

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA SEDE RODRIGO FACIO

FACULTAD DE MICROBIOLOGÍA

Trabajo Final de Graduación para optar por el Grado de Licenciatura en Microbiología y Química  
Clínica

Revisión bibliográfica: Las interconexiones moleculares y celulares entre el proceso de coagulación  
y el proceso inflamatorio

María Daniela Blanco Mora B81151

Tutora: Dra. María José Suárez Sánchez

Revisores: Dr. Javier Mora Rodríguez

Dra. Sandra Boza Oreamuno

2023

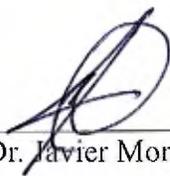
Los que aquí firmamos damos fe que este trabajo posee todas las correcciones indicadas el día de la presentación oral de este Trabajo Final de Graduación:



Dra. María José Suárez  
Tutor



Dra. Sandra Boza  
Lector



Dr. Javier Mora  
Lector



Dr. Ariel Brenes  
Presidente del Tribunal



Dra. Marietta Flores  
Profesor designado

## Contenidos

<i>Índice de cuadros y figuras</i> .....	3
<i>Índice de acrónimos</i> .....	4
<i>Objetivo General</i> .....	6
<i>Objetivos específicos</i> .....	6
<i>Metodología</i> .....	7
<i>Justificación</i> .....	8
<i>Antecedentes</i> .....	9
<i>Capítulo I. Coagulación y hemostasia</i> .....	13
I.I Introducción a la coagulación y la hemostasia .....	13
I.II El endotelio y sus funciones en la hemostasia .....	13
I.III Formación del tapón plaquetario .....	14
I.IV Hemostasia secundaria .....	16
I.V Regulación antitrombótica .....	19
I.VI Fibrinólisis.....	21
<i>Capítulo II. Inflamación</i> .....	22
II.I Introducción al sistema inmune.....	22
II.II Elementos básicos de la inflamación.....	25
<i>Capítulo III. Relación entre la coagulación y la inflamación</i> .....	28
III.I Introducción al puente entre la coagulación e inflamación .....	28
III.III FT .....	30
III.IV Trombina y PARs .....	32
III.V Complejo TM -PC-EPCR .....	33
III.VI Inmunidad innata.....	35
III.VII Micropartículas .....	39
III.VIII Sistema fibrinolítico .....	40
III.IX Desarrollo de terapias más seguras.....	41
<i>Conclusiones</i> .....	43
<i>Bibliografía</i> .....	45

## Índice de cuadros y figuras

### Figuras

<i>Figura I. Proceso de adhesión plaquetaria. ....</i>	<i>15</i>
<i>Figura II. Cascada de la coagulación.....</i>	<i>18</i>
<i>Figura III. Modelo celular de la coagulación y sus distintas fases: inicial, amplificación y propagación.....</i>	<i>18</i>
<i>Figura IV. Vías moleculares y celulares inmunes activas en el proceso inicial inflamatorio. ....</i>	<i>27</i>
<i>Figura VI. Mecanismos activados por el complejo TM-PC-EPCR. ....</i>	<i>34</i>
<i>Figura VII. Tres vías principales de activación del complemento.....</i>	<i>37</i>

### Cuadros

<i>Cuadro I. Factores de la coagulación.....</i>	<i>16</i>
<i>Cuadro II. Citoquinas de relevancia clínica, fuente y función.....</i>	<i>24</i>

## Índice de acrónimos

ADP	Ácido desoxirribonucleico
AT	Antitrombina
ATP	Adenosín trifosfato
cfADN	ADN circulante libre
CID	Coagulación intravascular diseminada
DAMPS	Patrones moleculares asociados a daño
EPCR	Receptor Endotelial de Proteína C
FT	Factor tisular
GPIb	Glicoproteína plaquetaria Ib
GPIIb/IIIa	Glicoproteína plaquetaria IIb/IIIa
GPVI	Glicoproteína plaquetaria VI
HMGB1	Proteínas de alta movilidad
hrTM	Trombomodulina recombinante humana
IL	Interleuquina
MBL	Lectina de unión a manosa
MP	Micropartículas
NETs	Trampas extracelulares de neutrófilos

NF-kB	Factor nuclear-kappa beta
PAI-1	Inhibidor del activador de plasminógeno-1
PAMPS	Patrones moleculares asociados a patógenos
PC	Proteína C
PCA	Proteína C activa
PMPs	Micropartículas asociadas a plaquetas
PolyP	Polifosfato
PRRs	Receptores de reconocimiento de patrones
PS	Proteína S
PSLG-1	Ligando-1 de glicoproteína P-selectina
TAFI	Inhibidor de fibrinolisis activado por plaquetas
TFPI	Inhibidor del factor tisular
TLR	Receptor Toll Like
TM	Trombomodulina
TNFalfa	Factor de necrosis tumoral alfa
tPA	Activador tisular del plasminógeno
uPA	Uroquinasa
vWF	Factor de von Willebrand

## **Objetivo General**

Describir las distintas interconexiones de carácter molecular y celular entre el proceso de coagulación y el proceso inflamatorio.

## **Objetivos específicos**

1. Identificar las distintas vías y moléculas que llevan a cabo la coagulación.
2. Comprender el desarrollo del proceso inflamatorio, así como las principales células, moléculas y efectores del sistema.
3. Analizar cómo la modulación de distintas vías celulares de la inflamación y la coagulación demuestra que ambos sistemas son interdependientes entre sí.

## **Metodología**

Debido a la naturaleza del trabajo se realizó una revisión bibliográfica de distintas fuentes primarias y secundarias. Esta se llevó a cabo las bases de datos de SIBDI, así como otros buscadores académicos científicos que poseen información de carácter relevante para la presente investigación.

Se emplearon palabras clave como: “coagulación”, “inflamación”, “citoquinas inflamatorias” y “trombosis”.

Se dispone que las fuentes consultadas son del año 2015 o posterior con el fin de que el trabajo posea información actualizada y veraz.

Se empleó el programa “Mendeley desktop” para recolectar información, organizar documentos, generar citas y referencias bibliográficas

## **Justificación**

La inflamación es un proceso complejo y sistemático del organismo humano. Este posee distintos efectores tanto moleculares como celulares. Constituye una respuesta homeostática ante ciertos estímulos que interrumpen los procesos normales de nuestro cuerpo. Se ha caracterizado como un estado de alerta resultado de distintas vías de señalización celulares (González-Costa, 2019) .

La coagulación es el resultado de una interacción coordinada de las proteínas sanguíneas, células circulantes, células de la vasculatura y proteínas de matriz extracelular. Su propósito consiste en mantener la homeostasis de distintos tejidos del organismo. Sus principales efectores se encuentran en el plasma. Un desequilibrio en ella puede ocasionar sangrados difíciles de controlar o la formación de un trombo (Jiménez & López, 2016).

Tanto la inflamación como la coagulación son respuestas homeostáticas del organismo. Estudios han demostrado que la excesiva activación de la coagulación ocurre en ambientes en los cuales existe excesiva inflamación. Ambos procesos se ven relacionados mediante distintos mecanismos intermoleculares en los cuales ambos sistemas interactúan entre sí (Foley & Conway, 2016). La activación de la coagulación puede llevar a una retroalimentación positiva del sistema inflamatorio y viceversa. En casos en los cuales estos sistemas están activados crónicamente se puede llevar a una falla multiorgánica y daño tisular.

Conocer la integración bioquímica de ambos sistemas, tanto el nexo celular, molecular como estructural, es de suma importancia para conocer la fisiopatología de distintos cuadros (desórdenes isquémicos, sepsis, coagulación intravascular diseminada (CID), síndrome urémico hemolítico, hemoglobinuria paroxística nocturna, entre otros...) y además, desarrollar estrategias terapéuticas para tratar casos en los cuales ambos sistemas se encuentran sobre activos, o por el contrario, no se encuentran funcionales.

## **Antecedentes**

La hemostasia es el mecanismo que tiene cuyo objetivo principal es mantener la sangre dentro de los vasos sanguíneos con un flujo constante. Posee distintas fases que ocurren de forma simultánea: fase vascular, hemostasia primaria, hemostasia secundaria, regulación antitrombótica y fibrinólisis. Implica complejas vías bioquímicas moleculares y celulares, mecanismos que se activan cuando hay algún daño del tejido vascular, la coagulación, mecanismos anticoagulantes y la disolución del coágulo formado (González-Costa, 2019).

El endotelio en su estado basal, sintetiza moléculas antitrombóticas, antiplaquetarias, anticoagulantes y antiinflamatorias. También vasodilatadores e inhibidores de plaquetas como el óxido nítrico y la prostaciclina. Ante el estímulo de daño de la vasculatura, se produce vasoconstricción con el fin de disminuir la pérdida de sangre. Posteriormente, se produce la liberación del vWF, lo que provoca la activación y adhesión plaquetaria. La molécula principal que se libera ante este estímulo es el factor tisular (FT) (González-Costa, 2019).

La hemostasia primaria posee como principal actor la agregación de plaquetas. Estas forman un tapón plaquetario lo cual permite detener el flujo sanguíneo en el sitio del daño celular. La hemostasia secundaria consiste en la formación de un coágulo más estable, este se sintetiza gracias a la formación de una malla de fibrina. A nivel didáctico, se estudia este proceso dividiéndolo en tres vías de la coagulación: la intrínseca, la extrínseca y la común. Al culminar la cascada, el fibrinógeno se transforma en fibrina la cual tiene como fin estabilizar el tapón plaquetario (Raheel, et al., 2022).

La coagulación es un proceso complejo resultado de una interacción coordinada de las proteínas sanguíneas, células circulantes, células de la vasculatura y las proteínas de matriz extracelular de la pared de los vasos (López-Santiago, 2016). Su principal fin es desencadenar la formación de un coágulo de sangre para recuperar la homeostasis del flujo de la sangre cuando ésta ha sido perturbada. Su cascada de eventos previene sangrados espontáneos. Posee dos vías: la intrínseca y la extrínseca, ambas convergen en la vía común. Sin embargo, en los últimos años el modelo celular postula estudiar la coagulación de una manera más integral, excluyendo la separación de dichas vías. En ella, una serie de eventos culminan en la activación de la fibrina y la estabilización del tapón plaquetario en el cual contribuye el factor XIII (Raheel, et al., 2022).

La vía intrínseca consiste en los factores I, II, IX, X, XI y XII. La vía extrínseca consiste en los factores I, II, VII y X. Asimismo, la vía común posee los factores I, II, V, VII, X y XIII. Los factores II, VII, IX, X, XI y XII al ser activados actúan como serin proteasas, ya que se encuentran circulando en su forma inactiva como zimógenos. Son parte de la conocida cascada de la coagulación. En ella, cada serin proteasa, es decir cualquiera de los factores mencionados anteriormente, actúa como catalizador para la activación del zimógeno consecuente. Ambas vías poseen distintas maneras de iniciación. La vía extrínseca se activa gracias a la liberación de FT liberado por células perivasculares (fibroblastos, células de músculo liso, pericitos), u otras células, como monocitos circulantes, ante un daño al tejido. La vía intrínseca es activada tras la exposición del colágeno del endotelio (Foley & Conway, 2016).

Por otro lado, el modelo celular de la coagulación, se sustenta en procesos que ocurren simultáneamente sobre membranas celulares, es decir, no en forma de cascada. Se postula que estos ocurren primero sobre la membrana endotelial y posteriormente sobre la membrana plaquetaria. Esto es posible debido a que estas membranas están conformadas por fosfolípidos aniónicos (González-Costa, 2019).

Existen distintas vías de señalización que mantienen una regulación antitrombótica en un endotelio sano. Por ejemplo, se puede prevenir la activación del fibrinógeno gracias al complejo formado por el factor Xa y el inhibidor del factor tisular, también conocido como TFPI. La trombina se ve directamente inhibida por el anticoagulante natural, antitrombina (AT). Por otro lado, el complejo Trombomodulina-Proteína C-Receptor Endotelial de Proteína C desencadena la inactivación de los factores V y VIII. El cofactor de la proteína C (PC) es la proteína S (PS). Posteriormente se mencionarán otros procesos regulatorios para evitar una coagulación excesiva. (González-Costa, 2019).

Por último, la fibrinólisis también posee parte imprescindible en este proceso. Esta se encarga de deshacer los depósitos de fibrina gracias a la acción de la plasmina, es decir, la disolución del coágulo previamente establecido (González-Costa, 2019).

La inflamación consiste en un mecanismo de defensa de respuesta natural ante algún estímulo amenazante. Estos pueden ser tanto exógenos como endógenos, infecciosos y no infecciosos. Su objetivo principal es la eliminación o contención del estímulo que está causando daño: agentes infecciosos patógenos, irradiación, trauma, quemaduras, células dañadas, agentes químicos, entre otros. Su acción está caracterizada por enrojecimiento, tumefacción, calor, dolor y pérdida de la función tisular. Los patrones moleculares asociados a patógenos, conocidos como PAMPS, por

sus siglas en inglés, pueden desencadenar la respuesta inmune. Esto debido a que las células tanto de origen inmunes como no inmunes poseen receptores de reconocimiento de patrones, conocidos como PRRs, por sus siglas en inglés. Dichos receptores también poseen la capacidad de reconocer patrones moleculares asociados a daño (DAMPs), PAMPs asociados a daño los cuales son detectados ante daño tisular o celular endógeno (Chen, et al., 2018).

En la regulación de la homeostasia participan tejidos del sistema nervioso central, sistema nervioso periférico, sistema cardiovascular, sistema retículo endotelial, sistema endocrino, sistema inmune, entre otros. También, forman parte de ella distintas moléculas efectoras como sustancias vasoactivas, citoquinas, quimiocinas, metabolitos lipídicos, inmunoglobulinas, selectinas, integrinas y sus ligandos, así como los sistemas de coagulación, complemento y fibrinolítico. (González-Costa, 2019).

A su vez, la respuesta inmune se divide en dos: la respuesta inmune innata y la respuesta inmune adquirida. La primera posee como característica ser inespecífica, es decir, si el sistema inmune funciona correctamente, esta se activará ante cualquier estímulo que pueda perturbar la homeostasia del organismo. Ante exposiciones repetidas a una molécula y agente extraño se desencadena una respuesta similar y de la misma magnitud ante estos, por ello se dice que carece de memoria inmunológica. A diferencia, en la respuesta inmune adquirida se desarrolla cierta especificidad ante el estímulo amenazante. También, esta respuesta posee una rapidez e intensidad superior a la respuesta innata, es decir, posee memoria inmunológica (Owen, et al., 2019).

Se ha demostrado que una excesiva activación de la inflamación lleva a una activación en la coagulación. Existen distintos mecanismos moleculares y celulares que explican la manera en que estos dos sistemas se correlacionan entre sí. Cuando ambos sistemas están muy activos, la activación de uno puede llevar a la amplificación del otro y esto es capaz de empeorar el cuadro del paciente, llevando a excesivo daño tisular e inclusive falla multiorgánica (Foley & Conway, 2016).

Por ejemplo, el FT actúa como un puente entre ambas vías debido a que este actúa en vías de reclutamiento y activación plaquetaria, de neutrófilos y monocitos. También está involucrado, en la inducción de las moléculas de adhesión leucocitaria, aumento de citoquinas proinflamatorias y la activación del complemento. La trombina además de catalizar la reacción de fibrinógeno a fibrina posee propiedades proinflamatorias y activa varios tipos de células, entre ellas, células inmunes. La Proteína C activa (PCA) previene la coagulación e inflamación excesiva (Foley & Conway, 2016).

En la última década se han generado significativos estudios que demuestran la interrelación tanto molecular como celular entre ambos sistemas. Esto permite la innovación en los tratamientos administrados a los pacientes con cuadros clínicos relacionados a estos mecanismos. Por ejemplo, el antagonista de PAR1, variantes de la PCA, trombomodulina recombinante humana (hrTM), inhibidores de complemento, entre otros. Se han aplicado en cuadros de sepsis, CID, desórdenes isquémicos y síndrome urémico hemolítico. (Foley & Conway, E., 2016).

## **Capítulo I. Coagulación y hemostasia**

### **I.I Introducción a la coagulación y la hemostasia**

La hemostasia es en la respuesta natural del organismo a cualquier daño vascular, tiene como objetivo reducir la pérdida de sangre cuando se produce un daño en la vasculatura, se activan distintas vías bioquímicas intracelulares y extracelulares que conllevan a la formación de un coágulo de plaquetas y generación de fibrina. (García, 2016). Este proceso comprende la vasoconstricción, la formación de un tapón plaquetario temporal, la activación de la cascada de coagulación y la formación final de un coágulo de fibrina más estable (LaPelusa & Dave, 2022).

La hemostasia requiere de un balance entre las fuerzas que hacen que se mantenga la sangre fluyendo y de las fuerzas que evitan que se escape en caso de que se dañe la vasculatura. La interacción óptima entre la pared de los vasos sanguíneos, las plaquetas circulantes y proteínas que se encuentran de manera inactiva en el torrente sanguíneo y los factores de coagulación es esencial. En caso de que haya un daño, el organismo busca la reparación pronta de este, sin embargo, es de suma importancia una respuesta balanceada ya que la exacerbación de esta respuesta puede llevar a daños en el individuo. Se deben tener mecanismos tanto procoagulantes como anticoagulantes para mantener este balance. Es decir, el organismo debe tener un mecanismo controlado para que no se dé una coagulación excesiva o prolongada ya que esta llevaría a la disminución de la perfusión sanguínea en los tejidos. Por esta razón, los inhibidores de la coagulación y el sistema de fibrinólisis se activan, en situaciones normales, posterior a la formación del coágulo de fibrina (Jiménez & López, 2016).

### **I.II El endotelio y sus funciones en la hemostasia**

El sistema periférico vascular consiste en todos los vasos sanguíneos que están fuera del corazón. Estos vasos estructuralmente están comprendidos por colágeno, elastina y fibronectina. Su estructura permite el soporte estructural del vaso, regulación del diámetro interno y la adecuada fricción para el flujo de la sangre (García, 2016).

También, producen sustancias con efectos antiagregantes y proagregantes plaquetarios y procoagulantes como anticoagulantes de la coagulación sanguínea. Además poseen la capacidad de vasoconstricción y vasodilatación. Ambos procesos son de suma importancia para regular el

flujo de sangre dentro de los vasos. La vasodilatación permite resolver un proceso vaso-oclusivo, y en contraste, la vasoconstricción evita la pérdida de sangre (Jiménez & López, 2016).

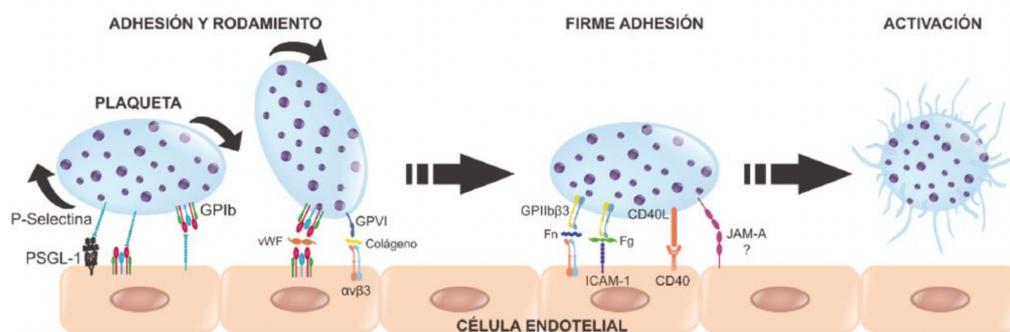
El endotelio sintetiza moléculas que participan tanto en la formación del coágulo temporal de plaquetas como en el coágulo de fibrina, así como en la disolución del mismo. Estas sustancias son de suma importancia en todo el proceso homeostático. Por ejemplo, produce el FT, el vWF, la prostaciclina, la AT, la TM, el TFPI, el activador de plasminógeno, heparán sulfato, entre otros (Jiménez & López, 2016).

### **I.III Formación del tapón plaquetario**

Las plaquetas son células anucleadas de suma importancia en la hemostasia primaria. Esta precede a la hemostasia secundaria y culmina con la formación de un tapón plaquetario primario y temporal que impide la pérdida de sangre. La membrana externa de las plaquetas posee distintas moléculas receptoras necesarias para la agregación de las mismas ante ciertos estímulos. Su interior está conformado por gránulos alfa y gránulos densos (de 6-9 por plaqueta). Los primeros, son más numerosos (70-90 por plaqueta) y poseen moléculas como la P-selectina, glicoproteína IIb, IIIa, glicoproteína Ib, el vWF y factores de coagulación de la vía intrínseca y común: V, IX y XIII. Los gránulos densos contienen ADP (ácido desoxirribonucleico), ATP (adenosín trifosfato), calcio, potasio y serotonina (Gómez-Gómez, et al., 2018). La vasoconstricción es posible gracias a los nucleótidos de adenina y altas concentraciones tanto de calcio como de potasio en estos gránulos. El vWF, el factor de crecimiento derivado de plaquetas, la alfa 2-antiplasmina y los factores V y VIII de los gránulos alfa regulan la hemostasia y distintos procesos inflamatorios (Jiménez & López, 2016).

Además de la formación del tapón plaquetario primario, las plaquetas proveen una superficie de fosfolípidos necesaria para la activación de los factores de coagulación, participan en la retracción del coágulo y la regulación inflamatoria. Su interior está comprendido por una red de filamentos de actina que poseen la capacidad de extenderse por el citosol y son vitales para la formación del tapón hemostático (Jiménez & López, 2016).

La adhesión, agregación y secreción de ambos tipos de gránulos son procesos inherentes a la formación del tapón primario temporal plaquetario. El primer proceso, la adhesión plaquetaria toma lugar cuando ciertas sustancias del endotelio de los vasos capilares son liberadas, tales como el colágeno o el vWF. Como se muestra en la figura I, glicoproteínas de la membrana de la plaqueta, como la glicoproteína plaquetaria Ib (GPIb) y glicoproteína plaquetaria VI (GPIV) se adhieren a estas sustancias. La GPIb es la primera en adherirse a dichas sustancias subendoteliales, específicamente al vWF. Posteriormente, ocurre la adhesión de las otras glicoproteínas. La P-selectina de la membrana plaquetaria se une al receptor de esta molécula presente en el endotelio, el ligando-1 de glicoproteína P-selectina (PSLG-1) (Lezama, et al., 2021).



**Figura I. Proceso de adhesión plaquetaria.**

Fuente: tomado de Lezama, R., Custodio-Chablé, S., Reyes-Maldonado, E. (2021). La activación plaquetaria como factor desencadenante de la inflamación y la aterosclerosis. *Cirugía y cirujanos*. 88(2).

Los procesos mencionados previamente anclan la plaqueta al endotelio, lo que produce su activación y hace que la plaqueta pase a una conformación esférica y extienda su citoplasma en forma de pseudópodos. Esto le permite una mayor interacción con otras plaquetas y con el subendotelio (Jiménez & López, 2016).

Posteriormente, se lleva a cabo la agregación plaquetaria. Durante este proceso, la glicoproteína IIb/IIIa posee la capacidad de unirse tanto al fibrinógeno como al vWF, lo que permite el reclutamiento plaquetario y la unión de plaquetas. También se liberan agonistas plaquetarios como el Tromboxano A<sub>2</sub>. Para finalizar la formación del tapón plaquetario, se libera el contenido de los gránulos alfa y densos. Además, la exposición de fosfolípidos de la membrana plaquetaria brinda

una superficie para que inicie la hemostasia secundaria: la activación de factores de coagulación (Jiménez & López, 2016).

#### **I.IV Hemostasia secundaria**

La hemostasia secundaria consiste en la formación de una malla de fibrina, la cual estabiliza el coágulo primario. Es importante mencionar que aunque existen diferentes modelos para explicar la coagulación, ambos (el modelo de cascada y el modelo celular) son complementarios y no excluyentes entre sí. El modelo celular se enfoca en la activación de los factores de coagulación sobre las superficies celulares, mientras que el modelo de cascada se enfoca en la secuencia de activación de los factores de coagulación en el plasma sanguíneo. La comprensión de ambos modelos permite entender la complejidad y precisión del proceso de coagulación, y cómo diferentes factores y procesos se coordinan para lograr una respuesta eficaz ante una lesión vascular.

La cascada de la coagulación comienza a pequeña escala con la activación de pocas moléculas, conforme las moléculas del inicio se activan se amplifica la cantidad de moléculas activas y consecuentemente se forma el coágulo estable de fibrina. Este coágulo de fibrina definitivo y firme es más estable que el tapón plaquetario producto de la hemostasia primaria. Para que se forme este coágulo es necesario de moléculas que viajan en el torrente sanguíneo a manera de zimógenos, los factores de coagulación. Como se muestra en el cuadro I, la forma activa de estos puede tener diferentes funciones. Un aspecto importante del factor III es que este no necesita de proteólisis para tomar su conformación activa. (Jiménez & López, 2016).

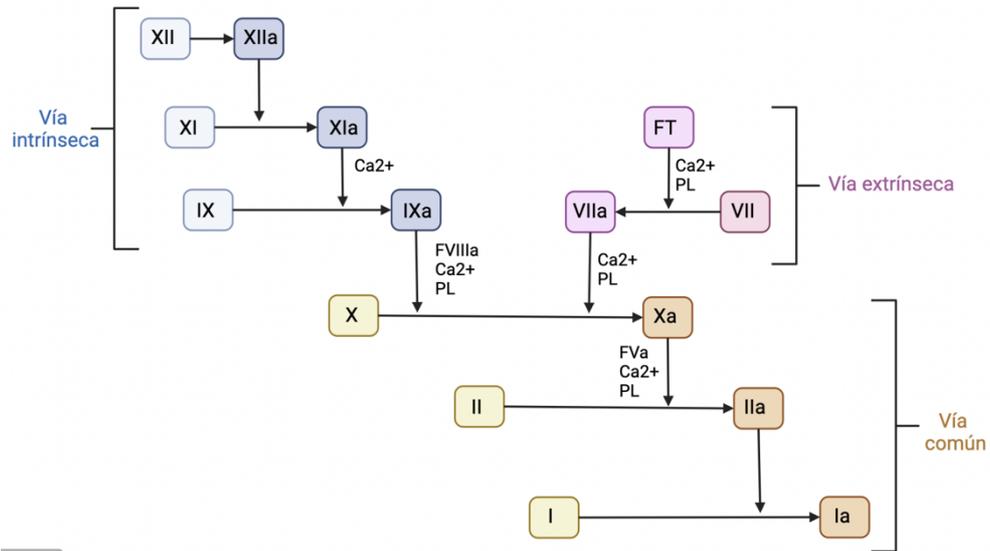
#### **Cuadro I. Factores de la coagulación.**

<b>Factor</b>	<b>Nombre</b>	<b>Forma activa</b>
I	Fibrinógeno	Fibrina
II	Protrombina	Serin proteasa
III	FT	Receptor y cofactor

V	Factor lábil	Cofactor
VII	Proconvertina	Serin proteasa
VIII	Factor antihemofílico	Cofactor
IX	Factor Christmas	Serin proteasa
X	Factor Stuart Power	Serin proteasa
XI	Antecedente trombotoplastínico del plasma	Serin proteasa
XII	Factor Hageman/Factor de contacto	Serin proteasa
XIII	Factor estabilizante de la fibrina	Transglutaminasa

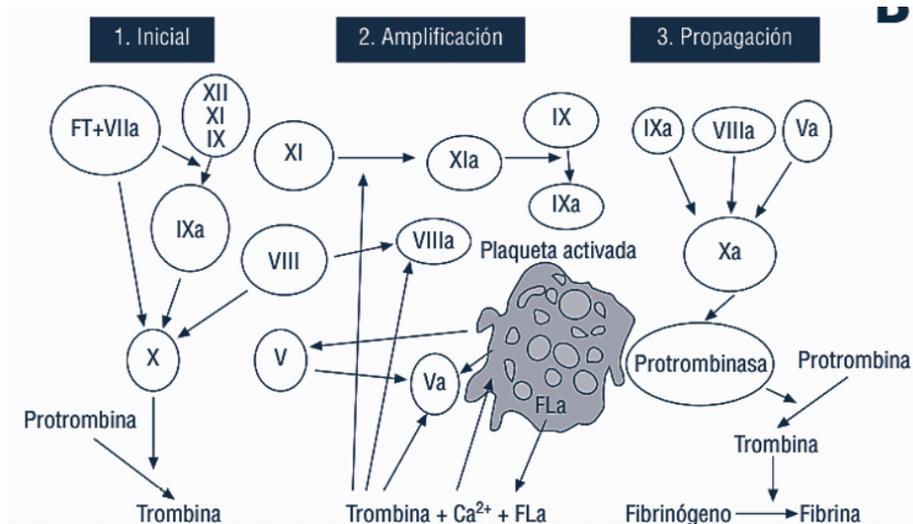
El modelo celular de la coagulación postula que todos estos procesos se dan de manera simultánea y sobre las membranas endoteliales y plaquetarias (debido a la exposición de las cargas negativas de los fosfolípidos de membrana plaquetarios). El FT es de suma importancia para el inicio de la antes llamada vía extrínseca de la coagulación. Es sintetizado por el endotelio, monocitos activados, pericitos, fibroblastos, plaquetas entre otros (González-Villalva et al., 2020). Este, en presencia de calcio y fosfolípidos, se une al factor VII y lo transforma en una serin proteasa activa. Posteriormente, el complejo FT-FVIIa activa a los factores IX y X. El factor V es un cofactor del factor Xa, este dúo posee la capacidad de generar una pequeña cantidad de trombina, es decir, factor IIa. La trombina es un agonista plaquetario por lo cual su activación permite que haya más plaquetas activadas y por consiguiente una mayor superficie para la activación de los factores de coagulación. Además, la trombina activa al fibrinógeno, creando la malla de fibrina del tapón homeostático. Inicialmente, se forma un coágulo frágil, pero la actividad transglutaminasa del factor XIII permite la estabilización del mismo. La antes llamada vía intrínseca o de contacto, inicia con el quinínogeno de alto peso molecular, la calicreína y el factor XIIa. Posteriormente, se activan el factor XI y X y posteriormente se activa la trombina. La vía común comprende los factores que llevan a la activación del fibrinógeno que corresponden a un nexo entre ambas vías.

En la figura II se ilustra este proceso (Jiménez & López, 2016). En contraste, en la figura III se ilustra el modelo celular de la coagulación.



**Figura II. Cascada de la coagulación.**

Fuente: Biorender



**Figura III. Modelo celular de la coagulación y sus distintas fases: inicial, amplificación y propagación.**

Fuente: tomado de Huerta Aragonés J, Cela de Julián E. Hematología práctica: interpretación del hemograma y de las pruebas de coagulación. En: AEPap (ed.). Congreso de Actualización Pediatría 2019. Madrid: Lúa Ediciones 3.0; 2019. p. 507-528

## **I.V Regulación antitrombótica**

En condiciones basales, el endotelio sano posee carácter antitrombótico ya que las plaquetas no activadas no se adhieren a él. Al mismo tiempo, existen distintas moléculas sintetizadas por el endotelio que antagonizan el carácter procoagulante. De esta manera, se regula la coagulación excesiva que va más allá del límite necesario para mantener un organismo en homeostasis. Se debe regular la actividad procoagulante tanto plaquetaria como la plasmática.

### **I.V.I Fase plaquetaria**

El óxido nítrico es una molécula sintetizada, por el endotelio, a partir de la l-arginina en respuesta a ciertos agonistas como el ATP, serotonina y trombina. Como se mencionó anteriormente, estas moléculas poseen características procoagulantes, inclusive algunas se encuentran dentro de los gránulos densos de las plaquetas y son liberadas cuando estas son activadas. El óxido nítrico posee carácter vasodilatador e interviene en mantener el tono de la vasculatura. Al mismo tiempo, es un antiadhesivo y antiagregante plaquetario, actúa junto a la prostaciclina. Al igual que el óxido nítrico, esta es sintetizada por el endotelio. Sin embargo, se sintetiza a partir del ácido araquidónico. Inhibe la función plaquetaria, tanto su adhesión como su activación. Estimula a la enzima adenil ciclasa, la cual genera un aumento de AMP cíclico que inhibe la función plaquetaria y favorece la vasodilatación.

### **I.V.II Fase plasmática**

La fase plasmática del mecanismo antitrombótico se lleva a cabo gracias a los conocidos inhibidores fisiológicos de la coagulación. La AT inhibe directamente a la trombina. Esta molécula es un potente inhibidor de serin proteasas como la trombina. Para actuar, debe formar un complejo de 1:1 con el sitio activo de los factores activados. Los glucosaminoglucanos potencian su actividad, actúan como cofactores de esta molécula. Por esta razón, su actividad se potencia en el endotelio ya que el mismo se encuentra recubierto de glucosaminoglucanos como el heparán sulfato. Individuos con deficiencia de AT tienden a padecer de trombofilia. Además, la AT es un potente inhibidor del factor Xa (García, 2016).

La TM es una proteína de superficie de membrana de las células endoteliales. Esta posee una especificidad para unir trombina. De esta manera, reduce la trombina circulante y disminuye su actividad procoagulante. Cuando se une a la trombina, posee la capacidad de activar al inhibidor de fibrinólisis activado por plaquetas (TAFI) y neutraliza al inhibidor del activador de plasminógeno 1 (PAI-1). El primero es una proenzima que atenúa el proceso fibrinolítico, inhibe la disolución del coágulo de fibrina. El segundo inhibe al activador tisular del plasminógeno (tPA) y la uroquinasa (uPA), por lo cual tiene actividades antifibrinolíticas (Sillen & Declerck, 2021). La TM también, posee la capacidad de aumentar 200.000 veces la actividad de la PC, un zimógeno dependiente de vitamina K que posee efectos anticoagulantes, antiapoptóticos y antiinflamatorios. Inhibe a los cofactores Va y VIIIa. Los inhibidores de la PCA corresponden al antes mencionado PAI-1,  $\alpha$ 1 antitripsina y  $\alpha$ 2 macroglobulina.

La PS es un cofactor de la PC que se sintetiza en el endotelio, megacariocitos e hígado (García, 2016). Al igual que la PC es dependiente de la vitamina K (Jiménez & López, 2016). Fisiológicamente, la mayoría de PS sintetizada se une a la fracción 4 del complemento, el 30%-40% de PS que queda libre es la que actúa como cofactor de la PC. Su función como cofactor es facilitar la unión de la PC a los fosfolípidos de membrana y favorecer el carácter inhibitorio de la PC sobre los factores Va y VIIIa. La PS por sí sola también posee efectos que inhiben la coagulación ya que inhibe la protrombinasa (Factor II) y es cofactor del inhibidor de la vía del factor tisular (IVTF). Por último, posee la capacidad de unirse a las membranas de células apoptóticas lo que es de relevancia tanto en la coagulación como en la inflamación (García, 2016). Al ser ambas dependientes de la vitamina K, tanto la actividad de la PCA como de la PS disminuye con medicamentos cumarínicos (García, 2016). En síntesis, el complejo TM/PC/PS posee actividad anticoagulante al inhibir el factor Va y factor VIIIa (García, 2016).

El inhibidor de la vía del factor tisular (IVFT) inhibe la hemostasia secundaria desde el inicio ya que uno de sus dominios inactiva el complejo FT-VIIa, inhibiendo así el inicio de la vía extrínseca de la coagulación. Otro de sus dominios o fragmentos, inhibe al factor Xa. Asimismo, el complejo IVTF-Xa inhibe al complejo FT-VIIa y posee un efecto sinérgico con la AT (García, 2016).

La proteína Z al igual que la PC y PS, depende de la vitamina K. Circula junto al inhibidor de proteasas dependiente de proteína Z (ZPI), y juntos inactivan al factor Xa. Por sí solo, el inhibidor de proteasas dependiente de proteína Z es una serpina que unido a la PZ, aumenta su actividad hasta 1000 veces más (García, 2016).

Las anexinas son proteínas que se unen a los fosfolípidos y reducen la actividad procoagulante. Por otro lado, la  $\alpha$ 2-macroglobulina es un inhibidor de proteasas de amplio espectro (García, 2016).

## **I.VI Fibrinólisis**

La fibrinólisis es necesaria para eliminar los depósitos de fibrina sintetizados por los procesos mencionados anteriormente. Es el proceso de disolución del coágulo (González-Villalva et al., 2020). Se da gracias a un sistema enzimático proteolítico llamado plasminógeno-plasmina (Jiménez & López, 2016). Al igual que el sistema de coagulación, hay un zimógeno el cual es activado: el plasminógeno. Esto gracias a activadores endógenos del plasminógeno, como el activador tisular de plasminógeno (t-PA) y la urokinasa (u-PA). A pesar de que la fibrina es su principal sustrato, también actúa sobre los factores V, VII y VIII. También, aparte de los activadores endógenos de plasminógeno, existen activadores exógenos del mismo. Estos se encuentran en microorganismos. Por ejemplo, la estreptoquinasa de los estreptococos beta hemolíticos (Jiménez & López, 2016).

Cuando la plasmina actúa sobre el fibrinógeno-fibrina se liberan varias moléculas producto de esta proteólisis. Por ejemplo, el dímero D y los productos de degradación del fibrinógeno-fibrina (PDF). Los PDF al ser proteolizados producen distintos fragmentos: X, Y, D y E. Su detección a nivel de laboratorio demuestra que este proceso ha sido activado. Los fragmentos de menor tamaño, D y E se detectan en pacientes con CID. (Jiménez & López, 2016). El dímero D se produce al ser degradada la fibrina estable, es decir, la fibrina con enlaces del factor XIII. Este se encuentra en circulación sanguínea en un estado basal, sin embargo, ante la elevación de la producción de trombina aumenta consecuentemente, por ejemplo en el embarazo, cáncer o incremento de edad (González-Villalva et al., 2020).

Para la regulación del sistema fibrinolítico existen distintos inhibidores, por ejemplo, las antiplasminas y los inactivadores del tPA, conocidos como inhibidores del activador tisular de plasminógeno (PAI). La alfa 2 antiplasmina, sintetizada en el hígado, posee la capacidad de disminuir la actividad del plasminógeno a un 30% de su actividad total. Es la antiplasmina más potente ya que las otras no se unen al plasminógeno. El inhibidor del activador de plasmina 1 (PAI-1) bloquea al t-PA y u-PA por lo tanto también posee mecanismos antifibrinolíticos (González-Villalva et al., 2020).

## Capítulo II. Inflamación

### II.I Introducción al sistema inmune

La vida multicelular como la conocemos es posible gracias al sistema inmune. Este posee el papel de diferenciar entre moléculas propias y moléculas extrañas. Antes de 1882, se creía que los glóbulos blancos potenciaban el daño que causaba un microorganismo ya que se creía que su único papel en infecciones era propagar el agente patógeno por los distintos tejidos del cuerpo. Posteriormente, se descubrió que los mismos más bien tenían la capacidad de engolfar agentes patógenos y deshacerse de él (McComb et al., 2019). Las células del sistema inmune se encuentran propagadas prácticamente por todo el organismo, excepto en algunos tejidos inmunoprivilegiados como el sistema nervioso central (Hammer & McPhee, 2019). Por otro lado, los órganos del sistema inmune están limitados a ciertos sitios anatómicos como el bazo, médula ósea, placas de Peyer y el timo. Por su parte, estos órganos colaboran con la maduración de las células del sistema inmune y en su reservorio (McComb et al., 2019).

La respuesta inmunitaria se divide en innata y adaptativa. La inmunidad innata corresponde a la primera respuesta de defensa del sistema inmune debido a que sus mecanismos pueden actuar casi de manera inmediata al entrar en contacto con el posible daño. Consiste en barreras físicas y químicas. Las primeras consisten en las capas epiteliales de la piel, las mucosas y el tejido glandular conectado con tejidos que se encuentran expuestos al ambiente. Las segundas corresponden a sustancias solubles que poseen la capacidad de generar daño ante agentes patógenos, por ejemplo, el pH ácido del estómago. Por su lado, se puede dar una respuesta innata celular la cual es llevada a cabo por los neutrófilos y macrófagos. Estos poseen la capacidad de fagocitar partículas o agentes patógenos. El fin de este proceso consiste en contener o eliminar el agente potencialmente patógeno. Esto es posible debido a que en su interior estos fagocitos poseen mecanismos, estructuras y moléculas tóxicas para el agente. Sin embargo, hay agentes que tienen la capacidad de sobrevivir este proceso.

La inmunidad adaptativa se caracteriza por actuar ante el reconocimiento de antígenos específicos. Para que se lleve a cabo deben ocurrir una serie de procesos de reordenamiento genético por lo cual se lleva más tiempo que en la respuesta inmune innata. Sin embargo, esta posee respuesta de memoria que al ser activada empieza a funcionar de manera rápida y oportuna. Se lleva a cabo tanto por células B y T y proteínas secretadas (anticuerpos secretados por células B). Además, las

citoquinas también forman parte de este sistema. La inmunidad mediada por células permite a los efectores primarios, las células T, combatir contra algún agente patógeno (Romberg, 2021). La inmunidad mediada por componentes humorales recae en las células B y los anticuerpos que estas secretan. Los anticuerpos poseen la capacidad de neutralizar toxinas, opsonizar y señalar para una eventual respuesta citotóxica. (Sanz, et al., 2021).

Los macrófagos son células centinelas del sistema inmune innato con capacidad fagocítica. Las células dendríticas mediante la presentación de antígeno a linfocitos T hacen posible la serie de procesos que generan la actividad adaptativa. También son células fagocíticas. Ambas son potentes productoras de citoquinas inflamatorias como la IL-6, IL-23, entre otras. Las células NK poseen actividad citotóxica contra células infectadas por virus o células tumorales. Por otro lado, los basófilos, neutrófilos y eosinófilos son células hematológicas con función especializada, también poseen la capacidad de producir citoquinas inflamatorias (McComb et al., 2019).

Las citoquinas son pequeñas moléculas proteicas liberadas por células que tienen la capacidad de exacerbar o regular la respuesta del sistema inmune. La liberación de citoquinas proinflamatorias llevan a la activación de células inmunes y a la posterior liberación de más citoquinas proinflamatorias. Su efecto sobre una célula depende sobre qué tipo de célula está actuando; son pleotrópicas. Por esta razón, algunas citoquinas pueden tener carácter regulador, otras exacerbar la respuesta, ser sinérgicas, entre otros (Kany, et al., 2019). Las citoquinas proinflamatorias tienen un papel importante en enfermedades de este carácter, tales como cáncer o estados de shock y trauma. Se pueden usar para monitorear la condición del paciente e inclusive pueden tener implicación terapéutica. En el cuadro II se mencionan algunas de las principales citoquinas de relevancia clínica.

Entre las moléculas antimicrobianas encontramos la lisozima en secreciones de mucosas y secreciones glandulares. Posee la capacidad de dividir los enlaces glucosídicos del peptidoglicano de la pared bacteriana. También la lactoferrina, esta se une al hierro y lo secuestra, de manera consiguiente este no está disponible para el metabolismo bacteriano y fúngico, daña las membranas celulares y disminuye la infectividad viral (Owen, et al., 2019). Como estas tenemos otras moléculas: calecidina, defensinas alfa, defensinas beta, entre otros (Oloaskoaga, et al., 2018).

**Cuadro II. Citoquinas de relevancia clínica, fuente y función.**

<b>Citoquina</b>	<b>Células productoras</b>	<b>Funciones conocidas</b>
IL-1	Neutrófilos, macrófagos, monocitos, células dendríticas, células epiteliales, células endoteliales	Citoquina proinflamatoria. Coestimulación de CPA células T, inflamación, fiebre, respuesta de fase aguda.
IL-6	Neutrófilos, macrófagos, células T, células B, monocitos, células dendríticas, células epiteliales, células endoteliales	Crecimiento y diferenciación de células T y B.
IL-33	Células epiteliales, células endoteliales	Induce respuesta inflamatoria Th2.
Factor de necrosis tumoral alfa (TNF alfa)	Neutrófilos, macrófagos, células T, células B, células NK, monocitos, células dendríticas, células epiteliales, células endoteliales	Muerte celular, inflamación
IL-10	Macrófagos, células T, células B, células NK, monocitos, células	Citoquina inmunoreguladora. Supresión de macrófagos e

	dendríticas	inhibición de respuesta Th1.
IL-8	Neutrófilos, células NK, monocitos	Quimioatrayente de neutrófilos y células T.
IL-17	Células Th17	Estimulación de producción de péptidos antimicrobianos en células epiteliales
IFN- $\gamma$	Células Th1	Activación de neutrófilos

## II.II Elementos básicos de la inflamación

Una respuesta inmune exitosa depende de distintos procesos moleculares y celulares que ocurren simultáneamente para contener o contrarrestar algún estímulo peligroso que esté recibiendo un organismo sano.

Por su lado, la inflamación corresponde a una respuesta del tejido ante estímulos que le pueden provocar daño. Tanto estímulos exógenos como endógenos. Su fin es reparar el daño realizado al tejido, la eliminación del estímulo dañino o la eliminación de células necróticas. Se da ante estímulos como químicos tóxicos, trauma, agentes del ambiente, microbianos, células propias dañadas, tumores, etc. El inicio de la inflamación se produce cuando las células de un organismo sensan PAMPS o DAMPS (Netea, et al., 2017). Los PAMPS corresponden a estructuras conservadas en agentes patógenos, por ejemplo, el lipopolisacárido de las bacterias gram negativas (Aldapa-Vega, et al., 2016). Los DAMPS corresponden a patrones moleculares asociados a daño (Roh & Son, 2018). Ambos se reconocen por los PRRs los cuales están expresados en monocitos, células dendríticas, neutrófilo, macrófagos, linfocitos, fibroblastos y células epiteliales (Netea, et al., 2017). Posterior al reconocimiento de dichas moléculas, estas células liberan citoquinas proinflamatorias. El TNF e IL-1beta (cuadro II) llevan a la activación local de macrófagos y neutrófilos, de manera autocrina, sin embargo, cuando son liberadas en cantidades mayores pueden tener efecto endocrino llevando al aumento de proteínas de fase aguda, activación plaquetaria, fiebre, fatiga y anorexia (Netea, et al., 2017).

Durante una respuesta inflamatoria, las células endoteliales se activan en respuesta a las citoquinas, lo que resulta en una permeabilización vascular. Esta permeabilidad aumentada

permite que líquido y proteínas plasmáticas ingresen al tejido, causando tumefacción y otros cambios fisiológicos. Estos cambios son importantes para reclutar células y moléculas al sitio de daño con el objetivo de eliminar el estímulo dañino y promover la reparación tisular (Owen, et al., 2019).

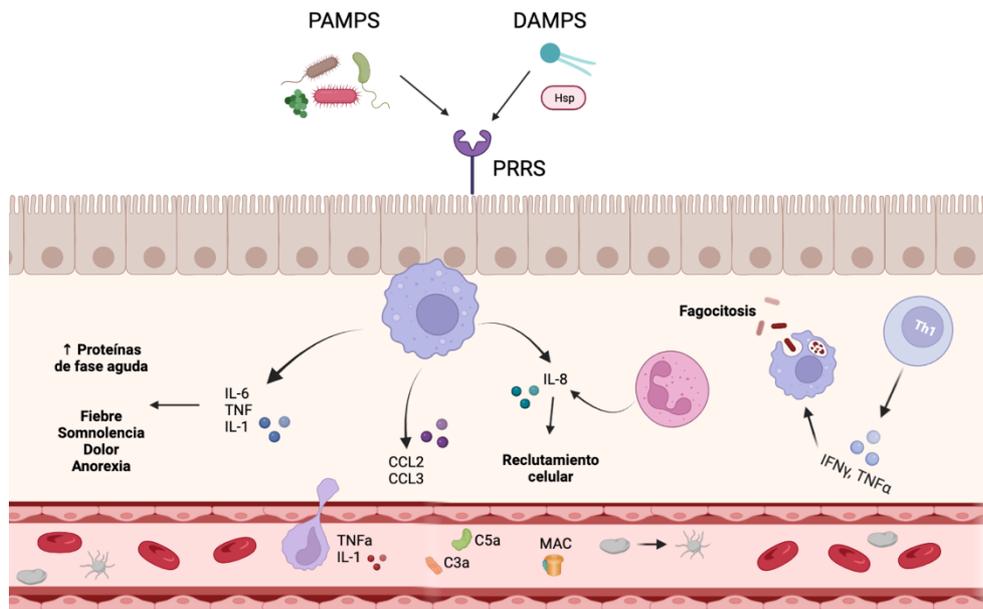
En este proceso inflamatorio, se reclutan diversas células y moléculas. Por ejemplo, se reclutan células fagocíticas, como los neutrófilos y los monocitos, que son atraídos al sitio de daño mediante quimioquinas, que son citoquinas quimioatrayentes. Estas células fagocíticas son capaces de fagocitar y eliminar patógenos y otros materiales extraños (Owen, et al., 2019).

Además, se reclutan células dendríticas, que desempeñan un papel crucial en la presentación de antígenos y la activación de respuestas inmunitarias específicas. También se reclutan células citotóxicas, que son importantes para eliminar células infectadas o dañadas (Owen, et al., 2019).

Durante la respuesta inflamatoria, también se produce vasodilatación e hipotensión, lo que resulta en un aumento del flujo sanguíneo en el área afectada. Esto facilita el reclutamiento de células y moléculas inflamatorias al tejido.

Es importante destacar que este proceso inflamatorio también activa el sistema del complemento, un conjunto de proteínas plasmáticas. La activación del sistema del complemento genera partículas inflamatorias, como C3a y C5a, que contribuyen a la respuesta inflamatoria.

En resumen, la respuesta inflamatoria es un proceso complejo que involucra la activación de las células endoteliales, reclutamiento de células y moléculas inflamatorias, vasodilatación, hipotensión y activación del sistema del complemento. Estos eventos son fundamentales para eliminar el estímulo dañino y promover la reparación tisular en el tejido afectado.



**Figura IV. Vías moleculares y celulares inmunes activadas en el proceso inicial inflamatorio.**

Fuente: Biorender

El objetivo final del proceso inflamatorio es contrarrestar el daño tisular y restaurar el tejido. Las características comunes de la respuesta inflamatoria incluyen: edema, eritema, dolor, aumento de la temperatura y pérdida de la función. (Stone, et al., 2022). Es importante destacar que, si bien la respuesta inflamatoria es un mecanismo crucial para la defensa y la reparación del tejido, en ocasiones puede producirse una respuesta inmune o inflamatoria excesiva que puede generar daño al individuo. Esto puede ocurrir en condiciones como el síndrome de tormenta de citoquinas en la infección por SARS-CoV-2, donde hay una respuesta hiperinflamatoria descontrolada. En este caso, la activación de macrófagos mediada a través de la interleuquina-1 (IL-1) y la interleuquina-6 (IL-6) puede provocar un daño multisistémico (Callejas, et al., 2020).

Por esta razón, se debe dar una regulación de la respuesta inflamatoria. El organismo debe ser capaz de retornar a su estado de homeostasis luego de la activación de células inflamatorias y liberación de citoquinas proinflamatorias. Existen distintas células, moléculas y vías que buscan mantener esta respuesta bajo control o que la misma cese cuando ya haya cumplido su función. La regulación de la misma no depende solamente de la eliminación del estímulo dañino, si no, es un proceso activo en el cual se reprograma la función de la respuesta celular. Las células T reguladoras liberan IL-10, esta suprime la producción de citoquinas proinflamatorias. La IL-37 liberada por monocitos, macrófagos, células dendríticas y plasmáticas tiene carácter antiinflamatorio al igual que la citoquina TGF beta, liberada por monocitos y plaquetas. Por otro lado, dominios

extracelulares solubles de receptores de citoquinas, como el TNFR y IL-1R poseen la capacidad de neutralizar a sus respectivos ligandos. De esta manera, TNF y IL-1R no pueden ejercer su función proinflamatoria. También, los antagonistas del receptor IL-1R se unen al mismo, se secuestra el receptor y no se desencadena ninguna respuesta celular inflamatoria. Se inhabilita la transcripción de genes que codifican por citoquinas. También, proteínas de fase aguda, como la  $\alpha$ -1 antitripsina, poseen carácter antiinflamatorio. Las hormonas del estrés, como los corticosteroides y catecolaminas, son liberadas cuando el organismo está en un estado de alerta. Las mismas también poseen carácter antiinflamatorio (Netea, et al., 2017). Por su parte, una respuesta antiinflamatoria persistente puede tener un efecto negativo en el individuo, ya que este aún es susceptible a infecciones secundarias (Netea, et al., 2017)

### **Capítulo III. Relación entre la coagulación y la inflamación**

#### **III.I Introducción al puente entre la coagulación e inflamación**

Aunque el sistema de coagulación y el sistema de inflamación se estudian por separado, ambos sistemas están estrechamente relacionados y trabajan en conjunto para mantener la homeostasis y responder a los estímulos externos. Las vías activas de la coagulación afectan el sistema inmune y ocasionan que este encienda sus alarmas para que se desencadene el proceso inflamatorio y viceversa. Estudios recientes han demostrado que ambos sistemas no se pueden abordar por aparte, trabajan sincrónicamente para recuperar el estado de homeostasis del individuo. Sin embargo, la sobreestimulación de uno puede llevar a la activación exagerada del otro y la regulación de ambos es altamente necesaria. (Foley & Conway, 2016).

Por ejemplo, la AT posee propiedades antiinflamatorias. La inhibición de la trombina por la AT genera que no se dé la activación de distintos mediadores inflamatorios. A pesar de esto, estas propiedades no son exclusivas de su función en la cascada de coagulación. Estudios han demostrado que tanto *in vitro* como *in vivo* la AT posee efectos antiinflamatorios independientes de su actividad anticoagulante. La AT induce la liberación de prostaciclina de células endoteliales. La prostaciclina inhibe la activación y agregación plaquetaria, bloquea la unión de los neutrófilos a los vasos sanguíneos y disminuye la producción de ciertas citoquinas y quimioquinas proinflamatorias. También, la AT posee la capacidad de unirse tanto

a leucocitos como linfocitos y bloquea la interacción de estos a células del endotelio (Cavaillon & Singer, 2018).

La hemostasia e inflamación corresponden a procesos íntimamente conectados, esto lleva al concepto de la trombo-inflamación. Ambos sistemas buscan optimizar la respuesta del organismo ante el daño e invasión de patógenos, esto debido a que se activan por procesos infecciosos, no infecciosos y enfermedades crónicas. (Kohli & Isermann, 2021). Además, el conocimiento de ambos sistemas y su debida correlación puede ser de gran ayuda al campo terapéutico para tratar gran variedad de enfermedades, por ejemplo, el cáncer (Bauer et al., 2022).

### **III.II Relevancia clínica de la interacción entre la coagulación y la inflamación**

Los pacientes que presentan condiciones inflamatorias severas también sufren de anormalidades en la coagulación. Esta desregulación del sistema de coagulación debido a la inflamación comprende desde anormalidades sutiles que solo pueden ser detectadas por biomarcadores altamente sensibles a cuadros coagulatorios más graves en los cuales se da depleción de plaquetas y alargamiento de los tiempos de coagulación. Estos pacientes que cursan con coagulopatías severas asociadas a inflamación pueden llegar a manifestar enfermedades tromboembólicas o deposición de fibrina en la microvasculatura, lo cual puede llevar al fallo de órganos. Anormalidades en la coagulación ocurren en un 50-70% de pacientes que presentan inflamación sistémica severa. De estos, el 35% de pacientes pueden presentar CID. Además, de un 35-50% de los pacientes en estados inflamatorios graves pueden presentar trombocitopenia. Usualmente, el conteo de plaquetas disminuye en los primeros 4 días de internamiento de estos pacientes. En pacientes con sepsis, la severidad del cuadro se relaciona directamente a la depleción plaquetaria (Cavaillon & Singer, 2018).

Reportes post-mortem de pacientes con cuadros inflamatorios graves demuestran que los mismos poseían anormalidades en la coagulación y en algunos casos CID. Por ejemplo, sangrados difusos en distintos tejidos, necrosis de tejido, microtrombos en vasos sanguíneos e inclusive trombos más grandes en arterias y venas (Cavaillon & Singer, 2018).

Debido a que la activación de la coagulación se relaciona directamente con la trombosis microvascular y la inflamación se puede sacar provecho de estas interrelaciones en el ámbito de terapia anticoagulante. Al inhibir la coagulación se puede mejorar la perfusión

microvascular, reducir la inflamación y preservar la función de órganos y tejidos. Cabe resaltar que uno de los mayores retos en este ámbito terapéutico es encontrar terapias que aunque posean efecto anticoagulante y antiinflamatorio no pongan al individuo en riesgo de hemorragia (Jackson, et al., 2019). A continuación se describen algunos moduladores importantes que conectan ambos procesos.

### **III.III FT**

El FT corresponde al principal iniciador de la vía extrínseca de la coagulación. Es el receptor del factor VIIa. El complejo FT y VIIa cataliza la activación proteolítica de los factores de coagulación X y IX, llevando a la generación de trombina y posterior conversión de fibrinógeno a fibrina. Al haber daño endotelial, el FT es expuesto a los factores de la coagulación. Además, su interacción con algunos ligandos, como los PARS (receptores activados

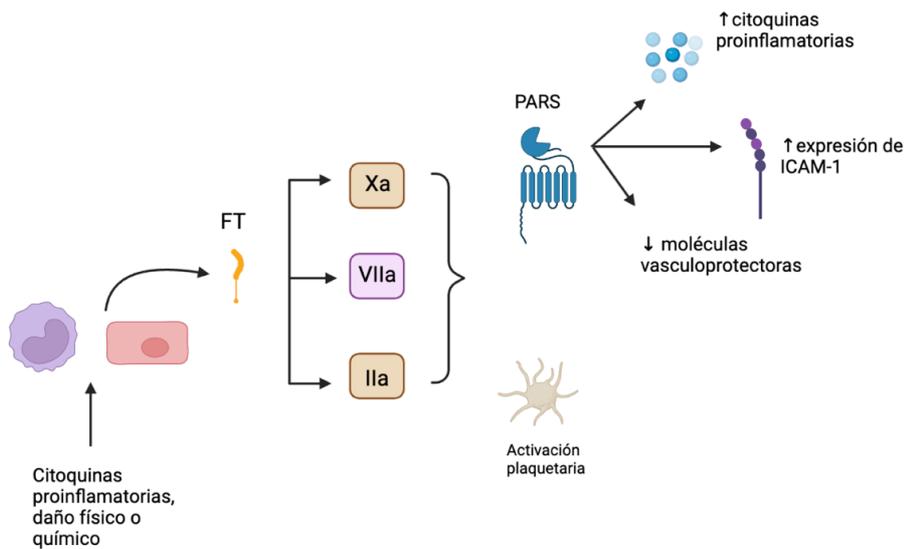
por proteasas) lleva a que se generen otro tipo de respuestas proinflamatorias en la vasculatura (Witkowski et al., 2016). Corresponde a una glicoproteína de membrana de las células endoteliales la cual normalmente no se encuentra expuesta al torrente sanguíneo para prevenir una coagulación innecesaria. Sin embargo, se ha visto que en enfermedades inflamatorias, como lo es el cáncer y sepsis el FT se encuentra expuesto al flujo sanguíneo (Cimmino & Cirillo, 2018). En sepsis severas, células mononucleares estimuladas por citoquinas proinflamatorias expresan FT lo cual conlleva a una activación de la coagulación sistémica (Cavaillon & Singer, 2018).

En respuesta a daño físico o químico, citoquinas proinflamatorias, agentes infecciosos, radicales libres de oxígeno u otro estímulo dañino, se activan vías para el aumento de la expresión del FT por las células perivasculares (fibroblastos, células de músculo liso y pericitos) y los monocitos, las células fuente de la mayor cantidad de FT circulante. Al ser expuesto el FT al torrente sanguíneo se da la activación de los factores VIIa, Xa y trombina, lo cual activa plaquetas e induce el señalamiento dependiente de PARS. Esto conlleva a un aumento de citoquinas proinflamatorias, aumento de la expresión de las moléculas de adhesión leucocitaria (ICAM-1) y supresión de moléculas vasculoprotectoras, como lo es la TM (Foley & Conway, 2016).

Las citoquinas proinflamatorias conllevan al aumento de vWF, factor plaquetario 4, P-selectina y CD40L. El factor plaquetario 4 (PF4) se encuentra en los gránulos alfa de las plaquetas, superficie plaquetaria y células endoteliales. Este lleva a la agregación plaquetaria y formación de coágulos. Además, al unirse con la heparina el complejo forma un nuevo inmunógeno, se activan plaquetas

y se liberan micropartículas. El complejo heparina-PF4 también interactúa con monocitos, aumentan la producción de FT y genera un estado protrombótico. (Cruz-González et al., 2007). La P-selectina es una molécula de adhesión celular que favorece la adhesión de los neutrófilos y monocitos a las células endoteliales (Lam et al., 2020). El CD40L participa en la regulación de las células B (National Library of Medicine, 2023). El aumento de estas moléculas promueven el reclutamiento, adhesión y activación tanto de plaquetas como de leucocitos. A su vez, conllevan a la formación de trampas extracelulares de neutrófilos (NETs) (Foley & Conway, 2016), estos NETs pueden llevar a la inmuno-trombosis (Middleton et al., 2020).

El FT puede ser usado como un blanco para la terapia contra el cáncer. La inflamación se ha asociado con el desarrollo y evolución del cáncer (Singh, et al., 2019). Los pacientes con cáncer tienden a poseer un estado procoagulante. Asimismo, sus niveles de FT son superiores a los de individuos sanos. Los pacientes con cáncer poseen mayor probabilidad de desarrollar una trombosis venosa, sin embargo la arterial también puede ocurrir. El FT juega un papel importante en ambos casos. Como tratamiento, se ha empleado la proteína anticoagulante recombinante de nematodos c2. Esta es un inhibidor directo del complejo FT:FVIIa (Unruh & Hurbinski, 2020). Esto inhibe la coagulación y reduce la activación del fibrinógeno. Esta proteína ha sido de gran utilidad para mantener la hemostasia y reducir la trombosis venosa cuando es administrada de manera profiláctica a pacientes con cáncer (Tong, et al., 2015).



**Figura V. Efecto del factor tisular en vías inflamatorias y procoagulantes.**

Fuente: Biorender

### III.IV Trombina y PARs

Como se mencionó anteriormente, la trombina corresponde al factor IIa de la cascada de la coagulación. Es una serin proteasa que activa al fibrinógeno. Previene la hemorragia, pero también tiene la capacidad de desencadenar trombosis y un estado proinflamatorio (Foley & Conway, 2016). Por su lado, los PARs se encuentran estrechamente relacionados con distintas enfermedades inflamatorias de carácter crónico. Cuando estos receptores se activan, pueden desencadenar distintas vías inflamatorias. Cabe mencionar que la trombina puede actuar como uno de los activadores. Estos receptores son proteínas transmembrana acopladas a proteínas G. Sin embargo, no poseen ligandos solubles y su activación se produce mediante la proteólisis de su extremo N-terminal. De igual manera, poseen la capacidad de activar otros PARs, TLR y canales de iones (Heuberger & Schuepbach, 2019).

Los PARs se encuentran expresados en varios tipos de células, incluyendo células endoteliales, células del sistema inmune, plaquetas, células epiteliales, leucocitos, astrocitos y neuronas por lo cual son relevantes en procesos de inflamación, trombosis y hemostasis. La familia de PARs consta de cuatro miembros: PAR-1, PAR-2, PAR-3 y PAR-4. PAR-2 es activado por el factor Xa, el resto son activados por la trombina. (Foley & Conway, 2016). Estos receptores desempeñan un rol importante en la regulación de la hemostasia, el tono vascular, la adhesión celular y la respuesta inflamatoria. Su activación aumenta la expresión de moléculas de adhesión endotelial como la ICAM-1 y VCAM-1, induce la migración leucocitaria, promueve la secreción de citoquinas proinflamatorias, como la IL-8, regula la extravasación de macromoléculas como proteínas del complemento y anticuerpos (Heuberger & Schuepbach, 2019).

PAR-1 y PAR-4 están presentes en las plaquetas humanas y pueden activarse mediante la unión de trombina. Como respuesta, las plaquetas liberan sus gránulos, cambian de forma, se da la agregación plaquetaria, el calcio intracelular se libera y se transloca la molécula de adhesión P-selectina y CD40L (Foley & Conway, 2016).

Los PARs activados por trombina específicamente, la activación de PAR-1 en células endoteliales y fibroblastos, favorece la producción de TNF alfa, IL-1 beta, IL-6 y molécula quimioatrayente de monocitos-1. Estos procesos de manera prolongada promueven un estado protrombótico.

Existen terapias para prevenir la coagulación excesiva que tienen como blanco a los PARs. Estas terapias emplean péptidos antagonistas que mimetizan los ligandos de estos receptores. Además,

se han desarrollado anticuerpos que bloquean los PARS, ya sea bloqueando la unión de una molécula con potencial proteolítico o bloqueando el sitio de corte para la proteasa. También existen pequeñas moléculas no peptídicas que se unen al sitio de la proteína G, la cual desempeña un papel en la activación del receptor, como varopaxar y atopaxar (Heuberger & Schuepbach, 2019). Se ha desarrollado una molécula llamada pepducina que posee como blanco el PAR-4 la cual penetra las células y modifica la señalización. Al principio esta tecnología parecía prometedora al demostrar que había una protección parcial del hígado, riñón y pulmones, sin embargo, no tuvo un efecto positivo en prevenir la CID y mortalidad en modelos murinos. Por otro lado, existe una clase de moléculas pequeñas llamadas parmodulinas que se unen selectivamente en la cara citoplasmática de PAR-1. La ventaja de estas consiste en que se inhibe selectivamente una parte de la vía de señalización de PAR-1, sin embargo, no la vía de señalización en su totalidad (Jackson, et al., 2019).

### **III.V Complejo TM -PC-EPCR**

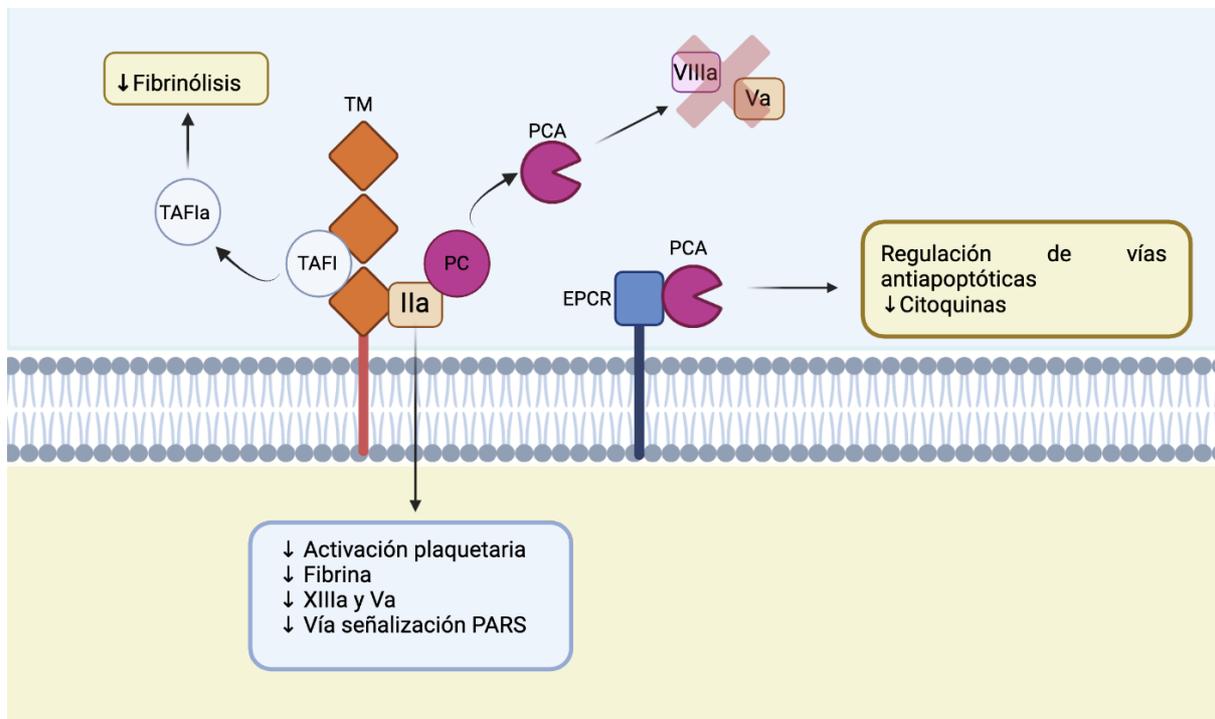
La TM es un receptor endotelial de membrana que se une a la trombina, catalizando la activación de la PC. Esto conduce a la degradación de los factores Va y VIIIa y por consiguiente la disminución de la protrombina activada (National Library of Medicine, 2022). El receptor endotelial de proteína C (EPCR) aumenta la activación de la PC a través del complejo trombina-TM, lo que contribuye a la actividad anticoagulante de la PC. Además, el EPCR también juega un papel en la función antiinflamatoria de la PC, en la cual los PARS mencionados anteriormente también están involucrados (Liang et al., 2015).

La TM posee la capacidad de determinar si la trombina posee efecto procoagulante o anticoagulante. Cuando la trombina se une a la TM pierde la capacidad de activar plaquetas, proteolizar el fibrinógeno, estimular las células endoteliales, activar el factor XIII, factor V e inducir la vía de señalización de los PARS. Al mismo tiempo, posee la capacidad de activar la PC (Foley & Conway, 2016). Es decir, pierde su actividad procoagulante y proinflamatoria. Además, se ha visto que la TM se puede unir a las proteínas de alta movilidad (HMGB1), una proteínas asociadas a enfermedades inflamatorias y las inactiva. En contraste, en ausencia de TM la trombina adquiere capacidad procoagulante y profibrótica (Chatterjee, 2021), algunas mediadas por la vía del factor NF- $\kappa$ B o vías de PARS (Foley & Conway, 2016). Por otro lado, el complejo Trombina-TM puede activar el TAFI, lo que sustenta su actividad procoagulante, esto debido que

al activar el TAFI se enlentece e inhibe la fibrinólisis del coágulo de fibrina (Van Moorsel et al., 2021).

El complejo EPCR-PCA actúa de manera similar. Cuando se forma este complejo, impide que la PCA desactive los factores Va/VIIIa. Sin embargo, cuando el complejo está formado, la PCA posee actividad antiinflamatoria al activar vías de PARS y regular vías antiapoptóticas (IAP-1, A20). Esto se debe a que la EPCR actúa como un cofactor ante la proteólisis de los PARS. Cuando la PCA no se encuentra unida a su receptor es capaz de neutralizar el PAI-1 lo cual sustenta la fibrinólisis, además disminuye el nivel de citoquinas circulantes (Foley & Conway, 2016). Cabe mencionar que la EPCR además de estar presente en la superficie endotelial, se encuentra en células como monocitos, células dendríticas, neutrófilos y eosinófilos.

En síntesis, el complejo TM-PC-EPCR desempeña un papel crucial en la protección vascular. Actúa como un mediador de suma importancia para la actividad de la trombina, lo que lo convierte en un potente inactivador de la coagulación. La trombina pierde su actividad procoagulante al estar unida a la TM y en contraste, activa a la PC. La EPCR une la PC al complejo trombina-TM y propaga su activación (Hoffman et al., 2017). En la figura V se ilustran los distintos efectos ocasionados por este sistema.



**Figura VI.** Mecanismos activados por el complejo TM-PC-EPCR.

Fuente: Biorender

La TM recombinante consiste en una molécula que conserva el dominio extracelular de la TM, pero carece del dominio transmembrana y citoplasmático. Posee una afinidad similar a la trombina y mantiene su capacidad de actuar como cofactor de la PCA. No actúa inhibiendo la actividad de la trombina directamente, inhibe la generación de trombina mediante la activación de la PC y subsecuente inactivación del FVa. La hrTM actúa de manera local en el sitio donde es generada la trombina. Esto debido a que su acción es dependiente de la PCA y actúa solamente luego de que la trombina sea generada. El hecho de que la PCA es inactivada por las distintas proteasas presentes en el plasma limita la capacidad anticoagulante de la rTM. Esto reduce la probabilidad de sangrado no deseado en comparación con la terapia de PCA (Ito, et al., 2019). La hrTM está en estudio para tratar cuadros sépticos severos. Esta posee ventajas sobre la PCA recombinante humana debido a que está asociada con menor sangrado. Además, está asociada con la supresión del complemento y endotoxinas. Estudios realizados en Japón demostraron que la hrTM posee mayor eficacia y es más segura para tratar la CID en comparación a la heparina. También se ha relacionado con una disminución del dímero D y fragmentos de protrombina (Jackson, et al., 2019).

Estudios de la última década han demostrado que el desarrollo de variantes de PCA exclusivas para disminuir los efectos de sangrado también pueden ser de gran utilidad para prevenir la inflamación y proteger las células lo cual demuestra la relación entre este regulador de la coagulación con la inflamación y la importancia que puede tener esto en el ámbito terapéutico (Jackson, et al., 2019).

### **III.VI Inmunidad innata**

La activación de la respuesta inmune innata como primera línea de defensa contra patógenos es fundamental para recuperar la homeostasis del organismo. Ante la presencia de un agente patógeno se activan distintas vías moleculares y celulares del sistema inmune innato. Se producen citoquinas proinflamatorias como la IL-6, IL-1 y TNF alfa (entre otros) que favorecen un estado protrombótico. La formación del coágulo de fibrina con el propósito de minimizar la infección o daño es un claro ejemplo de cómo la hemostasis está relacionada con el sistema inmune innato. En esta respuesta, se da la formación del coágulo con el propósito de contener el patógeno y prevenir su diseminación. La capacidad de algunas bacterias, como los *Streptococcus* beta-hemolíticos del

grupo A, C y G, de tener mecanismos profibrinolíticos y antitrombóticos sustentan esta relación (Keragala et al., 2017).

Esta conexión entre la respuesta efectiva del sistema inmune y el intento de restaurar el estado hemostático basal genera un ciclo proinflamatorio que amplifica la expresión del FT, estableciendo una relación importante entre la coagulación y la inflamación.

### **III.VI.I Receptores Toll Like (TLR)**

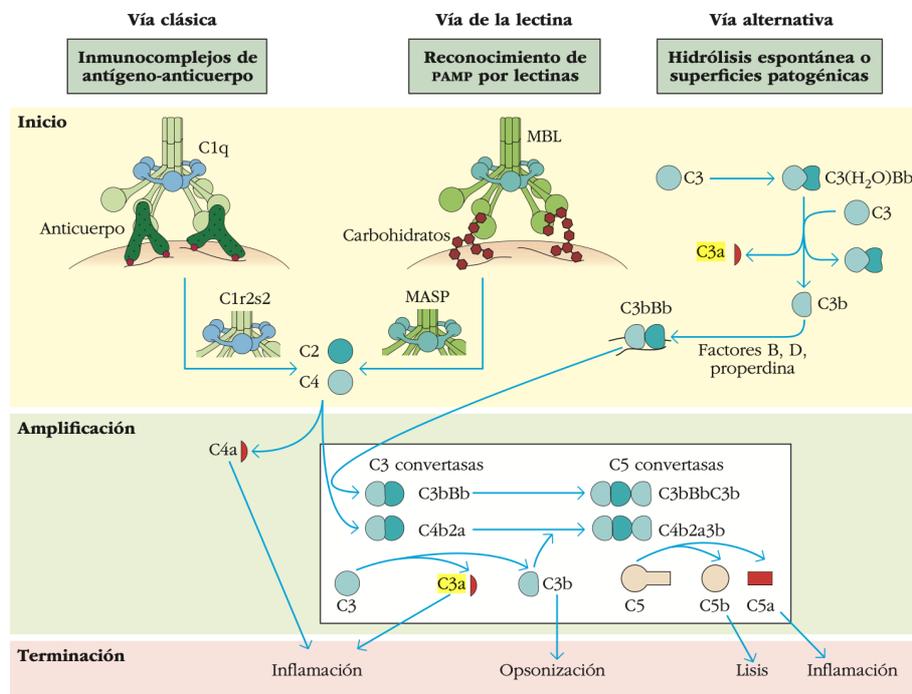
Los TLR son homodímeros o heterodímeros (en el caso de TLR2 con TLR1 o TLR6) que se encuentran tanto en membranas de células como endosomas y lisosomas. Reconocen ligandos microbianos específicos. Los TLR que reconocen PAMPS extracelulares se encuentran en la membrana celular, mientras que los que reconocen PAMPS que provienen de la degradación de microorganismos que han sido endocitados se encuentran en las membranas de endosomas y lisosomas. De igual manera, pueden reconocer DAMPS (Owen, et al., 2019). Se encuentran en células endoteliales, plaquetas, células dendríticas, macrófagos y otras células relacionadas con la inflamación. Cuando un ligando específico se une a su TLR respectivo, se activa la vía intracelular de MyD88, esta recluta al receptor de IL-6 asociado a quinasas que llevan a la liberación del NF- $\kappa$ B y su translocación al núcleo. Este lleva a la síntesis de citoquinas proinflamatorias como la IL-1, TNF alfa, IL-6 e IL-12. El TLR4 se ha asociado a la expresión del FT en la enfermedad trombotica de anticuerpos antifosfolípidos, trombosis microvascular y diabetes mellitus. Además, en hipercolesterolemia, diabetes, trombosis y trombosis arterial en ratones. Asimismo, el TLR2 y TLR4 también juegan un papel importante en la activación de plaquetas y coagulación excesiva en relación con histonas extracelulares (Foley & Conway, 2016).

Sin embargo, aún los mecanismos en como los TLR se asocian a la trombosis no están totalmente elucidados y se necesita más investigación al respecto.

### **III.VI.II Complemento**

El sistema del complemento es un sistema proteolítico de defensa de primera línea ante agentes patógenos y daño celular. Su activación se encuentra estrechamente relacionada con procesos fisiológicos que previenen la hemorragia y soportan la regeneración de tejidos. Al igual que la cascada de coagulación, es un sistema que se activa por la proteólisis de sus componentes y que

busca llevar al organismo a su estado homeostático mediante la respuesta inmune (Pryzdial et al., 2022). El sistema se puede activar mediante tres vías: la clásica, vía de la lectina y la vía alternativa. Todas estas vías convergen en la formación de un complejo catalizador enzimático que proteoliza la molécula del C3 en C3a y C3b. La vía clásica se activa cuando C1q se une a un complejo antígeno-anticuerpo. La vía de la lectina posee ese nombre por la lectina de unión a Manosa (MBL, por sus siglas en inglés). Ante la unión de MBL a la superficie de un agente patógeno detecta disposiciones de carbohidratos conservadas, se activa una serie de serin proteasas asociadas a MBL y se activa esta vía. La vía alternativa se activa por la hidrólisis espontánea de C3. A pesar de que estas vías se inician de manera distinta, todas culminan en la generación de opsonización, lisis e inflamación. En la figura VI se ejemplifica este proceso.



**Figura VII. Tres vías principales de activación del complemento.**

Fuente: tomado de Punt J. Stranford S. A. Jones P. P. & Owen J. A. (2019). *Kuby immunology* (Eighth). Macmillan Education.

Entre sus componentes, el complemento posee anafilotoxinas. Estas son glicopéptidos que ante la invasión de un agente extraño envían señales proinflamatorias (por ejemplo, la liberación de histamina) a manera de defensa. Estos corresponden a los fragmentos C3a, C5a y C4a. Sus debidos receptores, C3aR, C5aR y C2aR se encuentran acoplados a proteínas G (Briones & Cañarte, 2017). Tanto C3a como C5a pueden inducir a las células endoteliales a que liberen IL-1 e IL-8. También,

pueden activar directamente monocitos, neutrófilos, macrófagos y simultáneamente inducir cambios en la permeabilidad vascular. C5b-7, C5b-8 y C5b-9 activan células capaces de enviar señales proinflamatorias. Por otro lado, C5a afecta positivamente la adhesión de neutrófilos al endotelio al estimular la expresión de P-selectina , , induce la expresión del FT en neutrófilos, células endoteliales y secreción de FvW. El C5b-7 induce la expresión del FT en monocitos y C5b-8 y C5b-9 son capaces de activar a las plaquetas (Foley & Conway, 2016).

La reducción de la expresión de proteínas del complemento en membranas celulares contribuye al aclaramiento de células apoptóticas, participando de esta manera en la hemostasia. Por ejemplo, las microangiopatías trombóticas como lo es el Síndrome Urémico Hemolítico, la Púrpura Trombocitopénica Trombótica y Preeclampsia Gestacional pueden estar relacionadas con la desregulación del sistema del complemento (Mogollón, et al., 2020). Por ejemplo, en la Púrpura Trombocitopénica Trombótica el aumento de multímeros de vWF pueden activar la vía alternativa del complemento. De la misma manera, los niveles de multímeros de vWF, factores del complemento y niveles de ADAMTS13 se encuentran relacionados (Lancelloti, et al., 2023). El inhibidor de la C1 esterasa purificado se emplea para el tratamiento del angioedema hereditario. Por otro lado, la Hemoglobinuria Paroxística Nocturna puede llevar a la formación de trombosis venosa que afecta las venas hepáticas. El eculizumab es un anticuerpo monoclonal humanizado que tiene como blanco la C5. Inhibe los pasos terminales de la cascada del complemento y la formación del complejo de ataque a membrana (Owen, et al., 2019).

### **III.VI.III NETs**

En el año 2004 se descubrió una matriz fibrilar de cromatina y ADN no condensada secretada por los neutrófilos ante la presencia de lipopolisacáridos. Se demostró que estas redes de material genético son capaces de atrapar bacterias y permitir que otros neutrófilos adyacentes tengan actividad bactericida sobre el patógeno retenido. Se les llamó trampas extracelulares de neutrófilos o NETs (Kimball et al., 2016).

Los NETs se encuentran relacionados en la fisiopatología de distintas condiciones que se pueden relacionar con un estado protrombótico descontrolado. Por ejemplo, se ha visto que participan en la sepsis, trombosis venosa, trauma y trombosis relacionada al cáncer. La NETosis puede ocurrir en individuos sanos. Se cree que la constante activación de este mecanismo forma parte del estado homeostático de un organismo en su estado basal. Al igual que la formación del coágulo de fibrina

y su consecuente lisis, es un proceso altamente regulado. En personas con eventos trombóticos, como la trombosis venosa, se ha determinado que los NETs forman parte estructural del coágulo. Tanto el nivel de ADN extracelular como de mieloperoxidasa son elevados en personas que poseen eventos trombóticos, en comparación a individuos sanos.

Por otro lado, hay estudios que demuestran que enzimas relacionadas a los NETs pueden inactivar el TFPI lo cual sustenta un estado protrombótico. Simultáneamente modulan positivamente la actividad antifibrinolítica ya que el ADN circulante libre relacionado a los NETs (cfADN) inhibe la disolución del coágulo de fibrina mediada por plasminógeno. Por último, los NETs actúan tanto en la vía intrínseca como extrínseca de la coagulación estimulando la activación del FXII (Kimball et al., 2016).

Sin embargo, aún los mecanismos de cómo los NETs se asocian a la inmunotrombosis no están totalmente elucidados y se necesita más investigación al respecto. El conocimiento del papel de los NETs en la fisiopatología inmunotrombótica ofrece nuevas probabilidades para mejorar el tratamiento anti trombosis. Por ejemplo, la inhibición de la P-selectina es un tratamiento terapéutico indirectamente dirigido contra los NETs aplicado en modelos murinos. Reduce el reclutamiento de neutrófilos, generación de NETs y la actividad procoagulante de la propia P-selectina, por lo cual disminuye la trombosis venosa profunda. Por otro lado, también se ha considerado emplear ADNasas y anticuerpos anti-histonas para eliminar el daño colateral de la formación de NETs. En modelos animales, han demostrado ser un factor protector contra una coagulación excesiva, sin embargo, podrían también suponer una erradicación ineficiente de microorganismos causantes de infecciones y además, una generación mayor de trombina debido a la liberación masiva de los componentes de las NETs (Aranda, et al., 2015).

### **III.VII Micropartículas**

Las micropartículas (MPs) son pequeñas vesículas membranosas que contienen fosfolípidos aniónicos, como la fosfatidilserina, receptores transmembrana, canales, proteínas de adhesión celular y FT en sus membranas. Son originadas a partir de células apoptóticas. Su tamaño ronda los 0,05-1  $\mu\text{m}$  de diámetro, gracias a su pequeño tamaño poseen distintas funciones alrededor de casi todo el árbol vascular (Foley & Conway, 2016). Poseen carácter procoagulante ya que suministran una superficie óptima para la unión de los factores de la cascada de coagulación. Los monocitos son la mayor fuente de MPs y FT intravascular (Espitia-Huerter'O, 2015). La

composición y características de cada MP depende de su célula de origen, el estímulo que la origine y el microentorno de esa MP. Pueden ser de origen plaquetario, eritrocítico, leucocitario, endotelial, entre otros. Las MPs de origen plaquetario, conocidas como PMPs poseen las glicoproteínas de membrana plaquetarias en su superficie, GP IIb-IIIa y P-selectina. Pueden contener una gran variedad de moléculas importantes en distintas vías celulares ya que su interior está constituido por citoplasma de la célula de origen (citoquinas, quimioquinas, enzimas, entre otros) . Son de gran importancia en procesos fisiológicos como la hemostasia, trombosis, inflamación, sistema inmune o angiogénesis (Sánchez, 2017).

Las MPs eritrocíticas poseen la capacidad de activar neutrófilos e inducir la adhesión de monocitos y macrófagos al endotelio, esto debido a que durante el estrés oxidativo se generan fosfolípidos oxidados biológicamente activos. Por otro lado, las PMPs pueden facilitar la adhesión de los monocitos al endotelio vascular y al mismo momento, vía la P-selectina, favorecer la interacción entre los leucocitos. Las MPs al poseer fosfatidilserina en sus membranas facilita el ensamblaje de los factores de coagulación, favorece la formación del complejo tenasa y protrombinasa. De igual manera, PMPs, el endotelio, fibroblastos y monocitos pueden contener una gran cantidad de FT en su membrana, exponiendo mayor cantidad de FT y dando inicio a la vía extrínseca de la coagulación. Estas MPs se acumulan en el coágulo. Por otro lado, modelos experimentales han demostrado que tras un daño endotelial la acumulación durante los primeros 60 segundos de FT se da por el FT proveniente de los MPs y no de los otros tipos de células, el FT proveniente de estas actúa hasta haber pasado de 2-3 minutos (Sánchez, 2017).

De igual manera, los MPs pueden contener moléculas anticoagulantes, por ejemplo TM, TFPI, PCA, t-PA, u-PA (Sánchez, 2017).

### **III.VIII Sistema fibrinolítico**

La plasmina formada en la superficie de células del sistema inmune posee la capacidad de desencadenar una serie de vías que concluyen con la producción de citoquinas proinflamatorias. Esto gracias a la interacción de la plasmina con sus debidos receptores en la superficie de células del sistema inmune relacionadas con la inflamación. Las plaquetas, células endoteliales, y leucocitos poseen gran cantidad de receptores de plasmina en su superficie. Estos se pueden unir tanto a la plasminógeno como a activadores de plasminógeno (u-PA y t-PA). Se ha comprobado que en ratones, un aumento del plasminógeno se ha relacionado directamente con una mayor

fagocitosis por parte de los neutrófilos. De igual manera, la plasmina se puede relacionar con el complemento, células endoteliales y de la matriz extracelular (Medkalf & Keragala, 2021). La Anexina A2 corresponde a un receptor de plasminógeno el cual al ser activado estimula vías proinflamatorias que llevan a la translocación de NF-kB al núcleo, expresión de TNF alfa, IL-1 e IL-6 (Foley & Conway, 2015).

El receptor de u-PA, uPAR, tiene la característica de concentrar u-PA en la superficie de las células al interactuar con esta molécula. El complejo u-PA-uPAR permite que u-PA interactúe con distintas moléculas adaptadoras, como las integrinas, lo cual genera diferenciación y migración celular y producción de citoquinas proinflamatorias (Foley & Conway, 2016).

También se ha encontrado clara relación entre el sistema del complemento y el sistema fibrinolítico. La C4BP (Proteína de unión del C4) posee la capacidad de inhibir la vía clásica de inicio del complemento y también al cofactor de la PC, la PS. Por otro lado, hay estudios que señalan que la plasmina puede actuar como la convertasa de C5, proteolizando este fragmento. De igual manera, la carbopeptidasa B2 (TAFI) además de reducir la activación del plasminógeno puede generar las anafilotoxinas C3a y C5a (Leung & Morser, 2016) y generar C3b, el iniciador del complejo de ataque a membrana (Foley & Conway, 2016), actuando como un regulador del sistema.

Respecto al TFPI, estudios preclínicos han demostrado que al emplear una terapia con TFPI recombinante regula el efecto de la IL-8 y el TNF alfa. También, redujo la mortalidad en un grupo de conejos sépticos y de babuinos. En estos se asoció con niveles menores de IL-6. Lo mismo sucede en estudios en fase 2 en pacientes con sepsis severa; al disminuir este biomarcador inflamatorio y al intervenir con la mejora clínica del paciente se demostró que es un tratamiento seguro y eficiente (Jackson, et al., 2019).

### **III.IX Desarrollo de terapias más seguras**

Las terapias anticoagulantes empleadas en estados tromboinflamatorios a pesar de poseer efectos beneficiosos para el paciente también han sido asociados con complicaciones hemorrágicas. Por esta razón, se buscan nuevas tecnologías más seguras para tratar cuadros como sepsis y derrames (Jackson, et al, 2019).

Se ha visto que individuos que poseen una deficiencia congénita de FXI poseen menor riesgo de tromboembolismo y derrame isquémico. Además, estos individuos no poseen riesgo

excesivo de sangrados espontáneos así como individuos con deficiencia de FXII no poseen una tendencia a hemorragias. De igual manera, la delección genética del FXI y FXII en modelos murinos, de conejos y babuinos ha demostrado protegerlos contra cuadros trombóticos con un mínimo riesgo de sangrados. La administración a modelos de ratas de fármacos inhibidores del FXIIa ha sido asociada con protección contra sepsis severa y daño cerebral debido a isquemia (Jackson, et al., 2019).

El polifosfato o PolyP es una molécula que se acumula en cadenas largas en agentes infecciosos y que también es secretado por las plaquetas en sus gránulos. Esta molécula potencia la activación de protrombina por lo cual se busca emplear inhibidores de polifosfato para prevenir la coagulación e inflamación excesiva. Estudios de coagulación in vitro e in vivo en modelos murinos han demostrado que los inhibidores de PolyP, como la polymixina B, poseen efectos anticoagulantes, antitrombóticos y antiinflamatorios, sin embargo, estos se han asociado a niveles significativos de toxicidad in vivo (Jackson, et al., 2019).

Por otro lado, se puede emplear como blanco la interacción física entre plaquetas y neutrófilos. Esto debido a que las plaquetas y neutrófilos son las células principales que promueven el estado agudo tromboinflamatorio. La interacción entre plaquetas y neutrófilos forma agregados, estos agregados pueden causar obstrucción de la microvasculatura lo cual puede resultar en daño agudo pulmonar, síndrome coronario agudo y derrame isquémico. Para esto, se emplean como blanco moléculas de adhesión plaquetaria como la P-selectina; Inclacumab es un anticuerpo monoclonal contra esta molécula que ha demostrado no extender los tiempos de sangrado ni evitar la agregación plaquetaria (Jackson, et al. 2019).

## Conclusiones

- La activación, perpetuación, eficacia y regulación del sistema de coagulación es necesario para mantener la hemostasia. En este proceso interactúan varias moléculas efectoras que permiten el correcto funcionamiento del sistema. Entre ellas se encuentran el FT, serín-proteasas, fosfolípidos, calcio, inductores de activación y agregación plaquetaria, inhibidores y reguladores del sistema, entre otros. Estas moléculas tienen como fin prevenir sangrados o una coagulación excesiva.
- El proceso inflamatorio corresponde a una respuesta del tejido en el que se da edema, aumento de la temperatura, eritema, dolor y pérdida de función ante estímulos que le pueden provocar daño con el propósito de contrarrestarlo. Inicia cuando se censan PAMPS o DAMPS mediante los PRRs. Posterior a esto, se da la liberación de citoquinas proinflamatorias como el TNF e IL-1 por células inmunológicas.
- La activación de la cascada de coagulación tiene un efecto importante en la inflamación. La trombina generada en el proceso de coagulación tiene propiedades inflamatorias y activa células del sistema inmune. El FT, los PARS, la trombina y el complejo TM-PC-EPCR conforman parte fundamental de vías celulares moduladoras que previenen tanto un proceso inflamatorio y coagulatorio exacerbado. Los productos de degradación de la coagulación pueden actuar también como moduladores inflamatorios.
- El sistema inmune también influye de manera importante en la coagulación. Células de la respuesta inmune como los monocitos expresan y liberan sustancias procoagulantes. Las citocinas inflamatorias pueden activar el endotelio y desencadenar el proceso de coagulación. La inmunidad innata juega un importante papel en la regulación de la coagulación e inflamación mediante las micropartículas, NETs, el sistema del complemento y los receptores Toll Like.
- Queda demostrado que la coagulación y la inflamación están íntimamente relacionadas, son procesos que, aunque tradicionalmente se estudian por separado trabajan en conjunto para mantener la homeostasis del organismo. Ambos sistemas se influyen mutuamente, la desregulación de uno tiene efecto sobre el otro.
- La sobreestimulación del sistema de coagulación se encuentra directamente relacionado con una inflamación exacerbada, una inflamación sostenida puede desencadenar CID y un proceso trombótico puede favorecer una respuesta inflamatoria sistémica.

- Así mismo, la modulación de la coagulación afecta directamente la inflamación y viceversa. En el ámbito terapéutico, se busca desarrollar nuevas tecnologías moleculares, como la hrTM, PCA recombinante, inhibidores de PolyP, inhibidores del factor XII, entre otros. Estas nuevas tecnologías pueden ser beneficiosas en cuadros inflamatorios severos como sepsis, embolias trombopulmonares e isquemia cerebral.
- Uno de los más grandes retos en el campo de terapias anticoagulantes es desarrollar fármacos que sean seguros y el riesgo de hemorragia sea el mínimo.
- El campo de la utilidad terapéutica a la que se le puede dar las interconexiones entre la vía de la coagulación y el proceso inflamatorio aún está en varias etapas de desarrollo por lo cual se necesitan mayor cantidad de estudios para poder obtener un mejor provecho de las moléculas puente y vías celulares implicadas en ambos procesos.

## Bibliografía

1. Aldapa-Vega, G., Pastelín-Palacios, R., Isibasi, A., Moreno-Eutimio, M. A., & López-Macías, C. (2016). Modulación de la respuesta inmune por los lipopolisacáridos bacterianos [Modulation of immune response by bacterial lipopolysaccharides]. *Revista alergía Mexico (Tecamachalco, Puebla, Mexico : 1993)*, 63(3), 293–302. <https://doi.org/10.29262/ram.v63i3.207>
2. Aranda, F., Wingeyer, S., de Larranga, G. (2015). Inmunotrombosis: implicancias de las trampas extracelulares de neutrófilos en el desarrollo y progresión de la enfermedad tromboembólica venosa. *Hematología*. 9(3). Recuperado de <https://www.sah.org.ar/revistasah/numeros/09%20Inmunotrombosis%20vol%2019%20n3.pdf>
3. Bauer, A. T., Gorzelanny, C., Gebhardt, C., Pantel, K., & Schneider, S. W. (2022). Interplay between coagulation and inflammation in cancer: Limitations and therapeutic opportunities. *Cancer treatment reviews*, 102, 102322. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2021.102322>
4. Briones, C., Cañarte, J. (2017). Anafilotoxinas. [Salud e Infección: Inmunología, Virología y Micología, Universidad Técnica de Manabí]. Recuperado de <https://es.slideshare.net/carloxbrix/articulo-anafilotoxinas>
5. Callejas Rubio, J. L., Aomar Millán, I., Moreno Higuera, M., Muñoz Medina, L., López López, M., & Ceballos Torres, Á. (2020). Tratamiento y evolución del síndrome de tormenta de citoquinas asociados a infección por SARS-CoV-2 en pacientes octogenarios [Evolution and treatment of storm cytoquine syndrome associated to SARS-CoV-2 infection among octogenarians]. *Revista española de geriatría y gerontología*, 55(5), 286–288. <https://doi.org/10.1016/j.regg.2020.05.004>
6. Chatterjee, S. (2021). *Endothelial Signaling in Vascular Dysfunction and Disease : From Bench to Bedside*. Academic Press.
7. Chen, L., Deng, H., Cui, H., Fang, J., Zuo, Z., Deng, J., Li, Y., Wang, X., Zhao, L. (2018). Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Impact Journals*. 9(6). pp: 7204-7218

8. Cimmino, G., & Cirillo, P. (2018). Tissue factor: newer concepts in thrombosis and its role beyond thrombosis and hemostasis. *Cardiovascular diagnosis and therapy*, 8(5), 581–593. <https://doi.org/10.21037/cdt.2018.10.14>
9. Cruz-González, I., Sánchez-Ledesma, M., L. Sánchez, P., Ik-Kyung, J. (2009). Trombocitopenia inducida por heparina. *Revista Española de Cardiología*. 60 (10). DOI: 10.1157/13111239.
10. Espetia-Huerter'O, P. (2015). Actualidades en la coagulación. *Revista Mexicana de Anestesiología*. 38(1). Recuperado de <https://www.medigraphic.com/pdfs/rma/cma-2015/cmas151ad.pdf>
11. Foley, J., Conway, E. (2016). Cross Talk Pathways Between Coagulation and Inflammation. *Thrombosis Compedium*. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.306853
12. García L (2016). Fisiología de la hemostasia. Fernández-Tresguerres J.A., & Ruiz C, & Cachofeiro V, & Cardinali D.P., & Escriche E, & Gil-Loyzaaga P.E., & Juliá V, & Teruel F, & Pardo M, & Menéndez J(Eds.), *Fisiología humana, 4e*. McGraw Hill. <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1858&sectionid=134365156>
13. Gómez-Gómez, B., Rodríguez-Weber, F., Díaz-Greene. (2018). Fisiología plaquetaria, agregometría plaquetaria y su utilidad clínica. *Medicina interna de México*. 34(2). <https://doi.org/10.24245/mim.v34i2.1908>
14. González Guerrero, Celia, & Montoro Ronsano, José Bruno. (2015). Fisiopatología y tratamiento de la hemorragia crítica: una revisión de la literatura. *Farmacía Hospitalaria*, 39(6), 382-398. <https://dx.doi.org/10.7399/fh.2015.39.6.8907>
15. González-Villalva, A., Peña-Díaz, A., Rojas-Lemus, V., Lopez-Valdez, N., Ustarroz-Cano., M., García Peláez, I., Bizarro-Nevarés, P., Fortoul, T.. (2020). Fisiología de la hemostasia y su alteración por la coagulopatía en COVID 19. *Hemostasia y coagulopatía en COVID 19*. 63(5). <http://doi.org/10.22201/fm.24484865e.2020.63.5.08>
16. Hammer G.D., & McPhee S.J.(Eds.), (2015). *Fisiopatología de la enfermedad, 7e*. McGraw Hill. <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1584&sectionid=103053638>

17. Heuberger, D.M., Schuepbach, R.A. (2019). Protease-activated receptors (PARs): mechanisms of action and potential therapeutic modulators in PAR-driven inflammatory diseases. *Thrombosis J.* 17 (4) <https://doi.org/10.1186/s12959-019-0194-8>
18. Hoffman, R., Benz, E. J., Silberstein, L. E., Heslop, H. E., Weitz, J. I., Anastasi, J., Salama, M. E., & Abutalib, S. (2017). *Hematology: Basic Principles and Practice*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/C2013-0-23355-9>
19. Huerta Aragonés J, Cela de Julián E. Hematología práctica: interpretación del hemograma y de las pruebas de coagulación. En: AEPap (ed.). Congreso de Actualización Pediatría 2019. Madrid: Lúa Ediciones 3.0; 2019. p. 507-528.
20. Ito, T., Thachil, J., Asakura, H., Levy, J. H., & Iba, T. (2019). Thrombomodulin in disseminated intravascular coagulation and other critical conditions—a multi-faceted anticoagulant protein with therapeutic potential. *Critical care (London, England)*, 23(1), 280. <https://doi.org/10.1186/s13054-019-2552-0>
21. Shaun P. Jackson, Roxane Darbousset, Simone M. Schoenwaelder (2019). Thromboinflammation: challenges of therapeutically targeting coagulation and other host defense mechanisms. *Blood*, 133 (9): 906–918. doi: <https://doi.org/10.1182/blood-2018-11-882993>
22. Jean-Marc Cavaillon, & Mervyn Singer. (2018). *Inflammation - From Molecular and Cellular Mechanisms to the Clinic From Molecular and Cellular Mechanisms to the Clinic*. Weinheim, Germany Wiley-Vch Verlag Gmbh & Co. Kga.
23. Jiménez, R., López, J. (2016). Hematología Analítica: Tomo 1, 6e. EDNASSS.
24. Kany, S., Vollrath, J. T., & Relja, B. (2019). Cytokines in Inflammatory Disease. *International journal of molecular sciences*, 20(23), 6008. <https://doi.org/10.3390/ijms20236008>
25. Keragala, C., Draxler, D., McQuilten, Z., Medcalf, L. (2017). Haemostasis and innate immunity – a complementary relationship. *British Journal of Haematology*. <https://doi.org/10.1111/bjh.15062>
26. Kimball AS, Obi AT, Diaz JA and Henke PK (2016) The Emerging Role of NETs in Venous Thrombosis and Immunothrombosis. *Front. Immunol.* 7:236. doi: 10.3389/fimmu.2016.00236
27. Lam, F. W., Brown, C. A., Valladolid, C., Emebo, D. C., Palzkill, T. G., & Cruz, M. A. (2020). The vimentin rod domain blocks P-selectin-P-selectin glycoprotein ligand 1

- interactions to attenuate leukocyte adhesion to inflamed endothelium. *PloS one*, 15(10), e0240164. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0240164>
28. Lancellotti, S., Sacco, M., Tardugno, M., Ferretti, A., & De Cristofaro, R. (2023). Immune and Hereditary Thrombotic Thrombocytopenic Purpura: Can ADAMTS13 Deficiency Alone Explain the Different Clinical Phenotypes? *Journal of Clinical Medicine*, 12(9), 3111. MDPI AG. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.3390/jcm12093111>
29. LaPelusa, A., Dave, H. (2022). Physiology, Hemostasis. In: StatPearls [Internet]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545263/>
30. Leung, L. L., & Morser, J. (2016). Plasmin as a complement C5 convertase. *EBioMedicine*, 5, 20–21. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2016.03.015>
31. Lezama, R., Custodio-Chablé, S., Reyes-Maldonado, E. (2021). La activación plaquetaria como factor desencadenante de la inflamación y la aterosclerosis. *Cirugía y cirujanos*. 88(2). [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2444-054X2020000200233](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2444-054X2020000200233)
32. Liang, H. P., Kerschen, E. J., Hernandez, I., Basu, S., Zogg, M., Botros, F., Jia, S., Hessner, M. J., Griffin, J. H., Ruf, W., & Weiler, H. (2015). EPCR-dependent PAR2 activation by the blood coagulation initiation complex regulates LPS-triggered interferon responses in mice. *Blood*, 125(18), 2845–2854. <https://doi.org/10.1182/blood-2014-11-610717>
33. López-Santiago, N. (2016). Pruebas de coagulación. *Acta pediátrica de México*. 37(4). [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0186-23912016000400241&lng=es&tlng=es](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0186-23912016000400241&lng=es&tlng=es).
34. Marc V. A. van Moorsel, Geke C. Poolen, Cornelis A. Koekman, Sandra Verhoef, Steven de Maat, Arjan Barendrecht, Nadine D. van Kleef, Joost C. M. Meijers, Raymond M. Schiffelers, Coen Maas, Rolf T. Urbanus. (2022). VhH anti-thrombomodulin clone 1 inhibits TAFI activation and enhances fibrinolysis in human whole blood under flow. *Journal of thrombosis and haemostasis*. 20(5). <https://doi.org/10.1111/jth.15674>
35. McComb, S., Thiriot, A., Akache, B., Krishnan, L., & Stark, F. (2019). Introduction to the Immune System. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 2024, 1–24. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9597-4\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9597-4_1)
36. Medcalf, R. L., & Keragala, C. B. (2021). Fibrinolysis: A Primordial System Linked to the Immune Response. *International journal of molecular sciences*, 22(7), 3406. <https://doi.org/10.3390/ijms22073406>

37. Middleton, E. A., He, X. Y., Denorme, F., Campbell, R. A., Ng, D., Salvatore, S. P., Mostyka, M., Baxter-Stoltzfus, A., Borczuk, A. C., Loda, M., Cody, M. J., Manne, B. K., Portier, I., Harris, E. S., Petrey, A. C., Beswick, E. J., Caulin, A. F., Iovino, A., Abegglen, L. M., Weyrich, A. S., ... Yost, C. C. (2020). Neutrophil extracellular traps contribute to immunothrombosis in COVID-19 acute respiratory distress syndrome. *Blood*, *136*(10), 1169–1179. <https://doi.org/10.1182/blood.2020007008>
38. Mogollón, M., Rotondo, S., Dos Santos, C., Sánchez-Luceros, A. (2020). Biomarcadores y blancos moleculares del complemento en el diagnóstico de las microangiopatías trombóticas. *Hemostasia y Trombosis*. FABA. Recuperado de <https://www.redalyc.org/journal/535/53564616005/html/>
39. National Library of Medicine. (2022). THBD thrombomodulin [ *Homo sapiens* (human) ]. National Center for Biotechnology Information. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?Db=gene&Cmd=DetailsSearch&Term=7056>
40. National Library of Medicine. (2023). CD40LG CD40 ligand [ *Homo sapiens* (human) ] National Center for Biotechnology Information. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/959>
41. Netea, M. G., Balkwill, F., Chonchol, M., Cominelli, F., Donath, M. Y., Giamarellos-Bourboulis, E. J., Golenbock, D., Gresnigt, M. S., Heneka, M. T., Hoffman, H. M., Hotchkiss, R., Joosten, L. A. B., Kastner, D. L., Korte, M., Latz, E., Libby, P., Mandrup-Poulsen, T., Mantovani, A., Mills, K. H. G., Nowak, K. L., ... Dinarello, C. A. (2017). A guiding map for inflammation. *Nature immunology*, *18*(8), 826–831. <https://doi.org/10.1038/ni.3790>
42. Nieto, John & Suárez, John & González, Ángela. (2009). Utility of fibrin glue in therapeutic endoscopy. *Revista Colombiana de Gastroenterología*. *24*. 307-313.
43. Pryzdial, E. L. G., Leatherdale, A., & Conway, E. M. (2022). Coagulation and complement: Key innate defense participants in a seamless web. *Frontiers in immunology*, *13*, 918775. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.918775>
44. Punt J. Stranford S. A. Jones P. P. & Owen J. A. (2019). *Kuby immunology* (Eighth). Macmillan Education.
45. Raheel, C., Usama, S., Babiker, H. (2022). Physiology, Coagulation Pathways. Stat Pearls-NCBI Bookshelf. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482253/?report=printable>

46. Roh, J. S., & Sohn, D. H. (2018). Damage-Associated Molecular Patterns in Inflammatory Diseases. *Immune network*, 18(4), e27. <https://doi.org/10.4110/in.2018.18.e2>
47. Romberg, N. (2021). The adaptive humoral immune response. UptoDate. Retrieved July 4, 2021, from <https://www.uptodate.com/contents/the-adaptive-humoral-immune-response>
48. Samael Olascoaga-Del AK, Sánchez-Evangelista G, Carmona-Navarrete I, Galicia-Sánchez MDC, Gómez-Luna A, Islas-Arrollo SJ, Castañeda-Sánchez JI. [Péptidos antimicrobianos, una alternativa prometedora para el tratamiento de enfermedades infecciosas]. *Gac Med Mex.* 2018;154(6):681-688. Spanish. doi: 10.24875/GMM.18003445. PMID: 30532100.
49. Sánchez, V. (2017). Caracterización de subpoblaciones de micropartículas en pacientes con enfermedad tromboembólica venosa. [Departamento de Fisiología Médica Y Biofísica, Universidad de Sevilla]. Recuperado de <https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/71290/25.05.2017%20Tesis%20Ver%C3%B3nica%20S%C3%A1nchez%20L%C3%B3pez.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
50. Sanz, J. M., Gómez Lahoz, A. M., & Martín, R. O. (2021). Papel del sistema inmune en la infección por el SARS-CoV-2: inmunopatología de la COVID-19 [Role of the immune system in SARS-CoV-2 infection: immunopathology of COVID-19]. *Medicine*, 13(33), 1917–1931. <https://doi.org/10.1016/j.med.2021.05.005>
51. Shrey Kohli, & Berend Isermann. (2021). Crosstalk between inflammation and coagulation: Focus on pregnancy related complications. *Thrombosis Update*. 5, 100072. <https://doi.org/10.1016/j.tru.2021.100072>.
52. Sillen M., Declerck, P. (2021). Thrombin Activatable Fibrinolysis Inhibitor (TAFI): An Updated Narrative Review. *Int. J. Mol. Sci.* 22(7). doi: [10.3390/ijms22073670](https://doi.org/10.3390/ijms22073670)
53. Singh, N., Baby, D., Rajguru, J. P., Patil, P. B., Thakkannavar, S. S., & Pujari, V. B. (2019). Inflammation and cancer. *Annals of African medicine*, 18(3), 121–126. [https://doi.org/10.4103/aam.aam\\_56\\_18](https://doi.org/10.4103/aam.aam_56_18)
54. Stone WL, Basit H, Burns B. Pathology, Inflammation. [Updated 2022 Nov 14]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK534820/>

55. Tong, Y., Yue, J., Mao, M., Liu, Q., Zhou, J., & Yang, J. (2015). Recombinant nematode anticoagulant protein c2 inhibits cell invasion by decreasing uPA expression in NSCLC cells. *Oncology Reports*, 33, 1815-1822. <https://doi.org/10.3892/or.2015.3795>
56. Unruh, D., & Horbinski, C. (2020). Beyond thrombosis: the impact of tissue factor signaling in cancer. *Journal of hematology & oncology*, 13(1), 93. <https://doi.org/10.1186/s13045-020-00932-z>
57. Witkowski, M., Landmesser, U., & Rauch, U. (2016). Tissue factor as a link between inflammation and coagulation. *Trends in cardiovascular medicine*, 26(4), 297–303. <https://doi.org/10.1016/j.tcm.2015.12.001>