



UNIVERSIDAD DE MURCIA
ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

**Estudio de la Hemostasia en Pacientes
Sometidos a Recambio Valvular Aórtico
con Circulación Extracorpórea**

D. Antonio García Candell

2020



Estudio de la hemostasia en pacientes sometidos a recambio valvular aórtico con circulación extracorpórea

Tesis para optar al grado de Doctor en Medicina

Presentada por:

D. Antonio García Candel

Dirigida por:

Dr. David Iyú Espinosa

Dra. Noemí Marín Atucha

Dr. Faustino García Candel

UNIVERSIDAD DE MURCIA
Escuela Internacional de Doctorado

Murcia 2020

AGRADECIMIENTOS

A mis directores de tesis, Noemí Marín Atucha, David Iyú Espinosa y Faustino García Candel por su esfuerzo, entrega y calidad investigadora que ha supuesto la realización de esta tesis doctoral.

A Sebastián Sánchez Cánovas, sin el que hubiera sido imposible llevar a cabo este proyecto.

A Esther García, Paola Romecín y al equipo de técnicos del laboratorio de Hematología por su magnífica labor.

A Guadalupe Ruiz Merino por su gran trabajo con el estudio estadístico.

A la enfermería y perfusionistas del quirófano de Cirugía Cardíaca del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca, por su ayuda en este estudio.

Al jefe de servicio de Anestesiología y Reanimación del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca, Carlos García Palenciano, por su apoyo incondicional.

Al jefe de servicio de Cirugía Cardiovascular del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca, Sergio Cánovas López y a todo el equipo que lo conforma, por su confianza en mí.

A Ramón Dávalos Sánchez† y Antonio Rodríguez Ribó, pioneros de la anestesiología cardíaca en la Región de Murcia, por todo lo que me transmitieron.

A mi familia, y en especial, a mis hijos y mi mujer Inmaculada, por el tiempo robado.

GLOSARIO DE TÉRMINOS

AA	Ácido araquidónico
ABC	Área bajo la curva
AC	Adenilil ciclasa
ACODs	Nuevos anticoagulantes orales
ACV	Accidente cerebrovascular
ADP	Adenosín difosfato
ATP	Adenosín trifosfato
AINEs	Antiinflamatorios no esteroideos
ASPI	ASPItest (ácido araquidónico)
AT	Antitrombina
Ca ²⁺	Calcio
CCV	Cirugía cardiovascular
CEC	Circulación extracorpórea
CD62-P	P-selectina
CEIC	Comité Ético de Investigación Clínica
CHCM	Concentración de hemoglobina corpuscular media
COL/ADP	Colágeno/Adenosín difosfato
COL/EPI	Colágeno/Epinefrina
COX	Ciclooxigenasa
CT	Tiempo de coagulación
DDAVP	Desmopresina ó 1-ácido-8-D-arginina vasopresina
DM2	Diabetes Mellitus tipo 2
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
ELISA	Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas
EPI	Epinefrina

fHb	Hemoglobina libre
FII	Factor II
FV	Factor V
FVa	Factor V activado
FVI	Factor VI
FVII	Factor VII
FVIIa	Factor VII activado
FVIII	Factor VIII
FIX	Factor IX
FIXa	Factor IX activado
FX	Factor X
FXa	Factor X activado
FXI	Factor XI
FXIII	Factor XIII
vWF	Factor de von Willebrand
FT	Factor Tisular
FTR	Factor tisular recombinante
GPs	Glicoproteínas
GMPc	Guanosín Monofosfato cíclico
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrógeno
HBPM	Heparina de bajo peso molecular
HCM	Hemoglobina corpuscular media
HCUVA	Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca
HIT	Trombopenia inducida por heparina
HTA	Hipertensión arterial

HMWK	Quininógeno de alto peso molecular
IAM	Infarto agudo de miocardio
Ig G	Inmunoglobulina G
IL-1	Interleuquina 1
IL-6	Interleuquina 6
INR	International Normalized Ratio
ISI	Índice de sensibilidad internacional
ISTH	Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasia
K ⁺	Potasio
LDH	Enzima lactato deshidrogenasa
MA	Máxima amplitud
MCF	Máxima firmeza del coágulo
MSA	Multi Sample Agitator, termobloque agitador
NO	Óxido nítrico
OMS	Organización Mundial de la Salud
Pa	Pascal
PCCs	Concentrados de complejo protrombínico
PFC	Plasma fresco congelado
PF4	Factor plaquetario 4
PGI ₂	Prostaglandina I ₂
PK	Precalicroína
PKG	Proteína quinasa G
Poly P	Polifosfatos locales
R	Tiempo de reacción
RISTO	Ristocetina

RISTO HIGH	Ristocetina a altas dosis
rFVIIa	Factor VII recombinante activado
ROTEM	Tromboelastometría rotacional
TCA	Tiempo de coagulación activado
TEG	Tromboelastografía
TFPI	Proteasa inhibidora del factor tisular
TO	Tiempo de obturación
TP	Tiempo de protrombina
TRAP	Péptido activador del receptor de trombina
TTPa	Tiempo de tromboplastina parcial activada
t-PA	Activador tisular del plasminógeno
TXA ₂	Tromboxano A ₂
U	Unidades
UCI	Unidad de Cuidados Intensivos
VCM	Volumen corpuscular medio

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	12
1.1. Fundamentos en hemostasia	13
1.2. Alteración de la hemostasia en cirugía cardíaca	17
1.2.1. Causas	17
1.2.2. Complicaciones tromboembólicas	31
1.2.3. Interacción de los componentes de la coagulación	32
1.2.4. Activación de las proteínas de la coagulación	33
1.2.5. Moduladores de la coagulación	35
1.3. Efecto de fármacos	40
1.3.1. Antiagregantes	40
1.3.2. Anticoagulantes	41
1.3.3. Heparina y circulación extracorpórea	43
1.3.4. Modos alternativos de anticoagulación	50
1.4. Manejo del paciente sangrante	52
1.5. Disfunción plaquetaria asociada a flujos turbulentos en el circuito de circulación extracorpórea	55
1.6. Efecto de la hemólisis durante la cirugía cardíaca	58
1.7. Nuevos fundamentos en la interacción plaquetas-pared vascular	61
1.8. Medida de la actividad plaquetaria	70
1.8.1. Métodos basados en la medida de la agregación plaquetaria	72
1.8.2. Métodos basados en la medida de marcadores de activación plaquetaria	74
1.8.3. Métodos basados en la medida del metabolismo celular	74
1.8.4. Otros métodos para la medición de la actividad plaquetaria	75
1.9. Tendencias futuras	76

2. OBJETIVOS	79
2.1. Objetivo principal	80
2.2. Objetivo secundario	80
3. MATERIAL Y MÉTODOS	81
3.1. Diseño del estudio	82
3.2. Protocolo experimental	84
3.3. Parámetros analizados	86
3.3.1. Estudio básico de coagulación	86
3.3.2. Hemograma	89
3.3.3. PFA-100®	91
3.3.4. Multiplate®	92
3.3.5. Citometría de flujo	95
3.3.5.1. Medición de la agregación plaquetaria	97
3.3.5.2. Medición de la activación plaquetaria. Expresión del marcador CD62 ...	98
3.3.6. Tromboelastometría	100
3.3.7. Tiempo de coagulación activado	103
3.3.8. Bioquímica	104
3.3.9. Variables clínicas	104
3.4. Metodología estadística	107
4. RESULTADOS	108
4.1. Descripción de la población analizada	109
4.2. Variables analíticas estudiadas	110
4.2.1. Hemoglobina y uso de hemoderivados. Relación con variables clínicas	110
4.2.2. Coagulación básica	119
4.2.3. Bioquímica	120
4.2.4. Tromboelastometría	123
4.2.5. Estudio de la función plaquetaria con PFA-100®	128

4.2.6. Estudio de la agregación plaquetaria con Multiplate® en sangre total	130
4.2.7. Estudio de la función plaquetaria a través de la citometría de flujo	132
4.2.8. Tiempo de coagulación activado	134
4.3. Resumen de los resultados. Puntos clave	135
5. DISCUSIÓN	137
5.1. Población sometida a estudio	138
5.2. Dificultades del proyecto	138
5.3. Variables clínicas	139
5.4. Variables analíticas	140
5.4.1. Hemograma y uso de hemoderivados. Relación con variables clínicas	140
5.4.2. Coagulación básica	144
5.4.3. Bioquímica	145
5.4.4. Tromboelastometría	147
5.4.5. PFA-100®	148
5.4.6. Estudio de la agregación plaquetaria con Multiplate® en sangre total	149
5.4.7. Estudio de la función plaquetaria a través de la citometría de flujo	151
5.4.8. Tiempo de coagulación activado	155
6. CONCLUSIONES	157
7. BIBLIOGRAFÍA	160
8. ANEXOS	184
8.1. Anexo I. Informe del Comité Ético de Investigación Clínica	185
8.2. Anexo II. Tablas del estudio estadístico	186
8.3. Anexo III. Documento de información al donante	201
8.4. Anexo IV. Consentimiento informado	204
8.5. Anexo V. Escalas de riesgo en cirugía cardíaca	208

1. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1. FUNDAMENTOS EN HEMOSTASIA

La hemostasia permite cerrar los vasos dañados, mantener la sangre en estado líquido y retirar los trombos tras restaurar la integridad vascular. Hace dos mil años, el filósofo griego Platón ya describió la sangre en forma de fibras una vez que abandonaba el calor del cuerpo. También acuñó el concepto de fibrina, como componente específico de la estructura fibrosa del trombo sanguíneo. La visión de Platón, compartida por otros como Aristóteles y Galeno, permaneció hasta finales del siglo XVIII. En el siglo XIX, se produjeron grandes descubrimientos en el estudio de los mecanismos biológicos de la coagulación. Sobre 1865, las plaquetas fueron descubiertas, así como su papel principal en la hemostasia [1]. Se propuso que una hipotética proteína llamada “trombina” podría inducir la formación de fibrina. La mayoría de los grandes conocimientos sobre coagulación fueron realizados en el siglo XX. En 1905, Morawitz describió el primer modelo de la coagulación en el que la tromboplastina, ahora conocida como factor tisular (FT), se liberaba ante el daño de los vasos, y convertía la protrombina en trombina con la presencia de calcio. La trombina convertía el fibrinógeno en fibrina, dando pie a la formación del coágulo. Sin embargo, este modelo no explicaba en su totalidad el complejo proceso de la coagulación. En la década de los 50, otros factores fueron descritos, como el factor de von Willebrand (vWF), y los factores V, VII, VIII, IX y XI. La deficiencia de alguno de estos factores fue relacionada con enfermedades, como el déficit del FVIII en la hemofilia A y la del FIX en la hemofilia B. En los años 60, dos grupos independientes diseñaron un modelo de coagulación que se asimilaba a una cascada, el modelo de la cascada de la coagulación [2,3]. Cada factor de coagulación consiste en una proenzima que es convertida a una enzima activa por el factor de coagulación previo en la cascada de la coagulación. Se sugirió que dos cascadas diferentes convergían en la activación del FX. Se denominaron la vía intrínseca, denominada así porque todos los componentes están presentes en la sangre, y la vía extrínseca que requiere de un factor externo, el FT del tejido extravascular. La vía intrínseca se activa in vitro una vez que la sangre contacta con superficies hidrofílicas. Esto genera la activación del FXII, que convierte la precalicreína en calicreína, y que conlleva a la activación del FXI, FIX, FX y la protrombina. La vía extrínseca comienza con el FT que activa el FVII, el cual induce la activación secuencial del FX y la protrombina. Ver la figura 1.

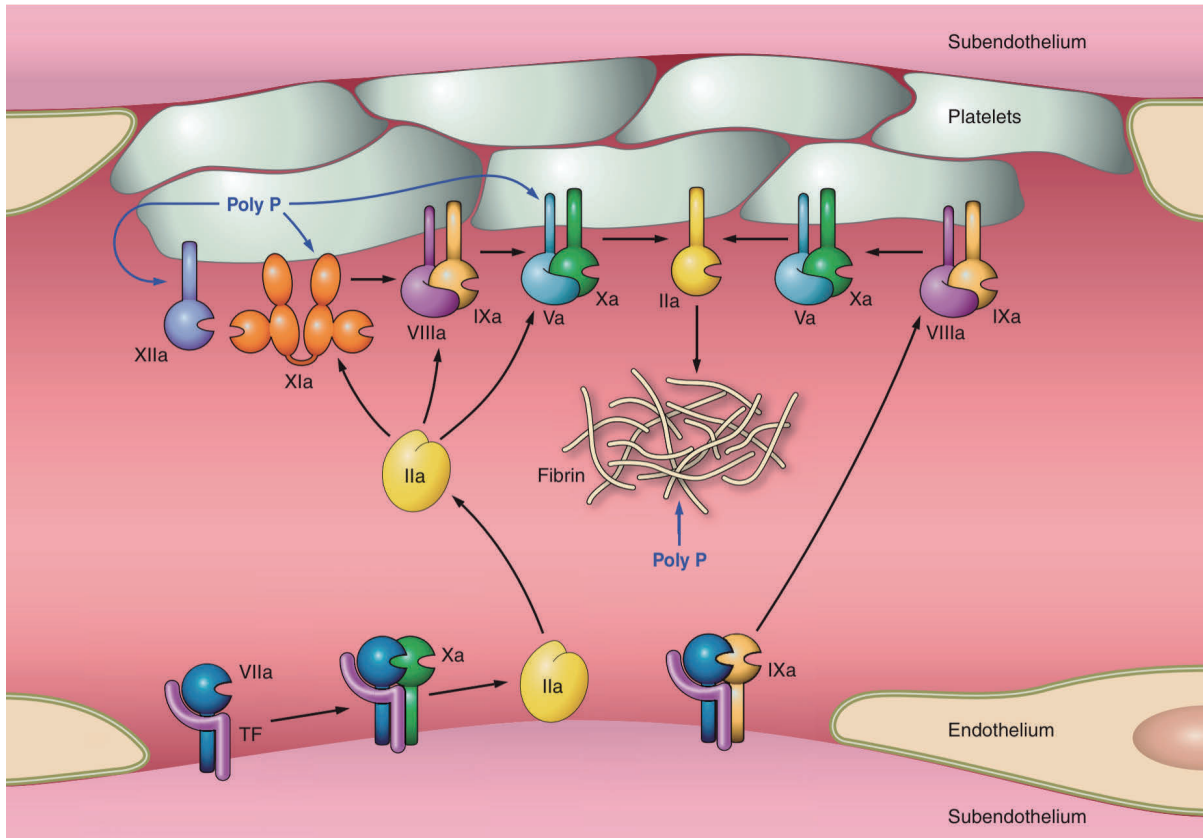


Figura 1. La cascada de la coagulación. Tras el daño endotelial vascular, el FT es expuesto a la corriente sanguínea y se une al factor VII, que es activado al FVIIa. El complejo FT-FVIIa permite la activación del FX y la protrombina. Después, pequeñas cantidades de trombina activan el factor XI-IX de la superficie plaquetaria. El FIXa activará al FX. Simultáneamente, pequeñas cantidades de trombina activarán los factores VIII (cofactor del FIX) y el FV (cofactor del FX), que aumenta la actividad catalítica de los factores IX y X. Finalmente, la activación de la trombina o FIIa produce los depósitos de fibrina. En paralelo, la liberación de polifosfatos locales (Poly P) por las plaquetas activadas puede adicionalmente activar el factor XII, FV y el FXI, y por tanto inhibir la lisis del coágulo. Tomado de Versteeg et al. *New fundamentals in hemostasis. Physiol Rev* 93: 327–358, 2013.

Sin embargo, el concepto actual de la hemostasia es ligeramente diferente. Tras el daño vascular, las plaquetas se adhieren al lugar de la lesión y se agregan a través de interacciones entre los receptores plaquetarios con ligandos extracelulares y proteínas solubles. El daño vascular produce la exposición del FT subendotelial que genera rastros de trombina con múltiples efectos en otros factores de coagulación y con las plaquetas. A través de múltiples vías de refuerzo en el sistema de coagulación y en la activación plaquetaria, grandes cantidades de fibrina son formadas, estabilizando precozmente el trombo plaquetario [4].

En el modelo actual de la coagulación, ésta se puede dividir en tres fases separadas: 1) fase de iniciación, en la que pequeñas cantidades de factores de coagulación activos son generadas; 2) fase de amplificación, en la que los niveles de factores de coagulación activos aumentan exponencialmente; y 3) fase de propagación, en la que los factores de la coagulación se unen fuertemente a las membranas de las plaquetas activadas y trombos de fibrina. Mientras este nuevo modelo biológico celular, en el que entran en juego las micropartículas, está ganando cada vez más adeptos, todavía se continúa utilizando el modelo clásico de la cascada de coagulación y sus dos vías, intrínseca y extrínseca [5].

1. Fase de iniciación

Se refiere a la vía extrínseca del modelo clásico de la coagulación. Comienza cuando la vasculatura es dañada, y las células subendoteliales, así como las células musculares y los fibroblastos son expuestos al torrente sanguíneo. Ver figura 1. Estas células exponen un factor clave en la iniciación de la cascada de la coagulación, el FT, que se une al FVII. Al actuar como cofactor del FVII, el FT promueve la proteólisis y la activación del FVIIa. El FT permanece en la superficie celular en una configuración inactiva, pero ante determinadas circunstancias es activado. Aunque se ha visto que pueden existir concentraciones fisiológicas de FVIIa, sin el papel del FT muestra una actividad muy baja, por lo que se demuestra que depende enteramente de los niveles de FT [6].

El complejo FT-FVIIa convierte el FIX y el FX en FIXa y FXa respectivamente. Esto permite que el FXa se asocie al cofactor FVa para crear un complejo protrombinasa en las células que expresan el FT, que sirve para convertir la protrombina o FII en trombina. El FXa puede disociarse de estas células con el FT y formar complejos de protrombinasa en membranas celulares diferentes. Sin embargo, la presencia de inhibidores tipo proteasa en plasma como el inhibidor del FT (TFPI) y la proteasa sérica inhibidora antitrombina (AT), limitará dicha difusión [7]. No obstante, el FIXa no es el objetivo del TFPI y por tanto puede difundirse más fácilmente a otras superficies celulares y participar en la fase de propagación. Por tanto, en esta fase los niveles de los factores de coagulación son todavía bajos.

2. Fase de amplificación

La lenta acumulación de trombina produce la activación de plaquetas que están adheridas al lugar de la lesión. A su vez, la trombina convertirá el FV en FVa, que amplifica la actividad protrombinasa, y convierte el FVIII en FVIIIa, que actúa como cofactor del FIXa en la superficie de las plaquetas activadas para soportar la generación de FXa. Al final, la trombina convierte el FXI en FXIa.

Así, en esta fase los niveles de los factores de coagulación aumentan exponencialmente y las plaquetas no sólo contribuyen a la estabilidad del coágulo, sino que también aceleran el sistema de la coagulación.

3. Fase de propagación

Se produce lejos de la zona de lesión, en superficies que contengan fosfolípidos procoagulantes, como en las plaquetas activadas. El FXI convierte el FIX en FIXa, que se asocia a la fuerte unión de la trombina con el FVIII. La ausencia o disminución importante de FVIII ó FIX conlleva el riesgo de complicaciones de sangrado (hemofilia A y B, respectivamente), lo que resalta la importancia de estos factores de coagulación en la normalidad de la hemostasia. Debido a la exposición de la fosfatidilserina en las membranas celulares, el complejo FIXa-FVIIIa cataliza la conversión del FX a FXa, tras lo cual el complejo FXa-FVa produce suficiente cantidad de trombina para generar las fibras de fibrina. Como paso final, la trombina activa el FXIIIa que actúa como una transglutaminasa activada que canaliza la formación de enlaces covalentes entre las cadenas de fibrina, creando un trombo de fibrina polimerizada [8].

Es en esta fase donde los factores de la coagulación se unen fuertemente a las membranas procoagulantes de las plaquetas activadas y se forman trombos ricos en fibrina [8].

1.2. ALTERACIÓN DE LA HEMOSTASIA EN CIRUGÍA CARDIACA

1.2.1. Causas

La cirugía cardíaca realizada con la ayuda de circulación extracorpórea (CEC) puede suponer una importante alteración de la hemostasia. Esta disfunción de la coagulación se debe a múltiples causas, relacionadas con el paciente, con tratamientos farmacológicos y con factores quirúrgicos. Por lo tanto, el paciente está expuesto tanto a complicaciones hemorrágicas como trombóticas. Para un adecuado manejo del sangrado de un paciente sometido a cirugía cardíaca y si queremos evitar la administración empírica de fármacos y hemoderivados, es básico identificar los factores causantes del sangrado. El sangrado tras cirugía cardíaca puede deberse a efectos residuales de la heparina, a la disminución de la generación de trombina, trombocitopenia, deficiencia de fibrinógeno, hiperfibrinólisis y causas quirúrgicas, siendo esta última la causa más frecuente de sangrado en este tipo de cirugía [9]. Estos factores pueden interactuar entre ellos causando una coagulopatía muy compleja y difícil de tratar. Los estudios de la funcionalidad de la coagulación basados en los tests viscoelásticos y en la agregometría permiten un estudio más global del origen de la coagulopatía [9].

Las intervenciones de cirugía cardíaca son responsables del consumo de gran cantidad de concentrados de hemáties, con un porcentaje que va del 7% en Reino Unido [10] al 25% en Estados Unidos [11]. Además, las complicaciones tromboembólicas también se pueden producir tras cirugía cardíaca: infarto agudo de miocardio (1% en cirugía coronaria) [12], ictus (2% en cirugía coronaria) [13], isquemia mesentérica (0,3%) y tromboembolismo pulmonar o periférico [14]. Las complicaciones derivadas del sangrado y del tromboembolismo son graves y causan alteraciones clínicas postoperatorias. La revisión quirúrgica para el control del sangrado presenta cifras de mortalidad de hasta el 14% [15], siendo el sangrado masivo fatal aproximadamente en un 6% de los casos [16], y los productos transfusionales por sí mismos un factor independiente de mortalidad [17]. Tanto el infarto de miocardio como el ictus se asocian a una importante morbimortalidad, y la isquemia mesentérica es casi siempre fatal.

Durante la CEC se activa la producción de la trombina [18]. La heparina sódica antagoniza a la trombina a través de un mediador rápido de la antitrombina. La trombina se genera a partir de dos vías diferentes: una fase de activación de contacto (vía intrínseca) y

con la vía extrínseca por la liberación del factor tisular (FT). El contacto entre la sangre y la superficie de los circuitos de la CEC es un determinante menor de la formación de trombina [19], siendo la principal contribución la liberación del factor tisular [20].

El FT es liberado de forma importante durante la cirugía cardíaca por la exposición de los tejidos, acumulándose sobre todo en el espacio pericárdico y pleural. Durante la CEC la readministración de la sangre almacenada tanto en el pericardio como en el espacio pleural induce una gran generación de trombina. Hay estudios que demuestran estrategias para reducir la reinfusión de la sangre acumulada en estos espacios, para así generar menor producción de trombina y menor activación del sistema hemostático [21,22]. Se pueden utilizar estrategias para intentar disminuir la generación de la trombina a través de circuitos de CEC cerrados, procesamiento de la sangre acumulada en estos espacios con el salvacélulas y el uso de circuitos biocompatibles [23].

La generación de trombina, por tanto, surge por un lado por causas quirúrgicas y por otro por la CEC, produciendo a su vez un consumo progresivo de los factores de coagulación. La rápida inactivación de la trombina realizada por la liberación de antitrombina gracias a la heparina sódica, determina un consumo progresivo de la antitrombina [24]. Otros anticoagulantes naturales, como la proteína C y S y la vía inhibitoria del FT son consumidos también debido a la agresión quirúrgica [25].

La disminución de los niveles de fibrinógeno tras la cirugía cardíaca se debe a la conversión de fibrinógeno en fibrina mediado por la trombina [26]. La trombina, al activar al sistema fibrinolítico puede producir un cuadro de hiperfibrinólisis.

A su vez, la trombina es un activador plaquetario directo a través de los potentes receptores proteicos plaquetarios. Las plaquetas sufren diferentes grados de activación durante la cirugía y generalmente terminan el procedimiento con menor funcionalidad [27].

Otro factor que influye en la alteración de la hemostasia es la hemodilución por el cebado de la bomba y el uso de grandes circuitos de CEC. Las técnicas de cebado autólogo retrógrado permiten minimizar el volumen necesario de purgado del sistema de CEC [28]. Este efecto es más notable en pacientes pequeños y en cirugía pediátrica [29]. La hipotermia y la acidosis también influyen [30].

Los pacientes intervenidos de cirugía cardíaca con CEC son sometidos a una compleja mezcla de hemodilución y consumo de factores de coagulación y fibrinógeno,

trombocitopenia, disfunción plaquetaria, hiperfibrinólisis y consumo de anticoagulantes naturales. La combinación de estos factores motiva una alteración de la hemostasia, con una pérdida a la vez de factores procoagulantes y anticoagulantes naturales. Es este escenario un caldo de cultivo excelente para que se produzcan complicaciones por sangrado o por trombosis, añadiendo además el uso de fármacos crónicos de los pacientes que pueden producir más coagulopatía.

Tras una cirugía cardíaca, algunos pacientes pueden sangrar de forma excesiva (probablemente alrededor de un 20%). Un rápido diagnóstico e inicio del tratamiento podría impedir la alteración hemodinámica procedente de la hemorragia, descendiendo la capacidad de transporte de oxígeno por la anemia y la alteración de la hemostasia por la disminución de las fuentes hemostáticas endógenas. Se han definido diferentes criterios que puedan definir un sangrado excesivo: drenajes por los tubos torácicos de más de 10 mL/kg en la primera hora tras la cirugía, más de 20 mL/kg durante las tres primeras horas. También cualquier sangrado brusco de 300 mL/h o mayor, puede indicar una lesión vascular aguda que requiera de reintervención urgente [31].

Reducción en la generación de trombina

Debido a la dilución y al consumo de factores de coagulación, pueden disminuir los niveles y la funcionalidad de dichos factores. Con la excepción del fibrinógeno y del factor XIII que ayudan a la firmeza del coágulo y que no intervienen en la generación de trombina, una disminución de la actividad de los factores de la coagulación derivan en un descenso en la generación de trombina. El principal descenso deriva de los factores II, V, VII, IX y XII [32]. Sin embargo, dada la gran reserva funcional de estos factores, no se ha asociado con un importante sangrado postoperatorio. Inmediatamente tras la cirugía, la calidad del trombo basado en la fibrina se altera más que la generación de trombina y la alteración plaquetaria (disminución del 38%, 7% y 27% respectivamente) [32].

Otros estudios correlacionan la generación de trombina con el sangrado en pacientes sometidos a cirugía cardíaca [33].

Hay algunos factores que pueden inducir generación de trombina y una disminución en la actividad de los factores de coagulación, motivando un sangrado postoperatorio. Los principales factores intraoperatorios son la duración de la CEC y el grado de hemodilución.

Algunas patologías, como la disección aórtica aguda, se caracterizan por el consumo preoperatorio de factores de coagulación debido a la trombosis de la luz falsa. La cirugía de arco aórtico y aorta torácica, además de otras cirugías complejas generan un gran consumo de factores de la coagulación [34]. La hemodilución en pacientes pequeños o en la población pediátrica también influye en los factores de coagulación [35].

Otros factores preoperatorios son una disminución de los factores de coagulación vitamina K dependientes por problemas hepáticos, tratamiento con warfarina y el déficit congénito de factores de la coagulación. Entre los nuevos anticoagulantes orales directos (ACODs), el dabigatrán produce una inhibición directa de la trombina y por tanto un descenso marcado de la generación de la misma. Tiene un antagonista, el idarucizumab, a tener en cuenta ante la necesidad de una rápida reversión de su acción. Los otros ACODs inhiben el factor Xa, y en la práctica clínica habitual, actualmente no está disponible su antagonista. En caso de que no se haya metabolizado completamente y sobre todo en cirugía urgente, puede existir un riesgo de sangrado postoperatorio. Se podría utilizar concentrado de complejo protrombínico en casos urgentes para revertir parcialmente su efecto [36].

El diagnóstico de una escasa generación de trombina se basa en tests convencionales como el tiempo de protrombina (TP) y el tiempo de tromboplastina parcial activado (TTPa), así como en los estudios viscoelásticos: tromboelastografía (TEG) y tromboelastometría (ROTEM). Las medidas directas de la generación de trombina no se suelen utilizar en la práctica clínica diaria. El tiempo requerido para pasar del estado natural de la sangre al coágulo es una medida indirecta de la generación de trombina. Este valor es el tiempo de reacción (R) del TEG y el tiempo de coagulación (CT) del ROTEM. Para evitar los efectos residuales de la heparina, estos tests se deben realizar con y sin heparinasa. Una pequeña prolongación (hasta un 30% del límite de la normalidad) tanto del valor R o del CT es común tras la CEC, y no necesariamente ha de ser interpretado como una importante alteración en la generación de trombina. Sin embargo una gran prolongación de estos valores sugiere una pobre generación de trombina en un paciente sangrando, así que se debe iniciar tratamiento para reponer los factores de coagulación. Esto se puede alcanzar por distintas vías. La más común es administrando plasma fresco congelado (PFC). Sin embargo, se precisan volúmenes de PFC de al menos de 10 a 15 mL/kg para recuperar los factores de coagulación en alteraciones moderadas de déficit de generación de trombina, y mayores dosis en casos más severos [37]. Los concentrados de complejo protrombínico (PCCs) son capaces de

alcanzar de forma más rápida y efectiva valores normales de factores de coagulación, evitando los riesgos de sobrecarga de fluidos. Contienen los factores II, VII, IX y X. El uso de los PCCs para el tratamiento de la coagulación por consumo y dilución que se producen en cirugía cardíaca ha sido demostrado efectivo [38,39].

Una importante generación de trombina puede obtenerse con el uso del factor VII recombinante activado (rFVIIa). Este fármaco es efectivo en el tratamiento del sangrado severo tras cirugía cardíaca [40], sin embargo, puede asociarse a un riesgo aumentado de eventos tromboticos [40,41], y su uso debe limitarse en casos de sangrados que comprometen la vida. En general, ha de considerarse que un incremento excesivo de la generación de trombina puede conllevar a un ambiente protrombótico. Por tanto, esto se puede dar tanto con el uso de los PCCs como con el rFVIIa [42].

Fibrinógeno

Una vez que la sangre empieza a coagularse, la interacción del fibrinógeno y las plaquetas a través del receptor GPIIb/IIIa determina la fuerza del trombo (firmeza del coágulo). Un importante cofactor en este proceso es la contribución del factor XIII que convierte las formaciones inestables de fibrina en polímeros estables de fibrina. El fibrinógeno también promueve la agregación plaquetaria a través de la unión de los receptores de las glicoproteínas IIb/IIIa [43].

Tras la CEC, los niveles de fibrinógeno y FXIII disminuyen significativamente [44]. La concentración de fibrinógeno puede llegar a disminuir un 34-42% al final de la CEC, con respecto a los valores basales [45,46]. Hay muchos estudios que relacionan los bajos niveles de fibrinógeno con el sangrado en el paciente sometido a cirugía cardíaca [47,48].

El escenario clínico que supone la disminución del fibrinógeno es similar al que supone un descenso en la generación de trombina (consumo de factores y dilución debido a un tiempo prolongado de CEC, cirugía compleja, cirugía aórtica, cirugía congénita,...).

Para el diagnóstico de una baja firmeza del coágulo debido a la disminución de los niveles del fibrinógeno, los tests viscoelásticos son muy útiles. En la tromboelastografía (TEG) y en la tromboelastometría (ROTEM), la firmeza del coágulo se representa en la máxima amplitud (MA) y en la máxima firmeza del coágulo (MCF), respectivamente. Sin embargo, estas medidas ofrecen una evaluación del efecto combinado de plaquetas y

fibrinógeno. Para analizar específicamente el papel del fibrinógeno se requieren tests modificados: fibrinógeno funcional en el TEG y el FibTEM en el ROTEM. En estos tests, la contribución plaquetaria es eliminada por agentes antiplaquetarios (abciximab en el TEG y la citocalasina D en el ROTEM) [49].

Los niveles de fibrinógeno pueden medirse convencionalmente por los laboratorios usando el método Clauss. Hay una asociación entre los niveles de fibrinógeno determinados por el método Clauss y la medida de la contribución de la firmeza del coágulo con los tests viscoelásticos [50], sin embargo las dos medidas no son intercambiables, la primera representa una concentración y la segunda funcionalidad.

No está todavía claro qué nivel de fibrinógeno se considera el límite para iniciar un tratamiento, pero niveles inferiores al rango de la normalidad entre 2,0-4,5 g/L se asocian a un aumento en el riesgo de sangrado [51,52]. El suplemento de fibrinógeno se suele indicar cuando los niveles caen entre 1-2 g/L [53-55], pero se han propuesto niveles más altos para los pacientes sometidos a cirugía cardíaca [55]. Cuando la MCF en el FibTEM se usa para establecer la dosis correcta de concentrado de fibrinógeno a administrar, se ha sugerido un objetivo de MCF en torno a 22 mm [51].

Los niveles de fibrinógeno se pueden restaurar con tres estrategias. La primera, con el uso de plasma fresco congelado (PFC). Sin embargo, se precisan grandes cantidades de PFC para aumentar los niveles de fibrinógeno. El contenido de fibrinógeno en el PFC es variable, pero está en torno a 2 g/L [56], esto significa que para aumentar los niveles de fibrinógeno 1 g/L se requiere la administración de 30 mL/kg de PFC [56].

Para evitar la sobrecarga de volumen se pueden utilizar los crioprecipitados. La cantidad de fibrinógeno es aproximadamente de 12 g/L [57]. No está disponible en todos los países de Europa [58].

La forma más efectiva de tratar la deficiencia de fibrinógeno es la administración de concentrado de fibrinógeno (20 g/L). Las guías europeas sugieren una dosis inicial de 25 a 50 mg/kg [59].

El uso del concentrado de FXIII para tratar el sangrado postoperatorio relacionado con la baja firmeza del coágulo por déficit de fibrinógeno tiene bajo nivel de evidencia según las guías europeas [59]. Un estudio reciente aleatorizado sobre el tratamiento con FXIII

recombinante en cirugía cardíaca no demuestra ningún efecto en el sangrado ni en las transfusiones [60].

Firmeza del coágulo dependiente de las plaquetas

Son numerosos los eventos que se dan durante los procedimientos de cirugía cardíaca que producen una alteración de la hemostasia por disfunción plaquetaria. Las dos principales son la trombocitopenia y la alteración en la calidad de las mismas. La trombocitopenia se da como resultado de la hemodilución, secuestro y destrucción por superficies no endoteliales. Habitualmente el número de plaquetas desciende por debajo de 100000/ μ L o menos, sin embargo, este descenso depende sobre todo del valor inicial de las mismas antes del procedimiento y del tiempo de la CEC. Entre 10000 y 100000/ μ L, el tiempo de sangrado disminuye de forma directa, si bien, una cifra de plaquetas mayor de 50000/ μ L, no se relaciona con sangrado postoperatorio en pacientes sometidos a cirugía cardíaca [61].

La alteración en la funcionalidad plaquetaria se da de forma más frecuente que la trombocitopenia durante la CEC. El abanico de estas causas incluye la iatrogenia por las técnicas extracorpóreas, fármacos, hipotermia, fibrinólisis y duración de la CEC. La utilización de oxigenadores de membrana (cada vez menos frecuentes), circuitos de CEC no biocompatibles y el exceso de la utilización de la succión de la cardiectomía provocan varios grados de activación plaquetaria, iniciando su liberación y por tanto la disminución del contenido de sus gránulos α [62].

Los complejos protamina-heparina y la protamina por sí sola también contribuyen a la disfunción plaquetaria tras la CEC. La hipotermia media y moderada está asociada con grados reversibles de activación y disfunción plaquetarias. La realización de CEC en normotermia podría tener beneficios en cuanto a la disminución de las alteraciones de la hemostasia relacionadas con la hipotermia [63].

Las plaquetas son el pilar fundamental en la coagulación. Sin plaquetas no hay coagulación y no hay hemostasia. Sin proteínas habría hemostasia, pero ésta duraría sólo de 10 a 15 minutos debido a la inestabilidad del trombo plaquetario ante el flujo sanguíneo. Las plaquetas proveen fosfolípidos para las reacciones de la coagulación, secretan sustancias que afectan a sí mismas, a otras plaquetas, al endotelio y a otros factores de la coagulación; y alteran su forma para exponer en la membrana glicoproteínas para la creación de receptores

esenciales en la hemostasia. La respuesta inicial ante el daño vascular comienza con el trombo plaquetario. Una adecuada respuesta hemostática depende de una óptima adhesión plaquetaria, activación y agregación [62].

Adhesión plaquetaria

El flujo capilar normal es laminar, los glóbulos rojos y los leucocitos discurren por la parte central del vaso y las plaquetas por la periferia. Sin embargo, las lesiones en el endotelio causan un flujo turbulento que motiva la secreción de vWF, moléculas de adhesión y el factor tisular. Cuando el endotelio vascular es lesionado, las plaquetas tienen la oportunidad de contactar con el factor de von Willebrand (vWF), que está fijado al colágeno del subendotelio. El receptor GPIb se une al vWF, que permite anclar la plaqueta a la pared vascular. Por otro lado, otros receptores plaquetarios que aparecen con el cambio conformacional de las plaquetas como el GPIa, el GPIIa y el GPIb/IX permiten unirse directamente al colágeno expuesto, comenzando así la fase de adhesión [64].

Las integrinas GPs forman diversos receptores de membrana a través de combinaciones de 20 subunidades α y 8 β . Una de estas combinaciones es el receptor GPIIb/IIIa, que participa en el inicio de la adhesión plaquetaria. La activación plaquetaria produce un cambio estructural en el GPIIb/IIIa, que resulta en la activación de la agregación [65].

La adhesión plaquetaria comienza rápidamente, durante el primer minuto tras la lesión del endotelio, y cubre completamente el subendotelio expuesto en unos 20 minutos. Se inicia con la disminución de la velocidad de las plaquetas cuando el GPIb/IX y el vWF median para la adhesión, seguido de la activación plaquetaria, del cambio conformacional del receptor GPIIb/IIIa, uniéndose al vWF y la parada de las plaquetas en el endotelio en los ligandos creados por el vWF [66].

Activación y agregación plaquetarias

La activación plaquetaria comienza tras el contacto con el colágeno expuesto después de la lesión del vaso, cuando la adenosina difosfato (ADP), trombina o el tromboxano A_2 se unen a los receptores de membrana, o a través de interacciones entre las mismas plaquetas. Entonces las plaquetas liberan el contenido de los gránulos densos δ y de los gránulos α . Los

gránulos densos contienen serotonina, ADP y Ca^{2+} ; los gránulos α contienen factor plaquetario V, β -tromboglobulina, factor plaquetario 4 (PF4), P-selectina y varias integrinas (vWF, fibrinógeno, vitronectina y fibronectina). Simultáneamente, las plaquetas alteran su sistema microesquelético para cambiar la forma de un disco a una esfera, que permite la exposición del receptor de membrana plaquetario GPIIb/IIIa. La liberación de ADP permite el reclutamiento de plaquetas adicionales en el lugar de la lesión y estimula la proteína plaquetaria G, que activa la membrana fosfolipasa. Esto produce la formación de ácido araquidónico, que es convertido en tromboxano A_2 por la ciclooxigenasa plaquetaria. Otros agonistas plaquetarios son la serotonina, la trombina y el tromboxano A_2 . La trombina es, de lejos, el agonista plaquetario más potente [67].

Los agonistas generan cierto cambio en la forma de la plaqueta, que incrementa la concentración intracelular de Ca^{2+} y estimula la proteína G. La presencia de suficientes agonistas inicia la agregación plaquetaria. La agregación se da cuando las integrinas liberadas de los gránulos α crean puentes moleculares entre los receptores GPIIb/IIIa de las plaquetas adyacentes [66].

Trombocitopenia

Una relativa trombocitopenia es común tras la cirugía cardíaca, siendo distintos mecanismos los que desembocan en esta situación. Las plaquetas expuestas a superficies del circuito de la CEC y del oxigenador responden con la adhesión y la agregación. La elevada resistencia que se puede encontrar la sangre en ciertas partes del circuito puede ser otro factor que promueva la activación y adhesión plaquetarias. La hemodilución también es un factor que determina la trombocitopenia. Pese a todo, un descenso en el número de plaquetas de un 30% al 40% con respecto al valor preoperatorio es un hallazgo común. En términos generales es sabido que incluso un bajo número de plaquetas es suficiente para conseguir una adecuada hemostasia y por tanto en pacientes adultos es difícil encontrar un sangrado dependiente únicamente de plaquetopenia, salvo que ésta ya existiera en el preoperatorio. Sin embargo, en cirugía cardíaca es casi imposible delimitar una cifra de plaquetas para iniciar un tratamiento, ya que la combinación de trombocitopenia, CEC y fármacos que pueden alterar la función plaquetaria es algo bastante común [68].

En neonatos y niños, un sangrado relacionado con la disminución plaquetaria es más frecuente, debido a la mayor hemodilución. La práctica habitual en la población pediátrica de

menos de 10 kg es cebar el circuito de CEC con concentrado de hematíes y PFC [69] o albúmina al 5% [70] para preservar la presión oncótica. Esta estrategia, sin embargo, no evita la trombocitopenia por dilución tras CEC. Además, los pacientes con patología crónica suelen tener bajos niveles plaquetarios previos a la cirugía, con lo que se acentúa más esta situación a la salida de CEC. Hay estudios que demuestran la importancia de esta plaquetopenia en el sangrado tras CEC en los niños [70].

El diagnóstico habitual de la trombocitopenia en el quirófano se puede diagnosticar con el hemograma convencional, y también con los tests viscoelásticos, cuando el ratio MA/MCF en los tests viscoelásticos es muy bajo. La única opción terapéutica es la transfusión de plaquetas [71].

La heparina puede inducir trombocitopenia. La heparina normalmente se une a las membranas plaquetarias a través de los receptores GPIb y en otros puntos a través de la liberación de ADP. Una trombocitopenia moderada y reversible inducida por la heparina se puede producir, denominada tipo I (HIT I). Aunque se ha visto que la heparina puede activar la función plaquetaria a través de los receptores GP, la prolongación de los tiempos de sangrado relacionados con la heparina se asocian además de por la activación plaquetaria, por la unión de la misma a la superficie plaquetaria por los receptores GPIb [72].

En contraste con este efecto predecible de la heparina, ocasionalmente los pacientes desarrollan una trombocitopenia severa progresiva ($<100000/\text{mm}^3$), a veces acompañada de trombosis. Este síndrome se denomina HIT tipo II. Una cifra de plaquetas por encima de $100000/\text{mm}^3$ no significa que no esté presente la HIT II. Un descenso del número de plaquetas sobre un 30% a 50% durante varios días de su cifra basal en pacientes que hayan recibido heparina es probablemente causado por una HIT II.

El mecanismo de esta HIT demuestra la presencia de anticuerpos heparina dependientes, generalmente Ig G, aunque también pueden ser otros, que agregan las plaquetas en presencia de heparina. Durante el tratamiento con heparina, la medida de los anticuerpos permanece baja debido a que están unidos a las plaquetas. La concentración de estos anticuerpos aumenta cuando finaliza el tratamiento, pero paradójicamente permanecen indetectables unos meses más tarde. Además se ha observado que los anticuerpos no agregan plaquetas en presencia de un exceso de heparina, y por otro lado, no todos los pacientes reexpuestos a heparina desarrollan trombocitopenia [72].

La superficie plaquetaria contiene complejos de heparina y factor plaquetario 4 (PF4). Los pacientes afectados presentan un anticuerpo frente a este complejo. Los anticuerpos se unen a las plaquetas activadas a través de sus receptores Fc γ II y a su vez activan el endotelio. La activación de la superficie plaquetaria produce una liberación secundaria de trombina. Las plaquetas se unen las unas a las otras, lo que se denomina el síndrome del trombo blanco, pero es secundariamente a la generación de trombina a través de la activación plaquetaria por los anticuerpos, que se puede producir un trombo con fibrina. En ausencia de heparina, el antígeno heparina-PF4 no se puede crear [73].

Si no existe un defecto endotelial, la única respuesta a la interacción antígeno-anticuerpo es el consumo de plaquetas y la trombocitopenia. Procedimientos invasivos como la angioplastia, cirugía vascular o cardíaca pueden dañar el endotelio dando lugar a adhesión plaquetaria y a la consiguiente activación. El PF4, liberado con la activación plaquetaria, se une a la heparina localmente, impidiendo no sólo la inhibición de la coagulación sino también la generación de material adicional antigénico. Los agregados plaquetarios trombosan vasos, produciendo isquemia de órganos y miembros. La amputación, muerte o ambos pueden ser ocasionados cuando queda establecido un cuadro de HIT. Los pacientes sometidos a cirugía cardíaca que presentan anticuerpos positivos presentan un mayor riesgo de morbimortalidad de al menos el doble [73].

Tras 7 días de tratamiento con heparina sódica, probablemente un 1% de los pacientes pueden desarrollar HIT, tras 14 días, la tasa de prevalencia es de un 3%. Se ha visto, estudiado por método ELISA, una incidencia preoperatoria de anticuerpos de un 6,5% a un 10%, sin que se haya desarrollado trombocitopenia. Incluso estudios postoperatorios muestran la presencia de un 25% a un 50% de anticuerpos. El test más específico para su diagnóstico es el ELISA para anticuerpos del complejo heparina-PF4. La medida de los anticuerpos IgG plaquetarios es pobremente específico para el diagnóstico de HIT, ya que hay múltiples causas que pueden provocar IgG plaquetarios [73].

Disfunción plaquetaria

Tras la CEC, la disfunción plaquetaria es un hallazgo habitual. Tanto la adhesión como la agregación se ven afectadas por la CEC [74]. Sin embargo, la disfunción plaquetaria adquirida más importante que conlleva a un alto riesgo de sangrado postoperatorio se debe al uso preoperatorio de antiagregantes plaquetarios [74].

La aspirina se asocia a un riesgo moderado de sangrado postoperatorio, y su retirada previa a la cirugía en pacientes electivos se considera razonable según las guías [74]. Los antiagregantes que actúan en el receptor P2Y₁₂ dependiente de la adenosina difosfato (ADP) como son la ticlopidina, clopidogrel, prasugrel y ticagrelor, son responsables de un alto riesgo de sangrado y de reoperación si no se retiran con tiempo suficiente previo a la intervención [75,76]. El tiempo de retirada se suele dar a los 5-7 días según las guías [77,78].

La recuperación de la totalidad de la función plaquetaria tras la retirada de los antiagregantes es muy variable y difícil de predecir [79], por tanto, el uso de tests de función plaquetaria en el preoperatorio para establecer un tiempo adecuado para iniciar la cirugía se sugiere en las guías de consenso, incluso también para comprobar si el paciente es resistente al tratamiento antiagregante [80,81].

Hay varios tests para medir la función plaquetaria en el preoperatorio, como el PFA-100® (Siemens Healthcare, Marburg, Germany), agregometría de múltiples electrodos (Multiplate®, Verum Diagnostica GmbH, Munchen, Germany), VerifyNow® (Accumetrics Inc, San Diego, CA), ROTEM-platelet®, TEG-platelet mapping® y otros.

Existen diferentes valores de función plaquetaria propuestos para los pacientes candidatos a cirugía cardíaca [81,82] y otros en proceso de validación. Un valor mínimo de 31 UA/m (unidades de agregación/minuto) se ha sugerido para el test del ADP en el Multiplate® para minimizar el riesgo de sangrado postoperatorio [82].

La valoración de los niveles de función plaquetaria sugestivos de precisar una transfusión es más compleja, debido a la relación entre la CEC y la disfunción plaquetaria, y la disfunción plaquetaria relacionada con los fármacos y la trombocitopenia. Aunque existen algoritmos propuestos de función plaquetaria tras la CEC [83], los valores sugeridos son todavía un poco empíricos.

Desde el punto de vista terapéutico, el abordaje más razonable al tratamiento de la disfunción plaquetaria debido a fármacos es la transfusión de plaquetas, sin embargo, en pacientes tratados con antiagregantes como ticagrelor, las plaquetas transfundidas se pueden ver afectadas por la forma activa del fármaco [84].

La desmopresina a dosis de 0,3 µg/kg se ha sugerido como tratamiento de la disfunción plaquetaria adquirida, especialmente en aquellos pacientes con enfermedad de von Willebrand adquirida (pacientes con estenosis aórtica) [85] y tras CEC [86].

Hiperfibrinólisis

La fibrinólisis, una actividad hematológica normal, se genera en la vecindad del trombo. Remodela el trombo formado y lo elimina cuando el endotelio se repara. Como la formación del trombo, su desaparición también puede darse por una vía intrínseca o extrínseca. La vía extrínseca presenta un papel predominante en la fibrinólisis. Con esta vía se activa el plasminógeno, una proteasa sérica sintetizada en el hígado, que circula en forma de zimógeno. Este plasminógeno, a través de una proteasa sérica, se transforma en plasmina. La plasmina es la principal enzima de la fibrinólisis, que permite separar al fibrinógeno o fibrina de sus lugares específicos de actuación. El plasma normalmente contiene plasmina no circulante debido a la presencia de una proteína, α_2 -antiplasmina, que consume rápidamente cualquier cantidad mínima de plasmina liberada en el plasma por la fibrinólisis local. Por tanto, la fibrinólisis local y no la sistémica, acompaña a una hemostasia normal [87].

Fibrinólisis extrínseca

Las células endoteliales sintetizan y liberan el activador tisular del plasminógeno (t-PA), que junto con la uroquinasa activadora del plasminógeno, actúan como proteasas séricas que permiten la conversión del plasminógeno a plasmina. La actividad del t-PA aumenta con su unión a la fibrina. Por tanto, la formación de la plasmina se da sobre todo en el lugar del coágulo. La epinefrina, bradiquinina, la trombina y el factor Xa provocan la liberación endotelial del t-PA, al igual que se puede dar en la trombosis venosa o durante la CEC [88].

Fibrinólisis intrínseca

El factor XIIa, formado durante la fase de contacto de la coagulación, ayuda en el paso del plasminógeno a plasmina. Esa plasmina crea una retroalimentación positiva con el factor XIIa.

La hiperfibrinólisis es un fenómeno muy estudiado durante la cirugía cardíaca con CEC. Como resultado de la importante generación de trombina, el sistema fibrinolítico es activado y es responsable en parte del sangrado que puede darse tras la cirugía [89].

El factor XIII es una proteína infraestimada en la coagulación. Circula en plasma, y cuando es activada, permite crear enlaces con las trazas de fibrina que la protegen de la acción lítica de la plasmina. Se sabe que bajos niveles de factor XIII se asocian con aumento del riesgo de hemorragia tras CEC. Los niveles del factor XIII durante la CEC se reducen por

la hemodilución y además se ha visto que aumenta su destrucción en algunos pacientes durante la CEC [90,91].

El diagnóstico del sangrado por hiperfibrinólisis no es sencillo. Los tests viscoelásticos pueden proporcionar información, pero generalmente la muestran cuando la hiperfibrinólisis es muy severa. Por tanto, el abordaje del tratamiento de la hiperfibrinólisis es más profiláctico que terapéutico [92].

Los intentos para controlar la hiperfibrinólisis en cirugía cardíaca se iniciaron ya a finales de la década de los ochenta. Se propuso en 1987 altas dosis de aprotinina [93]. Tras múltiples estudios y metaanálisis [94] se confirmó la efectividad de las altas dosis de aprotinina para controlar el sangrado severo en pacientes de alto riesgo. Sin embargo, se han realizado estudios que relacionan el uso de la aprotinina con la alteración de la función renal [95,96], por lo que el fármaco fue retirado del mercado en gran cantidad de países.

Actualmente los antifibrinolíticos más ampliamente utilizados son el ácido tranexámico y el ácido épsilon aminocaproico. Su acción es la de unirse al plasminógeno y la plasmina, y por tanto inhibe la unión del plasminógeno a los residuos de lisina del fibrinógeno. Las guías europeas [97] recomiendan el uso de ácido tranexámico o ácido épsilon aminocaproico en la cirugía cardíaca. La dosis óptima de ácido tranexámico se sigue debatiendo, en tanto en cuanto que su rango terapéutico puede ir desde las bajas dosis (25-30 mg/kg) a las altas dosis (60-250 mg/kg). Altas dosis de ácido tranexámico se han visto asociadas a crisis convulsivas en el postoperatorio [98].

Origen quirúrgico

Los pacientes sometidos a cirugía cardíaca pueden sangrar por problemas quirúrgicos (anastomosis de grandes vasos, aortotomía, puntos de canulación, pequeñas venas y arterias y otras causas). Es más probable que se de en cirugías complejas que requieren de gran cantidad de suturas [99].

Cuando se observa un sangrado continuo con ausencia de razones médicas claras y sin signos claros de fallo del sistema hemostático en los tests de coagulación, la posibilidad de que el sangrado sea de origen quirúrgico debe considerarse. La hemostasia quirúrgica debe chequearse hasta el cierre esternal. La revisión quirúrgica se considerará si el sangrado continúa en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI). Obviamente, un sangrado severo de

causa quirúrgica invariablemente conduce a una coagulopatía debido al consumo de los factores de coagulación y plaquetas, hipofibrinogenemia e hiperfibrinolisis [99].

1.2.2. Complicaciones tromboembólicas

Múltiples factores pueden desencadenar un estado protrombótico tras cirugía cardíaca. La generación de trombina continúa horas tras el fin de la cirugía y representa un estímulo continuo para la generación de fibrina, la activación plaquetaria y la formación de trombos. A su vez, el endotelio ha perdido sus propiedades anticoagulantes, con el consumo de factores inhibitorios del FT y del complejo proteína C-S. La antitrombina es consumida y valores por debajo del 30-50% con respecto al basal pueden ser habituales [100]. Zonas de enlentecimiento del flujo sanguíneo, como en la orejuela izquierda en caso de fibrilación auricular, representan otra fuente de posibles trombos. La baja presión de perfusión y de flujo sanguíneo en caso de bajo gasto cardíaco puede ser responsable de mala perfusión a los órganos periféricos. En neonatos y niños, los catéteres intravenosos pueden producir trombosis local. Incluso el uso excesivo de fármacos procoagulantes puede ser responsable de eventos tromboembólicos [101].

Debido a estos mecanismos, la utilización de fármacos anticoagulantes y antiagregantes plaquetarios es una práctica habitual. La pronta administración de aspirina o aspirina más clopidogrel tras procedimientos coronarios presenta importantes beneficios sin aumentar en demasía el riesgo de sangrado [102]. En el postoperatorio, cuando el paciente no muestra un sangrado activo, el tratamiento precoz con heparina de bajo peso molecular (HBPM) se utiliza para prevenir eventos tromboembólicos, siendo obligatorio en pacientes sometidos a recambios valvulares mecánicos y fibrilación auricular previo al inicio del tratamiento con warfarina [103].

Bajos niveles de antitrombina (AT) en el momento del ingreso en UCI tras cirugía cardíaca se han asociado a problemas tromboembólicos [104]. Sin embargo, un reciente estudio randomizado demuestra que la administración de AT preoperatoria no disminuye el riesgo tromboembólico, aunque confirma que valores de AT <58% se asociaron a estancias prolongadas en UCI [104]. El papel del tratamiento con AT en cirugía cardíaca continúa siendo un tema de debate.

1.2.3. Interacción de los componentes de la coagulación

La interacción de plaquetas, células endoteliales y proteínas es la clave para activar y desactivar la coagulación, siendo este proceso extremadamente controlado.

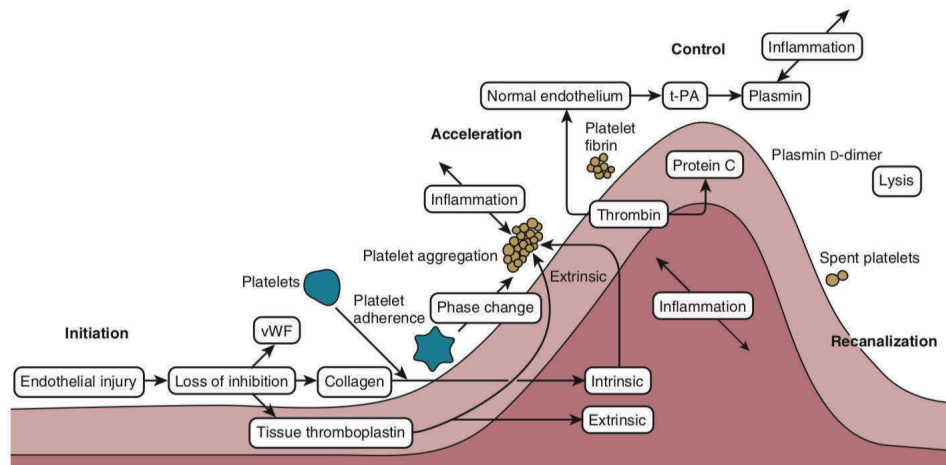


Figura 2. Activación de la coagulación en un punto de lesión tisular. Pasa por cuatro fases: iniciación, aceleración, control y lisis/re canalización. t-PA, activador del Plasminógeno Tisular; vWF, Factor de von Willebrand. (Tomado de Redrawn de Spiess BD. Coagulation function and monitoring. En: Lichtor JL, ed. Atlas of Clinical Anesthesia. Philadelphia: Current Medicine; 1996.)

Todos los componentes de la coagulación regulan por sí mismos el alcance de la hemostasia a través de cuatro procesos: *iniciación*, *aceleración*, *control* y *lisis* (*recanalización/fibrinólisis*). Ver figura 2. La fase de iniciación comienza con el daño tisular, que se debe a la disfunción o destrucción de células endoteliales. Esta fase de iniciación conlleva la unión de plaquetas además de una activación de proteínas; ambas ocurren simultáneamente, y cada una presenta circuitos de retroalimentación con la otra. Las plaquetas se adhieren, dando lugar a una fase de activación o aceleración que reúne a muchas células en el sitio de la lesión. A partir de esta fase de adhesión, concurren multitud de eventos de interacciones entre células y proteínas. La fase de activación inicia de forma explosiva una serie de reacciones, que fácilmente se podrían comparar con las que se producen en un reactor nuclear. La fase de activación podría continuar desarrollándose de forma desequilibrada, pero existen sistemas de control (trombomodulina, proteínas C y S, y el t-PA) para paralizar el avance de esta reacción. El endotelio normal que rodea al dañado, actúa de forma diferente. Por tanto, se inician las reacciones de control sobre esa fase de aceleración y comienza a entrar en juego la lisis. Un concepto clave a tener en cuenta es que

la hemostasia forma parte de un sistema mucho más global, como es la inflamación. Es por ello, que la circulación extracorpórea (CEC) produce profundos efectos inflamatorios que activan a las proteínas y células implicadas en la hemostasia [105].

1.2.4. Activación de proteínas de la coagulación

Los factores de la coagulación participan en una serie de reacciones de activación y de retroalimentación, finalizando con la formación de un trombo insoluble. El trombo es la suma de interacciones plaquetarias, que inician la creación del trombo plaquetario (parada inicial de la sangre). La unión entrecruzada de las plaquetas conlleva a la creación de fibras de fibrina que dan mayor estabilidad al trombo.

La mayoría de los factores de coagulación son glicoproteínas (GPs) sintetizadas en el hígado, que circulan como moléculas inactivas denominadas proenzimas. La activación de cada factor sirve como sustrato para una reacción enzimática catalizada por el factor previo en la secuencia. Esta secuencia de reacciones se denominó clásicamente la *cascada de la coagulación*. Los cambios conformacionales de los fragmentos polipeptídicos en las proenzimas inactivas terminan creando una enzima activa con un lugar de exposición activo. La forma activa se denomina proteasa sérica. Muchas de estas reacciones requieren de la presencia de calcio y de una superficie fosfolipídica. Los fosfolípidos se encuentran sobre todo en la superficie de las plaquetas inactivas o de células endoteliales y ocasionalmente en la superficie de los glóbulos blancos. La proximidad entre ellos permite reacciones muy importantes cuando entran en contacto con dichas enzimas. Por tanto, son cuatro los grupos básicos de activación de la coagulación: activación por contacto, intrínseco, extrínseco y vía común [106].

Activación por contacto

El factor XII, el Quininógeno de Alto Peso Molecular (HMWK), la Precalicroína (PK) y el factor XI forman la superficie de activación. Uno de los principales mecanismos de activación del factor XII es la disrupción de la célula endotelial, que expone la matriz del colágeno cargada negativamente. Las plaquetas activadas también presentan cargas negativas en su membrana de superficie. El HMWK permite anclar las otras moléculas de activación,

es decir, la PK y el factor XI en el endotelio dañado o las plaquetas activadas. El factor XIIa pasa a factor XIa y la PK a calicreína [106].

Vía intrínseca

La activación de la vía intrínseca crea el factor XIa a partir de las superficies de activación. El factor XIa convierte el factor IX en IXa, siendo este proceso calcio dependiente. El factor IXa activa al factor X con la ayuda del calcio, una superficie de fosfolípidos (fosfatidilserina plaquetaria), y el factor VIIIa [107].

Vía extrínseca

La activación del factor X se puede dar independientemente del factor XII a través de sustancias extrínsecas al endotelio vascular. Las lesiones sobre las células endoteliales pueden promover la producción del factor tisular (FT). Aunque la célula endotelial, per se, es antitrombótica, ante situaciones como isquemia, reperfusión, sepsis o liberación de citoquinas (sobre todo la Interleuquina IL-6), la célula endotelial estimula la producción del factor κ B intracelular nuclear, enviando señales para la formación del ARN mensajero que produce el FT [107]. Este proceso es rápido, siendo capaz de producir grandes cantidades de FT. Se piensa que es sobre todo el FT el que está implicado en la mayoría de los desórdenes de la coagulación tras la cirugía cardíaca, más que la activación por contacto. La tromboplastina o FT actúa como cofactor para la activación del factor X por el factor VII. Los factores VII y X, con la ayuda de las superficies plaquetarias de fosfolípidos y el calcio, consiguen generar el factor Xa [107].

Vía común

El factor Xa convierte la protrombina (factor II) en trombina (factor IIa). La combinación de los factores Xa, Va y el calcio producen el denominado *complejo protrombinasa*. El factor Xa se ancla a la superficie plaquetaria con la ayuda de calcio. El factor Va se ensambla cerca del Xa reforzando el complejo.

Con la creación de trombina, se produce la modificación de la molécula de fibrinógeno a monómeros de fibrina y fragmentos de polipéptidos denominados fibrinopéptidos A y B. La asociación de monómeros de fibrina forman la matriz de fibrina. El factor XIII, activado por la trombina, aumenta la unión de esas trazas de fibrina creando un trombo insoluble. Los pacientes con bajos niveles de factor XIII se asocian a mayor riesgo de sangrado tras cirugía cardíaca.

Los factores que requieren calcio (II, VII, IX y X) dependen de la vitamina K que se une a los grupos 9 y 12 γ -carboxilo. El calcio atrae la carga negativa de los grupos carboxilo a la superficie fosfolipídica de las plaquetas, facilitando las interacciones moleculares. Algunas proteínas inhibitorias también dependen de la vitamina K para su funcionamiento, como las proteínas C y S [108].

1.2.5. Moduladores de la coagulación

La trombina es el modulador más importante en la cascada de la coagulación. Activa los factores V, VIII y XIII, transforma el fibrinógeno en fibrina, estimula la activación plaquetaria, promueve la quimiotaxis de leucocitos y monocitos, ayuda a liberar t-PA, prostaciclina y óxido nítrico (NO) de las células endoteliales, libera IL-1 de los macrófagos, y junto a la trombomodulina activa la proteína C, una sustancia que inactiva los factores Va y VIIIa. Por tanto, la trombina ejerce un pilar fundamental como acelerador de la coagulación. La activación plaquetaria, la liberación del factor tisular y la activación por contacto se producen en la superficie del endotelio dañado. Las plaquetas se adhieren en el punto de lesión, comenzando el secuestro de otras plaquetas. Es la interacción de todos estos factores lo que crea una masa crítica de células activadas y proteínas, lo que conlleva a la formación del trombo. Una vez que las plaquetas comienzan a interactuar entre ellas a través de las reacciones proteicas en su superficie, es cuando comienza la generación de trombina. Esta generación de trombina es el punto clave que supone que las reacciones se produzcan masivamente. La concentración y la funcionalidad plaquetaria afecta a la capacidad de la generación masiva de trombina. La CEC podría afectar a la capacidad de la generación de trombina debido a que puede reducir el número de plaquetas, las interacciones entre ellas y la concentración de sustratos proteicos.

Las proteasas que componen las vías de coagulación están contrabalanceadas por serinas proteasas inhibitorias o *serpinas*. Sólo cuando se genera la explosión de trombina es cuando el organismo recurre a los inhibidores trombóticos. Las serpinas incluyen la α_1 -antitripsina, α_2 -macroglobulina, heparina cofactor II, α_2 -antiplasmina, antitrombina (AT, también denominada antitrombina III) y otros.

La AT III es el más potente y abundante inhibidor de la coagulación distribuido por la sangre. Se une al punto activo (serina) de la trombina, inhibiendo su acción. También inhibe,

aunque en menor medida, la actividad de los factores XIIa, XIa, IXa y Xa, la calicreína y la plasmina. La unión establecida entre la trombina y la fibrina está protegida de la acción de la AT, de ahí, la baja eficacia de la heparina en el tratamiento de la trombosis ya establecida. Un punto importante a destacar es que la AT III es activa solamente frente a la trombina libre (la trombina unida a la fibrina no es reconocida por la AT III). La protrombina circula en el plasma pero no es afectada por los complejos heparina-AT III. La mayoría de la trombina en su forma activa está unida a receptores plaquetarios o a las matrices de fibrina. Las plaquetas, a través de sus receptores de GP y fosfolípidos, protegen la trombina activada del ataque de la AT III. Por tanto, el papel biológico de la AT III es crear una superficie anticoagulante en las células endoteliales. Actúa cuando se administra la dosis de heparina previa al inicio de la CEC. Otra serpina es la proteína C, que degrada los factores Va y VIIIa. Como otros factores vitamina K dependientes, requiere del papel del calcio para unirse a los fosfolípidos. Su cofactor, la proteína C, también presenta dependencia a la vitamina K. Hay variantes genéticas de la proteína C menos activas que suponen un mayor riesgo de trombosis venosa profunda y embolismo pulmonar. Cuando las células endoteliales liberan la trombomodulina, la trombina acelera en 20000 veces la producción de proteína C. La proteína C activada promueve la fibrinólisis a través de la retroalimentación con las células endoteliales que liberan el t-PA [108].

La regulación de la vía extrínseca se da a través del inhibidor de la vía del factor tisular (TFPI), una proteína glicosilada que se asocia con lipoproteínas en el plasma. El TFPI no es una serpina. Su función es la de impedir las propiedades catalíticas del complejo factor VIIa-FT, y por tanto evitar la activación del factor X. Tanto el endotelio vascular como las plaquetas producen el TFPI. La heparina libera el TFPI del endotelio, aumentando su concentración plasmática. El factor de von Willebrand (vWF), una molécula compuesta de péptidos glicosilados, se asocia con el factor VIII en el plasma, protegiéndole de enzimas proteolíticas. La lesión del endotelio permite la unión del vWF desde el plasma o la expresión del mismo en los tejidos o células endoteliales afectadas. Una vez unido, el vWF expresa el dominio A-1 que presenta una alta afinidad por los receptores plaquetarios [109]. Inicialmente, el vWF se une al receptor GPI α plaquetario, que permite enlentecer el movimiento plaquetario frente al flujo sanguíneo, debido a la menor movilidad plaquetaria junto al endotelio dañado por la acción del vWF. La activación del vWF y su unión a las plaquetas no son suficientes para la fijación de las plaquetas al endotelio, pero crean una

señal en la membrana plaquetaria que permite cambiar su conformación y la expresión de otras GPs, como el receptor GPIb y el GPIIb/IIIa. Estos receptores GPIb se unen a otros vWF cercanos, comenzando así la secuencia de activación. Las plaquetas se fijan al subendotelio dañado a través del receptor GPIb. Estas plaquetas con el nuevo cambio conformacional liberan tromboxano, β -tromboglobulina y serotonina, y exponen el receptor GPIIb/IIIa, que se une al fibrinógeno [110]. Ver figuras 3 a 7, donde se explican conceptos básicos de la coagulación.

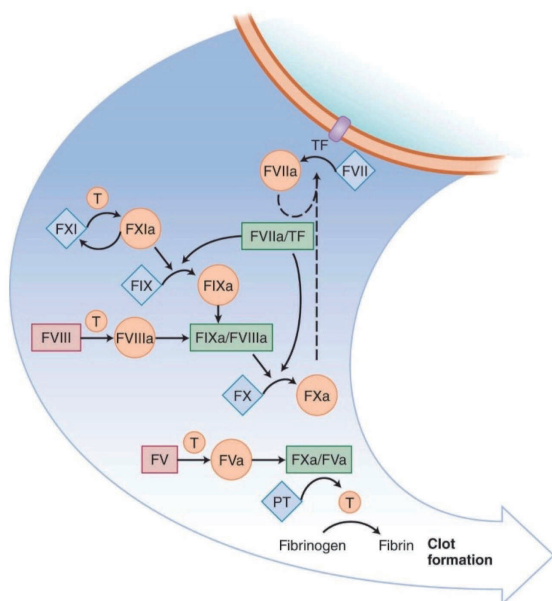


Figura 3. La cascada de la coagulación in vivo. El evento primario que la inicia es la exposición al factor tisular (TF) en el vaso sanguíneo dañado. El TF forma un complejo con el factor VII activado (FVIIa), que no solo cataliza la activación del factor X sino también la del factor IX. Esta doble función del complejo FVIIa/TF contribuye a la gran amplificación de la coagulación in vivo. Los factores de coagulación activos se muestran como círculos. Tomado de Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, et al, eds. Hematology: Basic Principles and Practice, 3rd edition. New York: Churchill Livingstone, 2001, p. 1785).

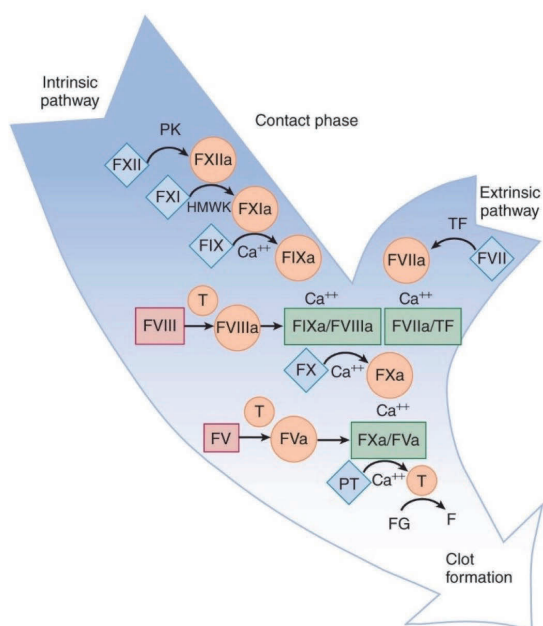


Figura 4. La cascada de la coagulación in vitro. Se puede formar un trombo de fibrina por la activación de la vía intrínseca o extrínseca. La muestra sanguínea al contactar con el tubo de la muestra activa la vía intrínseca. Rombos: zimógenos, círculos: enzimas activas y cofactores, rectángulos rosas: pro-cofactores, rectángulos verdes: complejos bimoleculares, F: fibrina, FG: fibrinógeno, HMWK: quiníngeno de alto peso molecular, PT: protrombina, T: trombina, TF: factor tisular. Tomado de Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, et al, eds. Hematology: Basic Principles and Practice, 3rd edition. New York: Churchill Livingstone, 2001, p. 1785).

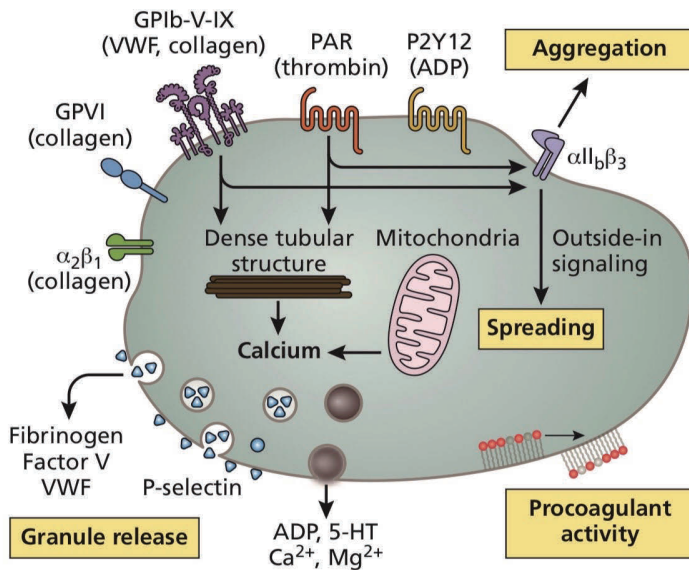


Figura 5. Activación plaquetaria. Las plaquetas pueden ser activadas a través de la estimulación de agonistas solubles, como la trombina, o por el contacto (adherencia) de la matriz del subendotelio. Esta figura muestra varios componentes plaquetarios, incluidos receptores y gránulos, así como las vías de activación y su efecto en la respuesta plaquetaria, como la agregación, liberación de gránulos o la actividad procoagulante. Tomado de American Society of Hematology. Self-Assessment Program. Textbook. Seventh Edition. Chapter 10, p. 260.

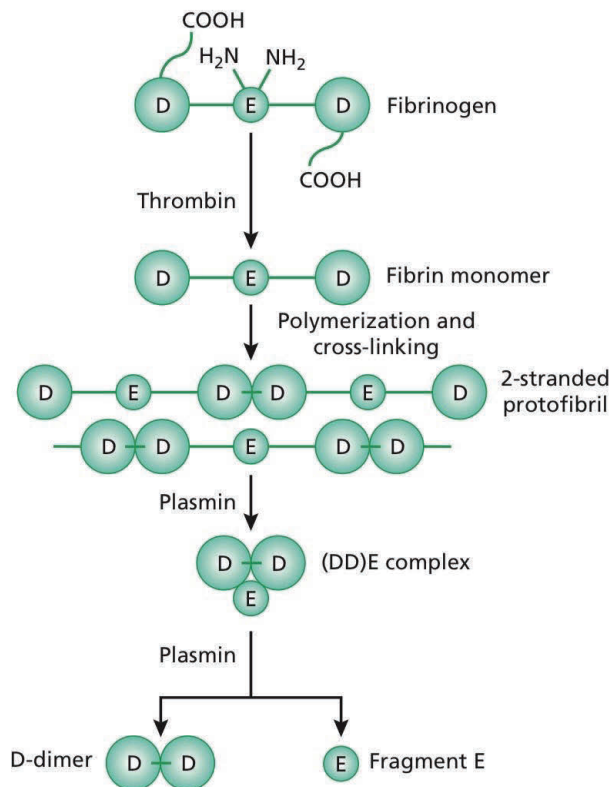


Figura 6. Formación de fibrina y su degradación. El fibrinógeno tiene una estructura basada en tres dominios, uno central E y 2 D. La trombina se adhiere a los fibrinopéptidos A y B, localizados en el dominio E. Los monómeros de fibrina resultantes se polimerizan no enzimáticamente formando polímeros de fibrina. El factor XIIIa se une a los dominios D de los monómeros de fibrina. La plasmina degrada las uniones de la fibrina, generando complejos compuestos por un fragmento E no covalente unido al dímero-D. Con el ataque de la plasmina, el complejo E se degrada en un fragmento E y el dímero D. Tomado de American Society of Hematology. Self-Assessment Program. Textbook. Seventh Edition. Chapter 10, p. 260.

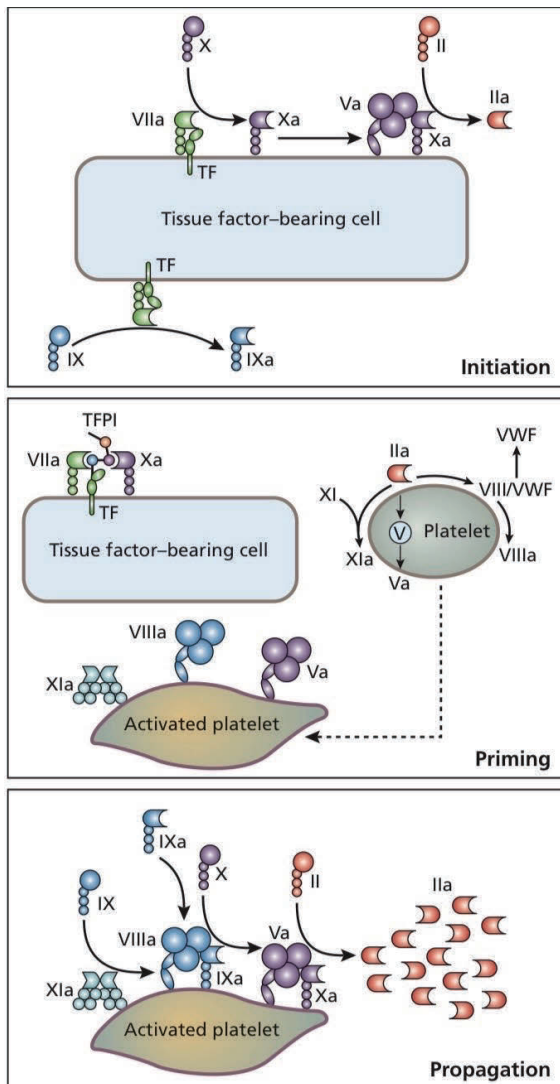


Figura 7. La generación de trombina ocurre en dos superficies celulares diferentes. La primera se da con la unión del factor tisular (TF) a la célula dañada en el punto de lesión vascular. El inicio de la coagulación comienza con la unión del TF con la célula dañada a través de la generación de una pequeña cantidad de trombina, que alerta al sistema de la coagulación, con la activación plaquetaria, la liberación del factor VIII, del factor de von Willebrand (vWF) y del factor XI. Al final de la fase inicial, la plaqueta está activada y unida al FXIa y los cofactores FVa y FVIIIa están preparados para realizar complejos esenciales tenasa (FVIIIa:FIXa) y protrombinasa (FVa:FXa). A través de una curva de amplificación se produce la generación de trombina, capaz de formar un trombo estable de fibrina. Tomado de American Society of Hematology. Self-Assessment Program. Textbook. Seventh Edition. Chapter 10, p. 260.

1.3. EFECTO DE FÁRMACOS

1.3.1. Antiagregantes

Los pacientes sometidos a cirugía cardíaca están habitualmente tratados con fármacos que pueden interactuar con el sistema hemostático. Los antiagregantes plaquetarios que suelen utilizarse en pacientes con coronariopatía, incluyen al ácido acetil salicílico y los inhibidores de los receptores ADP (difosfato de adenosina) plaquetarios tipo tienopiridina y los inhibidores de los receptores ADP P2Y₁₂ (ticlopidina, clopidogrel, prasugrel y ticagrelor). La ciclooxigenasa de las células endoteliales sintetiza la prostaciclina, que inhibe la agregación y produce vasodilatación. La ciclooxigenasa plaquetaria forma tromboxano A₂, un potente antiagregante y vasoconstrictor. La aspirina acetila irreversiblemente la ciclooxigenasa, inactivándola. Bajas dosis de aspirina, 80 a 100 miligramos (mg), superan fácilmente la ciclooxigenasa disponible en el núcleo plaquetario. Sin embargo, las células endoteliales pueden sintetizar nueva ciclooxigenasa. Por tanto, con bajas dosis de aspirina la síntesis de prostaciclina continúa, mientras que la síntesis de tromboxano cesa, disminuyendo la activación y agregación plaquetarias. Altas dosis de aspirina inhiben la ciclooxigenasa tanto en el endotelio como en la plaqueta. En muchos centros, la mayoría de pacientes que van a ser intervenidos de cirugía coronaria reciben aspirina durante los 7 días previos a la cirugía con la esperanza de disminuir la trombosis coronaria. El periodo de vida de las plaquetas es de aproximadamente 9 días, por ello, parece razonable que la retirada de la aspirina de 5 a 7 días previo a la cirugía permitiría que las plaquetas no tuvieran afectada la ciclooxigenasa por la aspirina. Se ha demostrado que la aspirina se ha relacionado con un mayor riesgo de sangrado postoperatorio [111].

Tanto el clopidogrel como el prasugrel son tienopiridinas que inhiben la vía de activación plaquetaria a partir del receptor ADP. Son fármacos con un comienzo de acción lento porque se han de convertir en fármacos activos, y sus potentes efectos pueden perdurar en las plaquetas afectadas de 5 a 10 días. Estos fármacos inhiben eficazmente la función plaquetaria, siendo muy útiles para disminuir la incidencia de infarto de miocardio tras angioplastia coronaria [112].

Los antiagregantes inhibidores del receptor plaquetario GP IIb/IIIa son los más potentes; consiguen una inhibición mayor del 90%, ya que actúan al final de la vía común de la agregación plaquetaria con el fibrinógeno. Este tipo de antiagregantes actúan en las fases

iniciales de la activación de la función plaquetaria. Sólo se administran con perfusión intravenosa, y no por vía oral. Se suelen utilizar en pacientes que toman aspirina, ya que no inhiben la producción de tromboxano A₂. La dosis de heparina se debe reducir en pacientes con este tipo de antiagregantes por el mayor riesgo de sangrado. Antiagregantes como el abciximab se relacionan con alto riesgo de sangrado en pacientes que requieren de cirugía coronaria urgente [113].

1.3.2. Anticoagulantes

Los pacientes con fibrilación auricular crónica u otras patologías que lo precisen, están tratados con fármacos antivitaminas K como la warfarina o el acenocumarol o con los anticoagulantes de acción directa nuevos como el rivaroxabán, apixabán y dabigatrán (ACODs). Ver figura 8. Estos nuevos anticoagulantes, que específicamente actúan sobre la trombina (factor IIa) o sobre el factor Xa, han incrementado la complejidad en el manejo de la coagulación en el paciente sometido a cirugía cardíaca. Por tanto, incluyen un inhibidor del factor IIa, el dabigatrán, y tres inhibidores del factor Xa: rivaroxabán, apixabán y edoxabán. Ver tabla 1. Estos fármacos se utilizan en lugar de la warfarina o la HBPM para la prevención y el tratamiento del tromboembolismo por diferentes situaciones clínicas.

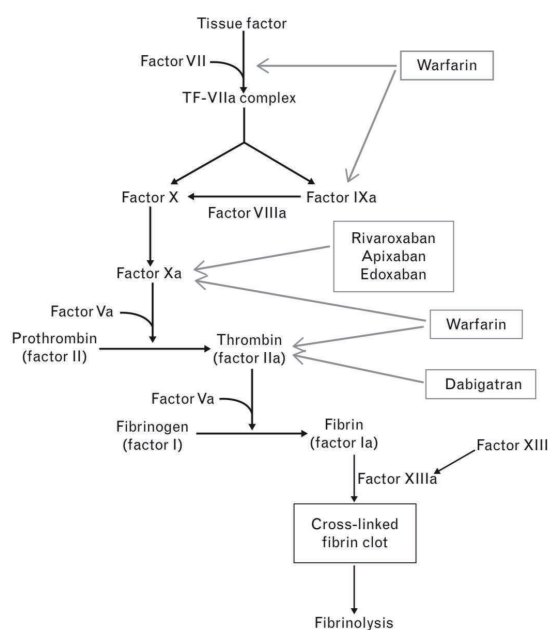


Figura 8. Puntos de acción de los anticoagulantes orales en la cascada de la coagulación. Tomado de Grottko et al. Perioperatively acquired disorders of coagulation. *Curr Opin Anesthesiol* 2015, 28:113–122.

Los antagonistas de la vitamina K (warfarina) son los anticoagulantes más comúnmente utilizados. La complicación más importante relacionada con su uso es el sangrado. Para revertir el efecto de los antagonistas de la vitamina K, dependerá de la situación de urgencia o no y del estado clínico del paciente. Se pueden administrar varias dosis de vitamina K intravenosa (5 ó 10 mg) [114,115]. En casos de sangrado severo o en pacientes que requieren una cirugía urgente, la reversión rápida se puede realizar con factores vitamina K dependientes (II, VII, IX y X). Las guías actuales sugieren la rápida reversión de la anticoagulación con los concentrados de complejo protrombínico (PCCs), que han mostrado mayor rapidez de acción con respecto al plasma fresco congelado (PFC) [116,118].

Los nuevos anticoagulantes han demostrado ser una alternativa a la warfarina en cuanto a eficacia y seguridad. Tienen un rápido mecanismo de acción, una vida media corta, una farmacocinética predecible y por tanto, no requieren de una monitorización de rutina de la coagulación. Su mecanismo de acción es la inhibición directa de proteínas específicas (factor Xa o trombina). Como ocurre con la warfarina, el sangrado es una de las complicaciones más graves del tratamiento. Sin embargo, el manejo del sangrado debido a los ACODs en las guías presenta todavía una evidencia limitada [119]. Considerando su corta vida media, el cese del tratamiento puede ser suficiente para revertir su efecto anticoagulante en muchas situaciones. En pacientes hemodinámicamente estables, la hemodiálisis o la hemofiltración puede considerarse para revertir el efecto del dabigatrán, pudiendo eliminar hasta un 62-68% de la dosis administrada [119]. Esta reversión requiere de 4 a 6 horas y puede considerarse en pacientes con altos niveles de dabigatrán y alteración de la función renal. Sin embargo, la hemodiálisis no puede usarse para revertir el efecto del rivaroxabán o el apixabán, debido a su alta unión a proteínas. En una situación de emergencia o hemorragia severa, la mayor desventaja de estos nuevos anticoagulantes es que sólo el dabigatrán tiene un antagonista comercializado, el idarucizumab. Los ACODs que inhiben el factor Xa tienen un antagonista que todavía no está comercializado en nuestro país, el andexanet alfa [120].

Asimismo, las heparinas de bajo peso molecular (HBPM) pueden ser usadas, así como la heparina sódica o la bivalirudina en pacientes con angina inestable o síndrome coronario agudo.

Tabla 1. Nuevos anticoagulantes orales.

	Dabigatrán	Rivaroxabán	Apixabán	Edoxabán
Acción	Inhibidor IIa	Inhibidor II	Inhibidor Xa	Inhibidor Xa
Administración	Dos veces día	Una vez día	Dos veces día	Una vez día
Pico plasmático	2 h	2-4 h	1-4 h	1-2 h
Vida media	12-14 h	11-13 h	8-15 h	9-11 h
Excreción renal	80 %	35 %	25 %	50 %
Unión a proteínas	35 %	90 %	87 %	————

Otros agentes pueden inhibir la función plaquetaria. Los antibióticos betalactámicos envuelven la superficie plaquetaria, mientras que las cefalosporinas pueden ser inhibidores plaquetarios de corta actuación. Centenares de fármacos pueden inhibir la función plaquetaria. Los antagonistas del calcio, los nitratos y los betabloqueantes son usados habitualmente en cirugía cardíaca. Los nitratos son efectivos agentes antiplaquetarios, por lo que pueden ser beneficiosos durante los periodos anginosos, no solo por el efecto de vasodilatación. Los AINEs inhiben reversiblemente tanto la ciclooxigenasa de las células endoteliales como la de las plaquetas [121].

1.3.3. Heparina y circulación extracorpórea

Durante la cirugía, la heparina sódica se utiliza para asegurar la anticoagulación en el periodo de CEC en dosis en torno a 3 mg/kg. Las dosis de carga para la CEC (200-400 U/kg) son elevadas. Los niveles plasmáticos de heparina varían ampliamente de 2 a 4 U/mL tras las dosis administradas. La heparina ejerce su actividad anticoagulante vía AT III, una de las muchas proteínas séricas inhibitorias (serpinas). El mayor inhibidor de la trombina y de los factores IXa y Xa es la AT III. La actividad de la AT desciende de forma importante cuando se produce un daño vascular, disminuyendo su papel como catalizador de enzimas procoagulantes que escapan a la circulación general. La AT inhibe proteasas séricas incluso sin la presencia de heparina. La heparina acelera la formación del complejo AT-trombina y la

del complejo factor Xa-AT. La inhibición enzimática se da por un complejo ternario entre la heparina, la AT y las proteinasas inhibidas (trombina, factor Xa). La heparina sódica y la AT sólo actúan en la trombina libre. Parece que cuando se produce la generación de trombina y comienza la actividad de la trombina, la heparina aparece como parcialmente ineficiente ya que no hay mucha trombina libre. La trombina se une a la superficie de las plaquetas activadas en los receptores de GP, incluyendo el GPIIb/IIIa. También la trombina se une a la fibrina, por lo que los complejos heparina-AT difícilmente se pueden unir, a no ser que se utilicen dosis de heparina mucho más elevadas de las que se suelen utilizar en cirugía cardíaca. Los residuos ácidos de la heparina N-sulfato-D-glucosamina y el L-irudónico crean cadenas de longitud variable. Actúa como un polielectrolito lineal aniónico, cuyas cargas negativas se sustituyen por grupos sulfato, por lo que interactúa con numerosas enzimas, hormonas y proteínas plasmáticas. La heterogeneidad de la heparina produce una respuesta variable en relación a la dosis administrada y la concentración plasmática. Se describen tres modelos de la farmacocinética de la heparina: una rápida desaparición inicial, un aclaramiento saturable que se observa con dosis bajas y un descenso exponencial con grandes dosis. La rápida desaparición inicial se lleva a cabo por la captación de las células endoteliales. La fase saturable se debe al sistema reticuloendotelial y a su captación en monocitos. Finalmente el aclaramiento renal explica el metabolismo exponencial de la heparina. Tras concluir la CEC, el efecto de la heparina sódica es contrarrestado por el sulfato de protamina. La formación de complejos con los grupos sulfato de la heparina es la base del antídoto y así neutraliza el efecto antitrombínico de la heparina. La relación entre la dosis de heparina y la de protamina continúa siendo materia de debate. Hay estudios que abogan que la dosis habitualmente usada en la práctica clínica 1,3:1 ó 1:1 protamina/heparina es excesiva, por lo que se conseguiría un mejor control de la hemostasia usando un ratio protamina/heparina más bajo [122]. El comportamiento de la heparina sódica es bastante impredecible, dependiendo de la cantidad de trombina y antitrombina generadas. Además, la heparina se une al endotelio a través de proteínas, células y plaquetas por la expresión del factor plaquetario IV. Por tanto, la posibilidad de una neutralización incompleta de la heparina o de un rebote del efecto de la heparina existen. Por otro lado, un exceso de protamina es por sí mismo un factor de riesgo de sangrado [123]. Una lenta administración de la protamina durante 5 minutos o más, puede disminuir sus efectos adversos. Una hipotensión sistémica se puede dar ante una administración rápida, debido al desplazamiento de la histamina de los

mastocitos por la alta alcalinidad de la protamina. También se pueden dar reacciones alérgicas [123].

Generalmente los efectos de la heparina sódica y la eficacia de su reversión por la protamina son medidos con el tiempo de coagulación activado (TCA), un test funcional de la anticoagulación por heparina. El TCA fue introducido por Hattersley en 1966 y continúa siendo el monitor más ampliamente utilizado para medir el efecto de la heparina durante los procedimientos de cirugía cardíaca. Una pequeña cantidad de sangre completa se añade a un tubo que contiene un activador, celite o caolín. La presencia del activador aumenta la activación por la fase de contacto de la coagulación, que estimula la vía intrínseca de la coagulación. El TCA se suele medir de forma automática, mediante dispositivos como el Hemochron® (International Technidyne Corp., Edison, NJ) o el ACT plus® (Medtronic Perfusion Services, Minneapolis, MN). En estos dispositivos, el tubo del test es calentado con la muestra en su interior hasta los 37° C. El Hemochron® rota el tubo de la muestra, que contiene celite y un pequeño cilindro metálico, sobre el que se añaden 0,5 mL de sangre total. Cuando se forma el coágulo, el cilindro es empujado fuera del detector magnético del dispositivo, interrumpiendo el campo magnético y por tanto indica el final del tiempo de coagulación. Los valores normales del TCA varían de 80 a 120 segundos. EL Hemochron® TCA también puede funcionar usando caolín como activador de forma similar [124].

El ACT Plus® o Hemotec® es un dispositivo en el que se introduce un casete de dos cámaras que contiene caolín y se encaja en un calentador. La sangre (0,4 mL) se introduce en cada cámara, que conectadas a un émbolo empieza a descender. La disminución en la velocidad del émbolo es detectada por un sistema óptico que indica el final del test. El Hemochron® y el Hemotec® se han comparado en varios estudios, encontrando diferencias significativas cuando la concentración de la heparina es baja. En adultos, a las dosis habituales de anticoagulación para cirugía cardíaca de 3 mg/kg, ambos dispositivos muestran resultados óptimos de anticoagulación, aunque el Hemochron presenta tiempos más prolongados [125].

Con la introducción de la monitorización con el TCA en la práctica quirúrgica cardíaca, se consiguió un mejor manejo de las dosis de heparina y protamina. Muchos investigadores indican una disminución en las pérdidas sanguíneas y en los requerimientos transfusionales, sobre todo, debido a una mejora en la hemostasia intraoperatoria por la

supresión de la coagulación microvascular y la mejor reversión del efecto de la heparina con protamina [125].

La monitorización con TCA no está exenta de errores, y su utilización ha sido criticada por la variabilidad de los resultados en ausencia de niveles elevados de heparina plasmática [126]. Han sido varios los factores que se han sugerido como causas de la alteración del TCA, muchos de ellos prevalentes en cirugía cardíaca. El TCA se puede prolongar por hipotermia y hemodilución, y acortarse en caso de activación plaquetaria o trombopatía. Este parámetro no es específico, y por tanto inadecuado para garantizar una antagonización completa de la heparina. Cuando el volumen del circuito de la CEC se reintroduce al paciente al finalizar la cirugía, la hemodilución puede prolongar el TCA. El efecto de las alteraciones plaquetarias es más difícil de medir. Una trombocitopenia media o moderada no afecta los tiempos del TCA. No es hasta un descenso de 30000 a 50000/ μ L cuando el TCA empieza a prolongarse. Los pacientes tratados con inhibidores plaquetarios como la prostaciclina, aspirina o los antiagregantes antagonistas del receptor de membrana presentan un TCA con heparina más prolongado que aquellos que no lo toman. Esta prolongación del TCA no se relaciona exclusivamente con el descenso de los niveles de factor plaquetario 4 (PF4, una sustancia neutralizante de la heparina), sino también cuando la sangre es anticoagulada con sustancias que no son neutralizadas por el PF4. La lisis plaquetaria, sin embargo, acorta significativamente los tiempos del TCA, debido a la liberación de PF4 y otros componentes plaquetarios, que pueden tener sustancias neutralizantes de la acción de la heparina. Tanto la anestesia como la cirugía disminuyen los tiempos del TCA y crean un estado hipercoagulable, posiblemente debido a una activación plaquetaria [127].

Durante la CEC, el consumo y disminución de los niveles de heparina varía sustancialmente. Su medida es compleja debido a la hemodilución y la hipotermia, ya que alteran el mecanismo de acción de la heparina. Se han visto estudios en los que el consumo de la heparina varía de 0,01 a 3,86 UI/kg/min, sin que exista una correlación entre la sensibilidad inicial a la heparina y el consumo de la misma [128].

Se han propuesto otros tests, como sistemas específicos de monitorización de la heparina, tromboelastografía (TEG[®] Haemoscope Inc., Niles, IL) y tromboelastometría (ROTEM[®], Tem International GmbH, Munich, Germany). Son tests viscoelásticos que

permiten un análisis cualitativo del estado de la coagulación, y que adicionando heparinasa (una enzima que lisa la heparina) permiten un estudio más preciso de la heparina residual [129]. Otros tests como la medida directa del factor anti-Xa no se suelen utilizar en la práctica clínica habitual.

La heparinización residual puede darse tras la cirugía cardiaca, siendo esta causa una de las que hay que tener en cuenta ante un sangrado en sábana tras la salida de la CEC [129].

La **resistencia a la heparina** o respuesta alterada a la heparina se define como una incapacidad de aumentar el tiempo de coagulación activada (TCA) a los niveles esperados, pese a una adecuada concentración plasmática de heparina. La resistencia a la heparina puede ser congénita o adquirida. La exposición previa a la heparina predispone al paciente a que pueda tener una respuesta alterada a la misma debido a la reducción de la antitrombina III, activación plaquetaria o activación de la vía extrínseca de la coagulación. Hay fármacos inhibidores de la trombina capaces de anticoagular en pacientes que no pueden recibir heparina. La bivalirudina y la hirudina son los dos inhibidores directos de la trombina que se suelen utilizar en estos casos. La hemodilución que acompaña a la CEC, disminuye los niveles de AT alrededor de un 66% [130]. Además, pueden existir pacientes con niveles basales bajos de AT III. La única forma de prolongar el TCA es la existencia de heparina suficiente además de la AT disponible. Se ha documentado resistencia a la heparina en el uso de autotransfusión, terapia previa con heparina, infección y aneurisma ventricular con trombo [131]. También la resistencia a la heparina simplemente se puede deber a la importante variación a la respuesta a la misma. Esta resistencia pone el foco de debate en cómo se debería monitorizar la anticoagulación durante la CEC, si midiendo la concentración de heparina o por el efecto de la misma. El efecto de la anticoagulación no es alcanzar heparina libre en plasma sino inhibir la acción de la trombina en el fibrinógeno, plaquetas y células endoteliales. En muchas ocasiones, su tratamiento consiste en aumentar las dosis de heparina. Se han de conseguir unos valores de TCA mínimos entre 300 y 400 segundos, para evitar posibles complicaciones como la formación de trombos en el circuito de la CEC. Muchas condiciones clínicas se asocian a la resistencia a la heparina. La sepsis, la enfermedad hepática y ciertos fármacos son algunos de ellos. Varios investigadores han documentado una disminución de los niveles de antitrombina III (AT III) secundario al tratamiento previo con heparina. Los pacientes que han recibido heparina previamente a la cirugía, requieren mayores dosis de la misma para alcanzar tiempos óptimos en el TCA para iniciar la CEC.

Presumiblemente, esta resistencia a la heparina es el resultado de deficiencias en el nivel o actividad de la AT III [132].

Suplementos adicionales de heparina prolongan el TCA de forma segura para iniciar la CEC. Cantidades superiores a 800 U/kg pueden ser necesarias para obtener un TCA por encima de 400 a 480 segundos. Con la administración de plasma fresco congelado (PFC), que contiene AT, se podría corregir la disminución de AT y por tanto prolongar el TCA, aunque la transfusión de PFC no está exenta de riesgos y hay que evitarse siempre que sea posible. Existen concentrados de AT que tratan específicamente esta deficiencia de AT [133].

Rebote de heparina

Varias horas tras la neutralización de la heparina con la protamina en cirugía cardíaca, algunos pacientes pueden desarrollar un sangrado asociado a prolongación de los tiempos de coagulación. Este fenómeno se atribuye frecuentemente a la reaparición de heparina circulante. Hay teorías sobre este rebote de heparina que incluyen una tardía liberación de la heparina almacenada en tejidos, retorno de la heparina a la circulación desde el espacio extracelular vía conductos linfáticos o aclaramiento más rápido de la protamina en relación con la heparina. Esta última es la explicación más ampliamente aceptada, ya que su eliminación rápida puede dejar heparina circulante sin unirse a la protamina. Se ha visto que la heparina almacenada en las células endoteliales puede ser liberada lentamente cuando se detecta una disminución de la concentración plasmática de la misma con la neutralización de la protamina. Se pueden detectar bajos niveles de heparina desde la primera hora tras la reversión con la protamina hasta las primeras 6 horas en el postoperatorio inmediato. Sin embargo, sigue existiendo mucho debate en relación a este aspecto. Aunque está claro que el sangrado clínico no se acompaña siempre de un rebote de la heparina, cuando sucede, una administración suplementaria de protamina ayudaría a neutralizar la heparina remanente. Hemos de tener en cuenta que la protamina es un agente que parcialmente actúa contra la trombina, por lo que por sí misma puede producir sangrado [134].

Para administrar la dosis apropiada de protamina a la finalización de la CEC, sería ideal medir la concentración de heparina presente y administrar la dosis de protamina necesaria para neutralizar la heparina circulante. Como resultado de la eliminación y el metabolismo de la heparina, que varía considerablemente entre los pacientes, la dosis de

protamina requerida para una dosis inicial de heparina disminuye con el transcurso del tiempo. La administración de una dosis fija estándar de protamina o una dosis basada en la dosis total de heparina puede aumentar la incidencia de efectos adversos por la protamina. Una dosis óptima de protamina es lo adecuado, ya que la heparina no neutralizada puede producir sangrado clínico, además un exceso de protamina puede motivar una coagulopatía no esperada. El uso de una dosis individualizada de protamina da pie a una reducción en la dosis de protamina y una disminución en el sangrado postoperatorio [135]. Uno de los dispositivos que miden la heparina es el Hemochron PRT®. Es un dispositivo que mide el TCA en una muestra de sangre heparinizada que contiene una cantidad conocida de protamina. Conociendo el TCA y el volumen sanguíneo estimado del paciente, se puede extrapolar la dosis de protamina necesaria para neutralizar la heparina circulante. Otro dispositivo similar al anterior es el Hepcon® [135].

El Hemochron® clásico que mide el TCA es ideal para monitorizar la anticoagulación con altos niveles de heparina, pero es inespecífico para detectar una completa neutralización de la heparina de forma segura. El TCA tiene un alto valor predictivo para una adecuada anticoagulación (confirmada con el TTPa cuando el TCA es mayor de 225 segundos), pero tiene bajo valor predictivo cuando el TCA es menor de 225 segundos. Los bajos niveles de heparina presentes cuando la heparina es parcialmente neutralizada se miden de forma más fina por otros tests más específicos, como la concentración de heparina, el tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa) y el tiempo de protrombina (TP) [136].

El TP y el TTPa se miden en plasma al que se le ha añadido citrato como anticoagulante. Se requiere de centrifugación de la sangre para obtener el plasma. El TTPa integra la vía intrínseca y el final de la coagulación, siendo más sensible a los bajos niveles de heparina que el TCA. Los factores IX y X son los más sensibles al efecto de la heparina, por lo que el TTPa se puede ver prolongado incluso con niveles muy bajos de heparina. Este test usa una sustancia fosfolipídica que simula la interacción de la membrana plaquetaria, activando el factor XII. El TTPa se prolonga con la deficiencia de los factores VII, IX, XI, XII, el HMWK y la calicreína. La reacción del TTPa es más lenta que el TP, por lo que se añade un activador como el celite o el caolín para acelerar la activación del factor XII. Tras la incubación del plasma citratado con el fosfolípido y el activador, se añade calcio, y se mide el tiempo de la formación del trombo. Los valores normales del TTPa van de 28 a 32 segundos, a veces también expresado en forma de ratio [136].

El TP mide la integridad de la vía extrínseca y común de la coagulación. El TP se prolonga ante la presencia de un déficit de factor VII, tratamiento con warfarina o deficiencia de vitamina K. Grandes dosis de heparina prolongan el TP debido a la inactivación del factor II. El TP normal oscila de los 12 a 14 segundos. Los valores absolutos de TP no están totalmente estandarizados por lo que es difícil compararlos entre distintos centros. El Ratio Internacional Normalizado (INR) se ha adoptado como un estándar en la monitorización de la coagulación. Equivale al ratio del TP del paciente que habría obtenido con la Referencia Internacional de Preparación sin agentes de laboratorio. Cada laboratorio usa agentes con una sensibilidad específica (Índice de Sensibilidad Internacional o ISI) relativa a la Referencia de Preparación Internacional [136].

1.3.4. Modos alternativos de anticoagulación

Son los inhibidores directos de la trombina. Incluyen el argatrobán, el fondaparinux y la bivalirudina. El argatrobán es un derivado de la L-arginina. Es una pequeña molécula que actúa como inhibidor directo de la trombina. Se une al punto activo de la trombina y detiene la acción de la trombina en las proteasas séricas. No hay agente reversor para el argatrobán, aunque se puede utilizar el factor VIIa para aumentar la generación de trombina. No hay un estudio prospectivo y randomizado sobre su uso en cirugía cardíaca, aunque sí casos aislados con asociación a sangrado postoperatorio.

El fondaparinux es un pentasacárido inhibidor del factor Xa. Su actividad anticoagulante se produce por la activación selectiva de la antitrombina III (AT III), que permite potenciar hasta 300 veces el proceso natural de neutralización del factor Xa. La inhibición de este factor detiene la cascada de la coagulación, evitando así la formación de trombina.

La bivalirudina es un péptido bivalente sintético de 20 aminoácidos. Por una parte actúa sobre el punto de unión de la trombina con el fibrinógeno y por otro lado con el punto de activación de la trombina. Es altamente específica para la trombina y tiene la propiedad de unirse tanto a la trombina que forma parte del trombo como la que permanece libre. La heparina sólo se une a la trombina libre en plasma. La bivalirudina presenta un tiempo de vida media menor que el argatrobán, de aproximadamente 20 a 25 minutos. La unión de la bivalirudina con la trombina es reversible. No tiene agente reversor, por tanto, hay que

esperar a que pase su efecto. La bivalirudina se metaboliza en un 20% por el riñón y en un 80% por el efecto proteolítico de la trombina. La dosis en CEC es un bolo de 0,5-0,75 mg/kg seguido de una perfusión a 1,75-2,5 mg/kg/h según el TCA (objetivo, 2,5 veces el valor basal). El circuito de la CEC ha de ser cebado con 50 mg, evitando la posible estasis en el circuito. La perfusión se para de 15 a 30 minutos antes de la salida de CEC [137]. Ver figura 9.

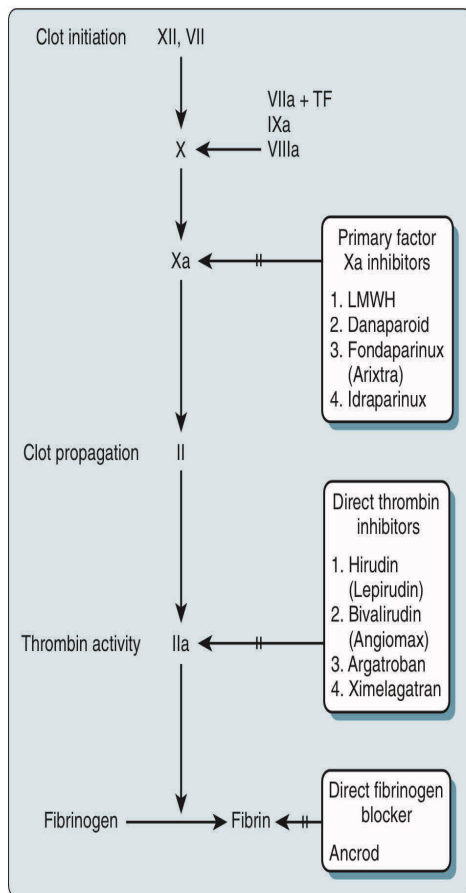


Fig. 9. Alternativas a la heparina. Nuevos anticoagulantes y puntos donde actúan: factor Xa, trombina o fibrinógeno. Tomado de Kaplan's Essentials of Cardiac Anesthesia Second Edition. Elsevier.

1.4. MANEJO DEL PACIENTE SANGRANTE

Los hemoderivados de banco de sangre disponibles para su tratamiento son los concentrados de hematíes (CH) para tratar la anemia, el PFC, crioprecipitados o fibrinógeno sintético (si el hospital dispone de él) o plaquetas. Estos productos sólo se deben usar ante datos objetivos de coagulopatía por tests analíticos, tests viscoelásticos o datos clínicos.

La transfusión de plaquetas y PFC somete al paciente a un mayor riesgo de lesión pulmonar aguda relacionada con la transfusión (TRALI) que el que se produce con los CH. En el TRALI se observa la presencia de anticuerpos del antígeno humano leucocitario (HLA) en el endotelio pulmonar, citoquinas, micropartículas de glóbulos rojos y CD-40L (una proteína plaquetaria proinflamatoria) [138]. Todos ellos contribuyen a un aumento en la capilaridad pulmonar. El uso de plaquetas es de gran utilidad cuando el paciente está sangrando y se ha probado que hay una alteración en la función plaquetaria o una plaquetopenia. La transfusión de plaquetas de forma profiláctica se ha visto que no muestra ninguna utilidad [140]. Las plaquetas se recogen por ultrafiltración en el banco de sangre y se mantienen a temperatura ambiente en un agitador que impide su agregación. Las plaquetas se pueden mantener sólo durante 5 días. Al almacenarse a temperatura ambiente existe un riesgo potencial de crecimiento bacteriano. El riesgo de contaminación bacteriana se da entre un 1/5000 y 1/20000 unidades. Los crioprecipitados ya no se suelen utilizar en nuestro centro, en beneficio del fibrinógeno [139].

El uso del Factor VIIa Recombinante (rFVIIa) está aprobado para el tratamiento del sangrado en pacientes con hemofilia tipo A o B con inhibidores contra los factores VIII y IX. El factor VII actúa localmente en el sitio de la lesión vascular, uniéndose al FT en las células subendoteliales y facilitando la transformación de los factores IX y X en formas activas, produciendo por tanto la generación de trombina y el coágulo. El uso del rFVIIa fuera de guía ha sido utilizado en pacientes con una hemorragia refractaria al tratamiento convencional. Sin embargo, su uso en cirugía cardíaca no está totalmente clarificado. Parece ser que con su empleo hay un mayor riesgo de eventos tromboticos. Algunos autores sugieren con su uso un descenso en el consumo de hemoderivados en los sangrados refractarios, y sin embargo, otros hablan de complicaciones tromboticas [140,141].

Concentrado de fibrinógeno

Los concentrados de fibrinógeno humano se utilizan como terapia sustitutiva en casos de hipofibrinogenemia, disfibrinogenemia y afibrinogenemia. El fibrinógeno es el precursor de la fibrina y cofactor en la agregación plaquetaria, por lo que juega un papel crítico en la hemostasia, especialmente en pacientes sangrantes con una deficiencia de fibrinógeno adquirida. Los niveles normales en plasma varían de 1,5 g/L a 4,5 g/L. El nivel tradicional para iniciar el tratamiento es de 0,8 g/L a 1,0 g/L. Pero se ha visto que con niveles de fibrinógeno entre 1 g/L y 1,5 g/L se altera la formación del coágulo. Las guías recomiendan elevar el nivel crítico entre 1,5 g/L y 2,0 g/L. La corrección del déficit de fibrinógeno se puede realizar con PFC, crioprecipitados o concentrado de fibrinógeno. Los beneficios de los concentrados de fibrinógeno sobre el PFC y los crioprecipitados incluyen la rápida reconstitución del producto, la inactivación viral, la dosis asegurada y el bajo volumen de administración frente a los otros hemoderivados [142,143].

Concentrado de complejo protrombínico (CCPs)

Los CCPs son productos liofilizados, inactivados viralmente que proceden del plasma y que contienen los factores de la coagulación vitamina K dependientes II, VII, IX y X. También contienen las proteínas inhibidoras de la coagulación C y S, heparina y AT. Tras su reconstitución con poco volumen, los CCPs se pueden administrar rápidamente. Se utilizan sobre todo para pacientes que están en tratamiento con antagonistas de la vitamina K y que requieran una cirugía urgente o procedimientos invasivos. La dosis recomendada se basa en el contenido del factor IX, con un rango de 25 UI a 50 UI de factor IX por kilo de peso; dependiendo del ratio internacional normalizado (INR). Para un INR de 2,0-3,9 se utilizarían 25 UI/kg, para un INR de 4,0-5,9 se usarían 50 UI/kg, y un INR > 5,9 unas 50 UI/kg. Se podría utilizar fuera del manejo de la coagulopatía por el uso de antagonistas de la vitamina K, pero todavía hacen falta más datos sobre su seguridad y eficacia [144,145].

Siempre es adecuado disponer de protocolos que ayuden en el tratamiento precoz de posibles sangrados excesivos durante la cirugía cardiaca. Ver tabla 2.

Tabla 2. Plan de tratamiento ante un sangrado excesivo en cirugía cardíaca.

ACCIÓN	CANTIDAD	INDICACIÓN
Más protamina	0,5-1 mg/kg	TCA >150 segundos o TTPa >1,5 veces que control
Calentar al paciente		Temperatura <35°C
Desmopresina	0,3 µg/kg	Tiempo de sangrado prolongado
Ácido tranexámico	10 mg/kg bolo, después perfusión 1 mg/kg/h	Aumento dímero D o fibrinólisis en ROTEM
Plaquetas	15 mL/kg	TP o TTPa >1,5 veces que control
Crioprecipitados	1 U/4 kg	Fibrinógeno <1g/L o 100 mg/dL
Fibrinógeno	2 g	Fibrinógeno <100 mg/dL

1.5. DISFUNCIÓN PLAQUETARIA ASOCIADA A FLUJOS TURBULENTOS EN EL CIRCUITO DE CIRCULACIÓN EXTRACORPÓREA

El tromboembolismo y el sangrado son los eventos adversos más comunes asociados a los circuitos tipo CEC [146]. Un flujo turbulento puede darse de forma ocasional en algunas zonas de los circuitos de la CEC, por ejemplo en la zona de inserción de las cánulas venosas de drenaje. Pueden llegarse a alcanzar puntualmente presiones de 100 Pascales (Pa) e incluso picos de 500 Pa, que supone un nivel de flujo turbulento mucho mayor a situaciones de estrés, por lo que la sangre de este tipo de pacientes está sometida inevitablemente a altas presiones y a flujos no fisiológicos [147]. Este tipo de flujos generados por los circuitos de CEC pueden inducir la activación plaquetaria y de factores de coagulación, junto a depósitos de proteínas en las superficies artificiales del circuito, produciendo con mayor facilidad la posibilidad de formación de trombos. Pese a una adecuada anticoagulación hay un riesgo elevado de trombosis, y por supuesto de sangrado postoperatorio [148]. La influencia de los flujos patológicos en la regulación de la función plaquetaria y en la activación de las vías de hemostasia y trombosis han sido ampliamente estudiadas [149]. La interacción que produce el flujo patológico con la lesión vascular en el sitio quirúrgico motiva la interacción del receptor plaquetario GPI α con el factor de von Willebrand (dominio A1), activando a su vez el ligando GPIIb/IIIa. Esta interacción estabiliza la adhesión plaquetaria, la agregación y la formación de trombos [150]. Se ha visto que incluso, sin la presencia de vWF, con el flujo patológico solo, también se puede inducir la activación plaquetaria. En el caso de pacientes sometidos a circuitos tipo CEC, las plaquetas se ven expuestas tanto a flujos patológicos como a superficies artificiales. La pérdida de los receptores GPI α y GPVI de la superficie plaquetaria puede producir una disminución en la capacidad hemostática de la adhesión plaquetaria y la agregación al vWF y el colágeno, alterando la hemostasia normal y aumentando el riesgo de sangrado. Éste es un fenómeno paradójico, que puede explicar las complicaciones tromboembólicas y de sangrado que se pueden dar en los pacientes sometidos a estos circuitos [151].

La exposición a flujos turbulentos patológicos superiores a 150 Pa, incluso durante un pequeño periodo de tiempo, es suficiente para producir una activación plaquetaria. Obviamente, cuanta mayor sea la exposición temporal a este flujo patológico, mayor será el número de plaquetas activadas, y por tanto más plaquetas adheridas a fibrinógeno. Este

fenómeno es lógico, debido a que las plaquetas con el receptor GPIIb/IIIa activado tienen alta afinidad al fibrinógeno.

Pese al diseño de circuitos biocompatibles, se inicia en ellos el depósito de proteínas y adhesión celular, promoviendo la producción de trombosis, tromboembolismo y trauma sanguíneo por flujos patológicos [152].

Los receptores plaquetarios juegan un papel muy importante en la hemostasia y en la fisiopatología de la trombosis. Las interacciones del receptor plaquetario y su ligando activan una secuencia bidireccional de señales intercelulares, llevando a cabo la activación plaquetaria y su agregación, así como el reclutamiento de las plaquetas circulantes expuestas al tejido subendotelial dañado por la lesión quirúrgica. Las plaquetas activadas se unen al vWF debido a la activación del complejo GPIIb/IIIa. Los flujos turbulentos patológicos juegan un papel muy importante en este proceso. Se ha demostrado que este tipo de flujos induce la activación plaquetaria y su unión con el vWF, iniciando así una vía de agregación irreversible en ausencia de ningún agente agonista exógeno [153,154].

Se ha documentado que el flujo patológico puede disminuir los receptores plaquetarios GPIIb α , GPVI [155,156] y la fragmentación del vWF [157].

La disminución de los receptores plaquetarios produce un mecanismo de “*down-regulation*” en la superficie plaquetaria, disminuyendo su capacidad de ligando, la densidad de receptores en la superficie plaquetaria, afectando a la señal de unión de los receptores, y por última instancia produciendo una disfunción plaquetaria. La pérdida tanto del receptor GPIIb α como del GPVI en la superficie plaquetaria puede reducir la capacidad de adhesión y agregación al vWF y a los sustratos del colágeno, dando pie a un aumento en el riesgo de sangrado [158]. Se ha recogido en varias publicaciones que en pacientes sometidos a este tipo de circuitos pueden desarrollar el síndrome de von Willebrand, caracterizado por la pérdida de los polímeros de alto peso molecular del vWF [159,160]. La pérdida de estos polímeros se ha asociado a sangrado.

Por tanto, está claro que el flujo turbulento puede inducir una situación procoagulante por la activación plaquetaria. Este flujo produce activación plaquetaria, agregación plaquetaria, generación de micropartículas procoagulantes y activación del vWF. Hay una estrecha relación entre el nivel y el tiempo de exposición a estos flujos y su relación con efectos protrombóticos [161].

La integridad del vWF y de las plaquetas es esencial para un normal funcionamiento de la hemostasia. Aunque el flujo patológico puede inducir un aumento de la activación plaquetaria y tendencia a la trombosis, también puede provocar disfunción plaquetaria, dando pie a un aumento del riesgo de sangrado por la disminución de la adhesión plaquetaria [162].

El efecto paradójico que produce, incluye, por un lado el aumento de la expresión de la P-selectina, la activación del GPIIb/IIIa y la generación de proteínas microbicidas de plaquetas (PMPs). Las plaquetas activadas generan adhesión y agregación plaquetarias, situación protrombótica. Por otro lado, se produce un descenso de los tres principales receptores plaquetarios (GPIIb, GPVI y GPIIb/IIIa), que son esenciales para el inicio de la adhesión plaquetaria y la formación del coágulo. A su vez, estos flujos pueden fragmentar el vWF, disminuyendo los niveles de polímeros de alto peso molecular del vWF. La disminución de estos polímeros está asociada al nivel de aumento del flujo turbulento. Por tanto, el descenso tanto de los receptores plaquetarios como de la funcionalidad del vWF, podría reducir la adhesión y agregación plaquetarias y aumentar el riesgo de sangrado [163]. Ver figura 10.

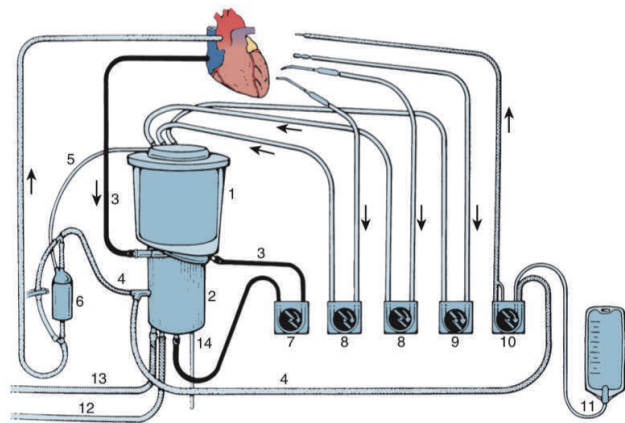
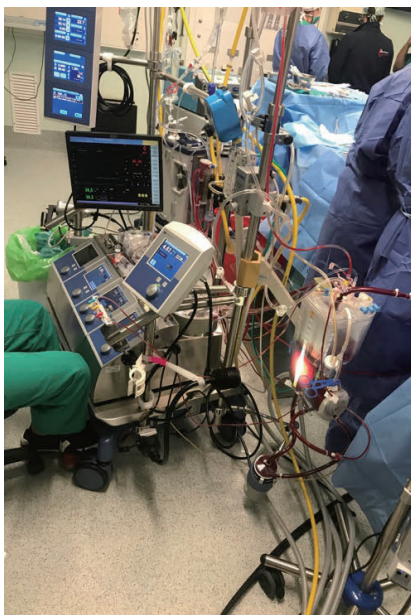


Figura 10. Circuito de circulación extracorpórea. A la izquierda, bomba de CEC STÖCKERT S5 con cabezal centrífugo en nuestro centro. A la derecha, esquema de una CEC. 1. Reservorio de cardiomotía. 2. Oxigenador de membrana. 3. Línea de sangre venosa. 4. Línea de sangre arterial. 5. Línea arterial hacia el filtro. 6. Filtro de la línea arterial. 7. Bomba de sangre arterial. 8. Succión de la cardiomotía. 9. Bomba del ventrículo. 10. Bomba de cardioplejia. 11. Cardioplejia cristalóide. 12. Línea de entrada de agua. 13. Línea de salida de agua. Tomado de Davis RB, Kauffman JN, Cobbs TL, Mick SL. *Cardiopulmonary bypass*. New York: Springer-Verlag;1995:239).

1.6. EFECTO DE LA HEMÓLISIS DURANTE LA CIRUGÍA CARDÍACA

Las complicaciones orgánicas contribuyen significativamente al aumento de la morbilidad y mortalidad tras la cirugía cardiaca, y prolongan la estancia en la UCI y el tiempo de hospitalización total. La identificación de factores de riesgo modificables para evitar el daño de otros sistemas es imperativo para realizar estrategias de tratamiento y prevención específicos. El uso de CEC contribuye significativamente al desarrollo de daño en la mucosa intestinal y daño tubular renal por la inducción de alteraciones en la microcirculación del flujo sanguíneo, lesiones isquemia-reperfusión, hemodilución y respuestas proinflamatorias [164]. Otra consecuencia de la CEC es el desarrollo de hemólisis intravascular caracterizada por el aumento agudo de hemoglobina libre [165]. Esta hemólisis se debe a causas mecánicas debido al paso de la sangre a través de los circuitos de la CEC y por la exposición a las zonas quirúrgicas. Dicha hemoglobina libre capta el óxido nítrico (NO) circulante, produciendo un descenso de NO en la microcirculación, disminución de la perfusión renal, y aumento de la mortalidad. Se ha visto que incluso un aumento puntual en plasma de la concentración de hemoglobina libre es un factor de riesgo independiente para desarrollar necrosis tubular aguda y fallo renal postoperatorio tras CEC [166].

La hemólisis que se puede producir durante la cirugía cardiaca se correlaciona fuertemente con un aumento de consumo plasmático de NO [167]. La hemólisis también se correlaciona con daño en la mucosa intestinal y fallo renal agudo. Los pacientes sometidos a cirugías cardíacas más complejas, como la cirugía de revascularización coronaria combinada con cirugía de recambio valvular, se asocian al mayor riesgo.

El efecto adverso de la hemólisis sobre el metabolismo intravascular del NO se considera un importante mecanismo fisiopatológico en el desarrollo de complicaciones clínicas. La hemoglobina libre (fHb) oxigenada plasmática ($\text{HbFe}^{2+}\text{O}_2$) presenta una alta capacidad de captar el NO procedente del endotelio, por lo que puede producir alteraciones en la musculatura lisa gastrointestinal, vasculopatía, disfunciones endoteliales, daño renal, hipertensión pulmonar y alteraciones procoagulantes en pacientes con enfermedad hemolítica crónica, hemodiálisis y aumento de mortalidad en pacientes sépticos [168]. La disminución de la biodisponibilidad de NO produce vasoconstricción, agregación plaquetaria, “*up-regulation*” de la expresión de moléculas de adhesión y estimulación de adhesión leucocitaria vascular e inflamación [168].

La hemólisis es consecuencia de la CEC, y se incrementa con tiempos de CEC más prolongados [168]. Son tres los factores que contribuyen al desarrollo de hemólisis: el primero es la exposición de la sangre a fuerzas mecánicas, sobre todo a flujos patológicos; el segundo, el contacto de la sangre con aire o superficies no endoteliales y el tercero, el uso de altas presiones de succión. Todas estas circunstancias producen daño en los glóbulos rojos, destrucción prematura intravascular de los eritrocitos y alteración de las propiedades reológicas de la sangre, motivando un aumento de la fHb durante la cirugía [169]. Además, el uso de dispositivos de autotransfusión y la transfusión de concentrados de hematíes puede contribuir a un aumento de fHb durante la cirugía cardíaca, produciendo a su vez, daño en los eritrocitos y aumento del riesgo de lisis intravascular prematura. En esta línea, se ha visto que existen niveles más altos de fHb en cirugías cardíacas más complejas como la cirugía de revascularización coronaria y cirugía valvular, que suponen mayor exposición a tiempos largos de CEC, y a su vez, mayor proporción de transfusión de concentrados de hematíes [170].

La hemoglobina es liberada al plasma desde los glóbulos rojos por distintos motivos: causas hereditarias, adquiridas y situaciones hemolíticas iatrogénicas. Cuando la capacidad de los mecanismos tamponadores protectores fisiológicos son saturados, aumentan los niveles de hemoglobina libre en plasma, dando pie a un consumo de óxido nítrico y consecuencias clínicas asociadas. El NO juega un papel importante en la hemostasia vascular y es fundamental en la regulación del tono vasomotor y relajación de la musculatura lisa, en la adhesión endotelial y en la expresión molecular de la activación y agregación plaquetarias [171].

Cuando se destruyen los glóbulos rojos en los vasos, la hemoglobina pasa al plasma y es rápidamente captada por la proteína sérica haptoglobina. El complejo haptoglobina-hemoglobina presenta un epítipo que es reconocido por el receptor CD163 de la superficie de monocitos y macrófagos, que se unen al complejo con alta afinidad y median la endocitosis del complejo haptoglobina-hemoglobina y su degradación [172].

Si la haptoglobina no se regenera, la formación de grandes concentraciones del complejo haptoglobina-hemoglobina promueve la disminución de la haptoglobina, siendo en casos graves de hemólisis, prácticamente indetectable [173].

Una concentración excesiva de hemoglobina en plasma contribuye a la activación plaquetaria y a la trombosis. Aumenta la agregación plaquetaria y la adhesión a superficies protrombóticas como la pared de los vasos lesionados por la cirugía [174]. Se ha comprobado que la adición de hemoglobina libre a concentraciones de 0,2 a 2,0 g/dl causa una inhibición dosis dependiente de la metaloproteasa ADAMTS13, una enzima fundamental en la inhibición plaquetaria para la formación de trombos [175]. Una de las evidencias descritas más importantes de los efectos de la hemoglobina libre sobre la función plaquetaria es la relativa a su capacidad de captar/quelar el óxido nítrico, haciéndole menos biodisponible para su interacción con las plaquetas. El NO se ha visto que puede inhibir la agregación plaquetaria y la adhesión de las mismas aumentando los niveles de la enzima Guanosín Monofosfato cíclico (GMPc) [176].

La hemoglobina extracelular y el grupo hemo en plasma que se producen por la hemólisis, promueven el estrés oxidativo severo, especialmente en los vasos sanguíneos y en las células. La autooxidación continua de la hemoglobina extracelular produce superóxido, que se transforma en peróxido de hidrógeno (H_2O_2), que produce vasoconstricción [177]. La hemoglobina extracelular capta NO unas 1000 veces más rápidamente que la hemoglobina intracelular, por lo que disminuye la biodisponibilidad del NO. Esto motiva disfunción vascular, activación de células endoteliales y activación plaquetaria, mediada por la expresión en la superficie celular de la P-selectina, que actúa en la interacción entre las plaquetas activadas y los leucocitos, y la integrina activada $\alpha IIb\beta 3$. Los marcadores de hemólisis severa, como el descenso de hemoglobina y haptoglobina o el ascenso de LDH, predicen el riesgo clínico de desarrollar complicaciones vasculares [177].

1.7. NUEVOS FUNDAMENTOS EN LA INTERACCIÓN PLAQUETAS-PARED VASCULAR

Las plaquetas juegan un papel muy importante en el proceso hemostático. Contribuyen a la formación del coágulo hemostático que sirve para prevenir la pérdida sanguínea tras la lesión vascular. En el humano adulto, fluyen continuamente alrededor de 1×10^{12} plaquetas por cada m^2 de superficie vascular con una mínima adhesión y agregación. Tras la lesión de la pared vascular en los puntos del endotelio dañado, suceden complejas interacciones entre células vasculares, componentes de la matriz extracelular, plaquetas y el sistema de coagulación. El concepto tradicional de sellado del vaso dañado asumía que las plaquetas en primer lugar se agregaban para formar un primer “tapón”, tras lo cual un trombo de fibrina se formaba como consecuencia de la activación del sistema de coagulación, siendo el final de la hemostasia primaria y secundaria. En la actualidad, las investigaciones apuntan hacia una interrelación más dinámica e intrincada entre la respuesta plaquetaria, las proteínas de la coagulación y los componentes de la pared vascular donde la contribución de numerosas moléculas son básicas en la formación del trombo [178].

Las plaquetas inactivadas permanecen con una forma discoide y en un estado no adherente debido a la actividad de las células endoteliales, que por un lado producen sustancias que inhiben las plaquetas como la prostaglandina I_2 y el óxido nítrico, y por otro lado metabolizan agonistas plaquetarios como el ADP y la trombina para ser inactivados [179].

Las plaquetas son activadas tras el daño endotelial, de este modo, cambian de forma, aumentan su adhesividad y adquieren una superficie prohemostática. El aumento de esta adhesión plaquetaria se alcanza por diversos mecanismos: aumento y agrupación de receptores, formación de neoepítotos en los receptores debido a cambios conformacionales, aumento de la expresión de receptores por la formación de pseudópodos y su secreción, creando receptores agonistas. Por tanto, los cambios que conllevan la activación plaquetaria podrían compararse con las vías de rápida comunicación intercelular en las sinapsis terminales nerviosas, regulados por la actividad de canales iónicos [180].

El endotelio vascular previene continuamente el proceso de activación plaquetaria a través de múltiples mecanismos: las ectonucleotidasas (que degradan el ATP y el ADP), la trombomodulina (que inactiva la trombina), la liberación de la prostaglandina I_2 (PGI_2 ,

también denominada prostaciclina) y el óxido nítrico [181]. Ver figura 11. El NO y la PGI₂ suprimen la mayoría de los procesos de activación plaquetaria, incluidas la adhesión, la formación de pseudópodos, secreción, agregación y actividad procoagulante. Estas funciones de supresión se alteran en las zonas de daño vascular por motivos quirúrgicos, rotura de una placa de arteriosclerosis o inflamación vascular (liberación de vWF y citoquinas) [181].

Estudios *ex vivo* sobre sangre completa han hallado que el colágeno fibrilar tipo I y III, que están presentes en la íntima vascular y en las placas arterioscleróticas, están entre las sustancias más potentes de activación plaquetaria [182]. Esto explicaría por qué la lesión vascular o la desintegración de una placa de arteriosclerosis causa la formación de un trombo completo y oclusivo de la luz arterial [182].

Modelos de trombosis animal también indican que la activación plaquetaria inducida por el colágeno está principalmente originada por la generación de trombina a partir del factor tisular. El FT está ampliamente expresado en las células musculares del subendotelio y en los macrófagos.

Durante la formación del trombo, las plaquetas que se incorporan al mismo están expuestas de forma diferente al colágeno y la trombina, lo que contribuye a la heterogeneidad de la respuesta plaquetaria. En arterias de conejos y ratones, la formación de trombos *in vivo* muestran un núcleo central muy denso con plaquetas muy imbricadas rodeado por un anillo con plaquetas que presentan menor adherencia y activación limitada [183].

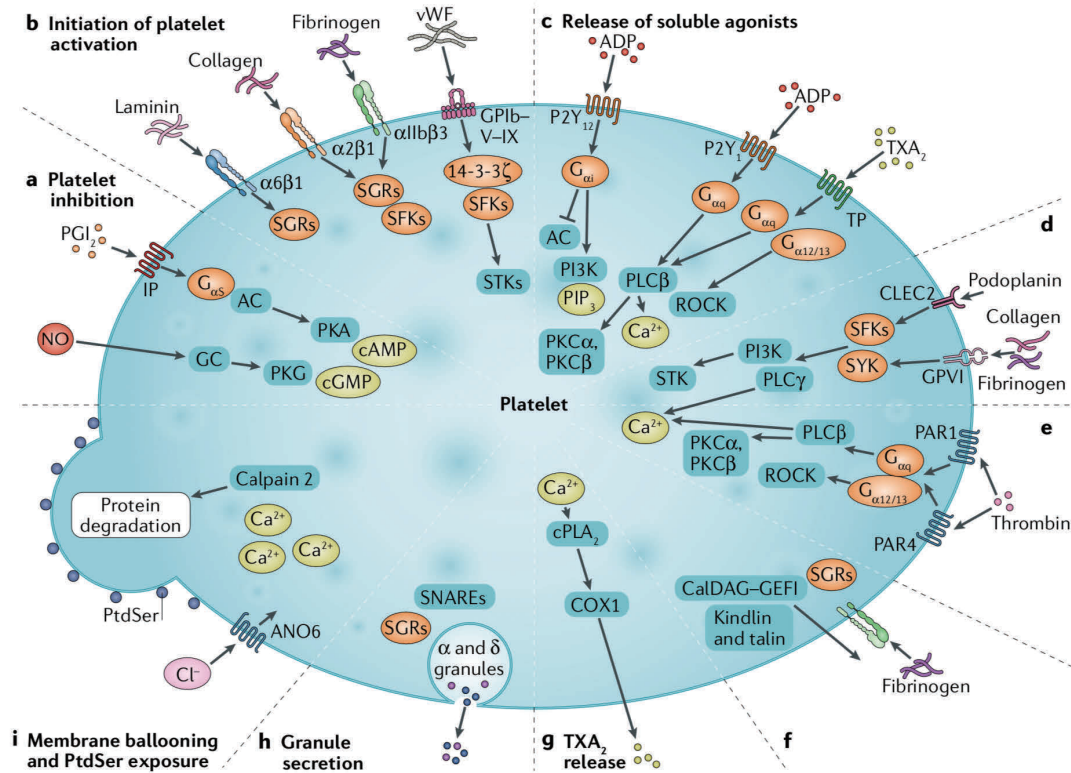


Figura 11. Principales señales y respuestas durante la activación plaquetaria. Los receptores plaquetarios están ordenados en sentido de las agujas del reloj según las distintas fases de activación plaquetaria. a | La inhibición plaquetaria se da vía óxido nítrico (NO) y la prostaglandina I₂ (PGI₂; también denominada prostaciclina) sobre el receptor IP, actuando vía guanilato ciclasa (GC) y adenilil ciclasa (AC), con la consiguiente activación de la proteína quinasa G (PKG) y la proteína quinasa A (PKA), respectivamente. b | La activación plaquetaria es iniciada por la interacción de los receptores de adhesión (el complejo entre integrinas α6β1, α2β1, αIIbβ3, y la glicoproteína (GP) Ib-V-IX) con sus ligandos, como el colágeno y el vWF. En esta fase, las señales a través de estos receptores está limitada y engloba a pequeñas proteínas G reguladoras (SGRs), quinasas de la familia SRC (SFKs), y proteínas quinasas serinas/treoninas (STKs). c | Liberación de agonistas solubles ADP y tromboxano A₂ (TXA₂) que activan a los purinoceptores P2Y₁₂ y P2Y₁ y el receptor TXA₂ (TP). El receptor P2Y₁₂ actúa a través de la proteína G_{αi}, que inhibe la proteína AC pero estimula la fosfoinositida-3-quinasa (PI3Ks). Los receptores P2Y₁ y TP activados por la señal de las proteínas G_{αq} producen la estimulación de la fosfolipasa Cβ (PLCβ), que a su vez induce la liberación del Ca²⁺ en el citoplasma y la activación de la proteína quinasa C (PKC). Los receptores TP también estimulan las proteínas G_{α12/13}, que activan la vía Rho-quinasa (ROCK), implicada en el cambio de forma de la plaqueta y su extensión. d | Amplificación de las plaquetas activadas. El receptor GPVI y el receptor de lectina tipo C 2 (CLEC2) inducen una fuerte señal a través de la vía de las proteínas quinasas tirosina que implican a las proteínas SFK y SYK que producen la activación de PI3K y PLCγ y la liberación de Ca²⁺ en el citoplasma. e | La trombina es un potente agonista plaquetario que activa a los receptores G_{αq} PAR1 y PAR4. f | Los cambios conformacionales de las integrinas, incluida αIIbβ3, varían desde una baja a una alta afinidad para sus ligandos (PLC, PKC, PI3K y CalDAG-GEFI Ca²⁺ y diacilglicerol regulado por el intercambio del nucleótido guanina factor I). Esta vía incluye otras SGRs (RAS3A y RAP1B), y moléculas ligadas al citoesqueleto plaquetario (isoformas kindlin y talin). g | Liberación de TXA₂ mediada por un mecanismo Ca²⁺ dependiente que activa la proteína quinasa fosfolipasa A2 (cPLA2) y la activación de la ciclooxigenasa 1 (COX1). h | Inducción de la secreción de granulos α y δ por agonistas que dependen del Ca²⁺ y PKC y que engloban los receptores SGR y SNAP (complejos SNARE). i | El cambio en la forma de la membrana plaquetaria (*ballooning*) y la exposición a la fosfatidilserina (PtdSer) ocurre en respuesta a la combinación de agonistas Ca²⁺-dependientes mediados por el canal iónico anoctamin 6 (ANO 6). La degradación de proteínas intracelulares está mediada por la enzima Calpain 2 (PIP3, fosfatidilinositol 3,4,5-trifosfato). Tomado de van der Meijden PEJ et al. Platelet biology and functions: new concepts and clinical perspectives. Nat Rev Cardiol. 2019 Mar;16(3):166-179.

Por tanto, las plaquetas en las capas externas del trombo están menos influenciadas por el colágeno y/o la activación de la trombina, mientras que las plaquetas del núcleo central, fuertemente unidas, estarían más activadas.

Las plaquetas agregadas en el trombo, presentan la activación de la integrina $\alpha\text{IIb}\beta_3$ o receptor GPIIb/IIIa y un fenotipo secretor (expresión de la P-selectina), que a su vez, están rodeadas por distintas áreas de plaquetas con exposición de fosfatidilserina y con propiedades de unión a factores de coagulación. Las plaquetas activadas se caracterizan por tener señales Ca^{+2} -dependientes y ser denominadas tipo cubierta, es decir, sirven de puntos de anclaje para la formación de fibrina [184]. Considerando la GPVI y los receptores proteasa activos PAR1 y PAR4 como los principales receptores plaquetarios para el colágeno y la trombina, respectivamente, en humanos, esta conformación implica interacciones muy potentes entre las plaquetas y la activación de las vías de coagulación. Sin embargo, estas interacciones pueden diferir según las condiciones hemostáticas. En la trombosis arterial (procedimiento rápido y con alta resistencia al flujo), trombosis venosa (procedimiento lento y estasis sanguíneo), las plaquetas expuestas a la fosfatidilserina aumentan la generación tanto del factor Xa (complejo tenasa intrínseco) y la trombina (complejo protrombinasa), y a su vez, la trombina generada puede aumentar el número de plaquetas. El receptor GPVI puede también servir como receptor para la fibrina, generando otra unión entre la coagulación y la activación plaquetaria. Además de la vía extrínseca de la coagulación activada por el factor tisular, la vía intrínseca (a través del factor XII y el XI) también puede contribuir a la actividad del trombo, a través de la activación de las fibras de colágeno por el factor XII o a través de los agregados plaquetarios productores de polifosfatos [185]. Ver figura 12.

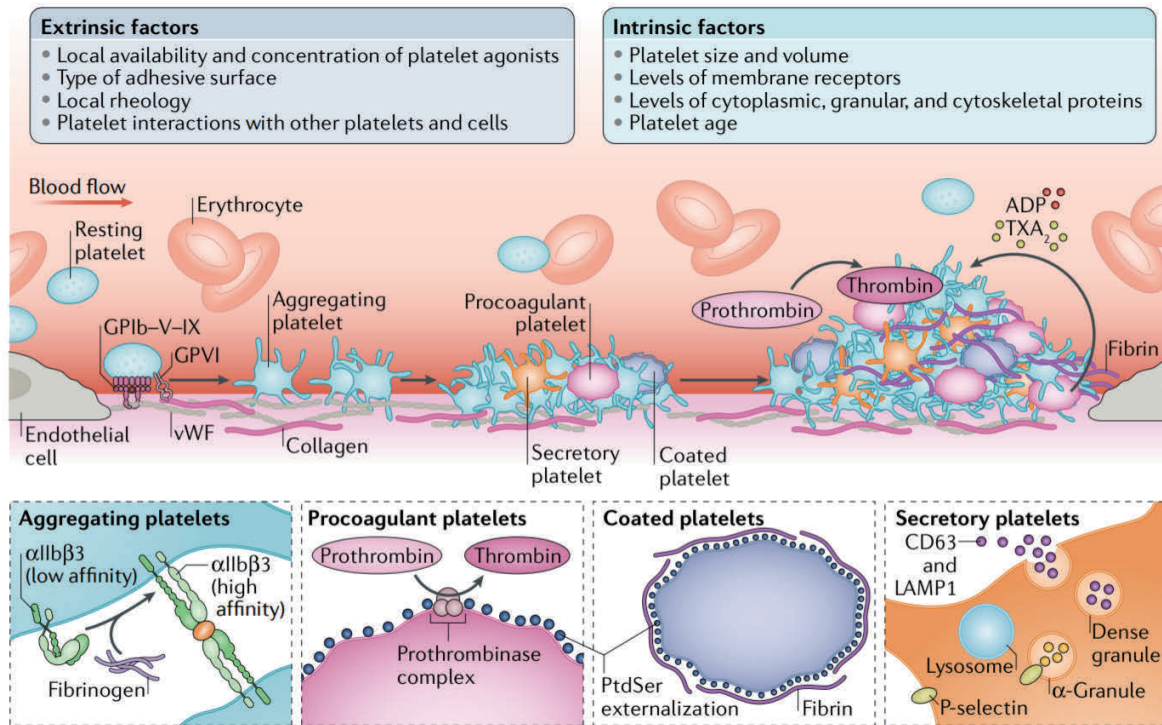


Figura 12. Factores del medio y de las plaquetas influyen en la heterogeneidad de las plaquetas en el trombo. La heterogeneidad en la composición del trombo está motivada por factores extrínsecos como la dinámica del flujo sanguíneo, el medio vascular y la disponibilidad local de agonistas plaquetarios y de factores intrínsecos de las plaquetas. El daño del endotelio expone las proteínas de la matriz subendotelial como son el factor de von Willebrand (vWF) y el colágeno. La formación del trombo es activada por la adhesión plaquetaria al colágeno (a través de los receptores de la glicoproteína VI (GPVI) y el vWF, a través del complejo GPIb-V-IX). Diferentes poblaciones plaquetarias pueden distinguirse por marcadores específicos. En plaquetas con activación de la agregación, la unión del fibrinógeno a la integrina activada α IIb β 3 promueve la agregación; las plaquetas procoagulantes han sido expuestas en su membrana a la fosfatidilserina (PtdSer) y pueden generar trombina a partir de la protrombina; las plaquetas recubiertas están expuestas a PtdSer y una capa de fibrina en la superficie; y las plaquetas secretoras expresan la P-selectina y las glicoproteínas CD63 y LAMP1 en la membrana externa. Las plaquetas activadas liberan mediadores, en particular ADP y tromboxano A₂ (TXA₂), atrayendo plaquetas circulantes al trombo en crecimiento. Tomado de van der Meijden PEJ et al. Platelet biology and functions: new concepts and clinical perspectives. Nat Rev Cardiol. 2019 Mar;16(3):166-179.

Por tanto, tras la activación plaquetaria, la membrana asimétrica de doble capa de fosfolípidos de la plaqueta cambia su morfología, resultando en la externalización de la fosfatidilserina, un fosfolípido aniónico, desde el interior de la membrana que sirve como procoagulante en la superficie plaquetaria. Aunque las plaquetas carecen de núcleo, contienen una variedad de organelas intracelulares que incluyen una banda circunferencial microtubular y tres tipos de gránulos: gránulos α , gránulos densos y lisosomas [186]. Los gránulos α son los más numerosos y contienen fibrinógeno, factores de crecimiento (factor de crecimiento derivado de las plaquetas, factor β transformador de crecimiento), y citoquinas (factor plaquetario 4, tromboglobulina β) [187]. Los gránulos densos contienen adenosina 5'-difosfato (ADP) y serotonina. El sistema denso tubular es un organela básica en las plaquetas

que secuestra calcio, y que está relacionado con el metabolismo del ácido araquidónico y la generación de tromboxano A₂ (TXA₂). El TXA₂ y el ADP son agonistas secundarios liberados desde las plaquetas activadas que tiene un papel central en la generación de un trombo rico en plaquetas.

Tras la lesión vascular, una capa de plaquetas activadas se adhieren a la zona endotelial vascular expuesta, seguida del reclutamiento adicional de plaquetas en el sitio primario de la lesión, formándose un trombo rico en fibrina. Más específicamente, las plaquetas se adhieren al colágeno en el subendotelio mediante su unión a la GPVI y la integrina $\alpha_2\beta_1$ de la membrana de los receptores, y al factor de von Willebrand unido a la GPIb α de la membrana del complejo que actúa como receptor GPIb/IX/V [188]. Las señales intracelulares iniciadas tras la adhesión plaquetaria conllevan a un cambio en la forma de la plaqueta, protrusiones, degranulación (ADP, serotonina) y generación de TXA₂. A través de la unión a receptores de membrana específicos, los agonistas plaquetarios, como el ADP, TXA₂ y la trombina inician vías de activación que convierten la integrina $\alpha\text{IIb}\beta_3$ a un estado de alta afinidad para unirse a los ligandos bivalentes del fibrinógeno y multivalentes del vWF. Estos ligandos funcionan como puentes entre la integrina $\alpha\text{IIb}\beta_3$ de las plaquetas adyacentes activadas produciendo la agregación plaquetaria. Tras la activación, las plaquetas segregan grandes cantidades de P-selectina (CD62P), que se movilizan rápidamente de los gránulos α a la superficie plaquetaria, para inducir la unión entre plaquetas a través del ligando 1 de la glicoproteína P-selectina (PSGL-1) [188]. Las plaquetas de la vecindad son activadas por la secreción de agonistas, que a su vez reclutan plaquetas adicionales al lugar de la lesión [189]. Todo esto conlleva a una consolidación del trombo hemostático. Por tanto, la P-selectina media en la interacción plaqueta-endotelio, ayudando en la formación de la fibrina y al crecimiento del trombo, a través de la unión con su principal receptor, el PSGL-1 [190]. En las plaquetas activadas, la P-selectina pasa a la superficie plaquetaria y parte se libera al plasma en una forma soluble, considerándose un marcador potencial de activación plaquetaria in vivo.

Las plaquetas activadas liberan moléculas proinflamatorias, como citoquinas y quimioquinas, que inician respuestas inmunes y reclutan leucocitos en el lugar de la lesión [191].

Las plaquetas activadas expresan el ligando CD40 (CD40L, también denominado CD154) que interactúa con el CD40 en las células endoteliales e induce la expresión de moléculas de adhesión molecular, y la liberación de interleuquinas y factor tisular [192]. Las plaquetas son la fuente principal del CD40L soluble, que puede inducir en las células vasculares la expresión de E-selectina y P-selectina, con lo que un aumento en su expresión nos indica activación plaquetaria. Vemos como las plaquetas pueden contribuir en la regulación de procesos inflamatorios e inmunes. La liberación de CD40L soluble desde las plaquetas activadas y unidas, junto con la expresión en su membrana del receptor CD40, induce en las células endoteliales la producción de mediadores proinflamatorios [193]. El factor plaquetario 4 y la β -tromboglobulina son quimoquinas plaquetarias específicas, almacenadas en los gránulos α plaquetarios y secretados tras la activación plaquetaria [194]. Además, el PF4 promueve la liberación de gránulos desde los neutrófilos, que tienen actividad relacionada con la inmunidad innata [194]. La trombospondina-1 es una glicoproteína secretada desde los gránulos α plaquetarios que está relacionada con la inducción de la agregación plaquetaria, la estabilización del fibrinógeno en la unión entre plaquetas y el control del tamaño del vWF [195].

Por tanto, la liberación de micropartículas como resultado del cambio conformacional de la membrana plaquetaria es considerada una característica de la respuesta secretora de plaquetas activadas. Estas micropartículas de las plaquetas presentan superficies ricas en fosfatidilserina y son transportadas por el factor tisular, que favorece un estado protrombótico [196]. Las plaquetas y los megacariocitos son la principal fuente de micropartículas en la circulación.

Las moléculas asociadas a la membrana plaquetaria, como la expresión de la P-selectina, el CD40L o su receptor CD40, son potenciales marcadores de activación plaquetaria in vivo [197]. La activación plaquetaria conlleva cambios conformacionales en la integrina α IIb β 3 a un estado de mayor afinidad para la unión con el fibrinógeno o el vWF, y ayuda a la formación de puentes moleculares entre las plaquetas agregadas. La GPVI es un receptor colágeno transmembrana de una familia de inmunoglobulinas exclusivamente expresado en megacariocitos y plaquetas, y se describe como el receptor más importante en la mediación de la agregación y la adhesión plaquetaria en la superficie del vWF [198].

Un aumento del nivel de reticulocitos plaquetarios indica un aumento del recambio plaquetario, y se asocia a una alta reactividad plaquetaria [199]. Los reticulocitos se consideran predictores de una respuesta atenuada a los agentes antiplaquetarios debido a la reactividad residual plaquetaria. Los reticulocitos plaquetarios circulantes tienen un bajo umbral de activación, y tienen una mayor hiperactivación y tendencia a la agregación que las plaquetas maduras [200].

Un aumento en el volumen plaquetario medio, como índice del tamaño plaquetario, refleja un aumento en la reactividad plaquetaria debido a la presencia de receptores más adhesivos, gránulos y mediadores enzimáticamente activos [201]. El volumen plaquetario medio se utiliza habitualmente como un marcador indirecto para estimar la tasa de renovación plaquetaria con la que nuevas plaquetas son liberadas a la circulación. El volumen de reticulocitos plaquetarios está correlacionado con el volumen plaquetario medio, ya que los reticulocitos plaquetarios jóvenes son más grandes y exhiben una mayor reactividad, comparada con las plaquetas más viejas y pequeñas [202].

Otros marcadores derivados de las plaquetas incluyen los metabolitos del TXA_2 , que son hidrolizados a TXB_2 y enzimáticamente metabolizados y excretados por la orina [203]. Los niveles urinarios de 11-dehidro- TXB_2 y 2,3-dinor- TXB_2 , el más abundante de los metabolitos del TXB_2 , son considerados potenciales biomarcadores de la activación plaquetaria [203].

Todos estos cambios conformacionales en las plaquetas nos ayudan a apoyar la idoneidad del modelo celular biológico de la coagulación, así, todos los factores de la coagulación se unen a las “*coated platelets*” (plaquetas recubiertas o revestidas), descritas por Podoplelova (2016) [204], y constituyen una subpoblación dentro de las plaquetas activadas en las que se desarrolla el proceso de la coagulación incluido en este modelo celular de la coagulación, es decir, todas las reacciones en las superficies plaquetarias unidas a factores se dan en esas plaquetas revestidas, no en todas las plaquetas activadas. La trombina generada por la reacción de la coagulación cumple un papel determinante en la creación de esas plaquetas revestidas. Las plaquetas activadas por la acción de las plaquetas o plaquetas revestidas muestran propiedades procoagulantes (exposición de fosfatidilserina), muy necesarias para la aceleración y progreso de la coagulación, de manera que participan en un modelo de reacciones de coagulación membrana-dependiente o coagulación basada en un

modelo celular, donde esta superficie procoagulante de las plaquetas conduce a una mayor generación y amplificación de trombina. A su vez, esa trombina va a activar y a conducir a la producción de plaquetas revestidas procoagulantes, sobre las que se va a producir, finalmente, fibrina, dándose una reciprocidad positiva entre trombina y plaquetas revestidas [204]. Las plaquetas revestidas son una subpoblación de plaquetas activadas, que presentan zonas muy concretas específicas, como evaginaciones ricas en fosfatidilserina, donde se van a producir las reacciones de coagulación [204].

Así, esta descripción de coagulación basada en un modelo celular, pone en relieve la importancia de las microvesículas, ya que éstas se van a formar y liberar a partir de esas evaginaciones plaquetarias, aumentando la superficie de membrana procoagulante para amplificar el proceso de coagulación [205]. Las vesículas extracelulares, entre las que se incluyen las microvesículas, son fundamentales para el proceso de la coagulación [206]. Las microvesículas son consideradas protrombóticas por el hecho de su capacidad para transportar el factor tisular, que activa el inicio de la vía extrínseca de la coagulación y la exposición de fosfatidilserina en la superficie plaquetaria, que provee una adecuada zona fosfolipídica para los factores de la coagulación Va, VIII, IXa y IIa durante el proceso de coagulación [206]. Por tanto, vemos como las plaquetas son células con una alta capacidad secretora y de respuesta, pudiendo alterar el medio mediante la liberación de factores de coagulación y vesículas extracelulares, a través del cambio conformacional de su membrana (“*ballooning*”) y la exposición de fosfatidilserina [207]. Esta revisión de van der Meijden (2019) [207] conecta con el concepto de plaquetas revestidas y de zonas concretas de procoagulación, zonas a partir de las cuales pueden surgir las microvesículas que van a ampliar la superficie procoagulante, y por tanto, la producción de trombina, que va a activar a más plaquetas, y así sucesivamente, creando una dinámica de reciprocidad, entre coagulación y activación plaquetaria.

1.8. MEDIDA DE LA ACTIVIDAD PLAQUETARIA

Desde las décadas de los sesenta y setenta del pasado siglo, gracias los trabajos de Geoffrey Burnstock[†], una auténtica eminencia científica en el campo de la señalización purinérgica (recientemente fallecido a principios de este mismo año 2020 con 91 años, <https://link.springer.com/article/10.1007/s11302-020-09709-y>) (fecha de consulta 15 de julio de 2020), se identificó el papel de las purinas como ATP o ADP como neurotransmisores o mediadores químicos locales. En esa misma línea se descubrió que la adición de ADP a plasma rico en plaquetas (PRP) causaba que las plaquetas se aglutinaran [208]. Al añadir ADP a una muestra de PRP, la turbidez de la muestra se reduce hasta que virtualmente desaparece. Esto es consecuencia de la unión entre plaquetas para formar agregados. En ocasiones, la agregación plaquetaria es irreversible y en otras, reversible. El tipo de respuesta plaquetaria, va a depender en cierta medida, de la ausencia o presencia de patologías basales del paciente. También depende de la concentración del agente agregante utilizado o del tipo de antiagregantes para inhibir la respuesta plaquetaria.

La “limpieza” de ese PRP al ir progresando la agregación plaquetaria se convierte en la base de la medida de la agregación plaquetaria, así pues, la agregometría por transmisión de luz (LTA) o turbidimetría mide la limpieza del PRP a través de la detección de la cantidad de luz transmitida a través de una muestra de PRP. El dispositivo usado para medir los cambios en la transmisión de la luz es el agregómetro. La LTA continúa siendo el “*gold standard*” para la medida de la agregación o activación plaquetaria [209].

El principal estímulo externo relacionado con la formación del coágulo es el colágeno y la trombina. El colágeno es expuesto tras lesión o enfermedad de los vasos. El colágeno interacciona con las plaquetas, facilitando y permitiendo su agregación, a través de sus principales receptores, que son integrinas como la glicoproteína GPVI y la proteína $\alpha 2\beta 1$. La activación de estos receptores, mediante el mecanismo de transducción de la señal intracelular correspondiente conduce a cambios en la superficie plaquetaria, mecanismo conocido como “*inside-out signalling*”, lo que se va a traducir en una mayor capacidad de las plaquetas para agregarse, entre otros, por la activación de los receptores de fibrinógeno (glicoproteína GPIIb/IIIa), al pasar a un estado de alta afinidad por el fibrinógeno, y la liberación de mediadores proagregantes de acción paracrina y autocrina como el ADP o tromboxano A₂. Posteriormente, la unión del fibrinógeno a su receptor (GPIIb/IIIa), dará

lugar a señales intracelulares, conocidas como “*outside-in signalling*” que potenciará la agregación de las plaquetas y la consolidación del trombo que se forme. La trombina aparece como consecuencia de la exposición del FT y de la adherencia plaquetaria a los leucocitos, que producen complejos plaqueta-leucocito. La interacción con el colágeno o la trombina promueve la síntesis de TXA₂ desde el ácido araquidónico liberado de los fosfolípidos de las plaquetas activadas, que también secretan el contenido de los gránulos, en los que se incluye el ADP. El TXA₂ y el ADP contribuyen de forma importante a la agregación plaquetaria [210].

Los problemas con la medida de la agregación plaquetaria al usar el LTA se dan en tres puntos. Primero, las mediciones se hacen con PRP, que se considera menos fisiológico que la sangre completa. Segundo, el número de plaquetas en el PRP varía de paciente a paciente. Tercero, el análisis requiere de un acceso rápido al laboratorio con equipo y personal experimentados.

Los nuevos abordajes en el análisis de la agregación plaquetaria se realizan en sangre entera. Incluyen el Multiplate Electrode Aggregometry® (MEA: agregometría mediante electrodos múltiples, basada en la impedancia), VerifyNow® (un abordaje turbidimétrico con adición de fibrinógeno en sangre entera) y otros basados en el número de plaquetas.

La agregación es sólo una de las respuestas plaquetarias a un estímulo externo. Las plaquetas son células complejas presentes en la sangre en alto número, que cuando son activadas, sintetizan moléculas como el TXA₂ y secretan el contenido de los gránulos intracelulares, incluido el ADP. La P-selectina, que forma parte de los gránulos intracelulares, denominados gránulos α , aparecen en la superficie plaquetaria, lo que conlleva la activación y la formación de conjugados plaqueta-leucocito que promueve la generación de trombina, y por tanto, la formación de fibrina. Así, los estímulos externos generan cambios bioquímicos en las plaquetas que pueden ser cuantificados, como por ejemplo la fosforilación de fosfoproteína estimulada por vasodilatadores (VASP). Todos estos nuevos abordajes presentan la ventaja de que se pueden realizar de forma no inmediata y no necesitan de tanta especialización para realizarlos.

1.8.1. Métodos basados en la medida de la agregación plaquetaria

- **Agregometría por transmisión de luz (LTA)**

Aunque la LTA ya no es considerada una técnica novedosa, sí que ha sido la base de los métodos que se han desarrollado posteriormente y todavía se sigue considerando el “*gold standard*” de la medida de la activación plaquetaria. Un agente agregante es añadido a una muestra de PRP en un agregómetro. La agregación se cuantifica por un aumento en la transmisión de la luz. Los agentes agregantes que se suelen utilizar incluyen el ADP, epinefrina, colágeno, ácido araquidónico y trombina. También se puede utilizar en ocasiones el antibiótico ristocetina.

- **Agregometría mediante electrodos múltiples**

La agregometría por impedancia fue introducida por Cardinal y Flower (1980) [211]. Se basa en la medida de la resistencia eléctrica entre dos electrodos inmersos en una muestra de sangre completa. Cuando las plaquetas se agregan y se unen a los electrodos, se produce un cambio en la impedancia eléctrica que se corresponde con el grado de agregación que ocurre. Una clara ventaja de usar sangre entera frente a PRP es que no se precisa el paso de la centrifugación de la muestra, simplificando la técnica y abriendo la posibilidad de un abordaje rápido de la medida de la actividad plaquetaria.

La versión más reciente de agregometría por impedancia que se ha usado es el MEA (Multiplate Analyzer[®], Roche, Munich, Germany), que utiliza dos sets con dos pares de electrodos, con lo que se realiza una doble determinación de cada muestra para asegurar que la medida es correcta. La ventaja del MEA comparada con el LTA es que las mediciones se realizan en sangre completa y no en PRP. La principal desventaja, que comparte con el LTA, es que necesita que el estudio se realice de forma precoz en el laboratorio y por personal especializado [212].

- **VerifyNow[®]**

VerifyNow[®] (Accumetrics, Inc, CA, USA) es un test que se utiliza específicamente para medir la inhibición de la agregación plaquetaria por aspirina, antagonistas del P2Y₁₂ como el clopidogrel, y también los antagonistas del GPIIb/IIIa. Como en el LTA y el

MEA, se usa el ADP para activar a las plaquetas y monitorizar la terapia con clopidogrel, mientras que el AA se usa para el tratamiento con aspirina. Por otro lado, la activación del receptor de la trombina es usada para medir los efectos de los antagonistas del GPIIb/IIIa. Los tests se realizan de forma automática y no necesitan de laboratorios especializados [212].

- **Recuento de plaquetas**

Cuando las plaquetas se agregan, el número de plaquetas individuales en la circulación disminuye, por lo que este número de plaquetas puede ser utilizado para valorar el grado de agregación plaquetaria. Este recuento plaquetario se puede realizar con un dispositivo que utiliza tecnología basada en la impedancia sobre sangre entera o con citometría de flujo [213].

Plateletworks® (Helena Laboratories, TX, USA) mide la agregación plaquetaria en una muestra de sangre en la que las plaquetas son estimuladas con ADP o colágeno. El contaje se compara con el basal antes de adicionar los agentes agregantes. Precisa de un recuento plaquetario inmediato, ya que la muestra no se fija. La ventaja sobre otras técnicas es que no necesita preparación de la muestra, se realiza sobre sangre entera, siendo un proceso rápido y simple.

Si añadimos un fijador a la muestra en el momento preciso de la medida de la agregación plaquetaria, podríamos obtener un tiempo para analizar detenidamente la muestra. El fijador AGGFix (Platelet Solutions Ltd, Nottingham, UK) ofrece esta opción [214]. El AGGFix se ha usado exitosamente para medir la agregación plaquetaria mediante recuento plaquetario y analizar el grado de formación de los complejos plaqueta-leucocito con citometría de flujo [215].

1.8.2. Métodos basados en la medida de marcadores de activación plaquetaria

La agregación plaquetaria no es la única respuesta ante un estímulo externo. La síntesis de TXA₂, la liberación de ADP y la aparición en la superficie plaquetaria de marcadores de activación como la P-selectina también nos proveen de métodos para medir esa activación. La medición del TXB₂, producto del metabolismo del TXA₂, permite medir la actividad de la ciclooxigenasa en plaquetas y especialmente, el efecto de la aspirina en ellas.

La aparición en la superficie plaquetaria de marcadores de activación puede demostrarse y cuantificarse usando la citometría de flujo [216], que incluye a la P-selectina que pasa a la superficie plaquetaria desde los gránulos α . Las plaquetas pueden ser activadas en sangre entera con un agente agregante. La cantidad de P-selectina en la plaqueta activada es medida mediante citometría de flujo. El uso de un fijador a la muestra sanguínea permite extender el tiempo de experimentación y el análisis de la P-selectina unos días. Un fijador muy útil para este cometido es el PAMFix (Platelet Solutions Ltd, Nottingham, UK) [217].

La activación plaquetaria promueve la formación de conjugados plaquetas-leucocitos en sangre entera, debido en gran manera, a la interacción de la P-selectina de la superficie plaquetaria con la proteína PSGL-1 de los leucocitos. Estos conjugados pueden ser medidos con la citometría de flujo. La adición de fijadores a la muestra, como el AGGFix, permite realizar el estudio de forma diferida. Se ha demostrado un aumento de los conjugados plaqueta-leucocito en el infarto de miocardio y en el ictus cerebral [218,219].

1.8.3. Métodos basados en la medida del metabolismo celular

El VASP es un metabolito específico que nos permite estudiar la activación plaquetaria. El nivel del VASP fosforilado (VASP-P) refleja el nivel de nucleótidos cíclicos en las plaquetas, en particular, se ha usado para determinar el efecto de agentes que pueden aumentar o disminuir los niveles de AMP cíclico (AMPc) en las plaquetas. El AMPc es un importante modulador intracelular de la actividad plaquetaria, en la que bajos niveles aumentan las respuesta plaquetaria y altos son inhibitorios. Un uso importante de la medida de la fosforilación del VASP ha sido su implementación para determinar la efectividad del clopidogrel como antagonista de los receptores plaquetarios P2Y₁₂.

Otro abordaje en la medida del VASP-P se ha desarrollado con el VASPFix (Platelet Solutions Ltd, Nottingham, UK), que permite realizar la medida en un solo paso [220]. El

VASPFix incluye un agente lítico, que se une al VASP desde las plaquetas lisadas y un anticuerpo fluorescente para determinar el nivel de VASP-P de la muestra. El VASPFix da mucha estabilidad a la muestra y permite ser analizada inmediatamente o a posteriori, tras ser congelada.

1.8.4. Otros métodos para la medición de la actividad plaquetaria

El analizador de la función plaquetaria o PFA-100®, se basa en el paso de una muestra de sangre entera sometido a alto estrés a través de un capilar recubierto de una membrana de colágeno, que contiene ADP o epinefrina. El tiempo que tarda en ocluir ese capilar se define como tiempo de obturación. Un tiempo de obturación alto se da en pacientes con enfermedad de von Willebrand, reflejando la importancia de la adhesión plaquetaria al colágeno. La técnica que utiliza epinefrina está afectada por la aspirina, pero la que utiliza ADP es relativamente insensible a los antagonistas del P2Y₁₂ [221]. El PFA es seguro para determinar la inhibición plaquetaria causada por la aspirina, pero no lo es tanto con la antiagregación causada por el clopidogrel [222].

1.9. TENDENCIAS FUTURAS

Muchos puntos relacionados con el campo de la hemostasia en cirugía cardíaca quedan todavía por resolver, y los profesionales se han de preparar para nuevos retos y tendencias en el presente y futuro.

Pese a que la evidencia insiste en la necesidad de aplicar protocolos para el control del sangrado basados en tests de coagulación, muchos centros no utilizan habitualmente estos tests e incluso no tienen un protocolo claro de actuación. Los tests viscoelásticos que permiten un diagnóstico precoz se están extendiendo cada vez más, pero el análisis de la función plaquetaria en pacientes con tratamientos antiagregantes está todavía limitado a no muchos centros hospitalarios. Se necesita un mayor conocimiento para la realización de guías y protocolos para conseguir estrategias más globales de control de la coagulopatía postquirúrgica.

Inicialmente, las medidas de la actividad plaquetaria se basaban únicamente en plaquetas separadas de otras células sanguíneas capaces de agregarse entre ellas, consiguiendo su activación con un agente agregante adecuado. Más tarde, las medidas de la agregación plaquetaria en sangre completa pudieron llevarse a cabo, y así, realizar estudios in vivo más fisiológicos. La medida de la actividad secretora a través de la aparición del marcador P-selectina en las plaquetas, permite actualmente un abordaje alternativo para la valoración de la función plaquetaria. La medición de la fosforilación plaquetaria a través del VASP (fosfoproteína estimulada por un vasodilatador) permite también otra alternativa en el análisis plaquetario.

Un parámetro muy interesante es el estudio de los conjugados de plaquetas y glóbulos blancos. Un análisis que nos podría mostrar el proceso de inflamación relacionado con la CEC, y por tanto con el inicio de la coagulación y la trombosis. La medición de estos conjugados también permitiría cuantificar la expresión del Factor Tisular (FT) en los glóbulos blancos, ya que ésta se hace manifiesta cuando los glóbulos blancos forman conjugados o agregados con las plaquetas y se produce una estimulación y activación mutua.

Por otra parte, la medición de las microvesículas plaquetarias puede ser de relevancia por su importante papel en la regulación de la coagulación, y por tanto, el poder medirlas y valorarlas podría ser muy valioso para el seguimiento del paciente.

De igual modo, todos los avances en los “*Platelet Testing*” también van a ser fundamentales, es decir, técnicas que permitan medir la función plaquetaria de una forma rápida y directa, sin apenas manipulaciones de la muestra y que el clínico pueda interpretar rápidamente. En este sentido, hay un campo muy novedoso y floreciente, cuyo claro ejemplo es la “*spin-off*” de la Universidad de Nottingham “*Platelet Services*”: <https://www.plateletservices.com/>, cuyas soluciones fijadoras para medir agregación plaquetaria y expresión de P-selectina, mediante citometría de flujo, hemos utilizado en esta tesis doctoral.

Otro elemento importante para futuros estudios es la conexión entre los valores de la analítica sanguínea y la función plaquetaria. En concreto, la relación entre el volumen plaquetario medio (VPM), los reticulocitos plaquetarios % y la función plaquetaria. Se ha descrito que un aumento del VPM refleja un incremento de la actividad plaquetaria debido a su mayor adhesión, a causa de la presencia de receptores, gránulos y mediadores enzimáticos [223]. Algo parecido sucede con los reticulocitos plaquetarios circulantes, los cuales tienen un umbral para la activación más bajo, son más hiperactivos y con una mayor tendencia a la agregación que las plaquetas maduras [223]. Se ha demostrado la conexión entre el aumento del VPM y la producción de nuevas plaquetas, incluso inmaduras, y el tamaño de las plaquetas reticuladas, todo ello relacionado con una mayor reactividad y actividad agregante [223]. Por tanto, el interés de valorar el volumen de las plaquetas y su número es cada vez más importante hasta el punto de que se ha acuñado el término “*Plateletcrit*” para recoger la importancia de estos dos parámetros.

La comunidad científica está cada vez más interesada en la mejora del diseño de circuitos de la CEC y en el empleo de técnicas para minimizar la hemólisis durante los procedimientos de cirugía cardíaca que precisan de asistencia de CEC [224]. Sería muy interesante incidir en el análisis de los signos de la hemólisis durante estos procedimientos. Para ello, en un estudio de futuro sería interesante relacionar el óxido nítrico con la hemólisis. La razón de ser de este experimento, se basa en que el endotelio ejerce un control fundamental sobre la función plaquetaria, gracias a la liberación de gran cantidad de mediadores químicos locales que tienen efectos antiagregantes, como la prostaciclina, adenosina y los gases óxido nítrico (NO), monóxido de carbono (CO) y sulfuro de hidrógeno (SH₂) [225]. Estos tres gases, llamados gasotransmisores, tienen efectos biológicos muy importantes, entre ellos, los de regular la función plaquetaria, por sus efectos antiagregantes. Además, estos gases tienen la particularidad de que pueden ser quelados, secuestrados, es

decir, pueden reaccionar con el grupo hemoglobina, de manera que en el caso de una hemólisis, en la que hubiera mucha hemoglobina libre fuera de los glóbulos rojos, ésta podría acoplarse y reaccionar con NO, CO y SH₂ [226], de manera que estos gases disminuirían su concentración plasmática y de ese modo ejercerían un menor efecto antiagregante sobre las plaquetas, lo que podría llevar a que se agregaran más, y por tanto, con el aumento de los agregados plaquetarios, contribuir a un mayor riesgo protrombótico del paciente. Con esta idea, el realizar experimentos de agregación plaquetaria en presencia de una sustancia donante de NO, el NONOate, que dona, cede y libera NO cuando está en disolución, nos permite valorar si la capacidad de inhibir la agregación plaquetaria por parte del NO permanece intacta o si por el contrario, el NO es incapaz de inhibir la agregación plaquetaria al ser secuestrado por la hemoglobina libre, fruto de la hemólisis. Por tanto, cuanto mayor sea la hemólisis durante la CEC, habrá más hemoglobina libre, por lo que se secuestraría el NO y éste perdería su capacidad para inhibir la agregación plaquetaria [227].

Los nuevos anticoagulantes han entrado recientemente en este escenario clínico. Sus antídotos específicos están bajo estudio. A su vez, nuevos y potentes antiagregantes plaquetarios están siendo desarrollados, de ahí la importancia de tests de función plaquetaria.

En este escenario cambiante, los anestesiólogos, cirujanos cardiacos, hematólogos y personal dedicado a la coagulación deben adquirir un conocimiento específico, experiencia y disponer de las herramientas necesarias para un abordaje adecuado del problema.

2. OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo principal

Analizar cómo se altera la hemostasia en pacientes programados para cirugía de recambio valvular aórtico con circulación extracorpórea.

2.2. Objetivo secundario

2.2.1. Estudiar los efectos de la circulación extracorpórea y la cirugía cardíaca de recambio valvular aórtico sobre parámetros básicos de coagulación y tiempo de coagulación activado (estudios básicos de coagulación y del tiempo de coagulación activado).

2.2.2. Evaluar los efectos de la circulación extracorpórea y la cirugía cardíaca de recambio valvular aórtico sobre parámetros básicos del hemograma y bioquímica (estudio de hematología y bioquímica).

2.2.3. Investigar la formación, fortaleza y lisis del coágulo sanguíneo durante la cirugía de recambio valvular aórtico con circulación extracorpórea (estudio con tromboelastometría).

2.2.4. Valorar el estado de la agregación y de la activación plaquetaria durante la cirugía de recambio valvular aórtico con circulación extracorpórea (estudio con PFA-100®).

2.2.5. Analizar el estado de la agregación y de la activación plaquetaria durante la cirugía cardíaca de recambio valvular aórtico con circulación extracorpórea (estudio de agregación con Multiplate® y Citometría de flujo y la activación con Citometría de flujo).

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. DISEÑO DEL ESTUDIO

En nuestro proyecto hemos aplicado un estudio prospectivo, longitudinal y de cohortes observacional que fue desarrollado desde noviembre de 2016 a diciembre de 2018. Previo al inicio, fue presentado al Comité de Ética de Investigación Clínica del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca (HCUVA) y aprobado por el mismo con fecha de 25 de julio de 2016 (Anexo I). Desde el principio se han cumplido las normas de Buenas Prácticas Clínicas en Investigación. El proyecto ha seguido las guías éticas de la Declaración de Helsinki de 1975, revisada en 1983.

Previo a la recogida de cada caso, se estableció una entrevista en la que se explicaba al paciente verbalmente la esencia de nuestro estudio y se resolvían cualquier tipo de dudas. Se incidía que con este proyecto no se producían alteraciones de la práctica clínica habitual de nuestro centro y ninguna merma en su atención sanitaria. Asimismo, se explicaba que los resultados obtenidos de las muestras sanguíneas ayudarían a conocer mejor cómo se altera la coagulación en pacientes sometidos a CEC y ayudar así a su optimización clínica.

Los pacientes que comprendieron toda la información y aceptaron entrar en el estudio, firmaron un consentimiento informado, que da fe que forman parte del estudio de forma voluntaria (Anexo IV). Del mismo modo se garantizó el cumplimiento de la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal, para proteger el derecho a la intimidad de los pacientes; el Real Decreto 1720/2007, de 21 de diciembre, por el que se aprueba el Reglamento de desarrollo de la misma, así como la Ley 41/2002, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información, documentación clínica y documentos contenidos en el archivo.

Aplicamos la Ley de Investigación Biomédica de 3 de Julio de 2007, “La donación y la utilización de muestras biológicas humanas será gratuita, cualquiera que sea su origen específico, sin que en ningún caso las compensaciones que se prevén en la ley tengan un carácter lucrativo o comercial. La donación implica, así mismo, la renuncia por parte de los donantes a cualquier derecho de naturaleza económica o de otro tipo sobre los resultados que pudieran derivarse de manera directa o indirecta de las investigaciones que se lleven a cabo con dichas muestras biológicas”. Por tanto, todos los datos obtenidos de esta investigación médica de las muestras sanguíneas y de la historia clínica fue totalmente confidencial, y se

usaron únicamente para el estudio, siendo manejados sólo por los investigadores.

Los donantes que forman parte de la cohorte sometida a estudio son aquellos sometidos a recambio valvular aórtico con cirugía cardíaca que requieren de CEC, de los que se obtienen muestras de sangre periférica con el fin de estudiar la hemostasia y función plaquetaria.

Deben cumplir los siguientes criterios:

Características clínicas de los pacientes:

- Mayores de 18 años.
- Cirugía cardíaca no emergente de recambio valvular aórtico.
- Pacientes que no estén siendo tratados con antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) o antiagregantes plaquetarios en los 15 días anteriores a la extracción.

Se excluyen pacientes que se nieguen a formar parte del estudio, pacientes sometidos a cirugías complejas, como doble cirugía valvular o cirugía valvular y coronaria, cardiopatías congénitas,... y pacientes con alteraciones hematológicas de base, como hemofilia, trombocitopenia,...

Todos los pacientes recogidos en este estudio siguieron el protocolo habitual perioperatorio de cirugía cardíaca de nuestro centro. Cabe destacar que los perfusionistas realizan cebado autólogo retrógrado hemático previo a la entrada en CEC con el objetivo de disminuir la hemodilución, tras la heparinización del paciente. De este modo se consigue un cebado de cristalóide y coloide del circuito biocompatible en torno a 500 ml. Se utiliza una máquina de circulación extracorpórea Stöckert S5 con bomba centrífuga. Se realiza mantenimiento de la normotermia durante todo el procedimiento. Durante la cirugía, el equipo de anestesiología aplica un control estricto de la fluidoterapia guiado por objetivos y por la clínica del paciente. Como se explicó anteriormente, se utiliza ácido tranexámico para prevenir la hiperfibrinólisis y el diagnóstico y tratamiento de las alteraciones de la hemostasia según los estudios analizados en esta tesis.

El muestreo fue consecutivo y no probabilístico. Se han recogido un total de 33 pacientes válidos que cumplían los criterios de inclusión en el estudio y ningún criterio de exclusión.

3.2. PROTOCOLO EXPERIMENTAL

Obtención de las muestras sanguíneas:

Tras la firma del consentimiento informado (Anexo IV) se procede a la obtención de muestras de sangre periférica según la metodología recomendada para el estudio de las plaquetas y de la coagulación, llevando especial cuidado en evitar la activación plaquetaria. Se obtendrán las muestras siguiendo el protocolo habitual de la praxis clínica en quirófano en nuestro centro.

Muestras experimentales:

- M1: Antes de la inducción anestésica, un tubo de hemograma, coagulación, bioquímica, hirudina y TCA. Se toma tras la canalización de la arteria radial, en el quirófano. Una muestra basal antes de realizar la inducción del paciente.
- M2: Durante el procedimiento en CEC (36° C-36,7° C), un tubo de hemograma, coagulación, bioquímica e hirudina (5 minutos antes de despinzar la aorta).
- M3: A los 10 minutos de la reversión de la anticoagulación de la heparina con protamina, un tubo de hemograma, coagulación, bioquímica, hirudina y TCA.

En cada muestra la sangre se divide en distintos tubos:

- Tubo de hemograma: 3 mL de sangre en tubo con EDTA para la medida del número de plaquetas y el nivel de hemoglobina, con el dispositivo SYSMEX XN-20®.
- Tubo de hirudina: 3 mL de sangre en un tubo con hirudina para realizar el estudio sobre las plaquetas por impedancia con el sistema Multiplate Analyzer Roche®. Se necesitan 20 microL de distintos agonistas (TRAP, RISTO, EPI, COL, ADP) en 300 microL de sangre del paciente.
- Tubo de coagulación: 3 mL de sangre con citrato al 10% (3,2%), para el estudio de función de las plaquetas con agregometría. También para el estudio plaquetario con el sistema PFA-100® System Siemens, en el que se analiza el tiempo de obturación al añadir 800 µL de sangre en las dos cubetas en las que está el kit del agonista (COL/

ADP y COL/EPI). Para el estudio de agregación (20 μ L de agonista (TRAP 10 μ M, concentración final) + 480 μ L sangre) y activación plaquetaria (expresión de P-selectina) y calcio citosólico mediante citometría de flujo con el sistema FACSCanto™ (BD Biosciences) y el uso de anticuerpos monoclonales (BD Biosciences). Los datos de la citometría fueron procesados utilizando el programa Kaluza® (Beckman Coulter).

- Tubo de coagulación: 2 mL de sangre con citrato al 10% (3,2%) para el estudio de test viscoelástico cualitativo de la hemostasia global del paciente mediante tromboelastometría con el sistema ROTEM Delta® (ROTEM, Tem International GmbH, Munich, Germany).
- Tubo de bioquímica, con gel separador SST II Advanced con sistema BD Vacutainer®: 3 ml para el estudio de los niveles de LDH, bilirrubina total, lactato y haptoglobina.
- Muestra de 0,5 ml de sangre para TCA en jeringa convencional.

El volumen de sangre de cada muestra es de 14 ml. Todas las muestras son extraídas por personal experto y teniendo especial cuidado en su extracción y manipulación para evitar la activación plaquetaria. Para el estudio con PFA-100®, Multiplate® y Citometría de flujo mantenemos la sangre en reposo durante 15 minutos para que sea más estable. Hay que tener en cuenta que los estudios sobre función plaquetaria no han de exceder en más de tres horas desde la extracción de la muestra, por lo que se realizan lo antes posible.



Figura 13. A la izquierda, tubos utilizados para el estudio: coagulación, hemograma, bioquímica y de hirudina. A la derecha, extracción de sangre arterial del paciente.

Los restos sanguíneos se recogen en contenedores especiales y son convenientemente dispuestos para su destrucción por el Servicio de Residuos del HCUVA. Todo el material de laboratorio en contacto con la muestra humana será tratado de la misma forma. Ver figura 13.

3.3. PARÁMETROS ANALIZADOS

3.3.1. Estudio básico de coagulación

En los métodos coagulométricos, el punto final utilizado para la determinación del tiempo de coagulación es la conversión del fibrinógeno en fibrina. El coágulo visible microscópicamente está compuesto de hilos de fibrina. Utilizamos el dispositivo ACL TOP 750CTS® de IL distribuido por Werfen. Ver figura 14.

La detección automática a punto final es la utilizada habitualmente en los analizadores. Los dispositivos de este tipo, se basan en la detección óptica a punto final, en la que la aparición de la coagulación se determina tomando como base un aumento marcado de la dispersión de la luz o de la turbidez. La evaluación puede realizarse tanto por fotometría como por nefelometría.



Figura 14. ACL TOP 750CTS® de IL distribuido por Werfen.

Se han medido los siguientes parámetros:

Tiempo de protrombina:

Mide el tiempo de coagulación de la vía extrínseca. El sistema de coagulación extrínseco es activado por la adición de calcitromboplastina al plasma citratado, hasta la formación de un coágulo de fibrina, valorándose la actividad de los siguientes factores: factor II, factor V, factor VII y factor X.

Se mide el tiempo que transcurre a partir de añadir el reactivo hasta la formación del coágulo. El resultado puede expresarse en segundos o en tanto por ciento respecto a un plasma calibrador.

El reactivo de TP incluido en el kit *RecombiPlasTin*, después de su reconstitución con el diluyente *RecombiPlasTin*, es un preparado liposómico que contiene Factor Tisular Recombinante (FTR) humano relipidado con un fosfolípido sintético mezclado con cloruro cálcico, tampón y conservantes. Debido a su alta sensibilidad, comparable a las preparaciones de referencia internacional, *RecombiPlasTin* está especialmente indicado para la monitorización de la terapia anticoagulante oral.

Dado que el FTR no contiene ningún factor de coagulación concomitante, el *RecombiPlasTin* muestra una alta sensibilidad a las deficiencias de los factores de la vía extrínseca de la coagulación, lo que lo hace particularmente indicado para los ensayos de dichos factores.

La formulación del reactivo *RecombiPlasTin* lo hace insensible a niveles terapéuticos de heparina.

En el test de TP, la adición del reactivo al plasma del paciente, en presencia de iones calcio, inicia la activación de la vía extrínseca de la coagulación. Esto resulta finalmente en la conversión del fibrinógeno en fibrina, con la formación de un gel sólido.

Fibrinógeno

A partir del TP se puede obtener el fibrinógeno calculado o derivado. Es una aproximación del valor real de fibrinógeno y se expresa en mg/dL. Sólo es válido si se encuentra en un rango entre 90 mg/dL- 940 mg/dL.

Esta determinación, la realiza automáticamente el coagulómetro a partir de los valores de fibrinógeno y del tiempo de protrombina asignados en la curva de calibración. Sólo en los Sistemas de Coagulación IL el fibrinógeno es cuantificado (método basado en el TP) relacionando la absorbancia o la dispersión de la luz producida durante la formación del coágulo con la de un calibrador.

Tiempo de tromboplastina parcial activada

El tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa) es una prueba coagulométrica de cribado general de la vía intrínseca de la coagulación. Su principal importancia reside en reconocer una deficiencia de factores adquirida o congénita y en controlar la terapia anticoagulante con heparina no fraccionada.

El TTPa utiliza un activador de la fase de contacto como la sílica que activa el paso de factor XII a XII activado. Dicho activador proporciona una superficie de contacto ideal que permite actuar funcionalmente al quininógeno de alto peso molecular, calicreína y al factor XIIa. Esta activación por contacto se realiza a 37° C durante un determinado periodo de tiempo.

La adición de cloruro cálcico desencadena las reacciones posteriores que producirán la formación del coágulo. Los fosfolípidos son necesarios para la formación de los complejos que activarán al factor X y a la protrombina. La mayor parte de las cefalinas comerciales son de origen bovino y muchas de ellas utilizan la sílica micronizada como activador, que aseguran una alta reproducibilidad y una gran estabilidad del producto.

Una prolongación del tiempo de coagulación puede deberse a déficit de factor XII, XI, X, IX, VIII, V, II o fibrinógeno, enfermedades hepáticas, deficiencia de vitamina K, presencia de heparina, anticoagulante lúpico u otros inhibidores.

La determinación de la actividad de los factores de coagulación es indispensable para muchas cuestiones relacionadas con la hemostasia; sobre todo con el diagnóstico de las coagulopatías congénitas y adquiridas, así como en la monitorización de la terapia sustitutiva. También hay un creciente interés en la medición del aumento de la actividad para evaluar la relevancia clínica de los estados de hipercoagulabilidad (sobre todo con FII y FVIII).

3.3.2. Hemograma

Para la obtención del hemograma las muestras se introdujeron en tubo de hemograma (tubo con anticoagulante tipo EDTA). De los datos obtenidos utilizamos los niveles de hemoglobina y el número de plaquetas.

Se utiliza el analizador automático Sysmex XN-20®. Es un sistema multiparamétrico, dirigido al estudio in vitro del hemograma. Ver figura 15.



Figura 15. Analizador Sysmex XN-20®.

Se basa en el recuento de hematíes a través del principio de impedancia. Permite medir el tamaño de las células (volúmenes corpusculares de eritrocitos y plaquetas). La impedancia eléctrica refleja la capacidad de un objeto para oponerse al movimiento de una carga eléctrica. Se produce un cambio en la resistencia eléctrica producida por una partícula suspendida en un diluyente conductor al pasar por una zona de dimensiones conocidas. De este modo, con este tipo de dispositivos podemos contar y analizar el tamaño de los eritrocitos y las plaquetas.

Para obtener las cifras de hemoglobina el analizador utiliza la espectrofotometría de absorción. Esta tecnología se basa en la ley de Beer, que describe la relación lineal que se da entre la cantidad de luz absorbida por una mezcla homogénea y en reposo en una determinada banda de absorción y la concentración de la sustancia que absorbe la luz en la muestra. El resto de parámetros de la serie roja son deducidos (hematocrito, hemoglobina corpuscular media y concentración de hemoglobina corpuscular media).

Los valores de normalidad en el laboratorio de hematología de nuestro centro son:

PARÁMETROS	VALOR DE NORMALIDAD
Hemoglobina (g/dL)	11,5-15,5
Hematíes ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	4,0-5,2
Hematocrito (%)	35-45
VCM (fL)	77-95
HCM (pg/célula)	25-33
CHCM (g/dL)	31-37
Plaquetas ($\times 10^3//\mu\text{L}$)	150-350

Tomado de PNT Hematimetría Laboratorio Hematología. Servicio de Hematología y Hemoterapia. H. C. U. Virgen de la Arrixaca. Edición 6, 01-01-2017.

3.3.3. PFA-100®

Es un dispositivo que estudia la función plaquetaria en sangre completa con la ayuda de reactivos que simulan la hemostasia primaria. Se fundamenta en una de las principales características plaquetarias de agregarse y adherirse ante agonistas o situaciones de estrés. Utilizamos el sistema PFA-100® de Siemens. Ver figura 16.

Se utilizan dos tipos de reactivos, uno con colágeno más epinefrina y otro con colágeno más ADP. La sangre completa con citrato se deposita en una cubeta y es sometida a un gran estrés a través de un capilar que desemboca en una membrana revestida de colágeno, en la que se halla una apertura de 147 μm , que se rellena con epinefrina o ADP. Por tanto se crea un trombo rico en plaquetas que rellena este orificio, con motivo de la actuación de los agonistas y el estrés. El tiempo necesario para que las plaquetas ocluyan este orificio se denomina tiempo de obturación (TO). Este parámetro medido en segundos representa una medida de la hemostasia global que tiene relación con la función plaquetaria.

Material necesario:

Solución activadora Dade PFA (REF: B41 70-50), Dade PFA cartuchos de prueba de colágeno/EPI (REF: B41 70-20), Cartuchos de prueba de colágeno/ADP Dade PFA (REF: B4170-21) (Siemens Healthcare Diagnostics, Inc., Deerfield, IL).

Actuación:

Los cartuchos agonistas se dejan a 20° C durante 15 minutos. Dichos cartuchos se introducen en el soporte del dispositivo PFA-100® y se encajan. Se realiza el pipeteado de 800 μL de sangre y se introducen en la abertura de depósito para muestras del cartucho para que la sangre entre en contacto con los agonistas. Así comienza la medición del tiempo de obturación.

Referencia de valores de normalidad en el laboratorio de hematología del HCUVA.

Pruebas	Valor de referencia
Colágeno/EPI	85-155 segundos
Colágeno/ADP	71-110 segundos

Tomado de Manual del operador de PFA-100®. Edición 10-2012.



Figura 16. Sistema PFA-100® de Siemens.

3.3.4. Multiplate®

El analizador Multiplate® es un dispositivo que estudia la funcionalidad plaquetaria con muestras de sangre total.

Realiza el estudio de agregación plaquetaria por impedancia, es decir, se basa en la propiedad que las plaquetas presentan en sangre total, en la que no son trombogénicas, pero cuando son activadas cambia su conformación y exponen receptores que promueven la adhesión a los electrodos del dispositivo. Así, con el Multiplate®, hasta alcanzar la activación completa de la plaqueta, se representan los distintos estados de la activación plaquetaria. Ver figura 17.



Figura 17. Analizador Multiplate® (Dynabyte Medical. Roche Diagnostics, Mannheim, Germany).

Material necesario:

- Muestra sanguínea (300 μ L) entre 18° C y 25° C.
- Agonistas: Péptido-6-PAR1-trombina (TRAP), Adenosina difosfato (ADP), epinefrina (EPI), ácido araquidónico-TXA₂ (ASPI), ristocetina (RISTO).
- Tubo de hirudina.
- Agua destilada.
- Suero fisiológico al 0,9% (300 μ L) a 37° C.
- Analizador Multiplate®.

Procedimiento:

- Se extraen 3 ml de sangre en tubo de hirudina.
- Se reconstituyen los reactivos con 1 ml de agua destilada y se deja reposar durante 10 minutos.
- Se instilan 300 μ L de suero fisiológico en la cubeta correspondiente, se dejan reposar 3 minutos y se conectan los dos electrodos de platino a las cubetas.

- Se añaden los reactivos a las cubetas.
- Se inicia el analizador en el que se empiezan a realizar las curvas de agregación plaquetaria en tiempo real.

Por tanto, el analizador Multiplate® se basa en un sistema analítico de cinco canales. Cada canal presenta un sistema de agitación magnética y regulación de temperatura. Las cubetas tienen dos pares de electrodos calibrados y un imán recubierto de teflón que al introducir la cubeta en el punto de medición se agita.

Al añadir un agonista a la muestra se estimula la agregación plaquetaria en la superficie de cada electrodo, lo que aumenta la resistencia al flujo de la corriente eléctrica. Dicho aumento se asocia de forma proporcional a un aumento en la agregación.

Los valores de normalidad del sistema Multiplate® en el laboratorio del HCUVA son:

AGONISTAS	ADP	COL	TRAP	ASPI	API	RISTO HIGH	RISTO LOW
ABC (área bajo la curva) UA/m	57-113	72-125	84-128	71-115	10-44	98-180	0-20

Tomado de Manual operador Multiplate® analyzer. Versión 2.0. Mayo 2013. Roche diagnostic.

Este ascenso de la resistencia o impedancia en los electrodos debido a la unión de las plaquetas a los electrodos se representa en forma de unidades arbitrarias de agregación por minuto (UA/m). El parámetro principal que se mide es el área bajo la curva (ABC) que experimenta el proceso de agregación plaquetaria durante el tiempo que dura la medición. Este parámetro se ve afectado por la velocidad y agregación máxima. Es el que mejor representa la funcionalidad global plaquetaria. Ver figura 18.

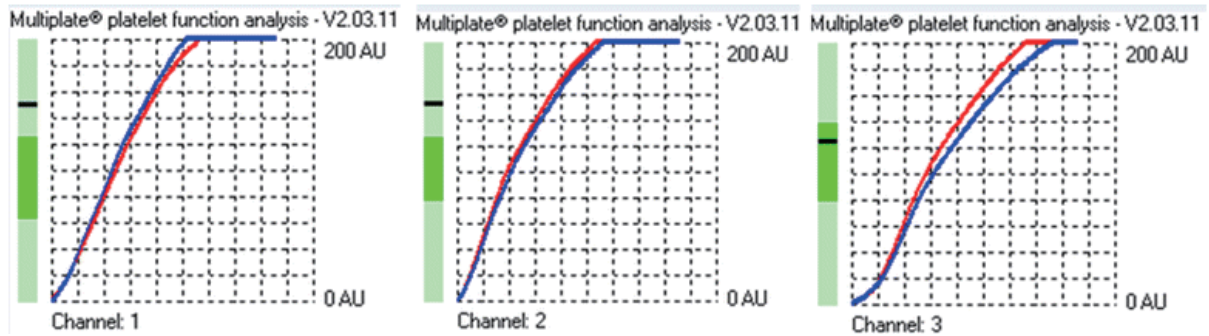


Figura 18. Curvas de agregometría.

3.3.5. Citometría de flujo

Con la ayuda del citómetro de flujo FACSCanto™ II de BD Biosciences, se realizó el estudio del grado de activación de las plaquetas, y la reactividad plaquetaria in vitro con respuesta a distintos agonistas. Se utilizaron muestras sanguíneas de sangre completa. Se analizaron marcadores que nos guían en los distintos estados de activación y agregación plaquetarias: marcador de superficie plaquetaria (GPIIb/GPIIIa ó CD61) y marcador de activación plaquetaria la P-selectina (CD62P). Ver figura 19.

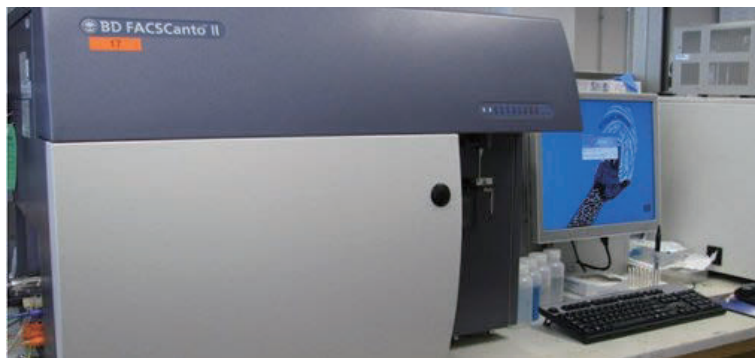


Figura 19. Citómetro de flujo FACSCanto™ II de BD Biosciences.

La ventaja que presentan este tipo de dispositivos es que realizan un estudio de función plaquetaria en sangre completa, un aspecto muy importante a destacar, es decir, sin el proceso de centrifugado para la obtención de plaquetas. Con la citometría podemos conocer el estado in vivo de la activación de las plaquetas a través de anticuerpos que se ligan a marcadores de activación plaquetaria, como la P-selectina (CD62P) ó CD63. Por otro lado, al

añadir agonistas plaquetarios, podemos analizar la reactividad plaquetaria in vitro. Es decir, al adicionar el agonista, se produce un cambio conformacional en la superficie de la plaqueta, produciendo la expresión de un receptor, que es captado por su unión a un anticuerpo monoclonal específico.

El análisis de la función plaquetaria en sangre entera con el citómetro de flujo tiene muchas ventajas. Primero, porque permite medir durante un tiempo específico las características de una gran cantidad de plaquetas (5000 ó 10000). Segundo, las plaquetas son analizadas en su propio medio fisiológico, incluyendo eritrocitos y glóbulos blancos, los cuales también afectan la activación plaquetaria, sin ningún pretratamiento de la sangre. Esto permite la medida tanto de la activación basal de las plaquetas circulantes como de su reactivación en respuesta a varios agonistas sin la influencia de los artefactos que puede producir la activación in vitro de la sangre preacondicionada.

La citometría se basa en el paso de células con flujo laminar por delante de un sensor con un láser. La información de la dispersión lumínica es recabada a través de detectores. Sobre todo se producen dos fenómenos físicos de dispersión de la luz: la dispersión frontal y la lateral. Todos estos sensores que detectan la diferente intensidad lumínica de las partículas, transforman estos datos con la ayuda de un ordenador en una señal digital.

Material necesario

- Tubos con citrato al 3,2%.
- Citómetro FACSCanto™ II de BD Biosciences.
- Marcadores de citometría: CD62P APC (MCA 796F), CD63 FITC, CD45 FITC, CD61PERCP.
- FACS flow buffer citómetro.
- Fijadores: platelet solutions LTD, PAMFix.
- Agonista TRAP-6.
- Multi-Sample Agitator (MSA). Es un equipo tipo termobloque que calienta y agita los tubos individualmente. La temperatura se establece a 37° C. Dispone de unidad central con espacios dispuestos en dos círculos. Se pueden colocar tubos de distinto tamaño. Estos tubos se ven sometidos a un campo magnético, en el que regulamos la

velocidad y agitación de las muestras. Este dispositivo es el complemento ideal para el citómetro de flujo en el estudio de la función plaquetaria. Ver figura 20.



Figura 20. Multi-Sample Agitator (MSA) de la Universidad de Nottingham. Imagen cedida por David Iyú.

3.3.5.1. Medición de la agregación plaquetaria

Para la extracción de la muestra sanguínea se puede utilizar un anticoagulante como el citrato trisódico dihidratado (3,13% p/v: 1 mL por cada 9 mL de sangre), y también la hirudina. Tras una mezcla cuidadosa de la sangre y el anticoagulante, se deja reposar 30 minutos.

Tras atemperar los agonistas unos 10 minutos se inicia el experimento. A continuación se añaden los agonistas, y el resto de compuestos de interés. La agregación plaquetaria es medida ante el estímulo de agonistas, TRAP o ADP. La muestra es mezclada con una barra magnética dentro de un tubo LP3 (64x11) que se coloca en el MSA (Multi-Sample Agitator). El tiempo de estimulación es de 4-6 minutos, transcurridos los cuales la sangre es fijada por fijadores específicos, en un procedimiento que lleva dos pasos y en el que se requiere que las muestras se mezclen bien y se tapen. En un primer paso la sangre es mezclada con un primer fijador llamado AGGFixA, a razón de 1 parte del fijador y 3 partes de sangre entera. A continuación dicha mezcla se deja reposar a temperatura ambiente durante 10-30 minutos. Transcurrido ese tiempo se coge una alícuota de dicha mezcla y se diluye en un segundo fijador AGGFixB, a razón de 1 parte de la mezcla anterior y 9 partes del fijador AGGFixB.

Las muestras fijadas se guardan a 4° C hasta que sean analizadas por citometría. El procedimiento para medir el grado de agregación es cuantificar el cambio en el número de

plaquetas individuales en la muestra, lo que puede realizarse gracias a que las plaquetas son marcadas específicamente con un anticuerpo marcado con FITC o PerCp que se une a proteínas plaquetarias como CD42a ó CD61. Para poder cuantificar el número de plaquetas en cada caso se cuenta un número fijo de glóbulos rojos (50000), que se utilizan como referencia interna.

3.3.5.2. Medición de la activación plaquetaria. Expresión del marcador CD62.

Cuando las plaquetas se activan expresan en su superficie distintas proteínas que facilitan su interacción con otras células o mediadores inflamatorios o procoagulantes. Una de las proteínas que en mayor proporción se expresa, en estas circunstancias, es la P-selectina, que generalmente se encuentra dentro de los gránulos alfa, pero que tras la activación de las plaquetas se moviliza y expresa en la membrana plasmática y según su grado de expresión nos da una medida del grado de activación alcanzado por las plaquetas. Sin embargo, su expresión es muy transitoria, ya que puede ser internalizada o hidrolizada muy rápidamente o utilizarse, por parte de la célula, como puente o nexo de unión con otras células.

Se utiliza un método similar al anteriormente descrito, con anticoagulante o hirudina. La sangre puede ser recogida directamente en el fijador para los marcadores de activación plaquetaria PAMFix para medir los niveles basales de P-selectina, o CD63 si así se quisiera, inmediatamente después de la extracción de la sangre.

Antes de empezar a estimular la sangre con los correspondientes agonistas, todos los reactivos y tubos se atemperan durante al menos 10 minutos antes de realizar los experimentos. A continuación se añaden los agonistas, y el resto de compuestos de interés, a los tubos LP3 (64 x 11 mm), que se colocan en el MSA y la muestra se deja sin agitar, de manera que en este caso no se utilizan barras agitadoras, y a diferencia de la medición de la agregación, se añade EDTA (concentración final de 4 mM) a todos los tubos con el objeto de evitar la formación de agregados para poder medir fácilmente la expresión de los marcadores de activación en la superficie de las plaquetas. Otra alternativa al uso del EDTA es diluir la sangre con salino al 50%.

El tiempo de estimulación es de 4-6 minutos, transcurridos los cuales la sangre es fijada por un fijador específico llamado PAMFix. Este fijador siempre debe ser utilizado a

razón de PAMFix 2:1 en relación al volumen de la muestra que se quiere fijar. Tras añadir el fijador, la muestra debe mezclarse bien. Una vez fijada, la muestra es muy estable y puede ser transportada o guardada a temperatura ambiente o a 4° C, antes de ser analizada por citometría de flujo. El fijador PAMFix permite evaluar el grado de expresión de P-selectina, o de otro marcador de activación plaquetaria, con mucha fiabilidad, días después de haber fijado la muestra, de 24 horas a 9 días después de la fijación.

Justo antes de proceder al análisis del grado de expresión de los marcadores de activación plaquetaria, como la P-selectina, en el citómetro la muestra se marca con un anticuerpo, unido a un marcador fluorescente, que reconozca el marcador plaquetario a identificar, como la P-selectina. Hay muchos anticuerpos en el mercado que reconocen a la P-selectina (CD62) como CD62P-FITC de Serotec (cat. no. MCA796F). Además, hay que marcar la muestra con un anticuerpo adicional que reconozca a las plaquetas y así poder identificarlas y contarlas, ya que generalmente se contabilizan 3000 plaquetas para medir la expresión de los marcadores de activación. Por todo ello se recurre a anticuerpos marcados que reconozcan al marcador plaquetario CD61. Algunos de los más utilizados son: CD61-PerCP de BD (cat. no. 347408) o CD61-PE de Miltenyi Biotec (cat. no. 130-081-501). El grado de expresión de la P-selectina puede ser expresado como el porcentaje (%) de plaquetas que son positivas para P-selectina o como una medida de la mediana de la fluorescencia o *median fluorescence* de toda la población de plaquetas de la muestra analizada. Es un parámetro que hace referencia a la cantidad de fluorescencia que emiten las plaquetas. Esta fluorescencia se emite desde anticuerpos que están marcados, que son los que expresan la señal de fluorescencia.

3.3.6. Tromboelastometría

Es un test viscoelastométrico para medir la hemostasia en sangre completa. Mide las interacciones de los factores de coagulación, inhibidores y componentes celulares durante las fases de coagulación y lisis. Las condiciones reológicas de este método imitan al flujo venoso de la sangre.

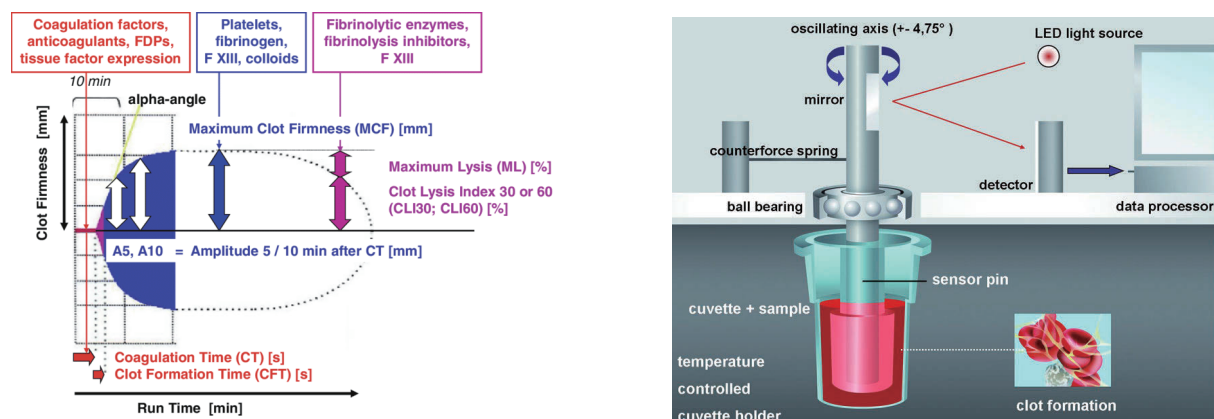


Figura 21. Curva de tromboelastometría y funcionamiento de ROTEM. Tomado de Klaus Görlinger, Tem International.

Una muestra de sangre es situada en una cubeta y un pin cilíndrico se introduce en la misma. Entre el pin y la cubeta hay una distancia de 1 milímetro (mm), cubierta por sangre. El pin rota a derecha e izquierda. Mientras que la sangre es líquida, el movimiento se da sin restricciones. Cuando la sangre empieza a coagularse, el coágulo aumenta la resistencia a la rotación. Las fuerzas cinéticas se detectan mecánicamente y son calculadas por un ordenador integrado que genera curvas y parámetros numéricos. Ver figura 21. Este dispositivo nos permite discriminar entre un sangrado quirúrgico, alteraciones de la coagulación, hiperfibrinólisis, coagulopatía dilucional, necesidades de fibrinógeno, plaquetas, exceso de heparina o necesidad de protamina.

El ROTEM Delta® analiza los cambios en la firmeza del coágulo en una muestra de sangre completa citratada. Detecta ópticamente la formación del coágulo, su firmeza y al final, su lisis. Para cada estudio, se necesitan 300 µl de sangre completa, anticoagulada con citrato de sodio, asociada a agentes específicos en una cubeta. Esa cubeta se introduce en un pin, conectado a un canal, que rota con un ángulo de 4,75°. Este pin está conectado a un

ordenador que calcula diferentes parámetros de la coagulación de forma dinámica según la viscosidad del trombo.

Parámetros:

- Tiempo de coagulación, CT. Tiempo desde el inicio del test hasta que se detecta una amplitud de 2 mm. Representa el inicio de la formación del trombo, la formación de trombina y el comienzo de la polimerización del trombo.
- Tiempo de formación del coágulo, CFT. Tiempo que transcurre desde los 2 mm hasta que se alcanza una amplitud de 20 mm. Identifica la polimerización de la fibrina y la estabilización del trombo con las plaquetas y el factor XIII.
- Ángulo Alfa (α). Entre el eje medio de la tangente y la curva de inicio de la coagulación a los 2 mm. Refleja la cinética del inicio de la formación del coágulo. Por tanto, un gran ángulo α refleja la rápida formación del coágulo mediada por las plaquetas activadas por la trombina, la fibrina y el factor XIII activado.
- A10 min. Amplitud a los 10 minutos. Está directamente relacionado con la amplitud máxima del coágulo (MCF) y se puede usar para predecir la MCF y la función plaquetaria.
- MCF. Amplitud máxima en milímetros alcanzada en el trazo que se correlaciona con el número de plaquetas, la función plaquetaria y la concentración de fibrinógeno.
- LI30. Fibrinólisis a los 30 minutos tras el CT.

Realizamos distintos tests:

- INTEM, monitoriza la vía intrínseca de la coagulación.
- HEPTEM, igual que el INTEM, pero con heparinasa.
- EXTEM, monitoriza la vía extrínseca de la coagulación.
- FIBTEM, monitoriza la firmeza del coágulo tras bloquear la contribución de las plaquetas, midiendo principalmente el fibrinógeno. Se debe utilizar asociado al EXTEM.

Las muestras se obtienen en tubos de coagulación (con un 3,2% de citrato sódico). Se deben realizar a 37° C. No debe pasar más de 4 horas desde la extracción de la muestra, e incluso menos de 30 minutos si se utiliza heparina (como es nuestro caso). Ver figuras 22 y 23.



Figura 22. ROTEM Delta® de IL. Distribuido por Werfen.

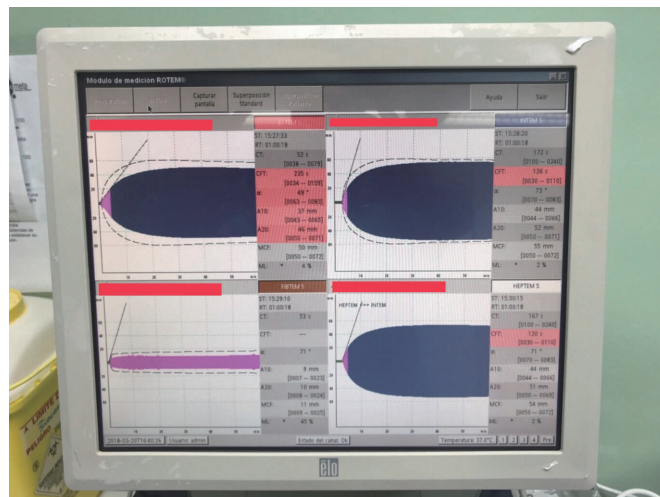


Figura 23. Curvas de tromboelastometría de nuestro estudio.

Los valores de normalidad del ROTEM son:

	CT (seg)	A10 (mm)	MCF (mm)	ML 60 min (%)
EXTEM	38-79	43-65	50-72	<15%
INTEM	100-240	44-66	50-72	
FIBTEM		7-23	9-25	
HEPTEM	100-240		50-72	

3.3.7. Tiempo de Coagulación Activado (TCA)

Es la medida de monitorización de la actuación de la heparina más ampliamente utilizada para los procedimientos de cirugía cardíaca. Una gota de la sangre total extraída (0,5 mL) se añade a una cubeta conectada al dispositivo Hemochron® Jr. Signature que contiene un activador de tipo celite o caolín. A continuación, se mide el tiempo hasta la formación del coágulo. La cubeta se calienta a una temperatura de $37 \pm 1,0^\circ \text{C}$. El analizador mide el volumen de sangre necesario y lo introduce automáticamente en el canal de prueba, donde se mezcla con los reactivos. Una vez mezclada con el reactivo, la muestra se agita adelante y atrás en el canal de prueba con una velocidad predeterminada. La velocidad de movimiento de la muestra se controla mediante detectores ópticos tipo LED. Cuando la sangre se coagula, se dificulta el movimiento de la muestra dentro del canal, lo que disminuye la velocidad del flujo recogido por los detectores ópticos. El analizador emite un pitido cuando se forma el coágulo, que indica el final de la prueba. Un cronómetro interno mide el tiempo que transcurre desde el inicio de la prueba hasta la formación del coágulo. El valor de normalidad es 107 ± 13 segundos. Ver figura 24.



Figura 24. Hemochron® Jr. Signature de IL. Distribuido por Werfen.

3.3.8. Bioquímica

Para la medición de los parámetros LDH, lactato y bilirrubina, utilizamos el dispositivo COBAS C702®, distribuido por Roche Diagnostics.

Para la medida de los valores de haptoglobina, nos servimos del BNProSpec® de Dade Behring, distribuido por Siemens.

3.3.9. Variables clínicas

Se analizaron las siguientes variables clínicas:

- Demográficas:
 - Sexo (hombre o mujer)
 - Edad en el momento del implante valvular (en años)
- Antropométricas:
 - Peso (kg)
 - Altura (metros)
 - Superficie corporal (metros cuadrados, m²)

- Antecedentes médicos y factores de riesgo cardiovascular:
 - Hipertensión arterial
 - Diabetes mellitus
 - Dislipemia
 - Fumador
 - Fibrilación auricular crónica
 - Patología vascular periférica
 - Accidente cerebrovascular previo
 - Insuficiencia renal crónica
 - Disfunción ventricular. Fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) < 40%
 - Escalas de riesgo quirúrgico EuroSCORE II y EuroSCORE I Logístico.

Las variables que se miden en cada una de esas escalas están en el Anexo V. Son escalas que se calculan con un programa informático. <http://www.euroscore.org/calcp.html>

Según la puntuación obtenida en cada escala, se estima un riesgo de mortalidad a los 30 días:

	Bajo riesgo	Riesgo intermedio	Alto riesgo
EuroSCORE logístico	< 10%	10-20%	>20%
EuroSCORE II	< 4%	4-8%	>8%

- Variables durante el procedimiento:
 - Valor de hemoglobina basal y al alta del paciente (en g/dL)
 - Hemoderivados y factores de coagulación utilizados: concentrados de hematíes (unidades), plasma fresco congelado (unidades), plaquetas (*pool*, equivale a 5 unidades) y concentrados de fibrinógeno (gramos).
 - Días de estancia en la Unidad de Cuidados Intensivos y en el hospital.
 - Horas de ventilación mecánica.

- Cantidad en mililitros de sangre recogida en los drenajes quirúrgicos en las primeras 24 h.

- Reintervenciones.

- Creatinina basal y al alta. Necesidad de hemofiltro en UCI.

- Arritmias postoperatorias.

- Ictus

- Éxitus

- Volumen del salvacélulas (en mililitros)

- Tiempo de circulación extracorpórea y de pinzamiento aórtico (en minutos).

- Shock cardiogénico tras salida de circulación extracorpórea.

3.4. METODOLOGÍA ESTADÍSTICA

Los análisis estadísticos fueron realizados por el servicio de estadística del Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria (IMIB). El cálculo del tamaño muestral fue cuantificado aplicando un riesgo alfa de 0,05, una precisión de 4,5% y una potencia estadística del 80%, precisándose 30 pacientes. Si consideramos unas pérdidas de un 10%, se necesitan 33 pacientes para considerar que los datos sean estadísticamente significativos.

Realizamos un estudio descriptivo en el que las variables numéricas se resumieron como media, desviación típica y rango, las variables cualitativas como frecuencias y porcentajes.

Para el estudio de las relaciones entre las variables continuas utilizamos un análisis de correlación, tanto para estudiar las asociaciones lineales (Pearson) como no lineales (Spearman).

Todos los resultados se considerarán significativos para un nivel $\alpha < 0.05$. Los análisis se llevaron a cabo con el programa SPSS v.19.0

4. RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1. DESCRIPCIÓN DE LA POBLACIÓN ANALIZADA

El estudio está formado por 33 pacientes que cumplieron todos los criterios requeridos para entrar en el mismo.

La edad media es de 68,27 años, con un rango de edades que va de los 48 a los 82 años. La superficie corporal media es de 1,83 m² (parámetro que se calcula a partir del peso y la altura de los pacientes). Sirve como guía a la administración de un adecuado flujo de gasto cardiaco durante la circulación extracorpórea.

En cuanto al sexo, hubo mayor proporción de hombres. Ver figura 25.

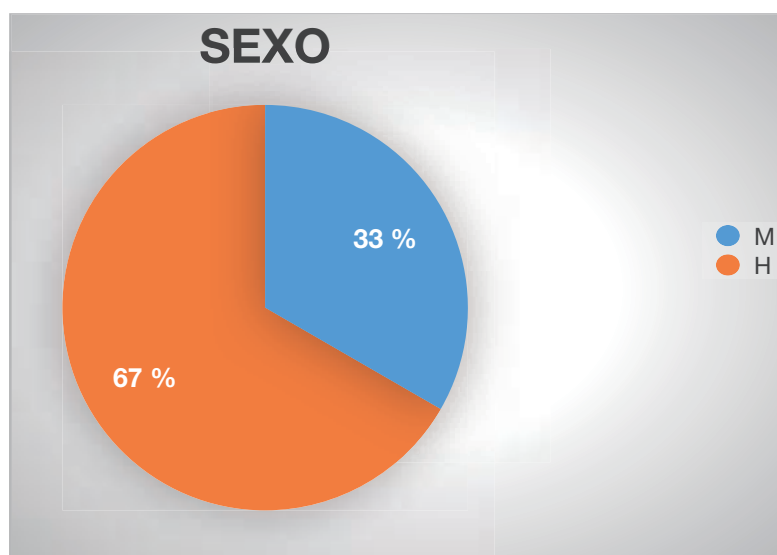


Figura 25. Proporción de sexo de la población.

En las tablas 3 y 4, se describen las principales patologías de base y los factores de riesgo cardiovascular de la población estudiada.

Tabla 3. Patologías de base de la población a estudio.

PATOLOGÍAS DE BASE	Proporción de pacientes afectados
Fibrilación Auricular	21,21 %
Vasculopatía periférica	12,12 %
Accidente cerebrovascular previo	12,12 %

Tabla 4. Factores de riesgo cardiovascular de la población a estudio.

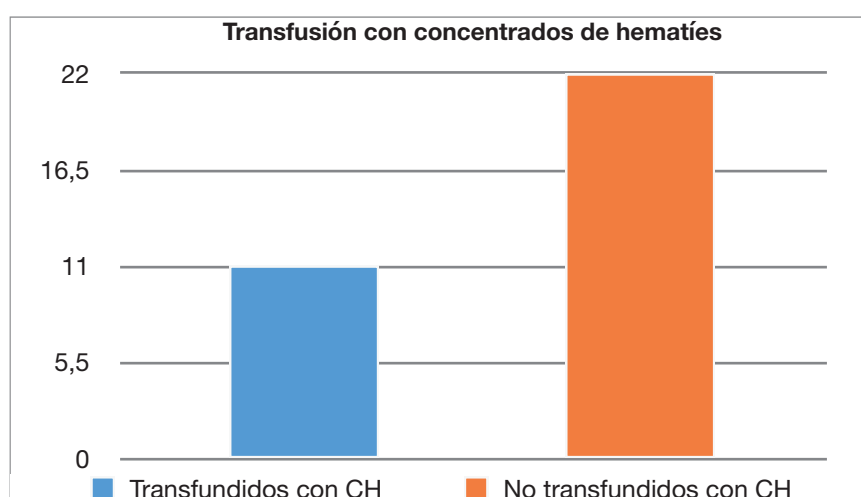
FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR	Proporción de pacientes afectados
Hipertensión arterial	75,76 %
Dislipemia	67 %
Diabetes Mellitus tipo 2	30,3 %
Fumadores	27,27 %

4.2. VARIABLES ANALÍTICAS ESTUDIADAS

4.2.1. Hemograma y uso de hemoderivados. Relación con variables clínicas.

La cifra media de la hemoglobina basal de los pacientes es de 13,39 g/dL, con un rango de 9,4 g/dL a 16,6 g/dL. El valor medio de la hemoglobina postcirugía en el momento del alta hospitalaria es de 10,75 g/dL.

Un 33% de los pacientes precisó transfusión de concentrados de hematíes. La media fue de $0,82 \pm 1,26$ unidades por paciente. Ver figura 26.

**Figura 26.** Número de pacientes transfundidos con concentrados de hematíes (CH).

Un 18,18% de los pacientes precisó de Plasma Fresco Congelado (PFC). La media fue de $0,39 \pm 0,86$ unidades. Ver figura 27.

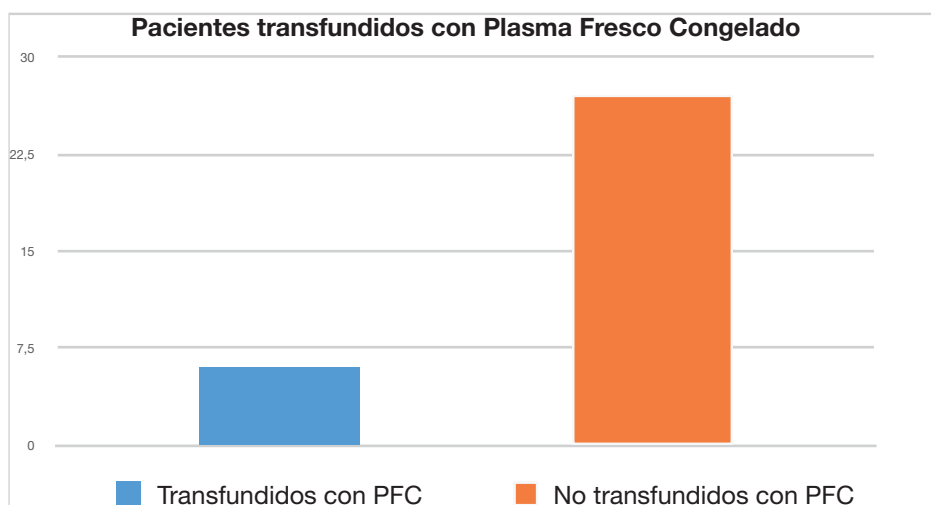


Figura 27. Número de pacientes transfundidos con Plasma Fresco Congelado (PFC).

Un 24,24% fue transfundido con plaquetas. La transfusión plaquetaria se realiza con “pool” de plaquetas. Un “pool” equivale a 5 unidades de plaquetas. La media fue $0,30 \pm 0,58$ “pool” por paciente. Ver figura 28.

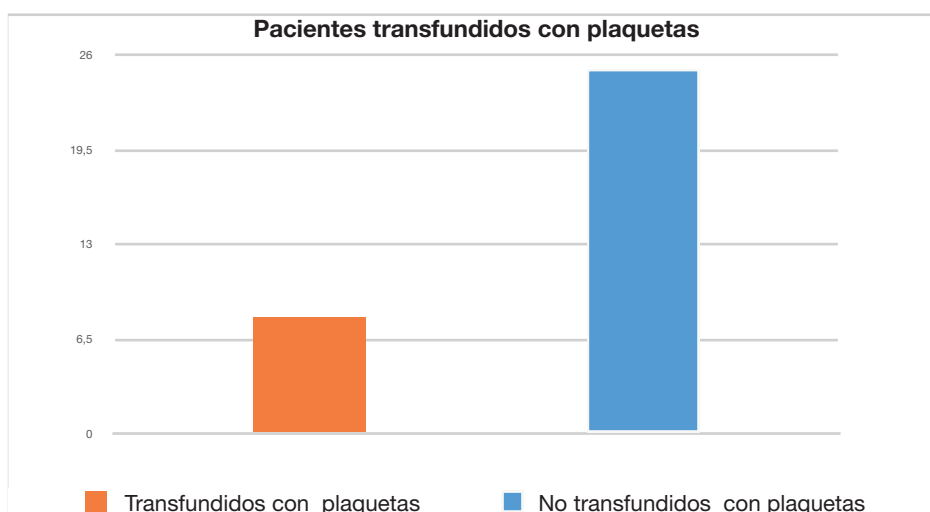


Figura 28. Número de pacientes transfundidos con plaquetas.

Un 84,85% precisó de concentrado de fibrinógeno para optimizar la hemostasia. Ver figura 29. La media fue de $2,64 \pm 1,87$ gramos por paciente. Sólo un paciente, el 3,03% precisó una reintervención.

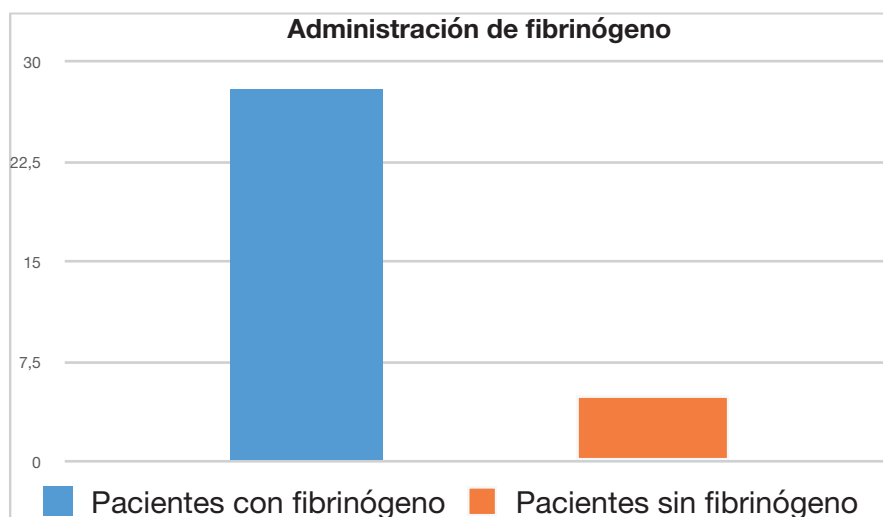


Figura 29. Número de pacientes a los que se les ha administrado concentrado de fibrinógeno.

En la tabla 5, se representa la proporción de pacientes transfundidos y la media por componente transfundido.

Tabla 5. Proporción de pacientes transfundidos.

	Proporción de pacientes transfundidos	Media de unidades por paciente y desviación estándar
Concentrado de hematíes	33 %	$0,82 \pm 1,26$ unidades
Plasma fresco congelado	18,18 %	$0,39 \pm 0,86$ unidades
Plaquetas	24,24 %	$0,30 \pm 0,58$ pool
Fibrinógeno	84,85 %	$2,64 \pm 1,87$ gramos

La proporción de mortalidad postoperatoria fue del 3,03%. Ver figura 30. La escala de riesgo EuroSCORE II fue de 4 (3-5) y Logistic EuroSCORE 7 (5-9).

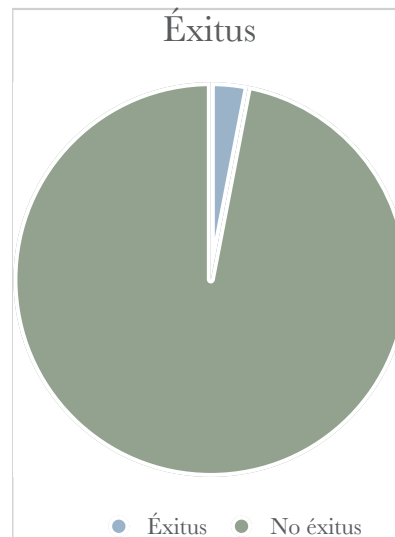


Figura 30. Éxito tras la cirugía.

La tasa de fibrilación auricular postquirúrgica fue del 30,3%. El 100% volvieron a ritmo sinusal. Ver figura 31.

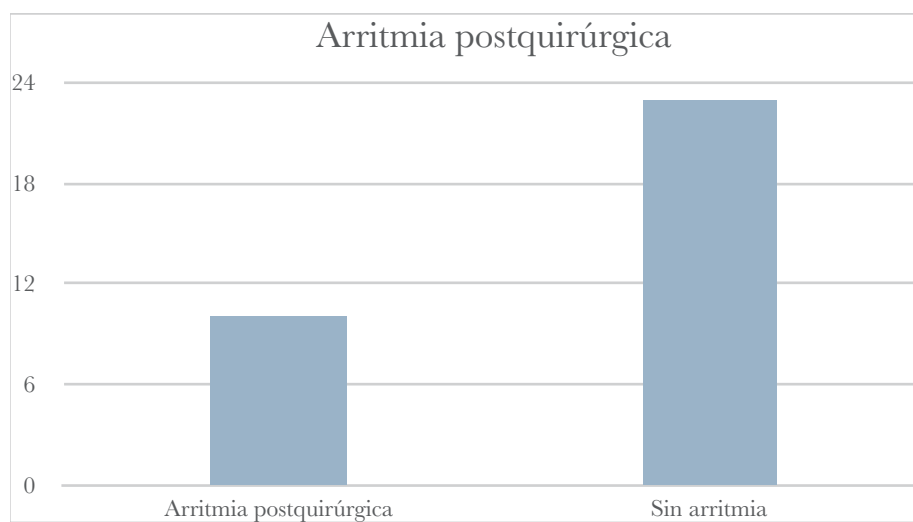


Fig. 31. Arritmia postoperatoria.

El volumen medio obtenido del salvacélulas fue de $292,30 \pm 118,18$ ml. Teniendo en cuenta los efectos deletéreos que puede tener la transfusión, ponemos en valor el uso del salvacélulas en este tipo de cirugías, dado que permite un ahorro de concentrados de hematíes y la disminución de efectos secundarios de la transfusión. En nuestro centro, lo utilizamos de forma protocolaria en todas las intervenciones bajo circulación extracorpórea.

El tiempo medio de CEC fue de $74,27 \pm 25,73$ minutos. El tiempo de pinzamiento aórtico fue de $58,67 \pm 16,62$ minutos.

La estancia media en UCI fue de $2,03 \pm 0,85$ días. La estancia global hospitalaria fue de $7 \pm 3,72$ días.

Los drenajes tras 24 horas fueron de $299,57 \pm 205,72$ ml.

El tiempo medio de ventilación mecánica en UCI fue de 5,95 horas.

Las cifras de creatinina basal fueron de $0,98 \pm 0,58$ mg/dL, y al alta de $0,99 \pm 0,77$ mg/dL. No hubo ningún caso de ictus, ni de shock cardiogénico.

Aplicando el análisis de correlación, observamos que existe una correlación negativa entre la hemoglobina basal y los concentrados de hematíes, es decir, a mayor hemoglobina basal, menor necesidad de concentrados de hematíes, con una significación de 0,04. También observamos que a mayor uso de concentrados de hematíes, hay una mayor demanda de fibrinógeno, con una significación de 0,023.

Se observa una correlación positiva entre un mayor volumen de salvacélulas y un mayor uso de plaquetas, significación de 0,011. Esto vendría explicado por el hecho de que a un mayor sangrado durante la cirugía, también se recoge más cantidad de sangre en el salvacélulas, pero ésta sólo es concentrado de hematíes, no posee factores de la coagulación, por lo que a mayor sangrado, el paciente presentará mayor coagulopatía, necesitando entre otros, plaquetas.

Analizamos que un mayor uso de plaquetas, está asociado a una mayor estancia en UCI, con una significación de 0,04. Esto podría estar ligado a que su uso se ha aplicado en los pacientes con mayor sangrado y por tanto, los más susceptibles a optimización postoperatoria más prolongada.

Como es lógico, es clara la correlación significativa positiva y fuerte entre el tiempo de pinzamiento aórtico (T° X Ao) y el tiempo de CEC (T° CEC), con una significación de 0,000. Cuanto mayor es el tiempo de pinzamiento aórtico, mayor es el tiempo de circulación extracorpórea. Ver tablas 6, 7, 8, 9 y 10.

Tabla 6. Correlación de datos clínicos.

		Drenajes (ml) tras 24 h	C. Hematíes	Plasma FC	Fibrinógeno	Plaquetas	Volumen salvacélulas (ml)
Drenajes (ml) tras 24 h	Correlación de Pearson	1	-,013	-,091	,130	-,195	,039
	Sig. (bilateral)		,942	,613	,472	,278	,828
	N	33	33	33	33	33	33
C. Hematíes	Correlación de Pearson	-,013	1	,096	,396	,162	-,102
	Sig. (bilateral)	,942		,593	,023	,369	,571
	N	33	33	33	33	33	33
Plasma FC	Correlación de Pearson	-,091	,096	1	,247	,313	,185
	Sig. (bilateral)	,613	,593		,167	,076	,303
	N	33	33	33	33	33	33
Fibrinógeno	Correlación de Pearson	,130	,396	,247	1	,190	,212
	Sig. (bilateral)	,472	,023	,167		,291	,237
	N	33	33	33	33	33	33
Plaquetas	Correlación de Pearson	-,195	,162	,313	,190	1	,439
	Sig. (bilateral)	,278	,369	,076	,291		0,11
	N	33	33	33	33	33	33
Volumen salvacélulas (ml)	Correlación de Pearson	,039	-,102	,185	,212	,439	1
	Sig. (bilateral)	,828	,571	,303	,237	,011	
	N	33	33	33	33	33	33

Mediante análisis de correlación comparamos su relación entre ellos. Abreviaturas: Sig.: significación, N: número, ml: mililitros, C. Hematíes: concentrados de hematíes, Plasma FC: plasma fresco congelado.

Tabla 7. Correlación de datos clínicos.

		Hb basal	Hb postcirugía	C. Hematíes
Hb basal	Correlación de Pearson	1	,390	-,488
	Sig. (bilateral)		,025	,004
	N	33	33	33
Hb postcirugía	Correlación de Pearson	,390	1	-,096
	Sig. (bilateral)	,025		,593
	N	33	33	33
C. Hematíes	Correlación de Pearson	-,488	-,096	1
	Sig. (bilateral)	,004	,593	
	N	33	33	33

Mediante análisis de correlación comparamos su relación entre ellos. Abreviaturas: Sig.: significación, N: número, C. Hematíes: concentrados de hematíes, Hb: hemoglobina.

Tabla 8. Correlación de datos clínicos.

		Días estancia hospital	C. Hematíes	Plasma FC	Fibrinógeno	Plaquetas
Días estancia hospital	Cor. de Pearson	1	-,253	-,204	-,247	-,143
	Sig. (bilateral)		,156	,255	,166	,426
	N	33	33	33	33	33
C. Hematíes	Cor. de Pearson	-,253	1	,096	,396	,162
	Sig. (bilateral)	,156		,593	,023	,369
	N	33	33	33	33	33
Plasma FC	Cor. de Pearson	-,204	,096	1	,247	,313
	Sig. (bilateral)	,255	,593		,167	,076
	N	33	33	33	33	33
Fibrinógeno	Cor. de Pearson	-,247	,396	,247	1	,190
	Sig. (bilateral)	,166	,023	,167		,291
	N	33	33	33	33	33
Plaquetas	Cor. de Pearson	-,143	,162	,313	,190	1
	Sig. (bilateral)	,426	,369	,076	,291	
	N	33	33	33	33	33

Mediante análisis de correlación comparamos su relación entre ellos. Abreviaturas: Sig.: significación, N: número, C. Hematíes: concentrados de hematíes, Plasma FC: plasma fresco congelado, Cor. de Pearson: Correlación de Pearson.

Tabla 9. Correlación de datos clínicos.

		Días estancia UCI	C. Hematíes	Plasma FC	Fibrinógeno	Plaquetas
Días estancia UCI	Cor. de Pearson	1	,122	-,017	-,151	,359
	Sig. (bilateral)		,498	,926	,402	,040
	N	33	33	33	33	33
C. Hematíes	Cor. de Pearson	,122	1	,096	,396	,162
	Sig. (bilateral)	,498		,593	,023	,369
	N	33	33	33	33	33
Plasma FC	Cor. de Pearson	-,017	,096	1	,247	,313
	Sig. (bilateral)	,926	,593		,167	,076
	N	33	33	33	33	33
Fibrinógeno	Cor. de Pearson	-,151	,396	,247	1	,190
	Sig. (bilateral)	,402	,023	,167		,291
	N	33	33	33	33	33
Plaquetas	Cor. de Pearson	,359	,162	,313	,190	1
	Sig. (bilateral)	,040	,369	,076	,291	
	N	33	33	33	33	33

Mediante análisis de correlación comparamos su relación entre ellos. Abreviaturas: Sig.: significación, N: número, C. Hematíes: concentrados de hematíes, Plasma FC: plasma fresco congelado, Cor. de Pearson: Correlación de Pearson.

Tabla 10. Correlación de datos clínicos.

		C. Hematíes	T° CEC	T° X Ao
C. Hematíes	Correlación de Pearson	1	,121	,089
	Sig. (bilateral)		,503	,621
	N	33	33	33
T° CEC	Correlación de Pearson	,121	1	,907
	Sig. (bilateral)	,503		,000
	N	33	33	33
T° X Ao	Correlación de Pearson	,089	,907	1
	Sig. (bilateral)	,621	,000	
	N	33	33	33

Mediante análisis de correlación comparamos su relación entre ellos. Abreviaturas: Sig.: significación, N: número, C. Hematíes: concentrados de hematíes, T° X Ao: tiempo de pinzamiento aórtico. T° CEC: tiempo de circulación extracorpórea.

En las figuras 32 y 33, se observan los datos sobre la hemoglobina y las plaquetas en las tres fases. Se aprecia un descenso significativo de los niveles de hemoglobina con respecto al basal M1, pero una recuperación en M3 con respecto a M2. Las diferencias entre los valores de la hemoglobina son estadísticamente significativas con un $p=0,000$. Es decir, esto vendría explicado por la anemia dilucional durante la CEC y el sangrado durante el proceso quirúrgico. Sin embargo, la recuperación indica que esa pérdida es baja, volviendo a alcanzar niveles fisiológicos. Con los niveles de plaquetas, ocurre algo similar, con un descenso significativo en M2 y M3 con respecto a M1, pero dentro de los niveles normales de nuestro laboratorio. Las diferencias de los valores plaquetarios en las tres fases son estadísticamente significativas, con una $p=0,000$. Estadística en tablas 1 y 2 (ANEXO II)

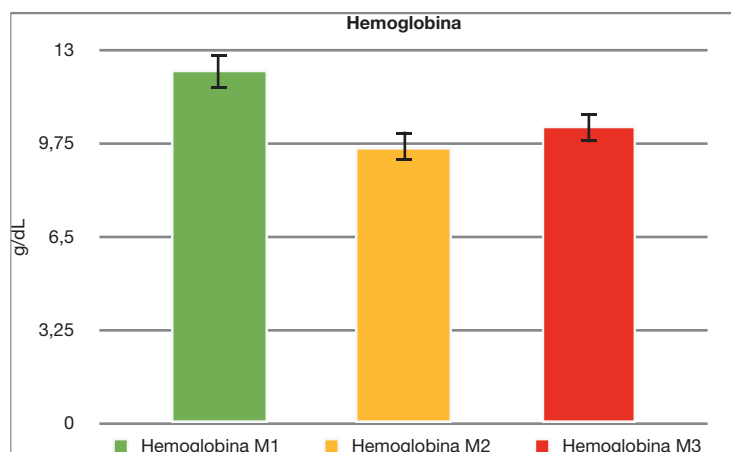


Figura 32. Hemoglobina en las tres fases. Se representa la concentración de hemoglobina en g/dL en las tres fases del estudio.

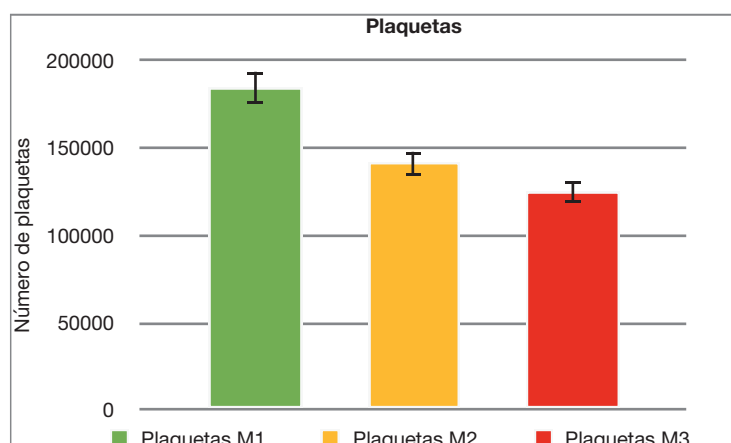


Figura 33. Nivel de plaquetas en las tres fases. Se representa el número de plaquetas en las tres fases del estudio.

4.2.2. Coagulación básica

Analizamos la relación entre los parámetros de la analítica de coagulación simple. Se observaron diferencias significativas entre el tiempo de protrombina en M1 y el tiempo de protrombina en M3 ($p=0,000$) y entre el fibrinógeno en M1 y M3 ($p=0,000$). Es decir, se observa un alargamiento del tiempo de protrombina entre M1 y M3, que aunque son significativos, ambos valores se mantienen en el rango de la normalidad. Algo similar se da en el fibrinógeno de M1 y M3. Hay un descenso del fibrinógeno tras la salida de CEC, afectado por la circulación extracorpórea y la cirugía. Esto implica la necesidad, en ciertos casos, de administración de fibrinógeno. Los valores del análisis de la prueba de coagulación durante M2 no se llevaron a cabo, por la anticoagulación completa del paciente con heparina sódica, para poder llevar a cabo una CEC segura, sin fenómenos trombóticos. Ver figuras 34 y 35. Estadística en tablas 5 y 6 (ANEXO II).

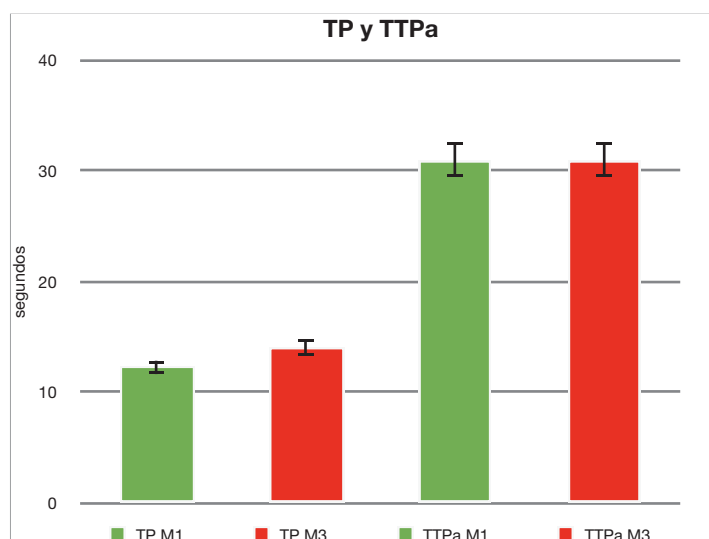


Figura 34. Tiempo de Protrombina y TTPa. Se representa el TP y el TTPa en M1 y M3. No se pueden analizar en M2 por la anticoagulación completa del paciente durante la circulación extracorpórea.

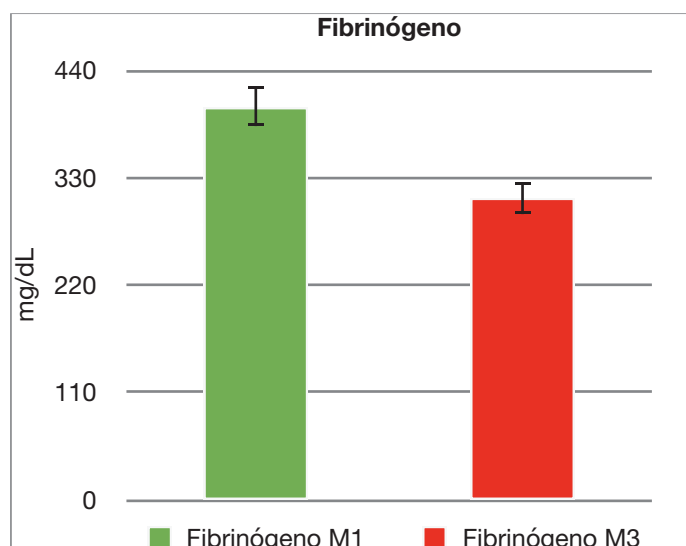


Figura 35. Niveles de fibrinógeno. Se representa el valor del fibrinógeno en mg/dL en M1 y M3. No se puede medir correctamente en M2 por la anticoagulación completa del paciente.

4.2.3. Bioquímica

La LDH es una enzima que nos puede indicar de forma indirecta un aumento de la hemólisis. En nuestro estudio, los valores de la misma se mantienen en sus tres fases dentro de los rangos de normalidad (105-333 UI/L). Sin embargo, observamos un aumento significativo de su valor durante la CEC y al final de la misma, dándose diferencias estadísticamente significativas entre M1-M3 ($p=0,003$) y entre M2-M3 ($p=0,007$). Ver figura 36. Estadística en tablas 7 y 8 (ANEXO II).

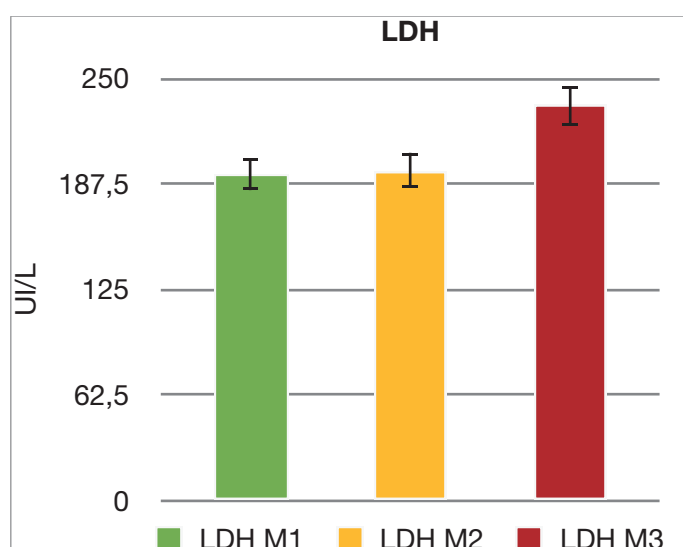


Figura 36. Lactato deshidrogenasa. Niveles de LDH en las tres fases del estudio.

La haptoglobina también se ve afectada en todas sus fases. Esto representa un signo indirecto de hemólisis. Se dan diferencias estadísticamente significativas en las tres fases: M1-M2 ($p=0,000$), M1-M3 ($p=0,000$) y M2-M3 ($p=0,000$). Hay que destacar que pese al descenso de su valor en M2 y M3 con respecto al basal o M1, se mantienen dentro de los valores de normalidad (41-165 mg/dL). Ver figura 37. Estadística en tablas 9 y 10 (ANEXO II).

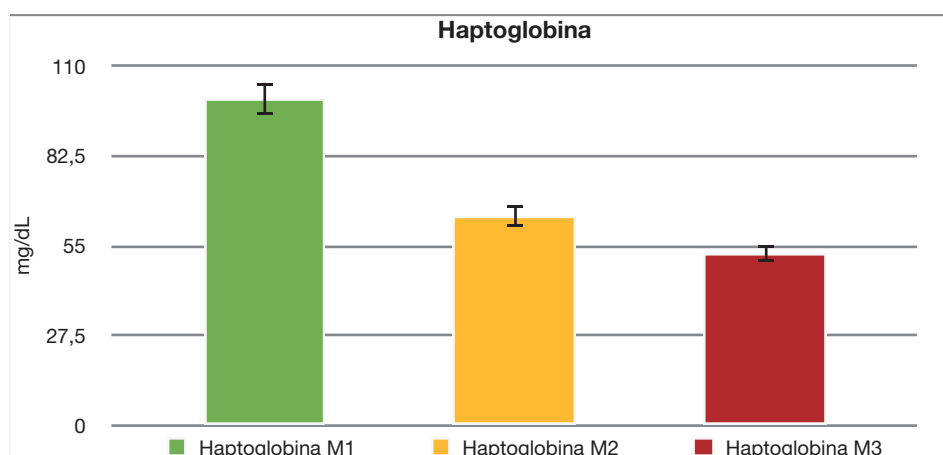


Figura 37. Haptoglobina. Niveles de haptoglobina en mg/dL en las tres fases del estudio.

Medimos la bilirrubina total en 17 pacientes de los 33, buscando sobre todo, su asociación con la hemólisis. Hay diferencias significativas entre M1 y M2 ($p=0,019$), pero no observamos un ascenso de la bilirrubina durante la CEC y en el postoperatorio inmediato. Los niveles normales van de 0,3 a 1,9 mg/dL. Sólo tuvimos un caso de hiperbilirrubinemia, que ya tenía un nivel basal elevado. Ver figura 38. Estadística en tablas 11 y 12 (ANEXO II).

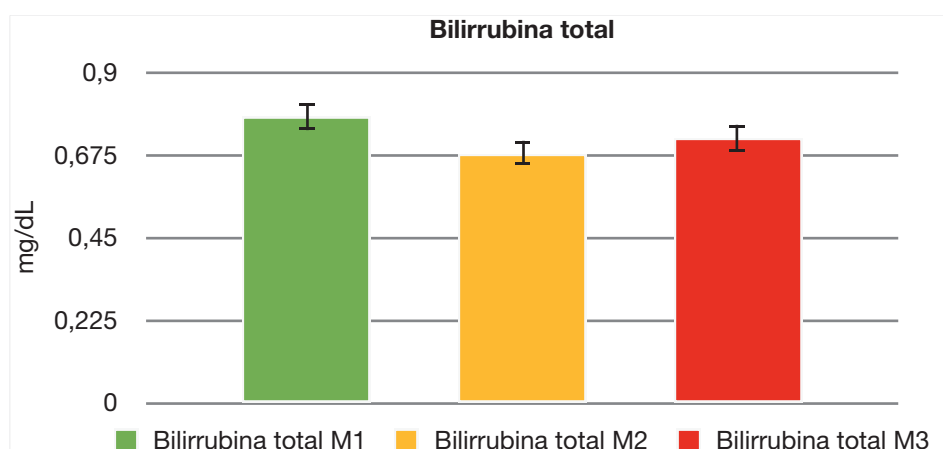


Figura 38. Bilirrubina total. Niveles de bilirrubina total en las tres fases del estudio.

El lactato es un marcador de perfusión orgánica. Cuando el gasto cardiaco y las condiciones hemodinámicas del paciente son las adecuadas, éste se mantiene dentro de los rangos de normalidad. Hay diferencias significativas entre lactato M1 y lactato M2 ($p=0,002$), y entre lactato M1 y lactato M3 ($p=0,001$), es decir, se observan diferencias entre los valores antes de entrar en CEC, durante la CEC y tras la salida de CEC. Sin embargo, aunque haya un ascenso de los niveles de lactato, estos permanecen dentro de los rangos de normalidad. Es decir, no tienen repercusión clínica, por lo que la hemodinámica durante todas las fases de la cirugía es la adecuada. Ver figura 39. Estadística en tablas 3 y 4 (ANEXO II).

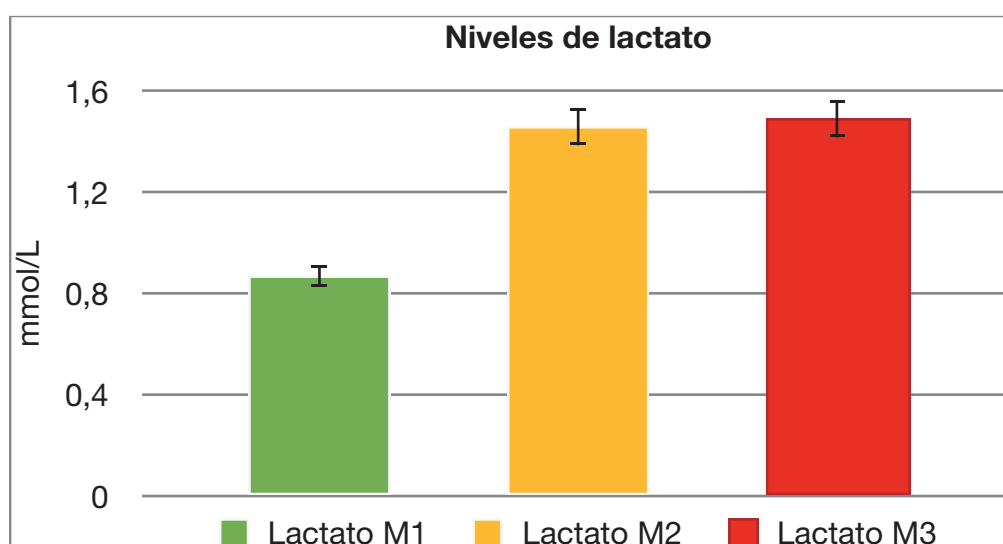


Figura 39. Niveles de lactato en las distintas fases. Se representa la concentración de lactato en mmol/L en las tres fases del estudio.

4.2.4. Tromboelastometría

Observamos diferencias estadísticamente significativas en los distintos estudios realizados al comparar las tres fases M1, M2 y M3 entre sí: INTEM, EXTEM y HEPTEM. En M2 no se puede medir el INTEM, EXTEM y FIBTEM por la anticoagulación completa durante la CEC. En el INTEM, hay diferencias en la amplitud de trombo a los 10 minutos (A10) ($p=0,000$) y en la máxima firmeza del coágulo (MCF) entre M1 y M3 ($p=0,001$). En el EXTEM, hay diferencias significativas en el tiempo de inicio del trombo (CT) ($p=0,000$) y en el A10 entre M1 y M3 ($p=0,001$). En el HEPTEM, se observan diferencias estadísticamente significativas en la mayoría de los parámetros medidos. Sin embargo, aunque las diferencias sean estadísticamente significativas, todos los valores se mantienen dentro de los parámetros de la normalidad. En el FIBTEM apreciamos diferencias significativas entre la MCF de M1 y M3 con una $p<0,05$. En ninguno de los estudios observamos datos de hiperfibrinólisis. Ver figuras de la 40 a la 51. Estadística en tablas 13 a 26 (ANEXO II).

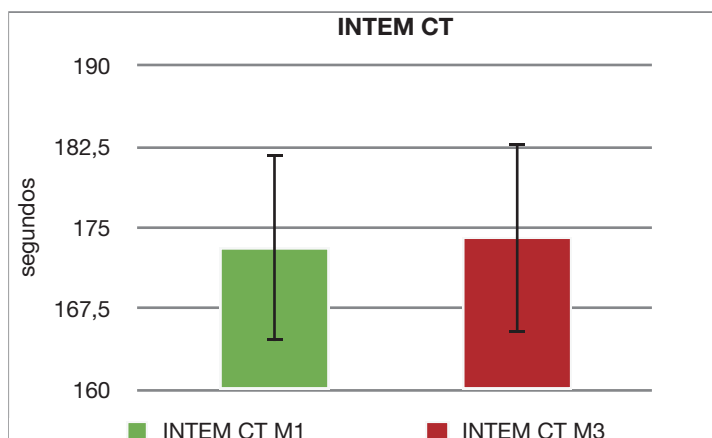


Figura 40. INTEM CT. Tiempo de inicio de la coagulación de la vía intrínseca en M1 y M3.

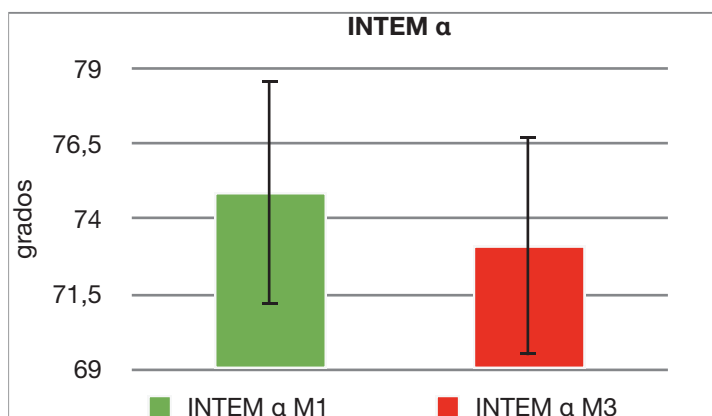


Figura 41. INTEM α. Ángulo α de la vía intrínseca en M1 y M3..

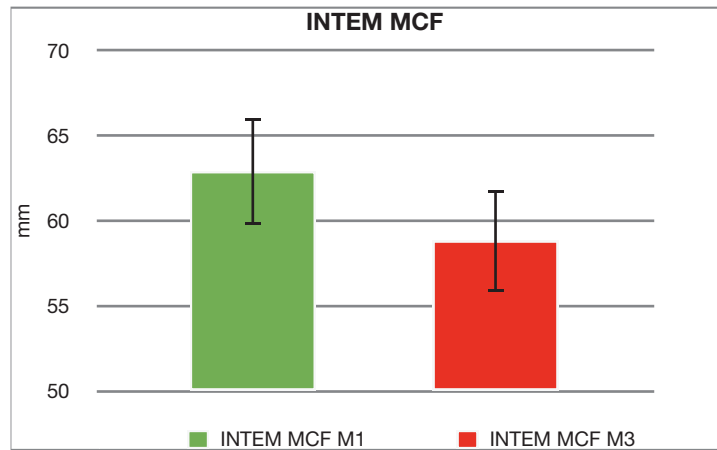


Figura 42. INTEM MCF. Máxima firmeza del coágulo de la vía intrínseca en M1 y M3.

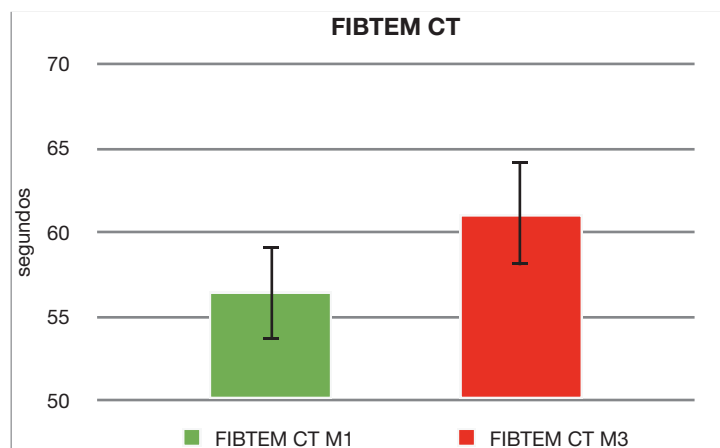


Figura 43. FIBTEM CT. Tiempo de inicio de la coagulación basado en la actividad del fibrinógeno en M1 y M3.

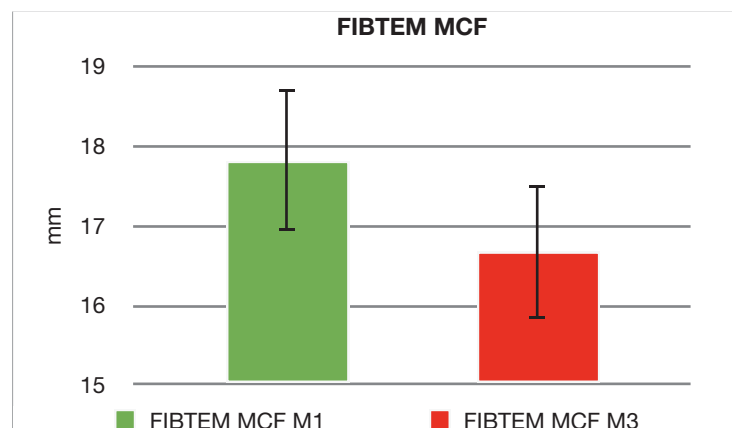


Figura 44. FIBTEM MCF. Máxima firmeza del coágulo basado en la actividad del fibrinógeno en M1 y M3.

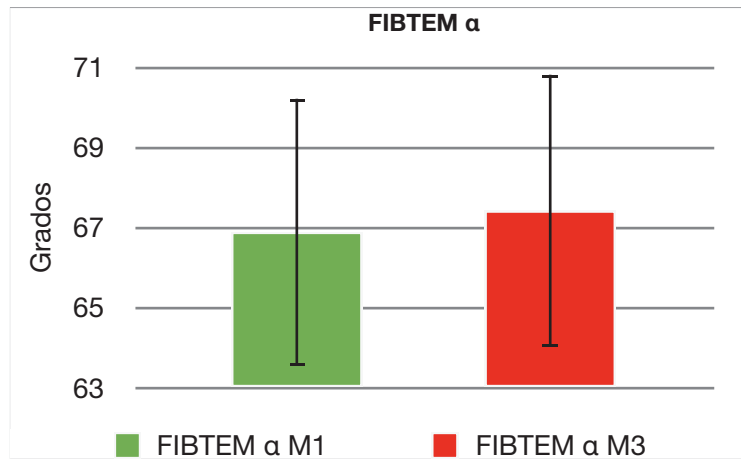


Figura 45. FIBTEM α. Ángulo α basado en la actividad del fibrinógeno en M1 y M3.

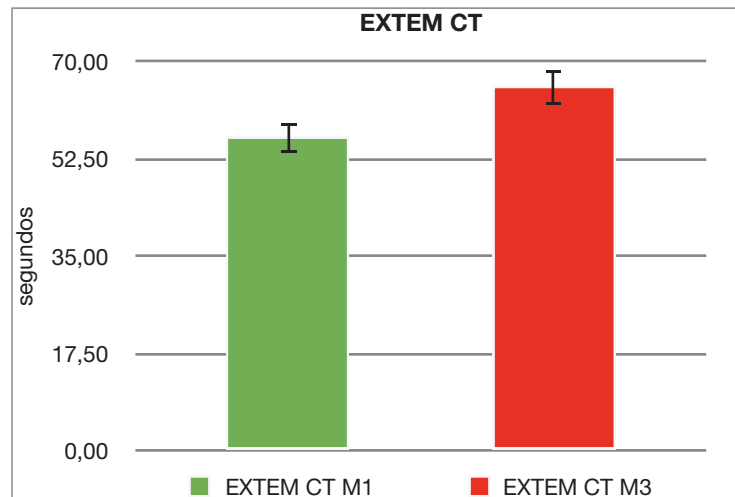


Figura 46. EXTEM CT. Tiempo de inicio de la coagulación de la vía extrínseca en M1 y M3.

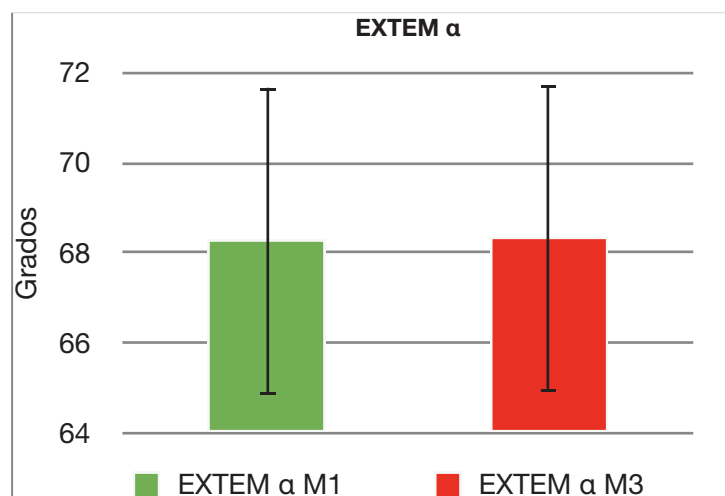


Figura 47. EXTEM α. Ángulo α de la vía extrínseca en M1 y M3.

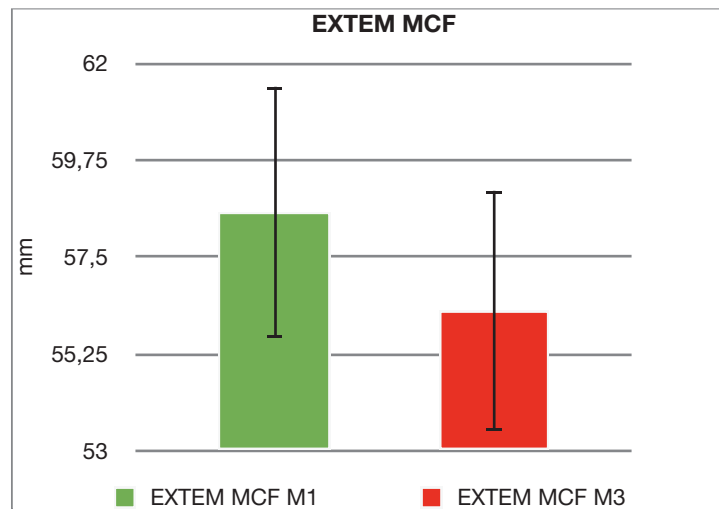


Figura 48. EXTEM MCF. Máxima firmeza del coágulo de la vía extrínseca en M1 y M3.

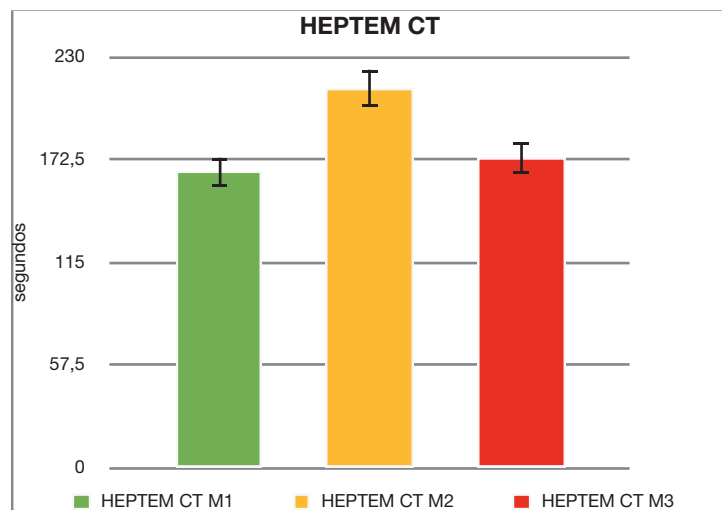


Figura 49. HEPTEM CT. Tiempo de inicio de la coagulación de la vía intrínseca en presencia de heparinasa en las tres fases.

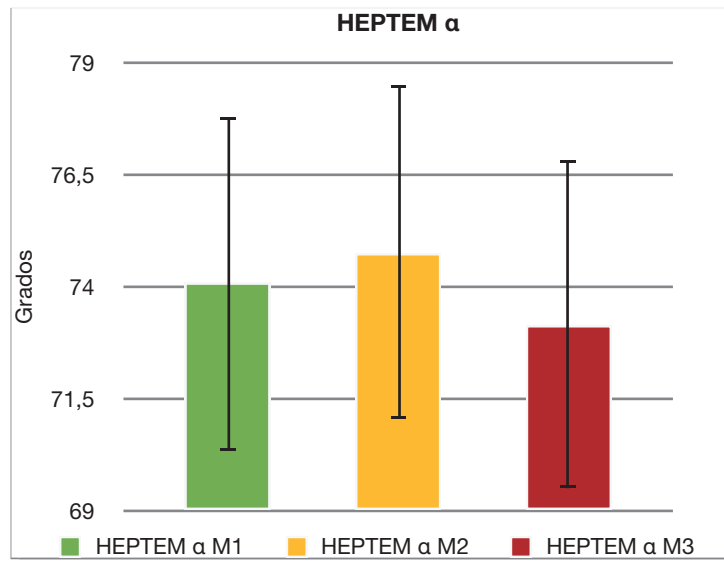


Figura 50. HEPTEM α . Ángulo α de la vía intrínseca en presencia de heparinasa en las tres fases.

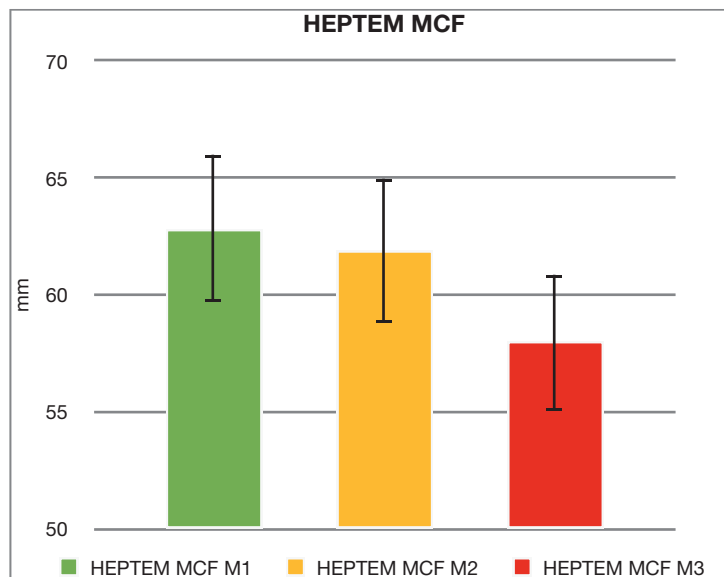


Figura 51. HEPTEM MCF. Máxima firmeza del coágulo de la vía intrínseca en presencia de heparinasa en las tres fases.

4.2.5. Estudio de la función plaquetaria con PFA-100®

No se observan diferencias significativas entre los datos de la función plaquetaria medidos con PFA tanto con la adición de EPI como de ADP.

Vemos que comparados con las referencias de normalidad de nuestro laboratorio, todos los valores basales estaban prolongados, tanto el tiempo de obturación de COL/EPI como el de COL/ADP.

Como se observa en la figura 52 hay una mejora del TO en el PFA COL/EPI de M1 a M3. Sin embargo, en la figura 53, vemos como el TO en el PFA COL/ADP se prolonga en M2 con respecto a M1, pero se recupera en M3, acercándose al basal. Ver tabla 11. Resto de estadística en tablas 27 a 30 (ANEXO II).

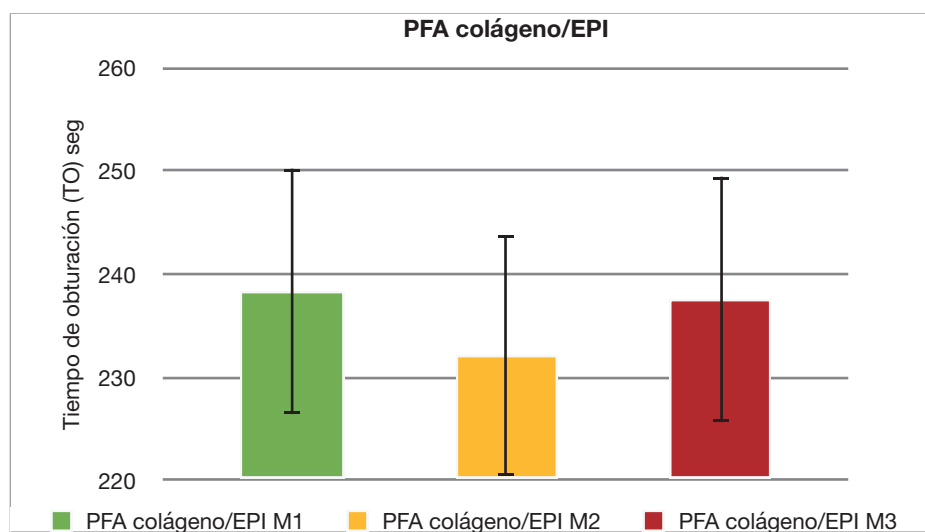


Figura 52. PFA colágeno/EPI.

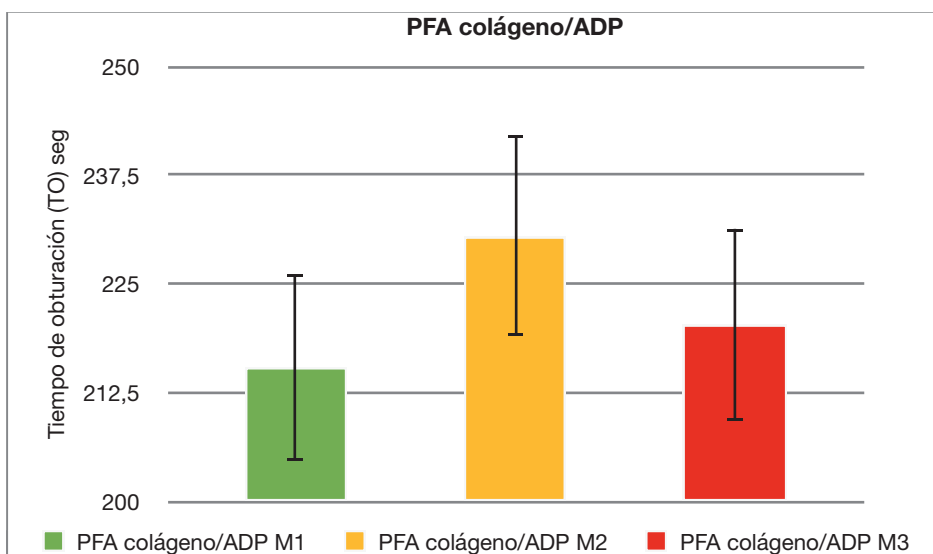


Figura 53. PFA colágeno/ADP.

Tabla 11. Media y desviación típica del tiempo de obturación (TO) (en segundos) obtenido con el PFA-100®.

	Media	Desviación típica
PFA colágeno/EPI M1	238,42	50,878
PFA colágeno/EPI M2	232,21	30,38
PFA colágeno/EPI M3	237,61	33,56
PFA colágeno/ADP M1	215,33	63,82
PFA colágeno/ADP M2	230,57	50,39
PFA colágeno/ADP M3	220,45	66,43

4.2.6. Estudio de la agregación plaquetaria con Multiplate® en sangre total

Observamos que con la CEC la agregación plaquetaria, medida con Multiplate®, aumenta o se normaliza. Con respecto al agonista ADP, hay una correlación significativa positiva en los valores de las tres fases. La agregación con ADP en M1 está normal ($60,48 \pm 19,154$), disminuye a niveles patológicos en M2 ($49,33 \pm 20,793$), pero se recupera en M3 ($57,45 \pm 25,034$). Los resultados son estadísticamente significativos entre la agregación con ADP M1-ADP M2, y ADP M2-ADP M3, con una p de 0,000 y de 0,027 respectivamente.

El agonista colágeno, que nos ayuda a medir la adhesión plaquetaria al subendotelio dañado, muestra una agregación basal en M1 de $50,58 \pm 18,825$ U y en M2 de $40,24 \pm 23,218$ U. Son valores por debajo de los valores normales. Sin embargo en M3, se recupera con un valor normal $72,18 \pm 57,910$ U. Hay una correlación significativa entre el valor del colágeno de M1 y M2. Las diferencias entre los tres valores son estadísticamente significativas.

El agonista ASPI, que nos va a medir la función de la vía de la ciclooxigenasa, encargada de transformar el ácido araquidónico en tromboxano A₂, presenta en todas las fases del estudio valores por debajo de la normalidad (ASPI 1 $57,88 \pm 29,003$ U, ASPI 2 $38,39 \pm 24,197$ U, ASPI 3 $37,30$ U). Presentan una correlación lineal significativa, y son estadísticamente significativos entre ASPI 1-ASPI 2 y ASPI 1-ASPI 3.

En nuestro estudio, el agonista Ristocetina Alto presenta unos resultados similares a los del agonista ASPI. El valor basal en M1, como en M2 y M3 están por debajo de la normalidad ($69,61 \pm 23,5$ U, $60,03 \pm 22,756$ U, $42,27 \pm 24,413$ U). Hay una correlación lineal significativa entre Risto Alto M1 y M2. Los tres valores son estadísticamente significativos entre sí.

Con el agonista TRAP (péptido activador del receptor de trombina) observamos niveles normales de agregación plaquetaria, con correlación significativa entre TRAP 2 y TRAP 3. Los resultados son estadísticamente significativos entre TRAP 1-TRAP 3 y entre TRAP 2-TRAP 3. Estadística en la tabla 31 a la 48 (ANEXO II). Figura 54.

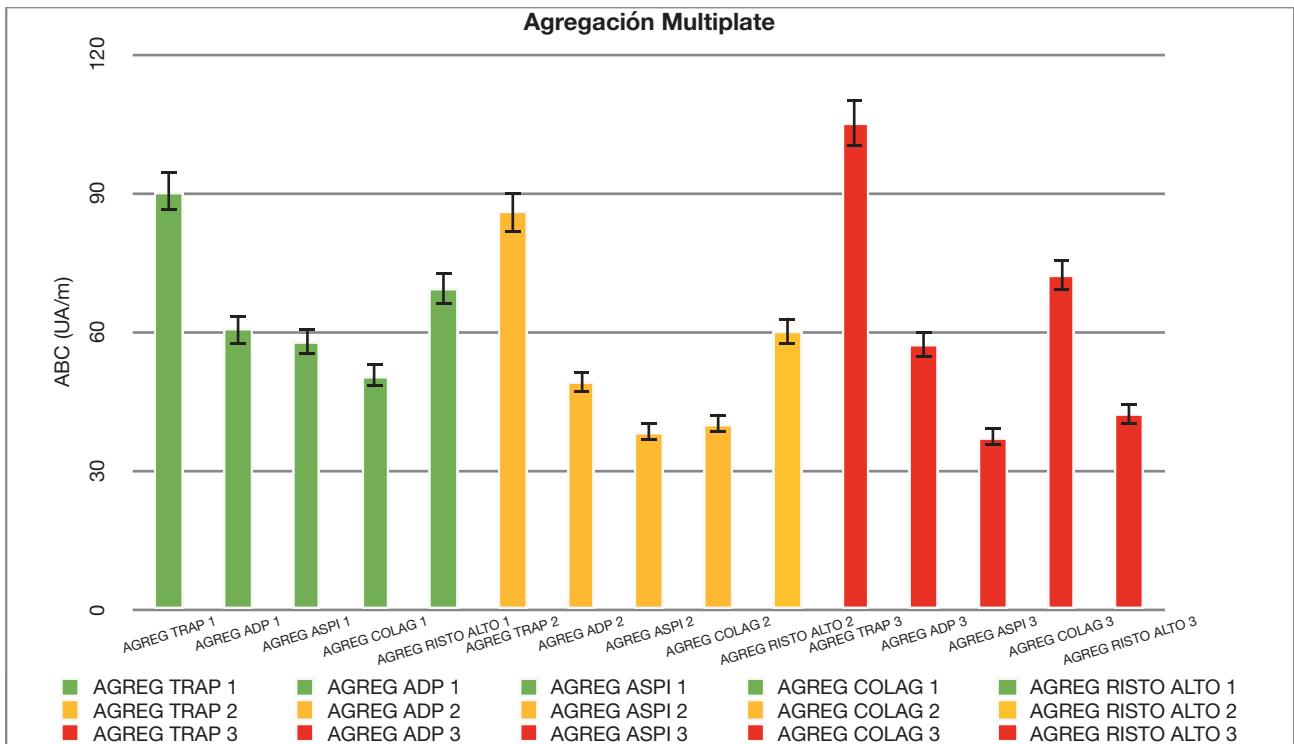


Figura 54. Agregación plaquetaria con Multiplate. En verde, fase M1. En amarillo, fase M2. En rojo, fase M3.

4.2.7. Estudio de la función plaquetaria a través de la citometría de flujo

Al medir la agregación (*platelet counting method*) con la ayuda del agonista TRAP, se aprecian niveles normales de agregación plaquetaria. Las diferencias son estadísticamente significativas entre TRAP 1-TRAP 3 ($p=0,019$) y entre TRAP 2-TRAP 3 ($p=0,001$). Al analizar la activación, observamos una correlación lineal significativa entre los tres valores en M1, M2 y M3. Se observa un descenso significativo de la activación plaquetaria de M3 con respecto a M2 ($p=0,008$) y no significativo con respecto a M1 ($p=0,054$). Como es lógico, y acorde a nuestros datos, también observamos un descenso en la proporción del incremento de la P-selectina o CD62P durante M2 y M3. Ver figuras de la 55 a la 58. Estadística en tablas 49 a 52 (ANEXO II).

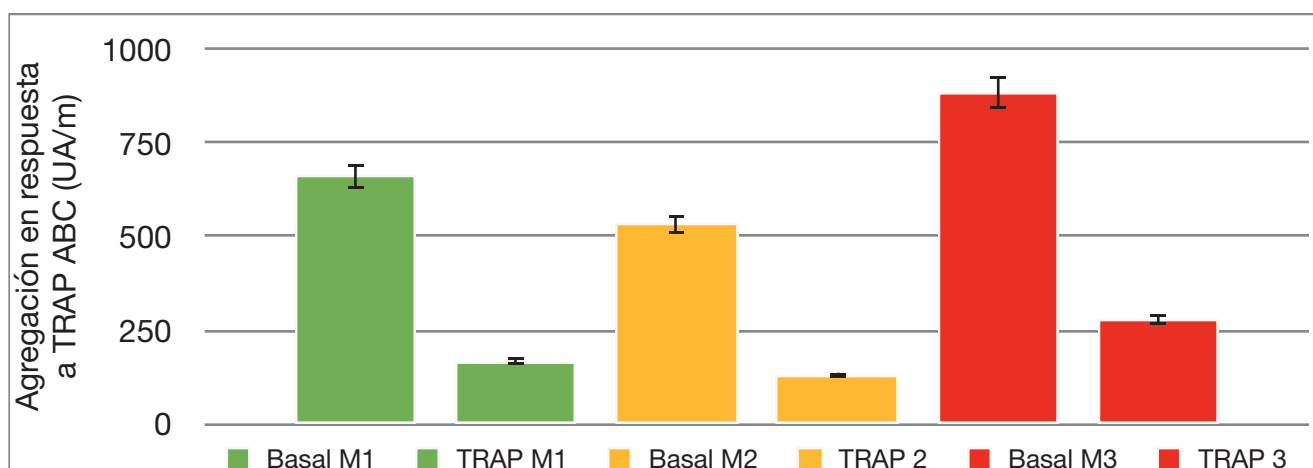


Figura 55. Agregación en respuesta a TRAP.

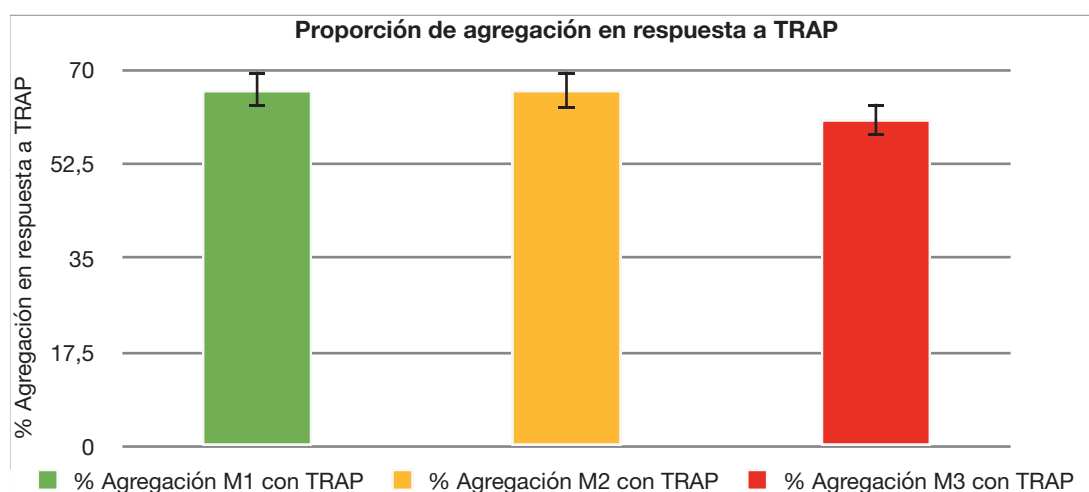


Figura 56. Proporción de agregación en respuesta a TRAP

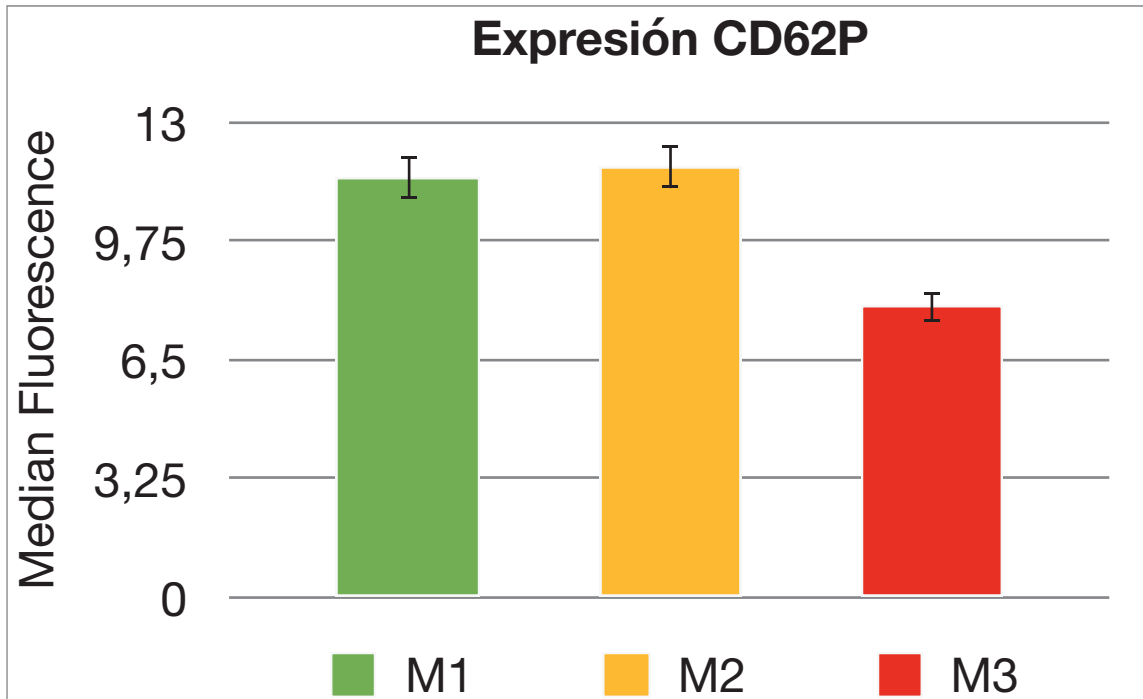


Figura 57. Expresión CD62P.

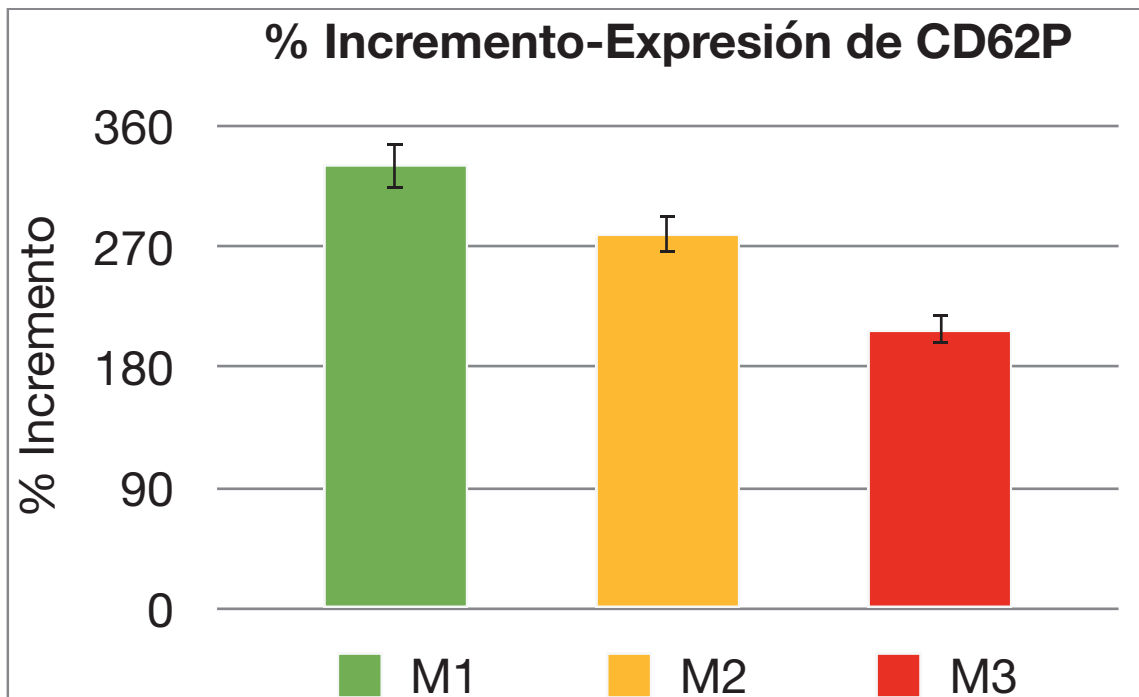


Figura 58. Proporción del incremento de la expresión de CD62P.

4.2.8. Tiempo de coagulación activado (TCA)

Para el estudio, recogimos los datos del TCA en M1 o muestra basal y en M3, tras la salida de CEC, a los 10 minutos de la finalización de la reversión del efecto de la heparina con protamina, en relación 1:1 con respecto a la heparina. Observamos una correlación positiva entre ambos datos. Las diferencias fueron estadísticamente significativas, con una $p < 0,05$, pero con los valores dentro de la normalidad. Ver figura 59.

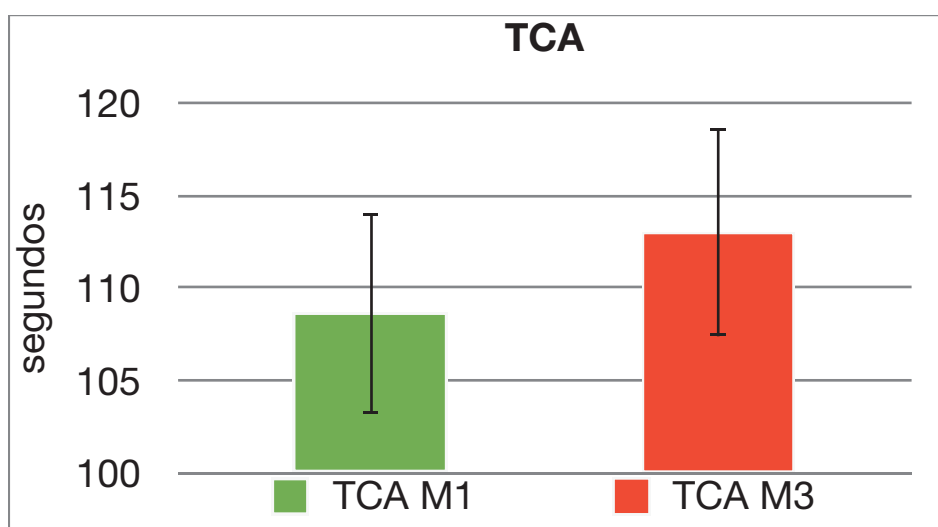


Figura 59. Valores del tiempo de coagulación activado (TCA).

4.3. RESUMEN DE LOS RESULTADOS. PUNTOS CLAVE.

1. Población.

- En nuestra población hay mayor proporción de varones que de mujeres.
- Los factores de riesgo cardiovascular más prevalentes son la HTA y la dislipemia.
- La patología de base más frecuente es la fibrilación auricular.

2. Hemograma, uso de hemoderivados y variables clínicas.

- Un tercio de los pacientes precisó de transfusión de concentrado de hematíes.
- El 84% precisó de concentrado de fibrinógeno.
- A menor hemoglobina basal, mayor necesidad de concentrado de hematíes.
- A mayor uso de concentrado de hematíes, mayor demanda de fibrinógeno.
- A mayor obtención de volumen de salvacélulas, mayor necesidad de plaquetas.
- A mayor uso de plaquetas, se producen estancias más prolongadas en UCI.
- Descenso significativo de hemoglobina y plaquetas tras la salida de CEC con respecto al basal, pero dentro de los rangos de normalidad.

3. Coagulación.

- Aumento significativo del TP y TTPa tras la salida de CEC con respecto al basal, dentro de valores normales.
- Descenso significativo de los niveles de fibrinógeno con respecto al basal, aunque se mantienen dentro de valores normales.

4. Bioquímica.

- Aumento significativo de los niveles de LDH y descenso de los valores de haptoglobina tras la salida de CEC con respecto al basal.
- Aumento significativo de los niveles de lactato tras la salida de CEC con respecto al basal, pero dentro de los valores normales.

5. Tromboelastometría.

- Se aprecia un aumento significativo en los parámetros medidos con los estudios INTEM, EXTEM y HEPTEM entre los valores basales y tras la salida de CEC, pero dentro de los rangos de normalidad.
- Hay un aumento significativo entre la MCF del FIBTEM M1 y M3, pero dentro del rango de normalidad.

6. PFA-100.

- No hay diferencias significativas en los valores medidos con PFA.

7. Multiplate.

- Se observa un descenso significativo de la capacidad de la agregación plaquetaria de M2 con respecto a M1, pero una recuperación de la misma a valores normales en M3.

8. Citometría de flujo.

- Se muestra un descenso significativo de la expresión de P-Selectina de M3 con respecto a M1, por lo que con nuestros datos, la CEC no aumenta la activación plaquetaria, sino que la disminuiría.

9. TCA.

- Hay un aumento significativo entre los valores del TCA entre M1 y M3, pero se mantienen dentro de valores normales.

5. DISCUSIÓN

5. DISCUSIÓN

5.1. POBLACIÓN SOMETIDA A ESTUDIO

Los pacientes analizados en este estudio observacional prospectivo longitudinal, pertenecen al Servicio de Cirugía Cardiovascular y al Servicio de Cardiología del HCUVA. Los pacientes presentan el diagnóstico de estenosis aórtica severa confirmada con la clínica y con los datos ecocardiográficos.

El Servicio de Cirugía Cardiovascular es referencia en la Comunidad Autónoma de Murcia, para el recambio valvular aórtico con abordaje quirúrgico y soporte de circulación extracorpórea. Para el tratamiento de estos pacientes hay una gran relación interdisciplinar entre las especialidades de Cirugía Cardiovascular, Cardiología, Medicina Intensiva y Anestesiología, y un apoyo de la enfermería dedicada a la perfusión, la de quirófano y los cuidados postoperatorios.

5.2. DIFICULTADES EN EL PROYECTO

El Servicio de Cirugía Cardiovascular es referencia en la Región de Murcia, así como muchas especialidades del HCUVArrixaca, esto supone que en ocasiones fuera necesario cambiar la programación de cirugía cardíaca para asumir urgencias de cirugía cardíaca o tener que posponer ciertas cirugías por saturación de la Unidad de Cuidados Intensivos. Por este motivo tuvimos que ampliar el periodo de recogida de los casos para completar el número de pacientes objetivo.

Perdimos algún caso por problemas de la medicación anticoagulante o antiagregante de los pacientes. Todos los pacientes y familiares colaboraron con el estudio y con la recogida de muestras.

Otro punto complejo del estudio fue el importante esfuerzo en el procesamiento de las muestras en diferentes dispositivos para completar el estudio: ROTEM® (tromboelastometría), ACL TOP 750CTS® (coagulación), analizador automático Sysmex® XN-20 (hemograma), función plaquetaria en sangre completa con el PFA-100®, el analizador Multiplate®, el citómetro de flujo FACSCanto™ II, el Múltiple-Sample Agitator, el Hemochron® Jr,... entre otros. Por eso, desde aquí, quiero poner en valor la colaboración de todo el personal de enfermería de los quirófanos de CCV, del equipo de perfusión, y por

supuesto del trabajo de procesamiento de las muestras por parte de todo el equipo de investigación.

El estudio estadístico también requirió de un gran trabajo por la cantidad de variables analizadas por el servicio de estadística del IMIB.

5.3. VARIABLES CLÍNICAS

La cohorte de pacientes diagnosticados de estenosis aórtica de nuestro estudio presenta una media de 68,27 años, con un rango de edad de 48 a 82 años. Hemos de tener en cuenta que la estenosis aórtica es una de las valvulopatías más frecuentes en los pacientes añosos y a su vez es la más frecuente en nuestro medio [228]. Dependiendo del criterio diagnóstico empleado, su prevalencia varía de un 12% a un 26% en mayores de 75 años. En nuestro caso definimos la estenosis aórtica severa como aquella que presenta un área valvular menor de 0,8 cm², gradiente transvalvular máximo >80 mmHg ó velocidad máxima del flujo aórtico >4,5 m/seg [229].

La población a estudio presenta características similares a las publicadas en la bibliografía [230], tanto demográficas, como hemos visto previamente, como en el sexo, el 33% son mujeres y el 67% varones. También en las patologías concomitantes, siendo la más frecuente la HTA en un 75,76% de los pacientes. Es de reseñar que la HTA es la enfermedad cardiológica más frecuente a nivel poblacional. El 30,3% presentan DM2, que comparado con cifras aportadas del Servicio Murciano de Salud [231], está en torno a un 13% global y por encima del 30% en mayores de 75 años. Además destaca que presentan en un 21,21% fibrilación auricular crónica, un 12,12% patología vascular periférica, un 12,12% con ACV previo y un 27,27% son fumadores.

5.4. VARIABLES ANALÍTICAS

5.4.1. Hemograma y uso de hemoderivados. Relación con variables clínicas.

Los pacientes presentan un valor basal medio de hemoglobina de 13,39 g/dL, con datos que van de 9,4 g/dL a 16,6 g/dL. El valor medio de la hemoglobina del paciente en el momento del alta hospitalaria es de 10,75 g/dL. La OMS define la anemia en adultos con unos niveles de hemoglobina en hombres < 13 g/dL, en mujeres < 12 g/dL y en embarazadas < 11 g/dL [232].

En nuestro caso, el 24,24% de los pacientes presentaban anemia basal. En la literatura se habla de cifras de anemia preoperatorias en torno al 30% y en países como Reino Unido del 23% al 45% [233].

Con el análisis de correlación, vemos que hay una correlación significativa muy fuerte entre la anemia y la necesidad de transfusión de concentrados de hematíes, con una $p=0,004$. El 33% del total de pacientes precisó transfusión de concentrados de hematíes, con una media de $0,82 \pm 1,26$ unidades. Pero en los pacientes anémicos esta proporción aumentó a un 62,5%, con una media de 1,625 unidades. En nuestro estudio, la mayor tasa transfusional en estos pacientes, no se relacionó con mayor tasa de complicaciones ni mayor estancia hospitalaria. Aunque está claro que la transfusión de concentrados de hematíes puede salvar vidas, su uso también se puede relacionar con importantes comorbilidades asociadas [234]. En nuestro centro abogamos por una política restrictiva transfusional, tanto por la escasez de hemoderivados como por los potenciales efectos adversos que presenta. Nuestro umbral transfusional es de 8 g/dL durante el procedimiento quirúrgico, aunque, por supuesto, la indicación de transfusión dependerá además de los valores de la hemoglobina, de la situación clínica del paciente e individualizando en pacientes de alto riesgo quirúrgico o con problemas coronarios. Seguimos las recomendaciones de la literatura como el estudio multicéntrico TITRe2 (*Transfusion Indication Threshold Reduction*) [235]. Existe todavía mucha controversia mundial sobre las estrategias restrictivas de transfusión frente a las liberales. Nakamura et al. (2015) encuentran que una estrategia liberal transfusional puede reducir el shock cardiogénico en pacientes mayores de 60 años [236]. En el estudio multicéntrico TRICS III (*Transfusion Requirements in Cardiac Surgery*) [237] demuestran que utilizar un umbral transfusional de 24% de hematocrito u 8 de g/dL de hemoglobina es igual de seguro que otro de 28% de hematocrito. No observan complicaciones postoperatorias distintas ni

estancias hospitalarias diferentes en ninguno de los dos grupos, al igual que en nuestro estudio. Por tanto, abogamos por un dintel transfusional bajo, como el que utilizamos en nuestro quirófano, porque supone una mejor optimización de los escasos recursos transfusionales sin un aumento del riesgo de eventos adversos [238].

En nuestros resultados apreciamos diferencias significativas entre los niveles de hemoglobina de todas las fases, si bien se terminan recuperando parcialmente en M3. Es un comportamiento similar al que se describe en la mayoría de revisiones como la de Terwindt (2019) [239], en la que se destaca que los niveles de hemoglobina se van a ver afectados por el nivel preoperatorio, la anemia dilucional y el sangrado durante la cirugía. Aplicamos un umbral de transfusión bajo, consiguiendo un nivel adecuado de hemoglobina tras CEC. En cuanto a los niveles de plaquetas, también se aprecian diferencias significativas entre las tres fases, si bien los niveles se mantienen dentro de los límites de normalidad de nuestro laboratorio.

Teniendo en cuenta en primer lugar la situación clínica del paciente y la información procedente de los estudios de coagulación y la tromboelastometría, según nuestra práctica habitual y para mejorar la hemostasia, un 18,18% precisó de plasma fresco congelado (media de $0,39 \pm 0,86$ unidades), un 24,24% necesitó plaquetas (media $0,30 \pm 0,58$ pool) y un 84,85% necesitó concentrado de fibrinógeno ($2,64 \pm 1,87$ gramos).

Los datos en la bibliografía sobre el uso de hemoderivados para mejorar la hemostasia en cirugía cardíaca son variados. Ming Y. (2020) en su estudio de dos centros con 8238 pacientes, recoge que el 37,4% recibió concentrados de hematíes, el 12,5% plasma fresco y el 6,5% plaquetas [240]. Destaca que en nuestro caso el uso de concentrados de hematíes es menor, pero tanto el de plasma como el de plaquetas es mayor. Este autor concluye que la transfusión de cualquier hemoderivado aumenta la mortalidad y complicaciones de forma independiente. Otros autores como Ninkovic S. (2018) presenta una proporción transfusional de plaquetas del 13,8%. No asocia, en su caso, la transfusión con un aumento de la mortalidad [241]. Como hemos comentado previamente, está claro que hay que realizar un uso racional de hemoderivados, tanto por la escasez de los mismos como los efectos

deletéreos que pueden presentar. También es importante poner en valor la importancia de la disminución de reintervenciones en cirugía cardíaca, por lo que es básica tanto la hemostasia del cirujano en el campo quirúrgico como la optimización de la misma con hemoderivados y factores de la coagulación. Redfern et al. (2019) [242] demuestra un descenso al 3,5% de reintervenciones tras un manejo protocolario de la hemostasia guiado por datos clínicos, analíticos y la tromboelastografía, consiguiendo una reducción de las reintervenciones al 3,5%. En nuestra serie, sólo un paciente precisó de reintervención, un 3,03%. La disminución de las reintervenciones supone un descenso de la mortalidad, morbilidad, del gasto sanitario y de la estancia hospitalaria [242].

Algo similar sucede con el uso de concentrado de fibrinógeno. Su utilización en la literatura es variable con rangos que van del 10% al 30% en cirugía cardíaca [243]. En nuestro estudio fue utilizado en un 84,85%. Está demostrado que su uso no aumenta las complicaciones tromboembólicas o la muerte ni a 30 días ni tras un año de la cirugía [243]. Observamos una relación significativa entre el uso de concentrado de fibrinógeno y concentrados de hematíes. Tendría explicación por la mayor pérdida sanguínea y por tanto mayor necesidad de reposición de fibrinógeno y hematíes.

La mortalidad postoperatoria al año de la cirugía fue del 3,03%. Falleció un paciente. En una revisión de Iung B. (2005) [244] se estima una mortalidad tras recambio valvular aórtico quirúrgico en torno al 2,8%, pero puede ascender a un 10% en caso de pacientes con alto riesgo quirúrgico o fracción de eyección de ventrículo izquierdo deprimida. En nuestro caso el éxito fue causado por complicaciones respiratorias que precisaron de larga estancia en UCI y ventilación mecánica. No hemos estudiado pormenorizadamente las posibles causas del éxito, no siendo éste el propósito máximo de esta tesis.

El uso de técnicas de recuperación sanguínea durante la cirugía cardíaca está ampliamente utilizado. Dentro de nuestro protocolo de ahorro de hemoderivados, lo usamos en todas las cirugías que precisen de circulación extracorpórea. El volumen medio obtenido por cirugía fue de $292 \pm 118,18$ ml. Los datos en la literatura son muy variados. Al Khabori (2019) en un revisión sistemática sobre 624 publicaciones concluye que su uso no disminuye

el impacto en las tasas de transfusión de concentrados de hematíes, plasma o plaquetas. Lo achaca a las limitaciones de los estudios [245]. Wang G. (2009), por otro lado, en una revisión sobre 31 estudios randomizados en 2282 pacientes, concluye que el uso del salvacélulas reduce el consumo de hemoderivados, sobre todo de concentrados de hematíes. Sugiere que para que sea realmente efectivo, se ha de utilizar durante todo el procedimiento quirúrgico [246]. Klarenbosch J. (2020) tampoco asocia su utilización a una mayor tasa de infecciones [247]. En nuestro estudio, no hicimos grupo control comparando el uso del salvacélulas frente a su no utilización, es decir, lo utilizamos en todos los pacientes. En las relaciones cruzadas con el uso del salvacélulas, vemos que con volúmenes más elevados de recuperación, se observa un aumento en la utilización de aféresis de plaquetas. Esto podría explicarse por el hecho de que a mayor obtención de volumen de hematíes por parte del salvacélulas más sangre del paciente ha sido procesada, por lo tanto, mayor alteración de la coagulación se produce.

Como cabía esperar, hay una relación significativa entre el tiempo de circulación extracorpórea y el tiempo de pinzamiento aórtico. El tiempo medio de CEC fue de $74,27 \pm 25,73$ minutos, y el de pinzamiento aórtico de $58 \pm 16,62$ minutos. Höfer et al. (2016), en su revisión asocia el tiempo de CEC, con la coagulopatía en cirugía cardíaca, sobre todo, con la alteración del fibrinógeno y las plaquetas [248]. Pero las alteraciones de la hemostasia en este tipo de procedimientos son complejas, y obviamente no se pueden deber sólo al factor tiempo. En nuestro caso, no encontramos relación entre el tiempo y los hemoderivados.

Los drenajes a las 24 h no se vieron afectados por el uso de hemoderivados. Tampoco se vio afectado el tiempo de estancia en UCI ni el global hospitalario por la transfusión.

5.4.2. Coagulación básica

Al comparar los valores básicos de la coagulación, comprobamos que en la fase M2, es decir, la fase de anticoagulación con heparina sódica durante la circulación extracorpórea, no se pueden calcular correctamente los valores, ya que el analizador de coagulación considera que los valores se salen de rango y no puede dar una cifra concreta. Por ello hemos comparado los valores obtenidos en M1 (preCEC) y M3 (postCEC).

Hay diferencias significativas entre el tiempo de protrombina de M1 frente al de M3, al igual que con el tiempo de tromboplastina parcial activado. Pero, aunque hay una alteración, ambos valores se mantienen dentro de los rangos normales de nuestro laboratorio. Son resultados similares a los de Khalaf-Adeli (2019) [249], que aboga por una complementación de los resultados de la tromboelastometría con respecto a los estudios clásicos de la coagulación, por su posibilidad de realizarse en la cabecera del paciente y por la rapidez de actuación. Achacamos esta normalización de los valores de la coagulación porque en este tipo de intervención los tiempos de CEC son cortos y siguiendo nuestro protocolo, detectamos y corregimos precozmente las posibles alteraciones de la hemostasia.

Se observan diferencias significativas en los niveles de fibrinógeno entre la fase M1 y la fase M3. Aunque las diferencias son estadísticamente significativas, el nivel de M3 se mantiene dentro de los niveles de normalidad. El papel del fibrinógeno en la hemostasia es básico y se ve afectado por los procedimientos con circulación extracorpórea, como ya explicamos en la introducción. Siguiendo los consejos de la Sociedad Europea de Anestesia Cardiorácica (EACTA) [250] hemos asociado a nuestro protocolo tanto las pruebas de coagulación básicas como la tromboelastometría, que nos permite realizar un diagnóstico precoz y tratamiento rápido de la hipofibrinogenemia secundaria a la cirugía.

5.4.3. Bioquímica

En la medición de los niveles de haptoglobina, hay diferencias estadísticamente significativas en todas las fases del estudio. Es un resultado muy interesante, porque demuestra que durante la CEC hay cierto grado de hemólisis, que como se comentó en la introducción depende de diferentes factores. La haptoglobina, es la proteína plasmática que se une a la hemoglobina libre formando complejos hemoglobina-haptoglobina [251]. De este modo se consigue su degradación en el hígado, monocitos y macrófagos. Incluso se planteó su administración como prevención del fallo renal asociado a la hemólisis [252]. En nuestro caso, dado el amplio rango de los valores fisiológicos de la haptoglobina, que van de 41 a 165 mg/dL, observamos un descenso en M2 y M3 respecto al basal M1, pero siempre dentro de los valores de la normalidad.

En las mediciones de la enzima lactato deshidrogenasa (LDH), apreciamos diferencias estadísticamente significativas entre la fase postCEC y la basal. La LDH es una enzima que permanece en el citoplasma celular, catalizando las reacciones de oxidación y reducción entre el ácido pirúvico y el ácido láctico. La LDH se concentra de forma mayoritaria en los eritrocitos, siendo su concentración 100 veces mayor que en el plasma. Tras una rotura de hematíes o una alteración en su morfología, la LDH intracelular se libera al plasma, aumentando así la concentración plasmática de LDH. Se considera un biomarcador muy sensible para evaluar la posible hemólisis causada por las asistencias circulatorias, incluso superior en rapidez y precisión a la hemoglobina libre [253,254]. Como venimos observando en muchos análisis de este estudio, también con la LDH se observa un comportamiento similar, en cuanto a que hay un ascenso de la misma, pero manteniéndose dentro de los niveles normales de nuestro laboratorio (105-333 UI/l).

La incidencia de hiperbilirrubinemia, entendida como tal como un nivel de bilirrubina superior a 3 mg/dL, es una situación que puede darse tras cirugía cardíaca cuando se necesita CEC. Varios estudios muestran una incidencia tras CEC de un 10% a un 40% [255,256]. Es una situación clínica que puede asociarse con una alta mortalidad en el postoperatorio. Esta disfunción puede deberse a factores asociados a la CEC, como la hemólisis, la hipoperfusión o la respuesta inflamatoria sistémica, el tiempo de CEC y el tiempo de pinzamiento aórtico, a

la transfusión de hemoderivados y también a alteraciones de la función hepática [257]. En nuestro estudio, decidimos medir los niveles de bilirrubina, sobre todo enfocado a la posible generación de hemólisis. No tuvimos ningún caso de hiperbilirrubinemia en las muestras recogidas. Quizás lo podríamos asociar a tiempos bajos de CEC, baja tasa de transfusión y niveles basales normales de bilirrubina. Por tanto, como describe Hilal T. (2019) [258], la hemólisis es un fenómeno que puede darse tras la realización de cirugía cardíaca o la implantación de dispositivos de asistencia cardíaca. Según la gravedad de la hemólisis, su influencia en la hemostasia es variable, y puede ser desde asintomática a problemas de hiperbilirrubinemia, disfunción renal, trombosis de los dispositivos de asistencia, fallo del ventrículo derecho y como consecuencia del mismo, fallo hepático [258]. Así, la hemólisis es una complicación en la que pensar siempre que se precise de CEC.

Con respecto a los niveles de ácido láctico durante el procedimiento quirúrgico, se observan diferencias significativas entre los niveles previos a la CEC (M1) y durante la CEC (M2), y a su vez entre M1 y M3. Aunque el aumento del ácido láctico con respecto al basal es significativo, sus valores se mantienen dentro de la normalidad. Los valores de referencia en nuestro centro van de 0 a 2 mmol/L. Es decir, el ligero aumento del ácido láctico durante la CEC se mantiene dentro de los valores normales y no tiene significación clínica, si bien, es un parámetro muy importante a la hora de valorar posibles problemas de perfusión tisular durante la cirugía [259,260].

5.4.4. Tromboelastometría

En nuestro protocolo de manejo de la coagulopatía intraoperatoria, la tromboelastometría es un pilar fundamental para el diagnóstico y tratamiento precoz de la misma, utilizando pautas similares a las de Zaky (2017) o Sarrais (2018) [261,262]. Observamos diferencias estadísticamente significativas en los distintos estudios realizados al comparar las tres fases M1, M2 y M3 entre sí: INTEM, EXTEM y HEPTEM. En el INTEM, hay diferencias en la amplitud del trombo a los 10 minutos (A10) y en la máxima firmeza del coágulo (MCF) entre M1 y M3. En el EXTEM, hay diferencias en el tiempo de inicio del trombo (CT) y en el A10 entre M1 y M3. En el HEPTEM, se observan diferencias estadísticamente significativas en la mayoría de los parámetros medidos. Sin embargo, aunque las diferencias sean estadísticamente significativas, todos los valores se mantienen dentro de los parámetros de la normalidad. En el FIBTEM apreciamos diferencias significativas en la máxima firmeza del coágulo entre M1 y M3, pero con los valores dentro de la normalidad. Asociamos estos resultados a un conjunto de factores: tratamiento precoz de signos clínicos o analíticos de coagulopatía, adecuada hemostasia intraquirúrgica, tiempo de circulación extracorpórea corto y óptima técnica de manejo de la bomba de circulación extracorpórea.

A diferencia de Meesters (2019) [263], que considera que el ROTEM no predice los pacientes que presentan mayor riesgo de sangrado postoperatorio en cirugía cardíaca, en nuestro centro consideramos, al igual que Gozdzik (2017) o Ghavidel (2015) [264,265] que la realización de tromboelastometría previa a la cirugía y tras la reversión de la heparina, permite identificar a los pacientes que presentan mayor riesgo de sangrado postoperatorio.

No apreciamos datos en el ROTEM que nos muestren hiperfibrinólisis. La mejor manera de evitarla es la prevención con la administración de antifibrinolíticos, en nuestro caso, ácido tranexámico. Las dosis publicadas en la literatura son muy variables [266]. Utilizamos una dosis de carga de ácido tranexámico de 10 mg/kg seguido de una perfusión de 1 mg/kg/h. Hemos optado por dosis más bajas, para minimizar los riesgos neurológicos que pueden producirse con dosis altas de ácido tranexámico [266].

5.4.5. Estudio de la función plaquetaria con PFA-100®

En nuestro estudio observamos que no hay diferencias estadísticamente significativas, ni una correlación significativa en los resultados de la función plaquetaria medida mediante el PFA-100®. A diferencia de Sucker (2011) [267] que con una muestra similar a la nuestra, demuestra alteraciones en la función plaquetaria medidas mediante PFA-100® en pacientes sometidos a recambio valvular aórtico, asociando esta alteración a los flujos turbulentos que se pueden producir en los circuitos de la circulación extracorpórea.

Como Bogdanic (2020) [268], consideramos que el valor del número de plaquetas por sí solo no debería considerarse como el *gold standard* para la indicación de la transfusión de plaquetas, ya que no indica el estado de la función plaquetaria. De tal modo, asociando el PFA-100® a nuestra batería de pruebas diagnósticas en cirugía cardíaca, se podría mejorar de forma más óptima el diagnóstico y posible tratamiento de alteraciones plaquetarias.

Un punto a destacar son los valores basales medios de los pacientes, en los que tanto el valor del colágeno/EPI como el de colágeno/ADP están prolongados con respecto a los valores de normalidad. Tal vez el hecho de presentar la patología valvular de base podría suponer un estado de activación plaquetaria que haría que se muestren estos resultados a pesar de la selección de los pacientes y de la adecuada extracción de la muestra. De todas formas, se trata de un screening del que aisladamente no se pueden sacar conclusiones definitivas del estado de función plaquetaria del paciente.

5.4.6. Estudio de la agregación plaquetaria con Multiplate® en sangre total

Globalmente observamos que con la CEC la agregación plaquetaria, medida con Multiplate®, aumenta o se normaliza. Es un dato importante a tener en cuenta, el que estos estudios se realizan con sangre entera pero de un modo estático. Sin embargo, en condiciones reales, la sangre pasa por los circuitos de la circulación extracorpórea, que aunque son biocompatibles, no son fisiológicos, con lo que tiene sentido que aumente la agregación plaquetaria debido a la activación de las mismas, al contactar con las superficies del circuito. De ahí la complejidad en sí de la cirugía cardíaca, ya que produce tanto un efecto procoagulante como anticoagulante [269].

Con respecto al agonista ADP, hay una correlación significativa positiva en los valores de las tres fases. La agregación con ADP en M1 está normal ($60,48 \pm 19,154$), disminuye a niveles patológicos en M2 ($49,33 \pm 20,793$), pero se recupera en M3 ($57,45 \pm 25,034$). Los resultados son estadísticamente significativos entre la agregación con ADP M1-ADP M2, y ADP M2-ADP M3, con una $p=0,000$ y $p=0,027$ respectivamente. Sobre todo nos indicaría cierta inhibición de la agregación a través de la vía de los receptores P2Y₁₂ [270].

El agonista colágeno muestra una agregación basal en M1 de $50,58 \pm 18,825$ U y en M2 de $40,24 \pm 23,218$ U. Son cifras por debajo de los valores normales. Sin embargo en M3, se recupera y alcanza un valor normal $72,18 \pm 57,910$ U. Hay una correlación significativa entre el valor del colágeno de M1 y M2. Las diferencias entre los tres valores es estadísticamente significativa.

El agonista ASPI, que nos va a medir la función de la vía de la ciclooxigenasa, encargada de transformar el ácido araquidónico en TXA₂, presenta en todas las fases del estudio valores por debajo de la normalidad (ASPI 1 $57,88 \pm 29,003$ U, ASPI 2 $38,39 \pm 24,197$ U, ASPI 3 $37,30$ U). Se observa una correlación lineal significativa, y los datos son estadísticamente significativos entre ASPI 1-ASPI 2 y ASPI 1-ASPI 3. Al igual que Schimmer (2013) [271] no encontramos una correlación significativa entre este valor y la necesidad transfusional de plaquetas.

En nuestro estudio, el agonista Ristocetina Alto presenta unos resultados similares a los del agonista ASPI. El valor basal en M1, como en M2 y M3 están por debajo de la normalidad ($69,61 \pm 23,5$ U, $60,03 \pm 22,756$ U, $42,27 \pm 24,413$ U). Hay una correlación lineal

significativa entre Risto Alto M1 y M2. Los tres valores son estadísticamente significativos entre sí. Con la ristocetina podríamos valorar la capacidad del factor de von Willebrand para interaccionar con las plaquetas, a través de la glicoproteína GPIb, y conducir a la aglutinación de las mismas. De este modo, podemos valorar cualquier anomalía con el factor de von Willebrand. En nuestro estudio, no hemos analizado cómo ha cambiado la concentración del vWF en M1, M2 y M3. Los valores basales bajos con el agonistas Ristocetina podrían deberse a la posible influencia de la estenosis aórtica, que favorece el flujo de cizalladura y podría afectar a la función plaquetaria, y por tanto, puede ser que influya en la función del factor von Willebrand (como ocurre en la enfermedad de von Willebrand adquirida por estenosis aórtica).

Con el agonista TRAP observamos niveles normales de agregación plaquetaria, con correlación significativa entre TRAP 2 y TRAP 3. Los resultados son estadísticamente significativos entre TRAP 1-TRAP 3 y entre TRAP 2-TRAP 3. Podríamos interpretar estos resultados, como la importancia que tiene el valor basal de agregación del paciente, para su posterior comportamiento durante la CEC, incluida por el tiempo de la misma y el sangrado intraoperatorio. Son varios los autores, como Solomon et al. (2010) [272] o Rahe-Mayer et al. (2009) [273] que demuestran el valor predictivo que pueden tener valores alterados en el Multiplate® y su posterior relación con un aumento de sangrado y necesidades transfusionales de los pacientes en cirugía cardíaca. Hemos de tener en cuenta que el sangrado en cirugía cardíaca es multifactorial y puede deberse a la cirugía en sí, disfunción plaquetaria, fibrinólisis, alteraciones de la polimerización de la fibrina y reducción de la generación de trombina. Son sobre todo el ADP test y el TRAP test los que más significativamente se han asociado a una predicción significativa de transfusión perioperatoria [273].

Con el Multiplate® se observa una tendencia, en la que se evidencia que hay un descenso de la capacidad de agregación de las plaquetas en M2 (la fase más crítica del procedimiento quirúrgico), pero dicha capacidad se recupera en M3 (cuando el paciente se está estabilizando, para finalizar el procedimiento), lo que desde el punto de vista de la intervención quirúrgica sería una buena señal. Este resultado ocurre en paralelo al hecho de los niveles de fibrinógeno plasmático (ver figura 35, página 120), disminuyen de M1 a M3. Quizás la mayor agregación de M3, medida en el Multiplate®, podría indicar una mayor activación, y por tanto, un estado de alta afinidad del receptor del fibrinógeno, lo que sería interesante desde el punto de vista de la recuperación del paciente para vigilar la posibilidad

de una mayor formación de agregados plaquetarios, una vez que el fibrinógeno vuelva a su normalidad.

5.4.7. Estudio de la función plaquetaria a través de la citometría de flujo

Mediante la citometría de flujo podremos cuantificar, en muestras de sangre entera, el grado de activación plaquetaria, en concreto mediante la medida del marcador CD62P o P-selectina, que se considera la referencia en la medición de la activación plaquetaria [274].

Observamos una correlación lineal significativa entre los tres valores en M1, M2 y M3. Se observa un descenso significativo de la activación plaquetaria de M3 con respecto a M2 ($p=0,008$). También recogemos un descenso en la proporción del incremento de la P-selectina o CD62P durante M2 y M3. Es decir, tras la CEC, hay una disminución de la activación plaquetaria. Nuestro resultado es similar al de Balle et al. (2019) [275], que analiza la función plaquetaria en dispositivos tipo ECMO.

Los anticuerpos marcados con fluorescencia, son específicos de ciertos receptores o proteínas de membrana de las plaquetas. Por eso, se utilizan para reconocer que dichas células o “eventos” (partículas que son reconocidas por el citómetro de flujo, en el lenguaje de la citometría), son plaquetas. También se usan para reconocer que esas plaquetas han expresado en su superficie alguna proteína o receptor compatible con un aumento de su actividad, es decir, compatible con su activación, como es el caso de la P-selectina. De forma que cuanto más se activen las plaquetas, más cantidad de moléculas de P-selectina se expresarán en la superficie de las mismas y por tanto, más cantidad de anticuerpos marcados con compuestos fluorescentes se podrán medir y más fluorescencia se detectará. A la hora de medir todos estos cambios en el citómetro de flujo hay varios parámetros que se pueden utilizar y uno de los más extendidos es la *median fluorescence*, que es la mediana de la fluorescencia que emiten todas las plaquetas que están siendo analizadas en la muestra en ese momento.

En nuestro caso, el concepto *median fluorescence* lo hemos utilizado para medir la expresión de P-selectina. Hemos usado el agonista TRAP (péptido activador del receptor de trombina) para activar a las plaquetas y comprobar en qué medida se comportaba la expresión de P-selectina en las distintas condiciones experimentales. Así, en la figura 57 (página 133), se muestra un descenso progresivo de dicha activación desde M1 a M3, de manera que se

podría sugerir que el procedimiento empleado, con CEC incluida, no aumenta la activación plaquetaria, e incluso se observa un pequeño descenso en M3. En la figura 58 (página 133), en la que los resultados se expresan como porcentaje de incremento de P-selectina con respecto a cada uno de sus basales, se aprecia más claramente esta tendencia a la baja en la expresión de P-selectina. Por tanto, podríamos sugerir que con el procedimiento quirúrgico empleado, incluida la CEC, no aumenta la activación de las plaquetas, sino que podría disminuirla.

Cuando hemos medido agregación plaquetaria mediante citometría de flujo, aunque se han empleado anticuerpos señalados con marcadores fluorescentes para poder reconocer a las plaquetas, a la hora de valorar cuánta agregación se había producido hemos recurrido a contar cuántas plaquetas había en cada fase (M1, M2, M3) en su situación basal, sin ningún estímulo, y también las medimos tras la estimulación con el agonista TRAP y en base a esa diferencia de contaje, calculamos el porcentaje de agregación, por eso expresamos el resultado como **% de agregación**. En la figura 56 (página 132), expresamos este parámetro, es decir, la diferencia en el número de plaquetas en la muestra basal con respecto a la muestra con TRAP en cada una de las muestras experimentales, y se manifiesta como que no hay diferencias estadísticamente significativas entre M1, M2 y M3.

En la figura 55 (página 132) expresamos de forma similar lo que se representa en la figura 56. La diferencia estriba en que en estas figuras se representan el número de eventos, que en citometría son plaquetas únicas, sencillas, sueltas, que no forman agregados, y que pueden ser reconocidas gracias a su forma y tamaño y a un anticuerpo específico de las plaquetas que reconoce la proteína de superficie CD61. Hemos de tener en cuenta, que para comprender este tipo de estudios, debemos realizar un razonamiento básico. Sabemos que a nivel basal tenemos un número determinado de plaquetas, y que tras la estimulación con TRAP, la cifra de plaquetas disminuye. Esa disminución se debe a que con la estimulación con TRAP, las plaquetas se agregan, forman agregados, con lo que estos agregados no pueden ser medidos por el citómetro de flujo, de forma que no son contabilizados como “eventos compatibles con plaquetas” y por tanto, el número de eventos disminuye, ya que la mayoría han formado agregados de plaquetas, como se puede ver en la figura 57. Es decir, una disminución en los eventos que recoge el citómetro de flujo tras la adición del TRAP, nos indica que las plaquetas se han agregado, por lo que cuanto más descienda el número de eventos con respecto al basal, mayor es la agregación plaquetaria.

Así, Fox SC et al. (2019) [276] analiza el estudio de la función plaquetaria con la medición de la P-selectina en pacientes antiagregados. La proteína P-selectina se localiza en las membranas de los gránulos α plaquetarios y ante la activación de las mismas se produce una exposición de la P-selectina en la superficie de las plaquetas [277]. La medida de esta P-selectina localizada en la superficie plaquetaria puede ser una alternativa para la medición de la agregación plaquetaria en el diagnóstico de alteraciones de las mismas. La medida de la función plaquetaria mediante el análisis de la P-selectina con citometría de flujo es, al menos, tan segura, como otras técnicas [276].

Es importante destacar el papel de la P-selectina, marcador medido en esta tesis, para poner en valor su participación como puente o nexo de unión en la interacción entre plaquetas y glóbulos blancos, que se conocen como agregados o conjugados plaquetas-leucocitos, como bien describe Finsterbusch M. (2018) [278]. Explica el valor de esta interacción, básica para la estimulación simultánea de ambos tipos de células y que permite la conexión entre los procesos de coagulación/trombosis e inflamación. De hecho, el nivel de los conjugados plaquetas-leucocitos es un marcador más utilizado que la P-selectina en los accidentes cerebrovasculares [278]. A su vez, Ivanov (2019) [279] describe de forma clara como la unión de plaquetas y leucocitos, gracias a la P-selectina y su correspondiente ligando en los leucocitos, es determinante para que los leucocitos, sobre todo los monocitos y en menor medida los neutrófilos, expresen factor tisular, que es básico para desarrollar el proceso de coagulación. Por tanto, consideramos dado el elevado interés y el valor fisiopatológico de estos agregados, que podríamos proponer la medición de los conjugados plaquetas-leucocitos como acción de mejora del proyecto realizado y ser tenido en cuenta para proyectos futuros.

La base conceptual en esta tesis, al realizar distintas técnicas para medir la función plaquetaria estriba en que cada una de ellas es distinta. Todas son diferentes entre sí, con sus ventajas y desventajas, y analizan de forma diversa, con matices diferentes y desde distintos ángulos, la función de las plaquetas. Por ello, consideramos que en este estudio, en concreto, las técnicas empleadas, son de gran utilidad ya que nos han permitido analizar de una forma global la función plaquetaria y la influencia que la circulación extracorpórea pudiera interferir en la misma.

Está claro que todavía existen controversias sobre los tests ex vivo de función plaquetaria y su capacidad para simular la respuesta plaquetaria in vivo o predecir su

potencial capacidad de agregación. Se han observado distintos problemas, como la variación en las técnicas de laboratorio, la falta de asociación entre los resultados de diferentes ensayos recogidos en la literatura, la ausencia de un valor consensuado que indique agregación plaquetaria o la falta de una definición de respuesta óptima. Son varios los factores que podrían contribuir a esta variabilidad de resultados: tiempo de estudio de la muestra, método de extracción de la muestra, tipo de agonista o concentración utilizada. Cada método para el estudio de la función plaquetaria tiene sus ventajas y limitaciones. El desarrollo de agregometría en sangre completa requiere de volúmenes muestrales más pequeños, como el PFA-100, pero, por otro lado, pueden ser menos sensibles en el estudio de la reactividad plaquetaria, ya que se puede ver afectado por varios factores como el hematocrito, el número de plaquetas y el nivel de vWF, lo que limita la especificidad y sensibilidad del estudio [280].

La citometría de flujo tiene ventajas en el estudio de la función plaquetaria ya que requiere de muy poca cantidad de sangre completa y no se ve afectada por el número de plaquetas. La citometría de flujo permite el análisis de la expresión de marcadores y receptores en las plaquetas activadas. Por tanto, mientras que métodos como la agregación plaquetaria en respuesta a agonistas pueden servir como medida *ex vivo* de la capacidad funcional de las plaquetas, es la citometría de flujo la que mejor nos ayuda a reflejar la activación plaquetaria *in vivo*, a través de la valoración de marcadores en la superficie plaquetaria y la liberación de productos plasmáticos [280].

5.4.8. Tiempo de coagulación activado

El TCA es un test de coagulación sobre sangre completa activada por contacto (caolín, celite), ampliamente utilizado para detectar los efectos terapéuticos de la heparina sódica durante la cirugía cardiaca (unos 3 mg/kg para alcanzar un TCA >400-480 segundos). El TP y el TTPa son prácticamente imposibles de medir en presencia de alta concentración de heparina (2-6 U/ml), como ocurrió en nuestro estudio, donde en M2 no pudimos medir ni el TP ni el TTPa. Son varios los dispositivos para el cálculo del TCA, incluido el nuevo i-STAT Device® (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL), que potencialmente permite una toma de decisiones más rápida y optimización en el uso de la protamina con respecto a la concentración de heparina [281]. En nuestro caso, utilizamos el Hemochron® Signature Elite, uno de los dispositivos más utilizados a nivel mundial [281].

La respuesta del TCA a la heparina puede variar en los distintos dispositivos dependiendo de distintos factores, deficiencia de factores procoagulantes, hipofibrinogenemia, bajos niveles de antitrombina, hipotermia, trombocitopenia y anemia [282]. Los valores prolongados de TCA siempre se suelen asociar a un efecto residual de la heparina, pero la deficiencia de factores procoagulantes (< 30%), que puede ocurrir en cirugía cardiaca compleja o en cirugía pediátrica, también se puede asociar a valores alargados de TCA [282]. Paradójicamente, un exceso de protamina puede prolongar el TCA, al parecer mediado por el efecto de la protamina sobre la inhibición del factor V. Pese a sus limitaciones, el TCA es el principal método para la monitorización del efecto de la heparina en cirugía cardiaca [282].

En nuestro estudio, aunque observamos diferencias significativas entre el valor TCA basal y el valor del TCA a los 10 minutos de la administración de la protamina a dosis 1:1, los valores se mantienen dentro de los rangos de normalidad, indicándonos que el efecto de la heparina ha sido contrarrestado. Está claro que hay una opción de mejora en el campo del control del efecto de la heparina en cirugía cardiaca. Hay otros tests, como el Rapid TEG® y el Sonoclot®, que podrían utilizarse [283,284]. Otro reciente dispositivo, Hepcon® (Medtronic, Minneapolis, MN), aporta mejoras en el manejo de la heparina. Utiliza una muestra basal de sangre completa del paciente, para predecir el bolo inicial de heparina con el que conseguir un TCA objetivo y, por otro lado, calcula la protamina adecuada para contrarrestar los efectos de la heparina circulante, basado en la superficie corporal del

paciente y el volumen de cebado de la CEC. Son varios los estudios que sugieren que dosis individualizadas de heparina y protamina manejadas por sistemas como el Hepcon®, podrían suprimir la generación de trombina de forma más efectiva durante la CEC y así, reducir las alteraciones de la hemostasia postoperatoria [285,286] y la pérdida sanguínea [287,288], si lo comparamos con la dosificación de heparina basada en el TCA estándar y una dosis fija de protamina para la reversión de la heparina.

6. CONCLUSIONES

6. CONCLUSIONES

1. El procedimiento de recambio valvular aórtico con circulación extracorpórea, utilizado en este estudio, prolonga el valor del Tiempo de Coagulación Activado con respecto al basal, pero se mantiene en niveles normales. Así mismo, prolonga los valores del Tiempo de Protrombina y Tiempo de Tromboplastina Parcial Activado, y disminuye los de Fibrinógeno con respecto al basal, pero manteniéndose dentro del rango de normalidad.
2. La cirugía cardiaca de recambio valvular aórtico con circulación extracorpórea, utilizada en este estudio, desciende de forma significativa los valores de la hemoglobina y plaquetas tras la salida de CEC con respecto al basal, pero dentro de los rangos de normalidad. Aumenta significativamente los niveles de LDH y desciende los valores de haptoglobina tras la salida de CEC con respecto al basal (dentro de umbrales de normalidad).
3. En base al procedimiento de intervención utilizado, la cirugía de recambio valvular aórtico con circulación extracorpórea, altera los parámetros analizados con tromboelastometría tras la salida de CEC con respecto al basal, pero se mantienen dentro del rango de la normalidad.
4. En las condiciones experimentales empleadas en este estudio no observamos cambios en el estado de agregación y activación plaquetaria durante la cirugía de recambio valvular aórtico con CEC medido con PFA-100.
5. Con el agregómetro Multiplate se observa que la cirugía de recambio valvular aórtico con circulación extracorpórea produce un descenso de la capacidad de agregación de las plaquetas durante la CEC, pero dicha capacidad se recupera tras la salida de CEC. Por otro lado, con la Citometría de flujo, apreciamos que no hay diferencias significativas en la agregación plaquetaria entre los grupos, pero sí un descenso de la activación plaquetaria.

6. El procedimiento de intervención utilizado en los pacientes, de forma global, no parece alterar los mecanismos hemostáticos de los pacientes.

7. BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

1. Bizzozero G. Su di un nuovo elemento morfologico del sangue dei mammiferi e della sua importanza nella trombosi e nella coagulazione. *L'Osservatore* 17: 3, 1881.
2. Davie EW, Ratnoff OD. Waterfall sequence for intrinsic blood clotting. *Science*. 1964;145(3638):1310-1312. doi:10.1126/science.145.3638.1310
3. Macfarlane RG. An enzyme cascade in the blood clotting mechanism, and its function as a biochemical amplifier. *Nature*. 1964;202: 498 – 499. doi:10.1038/202498a0
4. Monroe DM, Hoffman M. What does it take to make the perfect clot? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006;26(1):41-48. doi:10.1161/01.ATV.0000193624.28251.83
5. Mackman N. The role of tissue factor and factor VIIa in hemostasis. *Anesth Analg*. 2009; 108:1447–1452. doi:10.1213/ane.0b013e31819bceb1
6. Petrovan RJ, Ruf W. Residue Met (156) contributes to the labile enzyme conformation of coagulation factor VIIa. *J Biol Chem*. 2001;276(9):6616–6620. doi:10.1074/jbc.M004726200
7. Broze GJ Jr, Warren LA, Novotny WF, Higuchi DA, Girard JJ, Miletich JP. The lipoprotein-associated coagulation inhibitor that inhibits the factor VII-tissue factor complex also inhibits factor Xa: insight into its possible mechanism of action. *Blood*. 1988;71(2):335–343.
8. Ariens RA, Lai TS, Weisel JW, Greenberg CS, Grant PJ. Role of factor XIII in fibrin clot formation and effects of genetic polymorphisms. *Blood*. 2002;100(3):743–754. doi:10.1182/blood.v100.3.743
9. Ranucci, M. Hemostatic and Thrombotic Issues in Cardiac Surgery. *Semin Thromb Hemost*. 2015;41(1):84-90. doi:10.1055/s-0034-1398383
10. Wells AW, Llewelyn CA, Casbard A, et al. The EASTR Study: indications for transfusion and estimates of transfusion recipient numbers in hospitals supplied by the National Blood Service. *Transfus Med*. 2009;19(6):315–328. doi:10.1111/j.1365-3148.2009.00933.x
11. US Department of Health and Human Services. The 2007 Nationwide Blood Collection and Utilization Survey Report. Washington, DC: Department of Health and Human Services; 2007
12. Bakaeen FG, Chu D, Kelly RF, Holman WL, Jessen ME, Ward HB. Perioperative outcomes after on and off-pump coronary artery bypass grafting. *Tex Heart Inst J*. 2014;41(2):144–151. doi:10.14503/THIJ-13-3372
13. Filsoufi F, Rahmanian PB, Castillo JG, Bronster D, Adams DH. Incidence, topography, predictors and long-term survival after stroke in patients undergoing coronary artery bypass grafting. *Ann Thorac Surg*. 2008;85(3):862–870. doi:10.1016/j.athoracsur.2007.10.060

14. Sastry P, Hardman G, Page A, et al. Mesenteric ischaemia following cardiac surgery: the influence of intraoperative perfusion parameters. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2014;19(3):419–424. doi:10.1093/icvts/ivu139
15. Ranucci M, Bozzetti G, Ditta A, Cotza M, Carboni G, Ballotta A. Surgical reexploration after cardiac operations: why a worse outcome? *Ann Thorac Surg*. 2008;86(5):1557–1562. doi:10.1016/j.athoracsur.2008.07.114
16. Ranucci M, Baryshnikova E, Castelvechio S, Pelissero G; Surgical and Clinical Outcome Research (SCORE) Group. Major bleeding, transfusions, and anemia: the deadly triad of cardiac surgery. *Ann Thorac Surg*. 2013;96(2):478–485. doi:10.1016/j.athoracsur.2013.03.015
17. Murphy GJ, Reeves BC, Rogers CA, Rizvi SI, Culliford L, Angelini GD. Increased mortality, postoperative morbidity, and cost after red blood cell transfusion in patients having cardiac surgery. *Circulation*. 2007;116(22):2544–2552. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.107.698977
18. Edmunds LH Jr, Colman RW. Thrombin during cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg*. 2006;82(6):2315–2322. doi:10.1016/j.athoracsur.2006.06.072
19. Boisclair MD, Lane DA, Philippou H, et al. Mechanisms of thrombin generation during surgery and cardiopulmonary bypass. *Blood*. 1993;82(11):3350–3357.
20. Chung JH, Gikakis N, Rao AK, Drake TA, Colman RW, Edmunds LH Jr. Pericardial blood activates the extrinsic coagulation pathway during clinical cardiopulmonary bypass. *Circulation*. 1996;93(11):2014–2018. doi:10.1161/01.cir.93.11.2014
21. De Somer F, Van Belleghem Y, Caes F, et al. Tissue factor as the main activator of the coagulation system during cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2002;123(5):951–958. doi:10.1067/mtc.2002.120334
22. Albes JM, Stöhr IM, Kaluza M, et al. Physiological coagulation can be maintained in extracorporeal circulation by means of shed blood separation and coating. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2003; 126(5):1504–1512. doi:10.1016/s0022-5223(03)00958-9
23. Wippermann J, Albes JM, Hartrumpf M, et al. Comparison of minimally invasive closed circuit extracorporeal circulation with conventional cardiopulmonary bypass and with off-pump technique in CABG patients: selected parameters of coagulation and inflammatory system. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2005;28(1):127–132. doi:10.1016/j.ejcts.2005.03.032
24. Ranucci M, Frigiola A, Menicanti L, Ditta A, Boncilli A, Brozzi S. Postoperative antithrombin levels and outcome in cardiac operations. *Crit Care Med*. 2005;33(2):355–360. doi:10.1097/01.ccm.0000153409.55645.58
25. Boyle EM Jr, Verrier ED, Spiess BD. Endothelial cell injury in cardiovascular surgery: the procoagulant response. *Ann Thorac Surg*. 1996;62(5):1549–1557. doi:10.1016/0003-4975(96)00836-3

26. Yang L, Vuylsteke A, Gerrard C, Besser M, Baglin T. Postoperative fibrinogen level is associated with postoperative bleeding following cardiothoracic surgery and the effect of fibrinogen replacement therapy remains uncertain. *J Thromb Haemost.* 2013;11(8):1519–1526. doi:10.1111/jth.12304
27. Despotis GJ, Santoro SA, Spitznagel E, et al. Prospective evaluation and clinical utility of on-site monitoring of coagulation in patients undergoing cardiac operation. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1994; 107(1):271–279
28. H Stammers A, Francis S, Tesdahl EA, Miller R, Nostro A, Mongero LB. The Effect of Standardizing Autologous Prime Techniques in Patients Undergoing Cardiac Surgery with Cardiopulmonary Bypass. *J Extra Corpor Technol.* 2019;51(4):227-237. doi:10.1182/ject-1900016
29. Hagedorn C, Glogowski K, Valleley M, McQuiston L, Consbruck K; Illustrations by Oyer A. Retrograde Autologous Priming Technique to Reduce Hemodilution during Cardiopulmonary Bypass in the Pediatric Cardiac Patient. *J Extra Corpor Technol.* 2019;51(2):100-103.
30. Johansson PI, Sølbeck S, Genet G, Stensballe J, Ostrowski SR. Coagulopathy and hemostatic monitoring in cardiac surgery: an update. *Scand Cardiovasc J.* 2012;46(4):194-202. doi:10.3109/14017431.2012.671487
31. Biancari F, Mikkola R, Heikkinen J, Lahtinen J, Airaksinen KE, Juvonen T. Estimating the risk of complications related to re-exploration for bleeding after adult cardiac surgery: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2012;41(1):50-55. doi:10.1016/j.ejcts.2011.04.023
32. Ternström L, Radulovic V, Karlsson M, et al. Plasma activity of individual coagulation factors, hemodilution and blood loss after cardiac surgery: a prospective observational study. *Thromb Res.* 2010;126(2):e128–e133. doi:10.1016/j.thromres.2010.05.028
33. Bosch YP, Al Dieri R, ten Cate H, et al. Measurement of thrombin generation intra-operatively and its association with bleeding tendency after cardiac surgery. *Thromb Res.* 2014;133(3):488–494. doi:10.1016/j.thromres.2013.12.017
34. Guan XL, Wang XL, Liu YY, et al. Changes in the Hemostatic System of Patients With Acute Aortic Dissection Undergoing Aortic Arch Surgery. *Ann Thorac Surg.* 2016;101(3):945-951. doi:10.1016/j.athoracsur.2015.08.047
35. Sebastian R, Ratliff T, Winch PD, et al. Revisiting acute normovolemic hemodilution and blood transfusion during pediatric cardiac surgery: a prospective observational study. *Paediatr Anaesth.* 2017;27(1):85-90. doi:10.1111/pan.13014
36. Fox V, Kleikamp A, Dittrich M, et al. Direct oral anticoagulants and cardiac surgery: A descriptive study of preoperative management and postoperative outcomes [published online ahead of print, 2019 Dec 17]. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2019;S0022-5223(19)37170-3. doi:10.1016/j.jtcvs.2019.11.119
37. Puetz J. Fresh frozen plasma: the most commonly prescribed hemostatic agent. *J Thromb Haemost.* 2013;11(10):1794–1799. doi:10.1111/jth.12351

38. Tanaka KA, Mazzeffi MA, Grube M, Ogawa S, Chen EP. Three-factor prothrombin complex concentrate and hemostasis after high-risk cardiovascular surgery. *Transfusion*. 2013;53(4):920–921. doi:10.1111/trf.12110
39. Arnékian V, Camous J, Fattal S, Rézaiguia-Delclaux S, Nottin R, Stéphan F. Use of prothrombin complex concentrate for excessive bleeding after cardiac surgery. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2012;15(3):382–389. doi:10.1093/icvts/ivs224
40. Gill R, Herbertson M, Vuylsteke A, et al. Safety and efficacy of recombinant activated factor VII: a randomized placebo-controlled trial in the setting of bleeding after cardiac surgery. *Circulation*. 2009;120(1):21–27. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.108.834275
41. Levi M, Peters M, Büller HR. Efficacy and safety of recombinant factor VIIa for treatment of severe bleeding: a systematic review. *Crit Care Med*. 2005;33(4):883–890. doi:10.1097/01.ccm.0000159087.85970.38
42. Sørensen B, Spahn DR, Innerhofer P, Spannagl M, Rossaint R. Clinical review: Prothrombin complex concentrates evaluation of safety and thrombogenicity [published correction appears in Crit Care. 2011;15(2):409]. *Crit Care*. 2011;15(1):201. doi:10.1186/cc9311
43. Kindo M, Hoang Minh T, Gerelli S, et al. Plasma fibrinogen level on admission to the intensive care unit is a powerful predictor of postoperative bleeding after cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. *Thromb Res*. 2014;134(2):360–368. doi:10.1016/j.thromres.2014.05.008
44. Davidson S. State of the art - how I manage coagulopathy in cardiac surgery patients. *Br J Haematol*. 2014;164(6):779-789. doi:10.1111/bjh.12746
45. Charbit B, Mandelbrot L, Samain E, et al. The decrease of fibrinogen is an early predictor of the severity of postpartum hemorrhage. *J Thromb Haemost*. 2007;5(2):266–273. doi:10.1111/j.1538-7836.2007.02297.x
46. Solomon C, Rahe-Meyer N, Sorensen B. Fibrin formation is more impaired than thrombin generation and platelets immediately following cardiac surgery. *Thromb Res*. 2011;128:277–282. doi:10.1016/j.thromres.2011.02.022
47. Pillai RC, Fraser JF, Ziegenfuss M, Bhaskar B. Influence of circulating levels of fibrinogen and perioperative coagulation parameters on predicting postoperative blood loss in cardiac surgery: a prospective observational study. *J Card Surg*. 2014;29(2):189–195. doi:10.1111/jocs.12255
48. Faraoni D, Willems A, Savan V, Demanet H, De Ville A, Van der Linden P. Plasma fibrinogen concentration is correlated with postoperative blood loss in children undergoing cardiac surgery. A retrospective review. *Eur J Anaesthesiol*. 2014;31(6):317–326. doi:10.1097/EJA.0000000000000043
49. Deppe AC, Weber C, Zimmermann J, et al. Point-of-care thromboelastography/thromboelastometry-based coagulation management in cardiac surgery: a meta-analysis of 8332 patients. *J Surg Res*. 2016;203(2):424-433. doi:10.1016/j.jss.2016.03.008

50. Kalina U, Stöhr HA, Bickhard H, et al. Rotational thromboelastography for monitoring of fibrinogen concentrate therapy in fibrinogen deficiency. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2008;19(8):777–783. doi:10.1097/MBC.0b013e32830ef90c
51. Karlsson M, Ternstrom L, Hyllner M, et al. Plasma fibrinogen level, bleeding, and transfusion after on-pump coronary artery bypass grafting surgery: a prospective observational study. *Transfusion*. 2008;48:2152–2158. doi:10.1111/j.1537-2995.2008.01827.x
52. Solomon C, Pichlmaier U, Schoechl H, et al. Recovery of fibrinogen after administration of fibrinogen concentrate to patients with severe bleeding after cardiopulmonary bypass surgery. *Br J Anaesth*. 2010;104(5):555–562. doi:10.1093/bja/aeq058
53. O’Shaughnessy DF, Atterbury C, Bolton Maggs P, et al; British Committee for Standards in Haematology, Blood Transfusion Task Force. Guidelines for the use of fresh-frozen plasma, cryoprecipitate and cryosupernatant. *Br J Haematol*. 2004;126(1):11–28. doi:10.1111/j.1365-2141.2004.04972.x
54. Rossaint R, Bouillon B, Cerny V, et al; Task Force for Advanced Bleeding Care in Trauma. Management of bleeding following major trauma: an updated European guideline. *Crit Care*. 2010;14(2):R52. doi:10.1186/cc8943
55. Rahe-Meyer N. Fibrinogen concentrate in the treatment of severe bleeding after aortic aneurysm graft surgery. *Thromb Res*. 2011;128 Suppl 1:S17–S19. doi:10.1016/S0049-3848(12)70005-1
56. Theusinger OM, Baulig W, Seifert B, Emmert MY, Spahn DR, Asmis LM. Relative concentrations of haemostatic factors and cytokines in solvent/detergent-treated and fresh-frozen plasma. *Br J Anaesth*. 2011;106(4):505–511. doi:10.1093/bja/aer003
57. Pantanowitz L, Kruskall MS, Uhl L. Cryoprecipitate. Patterns of use. *Am J Clin Pathol*. 2003;119(6):874–881. doi:10.1309/56MQ-VQAQ-G8YU-90X9
58. Ranucci M, Solomon C. Supplementation of fibrinogen in acquired bleeding disorders: experience, evidence, guidelines, and licences. *Br J Anaesth*. 2012;109(2):135–137. doi:10.1093/bja/aes227
59. Kozek-Langenecker SA, Afshari A, Albaladejo P, et al. Management of severe perioperative bleeding: guidelines from the European Society of Anaesthesiology [published correction appears in *Eur J Anaesthesiol*. 2014 Apr;31(4):247]. *Eur J Anaesthesiol*. 2013;30(6):270-382. doi:10.1097/EJA.0b013e32835f4d5b
60. Karkouti K, von Heymann C, Jespersen CM, et al. Efficacy and safety of recombinant factor XIII on reducing blood transfusions in cardiac surgery: a randomized, placebo-controlled, multicenter clinical trial. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2013;146(4):927–939. doi:10.1016/j.jtcvs.2013.04.044
61. Greilich PE, Brouse CF, Beckham J, Jessen ME, Martin EJ, Carr ME. Reductions in platelet contractile force correlate with duration of cardiopulmonary bypass and blood loss in patients undergoing cardiac surgery. *Thromb Res*. 2002;105(6):523–529. doi:10.1016/s0049-3848(02)00061-0

62. Society of Thoracic Surgeons Blood Conservation Guideline Task Force, Ferraris VA, Brown JR, et al. 2011 update to the Society of Thoracic Surgeons and the Society of Cardiovascular Anesthesiologists blood conservation clinical practice guidelines. *Ann Thorac Surg.* 2011;91(3):944-982. doi:10.1016/j.athoracsur.2010.11.078
63. Ranucci M, Carlucci C, Isgro G, Baryshnikova E. A prospective pilot study of platelet function and its relationship with postoperative bleeding in pediatric cardiac surgery. *Minerva Anestesiol.* 2012;78(5):556-563
64. Tantry US, Bonello L, Aradi D, et al; Working Group on On-Treatment Platelet Reactivity. Consensus and update on the definition of on-treatment platelet reactivity to adenosine diphosphate associated with ischemia and bleeding. *J Am Coll Cardiol.* 2013;62(24):2261-2273. doi:10.1016/j.jacc.2013.07.101
65. Ranucci M, Baryshnikova E, Soro G, Ballotta A, De Benedetti D, Conti D; Surgical and Clinical Outcome Research (SCORE) Group. Multiple electrode whole-blood aggregometry and bleeding in cardiac surgery patients receiving thienopyridines. *Ann Thorac Surg.* 2011;91(1):123-129. doi:10.1016/j.athoracsur.2010.09.022
66. Teufelsbauer H, Proidl S, Havel M, Vukovich T. Early activation of hemostasis during cardiopulmonary bypass: evidence for thrombin mediated hyperfibrinolysis. *Thromb Haemost.* 1992;68(3):250-252
67. Weber CF, Görlinger K, Meininger D, et al. Point-of-care testing: a prospective, randomized clinical trial of efficacy in coagulopathic cardiac surgery patients. *Anesthesiology.* 2012;117(3):531-547. doi:10.1097/ALN.0b013e318264c644
68. Raphael J, Mazer CD, Subramani S, et al. Society of Cardiovascular Anesthesiologists Clinical Practice Improvement Advisory for Management of Perioperative Bleeding and Hemostasis in Cardiac Surgery Patients. *Anesth Analg.* 2019;129(5):1209-1221. doi:10.1213/ANE.0000000000004355
69. Hunt BJ, Allard S, Keeling D, et al. A practical guideline for the haematological management of major haemorrhage. *Br J Haematol.* 2015;170(6):788-803. doi:10.1111/bjh.13580
70. Oliver WC Jr, Beynen FM, Nuttall GA, et al. Blood loss in infants and children for open heart operations: albumin 5% versus fresh-frozen plasma in the prime. *Ann Thorac Surg.* 2003;75(5):1506-1512. doi:10.1016/s0003-4975(02)04991-3
71. Doughty H, Green L, Callum J, Murphy MF; National Blood Transfusion Committee. Triage tool for the rationing of blood for massively bleeding patients during a severe national blood shortage: guidance from the National Blood Transfusion Committee [published online ahead of print, 2020 May 20]. *Br J Haematol.* 2020;10.1111/bjh.16736. doi:10.1111/bjh.16736
72. Galeone A, Rotunno C, Guida P, et al. Monitoring incomplete heparin reversal and heparin rebound after cardiac surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 2013;27(5):853-858. doi:10.1053/j.jvca.2012.10.020

73. Selleng S, Selleng K. Heparin-induced thrombocytopenia in cardiac surgery and critically ill patients. *Thromb Haemost.* 2016;116(5):843-851. doi:10.1160/TH16-03-0230
74. Ranucci M, Pistuddi V, Di Dedda U, Menicanti L, De Vincentiis C, Baryshnikova E. Platelet function after cardiac surgery and its association with severe postoperative bleeding: the PLATFORM study. *Platelets.* 2019;30(7):908-914. doi:10.1080/09537104.2018.1535706
75. Vlot EA, Willemsen LM, Van Dongen EPA, et al. Perioperative point of care platelet function testing and postoperative blood loss in high-risk cardiac surgery patients. *Platelets.* 2019;30(8):982-988. doi:10.1080/09537104.2018.1542123
76. Pickard AS, Becker RC, Schumock GT, Frye CB. Clopidogrel-associated bleeding and related complications in patients undergoing coronary artery bypass grafting. *Pharmacotherapy.* 2008;28(3):376–392. doi:10.1592/phco.28.3.376
77. Berger JS, Frye CB, Harshaw Q, Edwards FH, Steinhubl SR, Becker RC. Impact of clopidogrel in patients with acute coronary syndromes requiring coronary artery bypass surgery: a multicenter analysis. *J Am Coll Cardiol.* 2008;52(21):1693–1701. doi:10.1016/j.jacc.2008.08.031
78. Society of Thoracic Surgeons Blood Conservation Guideline Task Force, Ferraris VA, Ferraris SP, et al. Perioperative blood transfusion and blood conservation in cardiac surgery: the Society of Thoracic Surgeons and The Society of Cardiovascular Anesthesiologists clinical practice guideline. *Ann Thorac Surg.* 2007;83(5 Suppl):S27-S86. doi:10.1016/j.athoracsur.2007.02.099
79. Fitchett D, Eikelboom J, Fremes S, et al. Dual antiplatelet therapy in patients requiring urgent coronary artery bypass grafting surgery: a position statement of the Canadian Cardiovascular Society. *Can J Cardiol.* 2009;25(12):683–689. doi:10.1016/s0828-282x(09)70527-6
80. Di Dedda U, Ranucci M, Baryshnikova E, Castelvechio S; Surgical and Clinical Outcome Research Group. Thienopyridines resistance and recovery of platelet function after discontinuation of thienopyridines in cardiac surgery patients. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2014;45(1):165–170. doi:10.1093/ejcts/ezt279
81. Ferraris VA, Saha SP, Oestreich JH, et al; Society of Thoracic Surgeons. 2012 update to the Society of Thoracic Surgeons guideline on use of antiplatelet drugs in patients having cardiac and noncardiac operations. *Ann Thorac Surg.* 2012;94(5):1761–1781. doi:10.1016/j.athoracsur.2012.07.086
82. Ranucci M, Aloisio T, Di Dedda U, et al. Gender-based differences in platelet function and platelet reactivity to P2Y12 inhibitors. *PLoS One.* 2019;14(11):e0225771. Published 2019 Nov 27. doi:10.1371/journal.pone.0225771
83. Hansson EC, Jeppsson A. Platelet inhibition and bleeding complications in cardiac surgery: A review. *Scand Cardiovasc J.* 2016;50(5-6):349-354. doi:10.1080/14017431.2016.1231935

84. Malm CJ, Hansson EC, Åkesson J, et al. Preoperative platelet function predicts perioperative bleeding complications in ticagrelor-treated cardiac surgery patients: a prospective observational study [published correction appears in *Br J Anaesth.* 2017 Oct 1;119(4):853]. *Br J Anaesth.* 2016;117(3):309-315. doi:10.1093/bja/aew189
85. Serraino GF, Murphy GJ. Routine use of viscoelastic blood tests for diagnosis and treatment of coagulopathic bleeding in cardiac surgery: updated systematic review and meta-analysis. *Br J Anaesth.* 2017;118(6):823-833. doi:10.1093/bja/aex100
86. Steinlechner B, Zeidler P, Base E, et al. Patients with severe aortic valve stenosis and impaired platelet function benefit from preoperative desmopressin infusion [published correction appears in *Ann Thorac Surg.* 2011 Sep;92(3):1162]. *Ann Thorac Surg.* 2011;91(5):1420–1426. doi:10.1016/j.athoracsur.2011.01.052
87. McCormack PL. Tranexamic acid: a review of its use in the treatment of hyperfibrinolysis. *Drugs.* 2012;72(5):585-617. doi:10.2165/11209070-000000000-00000
88. Hill J, Treasure T. Reducing the risk of venous thromboembolism (deep vein thrombosis and pulmonary embolism) in inpatients having surgery: summary of NICE guidance. *BMJ.* 2007;334(7602):1053–1054. doi:10.1136/bmj.39174.678032.AD
89. Dhir A. Antifibrinolytics in cardiac surgery. *Ann Card Anaesth.* 2013;16(2):117-125. doi:10.4103/0971-9784.109749
90. Shainoff JR, Estafanous FG, Yared JP, DiBello PM, Kottke-Marchant K, Loop FD. Low factor XIII levels are associated with increased blood loss after coronary artery bypass grafting. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1994;108(3):437–445
91. Blome M, Isgro F, Kiessling AH, et al. Relationship between factor XIII activity, fibrinogen, haemostasis screening tests and postoperative bleeding in cardiopulmonary bypass surgery. *Thromb Haemost.* 2005;93(6):1101–1107. doi:10.1160/TH04-12-0799
92. Besser MW, Ortmann E, Klein AA. Haemostatic management of cardiac surgical haemorrhage. *Anaesthesia.* 2015;70 Suppl 1:87-e31. doi:10.1111/anae.12898
93. Royston D, Bidstrup BP, Taylor KM, Sapsford RN. Effect of aprotinin on need for blood transfusion after repeat open-heart surgery. *Lancet.* 1987;2(8571):1289–1291. doi:10.1016/s0140-6736(87)91190-1
94. Mangano DT, Miao Y, Vuylsteke A, et al; Investigators of The Multicenter Study of Perioperative Ischemia Research Group; Ischemia Research and Education Foundation. Mortality associated with aprotinin during 5 years following coronary artery bypass graft surgery. *JAMA.* 2007;297(5):471–479. doi:10.1001/jama.297.5.471
95. Fergusson DA, Hébert PC, Mazer CD, et al; BART Investigators. A comparison of aprotinin and lysine analogues in high-risk cardiac surgery. *N Engl J Med.* 2008;358(22):2319–2331. doi:10.1056/NEJMoa0802395
96. Mangano DT; Multicenter Study of Perioperative Ischemia Re-search Group. Aspirin and mortality from coronary bypass surgery. *N Engl J Med.* 2002;347(17):1309–1317. doi:10.1056/NEJMoa020798

97. Kozek-Langenecker SA, Ahmed AB, Afshari A, et al. Management of severe perioperative bleeding: guidelines from the European Society of Anaesthesiology: First update 2016. *Eur J Anaesthesiol.* 2017;34(6):332-395. doi:10.1097/EJA.0000000000000630
98. Murkin JM, Falter F, Granton J, Young B, Burt C, Chu M. High-dose tranexamic acid is associated with nonischemic clinical seizures in cardiac surgical patients. *Anesth Analg.* 2010;110(2):350–353. doi:10.1213/ANE.0b013e3181c92b23
99. Zbrozek A, Magee G. Cost of Bleeding in Trauma and Complex Cardiac Surgery. *Clin Ther.* 2015;37(9):1966-1974. doi:10.1016/j.clinthera.2015.06.007
100. Nishimura Y, Takagi Y. Strategy for Cardiovascular Surgery in Patients with Antithrombin III Deficiency. *Ann Thorac Cardiovasc Surg.* 2018;24(4):187-192. doi:10.5761/atcs.oa.18-00030
101. Fitzgerald J, Lenihan M, Callum J, et al. Use of prothrombin complex concentrate for management of coagulopathy after cardiac surgery: a propensity score matched comparison to plasma. *Br J Anaesth.* 2018;120(5):928-934. doi:10.1016/j.bja.2018.02.017
102. Roffi M, Patrono C, Collet JP, et al. 2015 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: Task Force for the Management of Acute Coronary Syndromes in Patients Presenting without Persistent ST-Segment Elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J.* 2016;37(3):267-315. doi:10.1093/eurheartj/ehv320
103. Czerwińska-Jelonkiewicz K, Cisowski M, Bochenek A, et al. Low molecular weight heparin in surgical valve procedures: When and how much for an optimal prophylaxis? [published online ahead of print, 2018 Nov 28]. *Cardiol J.* 2018;10.5603/CJ.a2018.0146. doi:10.5603/CJ.a2018.0146
104. Ranucci M, Baryshnikova E, Crapelli GB, Woodward MK, Paez A, Pelissero G. Preoperative antithrombin supplementation in cardiac surgery: a randomized controlled trial. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2013;145(5):1393–1399. doi:10.1016/j.jtcvs.2012.09.061
105. Giacinto O, Satriano U, Nenna A, et al. Inflammatory Response and Endothelial Dysfunction Following Cardiopulmonary Bypass: Pathophysiology and Pharmacological Targets. *Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov.* 2019;13(2):158-173. doi:10.2174/1872213X13666190724112644
106. Jurk K, Kehrel BE. Platelets: Physiology and biochemistry. *Semin Thromb Hemost.* 2005;31(4):381–392. doi:10.1055/s-2005-916671
107. Quinn M, Fitzgerald D. Platelet function: Assessment, diagnosis and treatment. *Totowa, New Jersey: Humana Press;* 2005. doi:10.1007/978-1-59259-917-2
108. Furie B, Furie BC. Mechanisms of thrombus formation. *N Engl J Med.* 2008;359(9):938–949. doi:10.1056/NEJMra0801082

109. Reininger A, Heijnen HF, Schumann H, Specht HM, Schramm W, Ruggeri ZM. Mechanism of platelet adhesion to von Willebrand factor and microparticle formation under high shear stress. *Blood*. 2006;107(9):3537–3545. doi:10.1182/blood-2005-02-0618
110. Lassila R. Platelet Function Tests in Bleeding Disorders. *Semin Thromb Hemost*. 2016;42(3):185-190. doi:10.1055/s-0036-1571307
111. Aboul-Hassan SS, Stankowski T, Marczak J, et al. The use of preoperative aspirin in cardiac surgery: A systematic review and meta-analysis. *J Card Surg*. 2017;32(12):758-774. doi:10.1111/jocs.13250
112. Goldstein P, Grieco N, Ince H, et al. Mortality in primary angioplasty patients starting antiplatelet therapy with prehospital prasugrel or clopidogrel: a 1-year follow-up from the European MULTIPRAC Registry. *Vasc Health Risk Manag*. 2016;12:143-151. Published 2016 Apr 19. doi:10.2147/VHRM.S95391
113. Brown C, Joshi B, Faraday N, et al. Emergency cardiac surgery in patients with acute coronary syndromes: a review of the evidence and perioperative implications of medical and mechanical therapeutics. *Anesth Analg*. 2011;112(4):777-799. doi:10.1213/ANE.0b013e31820e7e4f
114. Baglin TP, Keeling DM, Watson HG. British Committee for Standards in Haematology Guidelines on oral anticoagulation (warfarin): third edition – 2005 update. *Br J Haematol*. 2006;132(3):277–285. doi:10.1111/j.1365-2141.2005.05856.x
115. Hickey M, Gatién M, Taljaard M, et al. Outcomes of urgent warfarin reversal with frozen plasma versus prothrombin complex concentrate in the emergency department. *Circulation*. 2013;128(4):360–364. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.113.001875
116. Sarode R, Milling TJ Jr, Refaai MA, et al. Efficacy and safety of a 4-factor prothrombin complex concentrate in patients on vitamin K antagonists presenting with major bleeding: a randomized, plasma-controlled, phase IIIb study. *Circulation*. 2013;128(11):1234–1243. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.113.002283
117. Guyatt GH, Akl EA, Crowther M, Gutterman DD, Schünemann HJ; American College of Chest Physicians Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis Panel. Executive summary: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines [published correction appears in *Chest*. 2012 Apr;141(4):1129. Dosage error in article text] [published correction appears in *Chest*. 2012 Dec;142(6):1698. Dosage error in article text]. *Chest*. 2012;141(2 Suppl):7S-47S. doi:10.1378/chest.1412S3
118. Heidbuchel H, Verhamme P, Alings M, et al. European Heart Rhythm Association Practical Guide on the use of new oral anticoagulants in patients with non-valvular atrial fibrillation. *Europace*. 2013;15(5):625–651. doi:10.1093/europace/eut083

119. Stangier J, Rathgen K, Stahle H, Mazur D. Influence of renal impairment on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of oral dabigatran etexilate: an open-label, parallel-group, single-centre study. *Clin Pharmacokinet.* 2010;49(4):259–268. doi:10.2165/11318170-000000000-00000
120. Connolly SJ, Crowther M, Eikelboom JW, et al. Full Study Report of Andexanet Alfa for Bleeding Associated with Factor Xa Inhibitors. *N Engl J Med.* 2019;380(14):1326-1335. doi:10.1056/NEJMoa1814051
121. Scharf RE. Drugs that affect platelet function. *Semin Thromb Hemost.* 2012;38(8):865-883. doi:10.1055/s-0032-1328881
122. Goedhart ALM, Gerritse BM, Rettig TCD, et al. A 0.6-protamine/heparin ratio in cardiac surgery is associated with decreased transfusion of blood products. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 2020;31(3):391-397. doi:10.1093/icvts/ivaa109
123. Khan NU, Wayne CK, Barker J, Strang T. The effects of protamine overdose on coagulation parameters as measured by the thrombelastograph. *Eur J Anaesthesiol.* 2010;27(7):624–627. doi:10.1097/EJA.0b013e32833731bd
124. Horton S, Augustin S. Activated clotting time (ACT). *Methods Mol Biol.* 2013;992:155-167. doi:10.1007/978-1-62703-339-8_12
125. De Vries AJ, Lansink-Hartgring AO, Fernhout FJ, Huet RCG, van den Heuvel ER. The activated clotting time in cardiac surgery: should Celite or kaolin be used?. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 2017;24(4):549-554. doi:10.1093/icvts/ivw435
126. Thompson TZ, Kunak RL, Savage NM, Agarwal S, Chazelle J, Singh G. Intraoperative Monitoring of Heparin: Comparison of Activated Coagulation Time and Whole Blood Heparin Measurements by Different Point-of-Care Devices with Heparin Concentration by Laboratory-Performed Plasma Anti-Xa Assay. *Lab Med.* 2019;50(4):348-356. doi:10.1093/labmed/lmz014
127. Weitzel NS. Point of care testing and cardiac surgery 2014. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 2014;28(2):207-209. doi:10.1053/j.jvca.2014.01.009
128. Ichikawa J, Mori T, Kodaka M, Nishiyama K, Ozaki M, Komori M. Changes in heparin dose response slope during cardiac surgery: possible result in inaccuracy in predicting heparin bolus dose requirement to achieve target ACT. *Perfusion.* 2017;32(6):474-480. doi:10.1177/0267659117692661
129. Shore-Lesserson L, Baker RA, Ferraris V, et al. STS/SCA/AmSECT Clinical Practice Guidelines: Anticoagulation during Cardiopulmonary Bypass. *J Extra Corpor Technol.* 2018;50(1):5-18
130. Muedra V, Llau JV, Llagunes J, et al. Postoperative costs associated with outcomes after cardiac surgery with extracorporeal circulation: role of antithrombin levels. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 2013;27(2):230-237. doi:10.1053/j.jvca.2012.08.017
131. Knapik P, Cieśla D, Przybylski R, Knapik T. The influence of heparin resistance on postoperative complications in patients undergoing coronary surgery. *Med Sci Monit.* 2012;18(2):CR105-CR111. doi:10.12659/msm.882465

132. Rodríguez-López JM, del Barrio E, Lozano FS, Muriel C. Does preoperative level of antithrombin III predict heparin resistance during extracorporeal circulation?. *Anesth Analg*. 2008;107(4):1444-1445. doi:10.1213/ane.0b013e3181827c67
133. Shirozu K, Karashima Y, Yamaura K. Effect of antithrombin in fresh frozen plasma on hemostasis after cardiopulmonary bypass surgery [published online ahead of print, 2020 Aug 12]. *Perfusion*. 2020;267659120948435. doi:10.1177/0267659120948435
134. Boer C, Meesters MI, Veerhoek D, Vonk ABA. Anticoagulant and side-effects of protamine in cardiac surgery: a narrative review. *Br J Anaesth*. 2018;120(5):914-927. doi:10.1016/j.bja.2018.01.023
135. Kjellberg G, Holm M, Fux T, Lindvall G, van der Linden J. Calculation Algorithm Reduces Protamine Doses Without Increasing Blood Loss or the Transfusion Rate in Cardiac Surgery: Results of a Randomized Controlled Trial. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 2019;33(4):985-992. doi:10.1053/j.jvca.2018.07.044
136. Khandelwal A, Phua CW, Chaudhry HR, et al. Confounding effect of therapeutic protamine and heparin levels on routine and special coagulation testing. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2020;31(1):60-64. doi:10.1097/MBC.0000000000000882
137. Task Force on Patient Blood Management for Adult Cardiac Surgery of the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS) and the European Association of Cardiothoracic Anaesthesiology (EACTA), Boer C, Meesters MI, et al. 2017 EACTS/EACTA Guidelines on patient blood management for adult cardiac surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 2018;32(1):88-120. doi:10.1053/j.jvca.2017.06.026
138. Mazer CD, Whitlock RP, Fergusson DA, et al. Restrictive or liberal red-cell transfusion for cardiac surgery. *N Engl J Med*. 2017;377(22):2133-44. doi:10.1056/NEJMoa1711818
139. Delaney M, Stark PC, Suh M, et al. Massive Transfusion in Cardiac Surgery: The Impact of Blood Component Ratios on Clinical Outcomes and Survival. *Anesth Analg*. 2017;124(6):1777-1782. doi:10.1213/ANE.0000000000001926
140. Harper PC, Smith MM, Brinkman NJ, et al. Outcomes Following Three-Factor Inactive Prothrombin Complex Concentrate Versus Recombinant Activated Factor VII Administration During Cardiac Surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 2018;32(1):151-157. doi:10.1053/j.jvca.2017.07.011
141. Hoffmann T, Assmann A, Dierksen A, et al. A role for very low-dose recombinant activated factor VII in refractory bleeding after cardiac surgery: Lessons from an observational study. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2018;156(4):1564-1573.e8. doi:10.1016/j.jtcvs.2018.03.167
142. Li JY, Gong J, Zhu F, et al. Fibrinogen Concentrate in Cardiovascular Surgery: A Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. *Anesth Analg*. 2018;127(3):612-621. doi:10.1213/ANE.0000000000003508

143. Waldén K, Jeppsson A, Nasic S, Karlsson M. Fibrinogen Concentrate to Cardiac Surgery Patients with Ongoing Bleeding does not Increase the Risk of Thromboembolic Complications or Death. *Thromb and Haemost.* 2020;120(3):384-391. doi:10.1055/s-0039-3402759
144. Roman M, Biancari F, Ahmed AB, et al. Prothrombin Complex Concentrate in Cardiac Surgery: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Ann Thorac Surg.* 2019;107(4):1275-1283. doi:10.1016/j.athoracsur.2018.10.013
145. Biancari F, Ruggieri VG, Perrotti A, et al. Comparative Analysis of Prothrombin Complex Concentrate and Fresh Frozen Plasma in Coronary Surgery. *Heart Lung Circ.* 2019;28(12):1881-1887. doi:10.1016/j.hlc.2018.10.025
146. Fraser KH, Zhang T, Taskin ME, Griffith BP, Wu ZJ. A quantitative comparison of mechanical blood damage parameters in rotary ventricular assist devices: Shear stress, exposure time and hemolysis index. *J Biomech Eng.* 2012;134(8):081002. doi:10.1115/1.4007092
147. Kirklin JK, Naftel DC, Kormos RL, et al. Fifth INTERMACS annual report: risk factor analysis from more than 6,000 mechanical circulatory support patients [published correction appears in J Heart Lung Transplant. 2015 Oct;34(10):1356. Timothy Baldwin, J [corrected to Baldwin, J T]]. *J Heart Lung Transplant.* 2013;32(2):141-156. doi:10.1016/j.healun.2012.12.004
148. Consolo F, Sheriff J, Gorla S, et al. High Frequency Components of Hemodynamic Shear Stress Profiles are a Major Determinant of Shear-Mediated Platelet Activation in Therapeutic Blood Recirculating Devices. *Sci Rep.* 2017;7(1):4994. Published 2017 Jul 10. doi:10.1038/s41598-017-05130-5
149. Lee H, Lee K, Lee BK, Priezhev AV, Shin S. Effect of shear-induced platelet activation on red blood cell aggregation. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2017;66(2):97-104. doi:10.3233/CH-16191
150. Chen Z, Mondal NK, Ding J, Gao J, Griffith BP, Wu ZJ. Shear-induced platelet receptor shedding by non-physiological high shear stress with short exposure time: glycoprotein Iba and glycoprotein VI. *Thromb Res.* 2015;135(4):692-698. doi:10.1016/j.thromres.2015.01.030
151. Hu J, Mondal NK, Sorensen EN, Cai L, Fang HB, Griffith BP, Wu ZJ. Platelet glycoprotein Iba ectodomain shedding and non-surgical bleeding in heart failure patients supported by continuous-flow left ventricular assist devices. *J Heart Lung Transplant.* 2014;33(1):71-79. doi:10.1016/j.healun.2013.08.013
152. Steinlechner B, Dworschak M, Birkenberg B, Duris M, Zeidler P, Fischer H, et al. Platelet dysfunction in outpatients with left ventricular assist devices. *Ann Thorac Surg.* 2009;87(1):131-137. doi:10.1016/j.athoracsur.2008.10.027

153. Yin W, Gallocher S, Pinchuk L, Schoephoerster RT, Jesty J, Bluestein D. Flow-induced platelet activation in a St. Jude mechanical heart valve, a trileaflet polymeric heart valve, and a St. Jude tissue valve. *Artif Organs*. 2005;29(10):826–831. doi:10.1111/j.1525-1594.2005.29109.x
154. Bluestein D, Yin W, Affeld K, Jesty J. Flow-induced platelet activation in mechanical heart valves. *J Heart Valve Dis*. 2004;13(3):501–508.
155. Al-Tamimi M, Tan CW, Qiao J, Pennings GJ, Javadzadegan A, Yong ASC, et al. Pathologic shear triggers shedding of vascular receptors: a novel mechanism for down-regulation of platelet glycoprotein VI in stenosed coronary vessels. *Blood*. 2012;119(18):4311–4320. doi:10.1182/blood-2011-10-386607
156. Tsai HM, Sussman II, Nagel RL. Shear stress enhances the proteolysis of von Willebrand factor in normal plasma. *Blood*. 1994;83(8):2171–2179.
157. Cheng H, Yan R, Li S, et al. Shear-induced interaction of platelets with von Willebrand factor results in glycoprotein Iba α shedding. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2009;297(6):H2128–H2135. doi:10.1152/ajpheart.00107.2009
158. Arthur JF, Dunkley S, Andrews RK. Platelet glycoprotein VI-related clinical defects. *Br J Haematol*. 2007;139(3):363–372. doi:10.1111/j.1365-2141.2007.06799.x
159. Heilmann C, Geisen U, Beyersdorf F, Nakamura L, Benk C, Trummer G, et al. Acquired von Willebrand syndrome in patients with extracorporeal life support (ECLS). *Intensive Care Med*. 2012;38(1):62–68. doi:10.1007/s00134-011-2370-6
160. Kalbhenn J, Schmidt R, Nakamura L, Schelling J, Rosenfelder S, Zieger B. Early Diagnosis of Acquired von Willebrand Syndrome (AVWS) is Elementary for Clinical Practice in Patients Treated with ECMO Therapy. *J Atheroscler Thromb*. 2015;22(3):265–271. doi:10.5551/jat.27268
161. Kameneva MV, Undar A, Antaki JF, Watach MJ, Calhoon JH, Borovetz HS. Decrease in red blood cell deformability caused by hypothermia, hemodilution, and mechanical stress: factors related to cardiopulmonary bypass. *ASAIO J*. 1999;45(4):307–310. doi:10.1097/00002480-199907000-00010
162. Canobbio I, Balduini C, Torti M. Signalling through the platelet glycoprotein Ib-V-IX complex. *Cell Signal*. 2004;16(12):1329–1344. doi:10.1016/j.cellsig.2004.05.008
163. Lo B, Nierich AP, Kalkman CJ, Fijnheer R. Relatively increased von Willebrand factor activity after off-pump coronary artery bypass graft surgery. *Thromb Haemost*. 2007;97(1):21–26
164. Passaroni AC, Felicio ML, Campos NLKL, Silva MAM, Yoshida WB. Hemolysis and Inflammatory Response to Extracorporeal Circulation during On-Pump CABG: Comparison between Roller and Centrifugal Pump Systems. *Braz J Cardiovasc Surg*. 2018;33(1):64–71. doi:10.21470/1678-9741-2017-0125

165. Vermeulen Windsant IC, de Wit NC, Sertorio JT, et al. Blood transfusions increase circulating plasma free hemoglobin levels and plasma nitric oxide consumption: a prospective observational pilot study. *Crit Care*. 2012;16(3):R95. Published 2012 May 25. doi:10.1186/cc11359
166. Vermeulen Windsant IC, de Wit NC, Sertorio JT, et al. Hemolysis during cardiac surgery is associated with increased intravascular nitric oxide consumption and perioperative kidney and intestinal tissue damage. *Front Physiol*. 2014;5:340. Published 2014 Sep 8. doi:10.3389/fphys.2014.00340
167. Reiter CD, Wang X, Tanus-Santos JE, et al. Cell-free hemoglobin limits nitric oxide bioavailability in sickle-cell disease. *Nat Med*. 2002;8(12):1383-1389. doi:10.1038/nm1202-799
168. Vercaemst L. Hemolysis in cardiac surgery patients undergoing cardiopulmonary bypass: a review in search of a treatment algorithm. *J Extra Corpor Technol*. 2008;40(4):257-267.
169. Kristiansen M, Graversen JH, Jacobsen C, et al. Identification of the haemoglobin scavenger receptor. *Nature*. 2001;409(6817):198-201. doi:10.1038/35051594
170. Rezoagli E, Ichinose F, Strelow S, et al. Pulmonary and Systemic Vascular Resistances After Cardiopulmonary Bypass: Role of Hemolysis. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 2017;31(2):505-515. doi:10.1053/j.jvca.2016.06.009
171. Gkaliagkousi E, Ferro A. Nitric oxide signalling in the regulation of cardiovascular and platelet function. *Front Biosci (Landmark Ed)*. 2011;16:1873-1897. Published 2011 Jan 1. doi:10.2741/3828
172. Olsen SB, Tang DB, Jackson MR, Gomez ER, Ayala B, Alving BM. Enhancement of platelet deposition by cross-linked hemoglobin in a rat carotid endarterectomy model. *Circulation*. 1996;93(2):327-332. doi:10.1161/01.cir.93.2.327
173. Cholette JM, Pietropaoli AP, Henrichs KF, et al. Elevated free hemoglobin and decreased haptoglobin levels are associated with adverse clinical outcomes, unfavorable physiologic measures, and altered inflammatory markers in pediatric cardiac surgery patients. *Transfusion*. 2018;58(7):1631-1639. doi:10.1111/trf.14601
174. Studt JD, Kremer Hovinga JA, Antoine G, et al. Fatal congenital thrombotic thrombocytopenic purpura with apparent ADAMTS13 inhibitor: in vitro inhibition of ADAMTS13 activity by hemoglobin. *Blood*. 2005;105(2):542-544. doi:10.1182/blood-2004-06-2096
175. Alayash AI. Oxidative pathways in the sickle cell and beyond. *Blood Cells Mol Dis*. 2018;70:78-86. doi:10.1016/j.bcmd.2017.05.009
176. Dangel O, Mergia E, Karlisch K, Groneberg D, Koesling D, Friebe A. Nitric oxide-sensitive guanylyl cyclase is the only nitric oxide receptor mediating platelet inhibition. *J Thromb Haemost*. 2010;8(6):1343-1352. doi:10.1111/j.1538-7836.2010.03806.x

177. Vermeulen Windsant IC, Hanssen SJ, Buurman WA, Jacobs MJ. Cardiovascular surgery and organ damage: time to reconsider the role of hemolysis. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2011;142(1):1–11. doi:10.1016/j.jtcvs.2011.02.012
178. Versteeg HH, Heemskerk JW, Levi M, Reitsma PH. New fundamentals in hemostasis. *Physiol Rev.* 2013;93(1):327-358. doi:10.1152/physrev.00016.2011
179. Colman RWCA, George JN, Hirsh J, Marder VJ. Overview of hemostasis. In: Hemostasis and Thrombosis, Basic Principles and Clinical Practice. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins, 2001, p. 3–16.
180. van Gestel MA, Heemskerk JW, Slaaf DW, et al. Real-time detection of activation patterns in individual platelets during thromboembolism in vivo: differences between thrombus growth and embolus formation. *J Vasc Res.* 2002;39(6):534-543. doi:10.1159/000067208
181. Periyah MH, Halim AS, Mat Saad AZ. Mechanism Action of Platelets and Crucial Blood Coagulation Pathways in Hemostasis. *Int J Hematol Oncol Stem Cell Res.* 2017;11(4):319-327
182. de Witt SM, Swieringa F, Cavill R, et al. Identification of platelet function defects by multi-parameter assessment of thrombus formation. *Nat Commun.* 2014;5:4257. Published 2014 Jul 16. doi:10.1038/ncomms5257
183. Stalker TJ, Welsh JD, Tomaiuolo M, et al. A systems approach to hemostasis: 3. Thrombus consolidation regulates intrathrombus solute transport and local thrombin activity. *Blood.* 2014;124(11):1824-1831. doi:10.1182/blood-2014-01-550319
184. Mattheij NJ, Swieringa F, Mastenbroek TG, et al. Coated platelets function in platelet-dependent fibrin formation via integrin α IIb β 3 and transglutaminase factor XIII. *Haematologica.* 2016;101(4):427-436. doi:10.3324/haematol.2015.131441
185. Golebiewska EM, Poole AW. Platelet secretion: From haemostasis to wound healing and beyond. *Blood Rev.* 2015;29(3):153-162. doi:10.1016/j.blre.2014.10.003
186. Jackson SP, Nesbitt WS, Kulkarni S. Signaling events underlying thrombus formation. *J Thromb Haemost.* 2003;1(7):1602-1612. doi:10.1046/j.1538-7836.2003.00267.x
187. Ohkawa R, Hirowatari Y, Nakamura K, et al. Platelet release of beta-thromboglobulin and platelet factor 4 and serotonin in plasma samples. *Clin Biochem.* 2005;38(11):1023-1026. doi:10.1016/j.clinbiochem.2005.07.008
188. Ferroni P, Martini F, Riandino S, et al. Soluble P-selectin as a marker of in vivo platelet activation. *Clin Chim Acta.* 2009;399(1-2):88-91. doi:10.1016/j.cca.2008.09.018
189. Stegner D, Nieswandt B. Platelet receptor signaling in thrombus formation. *J Mol Med (Berl).* 2011;89(2):109-121. doi:10.1007/s00109-010-0691-5
190. Amelirad A, Shamsasenjan K, Akbarzadehlaleh P, Pashoutan Sarvar D. Signaling Pathways of Receptors Involved in Platelet Activation and Shedding of These Receptors in Stored Platelets. *Adv Pharm Bull.* 2019;9(1):38-47. doi:10.15171/apb.2019.005
191. Herter JM, Rossaint J, Zarbock A. Platelets in inflammation and immunity [published correction appears in *J Thromb Haemost.* 2015 Mar;13(3):490]. *J Thromb Haemost.* 2014;12(11):1764-1775. doi:10.1111/jth.12730

192. Santilli F, Basili S, Ferroni P, Davi G. CD40/CD40L system and vascular disease. *Intern Emerg Med*. 2007;2(4):256-268. doi:10.1007/s11739-007-0076-0
193. Tesfamariam B. Distinct characteristics of neonatal platelet reactivity. *Pharmacol Res*. 2017;123:1-9. doi:10.1016/j.phrs.2017.06.003
194. Warkentin TE, Arnold DM, Nazi I, Kelton JG. The platelet serotonin-release assay. *Am J Hematol*. 2015;90(6):564-572. doi:10.1002/ajh.24006
195. Starlinger P, Moll HP, Assinger A, et al. Thrombospondin-1: a unique marker to identify in vitro platelet activation when monitoring in vivo processes. *J Thromb Haemost*. 2010;8(8):1809-1819. doi:10.1111/j.1538-7836.2010.03908.x
196. Shantsila E, Kamphuisen PW, Lip GY. Circulating microparticles in cardiovascular disease: implications for atherogenesis and atherothrombosis. *J Thromb Haemost*. 2010;8(11):2358-2368. doi:10.1111/j.1538-7836.2010.04007.x
197. Abu el-Makrem MA, Mahmoud YZ, Sayed D, et al. The role of platelets CD40 ligand (CD154) in acute coronary syndromes. *Thromb Res*. 2009;124(6):683-688. doi:10.1016/j.thromres.2009.06.028
198. Bigalke B, Langer H, Geisler T, Lindemann S, Gawaz M. Platelet glycoprotein VI: a novel marker for acute coronary syndrome. *Semin Thromb Hemost*. 2007;33(2):179-184. doi:10.1055/s-2007-969032
199. Stratz C, Bömicke T, Younas I, et al. Comparison of Immature Platelet Count to Established Predictors of Platelet Reactivity During Thienopyridine Therapy. *J Am Coll Cardiol*. 2016;68(3):286-293. doi:10.1016/j.jacc.2016.04.056
200. Pons I, Monteagudo M, Lucchetti G, et al. Correlation between immature platelet fraction and reticulated platelets. Usefulness in the etiology diagnosis of thrombocytopenia. *Eur J Haematol*. 2010;85(2):158-163. doi:10.1111/j.1600-0609.2010.01468.x
201. Park Y, Schoene N, Harris W. Mean platelet volume as an indicator of platelet activation: methodological issues. *Platelets*. 2002;13(5-6):301-306. doi:10.1080/095371002220148332
202. Guthikonda S, Alviar CL, Vaduganathan M, et al. Role of reticulated platelets and platelet size heterogeneity on platelet activity after dual antiplatelet therapy with aspirin and clopidogrel in patients with stable coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*. 2008;52(9):743-749. doi:10.1016/j.jacc.2008.05.031
203. Davi G, Patrono C. Platelet activation and atherothrombosis. *N Engl J Med*. 2007;357(24):2482-2494. doi:10.1056/NEJMra071014
204. Podoplelova NA, Sveshnikova AN, Kurasawa JH, et al. Hysteresis-like binding of coagulation factors X/Xa to procoagulant activated platelets and phospholipids results from multistep association and membrane-dependent multimerization. *Biochim Biophys Acta*. 2016;1858(6):1216-1227. doi:10.1016/j.bbamem.2016.02.008
205. Kailashiya J. Platelet-derived microparticles analysis: Techniques, challenges and recommendations. *Anal Biochem*. 2018;546:78-85. doi:10.1016/j.ab.2018.01.030
206. Chen Y, Li G, Liu ML. Microvesicles as Emerging Biomarkers and Therapeutic Targets in Cardiometabolic Diseases. *Genomics Proteomics Bioinformatics*. 2018;16(1):50-62. doi:10.1016/j.gpb.2017.03.006
207. van der Meijden PEJ, Heemskerk JWM. Platelet biology and functions: new concepts and clinical perspectives. *Nat Rev Cardiol*. 2019;16(3):166-179. doi:10.1038/s41569-018-0110-0

208. Born GV. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. *Nature*. 1962;194:927-929. doi:10.1038/194927b0
209. Frontroth JP. Light transmission aggregometry. *Methods Mol Biol*. 2013;992:227-240. doi:10.1007/978-1-62703-339-8_17
210. Gremmel T, Frelinger AL 3rd, Michelson AD. Platelet Physiology. *Semin Thromb Hemost*. 2016;42(3):191-204. doi:10.1055/s-0035-1564835
211. Cardinal DC, Flower RJ. The electronic aggregometer: a novel device for assessing platelet behavior in blood. *J Pharmacol Methods*. 1980;3(2):135-158. doi:10.1016/0160-5402(80)90024-8
212. Algahtani M, Heptinstall S. Novel strategies for assessing platelet reactivity. *Future Cardiol*. 2017;13(1):33-47. doi:10.2217/fca-2016-0054
213. Fox SC, Sasae R, Janson S, May JA, Heptinstall S. Quantitation of platelet aggregation and microaggregate formation in whole blood by flow cytometry. *Platelets*. 2004;15(2):85-93. doi:10.1080/09537100310001645979
214. Bath PM, May J, Heptinstall S. Clinical utility of remote platelet function measurement using P-selectin: assessment of aspirin, clopidogrel, and prasugrel and bleeding disorders. *Platelets*. 2018;29(5):425-430. doi:10.1080/09537104.2018.1445839
215. Algahtani M, Dovlatova N, May J, Heptinstall S, Fox S. Flow cytometric measurement of platelet aggregation and platelet-leucocyte conjugate formation using small volume of fixed whole blood. *Platelets*. 2016;27(1), 2-3
216. Michelson AD, Furman MI. Laboratory markers of platelet activation and their clinical significance. *Curr Opin Hematol*. 1999;6(5):342-348. doi:10.1097/00062752-199909000-00012
217. Heptinstall S, Fox S, May J, White A, Dovlatova N. PAMFix, a fixative developed to enable remote platelet function testing. *Curr Top Pharmacol*. 2015;19, 1-12
218. Furman MI, Barnard MR, Krueger LA, et al. Circulating monocyte-platelet aggregates are an early marker of acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2001;38(4):1002-1006. doi:10.1016/s0735-1097(01)01485-1
219. Zhao L, Fletcher S, Weaver C, et al. Effects of aspirin, clopidogrel and dipyridamole administered singly and in combination on platelet and leucocyte function in normal volunteers and patients with prior ischaemic stroke. *Thromb Haemost*. 2005;93(3):527-534. doi:10.1160/TH04-09-0559
220. Glenn JR, Dovlatova N, White AE, Dhillon K, Heptinstall S, Fox SC. 'VASPFix' for measurement of VASP phosphorylation in platelets and for monitoring effects of P2Y12 antagonists. *Thromb Haemost*. 2014;111(3):539-548. doi:10.1160/TH13-07-0581
221. Dyszkiewicz-Korpanty A, Olteanu H, Frenkel EP, Sarode R. Clopidogrel anti-platelet effect: an evaluation by optical aggregometry, impedance aggregometry, and the platelet function analyzer (PFA-100). *Platelets*. 2007;18(7):491-496. doi:10.1080/09537100701280654
222. Mueller T, Dieplinger B, Poelz W, Haltmayer M. Utility of the PFA-100 instrument and the novel multiplate analyzer for the assessment of aspirin and clopidogrel effects on platelet function in patients with cardiovascular disease. *Clin Appl Thromb Hemost*. 2009;15(6):652-659. doi:10.1177/1076029608322547
223. Del Vecchio A, Motta M, Romagnoli C. Neonatal Platelet Function. *Clin Perinatol*. 2015;42(3):625-638. doi:10.1016/j.clp.2015.04.015

224. Sniderman J, Monagle P, Annich GM, MacLaren G. Hematologic concerns in extracorporeal membrane oxygenation. *Res Pract Thromb Haemost.* 2020;4(4):455-468. Published 2020 May 15. doi:10.1002/rth2.12346
225. Cirino G, Vellecco V, Bucci M. Nitric oxide and hydrogen sulfide: the gasotransmitter paradigm of the vascular system. *Br J Pharmacol.* 2017;174(22):4021-4031. doi:10.1111/bph.13815
226. Kolluru GK, Prasai PK, Kaskas AM, Letchuman V, Pattillo CB. Oxygen tension, H₂S, and NO bioavailability: is there an interaction?. *J Appl Physiol (1985).* 2016;120(2):263-270. doi:10.1152/jappphysiol.00365.2015
227. Kobsar A, Simonis S, Klinker E, et al. Specific inhibitory effects of the NO donor MAHMA/NONOate on human platelets. *Eur J Pharmacol.* 2014;735:169-176. doi:10.1016/j.ejphar.2014.04.027
228. Iung B, Baron G, Butchart EG, et al. A prospective survey of patients with valvular heart disease in Europe: The Euro Heart Survey on Valvular Heart Disease. *Eur Heart J.* 2003;24(13):1231-1243. doi:10.1016/s0195-668x(03)00201-x
229. Lindroos M, Kupari M, Heikkilä J, Tilvis R. Prevalence of aortic valve abnormalities in the elderly: an echocardiographic study of a random population sample. *J Am Coll Cardiol.* 1993;21(5):1220-1225. doi:10.1016/0735-1097(93)90249-z
230. Coffey S, Cairns BJ, Iung B. The modern epidemiology of heart valve disease. *Heart.* 2016;102(1):75-85. doi:10.1136/heartjnl-2014-307020
231. Valverde JC, Tormo MJ, Navarro C, et al. Prevalence of diabetes in Murcia (Spain): a Mediterranean area characterised by obesity. *Diabetes Res Clin Pract.* 2006;71(2):202-209. doi:10.1016/j.diabres.2005.06.009
232. McLean E, Cogswell M, Egli I, Wojdyla D, de Benoist B. Worldwide prevalence of anaemia, WHO Vitamin and Mineral Nutrition Information System, 1993-2005. *Public Health Nutr.* 2009;12(4):444-454. doi:10.1017/S1368980008002401
233. Klein AA, Collier TJ, Brar MS, et al. The incidence and importance of anaemia in patients undergoing cardiac surgery in the UK - the first Association of Cardiothoracic Anaesthetists national audit. *Anaesthesia.* 2016;71(6):627-635. doi:10.1111/anae.13423
234. Marik PE, Corwin HL. Efficacy of red blood cell transfusion in the critically ill: a systematic review of the literature [published correction appears in Crit Care Med. 2008 Nov;36(11):3134]. *Crit Care Med.* 2008;36(9):2667-2674. doi:10.1097/CCM.0b013e3181844677
235. Murphy GJ, Pike K, Rogers CA, et al. Liberal or restrictive transfusion after cardiac surgery [published correction appears in N Engl J Med. 2015 Jun 4;372(23):2274]. *N Engl J Med.* 2015;372(11):997-1008. doi:10.1056/NEJMoa1403612
236. Nakamura RE, Vincent JL, Fukushima JT, et al. A liberal strategy of red blood cell transfusion reduces cardiogenic shock in elderly patients undergoing cardiac surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2015;150(5):1314-1320. doi:10.1016/j.jtcvs.2015.07.051
237. Koch CG, Sessler DI, Mascha EJ, et al. A Randomized Clinical Trial of Red Blood Cell Transfusion Triggers in Cardiac Surgery. *Ann Thorac Surg.* 2017;104(4):1243-1250. doi:10.1016/j.athoracsur.2017.05.048
238. Shehata N, Mistry N, da Costa BR, et al. Restrictive compared with liberal red cell transfusion strategies in cardiac surgery: a meta-analysis. *Eur Heart J.* 2019;40(13):1081-1088. doi:10.1093/eurheartj/ehy435

239. Terwindt LE, Karlas AA, Eberl S, et al. Patient blood management in the cardiac surgical setting: An updated overview. *Transfus Apher Sci.* 2019;58(4):397–407. doi:10.1016/j.transci.2019.06.015
240. Ming Y, Liu J, Zhang F, et al. Transfusion of Red Blood Cells, Fresh Frozen Plasma, or Platelets Is Associated With Mortality and Infection After Cardiac Surgery in a Dose-Dependent Manner. *Anesth Analg.* 2020;130(2):488-497. doi:10.1213/ANE.0000000000004528
241. Ninkovic S, McQuilten Z, Gotmaker R, Newcomb AE, Cole-Sinclair MF. Platelet transfusion is not associated with increased mortality or morbidity in patients undergoing cardiac surgery. *Transfusion.* 2018;58(5):1218-1227. doi:10.1111/trf.14561
242. Redfern RE, Fleming K, March RL, et al. Thrombelastography-Directed Transfusion in Cardiac Surgery: Impact on Postoperative Outcomes. *Ann Thorac Surg.* 2019;107(5):1313-1318. doi:10.1016/j.athoracsur.2019.01.018
243. Erdoes G, Koster A, Meesters MI, et al. The role of fibrinogen and fibrinogen concentrate in cardiac surgery: an international consensus statement from the Haemostasis and Transfusion Scientific Subcommittee of the European Association of Cardiothoracic Anaesthesiology [published correction appears in *Anaesthesia.* 2020 Jan;75(1):122-123]. *Anaesthesia.* 2019;74(12):1589-1600. doi:10.1111/anae.14842
244. Jung B, Cachier A, Baron G, et al. Decision-making in elderly patients with severe aortic stenosis: why are so many denied surgery?. *Eur Heart J.* 2005;26(24):2714-2720. doi:10.1093/eurheartj/ehi471
245. Al Khabori M, Al Riyami A, Siddiqi MS, Sarfaraz ZK, Ziadinov E, Al Sabti H. Impact of cell saver during cardiac surgery on blood transfusion requirements: a systematic review and meta-analysis. *Vox Sang.* 2019;114(6):553-565. doi:10.1111/vox.12824
246. Wang G, Bainbridge D, Martin J, Cheng D. The efficacy of an intraoperative cell saver during cardiac surgery: a meta-analysis of randomized trials. *Anesth Analg.* 2009;109(2):320-330. doi:10.1213/ane.0b013e3181aa084c
247. van Klarenbosch J, van den Heuvel ER, van Oeveren W, de Vries AJ. Does Intraoperative Cell Salvage Reduce Postoperative Infection Rates in Cardiac Surgery?. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 2020;34(6):1457-1463. doi:10.1053/j.jvca.2020.01.023
248. Höfer J, Fries D, Solomon C, Velik-Salchner C, Ausserer J. A Snapshot of Coagulopathy After Cardiopulmonary Bypass. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2016;22(6):505-511. doi:10.1177/1076029616651146
249. Khalaf-Adeli E, Alavi M, Alizadeh-Ghavidel A, Pourfathollah AA. Comparison of standard coagulation testing with thromboelastometry tests in cardiac surgery. *J Cardiovasc Thorac Res.* 2019;11(4):300-304. doi:10.15171/jcvtr.2019.48
250. Kuiper GJAJM, van Egmond LT, Henskens YMC, et al. Shifts of Transfusion Demand in Cardiac Surgery After Implementation of Rotational Thromboelastometry-Guided Transfusion Protocols: Analysis of the HEROES-CS (HEmostasis Registry of patiEntS in Cardiac Surgery) Observational, Prospective Open Cohort Database. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 2019;33(2):307-317. doi:10.1053/j.jvca.2018.08.203
251. Karkouti K, Callum JL, Acker JP, Yip P, Rao V. Red Cell Transfusion-Associated Hemolysis in Cardiac Surgery: An Observational Cohort Study. *Anesth Analg.* 2017;124(6):1986-1991. doi:10.1213/ANE.0000000000001807
252. Tanaka K, Kanamori Y, Sato T, et al. Administration of haptoglobin during cardiopulmonary bypass surgery. *ASAIO Trans.* 1991;37(3):M482-M483.





253. Barcellini W, Fattizzo B. Clinical Applications of Hemolytic Markers in the Differential Diagnosis and Management of Hemolytic Anemia. *Dis Markers*. 2015;2015:635670. doi:10.1155/2015/635670
254. Li D, Wu Q, Liu S, et al. Lactic Dehydrogenase in the In Vitro Evaluation of Hemolytic Properties of Ventricular Assist Device. *Artif Organs*. 2017;41(11):E274–E284. doi:10.1111/aor.12943
255. Wang MJ, Chao A, Huang CH, et al. Hyperbilirubinemia after cardiac operation. Incidence, risk factors, and clinical significance. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1994;108(3):429-436.
256. Collins JD, Bassendine MF, Ferner R, et al. Incidence and prognostic importance of jaundice after cardiopulmonary bypass surgery. *Lancet*. 1983;1(8334):1119-1123. doi:10.1016/s0140-6736(83)92863-5
257. Chu CM, Chang CH, Liaw YF, Hsieh MJ. Jaundice after open heart surgery: a prospective study. *Thorax*. 1984;39(1):52-56. doi:10.1136/thx.39.1.52
258. Hilal T, Mudd J, DeLoughery TG. Hemostatic complications associated with ventricular assist devices. *Res Pract Thromb Haemost*. 2019;3(4):589-598. Published 2019 Jun 9. doi:10.1002/rth2.12226
259. O'Connor E, Fraser JF. The interpretation of perioperative lactate abnormalities in patients undergoing cardiac surgery. *Anaesth Intensive Care*. 2012;40(4):598–603. doi:10.1177/0310057X1204000404
260. Minton J, Sidebotham DA. Hyperlactatemia and Cardiac Surgery. *J Extra Corpor Technol*. 2017;49(1):7–15.
261. Zaky A. Thromboelastometry Versus Rotational Thromboelastography in Cardiac Surgery. *Semin Cardiothorac Vasc Anesth*. 2017;21(3):206-211. doi:10.1177/1089253217697146
262. Sarrais Polo C, Alonso Morenza A, Rey Picazo J, Álvarez Mercadal L, Beltrao Sial R, Aguilar Lloret C. Thromboelastometry as guidance for blood management in patients undergoing cardiac surgery. Tromboelastometría como guía de administración de hemoderivados en cirugía cardíaca. *Rev Esp Anestesiología Reanim*. 2018;65(3):129-134. doi:10.1016/j.redar.2017.10.004
263. Meesters MI, von Heymann C. Optimizing Perioperative Blood and Coagulation Management During Cardiac Surgery. *Anesthesiol Clin*. 2019;37(4):713-728. doi:10.1016/j.anclin.2019.08.006
264. Gozdzik W, Adamik B, Wysoczanski G, et al. Preoperative thromboelastometry for the prediction of increased chest tube output in cardiac surgery: A retrospective study. *Medicine (Baltimore)*. 2017;96(30):e7669. doi:10.1097/MD.0000000000007669
265. Ghavidel AA, Toutounchi Z, Shahandashti FJ, Mirmesdagh Y. Rotational thromboelastometry in prediction of bleeding after cardiac surgery. *Asian Cardiovasc Thorac Ann*. 2015;23(5):525–529. doi:10.1177/0218492314566330
266. Couture P, Lebon JS, Laliberté É, et al. Low-Dose Versus High-Dose Tranexamic Acid Reduces the Risk of Nonischemic Seizures After Cardiac Surgery With Cardiopulmonary Bypass. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 2017;31(5):1611-1617. doi:10.1053/j.jvca.2017.04.026
267. Sucker C, Litmathe J, Feindt P, Zotz R. Platelet function analyzer (PFA-100) as a useful tool for the prediction of transfusion requirements during aortic valve replacement. *Thorac Cardiovasc Surg*. 2011;59(4):233–236. doi:10.1055/s-0030-1250375

268. Bogdanić D, Bogdanić N, Karanović N. Evaluation of platelet count and platelet function analyzer - 100 testing for prediction of platelet transfusion following coronary bypass surgery [published online ahead of print, 2020 Mar 3]. *Scand J Clin Lab Invest.* 2020;1–7. doi:10.1080/00365513.2020.1731847
269. Thiele RH, Raphael J. A 2014 Update on Coagulation Management for Cardiopulmonary Bypass. *Semin Cardiothorac Vasc Anesth.* 2014;18(2):177-189. doi:10.1177/1089253214534782
270. Kong R, Trimmings A, Hutchinson N, et al. Consensus recommendations for using the Multiplate® for platelet function monitoring before cardiac surgery. *Int J Lab Hematol.* 2015;37(2):143–147. doi:10.1111/ijlh.12279
271. Schimmer C, Hamouda K, Sommer SP, Özkur M, Hain J, Leyh R. The predictive value of multiple electrode platelet aggregometry (multiplate) in adult cardiac surgery. *Thorac Cardiovasc Surg.* 2013;61(8):733–743. doi:10.1055/s-0033-1333659
272. Solomon C, Hartmann J, Osthaus A, et al. Platelet concentrates transfusion in cardiac surgery in relation to preoperative point-of-care assessment of platelet adhesion and aggregation. *Platelets.* 2010;21(3):221-228. doi:10.3109/09537100903560155
273. Rahe-Meyer N, Winterhalter M, Boden A, et al. Platelet concentrates transfusion in cardiac surgery and platelet function assessment by multiple electrode aggregometry. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2009;53(2):168-175. doi:10.1111/j.1399-6576.2008.01845.x
274. Ramström S, Södergren AL, Tynngård N, Lindahl TL. Platelet Function Determined by Flow Cytometry: New Perspectives?. *Semin Thromb Hemost.* 2016;42(3):268-281. doi:10.1055/s-0035-1570082
275. Balle CM, Jeppesen AN, Christensen S, Hvas AM. Platelet Function During Extracorporeal Membrane Oxygenation in Adult Patients. *Front Cardiovasc Med.* 2019;6:114. Published 2019 Aug 8. doi:10.3389/fcvm.2019.00114
276. Fox SC, May JA, Dovlatova N, et al. How does measurement of platelet P-selectin compare with other methods of measuring platelet function as a means of determining the effectiveness of antiplatelet therapy?. *Platelets.* 2019;30(3):290-295. doi:10.1080/09537104.2018.1434311
277. Ludwig RJ, Schön MP, Boehncke WH. P-selectin: A common therapeutic target for cardiovascular disorders, inflammation and tumour metastasis. *Expert Opin. Ther. Targets.* 2007;11(8):1103–1117. doi:10.1517/14728222.11.8.1103
278. Finsterbusch M, Schrottmaier WC, Kral-Pointner JB, Salzmann M, Assinger A. Measuring and interpreting platelet-leukocyte aggregates. *Platelets.* 2018;29(7):677-685. doi:10.1080/09537104.2018.1430358
279. Ivanov II, Apta BHR, Bonna AM, Harper MT. Platelet P-selectin triggers rapid surface exposure of tissue factor in monocytes. *Sci Rep.* 2019;9(1):13397. Published 2019 Sep 16. doi:10.1038/s41598-019-49635-7
280. Pedersen OH, Nissen PH, Hvas AM. Platelet function investigation by flow cytometry: Sample volume, needle size, and reference intervals. *Platelets.* 2018;29(2):199-202. doi:10.1080/09537104.2017.1353684
281. Dirkmann D, Nagy E, Britten MW, Peters J. Point-of-care measurement of activated clotting time for cardiac surgery as measured by the Hemochron signature elite and the Abbott i-STAT: agreement, concordance, and clinical reliability. *BMC Anesthesiol.* 2019;19(1):174. Published 2019 Sep 6. doi:10.1186/s12871-019-0846-z

- 282.Li H, Serrick C, Rao V, Yip PM. A comparative analysis of four activated clotting time measurement devices in cardiac surgery with cardiopulmonary bypass [published online ahead of print, 2020 Sep 4]. *Perfusion*. 2020;267659120949351. doi:10.1177/0267659120949351
- 283.Bischof DB, Ganter MT, Shore-Lesserson L, et al. Viscoelastic blood coagulation measurement with Sonoclot predicts postoperative bleeding in cardiac surgery after heparin reversal. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 2015;29(3):715-722. doi:10.1053/j.jvca.2015.01.015
- 284.Cotton BA, Faz G, Hatch QM, et al. Rapid thrombelastography delivers real-time results that predict transfusion within 1 hour of admission. *J Trauma*. 2011;71(2):407-417. doi:10.1097/TA.0b013e31821e1bf0
- 285.Vonk AB, Veerhoek D, van den Brom CE, van Barneveld LJ, Boer C. Individualized heparin and protamine management improves rotational thromboelastometric parameters and postoperative hemostasis in valve surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 2014;28(2):235-241. doi:10.1053/j.jvca.2013.09.007
- 286.Koster A, Fischer T, Praus M, et al. Hemostatic activation and inflammatory response during cardiopulmonary bypass: impact of heparin management. *Anesthesiology*. 2002;97(4):837-841. doi:10.1097/00000542-200210000-00014
- 287.Aziz KA, Masood O, Hoschitzky JA, Ronald A. Does use of the Hepcon point-of-care coagulation monitor to optimise heparin and protamine dosage for cardiopulmonary bypass decrease bleeding and blood and blood product requirements in adult patients undergoing cardiac surgery?. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2006;5(4):469-482. doi:10.1510/icvts.2006.133785
- 288.Despotis GJ, Joist JH, Hogue CW Jr, et al. More effective suppression of hemostatic system activation in patients undergoing cardiac surgery by heparin dosing based on heparin blood concentrations rather than ACT. *Thromb Haemost*. 1996;76(6):902-908

8. ANEXOS

8.1. ANEXO I. Informe del Comité Ético de Investigación Clínica.

 <p>Servicio Murciano de Salud</p>	 <p>Arrixaca Hospital Universitario "Virgen de la Arrixaca" Ctra. Madrid - Cartagena • Telf. 968 36 95 00 30120 El Palmar (Murcia)</p>
<p>Dr. D. Antonio Piñero Madrona Presidente del CEIC Hospital Virgen de la Arrixaca</p>	
<p>CERTIFICA</p>	
<p>Que el CEIC Hospital Virgen de la Arrixaca en su reunión del día 25/07/2016, acta 07/16 ha evaluado la propuesta del investigador Dr. Faustino García Candel referida al estudio:</p>	
<p>Título: Estudio de la hemostasia en pacientes sometidos a cirugía cardiaca, con circulación extracorpórea</p>	
<p>Código Interno: 2016-7-2-HCUVA</p>	
<p>1º. Considera que</p> <ul style="list-style-type: none"> - El ensayo se plantea siguiendo los requisitos de la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica y su realización es pertinente. - Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto. - Son adecuados tanto el procedimiento para obtener el consentimiento informado como la compensación prevista para los sujetos por daños que pudieran derivarse de su participación en el estudio. - El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiere con el respeto a los postulados éticos. - La capacidad de los Investigadores y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio. <p>2º. Por lo que este CEIC emite un DICTAMEN FAVORABLE.</p> <p>3º. Este CEIC acepta que dicho estudio sea realizado en el <i>Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca</i> por el Dr. Faustino García Candel como investigador principal.</p>	
<p>Lo que firmo en Murcia, a 25 de julio de 2016</p>	
<p>Fdo:</p>	 
<p>Dr. D. Antonio Piñero Madrona Presidente del CEIC Hospital Virgen de la Arrixaca</p>	

8.2. ANEXO II. Tablas del estudio estadístico.

Tabla 1. Correlación de datos hemograma.

		Media	N	Desviación típ.	Error típ. de la media
Par 1	Hemoglobina M1	12,309	33	1,7449	,3037
	Hemoglobina M3	10,336	33	1,0577	,2007
Par 2	Hemoglobina M1	12,309	33	,3671	,3037
	Hemoglobina M2	9,657	33	,9938	,2504
Par 3	Hemoglobina M2	9,657	33	1,0577	,2504
	Hemoglobina M3	10,336	33	,9938	,2007
Par 4	Plaquetas M1	184878,79	33	67410,940	11734,738
	Plaquetas M3	124484,85	33	36617,210	6374,238
Par 5	Plaquetas M1	184878,79	33	67410,940	11734,738
	Plaquetas M2	141272,72	33	43718,755	7610,541
Par 6	Plaquetas M2	141272,72	33	43718,755	7610,541
	Plaquetas M3	124484,85	33	36617,210	6374,238

Tabla 2. Correlación de datos hemograma.

		Sig. (bilateral)
Par 1	Hemoglobina M1 - Hemoglobina M3	,000
Par 2	Hemoglobina M1 - Hemoglobina M3	,000
Par 3	Hemoglobina M2 - Hemoglobina M3	,000
Par 4	Plaquetas M1 - Plaquetas M3	,000
Par 5	Plaquetas M1 - Plaquetas M2	,000
Par 6	Plaquetas M2 - Plaquetas M3	,000

Tabla 3. Estadísticos ácido láctico.

		Media	N	Desviación típ.	Error típ. de la media
Par 1	Lactato M1	,867	33	,3671	,0639
	Lactato M2	1,461	33	1,0577	,1841
Par 2	Lactato M1	,867	33	,3671	,0639
	Lactato M3	1,491	33	,9938	,1730
Par 3	Lactato M2	1,461	33	1,0577	,1841
	Lactato M3	1,491	33	,9938	,1730

Tabla 4. Estadísticos ácido láctico.

		Sig. (bilateral)
Par 1	Lactato M1 - Lactato M2	,002
Par 2	Lactato M1 - Lactato M3	,001
Par 3	Lactato M2 - Lactato M3	,723

Tabla 5. Estadísticos de coagulación básica.

		Media	N	Desviación típ.	Error típ. de la media
Par 1	TP M1	12,376	33	1,3551	,2359
	TP M3	14,164	33	2,4030	,4183
Par 2	TTPA M1	30,982	33	2,6306	,4579
	TTPA M3	31,000	33	5,2950	,9217
Par 3	Fibrinógeno M1	403,27	33	79,139	13,776
	Fibrinógeno M3	309,00	33	71,966	12,528

Tabla 6. Estadísticos de coagulación básica.

		Sig. (bilateral)
Par 1	TP M1 - TP M3	,000
Par 2	TTPA M1 - TTPA M3	,986
Par 3	Fibrinógeno M1 - Fibrinógeno M3	,000

Tabla 7. Estadísticos LDH.

		Media	N	Desviación típ.	Error típ. de la media
Par 1	LDH M1	193,59	17	42,206	10,237
	LDH M2	195,76	17	37,516	9,099
Par 2	LDH M1	193,59	17	42,206	10,237
	LDH M3	234,12	17	58,737	14,246
Par 3	LDH M2	195,76	17	37,516	9,099
	LDH M3	234,12	17	58,737	14,246

Tabla 8. Estadísticos LDH.

		Sig. (bilateral)
Par 1	LDH M1 - LDH M2	,782
Par 2	LDH M1 - LDH M3	,003
Par 3	LDH M2 - LDH M3	,007

Tabla 9. Estadísticos haptoglobina.

		Media	N	Desviación típ.	Error típ. de la media
Par 1	Haptoglobina M1	99,71	17	55,566	13,477
	Haptoglobina M2	64,06	17	41,171	9,985
Par 2	Haptoglobina M1	99,71	17	55,566	13,477
	Haptoglobina M3	52,71	17	37,543	9,105
Par 3	Haptoglobina M2	64,06	17	41,171	9,985
	Haptoglobina M3	52,71	17	37,543	9,105

Tabla 10. Estadísticos haptoglobina.

		Sig. (bilateral)
Par 1	Haptoglobina M1 - Haptoglobina M2	,000
Par 2	Haptoglobina M1 - Haptoglobina M3	,000
Par 3	Haptoglobina M2 - Haptoglobina M3	,000

Tabla 11. Estadísticos bilirrubina.

		Media	N	Desviación típ.	Error típ. de la media
Par 1	Bilirrubina total M1	,7824	17	,62824	,15237
	Bilirrubina total M2	,6847	17	,57573	,13963
Par 2	Bilirrubina total M1	,7824	17	,62824	,15237
	Bilirrubina total M3	,7224	17	,54067	,13113
Par 3	Bilirrubina total M2	,6847	17	,57573	,13963
	Bilirrubina total M3	,7224	17	,54067	,13113

Tabla 12. Estadísticos bilirrubina.

		Sig. (bilateral)
Par 1	Bilirrubina total M1 - Bilirrubina total M2	,019
Par 2	Bilirrubina total M1 - Bilirrubina total M3	,095
Par 3	Bilirrubina total M2 - Bilirrubina total M3	,244

Tabla 13. Estadísticos tromboelastometría.

		Media	N	Desviación típ.	Error típ. de la media
Par 1	INTEM CT M1	173,06	33	20,834	3,627
	INTEM CT M3	174,06	33	18,985	3,305
Par 2	INTEM CFT M1	75,55	33	42,178	7,342
	INTEM CFT M3	91,06	33	40,998	7,137
Par 3	INTEM α M1	74,85	33	9,007	1,568
	INTEM α M3	73,09	33	6,802	1,184
Par 4	INTEM A10 M1	57,91	33	8,582	1,494
	INTEM A10 M3	51,33	33	7,582	1,320
Par 5	INTEM MCF M1	62,88	33	7,343	1,278
	INTEM MCF M3	58,82	33	6,361	1,107
Par 6	INTEM ML M1	,21	33	,650	,113
	INTEM ML M3	,24	33	,708	,123

Tabla 14. Estadísticos tromboelastometría.

		Sig. (bilateral)
Par 1	INTEM CT M1 - INTEM CT M3	,791
Par 2	INTEM CFT M1 - INTEM CFT M3	,060
Par 3	INTEM α M1 - INTEM α M3	,324
Par 4	INTEM A10 M1 - INTEM A10 M3	,000
Par 5	INTEM MCF M1 - INTEM MCF M3	,001
Par 6	INTEM ML M1 - INTEM ML M3	,768

Tabla 15. Estadísticos tromboelastometría.

		Sig. (bilateral)
Par 1	EXTEM CT M1 - EXTEM CT M3	,000
Par 2	EXTEM CFT M1 - EXTEM CFT M3	,348
Par 3	EXTEM α M1 - EXTEM α M3	,972
Par 4	EXTEM A10 M1 - EXTEM A10 M3	,001

Tabla 16. Estadísticos tromboelastometría.

		Media	N	Desviación típ.	Error típ. de la media
Par 1	EXTEM CT M1	56,30	33	9,951	1,732
	EXTEM CT M3	65,48	33	12,050	2,098
Par 2	EXTEM CFT M1	126,00	33	56,933	9,911
	EXTEM CFT M3	134,06	33	51,031	8,883
Par 3	EXTEM α M1	68,27	33	10,927	1,902
	EXTEM α M3	68,33	33	9,698	1,688
Par 4	EXTEM A10 M1	53,21	33	9,079	1,580
	EXTEM A10 M3	48,73	33	8,140	1,417

Tabla 17. Estadísticos tromboelastometría.

		Media	N	Desviación típ.	Error típ. de la media
Par 1	EXTEM MCF M1	58,55	33	8,555	1,489
	EXTEM MCF M3	56,24	33	8,243	1,435
Par 2	EXTEM ML M1	,70	33	1,403	,244
	EXTEM ML M3	,24	33	,708	,123

Tabla 18. Estadísticos tromboelastometría

		Sig. (bilateral)
Par 1	EXTEM MCF M1 - EXTEM MCF M3	,087
Par 2	EXTEM ML M1 - INTEM ML M3	,096

Tabla 19. Estadísticos tromboelastometría.

		Media	N	Desviación típ.	Error típ. de la media
Par 1	HEPTEM CT M1	165,67	33	36,824	6,410
	HEPTEM CT M3	173,27	33	18,908	3,291
Par 2	HEPTEM CFT M1	88,21	33	67,434	11,739
	HEPTEM CFT M3	98,39	33	41,267	7,184
Par 3	HEPTEM α M1	74,06	33	10,040	1,748
	HEPTEM α M3	73,15	33	5,745	1,000
Par 4	HEPTEM A10 M1	56,82	33	9,309	1,620
	HEPTEM A10 M3	50,39	33	8,609	1,499
Par 5	HEPTEM MCF M1	61,33	33	12,399	2,158
	HEPTEM MCF M3	58,00	33	8,463	1,473
Par 6	HEPTEM ML M1	1,18	33	1,776	,309
	HEPTEM ML M3	,52	33	1,121	,195

Tabla 20. Estadísticos tromboelastometría.

		Sig. (bilateral)
Par 1	HEPTEM CT M1 - HEPTEM CT M3	,234
Par 2	HEPTEM CFT M1 - HEPTEM CFT M3	,214
Par 3	HEPTEM α M1 - HEPTEM α M3	,451
Par 4	HEPTEM A10 M1 - HEPTEM A10 M3	,000
Par 5	HEPTEM MCF M1 - HEPTEM MCF M3	,125
Par 6	HEPTEM ML M1 - HEPTEM ML M3	,041

Tabla 21. Estadísticos tromboelastometría.

		Sig. (bilateral)
Par 1	HEPTEM CT M1 - HEPTEM CT M2	,000
Par 2	HEPTEM CFT M1 - HEPTEM CFT M2	,396
Par 3	HEPTEM α M1 - HEPTEM α M2	,638
Par 4	HEPTEM A10 M1 - HEPTEM A10 M2	,045
Par 5	HEPTEM MCF M1 - HEPTEM MCF M2	,821
Par 6	HEPTEM ML M1 - HEPTEM ML M2	,003

Tabla 22. Estadísticos tromboelastometría.

		Media	N	Desviación tıp.	Error tıp. de la media
Par 1	HEPTEM CT M1	165,67	33	36,824	6,410
	HEPTEM CT M2	212,39	33	25,091	4,368
Par 2	HEPTEM CFT M1	88,21	33	67,434	11,739
	HEPTEM CFT M2	79,21	33	26,151	4,552
Par 3	HEPTEM α M1	74,06	33	10,040	1,748
	HEPTEM α M2	74,76	33	5,038	,877
Par 4	HEPTEM A10 M1	56,82	33	9,309	1,620
	HEPTEM A10 M2	54,06	33	7,018	1,222
Par 5	HEPTEM MCF M1	61,33	33	12,399	2,158
	HEPTEM MCF M2	61,85	33	7,579	1,319
Par 6	HEPTEM ML M1	1,18	33	1,776	,309
	HEPTEM ML M2	,15	33	,508	,088

Tabla 23. Estadísticos tromboelastometría.

		Media	N	Desviación típ.	Error típ. de la media
Par 1	HEPTEM CT M2	212,39	33	25,091	4,368
	HEPTEM CT M3	173,27	33	18,908	3,291
Par 2	HEPTEM CFT M2	79,21	33	26,151	4,552
	HEPTEM CFT M3	98,39	33	41,267	7,184
Par 3	HEPTEM α M1	74,06	33	10,040	1,748
	HEPTEM α M3	73,15	33	5,745	1,000
Par 4	HEPTEM A10 M2	54,06	33	7,018	1,222
	HEPTEM A10 M3	50,39	33	8,609	1,499
Par 5	HEPTEM MCF M2	61,85	33	7,579	1,319
	HEPTEM MCF M3	58,00	33	8,463	1,473
Par 6	HEPTEM ML M2	,15	33	,508	,088
	HEPTEM ML M3	,52	33	1,121	,195

Tabla 24. Estadísticos tromboelastometría.

		Sig. (bilateral)
Par 1	HEPTEM CT M2 - HEPTEM CT M3	,000
Par 2	HEPTEM CFT M2 - HEPTEM CFT M3	,003
Par 3	HEPTEM α M1 - HEPTEM α M3	,451
Par 4	HEPTEM A10 M2 - HEPTEM A10 M3	,003
Par 5	HEPTEM MCF M2 - HEPTEM MCF M3	,006
Par 6	HEPTEM ML M2 - HEPTEM ML M3	,103

Tabla 25. Estadísticos tromboelastometría.

		Media	N	Desviación típ.	Error típ. de la media
Par 1	FIBTEM CT M1	56,39	33	15,108	2,630
	FIBTEM CT M3	61,12	33	11,895	2,071
Par 2	FIBTEM α M1	66,88	33	17,598	3,063
	FIBTEM α M3	67,42	33	14,433	2,512
Par 3	FIBTEM A10 M1	15,82	33	7,667	1,335
	FIBTEM A10 M3	14,76	33	5,362	,933
Par 4	FIBTEM MCF M1	17,82	33	7,772	1,353
	FIBTEM MCF M3	16,67	33	5,464	,951
Par 5	FIBTEM ML M1	,30	33	,810	,141
	FIBTEM ML M3	,24	33	,867	,151

Tabla 26. Estadísticos tromboelastometría.

	Sig. (bilateral)
Par 1 FIBTEM CT M1 - FIBTEM CT M3	,087
Par 2 FIBTEM α M1 - FIBTEM α M3	,766
Par 3 FIBTEM A10 M1 - FIBTEM A10 M3	,236
Par 4 FIBTEM MCF M1 - FIBTEM MCF M3	,039
Par 5 FIBTEM ML M1 - FIBTEM ML M3	,677

Tabla 27. Estadísticos PFA.

Prueba de muestras relacionadas		Sig. (bilateral)
Par 1	PFA colágeno/EPI M1 - PFA colágeno/EPI M2	,529
Par 2	PFA colágeno/EPI M1 - PFA colágeno/EPI M3	,926
Par 3	PFA colágeno/EPI M2 - PFA colágeno/EPI M3	,379

Tabla 28. Estadísticos PFA.

Estadísticos de muestras relacionadas					
	Media	N	Desviación típ.	Error típ. de la media	
Par 1	PFA colágeno/EPI M1	238,42	33	50,877	8,856
	PFA colágeno/EPI M2	232,21	33	30,381	5,289
Par 2	PFA colágeno/EPI M1	238,42	33	50,877	8,856
	PFA colágeno/EPI M3	237,61	33	33,561	5,842
Par 3	PFA colágeno/EPI M2	232,21	33	30,381	5,289
	PFA colágeno/EPI M3	237,61	33	33,561	5,842

Tabla 29. Estadísticos PFA.

Prueba de muestras relacionadas				
		Diferencias relacionadas		
		Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Par 1	PFA colágeno/EPI M1 - PFA colágeno/EPI M2	6,212	56,122	9,770
Par 2	PFA colágeno/EPI M1 - PFA colágeno/EPI M3	,818	50,342	8,763
Par 3	PFA colágeno/EPI M2 - PFA colágeno/EPI M3	-5,394	34,708	6,042

Tabla 30. Estadísticos PFA.

PFA-100	Media	N	Desv. Típica	Error típ de la media
PFA colágeno/ADP M1	215,33	33	63,82	7,321
PFA colágeno/ADP M2	230,57	33	50,39	4,789
PFA colágeno/ADP M3	220,45	33	66,43	5,132

Tabla 31. Estadísticos Multiplate.

Estadísticos de muestras relacionadas					
	Media	N	Desviación típ.	Error típ. de la media	
Par 1	AGREGACIÓN M1	66,342	33	22,3302	3,8872
	AGREGACIÓN M3	60,682	33	23,9717	4,1729
Par 2	AGREGACIÓN M1	66,342	33	22,3302	3,8872
	AGREGACIÓN M2	64,01	33	22,132	3,853
Par 3	AGREGACIÓN M2	64,01	33	22,132	3,853
	AGREGACIÓN M3	60,682	33	23,9717	4,1729

Tabla 32. Estadísticos Multiplate.

Prueba de muestras relacionadas		Sig. (bilateral)
Par 1	% AGREGACIÓN 1 - % AGREGACIÓN 2	,042
Par 2	% AGREGACIÓN 1 - % AGREGACIÓN 3	,010
Par 3	% AGREGACIÓN 2 - % AGREGACIÓN 3	,000

Tabla 33. Estadísticos Multiplate.

Estadísticos de muestras relacionadas					
		Media	N	Desviación típ.	Error típ. de la media
Par 1	TRAP 1	167,48	33	127,288	22,158
	TRAP 2	127,91	33	108,248	18,844
Par 2	TRAP 1	167,48	33	127,288	22,158
	TRAP 3	276,55	33	277,886	48,374
Par 3	TRAP 2	127,91	33	108,248	18,844
	TRAP 3	276,55	33	277,886	48,374

Tabla 34. Estadísticos Multiplate.

Prueba de muestras relacionadas		Sig. (bilateral)
Par 1	AGREG ADP 1 - AGREG ADP 2	,000
Par 2	AGREG ADP 1 - AGREG ADP 3	,406
Par 3	AGREG ADP 2 - AGREG ADP 3	,027

Tabla 35. Estadísticos Multiplate.

Estadísticos de muestras relacionadas					
		Media	N	Desviación típ.	Error típ. de la media
Par 1	% AGREGACIÓN 1	66,35330	33	22,319683	3,885358
	% AGREGACIÓN 2	74,43530	33	20,629494	3,591134
Par 2	% AGREGACIÓN 1	66,35330	33	22,319683	3,885358
	% AGREGACIÓN 3	55,07542	33	27,948217	4,865160
Par 3	% AGREGACIÓN 2	74,43530	33	20,629494	3,591134
	% AGREGACIÓN 3	55,07542	33	27,948217	4,865160

Tabla 36. Estadísticos Multiplate.

Prueba de muestras relacionadas		Diferencias relacionadas		
		Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Par 1	TRAP 1 - TRAP 2	39,576	116,987	20,365
Par 2	TRAP 1 - TRAP 3	-109,061	203,298	35,390
Par 3	TRAP 2 - TRAP 3	-148,636	247,343	43,057

Tabla 37. Estadísticos Multiplate.

Prueba de muestras relacionadas		Sig. (bilateral)
Par 1	AGREG TRAP 1 - AGREG TRAP 2	,514
Par 2	AGREG TRAP 1 - AGREG TRAP 3	,019
Par 3	AGREG TRAP 2 - AGREG TRAP 3	,001

Tabla 38. Estadísticos Multiplate.

Prueba de muestras relacionadas		Diferencias relacionadas		
		Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Par 1	AGREGACIÓN M1 - AGREGACIÓN M3	5,6606	26,7413	4,6551
Par 2	AGREGACIÓN M1 - AGREGACIÓN M2	2,3333	28,9660	5,0423
Par 3	AGREGACIÓN M2 - AGREGACIÓN M3	3,3273	26,1184	4,5466

Tabla 39. Estadísticos Multiplate.

Prueba de muestras relacionadas				
	Diferencias relacionadas			
	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media	
Par 1	AGREG ASPI 1 - AGREG ASPI 2	19,485	18,687	3,253
Par 2	AGREG ASPI 1 - AGREG ASPI 3	20,576	25,561	4,450
Par 3	AGREG ASPI 2 - AGREG ASPI 3	1,091	25,216	4,390
Par 4	AGREG COLAG 1 - AGREG COLAG 2	10,333	12,878	2,242
Par 5	AGREG COLAG 1 - AGREG COLAG 3	-21,806	55,391	9,642
Par 6	AGREG COLAG 2 - AGREG COLAG 3	-31,939	59,857	10,420
Par 7	AGREG RISTOCETINA ALTO 1 - AGREG RISTOCETINA ALTO 2	9,576	19,722	3,433
Par 8	AGREG RISTOCETINA ALTO 1 - AGREG RISTOCETINA ALTO 3	27,333	25,820	4,495
Par 9	AGREG RISTOCETINA ALTO 2 - AGREG RISTOCETINA ALTO 3	17,758	28,138	4,898

Tabla 40. Estadísticos Multiplate.

Estadísticos de muestras relacionadas					
		Media	N	Desviación típ.	Error típ. de la media
Par 1	AGREG ASPI 1	57,88	33	29,003	5,049
	AGREG ASPI 2	38,39	33	24,197	4,212
Par 2	AGREG ASPI 1	57,88	33	29,003	5,049
	AGREG ASPI 3	37,30	33	26,808	4,667
Par 3	AGREG ASPI 2	38,39	33	24,197	4,212
	AGREG ASPI 3	37,30	33	26,808	4,667
Par 4	AGREG COLAG 1	50,58	33	18,825	3,277
	AGREG COLAG 2	40,24	33	23,218	4,042
Par 5	AGREG COLAG 1	50,58	33	18,825	3,277
	AGREG COLAG 3	72,18	33	57,910	10,081
Par 6	AGREG COLAG 2	40,24	33	23,218	4,042
	AGREG COLAG 3	72,18	33	57,910	10,081
Par 7	AGREG RISTOCETINA ALTO 1	69,61	33	23,500	4,091
	AGREG RISTOCETINA ALTO 2	60,03	33	22,756	3,961
Par 8	AGREG RISTOCETINA ALTO 1	69,61	33	23,500	4,091
	AGREG RISTOCETINA ALTO 3	42,27	33	24,413	4,250
Par 9	AGREG RISTOCETINA ALTO 2	60,03	33	22,756	3,961
	AGREG RISTOCETINA ALTO 3	42,27	33	24,413	4,250

Tabla 41. Estadísticos Multiplate.

Prueba de muestras relacionadas						
		Diferencias relacionadas		t	gl	Sig. (bilateral)
		95% Intervalo de confianza para la diferencia				
		Inferior	Superior			
Par 1	TRAP 1 - TRAP 2	-1,906	81,058	1,943	32	,061
Par 2	TRAP 1 - TRAP 3	-181,147	-36,974	-3,082	32	,004
Par 3	TRAP 2 - TRAP 3	-236,340	-60,932	-3,452	32	,002

Tabla 42. Estadísticos Multiplate.

Estadísticos de muestras relacionadas					
	Media	N	Desviación típ.	Error típ. de la media	
Par 1	AGREG ADP 1	60,48	33	19,154	3,334
	AGREG ADP 2	49,33	33	20,793	3,620
Par 2	AGREG ADP 1	60,48	33	19,154	3,334
	AGREG ADP 3	57,45	33	25,034	4,358
Par 3	AGREG ADP 2	49,33	33	20,793	3,620
	AGREG ADP 3	57,45	33	25,034	4,358

Tabla 43. Estadísticos Multiplate.

Estadísticos de muestras relacionadas					
	Media	N	Desviación típ.	Error típ. de la media	
Par 1	AGREG TRAP 1	90,33	33	28,789	5,011
	AGREG TRAP 2	85,85	33	30,523	5,313
Par 2	AGREG TRAP 1	90,33	33	28,789	5,011
	AGREG TRAP 3	105,24	33	30,029	5,227
Par 3	AGREG TRAP 2	85,85	33	30,523	5,313
	AGREG TRAP 3	105,24	33	30,029	5,227

Tabla 44. Estadísticos Multiplate.

Prueba de muestras relacionadas		Sig. (bilateral)
Par 1	AGREGACIÓN M1 - AGREGACIÓN M3	,233
Par 2	AGREGACIÓN M1 - AGREGACIÓN M2	,647
Par 3	AGREGACIÓN M2 - AGREGACIÓN M3	,470

Tabla 45. Estadísticos Multiplate.

Prueba de muestras relacionadas			
		Diferencias relacionadas	
		Media	Error típ. de la media
Par 1	AGREG ADP 1 - AGREG ADP 2	11,152	2,439
Par 2	AGREG ADP 1 - AGREG ADP 3	3,030	3,602
Par 3	AGREG ADP 2 - AGREG ADP 3	-8,121	3,498

Tabla 46. Estadísticos Multiplate.

Prueba de muestras relacionadas				
		Diferencias relacionadas		
		Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Par 1	AGREG TRAP 1 - AGREG TRAP 2	4,485	39,063	6,800
Par 2	AGREG TRAP 1 - AGREG TRAP 3	-14,909	34,808	6,059
Par 3	AGREG TRAP 2 - AGREG TRAP 3	-19,394	29,381	5,115

Tabla 47. Estadísticos Multiplate.

		Prueba de muestras relacionadas		
		Diferencias relacionadas		Error típ. de la media
		Media	Desviación típ.	
Par 1	% AGREGACIÓN 1 - % AGREGACIÓN 2	-8,082000	21,940451	3,819342
Par 2	% AGREGACIÓN 1 - % AGREGACIÓN 3	11,277879	23,664089	4,119389
Par 3	% AGREGACIÓN 2 - % AGREGACIÓN 3	19,359879	27,110511	4,719334

Tabla 48. Estadísticos Multiplate.

		Sig. (bilateral)
Par 1	AGREG ASPI 1 - AGREG ASPI 2	,000
Par 2	AGREG ASPI 1 - AGREG ASPI 3	,000
Par 3	AGREG ASPI 2 - AGREG ASPI 3	,805
Par 4	AGREG COLAG 1 - AGREG COLAG 2	,000
Par 5	AGREG COLAG 1 - AGREG COLAG 3	,032
Par 6	AGREG COLAG 2 - AGREG COLAG 3	,004
Par 7	AGREG RISTOCETINA ALTO 1 - AGREG RISTOCETINA ALTO 2	,009
Par 8	AGREG RISTOCETINA ALTO 1 - AGREG RISTOCETINA ALTO 3	,000
Par 9	AGREG RISTOCETINA ALTO 2 - AGREG RISTOCETINA ALTO 3	,001

Tabla 49. Estadísticos citometría de flujo.

Estadísticos de muestras relacionadas					
	Media	N	Desviación tip.	Error tip. de la media	
Par 1	M1-CD62P MF	11,49	33	11,787	2,052
	M2-CD62P MF	11,78	33	9,253	1,611
Par 2	M1-CD62P MF	11,49	33	11,787	2,052
	M3-CD62P MF	7,979	33	8,6563	1,5069
Par 3	M3-CD62P MF	7,979	33	8,6563	1,5069
	M2-CD62P MF	11,78	33	9,253	1,611
Par 4	M1-CD62P % incremento MF	329,900	33	330,0108	57,4475
	M2-CD62P % incremento MF	278,73	33	186,580	32,479
Par 5	M1-CD62P % incremento MF	329,900	33	330,0108	57,4475
	M3-CD62P % incremento MF	208,21	33	191,475	33,331
Par 6	M2-CD62P % incremento MF	278,73	33	186,580	32,479

Tabla 50. Estadísticos citometría de flujo.

Prueba de muestras relacionadas				
		Diferencias relacionadas		
		Media	Desviación tip.	Error tip. de la media
Par 1	M1-CD62P MF - M2-CD62P MF	-,285	6,089	1,060
Par 2	M1-CD62P MF - M3-CD62P MF	3,5152	10,1145	1,7607
Par 3	M3-CD62P MF - M2-CD62P MF	-3,8000	7,6973	1,3399
Par 4	M1-CD62P % incremento MF - M2-CD62P % incremento MF	51,1667	242,8583	42,2762
Par 5	M1-CD62P % incremento MF - M3-CD62P % incremento MF	121,6879	304,0391	52,9264
Par 6	M2-CD62P % incremento MF - M3-CD62P % incremento MF	70,521	165,273	28,770

Tabla 51. Estadísticos citometría de flujo.

Prueba de muestras relacionadas		
		Sig. (bilateral)
Par 1	M1 MF BASAL - M2 MF BASAL	,881
Par 2	M1 MF BASAL - M3 MF BASAL	,757

Tabla 52. Estadísticos citometría de flujo.

Prueba de muestras relacionadas		
		Sig. (bilateral)
Par 1	M1-CD62P MF - M2-CD62P MF	,790
Par 2	M1-CD62P MF - M3-CD62P MF	,054
Par 3	M3-CD62P MF - M2-CD62P MF	,008
Par 4	M1-CD62P % incremento MF - M2-CD62P % incremento MF	,235
Par 5	M1-CD62P % incremento MF - M3-CD62P % incremento MF	,028
Par 6	M2-CD62P % incremento MF - M3-CD62P % incremento MF	,020

8.3. ANEXO III. Documento de información al donante.



BIOBANC-MUR
Biobanco en Red de la Región de Murcia



DOCUMENTO DE INFORMACIÓN AL DONANTE (v.3)

UTILIZACIÓN DE DATOS CLÍNICOS Y MATERIAL BIOLÓGICO EXCEDENTE DEL PROCESO ASISTENCIAL PARA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA Y SU CONSERVACIÓN EN UN BIOBANCO.

En el *Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca*, igual que en la mayoría de hospitales, además de la asistencia a los pacientes, se realiza investigación biomédica. La finalidad de esta investigación es progresar en el conocimiento de las enfermedades y en su prevención, diagnóstico, pronóstico y tratamiento. Esta investigación biomédica requiere recoger datos clínicos y muestras biológicas de pacientes y donantes sanos para analizarlos y obtener conclusiones con el objetivo de conocer mejor las enfermedades y avanzar su diagnóstico y/o tratamiento.

Las muestras y datos clínicos obtenidos para el diagnóstico o control de las enfermedades, una vez utilizadas con esta finalidad, resultan también útiles y necesarias para la investigación. De hecho, muchos de los avances científicos obtenidos en los últimos años en medicina son fruto de este tipo de estudios

Solicitamos su autorización para incorporar al *Biobanc-Mur Nodo Área I* del hospital el material biológico sobrante de las pruebas que, como parte del actual proceso asistencial, se le han realizado o se le van a realizar en este centro, con el fin de que puedan ser utilizadas en investigación biomédica.

Siguiendo lo establecido por la Ley 14/2007, de Investigación Biomédica, la Ley Orgánica 15/1999, de Protección de Datos Personales, y sus normas de desarrollo, le solicitamos que lea detenidamente este documento de información y el consentimiento informado que se le adjunta al final para su firma, si está de acuerdo en participar en esta propuesta

¿Qué es un biobanco?: Institución para favorecer la investigación y la salud.

Un biobanco es una institución, regulada por leyes específicas, que facilita la investigación biomédica, es decir, aquella dirigida a promover la salud de las personas.

Las muestras incluidas en un biobanco pueden ser cedidas para investigación en Medicina, siempre bajo la supervisión de un comité científico y otro de ética. Las muestras se cederán generalmente sin información personal asociada, aunque a veces podrá ser necesario el acceso a la historia clínica o al resultado de otras pruebas para completar la investigación.

La investigación biomédica es, hoy en día, un fenómeno global por lo que ocasionalmente estas muestras podrán ser cedidas a grupos de investigación fuera de España, siempre que se cumplan los requisitos de la legislación española y lo aprueben los correspondientes comités.

Muestras biológicas e información asociada: En ningún caso se le practicarán más pruebas de las imprescindibles para su adecuada atención médica.

Se guardará y dispondrá del material biológico sobrante que se le extraiga durante el proceso asistencial (muestras de sangre, líquidos biológicos y/o tejidos), sin que este hecho le cause molestias adicionales. La donación de muestras excedentes de este proceso asistencial no impedirá que usted o su familia puedan usarlas, cuando sea necesario por motivos de salud, siempre que estén disponibles. Las muestras y la información asociada a las mismas se custodiarán y/o guardarán en el Biobanco *Biobanc-Mur Nodo Área I* del *Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca* hasta su extinción. Este Biobanco forma parte como nodo de la Red Temática de Investigación Cooperativa (RETIC) de Biobancos del Instituto de Salud Carlos III con la referencia *RD09/0076/00065*, y está en proceso de Registro con el desarrollo de la normativa regional de Biobancos que aplica la normativa nacional.

Este biobanco acoge colecciones organizadas de muestras biológicas e información asociada en las condiciones y garantías de calidad y seguridad que exige la legislación anteriormente referida y los códigos de conducta aprobados por los Comités de Ética. Dichas muestras y su información asociada quedan disponibles para aquellos investigadores que lo soliciten al biobanco.



Biobanc-Mur. Biobanco en Red de la Región de Murcia
Red Nacional de Biobancos – ISCIII. Versión julio 2012



BIOBANC-MUR Biobanco en Red de la Región de Murcia



Cualquier estudio de investigación para el que se solicite la utilización de estos datos o muestras deberá disponer siempre de la aprobación del Comité de Ética de la Investigación (CEI) competente, que velará para que los investigadores desarrollen sus estudios siguiendo siempre las más estrictas normas éticas y legales. Además, el comité científico del biobanco garantizará que los proyectos sean de excelencia científica.

A partir de las muestras donadas, en los casos en que la investigación lo requiera, se realizarán estudios genéticos, y a partir de ellos se puede obtener información acerca de su salud y la de sus familiares. Siempre se actuará velando por la protección de esta información (ver apartado de protección de datos y confidencialidad).

Por este consentimiento, los responsables del Biobanco del Hospital podrán consultar su historial clínico, solamente en el caso de que ello sea imprescindible para la realización del proyecto para el que se soliciten las muestras y previa autorización por parte del Comité de Ética correspondiente.

En caso de ser necesaria alguna muestra adicional, la institución sanitaria se podría poner en contacto con usted para solicitarle nuevamente su colaboración. En este caso se le informará de los motivos y se le solicitará de nuevo su consentimiento.

Protección de datos y confidencialidad: Las muestras se conservarán codificadas.

Los datos personales que se recojan serán obtenidos, tratados y almacenados cumpliendo en todo momento el deber de secreto, de acuerdo con la legislación vigente en materia de protección de datos de carácter personal.

La identificación de las muestras biológicas del Biobanco será sometida a un proceso de codificación. A cada muestra se le asigna un código de identificación, que será el utilizado por los investigadores. Únicamente el personal autorizado por el biobanco podrá relacionar su identidad con los citados códigos. Mediante este proceso los investigadores que soliciten muestras al biobanco no podrán conocer ningún dato que revele su identidad. Asimismo, aunque los resultados obtenidos de la investigación realizada con sus muestras se publiquen en revistas científicas, su identidad no será facilitada. En aquellos estudios en los que no se prevean resultados potencialmente útiles para su salud, y de acuerdo con el correspondiente Comité de Ética, las muestras y datos podrán ser anonimizadas, es decir, no habrá ninguna posibilidad de volver a asociar la muestra con su identidad.

Sus muestras y los datos clínicos asociados a las mismas, pasarán a formar parte del fichero del Biobanco, inscrito en la Agencia de Protección de datos.

*Responsable del fichero : Fundación para la Formación e Investigación Sanitarias de la Región de Murcia.
Dirección Postal: Calle Luis Fontes Pagan, 9-1, 30003 Murcia*

Usted podrá ejercer sus derechos de acceso, rectificación, cancelación y objeción, así como obtener información sobre el uso de sus muestras y datos asociados, dirigiéndose a:

Fundación para la Formación e Investigación Sanitarias de la Región de Murcia
Responsable del nodo Calle Luis Fontes Pagan, 9-1, 30003 Murcia
Tel.: 968359757 E-mail: juanp.serna@carm.es

Carácter altruista de la donación. La cesión de muestras biológicas que usted realiza al Biobanco del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca es gratuita.

La donación tiene por disposición legal carácter altruista, por lo que usted no obtendrá ni ahora ni en el futuro ningún beneficio económico por la misma, ni tendrá derechos sobre posibles beneficios comerciales de los descubrimientos que puedan conseguirse como resultado de la investigación biomédica. Sin embargo, los conocimientos obtenidos gracias a los estudios llevados a cabo a partir de su muestra y de muchas otras pueden ayudar al avance médico y, por ello, a otras personas.





BIOBANC-MUR
Biobanco en Red de la Región de Murcia



Participación voluntaria. Su negativa NO repercutirá en su asistencia médica, presente o futura

Su participación es totalmente voluntaria. Si firma el consentimiento informado, confirmará que desea participar. Puede negarse a participar o retirar su consentimiento en cualquier momento posterior a la firma sin tener que explicar los motivos y esto no repercutirá negativamente en su asistencia médica, presente o futura.

Revocación del consentimiento: si usted decide firmar este consentimiento, podrá también cancelarlo libremente.

Si en un futuro usted quisiera anular su consentimiento, sus muestras biológicas serían destruidas y los datos asociados a las mismas serían retirados del biobanco. También podría solicitar la anonimización de las muestras, en cuyo caso se eliminaría la relación entre sus datos personales (que revelan su identidad) y sus muestras biológicas y datos clínicos asociados. Los efectos de esta cancelación o anonimización no se podrían extender a la investigación que ya se hubiera llevado a cabo.

Si deseara anular su consentimiento, deberá solicitarlo por escrito al Director del Biobanco, en la dirección anteriormente indicada.

Información sobre los resultados de la investigación: se le proporcionará información si usted desea recibirla

En el caso de que usted lo solicite expresamente, el Biobanco podrá proporcionarle información acerca de cuáles son las investigaciones en que se han utilizado sus muestras y de los resultados globales de dichas investigaciones, salvo en el caso de cancelación o anonimización.

Los métodos utilizados en investigación Biomédica suelen ser diferentes de los aprobados para la práctica clínica, por lo que no deben de ser considerados con valor clínico para usted. Sin embargo, en el caso que estas investigaciones proporcionen datos que pudieran ser clínica o genéticamente relevantes para usted e interesar a su salud o a la de su familia, le serán comunicados si así lo estima oportuno. Asimismo, podría darse el caso de obtenerse información relevante para su familia, le corresponderá a usted decidir si quiere o no comunicárselo. Si Ud. quiere que se le comunique dicha información relevante debe consignarlo en la casilla que aparece al final de este documento.

Si usted no desea recibir esta información, tenga en cuenta que la ley establece que, cuando la información obtenida sea necesaria para evitar un grave perjuicio para la salud de sus familiares biológicos, un Comité de expertos estudiará el caso y deberá decidir si es conveniente informar a los afectados o a sus representantes legales.

Por favor, pregunte al personal sanitario que le ha comunicado esta información sobre cualquier duda que pueda tener, ahora o en el futuro, en relación con este consentimiento. Asimismo, puede comentar sus dudas con su médico, quien le pondrá en contacto con el personal sanitario autorizado.

Le agradecemos su desinteresada colaboración con el avance de la ciencia y la medicina. De esta forma está usted colaborando a vencer las enfermedades y ayudar a multitud de enfermos actuales y futuros.



Biobanc-Mur. Biobanco en Red de la Región de Murcia
 Red Nacional de Biobancos – ISCIII. Versión julio 2012

8.4. ANEXO IV. Consentimiento informado.



BIOBANC-MUR
Biobanco en Red de la Región de Murcia



CONSENTIMIENTO INFORMADO

UTILIZACIÓN DE DATOS CLÍNICOS Y MATERIAL BIOLÓGICO EXCEDENTE DEL PROCESO ASISTENCIAL PARA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA Y SU CONSERVACIÓN EN UN BIOBANCO

Nombre y Apellidos (donante)..... Etiqueta Identificativa Paciente Edad: Sexo: DNI:.....	Persona del centro que informa DNI:.....
--	--

Si ha comprendido la información que se le ha proporcionado, ha resuelto cualquier duda que pudiese tener y decide colaborar con *Biobanc-Mur Nodo Área I* en los términos antes explicados, por favor, lea y firme a continuación esta hoja

El abajo firmante autoriza al **Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca** a que el material biológico sobrante de las pruebas que se le han realizado o se le van a realizar como parte del actual proceso asistencial sean incorporadas en el **Biobanco *Biobanc-Mur Nodo Área I***, y que sea cedido desde el mismo con la finalidad de llevar a cabo proyectos de investigación biomédica, siempre que éstos cuenten con la obligada aprobación del Comité de Ética de Investigación competente. Esta autorización la concede tras haber sido informado verbalmente y haber leído la información adjunta.

Confirmando que:

1. Autoriza al **Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca** a que el material biológico sobrante de las pruebas que se le han realizado o se le van a realizar como parte del actual proceso asistencial sean incorporadas en el **Biobanc-Mur Nodo Área I**, y que sea cedido desde el mismo con la finalidad de llevar a cabo proyectos de investigación biomédica, siempre que éstos cuenten con la obligada aprobación del Comité de Ética de Investigación competente. Esta autorización la concede tras haber sido informado verbalmente y haber leído la información adjunta.

SI NO

2. Desea que se le comunique la información derivada de la investigación que realmente sea relevante y aplicable para su salud o la de su familia SI NO Teléfono o E-mail de contacto.....

3. Autoriza a ser contactado en el caso de necesitar más información o muestras biológicas adicionales
 SI NO Teléfono o E-mail de contacto:

4. He expresado mi deseo de que se respeten las siguientes excepciones respecto al objetivo y métodos de las investigaciones:

DONANTE	PERSONA QUE INFORMA
Firma	Firma

En....., a..... de..... de.....



Biobanc-Mur. Biobanco en Red de la Región de Murcia
 Red Nacional de Biobancos – ISCIII. Versión julio 2012



BIOBANC-MUR
Biobanco en Red de la Región de Murcia



CONSENTIMIENTO INFORMADO ANTE TESTIGOS

UTILIZACIÓN DE DATOS CLÍNICOS Y MATERIAL BIOLÓGICO EXCEDENTE DEL PROCESO ASISTENCIAL PARA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA Y SU CONSERVACIÓN EN UN BIOBANCO.

Nombre y Apellidos (donante)..... <p style="text-align: center; color: #e67e22;">Etiqueta Identificativa Paciente</p> Edad: Sexo: DNI:.....	Persona del centro que informa DNI:.....
--	--

Nombre y apellidos del testigo que firma..... DNI.....
 Relación con el donante:.....

Si ha comprendido la información que se le ha proporcionado, ha resuelto cualquier duda que pudiese tener y decide colaborar con *Biobanc-Mur Nodo Área I* en los términos antes explicados, por favor, lea y firme a continuación esta hoja

El abajo firmante confirma que el donante:

- Autoriza al **Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca** a que el material biológico sobrante de las pruebas que se le han realizado o se le van a realizar como parte del actual proceso asistencial sean incorporadas en el **Biobanc-Mur Nodo Área I**, y que sea cedido desde el mismo con la finalidad de llevar a cabo proyectos de investigación biomédica, siempre que éstos cuenten con la obligada aprobación del Comité de Ética de Investigación competente. Esta autorización la concede tras haber sido informado verbalmente y haber leído la información adjunta.
 SI NO
- Desea que se le comunique la información derivada de la investigación que realmente sea relevante y aplicable para su salud o la de su familia SI NO Teléfono o E-mail de contacto.....
- Autoriza a ser contactado en el caso de necesitar más información o muestras biológicas adicionales
 SI NO Teléfono o E-mail de contacto:
- He expresado mi deseo de que se respeten las siguientes excepciones respecto al objetivo y métodos de las investigaciones:

- Me autoriza a firmar en su nombre.

TESTIGO	PERSONA QUE INFORMA
Firma	Firma

En....., a..... de..... de.....





BIOBANC-MUR
Biobanco en Red de la Región de Murcia



CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA MENORES

UTILIZACIÓN DE DATOS CLÍNICOS Y MATERIAL BIOLÓGICO EXCEDENTE DEL PROCESO ASISTENCIAL PARA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA Y SU CONSERVACIÓN EN UN BIOBANCO.

Nombre y Apellidos (donante)..... Etiqueta Identificativa Paciente Edad: Sexo: DNI:.....	Persona del centro que informa DNI:.....
--	--

Nombre y apellidos del tutor legal que firma..... DNI.....
 Relación con el donante:.....

Si ha comprendido la información que se le ha proporcionado, ha resuelto cualquier duda que pudiese tener y decide colaborar con *Biobanc-Mur Nodo Área I* en los términos antes explicados, por favor, lea y firme a continuación esta hoja

El abajo firmante autoriza al *Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca* a que el material biológico sobrante de las pruebas que se le han realizado o se le van a realizar como parte del actual proceso asistencial sean incorporadas en el *Biobanco Biobanc-Mur Nodo Área I*, y que sea cedido desde el mismo con la finalidad de llevar a cabo proyectos de investigación biomédica, siempre que éstos cuenten con la obligada aprobación del Comité de Ética de Investigación competente. Esta autorización la concede tras haber sido informado verbalmente y haber leído la información adjunta.

El abajo firmante confirma que:

- Se me ha informado que, llegada la mayoría de edad de mi representado, este tendrá derecho a revocar o modificar este consentimiento, para lo cual deberá estar debidamente informado. En caso de que no ejerza dicho derecho, se considerará que el actual documento de consentimiento informado sigue vigente.
 SI NO
- Desea que se le comunique la información derivada de la investigación que realmente sea relevante y aplicable para su salud o la de su familia SI NO Teléfono o E-mail de contacto:.....
- Autoriza a ser contactado en el caso de necesitar más información o muestras biológicas adicionales
 SI NO Teléfono o E-mail de contacto:
- He expresado mi deseo de que se respeten las siguientes excepciones respecto al objetivo y métodos de las investigaciones:

- Me autoriza a firmar en su nombre.

TUTOR	ASENTIMIENTO DEL MENOR CAPACITADO	PERSONA QUE INFORMA
Firma	Firma	Firma





BIOBANC-MUR
Biobanco en Red de la Región de Murcia



En....., a..... de..... de.....

REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO

UTILIZACIÓN DE DATOS CLÍNICOS Y MATERIAL BIOLÓGICO EXCEDENTE DEL PROCESO ASISTENCIAL PARA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA Y SU CONSERVACIÓN EN UN BIOBANCO.

POR EL DONANTE:

Yo, D./Dña. con DNI anulo el consentimiento prestado en fecha..... de..... de 20..... y no deseo proseguir la donación voluntaria al biobanco **Biobanc-Mur Nodo Área I**, que doy por finalizada al día de hoy.

SOLICITO ELIMINACIÓN SOLO DE LA MUESTRA.

SOLICITO ELIMINACIÓN SOLO DE MIS DATOS PERSONALES.

La muestra quedará anonimizada irreversiblemente y podrá ser utilizada en proyectos de investigación.

SOLICITO ELIMINACIÓN TOTAL DE MIS DATOS Y MUESTRAS.

Fdo.:

En..... a..... de..... de 20.....

POR EL TUTOR/REPRESENTANTE LEGAL DEL DONANTE:

Yo, D./Dña. con DNI, Como representante legal de D/Dña....., con DNI....., anulo el consentimiento prestado en fecha..... de..... de 20..... y no deseo proseguir la donación voluntaria al biobanco **Biobanc-Mur Nodo Área I**, que doy por finalizada al día de hoy.

SOLICITO ELIMINACIÓN SOLO DE LA MUESTRA.

SOLICITO ELIMINACIÓN SOLO LOS DATOS PERSONALES.

La muestra quedará anonimizada irreversiblemente y podrá ser utilizada en proyectos de investigación.

SOLICITO ELIMINACIÓN TOTAL DE MIS DATOS Y MUESTRAS.

Fdo.:

En..... a..... de..... de 20.....



Biobanc-Mur. Biobanco en Red de la Región de Murcia
 Red Nacional de Biobancos – ISCIII. Versión julio 2012

8.5. ANEXO V. Escalas de riesgo quirúrgico en cirugía cardíaca

EuroSCORE I Logístico

Factores dependientes del paciente	Puntuación
Edad (años). Por cada 5 años en > 60 años	1
Sexo (femenino)	1
Creatinina > 200 µmol/L	2
Arteriopatía extracardiaca	2
Enfermedad pulmonar crónica (con esteroides o inhaladores)	1
Disfunción neurológica con afectación a la deambulación o la vida diaria	2
Cirugía cardíaca previa con apertura de pericardio	3
Endocarditis activa	3
Situación preoperatoria crítica: taquicardia ventricular, muerte súbita abortada, uso de inotropos, balón de contrapulsación, masaje cardíaco,...	3
Factores cardíacos	
Angina inestable que requiere de nitratos intravenosos	2
Fracción de eyección del ventrículo izquierdo 30-50%	1
Fracción de eyección del ventrículo izquierdo <30%	3
Infarto agudo de miocardio reciente <90 días	2
Presión sistólica pulmonar >60 mmHg	2
Factores quirúrgicos	
Emergencia	2
Cirugía distinta a coronaria aislada	2
Cirugía sobre la aorta torácica	3
Rotura septal postinfarto	4

EuroSCORE II

Incluye las siguientes variables clínicas:

- Edad en años cumplidos.
- Sexo.
- Insuficiencia renal basada en el aclaramiento de creatinina calculada con la fórmula de Cockcroft-Gault.
 - a. Aclaramiento normal (> 85 ml/min).
 - b. Aclaramiento moderadamente disminuido (50-85 ml/min).
 - c. Aclaramiento severamente disminuido (<50 ml/min).
 - d. En tratamiento de diálisis, independientemente del aclaramiento.
- Afectación arterial extracardiaca definida como:
 - a. Claudicación.
 - b. Ateromatosis carotídea con estenosis $>50\%$.
 - c. Amputación de miembros inferiores por arteriopatía.
 - d. Intervención previa o planeada sobre la aorta abdominal, arterias de extremidades o carótidas.
- Importante dificultad de movilidad por severa afectación neurológica o musculoesquelética.
- Cirugía cardiaca previa.
- Enfermedad pulmonar crónica definida como necesidad de tratamiento con esteroides o broncodilatadores.
- Endocarditis activa (paciente con tratamiento antibiótico en el momento de la cirugía).
- Estado preoperatorio crítico, definido como la presencia de muerte súbita resucitada, arritmia ventricular sostenida, necesidad de masaje cardiaco preoperatorio, ventilación mecánica preoperatoria, necesidad de inotropos o balón de contrapulsación aórtica preoperatorio, anuria u oliguria preoperatoria (aclaramiento de creatinina <10 ml/h).
- Diabetes en tratamiento con insulina.
- Clase funcional de la New York Heart Association.
- Angina en reposo.

- Función ventricular izquierda clasificada en cuatro categorías según la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI):
 - a. FEVI >50%.
 - b. FEVI 31-50%.
 - c. FEVI 21-30%.
 - d. FEVI <21%.
- Infarto de miocardio en los 90 días previos.
- Hipertensión arterial pulmonar clasificada en tres categorías:
 - a. PSAP <31 mmHg.
 - b. PSAP 31-55 mmHg.
 - c. PSAP > 55 mmHg.
- Prioridad de la intervención quirúrgica:
 - a. Electiva (ingreso rutinario para intervención).
 - b. Urgente (pacientes no ingresados específicamente para la intervención pero que necesitan la operación en el mismo ingreso por motivos clínicos y no pueden ser dados de alta sin una intervención definitiva).
 - c. Emergente (operación antes del inicio del siguiente día laborable).
 - d. De salvamento (pacientes con masaje cardiaco antes de llegar al quirófano; no incluye las maniobras de resucitación tras la inducción anestésica).
- Complejidad de la intervención quirúrgica
 - a. Cirugía de revascularización coronaria aislada.
 - b. Una sola intervención diferente a la revascularización coronaria.
 - c. Dos procedimientos.
 - d. Tres o más procedimientos.
- Cirugía de la aorta torácica.

Tomado de Nashef SA, Roques F, Michel P, et al. European system for cardiac operative risk evaluation (EuroSCORE). *Eur J Cardiothorac Surg.* 1999; 16: 9–13.