

# 1 Capítulo

---

## Principios básicos de la hemostasia

Pilar Medina Badenes, Silvia Navarro Rosales y Josune Orbe Lopategui

### PUNTOS CLAVE

- El proceso hemostático está regulado por activadores e inhibidores que mantienen la fluidez de la sangre y evitan su salida del compartimento vascular.
- La hemostasia y la trombosis dependen de la pared vascular; las plaquetas y la cascada de la coagulación.
- La cascada clásica de la coagulación sanguínea ha sido sustituida por un modelo celular que contempla las fases de iniciación, amplificación y propagación porque refleja con más precisión el papel de la hemostasia *in vivo*.
- La coagulación está controlada por factores que promueven la formación del trombo (factores procoagulantes) o su inhibición (factores anticoagulantes).
- La fibrinólisis es el mecanismo de defensa que se encarga de la disolución de la fibrina una vez que ha cumplido su función.

### ENDOTELIO VASCULAR

La vasculatura se define como la disposición de los vasos sanguíneos en el cuerpo o dentro de un órgano. De forma natural,

posee una serie de mecanismos activos para mantener la coagulación en un estado de reposo, tales como la expresión de ecto-ADPasa (CD39), prostaciclina (PGI<sub>2</sub>) y óxido nítrico (NO), que bloquean la adhesión plaquetaria y la activación del endotelio sano (1), así como diferentes mecanismos naturales de anticoagulación que participan en el mantenimiento de la integridad de dicha vasculatura, algunos de los cuales se describirán más adelante. Además, hay que tener en cuenta que no es idéntica en todas las partes del cuerpo, y que puede modificarse en respuesta a cambios en el entorno extracelular, que alterarían localmente la capacidad del endotelio para mantener un estado de reposo (2). A pesar de que la vasculatura sana mantiene un estado de reposo, hay evidencias que confirman una activación mínima de los factores de la coagulación, denominada "ralentí", y que puede desempeñar un papel en la preparación para una respuesta de coagulación rápida a una lesión (3). El factor tisular (FT) está implicado como jugador clave en este proceso. Encontramos niveles aumentados de FT en localizaciones tales como cerebro, pulmón y corazón, y niveles mínimos en localizaciones tales como músculo esquelético, articulaciones, bazo e hígado (4). Además de estar distribuido en diferentes localizaciones, se expresa en las células del músculo liso vascular y en los pericitos que rodean

a los vasos sanguíneos. Esta concentración de FT alrededor de la vasculatura se ha denominado “envoltura hemostática”. También hay evidencia científica que sugiere que el FT puede estar presente en micropartículas circulantes. La naturaleza y la función de este FT circulante están siendo estudiadas por diferentes grupos de investigación, con unos resultados que sugieren que se encuentra en niveles bajos en pacientes sanos, y se acumula en trombos patológicos (5). Además, las células endoteliales *in vivo* no expresan FT, excepto posiblemente durante la invasión por células cancerosas. Dada la localización del FT, parece plausible que los procesos asociados con el ralenti no sean intravasculares, sino que puedan ocurrir en el espacio extravascular. Se conocen al menos dos mecanismos que pueden concentrar factores de coagulación plasmáticos alrededor de la vasculatura:

1. La entrada en el espacio extravascular de proteínas de la coagulación en función de su tamaño, de forma que pequeñas proteínas entran fácilmente mientras que grandes proteínas no parecen llegar a la extravasculatura (6). Es el caso del factor FVII, que, unido al FT, se mueve hacia el espacio extravascular; llegando hasta los vasos sanguíneos (7,8).
2. Las proteínas capaces de unirse a la matriz extracelular. Como es el caso del FIX, que se une estrechamente y específicamente al colágeno IV de la proteína de la matriz extracelular; quedando concentrado alrededor de los vasos sanguíneos.

## COAGULACIÓN

La hemostasia es el conjunto de mecanismos que mantienen la sangre en estado fluido, para así garantizar la permeabilidad de los vasos y prevenir el sangrado ante una rotura. En primer lugar, se produce una vasoconstricción y la adhesión y agregación plaquetaria en la zona de la rotura (hemostasia primaria). Seguidamente, se desencadena la coagulación para formar y consolidar el coágulo de fibrina, y finalmente, la fibrinólisis para eliminar el coágulo una vez ha realizado su función (hemostasia secundaria). Todos estos mecanismos están perfectamente sincronizados y la alteración de alguno de ellos puede conllevar una trombosis o una hemorragia.

Las plaquetas son células anucleadas que se originan de la fragmentación del citoplasma de megacariocitos maduros. Su compleja organización estructural les permite responder a estímulos variados y así desempeñar su función en la hemostasia. Así, al producirse una lesión se exponen proteínas adhesivas como el colágeno, factor von Willebrand (FvW), fibronectina, laminina, vitronectina y trombospondina que favorecen la adhesión y activación plaquetaria sobre la matriz extracelular que ha quedado expuesta. Las plaquetas se unen a través del receptor Ib-V-IX, lo cual activa al receptor IIb-IIIa.

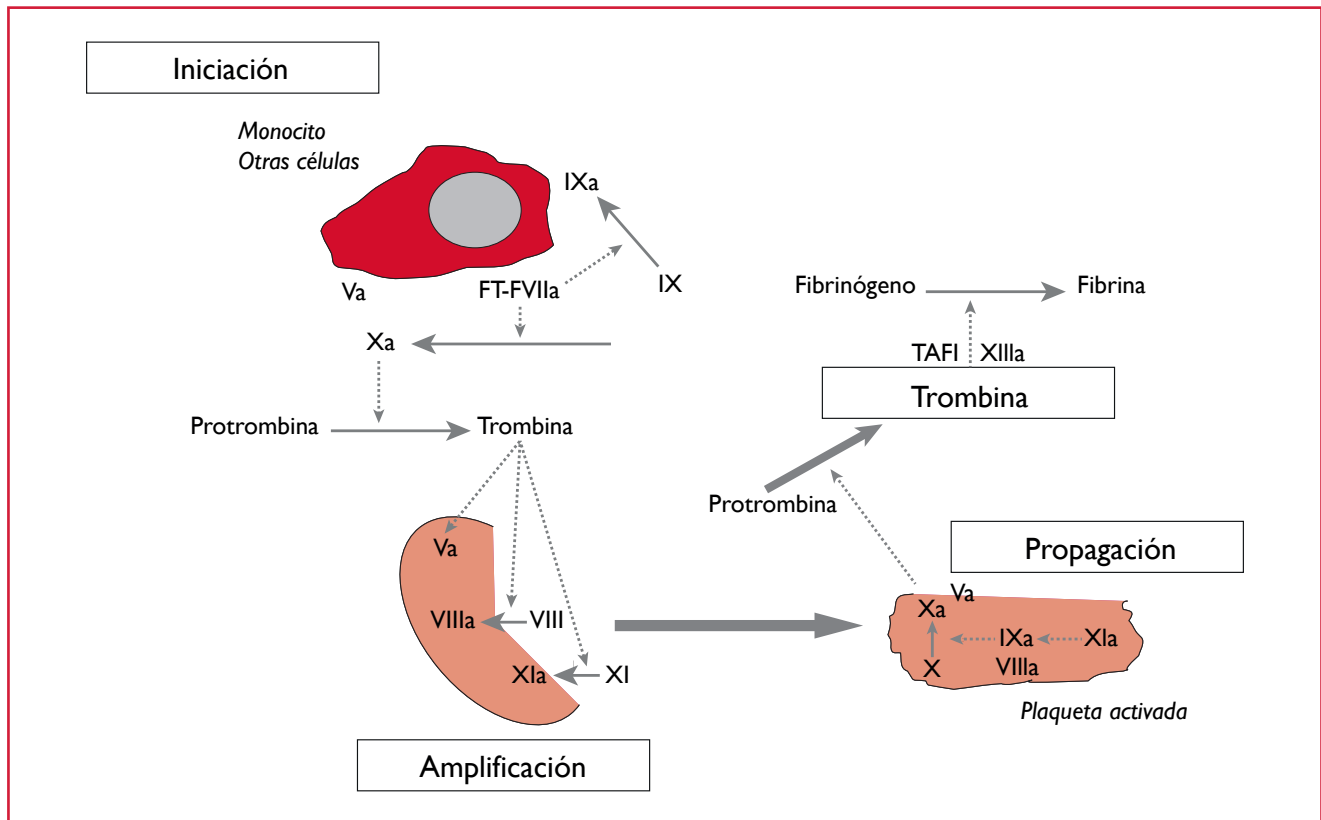
Esta activación permite que se una a él fibrinógeno y cree puentes entre dos o más plaquetas, formándose un agregado plaquetario. Tras la activación, las plaquetas sufren un cambio de forma y liberan el contenido de sus gránulos, que contienen sustancias proagregantes (ADP; tromboxano  $A_2$ ,  $TxA_2$ ; FvW; fibrinógeno; trombospondina y fibronectina) y procoagulantes (fibrinógeno, FV, factor 4 plaquetario y fosfatidilserina). La liberación del ADP y  $TxA_2$  potencia la agregación plaquetaria para así formar el tapón hemostático primario.

Además, con el daño endotelial se expone gran cantidad de FT al torrente circulatorio, que normalmente está encriptado en el endotelio. Este FT, junto con los fosfolípidos que exponen las plaquetas agregadas, concentra cargas negativas que activan la coagulación de forma casi simultánea a la hemostasia primaria. La cascada de la coagulación la forman diversas proteínas, casi todas enzimas, que circulan en forma inactiva (proenzimas), y que se activan unas a otras secuencialmente formando una cascada de reacciones enzimáticas en presencia de un cofactor no enzimático. Clásicamente, la coagulación sanguínea se puede activar por dos vías: la vía intrínseca (o fase de contacto), que se inicia por exposición del FXII a superficies cargadas negativamente, y la vía extrínseca, que es la principal vía de activación fisiológica y se inicia por la exposición de FT al torrente circulatorio. Ambas vías convergen en la vía común con la generación de trombina que activa al fibrinógeno para formar la malla de fibrina que conforma el coágulo sanguíneo (o tapón hemostático secundario) que atrapa en él a las plaquetas, y es mucho más estable que el tapón primario anteriormente formado.

La cascada clásica de la coagulación sanguínea ha sido sustituida por un modelo celular que contempla las fases de iniciación, amplificación y propagación porque refleja con más precisión el papel de la hemostasia *in vivo* (Figura 1).

La trombina es el único enzima de la coagulación capaz de convertir al fibrinógeno en fibrina, pero, además, ejerce otras muchas funciones dentro y fuera de la coagulación. Las primeras trazas de trombina son esenciales en el inicio de la coagulación, ya que activan receptores celulares del FV y FVIII y se activan a sí mismos. También activa a las plaquetas, así como al FXIII, el cual estabilizará al coágulo de fibrina y al FXI. Todas ellas son reacciones de retroalimentación positivas. Sin embargo, la trombina también es capaz de iniciar una de las vías anticoagulantes más potentes: la vía de la proteína C, lo cual reduce la propia formación de trombina (retroalimentación negativa).

La fibrina estabilizada forma un entramado fibrilar tridimensional en el que quedan atrapadas células sanguíneas, lo cual hace todavía más impermeable al coágulo. Además, las hebras de fibrina se fijan muy bien a diferentes células, como las plaquetas, fibroblastos, células musculares lisas y a proteínas adhesivas, lo cual asegura una fijación del coágulo que impide su embolización. La trombina también queda atrapada por el



**Figura 1.** Modelo celular de la coagulación.

coágulo y se mantiene activa, por lo que es muy difícil su inhibición por la antitrombina. De ahí que durante la disolución terapéutica de un coágulo (trombolisis) exista el peligro de que los segmentos de coágulo liberados puedan transportar trombina a otros vasos e iniciar un nuevo evento trombótico.

## INHIBIDORES DE LA COAGULACIÓN

La propia naturaleza de la coagulación sanguínea exige mecanismos de control que eviten su propagación y extensión de un modo incontrolado por todo el árbol vascular. Se han descrito tres mecanismos principales de control de la coagulación:

1. El *flujo sanguíneo*, encargado de dispersar la mayor parte de los enzimas generados durante la cascada de la coagulación, limitando su propagación más allá del lugar del daño vascular.
2. La necesidad de una *superficie de membrana específica cargada negativamente*, donde se ensamblen las diferentes proteínas de la coagulación a sus receptores anclados a ella o interaccionen con las proteínas que la componen.

3. El mecanismo de la anticoagulación sanguínea, formado por sistemas de *inhibidores específicos de la coagulación*, complementarios y encargados de inactivar a los diferentes enzimas y cofactores activados generados durante la coagulación. Están formados por dos grupos de inhibidores principales (Tabla I):

- Inhibidores que pertenecen al grupo de las *serpinas* (*SERin-Protease-INhibitor*), caracterizadas por inhibir a enzimas proteasas de tipo serina, y cuyos componentes tienen una alta homología estructural y un mecanismo similar de acción (9,10). Tras su unión al enzima, se forma un complejo enzima-inhibidor en el que el inhibidor es irreversiblemente inactivado, y el enzima queda atrapado por él, aunque retiene completamente su actividad. La eficiencia de la inhibición del enzima por la serpina es relativamente baja, uniéndose diferentes cofactores para acelerar y favorecer la formación de complejos estables. Tal es el caso de la heparina, que es capaz de estimular a algunas de las serpinas para favorecer y acelerar la vía de formación de estos complejos.
- Resto de inhibidores de la coagulación que actúan mediante otros mecanismos más complejos.

**Tabla I**  
**Sistemas anticoagulantes naturales**

Inhibidores específicos de la coagulación	
<i>Tipo serpinas</i>	<i>Otros</i>
Antitrombina (AT)	$\alpha$ 2-macroglobulina ( $\alpha$ 2M)
$\alpha$ 1-antitripsina ( $\alpha$ 1AT)	Inhibidor de la vía del FT (TFPI)
$\alpha$ 2-antiplasmina	Sistema de la proteína C (PC)
Inhibidor de la proteína C (PCI)	
Inhibidor del activador del plasminógeno (PAI-I)	
C1-Inhibidor	
Cofactor II de la heparina	

FT: factor tisular.

A continuación detallaremos el mecanismo de acción de los principales inhibidores de la coagulación, siendo el mecanismo de defensa más importante y efectivo en la regulación del proceso de la coagulación sanguínea el formado por la antitrombina (AT), el sistema de la proteína C (PC) y el inhibidor de la vía del FT (TFPI) (11,12), ya que niveles disminuidos o deficiencias totales de AT, PC y su cofactor proteína S dan lugar a graves cuadros trombóticos (13).

## Antitrombina

La antitrombina (AT) es capaz de inhibir a la mayor parte de los factores de la coagulación activados (14). Su principal diana es la trombina, pero también inhibe a los factores IXa, IXa, XIa y XIIa. *In vivo* su actividad inhibitoria es baja, pero se estimula considerablemente en presencia de *glicosaminoglicanos*, presentes en la superficie de las células endoteliales, y por *heparinas*, tanto las no fraccionadas como las de bajo peso molecular (HBPM). Su unión a la AT induce un cambio conformacional en la molécula, exponiendo su centro activo, de forma que incrementa miles de veces su actividad inhibitoria. En el caso de la heparina, la longitud de la molécula es determinante en la inactivación del FXa y de la trombina por la AT, puesto que la heparina también debe interaccionar con estos sustratos. Mientras que la longitud de la cadena de heparina necesaria para la inactivación del FXa es pequeña, para la inactivación de la trombina se requieren moléculas de heparina más largas. Esto explica que, mientras que la heparina no fraccionada posee similar actividad frente al FXa y la trombina, la HBPM puede catalizar eficientemente la inhibición del FXa, pero no es lo suficientemente larga como para interaccionar con la molécula de trombina y potenciar su inhibición de manera efectiva.

## Vía de la proteína C

La vía de la proteína C (PC) es un mecanismo más complejo que inhibe la formación de trombina (15). La PC es un zimógeno inactivo vitamina K dependiente, precursor de la serinproteasa PC activada (APC). Su activación tiene lugar en solución por acción de la trombina, si bien esta activación es muy lenta. Así, la activación de la PC *in vivo* ocurre sobre la superficie de la célula endotelial, donde la PC se une a su receptor endotelial específico (EPCR), mientras que la trombina se une al suyo, la trombomodulina. Este complejo cuaternario acelera potentemente la activación de la PC, cosa que no es capaz de hacer la trombina en solución. Una vez generada, la APC se disocia del EPCR y se une a su cofactor; la proteína S (ProS), una segunda proteína vitamina K dependiente localizada en la circulación y la superficie de plaquetas. El complejo APC-ProS inhibe, por degradación proteolítica, a los factores de la coagulación FVa y FVIIIa, reduciendo drásticamente la formación de trombina. La ProS circula en plasma en forma libre o acomplexada con un componente regulador del sistema del complemento (C4bBP). Solo la forma libre es capaz de actuar como cofactor de la función anticoagulante de la APC, si bien se ha descrito que la ProS también tiene actividad anticoagulante independiente de la APC. En menor medida, la PC puede ser activada por el FXa y la plasmina. El sistema de la PC también participa en otras funciones biológicas importantes además de la anticoagulante, cuando la APC permanece unida al EPCR y vía PAR-1 expresa funciones citoprotectoras (antiinflamatorias, antiapoptóticas y neuroprotectoras).

Además, cabe destacar que la actividad anticoagulante de la APC está regulada por dos inhibidores de la coagulación principales la  $\alpha$ 1-AT y el PCI (16) y, en caso de consumo o inactivación del PCI, también está regulada por la  $\alpha$ 2-M. También, y de forma indirecta, está regulada por el C4b-BP, que se comporta como un inhibidor de la ProS. La unión del C4b-BP es reversible, y puede desplazarse hacia la formación del complejo si aumenta la concentración del C4b-BP, algo que ocurre a menudo al ser una proteína reactante de fase aguda. Por otra parte, la trombina unida a su receptor es fácilmente inactivada por la AT, quedando el complejo trombina-AT rápidamente disociado de la trombomodulina (TM).

## Inhibidor de la vía del FT

El inhibidor de la vía del FT (TFPI) también conocido como inhibidor de la vía extrínseca (EPI) o como inhibidor de la coagulación asociado a lipoproteína (LACI) inhibe al FXa y al FVIIa acomplexado con el FT, a través de un mecanismo de acción completamente diferente al de los demás inhibidores

de la coagulación (17). El TFPI es un inhibidor de tipo Kunitz, compuesto de dos centros activos, que permite unirse a dos enzimas simultáneamente. El mecanismo de inhibición del FVIIa por el TFPI es algo complicado. Parece ser que el TFPI debe unirse primero al FXa para poder inhibir al FVIIa que se encuentra unido al FT. De esta manera se evita que el TFPI intervenga en las primeras etapas de la coagulación, permitiendo la generación de una cierta cantidad de FVIIa. El papel del FXa en esta reacción no está muy claro pero parece que, al unirse al TFPI, induce un cambio conformacional en el segundo centro activo que le permite reaccionar con el complejo VIIa-FT. El TFPI se encuentra en la circulación en tres formas moleculares diferentes: la mayor parte se encuentra asociado a lipoproteínas como el LDL y VLDL, mientras que otra parte circula en forma libre. Parte del TFPI se encuentra unido al endotelio vascular a través de glicosaminoglicanos, lo cual puede explicar el aumento en la concentración de TFPI durante la administración de heparina o HBPM, lo que a su vez contribuye al efecto anticoagulante de estas sustancias. Y, además, la heparina tiene la capacidad de estimular la actividad del TFPI.

### $\alpha_1$ -antitripsina

La  $\alpha_1$ -antitripsina ( $\alpha_1$ -AT) es un inhibidor de tipo serpina que inhibe principalmente a los factores XIIa, XIa y calicreína, además de su acción inhibitoria de la actividad anticoagulante de la APC.

### Cofactor II de la heparina

El cofactor II de la heparina (HC II) es un inhibidor homólogo a la AT, pero con diferente especificidad. Requiere concentraciones de heparina más elevadas para su actividad, e inhibe a la trombina pero no al FXa ni al IXa. El dermatán sulfato, otro glicosaminoglicano, también acelera la inactivación de la trombina por el HC II, mientras que no tiene efecto sobre la antitrombina.

### $\alpha_2$ -macroglobulina

La  $\alpha_2$ -macroglobulina ( $\alpha_2$ -M) es un inhibidor de actuación lenta, que inactiva a la mayoría de los enzimas de la coagulación, además de a los enzimas fibrinolíticos. También inactiva otros enzimas leucocitarios, como la elastasa, liberados durante un proceso inflamatorio. De esta forma, evita que estos enzimas degraden a muchos de los factores e inhibidores, como el fibrinógeno, FXIII o AT. Su mecanismo de acción puede compararse al de una jaula, donde el enzima queda atrapado físicamente. La unión del enzima a la molécula del inhibidor produce la rotura de uno o varios enlaces en las subunidades de la molécula del inhibidor,

lo cual produce un cambio conformacional en el inhibidor y el enzima queda atrapado dentro, unido por un enlace covalente. La molécula del enzima permanece funcionalmente activa frente a pequeños sustratos capaces de atravesar los "barrotes de la jaula", pero no así frente a las grandes moléculas proteicas que son sus sustratos fisiológicos.

### C1-inhibidor

El C1-inhibidor es un componente del sistema del complemento, el cual inhibe a algunos de los enzimas de la vía intrínseca de la coagulación. Es un inhibidor de tipo serpina, capaz de neutralizar al FXIIa, XIa y la calicreína.

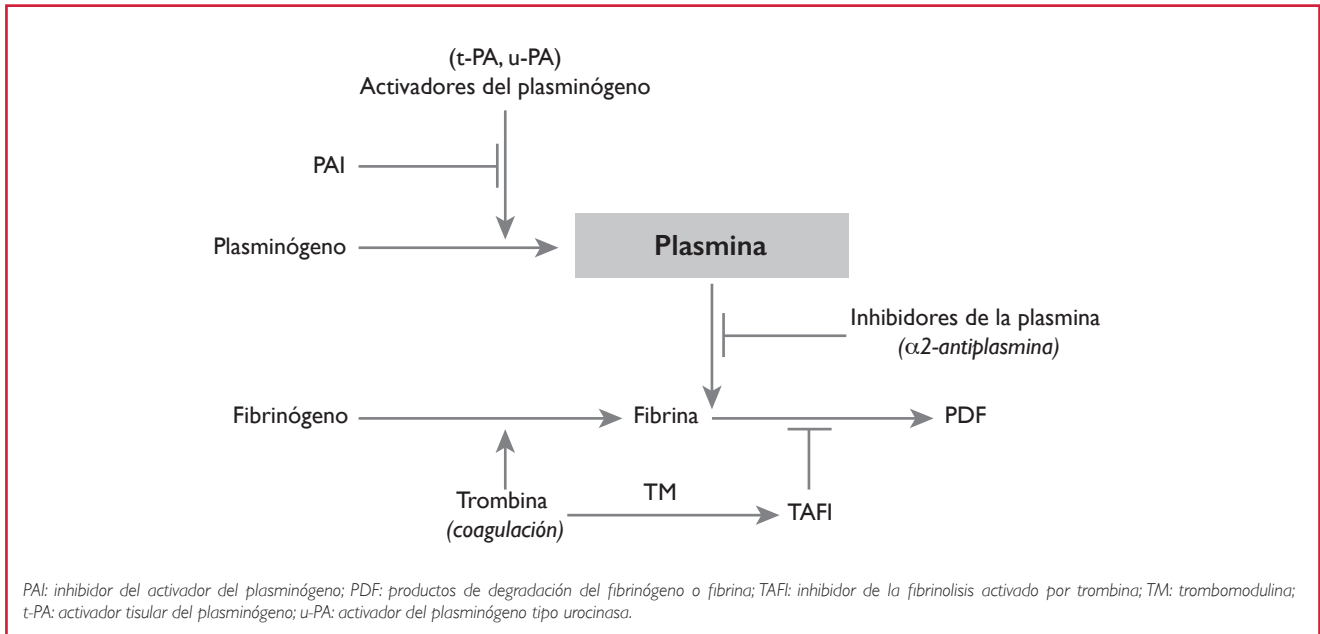
### FIBRINOLISIS

La fibrinólisis, también denominada sistema plasminógeno/plasmina, es un sistema natural de defensa responsable de la disolución de los coágulos sanguíneos y del mantenimiento de la permeabilidad del sistema vascular (18).

La fibrina, derivada de la acción de la trombina sobre el fibrinógeno es el producto final del mecanismo de la coagulación para favorecer la hemostasia en el lugar apropiado y en el momento preciso, previniendo así la aparición de hemorragias. Una vez que la fibrina ha cumplido su función debe ser degradada por el sistema fibrinolítico, que se activa para formar la plasmina, que es el enzima encargado de la degradación de la fibrina. La fibrinólisis es un proceso enzimático ordenado que se desencadena por los activadores del plasminógeno (PA), los cuales convierten el proenzima circulante plasminógeno en la enzima activa plasmina. Se conoce la existencia de dos PA: el activador tisular del plasminógeno (t-PA) y el de tipo urocinasa (u-PA). Este sistema está finamente regulado por la acción de inhibidores de la activación del plasminógeno y de la plasmina (Figura 2).

### Componentes del sistema fibrinolítico

- El plasminógeno es una glicoproteína de cadena simple de 92 KDa cuya concentración plasmática es de 200  $\mu\text{g/ml}$  (1,5  $\mu\text{M}$ ) y su vida media es de 2 días. La proteína contiene cinco estructuras homólogas denominadas "kringles" a cuyo nivel se sitúan los lugares de fijación de la lisina (*lysine binding sites*, LBS) que median sus interacciones específicas con la fibrina, receptores celulares y  $\alpha_2$ -antiplasmina. La activación del plasminógeno se produce por escisión del enlace Arg560-Val561, dando lugar a la plasmina, que contiene la tríada catalítica característica



**Figura 2.** Sistema fibrinolítico.

de las serinproteasas (His602, Asp645 y Ser740). La forma circulante contiene ácido glutámico en posición amino-terminal denominada Glu-plasminógeno, pero es fácilmente convertida por proteólisis a Lys-plasminógeno, con mayor facilidad para disolver la fibrina y mayor avidez por los receptores celulares.

- El t-PA es una serinproteasa de 70 kDa cuya concentración plasmática es de 5 ng/ml y vida media en circulación de 5 minutos. Se produce en forma activa de cadena simple y, por acción de la plasmina, se convierte en el enzima de doble cadena también enzimáticamente activo. El t-PA es un activador débil del plasminógeno, pero su eficiencia catalítica aumenta significativamente en presencia de fibrina formando un complejo ternario.
- El u-PA es una glicoproteína de 54 kDa con una vida media de aproximadamente 15 minutos. Su concentración plasmática es de 2 ng/ml. La urocinasa es producida también como cadena simple (scu-PA) que se activa mediante escisión proteolítica por la plasmina a una enzima de dos cadenas (dscu-PA) o puede convertirse en una molécula de cadena única enzimáticamente activa uniéndose a su receptor celular (uPAR). El u-PA tiene menor afinidad por la fibrina que el t-PA, pero es un activador en presencia y ausencia de esta. A diferencia del t-PA, el u-PA no contiene lugares de unión de la lisina, por lo que no se puede unir directamente a la fibrina. La activación del plasminógeno por u-PA se produce principalmente en la superficie celular por unión a u-PAR.

## INHIBIDORES DE LA FIBRINOLISIS

### Inhibidores de la plasmina

Las acciones de la plasmina se ven reguladas por una familia de inhibidores de serinproteasas, denominadas “serpinas”. Todas ellas tienen un mecanismo de acción común, formando un complejo irreversible entre el centro activo serina de la plasmina y el lugar correspondiente en la serpina, que conlleva su escisión proteolítica y consiguiente pérdida de actividad.

La *alfa2-antiplasmina* ( $\alpha_2$ -AP) es una glicoproteína de síntesis hepática de cadena simple de Pm 70 kDa, que circula en el plasma a una concentración de 0,9  $\mu$ M y tiene una vida media de 2,4 días. Es el principal inhibidor de la plasmina a la que neutraliza rápidamente en la circulación formando un complejo estequiométrico 1:1 irreversible a nivel de los lugares de fijación de la lisina (LBS).

Otros inhibidores de la plasmina son  $\alpha_2$ -macroglobulina, que inhibe la plasmina con menos eficiencia que la  $\alpha_2$ -AP, y la proteasa nexina.

### Inhibidores de los activadores del plasminógeno

- El PAI-I es una glicoproteína de Pm 52 kDa liberada por células endoteliales, monocitos, macrófagos, hepatocitos adipocitos y plaquetas en respuesta a citocinas,



factores de crecimiento y lipoproteínas. Se produce en forma activa y se estabiliza por la formación de un complejo con la vitronectina, un componente presente en el plasma y en la matriz.

Con una vida media de 10 minutos, su concentración en plasma es de 20 ng/ml y es el principal inhibidor fisiológico de t-PA y u-PA. Niveles elevados de PAI-1 se han asociado con trombosis (19), mientras que la deficiencia de PAI-1 conlleva una tendencia hemorrágica moderada (20).

- El PAI-2 es también un inhibidor t-PA y u-PA de origen placentario, pero menos efectivo contra el t-PA de cadena única y no inhibe scu-PA. Se observan niveles elevados de PAI-2 en plasma durante la gestación (21).
- El TAFI (inhibidor de la fibrinólisis activado por trombina) es una carboxipeptidasa con especificidad por residuos de lisina carboxiterminales que actúa como un potente inhibidor fibrinolítico. Es activado por trombina/trombomodulina y plasmina, con una vida media de 8-16 minutos y un peso molecular de 60 kDa. El TAFI inhibe la fibrinólisis al remover lisinas carboxiterminales en la fibrina parcialmente degradada por plasmina, de forma que impide la correcta activación del plasminógeno al eliminar los lugares de unión específicos (LBS). Además, inhibe la conversión del Glu-plasminógeno a Lys-plasminógeno y reduce la inhibición de la plasmina por la  $\alpha_2$ -AP. El TAFI también elimina los residuos de lisina carboxiterminales de los receptores celulares del plasminógeno e inhibe los procesos de migración *in vivo* y angiogénesis *in vitro* (22).

## Mecanismo molecular de la fibrinólisis fisiológica

En presencia de fibrina, el t-PA y el plasminógeno se adsorben a su superficie con formación de un complejo ternario, lo que facilita su degradación sin interferencia de los inhibidores, al estar ocupados los LBS en la molécula de plasminógeno. La plasmina libre, una vez degradada la fibrina, será eficazmente neutralizada por la  $\alpha_2$ -AP.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Jin RC, Voetsch B, Loscalzo J. Endogenous mechanisms of inhibition of platelet function. *Microcirculation* 2005;12:247-58.
2. Aird WC. Vascular bed-specific thrombosis. *J Thromb Haemost* 2007;5(Suppl 1):283-91.
3. Bauer KA, Mannucci PM, Gringeri A, Tradati F, Barzegar S, Kass BL, et al. Factor IXa-factor VIIIa-cell surface complex does not contribute to the basal activation of the coagulation mechanism *in vivo*. *Blood* 1992;79:2039-47.
4. Drake TA, Morrissey JH, Edgington TS. Selective cellular expression of tissue factor in human tissues. Implications for disorders of hemostasis and thrombosis. *Am J Pathol* 1989;134:1087-97.
5. Hoffman M, Whinna HC, Monroe DM. Circulating tissue factor accumulates in thrombi, but not in hemostatic plugs. *J Thromb Haemost* 2006;4:2092-3.
6. Miller GJ, Howarth DJ, Attfield JC, Cooke CJ, Nanjee MN, Olszewski WL, et al. Haemostatic factors in human peripheral afferent lymph. *Thromb Haemost* 2000;83:42732.
7. Hoffman M, Colina CM, McDonald AG, Arepally GM, Pedersen L, Monroe DM, et al. Tissue factor around dermal vessels has bound factor VII in the absence of injury. *J Thromb Haemost* 2007;5:1403-8.
8. Gui T, Lin H, Jin D, Hoffman M, Straight DL, Roberts HR, et al. Circulating and binding characteristics of wild-type factor IX and certain Gla domain mutants *in vivo*. *Blood* 2002;100:153-8.
9. Pike RN, Buckle AM, le Bonniec BF, Church FC. Control of the coagulation system by serpins. Getting by with a little help from glycosaminoglycans. *FEBS J* 2005;272:4842-51.
10. Rau JC, Beaulieu LM, Huntington JA, Church FC. Serpins in thrombosis, hemostasis and fibrinolysis. *J Thromb Haemost* 2007;5(Suppl 1):102-15.
11. Colman RW, Schmaier AH. Contact system: a vascular biology modulator with anticoagulant, profibrinolytic, antiadhesive, and proinflammatory attributes. *Blood* 1997;90:3819-43.
12. Girolami A, Cosi E, Ferrari S, Girolami B. Heparin, coumarin, protein C, antithrombin, fibrinolysis and other clotting related resistances: old and new concepts in blood coagulation. *J Thromb Thrombolysis* 2018;45:135-41.
13. Corral J, Vicente V. Inherited thrombophilic conditions. *Hematology* 2012;17(Suppl 1):163-6.
14. Levy JH, Sniecinski RM, Welsby IJ, Levi M. Antithrombin: anti-inflammatory properties and clinical applications. *Thromb Haemost* 2016;115(4):712-28.
15. España F, Medina P, Navarro S, Zorio E, Estellés A, Aznar J. The multifunctional protein C system. *Curr Med Chem Cardiovasc Hematol Agents* 2005;3:119-31.
16. España F, Estellés A, Gilabert J, Andrés C, Aznar J. Inhibidores de la proteína C. *Rev Iberoamer Tromb Hemostas* 1989;2:29-32.
17. Maroney SA, Mast AE. New insights into the biology of tissue factor pathway inhibitor. *J Thromb Haemost* 2015;13(Suppl 1):200-7.
18. Chapin JC, Hajjar KA. Fibrinolysis and the control of blood coagulation. *Blood Rev* 2015;29:17-24.
19. Orbe J, Montes R, Páramo JÁ. The role of PAI-1 in thrombotic events. *Med Clin (Barc)* 1999;113:63-9.
20. Heiman M, Gupta S, Khan SS, Vaughan DE, Shapiro AD. Complete Plasminogen Activator Inhibitor 1 Deficiency. In: Adam MP, et al., editor. *GeneReviews®*. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 2017. pp 1993-2017.
21. Brenner B. Haemostatic changes in pregnancy. *Thromb Res* 2004;114:409-14.
22. Colucci MI, Semeraro N. Thrombin activatable fibrinolysis inhibitor: at the nexus of fibrinolysis and inflammation. *Thromb Res* 2012;129:314-9.