

Nuevas Drogas en Hematología. Pentasacárido.

Cristina R. Falcón, Luis O. Carreras

*Departamento de Medicina. Facultad de Ciencias Médicas.
Universidad Favaloro, Buenos Aires.
Departamento de Investigación de Sanofi-Syntelabo Argentina.
E-mail: carreras@favaloro.edu.ar*

*Fecha de recepción: 16-03-01
Fecha de aprobación: 10-04-01*



**ARTÍCULO DE
REVISIÓN**

HEMATOLOGÍA, Vol. 5 N° 1: 9-14
Enero-Abril, 2001

RESUMEN

Algunas de las desventajas de los fármacos actualmente en uso como anticoagulantes, como la heparina no fraccionada o las heparinas de bajo peso molecular, han impulsado el desarrollo de nuevas drogas. Los inhibidores del factor Xa son un ejemplo de estas nuevas medicaciones. El SR90107A/ORG31540 es un nuevo pentasacárido (PS) que representa la secuencia mínima de la cadena de heparina capaz de unirse a la antitrombina III y potenciar la actividad anti-Xa. Se demostró que el PS ejerce un efecto antitrombótico en varios modelos animales de trombosis arterial y venosa. Los estudios de fase I demostraron que tiene una farmacocinética lineal, una vida media de alrededor de 15 horas y una biodisponibilidad luego de la inyección subcutánea del 100%. Varios autores han señalado que el PS no produce activación plaquetaria ni tiene reactividad cruzada con los anticuerpos inducidos por heparina. Los estudios de fase II comprobaron la eficacia y la seguridad del PS en pacientes sometidos a angioplastia, como adyuvante en la terapéutica trombolítica del infarto agudo de miocardio, en la prevención del tromboembolismo venoso (TEV) en pacientes sometidos a reemplazo total de cadera y en el tratamiento inicial de la trombosis venosa profunda. Un extenso programa de fase III en la profilaxis del TEV en cirugía mayor ortopédica comprobó que el PS produjo una reducción del riesgo relativo del TEV del 50% comparado con enoxaparina.

Palabras clave: Pentasacárido - Inhibidores Anti factor Xa - Tromboembolismo

INTRODUCCIÓN

Hasta hace pocos años, la heparina no fraccionada (HNF) era el anticoagulante de elección para aquellos pacientes en los que se necesitaba una anticoagulación inmediata. Pero, a pesar de ser eficaz, la HNF presenta algunas desventajas. Algunos

de estos problemas son, por ejemplo, la ventana terapéutica estrecha y la relación dosis-respuesta variable en cada paciente que hace necesario un monitoreo de laboratorio estricto.

Con el avance del conocimiento de la fisiología de la coagulación y de los mecanismos de la trombosis en estos últimos años, se han desarrollado nuevos agentes anticoagulantes. Dentro de estos agentes se encuentran los inhibidores indirectos del factor Xa. El factor X es una molécula de gran importancia en la coagulación ya que está ubicado en la vía común donde convergen los sistemas intrínseco y extrínseco. Una molécula de factor Xa genera miles de moléculas de trombina y por lo tanto cumple un papel central en la formación del trombo. La HNF contiene moléculas con actividad antitrombina (anti-IIa) y con actividad anti-Xa en igual proporción. Las heparinas de bajo peso molecular (HBPM) tienen una relación anti-Xa/ anti-IIa de sus moléculas entre 2:1 y 4:1 según el tipo de la misma. El desarrollo de las HBPM confirmó la importancia de la inhibición del factor Xa en el control de la generación de trombina. Las HBPM se obtienen de preparaciones de HNF y son una mezcla heterogénea de mucopolisacáridos cuyo PM varía entre 2000 y 10000.

Mediante el aislamiento de oligosacáridos de heparina se ha demostrado que la secuencia mínima necesaria para unirse a la antitrombina III (ATIII) y lograr la inhibición del Xa es un pentasacárido. Esta secuencia fue posteriormente obtenida por síntesis química^{1,2}. El pentasacárido SR90107A/ORG31540 (PS) pertenece a esta nueva clase de inhibidores del Xa (Figura 1) y es al que nos referiremos cuando mencionemos los ensayos clínicos dado que actualmente se halla en fase III de investigación clínica. Además, se han sintetizado otros

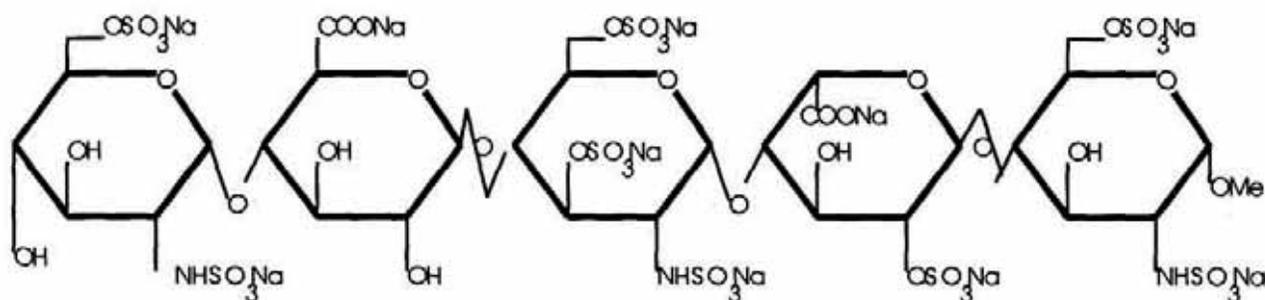


Figura 1. Estructura química del pentasacárido SR90107A/Org31540 (fondaparinux sódico)

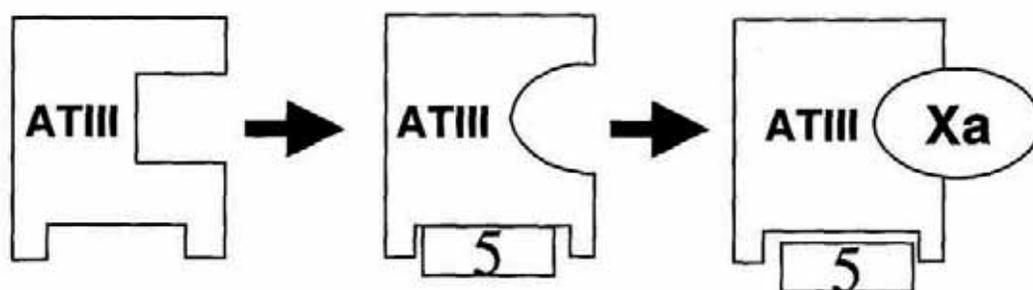


Figura 2. Mecanismo de acción del pentasacárido

pentasacáridos con distintas afinidades por la ATIII y que por lo tanto varían en su vida media³⁻⁵.

MECANISMO DE ACCIÓN

El pentasacárido tiene un mecanismo de acción bien definido. Una molécula de PS se une a una molécula de ATIII a través de un sitio específico de unión e induce un cambio conformacional de la misma que lleva a la inhibición del factor Xa en forma selectiva (Figura 2). Esta modificación de la ATIII hace que la generación de los complejos de ATIII-Xa se incremente en más de 500 veces^{2,6}. Asimismo se ha demostrado que además de su inhibición del factor Xa, el PS potencia la inhibición mediada por ATIII del factor VIIa unido al factor tisular^{7,8}.

La estructura del pentasacárido determina la afinidad por la ATIII y se han sintetizado distintos pentasacáridos que al tener, por ejemplo, grupos metilo o diversos grados de sulfatación de la molécula presentan diferentes afinidades por la ATIII y distintas vidas medias. El SANORG34006 es un ejemplo de un nuevo pentasacárido sulfatado con una vida media de alrededor de 80 horas lo que permitiría su administración una vez por semana⁵.

En concentraciones terapéuticas el PS no prolonga el APTT, el tiempo de protrombina, el tiempo de trombina, el ACT ni el tiempo de sangría. El PS no causa agregación plaquetaria espontánea ni influencia la agregación plaquetaria inducida por diversos agonistas plaquetarios. Diversos autores comprobaron que el PS no interactúa con el Factor Plaquetario 4 ni tiene reactividad cruzada con anticuerpos inducidos por heparina, lo que hace suponer que el PS no inducirá la aparición de trombocitopenia y podría ser utilizado en pacientes con plaquetopenia inducida por heparina⁹⁻¹¹.

Al ser una molécula sintética no conlleva riesgo de contaminación viral o de transmisión de otra enfermedad de origen animal. Tiene una vida media de alrededor de quince horas, no se une al endotelio ni a otras proteínas inespecíficas, por lo que su biodisponibilidad luego de la administración subcutánea es del 100% y la relación dosis-efecto es predecible. La Tabla 1 compara las características de la HNF y las HBPM con respecto al PS.

El PS ha resultado un potente antitrombótico en distintos modelos animales de trombosis venosa y/o arterial¹²⁻¹⁶. Los efectos hemorrágicos fueron también evaluados en estos modelos resultando ser el PS más seguro que la HNF y las HBPM. El PS en dosis

TABLA 1.
COMPARACIÓN DE LAS PROPIEDADES DE LAS HEPARINAS CON RESPECTO AL PENTASACÁRIDO

Características	HNF	HBPM	Pentasacárido SR90107A/ORG31540
PM medio	15000	4500	1728
Origen	Mucosa porcina/ pulmón bovino Heterogéneo	Mucosa porcina/ pulmón bovino Heterogéneo	Sintético Homogéneo
Transmisión de enfermedades animales, virales o de otra naturaleza	???	???	0
Interacción con la agregación plaquetaria	++	+	0
Trombocitopenia inmune	++	+	0
Vida media	Dosis dependiente	4 hs- dos inyecciones por día según la indicación	15-20 hs- una inyección diaria
Actividad farmacológica expresada en:	UI	UI	µg o µmol
Actividad farmacológica/dosis	±	+	+++
Eficacia/concentración plasmática	±	+	+++
Biodisponibilidad subcutánea	Baja	Alta	Casi 100%

diez veces superiores a las que previenen la formación del trombo, no provocó sangrado.

ENSAYOS CLÍNICOS

Los estudios de Fase I conducidos en voluntarios sanos mostraron una cinética lineal tanto en jóvenes como en ancianos¹⁷. El efecto resultó predecible y reproducible. Luego de una inyección diaria los niveles plasmáticos se mantuvieron por 24 horas. El PS no se fija a proteínas ni a ningún órgano, no se metaboliza y se excreta por vía renal. Existe una correlación significativa entre la vida media del PS y el clearance de creatinina¹⁸.

La eficacia y la seguridad del PS han sido evaluadas en estudios de Fase II en diversas patologías.

En un estudio piloto, abierto, no controlado, se evaluó una dosis de 12 mg de PS en bolo IV junto con 500 mg de aspirina en pacientes a los que se les realizó angioplastia¹⁹. Se incluyeron 71 pacientes con historia de angina estable en 45 casos, angina inestable en 7 e infarto de miocardio previo en 19 casos. La inyección en bolo se daba en cinco minutos junto con aspirina y otras medicaciones necesarias, a excepción de heparina, antes de empezar la angioplastia. En diez pacientes se colocaron stents durante el procedimiento por diversos motivos y fueron eliminados del análisis de eficacia. El objetivo primario de evaluación era el cierre abrupto del

vaso y ocurrió en dos pacientes debido a un episodio trombótico en uno de ellos y a una disección en el otro paciente. En ambos casos se logró restaurar la permeabilidad con el uso de tPA y la colocación de un stent. Este porcentaje de cierres abruptos de los vasos fue similar a los reportados en series previas. Con respecto a los objetivos secundarios de evaluación, ningún paciente requirió cirugía de revascularización durante las primeras 48 horas del estudio ni presentó infarto de miocardio. La angiocoronariografía demostró la permeabilidad de los vasos en los 61 pacientes evaluables hasta 24 horas después del procedimiento. El PS inhibió la generación de trombina, evaluada a través de los niveles de F1+2 y de los complejos trombina-antitrombina III, sin modificar el APTT o el ACT.

El estudio PENTALYSE evaluó el PS como adyuvante en la terapéutica trombolítica²⁰. Se incluyeron 333 pacientes con diagnóstico de infarto agudo de miocardio (IAM) que recibieron tPA y aspirina. Los pacientes fueron randomizados a recibir un tratamiento convencional de HNF o PS subcutáneo en una de tres dosis (4, 8 ó 12 mg). El agregado de un pentasacárido sintético al tratamiento estandar fibrinolítico en IAM produjo una proporción similar de flujo TIMI 3 a 90 minutos, cuando fue comparado con la que se obtuvo con HNF. Hubo una tendencia hacia un mayor porcentaje de permeabilidad en el día 6 en el grupo tratado con PS (HNF: 79%, PS 4

mg: 82%, PS 8 mg: 85%, PS 12 mg: 90%). Asimismo, hubo una tendencia hacia un menor número de revascularizaciones de urgencia en el grupo de PS. Por otro lado, los datos de seguridad de PS fueron alentadores con una tendencia hacia una menor necesidad de transfusiones (PS 3.3% vs HNF 7.1%). También hubo una tendencia hacia una menor incidencia de reoclusiones y revascularizaciones con el PS.

Otro estudio de fase II, denominado REMBRANDT, fue diseñado con el fin de evaluar la dosis de PS a ser utilizada en el tratamiento del tromboembolismo venoso²¹. Los pacientes con diagnóstico de trombosis venosa profunda aguda sintomática fueron randomizados a recibir una de tres dosis de PS subcutáneo (5, 7.5 ó 10 mg/día) o dalteparina 100 UI/kg por vía subcutáneo cada 12 horas. El objetivo primario fue la evaluación del cambio de masa del trombo evaluado por ultrasonografía del miembro inferior afectado y en combinación con el centellograma perfusión de pulmón realizados al momento del diagnóstico y a los siete días. Todos los pacientes fueron seguidos durante doce semanas con el fin de registrar si experimentaron signos o síntomas de tromboembolismo venoso y/o episodios de sangrado. Se incluyeron 456 pacientes entre 50-100 kg de peso en este estudio. Los resultados obtenidos en cuanto al objetivo primario no fueron significativamente diferentes entre los distintos grupos. Hubo un menor número de recurrencias de tromboembolismo venoso en el grupo de PS (2.4% vs 5.0% con dalteparina) pero la diferencia no alcanzó significación estadística. De acuerdo a los resultados de este estudio el PS es un tratamiento seguro y efectivo en pacientes con trombosis venosa profunda y merece ser evaluado en estudios de fase III.

Por otra parte, en un estudio doble ciego se evaluó la eficacia y la seguridad del uso de distintas dosis de PS en la profilaxis del tromboembolismo venoso en pacientes a los que se les realizaba reemplazo total de cadera y se lo comparó con la administración post-operatoria de enoxaparina 30 mg subcutánea cada 12 horas²². Los pacientes fueron randomizados a recibir una de cinco dosis de PS subcutáneo en el post-operatorio (0.75, 1.5, 3.0, 6.0 u 8.0 mg) o enoxaparina. La incidencia de tromboembolismo venoso fue de 11.8%, 6.7% y 1.7% para los grupos de 0.75, 1.5 y 3 mg/día de PS, lo que demuestra una relación dosis-efecto. El número de eventos venosos en el grupo de 3 mg/día de PS fue menor con respecto al que se produjo en la rama con enoxaparina (1.7% con PS vs 9% con enoxaparina, p=0.01). Las ramas de 6.0 mg y de 8.0 mg de PS fueron interrumpidas prematuramente debido a una incidencia mayor de sangrado con respecto a los otros grupos. El porcentaje de sangrado mayor fue

de 4.5% en la rama de 3 mg/d de PS y de 3.5% en la rama de enoxaparina. Esta diferencia no fue estadísticamente significativa. En base a estas conclusiones se eligió la dosis a ser utilizada en los estudios de fase III de profilaxis de tromboembolismo venoso.

Los resultados de un grupo de estudios de fase III en profilaxis de tromboembolismo venoso en cirugía ortopédica mayor fueron presentados recientemente. Este programa abarcó 7344 pacientes que fueron sometidos a cirugía de cadera o a cirugía mayor de rodilla. El programa comprendió cuatro estudios: PENTHIFRA²³, EPHEBUS²⁴, PENTATHLON 2000²⁵ y PENTAMAKS²⁶. En todos estos estudios se comparó una dosis de 2.5 mg/ día subcutánea de PS iniciada en el post-operatorio con enoxaparina. El régimen utilizado de enoxaparina fue el estándar en Europa (40 mg/día subcutánea, iniciado en el pre-operatorio) para los estudios PENTHIFRA y EPHEBUS, y el estándar en USA (30 mg cada doce horas subcutánea, iniciado en el post-operatorio) para los estudios PENTATHLON 2000 y PENTAMAKS. En el estudio PENTHIFRA se incluyeron pacientes en los que se realizó cirugía de cadera debido a fractura de la misma y los estudios EPHEBUS y PENTATHLON 2000 evaluaron pacientes en los que se realizaba reemplazo total electivo de cadera. Por otra parte, el estudio PENTAMAKS incluyó pacientes en los que se realizó cirugía mayor de rodilla. Todos los pacientes fueron tratados durante nueve días o hasta la realización al alta de la flebografía bilateral que se realizaba luego del día cinco. El análisis primario de eficacia se basó en la comparación de la prevalencia de tromboembolismo venoso hasta el día once documentado por la flebografía mandatoria u otra prueba diagnóstica validada en caso de un episodio sintomático. La adjudicación fue realizada por un Comité central, independiente y ciego. Los resultados preliminares de este programa global en cirugía ortopédica muestran que el PS produce una reducción del riesgo relativo de tromboembolismo venoso del 50% con respecto a enoxaparina.

Otros estudios de fase III se están llevando a cabo actualmente para evaluar la eficacia y la seguridad del PS en el tratamiento inicial de la trombosis venosa profunda y en el tromboembolismo agudo de pulmón.

CONCLUSIÓN

Podemos concluir que el PS es un antitrombótico de mucho interés dado que es una molécula de mecanismo de acción bien definido, vida media prolongada, y excelente biodisponibilidad subcutánea.

Además, el hecho de ser una molécula sintética asegura la consistencia entre distintos lotes y evita el riesgo potencial de contaminación de cualquier enfermedad animal. Ha demostrado ser un antitrombótico potente en modelos animales y producir una inhibición de la generación de trombina que está relacionada con la dosis utilizada. Los estudios de fase II han comprobado que la relación eficacia/seguridad es adecuada para continuar con el desarrollo del PS. Más aún, los primeros estudios de fase III en profilaxis de tromboembolismo venoso en cirugía ortopédica confirmaron que la eficacia del PS es superior a la de la HBPM.

Actualmente se están desarrollando otros estudios de Fase III en otras patologías y por lo tanto se podrán sacar conclusiones definitivas con respecto al beneficio del uso de este nuevo agente antitrombótico en un breve plazo.

SUMMARY

The disadvantages of current anticoagulant drugs, such as unfractionated heparin, have led to the development of new potential alternatives. The inhibitors of factor Xa are some of these new drugs. SR90107A/ORG31540 is a new synthetic pentasaccharide (PS) representing the minimal sequence of the heparin chain that interacts with antithrombin III (ATIII) and potentiates the inhibition of the factor Xa. It has been demonstrated that the PS exerts an anti-thrombotic effect on various animal models of venous and arterial thrombosis. Phase I studies have shown that PS has a linear pharmacokinetics, a half-life of approximately 15 hours and a bioavailability after subcutaneous injection of 100%. Several authors have demonstrated that PS does not induce platelet activation and does not cross-react with heparin-induced thrombocytopenia antibodies. Phase II studies have proven the efficacy and safety of PS in patients undergoing angioplasty, as an adjunct to thrombolytic therapy for acute myocardial infarction, in the prevention of venous thromboembolism (VTE) in patients undergoing total hip replacement and in the treatment of acute deep venous thrombosis. A large phase III program for the prophylaxis of VTE in major orthopedic surgery has shown an overall reduction of the relative risk of VTE of 50% over enoxaparin.

Key words: Pentasaccharide, Anti-factor Xa inhibitors, Thromboembolism.

REFERENCIAS

- Sinay P, Jacquinet JE, Petitou M, Duchaussoy P, Lederman I, Choay J, Torri G. Total synthesis of a heparin pentasaccharide fragment having high affinity for antithrombin III. *Carbohydr Res* 1984; 132: C5-C9.
- Walenga JM, Jeske WP, Bara L, Samama MM, Fareed J. Biochemical and pharmacologic rationale for the development of a synthetic heparin pentasaccharide. *Thromb Res* 1997; 86: 1-36.
- van Amsterdam RGM, Vogel GMT, Visser A, Kop WJ, Buiting MT, Meuleman DG. Synthetic analogues of the antithrombin III-binding pentasaccharide sequence of heparin. Prediction of in vivo residence times. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995; 15: 495-503.
- Lormeau JC, Hérault JP, Gaich C, Barzu T, van Dinther TG, Visser A, Herbert JM. Determination of the anti-factor Xa activity of the synthetic pentasaccharide SR90107A/ORG31540 and two structural analogues. *Thromb Res* 1997; 85: 67-75.
- Herbert JM, Hérault JP, Bernat A, van Amsterdam RGM, Lormeau JC, Petitou M, van Boeckel C, Hoffmann P, Meuleman DG. Biochemical and pharmacological properties of SANORG 34006, a potent and long-acting synthetic pentasaccharide. *Blood* 1998; 91: 4197-4205.
- Béguin S, Choay J, Hemker HC. The action of a synthetic pentasaccharide on thrombin generation in whole plasma. *Thromb Haemostas* 1989; 61: 397-401.
- Lormeau JC, Hérault JP. Comparative inhibition of extrinsic and intrinsic thrombin generation by standard heparin, a low molecular weight heparin and the synthetic ATIII-binding pentasaccharide. *Thromb Haemost* 1993; 69: 152-156.
- Lormeau JC, Hérault JP, Herbert JM. Antithrombin-mediated inhibition of factor VIIa-tissue factor complex by the synthetic pentasaccharide representing the heparin binding site to antithrombin. *Thromb Haemost* 1996; 76: 5-8.
- Elalamy I, Lecrubier C, Potevin F, Abdelouahed M, Bara L, Marie JP, Samama M. Absence of in vitro cross-reaction of pentasaccharide with the plasma heparin dependent factor of twenty-five patients with heparin-associated thrombocytopenia. *Thromb Haemost* 1995; 74: 886-892.
- Amiral J, Lormeau JC, Marfaing-Koka A, Vissac AM, Wolf M, Boyer-Neumann C, Tardy B, Herbert JM, Meyer D. Absence of cross-reactivity of SR90107A/ORG31540 pentasaccharide with antibodies to heparin-PF4 complexes developed in heparin-induced thrombocytopenia. *Blood Coagulation and Fibrinolysis* 1997; 8: 114-7.
- Ahmad S, Jeske WP, Walenga JM, Hoppensteadt DA, Wood JJ, Herbert JM, Messmore HL, Fareed J. Synthetic pentasaccharides do not cause platelet activation by antiheparin-platelet factor 4 antibodies. *Clin Appl Thrombosis Hemostasis* 1999; 5: 259-266.
- Hobbelen PMJ, van Dinther TG, Vogel GMT, van Boeckel CAA, Moelker HCT, Meuleman DG. Pharmacological profile of the chemically synthesized antithrombin III binding fragment of heparin (pentasaccharide) in rats. *Thromb Haemost* 1990; 63: 265-270.
- Amar J, Caranobe C, Sie P, Boneu B. Antithrombotic potencies of heparins in relation to their antifactor Xa and antithrombin activities: an experimental study in two models of thrombosis. *B J Haematology* 1990; 76: 94-100.
- Vogel GMT, van Amsterdam RGM, Kop WJ, Meuleman DG. Pentasaccharide and Orgaran® arrest, whereas heparin delays thrombus formation in a rat arteriovenous shunt. *Thromb Haemost* 1993; 69: 29-34.
- Bernat A, Hoffmann P, Sainte-Marie M, Herbert JM. The synthetic pentasaccharide SR90107A/Org31540 enhances tissue-type plasminogen activator-induced thrombolysis in rabbits. *Fibrinolysis* 1996; 10: 151-157.
- Hoppensteadt DA, Jeske WP, Walenga JM, Fu K, Yang LH, Ing TS, Herbert JM, Fareed J. Laboratory monitoring of pentasaccharide in a dog model of hemodialysis. *Thromb Res* 1999; 96: 115-124.
- Boneu B, Necciari J, Cariou R, Sié P, Gabaig AM, Kieffer G, Dickinson J, Lamond G, Moelker H, Mant T, Magnani H. Pharmacokinetics and tolerance of the natural pentasaccharide (SR90107A/ORG31540) with high affinity to antithrombin III in man. *Thromb Haemost* 1995; 74: 1468-1473.
- Faaij RA, Burggraaf J, Schoemaker HC, Stiekema J, Siegert C, Cohen AF. The influence of renal function on the pharmaco-

- dynamics of the novel antithrombotic agent Org31540/SR90107A. *Br J Clin Pharmacol* 1998; 45: 211P-212P.
19. Vuilleminot A, Schiele F, Meneveau N, Claudel S, Donat F, Fontecave S, Cariou R, Samama MM, Bassand JP. Efficacy of a synthetic pentasaccharide, a pure factor Xa inhibitor, as an antithrombotic agent. A pilot study in the setting of coronary angioplasty. *Thromb Haemost* 1999; 81: 214-20.
 20. Coussement PK. SR90107A/ORG31540, a new synthetic pentasaccharide (SP), as adjunct to fibrinolysis in ST-elevation acute myocardial infarction (AMI): the PENTALYSE study. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36: 317-318.
 21. The Rembrandt Investigators. Treatment of proximal deep vein thrombosis with a novel synthetic compound (SR90107A/ORG31540) with pure anti-factor Xa activity. A Phase II evaluation. *Circulation* 2000; 102: 2726-2731.
 22. Turpie AGG, Gallus AS, Hoek JA. A synthetic pentasaccharide for the prevention of deep-vein thrombosis after total hip replacement. *N Engl J Med* 2001; 344: 619-625.
 23. Eriksson B. The penthifra study: comparison of the first synthetic factor Xa inhibitor with low molecular weight heparin the prevention of venous thromboembolism (VTE) after hip fracture surgery. *Blood* 2000; 96: 490 A.
 24. Lassen MR. The ephesus study: comparison of the first synthetic factor Xa inhibitor with low molecular weight heparin the prevention of venous thromboembolism (VTE) after elective hip replacement surgery. *Blood* 2000; 96: 490 A.
 25. Turpie G. The pentathlon 2000 study: comparison of the first synthetic factor Xa inhibitor with low molecular weight heparin the prevention of venous thromboembolism (VTE) after elective hip replacement surgery. *Blood* 2000; 96: 491 A.
 26. Bauer K, Israel B. The pentamaks study: comparison of the first synthetic factor Xa inhibitor with low molecular weight heparin the prevention of venous thromboembolism (VTE) after elective major knee surgery. *Blood* 2000; 96: 490 A-491 A.