

R-19736

Te 616.36-004
ELI

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

Facultad de Medicina

Departamento de Medicina

**BALANCE DE LA FIBRINOLISIS
EN LA CIRROSIS HEPATICA**



Ana M.^a Elías Arcalis, Bibliotecario
Madrid, 1992 de Medicina



La Tesis doctoral de D. Ana Maria Elias
Arcañis
titulada Balance de la Fibrinolisis en la
Cirrosis Hepatica
Director Dr. D.º Domingo Espinós Perez y R.º
fue leída en la Facultad de MEDICINA de la El p.º do C.º no
Manuel
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
el día 4 de Marzo de 1991 ante el tribunal constituido
por los siguientes Profesores:

Presidente D.º Amador Schüller Perez
Vocal R.º Sisinio de Castro del Pozo
Vocal R.º D.º Jose Ma Pajares Garcia
Vocal R.º D.º Jesus Millan Nuñez-Cortés
Secretario R.º Doña Ana Villagal Martínez

habiendo recibido la calificación de Apto cum laude
por unanimidad

Madrid, a 4 de Marzo de 1991

El Secretario del Tribunal,

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA

BALANCE DE LA FIBRINOLISIS EN LA CIRROSIS HEPATICA

AUTOR: ANA M^a ELIAS ARCALIS

DIRECTOR: Prof. Dr. D. ESPINOS PEREZ

CODIRECTOR: Prof. Dr. E. CALVO MANUEL



Departamento de Medicina

*Facultad de Medicina
Universidad Complutense
28040 Madrid*

D. MANUEL DÍAZ-RUBIO GARCÍA, DIRECTOR DEL DEPARTAMENTO DE MEDICINA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID,

C E R T I F I C A: que el proyecto de investigación que presenta el **Alumno** **ALIAS** **ARCALIS**, bajo la dirección de los profesores **D. Cipriano Calvo Manuel** y **D. Domingo Espinosa Pérez**, reúne los requisitos necesarios para su presentación a lectura como tesis doctoral y, de esta manera, poder optar al Grado de Doctor.

Por lo que expido el presente Certificado, a petición de la interesado en Madrid, a diecinueve de diciembre de mil novecientos noventa.

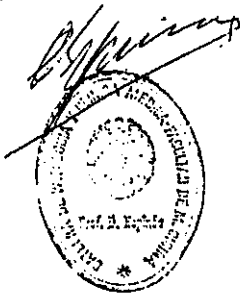


D. DOMINGO ESPINOS PEREZ, Catedrático de Patología y Clínica Médicas de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid,

C E R T I F I C A: Que D^a ANA MARIA ELIAS Y ARCALIS, ha realizado bajo mi dirección el trabajo de investigación correspondiente a su Tesis -- Doctoral titulado "BALANCE DE LA FIBRINOLISIS EN LA CIRROSIS HEPATICA".

Este trabajo reúne las condiciones necesarias para obtener el Grado de Doctor, por lo que una vez revisado doy mi conformidad para su presentación a tal fin.

Para que conste, a los efectos oportunos, firmo el presente Certificado en Madrid a diecinueve de diciembre de mil novecientos noventa.



D. ELPIDIO CALVO MANUEL, Profesor Titular de Patología y Clínica Médicas de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid,

C E R T I F I C A: Que D^{ña} ANA MARIA ELIAS Y ARCALIS ha realizado bajo mi Co-dirección el - trabajo de investigación correspondiente a su Tesis Doctoral titulado "BALANCE DE LA FIBRINOLISIS EN LA - CIRROSIS HEPATICA".

Este trabajo reúne las condiciones necesarias para obtener el Grado de Doctor, por lo que una vez revisado doy mi conformidad para su presentación a tal fin.

Para que conste, firmo el presente Certificado en Madrid, a diecinueve de diciembre de mil novecientos noventa.

Elpidio Calvo



- A mis padres
- A Elpidio
- A la meva "ratota" Ana M^a

AGRADECIMIENTOS

Al Prof. D. Domingo Espinós Pérez, director de esta Tesis, por el estímulo científico que he recibido y la humanidad y comprensión que ha tenido conmigo en los momentos más difíciles.

A la Dra. Amalia Escribá Polo a la que debo mis conocimientos en coagulación y fibrinólisis, con la que he compartido muchas horas de laboratorio, por la paciencia que ha tenido, sus siempre acertados comentarios que han hecho posible este trabajo y sobre todo por su amistad.

A la Prof. D^a Ana Villegas y a todo el personal de Laboratorio de Hematología del Hospital Universitario San Carlos, de forma especial a los que integran la Sección de Coagulación, por su ayuda inestimable.

A la Prof. D^a Cristina Martínez Calvo de la Facultad de Ciencias Biológicas por su ayuda en el estudio estadístico de este trabajo.

Al Prof. D. Elpidio Calvo Manuel, codirector de esta Tesis, por el apoyo que me ha dado tanto científico como humano y familiar.

A todas las personas que directa o indirectamente han hecho posible la realización de este trabajo.

INDICE

1.	JUSTIFICACION DEL TRABAJO	1
2.	REVISION BIBLIOGRAFICA	
	FIBRINOLISIS INTRODUCCION	3
2.1	PLASMINOGENO	6
	2.1.1 Sintesis, metabolismo, y concentración plasmática	8
	2.1.2 Determinación	9
2.2	SISTEMA CONTACTO EN LA FIBRINOLISIS	11
	2.2.1 Mecanismo de activación de la fibrinólisis por el contacto	16
	2.2.2 Activación del sistema contacto	18
2.3	ACTIVADOR TISULAR DEL PLASMINOGENO (t-PA)	19
2.4	DIGESTION DEL FIBRINOGENO POR LA PLASMINA	22
2.5	DIGESTION DE LA FIBRINA POR LA PLASMINA	25
2.6	MECANISMO DE LA TROMBOLISIS	
	2.6.1 Hipótesis de Sherry	26
	2.6.2 Hipótesis de Ambrus Markus	27
	2.6.3 Hipótesis de Sharp, Chesterman y Allington	28
2.7	INHIBIDORES DE LA FIBRINOLISIS	
	2.7.1 Alfa ₂ Antiplasmina	30
	2.7.2 Alfa ₂ Macroglobulina	31
	2.7.3 Glicoproteína rica en histidina	33
2.8	INHIBIDORES DEL ACTIVADOR TISULAR DEL PLASMINOGENO	38

INDICE

2.9 FIBRINOLISIS EN LA CIRROSIS	
HEPATICA	40
3. MATERIAL Y METODOS	
3.1 GRUPOS DE TRABAJO	46
3.2 TECNICAS DE FIBRINOLISIS	47
3.3 ANALISIS ESTADISTICO	52
4. RESULTADOS	
4.1 TABLAS GLOBALES DE RESULTADOS	54
4.2 RESULTADOS DETALLADOS DE LOS DISTINTOS PARAMETROS	61
5. DISCUSION Y COMENTARIOS	113
6. CONCLUSIONES	142
7. BIBLIOGRAFIA	146

ABREVIATURAS

Cirrosis hepática	C.H.
Area de lisis del plasma	A.L.P.
Area de lisis de euglobulinas	A.L.Eu
Precalicroina	P.K.
Glicoproteína rica en histidina	HRGP
Activador tisular del plasminógeno (Antigénico)	t-PA Ag
Inhibidor del Activador tisular del plasminógeno (Antigénico)	PAI ₁ Ag
Alfa ₂ Antiplasmina	Alfa ₂ AP
Kininógeno de alto peso molecular	HMWK
Punto de unión de la lisina	LBS
Postéstasis, post-oclusión venosa	PE
Coagulación intravascular diseminada	CID
Plasminógeno	Plnogeno
Actividad fibrinolítica por kaolín	Act F.K.

1.JUSTIFICACION DEL TRABAJO

1. JUSTIFICACION DEL TRABAJO

Se conoce desde hace tiempo que en las cirrosis hepáticas existen alteraciones en la coagulación sanguínea debido a que la mayoría de los factores que intervienen en ella son proteínas de síntesis y/o degradación hepática. En este sentido es conocido que no todos los enfermos con el mismo grado de insuficiencia hepática presentan las mismas alteraciones analíticas y que estas alteraciones no explican por sí solas la existencia o no de fenómenos hemorrágicos. Por otra parte, también en la fibrinólisis intervienen proteínas de síntesis y/o degradación hepática y cuya importancia deriva de un complejo sistema de activadores e inhibidores que mantienen un equilibrio que se rompe cuando existen alteraciones en la síntesis o el catabolismo como ocurre en la cirrosis hepática.

El objetivo de este trabajo se centra concretamente en conocer cual es balance de la fibrinólisis en pacientes diagnosticados de cirrosis hepática en situación estable, es decir, que no hubieran presentado fenómenos hemorrágicos en la semana previa y que tampoco hubieran recibido sangre ni hemoderivados que pudieran alterar los datos analíticos estudiados. Para ello se ha determinado el plaminógeno, pruebas globales de fibrinólisis como son la lisis del plasma en placa de fibrina y la lisis de euglobulinas en placa de fibrina, activadores como es el t-PA, la actividad fibrinolítica por kaolín que mide la activación fibrinolítica de la vía intrínseca y precalicreína, e inhibidores de la fibrinólisis como son la alfa₂ antiplasmina, la glicoproteína rica en histidina (HRGP), el C-1 inhibidor antigénico

y el inhibidor del activador tisular del plasminógeno (PAI-1). Además se ha determinado también la antitrombina III que aunque no interviene en la fibrinólisis se ha observado siempre descendida en la cirrosis hepática. Todas estas determinaciones se han realizado basalmente y tras comprensión venosa potenciando así la salida de activadores.

Además estas determinaciones se han realizado tanto basal como tras comprensión venosa a un grupo de personas sanas.

Con todos estos datos hemos analizado la situación de las fibrinólisis en estos enfermos en comparación con una población control, viendo cual o cuales de los parámetros se encuentran alterados. También hemos intentado establecer si alguno de ellos tiene relación o no con el grado de insuficiencia hepática en cuyo caso se podría utilizar como un marcador biológico más en la graduación de la severidad de la cirrosis hepática.

Este trabajo y estos resultados se presentan con objeto de obtener el grado de Doctor.

2.REVISION BIBLIOGRAFICA

2. FIBRINOLISIS: INTRODUCCION

La fibrinólisis es un mecanismo fisiológico que regula la disolución enzimática del coágulo de fibrina, manteniendo la fluidez sanguínea en el lecho vascular.

Son cuatro los principales componentes del sistema fibrinolítico: Plasminógeno, plasmina, activadores e inhibidores. El componente clave del sistema fibrinolítico es el plasminógeno, glicoproteína de cadena única con un Pm de 90.000 daltons. El plasminógeno se encuentra en todos los fluidos orgánicos pero principalmente en el lecho vascular. Bajo la influencia de varios activadores esta proenzima se convierte en plasmina, una proteasa con dos cadenas polipeptídicas unidas por puentes disulfuro. La plasmina es una serín proteasa y su principal objetivo es la disolución de fibrina aunque también es capaz de "digerir" otros factores de la coagulación como son el fibrinógeno, F V, F VIII, F XIII y también F VW. Cuando la plasmina actúa sobre fibrinógeno-fibrina se forman distintos fragmentos llamados PDF (Productos de degradación del fibrinógeno/fibrina). Una concentración alta de PDF altera la función plaquetaria e inhibe a la trombina, es decir que los PDF causan una polimerización defectuosa de los monómeros de fibrina por lo que resulta un coágulo que es más fácilmente soluble por la plasmina.

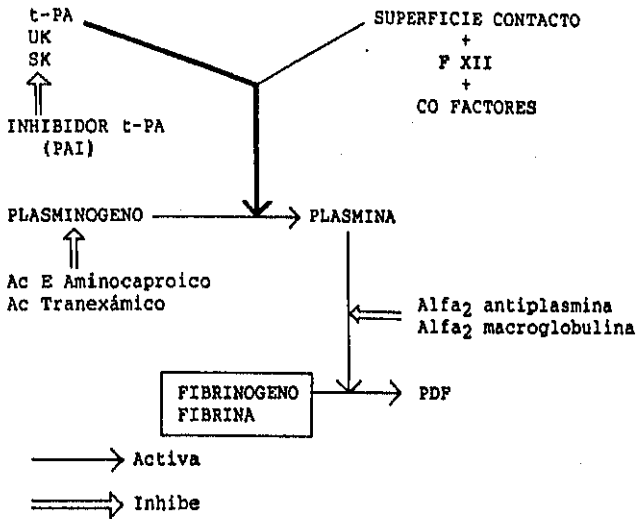
Los activadores del plasminógeno que convierten el plasminógeno en plasmina se pueden considerar de tres tipos: Activadores extrínsecos, intrínsecos y exógenos.

Activadores extrínsecos: El más importante de los activadores tisulares del plasminógeno es de origen endotelial, por lo que se le ha llamado activador tisular del plasminógeno (t-PA). El t-PA es el principal responsable de la actividad fibrinolítica del plasma. La salida de t-PA al torrente circulatorio se ve estimulada por distintos mecanismos como la oclusión venosa, la actividad física, el stress o drogas vasoactivas, como la adrenalina, la vasopresina y el DDAVP. Son varios los métodos que se utilizan para su determinación y la concentración en plasma es baja, aproximadamente 1,5 ng/ml pero en condiciones normales su respuesta a un estímulo como la oclusión venosa es aumentando hasta 25-60 ng/ml. La Urokinasa es otro de los activadores extrínsecos. Se sintetiza generalmente en el riñón, pero también puede sintetizarse en otras células epiteliales. Es una serinproteasa y tiene dos tipos de molécula, una con Pm de 50.000 daltons y otra de Pm 30.000 daltons. No tiene afinidad por la fibrina a diferencia con el t-PA y no está presente en el torrente circulatorio.

Activadores intrínsecos: Se han purificado diversos activadores intrínsecos algunos de los cuales están involucrados en la fase contacto del sistema de coagulación. Se ha visto que el F XII activado con kaolín y fragmentos de F XII solos pueden activar al plasminógeno directamente. El papel fisiológico de los activadores intrínsecos es incierto.

El tercer grupo de activadores son los activadores exógenos. Está compuesto principalmente por proteínas del estreptococo. El más común es la estreptoquinasa, aislada del estreptococo beta hemolítico, que forma un complejo equimo-

lar con el plasminógeno-plasmina y actúa como activador del plasminógeno. Este ha sido hasta el momento el activador exógeno más utilizado en terapia trombolítica, aunque actualmente se está utilizando ya el t-PA recombinante en tratamientos trombolíticos del infarto agudo de miocardio.



Inhibidores de la fibrinólisis.

El plasma tiene una serie de inhibidores que regulan la formación de enzimas proleolíticas formados durante la activación del sistema fibrinolítico. Son dos los principales inhibidores, la alfa₂ antiplasmina y alfa₂ macroglobulina. La alfa₂ antiplasmina es el principal inhibi-

dor, es de síntesis hepática y con gran afinidad por la plasmina, quedando inactivo de forma irreversible al formarse complejos plasmina-inhibidor de la plasmina.

En presencia de fibrina, la unión plasmina-alfa₂ antiplasmina es unas cien veces más lenta ya que existe una competición entre fibrina y alfa₂ antiplasmina por los sitios de unión a la plasmina. La deficiencia de alfa₂ antiplasmina, se refleja como un incremento de la tendencia hemorrágica. La alfa₂ macroglobulina también se une a la plasmina pero mucho más lentamente que la alfa₂ antiplasmina y solo cuando la concentración de ésta es insuficiente.

Recientemente se ha descrito un inhibidor rápido del activador tisular del plasminógeno, el PAI-1. Se sintetiza en las células endoteliales y está presente en plasma y plaquetas, forma complejos con la UK y t-PA y parece ser de vital importancia en la regulación del sistema fibrinolítico, un aumento de PAI se ha observado en personas con enfermedades trombóticas.

2.1 PLASMINOGENO

Es una glicoproteína de 90.000 daltons de Pm que contiene 22 puentes disulfuros (170), 791 aminoácidos residuales y cerca de 2% de carbohidratos. No se conoce exactamente cual es la función de los carbohidratos, pero si se ha visto que contribuyen de forma significativa a la heterogeneidad electroforética de la molécula (172). En 1972 Wallen y Wiman (190) demostraron que el plasminógeno puede

separarse en dos grupos con formas moleculares distintas, un grupo con ácido glutámico en el NH₂ terminal y punto isoelectrico entre pH 6 y 6.6 y un segundo grupo con lisina o valina en el NH₂ terminal y punto isoelectrico entre pH 7,3 y 8,8. Parece ser que el plasminogeno con ácido glutámico en el NH₂ terminal está presente normalmente en el torrente circulatorio, mientras que las formas con lisina o valina en el NH₂ terminal son el resultado de la degradación proteolítica parcial del glu-plasminogeno nativo.

El Glu y Lis plasminogeno difieren en sus propiedades funcionales y químicas, además de en su peso molecular. La infusión del Glu-plasminogeno tiene una vida media superior que Lis-plasminogeno (36), siendo el Lis activado más rápidamente y también es más fácilmente adsorbido a la fibrina (183).

La secuencia completa de aminoácidos es bien conocida (171, 196). La molécula tiene tres zonas distintas de gran relevancia en el proceso de activación: Péptido preactivación (residuos 1-76); Cadena A (pesada) contiene cinco "bucles" (residuos 77-560) y Cadena B (ligera) con los residuos 561-790, que son los que contienen el sitio activo de las plasmina.

Los bucles contienen los sitios de unión de la lisina (Lysine binding sites - LBS) en los cuales compiten, en situación fisiológica, la fibrina y la alfa₂ antiplasmina para unirse a ellos (Fig. 1)

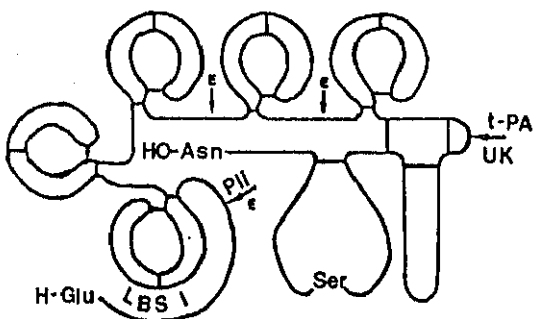


FIGURA 1: Modelo de Glu-plasminógeno con el sitio de unión de la Lisina (LBS). Se indica los puntos de rotura por la plasmina y elastasa.

2.1.1 Síntesis, Metabolismo y Niveles de plasminógeno:

En 1984 Malinowski y Cols (122) clonaron el DNA correspondiente a los aminoácidos 272-790 de la molécula. El gen del plasminógeno se encuentra en el cromosoma 6 (161) y su síntesis parece ser hepática en la especie humana; la vida media plasmática del plasminógeno total es de $2,21 \pm 0,29$ días y se calculó que el catabolismo era $4,8 \pm 1,2$ mg/Kg/día. El Glu-plasminógeno tiene una vida media de 2-2,25 días y el Lis-plasminógeno 0,9 días (36). Los

niveles de plasminógeno varían ampliamente según la técnica utilizada en su determinación (154).

Se encuentran niveles bajos en el recién nacido; en caso de prematuros los niveles de plasminógeno son muy bajos y se cree puede ser un factor importante en el desarrollo de la enfermedad de la membrana hialina. También se encuentran niveles bajos en cirrosis hepáticas avanzadas, y en la coagulación intravascular diseminada. Un descenso brusco y rápido se observa en el tratamiento trombolítico. Parece ser que actúa como reactante de fase aguda, ya que hay niveles altos en estado postraumáticos, en los postquirúrgicos, durante las infecciones agudas y postinfarto de miocardio (109). No se observa diferencia intersexos y no hay variaciones diurnas (17, 163). Los niveles de plasminógeno aumentan en los últimos meses de embarazo (15) y en mujeres en tratamiento con anticonceptivos que contengan estrógenos (109).

2.1.2 Determinación de Plasminógeno

La determinación del plasminógeno puede realizarse de forma indirecta, midiendo la actividad plasmínica después de activarlo con urokinasa o estreptoquinasa o de forma directa midiéndolo cuantitativamente mediante técnicas inmunológicas.

Se han utilizado distintos sustratos para medir la actividad plasmínica, como son la caseína, la fibrina y sustratos sintéticos tipo ester de arginina y lisina. En los últimos años el método más aceptado es la utilización

de sustratos cromogénicos (171, 66).

Sustrato de caseína: La determinación de plasminógeno por caseína se basa en que la plasmina actúa sobre la caseína y libera tirosina, la cual puede ser medida espectrofotométricamente. El método más utilizado emplea ácido para neutralizar los inhibidores y estreptoquinasa como activador del plasminógeno (158, 1)

Sustrato fibrina: Se han descrito el tiempo de lisis del coágulo (12) y las placas de fibrina (20). Es importante que se utilice fibrina libre de plasminógeno como sustrato. Haverkate y Timan 1976 (81) describieron el método para preparar fibrinógeno libre de plasminógeno. Actualmente es posible contar con fibrinógeno comercial libre de plasminógeno.

Sustratos cromogénicos: El sustrato cromogénico HD valil-L-Leucil-L-Lisina-p-nitroanilida (S2251, Kabi) es relativamente sensible a las plasmina y al plasminógeno activado con estreptoquinasa y menos sensitivo a otras proteasas. La plasmina y el plasminógeno activado con estreptoquinasa libera el cromóforo p-nitroanilina del S2251 y la reacción puede seguirse midiendo la densidad óptica a 405 nm en un espectrofotómetro. La constante cinética de la reacción de plasmina con S2251 y del plasminógeno activado con estreptoquinasa con S2251 es distinta, por lo que sugiere que son distintas enzimas (25).

Determinaciones inmunoquímicas: Los inhibidores de las plasmina no interfieren con las determinaciones del plasmí-

nógeno cuando se usan métodos inmunoquímicos. Se han utilizado varios métodos, inmunodifusión radial (123) electroinmunodifusión (110) y radioinmunoensayo (154). El inconveniente de estos métodos es que refleja la cantidad de antígeno presente por lo que no da la actividad biológica y puede sobreestimarse el plasminógeno activable presente.

Determinaciones funcionales de plasminógeno: El plasminógeno puede evaluarse funcionalmente. Se han descrito un pequeño número de variantes funcionales anormales, por lo que podría menospreciarse la formación de plasmina (197).

2.2 SISTEMA CONTACTO EN LA FIBRINOLISIS

El contacto de la sangre o plasma con una variedad de materiales, implica la activación del sistema de la coagulación intrínseca, vía factor XII, también conocido como F. Hageman (156). En los primeros pasos de esta activación además del FXII se involucra la precalicreína y kininogeno de alto peso molecular (HMWK). A todos estos factores se les denomina de forma colectiva como "sistema contacto" y al proceso como activación temprana del sistema contacto. Con la activación de la vía contacto se forman enzimas activas del FXII y precalicreína y la liberación de una hormona local, la bradiquinina. También se ha identificado en los últimos años enzimas tisulares capaces de activarse por el sistema contacto. Varios procesos, además de la coagulación, son activados por la vía contacto, como son la fibrinólisis, el complemento, el sistema renina-angiotensina y la formación de kininas, (Fig. 2)

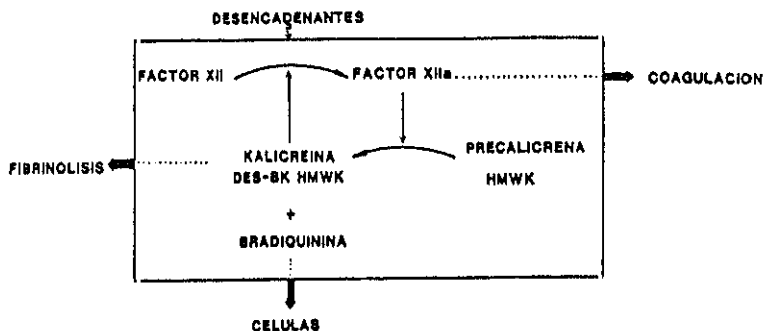


FIGURA 2: Esquema Activación Temprana Contacto: La coagulación puede activarse vía FXIIa; la fibrinólisis principalmente vía kalicreína.

La participación del sistema contacto en los procesos hemostáticos está entremezclado. Se conoce bien su participación en la coagulación y fibrinólisis in vitro. Parece ser que no tiene grandes efectos sobre las plaquetas (94).

Originalmente se observó que el FXII intervenía en la coagulación in vitro. Posteriormente se observó a enfermos

con déficit congénito del FXII (156), PK (79, 198) y HMK (188), creyendo que el déficit observado in vitro de estos factores iba a predisponerles a diátesis hemorrágicas, pero no fué así, ya que en la mayoría de ellos estaban libres de clínica hemorrágica y sólo en algunos casos de déficit de FXII (71) se observaron fenómenos trombóticos, por lo que un déficit de dicho factor tampoco protege frente a trombosis. El descenso aislado de FXI (160) factor de coagulación activado por la vía contacto y por lo tanto considerado un "Factor contacto" origina una alteración de la coagulación in vitro con expresión clínica de diátesis hemorrágica incompleta.

La última enzima fibrinolítica, la plasmina, puede formarse del zimogeno circulante plasminógeno por tres vías en las que intervienen (pro) activadores del plasminógeno (101), una de estas vías corresponde a la activación contacto (vía b) Fig. 3. En la vía extrínseca (vía a) (96), participa al activador tisular del plasminógeno (t-PA), enzima que es liberada de forma constante a la circulación desde las células endoteliales. Es característico la liberación de t-PA como respuesta aguda al estímulo local y sistémico.

El t-PA puede estimularse además de por otros enzimas, por la bradiquinina, por lo que hay una unión entre el sistema contacto y la fibrinólisis extrínseca.

Dos vías (b y c) conocidas como vías intrínsecas (96) intervienen en la activación de los proactivadores del plasminógeno en sangre. Una de estas vías es la prourokina-

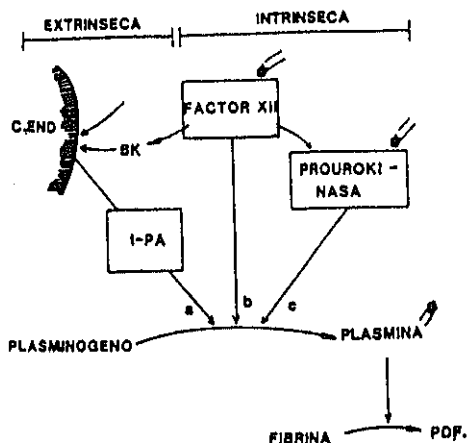


FIGURA 3:

sa plasmática, que puede activarse independientemente de FXII y PK (101). En la vía de la Pro-UK existen datos que sugieren que ésta es transformada en UK por la plasmina (generada inicialmente por el t-PA). La activación de Pro-UK en urokinasa se produce lentamente, quizá por estar bloqueados los LBS de la plasmina sobre la fibrina (178, 33). La UK así generada sobre la fibrina parece activar el paso de plasminógeno a plasmina de forma tan efectiva como lo hace el t-PA.

En sistemas experimentales se ha comprobado que la Pro-UK degrada mucho más eficazmente los trombos que la UK

cuando se inyecta de forma endovenosa y al contrario de la UK no produce apenas alteración en la coagulación sistémica (77, 200, 35, 117). En el hombre la vida media de la Pro-UK es de 5-6 minutos, ligeramente inferior a la de la UK inyectada en vena, que es de 9 minutos.

La Pro-UK, a diferencia de lo que ocurre con la UK no forma complejos con el inhibidor del t-PA (PAI) (200, 33) aunque la activación sea también vía contacto. Existe la posibilidad de activación retrógrada por la plasmina. In vitro se observó que la plasmina puede activar la prourokinasa y al FXII y generar bradiquinina del HMWK. Se comprueba, por lo tanto que todos los procesos de activación del plasminógeno están interrelacionados. Esto puede ser importante en presencia de fibrina, durante la fibrinólisis, cuando el tiempo de vida de plasmina unida a fibrina es mayor que la plasmina libre, la cual es rápidamente neutralizada por la alfa₂ antiplasmina.

Otra relación interesante entre el sistema contacto y fibrinólisis se ha visto a raíz del análisis del DNA del FXII (38), donde se ha demostrado una amplia secuencia homóloga entre t-PA y FXII.

Los dominios de los bucles encontrados anteriormente en protrombina, plasminógeno, t-PA y urokinasa también se han identificado en el FXII. Como los dominios son los que participan en la unión interproteínas, ésto ha significado un hallazgo importante en la fibrinólisis. El bucle 2 en el t-PA está relacionado con la estimulación de la acción del t-PA por la fibrina y contribuye a la unión de fibrina-t-

PA. Parece ser que la secuencia de aminoácidos y nucleótidos del bucle del FXII es más parecido a la secuencia de aminoácidos y nucleótidos del segundo bucle del t-PA que del primero del t-PA, debido a estas secuencias homólogas es por lo que se cree en la actualidad que el FXII se relaciona más con los activadores del plasminógeno que con los factores de coagulación (149, 150).

2.2.1 MECANISMOS DE ACTIVACION DE LA FIBRINOLISIS POR EL SISTEMA CONTACTO.

Durante la última década parecía evidente que el FXII y FXIIa y kaliceína eran capaces de activar directamente el paso de plasminógeno a plasmina (27, 69, 124). Sin embargo, cuando se han comparado cuidadosamente sus concentraciones en plasma se ha visto que la contribución de estos componentes en la activación del activador del plasminógeno es pequeña, tan solo alrededor del 15% (100). En línea con estos hallazgos se ha visto que la actividad específica de estos componentes como activadores del plasminógeno es unas cuatro veces inferior que la urokinasa o al activador tisular del plasminógeno (t-PA), por lo que se considera que el papel del FXII, el FXIIa y la kaliceína como activadores directos del plasminógeno es de poca importancia.

Efectos indirectos del FXIIa y PK.

La activación de los activadores del plasminógeno dependientes del FXII ocurre directamente vía kaliceína, no vía FXIIa. Se ha visto que el activador del plasminógeno

(47, 98) puede restablecerse en un plasma deficiente en FXII añadiendo kalibreina activa, pero no se restablece al añadir FXII a un plasma deficiente en PK (aunque bajas concentraciones de F XIIa son efectivas para corregir los defectos fibrinolíticos en un plasma deficiente de F. Hageman) (Fig. 4).

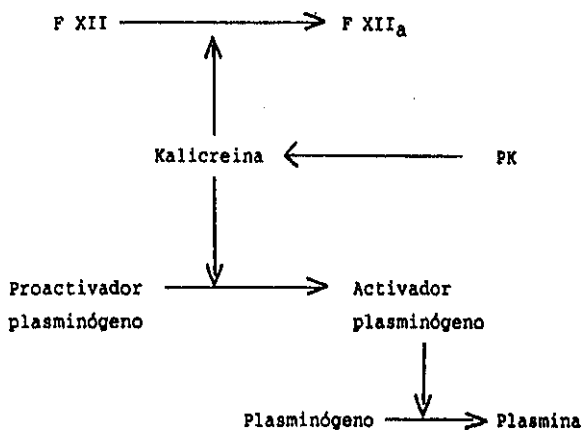


FIGURA 4: Activación de la fibrinólisis por el sistema contacto.

Experimentos iniciales en (1976 y 1978) (92, 93, 124) sugirieron que el FXI podía tener un papel importante en el sistema contacto, pero posteriormente Kluff y Miles (98, 47) demostraron que en un plasma deficiente en FXI podía

generarse una cantidad normal de activador del plasminógeno FXII dependiente por activación del contacto.

2.2.2 ACTIVACION DEL SISTEMA CONTACTO

La activación del sistema contacto y posterior fibrinólisis puede potenciarse por dos mecanismos cooperadores. El contacto con superficies cargadas negativamente y la rotura enzimática. La carga negativa es importante (26, 127) aunque no suficiente para que un componente de una superficie sea el desencadenante del sistema contacto. Existen otros requerimientos aún por determinar (74, 85). La mayoría de compuestos orgánicos e inorgánicos (11, 26, 173), se sabe que actúan como desencadenantes en la activación de componentes purificados, en la liberación de bradiquinina y en la activación de kaliceína *in vitro*. Estos incluyen estructuras fisiológicas y patofisiológicas como son la membrana basal vascular, el urato sódico microcristalizado (26) el sulfato de colesterol (169), la heparina, el condroitin sulfato E liberado después de la activación de los mastocitos (85). También se ha descrito que las plaquetas activadas por el colágeno promueven la rotura proteolítica del FXII en presencia de HMWK y kaliceína. Es posible que la superficie de las plaquetas, después de la activación, tenga zonas con cargas negativas, aunque no se ha excluido la liberación de factores enzimáticos. El potencial de las plaquetas en la activación contacto es de especial interés para la fibrinólisis por que son las primeras en incorporarse al trombo. No todos estos desencadenantes tienen la misma importancia y son igual de efectivos. *In vitro* se ha observado que el principal desencade-

nante para la activación de la fibrinólisis vía FXII es el kaolin, el celite y la bentonita (141). Iatridis y Fergusson desarrollaron un test para fibrinólisis, test de activación con kaolin o test de generación de plasminoplasmina o activador de plasminógeno (88). El kaolin es uno de los dos desencadenantes usados predominantemente para estudios de fibrinólisis in vitro.

2.3 ACTIVADOR TISULAR DEL PLASMINÓGENO (t-PA)

El t-PA es una glicoproteína de un peso molecular de 65.000 daltons presente en muchos tejidos y secreciones, así como en células tumorales (159). Sin embargo, el sistema endotelial vascular representa el principal componente de producción y liberación hacia la sangre.

El t-PA intracelular parece encontrarse en una forma inmadura, conteniendo 562 residuos aminoácidos, con señales hidrofóbicas e hidrofílicas que serían las responsables de facilitar su paso por la membrana celular. Sin embargo el t-PA circulante posee 35 residuos menos y está en forma monocatenaria (34).

El t-PA secretado posee 35 residuos cisteína y por ello puede estar estabilizado por 17 puentes disulfuro (34). Esta forma monocatenaria es convertida en bicatenaria sobre la fibrina por acción de las plasmina y parece ser que ésta es la forma en la que interviene en la fibrinólisis fisiológica.

En la cadena ligera de la forma bicatenaria -28126

daltons- es donde reside el centro activo enzimático, mientras que el centro orientador reside en la cadena pesada -30.883 daltons- en una zona con homología estructural con los LBS (sitios de unión de la lisina) del plasminógeno y con los centros orientadores de la protrombina, de la proteína C, de la urokinasa y de la haptoglobina.

El t-PA es un activador del plasminógeno relativamente lento en sistemas purificados, pero, debido a su gran afinidad por la fibrina, en presencia de ésta se ve favorecida la unión t-PA-plasminógeno, con la consiguiente generación de plasmina preservada de la acción de la alfa₂ antiplasmina.

Gracias a esta propiedad, el t-PA produce una potente fibrinólisis y trombolisis, sin degradación importante del fibrinógeno ni descenso del plasminógeno o de la alfa₂ antiplasmina.

Se ha observado que el t-PA es liberado desde el endotelio vascular a la sangre tras el ejercicio violento, la oclusión venosa, el estasis venoso o la administración de ácido nicotínico o DDAVP (1 deamino 8D arginina vasopresina), derivado sintético de la vasopresina. Cash en 1983 sugería la existencia de la hormona liberadora del activador del plasminógeno, PARH, que controlaría la liberación de t-PA de las células endoteliales por regulación neurohormonal. Sin embargo, esta hormona no se identificó en extractos de hipófisis o hipotálamos bovinos (23).

El PAF actúa estimulando la liberación por el endotelio

de t-PA guardando una relación dosis respuesta. Esta acción puede ser inhibida por la mecaprina (inhibidor de la fosfolipasa) o por el dihidromarético (inhibidor de la lipooxigenasa). Todo ello configura al PAF aceter como un mediador en la reacción de secreción de t-PA (54).

Otro activador del t-PA es la proteína C activada, ya que libera t-PA por dos mecanismos. El primero es al romper la unión del complejo t-PA-PAI₁, quedando libre t-PA. El segundo es a través de la unión lenta de la proteína Ca con otro inhibidor natural del t-PA presente también en el plasma, el PAI-3. Por ello, la proteína Ca actúa como activadora de la fibrinólisis (131).

La vida media del t-PA ha sido calculada en un modelo experimental en conejos siendo de unos 2,4 minutos, aproximadamente igual que en el humano (128). El t-PA inyectado es metabolizado en el hígado y eliminado en forma degradada por el riñón durante aproximadamente 24 horas.

La activación del plasminógeno por el t-PA en sistemas purificados sigue una cinética de Michaelis-Menten con una constante aproximada de $K_m = 19 \mu M$, con una tasa catalítica constante de $0,2S^{-1}$, lo que demuestra afectar muy levemente al plasminógeno plasmático debido a la baja concentración de t-PA presente en el plasma ($1,9 \pm 1,1 \text{ ng/ml}$) (160). Sin embargo, la activación del plasminógeno en presencia de fibrina es intensamente acelerada (87). En estas condiciones la reacción de activación sigue así mismo una cinética tipo Michaelis con una $K_m = 0,02 \mu M$ y una tasa catalítica constante de $0,2S^{-1}$ (87), si bien el análisis

cinético en presencia de fibrina es complicado debido a que la fibrina actúa estimulando la etapa de activación y a la vez como sustrato de la enzima formada, la plasmina.

El t-PA puede ser dosificado por distintos métodos. Los métodos funcionales basan su acción en valorar la generación de plasmina por t-PA en presencia de concentraciones fijas de plasminógeno y de fibrina. La plasmina generada se cuantifica a través de la degradación de ésta sobre un sustrato cromogénico específico (54, 185). También puede ser cuantificado inmunológicamente detectando de esta forma el t-PA libre y el t-PA unido al inhibidor de t-PA (PAI) (160).

2.4 DIGESTION DEL FIBRINOGENO POR LA PLASMINA

Nussenzweig y Cols describieron por primera vez la digestión del fibrinógeno por la plasmina (144). Separaron cinco fracciones denominadas A, B, C, D y E. Los fragmentos D y E se describieron como resistentes a la plasmina, con un Pm de 83.000 y 33.000 daltons respectivamente. El fragmento D representa un 50% del fibrinógeno original y el fragmento E un 20%. Estudios posteriores caracterizaron de forma secuencial la digestión del fibrinógeno por la plasmina. La degradación del fibrinógeno empieza por el extremo C terminal de la cadena alfa y el N-terminal de la cadena beta (48, 70). Esta acción produce unos péptidos con un Pm aproximado de 40.000 daltons, dejando la porción C terminal de la cadena alfa unida por puentes disulfuro a la cadena beta y gamma. El segundo paso consiste en la liberación de péptidos de unos 60.000 daltons de la zona N-terminal de la

cadena beta (107, 138). El termino fragmento X se usó para describir el fragmento que queda del fibrinógeno después de éste paso inicial. El Pm del fragmento X varía dependiendo del grado de proteolisis del N-terminal de la cadena beta. El tercer paso es una rotura asimétrica de las tres cadenas polipeptídicas por un lado y la rotura simétrica del fragmento X. Esta lisis origina el fragmento D y la porción que queda de fibrinógeno, fragmento Y. La posterior lisis del fragmento Y origina otro fragmento D junto con una porción de la molécula original de fibrinógeno unida por puentes disulfuro y denominada fragmento E (137). Los fragmento D son tres cadenas polipeptídicas que quedan de las cadenas alfa, beta y gamma del fibrinógeno, mientras que el fragmento E es un dímero formado por dos sub-unidades unidas por puentes disulfuro cada una de las cuales a su vez está compuesta por tres cadenas polipeptídicas. (Fig. 5)

Después de conocer la secuencia primaria del fibrinógeno se investigó para localizar los puntos de ataque de la plasmina en las distintas cadenas polipeptídicas. La degradación temprana por la plasmina en el C terminal de la cadena alfa parece estar localizado entre Lis208 - Met209, el Lis221 - Ser222 o el Lis232 - Ala233. Los sitios de rotura pueden ser simultáneos o de forma secuencial. Otro lugar de rotura por la plasmina es el N-terminal de la cadena beta. Se han identificado dos puntos Arg42 - Ala43 y Lis53 - Lis54. La determinación por RIA del péptido 1-42 de la cadena beta se ha utilizado como una forma de determinar la fibrinolisis in vivo (107). La formación de fragmento X e Y con liberación de fragmentos D requiere al menos la rotura de tres uniones peptídicas de la cadena alfa, beta y gamma, (192).

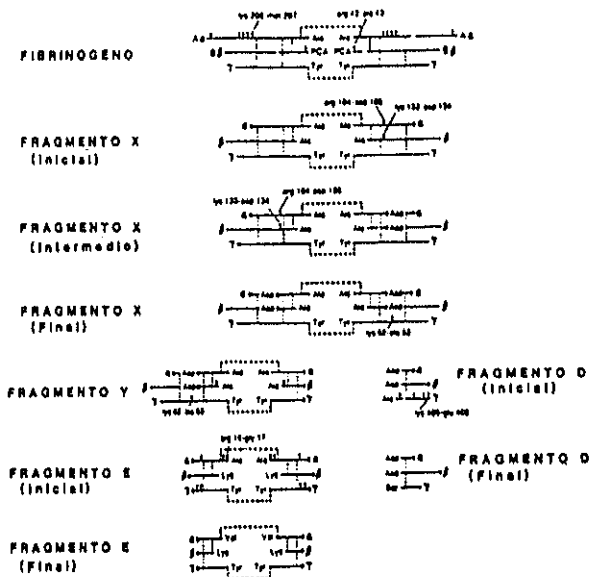


FIGURA 5: Degradación del fibrinógeno por la plasmina según MARDER 1982. Las líneas de puntos indican parte de los puentes disulfuro. Las flechas pequeñas señalan los puntos de escisión más importantes.

2.5 DIGESTION DE LA FIBRINA POR LA PLASMINA

Cuando la trombina rompe el fibrinopéptido A y B del fibrinógeno se forman los monómeros de fibrina y hay una polimerización espontánea con uniones de hidrógeno y calcio. Posteriormente la fibrina se estabiliza en presencia del FXIIIa y calcio. Los enlaces covalentes introducidos por el FXIIIa de forma inicial ocurren entre las cadenas gamma formándose dímeros de cadena gamma luego más lentamente entre cadenas alfa para formar polímeros de cadena alfa. La formación de polímeros de cadena alfa de alto peso molecular es lo que da un cierto grado de resistencia del coágulo estable de fibrina a la plasmina. Las uniones de la cadena gamma están cerca del C terminal de la cadena gamma y en la cadena alfa las uniones se realizan en la porción media.

Cuando la plasmina digiere a la fibrina no estabilizada los productos formados son muy similares a los de la digestión de fibrinógeno. La única diferencia es la ausencia de fibrinopéptido A y B de los fragmentos de fibrina. Por el contrario, cuando la plasmina digiere la fibrina estabilizada (entrecruzada), se forma un fragmento unido plasmina - resistente detectado por métodos inmunológicos y electroforéticos. Estos fragmentos son los D dímeros cuyo origen son los fragmentos D de la cadena gamma entrecruzada en el coágulo estable de fibrina. El peso molecular de los D dímeros están en el rango de 63-81.000 daltons. Estudios posteriores demostraron el complejo D dímero E; estudios experimentales sugieren que el complejo D dímero E se encuentra in vivo más frecuentemente que el dímero D. El D

dímero expresa neoantigenicidad al contrario del complejo D dímero E (152, 114). También se han descrito complejos Y-D.

2.6 MECANISMO DE LA TROMBOLISIS

En un sistema purificado, la plasmina es una proteasa de gran agresividad pero inespecífica. In vivo, su actividad está restringida y actúa como una enzima fibrinolítica. La regulación de esta restricción no se entiende completamente pero hay distintas teorías sobre este hecho.

2.6.1 Hipótesis de Sherry

Sherry y Cols proponían un esquema doble para la activación del plasminógeno. Esta teoría (1) ofrece una hipótesis para explicar el mecanismo por el cual la actividad de la plasmina está restringida in vivo. Se sugirió que, en un sistema que contuviera plasma y trombo, el plasminógeno estaría presente en dos fases, una soluble en plasma y otra en gel dentro del trombo. La activación del plasminógeno plasmático no da lugar, en condiciones normales, a la producción de cantidades detectables de plasmina, ya que la plasmina formada es rápidamente inhibida por las antiplasminas. En contraste, la plasmina formada por activación del plasminógeno que se difunde dentro del trombo y que activa el plasminógeno adsorbido en el interior de la fibrina, está íntimamente relacionada con la forma espacial de su sustrato y por tanto, el efecto de los inhibidores se reduce muchísimo. Con la activación del plasminógeno dentro del trombo, resulta la lisis de la fibrina.

Posteriormente la teoría de Sherry de la lisis intrínseca del coágulo, fué rechazada. Algunos autores (45, 59, 82), observaron que el contenido del plasminógeno en plasma y suero era el mismo, por lo que se demostraba que no habría consumo de plasminógeno durante el proceso de coagulación.

Unicamente, se obtuvieron trazas de plasminógeno en coágulo y trombo. Posteriormente Rakoczi (155) investigó la adsorción del plasminógeno a la fibrina en un plasma total usando plasminógeno marcado isotópicamente y demostró que solo un 4% del plasminógeno nativo y un 8% del plasminógeno degradado era específicamente adsorbido a la fibrina, por lo que se confirmó la hipótesis que no todo el plasminógeno se incorporaba a la fibrina durante la coagulación.

Chesterman (42) observa que la cantidad de plasminógeno en el trombo es insuficiente para conseguir una lisis superior al 20% cuando se utiliza SK como activador. Anteriormente otros autores (129) habían demostrado que tras la perfusión de un trombo artificial con activador del plasminógeno en solución salina, éste no era lisado completamente al menos que se añadiera plasminógeno a la solución de perfusión, hecho que se confirmó posteriormente por Chesterman.

2.6.2 Hipótesis de Ambrus Markus

Ambrus y Markus sugieren que el complejo plasmina - inhibidor puede circular en plasma y disociarse en presencia de fibrina porque la plasmina tiene una afinidad mucho mayor para la fibrina que para sus inhibidores (2, 9). De

esta forma se demostró que el substrato específico de la plasmina es la fibrina. De momento esto queda solo como hipótesis, ya que Wiman y Collen (195) para determinar cuando el complejo inicial entre plasmina y antiplasmina puede disociarse en presencia de fibrina, coagularon una mezcla de fibrinógeno, alfa₂ antiplasmina y plasmina con trombina y la incubaron a 37°C. No se evidenció lisis del coagulo después de 24 horas de incubación y concluyeron que los complejos plasmina - antiplasmina no se disocian en presencia de fibrina.

2.6.3 Hipótesis de Sharp, Chesterman y Allington

Por aclarar algunos aspectos de las dos hipótesis previas, Chesterman, Allington y Sharp postularon una tercera hipótesis (37): el activador del plasminógeno circulante es apresado o adsorbido por la fibrina del trombo y el plasminógeno es convertido a plasmina dentro del trombo. En contraposición a la hipótesis de Sherry, ellos proponen que el activador se fija en el trombo y el plasminógeno circula a través de él.

El activador tisular del plasminógeno de corazón de cerdo tiene una fuerte afinidad por la fibrina (183) y también se ha visto que el activador tisular del plasminógeno humano tiene un comportamiento similar. Otros activadores del plasminógeno como son la urokinasa y el complejo plasminógeno-estreptoquinasa no tiene una afinidad específica para la fibrina aunque (42) se observara algo de adsorción de este activador a la fibrina.

A pesar de las hipótesis expuestas anteriormente, los mecanismos de la trombolisis in vivo, no están totalmente aclarados. Wiman y Collen (193) propusieron un modelo molecular para la fibrinólisis fisiológica que ayuda a explicar la acción restringida de la plasmina in vivo. Ellos mantienen que el sistema está regulado a dos niveles: activación del plasminógeno localizado en la superficie de la fibrina y secuestro por acción de la antiplasmina de la plasmina formada en la circulación.

El plasminógeno y en particular el lis-plasminógeno es adsorbido a la fibrina (183, 155), y al contrario de lo que se creía la alfa₂ antiplasmina no influencia esta adsorción. La adsorción del activador del plasminógeno circulante a la fibrina da lugar a la activación del plasminógeno previamente adsorbido.

Uno o más LBS participan en la unión de la alfa₂ antiplasmina a la plasmina y se ha sugerido que los mismos LBS están involucrados en la unión de la plasmina a la fibrina (193). Esto podría efectivamente impedir que la alfa₂ antiplasmina reaccionara con la plasmina en presencia de fibrina. Por otra parte, la plasmina que queda libre tras la digestión de la fibrina, podría ser rápidamente neutralizada por la alfa₂ antiplasmina circulante.

Los últimos avances en el conocimiento del t-PA y su inhibidor rápido (PAI) nos ayuda a entender el mecanismo de la trombolisis. Cuando la plasmina se genera en el trombo, actúa sobre un t-PA de cadena simple para convertirlo en t-PA de doble cadena. La forma de t-PA de doble cadena

reacciona mejor con el plasminógeno y se acelera la formación de plasmina en el entorno del trombo. Fuera del trombo el t-PA de doble cadena es rápidamente inactivado por el PAI (el PAI es menos activo frente al t-PA de cadena simple), por lo tanto la reacción de trombolisis queda limitada al trombo y no sigue extendiéndose fuera de él en la circulación general.

Estas tres clásicas hipótesis sobre el mecanismo de la trombolisis son complementarias y se requieren para entender globalmente dicho proceso.

2.7 INHIBIDORES DE LA FIBRINOLISIS

Para evitar que la activación de enzimas proteolíticas origine una lisis generalizada existe un complejo sistema de antiproteasas. En la sangre estas antiproteasas actúan directamente contra diversos productos proteolíticos cuyo origen no solamente está en el sistema de la coagulación, complemento y sistema kalicreinas.

Genéricamente a estos inhibidores se les conoce como antiplasminas, habiéndose descrito varias con actividad antiplasminica en sistemas purificados. Estas son: alfa₂ antiplasmina, alfa₂ macroglobulina, alfa₁ antitripsina, complejo ATIII-heparina y C₁ inhibidor. Hoy en día se sabe que la de mayor importancia es la alfa₂ antiplasmina (29, 136, 140). La alfa₂ macroglobulina es la responsable de inhibir a la plasmina formada en exceso una vez haya actuado toda la alfa₂ AP presente en plasma. Las otras proteasas son de menor importancia en la inhibición de las plasmina.

2.7.1 Alfa₂ antiplasmina (alfa₂ AP)

Se han utilizado distintos métodos para purificar la alfa₂ AP. Wiman y Collen (194) demostraron que era un polipéptido de cadena sencilla con un peso molecular entre 65-75.000 daltons. En la electroforesis migra con las alfa₂ globulinas. Se conoció la composición de los aminoácidos (135, 194) y se observó inmunquímicamente distinta de las otras antiplasminas.

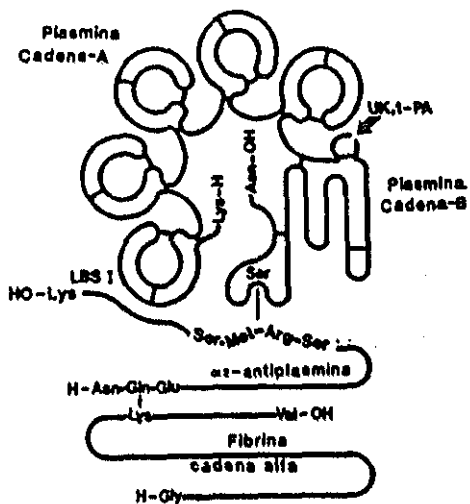


FIGURA 6: Interacción del alfa₂ antiplasmina con el plasminógeno y la cadena alfa de la fibrina.

La alfa₂ AP puede cuantificarse en plasma por distintos métodos como determinaciones enzimáticas basadas en la rápida inhibición de la plasmina (52, 180) o por métodos inmunoquímicos (51, 177) con antisueros específicos.

El nivel normal de alfa₂ AP en plasma es de 70 mg/l o 1 μ mol/l. En sistemas purificados y en plasma la alfa₂ AP forma un complejo estequiométrico 1:1 con la plasmina (194, 29, 139). El complejo formado está desprovisto de actividad proteasa o esterasa y no puede disociarse con agentes desnaturalizantes.

La alfa₂ AP antiplasmina reacciona fuertemente con la cadena B γ debilmente con la cadena pesada A de la plasmina. Tiene gran afinidad por los LBS e interfiere en la unión plasminógeno-fibrina (136). En plasma esta interferencia es mínima y la alfa₂ AP no desplaza al plasminógeno unido a la fibrina (155). La alfa₂ AP reacciona rápidamente y de forma irreversible con la plasmina circulante pero la plasmina formada en la superficie de la fibrina (unida por los LBS) reacciona muy lentamente con la alfa₂ AP. La formación de complejos plasmina-alfa₂ AP puede detectarse por métodos inmunológicos (30, 31). El complejo plasmina alfa₂ AP puede ser un índice importante de la fibrinólisis in vivo (31).

La alfa₂ AP se ha visto que es el inhibidor de la plasmina que más desciende en la coagulación intravascular diseminada (5). También está disminuida, en menor grado, en la insuficiencia hepática severa, pero es normal en enfermedades renales y problemas cardiovasculares.

En tratamiento tómbolíticos con estreptoquinasa hay un descenso importante de la alfa₂ AP si se mide por métodos enzimáticos (186, 180). La alfa₂ AP puede determinarse por métodos funcionales o inmunológicos. La determinación funcional es un test amidolítico de plasmina residual, al añadir plasmina en exceso al plasma. El uso de sustratos cromogénicos (S2251-Kabi) con un tiempo corto de reacción es el más usado para la determinación de alfa₂ AP. Las determinaciones con kits comerciales contienen el sustrato plasmina, y plasma humano normal. La concentración de alfa₂ AP se calcula según una curva de referencia preparada con diluciones sucesivas de plasma normal (66).

Por métodos inmunológicos también puede determinarse cuantitativamente, ya sea por técnicas de inmunodifusión radial, electroinmunodifusión o radioinmunoensayo.

2.7.2 Alfa₂ Macroglobulina.

Es una glicoproteína de 725.000 daltons de peso molecular (90). Esta compuesta por dos moléculas unidas por enlaces no covalentes. Cada mitad de la molécula está compuesta de dos cadenas de Pm 185.000 daltons unidas por puentes disulfuro.

La alfa₂ macroglobulina es capaz de unirse a varias proteasas como tripsina, quimiotripsina, trombina, kallicreina y elastasa, además de la plasmina. La unión alfa₂ macroglobulina a las proteasas es un proceso irreversible. Después de unirse, éstas retienen la posibilidad de actuar con sustratos de bajo peso molecular pero no con los de

alto peso molecular. Los complejos alfa₂ macroglobulina-proteasa son rápidamente aclarados de la circulación por el sistema mononuclear fagocítico.

Los niveles de alfa₂ macroglobulina descienden con la edad y son ligeramente superiores en mujeres que en hombres. Se encuentran valores elevados en el síndrome nefrótico y en cirrosis hepática. En los tratamientos trombolíticos con estreptoquinasa hay un descenso de la alfa₂ macroglobulina que puede persistir varios días después de suspender el tratamiento (142, 8).

2.7.3 Glicoproteína rica en histidina (HRGP)

La HRGP es una proteína no enzimática que se aisló del plasma en 1972 (80, 83) y posteriormente de las plaquetas (115). Es probable que sea sintetizada en el hígado. La molécula consta de una cadena simple polipeptídica con un peso molecular de 75.000 daltons incluyendo 14% de carbohidratos. La estructura primaria de esta proteína ha sido recientemente determinada (103) y en el C-terminal de la proteína tiene regiones ricas en histidina similares al kininógeno de alto peso molecular y ceruloplasmina y regiones ricas en prolina similares a otros péptidos ricos en prolina. La parte N-terminal de la HRGP parece ser homóloga al antitrombina III (104).

Koide y cols (103) sugieren que la organización de la HRGP en múltiples dominios está relacionado con las varias funciones de esta proteína.

Las propiedades fisiológicas no han sido completamente establecidas, pero sí se han visto distintas propiedades biológicas *in vitro*, por lo que se piensa que la HRGP actúa en distintos procesos fisiológicos. Estas propiedades son: unión al plasminógeno (118), a la heparina (119), a la trombospondina (116) e iones metálicos (133) y la inhibición de la formación de autorosetas (164). Las propiedades más relevantes en el proceso de la hemostasia son la unión al plasminógeno y a la heparina. Al unirse al plasminógeno la HRGP disminuye la capacidad de éste para unirse a la fibrina por lo que disminuye la activación de la plasmina, enzima de gran importancia en el sistema fibrinolítico.

Por su unión a la heparina, la HRGP interfiere en la unión heparina-antitrombina III (119). Ambos efectos pueden entonces influir el balance hemostático en favor de la formación de fibrina por lo que una hipótesis podría ser que un aumento o exceso de HRGP favoreciera un estado protrombótico.

La determinación de HRGP puede realizarse por distintos métodos inmunológicos como la inmunodifusión radial según técnica de Mancini (123) o por inmunoelectroforesis según Laurell (110). La determinación de HRGP unida al plasminógeno o heparina puede realizarse por una modificación de inmunoelectroforesis cruzada (97) en la cual se ha incorporado al gel de la primera dimensión el plasminógeno o heparina. Los cambios en la movilidad de HRGP da una indicación de sus propiedades de unión a plasminógeno o heparina.

Los valores de HRGP en adultos sanos, se hallan entre un 50-150% (55, 120) ó $101 \pm 23\%$ (24). En recién nacidos los niveles son un 20-40% de los valores del adulto. No se ha observado una dependencia de valores de HRGP con la edad en adultos sanos (134) y tampoco variaciones significativas entre hombre y mujer (120), aunque sí se ha visto un descenso de aproximadamente un 50% durante los 6 últimos meses de embarazo, para normalizarse la tasa de HRGP entre los 5-15 días post-parto. Se ha constatado un descenso en mujeres que toman anticonceptivos orales (120) lo que haría suponer una influencia hormonal en los niveles plasmáticos de HRGP, aunque desconcierta el hecho que los valores de HRG hombre-mujer no sean significativamente distintos.

Múltiples enfermedades y situaciones clínicas se asocian a un descenso de HRGP como es el caso de la insuficiencia hepática con una buena correlación con el tiempo de protrombina y con el descenso de F V, VII+X, II y fibrinógeno. En un grupo de 152 pacientes con historia de trombosis venosa Castel y cols (24) no encontraron modificación alguna en el valor medio de HRGP. Se estudió la respuesta fibrinolítica post oclusión venosa en cien de los enfermos previos y no se obtuvieron valores distintos de HRGP en los enfermos con respuesta fibrinolítica normal (n = 43 HRGP = 101%) ó anormal (n = 57 HRGP = 99%).

En un grupo de 13 pacientes con Lupus eritematoso diseminado (L.E.D.) de los cuales 9 tenían anticoagulante circulante tipo Lupus, se observó un descenso importante en el nivel HRGP (24). Sepsis (120), coagulación intravascular diseminada (24), síndrome de inmunodeficiencia adquirida (132) y en la fase aguda del infarto de miocardio (24) son otra de las situaciones en las que se objetiva un descenso de la HRGP. Esto nos indica que la HRGP actúa como un reactante de fase aguda negativo, no específico, en respuesta a la lesión tisular.

Se han descrito descensos de HRGP en relación con distintas medicaciones: anticonceptivos orales, esteroides anabolizantes (24) y durante tratamiento con prednisona en trasplante renal o asma (132). Un aumento del nivel de HRGP se ha observado en enfermedades cardíacas (134) en enfermos de Behçet asociada con trombosis venosa y descenso de la actividad fibrinolítica (24).

No se han visto modificaciones en enfermos con déficit congénito de ATIII o trombosis arterial.

En los tratamientos con UK o Streptokinasa en los cuales se encuentra un descenso de plasminógeno, alfa₂ antiplasmina y fibrinógeno, no se han observado descensos en la HRGP (24).

2.8 INHIBIDORES DEL ACTIVADOR TISULAR DEL PLASMINOGENO

Ya en 1963 Brackman y Astrup observaron la presencia de inhibidores fibrinolíticos que no inhibían la plasmina en la sangre de mujeres embarazadas (17). Posteriormente en 1982, se determinan los inhibidores específicos del activador tisular del plasminógeno (t-PA). Han sido descritos varios tipos de inhibidores: PAI₁, PAI₂, PAI₃ y PAI₄ o nexin proteasa (131).

El PAI₁ -inhibidor del activador tisular del plasminógeno 1- es una glicoproteína con un peso molecular de 52.000 daltons que se encuentra en las células endoteliales (49, 151), en los granulos alfa de las plaquetas (65) y en el plasma. Se cree que su síntesis tiene lugar en las células endoteliales de la pared vascular. Su concentración en plasma es aproximadamente de 1 nM, varias veces superior a la concentración de activador tisular del plasminógeno (t-PA).

El PAI₁ inhibe al activador tisular del plasminógeno de cadena simple y doble y al activador del plasminógeno tipo urokinasa de cadena doble pero no al de cadena simple

(41, 176). Se ha observado aumento de PAI₁ en múltiples enfermedades, como accidentes cardiovasculares, tumores malignos, tromboembolismos agudos, post-traumatizados severos, en las primeras 24 horas del post-operatorio de cirugía extracorporea con normalización a los 7 días de la cirugía; el valor más elevado de PAI₁ se detectó en enfermos con insuficiencia hepática (106). El aclaramiento plasmático de PAI₁ fué mucho más lento cuando se hizo una ligadura hepática (53) lo que podría interpretarse que el aclaramiento plasmático del PAI₁ ocurre primariamente en el hígado, al igual que el activador tisular del plasminógeno (49).

El PAI₂ (Inhibidor del activador tisular del plasminógeno-2) es distinto del PAI₁. Se encuentra en extractos de placenta humana y en macrófagos (86, 167, 176). En condiciones basales el PAI₂ no puede detectarse en plasma y solo ha podido determinarse en el embarazo siendo su valor más alto en el tercer trimestre (65) lo que hace suponer que deriva de la placenta.

El PAI₂ tiene un Pm de 70.000 daltons, inhibe al t-PA de doble cadena y a la urokinasa de doble cadena. Reacciona debilmente con el t-PA y UK de cadena simple (55). En 1988 Kruithof y cols realizaron un estudio en 51 individuos sanos y en 307 enfermos hospitalizados, encontrando que el valor de PAI₂ estaba en los límites de detección en la mayoría de los plasmas de enfermos y controles y únicamente encontraron valores altos, de 35 ng/ml, en una mujer embarazada, mientras que en dos casos se observaron valores de 28 ng/ml sin haberse objetivado malignidad

alguna, aunque se sospechara, ya que al estar localizado el PAI₂ en el epitelio trofoblástico placentario y probable origen fetal, podría utilizarse como marcador oncofetal; posteriormente, el mismo grupo observó un caso de hepatocarcinoma con un valor de PAI₂ de 75 ng/ml (106).

El PAI₃ se sintetiza en el hepatocito, se encuentra en plasma y orina y es capaz de debilitar la actividad del activador del plasminógeno tipo urokinasa. Es idéntico a la proteína que es el inhibidor natural de la proteína C activada. Su capacidad inhibitoria puede aumentar en presencia de mucopolisacáridos sulfatados.

El PAI₄ se encuentra en fibroblastos, células miocárdicas y hepatocitos, pero no se detecta en el torrente circulatorio. Inhibe a gran variedad de serin-proteasas y su actividad se incrementa por la heparina (131).

2.9 FIBRINOLISIS EN CIRROSIS HEPATICAS

Las enfermedades hepáticas se asocian a defectos complejos de la hemostasia, en las cuales se puede observar alteración en el número de plaquetas y en los factores de coagulación. Generalmente se han asociado los trastornos hemorrágicos en la insuficiencia hepática severa con déficits plasmáticos de los factores de coagulación (153, 61) bien como consecuencia de una síntesis anómala de los mismos por parte del hígado, ya que la mayoría son de síntesis hepática - a excepción del FV y FVIII - o bien por consumo de los mismos como es el caso de la CID (126). Sin embargo también se presentan casos de hemorragia estando

los parámetros de la coagulación dentro de los límites normales.

Ya en 1914 Goodpasture (72) observó un aumento de la actividad proteolítica en la sangre de enfermos cirróticos con hemorragia, pero hasta 1949 Ratnoff (157) no encontró una relación entre hemorragia y cirrosis hepática. Posteriormente diversos autores encontraron un aumento de fibrinólisis en el plasma de cirróticos. No obstante no todos los autores describían las mismas alteraciones, ya que otros constataron una inhibición de la fibrinólisis (76, 78, 121, 147). Esto quizá fuese debido a que las técnicas desarrolladas no eran lo suficientemente específicas y determinaban de forma global y subjetiva la actividad fibrinolítica.

Se ha observado variaciones importantes en el estudio de coagulación, desde déficit de factores vit K dependientes y del complejo protrombínico o aumento de sus inhibidores, hasta oscilaciones en el fibronógeno total, variando desde valores normales a valores bajos o altos (generalmente estos últimos asociados a cirrosis hepáticas + carcinoma hepatocelular).

En cuanto a la fibrinólisis en la insuficiencia hepática, las oscilaciones son amplias dependiendo de la afectación hepática y del equilibrio entre activadores e inhibidores. Así, por ejemplo, en pruebas globales de fibrinólisis como es el tiempo de lisis de euglobulinas se ha observado desde tiempo normal a tiempos acelerados, sucediendo lo mismo en el área de lisis en placa de fibrina. Brakman (19) obtiene diferencia entre cirrosis hepáticas

severas y moderadas, observando en este último caso tiempos ligeramente inferiores a los controles, mientras que los valores de plasminógeno eran muy inferiores en cirrosis hepáticas severas y normales en las moderadas.

En el caso de derivaciones porto-cava, los datos obtenidos antes y después de la cirugía mostraron una variación del área de lisis de euglobulinas en placa de fibrina cinco veces superior en la post-cirugía. Esto podría indicar la participación del hígado en el aclaramiento plasmático de activadores fibrinolíticos. Con niveles de plasminógeno ligeramente descendido y concentración de fibrinógeno normal o aumentado se ha visto un acortamiento en el tiempo de lisis del coágulo de sangre total. Ya en 1908 Nolf (143) observaba un incremento de fibrinolisis en perros hepatectomizados y Von Kaula (95) observaba fibrinolisis en hepatectomizados al pinzar los vasos durante trasplante hepático.

En contraposición con lo anteriormente expuesto Drapanas (50), no observa aumento de fibrinolisis en los perros supervivientes al menos 12 h. post-hepatectomía. El hígado no solo es el lugar de aclaramiento de los activadores del plasminógeno circulante (76), sino que también sintetiza al principal inhibidor de la plasmina, la alfa₂ antiplasmina (6). Por eso la patogénesis de la fibrinolisis en cirróticos es multifactorial ya que se encuentran niveles circulantes altos de activadores del plasminógeno con una inhibición reducida de la plasmina debido a un déficit en la síntesis de alfa₂ AP. Es interesante ver la baja incidencia de tromboembolismo (175) o infarto de miocardio

en los enfermos con cirrosis hepática en contraste con el aumento de frecuencia de trombosis venosa (51) o embolismo pulmonar (144) en enfermos con carcinoma hepático. Esto hecho quizá apoyaría la observación hecha por Kwaan (108) en enfermos con hepatoma en los que observa una inhibición importante de la fibrinólisis inducida por adrenalina, al contrario de lo que ocurre en las cirrosis hepáticas donde se observa un aumento de la fibrinólisis post-oclusión venosa, adrenalina o ejercicio físico.

En 1984 Francis (64) publica un estudio en cirróticos y hace dos grupos según sea el tiempo de lisis del coágulo de sangre total diluido inferior a dos horas (fibrinólisis acelerada) o igual o superior a 4 horas (fibrinólisis normal). También determina varios parámetros de coagulación como tiempo de protrombina, PDF y TCK. Observa una mayor incidencia de hemorragia en tejidos blandos (mucosas, cerebro, boca) si la fibrinólisis está celerada sobre todo si se añade un trauma quirúrgico. En dos casos con alargamiento de T. Protrombina, TCK y fibrinógeno con PDF positivos observa hemorragia tras extracción dentaria que no cede con plasma fresco, pero si cede al administrar antifibrinolíticos (Epsilon Amino Caproico). Otros autores (84) observan un aumento de actividad t-PA en el grupo con tiempo lisis coágulo acelerado y con descenso de inhibidor t-PA; el inhibidor t-PA no se correlaciona con la albumina sérica, pero si con el nivel de alfa₂ AP, el cual está significativamente reducido en los enfermos cirróticos con fibrinólisis acelerada y normal en las cirrosis con fibrinólisis normal.

En 1964 Fletcher (68) estudia la respuesta fibrinolítica en cirróticos post electroshock o inyección de ácido nicotínico y la compara con controles sanos. Encuentra un aumento fibrinolítico en los enfermos cirróticos respecto a los controles. Trás la inyección de ácido nicotínico a los 60 minutos los controles vuelven a sus valores basales, mientras que en los cirróticos el tiempo medio de vuelta a la normalidad oscila entre dos y cuatro horas, siendo este comportamiento similar al obtenido post-tratamiento con electroshock. Observa también un descenso de plasminógeno después del estímulo en los enfermos con disminución de fibrinógeno sin modificarse el tiempo de trombina. El descenso de alfa₂ AP no fué significativo entre enfermos y controles post-tratamiento. En caso de esplenomegalia criptogenética la capacidad trombolítica post-estímulo era inferior a las esplenomegalias que con posterioridad se diagnosticaron como secundarias a cirrosis hepáticas. En caso de esteatosis hepática el comportamiento era similar a los controles y en dos enfermos con hepatocarcinoma hubo una pobre respuesta fibrinolítica.

En 1984 Both (16), en un estudio de fibrinolisis en cirrosis de distinto grado de evolución, determina el tiempo de lisis de euglobulinas, alfa₂ AP, AT III, plasminógeno, HRGP y C₁ - inhibidor y encuentra valores entre normal-acelerado en el tiempo de lisis de euglobulinas (TLE) con descenso de los otros parámetros a excepción de C₁ inhibidor y niveles de fibrinógeno normal. No obtiene complejos alfa₂ AP en contraste con otras situaciones con descenso similar de los mismos y aumento del área de lisis en placa de fibrina, como es el caso de hiperfibrinolisis

primaria o CID. También detecta aumento de activadores de plasminogeno comparado con plasmas normales (tanto t-PA como activador tipo urokinasa) ya que se inhibían por anticuerpos específicos.

3.MATERIAL Y METODOS

3. MATERIAL Y METODOS

3.1 GRUPOS DE TRABAJO

Se han estudiado 33 enfermos diagnosticados de cirrosis hepática por biopsia, con diferente grado de insuficiencia hepática. En el momento del estudio ninguno de ellos había presentado clínica hemorrágica ni había recibido sangre ni hemoderivados en la semana previa. A todos se les ha hecho una extracción basal determinando los parámetros de fibrinólisis que más adelante se detallan y una segunda extracción tras éstasis u oclusión venoso, con una presión constante durante 10 minutos con el manguito de presión a 100 mm Hg (3), determinando de nuevo los mismos parámetros de fibrinólisis.

Este conjunto de enfermos se ha dividido para su valoración en distintos grupos:

- Grupo global: está formado por los 33 enfermos diagnosticados de cirrosis hepática.
- Grupo A y Grupo C: son dos subgrupos dentro del grupo global de enfermos que se han hecho según los grupos A y C de la clasificación de Child (168) atendiendo al grado de insuficiencia hepática. El grupo A está formado por 10 enfermos y el grupo C por 13.
- Grupo A ampliado (Grupo Aa) está formado por los enfermos del Grupo A de Child de nuestra serie más los cirróticos con albumina superior a 3,5 gr/l. Fueron 15

enfermos en total.

- Grupo C ampliado (Grupo Ca) está formado por los enfermos del Grupo C de Child junto con los cirróticos con albumina inferior a 3 gr/l. Este grupo consta de 18 enfermos.

Nuestro grupo control está formado por 15 personas sanas, voluntarias. Del mismo modo que a los enfermos a todas ellas se les ha practicado dos extracciones, una basal y otra tras oclusión venosa durante 10 minutos a una presión constante de 100 mm. de Hg. Todas las muestras se procesan por duplicado, y las determinaciones que no se han hecho en el mismo día las hemos congelado a -70°C .

3.2 TECNICAS DE FIBRINOLISIS

Para el estudio de fibrinólisis, utilizamos sangre citratada. Después de centrifugar a 3.000 rpm durante quince minutos, se separa el plasma desprovisto de plaquetas, poniéndolo en tubos de plástico en aliquotas debidamente etiquetado y congelado a -70°C hasta el momento de la determinación si no se ha procesado el mismo día.

Técnicas utilizadas:

- 1) Plasminógeno, alfa₂ antiplasmina y Antitrombina III se determinan por sustrato cromogénico (Kabi Diagnostics).

- 2) Glicoproteína rica en histidina (HRGP): Determinación cuantitativa por electroinmunodifusión (técnica de Laurell) mediante ASSERA-PLATE HRGP (Diagnostics Stago).
- 3) Actividad fibrinolítica por placas de fibrina según técnica de Astrup modificada por Thomson (181).
- 4) Actividad fibrinolítica plasmática inducida por kaolín (146).
- 5) Precalicroína coagulante.
- 6) C₁ inhibidor antigénico: Placas comerciales de inmunodifusión radial (Behring).
- 7) Activador tisular del plasminógeno (t-PA) antigénico, mediante kit comercial de Biopool Imulyse t-PA (técnica de ELISA con control de Seguridad y especificidad).
- 8) Inhibidor del activador tisular del plasminógeno (PAI₁ antigénico) Imulyse PAI₁ Biopool (técnica de ELISA con control de seguridad y especificidad).
- 9) Actividad fibrinolítica plasmática inducida por kaolín (146).

Fundamento

En un plasma acidificado y diluido se incubaba a 37°C

con kaolin. Posteriormente se mide la actividad fibrinolítica con una lisis del coagulo de euglobulinas.

Materiales

- . Sangre citratada (9/1) en tubo de polipropileno. Centrifugado a 3.000 rpm para obtener plasma pobre en plaquetas.
- . Kaolin ligero (BDH Chemicals) Suspendido en buffer acetato sódico 0,01 M (pH 4,8) a una concentración de 4 mg/ml.
- . Fibrinógeno bovino (Diagen) disuelto en buffer barbital salino a 37°C a una concentración de 4 mg/ml.
- . Trombina bovina (Parke-Davis) disuelta en buffer barbital salino a una concentración de 50 NIH U/ml.
- . Buffer barbital salino: Barbital sódico 0,025 M y Cloruro Sódico 0,125 M a pH 7,5

Método

- . Incubar en un tubo de cristal 0,5 ml de plasma con 0,25 ml de la suspensión de kaolin y 9,25 ml de buffer acetato sódico 0,01 M pH 4,8 durante 60 min. a 37°C.
- . Centrifugar a 1000 g durante 5 min. y descartar el sobrenadante.

- . Resuspender el precipitado de euglobulinas en 0,5 ml de buffer barbital salino usando una varilla de madera para disolver el kaolin que contiene el precipitado.
- . Trasvasar 0,4 ml, con una pipeta de plástico, a un tubo de cristal que contenga 0.4 ml de buffer barbital salino.
- . Añadir 0,1 ml de fibrinógeno bovino y 0,1 ml de trombina bovina por este orden. Mezclar y colocar en baño de agua a 37°C.
- . El tiempo de lisis se mide como el intervalo que hay desde que se añade la trombina y la lisis del coagulo de fibrina.
- . En sujetos sanos el rango está entre 7 y 15 minutos. En pacientes con déficit congénito de FXII tienen un tiempo de lisis mucho más prolongado, alrededor de 100 minutos.

10) Dosificación de Precalicroina por método coagulativo
(173)

Fundamento:

Preparar un reactivo artificial mediante la mezcla de plasma humano deficiente en prekalicroina con plasma de conejo. Se utilizan 5 mg/ml de celite para activar la precalicroina del plasma humano. La kalicroina activa que se

forma, se inactiva luego lentamente a 37°C. Después de 16 horas de inactivación queda menos de un 10% de kalicreina, la cual no interfiere con los test de coagulación. El plasma de conejo no tiene factor Fletcher (165) pero sí los factores lábiles V, VII y el FXI y HMWK. El plasma humano deficiente en PK sí aporta FXII, que, en cambio, está ausente en el plasma de conejo.

Material y Método:

Reactivo A: Plasma citratado normal, se centrifuga dos veces, primero 7 minutos a 250 g y después 15 minutos a 3500 g para quitar las plaquetas. Se añaden 5 mg celite/ml de plasma. Después de un período de 10 minutos de incubación a temperatura ambiente, se centrifuga la suspensión (15 minutos a 3500 g). Se descarta el sedimento de celite. El sobrenadante se deja durante 16 horas a 37°C y posteriormente se conserva a -60°C.

Reactivo B: Sangre citratada de conejo (9 partes de sangre y una parte de citrato sódico 0,13 M en tubo de plástico). Se centrifuga dos veces 7 minutos a 250 g y luego 15 minutos a 3500 g en tubo de plástico. Se separa el plasma y se guarda a -60° C.

El reactivo final (A + B) consta de cuatro partes de reactivo A y una de reactivo B. No deben guardarse juntos los reactivos al congelarlos ya que puede haber inesperadas interacciones durante el almacenamiento.

Metodo:

Mezclar el sustrato, cuatro partes de reactivo A y una parte de reactivo B.

Poner en tubo de coagulación 0,1 ml de plasma diluido (1/20 a 1/320) añadir 0,1 ml de sustrato y 0,2 ml de mezcla de cefalina-kaolin. Incubar 30 segundos a 37° C y añadir 0,1 ml de Cl_2 Ca 0,025 M. Este corto periodo de incubación es muy importante, ya que un aumento en el tiempo de incubación con kaolin hace que en los plasmas deficiente en F. Fletcher haya una autocorrección del tiempo de cefalina-kaolin (TCK) (4, 68).

Se anotan los resultados en una escala biogaritmica, en abscisas la inversa de la dilución y en ordenadas los tiempos en segundos.

3.3 ANALISIS ESTADISTICO

Para realizar el estudio estadístico hemos utilizado un ordenador IBM-PC compatible (MS-DOS version 2.11) analizándose los datos mediante los programas estadísticos del paquete STATGRAPHICS (1986).

Se ha utilizado el test de la t de Student en los contrastes de hipótesis de igualdad de medias a un nivel de significación del 0,05 y un valor de probabilidades para cada caso que se refleja en los resultados obtenidos.

El analisis estadístico de relación entre variables se

ha hecho mediante el cálculo del coeficiente de correlación lineal de Pearson acompañado del correspondiente análisis de la varianza (ANOVA) con el objeto de contrastar la linealidad y por tanto si el coeficiente de Pearson es realmente significativo.

4.RESULTADOS

CONTROL BASAL (G₁)

	Pladgeno	Alfa ₂ AP	AT III	ALP	ALeu	ACT.F.K.	PK	HRGP	C ₁ Ag	t-PA Ag	PAI Ag
	t	t	t	m ²	mm ²	min	t	t	t	ng/ml	ng/ml
1 - ECM	69	60	92	48,24	118,72	9,5	58	90	104	2,4	4,2
2 - AME	69	66	95	57,72	75,6	9	56	102	102		
3 - EMR	88	66	120	73,10	167,82	6	74	100	98	5	6,7
4 - DQT	91	110	67	0	49,7	54	100	80	97	4,7	9,8
5 - APR	93	99	77	0	102,1	13	84	54	105		
6 - MPM	69	54	96	0	63,91	15	90	132	97		
7 - TG	102	89	105	0	67,10	17	82	70	113	3	10,1
8 - JPC	98	60	122	0	31,35	10	60	53	98	1	8,5
9 - EMR	85	111	102	0	46	10	89,5	72	120	3,2	5,1
10 - SGE	85	114	103	22,4	63,22	16,5	112	120	108		
11 - ASG	84	114	94	16	72,62	12,5	90	47	94		
12 - JJJ	97	102	84	0	68	17	90	94	106		
13 - PMB	74	113	72	0	47,4	17,45	42	61	97	0,6	10,4
14 - GGC	80	93	93	0	46,32	20	42	82	84		
15 - PMB	91	129	97	0	128	13	72	79	102		

ENFERMOS BASAL (G₂)

	Plinógeno	Alfa ₂	AP	AT III	ALP	ALDu	Act.F.K.	PK	HRGP	C ₁ Ag	t-PA Ag	PAI Ag
	‡	‡		‡	m ²	mm ²	min	‡	‡	‡	ng/ml	ng/ml
1 - IGJ	80	101		88	20,3	102,01	45	38	36	75	9	12,6
2 - ARM	56	36		51	51,8	46,20	120	39	90	70		
3 - RMS	58	104		65	70,6	125,30	40	36	78	92	19,6	8,1
4 - IAS	35	30		18	64,7	67,20	24,5	2	42	83		
5 - AGCH	64	44		75	10,9	38,44	60	11	80	95		
6 - JMCH	101	70		104	80,9	157,50	70	42	73	80		
7 - MEP	54	65		43	69,7	111,30	21	9	102	76	5,8	11
8 - SFG	21	35		0	12,3	13,0	120	9	16	70		
9 - JGT	22	45		2	104	145,14	50	7	41	80	20,3	13,2
10 - JLF	67	52		76	77,4	164,7	20	35	48	86	12,2	6,7
11 - LVG	92	90		102	72,8	234,3	18	31	80	98		
12 - AGC	57	157		70	27	102	17	43	43	102		
13 - AQL	56	97		72	11,6	52,6	27	18	25	87	4,3	11,9
14 - TCC	40	36		67	0	40,02	20	17	53	85	17	33,8
15 - MYR	65	71		82	0	101,97	29	28	76	98	5,3	12
16 - CGC	37	111		69	12,3	52,44	120	80	47	100	0,9	1,2
17 - LPP	45	19		27	139,2	196,9	120	14	25	98		
18 - GGB	86	86		79	24	166,2	120	100	68	89	8	3,8
19 - ACC	31	45		19	131	198,8	13	6	42	93		
20 - EPC	30	35		15	17,1	32,4	58	9	42	78		
21 - DBG	95	80		90	29,2	82,33	18	35	115	99		

ENFERMOS BASAL (G₂) (Cont.)

	Pinógeno	Alfa ₂ AP	AT III	ALP	ALeu	Act.F.K.	PK	HRGP	C ₁ Ag	t-PA Ag	PAI Ag
	t	t	t	m ²	mm ²	min	t	t	t	ng/ml	ng/ml
22 - MDO	126	105	86	0	297	120	100	60	106		
23 - JFA	47	60	41	29,2	183,5	85	3	31	84		
24 - FAH	52	87	48	20,3	141,6	120	28	70	89		
25 - CJP	47	85	46	51,7	156,0	120	15	48	96	10,5	1,2
26 - EPV	52	6	27	48	180,0	120	12	36	98		
27 - DPG	37	80	51	75	164,0	120	15	42	84		
28 - AVC	40	48	21	35	76,5	120	11	36	88	41,1	6,7
29 - FPG	45	85	38	22	91,7	120	16	46	100		
30 - CDT	50	72	33	49	107,0	36	14	82	98	16,1	17
31 - JLR	69	103	55	45	138,0	49	13	53	89	23,2	5,5
32 - APC	56	135	60	84,5	192,0	120	9	72	97		
33 - JAA	45	98	41	15,0	114,8	120	17	25	95		

CONTROL POSTESTASIS (G₃)

	Plnógeno	Alfa ₂ AP	AT III	ALP	ALeu	Act.F.K.	PK	HRGP	C ₁ Ag	t-PA Ag	PAI Ag
	t	t	t	m ²	mm ²	min	t	t	t	ng/ml	ng/ml
1 - ECM	75	60	111	61,62	200,2	15	60	90	106	9	5,6
2 - AME	72	83	132	110,21	456,96	9,5	76	118	98		
3 - EMR	95	80	134	128,7	372,48	5,45	70	103	97	15,3	4,7
4 - DQT	90	114	140	50,4	293,82	20	94	106	105	24,2	14,7
5 - APR	103	102	123	65,69	293,83	8,5	80	100	98		
6 - MPM	80	77	130	27,56	260,82	12	100	72	100		
7 - TG	90	81	155	82,84	391,68	13	74	90	108	27	15,8
8 - JPC	89	140	142	81,34	166,38	12	74	58	105	4,6	8,1
9 - EMR	90	77	116	48,3	240,5	12	100	60	118	3,5	6,8
10 - SGE	98	125	156	120,4	230,6	9,5	148	270	97		
11 - ASG	87	106	115	36,8	320,2	29,5	86	72	98		
12 - JJJ	100	111	127	52,6	274,3	15	90	101	100		
13 - PMB	86	103	92	34,8	240,6	22,15	59	61	97	4,6	11,9
14 - GGC	82	85	94	59,2	280,6	14	42	82	89		
15 - FMB	85	134	112	39	260	15	80	86	98		

ENFERMOS POSTESTASIS (G₄)

	Plnógeno	Alfa ₂ AP	AT III	ALP	ALeu	Act.F.K.	PK	HRGP	C ₁ Ag	t-PA Ag	PAI Ag
	t	t	t	m ²	mm ²	min	t	t	t	ng/ml	ng/ml
1 - IGJ	83	75	103	82,8	276	24	30	43	79	15	6,8
2 - ARM	68	46	46	63,2	56,98	66	38	100	84		
3 - RNS	58	119	57	78,2	252,45	48	38	82	90		
4 - IAS	33	32	15	71,4	183,48	20	2	36	81	19,5	6,6
5 - AGCH	68	47	69	31,4	98,9	56	9	90	95		
6 - JMCH	125	83	131	141,5	456,75	6,6	70	75	83		
7 - MEP	56	41	87	191,8	340,7	9,15	12	115	81	24,6	13,2
8 - SFG	21	36	0	11,5	16,0	120	7	14	75		
9 - JGT	25	27	1	205,9	301,0	15	7	48	73	63,5	8,2
10 - JLF	67	58	70	83,7	221,5	15,5	34	52	80	13,5	11
11 - LVG	84	84	88	138,1	320,05	23	40	101	100		
12 - AGC	56	121	59	46,0	145,0	22	42	28	98		
13 - AQL	75	124	94	43,5	185,1	17,5	35	26	94	25,6	7,6
14 - TCC	56	70	69	0	48,1	24	24	64	92	36	45,8
15 - MTR	66	77	81	0	31,4	51	45	80	93	2,2	12,4
16 - CGC	40	108	85	106,2	115,24	120	50	25	96	2,8	0,15
17 - LPP	55	36	8	119,3	280,46	33,5	15	27	102		
18 - GGB	98	107	57	163,8	370,5	48	98	47	85	18,6	12,3
19 - ACC	37	45	19	162,0	252,0	31	6	47	97		
20 - EPC	33	33	30	71,4	84,5	48	1	48	92		
21 - DBG	104	90	77	18,5	114,0	17	37	130	91		

ENFERMOS POSTESTASIS (G₄) (Cont.)

Plnógeno	Alfa ₂ AP	AT III	ALP	ALDu	Act.F.K.	PK	HRGP	C ₁ Ag	t-PA Ag	PAI Ag
t	t	t	m ²	mm ²	min	t	t	t	ng/ml	ng/ml
22 - KDO	142	116	107	68.9	128.8	120	95	66	100	
23 - JFA	53	75	57	54	351.5	17.25	21	42	93	
24 - FAH	59	88	51	104	169.3	120	19	58	87	
25 - CJF	53	88	66	175	348.3	78.5	25	52	107	30.5 3.6
26 - EPV	56	51	31	160	—	120	17	—	104	
27 - DPG	42	80	22	135	325	120	16	47	84	
28 - AVC	46	53	30	105	207.5	51.5	10	36	100	63.6 6
29 - FPG	64.5	109	61	147	368	49	34	61	96	
30 - CDT	53	61	33	121	223.5	18.45	17.5	82	95	23 11
31 - JLR	76	101	61	94	249.5	27	34	61	94	29 22.5
32 - APC	49	91	54	101	208	120	11	82	106	
33 - JAA	55	89	59	124	269	120	22	34	98	

VALORES MEDIOS DE LOS DISTINTOS PARAMETROS

Pinogeno	A ₂ AP	AT III	ALP	ALEu	AFK	PK	HRG P	C ₁	t-PA Ag	PAI-1	
Control B (G ₁)	85±10	92±24	94±15	14,49±24,7	76,31±36,68	15,9 ±11,2	76±20	82±24	101±8	2,84±1,67	7,8 ± 2,51
Control PE (G ₃)	88±18	98±23	125±19	66,63±31,83	285,53±75,36	14,18± 5,98	82±24	97±50	100±6	12±9,77	9,65± 4,46
Enfermo B (G ₂)	56±23	71±33	53±28	44,62±37,15	115,32± 58,77	72,16±44,44	26±24	55±23	89±9	13,8 ±1,67	10,33± 8,2
Enfermo PE (G ₄)	62±26	74±29	56±31	97,55±55,10	221,52±112,41	55,65±40,68	28±24	58±27	91±8	26,24±18,47	11,9 ±11,07
G.A. Basal (G ₂ A)	73±27	90±23	77±17	41,5 ±35,39	138,74± 67,91	76,45±48,04	45±34	59±17	93±7	6,86± 5,19	6,96± 4,58
G.A. PE (G ₄ A)	79±33	93±19	83±23	102,23±55,12	237,77±131,77	65,93±42,45	50±29	60±24	94±9	15,53±10,63	9,65± 4,61
G.C. Basal (G ₂ C)	43±18	56±24	37±28	45,69±38,93	100,46± 61,58	61,61±38,18	11±9	45±18	84±7	20±19,11	13,84± 8,97
G.C. PE (G ₄ C)	47±18	56±22	39±30	88,1 ±58,83	201,27±108,35	44,05±36,3	13±10	50±19	88±8	35,65±18,77	15,27±13,55
G.Ca Basal (G ₂ Ca)	66±24	89±30	69±19	43,74±31,09	118,92±59,35	76,16±47,9	40±30	63±20	91±10	--	--
G.Ca PE (G ₄ Ca)	73±28	91±26	76±23	103,21±55,17	236,05±126,85	56,8 ±38,5	44±26	66±28	92±8	--	--
G.Ca Basal (G ₂ Ca)	47±19	56±29	39±27	45,36±42,43	112,31± 59,88	72,16±42,65	14±9	48±24	87±8	--	--
G.Ca PE (G ₄ Ca)	52±20	60±23	40±28	92,84±56,18	209,5 ±100,96	54,62±43,3	15±10	52±26	90±9	--	--

PLASMINOGENO

En la tabla 1 se recogen los valores medios y desviaciones standard de la determinación de plasminógeno. El valor en el grupo contral basal (G_1) es de $85 \pm 10\%$, mientras que el mismo grupo PE (G_3) es de $88 \pm 18\%$ ($p > 0,05$ n.s.). El valor de plasminógeno en enfermos basales (G_2) es $56 \pm 23\%$ mientras que en los enfermos post-ésta-sis (G_4) es $62 \pm 26\%$ ($p > 0,5$ n.s.).

En la gráfica 1 observamos que el plasminógeno de los controles basales (G_1) es significativamente superior al de los enfermos basales (G_2) ($p < 0,001$). Del mismo modo el plasminógeno en los controles PE (G_3) es significati-vamente superior al de los enfermos PE (G_4) ($p < 0,001$).

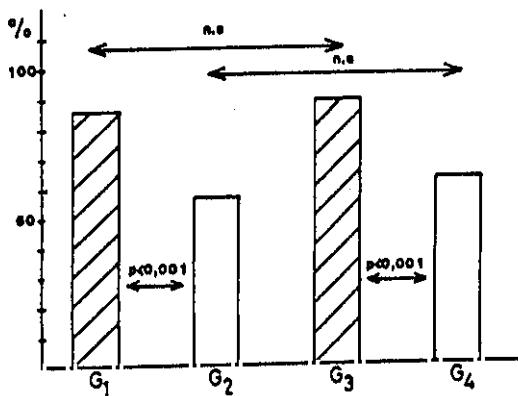
En la tabla 1 y 2 puede verse el valor del plasminó-geno en los enfermos grupo A basal (G_{2A}) que es de $73 \pm 27\%$ y los enfermos grupo A postésta-sis (G_{4A}) $79 \pm 33\%$ ($p > 0,05$ n.s.) y de los enfermos del grupo C basal (G_{2C}) $43 \pm 18\%$ y enfermos grupo C postésta-sis (G_{4C}) $47 \pm 18\%$ ($p > 0,05$ n.s.). En la tabla 2 vemos como no existe diferen-cia significativa entre el plasminógeno de los controles basales (G_1) y plasminógeno de los enfermos grupo A basal (G_{2A}), mientras que éste es significativamente inferior en los enfermos basales grupo C (G_{2C}) ($p < 0,001$). En los valores de plasminógeno postésta-sis si existe diferencia significativa entre los controles (G_3) y los enfermos grupo A (G_{4A}) $p < 0,02$ y entre éstos y los enfermos grupo C (G_{4C}) ($p < 0,001$). Gráfica II.

En la tabla 1 también puede verse el valor del plasminógeno del grupo A ampliado basal (G_2Aa) $66 \pm 24\%$ y del grupo C ampliado basal (G_2Ca) $44,5 \pm 19\%$, así como el plasminógeno de los enfermos del grupo Aa postéctasis (G_4Aa) $73,4 \pm 28\%$ y el de los enfermos grupo C ampliado postéctasis (G_4Ca) $52,8 \pm 20\%$. En tabla 3 y gráfica III puede verse como los valores de plasminógeno de los enfermos de uno y otro grupo tanto basal como postéctasis son significativamente inferiores a los valores basal y postéctasis del grupo control ($p < 0,001$).

PLASMINOGENO

TABLA 1

	n	\bar{x}	DS
Control Basal (G ₁)	15	0.85	0.10
Enfermos Basal (G ₂)	33	0.56	0.23
Control PE (G ₃)	15	0.88	0.18
Enfermos PE (G ₄)	33	0.62	0.26
Enfermos "A" Basal (G _{2A})	10	0.73	0.27
Enfermos "A" PE (G _{4A})	10	0.79	0.33
Enfermos "C" Basal (G _{2C})	13	0.43	0.18
Enfermos "C" PE (G _{4C})	13	0.47	0.18
Enfermos "Aa" Basal (G _{2Aa})	15	0.66	0.24
Enfermos "Aa" PE (G _{4Aa})	15	0.73	0.28
Enfermos "Ca" Basal (G _{2Ca})	18	0.47	0.19
Enfermos "Ca" PE (G _{4Ca})	18	0.52	0.20

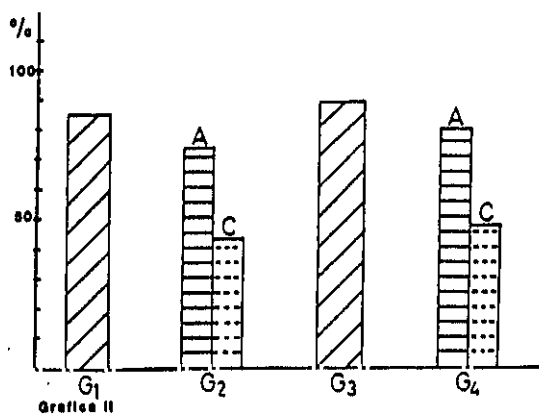


Gráfica 1

PLASMINOGENO

TABLA 2

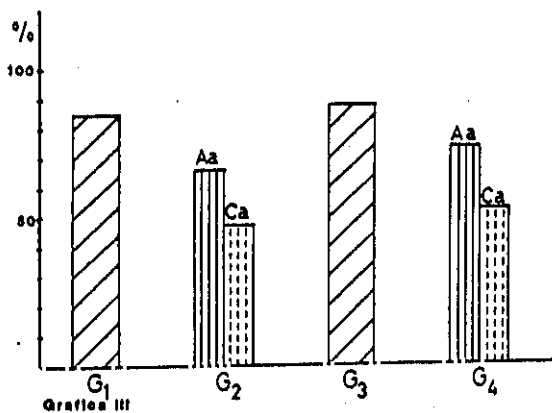
U ₁ - G ₂ A :	n. s.
G ₁ - G ₂ C :	p<0,001
U ₂ A - G ₄ A :	n. s.
U ₂ C - G ₄ C :	n. s.
U ₂ A - G ₂ C :	p<0,05
G ₄ A - G ₄ C :	p<0,001
U ₃ - G ₄ A :	p<0,02
G ₃ - G ₄ C :	p<0,001



PLASMINOGENO

TABLA 3

G₁ - G₂Aa: p<0,02
G₃ - G₄Aa: p<0,001
G₁ - G₂Ca: p<0,001
G₃ - G₄Ca: p<0,001



ALFA₂ ANTIPLASMINA (ALFA₂AP)

En la tabla 4 observamos los valores medios y desviaciones típicas de la determinación de alfa₂ AP. En el grupo control basal (G₁) es de $92 \pm 24\%$ y en el mismo grupo postéctasis (G₃) es de $98 \pm 23\%$ ($p > 0,05$ n.s.). El valor de alfa₂ AP en enfermos basales (G₂) es de $71 \pm 33\%$ y en postéctasis (G₄) $74 \pm 29\%$ ($p > 0,05$ n.s.). En la gráfica IV vemos que la alfa₂ AP del grupo control basal (G₁) es significativamente superior al grupo basal de enfermos (G₂) ($p < 0,05$). Del mismo modo el grupo control P.E. (G₃) es significativamente superior al grupo de enfermos postéctasis (G₄) con una $p < 0,01$.

Los valores del grupo A basal (G₂A) son de $90 \pm 23\%$ y en el postéctasis (G₄A) $93 \pm 19\%$ ($p > 0,05$ ns). En el grupo C basal (G₂C) el valor es $56 \pm 24\%$ y en postéctasis (G₄C) $56,5 \pm 22\%$ ($p > 0,05$ ns). En la tabla 5 puede verse como la alfa₂ AP es significativamente mayor en el grupo control basal (G₁) con respecto al grupo C basal (G₂C) $p < 0,001$ pero no hay diferencia con el grupo A basal (G₂A). Si existe diferencia entre el grupo A basal (G₂A) y el grupo C basal (G₂C) $p < 0,01$.

En la gráfica y tabla V si vemos diferencias significativas $p < 0,001$ entre el grupo control PE (G₃) y grupo C (G₄C) y entre éste y el grupo A (G₄A) $p < 0,001$.

En el grupo A de enfermos basal ampliado (G₂Aa) tenemos un valor de $89 \pm 30\%$ y en el mismo grupo postéctasis (G₄Aa) de $91 \pm 26\%$ con una $p > 0,05$ n.s. respecto a los

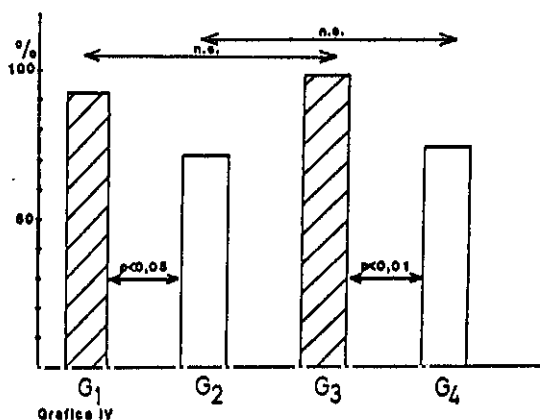
grupos controles basal (G₁) y PE (G₃) (tabla 4 y 6).

En los enfermos del grupo C basal ampliado (G₂Ca) el valor de alfa₂ AP es de 56 ± 29% y en el postéctasis (G₄Ca) 60 ± 23% estos valores son significativamente inferiores $p < 0.001$ a los grupos controles (G₁ y G₃) (Gráfica VI).

ALFA₂ ANTIPLASMINA

TABLA 4

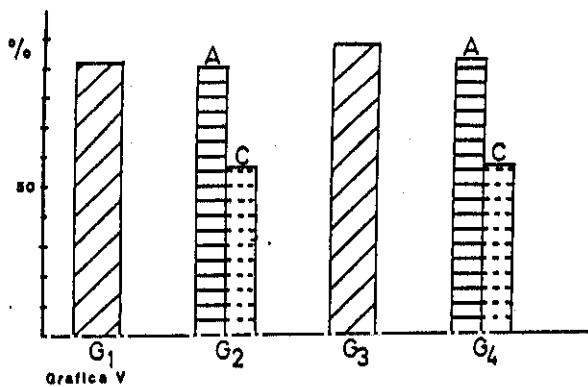
	n	\bar{x}	DS
Control Basal (G ₁)	15	0.92	0.24
Enfermos Basal G ₂)	33	0.71	0.33
Control PE (G ₃)	15	0.98	0.23
Enfermos PE (G ₄)	33	0.74	0.29
Enfermos "A" Basal (G ₂ A)	10	0.90	0.23
Enfermos "A" PE (G ₄ A)	10	0.93	0.19
Enfermos "C" Basal (G ₂ C)	13	0.56	0.24
Enfermos "C" PE (G ₄ C)	13	0.56	0.22
Enfermos "Aa" Basal (G ₂ Aa)	15	0.89	0.30
Enfermos "Aa" PE (G ₄ Aa)	15	0.91	0.26
Enfermos "Ca" Basal (G ₂ Ca)	18	0.56	0.29
Enfermos "Ca" PE (G ₄ Ca)	18	0.60	0.23



ALFA₂ ANTIPLASMINA

TABLA 5

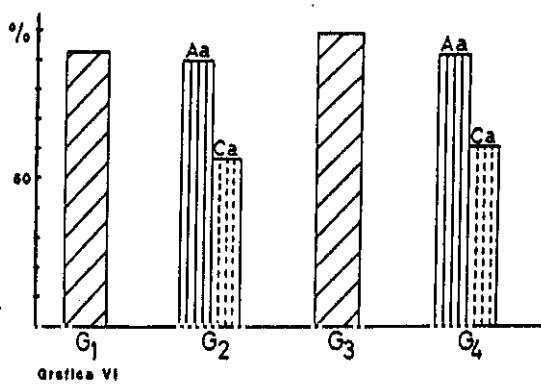
G ₁ - G ₂ A :	n.s.
G ₁ - G ₂ C :	p<0,001
G ₂ A - G ₄ A :	n.s.
G ₂ C - G ₄ C :	n.s.
G ₂ A - G ₂ C :	p<0,01
G ₄ A - G ₄ C :	p<0,001
G ₃ - G ₄ A :	n.s.
G ₃ - G ₄ C :	p<0,001



ALFA₂ ANTIPLASMINA

TABLA 6

G ₁ - G ₂ Aa:	n. s.
G ₃ - G ₄ Aa:	n. s.
G ₁ - G ₂ Ca:	p<0,001
G ₃ - G ₄ Ca:	p<0,001



ANTITROMBINA III (AT III).

En la tabla 7 vemos el valor medio de antitrombina III del Grupo control basal (G_1) $94 \pm 15\%$ y en el postéctasis $125 \pm 90\%$ ($p < 0,001$). El valor medio en enfermos basales (G_2) $53 \pm 28\%$ y en enfermos PE (G_4) $56 \pm 31\%$ ($p > 0,05$ n.s.). En la gráfica VII observamos que la AT III es significativamente superior en los controles, tanto basal como postéctasis, respecto a los enfermos ($p < 0,001$).

Los valores de los enfermos del grupo A basal (G_2A) son de $77 \pm 11\%$ y grupo A postéctasis (G_4A) $83 \pm 23\%$ ($p > 0,05$ n.s.). En el grupo C basal (G_2C) $37 \pm 28\%$ y en postéctasis (G_4C) $39 \pm 30\%$ no habiendo diferencia significativa $p > 0,05$ n.s. En la tabla 8 vemos que el grupo control basal (G_1) es significativamente superior al grupo A basal (G_2A) $p < 0,02$ y grupo C basal (G_2C) $p < 0,001$ y también hay diferencia entre estos dos últimos $p < 0,001$.

El grupo control postéctasis (G_3) es significativamente superior a los enfermos del grupo A y grupo C postéctasis (G_4A y G_4C) con una $p < 0,001$, la diferencia estadística en estos dos grupos también es evidente $p < 0,002$. (gráfica VIII y tabla 8).

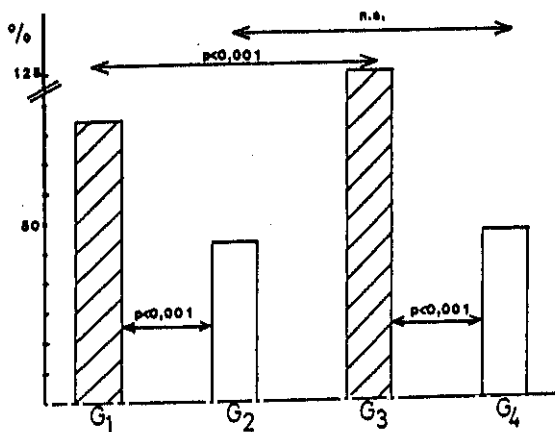
En la misma tabla 7 observamos el valor de la AT III en el grupo A basal ampliado (G_2Aa) $69 \pm 19\%$ y en el mismo grupo A postéctasis (G_4Aa) $76 \pm 23\%$ ambos son significativamente menores al grupo control basal (G_1) y postéctasis (G_3) $p < 0,001$.

Los enfermos del grupo C ampliado basal (G₂Ca) el valor de ATIII es de $39 \pm 27\%$ y en el postéctasis (G₄Ca) $40 \pm 28\%$ siendo ambos significativamente inferiores a los grupo controles $p < 0,001$. (gráfica IX y tabla 9).

ANTITROMBINA III

TABLA 7

	n	\bar{x}	DS
Control Basal (G ₁)	15	0.94	0.15
Enfermos Basal (G ₂)	33	0.53	0.28
Control PE (G ₃)	15	1.25	0.19
Enfermos PE (G ₄)	33	0.56	0.31
Enfermos "A" Basal (G _{2A})	10	0.77	0.17
Enfermos "A" PE (G _{4A})	10	0.83	0.23
Enfermos "C" Basal (G _{2C})	13	0.37	0.28
Enfermos "C" PE (G _{4C})	13	0.39	0.30
Enfermos "Aa" Basal (G _{2Aa})	15	0.69	0.19
Enfermos "Aa" PE (G _{4Aa})	15	0.76	0.23
Enfermos "Ca" Basal (G _{2Ca})	18	0.39	0.27
Enfermos "Ca" PE (G _{4Ca})	18	0.40	0.28

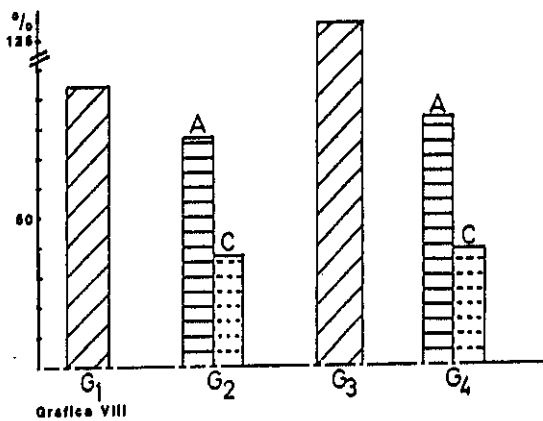


Grafica VII

ANTITROMBINA III

TABLA 8

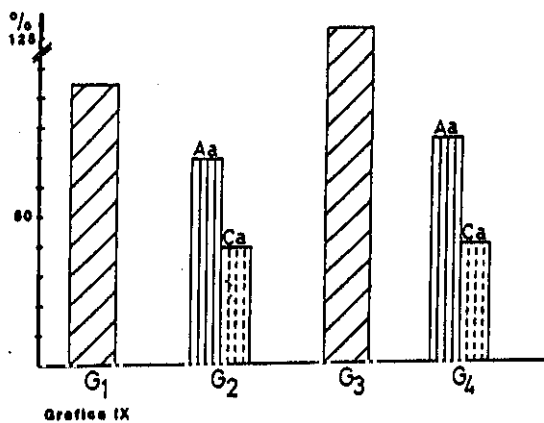
G ₁ - G _{2A} :	p<0.02
G ₁ - G _{2C} :	p<0.001
G _{2A} - G _{4A} :	n. s.
G _{2C} - G _{4C} :	n. s.
G _{2A} - G _{2C} :	p<0.001
G _{4A} - G _{4C} :	p<0.002
G ₃ - G _{4A} :	p<0.001
G ₃ - G _{4C} :	p<0.001



ANTITROMBINA III

TABLA 9

G₁ - G₂Aa: p<0,001
G₃ - G₄Aa: p<0,001
G₁ - G₂Ca: p<0,001
G₃ - G₄Ca: p<0,001



LISIS DEL PLASMA EN PLACA DE FIBRINA (ALP)

En la tabla 10 se recogen los valores medios y las desviaciones típicas del área de lisis del plasma en placa de fibrina, expresadas en mm^2 . El valor en el grupo control basal (G_1) es $14,49 \pm 24,79$ y en el control postéctasis (G_3) $66,63 \pm 31,83$, $p < 0,001$. En los enfermos basales (G_2) $44,62 \pm 37,15$ y en enfermos postéctasis (G_4) $97,55 \pm 55,10$ ($p < 0,001$). En la gráfica X, observamos que el área de lisis del plasma de los enfermos basales (G_2) es superior significativamente al grupo control (G_1) $p < 0,01$ comportándose de la misma forma el grupo postéctasis de enfermos (G_4) respecto a los controles postéctasis (G_3) $p < 0,05$.

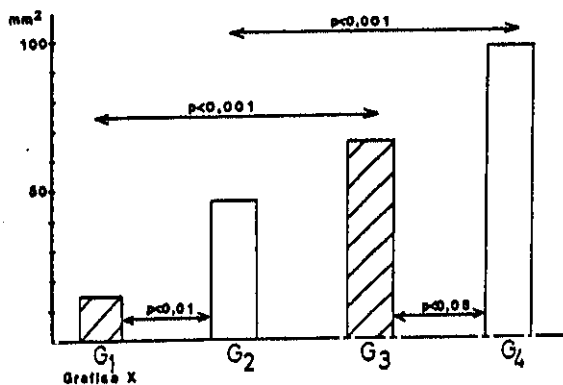
También en tabla 10 vemos que el valor del área de lisis del plasma en placa de fibrina del Grupo A basal (G_{2A}) es de $41,50 \pm 35,39$ y postéctasis (G_{4A}) de $102,2 \pm 55,12$ ($p < 0,001$). En los enfermos grupo C basal (G_{2C}) el valor es $45,6 \pm 38,9$ y en grupo C postéctasis (G_{4C}) $88,1 \pm 58,8$ ($p < 0,05$). En la tabla 11 observamos que existe diferencia entre el grupo control basal (G_1) y los grupos A basal (G_{2A}) y grupo C basal (G_{2C}), $p < 0,05$ y $p < 0,02$, en cambio no se observa diferencia significativa entre estos dos últimos $p > 0,05$ n.s. No observamos diferencia significativa entre el grupo control postéctasis (G_3) y los grupos A postéctasis (G_{4A}) y grupo C postéctasis (G_{4C}) ($p > 0,05$). Tampoco hay diferencias entre G_{4A} y G_{4C} ($p > 0,05$) (gráfica XI).

En los enfermos basales del grupo A ampliado (G₂Aa) el valor es de 43,74 ± 31,09 y en el grupo C ampliado basal (G₂Ca) el valor es de 45,36 ± 42,43, siendo significativamente superiores al grupo control, p<0,01 y p<0,02 respectivamente. En la tabla 10 y tabla 12 vemos que el valor del área de lisis del plasma en el grupo A ampliado postéctasis (G₄Aa) es de 103,21 ± 55,17. Es significativa la diferencia con el grupo control postéctasis (G₃) p<0,05. En la gráfica XII y tabla 12 observamos un valor en el grupo C ampliado postéctasis (G₄Ca) de 92,84 ± 56,18 no habiendo diferencia significativa con el grupo control postéctasis (G₃) p<0,05 n.s.

LISIS DE PLASMA EN PLACA DE FIBRINA

TABLA 10

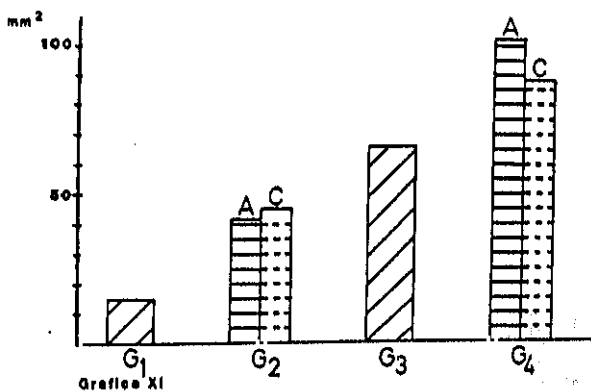
	n	\bar{x}	DS
Control Basal (G_1)	15	14,49	24,79
Enfermos Basal (G_2)	33	44,62	37,15
Control PE (G_3)	15	66,63	31,83
Enfermos PE (G_4)	33	97,55	55,10
Enfermos "A" Basal (G_2A)	10	41,50	35,39
Enfermos "A" PE (G_4A)	10	102,20	55,12
Enfermos "C" Basal (G_2C)	13	45,69	38,93
Enfermos "C" PE (G_4C)	13	88,10	58,83
Enfermos "Aa" Basal (G_2Aa)	15	43,74	31,09
Enfermos "Aa" PE (G_4Aa)	15	103,21	55,17
Enfermos "Ca" Basal (G_2Ca)	18	45,36	42,43
Enfermos "Ca" PE (G_4Ca)	18	92,84	56,18



LISIS DE PLASMA EN PLACA DE FIBRINA

TABLA 11

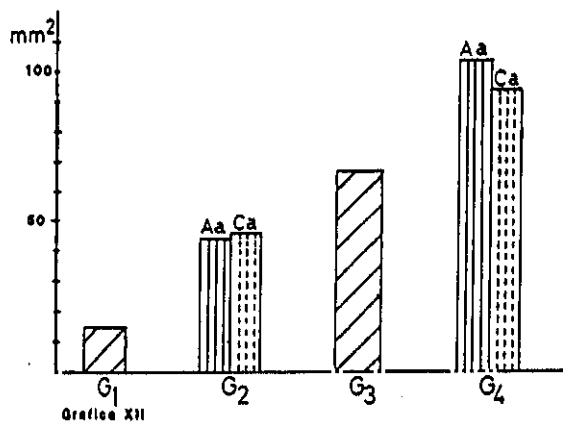
G ₁ - G _{2A} :	p<0,05
G ₁ - G _{2C} :	p<0,02
G _{2A} - G _{4A} :	p<0,001
G _{2C} - G _{4C} :	p<0,05
G _{2A} - G _{2C} :	n.s.
G _{4A} - G _{4C} :	n.s.
G ₃ - G _{4A} :	n.s.
G ₃ - G _{4C} :	n.s.



LISIS DE PLASMA EN PLACA DE FIBRINA

TABLA 12

G ₁ - G ₂ Aa:	p<0,01
G ₃ - G ₄ Aa:	p<0,05
G ₁ - G ₂ Ca:	p<0,02
G ₃ - G ₄ Ca:	n.s.



LISIS DE EUGLOBULINAS EN PLACA DE FIBRINA (ALFu)

En la tabla 13 observamos los valores medios y desviación típica del área de lisis de euglobulinas en placa de fibrina. En el grupo control basal (G_1) es $76,31 \pm 36,68$ mm^2 y en el control postéstasis (G_3) $285,53 \pm 75,36$ ($p < 0,001$). En enfermos basales (G_2) $115,32 \pm 58,77$ y en enfermos postéstasis (G_4) $221,52 \pm 112,41$ ($p < 0,001$). En la gráfica XIII observamos diferencia estadística entre grupo control basal (G_1) y enfermo basal (G_2) con $p < 0,05$. También es evidente la diferencia entre control postéstasis (G_3) y enfermos post-estais (G_4) $p < 0,05$.

El valor medio del área de lisis de euglobulinas en el Grupo A basal (G_2A) $130,7 \pm 67,9$ y postéstasis (G_4A) $237,7 \pm 131,77$ ($p < 0,05$). En los enfermos basales grupo C (G_2C) el valor hallado es de $100,46 \pm 61,58$ y en el mismo grupo postéstasis (G_4C) $201,27 \pm 108,35$ ($p < 0,01$). En la tabla 14 observamos existe diferencia significativa $p < 0,05$ entre grupo A basal (G_2A) y grupo control basal (G_1), pero no entre el control basal y el grupo C basal (G_2C) y entre este último y el Grupo A basal (G_2A) ($p > 0,05$). Vemos diferencia significativa $p < 0,05$ entre grupo control postéstasis (G_3) y grupo C postéstasis (G_4C), pero no existe diferencia entre este último y el grupo A postéstasis (G_4A), ni de éste con el control (G_3) $p > 0,05$ (tabla 14 y gráfica XIV).

El grupo de enfermos A ampliado basal (G_2Aa) el valor medic es de $118,92 \pm 59,35$ y en el grupo C ampliado basal (G_2Ca) $112,31 \pm 59,8$ habiendo diferencia estadís-

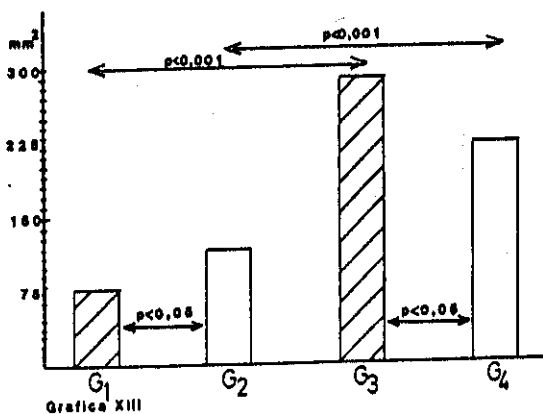
tica del primero con respecto al grupo control basal (G_1) $p < 0,05$, en cambio no existe diferencia entre el grupo control y el grupo C ampliado basal (G_2Ca) $p > 0,05$ n.s.

El valor del área de lisis de euglobulinas en placa de fibrina en grupo A ampliado postéctasis (G_4Aa) es de $236,05 \pm 126,8$, no existe diferencia significativa con grupo control postéctasis (G_3) ($p > 0,05$ n.s.). En el grupo C ampliado postéctasis (G_4Ca) el área de lisis es de $209,4 \pm 100,0$ siendo significativamente inferior al grupo control postéctasis (G_3), con $p > 0,05$ (tabla 15 y gráfica XV).

LISIS DE EUGLOBULINAS EN PLACA DE FIBRINA

TABLA 13

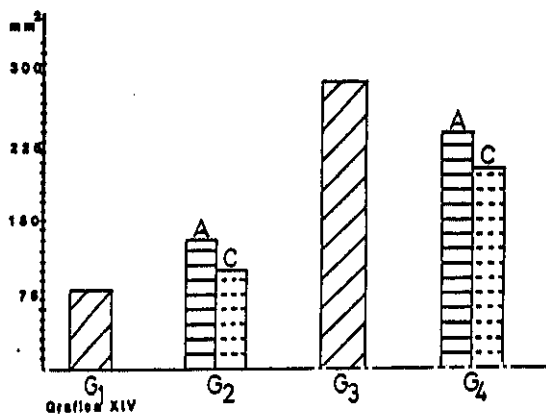
	n	X	DS
Control Basal (G ₁)	15	76,31	36,68
Enfermos Basal (G ₂)	33	115,32	58,77
Control PE (G ₃)	15	285,53	75,36
Enfermos PE (G ₄)	33	221,52	112,41
Enfermos "A" Basal (G ₂ A)	10	130,74	67,91
Enfermos "A" PE (G ₄ A)	10	237,77	131,77
Enfermos "C" Basal (G ₂ C)	13	100,46	61,58
Enfermos "C" PE (G ₄ C)	13	201,27	108,35
Enfermos "Aa" Basal (G ₂ Aa)	15	118,92	59,35
Enfermos "Aa" PE (G ₄ Aa)	15	236,05	126,85
Enfermos "Ca" Basal (G ₂ Ca)	18	112,31	59,88
Enfermos "Ca" PE (G ₄ Ca)	18	209,40	100,96



LISIS DE EUGLOBULINAS EN PLACA DE FIBRINA

TABLA 14

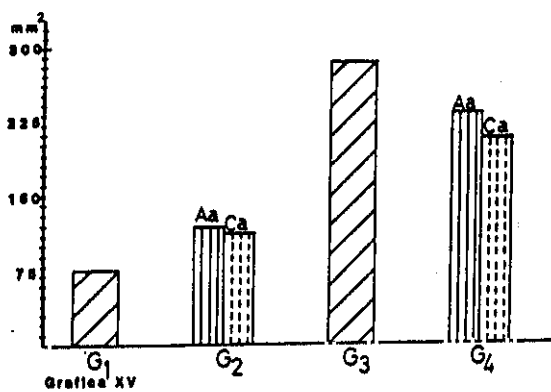
G ₁ - G ₂ A :	p<0,02
G ₁ - G ₂ C :	n.s.
G ₂ A - G ₄ A :	p<0,05
G ₂ C - G ₄ C :	p<0,01
G ₂ A - G ₂ C :	n.s.
G ₄ A - G ₄ C :	n.s.
G ₃ - G ₄ A :	n.s.
G ₃ - G ₄ C :	p<0.05



LISIS DE EUGLOBULINAS EN PLACA DE FIBRINA

TABLA 15

G₁ - G₂Aa: p<0,05
G₃ - G₄Aa: n. s.
G₁ - G₂Ca: n. s.
G₃ - G₄Ca: p<0,05



ACTIVIDAD FIBRINOLITICA POR KAOLIN

En la tabla 16 observamos los valores de Actividad fibrinolítica por kaolín. En el grupo control basal (G_1) el valor es de $15,99 \pm 11,2$ min. y en el grupo control postéctasis (G_3) $14,18 \pm 5,98$ min. no habiendo significación estadística ($p > 0,05$ n.s.). En los enfermos basales (G_2) el valor es de $72,16 \pm 44,4$ y en los enfermos postéctasis (G_4) $55,65 \pm 40,6$, $p > 0,05$ n.s. En la gráfica XVI observamos que el valor de los controles basales (G_1) es significativamente inferior a los enfermos basales (G_2), con un comportamiento similar de enfermos postéctasis (G_4) respecto a controles postéctasis (G_3) $p < 0,005$ y $p < 0,001$ respectivamente.

Los valores de grupo A basal (G_{2A}) son de $76,45 \pm 48,04$ y en grupo A postéctasis (G_{4A}) $65,93 \pm 42,45$ ($p > 0,05$ n.s.). En el grupo C basal (G_{2C}) $61,61 \pm 38,12$ y en el grupo C postéctasis (G_{4C}) $44,05 \pm 36,30$ ($p > 0,05$ n.s.). En la tabla 17 vemos que el grupo control basal (G_1) es significativamente menor al grupo A y grupo C basal $p < 0,001$, mientras que no es significativa la diferencia entre estos dos últimos $p > 0,05$ n.s.

El grupo control postéctasis (G_3) es significativamente inferior $p < 0,001$ al grupo A postéctasis (G_{4A}) y Grupo C postéctasis (G_{4C}) no hay diferencia estadística entre los dos últimos $p > 0,05$ n.s. (gráfica XVII).

El valor de los enfermos basales del grupo A ampliado (G_{2Aa}) es de $72,16 \pm 47,9$ y en el grupo C basal ampliado

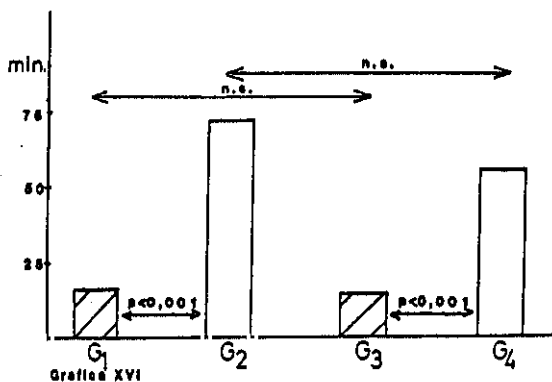
(G₂Ca) es de 72,16 ± 46,68 ambos grupos son significativamente superiores al grupo control basal (G₁) p<0,001, (tabla 18).

En el grupo A ampliado postéctasis (G₄Aa) el valor es de 56,89 ± 38,5 y en el grupo Ca ampliado postéctasis (G₄Ca) 54,62 ± 43,3 ambos grupos son significativamente superiores al grupo control postéctasis (G₃) p<0,001 (tabla 18 y gráfica XVIII).

ACTIVIDAD FIBRINOLITICA POR KAOLIN

TABLA 16

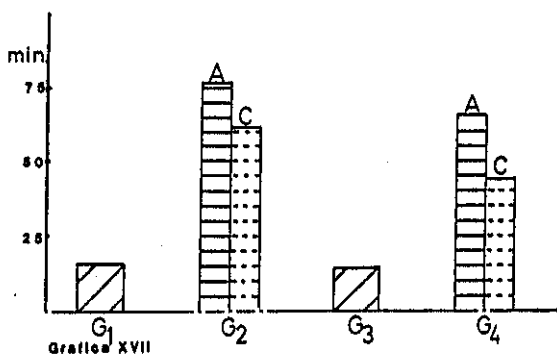
	n	\bar{x}	DS
Control Basal (G ₁)	15	15,99	11,20
Enfermos Basal (G ₂)	33	72,16	44,44
Control PE (G ₃)	15	14,18	5,98
Enfermos PE (G ₄)	33	55,65	40,60
Enfermos "A" Basal (G ₂ A)	10	76,45	48,04
Enfermos "A" PE (G ₄ A)	10	65,93	42,45
Enfermos "C" Basal (G ₂ C)	13	61,61	38,18
Enfermos "C" PE (G ₄ C)	13	44,05	36,30
Enfermos "Aa" Basal (G ₂ Aa)	15	72,16	47,98
Enfermos "Aa" PE (G ₄ Aa)	15	56,89	38,51
Enfermos "Ca" Basal (G ₂ Ca)	18	72,16	42,65
Enfermos "Ca" PE (G ₄ Ca)	18	54,62	43,35



ACTIVIDAD FIBRINOLITICA POR KAOLIN

TABLA 17

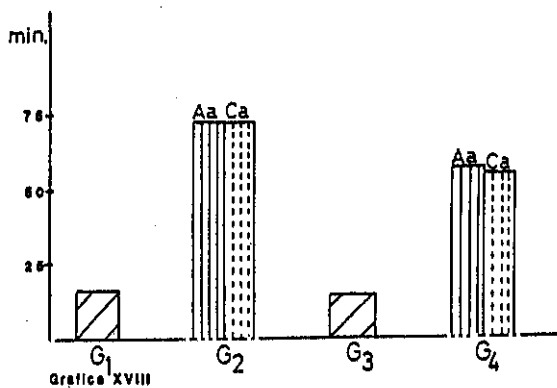
G ₁ - G _{2A} :	p<0,001
G ₁ - G _{2C} :	p<0,001
G _{2A} - G _{4A} :	n. s.
G _{2C} - G _{4C} :	n. s.
G _{2A} - G _{2C} :	n. s.
G _{4A} - G _{4C} :	n. s.
G ₃ - G _{4A} :	p<0,001
G ₃ - G _{4C} :	p<0,005



ACTIVIDAD FIBRINOLITICA POR KAOLIN

TABLA 18

G₁ - G₂Aa: p<0,001
G₃ - G₄Aa: p<0,001
G₁ - G₂Ca: p<0,001
G₃ - G₄Ca: p<0,002



PRECALICREINA COAGULANTE

En la tabla 19 vemos los valores de precalicreina coagulante expresada en %. En el grupo control basal (G_1) el valor es de $76 \pm 20\%$ y en el grupo control postéctasis (G_3) el valor es de $82 \pm 24\%$ y no existe diferencia estadística entre ambos $p > 0,5$ n.s. En los enfermos basales (G_2) el valor es de $26 \pm 24\%$ y en enfermos postéctasis (G_4) es $28 \pm 24\%$, $p > 0,05$ n.s. En la gráfica XIX observamos diferencia entre el grupo basal control (G_1) y basal enfermos (G_2) con $p < 0,001$ y entre el grupo control postéctasis (G_3) y enfermos postéctasis (G_4) $p < 0,001$.

En la tabla 19 y 20 observamos los valores de los enfermos del grupo A basal (G_{2A}) $45 \pm 34\%$ y el postéctasis del mismo grupo (G_{4A}) $50 \pm 29\%$ ($p > 0,05$ n.s.). En el grupo C basal (G_{2C}) el valor hallado es de $11 \pm 9\%$ y el postéctasis (G_{4C}) $13 \pm 10\%$ ($p > 0,05$ n.s.). El grupo control (G_1) es estadísticamente superior $p < 0,01$ y $p < 0,001$ a los grupos basales (G_{2A} y G_{2C}), viéndose también diferencia estadística entre estos dos, $p < 0,005$.

En tabla 20 y Gráfica XX observamos que el grupo control postéctasis (G_3) es significativamente superior a los grupos A y C postéctasis (G_{4A} y G_{4C}) $p < 0,01$ y $p < 0,001$, siendo también significativa la diferencia entre estos dos últimos $p < 0,001$.

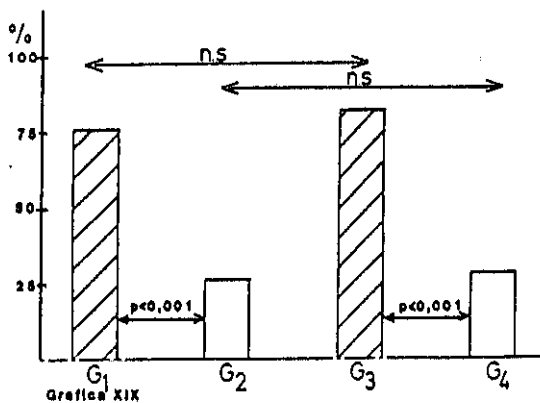
En los enfermos del grupo A ampliado basal (G_{2Aa}) obtenemos un valor de $40 \pm 30\%$ y en el grupo C ampliado basal (G_{2Ca}) $14 \pm 9\%$ ambos grupos son significativamente

inferiores al grupo control basal (G_1) $p < 0,001$ (tabla 21). Los valores postéctasis del grupo A ampliado (G_{4Aa}) son de $44 \pm 26\%$ y en el grupo C ampliado postéctasis (G_{4Ca}) $15 \pm 10\%$ ambos significativamente inferior al grupo control postéctasis (G_3) $p < 0,001$ (tabla 21 y gráfica XXI).

PRECALICREINA CCAGULANTE

TABLA 19

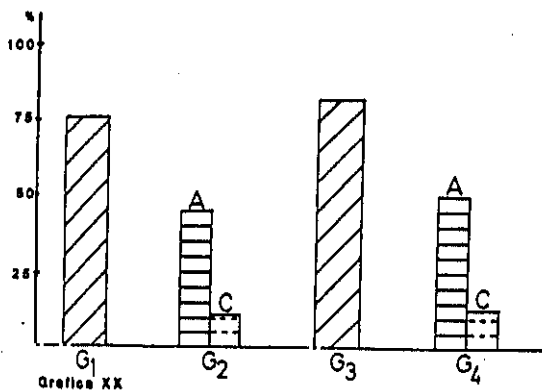
	n	\bar{x}	DS
Control Basal (G ₁)	15	0,76	0,20
Enfermos Basal (G ₂)	33	0,26	0,24
Control PE (G ₃)	15	0,82	0,24
Enfermos PE (G ₄)	33	0,28	0,24
Enfermos "A" Basal (G _{2A})	10	0,45	0,34
Enfermos "A" PE (G _{4A})	10	0,50	0,29
Enfermos "C" Basal (G _{2C})	13	0,11	0,09
Enfermos "C" PE (G _{4C})	13	0,13	0,10
Enfermos "Aa" Basal (G _{2Aa})	15	0,40	0,30
Enfermos "Aa" PE (G _{4Aa})	15	0,44	0,26
Enfermos "Ca" Basal (G _{2Ca})	18	0,14	0,09
Enfermos "Ca" PE (G _{4Ca})	18	0,15	0,10



PRECALICREINA COAGULANTE

TABLA 29

G ₁ - G ₂ A :	p < 0,01
G ₁ - G ₂ C :	p < 0,001
G ₂ A - G ₄ A :	n.s.
G ₂ C - G ₄ C :	n.s.
G ₂ A - G ₂ C :	p < 0,005
G ₄ A - G ₄ C :	p < 0,001
G ₃ - G ₄ A :	p < 0,01
G ₃ - G ₄ C :	p < 0,001



PRECALICREINA COAGULANTE

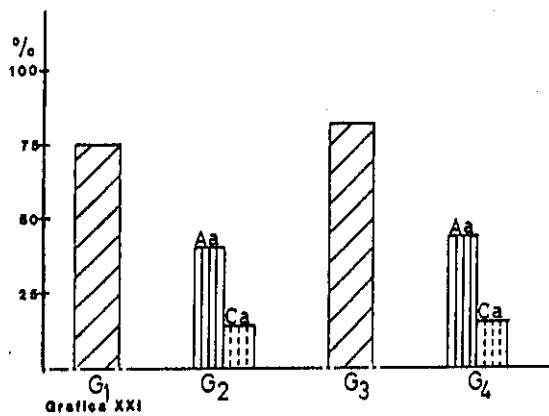
TABLA 21

G₁ - G₂Aa: p<0,001

G₃ - G₄Aa: p<0,001

G₁ - G₂Ca: p<0,001

G₃ - G₄Ca: p<0,001



GLICOPROTEINA RICA EN HISTIDINA (HRGP)

En la tabla 22 observamos los valores de la HRGP expresados en %. En el grupo control basal (G_1) es de $82 \pm 24\%$ y en el control postéctasis (G_3) de $97 \pm 50\%$. No hay diferencia estadística entre ambos grupos ($p > 0,05$ n.s.). En los enfermos basales (G_2) el valor hallado es de $55 \pm 23\%$ y en enfermos postéctasis (G_4) $58 \pm 27\%$, $p > 0,05$ n.s. Si hay diferencia significativa entre control basal (G_1) y enfermos basal (G_2) $p < 0,001$ y de la misma forma entre control postéctasis (G_3) y enfermos postéctasis (G_4) $p < 0,002$ (gráfica XXII).

En las tablas 22 y 23 observamos en los enfermos del grupo A basal (G_{2A}) un valor de $59 \pm 17\%$ y en postéctasis grupo A (G_{4A}) un valor de $60 \pm 24\%$ no existe diferencia estadística entre ellos ($p > 0,05$ n.s.). En el grupo C basal (G_{2C}) obtenemos $45 \pm 18\%$ y en el C postéctasis (G_{4C}) $50 \pm 19\%$ ($p > 0,05$ n.s.).

El grupo control basal (G_1) es significativamente superior al grupo basal A (G_{2A}) $p < 0,02$, y al grupo C basal (G_{2C}) $p < 0,001$. No hay diferencia estadística entre los grupos basales A y C (G_{2A} y G_{2C}), $p > 0,05$ n.s.

El grupo control postéctasis (G_3) es superior ($p < 0,05$) al grupo A postéctasis (G_{4A}) y al grupo C postéctasis (G_{4C}) ($p < 0,005$). No hay diferencia estadística entre grupo A postéctasis y grupo C postéctasis $p > 0,05$ n.s. (gráfica XXIII).

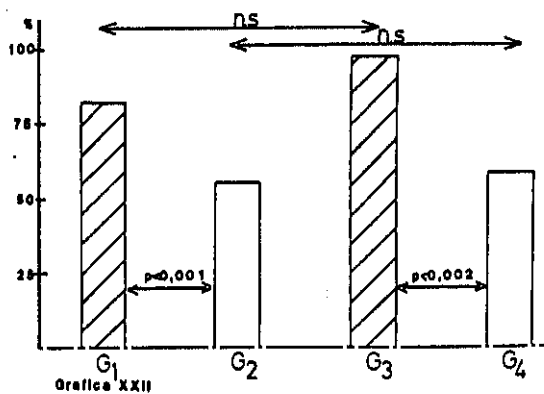
En los enfermos del grupo A ampliado basal (G_{2Aa}) el valor es $63 \pm 20\%$ y en el grupo C ampliado basal (G_{2Ca}) $48 \pm 24\%$ siendo ambos significativamente inferiores al grupo control basal (G_1) $p < 0,05$ y $p < 0,001$ respectivamente (tabla 24).

En los enfermos postéstasis grupo A ampliado (G_{4Aa}) el valor hallado es de $66 \pm 28\%$ y en el grupo C ampliado postéstasis (G_{4Ca}) $52 \pm 26\%$ ambos son inferiores $p < 0,05$ y $p < 0,001$ al grupo control postéstasis (G_3) (tabla 24 y gráfica XXIV).

GLICOPROTEINA RICA EN HISTIDINA (HRGP)

TABLA 22

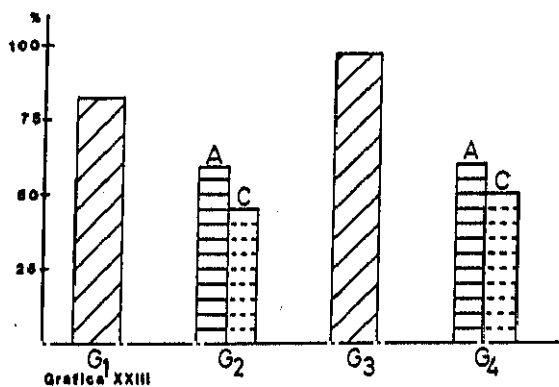
	n	\bar{x}	DS
Control Basal (G ₁)	15	0,82	0,24
Enfermos Basal (G ₂)	33	0,55	0,23
Control PE (G ₃)	15	0,97	0,50
Enfermos PE (G ₄)	33	0,58	0,27
Enfermos "A" Basal (G ₂ A)	10	0,59	0,17
Enfermos "A" PE (G ₄ A)	10	0,60	0,24
Enfermos "C" Basal (G ₂ C)	13	0,45	0,18
Enfermos "C" PE (G ₄ C)	13	0,50	0,19
Enfermos "Aa" Basal (G ₂ Aa)	15	0,63	0,20
Enfermos "Aa" PE (G ₄ Aa)	15	0,66	0,28
Enfermos "Ca" Basal (G ₂ Ca)	18	0,48	0,24
Enfermos "Ca" PE (G ₄ Ca)	18	0,52	0,26



GLICOPROTEINA RICA EN HISTIDINA (HRGP)

TABLA 23

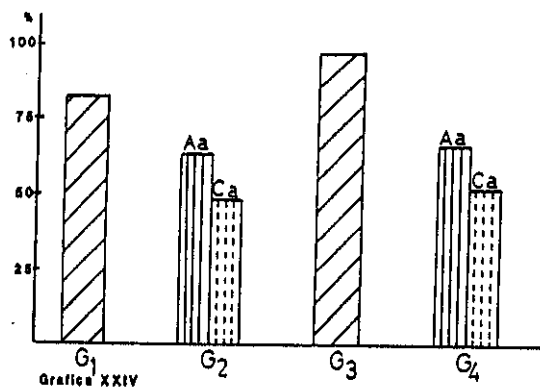
G ₁ - G ₂ A :	p<0,02
G ₁ - G ₂ C :	p<0,001
G ₂ A - G ₄ A :	n.s.
G ₂ C - G ₄ C :	n.s.
G ₂ A - G ₂ C :	n.s.
G ₄ A - G ₄ C :	n.s.
G ₃ - G ₄ A :	p<0,05
G ₃ - G ₄ C :	p<0,005



GLICOPROTEINA RICA EN HISTIDINA (HRGP)

TABLA 24

G ₁ - G ₂ Aa:	p<0,05
G ₃ - G ₄ Aa:	p<0,05
G ₁ - G ₂ Ca:	p<0,001
G ₃ - G ₄ Ca:	p<0,005



C₁ INHIBIDOR ANTIGENICO

En la tabla 25 observamos un valor de C₁ inhibidor Ag en controles basales (G₁) de 101 ± 8% y postéctasis (G₃) 100 ± 6% con p>0,05 n.s. En los enfermos basales (G₂) el valor es de 89 ± 9% y en los enfermos postéctasis (G₄) 91 ± 8% p>0,05 n.s. Si hay diferencia significativa entre control y enfermos basal de la misma forma que entre control postéctasis y enfermos postéctasis (p<0,001) (gráfica XXV).

En la tabla 25 también observamos el valor del grupo A basal (G_{2A}) 93 ± 7% y grupo A postéctasis (G_{4A}) 94 ± 9% p>0,05 n.s. En el grupo C basal (G_{2C}) obtenemos 84 ± 7% y en el grupo C postéctasis (G_{4C}) 88 ± 8%, p>0,05 n.s. El grupo control basal (G₁) es significativamente superior p<0,05, al grupo A basal (G_{2A}) y al grupo C basal (G_{2C}) p<0,001. También hay diferencia significativa entre los dos últimos p<0,02. El grupo control postéctasis (G₃) es significativamente superior p<0,001 al grupo C postéctasis (G_{4C}). No hay diferencia significativa entre grupo control postéctasis (G₃) y Grupo A postéctasis (G_{4A}), ni entre este último con el grupo C postéctasis (G_{4C}), p>0,05 n.s. (tabla 26 y gráfica XXVI).

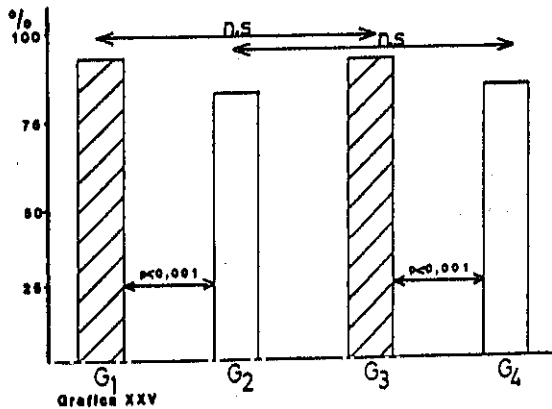
En los enfermos del grupo A basal ampliado (G_{2Aa}) el valor medio es 91 ± 10% y en el grupo C basal ampliado (G_{2Ca}) 87 ± 8 ambos son inferiores p<0,01 y p<0,001 al grupo control basal (G₁). En el grupo A ampliado postéctasis (G_{4Aa}) obtenemos un valor 92 ± 8% y en el grupo C ampliado postéctasis (G_{4Ca}) 90 ± 9. Ambos son significa-

tivamente inferiores al grupo control postéctasis (G₃)
p<0.01 y p<0.001 respectivamente (tabla 27 y gráfica
XXVII).

C₁ INHIBIDOR ANTIGENICO

TABLA 25

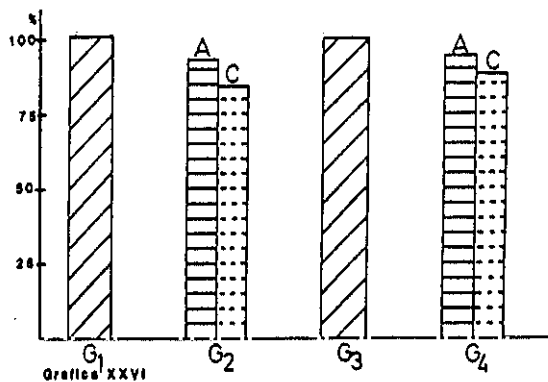
	n	\bar{X}	DS
Control Basal (G ₁)	15	1,01	0,08
Enfermos Basal (G ₂)	33	0,89	0,09
Control PE (G ₃)	15	1,00	0,06
Enfermos PE (G ₄)	33	0,91	0,08
Enfermos "A" Basal (G _{2A})	10	0,93	0,07
Enfermos "A" PE (G _{4A})	10	0,94	0,09
Enfermos "C" Basal (G _{2C})	13	0,84	0,07
Enfermos "C" PE (G _{4C})	13	0,88	0,08
Enfermos "Aa" Basal (G _{2Aa})	15	0,91	0,10
Enfermos "Aa" PE (G _{4Aa})	15	0,92	0,09
Enfermos "Ca" Basal (G _{2Ca})	18	0,87	0,08
Enfermos "Ca" PE (G _{4Ca})	18	0,90	0,09



C₁ INHIBIDOR ANTIGENICO

TABLA 26

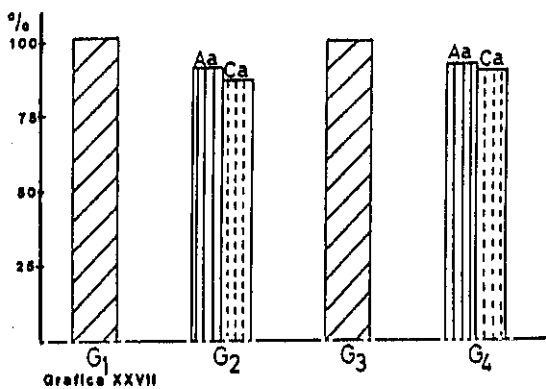
G ₁ - G ₂ A :	p<0,05
G ₁ - G ₂ C :	p<0,001
G ₂ A - G ₄ A :	n. s.
G ₂ C - G ₄ C :	n. s.
G ₂ A - G ₂ C :	p<0,02
G ₄ A - G ₄ C :	n. s.
G ₃ - G ₄ A :	n. s.
G ₃ - G ₄ C :	p<0,001



G₁ INHIBIDOR ANTIGENICO

TABLA 27

G₁ - G₂Aa: p<0,01
G₃ - G₄Aa: p<0,01
G₁ - G₂Ca: p<0,001
G₃ - G₄Ca: p<0,001



ACTIVADOR TISULAR DEL PLASMINOGENO (t-PA)

En la tabla 28 observamos que el valor de t-PA en controles basales (G_1) es de $2,84 \pm 1,67$ ng/ml y en controles postéctasis (G_3) $12 \pm 9,7$ ng/ml siendo este superior estadísticamente al (G_1) $p < 0,002$. En los enfermos basales (G_2) el valor de t-PA es de $13,8 \pm 10,33$ ng/ml y en los mismos enfermos postéctasis (G_4) el valor es de $26,24 \pm 18,47$ ng/ml siendo el valor del grupo de enfermos postéctasis (G_4) significativamente superior al basal (G_2) $p < 0,05$. También observamos diferencia significativa entre el grupo basal control (G_1) y el grupo de enfermos basal (G_2) con ($p < 0,01$). No obtenemos diferencia significativa entre el grupo control postéctasis (G_3) y enfermos postéctasis (G_4).

En la tabla 28 vemos que el valor de t-PA en el grupo A basal (G_{2A}) de $6,86 \pm 5,19$ ng/ml y en el mismo grupo A postéctasis (G_{4A}) $15,53 \pm 10,63$ ng/ml. Observamos una diferencia estadísticamente significativa entre el grupo control postéctasis (G_3) y el grupo A postéctasis (G_{4A}) $p < 0,001$. No hay diferencia entre grupo A basal (G_{2A}) y el grupo control basal (G_1). Si observamos diferencia significativa entre grupo A basal (G_{2A}) y grupo A postéctasis (G_{4A}), $p < 0,05$. (tabla 29).

En el grupo C basal (G_{2C}) el valor de t-PA obtenido es de $20 \pm 19,11$ ng/ml y en el mismo grupo el valor postéctasis (G_{4C}) es de $35,65 \pm 18,7$ ng/ml. Obtenemos una diferencia significativa entre el grupo control basal (G_1) y el grupo C basal (G_{2C}) $p < 0,05$ y entre control postéctasis

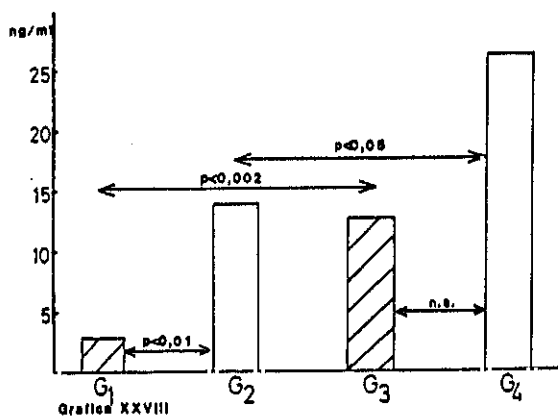
(G₃) Grupo C postéstasis (G₄C), $p < 0,001$.

No obtenemos diferencia significativa estadísticamente entre enfermos basales del grupo A (G₂A) y del grupo C (G₂C), pero si es significativamente superior el valor del grupo C postéstasis (G₄C) respecto al grupo A postéstasis (G₄A) $p < 0,05$, (tabla 29 y gráfica XXIX). No obtenemos diferencia estadística significativa entre grupo C basal (G₂C) y grupo C postéstasis (G₄C).

ACTIVADOR TISULAR DEL PLASMINOGENO (t-PA)

TABLA 28

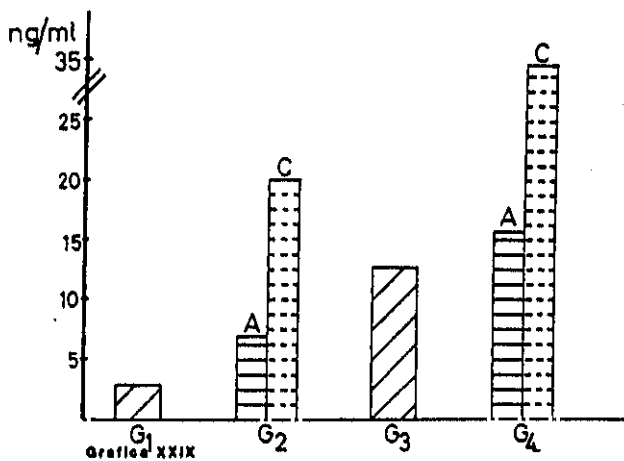
	n	\bar{x}	DS
Control Basal (G ₁)	7	2,84	1,67
Enfermos Basal (G ₂)	14	13,8	10,33
Control PE (G ₃)	7	12,0	9,7
Enfermos PE (G ₄)	14	26,24	18,47
Enfermos "A" Basal (G ₂ A)	6	6,86	5,19
Enfermos "A" PE (G ₄ A)	6	15,53	10,63
Enfermos "C" Basal (G ₂ C)	7	20,0	19,11
Enfermos "C" PE (G ₄ C)	7	35,65	18,7



ACTIVADOR TISULAR DEL PLASMINOGENO (t-PA)

TABLA 29

G ₁ - G ₂ A :	n.s.
G ₁ - G ₂ C :	p<0,05
G ₂ A - G ₄ A :	p<0,05
G ₂ C - G ₄ C :	n.s.
G ₂ A - G ₂ C :	n.s.
G ₄ A - G ₄ C :	p<0,05
G ₃ - G ₄ A :	p<0,001
G ₃ - G ₄ C :	p<0,02



INHIBIDOR DEL ACTIVADOR TISULAR DEL PLASMINOGENO (PAI-1)

En la tabla 30 vemos un valor de PAI-1 Ag en el grupo control basal (G_1) de $7,8 \pm 2,51$ ng/ml y en control postéctasis (G_3) $9,65 \pm 4,46$ ng/ml y observamos que no hay diferencia estadísticamente significativa. En los enfermos basales (G_2) el valor es de $10,33 \pm 8,2$ ng/ml y en enfermos postéctasis (G_4) $11,9 \pm 11,07$ ng/ml, no obtenemos diferencia estadística significativa entre G_2 y G_4 y tampoco respecto a los controles. (gráfica XXX).

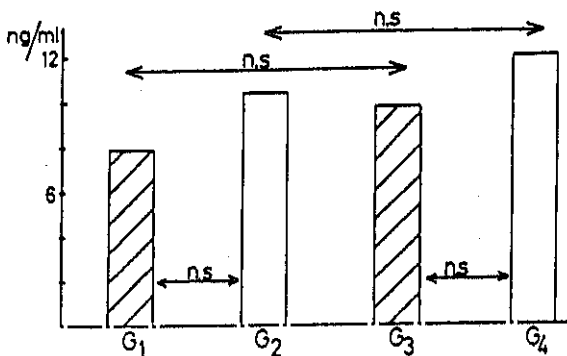
En los enfermos del grupo A basal (G_2A) el valor de PAI Ag es de $6,96 \pm 4,58$ ng/ml y en el mismo grupo postéctasis (G_4A) el valor es de $7,84 \pm 4,61$ ng/ml (n.s.), no obtenemos diferencia significativa entre el grupo A y los controles tanto basal como postéctasis (tabla 31).

En los enfermos del grupo C basal (G_2C) el valor del PAI Ag es de $13,84 \pm 8,97$ ng/ml y en grupo C postéctasis (G_4C) $15,27 \pm 13,55$ ng/ml (n.s.) tampoco hay diferencia significativa respecto al grupo A, ni con respecto a los controles (gráfica XXXI y tabla XXXI).

INHIBIDOR DEL ACTIVADOR TISULAR DEL PLASMINOGENO (PAI-1)

TABLA 30

	n	x	DS
Control Basal (G ₁)	7	7,8	2,51
Enfermos Basal (G ₂)	14	10,33	8,2
Control PE (G ₃)	7	9,65	4,46
Enfermos PE (G ₄)	14	11,9	11,07
Enfermos "A" Basal (G ₂ A)	6	6,96	4,58
Enfermos "A" PE (G ₄ A)	6	7,84	4,61
Enfermos "C" Basal (G ₂ C)	7	13,84	8,97
Enfermos "C" PE (G ₄ C)	7	15,27	13,55

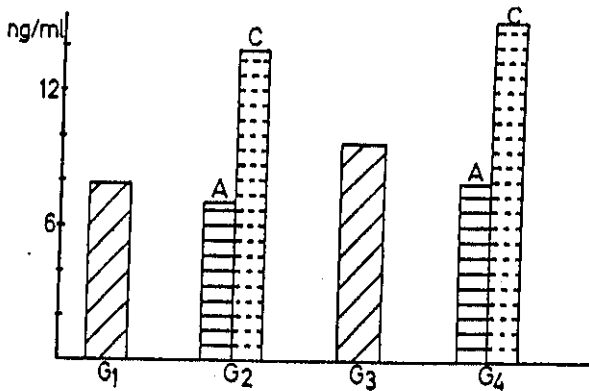


Gráfica XXX

INHIBIDOR DEL ACTIVADOR TISULAR DEL PLASMINOGENO (PAI-1)

TABLA 31

G ₁ - G _{2A} :	n. s.
G ₁ - G _{2C} :	n. s.
G _{2A} - G _{4A} :	n. s.
G _{2C} - G _{4C} :	n. s.
G _{2A} - G _{2C} :	n. s.
G _{4A} - G _{4C} :	n. s.
G ₃ - G _{4A} :	n. s.
G ₃ - G _{4C} :	n. s.



5.DISCUSION Y COMENTARIOS

DISCUSION

Para la discusión de los resultados presentados anteriormente vamos a seguir el mismo orden que utilizamos en la exposición de los mismos, analizándolos de forma individualizada para posteriormente realizar unos comentarios en conjunto.

PLASMINOGENO

El valor de plasminógeno en los controles fué de $85 \pm 10\%$ en situación basal y de $88 \pm 18\%$ en la postéstasis, los valores son similares a los encontrados en la literatura para el método cromogénico. En el grupo global de enfermos basal (G_2) el valor medio fué $56 \pm 23\%$ y en postéstasis (G_4) $62 \pm 26\%$ los valores basales del G_2 son similares a los hallados en las C.H. severas (17), y posteriormente en las C. Alcohólicas (14). Otros autores (16, 60) observan descenso del plasminógeno en los enfermos cirróticos post-electroshock o inyección de ácido nicotínico, este descenso es superior al encontrado en los controles. Nosotros no hemos utilizado esta metódica, pero tras la oclusión venosa no hemos observado descenso del plasminógeno en ningún grupo de enfermos o controles. Posiblemente la activación de fibrinólisis mediante el ácido nicotínico o el electroshock sea más intensa y mantenida que tras los 10 minutos de oclusión venosa.

En el grupo Aa basal los valores fueron de $66 \pm 24\%$ y en el Ca basal de $44.5 \pm 19\%$ ambos significativamente infe-

riores al grupo control $p < 0.02$ y $p < 0.001$ respectivamente. Los valores postoclusión fueron de $73.4 \pm 28\%$ en el Aa y $52.8 \pm 20\%$ en el Grupo Ca significativamente inferiores al grupo control postéstasis ($p < 0.001$).

Al hacer la clasificación de los enfermos según Child, vemos en el grupo A basal un valor de $73 \pm 27\%$ y en el grupo C basal de $43 \pm 18\%$ encontrando una diferencia significativa entre ellos $p < 0.005$. No existe diferencia entre el grupo A basal y el grupo control basal. Estos hallazgos son similares a los obtenidos por Brackman (19) donde en el grupo de CH moderadas los valores no difieren de los controles mientras que en las CH severas el valor desciende de forma importante respecto a los controles. También nuestros valores concuerdan con los hallados por Fontcuberta (62) en las CH severas y posteriormente otros autores (113), obtiene resultados similares a los nuestros en el grupo A ($69 \pm 13\%$). El mismo autor describe en otro artículo (112) resultados similares en el grupo C 41% y Boks (14) en el grupo C obtiene un valor de $46 \pm 17\%$.

Entre los valores postoclusión del grupo A $79 \pm 33\%$ y el grupo C $47 \pm 18\%$ hay una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.001$), y también respecto al control postéstasis ($p < 0.02$ y $p < 0.001$).

Por los resultados obtenidos podemos ver que el descenso del plasminógeno se observa en todos los grupos de enfermos, siendo éste más importante en los casos de insuficiencia hepática más severa, estos datos nos confirman el

déficit de síntesis en caso de CH, ya que no hay que olvidar que el plasminógeno es de síntesis hepática.

Algunos autores (177) observaron que el turnover no estaba aumentado, en enfermos cirróticos respecto a controles sanos aunque la vida media del plasminógeno estaba descendido respecto a los controles, por lo que atribuía este descenso bien a una activación o a la existencia de proteasas distintas al sistema fibrinolítico convencional.

ALFA₂ ANTIPLASMINA

Los valores de alfa₂ AP determinados por nosotros en el grupo control basal G₁ son de $92 \pm 24\%$ y en el grupo control postéctasis (G₃) $98 \pm 23\%$. En el grupo global de enfermos basal (G₂) $71 \pm 33\%$ y en postéctasis (G₄) $74 \pm 29\%$. Hay diferencia significativa entre control y enfermos basales ($p < 0,05$) y entre control y enfermos PE ($p < 0,01$) no siendo significativa la diferencia entre basal y postéctasis en cada uno de los grupos. Este resultado no nos sorprende ya que la alfa₂ AP no se estimula con la oclusión venosa ni con fármacos que influyan en el proceso fibrinolítico (60).

En el grupo Aa basal (G₂Aa) el valor es de $89 \pm 30\%$ y en el postéctasis (G₄Aa) $91 \pm 26\%$ no habiendo diferencia significativa respecto a controles basal o postéctasis ($p > 0,5$ n.s). En el grupo Ca basal (G₂Ca) $56 \pm 29\%$ y en el postéctasis (G₄Ca) el valor es de $60 \pm 23\%$ ambos con diferencia significativa respecto a los grupos control basal y post-éctasis (G₁ y G₃) $p < 0,001$.

En el grupo A basal (G₂) el valor de Alfa₂ AP es de $90 \pm 23\%$ y en el postéctasis (G_{4A}) $93 \pm 19\%$. No difiere significativamente del grupo control ($p > 0,05$ n.s.). Valores similares encontramos en la literatura (6) en el caso de CH compensada, aunque ellos lo determinaban por método inmunológico, pero posteriormente otros autores (84) obtienen valores superponibles a los hallados por nosotros utilizando el mismo método y en enfermos con las mismas características, observando correlación entre alfa₂ AP, fibrinógeno y PAI, pero no con la albumina sérica, otros autores (91) obtienen únicamente correlación entre PAI y albumina.

En el grupo C basal obtenemos un valor de $56 \pm 24\%$ y en el postéctasis (G_{4C}) de $56.5 \pm 22\%$. Hay diferencia significativa con respecto al grupo control basal y postéctasis ($p < 0,001$) y también con el grupo A basal ($p < 0,01$) y PE ($p < 0,001$). Estos valores ya los enumeran distintos autores (6, 16, 14). Posteriormente otros (113) obtienen correlación entre alfa₂ AP y Alb en los enfermos del grupo C de Child, con valores de alfa₂ AP similares a los nuestros. Esto corroboraría la hipótesis de Aoki (6) que el descenso de alfa₂ AP es proporcional al grado de desestructuración hepática ya que en caso de Ictericia obstructiva, Enfermedad de Banti y hepatitis crónica agresiva o persistente los valores hallados no eran tan bajos como en caso de cirrosis hepática descompensada, debido a que la alfa₂ AP es de síntesis hepatocítica tal como demostró Yamanaka (199) con Ac marcados con fluoresceína en el citoplasma de células del parenquima hepático y posteriormente en 1982 Saito y cols (166) observan en líneas celulares hepáticas derivadas de hepatocarcinoma y hepatoblastoma,

HEPG₂, HEP3B y PLC/PRF/5 producción y secreción de alfa₂ AP. Aunque sean células tumorales parece que estas líneas celulares mantienen las características originales de los hepatocitos.

ANTITROMBINA III

Los valores de ATIII en el control basal (G₁) son de 94 ± 15% y postéctasis (G₃) 125 ± 19%. Hay una diferencia significativa entre ambos (p<0,001).

En el grupo de enfermos basal (G₂) el valor de ATIII es de 53 ± 28% PE (G₄) 56 ± 31%, no hay diferencia entre basal y postéctasis, pero si respecto a los controles (p<0,001). Estos valores bajos concuerdan con los encontrados en la literatura (62, 57). Al agrupar los enfermos según su grado de insuficiencia hepática observamos en el grupo A basal (G_{2A}) un valor de 77 ± 17% y en postéctasis (G_{4A}) de 83 ± 23%. Ambos son ligeramente inferiores al grupo control basal (p<0,02) y al grupo control postéctasis (p<0,001).

En el grupo Aa basal (G_{2Aa}) obtenemos un valor de 69 ± 19% y en PE (G_{4Aa}) 76 ± 23% ambos son inferiores al grupo control.

Valores más bajos los obtenemos en los enfermos de mayor grado de insuficiencia hepática, grupo C, ya que en el basal (G_{2C}) el valor es de 37 ± 28% y en postéctasis (G_{4C}) de 39 ± 30%. En el grupo Ca (G_{2Ca}) el valor es

de $39 \pm 27\%$ y en PE (G_4Ca) de $40 \pm 28\%$, ambos son significativamente inferiores al grupo control tanto basal como postéctasis ($p < 0,001$).

Estos valores concuerdan con los encontrados en la literatura, tanto en el grupo global como en el grupo de mayor grado de insuficiencia hepática (14, 62). No hemos encontrado referencias sobre valores de ATIII tras compresión venosa, esto en parte es razonable ya que el estudio postéctasis se efectúa para valorar la respuesta fibrinolítica y la antitrombina III no es un parámetro propio de la fibrinólisis. Nosotros lo hemos determinado ya que siempre se había aceptado que la ATIII estaba baja en la Cirrosis hepática y se correlacionaba con el grado de insuficiencia hepática a pesar de no ser de síntesis hepatocítica.

Al estar la ATIII descendida en la cirrosis hepática, se aceptaba que era por defecto de síntesis, pero en 1979 Lee (111), en estudios de inmunofluorescencia en hepatocitos, no logra identificar ATIII, pero si detectó ATIII en tejido vascular y perivascular de hígado, riñón y pulmón. Posteriormente otros autores (58) obtienen ATIII en líneas celulares de hepatoma humano, pero no está claro que sean células hepáticas normales ya que son incapaces de sintetizar FIX (factor de coagulación de síntesis hepática).

Nosotros creemos que la hipótesis de Chan y Chan (40) en la que sugiere que la síntesis de ATIII es de origen endolelial, sea la más acertada en el momento actual ya que ésto nos explicaría el porque los valores de ATIII en los

controles estén más altos tras compresión venosa, al existir liberación de la misma desde la célula endolelial al torrente circulatorio. Esto no ocurre igual en los enfermos, pues creemos que los valores bajos de ATIII en la cirrosis hepática es debido a una activación de la coagulación con consumo de la misma y, a pesar del éstasis venoso, este estímulo no es suficiente para aumentarla.

Know y cols (102) observan un descenso de ATIII en las cirrosis hepáticas y en el estudio dinámico realizado concluye que el descenso de ATIII es debido a una alteración del flujo capilar que se observa en las cirrosis y que éste es más importante cuanto mayor sea el grado de insuficiencia hepática.

LISIS DEL PLASMA EN PLACA DE FIBRINA (ALP)

En los controles basales (G_1) obtenemos un área media de $14.49 \pm 27.79 \text{ mm}^2$ (rango 0-73), en controles postéstasis (G_3) $66.63 \pm 31.83 \text{ mm}^2$ (rango 27,56 - 128,70), hay una diferencia estadística entre ambos $p < 0,001$. El valor máximo obtenido en un control basal 73 mm^2 coincide con el valor máximo P.E. de 128.70 mm^2 en el mismo sujeto sano en el cual también observamos los valores máximo de t-PA Ag tanto basal 5 ng/ml como postéstasis 15.3 ng/ml , sin ser los valores de PAI tan elevados, 4.7 ng/ml .

En los enfermos basales (G_2) el valor medio es $44.62 \pm 37.15 \text{ mm}^2$ (rango 0-139.24) y en los enfermos postéstasis (G_4) $97.55 \pm 55.10 \text{ mm}^2$ (rango 0-205.9). En el

enfermo que obtenemos el valor máximo postéstasis observamos un t-PA Ag de 63.5 ng/ml con PAI de 8.2 ng/ml. En situación basal, el área de lisis de este enfermo es de 104.03 mm² con t-PA Ag de 20.3 ng/ml y PAI de 13.2 ng/ml por lo que podríamos atribuir el aumento del área de lisis a la salida importante de t-PA tras oclusión venosa, sin que se corresponda de forma paralela un aumento de PAI postéstasis. Es estadísticamente significativa ($p < 0,001$) la diferencia entre basal y postéstasis en el grupo de enfermos y entre éstos y los controles tanto en situación basal ($p < 0,01$) como postéstasis ($p < 0,05$).

En la lisis de plasma en placa de fibrina, son múltiples los factores que intervienen, ya que están presentes activadores e inhibidores del activador del plasminógeno y de la plasmina (Alfa₂AP) no siempre con variaciones regulares y comportamiento similar en todos los individuos, ya que el grado de funcionalismo hepático es muy distinto dentro del grupo global de enfermos, y en el plasma total están presentes las distintas proteasas de la vía intrínseca e extrínseca de la fibrinólisis.

En el grupo A basal (G₂A) el valor medio es de 41,50 ± 35,39 mm² (rango 0-80,9) y en el grupo A postéstasis (G₄A) 102,2 ± 55,12 mm² (rango 0-175,36), siendo significativa la diferencia entre ambos ($p < 0,001$) y entre control basal (G₁), $p < 0,05$. No hay diferencia significativa entre grupo A postéstasis (G₄A) y control postéstasis (G₃). El enfermo que presenta un valor máximo de área de lisis de plasma en el postéstasis, 175,36 mm² presenta un t-PA Ag de 30,5 ng/ml con un PAI de 3,6 y en

condiciones basales el valor de tPA-Ag es de 10,2 ng/ml con un PAI de 1,2 ng/ml, siendo el resto de parámetros similares en basal y postéctasis, por lo que a la vista del resultado de t-PA Ag podemos decir que este es el que más influye en el área de lisis del plasma en placa de fibrina, ya que el principal inhibidor, alfa 2 antiplasmina no varía su valor en basal o postéctasis. Podemos considerar a este grupo de enfermos como de buena respuesta fibrinolítica.

En el grupo C basal (G₂C) el valor fué de $45,6 \pm 38,9 \text{ mm}^2$ (rango 0-139,24) y en el postéctasis del mismo grupo (G₄C) $88,1 \pm 58,8 \text{ mm}^2$ rango (0-205,9). La diferencia es estadísticamente significativa entre ambos grupos ($p < 0,05$) de la misma forma lo es el grupo C basal (G₂C) respecto al grupo control basal (G₁) ($p < 0,02$). No obtenemos diferencia estadística entre el grupo C postéctasis (G₄C) y el grupo control postéctasis (G₃).

Al observar los resultados individualmente llama la atención el área de lisis del plasma en una enferma que tanto basal como postéctasis está en el rango inferior (no lisis en la placa) con valor basal de t-PA Ag de 17 ng/ml y PAI Ag 33,8 ng/ml y en postéctasis un t-PA de 36 ng/ml y PAI Ag de 45,8 ng/ml. Observando el área de lisis podríamos considerarla como de pobre respuesta fibrinolítica, pero al determinar los parámetros de forma individual encontramos valores altos de t-PA y PAI en situación basal y mucho mayor en postéctasis. Debido a la gran elevación del PAI podríamos considerar que éste es el responsable de la lisis nula del plasma en la placa de fibrina.

El valor opuesto del rango 205,9 mm² corresponde a una enferma en la que encontramos un valor de t-PA Ag post-éctasis de 63,5 ng/ml y PAI Ag de 8,2 ng/ml, frente a un valor basal de t-PA Ag 20,3 ng/ml y PAI Ag de 13,2 ng/ml. Por estos datos consideramos buena respuesta a la oclusión venosa y el área de lisis aumentada por el aumento de activador tisular sin respuesta paralela del PAI Ag.

LISIS DE EUGLOBULINAS EN PLACA DE FIBRINA (ALEU)

En el control basal (G₁) el valor obtenido fué de 76,31 ± 36,68 y en control postéctasis (G₃) 285,53 ± 75,36 rango (200-456) siendo estadísticamente significativa la diferencia entre ambos p<0,001.

En el grupo global de enfermos basal (G₂) el valor fué de 115,32 ± 58,77 (rango 13-234) y en los enfermos postéctasis (G₄) 221,52 ± 112,41 (rango 16-351). Hay diferencia significativa entre ambos grupos (p<0,001) y entre estos y grupo control basal (G₁) o postéctasis (G₃) (p<0,05).

Los valores mínimos de los rangos basal y postéctasis, corresponden a una enferma con un déficit importante de plasminogeno 28-21%, HRGP 16-14% y PK 9,5 y 6%. Fibrinógeno 150 mg % es decir que todos ellos influyen en el área de lisis de euglobulinas, aunque la PK no sea un factor determinante por el método empleado. En esta enferma por problemas técnicos no pudo realizarse determinación tPA o PAI para poder así comparar todos los datos.

En el grupo A basal (G₂A) el valor fué de $130,7 \pm 67,9 \text{ mm}^2$ (rango 52,4-234) y en el grupo A postéstasis (G₄A) $237,7 \pm 131,7 \text{ mm}^2$ (rango 31,4-370). Hay diferencia significativa entre basal G₂A y postéstasis G₄A ($p < 0,05$) y entre G₂A y control basal (G₁) ($p < 0,02$). No hay diferencia estadística entre enfermos postéstasis (G₄A) y control postéstasis (G₃) ($p > 0,05$).

En la lisis de euglobulinas, no intervienen los inhibidores, ya que éstos, han sido eliminados con la acidificación y quedan en el sobrenadante, por lo que no debemos fijarnos en ellos. En el área de lisis intervienen los activadores de la fibrinólisis y del plasminógeno. En el enfermo con el valor inferior del rango del grupo A basal observamos un descenso del plasminógeno 37%, con HRGP de 47%, una precalicreína de 80% y un valor bajo de tPA Ag 0,9 ng/ml, es decir, un descenso global de los activadores extrínsecos, que son los que tienen mayor peso en la fibrinólisis global. Si nos fijamos en el valor de precalicreína, esta influye en la activación de la fibrinólisis vía intrínseca o activación del F XII, pero al mismo tiempo el C₁ inhibidor que actúa a este nivel, es el único inhibidor no eliminado en la lisis de englobulinas, ya que para inhibirlo debemos añadir flufenamato, cosa que nosotros no hicimos. Poco puede influir según la literatura (96) pues observaron que la lisis de euglobulinas por el método convencional está influenciada por los activadores extrínsecos; para poder explorar también la activación de la vía factor XXII, se debe preparar las euglobulinas añadiendo dextran sulfato, puesto que los activadores extrínsecos presentes en el precipitado de euglobulinas son resistentes

a la acción del C₁ inhibidor y al añadir dextran sulfato, lo que hacemos es activar la vía intrínseca de la fibrinólisis en la cual interviene la precalicreína.

En el grupo C basal (G₂C) el valor del área de lisis de euglobulinas es de $100,47 \pm 61,58$ (rango 13-198) y en el grupo C postéctasis (G₄C) el valor es de $201,27 \pm 108,35$ (rango 16-351). No hay diferencia estadística entre el grupo C basal (G₂C) y control basal (G₁). Si obtenemos diferencia estadística entre el grupo C basal (G₂C) y grupo C postéctasis (G₄) ($p < 0,01$) y entre este último y el control postéctasis (G₃).

Revisando la literatura (19), en el grupo de cirrosis moderadas obtienen un valor de 93 ± 60 de área de lisis de euglobulinas y el grupo de cirrosis severas de 83 ± 60 con valores de plasminógeno similares a los nuestros. En cuanto a la respuesta fibrinolítica post-oclusión venosa, Bauer (10) obtiene en sujetos sanos distintos comportamientos, según sea el tiempo de la oclusión. Parece ser que hasta los 10 minutos es cuando se observa una salida importante de activadores del plasminógeno, aunque en un pequeño grupo no se obtenía hasta después de 20 minutos de oclusión. Previamente ya se había utilizado la respuesta a la oclusión venosa durante 20 minutos (161) y posteriormente a él, se estandarizó (189) la prueba a 5 minutos, ya que, sobre todo en enfermos, la principal dificultad es el dolor que se presenta durante la realización de la prueba. Otros autores (10), proponen hacer extracciones sucesivas a partir de los 5 minutos, ya que no todos los controles y/o enfermos responden de la misma forma.

ACTIVIDAD FIBRINOLÍTICA POR KAOLIN

En el grupo control basal el valor obtenido es de $15,99 \pm 11,2$ min. y en el control postéstasis el valor es de $14,18 \pm 5,98$ min. no hay diferencia significativa tal como esperabamos ya que los parámetros que mide la actividad fibrinolítica por kaolin no se modifican tras la oclusión venosa, puesto que valora la activación de la fibrinólisis vía contacto. Los valores hallados son similares a los observados por otros autores (146).

En el grupo de enfermos globales, en situación basal (G_2) el tiempo de lisis es de $76,16 \pm 44,4$ minutos y en enfermos globales postéstasis (G_4) $55,65 \pm 40,6$ minutos no observamos diferencia significativa entre ellos pero si la hay respecto a los controles tanto basal ($p < 0,001$) como postéstasis ($p < 0,001$).

En el grupo de enfermos Aa basal (G_2Aa) el valor es de $72,16 \pm 47,9$ min. Hay diferencia significativa respecto a los controles tanto basal como postéstasis ($p < 0,001$). En el grupo Ca basal (G_2Ca) el valor medio es de $72,16 \pm 42,68$ min y en el postéstasis (G_4Ca) $54,62 \pm 43,3$ min. Hay también diferencia significativa respecto los controles ($p < 0,001$ y $p < 0,002$)

En el grupo A basal (G_2A) el valor medio es de $76,45 \pm 48,04$ min y en el postéstasis (G_4A) $65,93 \pm 42,45$ hay diferencia significativa respecto a los controles ($p < 0,001$). En el grupo C el valor medio es de $62,61 \pm 38,12$ min y en el C postéstasis (G_4C) $44,05 \pm 36,3$ min significativamen-

te superior al control ($p < 0,001$ y $p < 0,005$).

En vista a los resultados, podemos decir que los valores hallados son todos superiores tanto en el grupo global como en los subgrupos de enfermos que hemos hecho. Esta prueba no determina un valor único sino que informa, de forma global, sobre una vía de activación de la fibrinolisis, la vía contacto o vía intrínseca, la cual está a su vez compuesta por múltiples parámetros. Los inhibidores tienen poca importancia, ya que al acidificar la muestra se inhiben, y quizá el único que podríamos considerar sería el C_1 , inhibidor, pero los valores obtenidos de este inhibidor al determinarlo de forma individual, son valores normales tanto en los controles como en los distintos grupos de enfermos.

En los enfermos vemos que hay un alargamiento del tiempo de lisis. Esta prueba está influenciada por el FXII, precalicreína-kalicreína, proactivadores del plasminógeno, plasminógeno, es decir sustancias de síntesis hepática y por lo tanto el comportamiento en los distintos grados de insuficiencia hepática no se refleja por un valor determinado de ellos, ya que a parte de la síntesis influye el catabolismo, vida media, etc. Todo ello nos permite asegurar que la actividad fibrinolítica por kaolin, es una prueba global de vía intrínseca de la fibrinolisis pero no nos puede aportar más datos. Observamos un alargamiento de la actividad fibrinolítica por kaolin en la mayoría de los enfermos. Este puede ser paralelo al descenso de los factores de coagulación de la vía intrínseca, aunque no se comporta por igual en todos los casos de insuficiencia hepática.

ca. Es una prueba global y podríamos utilizarla como screening de la vía intrínseca pero al ser muy laboriosa, no es de gran utilidad para el diagnóstico rápido.

PRECALICREINA

En controles basales hemos obtenido un valor de $76 \pm 20\%$ y en controles postéctasis (G_3) $82 \pm 25\%$ no hay diferencia significativa entre ambos.

En controles basales (G_1) obtenemos una correlación positiva entre t-PA y PK, ($p= 0,0378$ y $r= 0,78$) esta correlación no se observa en postéctasis como era de suponer ya que la PK no varía, al ser de síntesis hepática, pero si el t-PA, que tiene como origen la célula endotelial por lo que aumenta tras compresión venosa y su catabolismo hepático es normal.

En grupo global de enfermos basal (G_2) el valor obtenido es de $26 \pm 24\%$ y en postéctasis (G_4) $28 \pm 24\%$ no hay diferencia entre ellos pero si con el control tanto basal como postéctasis ($p<0,001$). En el grupo global de enfermos cirróticos vemos un descenso importante de la prekalicreína coagulante. Este descenso no es tan llamativo en los enfermos del grupo Aa basal $40 \pm 30\%$ y grupo Aa postéctasis (G_4Aa) $44 \pm 26\%$ aunque también tienen diferencia significativa con el control tanto basal como postéctasis ($p<0,001$).

En el grupo Ca basal el valor medio es de $14 \pm 9\%$ y en el grupo Ca postéctasis $15 \pm 10\%$ ambos significativamente

inferiores al grupo control ($p < 0,001$).

Al clasificar los enfermos según Child, vemos que en el grupo A basal (G_2A) el valor es de $45 \pm 34\%$ y en el A postéctasis $50 \pm 29\%$ siendo ambos significativamente inferiores al grupo control basal o postéctasis ($p < 0,01$). La diferencia es más importante respecto al grupo C basal $11 \pm 9\%$ ($p < 0,005$) y grupo C postéctasis $13 \pm 10\%$ ($p < 0,001$). Este grupo es sustancialmente inferior al grupo control basal o postéctasis $p < 0,001$.

A la vista de los resultados, observamos un descenso importante de la prekaliceína en los enfermos cirróticos, este descenso es mucho más llamativo cuando agrupamos a los enfermos según el grado de insuficiencia hepática. Vemos el valor más bajo en el grupo C que es el grupo con insuficiencia hepática más importante, estos datos son similares a los observados en la literatura (39). Este autor observa valores de 34 ± 18 en cirrosis (global), en cirrosis descompensadas $24 \pm 14\%$ y $46 \pm 17\%$ en cirrosis compensadas, encuentra diferencia clara respecto a la hepatitis crónica agresiva en la que observa valores superiores de precaliceína. Previamente otros autores (187) observaron una correlación importante entre el grado de insuficiencia hepática y la prekaliceína, pero la síntesis anómala de ésta puede no ser el único motivo de este descenso ya que en la enfermedad hepática crónica puede complicarse con hiperfibrinólisis y coagulopatía de consumo. Estos dos factores sí los tuvieron en cuenta otros autores (7) que observaron un descenso de precaliceína en enfermos con cirrosis hepática sin signos clínicos de hiperfibrinólisis.

A la vista de lo anterior, creemos que la determinación prekaliceína podría ser uno de los parámetros a determinar en caso de insuficiencia hepática como marcador biológico de la misma, ya que refleja de forma bastante objetiva el grado de funcionalismo hepático.

GLICOPROTEINA RICA EN HISTIDINA (HRGP)

En los controles basales obtenemos un valor de $82 \pm 24\%$ (rango 47-132%) y en los controles postéctasis $97 \pm 50\%$ (rango 58-270%), no hay diferencia significativa entre ambos ($p > 0,05$) tal como observó Castel (24) en las mismas condiciones. Los valores medios obtenidos son semejantes a los que encuentran algunos autores (120, 55) con un rango entre 50-150% en cambio otro (24) obtiene valores medios de $101 \pm 23\%$ en controles.

En los enfermos basales los valores han sido $55 \pm 23\%$ y en postéctasis $58 \pm 27\%$ no hay diferencia significativa entre basal y postéctasis, si existe diferencia significativa respecto al grupo control ($p < 0,001$), los valores hallados son similares a los descritos en la literatura para enfermos cirróticos.

En el grupo Aa basal (G_2Aa) el valor medio es de $63 \pm 20\%$ y en el grupo Aa postéctasis y (G_4Aa) $66 \pm 28\%$. Hay diferencia significativa entre el basal Aa (G_2Aa) y control basal (G_1) ($p < 0,05$) y entre enfermos postéctasis Aa (G_4Aa) y control postéctasis (G_3) ($p < 0,05$).

Si observamos en conjunto el grupo de enfermos Aa

vemos que tienen valores ligeramente más altos que el global de enfermos, puesto que en el grupo Aa son enfermos con un grado de insuficiencia hepática moderada.

En el grupo Ca basal (G_2Ca) el valor medio es de $48 \pm 24\%$ grupo Ca postéctasis (G_4Ca) $52 \pm 26\%$. Hay la misma diferencia significativa respecto a los controles basales ($p < 0,001$) y postéctasis ($p < 0,005$).

Al hacer la clasificación de enfermos según Child, vemos que en el grupo A basal (G_2A) el valor medio es de $59 \pm 17\%$ y en el postéctasis $60 \pm 24\%$ hay una diferencia significativa respecto al grupo control basal $p < 0,02$ y postéctasis $p < 0,05$. Estos resultados son bastante dispares con los encontrados por algún autor (112) que obtiene valores bastante más altos en enfermos del grupo A ($129 \pm 36\%$) con valores en los controles de $116 \pm 26\%$.

En el grupo C (cirrosis hepáticas severas) obtenemos unos valores medios basales de $45 \pm 18\%$ y en postéctasis $50 \pm 19\%$. Hay diferencia significativa con los controles tanto basal como postéctasis. En la literatura observamos valores dispares al respecto. Así (16) en un grupo de 11 cirrosis severas obtiene un valor medio de HRGP 80% (25-158), otros autores (24, 62), 66% y 65% respectivamente, mientras que un tercer grupo (84, 112) obtienen valores de 35% y 58% respectivamente.

Todos los autores coinciden en un descenso global de HRGP en cirrosis hepáticas, aunque Leebeck (112) no observa este descenso en los enfermos del grupo A de Child en

que encuentra valores normales. El descenso de HRGP en C.H. se creía que era el motivo de fibrinolisis en cirróticos, pero al avanzar en los estudios se ha observado que al mismo tiempo que existe un descenso de HRGP también disminuye el plasminógeno, por lo que la capacidad de unirse a la fibrina y formar plasmina disminuye también.

Así Leebeck afirma que varias serán las causas de fibrinolisis en cirróticos y no se deben achacar únicamente al descenso de HRGP ya que también hay una disminución de plasminógeno libre.

Observamos una correlación lineal ($p < 0,05$ $r = 0,5$) en los enfermos del grupo global tanto basal como postéctasis entre la HRGP y plasminógeno, y en los enfermos Ca basal y Ca postéctasis $r > 0,6$ y $p < 0,005$ y $r = 0,67$ y $p < 0,002$ respectivamente. En la literatura no encontramos referencia alguna a esta correlación estadística solo en enfermos y no en controles.

C₁ INHIBIDOR ANTIGENICO

En control basal (G₁) y postéctasis (G₃) los valores de C₁ inhibidor son de $101 \pm 8\%$ y $100 \pm 6\%$ respectivamente. En el grupo global de enfermos el valor basal es de $89 \pm 9\%$ y $91 \pm 8\%$ en postéctasis (G₄). Hay diferencia significativa entre controles y enfermos ($p < 0,01$) aunque todos los valores están dentro del rango de la normalidad.

Valores similares encontramos en el grupo Aa basal $91 \pm 10\%$ y postéctasis $87 \pm 8\%$. En el grupo Ca basal et son $92 \pm 8\%$ y en el Ca postéctasis $90 \pm 9\%$ ambos grupos son esta-

dísticamente inferiores al grupo control ($p < 0,01$), aunque también dentro de valores normales.

Al clasificar los enfermos según Child, vemos en el grupo A un valor de $93 \pm 7\%$ y en A postéctasis (G_4) $94 \pm 9\%$. Hay diferencia de (G_2A) con el control basal ($p < 0,01$). En el grupo C basal los valores hallados están también dentro del rango de normalidad $84 \pm 7\%$ y en postéctasis (G_4C) $88 \pm 8\%$ ambos significativamente inferiores al control basal ($p < 0,01$) y postéctasis ($p < 0,05$). Vemos también significación estadística entre Grupo A basal y C basal ($p < 0,05$).

Los valores obtenidos son similares a los de autores consultados (16, 62). El C_1 inhibidor no tiene gran relevancia en el conjunto global de la fibrinólisis, ya que actúa como inhibidor en la activación de la fibrinólisis vía contacto y en el conjunto global de la fibrinólisis es una parcela muy concreta y reducida, no así en el conjunto de otros procesos biológicos, ya que en la activación del complemento, el C_1 inhibidor sí tiene mayor realce, y su defecto de síntesis cursa con cuadros clínicos concretos muy específicos como el edema angioneurótico.

ACTIVADOR TISULAR DEL PLASMINOGENO (t-PA)

En el grupo basal control el valor medio de t-PA Ag es de $2,84 \pm 1,67$ ng/ml, en postéctasis (G_3) el valor es de $12 \pm 9,7$ ng/ml, hay una diferencia estadística notable entre ambos valores ($p < 0,002$)

El aumento de t-PA tras compresión venosa y ejercicio exhaustivo ya fué descrito en 1983 por Wiman (195a), aunque el valor obtenido era muy superior tras 10 minutos de compresión venosa, tal como hemos realizado nosotros (ver material y métodos) que con el ejercicio; a los 10 minutos de reposo post compresión venosa observaron un descenso importante de los valores máximos obtenidos. El aumento de t-PA iba acompañado de la formación de complejos plasmina- α_2 antiplasmina en el 90% de los casos y la determinación de t-PA utilizada era funcional.

En estudios posteriores donde realizaron determinaciones de t-AP Ag los valores hallados en controles fueron similares a los nuestros (84) $4,9 \pm 2,6$ ng/ml (rango 0,9-11,2 ng/ml). Otros autores (148a) en estudio realizado en sujetos sanos basal y post-oclusión venosa obtienen unos valores de $5,1 \pm 4,1$ ng/ml y $24,2 \pm 29,2$ ng/ml respectivamente. El rango post oclusión venosa es muy amplio, ya que no todos los sujetos sanos tienen igual respuesta fibrinolítica.

En el grupo de enfermos que realizamos determinación de t-PA, observamos unos valores basales de $13,8 \pm 10,33$ ng/ml y en postéstasis los valores son de $26,24 \pm 18,47$ ng/ml, hay una diferencia estadística significativa entre ambos ($p < 0,05$), es decir, hay una respuesta fibrinolítica clara en los enfermos cirróticos tras compresión venosa con valores superiores a los obtenidos en los controles sanos, ($p < 0,01$ respecto controles basales). En cambio no hay una significación estadística entre controles y enfermos post-éstasis, ya que, aunque el valor medio sea 26,24 ng/ml, la

desviación típica es muy amplia, (rango 2,2-63,6 ng/ml) siendo en los controles el rango más estrecho 3,5-27 ng/ml. Los valores hallados son similares a los de la literatura obteniendo también los distintos autores rangos muy amplios en los enfermos, tanto basal como tras compresión venosa. Trás estos resultados podríamos pensar que el aumento de t-PA Ag circulante en las cirrosis hepáticas posiblemente se debe a un déficit de su aclaramiento hepático.

Nosotros hemos obtenido una correlación positiva entre tPA Ag y área de lisis de euglobulinas en placa de fibrina tras compresión venosa en los controles sanos $p=0,037$ $r=0,78$. Esta correlación no se observa en enfermos y creemos se debe a que los activadores del plasminógeno, plasminógeno y fibrinógeno son normales en sujetos sanos con un metabolismo y síntesis de los mismos sin alteraciones, cosa que no ocurre en los enfermos cirróticos ya que la síntesis y/o catabolismo de los mismos está alterada.

En los enfermos del grupo A obtenemos unos valores basales de t-PA Ag $6,86 \pm 5,19$ y P.E. $15,53 \pm 10,63$ ng/ml. con diferencia estadística respecto a los controles. Estos valores son inferiores a los enfermos de mayor grado de insuficiencia hepática, Grupo C, donde obtenemos una media basal de $20 \pm 19,11$ ng/ml y P.E. $35,65 \pm 18,7$ ng/ml. Estos valores son ligeramente inferiores a los que encontramos en la literatura en enfermos con cirrosis hepática compensada y descompensada.

La diferencia en los valores del t-PA en enfermos con insuficiencia hepática leve e insuficiencia hepática severa

nos confirma, una vez más, la intervención hepática en el aclaramiento de este activador del plasminógeno. Este hecho quizá justifique el que no encontremos correlación con los enzimas fibrinolíticos de síntesis hepática en los enfermos y únicamente hallemos una correlación positiva entre t-PA y precalicreina en los grupos control basal. Esta correlación no se mantiene post-éctasis pues el t-PA es de origen endotelial y aumenta tras compresión venosa, pero la precalicreina de síntesis hepática no varía en P.E., pero sí desciende de forma importante cuanto mayor sea el grado de insuficiencia hepática.

Okabe (145) obtiene una correlación positiva entre t-PA y AT III en un grupo de cirróticos estudiados. Esto hablaría en favor del origen endotelial de la AT III y de su catabolismo hepático, es decir, el mismo origen y catabolismo que el t-PA.

En cambio, al igual que nosotros, no observa ni él ni otros autores consultados, correlación entre t-PA Ag y PAI teniendo los valores de este último un rango muy amplio.

INHIBIDOR DEL ACTIVADOR TISULAR DEL PLAMINOGENO (PAI)

En el grupo control basal el valor medio de PA Ag es $7,8 \pm 2,51$ ng/ml (rango 4,2-10,2 ng/ml) y en post-éctasis $9,65 \pm 4,46$ ng/ml (rango 4,7-15,8 ng/ml). No hay diferencia significativa entre ambos. Los valores obtenidos en controles basales, están dentro de los rangos encontrados por diversos autores (93, 148b).

En el grupo global de enfermos, el valor basal es de $10,33 \pm 8,2$ ng/ml (rango 1,2-17 ng/ml) y en postéctasis $11,9 \pm 11,07$ ng/ml (rango 0,15-22,5 ng/ml) no habiendo diferencia significativa entre ambos ni con respecto al control.

Los valores de PAI Ag en el grupo de enfermos son muy amplios. Posiblemente esto sea debido a que no todos los enfermos en los que se determina el PAI Ag tengan el mismo grado de insuficiencia hepática, y aunque algún autor (148) encuentra valores de PAI Ag en cirrosis hepática estadísticamente más altos que en los controles, otros (105) si bien obtienen un valor medio elevado de PAI Ag en cirróticos el rango que obtienen es muchísimo más amplio (21-608 ng/ml), por lo que creemos que las oscilaciones de PAI Ag son amplias en los enfermos cirróticos, aunque también se han visto grandes oscilaciones en otros grupos de enfermos.

Al agrupar los enfermos según su grado de insuficiencia hepática, obtenemos en el grupo A basal (G₂A) un valor de $6,96 \pm 4,58$ ng/ml y postéctasis (G₄A) $7,84 \pm 4,61$ ng/ml, no hay diferencia significativa entre ambos ni con respecto al control. En el grupo C basal el valor obtenido es de $13,84 \pm 8,97$ ng/ml y tras compresión venosa (G₄C) $15,27 \pm 13,55$ ng/ml. No hay diferencia significativa entre ambos, ni con los enfermos del grupo A o control. No obstante los valores del grupo C basal son similares a los hallados por otros autores (148b) en un grupo de cirrosis hepática, sin especificar el grado de insuficiencia hepática y obtienen diferencia estadística significativa con los controles (situación basal), utilizando la

misma técnica que nosotros. A pesar de los resultados obtenidos en los distintos grupos, nosotros creemos que la valoración de PAI Ag y t-PA Ag debería hacerse de forma individualizada, ya que observando nuestros resultados podemos ver valores extremos de ambos pero bastante relacionados. Este es el caso, por ejemplo de T.C.C. en el que obtenemos un t-PA Ag basal de 17 ng/ml postéctasis 36 ng/ml. En el mismo enfermo observamos un valor de PAI basal de 33,8 ng/ml y postéctasis 45,8 ng/ml, es decir que aunque los valores basales sean elevados, obtenemos también un aumento de forma paralela en el postéctasis. En la situación opuesta está la determinación de C.G.C. que tiene unos valores basales de t-PA Ag de 0,9 ng/ml y PAI Ag 1,2 ng/ml, tras la compresión venosa estos valores son t-PA Ag 2,8 ng/ml y PAI Ag 0,15 ng/ml.

Creemos que el aumento de PAI Ag observado en los enfermos cirróticos aunque no significativo respecto a controles puede ser debido a un defecto de su eliminación hepática y/o a la suma de otros factores no bien definidos que controlan la síntesis y liberación de inhibidor de t-PA (PAI 1), pues no se explica el porqué enfermos con cirrosis hepática tienen un aumento de t-PA con aumento de inhibidor y otros no.

Estudios en relación con la Proteína C en la cirrosis hepática han sido de gran importancia ya que se ha observado en cultivos de células endoteliales que la Proteína C activada inhibe la liberación de PAI (84). La trombina también tiene su importancia, pues es bastante frecuente la presencia de CID subclínicas en las cirrosis hepáticas (57)

y se ha demostrado en cultivos de células endoteliales que la trombina estimula la liberación de t-PA y su inhibidor PAI.

Al analizar los resultados globalmente debemos extraer una serie de comentarios. La fibrinólisis en la cirrosis hepática está activada tal y como hemos podido comprobar en las pruebas de valoración global.

Así en el grupo global de enfermos el ALP y ALEu, es superior al control $p < 0,01$ y $p < 0,05$ respectivamente y tras compresión venosa vemos que las diferencias se mantienen respecto al grupo control postéstasis $p < 0,05$ para ambas pruebas. Este hecho se podría explicar debido al aumento de t-PA en enfermos puesto que obtenemos un valor más elevado que en los controles (G_2 $11,8 \pm 10,23$ ng/ml y G_4 $26,24 \pm 18,47$ ng/ml frente a $2,84 \pm 1,67$ ng/ml en G_1 y $12 \pm 9,7$ ng/ml en G_3). Si fuera solamente debido al aumento de t-PA la ALP tendría que ser bastante mayores en el grupo de enfermos, tanto basal como postéstasis, pero al intervenir inhibidores como PAI-1, cuya cifra es superior en los enfermos a los controles, contrarestaría el efecto de la elevación de t-PA. Otro parámetro a tener en cuenta es el plasminógeno, el cual está descendido por un déficit de síntesis hepática, al igual que la HRGP, lo que conlleva una menor cantidad de sustrato para que actúe el t-PA. Por eso hay menos formación de plasmina, y a pesar del descenso de alfa₂ AP respecto a los controles, hay suficiente cantidad de ésta para inhibir a la plasmina, enzima fibrinolítica por excelencia.

En postéctasis el ALP aumenta en enfermos y controles. Este aumento, en cifras absolutas es superior en los controles (de una media de 14,49 mm² en G₁ a una media de 66,63 mm² en G₃) al observado en los enfermos (de una media de 44,62 en G₂ a una media de 97,55 en G₄). Este aumento si lo podemos atribuir a la elevación de t-PA ya que tras la compresión venosa hay una salida del mismo al torrente circulatorio que no es acompañada en una respuesta similar del PAI-1 ni de plasminógeno, HRGP y alfa₂ AP que no varían tras el éstasis venoso.

En esta prueba global también interviene la vía intrínseca, pero creemos que no influye de forma contundente, pues la PK tiene valores normales tanto basal como postéctasis en los controles, en el grupo global de enfermos está descendida, y al agruparlos según Child, vemos en el grupo A que el descenso es significativo respecto a los controles (p<0,01) y en el grupo C este descenso es más acusado (p<0,001). En cambio no hay diferencia significativa entre área de lisis de plasma de los enfermos del grupo C y enfermos del grupo A, de la misma forma que no existe diferencia significativa entre t-PA basal del grupo A respecto al grupo C.

Otro de los inhibidores presentes en el plasma es el C-1 inhibidor que actúa a nivel de la vía intrínseca de la fibrinólisis y que no debe tener mucha relevancia dado que sus valores son normales en todos los grupos de trabajo.

Con el área de lisis de euglobulinas en placa de fibrina medimos únicamente la acción de los activadores, ya

que los inhibidores han sido eliminados al acidificar el plasma con ácido acético (excepto el C-1 inhibidor que únicamente se elimina con flufenamato y en la técnica utilizada por nosotros no lo hemos añadido, pero como ya se comentó en la discusión parcial de los resultados, tienen muy poca influencia según la literatura revisada). En esta prueba si podemos decir que el área de lisis es a expensas del activador tisular del plasminógeno, que como su propio nombre indica debe actuar sobre el plasminógeno, por lo que al estar descendido en las cirrosis hepáticas, el área de lisis no es tan grande como sería de esperar por la cantidad de t-PA presente. Así vemos que en el grupo control basal el ALEu es de $76,31 \pm 36,68 \text{ mm}^2$ y postéstasis aumenta a $285,53 \pm 75,38 \text{ mm}^2$, el t-PA pasa de un valor basal de $2,84 \pm 1,67 \text{ ng/ml}$ a $12 \pm 9,7 \text{ ng/ml}$ postéstasis, con plasminógeno normal. En el grupo control postéstasis observamos una correlación positiva entre t-PA y área de lisis de euglobulinas en placa de fibrina ($p < 0,05$ $r = 0,78$). Este dato nos confirma que el área de lisis de euglobulina en placa de fibrina es a expensas del t-PA cuando el plasminógeno está dentro de límites normales, pues no obtenemos correlación en ninguno de los grupos de enfermos. En el grupo global de enfermos basal el área de lisis de euglobulinas es $115 \pm 58,77$ y postéstasis $221,52 \pm 112,441 \text{ mm}^2$, el plasminógeno está descendido, $56 \pm 23\%$, sin variación postéstasis, pero el t-PA parte de unos valores basales de $13,8 \pm 10,33 \text{ ng/ml}$ y postéstasis asciende a $26,24 \pm 18,47 \text{ ng/ml}$. Aunque existe este aumento de t-PA no aumenta de forma paralela el área de lisis de euglobulinas.

Si desglosamos a los enfermos según su grado de insuficiencia hepática, en los de grupo A (menor grado de insu-

ficiencia hepática), hay ligero descenso del plasminógeno $73 \pm 27\%$ pero con un descenso mayor de HRGP $59 \pm 17\%$, t-PA basal de $6,86 \pm 5,19$ ng/ml y postéctasis $15,53 \pm 10,63$ ng/ml con ligero descenso de PK, es decir el t-PA tiene sustrato suficiente para poder activar. En el grupo C los valores de t-PA son $20 \pm 19,11$ basal y $35,65 \pm 18,17$ post-éctasis, los valores de plasminógeno están muy descendidos $43 \pm 18\%$, con descenso de HRGP $45 \pm 18\%$ y también descenso importante de la PK respecto al grupo control y al grupo A. A pesar del aumento de t-PA no se refleja en área de lisis de euglobulinas mayor, puesto que hay menor cantidad de plasminógeno para poder activar, y la PK, aunque sea un activador, no actúa como tal.

Por tanto en condiciones normales, el área de lisis de euglobulinas en placa de fibrina, está condicionada por los niveles de t-PA, que actúa sobre una cantidad suficiente del sustrato, plasminógeno. En los enfermos con cirrosis hepática, que como hemos visto tienen el t-PA muy elevado, el ALEu no es tan grande como cabría esperar, debido a que en estos enfermos el plasminógeno está más descendido cuanto mayor es el grado de insuficiencia hepática, pudiendo este hecho considerarse como un mecanismo de protección que explicaría que estos enfermos con cifras elevadas de t-PA, no tengan expresión clínica de fibrinolisis.

6.CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

1.- El plasminógeno está descendido en el grupo global de enfermos con cirrosis hepática respecto al grupo control ($p < 0,0001$). Este descenso es mayor en los enfermos con insuficiencia hepática más severa, grupo C ($p < 0,001$). También este descenso es significativo respecto a los enfermos con menor grado de insuficiencia hepática (grupo A) $p < 0,005$.

2.- El valor de la α_2 antiplasmina es más bajo en el grupo global de enfermos que en nuestro grupo control ($p < 0,05$). De igual modo esta disminución es mayor en el grupo de más insuficiencia hepática, como lo demuestra el hecho que en los enfermos del grupo C es más baja que en los del grupo A ($p < 0,01$).

3.- La antitrombina III está descendida en el grupo global de enfermos en relación a los controles ($p < 0,001$). Este descenso es más acusado en el grupo de mayor insuficiencia hepática, el grupo C, que en el grupo A ($p < 0,001$).

4.- En el grupo control postéctasis hay un aumento de la antitrombina III respecto al basal ($p < 0,001$). Este dato nos confirma la síntesis de antitrombina III por la célula endotelial. En los enfermos cirróticos no encontramos tal aumento y pensamos que puede ser debido a una alteración de la célula endotelial o a un agotamiento de la respuesta por la activación continua de la coagulación.

5.- El área de lisis del plasma en los enfermos cirróticos está aumentada respecto a los controles basales ($p < 0,001$), lo que confirma que en la cirrosis hepática la fibrinólisis está acelerada. Trás oclusión venosa aumenta el área de lisis del plasma tanto en enfermos como en controles, aunque este aumento es mayor en los enfermos.

6.- No hay diferencia significativa en el área de lisis del plasma en situación basal entre enfermos del grupo A y C. Postoclusión venosa el área de lisis del plasma es mayor en el grupo C que en el grupo A, pero sin diferencia significativa.

7.- El área de lisis de euglobulinas en placa de fibrina en condiciones basales es mayor en el grupo de enfermos que en el grupo control ($p < 0,001$). Postéstasis venoso hay un aumento del área de lisis de euglobulinas más evidente en controles (de 76,3 a 285,5 mm) que en los enfermos (de 111,32 a 221,52 mm) debido al aumento del activador tisular del plasminógeno, existiendo correlación entre activador tisular del plasminógeno antigénico y área de lisis de euglobulinas en controles postéstasis venoso.

8.- El área de lisis de euglobulinas en placa de fibrina en situación basal es menor en el grupo de enfermos de mayor grado de insuficiencia hepática (grupo C), que en el grupo A. En ambos se produce un aumento de área de lisis de euglobulinas en placa de fibrina postéstasis venoso, pero este aumento es menor en el grupo C. Estas diferencias no son estadísticamente significativas.

9.- La precalicreina está disminuida en enfermos respecto al grupo control ($p < 0,001$). Esta disminución está en relación con el grado de insuficiencia hepática como lo demuestra la diferencia significativa que hay entre el grupo C y el grupo A.

10.- Como consecuencia de lo anterior, la actividad fibrinolítica por kaolin (vía intrínseca de la fibrinólisis) es mayor en los enfermos que en los controles ($p < 0,001$), tanto en situación basal como postéctasis.

11.- La glicoproteína rica en histidina está descendida en el grupo global de enfermos respecto a los controles ($p < 0,001$). El descenso es más acusado en el grupo C ($p < 0,001$) que en el grupo A ($p < 0,02$). No hay variación postéctasis venoso.

12.- El C_1 inhibidor antigénico mantiene valores normales tanto en el grupo global de enfermos como en los de mayor y menor grado de insuficiencia hepática.

13.- Postéctasis venoso existe una liberación de activador tisular del plasminógeno como lo demuestra el hecho que las determinaciones de activador tisular del plasminógeno post-oclusión venosa son más elevadas que las efectuadas en situación basal, tanto en el grupo control como en todos los grupos de enfermos.

14.- El valor de activador tisular del plasminógeno antigénico es más elevado en los enfermos que en los controles. En el grupo de enfermos es más elevado en

aquellos con mayor grado de insuficiencia hepática (grupo C) que en el grupo de menor insuficiencia hepática (grupo A), tanto para el valor del activador tisular del plasminógeno basal como postéstasis venoso ($p < 0,05$).

15.- En el valor del inhibidor del activador tisular del plasminógeno antigénico, que es ligeramente superior en los enfermos que en los controles, tanto en situación basal como postéstasis, no encontramos diferencia estadísticamente significativa. Este dato puede ser debido a la gran desviación típica de los valores. De forma individual se observan valores más elevados de inhibidor del activador tisular del plasminógeno en los enfermos de mayor grado de insuficiencia hepática.

16.- En la cirrosis hepática hay un aumento del activador extrínseco (activador tisular del plasminógeno) que coexiste con un descenso del activador de vía intrínseca (precalicreína) así como descenso de proenzima (plasminógeno), aunque también hay descenso del inhibidor de la plasmina (antiplasmina). Todo ello conduce a una situación de equilibrio que no da lugar, en la mayoría de los enfermos a clínica hemorrágica derivada de fibrinólisis patológica con hiperplasminemia circulante.

7.BIBLIOGRAFIA

1. Alkjaersig N, Fletcher AP, Sherry S. The mechanism of clot dissolution by plasmin. *J Clin Invest* 1959; 38: 1086-1095.
2. Ambrus CM, Markus G. Plasmin-antiplasmin complex as a reservoir of fibrinolytic enzyme. *Am J Physiol* 1960; 199: 491.
3. Amery A, Vermylen J, Maes H, Verstrate M. Enhancing to fibrinolytic activity in human blood by occlusion of blood vessels. *Thromb Diath Haemorr* 1962; 7: 70-85.
4. Amundssen E, Svendsen L, Vennerod AM. Determination of plasma kallikrein with a new chromogenic tripeptide derivative. Pisano J.J, Ansten K.F (Eds). In *Chemistry and Biology of the kallikrein-kinin system in health and disease*. Fogarty Internat Center Proc 27, 215. DHEW Publ (NIH) 1974; 76: 791.
5. Aoki N, Masaaki M, Matsuda M, Tachiva K. The behaviour of alfa 2 plasmin inhibitor in fibrinolytic states. *J Clin Invest* 1977; 60: 361-369.
6. Aoki N, Yamanaka T. The alpha-2 antiplasmin inhibitor levels in liver disease. *Clin Chim Acta* 1978; 84: 99-105.
7. Arman R, Gyzander E, Hedner V, Teger-Nilsson AC. Natural protease inhibitors to fibrinolysis in liver diseases. *Hepatogastroenterology* 1980; 27: 253-258.
8. Arnesen H, Fagerhol MK. Alfa 2 macroglobulin, alfa 1 antitrypsin and antithrombin III in plasma and serum during fibrinolytic therapy with urokinase. *Scand J Clin Lab Invest* 1972; 29: 259.
9. Back N, Ambrus JL, Mink IB. Distribution and fate of 131 labelled components of the fibrinolytic system. *Cir Res* 1961; 9: 1208.
10. Bauer J, Bachman F. Fibrinolytic activity in healthy volunteers before and after 5 to 20 minutes of venous occlusion. *Thromb Res* 1984; 34: 159-174.
11. Becker CG, Dubin T. Activation of factor XII by tobacco glycoprotein. *J Exp Med* 1977; 146: 457-467.

12. Berg W, Korsan-Bengsten K, Ygge J. Determination of plasminogen in human plasma by the lysis time method. *Thromb Diat Haemorr* 1966; 21:1.
13. Biggs R, McFarlane R.G, Denson K.W.E, Ash B.J. Thrombin and the interaction of factors VIII and IX. *British J Haemat* 1965; 2: 276-280.
14. Boks AL, Brommer EJ, Schalm SW. Hemostasis and fibrinolysis in severe liver failure and their relation to hemorrhage. *Hepatology* 1986; 6:1 79-86.
15. Bonnar J, McNicol GP, Douglas AS. Fibrinolytic enzyme system and pregnancy. *Br Med J* 1969; 3: 387-389.
16. Booth NA, Anderson JA, Bennett B. Plasminogen activators in alcoholic cirrhosis; demonstration of increased tissue type and urokinase type activator. *J Clin Pathol* 1984; 37: 772-777.
17. Brakman P. The fibrinolytic system in human blood during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1966; 94: 14-20.
18. Brakman P, Astrupt. Selective inhibition in human frequency blood of urokinasa induced fibrinolysis. *Scand J. Clin Lab Invest* 1963; 15:603.
19. Brakman P, Mohler E, Astrup T. Blood fibrinolysis in liver disease. *Haemostasis* 1973/74; 2: 209-222.
20. Brakman P, Traas DW. Assay of plasminogen in blood on fibrin plates. En Davidson JP, Samama MM, Desnoyers on PC (eds). *Progress in Chemical Fibrinolysis and Trombolysis*. Vol II Raven Press N.Y. 1976. 79-82.
21. Brecher G, Cronkite EP. Morphology and enumeration of human blood-platelets. *Journal of Applied Physiology* 1950; 3: 365-367.
22. Buckell M. The effect of citrate on euglobulin methods of estimating fibrinolytic activity. *J Clin Pathol* 1958; 11: 403-405.
23. Cash JD. Control mechanism of activator release. En Davidson, Rowan, Samama, Desnoyers (eds). *Progress in Chemical Fibrinolysis and thrombolysis*. Raven Press N.Y. 1978; 3: 65-75.

24. Castel M, Horellow H, Conard J, Samama M. Immunochemical determination of histidine rich glycoprotein in healthy subjects and in a clinical population. En Davidson (Ed). Progress in Fibrinolysis, Churchill Livingstone. Edinburgh 1983; VI: 370-373.
25. Claeson G, Aurell L, Karlsson G, Friberger P. Substrate structure and activity relationships. En Davidson JF, Rowan RM, Samama MM, Desnoyers PC (eds). Progress in Chemical Fibrinolysis and Thrombolysis Vol III Raven Press 1978; N.Y.: 299.
26. Cochrane CG, Griffin JH. The biochemistry and pathophysiology of the contact system of plasma. Adv Immunol 1982; 33: 241-306.
27. Colman RW. Activation of plasminogen by human plasma kallikrein. Biochem Biophys Res Commun 1969; 35: 273-279.
28. Collen D. Natural inhibitors of haemostasis, with particular reference to fibrinolysis. En Bloom AL, Thomas DF (eds). Haemostasis and Thrombosis. Churchill Livingstone. Londres 1981; 225.
29. Collen D. Identification and some properties of a new fast reacting plasmin inhibitor from human plasma. Eur J Biochem 1976; 69: 209.
30. Collen D, De Cock F. Emergence in plasma during activation of the coagulation or fibrinolytic system of neoantigens associated with the complexes of thrombin or plasmin with their inhibitors. Thromb Res 1974; 5: 777.
31. Collen D, De Cock F. A tanned red cell haemagglutination inhibition immunoassay (TRCHII) for the quantitative estimation of thrombin-antithrombin III and plasmin alfa 2 antiplasmin complexes in human plasma. Thromb Res 1975; 7: 245-249.
32. Collen D, De Cock F, Cambiaso L, Masson P. A latex agglutination test for rapid quantitative estimation of the plasmin-antiplasmin complex in human plasma. Eur J Clin Invest 1977; 7: 21-26.

33. Collen D, De Cock F, Lijnen HR. Biological and thrombolytic properties of proenzyme and active forms of human urokinase II. Turnover of natural and recombinant urokinase in rabbits and squirrel monkeys. *Thromb Haemost* 1984; 52: 24-26.
34. Collen D, Pennica D, Holmes WF et al. Cloning and expression of human tissue-type plasminogen activator cDNA in *E. Coli*. *Nature* 1983; 301: 214-221.
35. Collen D, Stassen JM, Blaber M, Verstraete M. Biological and thrombolytic properties of proenzyme and active forms of human urokinase III. Thrombolytic properties of natural and recombinant urokinase in rabbits with experimental jugular vein thrombosis. *Thromb Haemost* 1984; 52: 27-30.
36. Collen D, Tytgat D, Claeys H, Wallen P. Metabolism of plasminogen in healthy subjects effect of tranexamic acid. *J Clin Invest* 1972; 51: 1310.
37. Collen D, Verstraete M. Molecular biology of human plasminogen. II Metabolism in physiological and some pathological conditions in man. *Thromb Diath Haemorrh* 1975; 34: 403-40.
38. Cool DE, Edgell C-JS, Louie GV, Zoller MJ, Brayer GD, MacGillivray RTA. Characterization of human blood coagulation factor XII cDNA. Prediction of the primary structure of factor XII and the tertiary structure of β -factor XIIa. *J Biol Chem* 1985; 260: 13666-13676.
39. Cordova C, Musca A, Violi F. Prekallikrein behaviour in chronic active hepatitis and in cirrhotic patients. *Haemostasis* 1984; 14: 218-222.
40. Chan TK, Chan V. Antithrombin III, the major modulator of intravascular coagulation, is synthesized by human endothelial cells. *Thromb Haemos* 1981; 46: 504-506.
41. Chmielewska J, Ranby M, Wiman B. Evidence for a rapid inhibitor to tissue plasminogen activator in plasma. *Thromb Res* 1983; 31: 427-436.

42. Chesterman CN, Allington MJ, Sharp AA. Relationships of plasminogen activator to fibrine. *Nature (New Biology)* 1972; 288; 15.
43. De Santis ME, Felloni L, Vanini F. Measurement of tissue plasminogen activator (t-PA) antigen and activity and plasminogen activator inhibitor (PAI) in normal individuals and in relation to age. XII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. Tokyo 1989; 19-25 Agosto.
44. De Vita VT, Trujillo NP, Blackman. Pulmonary manifestations of primary hepatic carcinoma. *Amer J Med Sci* 1965; 250: 428-436.
45. De Witt CD. Investigations of the inhibitors of the fibrinolytic system. *Thromb Diath Haemorr* 1964; 12: 105.
46. Dooijewaard G, de Jong YF, Jie AFH, Klufft C. The role of kallikrein in the generation of the factor XII-dependent plasminogen activator activity in human plasma (Abst.). *Thromb Haemost* 1985; 54: 268.
47. Dooijewaard G, Klufft C. Contact activation patterns of human plasma measured with fluorogenic substrate. In Fritz H, Back N, Dietze G, Haberland GL, (Eds): *Kinins III: Advances in Experimental Medicine and Biology*. Plenum Publishing, New York, 1983; 115-120.
48. Doolittle RF. Fibrinogen and fibrin. *Sci Amer* 1981; 245: 126-135.
49. Dosne AM, Dupuy E, Bodevin E. Production of fibrinolytic inhibitor by cultured endothelial cells derived from human umbilical vein. *Thromb Res* 1978; 12: 377.
50. Drapanas T, Shim WK, Steward JD. Studies of fibrinolytic activity after hepatectomy. *Arch Surg* 1963; 87: 64-70.
51. Edmondson HA, Steiner PE. Primary carcinoma of the liver; study of 100 cases among 48.900 necropsies. *Cancer, Philad.* 1954; 7: 462-503.

52. Edy J, Collen D, Verstraete M. Quantification of the plasma protease inhibitor alpha-2 antiplasmin with the chromogenic substrate S-2251. En Davidson JF, Rowan RM, Samama MM, Desnoyers PC (eds). Progress in Chemical Fibrinolysis and Thrombolysis vol III. Raven Press. New York 1978; 315.
53. Emeis JJ. Fast hepatic clearance of plasminogen activator inhibitor. Thromb Haemost 1985; 54: 230 (abstr 01359).
54. Emeis JJ, Kluft C. PAF-aceter induced release of tissue-type plasminogen activator from vessel walls. Involvement of lipoxigenase patway. Haemostasis 1984; 14: 92 (Abstr).
55. Engesser L, Kluft C, Juhan-Vague I, Briet E, Brommer EJP. Plasma histidine-rich glycoprotein and thrombophilia. Fibrinolysis 1986; 2 Supp. 2: 43-46.
56. Erickson LA, Ginsberg MH, Loskutoff DJ. Detection and partial characterization of an inhibitor of plasminogen activator in human platelets. J Clin Invest 1984; 74: 1465-1472.
57. Escriba A, Maluenda MP, Del Potro E, Peñalver A, Espinos D. Alteraciones de la coagulación en hepatopatías. Defecto de síntesis y coagulación intravascular diseminada. Sangre 1982; 87: 680-704.
58. Fair DS, Bahnak BR. Human hepatoma cells secrete single chain factor V, prothrombin, and antithrombin III. Blood 1984; 64: 194-204.
59. Fantl P. Plasminogen activity of plasma and serum. Science 1962; 135: 787.
60. Fletcher AP, Biederman O, Alkjaersig N. Abnormal Plasminogen-plasmin system activity (Fibrinolysis) in pacientes with hepatic cirrhosis; Its cause and consequences. J Clin Invest 1964; 43(4): 681-695.
61. Flute PT. Clotting abnormalities in liver disease. En Popper H, Schaffner P, (eds). Progress in liver disease. Vol VI. Grune and Statton Inc. New York 1979; 301-312.

62. Fontcuberta J, Borrell M, Fabra A, Carretero F. Alteraciones plasmáticas de la fibrinólisis en las cirrosis severas. *Biol Clin Hematol* 1984; 89-97.
63. Fontcuberta J, Borrell M, Felez J et als. Complejos alfa-2 M-Plasmina y alfa-2 M-Trombina en pacientes cirróticos. El dilema del transtorno de la hemostasia en las hepatopatías crónicas. *Biol Clin Hematol* 1984; 6: 27-37.
64. Francis RB, Feinstein DI. Clinical significance of accelerated fibrinolysis in Liver Disease. *Haemostasis* 1984; 14: 460-465.
65. Francis CHW, Marder VJ. Mechanism of fibrinolysis. En Williams WJ, Bentler E, Erslen (eds), *Hematology*. Fourth ed. Mc. Graw Hill. N.Y. 1990; 1313-1321.
66. Friberger P. Chromogenic peptide substrates. Their use for assay of factors in the fibrinolytic and the plasma Kallikrein-Kinin systems. *Scan J Clin Lab Invest* 1982; 42 Supl.162: 41-47.
67. Friberger P, Knos M, Gustavsson S, Aurell L, Claesson G. Methods for determination of plasmin antiplasmin and plasminogen by means of substrate S2251. *Haemostasis* 1978; 7: 138.
68. Gjonnaess H. Cold-promoted activation of factor VII. *Thromb et Diat Haemorr* 1972; 28: 155.
69. Goldsmith GH, Saito H, Ratnoff OD. The activation of plasminogen by Hageman factor (factor XII) and Hageman factor fragments. *J Clin Invest* 1978; 62: 54-60.
70. Gollwitzer R, Hafter R, Timpl R et al. Immunological assay for a carboxyterminal peptide of the fibrinogen A alpha-chain in pathological human sera. *Thromb Res* 1977; 11: 859-868.
71. Goodnough LT, Saito H, Ratnoff OD; Thrombosis of myocardial infarction in congenital clotting factor abnormalities and chronic thrombocytopenias: A report of 21 patients and a review of 50 previously reported cases. *Medicine (Baltimore)* 1983; 62: 248-255.

72. Goodpasture EM. Fibrinolysis in chronic hepatic insufficiency. Bull Johns Hopk Hosp 1914; 25: 330-336.
73. Gram M.C. A new method for the determination of the fibrin percentage in blood and plasma. Biol Chem 1921; 49: 279-284.
74. Griep MA, Fujikawa K, Nelsestuen GI. Binding and activation properties of human factor XII, prekallikrein, and derived peptides with acidic lipid vesicles. Biochemistry 1985; 24: 4124-4130.
75. Grossi CE, Moreno AH, Rousselot LM. Studies on spontaneous fibrinolytic activity in patients with cirrhosis of the liver and its inhibition by epsilon amino caproic acid. Ann Surg 1961; 153: 383-393.
76. Grossi C, Rousselot L, Pank W. Coagulation defects in patients with cirrhosis of the liver undergoing portasystemic shunts. AM J Surg 1962; 104: 512-526.
77. Gurewich V, Pannell R, Suddith R, Greenle R. Fibrin-specificity and efficacy of proteolysis induced by single-chain urokinase (SC-UK) in plasma. Thromb Haemost 1983; 50: 321 (Abstr).
78. Hallen A, Nilsson IM. Coagulation studies in liver disease. Throm Diath Haemorr 1964; 11: 51-63.
79. Hathaway WE, Alsever J. The relation of "Fletcher factor" to factors XI and XII. Br J Haematol 1970; 18: 161-169.
80. Haupt H, Heimbürger N. Humanserumproteine mit hoher Affinität zu carboxymethyl cellulose. I Hoppe-Seyler's. Z Physiol Chem 1972; 353: 1125-1132.
81. Haverkate F, Timan G. Preparation of plasminogen free fibrinogen for fibrin plates. En Davidson JF, Samama MM, Desnoyers PC (ed). Progress in Chemical Fibrinolysis and Thrombolysis Vol II. Raven Press N.Y.: 1976; 73-77.
82. Hedner U, Nilsson IM. Determination of plasminogen in human plasma by a casein method. Thromb diath haemorr 1965; 14: 545.

83. Heimburger N, Haupt H, Kranz T, Bauner S. Humanserum-proteine mit hoher Affinitat zu Carboxymethylcellulose, II. Hoppe-Seyler's. Z Physiol Chem 1972; 353: 1133-1140.
84. Hersch SL, Kunelis T, Francis R. The pathogenesis of accelerated fibrinolysis in liver cirrhosis: A critical role for tissue plasminogen activator inhibitor. Blood 1987; 69(5): 1315-1319.
85. Hojima Y, Cochrane CG, Wiggings RC, Austen KF, Stevens RL. In vitro activation of the contact (Hageman factor) system of plasma by heparin and chondroitin sulfate E. Blood 1984; 63: 1453-1459.
86. Holmberg I, Lecander I, Person B, Astedt B. An inhibitor from placenta specifically binds urokinase and inhibits plasminogen activator released from ovarian carcinoma in tissue culture. Biochem Biophys Acta 1978; 544: 128.
87. Hoylaerts M, Rijken DC, Lijnen HR, Collen D. Kinetics of the activation of plasminogen by human tissue plasminogen activator. J Biol Chem 1982; 257, 6: 2912-2919.
88. Iatridis SG, Ferguson JH. Active Hageman factor: A plasma lysokinase of the human fibrinolytic system. J Clin Invest 1962; 6: 1277-1287.
89. Ingeberg S, Jespersen J, Gram J, Bentsen KD. Levels of Histidine-rich glycoprotein and plasminogen in patients with liver disease. Abstracts n° 205 7th International Congress of Fibrinolysis. Haemostasis 1984. 14-1
90. Jones JM, Creeth JM, Kekwick RA. Thiol reduction of human alpha-2 macroglobulin. Biochemistry 1972; 127: 187.
91. Juhan-Vague B, Moerman F, De Cock, Collen D. Plasma levels of a specific inhibitor of tissue-type plasminogen activator (and urokinase) in normal and pathological conditions. Thromb Res 1984; 33: 523-530.

92. Kaplan AP. Initiation of the intrinsic coagulation and fibrinolytic pathways of man; The role of surfaces, Hageman factor, prekallikrein, HWM kininogen and factor XI. *Prog Hemost* 1978; 4: 127-175.
93. Kaplan AP, Meier HL, Mandle Jr R. The Hageman factor dependent pathways of coagulation, fibrinolysis, and kinin generation. *Semin Thromb Hemost* 1976; 3: 1-26.
94. Kase F, Klir P, Pospisil J, Poucková P. Übersicht des Faktor XII (Hageman-Faktor). *Folia Haematol (Leipz)* 1978; 105: 1-19.
95. Kaula KN von, Kaye H, Kaula E von. Changes in blood coagulation. Before and after hepatectomy or transplantation in dogs and man. *Arch Surg* 1966; 92: 71-79.
96. Kluff C. Levels of plasminogen activators in human plasma; New methods to study the intrinsic and extrinsic activators. En Davidson JF, Rowan RM, Samama MM, Desnoyers PC, (Eds). *Progress in Chemical Fibrinolysis and Thrombolysis*, vol III. Raven Press, New York, 1978; 141-164.
97. Kluff C. Demonstration of two forms of alpha-2 antiplasmin in plasma by modified crossed immunoelectrophoresis. *Thromb Res* 1981; 21: 65-71.
98. Kluff C. Plasminogen proactivators and activators in human plasma; Factor XII-dependent fibrinolysis. In Peeters H, (ed). *Protides of the Biological Fluids*. Pergamon Press, Brussels 1980; 375-378.
99. Kluff C, Dooljewaard, Emeis J. Role of the contact system in fibrinolysis. *Semin Thromb Hemost* 1987; 13-1; 50-68.
100. Kluff C, Dooljewaard G, Wijngaards G. Assessment of defects in the fibrinolytic system. In Jespersen J, C Kluff, Korsgaard, O. (Eds). *Clinical Aspects of Fibrinolysis and Thrombolysis*. South Jutland University Press, Esbjerg, 1983; 219-240.
101. Kluff C, Wijngaards, Jie AFH. Intrinsic plasma fibrinolysis; Involvement of urokinase-related activity in the factor XII-independent plasminogen proactivator pathway. *J Lab Clin Med* 1984; 103: 408-418.

102. Knot E, Tencate JW, DriJfhout HR. Antithrombin III metabolism in patients with liver disease. *J Clin Pathol* 1984; 37: 523-530.
103. Koide T, Foster D, Yoshitake S, Davie EW. Amino acid sequence of human histidine-rich glycoprotein derived from the nucleotide sequence of its cDNA. *Biochem* 1986; 2220-2225.
104. Koide T, Odani S, Ono T. The N-terminal sequence of human plasma histidine-rich glycoprotein homologous to antithrombin III with high affinity for heparin. *Febs Lett* 1982; 141: 222-24.
105. Kruithof EKO. Clinical relevance of plasminogen activator inhibitors. XII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. Tokyo 1989; 19-25 Agosto.
106. Kruithof EK, Gudinchet A, Bachmann F. Plasminogen activator inhibitor 1 and Plasminogen activator inhibitor 2 in various disease states. *Thromb Haemost* 1988; 59(1): 7-12.
107. Kudryk B, Robinson D, Netre C et al. Measurement in human blood of fibrinogen/fibrin fragments containing the B β 15-42 sequence. *Thromb Res* 1982; 25: 277-291.
108. Kwaan MC, Lo R. Antifibrinolytic activity in primary carcinoma of the liver. *Clin Sci* 1959; 18: 251-261.
109. Lackner H, Javid JP. The clinical significance of the plasminogen level. *Am J Clin Pathol* 1973; 59: 175-179.
110. Laurell CB Quantitative estimation of protein by electrophoresis in agarosa gel containing antibodies. *Anal Biochem* 1966; 15: 45-52.
111. Lee AKY, Chan V, Chan Tk. The identification and localization of antithrombin III in human tissues. *Thromb Res* 1979; 14: 209-217.
112. Leebeek FWG, Klufft C, Knot EAR, Maat MPM. HRGP is normal in Child A and decreased in Child C Liver cirrhosis. Abstracts of the Ninth International Congress on Fibrinolysis. Amsterdam 1988. Abst; 391 Fibrinolysis 1988; 2. Suppl 1.

113. Leebeek FWG, Klufft C, Knot EAR, Maat MPM. Inappropriate inhibition at the plasmin level may contribute enhanced fibrinolysis in advanced liver cirrhosis. *Fibrinolysis* 1988; (2) Suppl. 3 75-78.
114. Lee-Own V, Gordon YB, Chard T. The detection of neoantigenic sites of the D-dimer peptide isolated from plasmin digested cross linked fibrin. *Thromb Res* 1979; 14(1): 77-84.
115. Leung LKL, Harpel PC, Nachman RL, Rabellino. Histidine rich glycoprotein is present in human platelets and is released following thrombin stimulation. *Blood* 1983; 62: 1016-1021.
116. Leung LKL, Nachman RL, Harpel PC. Complex formation of platelet thrombospondin with histidine-rich glycoprotein. *J Clin Invest* 1984; 73: 5-12.
117. Lijnen HR, De Wreede K, Dernarsin E, Collen D. Biological and thrombolytic properties of proenzyme and active forms of human Urokinase-IV. Variability in fibrinolytic response of plasma of several mammalian species. *Thromb Haemost* 1984; 52: 31.
118. Lijnen HR, Hoylaerts N, Collen D. Isolation and characterization of human plasma protein with affinity for the Lysine binding sites in plasminogen. *J Biol Chem* 1980; 255: 10214-10222.
119. Lijnen HR, Hoylaerts M, Collen D. Heparin binding properties of human histidine-rich glycoprotein. Mechanism and role in the neutralization of heparin in plasma. *J Biol Chem* 1983; 258: 3803-3808.
120. Lijnen HR, Jacobs G, Collen D. Histidine-rich glycoprotein in a normal and a clinical population. *Thromb Res* 1981; 22: 519-523.
121. Loo J van de und, Schmiesing G. Faktoren des fibrinolytischen systems bei leberkrankheiten. *Throm Diath Haemorr* 1965; 14: 580-591.
122. Malinowski DP, Sadler JE, Davie EW. Characterization of a complementary deoxyribonucleic acid coding for human and bovine plasminogen. *Bio-Chemistry* 1984; 23: 4243-4250.

123. Mancini G, Carbonara AO, Heremans JF. Immunochemical quantification of antigens by single radial immunodiffusion. *Immunochemistry* 1965; 2: 235-254.
124. Mandle RJ, Kaplan AP. Hageman factor substrates. Human plasma prekallikrein: Mechanism of activation by Hageman factor and participation in Hageman factor-dependent fibrinolysis. *J Biol Chem* 1977; 252: 6097-6104.
125. Mandle RJ, Kaplan AP. Hageman factor-dependent fibrinolysis: Generation of fibrinolytic activity by the interaction of human activated factor XI and plasminogen. *Blood* 1979; 54: 850-861.
126. Manucci PM, Forman SP. Hemostasis and thrombosis In. Colman RW, Hirsh J, Marden VJ (eds). *Hemostasis and Thrombosis: Basic principles and clinical practice*. J.B. Lippincott Company, Philadelphia; 1982; 595-600.
127. Margolis J. The interrelationship of coagulation of plasma and release of peptides. *Ann NY Acad Sci*, 1963; 104: 133-145.
128. Matsuo O. Turnover of tissue plasminogen activator in man. *Thromb Haemost* 1982; 48: 242.
129. McNicol GP, Bain WH, Walker F, Rifkind BM, Douglas AS. Thrombolysis studied in an artificial circulation. Thrombi prepared in vitro in a Chandler's tube. *Lancet* 1965; 1: 838-843.
130. Merskey C, Kleiner GJ, Johnson A.J. Quantitative estimation of split products of fibrinogen in human serum, relation to diagnosis and treatment. *Blood* 1966; 28: 1-18.
131. Moake JL. Hipercoagulable States. En Stollerman, Harrington (eds). *Advances in Internal Medicine* Chicago, Year Book Medical Publisher Inc. 1990; 35: 235-240.
132. Morgan WT. Serum histidine rich glycoprotein levels are decreased in acquired immune defcency syndrome and by steroid therapy. *Biochem Med Metab Biol* 1986; 36: 210-213.

133. Morgan WT. Interactions of the histidine rich glycoprotein of serum with metals. *Biochem* 1981; 20: 1054.
134. Morgan WT, Koskelo P, Koenig H, Conway TP. Human histidine-rich glycoprotein II. Serum levels in adults, pregnant and women and neonates. *Proc Soc Exp Biol Med* 1978; 158: 647-651.
135. Moroi M, Aoki N. Isolation and characterization of alpha-2 plasmin inhibitor in human plasma. A novel proteinase inhibitor which inhibits activator induced clot lysis. *J Biol Chem* 1976; 251: 5956-5965.
136. Moroi M, Aoki N. Inhibition of plasminogen binding to fibrin by alpha-2 plasmin inhibitor. *Thromb Res* 1977; 10: 581-586.
137. Mosesson MW. Fibrinogen catabolic pathways. *Semin Thromb Hemostasis* 1974; 1: 63-84.
138. Murano G. The molecular structure of fibrinogen. *Semin Thromb Hemostasis* 1974; 1: 1-31.
139. Mullertz S. Different molecular forms of plasminogen and plasmin produced by urokinase in human plasma and their relation to protease inhibitors and lysis of fibrinogen and fibrin. *Biochem J* 1974; 143: 273-283.
140. Mullertz S, Clemmensen I. The primary inhibitor of plasmin in human plasma. *Biochem J* 1976; 159: 545-553.
141. Niewiarowski S, Prou-Wartelle O. Role du facteur contact (facteur Hageman) dans la fibrinolyse. *Trhomb Diath Haemorrh* 1959; 3: 593-603.
142. Nilehn JE, Ganrot PO. Plasmin, plasmin inhibitors and degradation products of fibrinogen in human serum during and after intravenous infusion of streptokinase. *Scand J Clin Lab Invest* 1967; 20: 113-121.
143. Nolf P. Contribution à l'étude de la coagulation du sang. La Fibrinolyse. *Arch Int Physiol* 1908; 6: 306-359.

144. Nussenzweig V, Seligmann M, Belmont J et als. Les produits de dégradation du fibrinogène humaine par la plasmine I. Separation et propriétés physicocliniques. Ann Inst Pasteur (Par) 1961; 100: 377-389.
145. Okabe K, Kato Y. Tissue plasminogen activator in various hepato-biliary diseases. XII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. Tokyo 1989; 19-25 Agosto.
146. Ogston D. Assays of the factor XII - Dependent fibrinolytic pathway. En Davidson J.F, Samama M.M. and Desnoyers P.C. (eds). Progress in Chemical Fibrinolysis and Thrombolysis Vol. II. Raven Press. New York 1976; 37-43.
147. Ollendorff P, Rasmussen J, Astrup P. Blood coagulation and plasma fibrinolysis in geriatric patients with decreased liver function. Acta Med Scan 1966; 179: 101-111.
148. Paramo JA, Fernández J. Fibrinólisis en pacientes con hepatopatía crónica. XXX Reunión Nacional de EAHH. Santiago de Compostela 1988; 27-29 Octubre.
- 148a. Paramo JA, Campbell, Rocha E. Respuesta fibrinolítica al test de oclusión venosa en una población normal. Biol Clin Hematol 1986; 8: 81-88.
- 148b. Paramo JA, Fernández F, Cuesta B, Rocha E. The role of fibrinolysis in patients with severe chronic liver disease. Biol Clin Hematol 1989; 12: 61-64.
149. Patthy L. Evolution of the proteases of blood coagulation and fibrinolysis by assembly from modules. Cell 1985; 41: 657-663.
150. Patthy L. Evolution of plasminogen activators. EMBO Workshop on Plasminogen Activation. Amalfi, Italy, Oct. 1985; 14-18.
151. Philips M, Juul AG, Thorsens S. Human endothelial cells produce a plasminogen activator inhibitor and a tissue-type plasminogen activator inhibitor complex. Biochem Biophys Acta 1984; 802: 99.

152. Plow E, Eddington TS. Immunobiology of fibrinogen. Emergence of neoantigenic expressions during physiologic cleavage in vitro and in vivo. *J Clin Invest* 1973; 52: 273-282.
153. Poller L. Coagulation abnormalities in liver disease. In Poller L. (ed). Recent advances in blood coagulation. Churchill Livingstone; Edinburgh 1977; 267-292.
154. Rabiner SF, Goldfine ID, Hart A, Summarial L, Robbins KC. Radioimmunoassay of human plasminogen and plasmin. *J Lab Clin Med* 1969; 74: 265-273.
155. Rakoczi I, Wiman B, Collen D. On the biological significance of the specific interaction between fibrin, plasminogen and antiplasmin. *Biochim Biophys Acta* 1978; 540: 295-300.
156. Ratnoff OD. A quarter century with Mr. Hageman. *Thromb Haemost* 1980; 43: 95-98.
157. Ratnoff OD. Studies on a proteolytic enzyme in human plasma. IV The rate of lysis of plasma clots in normal and diseased individuals, with particular reference to hepatic disease. *Bull Johns Hopk. Hosp* 1949; 84: 29-42.
158. Remmert LF, Cohen P. Partial purification and properties of a proteolytic enzyme of human serum. *J Biol Chem* 1949; 181: 431.
159. Rijken DC, Collen D. Purification and characterization of the plasminogen activator secreted by human melanoma cells in culture. *J Biol Chem* 1981; 256, 13: 7035.
160. Rijken DC, Juhan-Vague L, De Cock F, Collen D. Measurement of human tissue type plasminogen activator by a two-site immunoradiometric assay. *J Lab Clin Med* 1983; 101(2): 274.
161. Robertson BR, Pandolfi M, Nilsson IM. Fibrinolytic capacity in healthy volunteers at different ages as studied by standardized venous occlusion of arms and legs. *Acta Med Scand* 1972; 191: 199-202.

162. Rosenthal RL, Dreskin OH, Rosenthal N. New hemophilia-like disease caused by deficiency of a third plasma thromboplastin factor. *Proc Soc Exp Biol Med* 1953; 82: 171-174.
163. Rosing DR, Brakman P, Redwood DR, Goldstein RE, Beiser GD, Epstein SE. Blood fibrinolytic activity in man. Diurnal variation and the response to varying intensities of exercise. *Circ Res* 1970; 27: 271.
164. Rylatt DB, Sia DY, Mundy JP, Parish CR. Autorosette inhibition factor isolation and properties of the human plasma protein. *Eur J Biochem* 1981; 119: 641.
165. Saito H, Boldsmith G, Ratnoff OD, Fletcher factor activity in plasmas of various species. *Proceedings of Society of Experimental Biology and Medicine* 1974; 147: 519.
166. Saito H, Goodnough LT, Knowles BB. Synthesis and secretion on alpha-2 Plasmin inhibitor by established human liver cell lines. *Proc Natl Acad Sci USA* 1982; Vol 79 5684-5687.
167. Schwartz BS, Monroe MC, Levin EG: Increased release of plasminogen activator inhibitor type 2 accompanies the human mononuclear cell tissue factor response to lipopolysaccharide. *Blood* 1988; 71: 734.-741.
168. Sherlock S. Child's classification of hepato-cellular function in cirrhosis. *En Diseases of the liver and biliary system*. Blackwell Scientific Publications. Oxford 1989; 187-188.
169. Shimada T, Kato H, Iwanaga S, Iwamori M, Nagai Y. Activation of factor XII and prekallikrein with cholesterol sulphate. *Thromb Res* 1985; 38: 21-31.
170. Sjöholm I, Wiman B, Wallen P. Studies on the conformational changes of plasminogen induced during activation to plasmin and by 6-aminohexanoic acid. *Eur J Biochem* 1973; 39: 471-479.

171. Soria J, Soria C, Samama MM. A plasminogen assay using a chromogenic synthetic substrate; results from clinical work and from studies of thrombolysis. En Davidson JF, Rowan RM, Samama MM, Desnoyers PC (eds). Progress in chemical fibrinolysis and thrombolysis. Vol. III Raven Press 1978 N.Y: pp 337.
172. Sottrup-Jensen L, Claeys H, Zajdel M, Petersen TE, Magnussens. The primary structure of human plasminogen: isolation of two Lysine binding fragments and one "mini"-plasminogen (MW 38000) by elastase-catalysed-specific Limited proteolysis. In: Davidson JF, Rowan RM, Samama MM, Desnoyers PC (eds). Progress in chemical fibrinolysis and thrombolysis. Vol. 3 Raven Press. N.Y. 1978; 191-209.
173. Soulier JP, Gozin D. Assay of Fletcher Factor (Plasma Prekallikrein) using an artificial clotting reagent and a modified chromogenic assay. Thromb Haemostasis 1979; 42: 538-547.
174. Soulier JP, Gozin D. Present knowledge on contact factors. Theoretical and practical aspects. Blood Transf Immunohaematol 1984; 27: 785-805.
175. Spitzer JM, Rosenthal N, Shapiro S. Pulmonary embolism: its incidence at necropsy in relation to peripheral thrombosis. Ann Int Med 1949; 31: 884-888.
176. Sprengers ED, Kluft C. Plasminogen activator inhibitors. Blood 1987; 69,2: 381-387.
177. Stein SF, Harker LA. Kinetic and functional studies of platelets, fibrinogen, and plasminogen in patients with hepatic cirrhosis. J Lab Clin Med 1982; 217-230.
178. Sumi H, Toki N, Sasaka K, Mihara H. Comparative properties of single and double polypeptide chains of high molecular weight wrokinase. Haemostasis 1982; 11: 71.
179. Swisshelm K, Dyer K, Sadler E, Distèche L. Localisation of the plasminogen gene (plg) to the distal portion of the long arm of chromosome 6 by in situ hybridization. Cytogenet Cell Genet. 1985; 40: 756.

180. Teger-Nilsson AC, Friberger P, Gyzander E. Determination of a new rapid plasmin inhibitor in human blood by means of a plasmin specific tripeptide substrate. Scand J Clin Lab Invest 1977; 37: 403-409.
181. Thomson JM. Fibrin plate techniques. En A practical guide to blood coagulation and haemostasis. J.A. Churchill ed; London 1970; 139-190.
182. Thomson JM. Laboratory control and anticoagulant therapy. En Blood coagulation and haemostasis. Thomson J.M. ed Churchill-Livingston, Edinburgh 1980; 279-330.
183. Thorsen S. Differences in the binding to fibrin of native plasminogen and plasminogen modified by proteolytic degradation. Influence of omega amino acids. Biochim Biophys Acta 1975; 393: 55-65.
184. Thorsen S, Glas-Greenwalt P, Astrup T. Difference in the binding to fibrin of urokinasa and tissue plasminogen activator. Thromb Diaths Haemorr 1972; 28: 65-74.
185. Verheijen JH, Mullart E, Chang GTC, Kluft C, Wijngaards G. A simple sensitive spectrophotometric assay for extrinsic (tissue-type) plasminogen activator applicable to measurements in plasma. Thromb Haemost 1982; 48: 266-269.
186. Verstraete M, Vermeylen I, Schetz J. Intermittent administration of streptokinase. Thromb Haemost 1978; 39: 61.
187. Vliet ACM van, Vliet HHMD van, Dzoljic-Dani Lovic G. Plasma prekallikrein and endotoxemia in liver cirrhosis. Thromb Haemost 1981; 41: 65-67.
188. Waldmann R, Abraham JP, Rebuck JW, Caldwell J, Saito H, Ratnoff OD. Fitzgerald factor; A hitherto unrecognized coagulations factor. Lancet 1975; 1: 949-950.
189. Walker ID, Davidson JP, Mutton I. Fibrinolytic potential, the response to a 5 minute venous occlusion test. Thromb Res 1976; 8: 629-638.

190. Wallen P, Wiman B. Characterization of human plasminogen II. Separation and partial characterization of different molecular forms of human plasminogen. *Biochim Biophys Acta* 1972; 257: 122-134.
191. Walsh PH, Griffin JH. Contribution of human platelets to the proteolytic activation of blood coagulation factors XII and XI. *Blood* 1981; 57: 106-118.
192. Wilner GD. Molecular basis for measurement of circulating fibrinogen derivatives. In Spaet It (ed): *Progress in Hemostasis and Thrombosis*. Grune-Stratton, New York. 1978; 4: 211-248.
193. Wiman B, Collen D. Molecular mechanism of physiological fibrinolysis. *Nature* 1978; 272: 549-550.
194. Wiman B, Collen D. Purification and characterization of human antiplasmin, the fast acting plasmin inhibitor in plasma. *Eur J Biochem* 1977; 78: 19-26.
195. Wiman B, Collen D. On the kinetics of the reaction between human antiplasmin and plasmin. *Eur J Biochem* 1978; 84: 573-578.
- 195a. Wiman B, Mellbring G, Ranby M. Plasminogen activator release during venous stasis and exercise as determined by a new specific assay *Clin Chim Acta* 1983; 127: 279-288.
196. Wiman B, Wallen P. On the primary structure of human plasminogen and plasmin. Purification and characterization of cyanogen-bromide fragments. *Eur J Biochem* 1975 57: 387
197. Wohl RC, Summaria L, Robbins KC. Physiological activation of the human fibrinolytic system. Isolation and characterization of human plasminogen variants. Chicago I and Chicago II. *J Biol Chem* 1979; 254: 9063- 9069.
198. Wuepper KD. Prekallikrein deficiency in man, *J Exp Med* 1973; 138: 1345-1355.

199. Yamanaka T, Ido K, Kimura K, Aoki N, Tachiya K, Kawai A. *Igaku no Ayumi* 1977; 103: 74-75.
200. Zamarron C, Lijnen HR, Van Hoef B, Collen. Biological and thrombolytic properties of proenzyme and active forms of urokinase I. Fibrinolytic and fibrinogenolytic properties in human plasma in vitro of urokinase obtained from human urine or by recombinant DNA technology. *Thromb Haemost* 1984; 52: 19-23.