

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
SECRETARÍA DE SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA

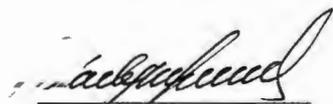
“ALTERACIONES DE LA HEMOSTASIA EN PACIENTES CON SEPSIS”
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

TRABAJO DE FIN DE CURSOS
QUE PRESENTA EL

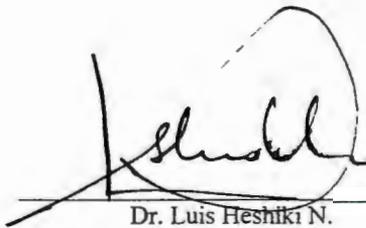
DR. JOSE LUIS TORO CASTRO

PARA OBTENER EL DIPLOMA DE ESPECIALISTA EN
HEMATOLOGÍA PEDIÁTRICA

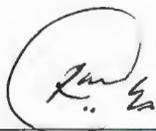
“ALTERACIONES DE LA HEMOSTASIA EN PACIENTES CON SEPSIS”



Dr. Pedro Sánchez Márquez
Director de Enseñanza



Dr. Luis Heshiki N.
Jefe del Departamento de Enseñanza de
Pre y Posgrado.



Dr. Rogelio Paredes Aguilera
Profesor titular del curso
Tutor del trabajo de investigación



Dra. Norma López Santiago.
Médico Adscrito de Hematología
Co-tutor del trabajo de investigación.

**ALTERACIONES DE LA HEMOSTASIA
EN PACIENTES CON SEPSIS**

INTRODUCCIÓN

Durante las infecciones bacterianas, el organismo responde a agentes microbianos invasivos con un gran número de mecanismos de defensa. Algunas bacterias o productos bacterianos, sin embargo pueden modificar la respuesta del paciente y causar serias complicaciones de la enfermedad. En infecciones severas asociadas con sepsis y choque séptico los sistemas fibrinolíticos y de la coagulación son blancos para tal modulación (12, 23).

Las infecciones sistémicas pueden complicarse por la activación de la cascada de la coagulación; la activación inicial es subclínica y puede ser identificada solo por marcadores de laboratorio elevados que activan la generación de trombina y fibrina, que si se perpetúan pueden condicionar coagulación intravascular diseminada (CID) con la formación de microtrombos vasculares en diversos órganos. Clínicamente se caracteriza por sangrado, trombosis o ambas. La CID puede conducir a una falla orgánica múltiple y se asocia con una alta mortalidad en enfermedades bacterianas y no bacterianas (3). En condiciones normales la cascada de la coagulación es activada por daño tisular (activación de factor tisular-FVII) y/o daño a vasos sanguíneos (exposición de colágena). Durante la infección, mediadores inflamatorios producidos por agentes infecciosos y/o el propio huésped pueden alterar el equilibrio procoagulante/anticoagulante y causar alteraciones trombóticas y/o hemorrágicas. Algunos estudios de sepsis por gram negativos realizados en humanos y animales de experimentación han comprobado que las citocinas juegan un papel pivote en la activación y regulación de la cascada de la coagulación, las interacciones son complicadas, y sus efectos son dependientes del tiempo y transitorios (9). La activación

del sistema de la coagulación ha sido bien documentada en patógenos no bacterianos como virus que causan fiebres hemorrágicas, protozoarios (malaria) y hongos.

Las enfermedades virales tales como varicela, rubéola e influenza tipo A, pueden ocasionar una coagulopatía por consumo. La fiebre hemorrágica coreana, enfermedad caracterizada por coagulación intravascular, necrosis de la médula renal, y glándula pituitaria fue reportada por Lee M y cols. (28) con la presencia de CID confirmada por el laboratorio en más de la mitad de los pacientes. Este síndrome probablemente ocurre en mucho países con otros nombres (por ejemplo: Neuropatía epidérmica en Scandinavia) y aparentemente es causado por un agente viral, el huésped habitual es el ratón de campo. La severidad de la fiebre hemorrágica por dengue ha sido correlacionada con una sobrevivencia acortada del fibrinógeno, trombocitopenia, tiempo de tromboplastina parcial prolongado y concentración de productos de degradación del fibrinógeno elevados. La trombocitopenia también ha sido reportada por lo menos en la mitad de los pacientes con fiebre de las montañas rocosas y puede reflejar consumo de factores de la coagulación; la evidencia de CID por datos de laboratorio ha sido relacionada con un curso clínico fulminante. Los pacientes con malaria por *Plasmodium falciparum*, de evolución severa que se han complicado con trombocitopenia, anormalidades de la coagulación, trombosis venosa y necrosis tisular, pueden ser ejemplos de CID asociada a infección.

Otros microorganismos misceláneos tales como *Aspergillus*, *Candida*, tripanosomas y *Mycobacterium* también han sido implicados como iniciadores de coagulopatía por consumo, sugiriendo que virtualmente cualquier agente infeccioso puede asociarse con alteraciones trombohemorrágicas (5, 28).

La cascada de la coagulación puede ser dividida en una vía extrínseca y una vía intrínseca. La vía extrínseca conduce a la formación de un complejo formado por el factor

tisular con el factor VII de la coagulación. Esto es seguido por la activación del factor IX y/o factor X, por dicho complejo y la conversión subsiguiente de protombina a trombina la cual finalmente induce la formación de fibrina a partir del fibrinógeno. La vía intrínseca es iniciada después de la activación del sistema de contacto, un proceso que involucra los factores XI, XII, Calicreína y cininógeno de alto peso molecular. En adición a esta función procoagulante, la activación del sistema de contacto también induce a una liberación de bradicininas, la cual es generada por desdoblamiento del cininógeno de alto peso molecular y precalicreína. Las cininas se consideran mediadores proinflamatorios importantes y su liberación temprana en el curso de una sepsis origina la formación de fibrina y cuando esta ocurre en forma exagerada aparecen depósitos intravasculares. (21, 39, 19).

Suharti y colaboradores encontraron la asociación de sepsis bacteriana con elevación de cininas como: El factor de necrosis tumoral α , interleucina β 1, antagonista del receptor de la interleucina 1, interleucina 6 y con marcadores de la activación de la coagulación (Fragmentos de protombina 1+2, complejo trombina-antitrombina) y fibrinolisis (Activador del plasminógeno tisular, complejo inhibidor plasmina/ α 2plasmina y dímero D). (34).

Los factores de coagulación trombina, factor Xa y factor Va activan la cascada de la coagulación por señales intracelulares, a través de su unión a receptores de membrana celular específicos, de los cuales no se conoce claramente su papel en la hemostasia. Los receptores para trombina (receptores de proteasa activados son los mejor caracterizados), pertenecen a la familia de receptores acoplados de proteína G, los cuales son activados cuando se unen a las proteasas que se desdoblan a exodominios del receptor. Esta manipulación descubre un péptido ligando que luego estimula este receptor. Se han

identificado cuatro receptores que han sido desencadenados por este mecanismo. Los receptores activos de proteasa (RAP) tipo 1 y 3 son activados por trombina y RAP4 y RAP2 son activados por la tripsina, triptasa de células mastocíticas y proteinasa de cisteína de porphyromonas gingivalis. Los receptores para F X (receptor de proteasa célula efector-1 [RPCE-1]) y F VII no pertenecen a los receptores de proteína G y son activados por diferentes mecanismos. Recientemente se ha descrito un receptor de la proteína C (proteína C de células endoteliales). Aún se encuentra en investigación si los receptores inician las señales de activación celular o no. Los pacientes con sepsis tienen niveles plasmáticos incrementados significativamente de una forma soluble de proteína C de células endoteliales en el plasma, lo cual indica que esta proteína puede ser usada como un marcador proteico en enfermedades infecciosas (41). La unión de factores de la coagulación a estos receptores y su activación subsiguiente desencadena reacciones inflamatorias tales como reclutamiento de leucocitos, liberación de citoquinas, óxido nítrico y la producción de moléculas oxígeno-activas. Las infecciones virales y bacterianas influyen en la homeostasia y pueden llevar a complicaciones trombohemorrágicas o síndromes tales como CID, Síndrome hemolítico urémico (SHU), púrpura trombocitopénica trombótica (PTT) o vasculitis. Los signos y síntomas pueden ser caracterizados por sangrados, trombosis o ambos. Ninguno de estos síndromes son específicos para ciertos patógenos y su acontecimiento depende de factores tales como virulencia del patógeno, la enfermedad primaria del paciente, foco y tamaño del inóculo y efectividad del tratamiento antimicrobiano. Existen entidades clínicas que pueden ser consideradas como manifestaciones extremas de CID aguda como el síndrome de Waterhouse-Friderichsen y púrpura fulminante. Pacientes con estas alteraciones tienen un alto riesgo de mortalidad, la mayoría con un curso clínico fulminante y son difíciles de tratar una vez que se manifiesta

la enfermedad. Hay variaciones en el comportamiento al inicio de la enfermedad que dependen de la edad, estado de salud previo del paciente, el tipo de agente infeccioso, las manifestaciones clínicas y las anormalidades de laboratorio (32). Cualquier agente gram negativo puede producir CID severa con evidencia histopatológica, en la mayoría de los pacientes con choque séptico reportados por Yoshikawa T. (43). murieron durante las primeras 24 horas, después de su aparición. Las bacterias gram positivas han sido implicadas con menor frecuencia en la etiología de la CID. Se han observado alteraciones de la coagulación durante procesos infecciosos ocasionados por *Staphylococcus* incluyendo resultados fatales asociados con un organismo de baja virulencia: *Staphylococcus epidermidis*. Organismos como *Clostridium* han sido implicados en CID severa secundaria a aborto séptico, con una mortalidad mayor del 50% cuando se complican con choque (3, 15, 21).

La coagulación es controlada en tres niveles. Primero los cambios de la trombina a un factor anticoagulante se unen a la trombomodulina, una glicoproteína encontrada en el endotelio vascular. El complejo formado por trombina/trombomodulina activa rápidamente a la proteína C, anticoagulante natural. La proteína C activada aumenta la activación de la trombina e inactiva proteolíticamente los cofactores de la coagulación, factor V y VIII. Adicionalmente la trombina en complejo con trombomodulina pierde esta habilidad para degradar el fibrinógeno. Segundo. Para prevenir una expansión de la coagulación periférica en los tejidos dañados, los factores de la coagulación son inactivados por inhibidores de proteínas circulantes tales como el inhibidor del factor tisular, inhibidor de C1 y antitrombina III. Finalmente la fibrinólisis no es posible que se efectúe dentro del coágulo por una activación de las proteínas plasmáticas dependientes de trombina. El inhibidor de la fibrinólisis activable por trombina, exhibe actividad b-carboxipeptidasa y suprime la

fibrinolisis, al remover los residuos lisina carboxil-terminal. A partir de que la plasmina se une a las lisinas carboxil-terminal la fibrina es degradada progresivamente.

En el sitio del daño tisular, la fibrinolisis es iniciada por la conversión de plasminógeno a plasmina. La plasmina tiene múltiples funciones, tales como degradación de fibrina, inactivación de los cofactores F V y F VIII, y activación de metaloproteinasas, las cuales juegan un importante papel en la reparación de heridas y remodelación tisular. El plasminógeno es activado por activador del plasminógeno tisular (APt) y activador del plasminógeno tisular tipo uroquinasa (APu) que son proteínas liberadas de las células endoteliales en respuesta a la trombina y al daño tisular. La actividad del plasminógeno es regulada por inhibidores de la plasmina tales como α 2-antiplasmina, y α 2-macroglobulina y también atenuados por el inhibidor del activador del plasminógeno tipo I que es el inhibidor fisiológico primario de (APt) y (APu).

BACTERIAS Y LA VÍA EXTRÍNSECA

La cascada de la coagulación es iniciada principalmente por unión del factor VII a la superficie del factor tisular. La importancia fisiológica del FT fue demostrada por experimentos en ratones transgénicos, los cuales comprueban que la interrupción del gen del FT es asociado con sangrados embrionarios letales y deterioro vascular. El FT se expresa en muchos tejidos, incluyendo cerebro, pulmón, placenta y riñón. Las células que producen FT no están en contacto con la sangre pero son encontradas en tejidos perivasculares y estroma. Las células sanguíneas periféricas y el endotelio normalmente no producen factor tisular. Sin embargo la actividad de estas células está incrementada, después de la estimulación con sustancias tales como endotoxinas, factor de necrosis tumoral α , esteres de phorbol, factores de crecimiento del endotelio vascular. Los

mediadores inflamatorios tales como endotoxinas y factor de necrosis tumoral alfa son regulados por la inducción del gen "factor tisular" utilizando una región promotora conteniendo DNA unido al factor nuclear kB y al activador de la proteína I. Sin embargo la expresión del factor inducido por suero, ésteres de phorbol y factor de crecimiento endotelial vascular, es controlada por una región promotora superpuesta sobre los sitios I del factor del crecimiento endotelial. Recientemente Giesen y cols. demostraron evidencias de que pequeñas cantidades de factor tisular trombogénico son también encontradas en plasma. Los niveles de endotoxinas circulantes son marcadores pronósticos para la respuesta clínica del paciente séptico. (1)

La vía del factor tisular (ruta extrínseca) es la principal ruta de activación de la cascada de la coagulación en sepsis. (6).

Recientemente Gando y cols. reportaron que los valores de factor tisular trombogénico están significativamente más elevados en pacientes con sepsis que en los pacientes con trauma, indicando un papel importante para desencadenar la activación de la vía extrínseca de la coagulación en condiciones sépticas.

La observación de que la actividad del factor tisular está incrementada durante las infecciones está de acuerdo con los hallazgos observados en infecciones por diversas bacterias tales como *Mycobacterium leprae*, *Neisseria meningitidis*, *Rickettsia conorii*, *Rickettsia rickettsii*, *staphylococcus aureus* y *streptococcus sanguis*, que pueden ser desencadenantes de la expresión del factor tisular en células endoteliales y monocitos. El inicio de la coagulación en sepsis resulta parcialmente de la inducción de la expresión del factor tisular en las células endoteliales y monocitos por productos bacterianos; las infecciones producidas por microorganismos gram positivos también desencadenan la

actividad del factor tisular indicando que los productos de las bacterias como endotoxinas, también podrían alterar la regulación de la actividad procoagulante; las bacterias gram positivas pueden inducir esta activación en forma indirecta como sucede con varias exotoxinas y peptidoglicanos que se han demostrado asociación con inducción de citoquinas proinflamatorias. Las citoquinas tales como interferón gama, interleucina 1 β , y FNT alfa, son fuertes inductores de la expresión del factor tisular.

Estas observaciones indican que la actividad del factor tisular se incrementa en respuesta a productos de ambas bacterias gram (+) y gram (-) y que estas pueden ser uno de los factores iniciadores de la activación de la coagulación en las enfermedades infecciosas (34).

Sin embargo y a pesar de los niveles elevados del inhibidor de la vía del factor tisular en plasma de paciente sépticos, estudios eficaces indican que la administración de 10 veces más la concentración del inhibidor de la vía del factor tisular puede ser necesaria para compensar una activación incontrolada de la vía extrínseca de la coagulación (4, 10).

BACTERIAS Y SISTEMA DE CONTACTO

Numerosos estudios proveen evidencias acumulativas de que el sistema de contacto es activado durante la sepsis. Esto fue demostrado en 1970 en un paciente con choque séptico el cual tenía disminución en forma significativa de los niveles de factores de contacto. Mas recientemente se ha reportado que la activación del sistema de contacto ocurre en niños con choque séptico por meningococo y cursan con niveles bajos de factor XII y cininógeno de alto peso molecular así como también se ha demostrado en pacientes con síndrome de respuesta inflamatoria sostenida las cuales se correlacionan con un resultado fatal de la enfermedad (8,13).

En uno de los estudios más recientes se comprobó que los niveles de precalicreína y α_2 macroglobulina están incrementados en pacientes con síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, indicando una activación del sistema de contacto. Estudios subsecuentes demostraron que el sistema de contacto es activado en una secuencia de ensambles de factores de contacto sobre la superficie bacteriana. Esto es seguido por la liberación de bradiquininas, un potente inductor de fiebre, dolor e hipotensión. En bacterias gram negativas, se ha comprobado que los productos peptidoglicanos de la pared celular de *Streptococcus pyogenes* activan el sistema de contacto. La mayoría de los serotipos de *Streptococcus* se unen al cininógeno por sus proteínas M, los cuales son consideradas como factores importantes de virulencia. Una vez que el cininógeno de alto peso molecular es absorbido sobre la superficie bacteriana es susceptible de un rompimiento proteolítico por precalicreína, llevando a la formación de bradiquinina (19).

Las moléculas de la superficie bacteriana secretan productos microbianos, endotoxinas que se ha demostrado activan el sistema de contacto, a nivel del factor XII. Muchas proteinasas bacterianas que pueden ser iniciadoras de las cininas activan también el sistema de contacto (18).

BACTERIAS Y FIBRINOGENO/FIBRINA

El sistema de activación de la coagulación durante las infecciones resulta en el desdoblamiento del fibrinógeno por fibrina. Los monómeros de fibrina generados son depositados en varios órganos, produciendo trombosis micro y macrovascular.

La estimulación concomitante y agregación de plaquetas, ambas por trombina o sustancias bacterianas, pueden también causar trombocitopenia y como resultado puede presentarse trombosis extensa, isquemia tisular y falla de órganos. Los productos de

degradación del fibrinógeno pueden desencadenar la liberación de derivados de monocitos y macrófagos como IL-1, IL-6 e inhibidor del activador del plasminógeno 1, la IL-1 e IL-6 inducen daño endotelial vascular adicional, y el inhibidor del activador del plasminógeno inhibe la fibrinolisis, con la aceleración de formación de trombos (33).

BACTERIAS Y FIBRINOLISIS

Estudios en modelos animales con sepsis, la causa mas común de CID es el estado procoagulante caracterizado por la generación de trombina que excede a la de plasmina. Evidencias convincentes indican que este desequilibrio entre la coagulación y el sistema fibrinolítico es debido a los niveles incrementados del inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1 (11).

En el sitio del daño tisular la fibrinolisis se inicia con la conversión del plasminógeno a plasmina. La plasmina tiene muchas funciones, tales como la degradación de la fibrina, inactivación de los factores V y VIII y activación de las metaloproteinasas las cuales juegan un importante papel en la curación de las heridas y el proceso de reparación tisular. El plasminógeno es activado por el activador tisular del plasminógeno y el activador del plasminógeno tipo uroquinasa. Las proteínas son liberadas de las células endoteliales en respuesta a la trombina y el daño tisular. La actividad del plasminógeno es regulada por inhibidores de la plasmina tales como: α_2 antiplasmina, α_2 -macroglobulina y también atenuados por inhibidor 1 del activador tisular del plasminógeno (PAI-1) e inhibidores fisiológicos primarios.

Los niveles de PAI-1 se correlacionan con la severidad de la falla de órganos múltiples en sepsis (8).

El plasminógeno juega un papel central en la fibrinólisis para disolver la fibrina insoluble, degrada las proteínas de la matriz celular tales como laminina y fibronectina y activa las metaloproteinasas. Los activadores del plasminógeno han sido demostrados ser factores cruciales en la fibrinólisis. En sepsis la falla progresiva de múltiples órganos es a menudo acompañada por depósitos de fibrina y formación de microtrombos. Estudios clínicos han demostrado que las concentraciones de plasminógeno en pacientes sépticos están significativamente disminuidas. Los niveles de plasminógeno o la relación de plasminógeno / α 2 antiplasmina han demostrado ser buenos marcadores para la supervivencia en pacientes con septicemia. Otros estudios indican que la alteración de los procesos fibrinolíticos en enfermedades infecciosas, detectados por niveles de plasmina baja en sangre o la falla de activación del plasminógeno pueden producir los depósitos de fibrina, causando secuelas graves durante la evolución.

En pacientes con sepsis, sepsis severa o choque séptico los niveles de muchos inhibidores naturales están marcadamente disminuidos, y esto puede llevar a un resultado desfavorable para la enfermedad. En varios modelos animales y estudios clínicos la sustitución terapéutica de inhibidores de la coagulación ha demostrado mejorar la supervivencia en casos de infección severa (11).

Los inhibidores naturales de la coagulación Antitrombina III, sistema de proteína C y S y el inhibidor de la vía del factor tisular juegan un importante papel en el control de la activación de la coagulación durante la CID (7).

En paciente sépticos los niveles de antitrombina III disminuyen drásticamente en el plasma, y niveles bajos de AT III y proteína C son predictivos de un resultado fatal para el paciente (3, 42).

Varios mecanismos pueden disminuir los niveles de AT III, tales como consumo de AT III, degradación por la elastasa liberada de los neutrófilos y filtración hacia el espacio extravascular debido al aumento de la permeabilidad vascular incrementada. En estudios animales se ha comprobado que la administración de AT III incrementa la formación del complejo trombina-AT III y disminuye el consumo de fibrinógeno.(4).

Mavrommatis y cols, demostraron que la fibrinólisis está fuertemente activada y la antitrombina III es utilizada en pacientes con sepsis, estos hallazgos son evidentemente encontrados en sepsis severa y choque séptico. En sepsis solo la AT III está disminuida. En sepsis severa y choque séptico el plasminógeno e inhibidores de la coagulación están depletados. Bacterias gram positivos y gram negativos y otros microorganismos producen daños idénticos. (23).

El inhibidor de C1 es el mayor inhibidor del plasma activado por el complemento C1 esterasa, Precalicleina y F XII es un proteína de fase aguda, y estos niveles pueden incrementarse 2 veces por arriba de los normal en sepsis no complicada. Sin embargo, la relación entre los niveles funcionales y totales de inhibidor de C1 son más bajos en pacientes con sepsis que en paciente sanos. La administración de inhibidor de C1 en modelos animales resultó en una reducción de niveles de citocinas circulantes tales como FNT α , IL-6, IL-8, e IL-10. Los animales tratados con inhibidor de C1 revelaron daño de menor severidad en varios órganos que en animales de control (26).

La trombomodulina es un cofactor expresado sobre la superficie de las células endoteliales, que modifica la actividad de la trombina, produciendo activación de la proteína C y subsecuentemente iniciación de la vía de la anticoagulación. La expresión de la trombomodulina es regulada por endotoxinas y citoquinas como IL-1. Varios estudios

animales proveen evidencias de que la trombomodulina soluble previene tromboembolismo agudo fatal y disminuye el depósito de fibrina glomerular en coagulación intravascular diseminada inducida por endotoxinas. Durante la sepsis los niveles de proteína C son muy bajos, especialmente en choque séptico por meningococo, y contribuyen a la morbimortalidad. El tratamiento de los pacientes con proteína C resulta en una mejoría significativa de la respuesta del huésped ante la infección meningocócica (22).

COAGULACIÓN INTRAVASCULAR DISEMINADA

La coagulación intravascular diseminada es un síndrome que frecuentemente ocurre en pacientes sépticos en asociación con incremento en la mortalidad, y representa para el clínico un reto diagnóstico y terapéutico. La confusión y controversia radica en que múltiples patologías no relacionadas con procesos infecciosos pueden condicionar CID; la falta de uniformidad en sus manifestaciones clínicas; la falta de uniformidad o consenso en el diagnóstico de laboratorio y falta de uniformidad o consenso en el manejo de las diferentes modalidades terapéuticas (38).

PERSPECTIVA HISTÓRICA

La coagulación intravascular diseminada fue inicialmente descrita por Landois en 1875, cuando ellos inocularon sangre humana por vía venosa en perros y encontraron trombos hialinos en los vasos del mesenterio. En 1951 Schneider notó una disminución en el fibrinógeno y émbolos de fibrina microscópicos en pacientes con abrupto placentario. El primer caso clínico de CID y falla de órganos fue reportado en 1954 durante la guerra de Corea, donde se reportaron 4 casos de falla renal aguda después de trauma, sepsis o reacción transfusional; en todos ellos se corroboró disminución o ausencia de fibrinógeno

y defectos de la coagulación y esto fue debido al uso de factores de la coagulación en un episodio de CID; los casos también demostraron falla renal debido a microcoágulos de fibrina en capilares del riñón. Después de los trabajos experimentales en perros usando la administración de sangre humana, se comprobó que la CID podría producir falla renal aguda, necrosis hemorrágica de la mucosa gastrointestinal, falla hepática, pancreatitis aguda y falla pulmonar; de hecho la CID podría producir falla orgánica múltiple. Estos síndromes fueron nombrados como síndrome de coagulación orgánica múltiple en un artículo publicado en 1961, el cual fue explicado dentro de un libro sobre CID en 1966. La CID fue definida como un trastorno transitorio de la coagulación de presentación aguda ocurriendo en el flujo sanguíneo a través del árbol circulatorio y el cual puede obstruir la microcirculación. Esto puede o no resultar en una acumulación de fibrina, pero involucra la transformación de fibrinógeno a fibrina, esto también incluye la aglutinación de las plaquetas y la adhesividad leucocitaria.

ETIOLOGÍA.

La CID es siempre secundaria a un evento, y en niños puede ser precipitada por diversas patologías. Las infecciones son la causa más común en niños.

La sepsis es comúnmente asociada a esta patología especialmente el meningococo, los mecanismos sugeridos son inicio de la coagulación por endotoxinas bacterianas que activan los factores XII a factor XIIa activando la liberación de plaquetas, posteriormente activando XI a factor XIa liberando materiales procoagulantes de los granulocitos que también de manera individual pueden desencadenar CID: Lo más común es que se trate de una sumatoria de eventos. Las bacterias gram positivas producen estos efectos a través de su pared cubierta de mucopolisacáridos (13). Muchas viremias incluyendo el HIV se asocian con CID, las más comunes son causadas por varicela, hepatitis o citomegalovirus; no se

conocen bien los mecanismos involucrados pero se sugiere una activación del factor XII por reacción antígeno anticuerpo. La CID se encuentra en asociación con muchas entidades clínicas bien definidas, entre los más comunes se encuentran los accidentes obstétricos por embolismo del líquido amniótico, siendo esta la causa más común y mortal; el síndrome de feto muerto retenido, eclampsia y aborto séptico. Otra causa común es la hemólisis intravascular de cualquier etiología. La falla hepática aguda condicionada por toxinas, drogas o infecciones puede condicionar CID (29). La CID es común en malignidades, y la mayoría de los pacientes con enfermedades malignas diseminadas tendrán una evidencia por pruebas de laboratorio de CID y puede o no llegar a manifestarse clínicamente.

Muchas alteraciones hematológicas son también asociadas con CID, como metaplasia mielode agnogénica y policitemia rubra vera. Acidosis y menos común alcalosis pueden desencadenar un evento de CID, así como quemaduras extensas, alteraciones vasculares y misceláneos como Síndrome de Kasabach-Merrit, telangiectasia hemorrágica hereditaria, fenómenos vasoespásticos, síndrome de Raynaud, síndrome de Leriche's, angiopatía diabética severa, alteraciones inflamatorias crónicas como: Enfermedad de Crohn's y colitis ulcerativa.

Se ha relacionado con muchas enfermedades tales como vasculitis alérgicas, sarcoidosis, amiloidosis, síndrome de inmunodeficiencia adquirida, y en rara ocasiones muchos pacientes pueden desarrollar CID sin una etiología aparente.

FISIOPATOLOGÍA

Se postula que el choque séptico es acompañado por CID, el cual temporalmente ocluye la microcirculación de cualquier órgano, temporalmente corta la circulación de esos órganos y causa falla orgánica múltiple (17). La CID puede ser iniciada por la ruptura de la pared de las células sanguíneas, células tisulares, bacterias o todas ellas. Las células

sanguíneas y células tisulares pueden ser destruidas por trauma, anoxia, virus o parásitos como plasmodium. La pared de las células bacterianas pueden ser rotas por antibióticos, calor o anticuerpos. La capa interior de toda la pared celular consiste en amino fosfolípidos trombogénicos; cuando las células son rotas estos fosfolípidos trombogénicos pueden iniciar la CID, actuando como una autotoxina, la CID puede bloquear la microcirculación de cualquiera y todos los órganos causando, síndrome de distress respiratorio agudo o falla orgánica múltiple, se postula que los polisacáridos de las endotoxinas no son el iniciador del choque séptico, pero que los fosfolípidos trombogénicos si los son (39).

Una vez que se activa el sistema de coagulación la trombina y la plasmina se encuentran en la circulación sistémica; se liberan del fibrinógeno fibrinopéptidos A y B y forman monómeros de fibrina, éste se polimeriza para formar un coágulo de fibrina en la circulación produciendo trombosis micro y macrovascular que interfiere con el flujo sanguíneo, produciendo isquemia periférica y daño a órganos blanco. Al depositarse la fibrina en la microcirculación las plaquetas se ven atrapadas lo cual produce trombocitopenia. La otra vía incluye la degradación del fibrinógeno al separar el grupo carboxilo dando lugar a los fragmentos X, Y, D, y E, por su parte la plasmina libera péptidos B-β 15-45 que sirven como marcadores celulares diagnósticos; estos fragmentos pueden combinarse con los monómeros de fibrina circulantes antes de la polimerización por lo que estos se vuelven solubles, este complejo se conoce como “monómero soluble de fibrina”, la detención de estos complejos constituyen la base de las pruebas de laboratorio, gelación de etanol y el sulfato de protamina una vez formado, se sientan las bases para las reacciones de procoagulación, la gelación de etanol y las pruebas de sulfato de protamina, los fragmentos circulantes interfieren con la polimerización de los monómeros de fibrina lo que

posteriormente interfiere con la hemostasis y desarrolla hemorragia. Los fragmentos D y E tienen gran afinidad por las membranas plaquetarias induciendo defectos en su funcionamiento. Estas plaquetas defectuosas en la circulación condicionan mayor riesgo de hemorragia (14, 37).

La plasmina es una enzima proteolítica que tiene afinidad similar para la fibrina y el fibrinógeno, también biodegrada de manera efectiva los factores Va, VIIIa, IXa, XIa así como otras proteínas plasmáticas incluyendo hormona de crecimiento, ACTH, insulina y otras. A medida que la plasmina se degrada se forman fragmentos específicos, uno de estos es el dímero D. La degradación de las células rojas libera fosfolípidos que sirven como material procoagulante. La lisis plaquetaria inducida por complemento acelera la trombocitopenia y provee más material procoagulante, así mismo la activación del complemento incrementa la permeabilidad vascular, desarrollando hipotensión y choque.

La activación del sistema de cininas incrementa las consecuencias clínicas de la CID, con la generación del factor XIIa donde se lleva a cabo la conversión de precalicreina a calicreina y posteriormente del cininógeno de alto peso molecular que finalmente se convierte en cinina, esto produce incremento en la permeabilidad vascular hipotensión y choque.

Mientras la trombina circula las consecuencias son principalmente trombóticas, con depósitos de monómeros de fibrina y fibrina polimérica en la microcirculación y ocasionalmente en grandes vasos. La plasmina circulante es primariamente responsable de las manifestaciones hemorrágicas de la CID. Este complejo circular ayuda a explicar el por qué la mayoría de los pacientes con CID desarrollan tanto trombosis como hemorragias. El entendimiento de esta fisiopatología permite tener en cuenta que la CID siempre se acompaña de: activación del sistema procoagulante, activación del sistema fibrinolítico,

consumo de inhibidores y daño a órganos blanco. Todas estas alteraciones deben ser documentadas para establecer el diagnóstico objetivo de CID.

HALLAZOS CLÍNICOS

Los signos y síntomas sistémicos de CID son variables y usualmente consisten en fiebre, hipotensión, acidosis, proteinuria e hipocalcemia. Otros signos más específicos que deben inmediatamente alertar la posibilidad de CID son petequias, púrpura, bulas hemorrágicas, cianosis acral y en algunas ocasiones gangrena franca. Otros hallazgos son sangrado de las heridas, sitios de venopunción o a través de líneas arteriales, así como hematomas subcutáneos y sangrado de tejidos profundos. Generalmente el paciente sangra de por lo menos 3 sitios no relacionados, principalmente a nivel cardíaco, pulmonar, renal, hepático y del sistema nervioso central.

De la experiencia obtenida en la práctica clínica, se le ha dividido a la CID en las siguientes etapas:

Periodo de activación. Corresponde al inicio de activación de la coagulación por múltiples patologías que no necesariamente tienen que dar lugar a la CID ya que los mecanismos inhibidores naturales son suficientes para neutralizar a los factores de coagulación activados y el sistema reticuloendotelial es capaz de depurarlos de la circulación.

Periodo de bajo grado o compensado. Indica un período evolutivo de la enfermedad, todavía con poco compromiso orgánico, pues aún no hay bloqueo de la microcirculación, y por último es el momento ideal para iniciar el tratamiento.

Periodo de alto grado o descompensado. Se iniciará al establecerse los compromisos orgánicos que pueden ser moderados a severos, pero que significan una falla funcional

evidente que, aunque podría no ser aparente, de establecerse afecta diversos órganos y tejidos como los riñones, los pulmones, el hígado, el intestino, etc.

Periodo clínico. Es cuando las fallas orgánicas se han establecido y dan lugar a la aparición del cuadro hemorrágico y/o trombótico que afecta a diferentes órganos y tejidos y que se manifiesta por hematomas subcutáneos difusos, hematemesis, melena, metrorragias, hemoptisis, acrocianosis, etc.

HALLAZGOS MORFOLÓGICOS EN CID

Los hallazgos morfológicos de la CID consisten en hemorragia o trombosis periférica de cualquier órgano. Los iniciales incluyen microtrombos ricos de plaquetas, usualmente asociados a vasoconstricción intensa resultado de componentes liberados por las plaquetas incluyendo aminas biogénicas, nucleótidos de adenina, tromboxanos y cininas, también se observan depósitos de monómeros de fibrina principalmente en el sistema retículo endotelial. Los hallazgos tardíos son los típicos microtrombos hialinos ricos en fibrina. Los pacientes con CID pueden desarrollar membrana pulmonar hialina condicionando disfunción pulmonar e hipoxemia. El 50% de los pacientes con CID fulminante tienen esquistocitos. Los mecanismos para la formación incluyen interacciones entre fibrina y células rojas. La ausencia de estos no excluye el diagnóstico de CID. La mayoría de los pacientes con CID fulminante tienen reticulocitosis moderada así como leucocitosis moderada con presencia de formas inmaduras, usualmente hay trombocitopenia, con presencia de plaquetas jóvenes.

El daño a órgano blanco es de tres tipos: I Microtrombos hialinos globulares formados de complejos de fibrinógeno polimerizado, fibrina, sus fragmentos y múltiples intermediarios. II Microtrombos hialinos intravasculares generalmente observados en estudios postmortem, estos son homogéneos, compactos, de orientación paralela al flujo

sanguíneo que ocasionalmente contienen plaquetas o fragmentos de células blancas, III Membranas pulmonares hialinas, compuestos altamente polimerizados de fibrinógeno, fibrina, sus fragmentos y todo tipo de intermediarios. Generalmente cubren el epitelio alveolar con preferencia por áreas denudadas; los capilares intraalveolares dentro de estas membranas exhiben permeabilidad vascular normal. El pulmón de choque puro comparte la fisiopatología de CID con la diferencia que el primero es localizado a la microcirculación pulmonar y el segundo es sistémico. Las membranas pulmonares hialinas del adulto son iguales a las del paciente pediátrico con CID.

Los factores que aceleran o precipitan la formación de micro y macro trombos en el paciente con CID son: reacciones vasomotoras incluyendo aumento de las catecolaminas, acidosis y vasoconstricción progresiva. El uso de glucocorticoides exógenos o ACTH endógena pueden contribuir a la precipitación de microtrombos en pacientes con CID. La alteración de la depuración del sistema retículo endotelial resultante de la precipitación de monómeros de fibrina o uso de esteroides puede ser también un factor contribuyente (30).

HALLAZGOS DE LABORATORIO EN CID

La mayoría de los hallazgos de laboratorio de la CID pueden ser bastante complejos y de difícil interpretación a menos que se lleven a cabo las pruebas adecuadas.

El tiempo de protombina se ve alterado en la CID, sin embargo en algunas ocasiones es normal. Depende de la conversión de fibrinógeno a fibrina y en la CID usualmente hay hipofibrinogenemia que interfiere con la polimerización de los monómeros de fibrina y trombina. La lisis de los factores V y X inducida por plasmina prolonga el tiempo de protombina. Este puede encontrarse normal o bajo por: la presencia de factores de coagulación activados como la trombina o el factor Xa y por la degradación temprana de

los productos de degradación del fibrinógeno, por lo que el tiempo de protombina no tiene gran valor en la evaluación de la CID.

El tiempo de trombina debe estar prolongado en la CID, por la presencia de fragmentos y la interferencia de estos con la polimerización de los monómeros de fibrina así como del fibrinógeno por la hipofibrinogenemia. Sin embargo puede encontrarse normal. Existe una técnica sencilla y rápida para evaluar fibrinolisis y consiste en observar el coágulo durante 10 minutos y si este no se disuelve es poco probable que haya fibrinolisis, sin embargo si este se lisa significa que hay una cantidad significativa de plasmina.

La medición de la actividad coagulante de los factores de la coagulación proporciona poca información en pacientes con CID, generalmente se encuentra una actividad incrementada de los factores Xa, IXa y trombina. Los productos de degradación del fibrinógeno se encuentran elevados en el 85 y 100% de los pacientes, sin embargo estos son solo diagnósticos de la degradación de la plasmina, por lo que solo indican su presencia. Por otra parte estos factores se elevan en otras circunstancias, como el uso de anticonceptivos orales, embolismo pulmonar, LAM, algunas patologías renales, enfermedades vasculares arteriales y venosas.

La determinación del dímero D es de utilidad ya que este es un neoantígeno que se forma cuando la trombina inicia la transición del fibrinógeno a fibrina y activa al factor XIII para actuar sobre la fibrina formada, por lo tanto es específico para los productos de degradación de fibrina y parece ser la prueba más confiable ya que es la que más frecuentemente se altera en pacientes con CID. Los exámenes más confiables en orden descendente son: dímero D 93%, antitrombina 89%, fibrinopéptido A 88%, determinación de fragmentos 1+2 de pretrombina 75%.

El paso límite en la cascada de la coagulación en condiciones normales es la conversión de protombina a trombina produciendo múltiples fragmentos inactivos, uno de estos es la pretrombina 2, marcador molecular confiable para la producción de factor Xa.

La determinación de concentrados de antitrombina es clave en la detención y monitoreo del paciente con CID, durante la activación de la CID hay formación irreversible de trombina lo que disminuye considerablemente la actividad de la antitrombina, no es de utilidad el uso de inmunoensayo.

El fibrinopéptido A comúnmente se eleva en CID y permite analizar la activación de la hemostasia por lo que es diagnóstico de la presencia de trombina, actuando sobre fibrinógeno y es de utilidad en la evaluación del manejo de la CID. Es de fácil obtención a través de ELISA y junto con la pretrombina 2 proporciona evidencia directa tanto de la actividad procoagulante como del consumo de inhibidores.

Generalmente el plasminógeno se encuentra disminuido y hay plasmina circulante ambos son indicadores de actividad del sistema fibrinolítico. El complejo inhibidor de la plasmina/alfa 2 antiplasmina (PAP) se encuentra marcadamente elevados en la CID disminuyendo a medida que ésta se resuelve; es útil ya que su elevación documenta: Activación del sistema fibrinolítico (plasmina) y consumo del inhibidor. La elevación de plasmina y la disminución de plasminógeno proveen información directa de la activación de la fibrinólisis y consumo de inhibidores (16).

La cuenta plaquetaria se encuentra disminuida en la CID, sin embargo el rango es variable desde 2000 y hasta 100000, generalmente se encuentran entre los 66000 debido a que los productos de degradación de la fibrina envuelven las plaquetas, sin embargo esta prueba no es de utilidad en la sepsis fulminante.

Para establecer el diagnóstico por laboratorio de CID se requiere documentar: activación del sistema procoagulante, activación del sistema fibrinolítico, consumo de inhibidores y daño a órgano blanco.

Actualmente se cuenta con análisis de longitud de onda para pruebas de coagulación con perfil óptico en el diagnóstico y manejo de CID. Utilizando cartas de longitud de ondas con cambios de la transmisión de luz, el grado de anormalidad en la longitud de onda se correlaciona directamente con la severidad de la disfunción hemostática y permite la predicción y monitoreo de la evidencia o no de CID y se realizan sobre ensayos de coagulación estándar tales con TP y TTP. (36).

TERAPIA DE LA COAGULACIÓN INTRAVASCULAR DISEMINADA

El manejo de la CID fulminante es confuso y ciertamente controversial, debe individualizarse a cada paciente dependiendo de las manifestaciones clínicas y hallazgos de laboratorio. La terapéutica debe basarse en la causa desencadenante, el grupo de edad, sitio y gravedad de la hemorragia, sitio y gravedad de los eventos tromبóticos, estado hemodinámico y otros factores clínicos relevantes. La mejor terapia es aquella que proporcione al paciente adecuada eliminación de los factores desencadenantes, si esto no se logra es prácticamente imposible revertir la CID, en algunos casos es imposible curar la causa desencadenante sin embargo el poder controlar la misma permite detener el proceso como ocurre en los casos de sepsis o accidentes obstétricos. El punto crucial en el manejo es detectar el detonante para brindarle el tratamiento adecuado lo que también da la importancia a la terapia de soporte.

Otro punto importante es el manejo de coagulación intravascular, específicamente en relación a trombosis de pequeños vasos ya que esta representa el factor más alto de riesgo en CID. Generalmente los pacientes cursan con falla hepática por lo que requieren de

terapia anticoagulante de alguna forma para interrumpir el proceso de coagulación intravascular por lo que esta modalidad terapéutica esta indicada en casos en los que el sangrado no ceda a las 4 ó 6 horas de iniciado el manejo de soporte, se inicia entonces heparina porcina a 80-100U/kg cada 4 a 6 horas, dependiendo de la situación clínica que se enfrente. Se sugiere de más utilidad la administración de heparina subcutánea a dosis bajas, generalmente se obtiene respuesta en un lapso de 3 a 4 horas. Al usar heparina IV se recomienda dosis de 20 a 30000 unidades cada 24 horas en infusión continua, sin embargo se corre el riesgo de provocar mayor hemorragia. La heparina es útil para controlar la CID compensada con riesgo de desarrollar CID fulminante. Las contraindicaciones para el uso de heparina son: CID fulminante, alteraciones del sistema nervioso central, insuficiencia hepática aguda o accidentes obstétricos. En estos casos es recomendable utilizar los concentrados de antitrombina haciendo cálculo de la dosis a administrar de la siguiente manera: $(\text{nivel deseado} - \text{nivel inicial}) \times 0.6 \times \text{peso total en kilogramos}$. El resultado siempre debe ser de 125% ó más y la dosis se debe administrar cada 8 horas.

Otras modalidades de anticoagulación son la heparina intravenosa, los agentes antiplaquetarios o los concentrados de antitrombina.

En caso de no presentarse mejoría con lo anterior los únicos productos considerados seguros en el manejo de CID son: paquetes globulares lavados e irradiados, concentrados plaquetarios, concentrados de antitrombina, expansores de volumen no coagulantes, como fracción de proteína plasmática, albúmina y pentalmidón. Si el paciente no mejora el tercer paso al manejo es restringir los productos a PG lavados e irradiados, Concentrados plaquetarios, albúmina, expansores de plasma y en caso de contar con ella: antitrombina. La mayoría de los pacientes en esta tercera etapa logran controlar la CID si es que van a sobrevivir. Otros agentes nuevos incluyen hirudina, defibrótido y gabexato.

Si a pesar de estas tres fases de manejo el paciente continúa sangrando, la cuarta etapa en el manejo es inhibición del sistema fibrinolítico, necesario en aproximadamente 3% de los pacientes con CID y se utiliza para este fin ácido aminocaproico o ácido tranexámico sin embargo esto solo debe utilizarse en casos extremos ya que el sistema fibrinolítico previene la formación de microtrombos en los pequeños vasos. Los medicamentos antifibrinolíticos pueden condicionar arritmias ventriculares, hipotensión grave e hipocalcemia grave.

La CID de bajo grado se maneja diferente que la CID fulminante, la mayoría de los pacientes con CID compensada no tienen hemorragia que ponga en peligro su vida peso si tienen fenómenos trombóticos profundos o sangrado leve pero molesto. El objetivo principal del manejo de la CID de bajo grado es detener el proceso detonante con lo que logra detener la hemorragia o la formación de trombos, la primera fase incluye la anticoagulación, sin embargo esta no debe de ser vigorosa sobre todo en el caso de cualquier proceso maligno. El manejo antiplaquetario combinado generalmente logra controlar la CID compensada, es común que el manejo con ácido acetil salicílico combinado con dipiridamol logre controlar la CID en un lapso de 24 a 30 horas manifestado por la corrección de parámetros de laboratorio y cese de sangrado o producción de trombos. (2, 24).

BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Aird WC. Vascular bed-specific hemostasis: role of endothelium in sepsis pathogenesis. *Crit Care med* 2001 Jul;29(7suppl):S28-34.
- 2.- Baglin, Trevor, Disseminated intravascular coagulation: Dignosis and treatment. *British Medical Journal* 09598146, 3/16/96, Vol. 312 Issue 7032.
- 3.- Bokarewa MI, Tarkowski A. Thrombin generation and mortality during *Staphylococcus aureus* sepsis. *Microb Pathog* 2001 Apr;30(4):247-52.
- 4.- De jonge E. Tissue factor pathway inhibitor does not influence inflammatory pathways during human endotoxemia. *J Infect Dis* 2001 Jun 15;183(12):1815-8.
- 5.- E.C.M. Van Gorp, Review: Infectious diseases and coagulation disorders. *The Journal of Infectious Diseases* 1999;180:176-186.
- 6.- Ever de Jonge, Pascale E. Tissue factor pathway inhibitor dose-dependently inhibits coagulation activation without influencing the fibrinolytic and cytokine response during human endotoxemia. *Blood*, Vol 95 No. 4 (February 15), 2000 pp: 1124-1129.
- 7.- Faust SN, Heyderman RS, Levin M. Coagulation in severe sepsis: a central role for thrombomodulin and activated protein C. *Crit Care Med* 2001 Jul;29(7 suppl):S62-7.
- 8.- Gando S. Disseminated intravascular coagulation in trauma patient. *Semin Thrombo Hemost* 2001 Dec; 27(6):585-92.
- 9.- Guido Grignani, Anna Maiolo. Cytokines and hemostasis. *Haematologica* 2000;85:967-972.
- 10.- Hack, C. Erick MD. Tissue factor pathway of coagulation in sepsis. *Crit Care med*, Volume 28(9) Supplement, Sept 2000, S25-S29.
- 11.- Hack CE. Fibrinolysis in disseminated intravascular coagulation. *Semin Thromb Hemost* 2001 Dec;27(6):633-8.
- 12.- Hans Tapper and Heiko Herwald. Modulation of hemostatic mechanism in bacterial infectious diseases. *Bood*, 1 October 2002, Vol 96, No. 7 pp, 2329-2337.
- 13.- Hardaway, Robert M., American Surgeon, A review of septic Shock. *American Surgeon*, 00031348, Jan2000 Vol, 66, Issue.
- 14.- Hugo MD. Pathophysiology of disseminated intravascular coagulation in sepsis (Scientific Reviews). *Crit Care Med*, Volume 28(9) Supplement, September 2000, S9-S11.
- 15.- John Lillyman. Ian Hann and Victor Blanchette. *Pediatric Hematology*. Second edition. 1999. Churchill Livingstone. Pp. 631-633.
- 16.- Jonge E, van der poll T, Kesecioglu J, Anticoagulant factor concentrates in disseminated intravascular coagulation: rationale for use and clinical experience. *Semin Thromb Hemost* 2001 Dec;27(6):667-74.
- 17.- Joop K, Berckmans RJ, Nieuwland R. Microparticles from patient with multiple organ dysfunction syndrome and sepsis support coagulation through multiple mechanisms. *Thromb haemost* 2001 May;85(5):810-20.
- 18.- Kenji Okajima Role of Leucocytes in the activation of intravascular coagulation in patient with septicemia. *American Journal of hematology* 36:265-271 (1991).
- 19.- Levi M. Pathogenesis and treatment of disseminated intravascular coagulation in the septic patient. *J Crit Care* 2001 Dec, 16(4):167-77.

20.- Marco Palma. Extracellular Fibrinog-binding protein, Efb, from *Staphylococcus aureus* Blocks platelet Aggregation due to its Bindings to the α -Chain. *J Biol Chem*, vol 276, issue 34, 31691-31697, August 24, 2001.

21.-Martinez-Murillo Carlos. Quintana González Sandra. Manual de hemostasia y trombosis. Segunda reimpresión 2001. Editorial Prado. pp. 225-242.

22.-Maureen Andrew. The Relevance of Developmental Hemostasis to Hemorrhagic Disorders of Newborns. *Seminars in Perinatology*, Vol. 21, No.1 February, 1997: pp 70-85.

23.- Mavrommatis AC, Theodoritis T. Activation of the fibrinolytic system and utilization of the coagulation inhibitors in sepsis: Comparison with severe sepsis and septic shock. *Intensive Care Med* 2001 Dec;27(12):1853-9.

24.- Michael D. Williams. Guideline. The investigation and management of neonatal haemostasis and thrombosis. *British Journal of Haematology*, 2002, 119, 295-309.

25.- Nathan and Oski's. Hematology of infancy and Childhood. 4th Edition. W.B. Saunders company. Volume 2. pp.1682-1683.

26.- Peter Libby, MD; Daniel I. Simon, MD. Inflammation and thrombosis. *Circulation*, 2001:103:1718.

27.- Robert I. Parker, MD. Etiology and treatment of acquired coagulopathies in the critically ill adult and child.

28.- Robert. W. Colman. Hemostasis and thrombosis. Second Edition. J.B. Lippincott Company. 1982. pp. 985-986.

29.- Rodger L. Bick MD. Disseminated intravascular coagulation Objective clinical and laboratory diagnosis, Treatment and assessment of Therapeutic Response. *Seminars in Thrombosis and hemostasis* Vo. 22 No. 1 1996.

30.- Rodger L. Bick, MD. Disseminated intravascular coagulation. Objective Criteria for Diagnosis and Management. *medical Clinics of north America*, Volume 78. Number 3 May. 1994.

31.- Rodger L. Bick, MD, F.A.C.P. Disseminated intravascular coagulation. *Hematology/Oncology clinics of North America* Volume 6, No. 6 Dec 1992.

32.- Rodger L. Bick, MD., F.A.C.P. Disseminated intravascular coagulation and Related Syndromes: A clinical Review. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*- Volume 14, No. 4 1988.

33.- Schleef RR, Olman MA, Miles LA, Chuang JL. Modulating the fibrinolytic system of peripheral blood mononuclear cells with adenovirus. *Human Gene Ther* 2001 Mar 1;12(4):439-45.

34.- Suharti C, van Gorp CE, The role of cytokines en activation of coagulation and fibrinolysis in Dengue shock syndrome. *Thromb Haemost* 2002 Jan;87(1):42-6.

35.- Taylor FB Jr. Response of anticoagulant pathways in disseminated intravascular coagulation. *Semin Thromb Hemost* 2001 Dec;27(6):619-31.

36.- Toh, C. H, Giles, A. R. Waveform analysis of clotting test optical profiles in the diagnosis and management of disseminated intravascular coagulation (DIC). *Clinical and Laboratory Haematology*, Dec 2002, Vol 24 Issue 6, p321, 7

37.- Torradabella de Reynoso P, Salgado Remigio A. Severe sepsis and septic shock: crossroad of inflammation and coagulation. *Med Clin (Barc)* 2001 Jun 2;116(20): 782-8.

38.- Van der Poll T. Coagulation and inflammation. *J. Endotoxin Res* 2001;7(4):301-4.

- 39.- Van der poll T, de Jonge E, Levi M. Regulatory role of cytokines disseminated intravascular coagulation. *Semin Thromb Hemost* 2001 Dec;27:639-51.
- 40.- Vicent JL. Microvascular endothelial dysfunction: a renewed appreciation of sepsis pathophysiology. *Crit Care* 2001;5(2):S1-5.
- 41.- Yan SB, Dhainaut JF. Activated protein C Versus protein C in severe sepsis. *Crit Care Med* 2001 Jul; 97(7suppl):S69-74.
- 42.- Yan SB, Helterbrand JD, Hartman DL. Low levels of protein C are associated with poor outcome in severe sepsis. *Chest* 2001 Sep;120(3):915-22.
- 43.- Yoshikaawa T, Tanaka KR, Guze LB: *Infection and CID*. Medicine (Baltimore) 50:237, 1971.