:704-715.**

54. Rauch, J., Tannenbaum, M. y Janoff, A. S. (1989). Distinguishing plasma lupus anticoagulants from anti-factor antibodies using hexagonal (II) phase phospholipids. *Thromb Haemost*, 62:892-896.
55. Perzborn, E., Roehrig, S., Straub, A., Kubitza, D., Mueck, W. y Laux, V. (2010) Rivaroxaban: a new oral factor Xa inhibitor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 30:376-381.
56. Yeh, C. H., Fredenburgh, J. C. y Weitz, J. I. (2012) Oral Direct Factor Xa Inhibitors. *Circ Res*, 111:1069-1078.
57. Eriksson, B. I., Borris, L. C., Friedman, R. J., Haas, S., Huisman, M. V., Kakkar, A. K., Bandel, T. J., Beckmann, H., Muehlhofer, E., Misselwitz, F. y Geerts, W. (2008) Rivaroxaban versus enoxaparin for thromboprophylaxis after hip arthroplasty. *N Engl J Med*, 358:2765–75.
58. Lassen, M. R., Ageno, W., Borris, L. C., Lieberman, J. R., Rosencher, N., Bandel, T. J., Misselwitz, F. y Turpie, A. G. (2008). Rivaroxaban versus enoxaparin for thromboprophylaxis after total knee arthroplasty. *N Engl J Med*, 358:2776–86.
59. Bauersachs, R., Berkowitz, S. D., Brenner, B., Buller, H. R., Decousus, H., Gallus, A. S., Lensing, A. W., Misselwitz, F., Prins, M. H., Raskob, G. E., Segers, A., Verhamme, P., Wells, P., Agnelli, G., Bounameaux, H., Cohen, A., Davidson, B. L., Piovella, F. y Schellong, S. (2010) Oral rivaroxaban for symptomatic venous thromboembolism. *N Engl J Med*, 363:2499–510.
60. Patel, M. R., Mahaffey, K.W., Garg, J., Pan, G., Singer, D. E., Hacke, W., Breithardt, G., Halperin, J. L., Hankey, G. J., Piccini, J. P., Becker, R. C., Nessel, C. C., Paolini, J. F., Berkowitz, S. D., Fox, K. A. y Califf, R. M. (2011). Rivaroxaban versus warfarin in nonvalvular atrial fibrillation. *N Engl J Med*, 365:883–91.
61. Buller, H. R., Prins, M. H., Lensin, A. W., Decousus, H., Jacobson, B. F., Minar, E., Chlumsky, J., Verhamme, P., Wells, P., Agnelli, G., Cohen, A., Berkowitz, S. D., Bounameaux, H., Davidson, B. L., Misselwitz, F., Gallus, A.S., Raskob, G. E.,

- Schellong, S. y Segers, A. (2012) Oral rivaroxaban for the treatment of symptomatic pulmonary embolism. *New England Journal of Medicine*, 366:1287–97.
62. Mega, J. L., Braunwald, E., Wiviott, S., Bassand, J. P., Bhatt, D. L., Bode, C., Burton, P., Cohen, M., Coo-Bruns, N., Fox, K. A., Goto, S., Murphy, S. A., Plotnikov, A. N., Schneider, D., Sun, X., Verheugt, F. W. y Gibson, C. M. (2012). Rivaroxaban in patients with a recent acute coronary syndrome. *N Engl J Med*, 366:9-19.
63. Vargas, R. A. (2012). Nuevos anticoagulantes: dabigatrán, rivaroxabán y apixabán. *Gaceta Médica de México*, 148:257-64.
64. Graff, J., von Hentig, N., Misselwitz, F., Kubitzka, D., Becka, M., Breddin, H. K. y Harder, S. (2007). Effects of the oral, direct factor xa inhibitor rivaroxaban on platelet-induced thrombin generation and prothrombinase activity. *J Clin Pharmacol*, 47:1 398-1407.
65. Hillar, A., Baghaei, F., Fagerberg, Blixter, I., Gustafsson, K. M., Stigendal, L., Sten-Linder, M., Strandberg, K. y Lindahl, T. L. (2011). Effects of the oral, direct factor Xa inhibitor rivaroxaban on commonly used coagulation assays. *J Thromb Haemost*, 9: 133-139.
66. Meyer, M. S. (2013). Laboratory assessment of rivaroxaban: a review. *Thrombosis Journal*, 10.1186/1477-9560.
67. J. A. (2006). The epidemiology of venous thromboembolism in the community: implications for prevention and management. *J Thromb Thrombolysis*, 21(1):23-9.
68. Soff, G. A. (2012). A New Generation of Oral Direct Anticoagulants. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 32:569-574., 32:569-574.
69. Bayer. (2015). Guía de prescripción para el profesional sanitario. Barcelona, España.
70. Kitchen, S., McCraw, A. y Echenagucia, M. (2010). Diagnóstico de la hemofilia y otros trastornos de la coagulación, *Manual de laboratorio*. (2a ed.). Québec, Canada: Federación Mundial de Hemofilia.

71. Lewis, S. M., Bain, B. J. y Bates, I. (2008). Hematología práctica (10a ed.). Madrid, España: Elsevier.
72. Cuker, M. D. (2015). Laboratory Measurement of the Anticoagulant Activity of the Target-specific Oral Anticoagulant Agents: A Systematic Review. *J Am Coll Cardiol*, 64(11): 1128-1136.
73. Majluf, C. A., Moreno, H. M., Martínez, E. N., Ruiz de Chávez, O. A., Coria, R. E., Monroy, G. R., Vela, O. J., García, C. J., Basave, R. M. y Villasís, K. M. (2008). Factor VIII activity among young Mexican patients with acute myocardial infarction. *Gac Med Mex*, 144:199-206.
74. Hernández, J. J., Moreno, H. M., Ricardo, M. T., García, G. A., García, L. E., Hernández, L. J., Ramírez, S. E., Alvarado, M. A., Isordia, S. y Majluf C. A. (2014)
75. Martínez, M. C., Quintana, G. S. y Collazo, J. J. (2008). Las pruebas de laboratorio para evaluar la hemostasia. El presente y el futuro. *Rev. de Hemostasia y Trombosis*, 2(1):66-75.

15. ANEXOS

FUNDAMENTOS DE LAS TÉCNICAS

Tiempo de protrombina (TP)

Es el tiempo en segundos que tarda en coagular un plasma citratado después de agregar tromboplastina completa con calcio a una temperatura de 37°C y pH 7.4 ⁷⁵.

Este ensayo establece la eficacia global de la vía extrínseca. Es sensible a los cambios de los factores V, VII y X y, en menor medida, del factor II, no es adecuado para detectar cambios menores en el nivel de fibrinógeno. Sin embargo, el tiempo puede resultar anormal ante un nivel de fibrinógeno muy bajo o ante la presencia de un inhibidor ⁷⁰.

Técnica:

- 1 En un tubo de 10 x 75 mm, colocar 100µL de plasma control normal, testigo o paciente, incubar 3 minutos a 37°C.
- 2 Adicionar 200µL de tromboplastina cálcica (preincubada a 37°C).
- 3 Mezclar y poner en marcha el cronómetro (mantener en baño María)
- 4 Levantar periódicamente en tubo del baño María, inclinándolo delicadamente hasta ver la formación del coágulo.
- 5 Detener el cronómetro y registrar el tiempo, repetir para cada muestra.

Tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa)

Es el tiempo en segundos que tarda en coagular un plasma citratado después de agregarle tromboplastina parcial con un activador (caolín, sílice, ácido elágico, entre otros) y calcio a una temperatura de 37°C y pH 7.4⁷⁵.

La prueba de TTPa consiste en un análisis no específico de la vía intrínseca. El TTPa será prolongado ante cualquier deficiencia que involucre a las vías intrínseca y común además ante la presencia de inhibidores. La presencia de algunos inhibidores terapéuticos de la coagulación, como la heparina, también prolonga el TTPa. El TTPa también se prolongará ante la deficiencia de precilcreína o de HMWK, a menos que la prueba utilice un reactivo que contenga ácido elágico como activador, en ese caso, el TTPa será normal, incluso ante la ausencia total de dichos factores⁷⁰.

Técnica

- 1 En un tubo de 10 x 75 mm colocar 100µL de tromboplastina parcial activada y agregar 100µL de plasma normal, testigo o paciente.
- 2 Mezclar y colocar en baño María a 37°C 3 minutos.
- 3 Añadir 100µL de cloruro de calcio preincubado, mezclar y poner en marcha el cronómetro.
- 4 Levantar periódicamente el tubo del baño María, inclinándolo delicadamente hasta ver la formación del coagulo.
- 5 Detener el cronómetro y registrar el tiempo, repetir para cada muestra.

Tiempo de veneno de víbora Russell diluido (dRVVT)

Este veneno contiene una enzima que activa directamente el factor X, que luego activa la protrombina en presencia de fosfolípidos, iones de calcio y factor V, La dilución del veneno y el fosfolípido hace que la prueba se vuelva especialmente sensible en la presencia de anticoagulantes lúpicos y anticuerpos antifosfolípidos.

En ese caso, un alargamiento del dRVVT puede ser provocado por inhibidores de fosfolípidos, o bien por deficiencia o anomalía de los factores II, V, X, o de fibrinógeno.

Técnica

- 1 En un tubo de ensayo de vidrio agregar 100 μ L de plasma normal o paciente a 37°C durante 1 a 2 minutos.
- 2 Agregar 100 μ L de veneno de víbora Russell diluido. Mezclar y dejar durante 30 segundos a 37°C.
- 3 Adicionar 100 μ L de cloruro de calcio 25 mM, mezclar y poner en marcha el cronómetro.
- 4 Levantar periódicamente el tubo del baño María, inclinándolo delicadamente hasta ver la formación del coagulo.
- 5 Detener el cronómetro y registrar el tiempo, repetir para cada muestra.

HOJA DE INFORMACIÓN.

Estimado paciente;

Esta carta es para informarle porque le estamos solicitando su ayuda en la elaboración del trabajo de investigación **“Efecto del rivaroxaban en los tiempos coagulación de pacientes con trombosis”**. En primer lugar, queremos saber si la dosis de rivaroxabán que recibe Usted como parte de su tratamiento anticoagulante es la adecuada para lograr los beneficios clínicos esperados. Esto es muy importante ya que el estudio nos proporcionará información valiosa para saber si Usted tiene un riesgo mayor de sufrir eventos hemorrágicos. En segundo lugar, pero no menos importante, queremos determinar si el rivaroxaban modifica los resultados de la química sanguínea ya que si esto ocurre así, la interpretación de los tiempos de coagulación no sería la adecuada. La sangre que Usted donará se obtendrá con material completamente nuevo por lo que no corre ningún riesgo de contraer alguna enfermedad. Asimismo, la cantidad de sangre que se extraerá es mínima (10.4 ml, 4 veces en 1 año) y no debe causar otra molestia más que el de la aguja. Los datos que le solicitamos son únicamente con propósitos de investigación y también nos servirán para que en caso de que Usted tenga alguna otra alteración, sea informado inmediatamente para que reciba consejo médico. Ninguna de las muestras que le tomemos será utilizada para obtener ganancias de ninguna clase, ya que la información que se obtenga de su sangre sólo será utilizada para fines científicos y de tratamiento.

Le agradezco de antemano su colaboración.

A T E N T A M E N T E.

pBQD. Patricia Cruz Puente.

Unidad de Investigación Médica en Trombosis, Hemostasia y Aterogénesis del
Hospital General Regional No.1 Dr. Carlos MacGregor Sánchez Navarro del IMSS.

HOJA DE ACEPTACIÓN

Por medio de este conducto, yo certifico que estoy enterado del estudio denominado **“EFECTO DEL RIVAROXABÁN EN LOS TIEMPOS DE COAGULACIÓN DE PACIENTES CON TROMBOSIS”**. Para este estudio se me ha pedido que done 10.4 ml de sangre 4 veces en 1 año, en el conocimiento de que el material con que se me extraiga la sangre es nuevo. Asimismo, se me informó que mi sangre y los resultados que se obtengan de ella, sólo serán utilizados con fines científicos y no se les dará ningún uso comercial. Asimismo, se me informó que, en caso de que yo presente alguna alteración en mi sangre, se me dará aviso inmediatamente de ella.

ATENTAMENTE.

Paciente: _____

Lugar: _____

Fecha: _____