

**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS FACULTAD DE  
CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICAS CARRERA DE  
BIOQUÍMICA  
HOSPITAL OBRERO Nº 1**



**DETERMINACIÓN DE LOS FACTORES DE VARIACIÓN DEL TIEMPO DE  
PROTROMBINA A TRAVÉS DE DOS PROCEDIMIENTOS MANUAL Y  
AUTOMÁTICO, REALIZADO EN EL LABORATORIO CLÍNICO  
DEL HOSPITAL OBRERO Nº 1, EN LOS MESES DE MARZO-JULIO DEL 2007**

**TESINA PARA OPTAR AL TÍTULO DE:  
LICENCIATURA EN BIOQUÍMICA**

**POSTULANTE : Univ. Nancy Nicolasa Méndez Estrada  
ASESOR : Dra. Amparo Aparicio**

**LA PAZ BOLIVIA**

**2008**

## INDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
II. JUSTIFICACIÓN	2
III. OBJETIVOS	3
III.1 OBJETIVO GENERAL	3
III.2 OBJETIVO ESPECIFICO	3
IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	3
V. ANTECEDENTES DEL PROBLEMA	4
VI. MARCO TEÓRICO	7
VI.1. HEMOSTASIA	7
VI.1.1. DEFINICIÓN	7
VI.1.2. CLASIFICACIÓN	7
VI.1.3. HEMOSTASIA PRIMARIA	7
VI.1.4. COAGULACIÓN	8
VI.1.5. FIBRINOLISIS	8
VI.2. ETIOLOGÍA Y PATOGENIA	9
VI.2.1. CLASIFICACIÓN	9
VI.2.2. DEFECTOS HEREDITARIOS	9
VI.2.3. DEFECTOS ADQUIRIDOS	11
VI.2.4. DEFECTOS CUALITATIVOS	11
VI.2.5. DEFECTOS CUALITATIVOS CONGÉNITOS CON COAGULACIÓN NORMAL	13
VI.2.6. DEFECTOS DE AGREGACIÓN AL COLÁGENO (SÍNDROME DE PORT SMOUTH)	14
VI.2.7. DEFECTOS CUALITATIVOS CONGÉNITOS CON COAGULACIÓN ANORMAL	14
VI.2.8 DEFECTOS CUALITATIVOS ADQUIRIDOS	14
VI.3. DROGAS ANTICOAGULANTES	16
VI.3.1. DEFINICIÓN	16
VI.3.2. TIPOS DE ANTICOAGULANTES	16
VI.4. METABOLISMO DE LOS ANTICOAGULANTES	19
VI.4.1. ABSORCIÓN	19
VI.4.2. DISTRIBUCIÓN	19
VI.4.3. ELIMINACIÓN	19
VI.4.4. INTERACCIONES	20
VI.4.5. CONTROL DE LA ANTICOAGULACIÓN	20
VI.4.6. DEFINICIÓN DEL INDICE DE SENSIBILIDAD INTERNACIONAL ISI Y RAZÓN INTERNACIONAL NORMALIZADA RIN CONOCIDO COMO INR	22
VI.5 TIEMPO DE PROTROMBINA	23

VI.5.1. DEFINICIÓN	23
VI.5.2. LA ACTIVACIÓN DE LA PROTROMBINA OCURRE POR DOS SISTEMAS	24
VI.5.3. SISTEMA INTRÍNSECO	24
VI.5.4. SISTEMA EXTRÍNSECO	24
VI.6 DIAGNOSTICO	26
VI.7 CAUSAS DE AUMENTO DEL TIEMPO DE PROTROMBINA	26
VI.7.1. ENFERMEDADES HEPÁTICAS	26
VI.7.2. DÉFICIT DE LA VITAMINA K	26
VI.8 FACTORES QUE AFECTAN A LOS RESULTADOS DEL TIEMPO DE PROTROMBINA	27
VI.8.1. FACTORES INFLUYEN EN LAS VARIACIONES	27
VI.9 TIEMPO DE ESTABILIDAD DE LAS MUESTRAS	27
VII. OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES	28
VIII. CARACTERÍSTICAS METODOLOGÍA	28
VIII.1. TIPO DE DISEÑO METODOLÓGICO	28
VIII.2. MUESTRA O POBLACIÓN DE ESTUDIO	28
VIII.3. DESCRIPCIÓN DE ÁMBITO DE ESTUDIO	28
VIII.4. DESCRIPCIÓN DEL AMBIENTE DE TRABAJO	29
VIII.5. MATERIAL Y MÉTODOS	29
VIII.6. PROCEDIMIENTO	29
VIII.6.1. PREPARACIÓN DEL POOL DE PLASMA	29
VIII.6.2. TOMA DE MUESTRA	30
VIII.6.3. PROCEDIMIENTO DE LAS MUESTRAS (PLASMAS)	30
VIII.6.4. PROCESAMIENTO DE LA TÉCNICA MANUAL	31
VIII.6.5. PROCESAMIENTO AUTOMÁTICO	31
VIII.6.6. CURVAS DE CALIBRACIÓN O RECTA DE THIVOLLE MANUAL Y AUTOMÁTICO	32
VIII.6.7. COMPARACIÓN DE VALORES OBTENIDOS DE TIEMPO DE PROTROMBINA DEL PROCEDIMIENTO MANUAL FRENTE AL AUTOMÁTICO	32
IX. RESULTADOS	33
X. DISCUSIONES	48
XI. CONCLUSIONES	49
XII. BIBLIOGRAFÍA	50

## RESUMEN

El tiempo de protrombina es la prueba que avalúa la capacidad de la vía extrínseca de la coagulación midiendo el tiempo de formación del coagulo plasmático en presencia de extractos tisulares y calcio, determinando la presencia de un inhibidor, deficiencia de factores de coagulación, deficiencia de vitamina K, enfermedad hepáticas o por el contrario, ausencia de alteraciones de la coagulación en el organismo humano.

Los factores que influyen en las variaciones el uso de medicamentos o drogas, la actividad física, el estrés emocional, la postura del paciente, variaciones diurnas y otras causas variadas. La actividad física es una causa exógena conocida de variabilidad que es importante tener en cuenta cuando se va a determinar el factor VIII. La causa endógena principal de variación en los ritmos circadianos que modifican los niveles de un parámetro a lo largo del día.

Múltiples factores asociados con el manejo y procedimiento de las muestras de sangre pueden introducir imprecisión de las pruebas o un error sistemático después que la muestra ha sido obtenida o antes que la prueba sea realizada. Se deben controlar aspectos como evitar el contacto prolongado de las células con el plasma, los cambios de concentración debido a la evaporación o la lisis del analito debido a un almacenamiento impropio o el uso de anticoagulantes inadecuados.

En el presente trabajo se determinó los factores de variación del tiempo de protrombina a través de dos procedimientos manual y automática realizado en el laboratorio clínico del Hospital Obrero No 1 en los meses de Marzo – Julio del 2007.

Para dicho análisis tomamos dos factores como ser: la temperatura del baño María de (37°C y 38°C) y el tiempo conservación de plasmas de (2 hrs y 3 – 4 hrs) a temperatura ambiente de (25°C) realizamos por los procedimientos manual y automático. Con el fin de obtener resultados satisfactorios y de esta manera logremos ayudar al médico en el tratamiento sobre todo en pacientes anticoagulados.

En nuestra población de estudio encontramos que influye los factores de variación la temperatura del Baño María a (38°C) en nuestros resultados en un 62% , pacientes preoperatorios y un 68% en pacientes anticoagulados por el procedimiento manual.

El otro factor de variación que es el tiempo de conservación de plasmas de (3-4 hrs) a temperatura ambiente de (25°C) un 66% por el procedimiento manual y un 69% por el procedimiento automático en pacientes preoperatorios. En el caso de pacientes anticoagulados presenta un 62% por el procedimiento manual y un 61% por el procedimiento automático.

De acuerdo con los resultados obtenidos podemos decir que realizando un control de los factores de variación obtenemos resultados satisfactorios más aún si estos los comparamos con otros laboratorios.

## **DEDICATORIA**

### **A mis queridos Padres:**

Por el apoyo incondicional que me brindaron dándome las fuerzas necesarias, para continuar y seguir adelante para llegar a la culminación de mi carrera profesional.

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios todopoderoso por ayudarme a cumplir mi carrera profesional.

A mi mami Patricia Estrada de Méndez por ser buena y sacrificada.

A mi papá Fidel Méndez Martínez por la confianza que me brinda.

A mis hermanas Karina y Milagros por todo el cariño y paciencia que me ofrecen.

A la Dra. Amparo Aparicio por todo el apoyo, enseñanza y dedicación en este trabajo.

Asimismo agradezco a todo el plantel docente de la carrera de Bioquímica a quién debo mi formación Académica.

Al personal de trabajo del Laboratorio del Hospital Obrero No. 1.

A todos mis amigos por su amistad y sus consejos.

**DETERMINACIÓN DE LOS FACTORES DE VARIACIÓN DEL TIEMPO DE  
PROTROMBINA A TRAVÉS DE DOS PROCEDIMIENTOS MANUAL Y  
AUTOMÁTICO, REALIZADO EN EL LABORATORIO CLÍNICO  
DEL HOSPITAL OBRERO Nº 1, EN LOS MESES DE  
MARZO-JULIO DEL 2007**

## **I. INTRODUCCIÓN**

En el campo de la salud las alteraciones en el funcionamiento normal de un organismo provocan una serie de enfermedades, que pueden ser identificadas o controladas con exámenes de laboratorio como el tiempo de Protrombina o tiempo de QUICK.

El estudio de coagulación se realiza por dos vías: intrínseca y extrínseca, esta prueba permite realizar un control de la vía extrínseca de la coagulación determinado el trastorno de una etapa, sospechar de una deficiencia de algún factor o la presencia de un inhibidor. Mide el tiempo de la formación del coágulo plasmático en presencia de un exceso de extractos titulares y calcio. La sensibilidad de la prueba depende del origen biológico de las diferentes tromboplastinas empleadas, (cerebro humano, conejo o bovino).

“El conocimiento de este hecho tiene especial interés en el control del tratamiento con anticoagulantes orales y a la vez es una prueba rápida para detectar deficiencia simple o combinada del sistema Extrínseco de la coagulación congénita y adquirida, como enfermedades hepáticas o déficit de vitamina k”. (1)

El tiempo de Protrombina mide conjuntamente a la Protrombina y los constituyentes plasmáticos en la activación de la vía extrínseca de la coagulación, cuya nomenclatura de factores esta dada en números romanos: factor II, V, VII, X, y IX; siempre que la tasa de fibrinógeno sea suficiente y no exista anticoagulantes circulantes del tipo Antitrombina que afecta el tiempo de Protrombina o QUICK. (1)

En el laboratorio los resultados del tiempo de Protrombina se reportan en: tiempo de Protrombina expresado en segundos, la actividad Protrombínica en porcentaje (%) y el INR en números enteros con decimales.

Siguiendo la indicación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) a partir del año 1977, estos resultados de los pacientes anticoagulados son reportados como Razón Internacional Normalizada RIN conocido como INR. Además, esta prueba esta dirigida a un mejor manejo de pacientes con tratamientos de anticoagulantes orales. Se recomendó que todos los preparados comerciales se ajuste a éste patrón, dándoles un valor con el nombre de Índice de Sensibilidad Internacional ISI y de esta manera contar con resultados similares de un laboratorio a otro. (1)

## II. JUSTIFICACIÓN

En muchos laboratorios clínicos realizan un control pre analítico de los factores que influyen en la determinación del tiempo de protrombina.

Sin embargo en el laboratorio clínico del Hospital Obrero N° 1 por descuido del operador no realizaban la verificación de las mismas, por esta razón tenemos una inquietud de poder verificar de que manera afecta los factores de variación en dicho análisis. Sabemos que existen factores innumerables que pueden influir pero de todos estos solo tomamos en cuentas a dos:

- La temperatura del baño María (37 °C)
- El tiempo de conservación de los plasmas (2h) a temperatura ambiente (25 °C).

Suponemos que gracias a estos factores de variación obtuvimos resultados diferentes al tratarse de un mismo paciente y sobre todo aquellos con tratamiento de anticoagulantes, utilizamos el procedimiento manual y automático.

Al realizar un control de los factores de variación del tiempo de protrombina obtenemos resultados satisfactorios evitando la variación en un mismo paciente y sobre todo en pacientes anticoagulados, podemos decir que es un estudio que se justifica como un aporte investigativo que redundara en beneficio de los pacientes que los requieran y coadyuvara con el medico en el manejo de pacientes con tratamiento de anticoagulantes.



### III. OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GENERAL

Determinación de los factores de variación del tiempo de protrombina a través de dos procedimientos manual y automático.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar la curva de Calibración de Thivolle para los procedimientos manual y automático.
- Determinar el factor de variación de la temperatura del baño Maria en (37°C y 38°C) pacientes normales y anticoagulados por el procedimiento manual.
- Determinar el factor de variación del tiempo de conservación de los plasmas (de 3 a 4 horas) a temperatura ambiente por el procedimiento manual y automático en pacientes preoperatorios y anticoagulados.
- Comparar los resultados obtenidos por ambos procedimientos para definir el uso adecuado.
- 

### IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En el presente trabajo realizó la investigación de los factores de variación como ser la temperatura y el tiempo de conservación de los plasmas a temperatura ambiente que influyen en el resultado del tiempo de protrombina, si no existe un control adecuado realizamos por dos procedimientos.

**El procedimiento manual** como su nombre indica se trata de una técnica que no requiere de equipos sofisticados ni de mucho costo, sin embargo requiere destreza del operador, buenos reactivos y un buen procedimiento para dicha determinación.

**El procedimiento automático** consiste en emplear un equipo automático que en este caso es el coagulometro Ral Clot Sp.

El principio de reacción de este procedimiento no difiere en absoluto con la del proceso manual podemos decir que la diferencia radica en la destreza del operador para realizar la determinación.

Podemos considerar que ambos procedimientos presentan variaciones que se pueden verificar determinando los factores de variación en ambos casos y así de esta manera obtener resultados más confiables y validar el método correcto

## V. ANTECEDENTES DEL PROBLEMA

Las primera investigaciones de la coagulación fueron realizadas en el año 1815 por BUCHANAN, quién obtuvo un líquido en su investigación al exprimir un coagulo, capaz de coagular el liquido ascítico y al que por la propiedad de formar un trombo le denominó trombina.

En identificación de los llamados factores de la coagulación, en 1859, DENIS advirtió que mezclando una parte de sangre con otra de cloruro sódico, obtuvo un precipitado espontáneo mientras que el resto era incapaz de coagular. A la sustancia capaz de coagular se la denominó fibrinógeno por tratarse del precursor de la fibrina, que es una sustancia fribriosa que se encuentra en el coagulo frente a la hemáties, la misma que ya fue conocida por HIPOCRATES y GALENO durante en año 1820.

Otro investigador SCHMIDT en 1865, al no poder aislar la trombina del plasma dedujo que se formaba a partir de un precursor preexistente en ella, al que PEKELHARING denominó Protrombina o factor II.

Paralelamente otro dato interesante en el estudio de los factores de coagulación y el desarrollo de las pruebas de control de la misma, fue el descubrimiento de los anticoagulantes químicos, sustancias capaces de mantener in Vitro (fuera del organismo) la sangre sin coagular.

Posteriormente en el año 1890, M.A. ARTHUSH, por intermedio de la adición de oxalato cálcico a la sangre, consiguió que esta no se coagulase y observo que si a continuación adicionaba a esa mezcla cloruro cálcico, se producía la coagulación; por ello se atribuyo al Calcio un rol importante en la coagulación sanguínea denominándolo posteriormente Factor IV, nomenclatura Internacional.

20 años mas tarde los científicos CA, PEKELHARING y L. SABATINI descubriendo otro coagulante el citrato sódico, capaz también de mantener la sangre fluida, estas sustancias son empleados utilizando como agente anticoagulante en las pruebas de laboratorio para ele Studio de la Hemostasia

Por primera vez el investigador P. MORAWITZ, en el año 1905, relata el esquema de la coagulación de Tromboplastina tisular Factor III que actúa sobre la Protrombina transformando el Fibrinógeno o en Fibrina.

El inglés MELLANBY realizó una prueba de coagulación consistente de ver el tiempo que tardaba en coagular la sangre, a la que previamente añadió Oxalato Cálcico, y luego adicionó Cloruro Cálcico. Esta prueba la llevo a la práctica clínica W. HOWELL, nombre que es conocido.

Esta acción sirvió de base al descubrimiento de la prueba de Protrombina, y fue ARNALD QUICK que en el año 1935, realizó una prueba consistente en un tiempo de recalcificación en presencia de tromboplastina en exceso y conocida en la actualidad como tiempo de Protrombina o QUICK.

Así, KOLLER, A. LOELIER y F. DUCKERT, en la segunda mitad de los años 40 descubren otro factor denominado Procomvertina o Factor VII, en enfermos sangrantes pero que no padecían otros defectos de la coagulación conocidos hasta ese momento.

KAZMIR detecta que el test de QUICK explora defectos en otro factor, a demás del Factor VII y el Factor V, en el denominado Factor X o Factor Stuart. Esta descripción conlleva a la definición completa de la denominada vía extrínseca de la coagulación.

El Comité Internacional de Nomenclatura para los Factores de la Coagulación fundado por el suizo FRITZ KOLLER y otros colegas norteamericanos y europeos, decidieron designar a los Factores usando números romanos, así mismo la primera reunión de este comité se celebró el año 1959 en Montreux, Francia. Dado que el fibrinógeno fue el primer factor conocido de la coagulación le designaron con el nombre de Factor I.

MAC FARLANE, durante 1964 describe la cascada de la coagulación, hipótesis consistente en afirmar que un factor de la coagulación activa al siguiente pro enzima – enzima y que incluye dos vías, Extrínseca e Intrínseca.

Para la determinación del tiempo de Protrombina o tiempo de Quick aplicando procedimientos manual y automático, debemos aplicar el proceso que normalmente el ser humano tiene al formarse una barrera de coagulo para impedir la perdida de sangre en la parte lesionada, la cual se conoce como hemostasia y a su componente se la denominó tapón hemostático o coagulo sanguíneo. Su formación depende de proceso de coagulación sanguínea, que al producirse un traumatismo en la superficie interna de los vasos sanguíneos sin lesión seccionante se forma el coagulo en la superficie dañada lo que causa un estado anormal llamado trombosis.(2)

Que la sangre coagule o no depende de un equilibrio entre estos dos grupos de sustancias: Procoagulantes y Anticoagulantes. Normalmente predominan los anticoagulantes y la sangre sigue sin coagular, pero cuando se rompe un vaso la actividad de los Procoagulantes en la zona lesionada es mucho mayor que la de los anticoagulantes, desarrollándose un coagulo de sangre conocido con el nombre de trombosis cardiovascular. Este hecho tiene gran incidencia en la mortalidad de pacientes de diferentes edades, siendo la primera causa de hospitalización de los mismos, con repercusiones sociales y económicas clínico laboratorio.

Las trombosis se produce cuando hay un desequilibrio en la balanza a favor de las fuerzas Procoagulantes o la disminución de los factores inhibidores de la coagulación, que en el año 1974 es descrita por SEWITT como el mecanismo que genera la trombosis venosa.

Simultáneamente, WESLER elabora un modelo experimental de producción de trombosis venosa en los animales, procediendo a ligar una vena de sistema circulatorio, experimentó que con la detención conseguida con la ligación de una

extremidad no producida trombosis venosa; concluyendo que para lograr una trombosis venosa es necesaria la presencia de factores que activen la coagulación.

En la trombogénesis venosa, los factores fisiopatogénicos predominantes son dos: Disminución de la corriente sanguínea y la hipercoagulabilidad, los que están incluidos en el postulado de VIRCHOW.

El inicio de la trombosis, la formación del trombo se produce en el fondo de las válvulas sanguíneas por depósito de glóbulos rojos, acumulándose en forma de capas sucesivas separadas una de las otras por laminas blancas repletas de plaquetas, las que determinan el tamaño del trombo. El trombo venoso está formado fundamentalmente por redes de fibrina que engloban a los glóbulos rojos y en menor proporción a las plaquetas, es por ello que el tratamiento anticoagulante resulta más útil que utilizando antiagregantes plaquetarios.

Entre las graves complicaciones de las trombosis venosas profundas destacan la embolia pulmonar y la insuficiencia venosa, para cuyo diagnóstico, control y seguimiento, se requiere exámenes de laboratorio que valoren estas patologías.

Por este motivo la prueba de tiempo de protrombina es usada para valorar pacientes con patología vascular, la cual es influida por uno de los factores vitamina K dependientes, factor I, II, V, VII, y X; para realizar dicha prueba, se utiliza como reactivo un extracto tisular denominado tromboplastina cálcica que activa la vía extrínseca de la coagulación. Esta prueba mide la capacidad de la coagulación del plasma en presencia de este extracto tisular y calcio. Como esta prueba es dependiente de la sensibilidad de la tromboplastina que se emplea, se ha observado la existencia de la diferencia de resultados que puede deberse al tipo de tromboplastina que se usa al tipo (tromboplastina humana, conejo y bovino) y para no tener diferencias de resultados en los laboratorios, la Organización Mundial de la Salud conjuntamente con el "Comité Internacional de Trombosis y Hemostasia", recomiendan que los resultados de tiempo de protrombina de los pacientes en terapia con anticoagulantes orales incluyan los valores de Índice Normalizado de Referencia INR, el mismo que debe ser igual o similar con cualquier marca de tromboplastina cálcica y en cualquier laboratorio que se realice.(2)

## **VI. MARCO TEÓRICO**

### **VI.1 HEMOSTASIA**

#### **VI.1.1.DEFINICIÓN**

La hemostasia se define como un complejo proceso que permite la detención espontánea o artificial de un flujo sanguíneo o hemorragia causada por daño al sistema vascular. Incluye un conjunto de mecanismos fisiológicos o naturales que dispone el organismo para hacer frente a una hemorragia.

#### **VI.1.2. CLASIFICACIÓN**

La hemostasia se divide en una secuencia de fases que son:

#### **VI.1.3. HEMOSTASIA PRIMARIA**

En respuesta al daño vascular comienza con una fase de vasoconstricción parietal con liberación de factores tisulares de coagulación para continuar con una fase endotelial trombocitaria mediada por activación de plaquetas.

La secuencia de fenómenos en la hemostasia primaria es:

- ❖ Lesión vascular
- ❖ Vasoconstricción mediada por serotonina
- ❖ Adhesión de plaquetas a la matriz subendotelial expuesta
- ❖ Activación plaquetaria
- ❖ Agregación reversible de plaquetas
- ❖ Liberación de factores plaquetarios
- ❖ Inicio de la síntesis de factores de coagulación: Trombina
- ❖ Agregación irreversible de plaquetas mediada por trombina

En esta fase, el rol plaquetario es trascendental ya que contiene gránulos con sustancias activas a nivel prohemostático, procicatrizantes, y activadoras plaquetarias.

Los gránulos específicos de las plaquetas se clasifican en gránulos alfa que contienen proteínas específicas plaquetarias como P-selectina, -tromboglobulina, Factor plaquetario 4 (FP4) y proteínas comunes con el plasma como fibrinógeno, albumina.

Los gránulos densos por otro lado, contienen serotonina, pirofosfato, ADP, Ca<sup>2+</sup>, cationes.

El resultado de la hemostasia primaria es la formación de un tapón inestable de plaquetas en aproximadamente 3 – 5 minutos después de la lesión vascular.(3)

#### **VI.1.4. COAGULACIÓN**

La conversión del fibrinogeno del coagulo blando (soluble) a fibrina del coagulo duro (insoluble) se produce mediante la activación plaquetaria primaria que induce la fase de formación de trombina o fase independiente que conduce a la activación del Factor X, y es caracterizada por la activación de la cascada de enzimática, la cual produce una reacción en cadena que permite amplificar el efecto de factores de coagulación presentes a bajísimas concentraciones en la sangre. Esta activación es necesaria ya que los factores de coagulación se encuentran en forma de precursores inactivos proenzimas o zimogenos.

La secuencia de activación puede llevarse por dos vías características que son:

Vía intrínseca o endógena: Es lenta y esta mediada por factores humorales Factor XII, XI, VIII, IX, precalicreina, y kininogeno de alto peso molecular.

Vía extrínseca o exógena: Esta mediada por factores tisulares Factor III y VII y es rápida comparada con la vía intrínseca

Ambas confluyen en una fase común para la formación final de trombina por Factor Xa, Factor X, V, y II.

La fase de formación de fibrina o fase dependiente, finalmente produce una red insoluble proteica, mediante la hidrólisis del fibrinógeno por factor XIII, después de 5 a 10 minutos del fin del proceso, este termina en un coagulo fijado y estabilizado.

#### **VI.1.5. FIBRINÓLISIS**

En esta fase se produce la cicatrización del tejido vascular lesionado y la destrucción de la red de fibrina que forma el coagulo sanguíneo, proteólisis mediada por la plasmina, enzima hallada en el plasma circulando en forma de precursor inactivo plasminogeno. La fibrinólisis es activada simultáneamente a la coagulación por lo que ambas ocurren en un equilibrio fisiológico.

La plasmina actúa localmente dentro del coagulo y es inmediatamente inactivada en los fluidos sistémicos del cuerpo.

Si se forma un exceso de plasmina se puede hidrolizar el fibrinógeno y degradar los factores V y VIII.

Los productos de degradación de la fibrina (FDP) formados por la acción de la plasmina son eliminados por los macrófagos. Un exceso de FDP puede inhibir el agrupamiento plaquetario y la polimerización del fibrinógeno.

El resultado tras 48 a 72 horas es la estabilización al estado de hemostasia normal.(3)

## VI.2 ETIOLOGÍA Y PATOGENIA

Las púrpuras constituyen la expresión clínica de los defectos de la hemostasia primaria relacionados con las alteraciones de los vasos y plaquetas, es posible diferenciarlas clínicamente de las alteraciones de los factores plasmáticos, agrupándose en dos grandes síndromes expuestos en el siguiente esquema:



Dentro del Síndrome Purpurino hemorrágico se tienen las alteraciones de la fase vascular, en las cuales se altera la integridad de la pared de los vasos, sobre todo a nivel de la microcirculación, los que pueden producir fenómenos hemorrágicos.(4)

### VI.2.1 CLASIFICACIÓN

#### VI.2.2. DEFECTOS HEREDITARIOS

Entre ellos conviene recordar:

- **Telangiectasia hereditaria hemorrágica (enfermedad de Osler-Rendu-Weber)**

Es una afección que se transmite con carácter autosómico dominante simple en ambos sexos, que se caracteriza por la existencia de nódulos múltiples constituidos

por dilataciones visibles de arteriolas y capilares, localizados en la piel (frente, pómulos, orejas y pulpejos digitales), en las membranas mucosas y en el parénquima de algunos órganos (en el pulmón en forma de fístulas arteriovenosas).

Las manifestaciones clínicas que permiten el diagnóstico son las hemorragias localizadas repetidas (epistaxis, hemoptisis, gastrorragia, melenas, etc.), la historia familiar, las lesiones cutáneas y mucosas visibles, junto con la normalidad de las pruebas de exploración de la función hemostática.

En esta afección, la pared de los vasos de la microcirculación, muy adelgazada está reducida al endotelio.

### **- Angiopatía de Von Willebrand**

Se transmite con carácter autosómico dominante simple y sin predominio por un sexo; clínicamente se manifiesta por hemorragias localizadas (epistaxis, gingivorragias). Tras un leve traumatismo pueden producirse extensas equimosis y después de una intervención quirúrgica, hemorragias graves.

Este síndrome, descrito inicialmente por Von Willebrand en habitantes de las islas Aaland, presenta, sobre la descripción original de "parahemofilia hereditaria", otras variedades como son la asociación con un déficit en el factor VIII (globulina antihemofílica) e incluso en algunos pacientes defectos en la acción del factor necesario para la agregación plaquetaria.

En la forma pura vascular, angiopatía de Von Willebrand, el tiempo de hemorragia está alargado sin alteración plaquetaria ni plasmática.

### **- Síndrome de Ehlers-Danlos**

Es una rara afección transmitida con carácter dominante simple, debida a una displasia mesenquimatosa congénita.

La piel se encuentra excesivamente elástica, muy plegable, las articulaciones hiperextensibles y los capilares extremadamente frágiles porque les falta el tejido conectivo perivascular de sostén y apoyo.

Pueden presentarse hemorragias subcutáneas ante traumatismos mínimos y la cicatrización de las heridas operatorias desarrollarse con dificultad (peligro de evisceración en la cirugía abdominal).

La prueba del lazo es positiva en estos pacientes, siendo ésta la única alteración del mecanismo hemostático. (4)



### **VI.2.3. DEFECTOS ADQUIRIDOS**

#### **- Síndrome de Schönlein-Henoch (púrpura reumatoidea)**

Proceso más o menos generalizado de la microcirculación, de carácter inflamatorio (angeítis o endotelitis) que se manifiesta por hemorragias cutáneas (púrpura) y erupciones no purpúricas, dolores articulares, dolores cólicos e incluso invaginaciones intestinales, hematuria, pleuritis, pericarditis e iritis. Casi exclusiva de los niños en la segunda infancia y en la adolescencia.

Este síndrome se origina a partir de una reacción antígeno-anticuerpo; el antígeno puede ser bacteriano (estreptocócico) o medicamentoso e incluso alimentario. La cifra de plaquetas es normal.

#### **- Púrpura carencial por avitaminosis C (escorbuto)**

La sustancia intercelular endotelial precisa del ácido ascórbico para su síntesis; en la avitaminosis C se produce una insuficiencia de la función hemostática de la pared vascular (hemostasis estática). La prueba del lazo es positiva, con cifra de plaquetas normal.

Son bien conocidas las manifestaciones hemorrágicas del escorbuto: hemorragias cutáneas, hematomas subperiósticos, gingivorragias, etc. Esta afección es hoy muy rara. En los niños puede observarse el escorbuto infantil de Möller-Barlow. En estos pacientes, la sintomatología hemorrágica se une a las dificultades en la curación de la herida operatoria.

#### **- Púrpuras de las enfermedades infecciosas**

Estas manifestaciones colaterales, de escaso interés quirúrgico, pueden presentarse en la difteria, viruela, escarlatina, fiebre tifoidea, fiebre reumática, infecciones meningocócicas y neumocócicas.

#### **- Otras púrpuras**

En los diabéticos e hipertensos por fragilidad capilar, en los ancianos, por insuficiente protección de los pequeños vasos en razón de la pérdida progresiva de la grasa subcutánea, se pueden presentar manifestaciones hemorrágicas subcutáneas.(4)

### **VI.2.4. DEFECTOS CUANTITATIVOS**

#### **- Trombocitopenias primarias**

En este grupo no es conocida la causa de la disminución de las plaquetas en la sangre circulante. La entidad que representa a las formas primarias es la púrpura trombocitopénica idiopática o enfermedad de Werlhof.

Es afección frecuente, que puede aparecer en todas las edades, aunque con predilección para niños y jóvenes y predominio en el sexo femenino. No tiene carácter hereditario. Aunque su causa no es conocida, es probable que se trate de una reacción inmunológica antígeno-anticuerpo que disminuye la vida media de las plaquetas, siendo el papel del bazo importante pero no exclusivo en la génesis del proceso, destruyendo las plaquetas previamente afectadas.

Sus manifestaciones clínicas (petequias, equimosis, epistaxis, gingivorragias, gastrorragias, melenas y hematurias, etc.) pueden presentarse de forma aguda (comienzo brusco en niños, tras un proceso infeccioso) o crónica (evolución con crisis de exacerbación y mejoría en adultos jóvenes). No suele estar aumentado el volumen del bazo.

La cifra de plaquetas está muy disminuida (menos de 30.000 por  $\text{cm}^3$ ), el tiempo de hemorragia se encuentra prolongado y la prueba del lazo es positiva.

El número de megacariocitos está aumentado en la medula ósea, con alteraciones en su proceso de maduración.(4)

#### **- Trombocitopenias secundarias**

Son también llamadas sintomáticas puesto que aparecen como epifenómenos en distintas intoxicaciones y enfermedades.

Se pueden distinguir dos grandes variedades:

- a. Trombocitopenias secundarias amegacariocíticas, en las que la causa actúa a nivel de los megacariocitos progenitores de las plaquetas.
- b. Trombocitopenias secundarias megacariocíticas, con acción periférica de la causa responsable, actuando sobre las plaquetas circulantes.

Las trombocitopenias amegacariocíticas, con destrucción o inhibición funcional de los megacariocitos, pueden producirse por depresión de la medula ósea de origen infeccioso, tóxico (benzol), radiactivo, neoformativo, hipoplásico, aplásico o mielosclerótico. En estos casos, la trombocitopenia suele encuadrarse dentro de una panhemocitopenia.

Las trombocitopenias megacariocíticas se producen por el "contacto" con un agente externo con el consiguiente choque de sensibilización en el paciente. Este agente puede ser medicamentoso (sedormid, barbitúricos, meprobamato, quinina, piramidón, sulfamidas, estreptomina, quinidina, tolbutamida, clorotiacida, etc.), alimentario y por intoxicación (DDT, tintes de cabellos).

Las trombocitopenias del hiperesplenismo son probablemente mixtas, ya que el aumento de la función esplénica (en la hipertensión portal, en las infecciones crónicas, en las trombosis de la vena esplénica, etc.), si bien inhibe la función de los megacariocitos en la médula ósea, también destruye más plaquetas de la sangre circulante, secuestradas en el bazo.

También cabe incluir en el grupo de las trombocitopenias secundarias megacariocíticas a las producidas por el secuestro de grandes cantidades de plaquetas en la sangre circulante (como sucede en los hemangiomas infantiles gigantes), a una destrucción excesiva en circunstancias anormales (circulación extracorpórea y prótesis valvulares cardíacas) y a una brusca dilución (transfusiones masivas con sangre pobre en plaquetas).(4)

#### **- Trombocitosis**

El aumento del número de plaquetas puede ser fugaz o transitorio y, en este caso, conviene utilizar el término de trombocitosis. Este aumento debe de superar la cifra de 500.000 por  $\text{mm}^3$ . Se presentan como reacciones sintomáticas a otros procesos: infecciones, hemorragias, carcinomas, tuberculosis esplénica y, sobre todo, después de una esplenectomía. Estas trombocitosis no suelen producir fenómenos hemorrágicos.

#### **- Trombocitemias**

Cuando el aumento del número de las plaquetas se presenta con carácter indefinido, usaremos el término de trombocitemias.

Las trombocitemias pueden ser asociadas a otras hemopatías, tales como la policitemia vera, la leucemia mieloide crónica la osteomielorreticulosis y la enfermedad de Hodgkin.

Las formas esenciales de la trombocitemia son dos: la trombocitemia esencial hemorrágica y la trombocitemia esplenomegálica no hemorrágica. Desde el punto de vista quirúrgico tiene gran interés conocer que una afección que curse con aumento de la cifra de sus plaquetas puede producir graves hemorragias.

Los fenómenos hemorrágicos de la trombocitemia esencial pueden ser espontáneos o provocados por traumatismos accidentales y quirúrgicos. Las hemorragias cutáneas se presentan en forma de amplias equimosis.(5)

### **VI.2.5. DEFECTOS CUALITATIVOS CONGÉNITOS CON COAGULACIÓN NORMAL**

#### **- Tromboastenia de Glanzmann**

Afección que, heredada con carácter autosómico recesivo, se caracteriza por un alargamiento del tiempo de hemorragia con una cifra normal de plaquetas, ausencia de agregación de éstas con la adición del ADP y retracción del coágulo nula o muy disminuida (esta afectación de la función trombotinámica se pone de manifiesto en la gráfica del tromboelastograma). Clínicamente la enfermedad se caracteriza por la existencia de púrpura cutaneomucosa espontánea (equimosis, epistaxis, gingivorragias) sin derrames sanguíneos articulares. Una intervención quirúrgica puede provocar una hemorragia visceral postoperatoria muy grave.(6)

**- Disminución selectiva de la adhesividad y agregación plaquetaria (atrombia de Inseman)**

Con fenómenos hemorrágicos desde la infancia. La retracción del coágulo es normal.

**VI.2.6. DEFECTO DE AGREGACIÓN AL COLÁGENO (SÍNDROME DE PORTSMOUTH)**

Descrito en un grupo de pacientes que desde la pubertad presentaban hematomas espontáneos y graves hemorragias después de intervenciones quirúrgicas.

El tiempo de hemorragia se encuentra alargado, con ausencia de adhesión y agregación frente al tejido colágeno, mientras que las demás pruebas de la hemostasia son normales.

**VI.2.7. DEFECTOS CUALITATIVOS CONGÉNITOS CON COAGULACIÓN ANORMAL**

**- Déficit familiar del factor plaquetario 3**

El tiempo de hemorragia se encuentra alargado con plaquetas grandes; todas las funciones dinámicas plaquetarias (adhesividad, agregación con ADP, agregación con colágeno, función trombotinámica y retracción del coágulo) son normales pero se encuentra un déficit del factor plaquetario 3, con repercusión sobre la coagulación plasmática.

Se ha interpretado la anomalía plaquetaria como un engrosamiento de la membrana ("paquidermia plaquetaria") que dificultaría la liberación del factor 3.

**- Enfermedad de Von Willebrand**

Dado que es un trastorno complejo y aún misterioso y presenta alteraciones de la calidad de las plaquetas (acaso déficit del factor 3 y también disminución de la adhesividad y agregación plaquetarias), debe de ser considerada también en el grupo de las púrpuras trombocitopáticas.(6)

**VI.2.8. DEFECTOS CUALITATIVOS ADQUIRIDOS**

**▪ Trombocitopatías urémicas**

En el estado urémico se altera la adhesividad y la agregación de las plaquetas, así como la formación del factor plaquetario 3.

Se presentan epistaxis, hemoptisis y púrpuras con alargamiento del tiempo de hemorragia.(6)

- **Trombocitopatías de las hepatopatías crónicas**

Se trata de unas diátesis hemorrágicas muy complejas de gran interés quirúrgico (cirugía de la hipertensión portal). La afectación del primer tiempo (endotelio-plaquetario) de la hemostasia, es debida a la disminución del número de las plaquetas, muy frecuente en los cirróticos, a causa de un hiperesplenismo. Pero también se ha podido demostrar una disminución de la adhesividad plaquetaria.(7)

- **Trombocitopatías en las gammpatías monoclonales**

En la macroglobulinemia de Waldeström y en la enfermedad de Kahler, la deposición de las globulinas anómalas sobre la membrana plaquetaria, impide la liberación del factor 3, alterando el mecanismo de la coagulación y las funciones dinámicas de las plaquetas.

- **Trombocitopatías de los síndromes mieloproliferativos**

En estos síndromes, la alteración cualitativa de las plaquetas, en número aumentado (trombocitosis), explica las hemorragias. El tiempo de hemorragia está alargado, la adhesión de las plaquetas al colágeno disminuida, así como la agregación con ADP.

El tromboelastograma pone de manifiesto un aumento patológico de la retracción del coágulo que puede provocar su desprendimiento precoz de las paredes del vaso.

- **Trombocitopatías de las cardiopatías congénitas**

Las funciones dinámicas y plasmáticas de las plaquetas suelen estar alteradas pero la génesis del trastorno no es bien conocida, estimándose que la trombocitopatía puede ser debida tanto a factores mecánicos (traumatismo de las plaquetas por el defecto cardíaco) como a congénitos asociados a la cardiopatía.

- **Trombocitopatías en la coagulopatía de consumo**

En este interesante síndrome se ha demostrado alteración cualitativa de las plaquetas que pudiera ser ocasionada por la fijación del ADP a los productos degradativos del fibrinógeno, impidiendo que fueran utilizados por las plaquetas, en una acción competitiva.

- **Trombocitopatías por aspirina y otros fármacos**

La acción de la aspirina parece consistir en impedir la liberación del ADP por las plaquetas, necesario para la agregación. También los salicilatos y la fenilbutazona parecen interferir esta función plaquetaria.

### ▪ Trombocitopatía por "dextrano 70"

El dextrano de peso molecular elevado (70.000) puede producir una diátesis hemorrágica, probablemente por el depósito de las moléculas de dextrano en la membrana de la plaqueta impidiendo la adhesión y la agregación. El dextrano de bajo peso molecular no produce este trastorno.

## **VI.3. DROGAS ANTICOAGULANTES**

### **VI.3.1 DEFINICIÓN**

Existen situaciones en que las personas tienden a producir coágulos en forma excesiva, los cuales suelen ser peligrosos, ya que pueden desplazarse por el cuerpo y tapan una arteria, vena o vaso sanguíneo. De esta manera, cuando una persona presenta una alteración en la coagulación, o está en riesgo de presentarla, es necesario comenzar con un tratamiento anticoagulante.

El tratamiento anticoagulante oral (TAC), consiste en la administración de medicamentos, que inhiben la acción de la vitamina K en el hígado. La vitamina K, es necesaria para fabricar los elementos que intervienen en la formación del coágulo, impidiendo de esta manera la formación de éste. Es importante señalar, que el anticoagulante previene y evita la formación de coágulos, pero no disuelve los ya formados.

Los exámenes que se utilizan, para monitorizar el tiempo que demora en coagular la sangre en aquellos pacientes que están bajo tratamiento anticoagulante oral, son:

INR: Su valor, se obtiene a partir del TP, es importante medirlo porque:

- Si el valor de INR está elevado, aumenta el riesgo de hemorragias
- Si el valor de INR está dentro del rango terapéutico indicado para la persona, el tratamiento anticoagulante oral, es efectivo.
- Si el valor de INR está por debajo del rango terapéutico, aumenta el riesgo de formar coágulos.

Tanto los valores de TP como los de INR, pueden variar según el nivel de anticoagulación que se desea lograr, en cada paciente.

Es importante señalar además, que la duración, dosificación y cambios en el tratamiento son determinados exclusivamente por el médico y dependen de la persona, en relación a la edad, sexo, dieta, enfermedades simultáneas, etc.(8)

### **VI.3.2 TIPOS DE ANTICOAGULANTES**

En medicina y farmacia, un anticoagulante es una sustancia endógena o exógena que interfiere o inhibe la coagulación de la sangre, creando un estado prohemorrágico.

Dentro de las sustancias endógenas:

- antitrombina
- anticoagulante lúpico
- inhibidores de factores de coagulación de las paraproteínas

Las sustancias exógenas, fármacos:

- Heparinas no fraccionadas (heparina sódica)
- Heparinas de bajo peso molecular (HBPM)
- Anticoagulantes orales

La antitrombina es una pequeña molécula que desactiva varias enzimas de la coagulación. La afinidad por éstas (su efectividad) está potenciada por la heparina. Acelerando la acción de la antitrombina III en 1000 veces.

La antitrombina III (abreviada como AT-III) es una glucoproteína formada por una cadena de 432 aminoácidos con un peso molecular de 58 kDa. Es un inhibidor de la coagulación a través de la neutralización de la trombina.

El anticoagulante lúpico es un test funcional de laboratorio que detecta un fenómeno producido por anticuerpos específicos para las fosfolipoproteínas o componentes lipídicos de los factores de la coagulación que se encuentra en pacientes con lupus eritematoso y síndrome antifosfolípidos primario. Consiste en un aumento del tiempo de tromboplastina parcial y se asocia con trombosis arterial y venosa, pérdida del feto y trombocitopenia.

La heparina es un anticoagulante usado en varios campos de la medicina. Es una cadena de polisacáridos con peso molecular entre 4 y 40 kDa. Biológicamente actúa como cofactor de la antitrombina III, que es el inhibidor natural de la trombina. Es un glucosaminoglucano formado por la unión de ácido-D-glucorónico o ácido L-idurónico más N-acetil-D-glucosamina, con una repetición de 12 a 50 veces del disacárido, y se encuentra naturalmente en pulmones, hígado, piel y células cebadas (mastocitos).(9)

Su obtención industrial es a partir de pulmón bovino y de mucosa intestinal de cerdo. Inhibe la acción de varios factores de la coagulación (IIa, IXa, Xa, XIa, XIIa), además de tener cierta acción sobre las plaquetas y el sistema fibrinolítico.

La heparina clásica ejerce su efecto anticoagulante acelerando la formación de complejos moleculares entre la antitrombina III y los factores II (trombina), IX, X, XI, XII, los que quedan inactivados. Sin embargo, los factores más importantes que quedan inactivados son el factor II y el factor X.

Las heparinas de bajo peso molecular son una nueva clase de anticoagulantes derivados de la heparina estándar por despolimerización enzimática o química, en fragmentos de aproximadamente una tercera parte de la heparina, se unen a ATIII, pero también a otros componentes de la cascada de la coagulación y en

consecuencia disminuyen su capacidad anticoagulante, varían en efectividad para prevenir trombosis, son menos tóxicas, particularmente en términos de hemorragia.

El peso molecular oscila entre 1,000-10,000, las que tienen peso menor a 5,000, tienen entre 16 y 20 monosacáridos por molécula, no suficientes para unirse a trombina y sólo inhiben el factor Xa, todas tienen secuencia común de pentasacáridos para unirse a ATIII, reducida unión a proteínas, menor unión a macrófagos y células endoteliales, con incremento en la vida media plasmática, menor efecto sobre las plaquetas, mayor biodisponibilidad y eliminación por vía renal.

Están indicadas en prevención y tratamiento de trombosis venosa, han demostrado reducir su incidencia en pacientes sometidos a cirugía de cadera y rodilla hasta en 70 por ciento, sin incremento en el riesgo de hemorragia, son seguras y efectivas en el tratamiento de tromboembolismo venoso; en la actualidad se compara su utilidad con la heparina estándar en el manejo de pacientes con angina inestable e infarto del miocardio sin onda Q y asociado a trombólisis en el infarto del miocardio con onda Q.

Tienen la ventaja que prácticamente se elimina la necesidad de monitoreo, en general son suficientes una a dos aplicaciones por día, no cruzan la barrera placentaria, tienen baja incidencia de osteoporosis, se proyectan como alternativa interesante para tratamiento a largo plazo, incluso en combinación con warfarina.(10)

Tienen los mismos inconvenientes de la heparina estándar para actuar sobre la trombina unida al estándar para actuar sobre la trombina unida al coágulo y para inducir trombocitopenia con base inmune.

Los anticoagulantes orales pertenecen a dos grandes familias de drogas: las cumarinas y las inandionas. Los anticoagulantes cumarínicos (dicumarol y warfarina sódica), son derivados sintéticos de la 4-hidroxicumarina. Los derivados de la inandiona (anisindiona), del indan-1,3-diona. Como se ha indicado antes, ambos grupos actúan inhibiendo la síntesis de los factores II, VII, IX y X, interfiriendo con la gammacarboxilación. El resultado es la síntesis de factores disfuncionales que son detectables con métodos inmunológicos, pero que no muestran actividad coagulante adecuada (P.I.V.K.A.). Al mismo tiempo, y por el mismo motivo, interfieren en la síntesis de las proteínas C y S, lo que tiene importantes implicaciones que luego comentaremos.

A diferencia de la heparina, los anticoagulantes orales no tienen actividad anticoagulante per se. Debido a que estos fármacos no alteran el catabolismo de los factores de coagulación, los efectos anticoagulantes sólo aparecerán cuando se alcance un descenso suficiente de los niveles de dichos factores que dependerán de su tasa individual de degradación. Al mismo tiempo, el descenso de los niveles de proteína C, con actividad inhibidora de la coagulación, dada su vida media más corta, determinará un riesgo tromboembólico aumentado hasta que se alcancen los niveles de anticoagulación necesarios.



Proteína	Vida media
Factor II	60 horas o superior
Factor VII	4 a 6 horas
Factor IX	20 a 24 horas
Factor X	48 a 72 horas
Proteína C	6 horas
Proteína S	42 horas

La warfarina se presenta comercialmente como una mezcla racémica de dos estereoisómeros; R y S, siendo el segundo 5 veces más potente como antagonista de la vitamina K, mientras que el isómero R tiene una vida media más larga, lo que hace que contribuya en mayor medida a los efectos anticoagulantes debido a su acumulación.(10)

#### **VI.4. METABOLISMO DE LOS ANTICOAGULANTES**

##### **VI.4.1.ABSORCIÓN**

Se realiza por vía oral, de forma completa en el caso de la warfarina y menos regularmente en el caso de los cumarínicos. Los alimentos disminuyen la tasa de absorción pero no la impiden. También pueden absorberse por vía percutánea, provocando severas intoxicaciones en individuos que manipulan raticidas.

##### **VI.4.2. DISTRIBUCIÓN**

Los anticoagulantes orales circulan ligados a las proteínas en un 97 % o más, fundamentalmente a la albúmina, repartiéndose por todo el organismo y cruzando la barrera hematoencefálica y la placenta y alcanzando en el niño niveles plasmáticos similares a los de la madre. El dicumarol y la anisindiona se distribuyen en la leche. Por el contrario no lo hace la warfarina, por lo que es fármaco de lección en las pacientes que amamantan a sus hijos.

##### **VI.4.3. ELIMINACIÓN**

In vivo, tanto los derivados de la cumarina, como de la inandiona, como sus diversos isómeros, difieren en la vida media plasmática, el tiempo requerido para alcanzar los niveles deseados de anticoagulación y en la duración del efecto anticoagulante. Por este motivo es necesario someter a los pacientes a un estricto control para asegurar un correcto tratamiento.

#### **VI.4.4. INTERACCIONES**

Las interacciones farmacológicas son muy frecuentes. Algunos fármacos pueden aumentar la sensibilidad de los pacientes a los A.O.: disminuyendo la síntesis intestinal de vitamina K o interfiriendo con su absorción, distribución o metabolismo; disminuyendo el metabolismo del anticoagulante por inhibición competitiva con los lugares donde se ha de realizar, o inhibiendo la función o la síntesis de las enzimas implicadas en éste; aumentando la afinidad de los anticoagulantes por sus receptores; disminuyendo la síntesis o aumentando el catabolismo de los factores de coagulación; interfiriendo con otros componentes de la hemostasia, como las plaquetas o la fibrinólisis.

Otras drogas pueden disminuir la respuesta de los pacientes: disminuyendo la absorción; aumentando el metabolismo por inducción enzimática; aumentando la síntesis de los factores de coagulación.

Debido a la complejidad de las interacciones es difícil predecir la respuesta individual a los fármacos. En la siguiente tabla se muestran algunas de las principales.(11)

#### **VI.4.5. CONTROL DE LA ANTICOAGULACIÓN**

##### **a) Expresión de la actividad anticoagulante**

En 1936, Quick observó que el tiempo de protrombina, descrito por él mismo en 1935, se hallaba prolongado en pollos alimentados con dietas carentes en sustancias liposolubles y también cuando la dieta se basaba en el trébol dulce deteriorado, como ya había sido descrito por Schofield en 1922 en el ganado. La sustancia responsable fue aislada por Link en 1941, como cumarol, un derivado de la cumarina.

El uso de los anticoagulantes orales en el tratamiento de la enfermedad tromboembólica se inició en 1941, cuando Butt y sus colaboradores utilizaron el dicumarol por primera vez. El uso clínico de la warfarina se introdujo en 1951.

Desde un principio se hizo evidente el escaso margen terapéutico de estos fármacos y la necesidad de establecer un cuidadoso control analítico. El control del nivel de anticoagulación se realiza mediante el tiempo de protrombina. Consiste en la activación del factor VII mediante un extracto de factor III de diverso origen, añadido de fosfolípidos y calcio iónico: tromboplastina cálcica, y la medida del tiempo de aparición del coágulo de fibrina.

La mayor parte de las tromboplastinas comerciales son extractos de cerebro de diversos animales: conejo, buey, de origen humano, aunque recientemente se han puesto en el mercado tromboplastinas recombinantes. Debido a las diferencias en los métodos de extracción y a la composición de los tejidos, las tromboplastinas obtenidas muestran propiedades procoagulantes muy diferentes.

Por este motivo, desde los primeros tiempos de la descripción del test, se intentó algún tipo de estandarización. En un primer momento se introdujo la expresión del tiempo de protrombina como el porcentaje de la actividad de un lote de plasmas obtenidos de individuos normales, lo que se conoció como índice de Quick.(12)

La falta de reproductibilidad entre las distintas tromboplastinas, y dentro de ellas, entre los distintos laboratorios, hizo que se introdujera la razón (ratio) entre el valor en segundos obtenido en el plasma del paciente y el obtenido con un plasma, o lote de plasmas, reputado como "normal". Los primeros rangos de anticoagulación se establecieron, con tromboplastinas de conejo de muy baja sensibilidad, para razones entre 1,5 y 3,0, en 1942 por Allen y colaboradores, siendo modificados por Quick a valores entre 2,0 y 2,5.

Zucker demostró que el nivel de anticoagulación terapéutico de las tromboplastinas humanas era mucho más elevado que el de las derivadas del cerebro de conejo: razones de 1,8 a 3,0 en las humanas, rango utilizado por los británicos, se correspondían a 1,3-1,7 en las de conejo y razones de 2,0 a 2,5, rangos utilizados en Estados Unidos, con valores de 4,5 a 6,0 con las humanas, lo que resultaba excesivo.

Tromboplastina	Nivel terapéutico	Equivalencias
Conejo (E.E.U.U.)	2,0 a 2,5	4,5 a 6,0
Humana (G.B.)	1,8 a 3,0	1,3 a 1,7

Parecía evidente que el principal problema estaba en la carencia de un método de fabricación de la tromboplastina que proporcionara un producto de características homogéneas. La recomendación del British System of Anticoagulant control del uso de tromboplastinas de cerebro humano, altamente sensibles, llevó al profesor Leon Poller y su equipo a desarrollar la Manchester Comparative Reagent (M.C.R.).

Se obtuvo, pues, una tromboplastina sujeta a rigurosos controles de fabricación, de una alta sensibilidad que pudiera ser considerada como reactivo de referencia y que fue utilizada en el reino Unido desde 1970 hasta 1984. Esta tromboplastina fue el embrión de la segunda Tromboplastina de Referencia Primaria de la O.M.S., la B.C.T/253.

Así surgió la tromboplastina británica de referencia (B.R.C.) de cerebro humano o el Trombotest de Owren, de cerebro bovino adicionado de plasma bovino absorbido como fuente de factor V y fibrinógeno.

Sustituyendo los tiempos por las razones entre los tiempos obtenidos del paciente y del control y hallando antilogaritmos, se obtiene:

$$I.N.R. = \left( \frac{\text{Pr oblema}}{\text{Control}} \right)^{I.S.I}$$

Elevando la razón simple al valor del I.S.I., se obtendrá el valor que se habría conseguido utilizando la tromboplastina de referencia: el I.N.R. o Razón Internacional Normalizada.(12)

Este I.N.R. sólo debe ser utilizado para el control de la anticoagulación oral y nunca en pacientes normales ni para evaluar la función hepática, ya que se calcula a partir de tromboplastinas diseñadas para obtener una alta sensibilidad a los déficits de los factores vitamina K dependiente, y su uso con otros fines podría resultar inconveniente y hasta peligroso.

Todo lo anteriormente descrito se diseñó utilizando el método manual clásico. Recientemente se ha establecido que el valor del I.N.R. sufre modificaciones con los diferentes autoanalizadores, postulándose la conveniencia de realizar calibraciones en los distintos laboratorios de control de anticoagulación, utilizando plasmas frescos o liofilizados.

También la presencia del anticoagulante lúpico influye en los valores del I.N.R. obtenidos, por lo que algunos autores recomiendan el uso de test que no se vean afectados por él, como el tiempo de protrombina-proconvertina o la medida de la actividad cromogénica del factor Xa.

Actualmente existen varias tromboplastinas calibradas con la I.R.P. 67/40, de distinto origen. Por definición a la tromboplastina I.R.P. 67/40 se le adjudica un I.S.I. de 1,0. Las restantes tromboplastinas se calibran directa o indirectamente frente a ella en estudios multicéntricos. A continuación representamos las relaciones entre las principales tromboplastinas de referencia

Actualmente la O.M.S. dispone de las siguientes tromboplastinas de referencia: humana C.R.M. 147, bovina C.R.M. 148 y de conejo C.R.M. 149S. (12)

#### **VI.4.6. DEFINICIÓN DEL INDICE DE SENSIBILIDAD INTERNACIONAL ISI Y RAZÓN INTERNACIONAL NORMALIZADA RIN CONOCIDO COMO INR.**

Según la definición de la OMS del índice de Sensibilidad Internacional ISI es:

“La pendiente de la recta de calibración, obtenida en un gráfico doble logarítmico, donde se representan en ordenadas los tiempos de coagulación obtenidos con la preparación internacional de referencia y en abscisas tiempo obtenidos con la tromboplastina en estudio”.

Relaciona los tiempos obtenidos en cualquier tromboplastina con los tiempo que se obtendrían al usar la tromboplastina internacional de referencia.

El Cociente Normalizado Internacional o International Normalized Ratio, es el cociente entre el tiempo de coagulación del plasma problema y tiempo de coagulación de un plasma normal que podría obtenerse si se hubiera utilizado la preparación de referencia, para calcularlo se utiliza la siguiente expresión:

$$CNI = R^{ISI}$$

Cuya explicación es R cociente o razón del tiempo de protrombina y se obtiene el tiempo de Protrombina del paciente problema, dividido por el tiempo de Protrombina del paciente control.

Para los parámetros anteriores ISI, INR nos permite superar en principio, las discrepancias entre los resultados obtenidos por un mismo plasma problema con tromboplastinas de distinto origen y sensibilidad.

Toda tromboplastina debe estar calibrada frente al patrón internacional para obtener su propio Índice de Sensibilidad internacional ISI, realizada mediante la comparación de los tiempos obtenidos, tanto en plasma normales como patológicos, con la preparación en estudio y la Tromboplastina de referencia internacional.(13)

## **VI.5. TIEMPO DE PROTROMBINA**

### **VI.5.1 DEFINICIÓN**

La protrombina (factor II de coagulación) es una proteína plasmática producida por el hígado y forma parte de la cascada de la coagulación. El hígado produce 11 de los factores de la coagulación, por lo que frecuentemente su disfunción se asocia a trastornos de la coagulación.

Los factores de coagulación se miden habitualmente en forma indirecta mediante la determinación del tiempo de protrombina, que mide un conjunto de factores de coagulación del plasma.

Por lo anterior, una alteración del tiempo de protrombina puede deberse a diversas causas, no siempre a una disfunción hepática.

La protrombina se encuentra en plasma circulante en forma de granos de zimógeno protrombínico, una proteína de contiene 582 residuos de aminoácidos. También se la denomina factor II de la coagulación. Contiene 6 residuos de

carboxiglutamato en la región aminoterminal, a los que se unen iones calcio para facilitar la unión de la proteína a su complejo de activación sobre la membrana de la célula en los sitios lesionados.

### **VI.5.2. LA ACTIVACIÓN DE LA PROTROMBINA PUEDE OCURRIR POR DOS SISTEMAS**

El sistema intrínseco y el sistema extrínseco. En ambos casos, el producto final es la trombina

LA VÍA INTRÍNSECA, cuya activación se realiza en la llamada fase de contacto, mediada "in vivo" por el colágeno y demás proteínas con fuerte carga negativa (14)

### **VI.5.3. SISTEMA INTRÍNSECO**

Al contacto con una superficie desprovista de endotelio, el factor XII (una serina proteasa también llamado factor de Hageman o factor de contacto) las cargas negativas de la misma inducen un cambio conformacional del factor que puede ser activado por la acción proteolítica de la calicreína. Esta reacción es acelerada por la presencia de un cininógeno de alto peso molecular. A su vez, la calicreína deriva de la precalicreína o factor Fletcher por acción del factor XIIa

El factor XIIa catalizada la activación del factor XI para producir el factor XIa, una serina-proteasa que requiere calcio. A su vez, el factor XIa activa el factor IX que pasa a ser factor IXa (el factor IX puede ser también activado por el factor VIIIa el cual, a su vez ha sido activado gracias a la trombina a partir del factor VIII). El factor VIII circula en la sangre unido al factor de von Willebrand (fvW) el cual tiene un doble función: sirve de portador la factor VIII y facilita la adhesión de las plaquetas a los componentes subendoteliales del vaso lesionado para permitir la agregación plaquetaria

Todas estas reacciones tienen lugar en una superficie catalizante constituida por fosfolípidos de las plaquetas (factor plaquetario 3). (14)

### **VI.5.4.SISTEMA EXTRÍNSECO:**

Los dos factores que son exclusivos del sistema extrínseco son el factor tisular (factor III) y el factor VII. El factor tisular es una proteína de membrana de las células del subendotelio vascular que tiene propiedades similares a las de un receptor que sólo está expuesto cuando se produce la ruptura de un vaso. Por su parte, el factor VII es una proteína que contiene carboxiglutamato y que sólo se une al factor tisular en presencia de calcio. El complejo resultante, factor tisular-calcio-factor VII es una enzima capaz de catalizar la activación del factor X al Xa, lo mismo que hacía el sistema intrínseco.

El factor Xa a su vez, cataliza la conversión del factor VII a una forma activada de dos cadenas (factor VIIa) que también es susceptible de formar un complejo con el factor tisular

Ambas vías se encuentran íntimamente relacionadas entre sí a la altura de la activación del factor IX y, juntas, confluyen en la activación del factor X, verdadera llave que regula la intensidad del proceso de coagulación. La transformación del factor X en factor X activado (FXa), requiere la combinación de una serie de proteínas, lipoproteínas e iones como son el factor V activado (FVa), el calcio y los fosfolípidos. El complejo así resultante es capaz de activar, por proteólisis limitada, el factor II o protrombina a trombina, potentísima enzima eje del sistema de coagulación y fibrinólisis. En los gráficos se han suprimido los inhibidores de la coagulación para mayor claridad.

Todo este enrevesado sistema está sometido a un complejo proceso de regulaciones, contraregulaciones y retroalimentaciones, de cuyo equilibrio depende la hemostasia y la permeabilidad vascular. La síntesis de los factores de coagulación se realiza, principalmente, en el hígado y endotelio vascular. Los principales factores e inhibidores de la coagulación de síntesis hepática, obviaremos la fibrinólisis por quedar fuera del propósito de este trabajo, son los factores IX, X, V, II, fibrinógeno, proteína C y S, antitrombina III y factor VII. De todos ellos fijaremos nuestra atención en los factores IX, X, VII, II, proteína C y S que son, además de tener un origen común, dependientes de la vitamina K.

La actividad de la vitamina K sobre dichos factores no está en relación directa con la síntesis de las moléculas, sino con modificaciones de última hora que multiplican por varios logaritmos su actividad. Los factores vitamina K dependientes poseen un residuo de ácido glutámico en el extremo amino-terminal de la molécula y debe ser carboxilado en posición gamma para optimizar su capacidad para formar complejos activos. (15)

Esta gammacarboxilación está producida por una carboxilasa que precisa como cofactor a la vitamina K. Los factores no carboxilados se conocen como P.I.V.K.A. (Protein Induced by Vitamin K Absence) y poseen actividad anticoagulante por un mecanismo competitivo sobre los factores carboxilados.

La vitamina K (quinona) es transformada después de su absorción en vitamina KH<sub>2</sub> (hidroquinona), merced a una vitamina K reductasa, que es el cofactor de la cocarboxilasa dependiente de la vitamina K. La vitamina KH<sub>2</sub> es transformada en vitamina K epóxido, siendo almacenada en esta forma. Para ser usada debe ser reconvertida en vitamina K de nuevo, mediante la actividad de una vitamina K epóxido reductasa. Los anticoagulante orales del tipo de las cumadinas actúan inhibiendo la actividad de ambas reductasas: La vitamina K reductasa y la vitamina K epóxido reductasa.

La vitamina K se encuentra ampliamente distribuida en los alimentos, especialmente en los vegetales de hoja verde. Otra fuente muy importante de

vitamina K es la proporcionada por la actividad de la flora intestinal normal. Es una vitamina liposoluble, lo que implica que es necesario para su absorción cierto consumo de grasas, como un correcto metabolismo de las mismas. Actualmente disponemos de formas farmacéuticas de vitamina K hidrosoluble (fitomenandiona), administrables por vía endovenosa.

## **VI.6. DIAGNÓSTICO**

El tiempo de protrombina evalúa la función de la vía extrínseca y común de la coagulación, dada por los factores VII, V, X, II, I y XIII, mediante la adición de tromboplastina (factor tisular) al plasma. Se evalúa el tiempo de formación del coágulo expresado en segundos sobre el tiempo que toma el plasma normal. Este tiempo se puede expresar también en porcentaje respecto del control.

Debido a las diferencias de actividad de los diferentes factores tisulares, el tiempo de protrombina medido con diferentes reactivos varía. Por esta razón se ha estandarizado la medición en relación al uso de tromboplastina recombinante mediante el uso del INR (international normalized ratio). Valores sobre 1 expresan disminución de los factores de coagulación. Algunos estudios han cuestionado la reproducibilidad del INR en personas con enfermedades hepáticas.(16)

## **VI.7. CAUSAS DE AUMENTO DEL TIEMPO DE PROTROMBINA**

Las siguientes causas deben considerarse frente a un aumento del tiempo de protrombina (o aumento del INR):

### **VI.7.1. ENFERMEDADES HEPÁTICAS**

La cirrosis hepática y la insuficiencia hepática aguda producen aumento del tiempo de protrombina por producción insuficiente de las proteínas de la coagulación. En estos casos no hay mejoría luego del uso de vitamina K.

### **VI.7.2. DÉFICIT DE VITAMINA K**

La vitamina K es un cofactor indispensable para la activación de las proteínas de la coagulación, por lo que su deficiencia prolonga el tiempo de protrombina. Las causas de déficit de vitamina K son múltiples: Uso de antibióticos, obstrucción de la vía biliar, ingesta inadecuada o malabsorción. El uso de vitamina K es especialmente útil en pacientes con ictericia, ya que una corrección indica que hay adecuada producción de proteínas de la coagulación por el hígado.(17)



## **VI.8. FACTORES QUE AFECTAN A LOS RESULTADOS DEL TIEMPO DE PROTROMBINA**

- La Presencia de heparina y citrato, oxalato o EDTA exógenos, procedentes de los dispositivos de extracción de sangre, interferirá en los resultados del análisis.
- Una técnica de toma de muestras deficientes pueden dar lugar a resultados incorrectos.
- Las jeringas o tubos de vidrio pueden activar prematuramente la coagulación, dando lugar a periodos de coagulación acelerados y valores de INR menores.
- Los resultados del TP/INR pueden verse afectado por fármacos que se administran habitualmente.

### **VI.8.1. FACTORES INFLUYEN EN LAS VARIACIONES**

- El uso de medicamentos o drogas
- La actividad física
- El estrés emocional
- La postura del paciente
- Variaciones diurnas
- Ritmos circadianos.

## **VI.9 TIEMPO DE ESTABILIDAD DE LAS MUESTRAS**

La estabilidad de las pruebas de coagulación es crítica para el diagnóstico y para el mantenimiento de la terapia anticoagulante; en dependencias de la temperatura mantenida durante el transporte y almacenamiento de las muestras, se han recomendado intervalos de tiempo entre la obtención de las muestras y la realización de las pruebas. 2 horas cuando la muestra es mantenida a 22-24°C, 4 horas cuando es almacenada a 4°C, 2 semanas a -20°C y 6 meses a -70°C. actualmente se considera preferible la conservación a temperatura ambiente, especialmente para las valoraciones del TP y de factor VII, con lo cual se evita la progresiva activación del factor VII. Más importante que la temperatura es el tiempo de conservación, que debe ser no superior a 2 horas para la determinación del factor VIII, pero que se puede prolongar a 6 horas para el TP y el TPTA, siempre que el tubo se conserve tapado hasta su valoración analítica (incluido el tiempo de la centrifugación) para evitar la pérdida de CO<sub>2</sub> y la elevación del pH. (18)

## VII. OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

<b>Variable</b>	<b>Definición</b>	<b>Dimensión</b>	<b>Tipo de Escala</b>	<b>Indicador</b>	<b>Instrumento</b>
Temperatura del baño maría	Valor del tiempo de protrombina en plasma	Cuantitativo	12-14	Segundos	Procedimiento manual
Tiempo	Tiempo de Conservación de plasmas a temperatura ambiente	Cuantitativo	1-2 3-4	Horas	Procesamiento manual y automático
Comparación de pool de plasmas	Comparación procedimiento manual y automático.	Cuantitativo	12-14	Segundos	Procesamiento manual y automático.

## VIII CARACTERÍSTICAS METODOLÓGICAS

### VIII.1. TIPO Y DISEÑO METODOLÓGICO

El presente trabajo se realizó un estudio descriptivo de corte transversal y experimental.

### VIII.2. MUESTRA O POBLACIÓN DE ESTUDIO

El estudio se realiza en 690 pacientes normales y 230 paciente anticoagulados de ambos sexos preoperatorios que se encuentran asegurados en el Hospital Obrero N° 1 de la Caja Nacional de Salud y 6 pacientes para el pool de plasma.

### VIII.3. DESCRIPCIÓN DEL AMBITO DE ESTUDIO

Este trabajo se realizó en el laboratorio del Hospital Obrero N° 1 de la ciudad de La Paz ubicado en la calle Brasil.

#### **VIII.4. DESCRIPCIÓN DEL AMBIENTE DE TRABAJO**

Ambientes de la sección de hematología del laboratorio del Hospital Obrero N°1 estas se encuentran equipados (baño Maria, termómetro, cuagulometro clot sp, micropipetas, centrifugadores)

#### **VIII.5 MATERIAL Y MÉTODOS**

Material de toma de muestra para ambos procedimientos

- Tubos de vidrio que contengas anticoagulante
- Ligadura
- Lápiz graso
- Guantes
- Gradillas
- Jeringa desechables
- Alcohol
- Algodón

Equipos

- Cronómetro de tiempo
- Centrifugadora
- Baño Maria
- Coagulómetro Clot Sp

Reactivos

- Anticoagulante: citrato de sodio 3.2%
- Tromboplastina cálcica.
- Solución fisiológica
- Agua destilada

#### **VIII.6 PROCEDIMIENTO**

##### **VIII.6.1. PREPARACIÓN PARA EL POOL DE PLASMA**

Pacientes clínicamente seleccionados sin patologías vasculares o de circulación. Para el trabajo se utilizo una población de de 6 pacientes, a la que se indico mantener un ayuno de por lo menos 8 horas y la no ingestión de medicamentos ni aspirinas para asistir al laboratorio a horas 7:00 am para la respectiva toma de muestra.

### **VIII.6.2. TOMA DE MUESTRA**

La toma de muestra sanguínea fue realizada evitando manejo inadecuado de material movilizando émbolos de jeringas y bisel de agujas en la extracción sanguínea para no-lesionar tejido y evitar lesiones post extracción en los pacientes.

Se realizó la revisión y evaluación de las venas manteniendo la posición sentada del paciente aplicando un torniquete en la parte superior del brazo donde se hizo la punción.

Elegida la vena mediana, cefálica, se practicó desinfección en la zona, con alcohol al 70 %, de esta manera se extrajo sangre lentamente retirando la aguja del lugar para colocar una torunda de algodón seco con un esparadrapo.

Obtención de plasma y preparación del Pool

Centrifugación.

Todos los tubos plásticos conteniendo la sangre extraída fueron centrifugados a 3000 r.p.m. por 15 minutos

Separación del plasma

Las muestras de plasma obtenidas se colocaron en gradillas para preparar el Pool mezclándolos en un solo vial y luego alícuotar en tubos Ependorf para emplearlo en las diluciones respectivas y obtener una curva de calibración y comparar con el pool de plasmas, los resultados por ambos procedimientos manual y automático.

### **VIII.6.3. PROCEDIMIENTO DE LAS MUESTRAS (PLASMAS)**

Para este estudio realizamos con una cantidad de muestras muy significativas de 3862 pacientes que son preoperatorios y anticoagulados debido a la cantidad muy grande de nuestra población de estudio decidimos agruparlos en 690 pacientes preoperatorios que presentaban de acuerdo a su actividad protrombinica como su INR cercanos al testigo realizamos con dos variables como ser la temperatura del baño María a 37°C y 38°C y también el tiempo de conservación de plasmas a temperatura ambiente (25°C) de 2h y de 3 a 4 horas respectivamente.

Para pacientes anticoagulados solo tomamos a 230 pacientes en nuestra unidad de análisis con un INR de (2 a 6), trabajamos con dos variables mencionadas anteriormente realizamos por el procedimiento manual y automático que se describe a continuación.

#### **VIII.6.4. PROCESAMIENTO DE LA TÉCNICA MANUAL**

Para pacientes preoperatorios y anticoagulados.

En esta técnica se utilizó el baño María a temperatura definida de 37 °C la cual fue controlada antes de empezar el trabajo, un cronometro para cuantificar los tiempos y tener todo el material en las mejores condiciones, como también el tiempo de conservación de los plasmas a temperatura ambiente (25°C) por 2 horas, por otra parte trabajamos con la misma muestra con variación de la temperatura de 38 °C y el tiempo de conservación de 3 a 4 horas, de esta manera podemos determinar cuan importante afecta los factores de variación en nuestros resultados.

La característica principal que se debe tomar en cuenta para este procedimiento de protrombina: es la medida del tiempo de formación de coagulo, que se identifica por el operador a través de su visualización.

Siguiendo metódicamente cada uno de los pasos de la técnica se procedió a aplicarlos, para las curvas de calibración.

#### **VIII.6.5. PROCEDIMIENTO AUTOMÁTICO**

Para pacientes preoperatorios y anticoagulados.

Este procedimiento consiste en aplicar la técnica de tiempo de Protrombina empleando un equipo automático, que en este caso es el Coagulómetro Ral Clot Sp.

Al iniciar el trabajo, se debe encender el equipo diez minutos antes, cuando el indicador de temperatura este en 37° C, en la cubeta de reactivos se coloca el frasco conteniendo un volumen suficiente como para procesar todas las muestras que fueron obtenidas de la misma manera que en el procesamiento manual.

En este caso solo utilizamos una variable que es el tiempo de conservación de plasmas (de 2 horas) a temperatura ambiente (25 °C).

En sus respectivas cubetas del baño María a seco del equipo se colocada las muestras de plasmas en un volumen de 0,1 ml mas la barra metálica, se espera 3 minutos y se calibra el equipo en cero.

Luego en la cubeta lectora colocar las cubetas a determinar, tapar y verter 0,2 ml de Tromboplastina con la pipeta automática a través de la perforación que tiene. El instrumento marca exactamente el momento en el que se produce el coágulo, para todas las muestras se procede de la misma manera.

Las características del equipo coagulómetro Ral Clot Sp es que cuenta con un sistema óptico de medida, mediante el cual se detecta por densidad óptica la formación del coágulo, el cronometro interno marca el tiempo del fin de la reacción deteniendo el marcador cada vez que se forma el coagulo.

Con las mismas muestras trabajamos con la variación en el tiempo de conservación de plasmas (de 3 a 4 horas) a temperatura ambiente (25°C) para poder determinar que afecta el factor de variación en nuestros resultados obtenidos.

#### **VIII.6.6. CURVAS DE CALIBRACIÓN O RECTA DE THIVOLLE MANUAL Y AUTOMÁTICO**

Para la curva de calibración se utilizó el Pool de plasmas frescos de la población seleccionada determinando tiempos de Protrombina en cada una de las diluciones, cuya actividad protrombinica esta determinada para este procesamiento, se utilizó la técnica manual y automática descrita anteriormente

En su ejecución, se procedió a realizar las siguientes diluciones de Pool de plasma con solución fisiológica en concentraciones de:

Diluciones	1/1	1/2	1/3	1/4	1/5
Actividad de plasma	100%	50%	33%	25%	12,5%
Pool de Plasmas en ml	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Solución Fisiológica en ml	-	0,2	0,4	0,6	1,4

Se realizo una doble determinación del tiempo de Protrombina en segundos, con cada una de las diluciones tanto con el procedimiento manual como automático, lo que permitió el valor medio que fue empleado para trazar la Recta de Thivolle.

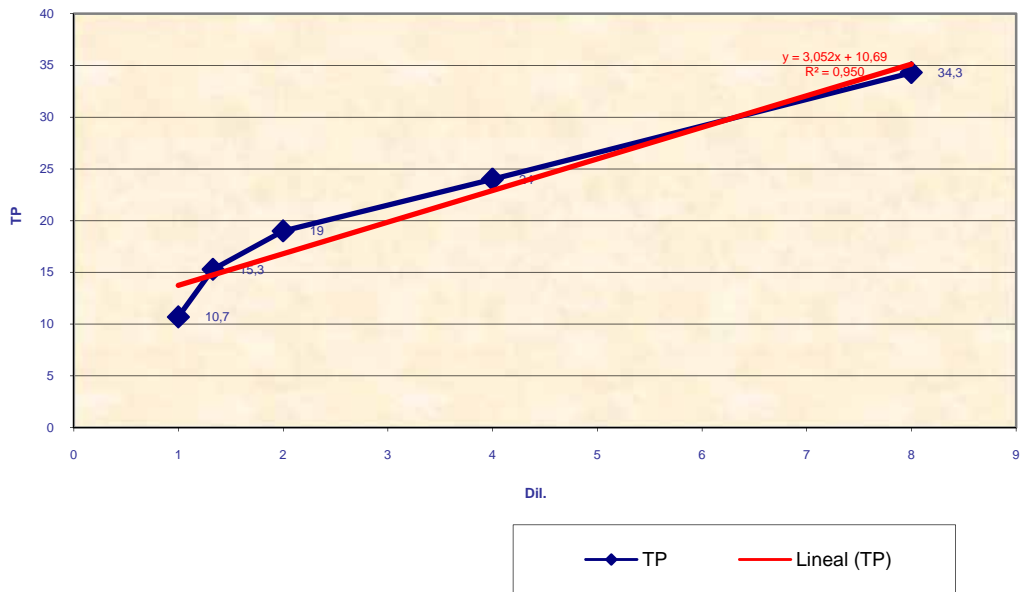
Los cinco datos de las diluciones correspondientes se grafico en ordenadas (el tiempo de Protrombina en segundos) y en abscisas ( la inversa de la dilución), que corresponde a 100%,50%, 33%, 25% y 12.5% de actividad protrombinica. Las lecturas obtenidas forman la pendiente y reflejan la sensibilidad del reactivo.

#### **VIII.6.7. COMPARACIÓN DE VALORES OBTENIDOS DE TIEMPO DE PROTROMBINA DEL PROCEDIMIENTO MANUAL FRENTE AL AUTOMÁTICO**

Para realizar esta comparación se procesó el Pool de plasmas durante 20 días, cada día una vez. Obteniendo valores de tiempo de Protrombina en segundos, así, se hallo 20 datos, los cuales fueron comparados a través del procedimientomanual frente al procedimiento automático para determinar si estos valores de tiempo de Protrombina son similares o idénticos.

ACTIVIDAD DE PROTROMBINA	DILUCIÓN	TIEMPO	TIEMPO	Promedio Tiempos
100 %	1/1	10.6	10.9	10.7
50%	1/2	15.3	15.3	15.3
33%	1/3	19.0	19.1	19.0
25%	1/4	23.9	24.1	24.0
12,5%	1/8	34.0	34.2	34.3

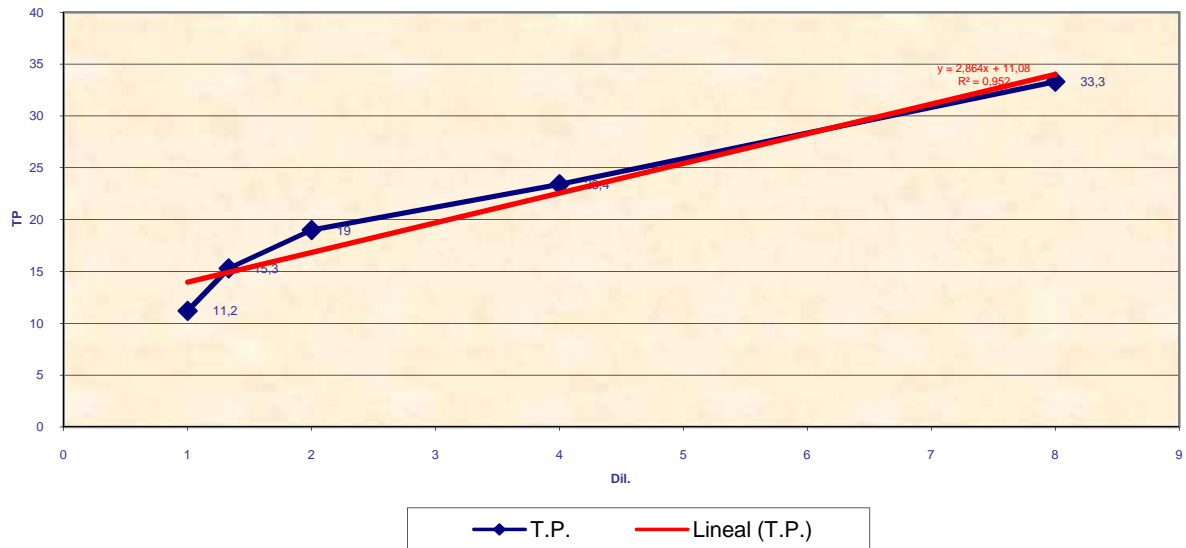
Conversion de tiempo de Protrombina  
en Actividad Trombinica  
Lote de reactivo: 527050



ACTIVIDAD DE PROTROMBINA	DILUCIÓN	TIEMPO	TIEMPO	Promedio Tiempos
100 %	1/1	11.0	11.4	11.2
50%	1/2	15.3	15.4	15.3
33%	1/3	19.6	18.5	19.0
25%	1/4	23.5	23.3	23.4
12,5%	1/8	33.3	33.4	33.3

Conversion de tiempo de Protrombina en Actividad Trombinica  
Lote de reactivo: 527050

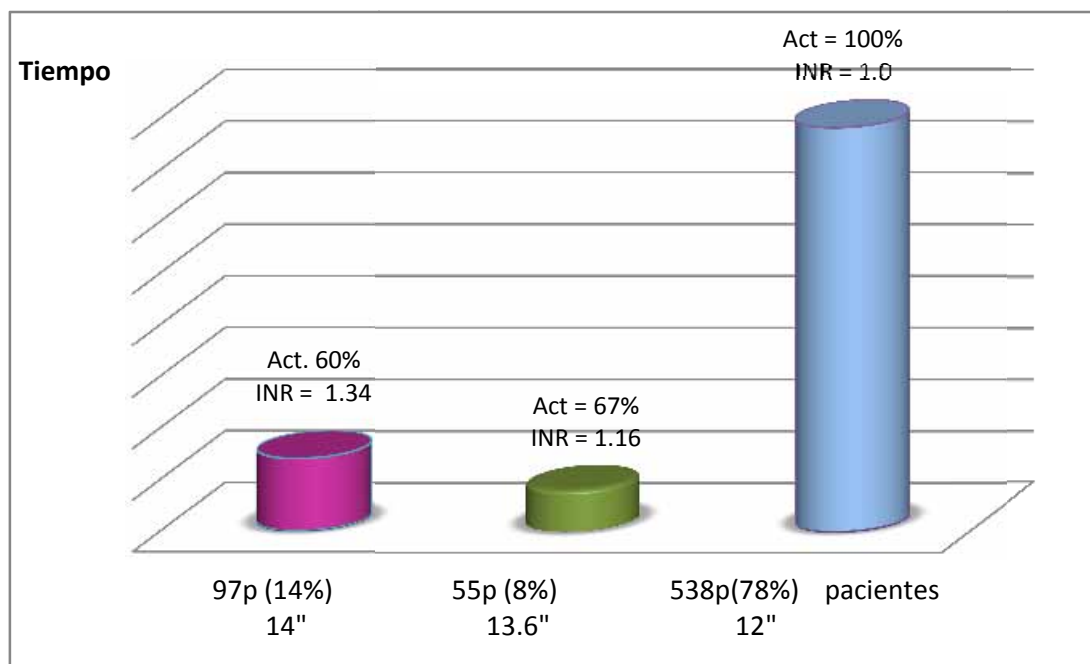
Procedimiento Manual





### GRAFICO N° 3

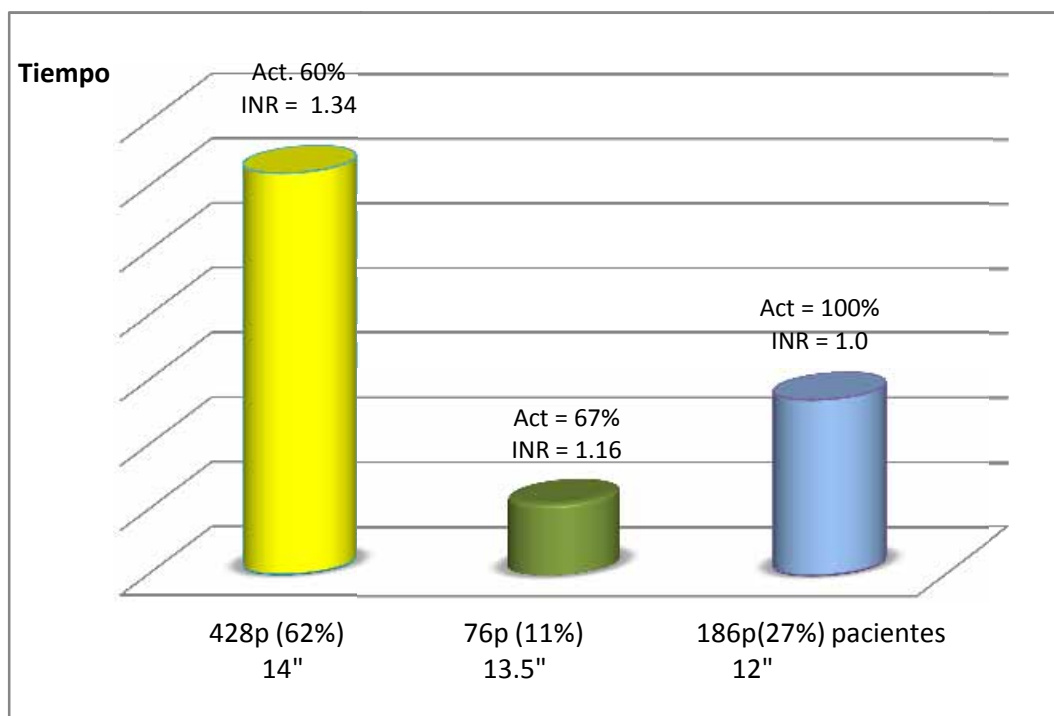
#### Valores del tiempo de protrombina a temperatura de (37°C) por el procedimiento Manual en pacientes preoperatorios



Este grafico muestra que no existe mucha variación del valor del tiempo de protrombina los cuales presentan un porcentaje de 78% en 538 pacientes con un valor de actividad protrombinica de 100% y un INR de 1.0, mientras que un 22% de pacientes presentan valores cercanos al testigo.

## GRAFICO N° 4

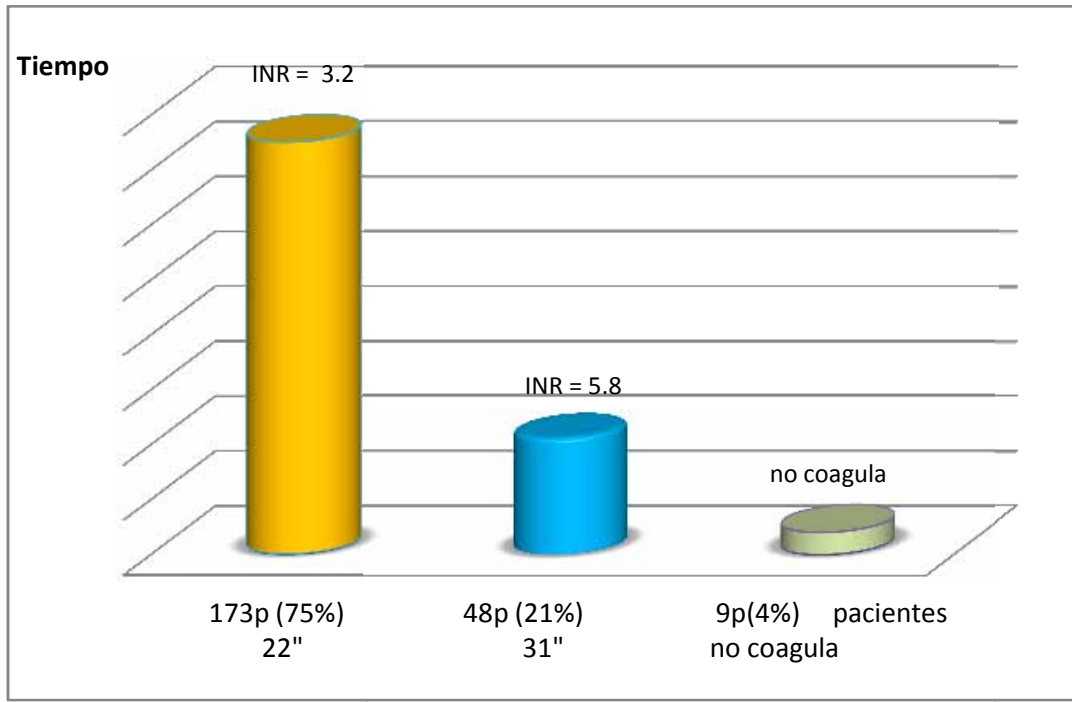
### Valores de tiempo de protrombina con variación de temperatura de (38°) por el procedimiento Manual de pacientes preoperatorios



Este gráfico muestra que existe variación del tiempo de protrombina los cuales presentaron un porcentaje de 62% de 428 pacientes con un valor de actividad protrombinica de 60% y un INR de 1.34, mientras que un 38% de pacientes presentan valores cercanos al testigo.

## GRAFICO N° 5

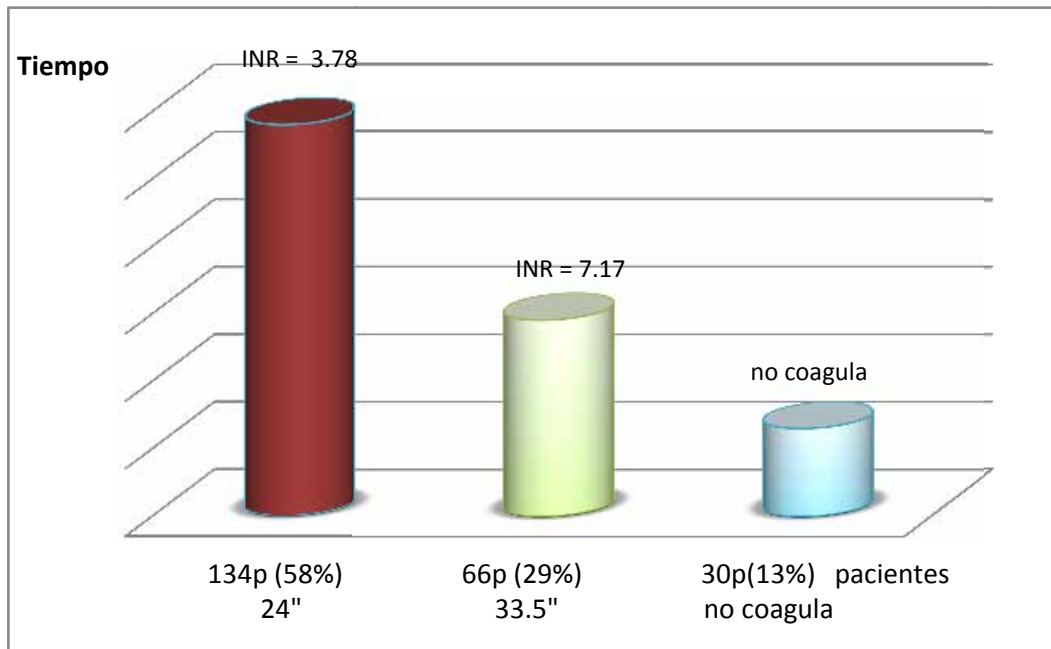
### Valores del tiempo de protrombina a la temperatura de (37°C) por el procedimiento manual en pacientes anticoagulados



Pacientes	Act. Protrombinica	INR
173 p (75%)	23%	3.2
48 p (21%)	14%	5.80
9 p (4%)	No coagula	No coagula

## GRAFICO Nº 6

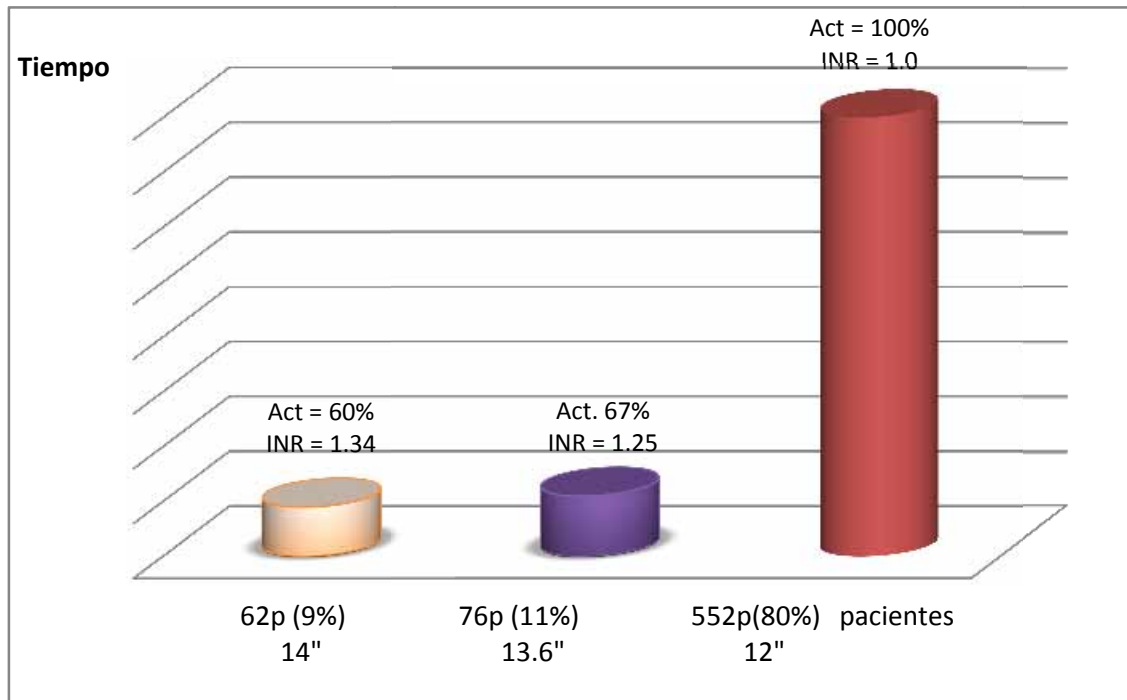
### Valores del tiempo de protrombina con variación de temperatura (38°C) por el procedimiento manual de pacientes anticoagulados



Pacientes	Act. Protrombinica	INR
134 p (58%) 24''	20%	3.78
66 p (29%) 33.5''	12.5%	7.17
30 p (13%) pacientes no coagula	No coagula	No coagula

## GRAFICO N° 7

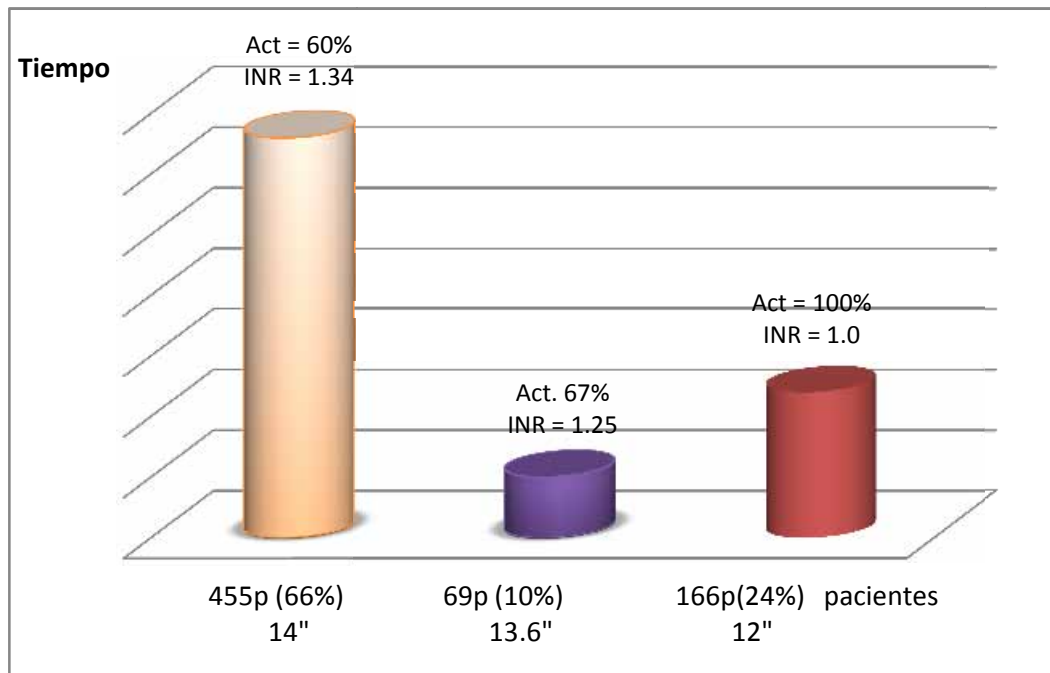
### Valores del tiempo de protrombina con el tiempo de conservación de plasmas de (2 hrs) a t° ambiente (25°C) por el procedimiento manual en pacientes preoperatorios



Este grafico muestra que no existe mucha variación del valor del tiempo de protrombina los cuales presentan un porcentaje de 80% en 552 pacientes con un valor de actividad protrominica de 100% y en INR de 1.0 mientras un 20% de pacientes presentan valores cercanos al testigo.

## GRAFICO Nº 8

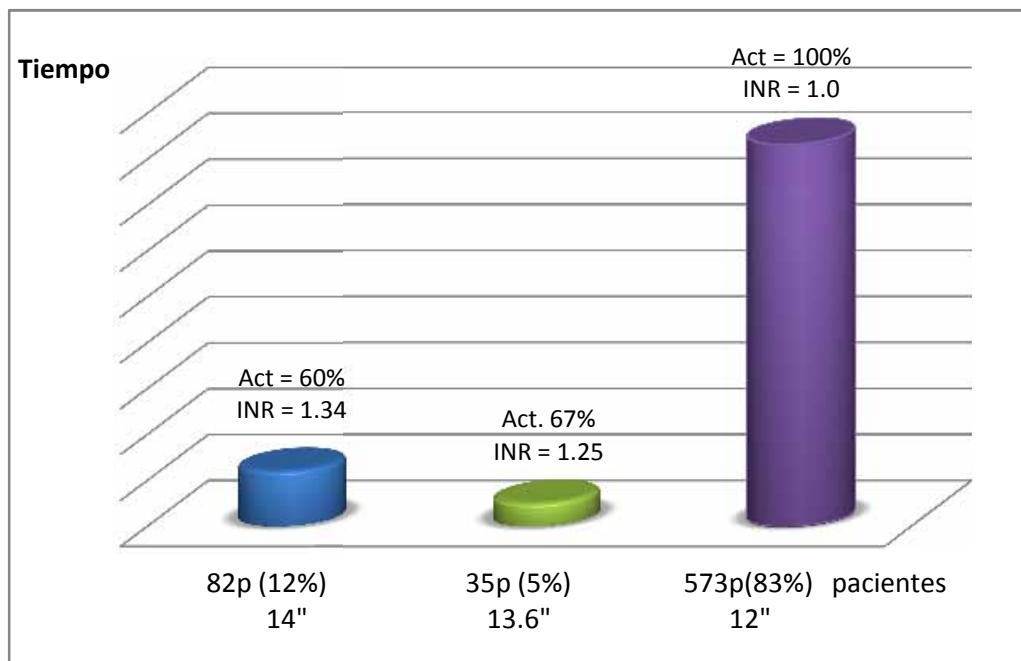
### Valores del tiempo de protrombina con variación en el tiempo de conservación de plasmas de (3 - 4 hrs) a tº ambiente (25º C) por el procedimiento manual en pacientes preoperatorios



Este grafico muestra que existe variación del valor del tiempo de protrombina los cuales presentan un porcentaje de 66% en 455 pacientes con un valor de actividad protrombinica de 60 % y un INR de 1.34 mientras un 34% de pacientes presentan valores cercanos al testigo.

## GRAFICO N° 9

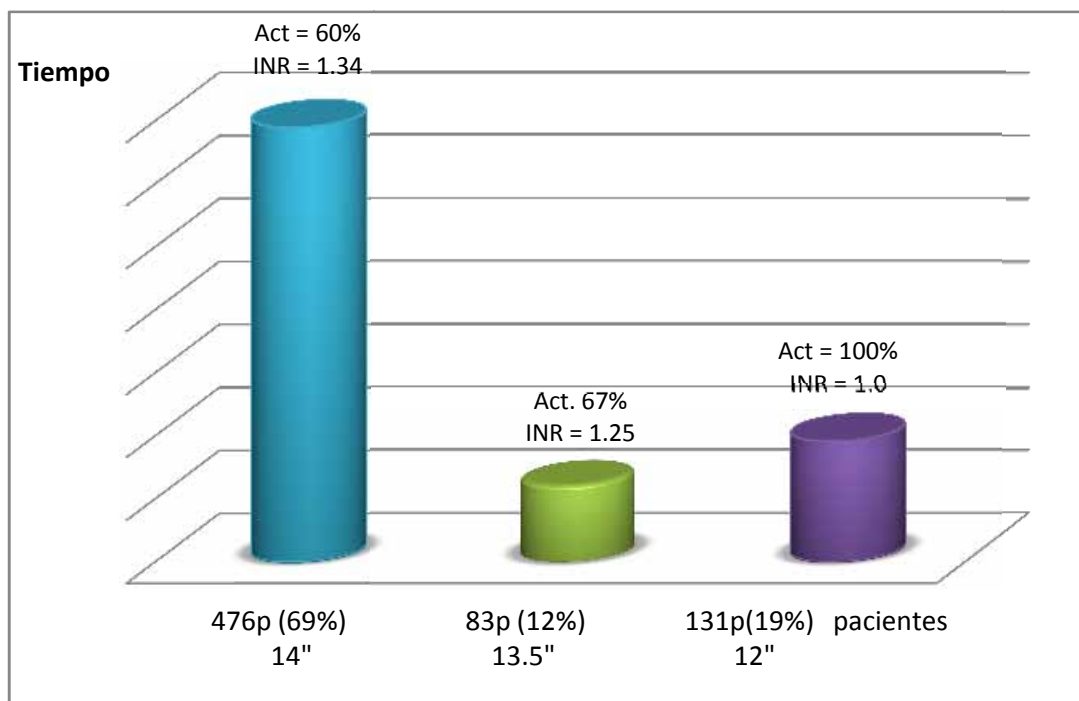
### Valores del tiempo de protrombina con el tiempo de conservación de plasmas de (2 hrs) a t° ambiente (25°C) por el procedimiento automático en pacientes preoperatorios



Este grafico muestra que no existe mucha variación del valor del tiempo de protrombina los cuales presentan un porcentaje de 83% en 573 pacientes con un valor de actividad protrombinica de 100% y un INR de 1.0 mientras que un 17% de pacientes presentan valores cercanos al testigo

## GRAFICO Nº 10

### Valores del tiempo de protrombina con variación en el tiempo de conservación de plasmas de (3-4 hrs) a tº ambiente de (25º C) por el procedimiento automático en pacientes preoperatorios

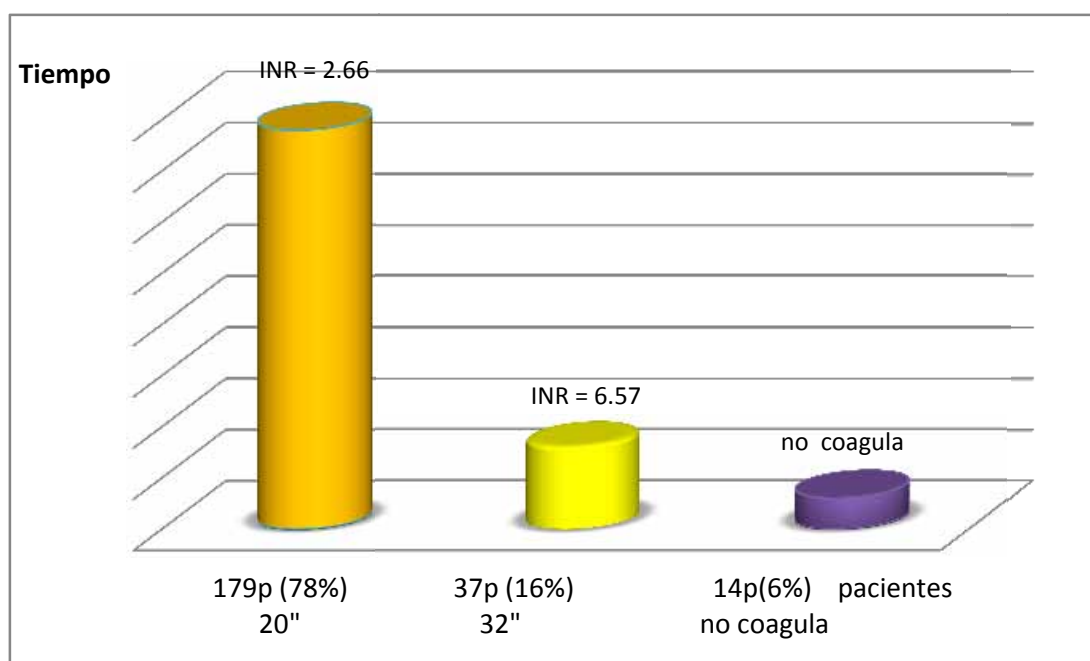


Este grafico muestra que existe variación del valor del tiempo de protrombina los cuales presentan un porcentaje de 69% en 476 pacientes con un valor de actividad protrombinica de 60% y un INR de 1.34, mientras un 31% de pacientes presentan valores cercanos al testigo



## GRAFICO N° 11

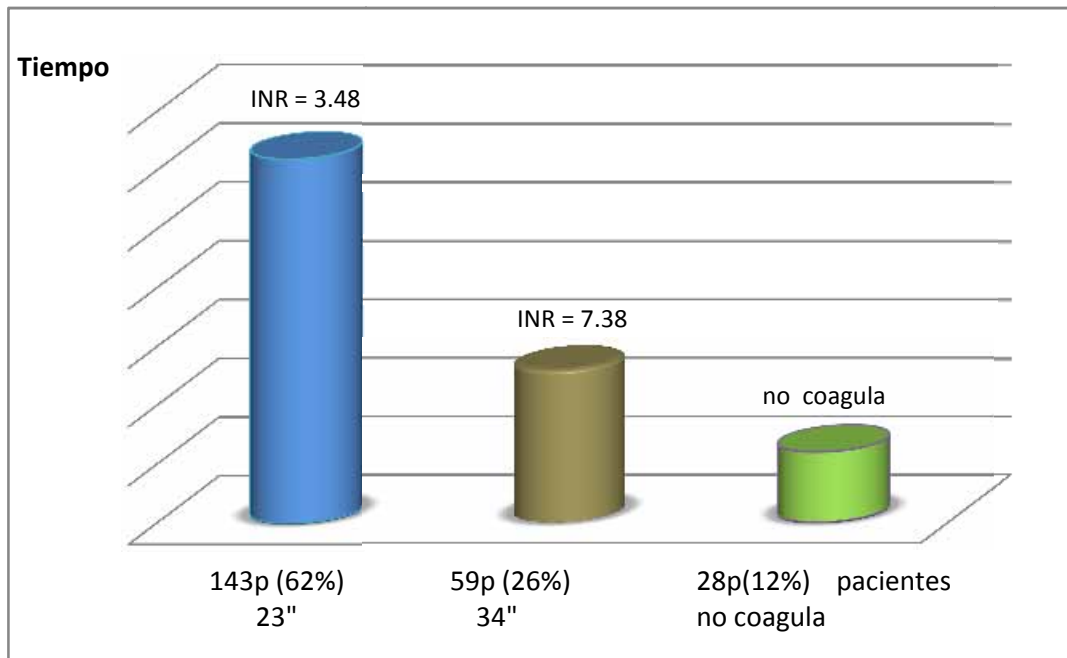
### Valores del tiempo de protrombina con el tiempo de coservacion de plasmas de (2 hrs) a t° ambiente de (25° C) por el procedimiento manual en pacientes anticoagulados



Pacientes	Act. Protrombinica	INR
179 p (58%)	27%	2.66
37 p (29%)	13%	6.57
14 p (13%)	No coagula	No coagula

## GRAFICO Nº 12

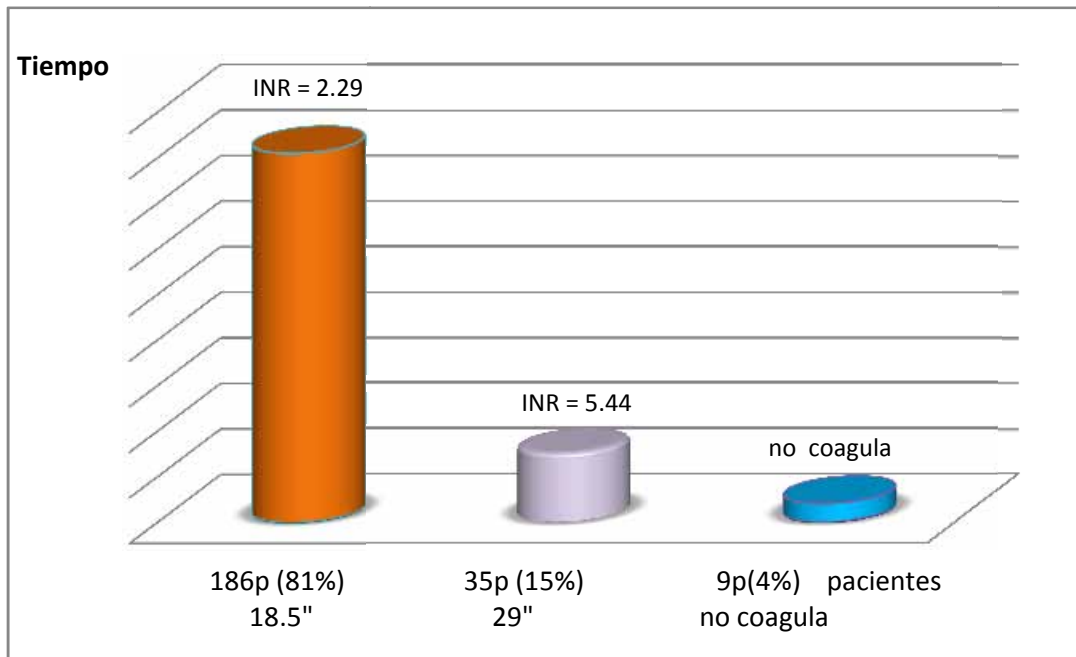
**Valores del tiempo de protrombina con variación en el tiempo de conservación de plasmas de (3-4 hrs) a tº ambiente de (25°C) por el procedimiento manual en pacientes anticoagulados**



Pacientes	Act. Protrombinica	INR
143 p (62%)	21%	3.48
59 p (26%)	12%	7.38
28 p (12%)	No coagula	No coagula

### GRAFICO N° 13

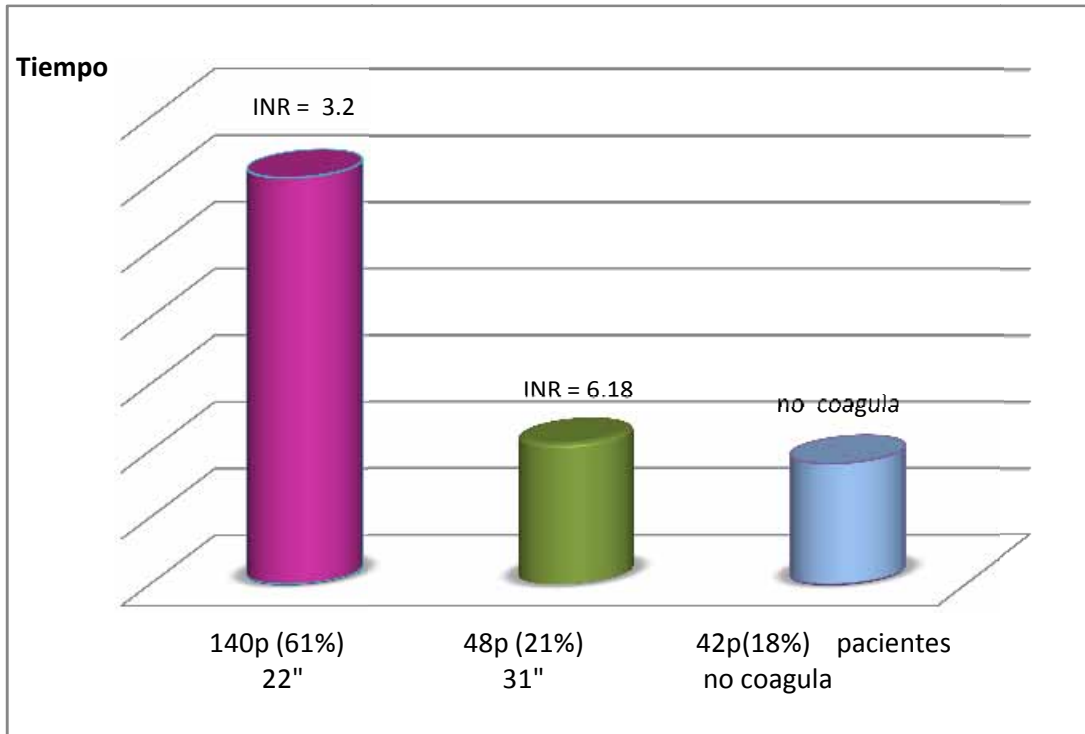
**Valores del tiempo de protrombina con el tiempo de conservación de plasmas de (2 hrs) a t° ambiente (25° C) por el procedimiento automático en pacientes anticoagulados**



Pacientes	Act. Protrombinica	INR
186 p (81%)	32%	2.29
35 p (15%)	15%	5.44
9 p (4%)	No coagula	No coagula

## GRAFICO N° 14

**Valores del tiempo de protrombina con variación en el tiempo de Conservación de plasmas de (3-4 hrs) a t° ambiente de (25° C) por el procedimiento automático en pacientes anticoagulados**



Pacientes	Act. Protrombinica	INR
140 p (61%)	23%	3.2
48 p (21%)	14%	6.18
42 p (18%)	No coagula	No coagula

**COMPARACIÓN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS POR AMBOS  
PROCEDIMIENTOS (MANUAL Y AUTOMÁTICO DEL POOL DE PLASMA)**

PROCEDIMIENTO :AUTOMÁTICO

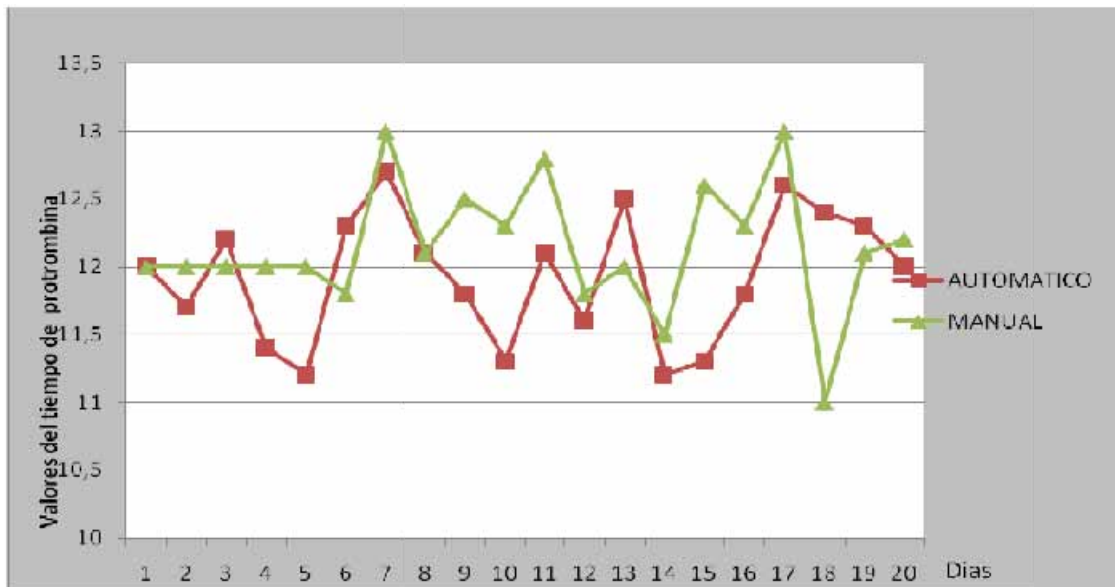
PROCEDIMIENTO MANUAL

Días	No. de muestras	Tiempo	Cálculos
1	1	12	
2	1	11,7	
3	1	12,2	
4	1	11,4	
5	1	11,2	
6	1	12,3	PROMEDIO
7	1	12,7	11,925
8	1	12,1	
9	1	11,8	SD:
10	1	11,3	0,478
11	1	12,1	
12	1	11,6	C.V.:
13	1	12,5	4,01%
14	1	11,2	
15	1	11,3	
16	1	11,8	
17	1	12,6	
18	1	12,4	
19	1	12,3	
20	1	12	
	N=20	$\Sigma X1=238,5$	

Días	No. de muestras	Tiempo	Cálculos
1	1	12	
2	1	12	
3	1	12	
4	1	12	
5	1	12	
6	1	11,8	PROMEDIO
7	1	13	12,15
8	1	12,1	
9	1	12,5	SD:
10	1	12,3	0,479
11	1	12,8	
12	1	11,8	C.V.:
13	1	12	3,94%
14	1	11,5	
15	1	12,6	
16	1	12,3	
17	1	13	
18	1	11	
19	1	12,1	
20	1	12,2	
	N=20	$\Sigma X1=238,5$	

**GRAFICO Nº 15**

**COMPARACIÓN DE LOS RESULTADOS DEL POOL OBTENIDOS POR AMBOS  
PROCEDIMIENTOS (MANUAL Y AUTOMÁTICO)**



## **X. DISCUSIONES**

La determinación de la prueba del tiempo de protrombina es muy importante sobre todo en aquellos pacientes que requieren un control de anticoagulantes debemos considerar que existen muchos factores de variación para esta determinación. Se puede decir que es una prueba sencilla de realizar pero debemos tener un control pre analítico, analítico y post analítico.

En este trabajo solo consideramos dos factores de variación: cuando empezamos a realizar las pruebas encontramos algunas veces la temperatura elevada del baño María y había demora en realizar la prueba: son dos factores que consideramos que son importantes para una buena determinación del tiempo de protrombina y así de esta manera realizando un control logramos obtener buenos resultados y ayudar al médico en el diagnóstico del paciente y podemos contribuir más que todo en la terapia de pacientes sometidos a anticoagulantes

## XI. CONCLUSIONES

El estudio obtenido permite concluir con lo siguiente:

1. Que la realización de las curvas de calibración de la prueba de tiempo de protrombina efectuado por ambos procedimientos (manual y automático), utilizando un pool de plasma de pacientes seleccionados nos permite obtener resultados confiables de tiempo de protrombina y actividad protrombinica.
2. Se logro demostrar que al realizar un control de la temperatura del baño Maria antes de realizar las pruebas por el procedimiento manual en pacientes normales y anticoagulados se obtienen resultados confiables podemos decir que es el producto de un buen procedimiento. Mientras cuando no se trabajaba con un control en la temperatura del baño Maria se obtuvo mucha variación en los resultados.
3. Una vez realizado un control del tiempo de conservación de plasmas de (2 hrs) a temperatura ambiente (25°C) obtenemos resultados satisfactorios de los valores del tiempo de protrombina pero cuando no se realiza de inmediato las pruebas tanto de manera manual y automática presenta una magnitud de variación elevada en los resultados el cual repercute en el diagnóstico de los pacientes preoperatorios y sobre todo en anticoagulados.
4. La comparación de los resultados obtenidos de tiempo de Protrombina demuestra que el procedimiento manual solo se puede realizar para pacientes preoperatorio. Mientras que el procesamiento automático se realiza para pacientes anticuagulados porque existe variación del tiempo de protrombina. Podemos decir que en la actualidad en la mayoría de los laboratorios utilizan el procedimiento automático y no así el manual. De esta manera, contribuiremos a un buen diagnostico, un mejor tratamiento y seguimiento eficaz de pacientes con tratamiento de anticoagulantes.

## **XII. BIBLIOGRAFÍA**

1. GILBERTH, A. Interpretación Clínica del Laboratorio ed. 4ta Panamericana, Bogotá Colombia 1994
2. EVATT B. Hematología para un diagnostico Básico, ed serie Paltex N°14 Organización Panamericana de la Salud OPS 1986
3. ERGUETA J. CLLAO Técnicas de Laboratorio Clínico, ed. 2º Juventud La Paz-Bolivia 1984.
4. FACIA, A. Medicina Interna Harrison, ed 3ª Interamericana México DF Interamericana 1990.
5. GRADWOHL. Métodos y Diagnostico del Laboratorio Clínico, ed. 2º Moderna Buenos Aires Argentina 1984
6. GOODMAN Y GILMAN. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica, ed. 8º Panamericana México DF 1991
7. RESTREPO, A. Hematología, ed. 4 Medellín Colombia Carvajal 1992.
8. GUYTON, NMED. ARTUR. C. Tratado de Fisiología Médica ed. 9na Interamericana Mc Graw Hill México DF 1997.8 Mc KENZIF, S. Hematología Clínica, ed. Manual Moderno México DF 1990.
9. RESTREPO, A. Hematología, ed 4 Medellin Colombia Carvajal 1992
10. SANFORF, T. Diagnostico y Tratamiento Clínicos por el Laboratorio, ed. Salvat Madrid España 1988.

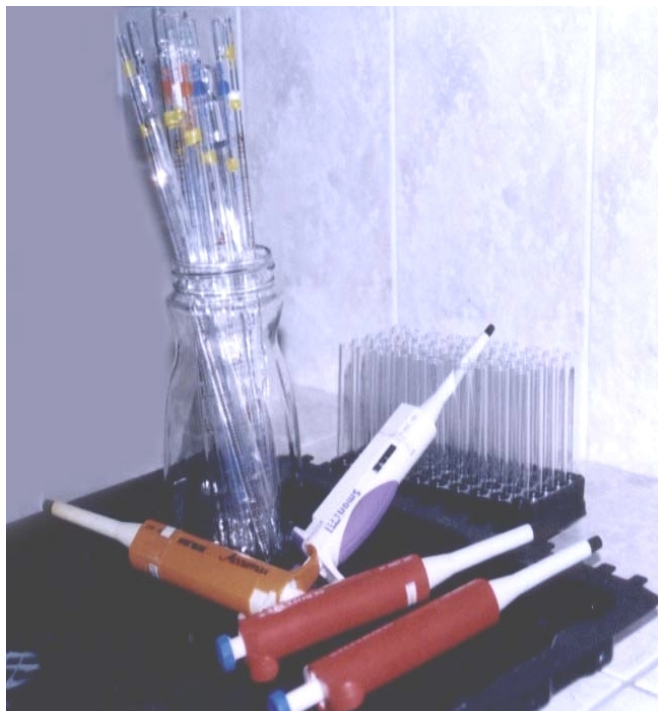


11. Dra. TELLEZ, W. DOMIC, N. y ROCHA, E. Guía Práctica de Bioquímica Clínica. Ed. Universidad Mayor de San Andrés UMSA Ofcet, La Paz Bolivia, 1999.
12. VELEZ H. Fundamentos de Medicina Hematológica. Ed. 5ª Colombia Medellín 1998.
13. "Aspectos Metodológicos del Control de Calidad Intra Laboratorial de Química Sanguínea", Dra. W. Téllez Dra. R. Peñalosa. Instituto de Biología de la Altura Fotocopias. s/a.
14. "Control de la Anticoagulación Oral", Factores de Riesgo y Control de Sobre dosis, Boletín de la Sociedad de Hematología y Hemoterapia Vol. 10 1991. Fotocopias.
15. "Control laboratorial en la Terapia con Anticoagulantes Orales" Dr. M.L. Tejerina Valle, Fotocopias s/a.
16. "Jornadas Homónimas". Fundado para el Control de Hematología y Hemoterapia. Minas Gerais Nov-Dic 1990. Fotocopias
17. "Normalización de TP para Monitoreo de Terapias con Anticoagulantes Orales "Revista Laes/kaes out/Nov 1990. Fotocopias"
18. Boletín Técnico Informativo marca DADE Behring. Mar burg Germany – Alemania 1999. 20. Manual Coaguló metro Ral Clot Sp 2000.

# ANEXOS

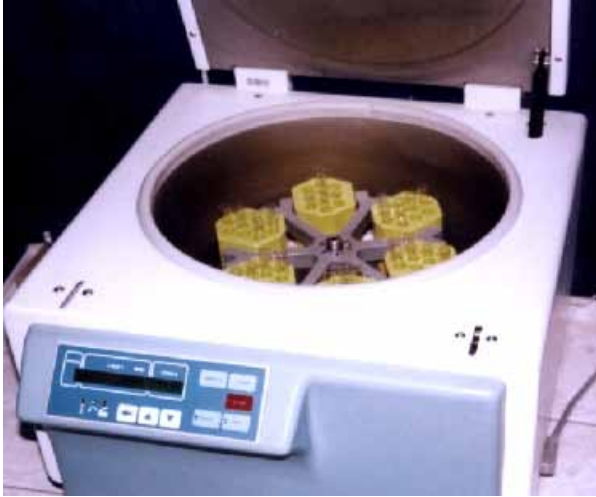
## ANEXO 1

### MATERIAL PARA EL PROCESAMIENTO



## ANEXO 2

### EQUIPOS



**CENTRIFUGADORA**



**BAÑO MARIA**



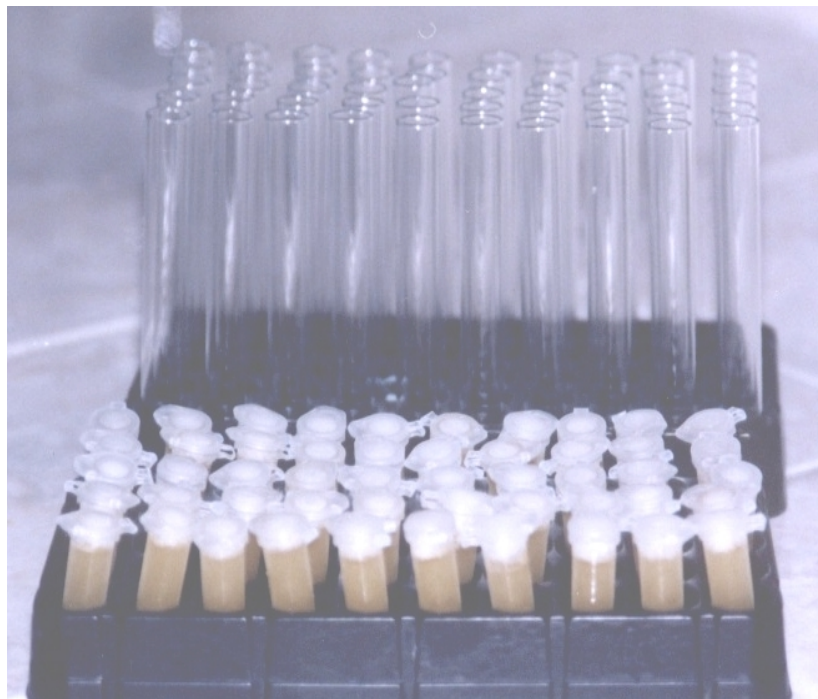
**COAGULOMETRO**

## ANEXO 3

### REACTIVOS



**TROBOPLASTINA, AGUA DESIONIZADA, PLASMA CONTROL**



**POOL DE PLASMA**

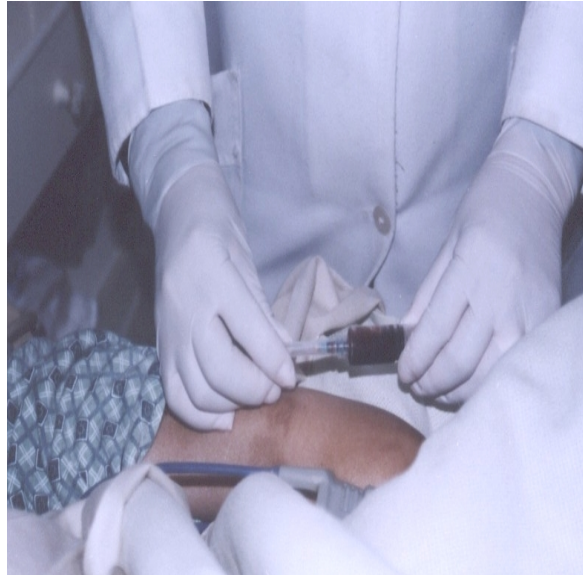


## ANEXO 4

### METODOLOGIA

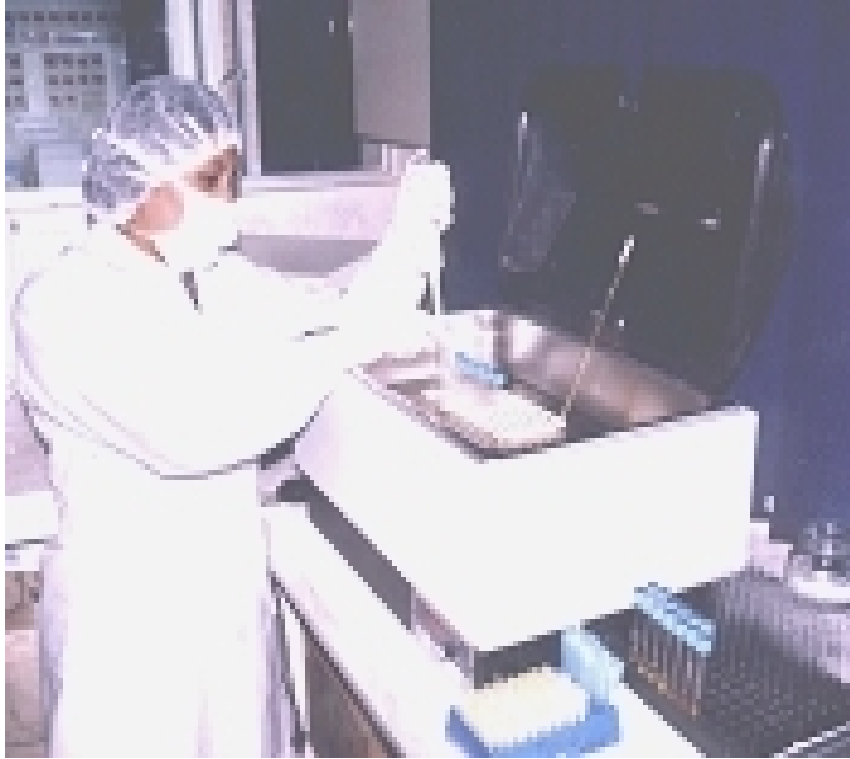


### CALIBRACION DE MICROPIPETAS



### TOMA DE MUESTRA

**ANEXO 5**  
**PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS**



**PROCESAMIENTO MANUAL**



**PROCESAMIENTO AUTOMÁTICO**

