

**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIQUIMICAS
CARRERA DE BIOQUIMICA**

**DETERMINACION DE LA CONCENTRACION
PLASMATICA DE FIBRINÓGENO EN PACIENTES
QUE PRESENTAN TIEMPO DE PROTROMBINA
ALTERADO Y QUE ACUDIERON AL I. G.B.J.
ENTRE LOS MESES DE AGOSTO A OCTUBRE
DEL 2007**

ELABORADO POR:

GRACIELA MARY VARGAS RODRIGUEZ

TUTOR:

Dr. ENRIQUE RODRIGUEZ Q.

**TESINA PARA OPTAR EL
TITULO DE LICENCIATURA EN BIOQUIMICA**

LA PAZ – BOLIVIA

DEDICATORIA

A mí Señor Dios por regalarme vida, fortaleza para luchar e iluminar mi camino.

A mis papás Fátima y José por apoyarme siempre y darme la oportunidad de estudiar y ser mejor persona cada día.

A mi tía Irma y toda la familia por regalarme su cariño.

A mi amor Alvaro por creer en mí y estar a mi lado en los buenos y malos momentos.

Gracias a todos por ser mi motivo de vida y regalarme mucho amor...

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Mayor de San Andrés, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas, a todos mis docentes que aportaron con sus conocimientos en mi formación profesional.

A la Dra. Giovanna Dorigo por ser mi modelo de vida a seguir y al Dr. Enrique Rodríguez por brindarme la oportunidad de realizar mi trabajo de investigación.

Al Instituto de Gastroenterología Boliviano Japonés por otorgarme los medios necesarios para estudiar y realizar mi trabajo de investigación.

TABLA DE CONTENIDO

I. RESUMEN	2
II. INTRODUCCIÓN	3
III. JUSTIFICACION	5
IV. OBJETIVOS	6
1. Objetivo General	6
2. Objetivos Específicos	6
V. DISEÑO TEORICO	6
A) Marco Conceptual	6
1. Fibrinógeno. Características Moleculares Funciones Fisiológicas	6
2. Proteínas de Fase Aguda	8
a. Síntesis y Regulación	8
b. Significado y Función Biológica	9
c. Fibrinógeno e Inflamación	9
3. Fibrinógeno y Coagulación Sanguínea	10
a. Alteraciones de la Hemostasia en las Enfermedades Hepáticas	10

4. Determinantes de los niveles plasmáticos de Fibrinógeno	12
a. Influencias Genéticas	12
b. Influencias Extrínsecas	12
i. Género	12
ii. Edad	13
iii. Índice De Masa Corporal	13
iv. Síndrome Metabólico	13
v. Vitamina C e Infección	13
vi. Estado Hormona	13
vii. Tabaquismo	14
5. Hemostasia, Coagulación y Protrombina	14
a. Hemostasia y Fases de la Coagulación	14
b. Coagulación y Fibrinógeno	15
c. Tiempo de Protrombina (TP) e Hígado	17
B) Marco Referencial	17
VI. DISEÑO METODOLÓGICO	18
A) Descripción de la Población de Estudio	18
B) Descripción del Ámbito de Estudio	19
C) Descripción del Ambiente de Estudio	19

D) Población en Estudio	20
E) Métodos, Materiales, Técnicas y Procedimientos	20
a. Obtención de la Muestra	20
b. Determinación de Fibrinógeno	21
i. Técnica Automática	21
ii. Fundamento	22
iii. Principio Del Método	22
iv. Procedimiento	22
v. Valores de Referencia	23
c. Determinación de Tiempo de Protrombina	23
i. Técnica Automática	23
ii. Fundamento	24
iii. Procedimiento	24
iv. Valores De Referencia	25
VII. RESULTADOS	26
VIII. CONCLUSIONES	37
IX. DISCUSION	38
X. BIBLIOGRAFIA	39
XI. ANEXOS	

I. RESUMEN

El presente trabajo tuvo como finalidad determinar la concentración plasmática de Fibrinógeno en pacientes que presentaron un tiempo de Protrombina alterado; para ello se tomó como población en estudio a pacientes mujeres y varones comprendidos entre las edades de 20 a 50 años provenientes de consulta externa e interna y que acudieron al Laboratorio Clínico del Instituto de Gastroenterología Boliviano - Japonés.

Se llevó a cabo dicho estudio y se encontró que el 43% de la población presentaban Tiempo y Actividad de Protrombina alterada y al mismo tiempo Concentración de Fibrinógeno disminuida y el 41% presentó valores normales de ambos parámetros evaluados.

Según los resultados hallados la determinación de la concentración de Fibrinógeno plasmático en el laboratorio se constituye en una prueba de apoyo al perfil hepático y de esta manera al diagnóstico clínico de enfermedades de etiología hepática.

II. INTRODUCCION

El Fibrinógeno es una glicoproteína heterogénea de síntesis hepática exclusiva; es reconocido como componente fundamental en el estadio final de la cascada de la coagulación en respuesta a una injuria vascular o tisular, sirviendo como sustrato cuando por la acción de la trombina produce los fragmentos solubles de fibrina, principales componentes de trombo hemostático.

La vía final común de la cascada de la coagulación involucra la activación de factores X y Xa con la subsecuente activación de protrombina a trombina. Esta es una proteasa que facilita el clivaje de Fibrinógeno a monómeros de fibrina, que se unen para formar polímeros. El factor XIII activado facilita la unión de estos polímeros para formar un coágulo estable de fibrina. El Fibrinógeno también participa de la vía final común de agregación plaquetaria.

La conversión del Fibrinógeno, facilitada por la Trombina, lleva, en realidad, a la síntesis de una Fibrina inestable; la estructura definitiva de esa proteína se consigue mediante la intervención del factor XIII, que promueve la formación de enlaces covalentes y el logro de una mayor estabilidad química y conformacional de las moléculas. Por efecto de diversas proteínas contenidas en las plaquetas (trombosteninas), el coágulo se compacta y se contrae. La red de Fibrina se vuelve más espesa y retiene de modo más estable los elementos corpusculares de la sangre.

El Fibrinógeno puede presentar alteraciones cuantitativas y cualitativas. Las alteraciones cualitativas de esta molécula pueden alterar las pruebas globales de coagulación: habitualmente el Tiempo de Protrombina resulta prolongado en las Disfibrinogemias. (1)

(1) Grupo Cooperativo Argentino de Hemostasia Trombosis. FUNDAMENTOS PARA EL MANEJO PRÁCTICO EN EL LABORATORIO DE HEMOSTASIA. Bnos. Aires. Arg. 185-186.2000

Las alteraciones adquiridas más frecuentes se presentan en hepatopatías es por eso que cuando hay disminución plasmática en la concentración de Fibrinógeno a consecuencia de la deficiente función del hígado, habrá prolongación en la formación del coagulo y también la prolongación del Tiempo de protrombina.

Esta molécula tiene la función de reactante de fase aguda, cuya concentración plasmática está aumentada en procesos inflamatorios, infecciosos, cirugías, sepsis, cáncer, aterosclerosis, síndrome metabólico, etc.

Los niveles de Fibrinógeno aumentan con la edad, masa corporal, embarazo, tabaquismo, stress y con el uso de anticonceptivos orales.

Se cree que su síntesis se incrementa mediante un mecanismo de retroalimentación mediado por sus productos de degradación, así como a través de citoquinas (interleukina) producidas por macrófagos activados. (1)

(1) Grupo Cooperativo Argentino de Hemostasia Trombosis. FUNDAMENTOS PARA EL MANEJO PRÁCTICO EN EL LABORATORIO DE HEMOSTASIA. Bnos. Aires. Arg. 185-186.2000

III. JUSTIFICACIÓN

El presente estudio fue enfocado a la comparación de valores de Tiempo de Protrombina versus Concentración de Fibrinógeno con el objetivo de establecer si la alteración en la concentración o actividad de alguna de estas moléculas modifica la función de la otra.

El Fibrinógeno, también conocido como factor I, es una proteína sanguínea producida por el hígado, la cual desempeña un papel importante en la coagulación de la sangre. Cuando el Fibrinógeno no funciona adecuadamente o cuando se encuentra ausente o en concentraciones muy bajas, se dificulta la formación de un coágulo sanguíneo.

Además de constituirse en una molécula de síntesis hepática exclusiva su determinación cuantitativa en el laboratorio nos permitirá evaluar el estado fisiológico de dicho órgano vital y por ende coadyuvar al diagnóstico médico y por ende ratificar que el Fibrinógeno es una molécula importante e imprescindible en la cascada de coagulación y determinante en el fenómeno del Tiempo de Protrombina. Es así que la aplicación e introducción de un método de esta naturaleza al trabajo diario del laboratorio se constituye en un andamio más para la evaluación clínica y laboratorial del paciente.

Así también la Protrombina al formar parte fundamental de la Cascada de Coagulación y tener una estrecha relación de función con el Fibrinógeno ambas pruebas que evalúan las funciones de estas proteínas están estrechamente ligadas es por eso que existe la necesidad científica de estudiarlas, compararlas y hallar el grado en que ambas se correlacionan y complementan.

IV. OBJETIVOS

1. Objetivo General.

- Determinar la concentración plasmática de Fibrinógeno en pacientes que presentan Tiempo de Protrombina alterado y que acudieron al I.G.B.J. entre los meses de Agosto a Octubre de 2007.

2. Objetivos Específicos.

- Correlacionar la concentración plasmática de Fibrinógeno y las alteraciones del Tiempo de Protrombina.
- Determinar la importancia clínica y laboratorial de la determinación de Fibrinógeno de acuerdo a la patología de predominio del paciente.

V. DISEÑO TEORICO

A) Marco Conceptual

1. Fibrinógeno. Características Moleculares y Funciones Fisiológicas.

El Fibrinógeno es una glucoproteína de elevado peso molecular, compuesta por tres pares de cadenas polipeptídicas. Se sintetiza en el hígado y tiene una vida media de unas 100 horas durante las cuales se degrada lentamente en dímeros, perdiendo peso molecular y potencial aterogénico. Se presenta en forma soluble y por acción de la trombina se transforma en fibrina insoluble, siendo esta transformación el principal rol del Fibrinógeno en el proceso de la coagulación. El nivel plasmático aceptable en la población se ubica entre 150 y 450 mg/dL. (2)

(2) Dr. Carlos A. Paterno. 25 de Mayo 284. 1638 Vicente López, Prov. de Buenos Aires. Argentina. PREVENCIÓN CARDIOVASCULAR Rev. Fed. Arg. Cardiol. 29: 515-517, 2000

Tiene un PM de 340.000 D. con estructura química dimérica (constituida por tres pares de cadenas polipeptídicas denominadas alfa, beta y gamma, unidas en su parte central por puentes disulfuro). (3)

Su catabolismo esta mediado por la plasmina, la cual actúa sobre la molécula del Fibrinógeno y de la fibrina, generando los productos de degradación D y E, estos últimos estimulan en los macrófagos la producción de interleukina-6 y otros factores estimulantes de los hepatocitos que traen como consecuencia un incremento en la síntesis de Fibrinógeno (4). Este último mecanismo es importante para la regulación del nivel normal del Fibrinógeno y para las modificaciones en la reacción de fase aguda.

Además de su papel en la trombosis, el Fibrinógeno tiene un número importante de otras funciones que establecen su posible participación en la génesis y progresión de la enfermedad vascular aterosclerótica, incluidos:

- ⊗ Regulación de la proliferación, quimiotaxis y adhesión celular.
- ⊗ Incremento de la vasoconstricción en los sitios de injuria de la pared vascular.
- ⊗ Estimulación de la agregación plaquetaria.
- ⊗ Ejerce una acción determinante en la viscosidad sanguínea.

(3) El fibrinógeno como factor de riesgo cardiovascular. Estado actual de la investigación J. MURCIANO REVERT, J. J. MARTÍNEZ-LAHUERTA, E. ALBERT GINÉS. Rev. med. SEMERGEN. 2006

(4) Baumann H, Richards C, Gauldie J. INTERACTION AMONG HEPATOCYTE-STIMULATING FACTORS, INTERLEUKIN-1 AND GLUCOCORTICOIDS FOR REGULATION OF ACUTE PHASE PLASMA PROTEIN IN HUMAN HEPATOMA CELLS. J Inmunol. 1987; 139: 4122-4128.

2. Proteínas de Fase Aguda.

En el curso de la respuesta inflamatoria se produce en el organismo una alteración importante del equilibrio proteico plasmático. Los reactantes de fase aguda (**RFA**) podrían definirse como un grupo heterogéneo de proteínas plasmáticas cuya concentración se modifica en respuesta al estímulo inflamatorio. Se clasifican en dos grandes grupos: proteínas cuya concentración plasmática es superior al nivel basal o **RFA positivos**, y proteínas cuya concentración plasmática disminuye o **RFA negativos**.

Los principales RFA positivos son la proteína C reactiva (PCR), la Proteína Sérica Amiloide A (SAA), la Haptoglobina, la Alfa-1-glucoproteína ácida u orosomucoide, la Alfa-1-antitripsina, la Antiquimotripsina, la Ceruloplasmina, el **Fibrinógeno** y los factores del complemento. Entre los RFA negativos se encuentran la Albúmina, Prealbúmina, Aapolipoproteína A₁, Transferrina y Fibronectina.

Los reactantes de fase aguda positivos, a su vez, se clasifican en cuatro grandes grupos atendiendo a la magnitud de su elevación, al momento del máximo valor en plasma, a su vida media biológica y al momento de retorno a la normalidad de sus valores. (5)

a. Síntesis y Regulación

La síntesis de los RFA está regulada por varios tipos de sustancias. Las citocinas inflamatorias IL-1, IL-6 y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) y los glucocorticoides estimulan su síntesis, mientras que la insulina y otros factores de crecimiento la inhiben. El mecanismo por el que ejercen esta acción es diferente.

(5) J.E. Losa García 'INFLAMACION Y REACTANTES DE FASE AGUDA. Departamento de Medicina. Universidad de Salamanca. 2006

Las citocinas actúan como estimuladores de la expresión de los genes de los RFA y los glucocorticoides y los factores de crecimiento lo hacen como moduladores de la acción de estas citocinas. Aunque la IL-1, el TNF y la IL-6 actúan sinérgicamente, se considera que ésta es la principal inductora de la síntesis de los RFA. (6)

b. Significado Y Función Biológica

Así pues, la función principal de los RFA es regular la inflamación: poseen capacidad para neutralizar al agente inflamatorio, limitan la progresión de la lesión tisular por su acción depuradora de los desechos celulares y productos tóxicos, y finalmente activan el proceso de reparación. Además muchos de ellos ejercen acción inmunomoduladora. El **Fibrinógeno** forma la matriz de fibrina, que limita la progresión del proceso inflamatorio y sirve para el anclaje de otras sustancias. (7)

En condiciones fisiológicas, su concentración plasmática está sujeta a amplias variaciones, dependientes entre varias posibilidades, de vaivenes en su síntesis hepática y de su tendencia normal a aumentar con el envejecimiento.

c. Fibrinógeno e Inflamación

El proceso inflamatorio es mediado principalmente por su interacción con leucocitos a través de receptores de superficie (integrinas). Los dos principales receptores de **Fibrinógeno** en la superficie de los leucocitos son Mac-1 (CD11b/CD18, a M b 2) y a X b 2 (CD11c/CD18, p150, 95).

(6) - (7) J.E. Losa García INFLAMACION Y REACTANTES DE FASE AGUDA. Departamento de Medicina. Universidad de Salamanca. 2006.

El **Fibrinógeno** también es un ligando de la molécula de adhesión intercelular-1 (MAI-1), y aumenta la interacción entre monocitos y células endoteliales (MAI-1 se comporta como ligando para las integrinas α L β 2 y α M β 2). Además regula en alza y aumenta la concentración de proteínas MAI-1 en la superficie de las células endoteliales, lo que aumenta la adhesión de leucocitos y plaquetas. Al unirse el fibrinógeno a su receptor integrina en la superficie de los leucocitos se facilita la respuesta quimiotáctica.

El **Fibrinógeno** también está involucrado en la facilitación de la interacción entre células y de las células con la matriz extracelular. Finalmente, podría facilitar la respuesta inflamatoria provocada por biomateriales. (8)

3. Fibrinógeno y Coagulación Sanguínea.

La transformación del **Fibrinógeno** en fibrina se debe a la acción de la trombina que libera de la médula del **Fibrinógeno** cuatro péptidos de bajo peso molecular, denominados fibrinopéptidos A y B de las cadenas α y β , respectivamente. La liberación de los fibrinopéptidos ocasiona una redistribución de las densidades de carga eléctrica en la molécula de **Fibrinógeno**, que determina la unión de los monómeros constituyendo polímeros.

La estabilización de la fibrina se realiza por el factor XIII, activado por la trombina, en presencia de calcio. El factor XIII es la única enzima de la coagulación que no es una serinproteasa, sino que su centro activo tiene un residuo cisteína.

Actualmente se ha evidenciado que el acontecimiento clave que inicia *in vivo* el proceso de la coagulación después de la alteración vascular es la exposición de la sangre al factor tisular. Tres complejos enzima-cofactor deben depositarse en la superficie celular para que ocurra la coagulación.

(8) Kamath S y Lip GY. FIBRINÓGENO: BIOQUÍMICA, EPIDEMIOLOGÍA Y DETERMINANTES. Sociedad Iberoamericana de Información Científica (SIIC) 2002 .QJM 96:711-729, 2003

El primer complejo es FVII-TF, que inicia el proceso coagulativo a través de la activación de los factores IX y X. El segundo complejo: FIXa-FVIIIa, sirve como un adicional y esencial activador del FX. Finalmente, un tercer complejo: Fxa-Fva, constituye el único activador de la protrombina que se conoce.

a. Alteraciones de la Hemostasia en las Enfermedades Hepáticas

El hígado desempeña un papel muy importante en el control de la hemostasia, protegiendo tanto de la hemorragia como de la activación innecesaria de la coagulación. Las enfermedades hepáticas son, por lo tanto, con frecuencia responsables de anomalías de la hemostasia. Con la excepción de la colestasis, y en ausencia de una situación especial, como el embarazo, las anomalías son las mismas, sea cual sea la causa que las origine, y su intensidad varía en función del grado de insuficiencia hepatocelular. La disminución en la síntesis hepática de los factores de coagulación, se traduce en un aumento del tiempo de protrombina y por ende aumenta el riesgo de hemorragia cutánea o digestiva. (9)

Disfibrinogenemia. En algunos pacientes con hepatopatía se ha descrito una forma cualitativamente anormal de **Fibrinógeno**. La acción de la trombina sobre éste da lugar a la formación de monómeros de fibrina defectuosos que no pueden polimerizar correctamente. En estos casos el tiempo de trombina está alargado, aunque la cuantificación del **Fibrinógeno** suele ser normal. (10)

(9) Prfeundschuh, M. FISIOPATOLOGIA Y BIOQUIMICA. Harcourt ed. Madrid.Es. 2002. pg.296.

(10) M. García Bengoechea. ALTERACIONES DE LA HEMOSTASIA EN LAS ENFERMEDADES HEPÁTICAS. Emsalt study group. Lancet 2000; 355: 1303-1309.

4. Determinantes de los niveles plasmáticos de Fibrinógeno.

a. Influencias Genéticas

Los niveles de Fibrinógeno podrían estar bajo control genético, ya que al polimorfismo genético le corresponde el 20% al 51% de las variaciones en las concentraciones plasmáticas de Fibrinógeno.

El locus del Fibrinógeno comprende 3 genes en el brazo largo del cromosoma 4q23-q32. La mutación -455G/A en la región promotora del gen del Fibrinógeno b es una de las variaciones genéticas más importantes que se asocian con niveles elevados de Fibrinógeno plasmático.

b. Influencias Extrínsecas

Se vio una relación entre el consumo de tabaco y los niveles plasmáticos de Fibrinógeno, así como una relación inversa con el tiempo de cese del hábito de fumar. El consumo moderado de alcohol puede disminuir las concentraciones.

Los niveles plasmáticos de Fibrinógeno pueden ser modificados a través de cambios en el estilo de vida.

Algunos de los principales factores que influyen en las concentraciones de Fibrinógeno son:

i. Género

Los niveles de Fibrinógeno son superiores en las mujeres de cualquier edad respecto de los hombres.

ii. Edad

Las concentraciones en general aumentan con la edad, probablemente debido a menor tasa de deposición de Fibrinógeno.

iii. Índice de Masa Corporal

Tiene correlación positiva con el Fibrinógeno, al igual que la circunferencia de la cintura, la circunferencia de la cadera, y la tasa entre ambas. La disminución de peso disminuye los niveles de Fibrinógeno plasmático.

iv. Síndrome Metabólico

Se caracteriza por la presencia de uno o más de los siguientes marcadores metabólicos: HDLc < 1.13 mmol/L; triglicéridos 1.80 mmol/L; glucosa 5.5 mmol/L; presión diastólica 90 mm Hg. La obesidad, el mal estado cardiorrespiratorio y el síndrome metabólico se correlacionan entre sí y con anomalías hematológicas. El Fibrinógeno plasmático aumenta con el número de los componentes del síndrome metabólico.

v. Vitamina C e Infección

Una dieta pobre en vitamina C o la presencia de infecciones respiratorias en invierno pueden ser las causas de niveles elevados de reactantes de fase aguda, especialmente Fibrinógeno. Además, los niveles de este se correlacionan con varios marcadores de infecciones respiratorias (recuento de neutrófilos, proteína C reactiva, etc.).

vi. Estado Hormonal

El uso de anticonceptivos orales provoca un aumento en las concentraciones plasmáticas de Fibrinógeno, reversible al dejar de consumirlos. En el caso de la menopausia, aumentan los niveles de factor VIIC, Fibrinógeno y colesterol.

vii. Tabaquismo

Se asocia con mayores niveles de Fibrinógeno en plasma. El tabaco provoca reacción inflamatoria en los bronquios y alvéolos así como en los vasos del parénquima pulmonar. Esto aumentaría la producción de citoquinas, las que regulan la síntesis de proteínas de fase aguda, entre ellas el Fibrinógeno. El tabaquismo potencia la trombosis. (11)

También se menciona que la realización de la determinación de Fibrinógeno es de gran ayuda en la diferenciación de la patología hepática de origen leve o crónico. (12)

5. Hemostasia, Coagulación Y Protrombina.

a. Hemostasia y Fases de la Coagulación

La salida de sangre de un vaso lesionado se tapona gracias a un proceso llamado hemostasia que tiene lugar en 3 fases:

En la **primera fase**, tiene lugar la vasoconstricción local, favorecida por la liberación de Serotonina y otras sustancias vasoconstrictoras que provienen de las plaquetas: de esta manera, se reduce la pérdida de sangre.

La **segunda fase** consiste en la aglutinación de las plaquetas y la formación de un agregado plaquetario que tapona rápidamente la zona lesionada. Este tapón es temporal y se transforma en un coágulo gracias a la transformación del **Fibrinógeno**, proteína soluble en fibrina insoluble.

(11) Espinosa Raúl A. EL FIBRINÓGENO: FACTOR DE RIESGO CARDIOVASCULAR. Inves. Clín. v.43 n.4. Maracaibo dic. 2002

(12) Téllez-Ávila Felix I. TRASTORNOS DE COAGULACIÓN EN EL CIRRÓTICO. Rev. invest. Clín. v.59 n.2 México mar. / Abr. 2007

Este proceso constituye la **tercera fase** de la hemostasia, denominada *coagulación*: se producen una serie de reacciones en cadena que, gracias a la liberación de diversos factores, presentes en la sangre y liberados por el tejido lesionado, y a las plaquetas, determinan la síntesis de fibrina.

Las moléculas de fibrina constituyen una red tridimensional en la que quedan atrapados los elementos que componen la sangre (plaquetas, glóbulos blancos y glóbulos rojos).

El estrechamiento del vaso favorece la aglomeración de las plaquetas y la formación del tapón plaquetario, que constituye la segunda fase del proceso hemostático. (13)

El cúmulo de los elementos sanguíneos que constituyen el tapón plaquetario acaba originando el coágulo sanguíneo, cuya formación se produce mediante una secuencia de reacciones y requiere la intervención coordinada de diversos factores presentes en el plasma.

b. Coagulación y Fibrinógeno

La coagulación determina la transformación de una proteína soluble del plasma, el Fibrinógeno, en la proteína insoluble fibrina; ésta precipita bajo la forma de filamentos que, entrelazándose, detienen los elementos celulares de la sangre y forman un resistente cerramiento de la lesión, el coágulo. La conversión del Fibrinógeno en fibrina requiere la intervención de una enzima, la trombina, presente normalmente en la sangre en forma inactiva, la protrombina.

(13) Canseco-Ávila Luis M. FIBRINÓGENO. ¿FACTOR O INDICADOR DE RIESGO CARDIOVASCULAR? Archivos de Cardiología de Mexico. Vol. 76 Supl. 4/Octubre-Diciembre 2006:S4, 158-172.

La activación de la enzima es posible por la intervención de algunos factores que pueden ser producidos por los tejidos dañados o por las plaquetas, y que en parte se encuentran ya en el plasma.

Entre éstos, es particularmente importante el factor X, que realiza su función en presencia de iones Ca^{2+} y del factor V. La activación del factor X está determinada, a su vez, por dos secuencias de reacciones que se desarrollan simultáneamente. La primera, llamada vía intrínseca, implica al factor XII, al factor IX (o antihemofílico B) y al factor VIII, compuestos normalmente presentes en el plasma.

La segunda vía, llamada extrínseca, requiere de la acción de la tromboplastina tisular, segregada por el endotelio del vaso dañado, y la tromboplastina plaquetaria, producida por los trombocitos; ésta se produce en presencia del factor VII (o proconvertina).

La conversión del Fibrinógeno, facilitada por la trombina, lleva, en realidad, a la síntesis de una fibrina inestable; la estructura definitiva de esa proteína se consigue mediante la intervención del factor XIII, que promueve la formación de enlaces covalentes y el logro de una mayor estabilidad química y conformacional de las moléculas. Por efecto de diversas proteínas contenidas en las plaquetas (trombosteninas), el coágulo se compacta y se contrae. La red de fibrina se vuelve más espesa y retiene de modo más estable los elementos corpusculares de la sangre. Del coágulo se separa un fluido claro: el suero.

Por la sangre circulan sustancias que surten un efecto regulador sobre los procesos de hemostasia; en particular, la heparina, producida por el hígado y acumulada en los granulocitos basófilos y en los mastocitos del tejido conectivo. El hígado elabora también numerosos compuestos implicados en el proceso de la coagulación. La vitamina K es indispensable para la actividad de los factores VII, IX y X que, por ese motivo, se llaman K-dependientes. (14)

c. Tiempo de Protrombina (TP) e Hígado

El TP tiene poca utilidad en el diagnóstico de disfunciones hepatocelulares leves. Sin embargo, dada la corta vida media biológica de los factores de coagulación implicados (de varias horas a algunos días), el TP tiene un gran valor pronóstico en las hepatopatías agudas. Por ejemplo, el hallazgo de un TP de 5 segundos por encima del valor basal es un cuadro de hepatitis vírica o tóxica es un indicador precoz de "insuficiencia hepática fulminante".

B) Marco Referencial

Como lo señalan algunos autores, el estudio de la concentración normal de Fibrinógeno del plasma, requiere una estricta selección de los sujetos, debido a que aún los procesos infecciosos más ligeros determinan una significativa, elevación del nivel de esta proteína. Este fenómeno y la deficiencia de algunas técnicas de dosaje, serían los responsables de la variación que se constata en los valores encontrados en la literatura. (15)

(14) Pons Muzzo Julio. EL FIBRINÓGENO DEL PLASMA. Departamento de Química y Farmacología Instituto Nacional de Higiene y Salud Pública.2002

(15) Téllez-Ávila Felix I. TRASTORNOS DE COAGULACIÓN EN EL CIRRÓTICO. Rev. invest. Clín. v.59 n.2 México mar. / Abr. 2007

Bibliografía revisada afirma que tiene mucho más interés clínico la disminución de la concentración de Fibrinógeno. La Fibrinogenopenia acentuada se pone en relieve en el tiempo de coagulación el cual se encontrara alargado.

VI. DISEÑO METODOLOGICO.

A) Descripción de la Población de Estudio

Los pacientes que asisten al Instituto de Gastroenterología Boliviano - japonés provienen de distintas instituciones médicas pues este instituto a pesar de pertenecer al complejo hospitalario de Miraflores ofrece sus servicios a toda la población en general.

El universo de este estudio lo constituyen pacientes mujeres y varones comprendidos entre las edades de 20 a 50 años provenientes de consulta externa e interna y que acudieron al Laboratorio Clínico de dicha institución.

Para la obtención del universo de estudio se plantearon los siguientes **criterios de inclusión**: pacientes mujeres y varones comprendidos entre las edades de 20 a 50 años que presentaban un Tiempo de Protrombina alterado tras una revisión cuidadosa y detallada de su expediente laboratorial.

Para este efecto se procedió a tomar la muestra de sangre venosa (para pacientes externos por lo menos 8 horas de ayuno y pacientes internos solo reciben soluciones parenterales o una dieta blanda y blanca) utilizando una jeringa de plástico estéril, recolectando dicha muestra en tubos de plástico con 50 uL de anticoagulante TP (citrato sódico) par a la realización de la determinación de la concentración de Fibrinógeno y determinación del Tiempo de Protrombina a través de un Coagulómetro automático HUMACLOT DUO.

B) Descripción del Ámbito de Estudio

El estudio fue realizado en el Laboratorio Clínico del Instituto de Gastroenterología Boliviano - japonés que se encuentra ubicado dentro del correspondiente instituto. Dicho establecimiento se halla ubicado dentro del Complejo Hospitalario General de Miraflores sobre la Avenida Saavedra.

El Instituto de Gastroenterología Boliviano - japonés cuenta con ambientes adecuados y las siguientes áreas y servicios:

- Dirección General
- Administración
- Informaciones
- Laboratorio Clínico
- Patología
- Imagenología
- Salas de internación.
- Quirófanos
- Unidad de Terapia Intensiva
- Enfermería
- Consultorios externos
- Almacenes
- Cafetería (Cocina)
- Salas de aseo
- Auditorio y salas de Reunión

C) Descripción del Ambiente de Estudio

El procesamiento de las muestras fue realizado en el Laboratorio Clínico de dicha Institución, el cual se encuentra ubicado en el primer piso y cuenta con los siguientes equipos:

- Centrifugas
- Refrigeradores para conservación de muestras y reactivos
- Coagulómetro
- Baño María
- 2 equipos Stat Fax para Química Sanguínea
- 5 microscopios para Hematología, Heces y Orinas, Bacteriología
- Esterilizador
- Incubadora

Cuenta con una secretaria muy bien ubicada y los ambientes de procesamiento de muestras limpios, esterilizados y se dividen de la siguiente manera:

- Sala de espera
- Toma de Muestra
- Área de Química Sanguínea
- Área de Hematología
- Area de Heces y Orinas
- Area de Bacteriología
- Área de lavado de material

D) Población en Estudio

La población en estudio esta constituida por 51 pacientes mujeres y varones cuya edad comprende entre 20 a 50 años que asisten al Instituto de Gastroenterología Boliviano - japonés, de los cuales se seleccionaron pacientes cuyos resultados de la prueba de Tiempo de Protrombina se encontraban fuera del rango de referencia.

E) Métodos, Materiales, Técnicas y Procedimientos

Para la determinación de Fibrinógeno y Tiempo de Protrombina se aplicaron los siguientes métodos:

a. Obtención de muestra de sangre

Este procedimiento se realizó de la siguiente manera:

- Para el paciente externo en ayunas lo obtención de muestra de sangre entre las 8:00 y 9:00 a.m.
- Para el paciente interno obtención de muestra de sangre en el lapso de la mañana antes de la hora del almuerzo.

La correspondiente muestra fue obtenida mediante punción venosa, aplicando el método tradicional de la jeringa de 10 mL, posteriormente alicuotada en tubos de plástico que contenían 50 uL de Anticoagulante TP (citrato sódico) de la marca WIENER Lab.

Luego de la posterior recolección en tubos estándar de plástico se realiza la centrifugación de la muestra a 2000rpm de 5 a 10 min.

La muestra, de plasma, es muy estable, con un transporte y una manipulación rutinaria, no necesita PRE-tratamiento, no se afecta por la posición o actividad física del paciente, y no requiere que el paciente esté en reposo o acostado para obtenerse dichas muestras; estas fueron procesadas en no más de 4 horas luego haber sido llevadas a centrifugación; cabe resaltar que la misma muestra fue utilizada para determinación de Fibrinógeno y Tiempo de Protrombina.

b. Determinación de Fibrinógeno

Las pruebas de Fibrinógeno se llevaron a cabo utilizando el equipo Coagulómetro de marca **HUMACLOT DUO (HUMAN GmbH)**, previa construcción de Curva de Calibración. (**ANEXO 1**)

i. Técnica Automática

La característica del equipo Coagulómetro de marca **HUMACLOT DUO (HUMAN GmbH)** es que cuenta con un sistema óptico de medida, mediante el cual se detecta por densidad óptica la formación del coagulo, el cronómetro interno marca el tiempo del fin de reacción deteniendo el marcador cada vez que se forma el coagulo.

El cronómetro y el sistema de homogeneización se activan al producir una variación brusca a la densidad óptica, la medida del tiempo se activa ala presencia de la muestra con el reactivo, así como detenerse en el momento que se forma el coagulo.

La agitación permanente garantiza una homogeneización perfecta y facilita la medida de la concentración de Fibrinógeno a bajas concentraciones al agrupar los filamentos de Fibrina en el paso óptico. (16)

El procedimiento es conducido por los datos de la pantalla.

ii. Fundamento

Cuando un exceso de trombina se adiciona a un plasma diluido el Fibrinógeno presente será transformado a moléculas de Fibrina formando así un coagulo estable.

iii. Principio del Método

Se aplicó el *Método de Clauss* designado como procedimiento de referencia por el NCCLS (National Comité for Clinical Laboratory Standards).

El tiempo de coagulación (formación de Fibrina) es inversamente proporcional a la concentración de Fibrinógeno plasmático. El tiempo de coagulación obtenido se compara posteriormente con una preparación de Fibrinógeno estandarizada. (ANEXO 1)

iv. Procedimiento

1. Ingresar al test en el Coagulómetro. (ANEXO 2)
2. Realizar dilución del plasma 1:10 con Buffer Imidazol
3. 200uL de la dilución incubar 2 minutos a 37° C en cubetas de plástico especiales del Baño Maria a seco añadiendo barras metálicas de homogeneización.
4. Tapar la cubeta.

5. Utilizando la pipeta automática Añadir 100uL de TROMBINA, marca WIENER Lab. **(ANEXO 3)**
6. Registrar tiempo de formación del coagulo y concentración de Fibrinógeno.

v. Valores de Referencia

El intervalo de valores observados en pacientes normales oscila entre 200 – 400 mg/dL.

c. Determinación del Tiempo de Protrombina

Las pruebas de Tiempo de Protrombina se llevaron a cabo utilizando el equipo Coagulómetro de marca **HUMACLOT DUO (HUMAN GmbH)**.

El Tiempo de Protrombina o Tiempo de Quick es un procedimiento global con tres aplicaciones que se utiliza para detectar deficiencias simples y combinadas de la coagulación extrínseca, indicativas de trastornos de coagulación congénitos adquiridos en enfermedades hepáticas de déficit de vitamina K, sensible para el control de la terapia con anticoagulantes orales de los factores extrínsecos de la coagulación.

i. Técnica Automática

La característica del equipo Coagulómetro de marca **HUMACLOT DUO (HUMAN GmbH)** es que cuenta con un sistema óptico de medida, mediante el cual se detecta por densidad óptica la formación del coagulo, el cronómetro interno marca el tiempo del fin de reacción deteniendo el marcador cada vez que se forma el coagulo. **(16)**

(16) Ibáñez, R. María Elena. ESTANDARIZACION DE LA PRUEBA DE TIEMPO DE PROTROMBINA APLICANDO PROCEDIMIENTO MANUAL Y AUTOMATICO. La Paz Bolivia 2003

El cronómetro y el sistema de homogeneización se activan al producir una variación brusca a la densidad óptica, la medida del tiempo se activa a la presencia de la muestra con el reactivo, así como detenerse en el momento que se forma el coagulo. Procedimiento es conducido por los datos de la pantalla

ii. Fundamento y Principio de Método

El principio de reacción se basa en la medida del tiempo que tarda en coagular el plasma decalcificado a 37° C, en presencia de un exceso de Tromboplastina Cálcica cuyo resultado de Tiempo de Protrombina se expresa en segundos y en % de actividad protrombinica.

iii. Procedimiento

1. Al iniciar el trabajo, se debe encender el equipo diez minutos antes para lograr estabilizar la temperatura a 37° C.
2. Ingresar al test en el Coagulómetro. **(ANEXO 2)**
3. Estabilizar durante 15 minutos aproximadamente a temperatura ambiente el reactivo de trabajo TROMBOPLASTINA CALCICA (DADE TROMBOPLASTIN C PLUS) marca **DADE BERHING. (ANEXO 3)**
4. Alicuotar 100 uL de plasma muestra a las cubetas especiales del Baño Maria a seco del Coagulómetro a 37° C.
5. Incubar durante 5 minutos cronometrado previa adición del homogenizador (barra metálica).
6. Tapar la cubeta.

7. Adicionar 200 uL de reactivo TROMBOPLASTINA CALCICA con la pipeta automática a través de la perforación que tiene la tapa.
8. El cronómetro interno marca el tiempo del fin de la reacción deteniendo el marcador cada vez que se forma el coagulo.

iv. Valores de Referencia

La técnica estandarizada en el Laboratorio Clínico del Instituto de Gastroenterología Boliviano - japonés establece que el 100% de Actividad de Protrombina corresponde a 12 segundos del Tiempo de Protrombina.

VII. RESULTADOS

La población total estuvo compuesta por 51 pacientes entre mujeres y varones. Dicho grupo fue dividido en 3 grupos denominados **A**, **B** y **C**.

Tabla N° 1: Distribución numérica y porcentual del grupo de estudio.

En la Tabla N° 1 se expone la distribución numérica y porcentual del grupo de estudio y su correspondiente división en sus correspondientes grupos **A**, **B** y **C**. Se tomó en cuenta la relación Tiempo de Protrombina y concentración de Fibrinógeno.

GRUPO	Nº PACIENTES	PORCENTAJES
A	8	16%
B	21	41%
C	22	43%
TOTAL pacientes	51	100%

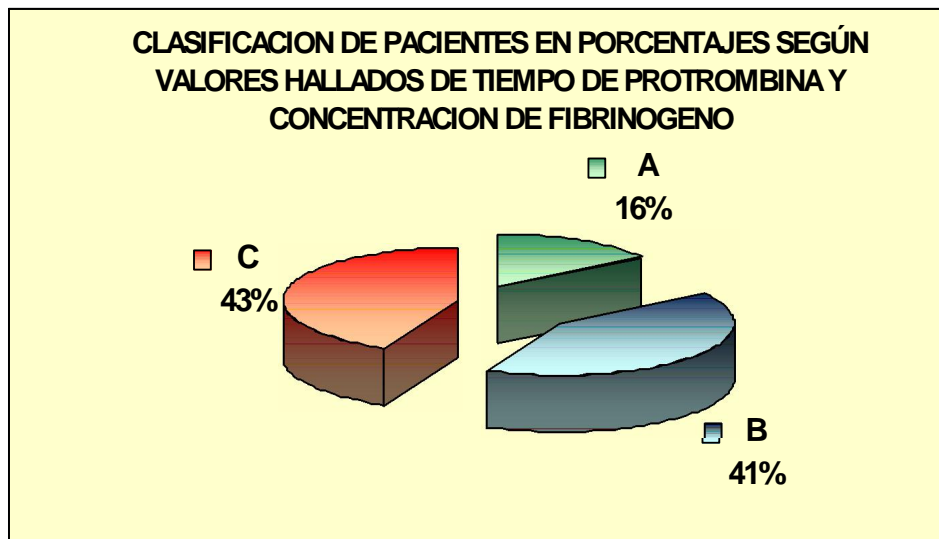
Fuente: Elaboración propia

A continuación se explica que tipo de pacientes contiene cada grupo según Tiempo, Actividad de Protrombina y Concentración de Fibrinógeno.

- ⊗ **GRUPO A:** Pacientes con Tiempo y Actividad de Protrombina normal y Concentración de Fibrinógeno normal.
- ⊗ **GRUPO B:** Pacientes con Tiempo y Actividad de Protrombina alterada y Concentración de Fibrinógeno normal.
- ⊗ **GRUPO C:** Pacientes con Tiempo y Actividad de Protrombina alterada y Concentración de Fibrinógeno disminuida.

Grafica N° 1: Distribución porcentual del grupo de estudio en sus correspondientes GRUPOS.

La Grafica N° 1 indica en porcentajes la distribución general del universo de estudio que esta conformada por 51 pacientes. El grupo con mayor población corresponde al **Grupo C** con un valor porcentual de 43%.



Fuente: Elaboración propia

Tabla N° 2: Pacientes con Tiempo y Actividad de Protrombina normal y Concentración de Fibrinógeno normal.

En la Tabla N° 2 se puede observar el **GRUPO A** con 8 pacientes que presentan Actividad y Tiempo de Protrombina normal y Concentración de Fibrinógeno normal por lo que estos no se incluyeron en el análisis posterior.

Nº PACIENTE	*TIEMPO (seg.)	[C] Fibr. mg/dL	TIEMPO PROTROMBINA (seg.)	ACT. %
1	9.2	206.8	12	100
2	9.5	201.9	12	100
3	9.3	205.1	12	100
4	6.0	278.9	12	100
5	8.5	219.2	12	100
6	8.1	227.0	12	100
7	9.2	206.0	12	100
8	5.9	282.0	12	100
TOTAL: 8	-	-	-	-
PROMEDIO (x)	8.2	228.3	12	100

Fuente: Elaboración propia

* Tiempo de formación del coagulo de fibrina.

Tabla Nº 3. Pacientes con Tiempo y Actividad de Protrombina alterada y Concentración de Fibrinógeno normal.

En la Tabla Nº 3 se observa el **GRUPO B** con pacientes que presentan Tiempo y Actividad de Protrombina, Concentración de Fibrinógeno y enfermedad predominante la cual provoca descensos bruscos de Actividad de Protrombina y mantiene normal la Concentración de Fibrinógeno; entre estas enfermedades se puede mencionar: Pancreatitis Aguda, Cirrosis Hepática, Colelitiasis Crónica, etc.

PATOLOGIA	Nº	TIEMPO * (seg.)	[C] Fibr. mg/dL	TIEMPO PROTROMBINA (seg.)	ACT. %
GASTRITIS	1	8.6	217.3	13.1	83.1
COLELITIASIS	2	7.5	239.7	13.0	85.0
COLELITIASIS	3	9.2	206.8	13.2	81.8
COLELITIASIS	4	7.7	235.3	13.4	77.4
COLESISTITIS AGUDA	5	5.6	291.0	12.8	87.1
PANCRETITIS AGUDA	6	5.3	301.9	14.5	65.1
COLELITIASIS	7	9.1	208.5	13.8	75.0
COLELITIASIS	8	6.3	270.1	13.0	85.0
CIRROSIS HEPATICA	9	7.8	249.0	15.9	41.6
GASTRITIS	10	6.6	261.8	13.0	85.0
COLELITIASIS	11	9.2	206.8	13.0	85.0
HEPATITIS A	12	8.5	219.2	13.0	85.0
COLESISTITIS CRONICA	13	5.7	288.9	15.1	58.6
HEM. DIGESTIVA ALTA	14	5.5	295.0	14.4	67.2
PERITONITIS GENER.	15	8.7	215.5	13.0	84.4
PANCREATITIS AGUDA	16	5.0	291.6	18.8	31.8
COLELITIASIS	17	7.0	249.0	15.2	57.3
COLELITIASIS	18	5.9	282.0	16.5	44.4
COLELITIASIS	19	6.8	256.5	15.6	56.8
COLEDOLITIASIS	20	5.5	295.0	15.3	56.1
HEPATITIS ALCOHOLICA	21	9.6	200.0	15.6	52.0
TOTAL PACIENTES	21
PROMEDIO x =	...	7.2	251.5	14.41	71.23

Fuente: Elaboración propia

* **Tiempo de formación del coagulo de fibrina.**

Tabla N° 4: Distribución porcentual de pacientes según patología de predominio.

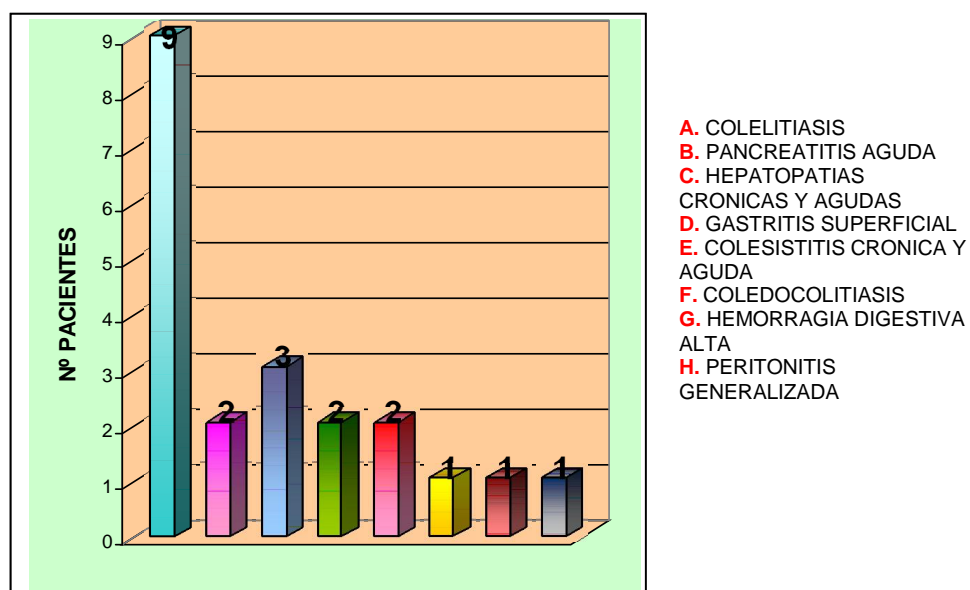
En la Tabla N° 4 se observa la distribución porcentual de la población en estudio perteneciente al **GRUPO B**, según patología de predominio y corresponde a las de tipo Colelitiasico.

PATOLOGIA	Nº PACIENTES	PORCENTAJE
COLELITIASIS	9	43%
PANCREATITIS AGUDA	2	10%
HEPATOPATIAS CRONICAS Y AGUDAS	3	14%
GASTRITIS SUPERFICIAL	2	10%
COLESISTITIS CRONICA Y AGUDA	2	10%
COLEDOCOLITIASIS	1	05%
HEMORRAGIA DIGESTIVA ALTA	1	05%
PERITONITIS GENERALIZADA	1	05%
TOTAL PACIENTES	21	100%

Fuente: Elaboración propia

Grafica N° 2: Distribución en números según patología de predominio de los Pacientes con Tiempo y Actividad de Protrombina alterada y Concentración de Fibrinógeno normal.

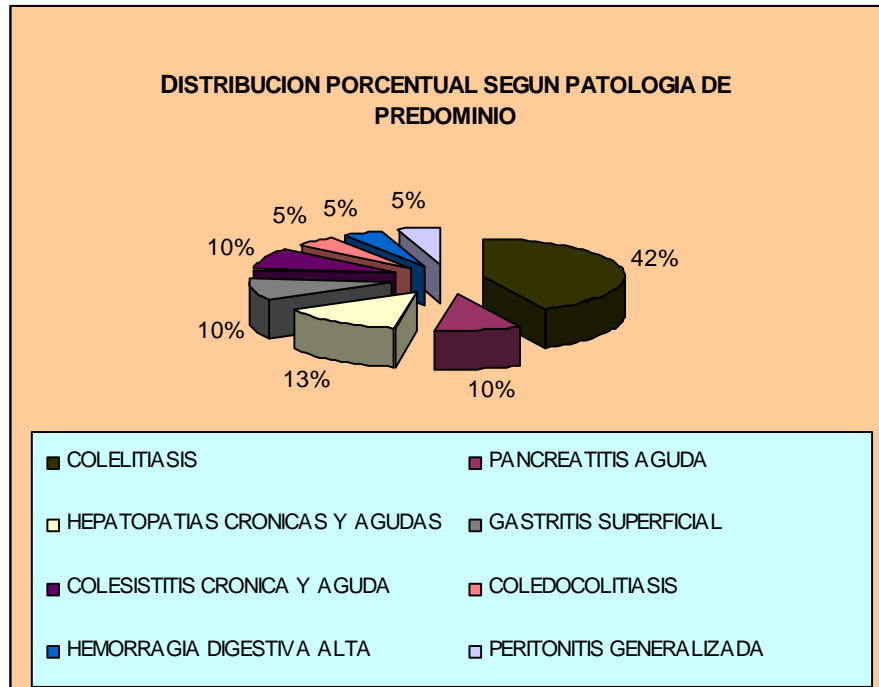
La Grafica N° 2 indica que de los 21 pacientes integrantes del **Grupo B**, 9 presentaron una patología de tipo Colelitiasico siendo esta la patología de predominio.



Fuente: Elaboración propia

Grafica N° 3: Distribución porcentual según patología de predominio de Pacientes con Tiempo y Actividad de Protrombina alterada y Concentración de Fibrinógeno normal.

La Grafica N° 3 indica que de los 21 pacientes integrantes del **Grupo B** 9 corresponden al 42% y presentaron una patología de tipo Colelitiasico siendo esta la patología de predominio.



Fuente: Elaboración propia

Tabla N° 5. Pacientes con Tiempo y Actividad de Protrombina alterada y Concentración de Fibrinógeno disminuida.

En la Tabla N° 5 se observa el **GRUPO C** con pacientes que presentan Tiempo y Actividad de Protrombina, Concentración de Fibrinógeno y patología de predominio. Se observa también que las patologías de predominio corresponden al tipo hepático crónico – agudo con alteraciones importantes en la función de ambas moléculas analizadas.

PATOLOGIA	Nº	TIEMPO* (seg.)	[C] Fibr. mg/dL	TIEMPO PROTROMBINA (seg.)	ACT. %
CANCER VESICULA/HIGADO	1	19.6	112.2	15.6	52.6
CANCER VESICULA/HIGADO	2	27.3	84.0	17.4	38.5
HEM. DIGESTIVA ALTA	3	9.7	198.8	13.0	85.0
TB. PERITONEAL	4	11.9	169.8	13.7	76.1
CANCER VESICULA/HIGADO	5	27.0	83.2	20.4	26.4
SINDROME ICTERICO	6	17.8	122.0	16.8	42.3
CIRROSIS HEPATICA	7	15.2	139.3	15.8	50.6
HEM. DIGESTIVA ALTA	8	10.8	183.8	13.0	85.0
ENCEFALOPATIA HEP.	9	15.3	138.5	17.0	41.0
HEPATOPATIA CRONICA	10	11.8	170.9	15.0	60.0
HEPATOPATIA CRONICA	11	16.1	132.8	17.0	40.3
CIRROSIS HEPATICA	12	25.9	88.0	15.6	52.6
CIRROSIS HEPATICA	13	17.2	125.6	17.6	37.3
SINDROME ICTERICO	14	18.1	120.3	18.7	32.2
HEM. DIGESTIVA ALTA	15	17.2	125.6	14.8	62.2
HEPATITIS A	16	11.0	180.5	17.8	36.3
SINDROME ICTERICO	17	11.7	172.1	16.3	46.0
INSUFICIENCIA HEPATICA	18	10.2	191.3	20.5	26.3
HEPATITIS ALCOHOLICA	19	10.0	194.2	15.1	58.6
HEM. DIGESTIVA ALTA	20	18.3	119.2	15.7	61.6
SINDROME ICTERICO	21	11.1	179.3	16.7	43.0
CIRROSIS HEPATICA	22	15.0	138.0	16.2	50.2
TOTAL PACIENTES	22
PROMEDIO x =	...	16	146.2	16.4	50.2

Fuente: Elaboración propia

* **Tiempo de formación del coagulo de fibrina.**

Tabla N° 6: Distribución porcentual de pacientes según patología de predominio.

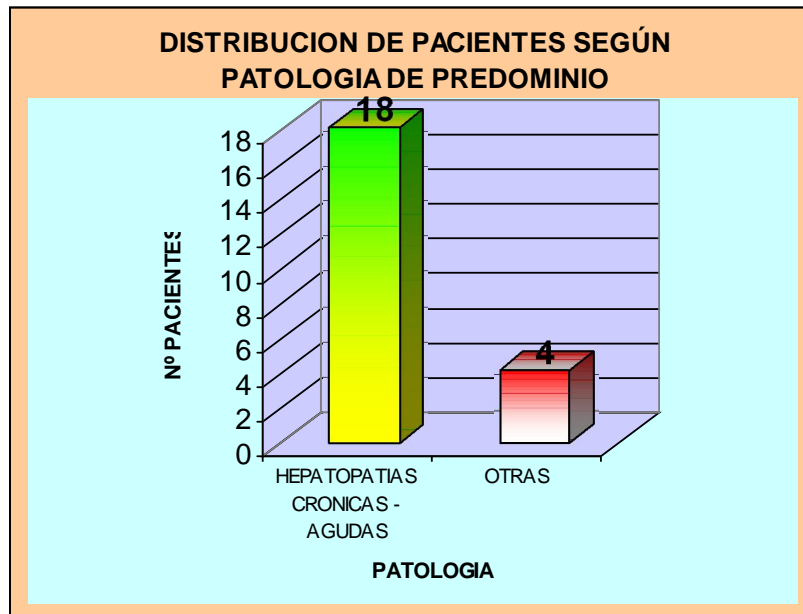
En la Tabla N° 6 se observa la distribución porcentual de la población en estudio perteneciente al **GRUPO C**, según patología de predominio. El 82% de estas patologías corresponden a las de tipo hepático crónico - agudo.

PATOLOGIA	Nº PACIENTES	PORCENTAJES
HEPATOPATIAS CRONICAS – AGUDAS	18	82%
OTRAS	4	18%
TOTAL PACIENTES	22	100%

Fuente: Elaboración propia

Grafica N° 4: Distribución en números según patología de predominio de los Pacientes con Tiempo y Actividad de Protrombina alterada y Concentración de Fibrinógeno disminuida.

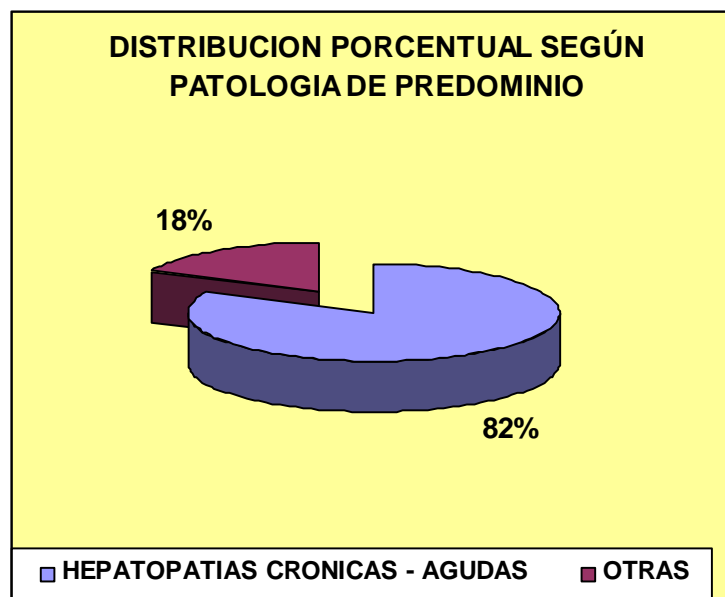
La Grafica N° 4 indica que de los 22 pacientes integrantes del **Grupo C**, 18 presentaron distintas patologías de tipo hepático crónico – agudo, siendo estas las patologías de predominio.



Fuente: Elaboración propia

Grafica N° 5: Distribución porcentual según patología de predominio de Pacientes con Tiempo y Actividad de Protrombina alterada y Concentración de Fibrinógeno disminuida.

La Grafica N° 5 indica que de los 22 pacientes integrantes del **Grupo C**, 18 corresponden al 82% y presentaron patologías de tipo hepático crónico – agudo siendo estas las patologías de predominio.



Fuente: Elaboración propia

VIII. CONCLUSIONES

- Se realizó la determinación de la Concentración de Fibrinógeno en pacientes que presentaron Tiempo y Actividad de Protrombina alterada.
- El **GRUPO A** que corresponde al 16% de la población total en estudio no presentó ninguna alteración en la concentración de Fibrinógeno, Tiempo y Actividad de Protrombina.
- El **GRUPO B** que corresponde al 41% de la población total en estudio presentó Tiempo y Actividad de Protrombina alterados y concentración de Fibrinógeno normal, siendo así Colelitiasis la patología de incidencia pues el 43% de este grupo presentó dicho mal.
- Se halló que del 100% de la población en estudio, sólo el 43% que corresponde al **GRUPO C** presentaron Tiempo y Actividad de Protrombina alterada y al mismo tiempo Concentración de Fibrinógeno disminuida y el 82% de la población de este GRUPO desarrollaron como patologías de predominio Hepatopatías crónicas - agudas y que la determinación de Fibrinógeno en el Laboratorio de Química Sanguínea se constituye en un pilar fundamental de apoyo al perfil hepático junto con la Actividad y Tiempo Protrombina.
- Las dos pruebas puestas en comparación en este trabajo no tienen relación directa pues si la Actividad y Tiempo Protrombina esta alterada la concentración de Fibrinógeno puede estar normal así lo demuestra el 41% de la población y que la función normal de ambas moléculas depende de la patología de predominio y no así de la concentración de una y la actividad de la otra.

IX. DISCUSION

En el presente estudio se pone en manifiesto la relación entre la Actividad y Tiempo Protrombina y la concentración plasmática de Fibrinógeno, ambas moléculas a pesar de ser parte de la cascada de coagulación y ser sintetizadas en Hígado pueden otorgar información distinta en el momento de su estudio cuantitativo; pues se demostró que la Concentración y Actividad de cada una se alteran en diferentes situaciones patológicas y que solamente en patologías de predominio Hepático crónico-agudo ambas disminuyen en función y actividad.

Además de resaltar que estas hepatopatías están clasificadas como INTRAHEPÁTICAS, es decir, la función hepato-celular esta disminuida y por ende las células hepáticas no están en funcionamiento correcto ya que en cuanto a una de sus funciones de síntesis estas están encargadas de sintetizar la mayoría de los factores de la coagulación, tanto de los vitamina K dependientes (II, VII, IX, X) como de los no dependientes (V, XI, XII, XIII, Fibrinógeno).

Es fundamental conocer la historia clínica de nuestros pacientes y basados en la información que el médico nos brinda realizar las actividades laboratoriales correctas y coadyuvar al manejo adecuado del diagnóstico clínico-laboratorial.

Según la bibliografía el Tiempo de Protrombina tiene poca utilidad en lesiones hepatocelulares pero en este estudio se determinó que esta prueba laboratorial juega un papel fundamental en el apoyo del diagnóstico, evaluación y seguimiento de este tipo de patologías al igual que la Concentración de Fibrinógeno.

Por otro lado al constituirse el Fibrinógeno no solo en proteína de función coagulativa sino en una molécula positiva de fase aguda se sugiere la realización de investigaciones posteriores que evalúen la función de esta proteína en cuanto a parámetros de inflamación e infección.

X. BIBLIOGRAFIA

1. Pons, Muzzo Julio. EL FIBRINÓGENO DEL PLASMA. Departamento de Química y Farmacología Instituto Nacional de Higiene y Salud Pública.2002
2. Canseco-Ávila Luis M. FIBRINÓGENO. ¿FACTOR O INDICADOR DE RIESGO CARDIOVASCULAR? Archivos de Cardiología de Mexico.Vol. 76 Supl. 4/Octubre-Diciembre 2006:S4, 158-172.
3. Dr. Hermes Toros Xavier. FIBRINÓGENO Y RIESGO TROMBÓTICO CARDIOVASCULAR: ALGUNAS REFLEXIONES. Rev Cubana Invest Biomed 2005; 24(3).
4. M García Bengoechea. ALTERACIONES DE LA HEMOSTASIA EN LAS ENFERMEDADES HEPÁTICAS. Emsalt study group. Lancet 2000; 355: 1303-1309.
5. Bacells Adolfo. LA CLINICA Y EL LABORATORIO. MASSON. S. A. Barcelona.17 ed. 1997. Pgs.203-204
6. Grupo Cooperativo Argentino de Hemostasia Trombosis. FUNDAMENTOS PARA EL MANEJO PRÁCTICO EN EL LABORATORIO DE HEMOSTASIA. Bnos. Aires. Arg. 185-186.2000
7. Dr. Carlos A. Paterno. 25 de Mayo 284. 1638 Vicente López, Prov. de Buenos Aires. Argentina. PREVENCION CARDIOVASCULAR Rev. Fed. Arg. Cardiol. 29: 515-517, 2000

8. J. Murciano Revert, J. J. Martínez-Lahuerta, E. Albert Ginés. EL FIBRINÓGENO COMO FACTOR DE RIESGO CARDIOVASCULAR. Estado actual de la investigación. Rev. med. SEMERGEN. 2006
9. Baumann H, Richards C, Gauldie J. INTERACTION AMONG HEPATOCYTE-STIMULATING FACTORS, INTERLEUKIN-1 AND GLUCOCORTICOIDS FOR REGULATION OF ACUTE PHASE PLASMA PROTEIN IN HUMAN HEPATOMA CELLS. J. Inmunol. 1987; 139: 4122-4128
10. E. Losa García INFLAMACION Y REACTANTES DE FASE AGUDA. Departamento de Medicina. Universidad de Salamanca. 2006
11. Kamath S y Lip GY. FIBRINÓGENO: BIOQUÍMICA, EPIDEMIOLOGÍA Y DETERMINANTES. Sociedad Iberoamericana de Información Científica (SIIC) 2002 .QJM 96:711-729, 2003
13. Espinosa Raúl A. EL FIBRINÓGENO: FACTOR DE RIESGO CARDIOVASCULAR. Inves. Clín. v.43 n.4. Maracaibo dic. 2002
13. Téllez-Ávila Felix I. TRASTORNOS DE COAGULACIÓN EN EL CIRRÓTICO. Rev. invest. Clín. v.59 n.2 México mar. / Abr. 2007
14. Ibáñez, R. Maria Elena. ESTANDARIZACION DE LA PRUEBA DE TIEMPO DE PROTROMBINA APLICANDO PROCEDIMIENTO MANUAL Y AUTOMATICO. La Paz Bolivia 2003.pgs.9 – 20.
15. Prfeundsuh, M. FISIOPATOLOGIA Y BIOQUIMICA. Harcourt ed. Madrid.Es. 2002. pg.296.

SONNETS

✘ **ANEXO 1. CONSTRUCCIÓN DE CURVA DE CALIBRACIÓN DE FIBRINÓGENO Y PROGRAMACION DE COAGULÓMETRO HUMACLOT DUO (HUMAN GmbH).**

Para poder realizar determinaciones de concentración de Fibrinógeno en el equipo Coagulómetro **HUMACLOT DUO (HUMAN GmbH)** previamente se debe programar la función Fibrinógeno.

1. CURVA DE CALIBRACIÓN DE FIBRINÓGENO

Realizar el siguiente procedimiento:

- ✦ Preparar 3 diluciones de Plasma Referencia Fibrinógeno (**PRF**) en Buffer Imidazol (**BI**) en las siguientes proporciones:

DILUCION	CONCENTRACION TEORICA	PROPORCIONES	VOL FINAL
1/10	244 mg/dL *	(100 uL PRF + 0.9 mL BI)	1.0 mL
1/15	163 mg/dL	(100 uL PRF + 1.4 mL BI)	1.5 mL
1/20	122 mg/dL	(100 uL PRF + 1.9 mL BI)	2.0 mL

- * Esta concentración representa el 100% de concentración de Fibrinógeno del Plasma Referencia.

- ❖ Precalentar 200 uL de cada dilución a 37° C a Baño Maria a seco en las cubetas especiales del equipo Coagulómetro durante 2 minutos.
- ❖ Disparar el cronómetro con el agregado de 0.1 mL de Trombina reconstituida (no precalentar el reactivo de Trombina) a las diluciones preincubadas y registrar el tiempo de formación del coagulo.
- ❖ Calcular el tiempo promedio de coagulación para cada dilución, por triplicado.

DIL.	CONCENTRACION EXPERIMENTAL	X CONCENTRACION EXPERIMENTAL	TIEMPO COAGULACION	X TIEMPO COAGULACION
1/10	192.8 mg/dL	190 mg/dL	10.1 seg.	10.3 seg.
	194.2 mg/dL		10.0 seg.	
	183.1 mg/dL		10.8 seg.	
1/15	152.6 mg/dL	152 mg/dL	13.6 seg.	13.7 seg.
	147.3 mg/dL		14.2 seg.	
	155.3 mg/dL		13.3 seg.	
1/20	112.0 mg/dL	111.0 mg/dL	19.6 seg.	19.8 seg.
	110.0 mg/dL		20.0 seg.	
	110.0 mg/dL		20.0 seg.	

- ❖ Construir la Curva de Calibración de Fibrinógeno representando los tiempos de coagulación en función de la concentración de Fibrinógeno.
- ❖ Para corroborar el funcionamiento de la curva programada en el equipo Coagulómetro **HUMACLOT DUO (HUMAN GmbH)** se realizó la determinación de concentración de Fibrinógeno de una muestra de plasma fresco:

Nº DETERMINACION	CONCENTRACION FIBRINOGENO	TIEMPO COAGULACION
1	301.9 mg/dL	5.3 seg.
2	301.9 mg/dL	5.3 seg.
3	313.0 mg/dL	5.0 seg.
4	305.5 mg/dL	5.2 seg.
5	301.9 mg/dL	5.3 seg.
PROMEDIO (X)	304.8 mg/dL	5.2 seg.

2. PROGRAMACION DEL EQUIPO COAGULÓMETRO HUMACLOT DUO (HUMAN GmbH) PARA CONCENTRACION DE FIBRINOGENO.

- a. Desde el menú Principal se pulsa el código 100 y ENTER y seguidamente se elige el número de código (1-10). Por ejemplo 2 y ENTER:

CODIGO (2)

PANTALLA

- b. Si la posición no esta ocupada una vez pulsado ENTER, se accede a la pantalla de MODO y se pulsa el número correspondiente a la técnica (2 y ENTER):

MODO ()

0 TP 2FB

1PTT

PANTALLA

- c. En la siguiente pantalla se pregunta el N° de puntos que se precisan para la curva de calibración y se responde por medio del teclado numérico, confirmando con ENTER.

N° DE PUNTOS (2)

PANTALLA

- d. Se precisa utilizar como mínimo 2 puntos aunque se recomiendan 3 para la correcta construcción de la curva. **(VER N° 1: CURVA DE CALIBRACIÓN DE FIBRINÓGENO)**. Se introduce para cada dilución su

concentración y el tiempo de formación de coagulo correspondiente de la siguiente manera:

Para el primer punto aparece esta pantalla:

PUNTOS:	1
CONC:	()
TIEMPO:	

PANTALLA

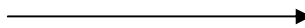
- e. Se introducen el valor de la concentración y el del tiempo, se conoce, por teclado numérico y ENTER. En caso de preferir entrar los datos que experimentalmente obtengamos realizando la prueba con el instrumento, introducir los valores de las concentraciones de cada punto y pulsar ENTER.

PUNTOS:	1
CONC:	(244)
TIEMPO:	

PANTALLA

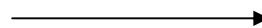
Para los puntos sucesivos aparecen las pantallas siguientes:

PUNTOS:	2
CONC:	()
TIEMPO:	



PUNTOS:	2
CONC:	(163)
TIEMPO:	

PUNTOS:	3
CONC:	()
TIEMPO:	



PUNTOS:	3
CONC:	(122)
TIEMPO:	

PANTALLA

PANTALLA

f. A continuación se introducen por medio del teclado y posterior confirmación con ENTER los siguientes parámetros:

✘ TIEMPO DE SEGURIDAD

✘ TIEMPO DE ESPERA

g. tras pulsar el último ENTER, se vuelve a la pantalla del menú principal, queda programada la técnica y se imprime:

```
.....  
FECHA  
COD: 2      FB  
.....  
N. PUNTOS: 3  
  
T      CONC  
1.      244  
2.      163  
3.      122  
  
T. SEG.  
T. ESP.
```

IMPRESION DE LA TECNICA

GRACIELA MARY VARGAS RODRIGUEZ

✘ **ANEXO 2. MANEJO DEL EQUIPO COAGULÓMETRO HUMACLOT DUO (HUMAN GmbH) PARA CONCENTRACION DE FIBRINOGENO Y TIEMPO DE PROTROMBINA.**

1. Encender el equipo e inmediatamente saldrá el menú principal.

2. Desde el menú principal se teclea el número de código de la técnica que se quiera realizar y, tras validarlo por medio de la tecla ENTER, se imprime en papel la impresión de la técnica.
3. A continuación se pregunta si se desea calibrar: pulsar Y si se va a calibrar o pulsar N si no se va a calibrar.
4. **Sin calibración:** pasa directamente a la pantalla que indica el número y nombre de muestra que se va a procesar.
5. Colocar la cubeta con la pastilla metálica en los posillos de incubación y en la posición de lectura, con RESET poner en cero el cronómetro de la pantalla.
6. Tapar con el capuchón.
7. Al introducir el reactivo, se pone en marcha el cronómetro y el sistema de homogeneización. Al iniciarse la formación del coágulo (polimerización de la Fibrina en el caso de la técnica para Fibrinógeno.) hay una variación positiva de la densidad óptica que automáticamente para el cronómetro y el sistema de agitación magnética. El informe aparece en la pantalla y se imprime.
8. El instrumento está listo para una nueva medida.

GRACIELA MARY VARGAS RODRIGUEZ

✘ ANEXO 3. DESCRIPCION DE LOS REACTIVOS UTILIZADOS

1. DETERMINACION DE FIBRINOGENO.

◆ Se utilizó un Kit reactivo para determinación de Fibrinógeno plasmático de la marca Wiener lab. Solamente para uso "In Vitro". Elaborado por Wiener Laboratorios S.A.I.C. Riobamba 2944.2000 Rosario – Argentina.

◆ Contenido del Kit reactivo (**reactivos provistos**):

- 10 viales Trombina liofilizada c.s.p. 1 mL/frasco.
- 1 vial Plasma Referencia liofilizado c.s.p. 1 mL. Concentración de Fibrinógeno 244 mg/dL
- 2 frascos cada uno de 60 mL de Buffer Imidazol 0.05 M, pH 7.3.

◆ Reactivo no provisto:

- Agua bidestilada o deionizada para la reconstitución de los reactivos liofilizados. (marca utilizada: Agua bidestilada Laboratorios VITA).

◆ Instrucciones para su uso:

- **TROMBINA Y PLASMA REFERENCIA:** quitar el precinto metálico y abrir el vial retirando lentamente el tapón de goma para evitar pérdidas del material. Agregar el volumen de agua bidestilada o deionizada indicado en el rótulo. Tapar, dejar reposar 30 minutos y luego mezclar

GRACIELA MARY VARGAS RODRIGUEZ

suavemente (sin agitar) hasta obtener disolución completa antes de su uso. Fechar. Se recomienda mantener el reactivo Trombina en el frasco original luego de su reconstitución y durante su uso.

- **BUFFER IMIDAZOL:** Listo para usar. Evitar contaminación. Mantener en su frasco original bien cerrado.

◆ Estabilidad y Almacenamiento.

- **REACTIVOS PROVISTOS:** son estables en refrigerador (2 a 10° C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.
- **TROMBINA RECONSTITUIDA:** estable 5 días refrigerada (2 a 10° C) o 30 días congelada (- 20° C). para descongelar, hacerlo rápidamente a 37° C. no volver a congelar. Llevar a temperatura ambiente el reactivo antes de volver a usarlo. Evitar calentamientos prolongados.
- **PLASMA REFERENCIA RECONSTITUIDO:** estable durante 8 horas refrigerado (2 a 10° C).

◆ Precauciones de uso (**BIOSEGURIDAD**):

- Los reactivos provistos son para uso “In Vitro”.
- Este producto no es reactivo para agentes infecciosos en potencia como HIV, pero dado que ningún método de ensayo puede asegurar la ausencia absoluta de agentes

GRACIELA MARY VARGAS RODRIGUEZ

infecciosos, los plasmas referencia, controles y muestras de pacientes deben manejarse como si se tratara de material potencialmente infeccioso.

- Se recomienda para su manipulación el uso de guantes de goma estéril y desechable.

2. TIEMPO DE PROTROMBINA

❖ Se utilizó reactivo para determinación de PROTROMBINA plasmático de la marca DADE BEHRING. Solamente para uso "In Vitro". Elaborado por DADE BEHRING Margurg GMBH. Emil-von-Behering-Str. 76.Marburg/Germany.

❖ Reactivo:

- **TROMBOPLASTINA CALCICA C PLUS, DADE:** preparación liofilizada de Tromboplastina de cerebro de conejo deshidratado en acetona; calcio, tampón, un antimicrobiano y estabilizantes.

❖ Instrucciones para su uso:

- Reconstituir cada frasco de TROMBOPLASTINA CALCICA C PLUS liofilizada con 4 mL de agua destilada o deionizada, mezclar bien el contenido del frasco antes de su uso para asegurar una completa dilución. Si se deja en reposo, volver a mezclar bien antes de usarlo para asegurar la homogeneidad. Estable 5 días 2-8° C. No congelar.

GRACIELA MARY VARGAS RODRIGUEZ

❖ Estabilidad y Almacenamiento:

- El producto es estable conservado a 2-8° C. hasta la fecha de caducidad impresa en el frasco.

◆ Precauciones de uso (**BIOSEGURIDAD**):

- El reactivo provisto es para uso "In Vitro".
- Este producto no es reactivo para agentes infecciosos en potencia como HIV, pero dado que ningún método de ensayo puede asegurar la ausencia absoluta de agentes infecciosos debe manejarse como si se tratara de material potencialmente infeccioso.
- Se recomienda para su manipulación el uso de guantes de goma estéril y desechable.