

24
2er.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN

MONITOREO DE LA TERAPIA CON
ANTICOAGULANTES ORALES EN PACIENTES DEL
HOSPITAL GENERAL DE ZONA No. 58, MEDIANTE
EL CALCULO DEL INTERNATIONAL NORMALIZED
RATIO (INR).

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA
P R E S E N T A N :
MARIA DEL ROCIO GARCIA MAYA
MARCELINA GUADARRAMA HERNANDEZ

ASESORES DE TESIS: O.F.B. IDALIA AVILA MIYAZAWA
M. EN C. ALMA VIRGINIA LARA SAGAHON
DR. NABOR VALLE REGINO

9439

CUAUTITLAN IZCALLI, ESTADO DE MEXICO.

1997

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

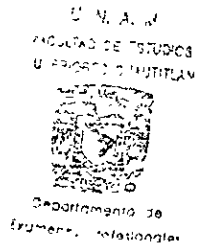
Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA ACADÉMICA
UNIDAD DE LA ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES



ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DR. RAFAEL RODRIGUEZ TORRES
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLÁN
PRESENTE.

AT'N: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la F E S - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS TITULADA:

Monitoreo de la terapia con anticoagulantes orales en pacientes del Hospital General de Zona No. 58, mediante el cálculo del International Normalized Ratio. (INR).

que presenta la pasante: María del Rocío García Maya
con número de cuenta: 8195563-8 para obtener el TITULO de:
Química Farmacéutica Bióloga ; en colaboración con :
Marcelina Guadarrama Hernández

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 5 de septiembre de 1997

PRESIDENTE	<u>Q.F.B. Ramón Cedejas Ramírez</u>	
VOCAL	<u>Q.F.B. Idalia Avila Miyazawa</u>	
SECRETARIO	<u>Q.B.P. Antonio Sánchez Ortega</u>	
PRIMER SUPLENTE	<u>Q.F.B. Patricia campos Peón</u>	
SEGUNDO SUPLENTE	<u>Q.F.B. Héctor Coss Garduño</u>	<u>HP Coss 5/09/97</u>



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
SECRETARIA ACADEMICA
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLAN



ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DR. JAIME KELLER TORRES
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLAN
P R E S E N T E .

Ing. Rafael Rodriguez Ceballos
AT'N: Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art 28 del Reglamento General de Exámenes, nos
permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS TITULADA
Monitoreo de la terapia con anticoagulantes orales en pacientes
del Hospital General de Zona No. 58, mediante el cálculo del
International Normalized Ratio. (INR).

que presenta la pasante: Marcelina Guadarrama Hernández
con número de cuenta: 8135397-5 para obtener el TITULO de:
Química Farmacéutica Biológica ; en colaboración con .

María del Rocío García Maya
Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para
ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos
nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 5 de septiembre de 1997

PRESIDENTE	<u>Q.F.B. Ramón Cendejas Ramírez</u>	
VOCAL	<u>Q.F.B. Idalia Avila Miyazawa</u>	
SECRETARIO	<u>Q.F.B. Antonio Sánchez Ortega</u>	
PRIMER SUPLENTE	<u>Q.F.B. Patricia Campos Peón</u>	
SEGUNDO SUPLENTE	<u>Q.F.B. Héctor Carr Garduño</u>	

AGRADECIMIENTOS

Una vida repleta de trabajos y tareas no es una carga, sino una bendición, por lo cual, Señor, te doy las GRACIAS.

A mis queridos padres Cande y Mario, gracias por todo el amor, comprensión y apoyo que siempre me han brindado. Que Dios los conserve.

A mi amado esposo José Juan, porque sin su incondicional apoyo éste trabajo no existiría.

A mis dos preciosos hijos, José Manuel y Juan Alberto. Gracias por las inesperadas sonrisas y su alegría que iluminan mis días.

Porque han sido mi ejemplo a seguir, les agradezco a mis incomparables hermanos, Mario Gonzálo, Alejandra, Sergio, Lidia, Jorge, Yolanda, Edmundo, y Jorge.

INDICE

	PAGINA
RESUMEN	1
CAPITULO 1	
HEMOSTASIS, ENDOTELIO VASCULAR Y PLAQUETAS	
1.1 INTRODUCCION.....	3
1.2 HEMOSTASIS.....	4
1.2.1 HEMOSTASIS PRIMARIA.....	5
1.2.1.1 FUNCION HEMOSTATICA DEL ENDOTELIO VASCULAR Y LAS PLAQUETAS.....	10
1.2.1.2 ACTIVIDADES PROCOAGULANTES PLAQUETARIAS.....	14
1.2.2 HEMOSTASIS SECUNDARIA.....	15
1.2.2.1 CASCADA DE LA COAGULACION.....	23
1.2.2.2 VIA INTRINSECA.....	24
1.2.2.3 VIA EXTRINSECA	27
1.2.2.4 VIA COMUN.	29
1.3 PROTEINAS REGULADORAS DE LA COAGULACION	31
1.4 FIBRINOLISIS.	35

CAPITULO 2

ANTICOAGULANTES ORALES

2.1	INTRODUCCION.	38
2.2	ESTRUCTURA QUIMICA DE LOS ANTICOAGULANTES ORALES	39
2.3	MECANISMO DE ACCION	40
2.4	FARMACOLOGIA DE LOS CUMARINICOS	42
2.5	EFECTO TERAPEUTICO.	43
2.6	USO CLINICO	46
2.7	INTERACCIONES FARMACOLOGICAS.	47
2.8	EFECTOS ADVERSOS.	50
2.9	CONTRAINDICACIONES.	52

CAPITULO 3

TROMBOPLASTINAS

3.1	INTRODUCCION	53
3.2	TIEMPO DE PROTROMBINA (TP)	54
3.3	INTERPRETACION DEL TIEMPO DE PROTROMBINA PROLONGADO	54
3.4	NATURALEZA DE LAS TROMBOPLASTINAS.	55
3.5	INDICE DE SENSIBILIDAD INTERNACIONAL (I.S.I.)	56
3.6	CALIBRACION DE LAS TROMBOPLASTINAS.	57
3.7	EXPRESION DE LOS RESULTADOS DEL TIEMPO DE PROTROMBINA	61
3.8	USO DEL I.N.R. DE ACUERDO A DIFERENTES ESTADOS CLINICOS.	63

CAPITULO 4

DESARROLLO EXPERIMENTAL

4.1	OBJETIVOS.....	64
4.2	POBLACION Y METODOS.....	65
4.3	RESULTADOS.....	69
4.4	DISCUSION.....	80
4.5	CONCLUSIONES.....	84
	REFERENCIAS	86

CAPITULO 2

2.1 ESTRUCTURA QUIMICA DE LOS ANTICOAGULANTES QUE SE ADMINISTRAN POR VIA ORAL.....	40
2.2 MECANISMO DE ACCION DE LOS CUMARINICOS EN LA SINTESIS DE LOS ACIDOS GAMMA-CARBOXIGLUTAMICOS, DE LOS FACTORES DE LA COAGULACION VITAMINA K DEPENDIENTE (II, VII, IX, X Y PROTEINA C).....	42
2.3 TIEMPO DE DISMINUCION DE LA ACTIVIDAD DE CADA FACTOR DEPENDIENTE DE LA VITAMINA K EN RESPUESTA AL INICIO DE LA TERAPIA CON WARFARINA.....	46

CAPITULO 3

3.1 CALIBRACION CONTRA UNA PREPARACION DE REFERENCIA.....	60
---	----

CAPITULO 4

4.1 CURVA DE CALIBRACION. RELACION DEL TIEMPO DE PROTROMBINA EN FUNCION DEL INVERSO DE LA CONCENTRACION.....	72
4.2 DISTRIBUCION DE PACIENTES POR SEXO.....	75
4.3 DISTRIBUCION POR EDADES DE LOS PACIENTES.....	76
4.4 INTERVALOS DE ANTICOAGULACION CONSIDERANDO EL INR.....	77
4.5 PACIENTES QUE PRESENTAN SINDROME HEMORRAGICO CON INR MAYOR A 4.8.....	78

INDICE DE TABLAS

	PAGINA
CAPITULO 1	
1.1 SISTEMAS INVOLUCRADOS EN LA HEMOSTASIS	4
1.2 PRINCIPALES CONSTITUYENTES DE LOS CUERPOS DENSOS, GRANULOS ALFA Y VESICULAS LISOSOMALES DE LAS PLAQUETAS..	9
1.3 COMPONENTES INVOLUCRADOS EN EL PROCESO DE ADHESIVIDAD PLAQUETARIA.	11
1.4 PROPIEDADES DE LOS FACTORES DE LA COAGULACION	16
1.5 PROTEINAS REGULADORAS DE LA COAGULACION	34
CAPITULO 2	
2.1 INTERACCION FARMACOLOGICA CON LOS ANTICOAGULANTES ORALES.	48
CAPITULO 3	
3.1 EFECTIVIDAD DE LA TERAPIA ANTICOAGULANTE ORAL.....	63
CAPITULO 4	
4.1 DETERMINACION DEL TIEMPO DE PROTROMBINA EN EL POOL DE PLASMAS DE DONADORES SANOS.....	70
4.2 CONCENTRACION DEL POOL DE PLASMA DE DONADORES	71
4.3 RELACION DE PACIENTES CON TERAPIA ANTICOAGULANTE.....	73
4.4 DISTRIBUCION DE LOS PACIENTES POR PATOLOGIA SEGUN LOS VALORES DEL INR.....	79

ABREVIATURAS

μM.....	MICROMOL
a	ACTIVADA
AAS.....	ACIDO ACETIL SALICILICO
ACO..	ANTICOAGULANTES ORALES
ADP.....	ADENOSIN DIFOSFATO
AIT.....	ACCIDENTE ISQUEMICO TRANSITORIO
AT	ANTITROMBINA
ATP	ADENOSIN TRIFOSFATO
Ca++...	IONES DE CALCIO
d.....	DALTONS
FIBRINA I	FIBRINA INSOLUBLE
FIBRINA S.	FIBRINA SOLUBLE
FL.	FOSFOLIPIDOS
FT..	FACTOR TISULAR
GLA.	ACIDO γ-CARBOXIGLUTAMICO
INR.....	INTERNATIONAL NORMALIZED RATIO
ISI.	INDICE DE SENSIBILIDAD INTERNACIONAL
K.....	CALICREINA
KH2.	HIDROQUINONA
KHPM.....	CININOGENO DE ALTO PESO MOLECULAR
OMS	ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD

PAI.....INHIBIDOR TISULAR DEL PLASMINOGENO

PC.....PROTEINA C

PDF.....PRODUCTOS DE DEGRADACION DEL
FIBRINOGENO

PGL.....PROSTACICLINAS

PIR.....PREPARACION INTERNACIONAL PRIMARIA

PIVKA'sPROTEINAS INDUCIDAS POR AUSENCIA DE
VITAMINA K

PK.....PRECALICREINA

PM.....PESO MOLECULAR

PS.....PROTEINA S

Q.....CININAS

SIDA.....SINDROME DE INMUNO DEFICIENCIA
ADQUIRIDA

TM.....TROMBOMODULINA

TP.....TIEMPO DE PROTROMBINA

t-PAI.....ACTIVADOR TISULAR DEL PLASMINOGENO

TTPa.....TIEMPO DE TROMBOPLASTINA PARCIAL
ACTIVADA

TX.....TROMBOXANO

U.....UNIDAD

U.S.P.....UNITED STATES PHARMACOPEIA

GLOSARIO DE TERMINOS

ALOPECIA.- Calvicie, deficiencia natural o anormal de cabello.

ANEURISMA.- Bolsa formada por la dilatación o ruptura de las paredes de una arteria o vena y llena de sangre circulante

APOPROTEINAS.- Péptido que constituye la parte proteica de las lipoproteínas.

ATEROSCLEROSIS.- Caracterizada anatómicamente por el depósito de materia lipóide en la túnica íntima.

CARDIOPATIA.-Término general para las enfermedades del corazón.Comprende las afecciones inflamatorias, tóxicas y degenerativas, así como las debidas a malformaciones congénitas.

CARDIOVERSION (De cardio).- Restauración del ritmo cardiaco normal por medio de un choque eléctrico externo.

CIMOGENESIS - Producción de una enzima por un cimógeno

CIMOGENO - Precursor inactivo de una enzima.

DILATACION - Aumento normal o patológico, continuo o intermitente, de una abertura, cavidad u organo hueco.

EMBOLIA.- Obstrucción brusca de un vaso, especialmente una arteria, por un cuerpo arrastrado por la corriente sanguinea.

EPISTAXIS.- Hemorragia por las fosas nasales.

EQUIMOSIS.- Coloración de la piel producida por la infiltración de sangre en el tejido celular subcutáneo o por la rotura de los vasos capilares subcutáneos

ESTEATORREA - Presencia de grasa en exceso en las deposiciones.

FIBRILACION.- Disposición en fibrillas. Débil contracción muscular, apenas visible, debida a una activación espontánea de un grupo de fibras musculares.

FIBRILACION AURICULAR.- Movimientos irregulares convulsivos de las aurículas debido a que gran número de estímulos que actúan sobre ellas y las fibras musculares actúan independiente.

FIBRINEMIA.- Presencia de fibrina en la sangre.

FIBRINOLISIS.- Disolución de la fibrina por la acción de enzimas

GINGIVORRAGIA.- Hemorragia de las encías.

HEMARTROSIS.- Acumulación de sangre extravasada en una articulación o en su cavidad sinovial.

ICTUS.- Término latino que significa golpe, ataque súbito.

INFARTO.- Porción de parénquima privada súbitamente de circulación sanguínea por obstrucción de vasos arteriales o venosos y conjunto de fenómenos morbosos consecutivos a esta obstrucción

MELENA.- Expulsión de sangre alterada por el ano, sola o con heces, consecutiva, generalmente, a una enterorragia o gastrorragia.

PERICITO.- Célula peritelial. Célula con prolongación citoplasmática largas y rodeadas de membrana basal.

PROENZIMA.- Es igual a zimógeno. Precursor inactivo de una enzima.

PROSTAGLANDINAS - Miembro de una serie de compuestos pertenecientes al grupo de ácidos grasos formados a partir de compuestos de 20 átomos de carbono que posee una estructura cíclica de cinco átomos de carbono en la mitad de la molécula, diversos grupos polares un número variable de enlaces dobles. Factores biológicos muy activos, se hayan en prácticamente en todos los tipos celulares a excepción de los eritrocitos. No pertenece al grupo de las aminos sino a ácidos grasos.

PROTEASA - Enzima o fermento que digiere las proteínas. En general, el término comprende las proteinasas, peptinasas, peptidasas y protaminasas.

RECESIVO,. Que tiende a regresar, regresivo, dicese de los caracteres o características en la ley de Mendel, que pueden no aparecer en un híbrido, pero que existen latentes y son capaces de transmitirse; opuesto a dominante.

RECIDIVA.- Reaparición de una enfermedad más o menos tiempo después de transcurrido un periodo de salud completa.

RECURRENTE.- Que vuelve hacia atrás o hacia su origen. Que aparece de nuevo después de intermisiones.

TROMBOCITO.- Plaqueta sanguínea.

TROMBOCITOSIS.- Aumento del número de plaquetas sanguíneas.

TROMBOLISIS - Lisis o destrucción de trombos.

TROMBOPATIA.- Cualquier alteración de la producción de las plaquetas sanguíneas

TROMBOPENIA.- Disminución de la coagulabilidad de la sangre.

TROMBOPLASICO.- Que provoca o acelera la formación de coágulos en la sangre.

TROMBOPOYESIS - Formación de plaquetas sanguíneas y elementos necesarios para la producción de trombos.

TROMBOXANO.- Induce la agrupación plaquetaria y potente vasoconstrictor.

RESUMEN

Las complicaciones tromboembólicas arteriales y venosas, son algunas de las causas más frecuentes de muerte, son susceptibles de terapéuticas preventivas y/o resolutivas, por medio de medicamentos capaces de influir en algunos mecanismos de la hemostasis: el sistema de la coagulación, la función plaquetaria y la fibrinólisis.

Los medicamentos que modifican directa o indirectamente la cinética de la coagulación, como las heparinas y los dicumarínicos, los antiagregantes plaquetarios y los agentes trombolíticos son utilizados para estos fines.

A pesar de los años transcurridos y la experiencia acumulada, a veces ha sido difícil determinar su utilidad como preventivos de las enfermedades tromboembólicas. Varias han sido las causas que contribuyeron a esta dificultad, pero, sin duda, las diferencias en los métodos de control, la falta de criterio uniforme sobre el nivel para una terapéutica eficaz y la imposibilidad de comparar resultados obtenidos en diferentes laboratorios, al determinar un tratamiento inadecuado o favorecer las complicaciones hemorrágicas, influyeron negativamente en los resultados terapéuticos.

Por este motivo, propusimos corroborar en este trabajo, que, la mejor manera de unificar los criterios, para obtener una terapéutica eficaz, es reportando el Tiempo de Protrombina (TP) en International Normalized Ratio (INR). Los valores del INR permiten obtener una comparación directa entre los resultados del TP sin tomar en cuenta el sistema reactivo / instrumento empleado.

Mediante un sistema semiautomatizado, las muestras fueron analizadas en el coagulómetro COAG-A-MATE XM. Se obtuvieron valores normales de referencia con las muestras de donadores sanos, donde el intervalo fué de 12.38 a 15.66 segundos.

Se incluyeron en este estudio hombres y mujeres de 22 a 87 años, que presentaban complicaciones tromboembólicas arterial y venosa que requerían del consumo de anticoagulantes orales (warfarina o acenocumarina), además de ser tratados con otros tipos de fármacos. Se tomaron muestras a 117 pacientes en tratamiento con anticoagulantes orales, de los cuales 47 (40.17%), fueron hombres, y los 70 restantes (59.83%), mujeres.

Utilizando el INR se encontró un mayor porcentaje (58.12%), de pacientes con INR mayor a 2 y menor a 4.8 (intervalo con efecto terapéutico de anticoagulación), el 29.91% con INR menor a 2 (efecto de hipoanticoagulación), y el 11.97% con INR mayor a 4.8 (efecto de hiperanticoagulación).

Por ésta razón, concluimos que el Índice Normalizado Internacional, suministra un método conveniente para la estandarización del monitoreo en la terapia con anticoagulantes orales, para establecer y mantener al paciente, en niveles de anticoagulación terapéutica, es más útil que incrementar dos o dos veces y media el Tiempo de Protrombina basal, en el control de los pacientes anticoagulados.

CAPITULO 1

HEMOSTASIS. ENDOTELIO VASCULAR Y PLAQUETAS.

1.1 INTRODUCCION.

El sistema de la **hemostasis**, al igual que todos los sistemas biológicos, se encuentran regulados fisiológicamente

Está integrado por dos mecanismos estrechamente relacionados:

El de la **coagulación**, que lleva a la formación de la fibrina, integrante básico de los coágulos trombóticos; y el otro, el mecanismo **fibrinolítico**, cuyo objetivo es la disolución del coágulo. Dentro de cada uno de estos mecanismos existen algunos factores que favorecen la reacción siguiente, mientras que otros pueden inhibirla

Durante la coagulación, el fibrinógeno es convertido en fibrina por la trombina, la cual a su vez se deriva de la protrombina. Para la formación de trombina (eventos procoagulantes), se requiere factores de la coagulación, fosfolípidos y otras proteínas, mientras que ésta conversión también está regulada por lo menos por cuatro inhibidores, de los cuales las antitrombinas parecen ser las más importantes. De este modo, cualquier deficiencia o defecto lleva a un desequilibrio en los mecanismos de **coagulación-fibrinólisis**, que se traduce en hemorragia o trombosis.

En este capítulo estudiaremos que es la hemostasis y algunos de los principales eventos que constituyen este importante sistema. (24)

1.2 HEMOSTASIS

Definida como el conjunto de mecanismos biológicos que interactuando entre si hacen cesar una hemorragia. Es un mecanismo de defensa del huésped que, paralelo con las respuestas de inflamación y reparación, ayudan a mantener la integridad del sistema vascular después de una lesión. Posee un delicado balance en el que intervienen elementos celulares, como el endotelio vascular y las plaquetas (hemostasis primaria) y proteínas plasmáticas representadas, por un lado, por factores procoagulantes; y por el otro, por inhibidores fisiológicos y el sistema fibrinolítico (hemostasis secundaria o plasmática) (Tabla 1.1).

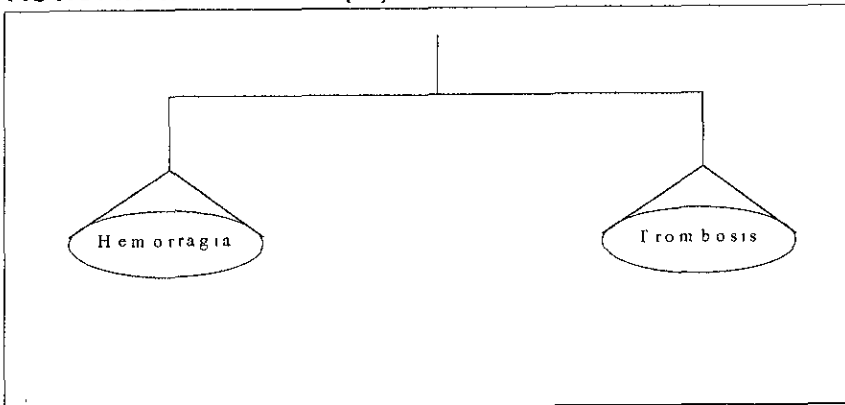
TABLA 1.1 SISTEMAS INVOLUCRADOS EN LA HEMOSTASIS (5, 9)

HEMOSTASIS	SISTEMA	COMPONENTES	FUNCIÓN
Primaria	Vascular	Endotelio vascular	Vasoconstricción local y exposición de la colágena.
	Plaquetario	Plaquetas	Se adhieren y agregan a la colágena del endotelio del vaso dañado
Secundaria	De la coagulación	Factores procoagulantes Inhibidores fisiológicos	Consolidación del coágulo de fibrina.
	Fibrinolítico	Plasminógeno activo	Lisis del coágulo de fibrina

La hemostasis requiere de la interacción de estos cuatro sistemas.

El equilibrio que se establece entre los protagonistas señalados mantienen la sangre fluida dentro de los vasos, lo que se puede considerar como un estado de normocoagulabilidad. El desequilibrio en alguno o algunos de los elementos que conforman la hemostasis podrían inclinar la balanza hacia un estado de hipocoagulabilidad, cuyo expresión clínica sería la hemorragia, o hacia un estado de hipercoagulabilidad, el cual se expresaría clínicamente como trombosis (Figura 1.1)

FIGURA 1.1 HEMOSTASIS. (11)



La hemostasis es un proceso equilibrado diseñado para mantener la fluidez de la sangre dentro de los vasos sanguíneos, ayuda en la reparación y evita la pérdida de la sangre cuando hay daño vascular.

1.2.1 HEMOSTASIS PRIMARIA.

Endotelio vascular y estructura plaquetaria.

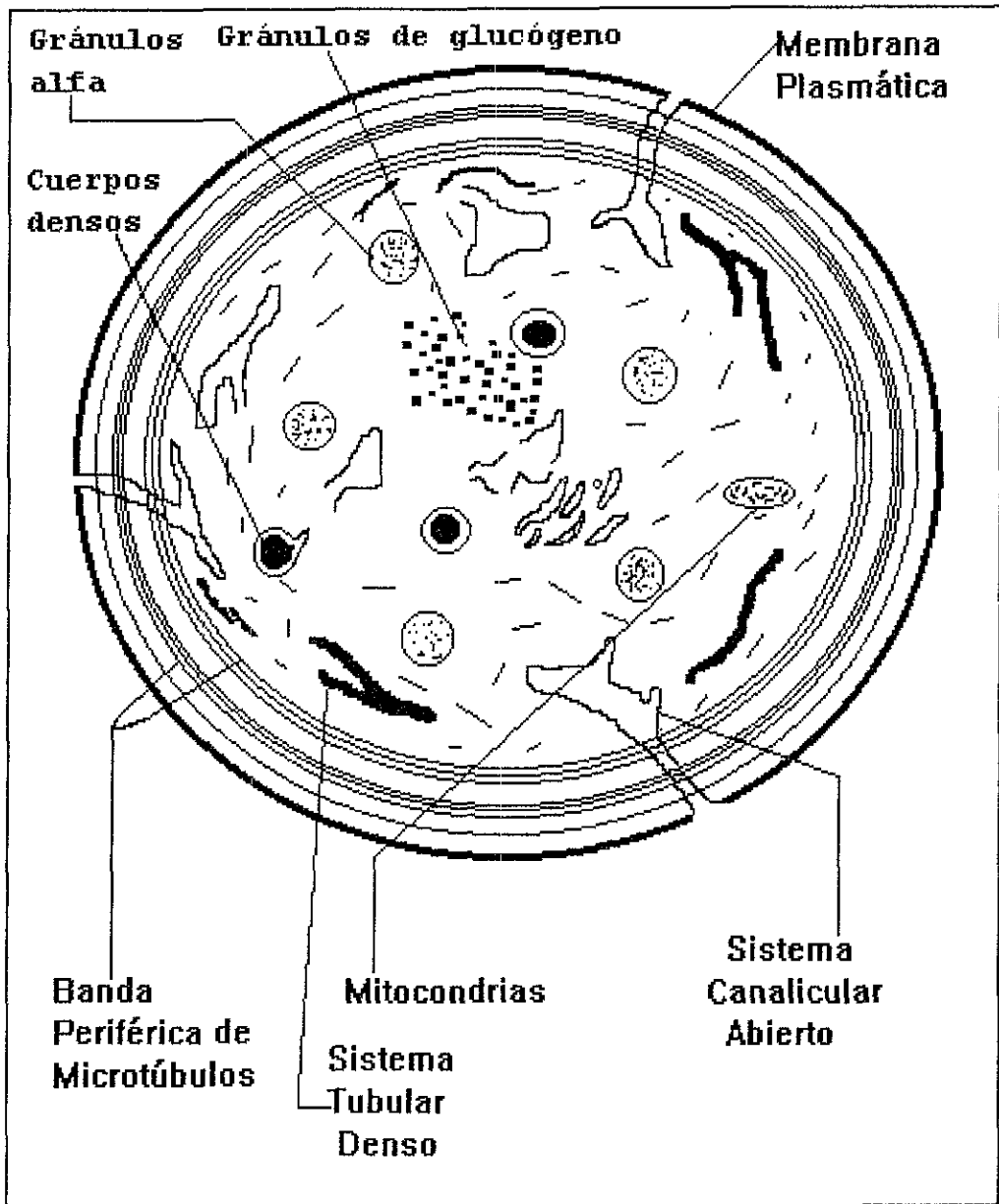
La función principal del **endotelio vascular** intacto es, en la hemostasis, prevenir en forma selectiva que células y macromoléculas abandonen la luz del vaso; presenta aperturas o poros que permiten el transporte de moléculas nutrientes del plasma a los tejidos; intervienen en el procesamiento de antígenos para la inmunidad celular; proporciona un entorno natural para los componentes del sistema de la hemostasis, que permanecen inertes en presencia de un endotelio normal intacto; previene la agregación plaquetaria a través de la producción de sustancias tales como las prostaciclina (PGL₂) (sintetizadas a partir del ácido araquidónico con participación de dos enzimas: ciclooxigenasa y prostaciclina sintetasa) con efecto vasodilatador y potente inhibidor de la agregación plaquetaria (Figura 1.5); sintetiza el factor von Willebrand, así como el activador tisular del plasminógeno; sintetiza el tejido conectivo propio, incluyendo la colágena, elastina y fibronectina.

Los vasos sanguíneos además de contener la sangre participan en el mecanismo hemostático haciendo una vasoconstricción local y exponiendo la colágena del endotelio, conduciendo a la adhesión y agregación plaquetaria, cuando un vaso sanguíneo es dañado (hemostasis primaria).

La **plaqueta** es la principal protagonista en esta fase de la hemostasis cuya participación en la coagulación la demostró Bizzozero en 1882 en conejos y cobayos, es una célula anucleada discoide, con un diámetro de 2 a 3 micras y una vida media de 7 a 10 días; proviene del citoplasma de los megacariocitos de la médula ósea, preserva la continuidad o integridad de los vasos cuando están lesionados; se adhiere a la colágena expuesta del subendotelio; promueve la reparación tisular a través de la liberación del factor de crecimiento derivado de plaquetas; constituye el tapón hemostático primario y activa al fibrinógeno a través de los fosfolípidos plaquetarios.

La estructura plaquetaria se muestra en la Figura 1.2.

FIGURA 1.2 REPRESENTACION ESQUEMATICA DE UNA PLAQUETA EN ESTADO DE REPOSO FUNCIONAL, TAL COMO SE ENCUENTRA EN LA CIRCULACION. (6)



La estructura plaquetaria es compleja, y aunque carece de núcleo, presenta abundantes organelos citoplasmáticos y tres zonas: Una zona periférica, otra zona de sol-gel, y una tercera zona de organelos.

a) Zona periférica. Consta de un recubrimiento externo esponjoso llamado glucocálix constituido por proteínas absorbidas del plasma: Factor V, VIII y Fibrinógeno.

b) Membrana plásmatica. Es bastante extensa, debido a invaginaciones que atraviesan el cuerpo celular y le dan aspecto de esponja (sistema canalicular de superficie), constituida por una bicapa fosfolipídica y proteínas integrales con ordenamiento asimétrico de fosfolípidos: externos (fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina) e internos (fosfatidilserina, fosfatidilinositol). Contiene una glucoproteína Ib (receptor para factor von Willebrand), y glucoproteínas IIb-IIIa (receptores para fibrinógeno, **Adenosin difosfato [ADP]** y factor von Willebrand), y otras glicoproteínas; y **la region interna o submembranal** constituida por el sistema canalicular de superficie, con el que tiene contacto la plaqueta hacia el exterior y que sirve para liberar los productos del metabolismo de la misma.

c) Zona sol-gel o de microtúbulos. Constituida por **microtúbulos** que contienen la proteína llamada tubulina que forma el citoesqueleto de la plaqueta y los **microfilamentos** constituidos por actina y miosina en proporción 100 a 1 y que proporciona un sistema contráctil a la plaqueta (trombostenina, complejo actina-miosina, es la proteína que se contrae).

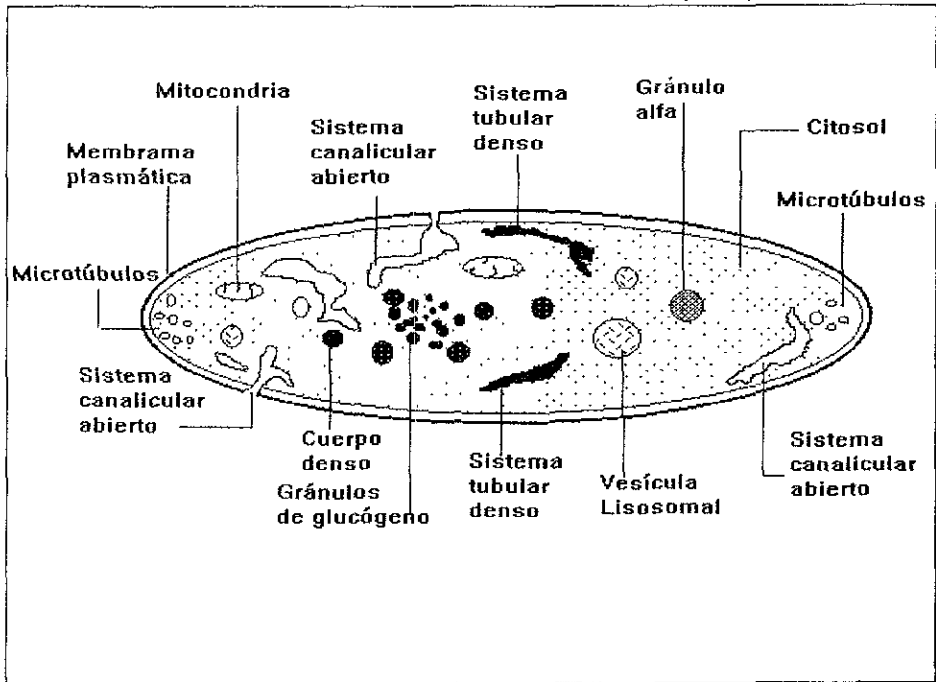
d) Zona de organelos. Constituida por **mitocondrias, gránulos de glucógeno, cuerpos o gránulos densos** (que contienen: **Adenosin difosfato, Adenosin trifosfato**, nucleótidos, compuestos fosfatados, calcio, serotonina); **gránulos alfa** (que contienen albúmina, proteínas adhesivas, tales como fibrinógeno, fibronectina, factor von Willebrand, factor V y trombospondina, y proteínas plaquetarias específicas, tales como β -tromboglobulina y el factor plaquetario de crecimiento, factor plaquetario 4) y **gránulos lisosómicos** (ricos en enzimas hidrolíticas). (Tabla 1 2)

TABLA 1.2 PRINCIPALES CONSTITUYENTES DE LOS CUERPOS DENSOS, GRANULOS α Y VESICULAS LISOSOMALES DE LAS PLAQUETAS. (6, 19)

CUERPOS DENSOS	GRÁNULOS α	LISOSOMAS
Adenosin Trifosfato	Fibrinógeno	Endopeptidasas
Adenosin Difosfato	Trombospondina	Exopeptidasas
Serotonina	Fibronectina	Glicosidasas ácidas
Calcio	Albúmina	Fosfatasa ácida
Fosfatos	Colagenasa	Arylsulfatasa
Magnesio	Elastasa	Heparitinasa
	Proacelerina (Factor V)	
	Factor 4 plaquetario	
	Factor Plaquetario de Crecimiento	
	β -Tromboglobulina	
	Factor von Willebrand	
	Antitrombina-III	
	α -2-antiplasmina	
	Inhibidor del activador tisular del plasminógeno (PAI-1)	

e) Sistema membranoso. Llamado también sistema de membranas y constituido por el **sistema canalicular abierto**, que rodea los canales que se extienden de la superficie plaquetaria al interior; es remanente de la membrana del megacariocito. Comunica a la plaqueta con el exterior. Y el sistema de cisternas conocido como **sistema tubular denso** que se origina en el retículo endoplásmico y almacena iones de calcio. (Figura 1.3)

FIGURA 1.3 ESTRUCTURA PLAQUETARIA. (6, 19)



Las plaquetas son fragmentos del citoplasma de megacariocitos encerrados en una membrana, que normalmente se hallan como elementos aislados en la circulación sanguínea.

1.2.1.1 FUNCION HEMOSTATICA DEL ENDOTELIO VASCULAR Y LAS PLAQUETAS

Al lesionarse el capilar se produce una vasoconstricción mediada por aminas vasoactivas, principalmente por la serotonina, para las cuales existen receptores en las células que rodean los capilares llamadas pericitos, y dicha reducción de calibre frena inicialmente la salida de sangre y lentifica la circulación, favoreciendo que los elementos formes de ella, principalmente las plaquetas, se pongan en contacto con el subendotelio vascular.

En condiciones normales, tanto los elementos formes de la sangre como el endotelio vascular poseen carga eléctrica negativa en sus membranas, lo que determina una repulsión electrostática entre ellas, que se conoce como potencial "Z" o zona de interfase, que impide su coagulación. (3)

El capilar, al lesionarse, expone el subendotelio, constituido por colágena, la cual muestra en la posición epsilon de la molécula un radical amino con carga eléctrica positiva, lo que determina una diferencia de carga eléctrica entre el subendotelio y la plaqueta, favoreciendo la unión de las plaquetas a este último, iniciándose así la **adhesividad plaquetaria**, que se fortalece por la presencia en la membrana plaquetaria de receptores para colágena (presente en capilares), así como por la presencia del complejo glucoproteína I b y la presencia del factor de von Willebrand y fibronectina. (Tabla 1.3).

La secuencia aminoácida completa de las cadenas de colágena no es todavía conocida, pero las secuencias que aparecen con más frecuencia son glicina-X-prolina, glicina-prolina-X y, glicina-X-hidroxiprolina, en las que X puede ser cualquier aminoácido (3, 5, 14).

TABLA 1.3 COMPONENTES INVOLUCRADOS EN EL PROCESO DE ADHESIVIDAD PLAQUETARIA. (3, 40, 43)

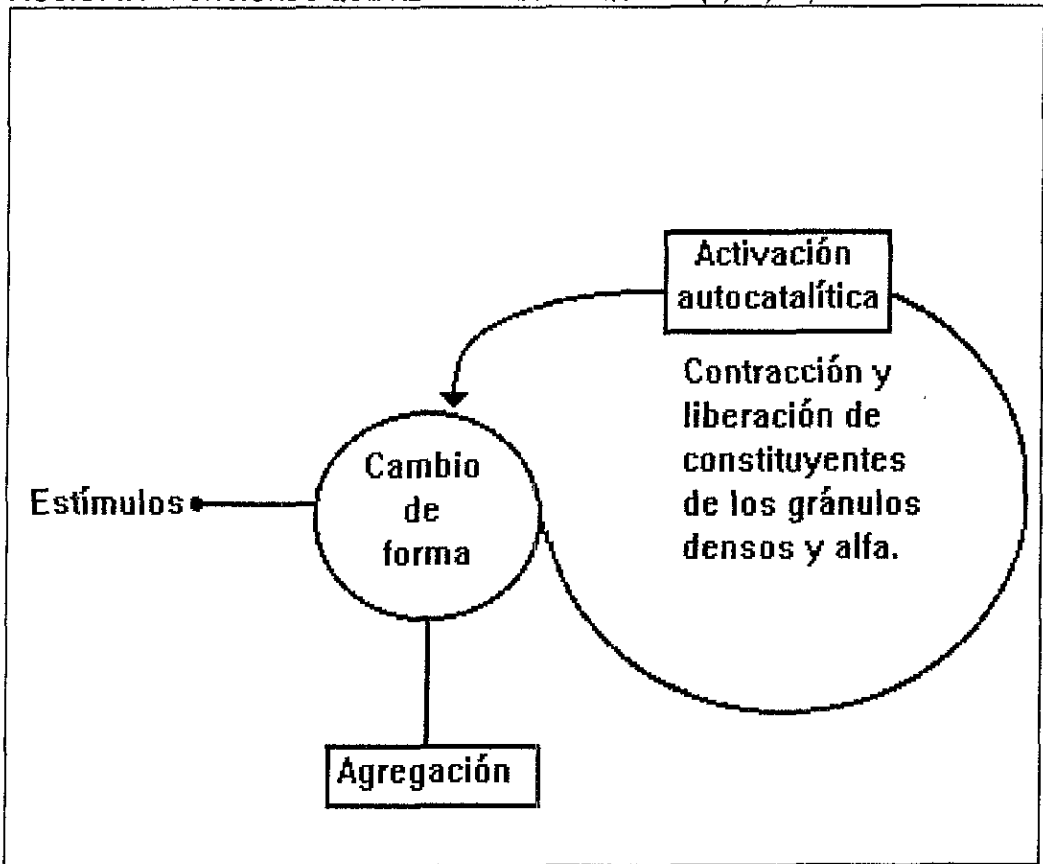
VELOCIDAD DE DESPLAZAMIENTO DE LA SANGRE	ELEMENTOS DEL SUBENDOTELIO	PROTEÍNAS PLASMÁTICAS	RECEPTORES DE MEMBRANA
Alta velocidad observada en capilares y en la microcirculación.	Microfibrillas subendotelial asociadas con la elastina y fibrillas de colágena.	Factor von Willebrand	Glucoproteína Ib
Baja velocidad detectada en grandes vasos.	Fibrillas de colágena tipos I y III.	Colágena	Glucoproteína Ia
Alta velocidad después de producido el contacto de la plaqueta con el subendotelio.	Las plaquetas adheridas se extienden sobre la superficie subendotelial	Fibronectina y/o factor von Willebrand unidos a la matriz subendotelial.	Complejo Glucoproteína IIb-IIIa Iones de Calcio o Magnesio

Los mecanismos principales involucrados en la adhesividad plaquetaria pueden variar, en función de factores físicos.

Sigue la **activación plaquetaria**, caracterizada por cambio en la forma de la plaqueta, que pasa a ser de discoide a esférica, con una emisión de pseudópodos que pueden duplicar el diámetro celular, adherencia de ADP, adrenalina (estimulantes débiles), trombina y colágena (estimulantes potentes), aumento de calcio en el citoplasma plaquetario e inhibición de adenilatociclasa, reducción de AMP cíclico plaquetario y mayor movilización de calcio intraplaquetario, lo que incrementa el cambio de forma y favorece la **agregación plaquetaria primaria**, separación del ácido araquidónico de los fosfolípidos membranales, secreción de gránulos densos y secreción de enzimas hidrolasa ácidas; y por último, reordenamiento y exposición de fosfolípidos membranales en la mitad exterior de la bicapa lipídica, principalmente fosfatidilserina. (Figura 1.4)

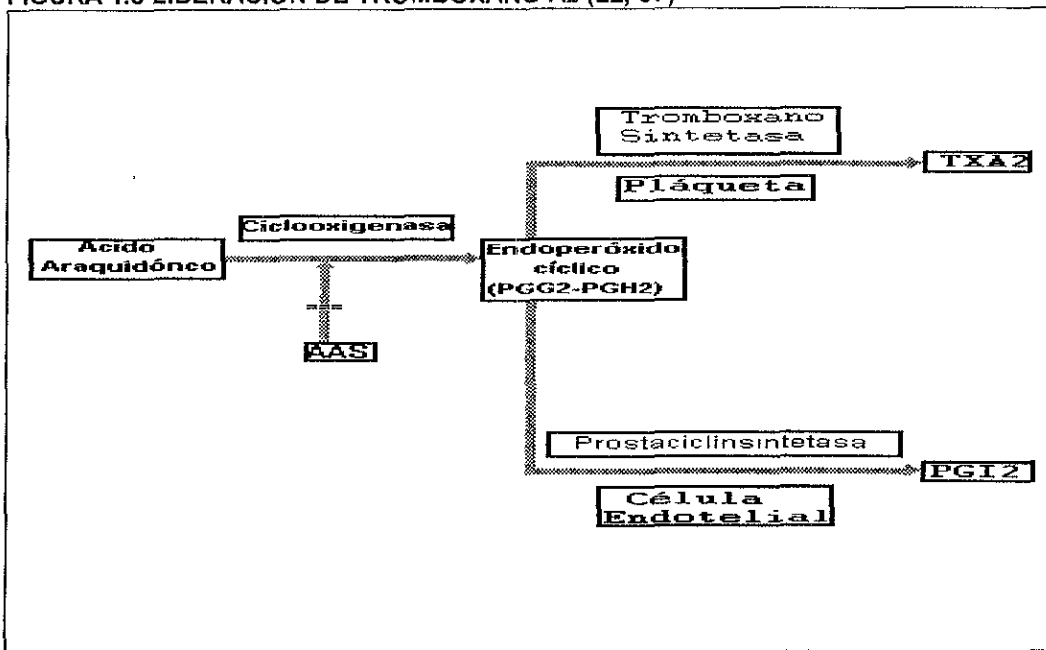
Por último se lleva a cabo la **agregación plaquetaria secundaria** donde interviene el sistema canalicular abierto y donde se lleva a cabo la liberación de ácido araquidónico membranar; liberación de tromboxano A₂ con potente efecto vasoconstrictor y agregante plaquetario; liberación del contenido de gránulos densos (ADP, ATP, calcio y serotonina); liberación del contenido de gránulos alfa, y por último liberación del contenido de los lisosomas (enzimas hidrolíticas), llevándose a cabo la formación del tapón hemostático primario o tromboplaquetario. (22, 43). (Figura 1.5)

FIGURA 1.4 FUNCIONES QUE REALIZA LA PLAQUETA. (6, 19, 56)



Desde el punto de vista "macroscópico", la reacción plaquetaria comienza por un cambio de forma de la plaqueta, que pasa de ser discoidal a esférica, con la emisión de pseudópodos que pueden duplicar el diámetro celular. La centralización de los elementos granulares, seguida de la liberación al medio del contenido proagregante de los mismos, conduce a la activación de otras plaquetas y , finalmente, al establecimiento de la interacción plaqueta-plaqueta irreversible, con la formación de agregados o microtrombos plaquetarios.

FIGURA 1.5 LIBERACION DE TROMBOXANO A2 (22, 37)



En las plaquetas se sintetiza tromboxano A2 (TXA2) (producto final de las prostaglandinas plaquetarias), que induce la agregación plaquetaria y es un potente vasoconstrictor. Por un mecanismo similar, en las células endoteliales de la pared vascular se sintetiza prostaciclina (PGI₂), que inhibe la agregación plaquetaria y es un potente vasodilatador. El ácido acetil salicílico (AAS) bloquea la producción de TXA2 al acetilar covalentemente el centro activo de la ciclooxigenasa.

1 2.1.2 ACTIVIDADES PROCOAGULANTES PLAQUETARIAS.

La translocación de los fosfolípidos, especialmente fosfatidilserina, hacia la bicapa externa, constituye la contribución plaquetaria al sistema plasmático de la coagulación, ya que aporta la superficie fosfolipídica apropiada para la activación de los factores V y X, así como la transformación catalítica de la protrombina en trombina.

El factor V luego de liberado de los gránulos α , se fija a la propia membrana plaquetaria, convirtiéndose en receptor del factor Xa y de protrombina (factor II). Ello, unido a modificaciones de la estructura fosfolipídica de la membrana, por la cual se disponen en la capa externa fosfolípidos de carga negativa que habitualmente están en la capa interna, facilita la formación del "complejo activador de la protrombina".

Estas modificaciones de membrana constituyen la actividad denominada "Factor plaquetario 3 o actividad tromboplástica plaquetaria".

En consecuencia las plaquetas promueven las reacciones de coagulación intrínseca, incluyendo la activación por contacto, la del factor X y la de la protrombina, exponiendo receptores específicos de membrana para las enzimas de la coagulación, los zimógenos y sus cofactores, lo cual localiza la formación de fibrina en los puntos de daño vascular.

1 2 2 HEMOSTASIS SECUNDARIA

Sistemas de la coagulación y fibrinolítico.

Está constituido, fundamentalmente, por proteínas plasmáticas con actividad de proteasas, que circulan en forma inactiva (proenzima o zimógeno), y que en determinadas circunstancias pueden ser activadas, originándose una serie de interacciones entre ellas que llevan, finalmente, a la formación de la fibrina (31).

La activación consiste en una proteólisis parcial de la molécula, por la cual se expone un núcleo activo, serina, que le otorga una capacidad enzimática (serina proteasa) que le permite activar otro factor de la coagulación.

Esta activación en forma secuencial (en cadena o cascada), amplifica la reacción enzimática. Algunos factores de la coagulación no son enzimas, sino cofactores enzimáticos (factores V y VIII) y su función es facilitar la acción del factor activado (enzima) sobre el factor a activar (sustrato), aumentando y acelerando marcadamente la reacción enzimática. Similar acción tiene el cininógeno de alto peso molecular (KHPM) en la activación de la fase de contacto. (Tabla 1.4). (14).

TABLA 1.4 PROPIEDADES DE LOS FACTORES DE LA COAGULACION. (1, 14, 31, 32)

FACTORES DE LA COAGULACIÓN (SINONIMOS)	PESO MOLECULAR (D)	CONCENTRACION NORMAL EN PLASMA (µg/ml)	TIEMPO DE VIDA MEDIA (HORAS)	FORMA ACTIVA (FUNCION)	ROMPIMIENTO PROTEOLITICO REQUERIDO PARA SU ACTIVACION (Factor que lo produce)	DEFICIENCIAS (RASGO)
Vía Intrínseca						
Factor XII (Factor Hageman)	90000	30	60	Serina proteasa (zimógeno)	Arginina-Valina (Calicreina, KHPM)	No produce tendencias hemorrágicas.
Precalicreína (Factor Fletcher)	88000	50	---	Serina proteasa		
Ciníngeno de alto peso molecular (Factor Fitzgerald)	120000	70	1	(Cofactor)		
Factor XI (Antecedente tromboplástico del plasma)	160000	4	65	Serina proteasa (zimógeno)	Arginina-Isoleucina (XIIa, KHPM)	Hemofilia C (recesivo no ligado al sexo)
Factor IX (Factor Christmas) (Factor antihemofílico B)	56000	5	24	Serina proteasa (zimógeno)	Arginina-Alanina Arginina-Valina (XIa, Ca++)	Hemofilia B (recesivo ligado al sexo)
Factor VIII (Factor antihemofílico/ Factor von Willebrand)	1-200000 (Serie de 6 a 10 subunidades)	0.2 7 (vWF)	10 (VIII) ---	Cofactor	(IIa) La PC-PS inhibe al VIII	Hemofilia A (recesivo ligado al sexo) Enfermedad de von Willebrand (dominante autosómico)
Vía Extrínseca						
Factor VII (Proconvertina)	55000	1-2	6	Serina proteasa (zimógeno)	(III, Ca++, FL) Cambio conformacional	Alteración hemorrágica (autosómico recesivo)

TABLA 1.4 CONTINUACION

Factor tisular III (Tromboplastina tisular)	45000	0	Cofactor de iniciación		Alteración
Vía Común					
Factor X (Factor Stuart-Prower)	59000	6-8	30-40	Serina proteasa (zimógeno)	Alteración hemorrágica, se presenta rara vez, (recesivo autosómico)
Factor V (Proacelerina)	300000	5-12	25	Cofactor	Alteración hemorrágica (autosómico recesivo)
Factor II (Protrombina)	72000	100	60	Serina proteasa (zimógeno)	(Recesivo autosómico), rara vez se presenta
Factor I (Fibrinógeno)	340000	2-4 mg/dl	120	Estructural	Alteración hemorrágica (recesivo no ligado al sexo)
Factor XIII (Factor estabilizante de la fibrina)	300000	10-20	150	Transglutaminasa (entrecruza fibrina)	Alteración hemorrágica recesivo autosómico

Hasta ahora han sido reconocidos como factores de la coagulación 10 glicoproteínas plasmáticas sintetizadas (en el hígado) y designadas con números romanos en orden creciente conforme se fueron descubriendo y no de acuerdo a su participación en la cascada de la coagulación. El calcio iónico se denominó factor IV y el factor VI no existe. KHPM= Cininógeno de alto peso molecular, FLplaq =Fosfolípidos plaquetarios, PC=Proteína C, PS=Proteínas.

Los factores de la coagulación se pueden dividir en cuatro grandes grupos en base a sus propiedades generales:

a) Factores vitamina K dependientes.

En este grupo se encuentran los factores: II (Protrombina), VII (Proconvertina), IX (Christmas) y X (Stuart-Prower). La característica que tienen en común es la de contener una región dentro de la estructura primaria que se denomina región GLA (residuos gamma carboxilados) (5, 14).

Se sintetizan en el hígado, donde sufren una carboxilación enzimática, dependiente de la vitamina K, por medio de la cual residuos específicos de ácido glutámico, de los precursores proteicos, son transformados en residuos gamma carboxiglutámicos (GLA), dando origen a las proteínas definitivas. (Figura 2.2)

La función específica de estos GLA es la unión de iones calcio, lo cual permite la interacción de las proteínas con los fosfolípidos de la membrana plaquetaria, promoviendo así la conversión de estas proenzimas a sus formas activas, que intervienen en el mecanismo de la activación de la coagulación sanguínea.

El factor IX es una glicoproteína (17 % de carbohidratos), de cadena simple (PM 56000) con 415 aminoácidos; contiene 12 residuos GLA. Se activa por el XIa por ruptura de dos enlaces arginina-alanina y arginina-valina. El factor IXa activa al factor X formando un complejo con Ca ++ y fosfolípidos plaquetarios y como cofactor el factor VIII.

El factor X es una glicoproteína (15% de carbohidratos), de doble cadena (PM 59,000) contiene un residuo GLA. Se activa por el IXa y VIIa (este último de la vía extrínseca), ambos formando complejos con Ca⁺⁺ y fosfolípidos plaquetarios y como cofactores el VIII y el III. Es decir el factor X es activado por el complejo diezasa de la vía extrínseca (factor III-factor VII a; Ca⁺⁺, fosfolípidos) y por el complejo diezasa de la vía intrínseca (factor VIII-factor IX a; Ca⁺⁺; fosfolípidos plaquetarios). (Figura 1.9).

Por otra parte, el factor X para que pueda romper a la protrombina y formar trombina, tiene que formar un complejo llamado protrombinasa constituido por Ca⁺⁺ y fosfolípidos plaquetarios y teniendo como cofactor el factor V

El factor VII es una glicoproteína de cadena simple (PM 55,000), que contiene 10 residuos GLA. Para activar al factor X forma complejo con Ca⁺⁺ y fosfolípidos y como cofactor el factor III.(Este último llamado tromboplastina tisular), iniciando así la **vía extrínseca** de la coagulación.

El factor II es una glicoproteína (8,2% carbohidratos) de cadena simple (PM 72,000), contiene 10 residuos GLA. En presencia de iones calcio, se transforma en trombina por la acción enzimática del complejo protrombinasa. (Figura 1.9) (5, 14)

b) Factores de Contacto. (Exclusivos de la vía intrínseca).

En este grupo se encuentran los factores: XII (Hageman), precalicreína (Fletcher), XI (antecedente tromboplastínico plasmático) y cininógeno de alto peso molecular (Fitzgerald). Estos factores comparten la característica que requieren para su activación superficies cargadas negativamente, tales como el caolín y celite, colágena, algunos ácidos grasos, plaquetas activadas entre otros. Esta reacción requiere de la presencia de fosfolípidos

Se relacionan con otros sistemas, como la **reacción inflamatoria, complemento, y sobre todo en la activación de la fibrinólisis.**

El factor **XII** es una betaglobulina de cadena simple (PM 90,000) con 596 aminoácidos.

Es activado por la calicreína y por autoactivación Actúa sobre calicreína, plasminógeno, precalicreína, factor XI y cininógeno de alto peso molecular.

El factor **XI** es una gamaglobulina dimérica (PM 160,000). Es activado por el factor XIIa y por la calicreína. El factor XIa activa al factor IX.

La **precalicreína** es una gamaglobulina (PM 88,000), el 25% está libre en plasma y el otro 75% está unido al cininógeno de alto peso molecular. Se activa por el factor XIIa transformandose en calicreína, la cual actúa sobre el factor XII, cininógeno de alto peso molecular, plasminógeno y la prourocinaasa.

El **cininógeno de alto peso molecular** es una alfa globulina (PM 120,000) con 626 aminoácidos. Cuando se activa se libera un péptido vasoactivo: la bradicinina.

Es un cofactor no enzimático, necesario para la activación por contacto del plasma humano.

Concentra la precalicreína y el factor XI con los que circula en unión no covalente, se une con las superficies electricamente negativas, para su posterior reacción con el factor XIIa.

Acelera la activación de la precalicreína y la del factor XI por el factor XIIa y acelera, además la retroactivación del factor XII por la precalicreína (Figura 1.9).

c) Factores Sensibles a la Trombina.

En este grupo se encuentran los factores: I (fibrinógeno), V (proacelerina), VIII (globulina antihemofílica), XIII (factor estabilizante de la fibrina)

La característica que tienen en común es la sensibilidad a la trombina. Todos estos factores requieren necesariamente que la trombina actúe directamente sobre ellos, haciendo más potente la actuación en la cascada de la coagulación de los cofactores V y VIII; transformando el fibrinógeno en fibrina; y activando al factor XIII para que establezca el polímero de fibrina.

El Factor I o fibrinógeno es una glicoproteína muy compleja, que consiste de dos juegos de tres cadenas polipeptídicas diferentes: 2α , 2β y 2γ . (PM 340,000).

Se sintetiza en el hígado. Por acción de la trombina el fibrinógeno se fragmenta en monómeros de fibrina que se polimerizan. (Figura 1.6).

El factor V es una globulina intermedia entre las globulinas beta y gamma, lábil, que se deteriora rápidamente en el plasma especialmente el oxalatado (y algo menos en el citratado) Incluso en plasmas congelados ($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$), la actividad del factor V disminuye en plazo de algunas semanas. Se agota durante el proceso de la coagulación por lo que no se encuentra en el suero. Es producida por el hígado. El factor V es indispensable para las últimas partes de formación de tromboplastina; en otras palabras, los productos tromboplastínicos de los mecanismos tanto extrínseco como intrínseco reaccionan con el factor V (y también con el factor X en presencia de iones calcio)

El factor VIII en el plasma está unido al factor von Willebrand; antes se pensaba que era una sola molécula con dos diferentes actividades, ahora se conoce bien la estructura química de los dos diferentes factores y, como se sabe, el factor VIII participa en la cascada de la coagulación y el factor von Willebrand participa en la adhesividad plaquetaria. Cuando no hay o sólo hay una pequeña cantidad del factor von Willebrand, también se encuentra reducida la cantidad de factor VIII; pues el factor von Willebrand lo protege de la proteólisis plasmática, lo que corrobora que estas dos proteínas se encuentran asociadas en el plasma.

El Factor **XIII** es un tetrámero de dos cadenas α y dos cadenas β , (PM 300,000). Toda la función enzimática reside en la cadena α con 6 grupos Sulfihídricos. (14)

d) Cofactores

Las reacciones enzimáticas de la cascada de la coagulación necesitan de proteínas plasmáticas adicionales, que desempeñen el papel de cofactores, como son los siguientes factores: V, VIII, y III, así como los iones calcio (5, 14).

En este grupo se clasifican también a los factores V y VIII, que además de ser sensibles a la trombina, su función es de cofactor, se sintetizan en el hígado y son termolábiles.

El factor VIII es una glicoproteína de cadena simple (PM 200,000). En el plasma se encuentra unido al factor von Willebrand.

El factor V es una glicoproteína (12% carbohidratos) de cadena simple (PM 330,000).

Los factores V y VIII circulan como cofactores y su función es de serina proteasas, como la trombina. Los cofactores activados son subsecuentemente inactivados por otras serina-proteasas, es decir por la Proteína C y por la Proteína S. (17,25)

El factor V funciona en la coagulación como un receptor de vesículas de fosfolípidos plaquetarios para la serina proteasa Factor Xa. El complejo **protrombinasa** formado por Factor Xa, Factor V, fosfolípidos plaquetarios, e iones calcio cataliza el rompimiento del zimógeno de protrombina a trombina. (Figura 1 7).

El Factor VIII en presencia de iones calcio y fosfolípidos plaquetarios funciona como un cofactor para la serina proteasa IXa en la activación del Factor X a factor X activado.

El siguiente factor de este grupo es el factor **III** (factor tisular), no se encuentra en la circulación plasmática, sino en los tejidos. Al producirse una ruptura de un vaso sanguíneo hay exposición de éste.

Los **iones de calcio** se necesitan para casi todas las reacciones del proceso de la coagulación, y la disminución de su cantidad en el plasma puede ser resultado de hipoparatiroidismo, deficiencia de magnesio o ingestión crónica de laxantes, o después de una transfusión masiva de sangre citratada.

Sin embargo, la coagulopatía rara vez es consecuencia de hipocalcemia, porque la coagulación puede ocurrir incluso con una cantidad menor de calcio de la que se necesita para dichas funciones fisiológicas. Los niveles de calcio lo suficientemente bajos para ocasionar defectos de la coagulación, son incompatibles con la vida.(39)

1.2.2.1 CASCADA DE LA COAGULACION.

Durante la fase de agregación plaquetaria la sangre pierde su fluidez y forma un coágulo gelatinoso. Este proceso es influido por muy diversos agentes en la sangre y en los tejidos. Algunos estimulan la coagulación (procoagulantes), en tanto que otros la inhiben (anticoagulantes). Cuando la lesión vascular ocasiona hemorragia, los procoagulantes se reúnen en el sitio de lesión y estimulan la formación de un trombo debido a la transformación de fibrinógeno (proteína soluble en el plasma), en una red de fibrina insoluble que encierra leucocitos, eritrocitos y un cúmulo de plaquetas para detener totalmente la hemorragia.

En término de sesenta segundos de haber ocurrido la lesión comienza la coagulación, y prosigue gracias a la interacción de dos vías paralelas, que son los sistemas de coagulación **extrínseco e intrínseco**. Donde se unen estas dos vías, se denomina la **vía común**.

El primer sistema es activado cuando en el sitio de lesión se libera la tromboplastina tisular. (FT). Al mismo tiempo, los procoagulantes en la sangre son activados en el sistema **intrínseco**, para producir tromboplastina plasmática y otros factores. Ambos sistemas interactúan para integrar una red de cordones de fibrina que atrapan eritrocitos, más plaquetas y plasma, y así formar el coágulo de fibrina.

La coagulación normal se realiza en tres fases:

a) Traumatismo a vasos sanguíneos o tejidos, que desencadena la coagulación por las **vías intrínseca y extrínseca**.

b) La actividad de la protrombinasa transforma la protrombina en trombina.

c) La trombina transforma el fibrinógeno en el plasma, hasta formar un tapón de fibrina

La vía intrínseca es aquella que depende exclusivamente de los componentes del plasma circulante, en tanto que, la vía extrínseca depende de la entrada a la circulación de sustancias procoagulantes como la **tromboplastina tisular** proveniente de los vasos lesionados. Ambas vías convergen en una ruta final común, la formación del **complejo protrombinasa**, la cual cataliza la reacción que convierte a la protrombina en trombina, ésta última convierte el fibrinógeno en fibrina. (14) (Figura 1.9).

1.2.2.2 VIA INTRINSECA

Se inicia cuando la sangre se pone en contacto con superficies de carga negativa (38), (colágena, plaquetas activadas, algunos ácidos grasos, entre otros).

Las glicoproteínas que participan en la vía intrínseca de la coagulación son: los factores XII, XI, IX, VIII, X y V, protrombina, fibrinógeno, precalicreína, cininógeno de alto peso molecular, in vivo, ésta vía también comienza con una lesión en un vaso sanguíneo, lo cual origina un cambio en la polaridad del recubrimiento endotelial y las plaquetas se adhieren al área de ruptura.

Empieza con la activación de los factores de contacto: XII; precalicreína; cininógeno de alto peso molecular y el XI (32, 38). El factor XIa (XI activado) continúa activando al factor IX.

El factor IXa forma un complejo con iones calcio y fosfolípidos para poder activar al factor X; ésta reacción se acelera en presencia de un cofactor, este cofactor es el factor VIII. A este complejo se le llama **DIEZASA DE LA VIA INTRINSECA.** (14) (Figura 1.9)

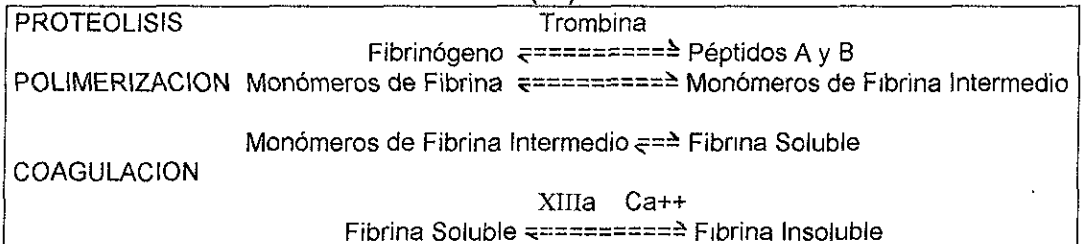
El factor Xa forma un complejo con iones calcio y fosfolípidos plaquetarios para poder activar al factor II; esta reacción usa también un cofactor, en este caso se trata del factor V. A este complejo se le llama **PROTROMBINASA.** (Figura 1.9).

La trombina actúa eliminando dos fibrinopéptidos A y dos fibrinopéptidos B del fibrinógeno, quedando el monómero de fibrina. Estos monómeros se polimerizan para formar la fibrina soluble, por formación de enlaces débiles como son: Puentes de hidrógeno, atracciones coulombínicas, fuerzas de Van der Waals.

La trombina también activa al factor XIII en presencia de iones calcio. El factor XIIIa convierte la fibrina soluble en fibrina insoluble por formación de enlaces covalentes.

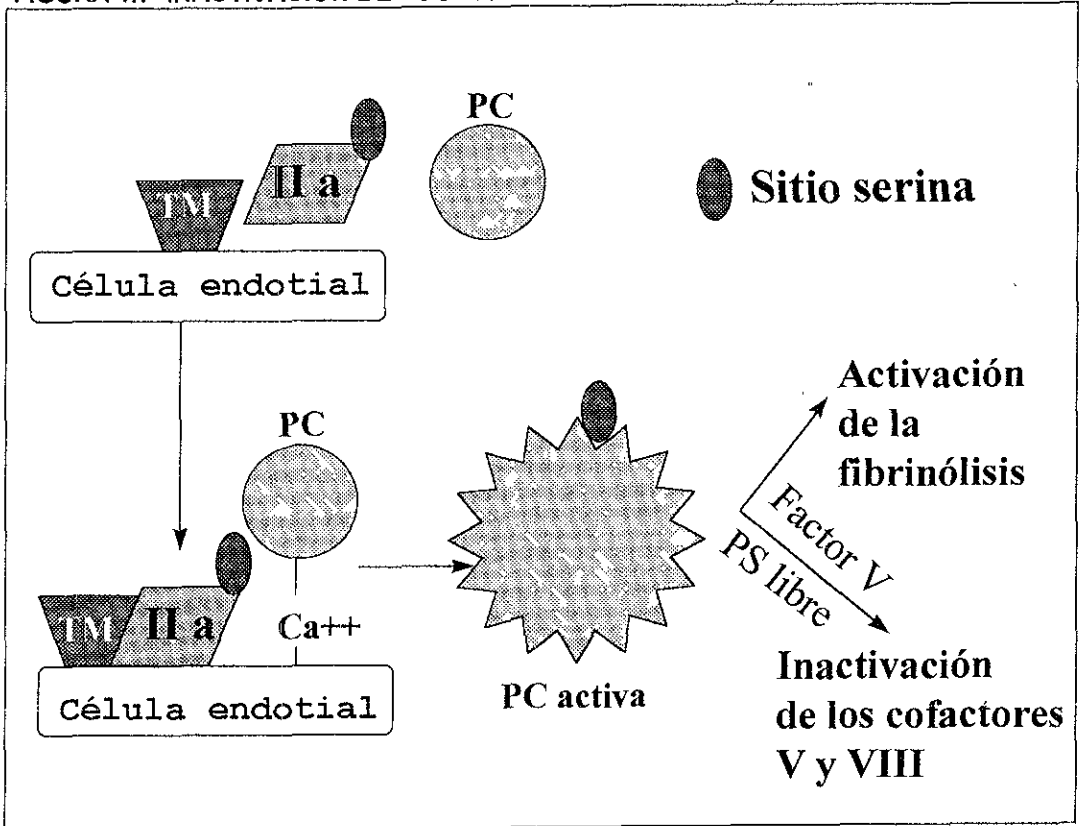
La relación entre estos diferentes factores se muestra de la figura 1.6:

FIGURA 1.6 FORMACION DE LA FIBRINA. (14)



Los factores V y VIII, que actúan como cofactores (35) aumentan marcadamente su eficiencia si sus moléculas son previamente degradadas parcialmente por la trombina, siendo ésta "activación" una retroalimentación positiva del sistema. En cambio, mayor degradación molecular por excesiva actividad trombínica destruye la actividad funcional de estos factores. También la activación por trombina del sistema de las proteínas C y S inhiben a los factores V y VIII por proteólisis y degeneración de fragmentos hemostáticamente inactivos. Esto demuestra las múltiples formas de autorregulación que tiene el mecanismo de la coagulación al igual que otros sistemas enzimáticos. (Figura 1.7).

FIGURA 1.7 INACTIVACION DE LOS FACTORES V Y VIII. (48)



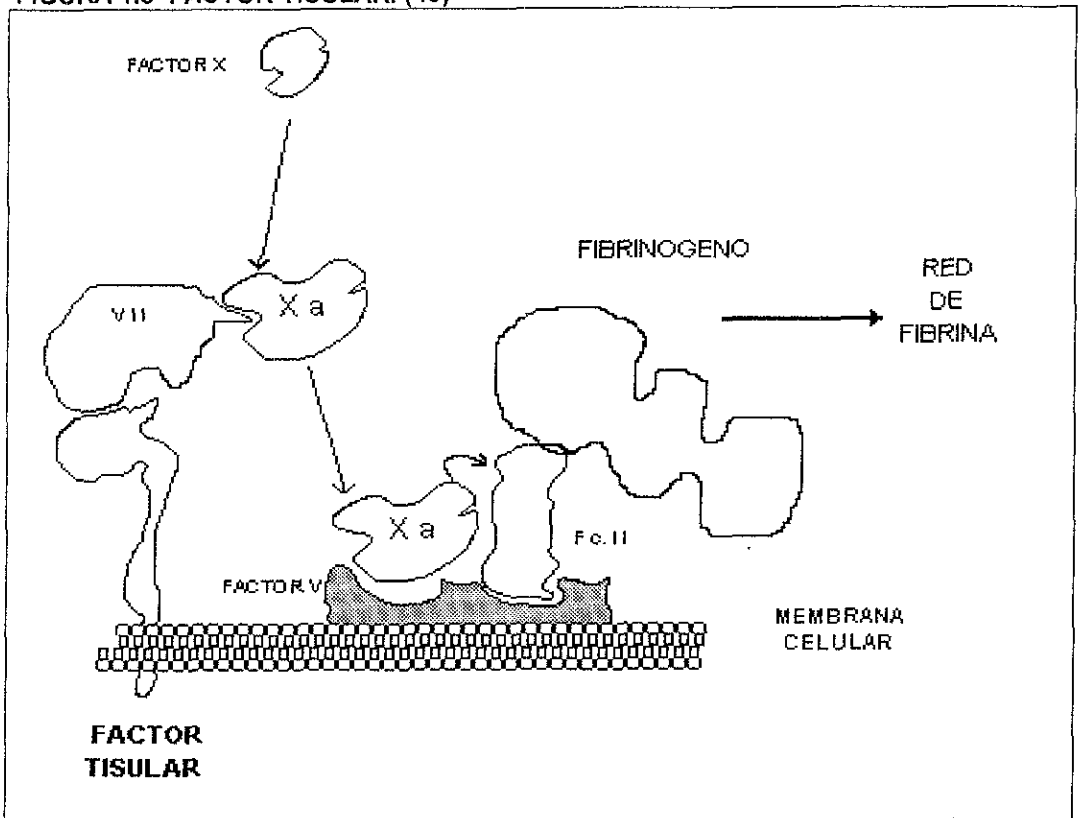
La trombina (IIa) cuando se une a la trombomodulina (TM) en la superficie endotelial pierde su actividad procoagulante y activa a la Proteína C (PC). Esta proteína en las superficies de membranas fosfolípicas forma un complejo con la Proteína S (PS) y el factor V, degradando a los cofactores V y VIII.

1.2.2.3 VIA EXTRINSECA

Empieza cuando un vaso sanguíneo sufre una lesión, liberando un complejo lipoproteico llamado **Tromboplastina Tisular, Factor Tisular o Factor III**.

El factor VIIa forma complejo con iones calcio y fosfolípidos y por supuesto esta reacción al igual que aquéllas donde intervienen los otros factores vitamina K dependientes, como el factor IX y el factor X también necesita de la presencia de un cofactor, que en este caso es el factor III (factor tisular). A este complejo se le llama **DIEZASA DE LA VIA EXTRINSECA**. (Figura 1.8).

FIGURA 1.8 FACTOR TISULAR. (45)



El factor tisular es una glicoproteína anclada sobre la superficie celular que tras reaccionar con un fosfolípido intracitoplasmático, posee una gran afinidad por el factor VII plasmático. Esta unión está mediatizada por la presencia de iones Ca^{++} . La activación del factor X por el factor VII unido al factor tisular es un millón de veces más efectiva que la producida únicamente por el factor VII. El factor X activado (Xa) se une al factor V en presencia de iones Ca^{++} , y este complejo transforma a la protrombina en trombina, la cual transforma a su vez al fibrinógeno en fibrina.

1 2.2.4 VIA COMUN

Después de la formación de los complejos **DIEZASA DE LA VIA INTRINSECA** y **DIEZASA DE LA VIA EXTRINSECA**, los factores que intervienen se encuentran presentes en ambas vías y de ahí su nombre de **VIA COMUN**. Existen diversas interacciones entre ambas vías, que hacen difícil mantener una separación e independencia entre ellas. Así, por ejemplo el complejo FT-VIIa puede también activar al factor IX, si bien en forma lenta (40). Por otra parte, una vez generados el factor Xa y factor IXa, ellos pueden activar el factor VII en forma más eficiente que el FT, potenciando ésta vía de activación. Es menos importante la activación del factor VII por el factor XIIa. Sin embargo a pesar de éstas interacciones, alteraciones de la hemostasia provocadas por déficit de factores de una de las vías de activación, no son corregidas al 100 % por la integridad de la otra vía, como ocurre en el déficit del factor VIII, factor IX, el factor XI (constituyentes de la Vía Intrínseca), o el factor VII (Vía Extrínseca), presentándose síndrome hemorrágico

1.3 PROTEINAS REGULADORAS DE LA COAGULACION

Se conocieron primero las deficiencias de las proteínas de la coagulación por estar involucradas en problemas de sangrado, pero quedaba por resolver los problemas de trombosis. Se pensó que se establecía un equilibrio entre la coagulación y la fibrinólisis y que si, por alguna razón, se rompía este equilibrio, ya sea por aumento de los mecanismos de coagulación o por disminución de los mecanismos de la fibrinólisis, se llegaba a un estado trombótico.

Debido al descubrimiento de inhibidores naturales de las proteínas involucradas en la hemostasia secundaria se conocen ahora las razones por las cuales se puede romper ese equilibrio. En algún tiempo se habló de un estado de hipercoagulabilidad, pero las pruebas de laboratorio rutinarias no pueden identificar y definir este estado. Por lo tanto, se habla mejor de un estado protrombótico, pues ya hay técnicas específicas para la identificación de proteínas activadas a través de los complejos que forman con su inhibidor o a través de la identificación de los fragmentos que producen al activarse. Presentamos un resumen de estas proteínas reguladoras

1. **Antitrombina III (AT)**. Es una globulina de peso molecular de 65,000 d. Es el inhibidor más importante de la coagulación. Su deficiencia produce enfermedad tromboembólica venosa. Su poder inhibitorio se eleva hasta 1000 veces en presencia de heparina, forma complejos 1:1 con la enzima que inhibe. Su espectro de inhibición es con los siguientes factores: principalmente inhibe a la trombina y al factor Xa y secundariamente a los factores XIIa, XIa, IXa

2 **Inhibidor alfa 2 de la plasmina o antiplasmina**. Es una alfa 2 globulina de PM 67,000 d. Es el más importante inhibidor de la fibrinólisis. Su deficiencia produce elevación de la fibrinólisis, por lo tanto severa tendencia hemorrágica y hemartrosis.

Inhibe rápidamente a la plasmina, la reacción es 10 veces más rápida que la AT-trombina. Pero también puede inhibir en forma lenta a la calicreína, XIIa, XIa, Xa y trombina.

3. **Alfa 2 macroglobulina.** Es una globulina de PM 725,000 d. Es una proteína reactiva de fase aguda. Se localiza en el glucocálix de las células endoteliales protegiendo al endotelio del daño de proteasas plasmáticas y celulares, las cuales se producen durante eventos inflamatorios y hemostáticos. Inhiben principalmente a la calicreína, y en forma menos importante a la plasmina.

4. **Inhibidor de la Calicreína.** Es una globulina de PM de 105,000 d. Junto con la $\alpha 2$ macroglobulina es el principal inhibidor de la calicreína, inhibe también a los factores XIIa, XIa, aunque esta inhibición no es tan importante puesto que su deficiencia no causa anomalías hemostáticas. Pero su deficiencia sí está relacionada al edema angioneurótico hereditario.

5. **$\alpha 1$ Antitripsina** Es el principal inhibidor de la tripsina. Su deficiencia produce destrucción proteolítica de tejido pulmonar determinante de la enfermedad pulmonar asociada. Su papel en la hemostasis parece ser menor, sólo inhibe a XIa y a velocidad muy lenta a la trombina y a la plasmina

6. **Proteína C.** Se activa por trombina pero en presencia de TROMBOMODULINA (cofactor presente en la superficie de la célula endotelial) se incrementa la activación hasta 20,000 veces. Por ser vitamina K dependiente necesita ión calcio y fosfolípidos para realizar su papel inhibitorio. También necesita de un cofactor que es la PROTEINA S : inactiva al factor VIII y al factor V (Figura 1.7).

Neutraliza al INHIBIDOR DEL ACTIVADOR DEL PLASMINOGENO. (17,25)

Es una glucoproteína de 2 cadenas de PM 62, 000 d. Es una proteína vitamino K dependiente con 10 residuos γ - CARBOXIGLUTAMICOS (GLA) Su deficiencia produce tromboembolismo venoso recurrente. Si se da tratamiento con warfarina puede producir necrosis por trombosis capilares. La deficiencia homocigótica de proteína C es incompatible con la vida.

7 **Proteína S.** Es una glucoproteína de PM de 69,000 d. es vitamina K dependiente, con 11 residuos GLA. Se encuentra en el plasma de dos formas: libre o unida al inhibidor de C4. Su deficiencia produce enfermedad tromboembólica de repetición. Su forma de acción es como cofactor de la PROTEINA C

Inhibidor de la proteína C activa. Es una proteína de PM de 57,000 d. Se describió en seis pacientes con deficiencia combinada de los factores VIII y V. Forma complejos 1:1 con la proteína C activada.

TABLA 1.5 PROTEINAS REGULADORAS DE LA COAGULACION. (4, 7, 50, 51)

INHIBIDOR	DESCRIPCION	CONCENTRACION (μM)	PESO MOLECULAR	INHIBE	DEFICIENCIAS
Antitrombina III	Glicoproteína pentasacárido	2.25	65,000	Serina proteasas principalmente a la trombina (IIa) y debilmente al factor Xa, IXa, XIa, XIIa; se potencializa su acción en presencia de heparina	Enfermedad tromboembólica venosa (afecta especialmente a las venas profundas de los miembros inferiores)
α_2 antiplasmina	Glicoproteína de cadena simple	1	67,000	Rapidamente a la plasmina, perdiendo ésta su actividad fibrinolítica	Episodios hemorrágicos severos
Inhibidor de la Calicreína.	Es una glicoproteína de una sola cadena.	2.0	105,000	Calicreína, XIIa, XIa.	Causa edema angioneurótico
Proteína C activa	Proteína plasmática, requiere la presencia de vitamina K, y de su cofactor la proteína S	0.01	62,000	A los cofactores V y VIII Acelera la fibrinólisis al complejarse con el PAI-1, reduciendo de esta forma su efecto inhibidor sobre el sistema fibrinolítico	Tromboembolismo venoso recurrente y arterial.
Proteína S	Glicoproteína vitamina K-dependiente no es cimógeno de ninguna serina proteasa.		64-69,000	Acelera la inactivación de los cofactores V y VIII por acción de la Proteína C	Tromboembolismo venoso recurrente
Antitrombina II	Glicoproteína de una sola cadena polipeptídica.	1.2	65,000	Actividad proteolítica y amidolítica de la trombina. No tiene acción inhibitoria progresiva sobre la trombina	Fenómenos trombóticos recurrentes

La mayoría de los factores activados son enzimas serina proteasas, las cuales son inhibidas mediante la formación de complejos con antiserina proteasas u otros inhibidores fisiológicos. La deficiencia y/o alteraciones cualitativas de estos componentes, se manifiestan clínicamente como predisposición para desarrollar episodios trombóticos, venosos o arterial les, excepto en la deficiencia de α_2 -antiplasmina, que se puede manifestar con episodios hemorrágicos.

1.4 FIBRINOLISIS

La capacidad potencial de coagulación de la sangre está compensada, in vivo, por el mecanismo que impide la coagulación intravascular, y que destruye los coágulos que llegan a formarse. En el plasma, la lisis de los coágulos de fibrina corre a cargo de un sistema enzimático complejo de fibrinólisis. In vivo la coagulación se produce más fácilmente en vasos grandes que en vasos pequeños. Esta relación inversa entre la tendencia a la coagulación y el tamaño de los vasos es de importancia mayúscula en la microcirculación (vasos de menos de 50 μ de diámetro) se debe a la presencia en el endotelio vascular de un activador del plasminógeno (t-PA), y al hecho de que la superficie endotelial es relativamente mayor en los vasos sanguíneos pequeños. La plasmina digiere tanto al fibrinógeno como a la fibrina.

La acción sobre el fibrinógeno es progresiva, y los productos iniciales son grandes moléculas que todavía coagulan bajo la influencia de la trombina pero más adelante aparecen moléculas pequeñas que la trombina ya no puede coagular. Estos productos ejercen acciones anticoagulantes. Impiden la conglomeración, adherencia y metamorfosis viscosa de las plaquetas, y uno de ellos ejerce además un efecto inhibitor potente sobre la polimerización de la fibrina. Al incorporarse al polímero de fibrina, disminuye el ritmo de polimerización ulterior, y da lugar a un coágulo de fibrina sumamente frágil.

Los activadores de el plasminógeno son serina proteasas; que convierte a la proenzima (plasminógeno) en una enzima activa (plasmina). Existen dos tipos de activadores del plasminógeno, siendo las de mayor importancia las siguientes:

1. Vía Extrínseca: Mediada por el "activador tisular del plasminógeno" (t-PA), sintetizado y liberado a la circulación por el endotelio vascular en forma permanente y/o ante diversos estímulos fisiológicos o patológicos (ejercicios, aminas vasoactivas, isquemias, etc.).

2. Vía Intrínseca: Es mediada por las urocinasas o por el factor XIIa.

Existen varios tipos de moléculas, que son sintetizadas por diferentes células (epiteliales, renales, fibroblastos, etc.), teniendo su mayor concentración a nivel de orina. La existencia de receptores para la urocinasa en la membrana de diferentes células normales o malignas, demuestra su importancia en la actividad proteolítica pericelular. La urocinasa activa al plasminógeno por escisión de un enlace simple arginina-valina.

b)Factor XIIa: Este factor puede activar el plasminógeno y transformarlo a plasmina, a través de la conversión de calicreína.

Los inhibidores fibrinolíticos más importantes son:

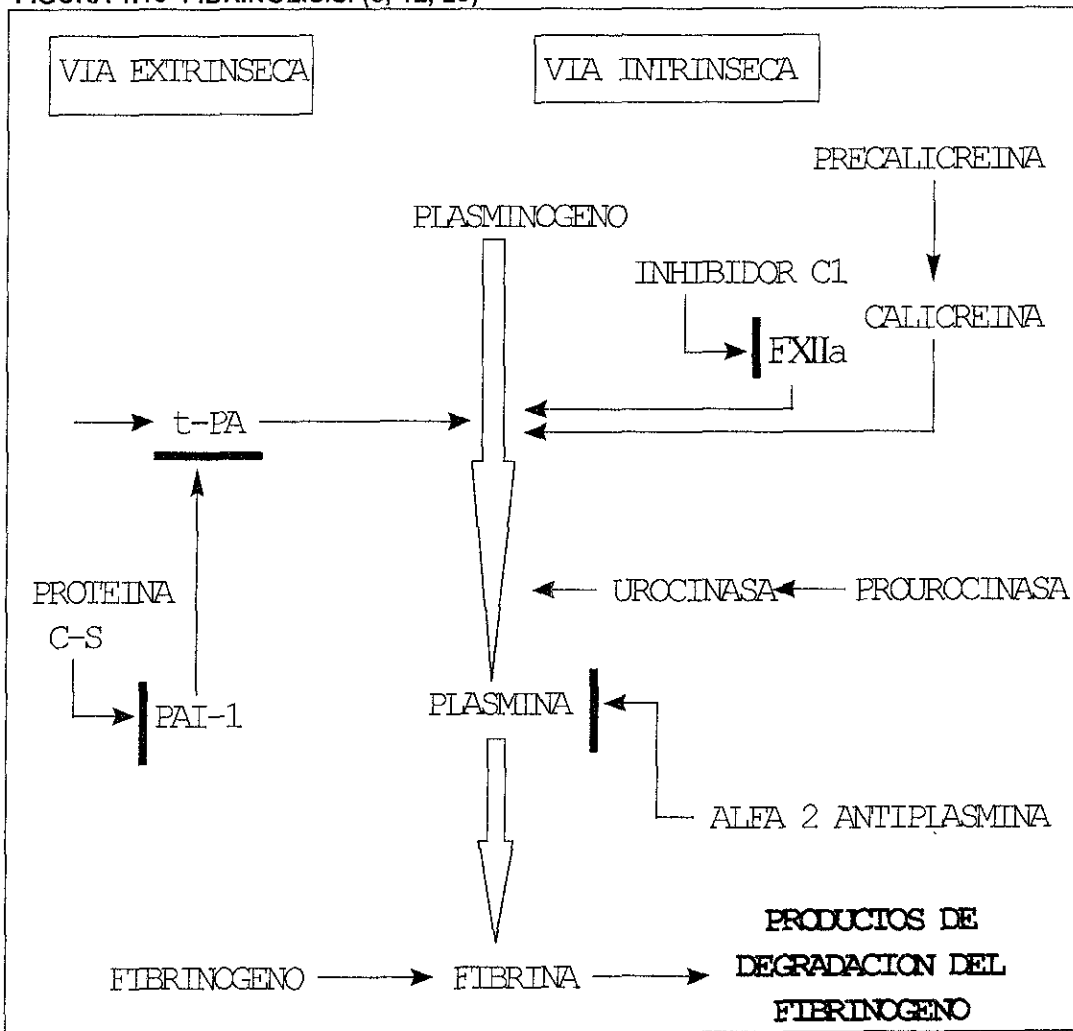
α -2- antiplasmina: Con rápida acción inactivadora sobre la plasmina, con la cual forma complejos, a la vez que interfiere a la absorción en la fibrina.

Anti-activadores: Estos sistemas están modulados por inhibidores específicos de los activadores tisulares del plasminógeno, como son el PAI-1 liberado por la célula endotelial y almacenado en la plaqueta, el PAI-2 de origen placentario y el PAI-3 que no inhibe el activador tisular del plasminógeno pero si a la proteína C activa. (8, 12)

Al formarse el coágulo de fibrina intravascular, son adsorbidos en su malla, pequeñas cantidades de plasminógeno, de t-PA y de α -2-antiplasmina. El t-PA es capaz de activar el plasminógeno del coágulo y generar plasmina, la cual es rápidamente inactivada por la antiplasmina allí presente. De existir mayor cantidad de t-PA fijada al coágulo, inicialmente, o por que se haya fijado posteriormente, por una mayor concentración en el plasma del área trombosada (liberado por el endotelio de la zona isquémica), podría aumentar la formación de plasmina, que al dirigir parcialmente la fibrina, origina sitios que fijan con mayor rapidez y cantidad, otras moléculas de plasminógeno.

Ello permitiría aumentar la generación de plasmina y sobrepasar la cantidad inhibidora de la antiplasmina, provocando la lisis del coágulo. (Figura 1.10)

FIGURA 1.10 FIBRINOLISIS. (8, 12, 26)



La plasmina se forma por proteólisis del plasminógeno cuando éste es activado por el activador tisular del plasminógeno (t-PA) liberado de células endoteliales, leucitos y plaquetas, o durante la activación del factor XII. La plasmina es capaz de digerir fibrina, fibrinógeno y factores V, VIII, XIII. La acción de la plasmina sobre el fibrinógeno y la fibrina produce sucesivamente fragmentos de mayor a menor tamaño. Los primeros (fragmentos X y mayores) son coagulables, pero los más pequeños (Y, D y E) tienen efecto anticoagulante. PAI-1= Inhibidor del activador tisular del plasminógeno.

CAPITULO 2

ANTICOAGULANTES ORALES

2.1 INTRODUCCION

La historia de los anticoagulantes administrados por vía oral se remonta a los primeros años de la década de los veintes, época en que Schofield (1922,1924) describió la "enfermedad del trébol dulce" que había estado asolando al ganado vacuno en Dakota del Norte y en Alberta, Canadá. Esta enfermedad se caracterizaba por tendencias hemorrágicas graves, y Schofield demostró que eran causadas porque las reses comían heno de trébol dulce mal curado. Este heno contenía una sustancia tóxica que interrumpía los mecanismos normales de la coagulación de la sangre

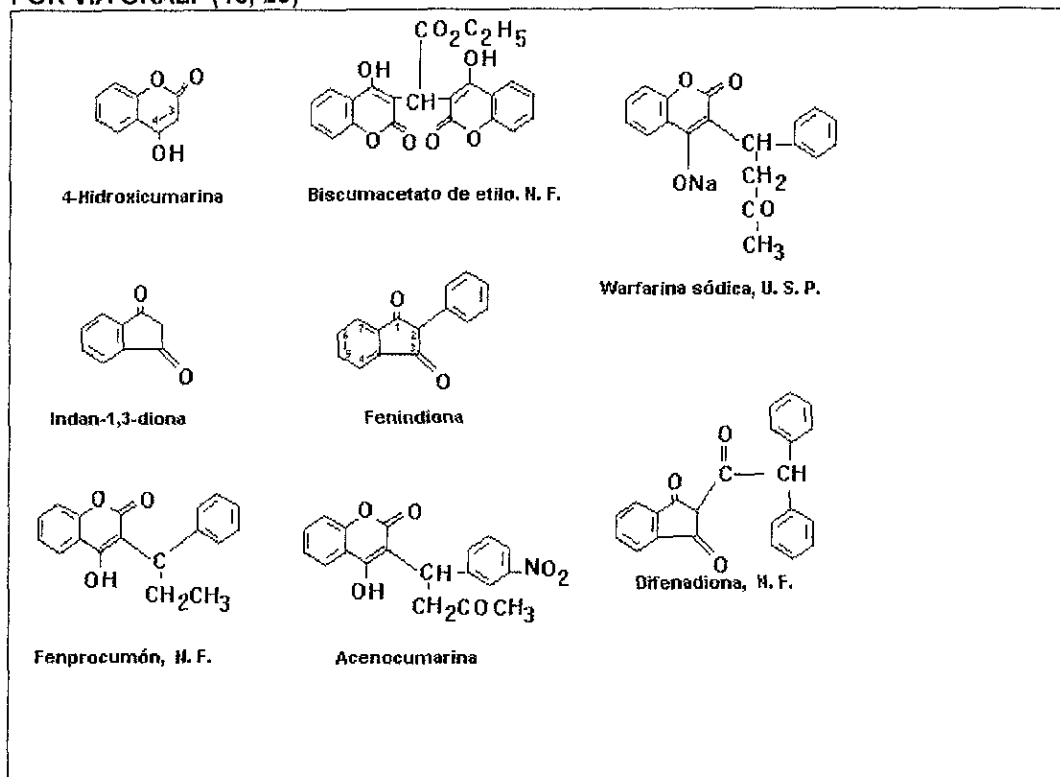
Roderick (1929,1931) halló que el defecto de coagulación se debía a una deficiencia de protrombina, y que el agente tóxico del heno era probablemente un producto de descomposición de la cumarina. En 1934, Link y Campbell lograron aislar, identificar y sintetizar el principio activo del trébol dulce podrido, la 3,3'-metileno-bis-(4-hidroxycumarina) (Link,1943-1944). Primero se le llamó Dicumarina, y después Dicumarol. Su nombre oficial de la U.S.P. es bishidroxycumarina.

En 1935, Quick implementa un método cuantitativo para la determinación de protrombina, el tiempo de protrombina de una etapa, con el que hoy se controla el tratamiento con anticoagulantes.

2.2 ESTRUCTURA QUIMICA DE LOS ANTICOAGULANTES ORALES.

Los anticoagulantes orales se utilizan en la profilaxis y tratamiento de la trombosis, tanto venosa como arterial. Según su estructura química se clasifican en derivados de la 4-hidroxicumarina: el dicumarol (llamado actualmente dihidroxicumarina), el acenocumarol, la warfarina, el femprocumón y el biscumacetato, y derivados de la indan 1-3 diona. la fenindiona y la difenadiona (16), éstas tres últimas menos empleadas por su mayor toxicidad, como agranulocitosis y lesión hepática.

FIGURA 2.1 ESTRUCTURA QUIMICA DE ANTICOAGULANTES QUE SE ADMINISTRAN POR VIA ORAL. (16, 29)



Se han incluido la 4-hidroxicumarina y la indan-1,3-diona (más tóxicas) para indicar las moléculas de que por derivación química se obtienen anticoagulantes que se administran por vía oral. Se sabe, que las necesidades estructurales mínimas para que haya actividad son un residuo intacto de 4-hidroxicumarina con la posición 3 sustituida por un residuo carbónico o un átomo de hidrógeno.

2.3 MECANISMO DE ACCION

Los anticoagulantes orales impiden la actividad biológica normal de los factores vitamina K dependientes (II, VII, IX y X), así como también de los inhibidores de los factores V y VIII, proteína C y S, y otras no relacionadas con la hemostasia como la osteocalcina (16). Para unirse a sus cofactores en la superficie de los fosfolípidos, estas proteínas han de sufrir un cambio conformacional en presencia de calcio

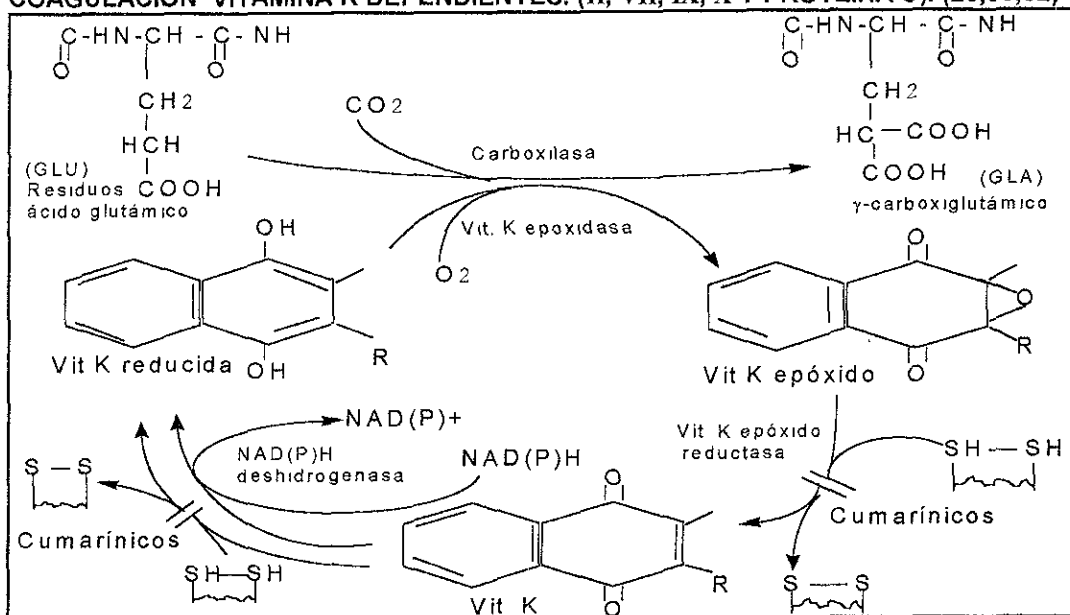
La capacidad de unión al calcio requiere de la gamma carboxilación del ácido glutámico de sus regiones aminoterminales (21, 38), lo cual ocurre en el hígado por medio de la enzima carboxilasa (Figura 2.2). Esta, a su vez, necesita como cofactor a la vitamina K en su forma reducida KH₂ (hidroquinona), que en la reacción de carboxilación es oxidada a vitamina K epóxido.

Los anticoagulantes orales interfieren en la conversión de la vitamina K epóxido (inactiva) en vitamina KH₂ (activa). (29) El hígado producirá proteínas parcialmente carboxiladas y descarboxiladas, que poseerán, por consiguiente, una actividad disminuida o nula; y además pueden competir con las proteínas biológicamente activas. La fuente principal de vitamina K en el hombre es la dieta y la síntesis bacteriana por la flora intestinal (15).

En ausencia de la vitamina K o presencia de los llamados antagonistas de la vitamina K, no se produce la carboxilación, lo que se traduce en la liberación de estos factores acarboxilados a la circulación, que no son activos desde el punto de vista procoagulante. Estos factores acarboxilados se denominan PIVKA's (Proteínas Inducidas por Ausencia de Vitamina K o por Antagonistas de la Vitamina K).

Si bien las PIVKA's parecen no tener una actividad fisiológica importante, pueden afectar las pruebas de Tiempo de Protrombina realizadas con algunos reactivos de tromboplastina.

FIGURA 2.2 MECANISMO DE ACCION DE LOS CUMARINICOS EN LA SINTESIS DE LOS ACIDOS GAMMA-CARBOXYGLUTAMICOS, DE LOS FACTORES DE LA COAGULACION VITAMINA K DEPENDIENTES. (II, VII, IX, X Y PROTEINA C). (20,39,52)



El doble grupo carboxilo del ácido glutámico está destinado a establecer los puentes con el calcio que permitirán, la unión de los factores vitamino k dependientes a los fosfolípidos de las membranas celulares sobre los que tiene lugar el proceso de la coagulación *in vivo* o a las mezclas fosfolípicas de los reactivos utilizados en las pruebas de coagulación *in vitro*.

2.4 FARMACOLOGIA DE LOS CUMARINICOS.

Se administran por vía oral, y su absorción en el tracto gastrointestinal difiere de un individuo a otro. A este nivel se incorporan al plasma y se unen a la albúmina.

La capacidad de unión depende de la concentración relativa de albúmina y del cumarínico.

En condiciones normales un 97% se une a la albúmina, siendo biológicamente activa la pequeña cantidad de 3 % libre (29) y la fracción unida a la albúmina no tiene efectos farmacológicos. Se metabolizan en el hígado, y los productos degradados se eliminan por la orina. La velocidad de degradación varía con los distintos cumarínicos, siendo la vida media de la warfarina de unas 30-40 horas, similar a la del acenocumarol. La gran variabilidad de la dosis-respuesta puede ser debida a múltiples factores.

Influye la disponibilidad de la vitamina K, las dietas ricas en verduras disminuyen la respuesta anticoagulante, por el contrario, los estados de mala absorción, la mala nutrición, las alteraciones en la flora intestinal, la obstrucción de vías biliares y la diarrea, potencian su efecto (29). También depende del nivel de los factores vitamínicos K dependientes, los estados hipermetabólicos, como la fiebre o el hipertiroidismo, aumentan la respuesta al incrementar el catabolismo de los factores; mientras que en el embarazo, y al revertir la congestión hepática del fallo cardíaco aumenta su síntesis (29). La respuesta es influenciada por la variabilidad en el metabolismo y la absorción de los cumarínicos. Tanto la disfunción hepática como la insuficiencia renal pueden aumentar su efecto.

2.5 EFECTO TERAPEUTICO

Los anticoagulantes orales necesitan cierto tiempo para producir su efecto terapéutico. Ello depende de:

a) **El tipo de droga utilizada.** Hay anticoagulantes de acción corta, intermedia, media y prolongada. La warfarina, que es la más utilizada en EE UU., es un anticoagulante de acción intermedia. La acenocumarina (Sintrom), que es la más difundida en México, es de acción corta

b) **La vida media de los factores vitamina K-dependientes.** El descenso de la concentración plasmática de los factores vitamina K-dependientes (II, VII, IX, X) dependen de su vida media; así, el factor VII y la proteína C disminuirán primero (vida media de 6 horas) seguida por el factor IX (de 24 horas) y X (de 30 a 40 horas), y finalmente por el factor II (60 horas) (48, 49).

c) **La cantidad de droga administrada inicialmente.** Algunos autores recomiendan el uso de una **dosis de carga**, argumentando que cuanto mayor sea la dosis inicial del medicamento, más pronto se obtendrá el efecto terapéutico que se busca, pero el tamaño de la dosis debe limitarse de modo que la respuesta máxima no sea excesiva. Otros prefieren iniciar la anticoagulación lentamente, evitando la dosis de carga, para no inducir un brusco descenso de la Proteína C y con él las lesiones de necrosis cutáneas secundarias a trombosis que se han descrito en pacientes con déficit congénito de la Proteína C.

d) **La respuesta individual, que es muy variable.** Al principio de la terapia existirá una desproporcionada prolongación del tiempo de protrombina, que refleja la disminución de la concentración plasmática de factor VII, antes de que los niveles de los factores IX, X y II estén reducidos lo suficiente para promover un efecto antitrombótico adecuado (48).

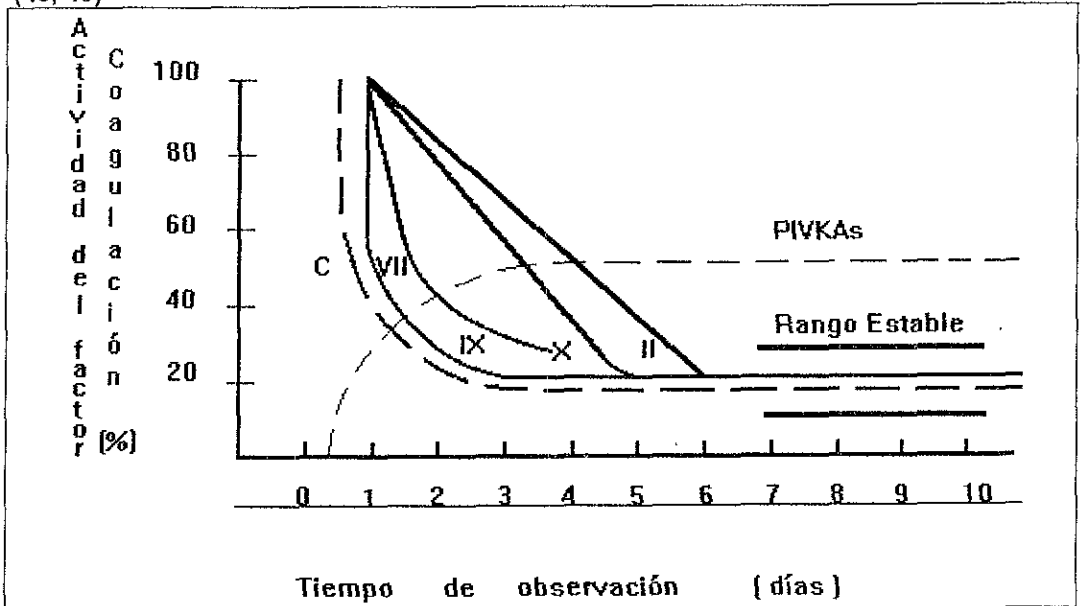
La etapa inicial de la terapia con warfarina representa un período de cambio rápido en los niveles de los factores procoagulantes y anticoagulantes, y por lo tanto, los riesgos de sangrado y trombosis son elevados. Se ha encontrado que cuando los niveles circulantes de los factores dependientes de la vitamina K están aproximadamente en el rango del 20 al 30% de su valor normal (señalado en la figura 2 3 como "rango estable") se reduce el riesgo de trombosis y hay un riesgo mínimo de sangrado. Este nivel puede ser alcanzado con seguridad en 6-7 días con o sin una "dosis de carga" inicial, por lo que un régimen terapéutico con una "dosis de carga" ya no se recomienda.

Debido a la acción indirecta de los anticoagulantes orales, se requieren varios días de tratamiento para reducir los niveles de los factores de la coagulación al rango terapéutico apropiado.

La Figura 2 3 ilustra el tiempo necesario para que la warfarina suprima los niveles funcionales de los factores de la coagulación circulantes dependientes de la vitamina K, así como del aumento concomitante de las PIVKA's (proteínas acarboxiladas inducidas por ausencia de vitamina K o por antagonistas de la vitamina K).

Cada uno de los factores de la coagulación responden en forma única, reflejando las diferentes vidas medias en la eliminación biológica de estas proteínas del plasma. Además de los factores procoagulantes, la warfarina también suprime el nivel de los inhibidores en circulación (Proteína C y Proteína S). La vida media de la Proteína C es más corta que la vida media de los demás zimógenos procoagulantes, por lo tanto es posible tener una tendencia elevada de trombosis poco después del inicio de la terapia anticoagulante. Por esta razón se ha sugerido la administración de heparina durante la transición a un período largo de terapia con warfarina.

FIGURA 2.3 TIEMPO DE DISMINUCION DE LA ACTIVIDAD DE CADA FACTOR VITAMINA K-DEPENDIENTE EN RESPUESTA AL INICIO DE LA TERAPIA CON WARFARINA. (48, 49)



A medida que los niveles de los factores de coagulación circulante disminuyen, existe un incremento concomitante en las PIVKA's (Proteína Inducidas por Antagonistas de la vitamina K).

2.6 USO CLINICO.

Los anticoagulantes orales inhiben la formación del trombo y previenen la propagación distal del trombo ya formado. Se emplean, por tanto, en la profilaxis de trastornos tromboembólicos en pacientes de riesgo. (21)

Son usados después del tratamiento agudo de la trombosis venosa profunda y el embolismo pulmonar con heparina o fibrinolíticos. En estos casos la anticoagulación se mantiene durante tres a seis meses. Se valorará la prolongación de la terapia si existen factores de riesgo como trombosis recurrente, o anomalías de las proteínas de la coagulación o reguladores, como la deficiencia de antitrombina III, o de proteína C.

Se emplean para prevenir el embolismo de origen cardíaco en portadores de riesgo: valvulopatía mitral asociada a fibrilación auricular, embolia sistémica o dilatación auricular; también en la cardioversión de la fibrilación auricular, así como en la miocardiopatía dilatada y en el infarto agudo del miocardio anterior extenso. Existe controversia respecto a las indicaciones precisas en caso de fibrilación auricular aislada. Se emplean durante tres meses tras la implantación de bioprótesis cardíacas, si se asocian otros factores de riesgo se aumenta el tiempo de tratamiento. En las prótesis metálicas se administra tratamiento anticoagulante de por vida.

2.7 INTERACCIONES FARMACOLOGICAS

Las interacciones medicamentosas en el empleo clínico de anticoagulantes de tipo cumarínico tiene gran importancia. Algunas drogas estimulan la desintegración metabólica de las cumarinas y, por lo tanto, disminuyen su eficacia, otras aumentan la eficacia de los anticoagulantes bloqueando su metabolismo o interfiriendo su fijación a las proteínas plasmáticas.

Los efectos de algunas drogas sobre la respuesta a los anticoagulantes cumarínicos se mencionan en la tabla 2.1.

TABLA 2.1 INTERACCION FARMACOLOGICA CON LOS ANTICOAGULANTES ORALES. (29, 42)

FARMACOS QUE AUMENTAN EL EFECTO ANTICOAGULANTE	
MECANISMO	FARMACO
Disminución de los factores protrombínicos.	Danazol, Salicilatos.
Disminuyen la disponibilidad de la vitamina K.	Antibióticos orales, Sulfamidas, Vitamina E.
Desplazamiento de la unión con la albúmina.	Acido etacrínico, Acido nalidíxico, Alopurinol, Clófrato, Clorpopramida, Dextrotirosina, Diazóxido, Fenilbutazona, Fluoxetina, Glibenclamida, Hidrato de cloral, Salicilatos, Sulfamidas, Tolbutamida
Inhibición de enzimas microsomales.	Acido etacrínico, Alopurinol, Cimetidina, Cloranfenicol, Difenilhidantoína Clorpropamida, , Disulfiran, Fenilbutazona, Glibenclamida, Metronidazol, Sulfamidas, Tolbutamina, .
Efectos sobre la hemostasis	Carbenicilina, Indometacina, Moxalactam, Penicilina, Salicilatos, Sulfinpirazona.
Disminuyen la afinidad por el receptor hepático.	Esteroides anabolizantes y androgénicos.
Otros mecanismos.	Amiodarona, Cefalosporina, Ciclosporina, Lovastatina, Miconazol, Propafenona, Quinidina
FARMACOS QUE DISMINUYEN EL EFECTO ANTICOAGULANTE	
Aumento factorial	Anticonceptivos orales, Corticoídes.
Disminución de la absorción.	Barbitúricos, Colestiramina.
Aumento de enzimas microsomales.	Aminoglutetimida, Barbitúricos, Carbamacepina, Diclorofenazona, Griseofulvina, Rifampicina.

Como la flora bacteriana normal del intestino es una fuente importante de vitamina K, los antibióticos de amplio espectro que matan o inactivan estos gérmenes pueden aumentar la respuesta anticoagulante. Por lo contrario, la diarrea que se observa durante la administración oral de antibióticos de amplio espectro, pueden producir una disminución de la respuesta por la pérdida de anticoagulantes en el excremento. La quinina y la quinidina disminuyen la concentración de protrombina, y han ocurrido hemorragias en la terapéutica mixta con quinidina y warfarina. Un gran número de fármacos y de otros compuestos inducen la formación de enzimas metabolizantes en los microsomas hepáticos, con lo cual aumenta la rapidez de desaparición de aquellas sustancias en el organismo.

Los compuestos que afectan de este modo a los anticoagulantes son entre otros, el fenobarbital, el hidrato de cloral, la glutetimida, el meprobamato, la griseofulvina y los insecticidas clordano y D.D.T. Por otra parte, la fenilbutazona, al desplazar a la warfarina de su unión con la albúmina del plasma, acelera su metabolismo, pero también aumenta su efecto anticoagulante. Este aumento se ve también con la D-tiroxina. En cambio, el feniramidol prolonga el efecto anticoagulante de la dihidroxicumarina inhibiendo su metabolismo. El tratamiento en corto plazo con reserpina bloquea los efectos de los anticoagulantes orales, pero la terapéutica continuada los intensifica notablemente. De análogo modo lo acrecienta la guanetidina, el bretilio y la α -metildopa. Aumento y depresión de la actividad anticoagulante han sido registrados en mujeres que toman anticonceptivos por vía oral.

Drogas pueden también incrementar el riesgo de sangrado asociado a warfarina por otros mecanismos. Aspirina y otros antiinflamatorios no esteroideos, largas dosis de penicilina, y moxalactam inhiben la función plaquetaria, prolongan el tiempo de sangrado, y por lo tanto tienen el potencial de incrementar el riesgo de sangrado asociado a warfarina. La aspirina es particularmente importante en esta consideración debido a su amplio uso, su efecto prolongado en la hemostasis, y su efecto colateral de dañar la mucosa gástrica. Serios sangrados gastrointestinales ocurren cuando altas dosis de aspirina (más de un gramo por día) y prolongadas terapias con warfarina son usadas en combinación. Bajas dosis de aspirina (por ejemplo 160 mg por día), la cual tiene un mínimo de efectos colaterales en la mucosa gástrica pero eficacia antitrombótica, pueden ser usados con seguridad en combinación con warfarina (22)

A los pacientes tratados con warfarina o algún otro agente anticoagulante oral y medicamentos adicionales, deberán determinarse sus tiempos de protrombina frecuentemente durante los estados iniciales de la terapia combinada de drogas, de tal manera que se pueda realizar algún ajuste necesario de la dosis (28).

2.8 EFECTOS ADVERSOS

La hemorragia es el efecto adverso más frecuente. Su producción se relaciona con la intensidad de la terapia y de los factores de riesgo añadidos; como la edad avanzada, historia previa de un ataque súbito de trombosis, antecedentes de sangrado o insuficiencia renal (21).

La mayoría de las veces se debe a sobredosificación o TP excesivamente alargado. Cuando el nivel de anticoagulación corresponde a un INR < 3 frecuentemente se debe a una causa subyacente (30, 34)

El riesgo está aumentado con el uso concomitante de ácido acetilsalicílico a altas dosis (22).

Ante un paciente con TP prolongado, puede ser suficiente suspender o reducir una dosis, para que quede en el rango terapéutico. Si se complica con hemorragia, se valorará según su intensidad, si es preciso o no, la administración de la vitamina K, ya que su empleo puede complicar la reinstauración del tratamiento al crearse refractariedad a la terapia. Si la hemorragia es severa se considerará el uso de concentrado de factores protrombínicos o, en su defecto, la transfusión de plasma. En general son fármacos bien tolerados son raros los fenómenos de diarrea, urticaria y alopecia.

La necrosis de piel es una complicación rara, que se presenta de forma precoz y se manifiesta como lesiones necróticas cutáneas hemorrágicas y se piensa sea debido a la exageración de la deficiencia de proteína C en pacientes que tienen deficiencia heterocigota hereditaria de la misma (47). Si se sospecha su aparición debe ser suspendido el tratamiento, administrar vitamina K y valorar terapia con heparina.

Los dicumarínicos atraviesan la barrera placentaria y pueden ejercer un efecto teratogénico sobre el feto, por lo que no deben ser prescritos durante el primer trimestre del embarazo (23) Las mujeres que necesitan estar anticoaguladas durante la gestación (el caso más típico son las portadoras de reemplazo valvular cardíaco), deben ser tratadas durante este período con heparina (que no atraviesa la placenta), a dosis anticoagulantes.

El esquema habitual es la administración de heparina por vía subcutánea a razón de 2,500U cada 10 kg de peso y cada 12 horas, ajustando las dosis de acuerdo a la prolongación del TTPa, que se realiza entre las 2 y 5 horas después de la inyección.

Después del tercer mes de embarazo se reinicia la terapéutica anticoagulante oral, que se interrumpe 15 días antes de la fecha de parto, volviendo a la aplicación de heparina para evitar la acción de los cumarínicos sobre el feto, que provocaría una disminución del complejo protrombínico, que se agregaría a la ya conocida hipoprotrombinemia del recién nacido.

Después del parto se reinicia la terapéutica anticoagulante con dicumarínicos. Si el recién nacido se alimenta con leche materna, puede ingerir también el medicamento, ya que estas drogas pasan a la leche. Por ello se le administra al niño vitamina K (se disuelven 10 mg de Konakion en 10 ml de agua y se administra 1 gota diaria por vía oral, mientras dura la lactancia, evitándose de esta forma eventuales complicaciones hemorrágicas en el infante.

2.9 CONTRAINDICACIONES

Las contraindicaciones del tratamiento con anticoagulantes orales se detallan en dos grandes grupos:

Contraindicaciones absolutas:

Defectos hemostáticos.
Lesiones gastrointestinales sangrantes.
Hipertensión arterial severa no controlable
Retinopatía hemorrágica.
Hemorragia intracraneal.
Aneurisma intracraneal.
Insuficiencia hepática o renal severas
Cirugía mayor reciente.
Traumatismo en sistema nervioso central.
Primer trimestre del embarazo.

Contraindicaciones relativas:

Hepatopatía crónica.
Esteatorrea.
Alcoholismo
Alteraciones mentales.
Falta de cooperación del enfermo.
Todo el período del embarazo.
Edad avanzada.

CAPITULO 3

TROMBOPLASTINAS

3.1 INTRODUCCION

La terapia anticoagulante oral se usa para tratar pacientes con diagnóstico de trombosis o áquellos que están en riesgo de embolia. Una dosis terapéutica apropiada difiere para cada paciente ya que una dosis inapropiada puede conducir a complicaciones de sangrado o trombosis recurrente, por lo tanto la terapia debe ser controlada adecuadamente. El tiempo de protrombina es la prueba de elección para el control del tratamiento con anticoagulantes orales, si bien sólo es influido por algunos de los factores vitamina K dependiente (II, VII y X). para la realización de dicha prueba, se utiliza como reactivo un extracto tisular, denominado tromboplastina, que activa la **vía extrínseca** de la coagulación.

Las tromboplastinas de diferentes orígenes (especie o tejido) poseen diferente sensibilidad al efecto inducido por los anticoagulantes orales. Este hecho, sumado a la posibilidad de expresar los resultados del tiempo de protrombina de formas diversas, afecta la interpretación del control. Como consecuencia, existen diferencias notorias en los niveles de anticoagulación utilizados. Los rangos terapéuticos varían significativamente de un laboratorio a otro y es, prácticamente, imposible comparar los resultados de diferentes laboratorios. Surge, así, la necesidad de estandarizar el control del tratamiento anticoagulante, de hallar un sistema que permita expresar el resultado del tiempo de protrombina en una escala común, independizándose del reactivo utilizado en la determinación. En este capítulo se describirá la importancia de las tromboplastinas

3.2 TIEMPO DE PROTROMBINA (TP).

La necesidad de una dosis individualizada en cada momento de la terapia obliga a un control de laboratorio frecuente. La prueba más usada es el tiempo de Protrombina (TP), introducido por Quick en 1935, que mide la vía extrínseca de la coagulación en la que intervienen tres factores vitamino K dependientes: II, VII y X. Consiste en añadir a un plasma citratado una mezcla de calcio y tromboplastina (extracto de tejido que contiene el factor tisular y los fosfolípidos necesarios para la activación del factor X).

Es una de las pruebas clínicas de laboratorio más importantes para el diagnóstico de las disfunciones del sistema de coagulación de la sangre (33).

Se utiliza en las valoraciones preoperatorias para diagnosticar el riesgo en complicaciones de sangrado, para el monitoreo de pacientes tratados con anticoagulantes orales y para la valoración de la función hepática.

3.3 INTERPRETACION DEL TIEMPO DE PROTROMBINA PROLONGADO.

La prolongación de un tiempo de protrombina establece que hay: una concentración de fibrinógeno por debajo de 100 mg/dl; una deficiencia de factores de la vía extrínseca de la coagulación (factor II, VII, V, y X), o la presencia de inhibidores, como los vistos en lupus eritematoso o en terapias con heparina.*

La diferenciación entre la deficiencia y la existencia del inhibidor es establecida por la repetición de la prueba anormal usando una mezcla 1:1 v/v del plasma del paciente y de un plasma normal. El plasma corrige a normal cuando se trata de una deficiencia de factores de la coagulación, pero cuando se mantiene prolongada se confirma la presencia de un inhibidor (2, 33).

3.4 NATURALEZA DE LAS TROMBOPLASTINAS

Todos los reactivos del tiempo de protrombina disponibles en el mercado actualmente, contienen factor tisular crudo extraído de fuentes naturales como por ejemplo, de cerebro de conejo, de cerebro humano, de la mezcla de cerebro/pulmón de conejo, de placenta humana, o de cerebro de buey, también existen reactivos de tejido humano recombinante.

Los componentes activos en los reactivos del tiempo de protrombina son un factor tisular llamado tromboplastina, denominado también factor tisular o factor III, es una lipoproteína. Está constituida por una proteína de membrana celular (apoproteína III) aislada de fuentes naturales, que carece, en sí misma, de actividad procoagulante.

Es necesario su recombinación con fosfolípidos (proteína fosfolípido, 1:80) para restaurar su función, siendo aparentemente, la mezcla de fosfolípidos aniónicos (fosfatil-serina o fosfatil-glicerol) con fosfolípidos neutros (fosfatil-colina o fosfatil-etanolamina) la más efectiva; se ha demostrado, además el requerimiento de fosfolípidos insaturados

La tromboplastina desencadena el mecanismo extrínseco de la coagulación por formación de un complejo con el factor VII e iones calcio.

Las fuentes naturales de extracción tienen sus limitaciones por ejemplo, la tromboplastina de cerebro de conejo muestra cierta variabilidad de acuerdo a la estación del año, variabilidad entre lote y lote, y además escasea. El factor de tejido humano puede ser una fuente del virus de inmunodeficiencia humana (VIH) o de otras enfermedades virales. El cerebro de buey proporciona valores de tiempo de protrombina normales que son más prolongados que aquellos valores que usan factores del tejido de otras fuentes comunes. Valores de tiempo de protrombina más prolongados conducen a una estabilidad menor en el laboratorio clínico.

Adicionalmente, estos tiempos prolongados pueden reflejar diferencias en la capacidad del factor tisular de buey para unir el factor VII humano, los preparados de pulmón de porcino no son sensibles al factor VII, es decir no evidencia la deficiencia de dicho factor. La sensibilidad al factor VII es importante al comienzo de la terapéutica, ya que es el primero que desciende por su tiempo de sobre vida más corta (5 horas).

Además, las preparaciones del factor de tejido crudo de fuentes naturales contienen otros factores de coagulación como contaminantes. La contaminación con factores de coagulación reduce la sensibilidad de las pruebas que se realizan en plasmas deficientes de factores. Por lo tanto, una fuente de tromboplastina que no sufra de estas inconveniencias y que tengan menos variabilidad entre lote y lote son necesarias para crear un reactivo de tiempo de protrombina más reproducible.

Debido al distinto origen de las tromboplastinas, hay una gran variabilidad en su sensibilidad a la reducción de los factores vitamino K dependientes y, por lo tanto, en el nivel de anticoagulación reflejado por un mismo TP. Por ello, en 1983, la OMS establece una tromboplastina de referencia para calibrar los distintos reactivos y determina un índice de sensibilidad internacional (ISI) para cada uno de ellos (2, 44).

3.5 INDICE DE SENSIBILIDAD INTERNACIONAL ISI

La sensibilidad se refiere al grado de respuesta de la tromboplastina frente a la deficiencia de los factores de coagulación dependientes de la vitamina K (27).

El Índice de Sensibilidad Internacional (ISI) es una medida de esta capacidad de respuesta o sensibilidad. Mientras más bajo es el valor de ISI, más sensible es el reactivo.

La variación en la sensibilidad del reactivo de tromboplastina se deben a las diferencias en la fabricación, método de preparación y principalmente a la fuente del tejido de obtención.

De acuerdo a las recomendaciones del Comité Internacional de Estandarización en Hematología y del Comité Internacional en Trombosis y Hemostasis, el valor del ISI deberá determinarse en referencia a tromboplastinas calibradas y fáciles de encontrar en la preparación de Referencia Internacional de la Organización Mundial de la Salud.

La sensibilidad del reactivo de tromboplastina necesita considerarse para hacer que el TP sea un medio eficaz del monitoreo del tratamiento con anticoagulantes orales.

Cuando más cercano a 1 es el ISI , más sensible es la tromboplastina al descenso de los factores vitamina K dependientes (18, 27).

Es importante recordar que la OMS aconseja, no utilizar tromboplastina cuyo ISI sea superior a 2.5. Un error mínimo, en la determinación del tiempo de protrombina del paciente, se traducirá en una variación importante de la INR, con el consiguiente error en la evaluación del nivel de anticoagulación y el ajuste de la dosis de la droga.

3.6 CALIBRACION DE LAS TROMBOPLASTINAS.

La calibración de una tromboplastina, independientemente del método utilizado, es generalmente, más precisa cuando se comparan preparaciones de la misma especie.

La OMS decidió implementar la estandarización del control de la anticoagulación oral, mediante el uso de tromboplastinas de referencia, que permita calibrar la actividad biológica de preparaciones utilizadas habitualmente para el control de los pacientes (53).

El método adoptado inicialmente, propuesto por Biggs y Denson, presentaba ciertos inconvenientes, lo cual motivó una reevaluación de la metodología y llevó a la postulación de nuevos esquemas de calibración. La OMS y el Comité Internacional de Hemostasis y Trombosis adoptaron el esquema modificado por Kirkwood.

El esquema de calibración adoptado consiste en graficar en escala doble logarítmica, los tiempos de protrombina de los pacientes normales y cumarinizados, expresados en segundos, para ambas tromboplastinas y estimar la recta de ajuste por el método de regresión ortogonal. La pendiente de esa recta de calibración, expresa la sensibilidad de la tromboplastina a calibrar, en relación a la referencia utilizada y se denomina **INDICE DE SENSIBILIDAD**. El sistema permite convertir, rápidamente, mediante un simple cálculo matemático, cualquier valor de cociente obtenido con la tromboplastina de trabajo, en su equivalente con la preparación Internacional de referencia (55).

En el método de calibración de Kirkwood, los tiempos de protrombina de los plasmas normales y de los plasmas cumarinizados son considerados como datos individuales, con las siguientes ventajas en relación al esquema inicial:

- ◇ Los resultados de los plasmas normales tienen el mismo tratamiento que los plasmas cumarinizados.
- ◇ Puede observarse el comportamiento primario de los tiempos de protrombina de los plasmas normales.
- ◇ La estimación de la relación entre ambas tromboplastinas es más precisa.
- ◇ La relación entre dos tromboplastinas, aunque sean de diferentes orígenes, se ajusta a la linealidad.

Como punto de referencia, el Comité de Expertos de la OMS en Estandarizaciones Biológicas estableció, en 1977, la primera Preparación Internacional de Referencia primaria (PIR), la tromboplastina humana combinada, codificada 67/40. En 1984 fue suspendido su uso, siendo remplazada por la segunda PIR primaria, la BCT (Comparativa Thromboplastin) 253, también de origen humano.

Además, fueron establecidas Preparaciones Internacionales de Referencia secundaria (PIR secundaria), de diferentes orígenes, calibradas contra las PIR primarias; sugiriéndose que sean utilizadas por los organismos de estandarización en diferentes países y por los productores de tromboplastinas, para calibrar las preparaciones nacionales o comerciales de referencia (humana contra humana, conejo contra conejo, etc.). Dichas preparaciones servirán a su vez, para calibrar los distintos lotes de tromboplastinas de trabajo y establecer su sensibilidad en relación a la PIR primaria (18, 55)

FIGURA 3.1 CALIBRACION CONTRA UNA PREPARACION DE REFERENCIA. (55)

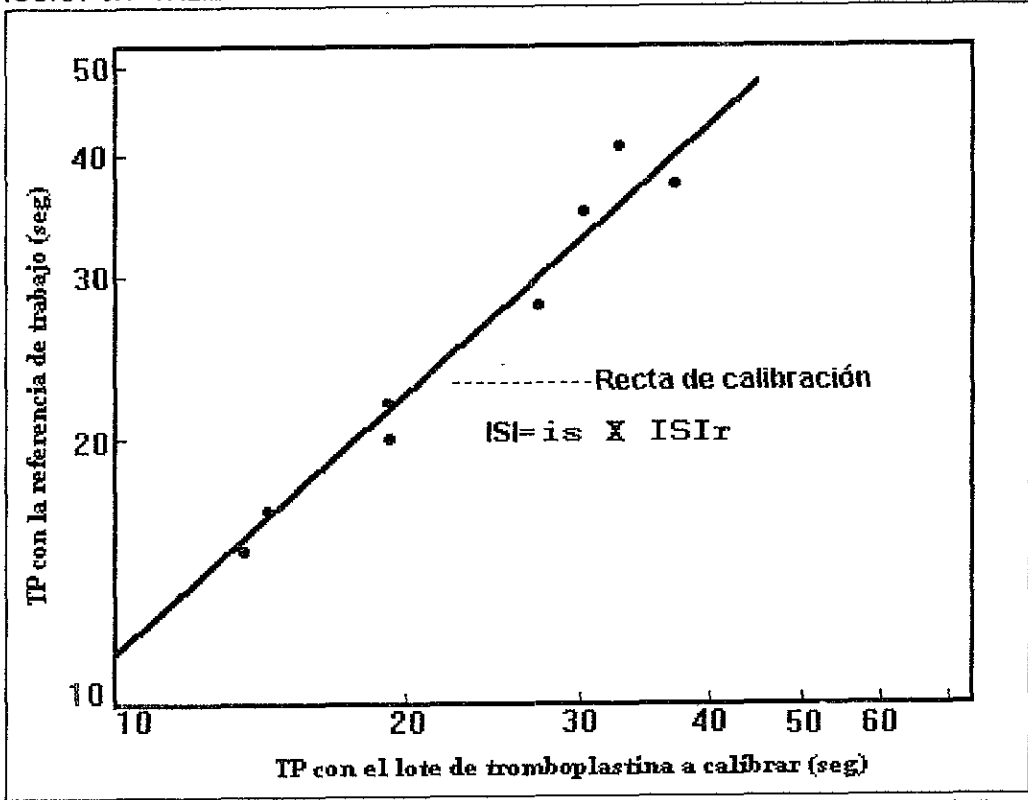


Gráfico en escala doble logarítmica, de los tiempos de protrombina, para la determinación del índice de sensibilidad de un lote de tromboplastina. El producto de la pendiente de la recta de calibración (is) ajustada por regresión ortogonal, en la representación en la escala logarítmica de los tiempos de protrombina con la preparación de referencia (eje vertical), versus los tiempos de protrombina con la tromboplastina a calibrar (eje horizontal), por el ISI de la preparación utilizada como referencia ($ISIr$). $ISI = is \times ISIr$.

3.7 EXPRESION DE LOS RESULTADOS DEL TIEMPO DE PROTROMBINA

Los resultados pueden expresarse por métodos diferentes.

1) Índice de protrombina: Es el resultado de multiplicar por 100 el cociente del tiempo de protrombina normal (control) sobre el del plasma del paciente:

$$\frac{\text{TP del plasma control}}{\text{TP del plasma del paciente}} \times 100$$

2) Taza o Razón de Protrombina: Es la relación entre el tiempo de protrombina del plasma del paciente, dividido por el del plasma control.

$$\frac{\text{TP del plasma del paciente}}{\text{TP del plasma control}} = \text{RAZON}$$

Cualquiera de las dos depende de la característica de la tromboplastina que se usa como reactivo. No dan uniformidad a la expresión de los resultados.

3) Concentración de Protrombina: Derivada de la comparación del resultado del plasma en estudio, con curvas de dilución de un pool de plasmas normales.

Numerosas han sido las tentativas de estandarización para obtener resultados comparables entre los laboratorios clínicos.

La curva de referencia se realiza a partir de un pool de plasma humano comercial, o de un pool de plasmas citratados de un mínimo de 5 donadores masculinos sanos de 18 a 40 años de edad, efectuando una serie de diluciones con solución isotónica de cloruro de sodio de la siguiente manera:

PORCENTAJE	100	50	25	12.5	10
DILUCION DEL PLASMA	Sin diluir	1+1	1+3	1+7	1+9

Las diluciones se realizan inmediatamente antes de cada determinación. Por cada dilución se realiza el TP por duplicado, obteniendo el TP promedio y estos valores registrados se relacionan con los valores porcentuales correspondientes sobre papel doble logarítmico.

4) INR (International Normalized Ratio) En la actualidad se ha adoptado la modalidad de expresar los resultados en INR, que se deriva de la razón de protrombina y que permite comparar los resultados entre diferentes centros de análisis clínicos (27).

Una vez determinado el TP del paciente anticoagulado con el lote de tromboplastina de trabajo, de ISI conocido, se calcula la razón o cociente (r). La razón es convertida en INR, mediante la fórmula:

$$INR = \left(\frac{T.P. \text{ del paciente}}{T.P. \text{ normal}} \right)^{ISI}$$

$$INR = (r)^{ISI}$$

El resultado del TP es expresado así en una escala común (INR), que permite la comparación entre los resultados obtenidos con diferentes tromboplastinas (27).

Ejemplo. Tromboplastina utilizada: preparación de conejo,

$$ISI = 1.6$$

TP paciente = 29 segundos.

TP normal = 12.5 segundos

$$r = 29 / 12.5 = 2.32$$

$$INR = (2.32)^{1.6} = 2.84$$

3.8 USO DEL I.N.R. DE ACUERDO A DIFERENTES ESTADOS CLINICOS.

El cálculo del I.N.R. usando los valores I.S.I. de los reactivos de tromboplastina permite definir el tratamiento con guías precisas, tales como aquellas establecidas recientemente por un panel internacional de expertos en terapia con anticoagulantes orales y resumidas en la tabla 3.1. Recomendaciones similares se han publicado recientemente por un equipo de trabajo representado por el Colegio Americano de Médicos de Tórax, y el Instituto Nacional de Cardiología, Neumología y Sanguíneo (27, 30).

TABLA 3.1 EFECTIVIDAD DE TERAPIA ANTICOAGULANTE ORAL (27, 30).

Condición	Intervalo I.N.R.	I.N.R. recomendado
Cirugía general	1.5-2.5	2
Cirugía de cadera	2-3	2.5
Prevención primaria y secundaria de trombosis venosa	2-3	2.5
Prevención de trombosis venosa recurrente	2.5-4	3
Prevención de tromboembolismo arterial	3-4.5	3.5
Tratamiento a infarto agudo de miocardio	2-2.3	2-3
Prevención de infarto	2.0	2-3
Prevención de recurrencia	2.7-4.5	3-4.5
Reducción de mortalidad	2.7-4.5	3-4.5
Enfermedad arterial periférica	2.6-4.5	-----
Fibrilación atrial (prevención de embolismo sistémico)	1.5-2.5	2-3
Reemplazo de válvula cardíaca tisular	2-2.3	2-3
Reemplazo de válvula cardíaca mecánica	1.9-3.6	3-4 5

CAPITULO 4.

DESARROLLO EXPERIMENTAL.

4.1 OBJETIVOS.

Reafirmar la importancia que tiene el empleo del International Normalized Ratio (INR), en pacientes con terapia anticoagulante oral

Establecer los valores normales de referencia del Tiempo de Protrombina (TP), en una población sana de donadores altruistas.

Elaborar una curva de calibración tomando los valores de TP de donadores altruistas, para así, poder interpolar los datos experimentales de TP de los pacientes con terapia de anticoagulante oral.

Obtener rangos experimentales del INR terapéutico en pacientes con terapia anticoagulante oral del Hospital General de Zona No. 58 del Instituto Mexicano del Seguro Social (HGZ No.58).

4.2 POBLACION Y METODOS. CONTROLES.

Normales.

Como referencia, se utilizó un "pool" obtenido mediante la mezcla de plasmas procedentes de muestras citratadas extraídas a 105 donadores de sangre con edad entre los 18 y 50 años, los cuales se consideraron sujetos normales al aprobar el exámen clínico y serológico al que se sometieron, resultando negativas las pruebas para Brucela, Sífilis, SIDA y Hepatitis, y tener el Tiempo de Tromboplastina Parcial Activado y recuento plaquetario dentro de los valores normales de referencia, excluyendo de esta manera la presencia de padecimientos actuales, y la administración de medicamentos.

Durante 21 días se realizó el Tiempo de Protrombina a alícuotas del "pool" de 5 donadores, estableciendo los valores de referencia para ésta prueba.

La construcción de la curva de calibración se realizó con el pool al 100% (sin diluir), y diluciones con solución isotónica de cloruro de sodio al 75, 50, 25, y 12.5% de concentración. Mediante ésta curva, se interpolaron los valores del Tiempo de Protrombina de los pacientes, para conocer el porcentaje de actividad respectivo.

Anormales.

Se utilizaron plasmas de control anormal de la marca Verify del Nivel I con cada serie de las pruebas, para garantizar las mismas condiciones de trabajo: el pH, el volúmen, la temperatura de reacción, el tiempo de activación, el sistema de detección del coágulo, el adecuado estado del aparato, buena calibración y estabilidad de los reactivos.

PACIENTES.

Se incluyó en el estudio a hombres y mujeres de 22 a 87 años de edad, los cuales presentaban algún padecimiento que requería de el consumo de los anticoagulantes orales Warfarina o Acenocumarina en su etapa inicial y crónica, tratados simultáneamente con fármacos antitrombóticos, antihipertensivos, antiinflamatorios, diuréticos y digitálicos, entre otros, que fueran atendidos en el HGZ No.58.

Las causa de exclusión fueron las siguientes: embarazo, desconocimiento del TP basal, asignación a otros hospitales, intervención u hospitalización que requiriera el uso de heparina, trastornos de la coagulación preexistentes.

Los pacientes fueron captados a través de la consulta externa de Cardiología, Angiología, Medicina Interna, y Medicina General, siendo canalizados al servicio de Laboratorio de Análisis Clínicos para la realización del TP antes de iniciar la terapia anticoagulante oral y durante la misma, extrayendo mediante punción intravenosa muestras sanguíneas citratadas con el sistema vacutainer.

Para el seguimiento del paciente con terapia anticoagulante oral se utilizó la hoja de recopilación de datos (tabla 4.3) en la que se registró: La fecha en que se realizaba el TP, el nombre completo, el sexo, la edad, TP basal y TP durante la terapia, dosis y tipo de anticoagulante, semanas de tratamiento, padecimiento, otros medicamentos administrados y alteraciones que presentaron durante el tratamiento

MATERIAL Y METODO.

Principio:

El tiempo de protrombina mide el tiempo necesario para que se forme un coágulo de fibrina en una muestra de plasma citratado después de añadir iones de calcio y tromboplastina tisular (factor III), y permite comparar dicho tiempo con el de la formación de un coágulo de fibrina en una muestra testigo de plasma. La reacción en la prueba no utiliza la vía intrínseca de la coagulación (formación de tromboplastina plasmática en la fase I), ni requiere de la participación de plaquetas, razón por la cual el tiempo de protrombina mide en forma indirecta la protrombina y constituye un método excelente inicial de evaluación global de los factores de la vía extrínseca de la coagulación, V, VII, y X, así como de protrombina y fibrinógeno. La prueba del tiempo de protrombina es la más adecuada para vigilar al enfermo que recibe anticoagulantes orales (ACO).

Material:

Tubos vacutainer con solución de citrato de sodio

Tubos de ensayo 12 X 75 mm.

Pipetas automáticas de 0.1, 0.2 y 0.5 ml.

Coagulómetro COAG-A-MATE XM (Organon Teknika).

Centrífuga Clay Adams, modelo Serofuge II.

Reactivos:

Agua bidestilada.

Solución Salina Fisiológica (0.9 % NaCl).

Control anormal marca Verify nivel 1

Tromboplastina liofilizada de cerebro de conejo marca Baxter, con ISI de 1 21.

Preparación del reactivo:

La tromboplastina de trabajo que se utilizó, es un liofilizado de cerebro de conejo con calcio (10 mM) que se reconstituyó con 4 ml de agua desionizada 30 minutos antes de iniciar las pruebas, inmediatamente después de adicionar el agua, se mezcló el contenido de por lo menos 3 viales de reactivo homogenizando su contenido.

El lote de reactivo utilizado fué el TPS-61B Thromboplastin de Baxter de un Índice de Sensibilidad Internacional de 1.21

Extracción de la sangre y obtención del plasma:

En pacientes y donadores en ayuno, mediante tubos vacutainer preparados con una parte de citrato de sodio al 3.8%, se aspiró 9 partes de sangre venosa mezclando cuidadosamente. Se centrifugó 10 minutos a 3000 rpm, se separó el plasma sobrenadante con pipetas con punta de plástico, y se conservó a temperatura ambiente hasta la realización del TP

Al comienzo del tratamiento se realizaba el TP una vez a la semana, o cada tercer día, y se repetía a intervalos mensuales una vez que se estabilizaban los niveles del Anticoagulante Oral

Precauciones:

Al realizar una punción rápida y precisa evitamos el estásis venoso y la contaminación con tromboplastina tisular, así como también la hemólisis

Fué necesario llenar por completo el tubo e invertirlo suavemente varias veces, para mezclar de manera adecuada la muestra y el anticoagulante (evitando la coagulación), si el tubo no estuviera lleno hasta el volúmen exacto, aparecería exceso de citrato en la muestra afectando los resultados

La realización del TP se procuró fuera inmediatamente después de la obtención del plasma y antes que transcurrieran 2 horas de haberse extraído la muestra, evitando la prolongación del TP que se produce por el deterioro del factor V en muestras conservadas por más de 4 horas a temperatura ambiente, y el acortamiento del TP por la refrigeración de la muestra debida a la activación del factor VII (factores termolábiles) (14).

Realización de la prueba:

Mediante un sistema semiautomatizado, las muestras fueron analizadas en el Coagulómetro COAG-A-MATE XM (Organon Teknika), con el lote de reactivo TPS-61B de ISI 1.21.

Programando el aparato con los datos de la curva de calibración (Inverso de la concentración contra tiempo), el TP normal promedio y el ISI del reactivo, los resultados del TP de los pacientes se pudieron expresar en: segundos (s), porcentaje de actividad (%A), así como en International Normalized Ratio (INR).

Una vez precalentado el sistema a 37 °C, con pipetas de plástico con punta desechable, se depositó 0.1 ml de plasma citratado a la bandeja de prueba dual, se incubó por un tiempo de 3 minutos a 37 °C, y se agregó 0.2 ml de reactivo. Inmediatamente se accionó el cronómetro del coagulómetro y se registraron los resultados de cada muestra.

4.3 RESULTADOS.

Los valores normales de referencia que se determinaron con las 105 muestras de donadores, permitieron establecer el intervalo de 12.38 a 15.66s, con un 95 % de confianza, para la prueba de TP en esta población, y un TP normal promedio de 14.02 segundos (Tabla 4 1).

TABLA 4.1 DETERMINACION DEL TIEMPO DE PROTROMBINA EN EL POOL DE PLASMAS DE DONADORES SANOS.

DIA	DON 1	DON 2	DON 3	DON 4	DON 5	PROMEDIO	DESV.STD.	COEF.VAR.
1	15.0	14.0	14.2	14.4	15.0	14.52	0.4118	2.84
2	14.8	14.0	14.2	15.0	15.0	14.60	0.4195	2.87
3	13.3	12.5	14.2	13.3	13.9	13.44	0.5851	4.35
4	14.9	13.9	13.4	14.7	14.6	14.30	0.5621	3.93
5	14.1	12.3	13.3	13.3	13.7	13.34	0.5987	4.49
6	14.5	14.7	13.1	14.9	15.0	14.44	0.6917	4.79
7	13.2	13.7	13.2	13.6	13.1	13.36	0.2417	1.81
8	12.7	12.9	12.8	13.1	13.0	12.90	0.1414	1.10
9	13.1	13.5	13.8	13.6	13.0	13.40	0.3033	2.26
10	12.6	13.0	13.4	13.8	14.2	13.40	0.5657	4.22
11	12.8	13.7	14.0	12.9	13.8	13.44	0.4923	3.66
12	14.1	14.3	12.8	14.0	14.0	13.84	0.5314	3.84
13	15.1	14.3	14.9	16.0	14.1	14.88	0.6705	4.51
14	13.2	13.7	14.3	14.8	13.3	13.86	0.6086	4.39
15	13.5	13.0	12.2	14.1	13.4	13.24	0.6280	4.74
16	15.3	13.8	14.3	14.6	14.6	14.52	0.4874	3.36
17	14.6	14.2	13.7	13.9	13.8	14.04	0.3262	2.32
18	14.6	15.3	14.7	14.0	14.3	14.58	0.4354	2.99
19	15.6	15.1	16.1	13.9	15.6	15.26	0.7499	4.91
20	14.2	15.4	13.9	15.1	13.9	14.50	0.6293	4.34
21	14.6	14.3	14.3	15.2	14.4	14.56	0.3382	2.32

El TP por día, es el promedio de las determinaciones por duplicado de cada plasma de los donadores (DON). La diferencia entre cada prueba hecha por duplicado no excedió del 5 % del coeficiente de variación.

TP NORMAL PROM.	14.02	s
DESV.STD.	0.8206	s
COEF.VAR.	5.85	%

En el presente estudio el siguiente intervalo de referencia se encontró para el 95 % de los sujetos normales estudiados.

INTERVALO NORMAL DE REFERENCIA: COAG-A-MATE XM (FOTO-OPTICO)
12.38 - 15.66 segundos (con n=105)

TIEMPO DE PROTROMBINA NORMAL
PROMEDIO: 14.02 segundos

Los datos de la tabla 4.2 y la curva de calibración que se presenta en la Figura 4.1 sirvió para interpolar los datos del TP de las muestras de los pacientes y conocer el porcentaje de actividad correspondiente, datos que se concentran en la Tabla 4.3

TABLA 4.2 CONCENTRACION DEL POOL DE PLASMA DE DONADORES

DIA	DILUCIONES (%)				
	100.0	75.0	50.0	25.0	12.5
T	14.8	15.6	18.8	32.1	58.5
J	14.8	15.1	18.7	33.5	60.2
E	14.7	16.1	19.2	34.4	49.8
M	14.2	14.9	19.3	33.1	50.3
P	14.7	15.6	19.6	35.8	52.4
O	14.8	15.4	19.6	32.1	51.4
	14.0	15.8	19.6	33.6	56.4
D	14.6	15.0	19.8	35.1	52.6
E	14.0	15.9	19.2	32.2	58.7
	13.7	15.9	18.9	31.7	51.3
P	14.0	15.8	19.2	33.8	52.8
R	14.4	16.0	18.2	28.1	50.4
O	13.8	14.9	18.2	26.4	52.8
T	13.9	15.6	17.2	24.5	59.7
R	14.0	15.8	16.6	27.0	57.5
O	13.5	15.7	17.3	25.0	54.8
M	14.4	15.3	19.8	33.4	53.6
B	14.0	15.7	19.7	30.9	57.1
I	13.9	15.5	19.5	28.6	52.3
N	14.0	15.6	19.8	31.5	52.7

A

PROMEDIO	14.20	15.56	18.91	31.14	54.27
DESV.STD.	0.3934	0.3575	0.9486	3.3735	3.3293
2 S (95%)	0.7867	0.7150	1.8973	6.7470	6.6587

Relación del tiempo de protrombina promedio (s) en función del Inverso de la concentración del pool de plasma.

1/C	TP promedio(s)
0.0100	14.20
0.0133	15.56
0.0200	18.91
0.0400	31.14
0.0800	54.27

Parámetros de regresión lineal

Ordenada al origen (a)	7.9055
Coefficiente de correlación	0.9997
Pendiente (m)	578.8614

$Y_{est} = mX + b$, y de acuerdo a los parámetros de regresión

$Y_{est} = [578.8614s(X)] + 7.9055s$, donde:

Y_{est}: Tiempo de protrombina (en segundos)
X: Inverso de concentración de plasma

FIGURA 4.1: CURVA DE CALIBRACION. RELACION DEL TP (s), EN FUNCION DEL INVERSO DE LA CONCENTRACION

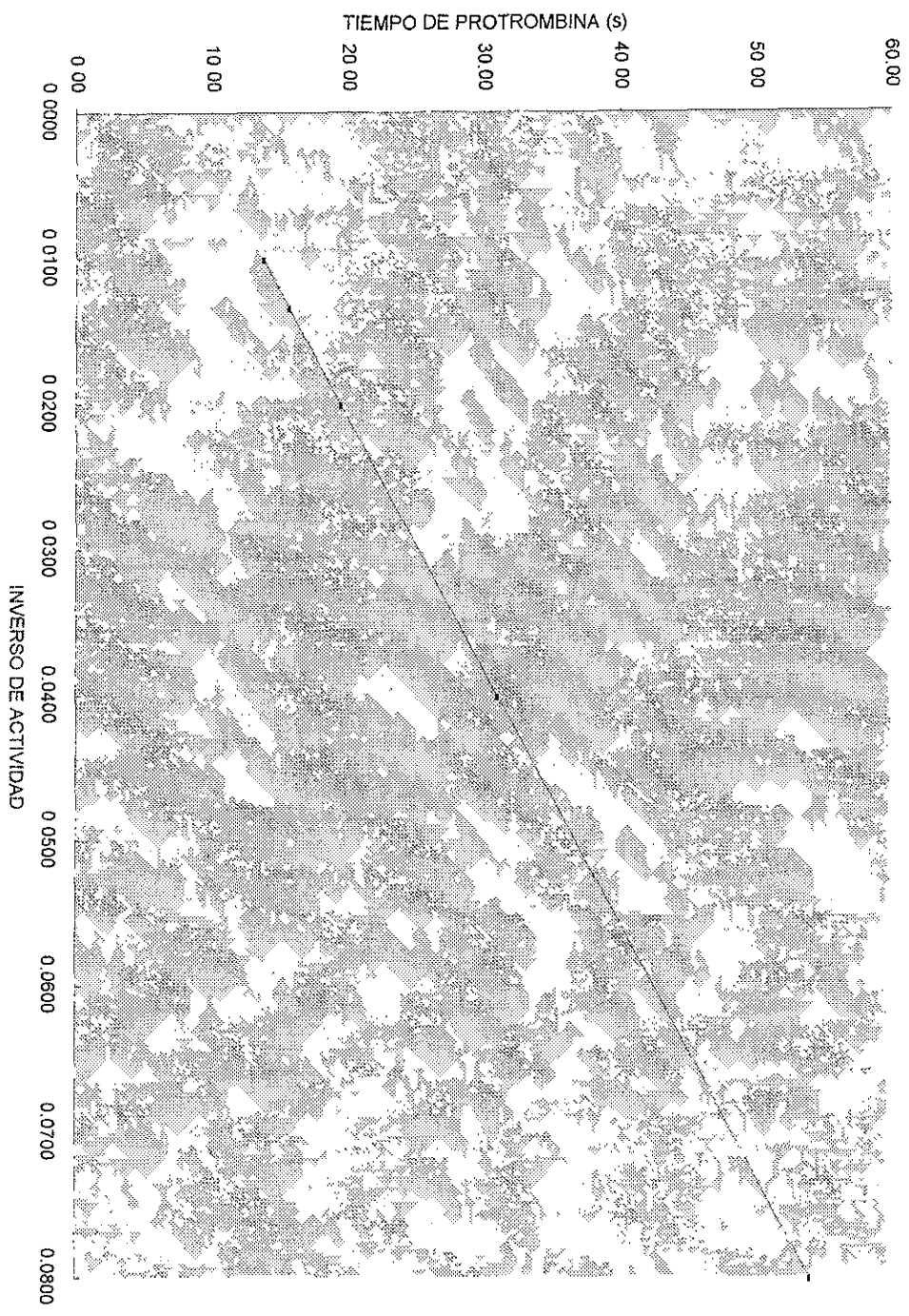


Tabla 4.3. RELACION DE PACIENTES CON TERAPIA ANTICOAGULANTE
 Se resumen las especificaciones de los pacientes con tratamiento anticoagulante oral, las cuales comprenden fecha de estudio, nombre completo, sexo, edad, tiempo de protrombina basal y con terapia anticoagulante (expresado en segundos, porcentaje de actividad e internacional normalizado ratio), nombre del anticoagulante y su dosis, tiempos de tratamiento (en semanas), procedimiento, otros medicamentos administrados, y observaciones.
 Las determinaciones del tiempo de Protrombina se realizaron con el aparato Coagulometro COAG-A-MATEM (de Organon Teknika), con el lote de reactivo IPS-61B Tromboplastin (de Bioray) de un índice de Sensibilidad Internacional de 1.21.

RELACION DE PACIENTES CON TERAPIA DE ANTICOAGULANTES																				
NUM	FECHA	SEXO	EDAD T.P. (Bases)	T.P. (seg)	% A	INR	ACD	LUN	MAR	ME	JUE	VI	SAB	DOM	(mg/día)	(SEMANAS)	Dx	OTROS MEDICAMENTOS	OBSERVACIONES	
1	08/06/94	F	42	15.3	43.0	1.81	W	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	2.50	W	CPT, TIFONA, DOXA, FESUDA, K	NINGUNA	
2	09/06/94	F	50	16.0	46.0	1.82	W	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	5.00	W	DOXA, FESUDA, K	NINGUNA	
3	10/06/94	F	34	15.6	43.8	1.75	W	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	5.00	W	DOXA, FESUDA, K	NINGUNA	
4	21/09/94	F	37	16.0	43.5	1.80	W	0.50	0.25	0.50	0.50	0.50	0.25	0.50	0.50	1.50	W	DOXA, FESUDA, K	DEPOR, APOTAR PERNAS	
5	15/06/94	M	44	14.8	41.1	1.75	W	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.25	0.50	0.50	3.00	4	W/VA	DOXA, FESUDA, K	DEPOR, APOTAR PERNAS
6	21/09/94	M	30	16.3	52.9	1.91	W	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	8.00	11	W/VA	DOXA, FESUDA, K	DEPOR, APOTAR PERNAS
7	20/06/94	F	60	13.1	35.3	1.11	A	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	2.00	0	W/VA	DOXA, FESUDA, K	DEPOR, APOTAR PERNAS
8	28/09/94	F	68	15.6	51.3	1.65	A	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	2.20	12	W	DOXA, FESUDA, K	DEPOR, APOTAR PERNAS
9	23/06/94	F	58	15.8	42.9	1.41	A	0.50	0.50	0.33	0.50	0.75	0.50	0.50	0.50	2.40	41	W/VA	DOXA, CPT, FESUDA, K	DEPOR, APOTAR PERNAS
10	22/09/94	M	39	14.2	45.1	1.67	W-A	0.50	0.50	0.25	0.50	0.25	0.50	0.50	0.50	2.40	24	W/VA	DOXA, CPT, FESUDA, K	DEPOR, APOTAR PERNAS
11	04/07/94	F	27	13.7	47.8	1.94	W	0.50	0.25	0.25	0.50	0.25	0.50	0.25	0.50	1.10	8	W/VA	DOXA, CPT, FESUDA, K	DEPOR, APOTAR PERNAS
12	15/07/94	F	42	14.1	49.5	1.74	A	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	1.30	20	W	DOXA, CPT, FESUDA, K	DEPOR, APOTAR PERNAS
13	09/10/94	F	45	15.2	47.0	1.79	A	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	2.00	6	W	DOXA, CPT, FESUDA, K	DEPOR, APOTAR PERNAS
14	14/07/94	F	20	13.1	41.3	1.75	A	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	1.10	7	W	DOXA, CPT, FESUDA, K	DEPOR, APOTAR PERNAS
15	03/07/94	F	56	12.5	40.0	1.74	A	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	1.10	8	W/VA	DOXA, CPT, FESUDA, K	DEPOR, APOTAR PERNAS
16	11/07/94	F	43	13.3	32.0	1.25	A	0.50	0.25	0.25	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	1.10	7	W	DOXA, CPT, FESUDA, K	DEPOR, APOTAR PERNAS
17	11/07/94	F	43	13.3	32.0	1.25	A	0.50	0.25	0.25	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	1.10	7	W	DOXA, CPT, FESUDA, K	DEPOR, APOTAR PERNAS
18	12/07/94	F	43	13.3	32.0	1.25	A	0.50	0.25	0.25	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	1.10	7	W	DOXA, CPT, FESUDA, K	DEPOR, APOTAR PERNAS
19	26/10/94	F	41	14.8	57.0	1.77	A	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	1.10	3	W/CU	DOXA, CPT, FESUDA, K	DEPOR, APOTAR PERNAS
20	20/07/94	F	48	12.9	39.8	1.52	A	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	2.50	6	W	CPT, DPANIL	DEPOR, APOTAR PERNAS
21	21/07/94	F	45	13.5	43.4	1.90	A	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	1.70	12	CU	DOXA, CPT, FESUDA, K	DEPOR, APOTAR PERNAS
22	14/09/94	F	50	15.1	35.7	1.01	A	0.50	0.50	0.25	0.50	0.25	0.50	0.50	0.50	4.70	12	CU	DOXA, CPT, FESUDA, K	DEPOR, APOTAR PERNAS
23	23/07/94	F	42	14.2	54.0	1.42	A	0.25	0.25	0.25	0.50	0.25	0.50	0.25	0.50	1.60	24	W	DOXA, CPT, FESUDA, K	DEPOR, APOTAR PERNAS
24	11/10/94	F	31	12.9	18.9	1.19	A	0.50	0.50	0.25	0.50	0.25	0.50	0.25	0.50	1.60	4	W	DOXA, CPT, FESUDA, K	DEPOR, APOTAR PERNAS
25	18/08/94	M	50	15.0	43.0	1.63	W	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	5.40	4	W	DOXA, CPT, FESUDA, K	DEPOR, APOTAR PERNAS
26	24/08/94	M	51	15.5	81.4	1.92	W	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	7.90	24	W/VA	DOXA, CPT, FESUDA, K	DEPOR, APOTAR PERNAS
27	01/08/94	M	51	15.1	55.0	1.40	W	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	2.50	24	W	DOXA, CPT, FESUDA, K	DEPOR, APOTAR PERNAS
28	26/10/94	M	41	16.7	43.3	1.69	W	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	4.00	84	W	CPT, DOXA, FESUDA	DEPOR, APOTAR PERNAS
29	03/10/94	M	68	14.6	20.7	1.27	W	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	2.60	48	W/VA	DOXA, FESUDA	DEPOR, APOTAR PERNAS
30	03/10/94	M	53	15.1	18.0	1.34	A	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	2.60	48	W/VA	DOXA, FESUDA	DEPOR, APOTAR PERNAS
31	04/10/94	M	76	14.9	38.1	1.36	A	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	1.10	14	EC	DOXA, FESUDA	DEPOR, APOTAR PERNAS
32	04/10/94	F	65	12.2	14.9	1.19	A	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	3.20	24	W/VA	CPT, DOXA, FESUDA	DEPOR, APOTAR PERNAS
33	17/10/94	F	32	13.7	17.9	1.13	W	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	2.70	20	W	DOXA, DPANIL	DEPOR, APOTAR PERNAS
34	20/10/94	F	62	14.2	51.3	1.48	W	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	3.00	96	W	DOXA, DPANIL	DEPOR, APOTAR PERNAS
35	20/10/94	F	50	15.0	18.6	1.31	A	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	2.70	20	W	DOXA, DPANIL	DEPOR, APOTAR PERNAS
36	20/10/94	F	44	14.2	20.0	1.43	A	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	3.00	96	W	DOXA, DPANIL	DEPOR, APOTAR PERNAS
37	28/07/94	F	65	14.7	26.3	1.36	A	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	1.70	10	W/VA	DOXA, FESUDA, CPT, K	DEPOR, APOTAR PERNAS
38	28/07/94	F	44	16.1	27.5	1.24	A	0.50	0.25	0.25	0.50	0.25	0.50	0.25	0.50	1.90	10	W/VA	DOXA, CPT	DEPOR, APOTAR PERNAS
39	28/07/94	F	38	15.3	33.4	1.48	A	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	4.00	36	W/VA	DOXA, FESUDA, ESPINA, K	DEPOR, APOTAR PERNAS
40	28/07/94	F	46	14.7	24.8	1.24	A	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	1.70	12	W/VA	VPML, DOXA, FESUDA, K	DEPOR, APOTAR PERNAS
41	28/08/94	F	46	14.7	39.1	1.51	W	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	2.50	18	W	CPT, DPANIL	DEPOR, APOTAR PERNAS
42	28/08/94	F	42	14.8	25.0	1.24	W	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	4.00	6	W	CPT, FESUDA, K	DEPOR, APOTAR PERNAS
43	15/05/94	F	58	17.2	35.0	1.27	W	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	3.00	5	W	CPT, FESUDA, K	DEPOR, APOTAR PERNAS
44	15/05/94	F	33	13.9	20.2	1.26	W	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	3.00	5	W	DOXA, FESUDA, REPUL, DIMSI	DEPOR, APOTAR PERNAS
45	21/09/94	M	80	14.4	28.0	1.29	W	0.75	0.75	0.75	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	2.50	21	W	CPT, DPANIL, DOXA, FESUDA, K	DEPOR, APOTAR PERNAS
46	01/09/94	M	76	15.6	38.3	1.51	W	0.75	0.75	0.75	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	2.50	21	W	CPT, DPANIL, DOXA, FESUDA, K	DEPOR, APOTAR PERNAS
47	21/09/94	M	63	14.6	38.3	1.51	W	0.75	0.75	0.75	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	2.50	21	W	CPT, DPANIL, DOXA, FESUDA, K	DEPOR, APOTAR PERNAS
48	21/09/94	M	63	14.6	38.3	1.51	W	0.75	0.75	0.75	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	2.50	21	W	CPT, DPANIL, DOXA, FESUDA, K	DEPOR, APOTAR PERNAS
49	21/09/94	M	63	14.6	38.3	1.51	W	0.75	0.75	0.75	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	2.50	21	W	CPT, DPANIL, DOXA, FESUDA, K	DEPOR, APOTAR PERNAS
50	21/06/94	M	60	16.0	34.3	1.23	W	0.75	0.75	0.75	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	4.40	7	W/VA	DOXA, CPT, FESUDA, K	DEPOR, APOTAR PERNAS
51	21/06/94	M	62	16.7	44.5	1.70	W	0.75	0.75	0.75	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	4.40	7	W/VA	DOXA, CPT, FESUDA, K	DEPOR, APOTAR PERNAS
52	29/09/94	M	46	14.8	25.8	1.24	W	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	2.50	6	W/VA	DOXA, CPT, FESUDA, K	DEPOR, APOTAR PERNAS
53	29/09/94	M	46	14.8	25.8	1.24	W	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	2.50	6	W/VA	DOXA, CPT, FESUDA, K	DEPOR, APOTAR PERNAS
54	21/06/94	M	55	15.1	33.8	1.28	W	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	5.00	6	W/VA	DOXA, CPT, FESUDA, K	DEPOR, APOTAR PERNAS
55	21/06/94	M	55	15.1	33.8	1.28	W	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	5.00	6	W/VA	DOXA, CPT, FESUDA, K	DEPOR, APOTAR PERNAS
56	21/06/94	M	55	15.1	33.8	1.28	W	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	5.00	6	W/VA	DOXA, CPT, FESUDA, K	DEPOR, APOTAR PERNAS
57	21/06/94	M	55	15.1	33.8	1.28	W	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	5.00	6	W/VA	DOXA, CPT, FESUDA, K	DEPOR, APOTAR PERNAS
58	24/06/94	M	40	14.8	26.6	1.24	W	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	2.30	11	W	DOXA, FESUDA, K	DEPOR, APOTAR PERNAS
59	24/06/94	M	40	14.8	26.6	1.24	W	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	2.30	11	W	DOXA, FESUDA, K	DEPOR, APOTAR PERNAS
60	24/06/94	M	40	14.8	26.6	1.24	W	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	2.30	11	W	DOXA, FESUDA, K	DEPOR, APOTAR PERNAS
61	24/06/94	M	40	14.8	26.6	1.24	W	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	2.30	11	W	DOXA, FESUDA, K	DEPOR, APOTAR PERNAS
62	24/06/94	M	40	14.8	26.6	1.24	W	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	2.30	11	W	DOXA, FESUDA, K	DEPOR, APOTAR PERNAS
63	24/06/94	M	40	14.8	26.6	1.24	W	0.50	0.50											

Con los datos recopilados en la tabla 4 3, se estableció la siguiente información:

Clasificación por sexo y edad.

Fueron sometidos a estudio 117 muestras de pacientes en tratamiento con ACO, de los cuales 47 (40.17 %) pertenecían al sexo masculino y 70 (59.83 %) al sexo femenino (Figura 4.2); la edad media fué de 49 años, con una mínima de 22 y una máxima de 87 años (Figura 4.3).

FIGURA 4.2 DISTRIBUCION DE PACIENTES POR SEXO.

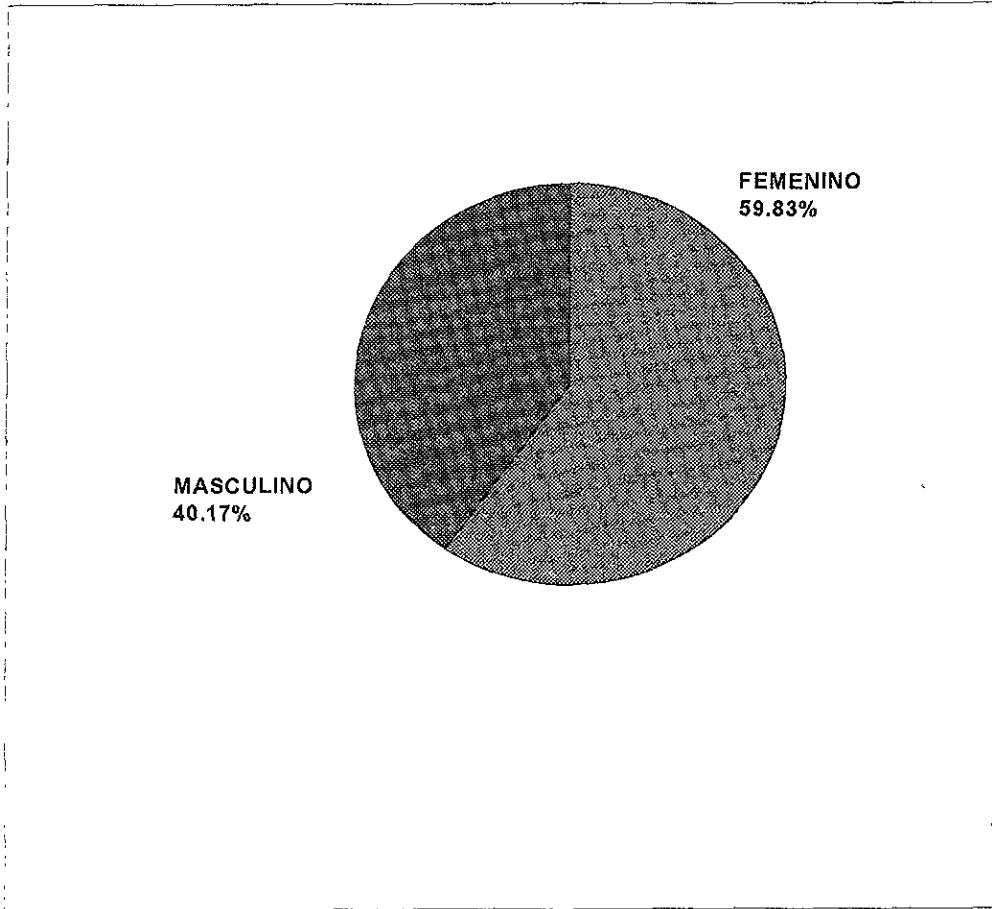
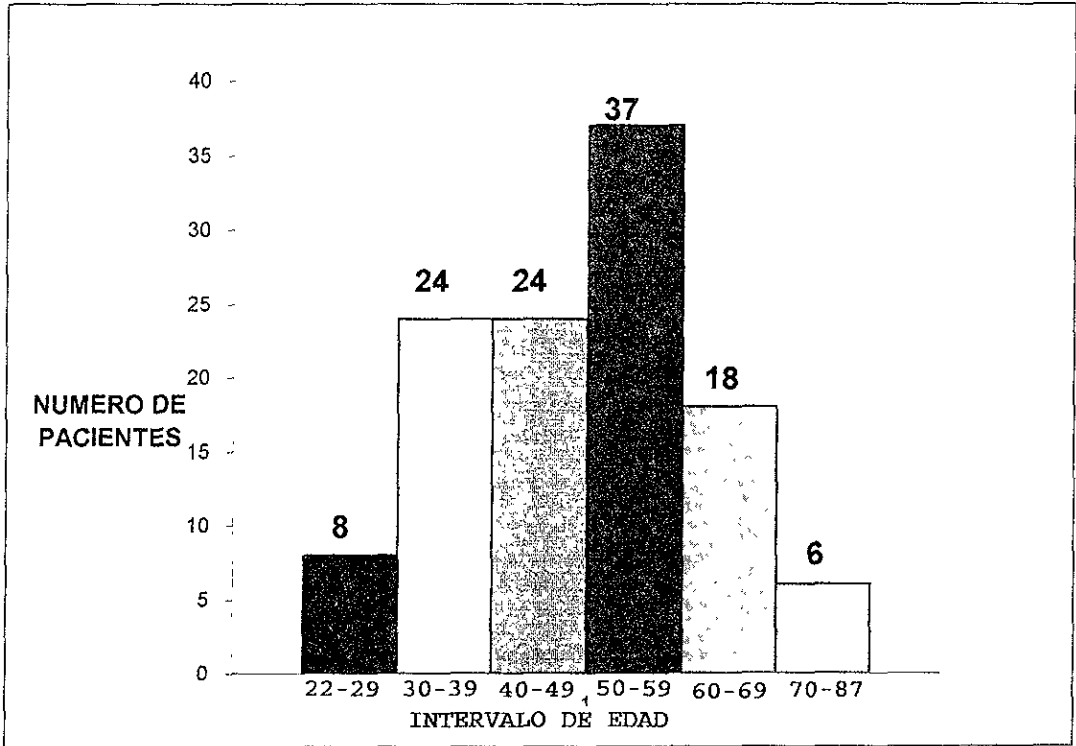


FIGURA 4.3 DISTRIBUCION POR EDAD DE LOS PACIENTES

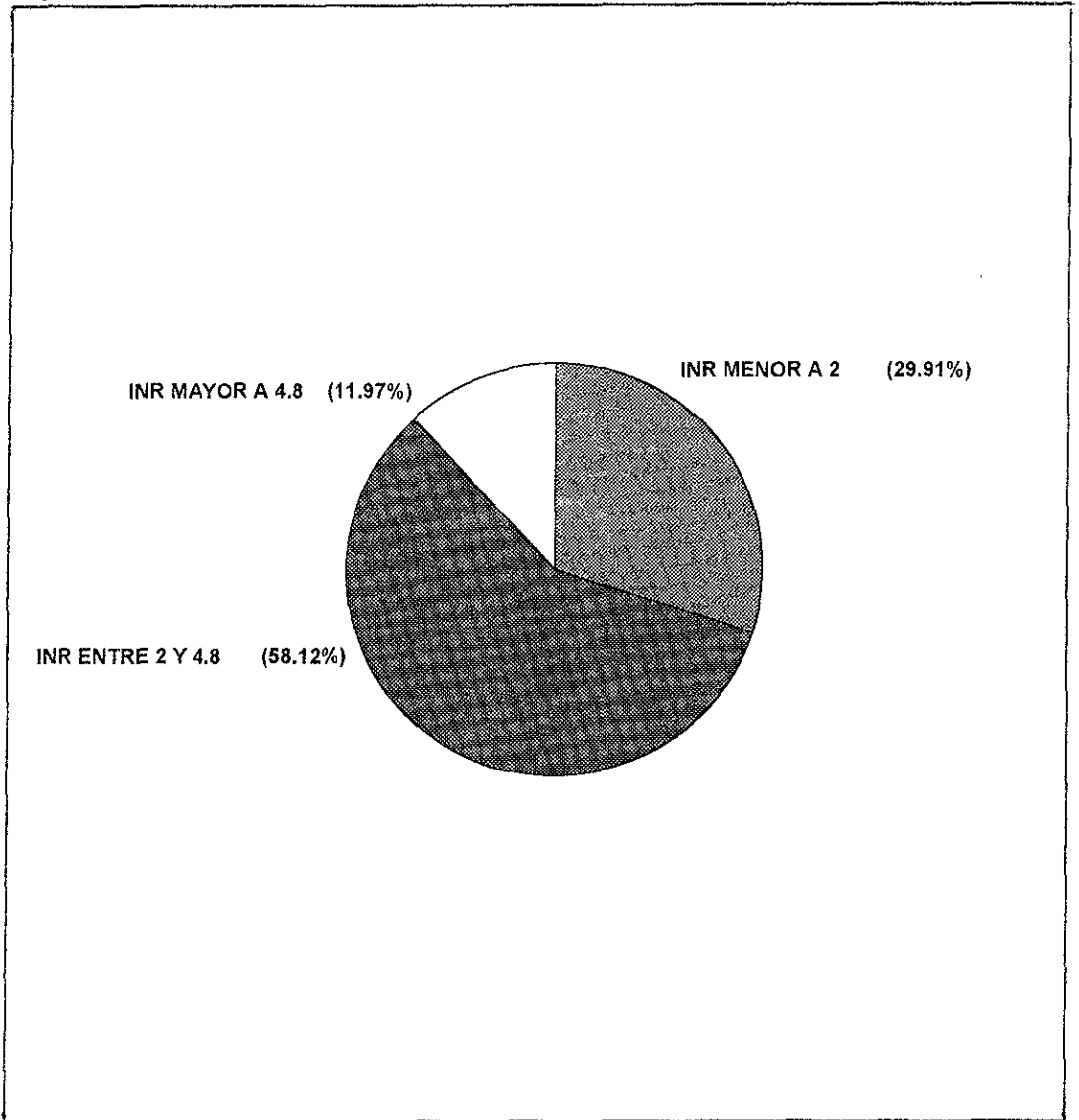


Intervalos de anticoagulación según el valor de INR.

Estableciendo los límites de anticoagulación internacionalmente aceptados para las diferentes tromboplastinas existentes en el mercado, que se sitúan entre unos valores extremos de INR de 2.0 y 4.8 (30) y agrupando a los pacientes según esos límites, se determinaron 3 grupos:

El primer grupo de 35 pacientes (29.91%) con un INR menor que 2.0 y un TP basal promedio de 14.49 s; el segundo con 68 pacientes (58.12%), de un intervalo de INR mayor o igual a 2.0 y menor a 4.8, y TP basal promedio de 14.99 s; y el tercer grupo de 14 pacientes (11.97%), con INR mayor o igual a 4.8 y TP basal promedio de 14.96 s (Figura 4.4).

FIGURA 4.4 INTERVALOS DE ANTICOAGULACION CONSIDERANDO EL I.N.R.

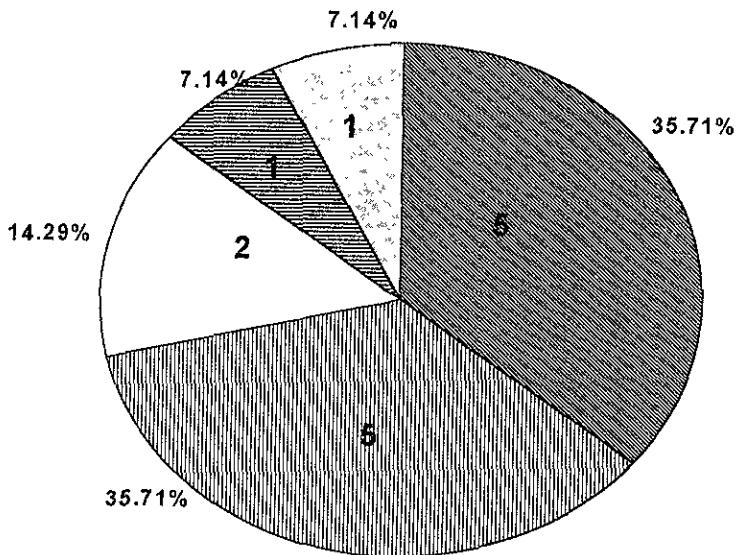


Pacientes con síndrome hemorrágico

Del tercer grupo de pacientes con INR mayor o igual a 4.8 presentaron manifestaciones hemorrágicas, entre las cuales el sangrado nasal (epistaxis) y la aparición de moretones en las extremidades superiores e inferiores (equimosis) fueron las más frecuentes

También se encontró en un paciente la presencia de sangre en las evacuaciones por medio de la técnica de detección de sangre oculta en heces; estos resultados se muestran en la Figura 4.5.

FIGURA 4.5 PACIENTES QUE PRESENTAN SINDROME HEMORRAGICO CON I.N.R. MAYOR A 4.8.

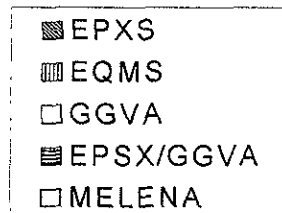


EPXS: Epistaxis (Sangrado nasal)

EQMS: Equimosis (Moretones)

GGVA: Gingivorragia (Sangrado de encías)

MELENA: Evacuación con sangre



Distribución de los pacientes por patologías:

La Tabla 4.4 muestra la distribución de los pacientes por patologías según los valores del INR, observando que el diagnóstico de cardiopatía reumática inactiva (CRI) es la que predomina en los tres grupos (64.96%), seguida de trombosis venosa y arterial (12.82%), como las más relevantes

TABLA 4.4 DISTRIBUCION DE LOS PACIENTES POR PATOLOGIAS SEGUN LOS VALORES DE INR.

Patología	Pacientes						Totales	
	Hipoanticoagulados INRMENORA2		Anticoagulados INRENTRE2 Y48		Hiperanticoagulados INRMAYORA 48		No.	%
Cardiopatía Reumática Inactiva	23	65.71	44	64.71	9	64.29	76	64.96
Trombosis Venosa y Arterial	6	17.14	8	11.76	1	7.14	15	12.82
Insuficiencia Cardíaca	4	11.43	2	2.94	0	0.00	6	5.13
Cardiopatía Isquémica	1	2.86	0	0.00	0	0.00	1	0.85
Insuf. Cardíaca/Card. Reum. Inact.	1	2.86	4	5.88	1	7.14	6	5.13
Tromb. Venosa y Art./Card. Isq.	0	0.00	8	11.76	2	14.29	10	8.55
Card. Reum. Inact./Tromb. Venosa y Art.	0	0.00	2	2.94	1	7.14	3	2.56
Total	35	100.00	68	100.00	14	100.00	117	100.00

4.4 DISCUSION

La prueba del Tiempo de Protrombina puede ser influenciada por una deficiente recolección de la muestra, muestras hemolizadas o lipémicas, material de vidrio o plástico mal lavado, técnicas de laboratorio mal ejecutadas, así como también por la administración de algunos medicamentos, porque los valores normales varían de acuerdo al método y al aparato empleado.

Por lo tanto, es de suma importancia que cada laboratorio establezca sus propios intervalos normales de referencia (13, 54), llevando a cabo el control de calidad con plasmas normales y anormales; garantizando así las mismas condiciones de trabajo, la verificación de la actuación del sistema analítico, el aseguramiento de la exactitud de los resultados y la reproducibilidad del sistema de coagulación empleado; determinando las influencias que ejercen en dicho sistema el volumen, la temperatura de reacción, el tiempo de activación, el sistema de detección del coágulo y la calidad del reactivo.

De la distribución de los pacientes por sexo, edad y patologías se pone de manifiesto que las mujeres y los pacientes de 50 a 59 años de edad, son los que más frecuentemente reúnen las condiciones de riesgo (cardiopatía reumática o trombosis venosa, edad avanzada, administración de anticonceptivos orales, obesidad, diabetes), para presentar estados de hipercoagulación que conllevan a establecer una terapia con anticoagulantes orales.

Valorando la terapia con anticoagulantes orales de los 117 pacientes encontramos que el 29.91 % (35 pacientes) tenían valores de INR inferiores a 2, lo cual implica la pérdida del efecto anticoagulante por infradosis; y exige el aumento de la dosis del anticoagulante oral o la identificación de las causas subyacentes que inhiben el adecuado efecto terapéutico de dichos fármacos, evitando de esta manera la presencia de un nuevo episodio trombótico.

El efecto terapéutico esperado de los anticoagulantes orales sólo se detectó en el 58.12% (68 pacientes) con un INR mayor a 2 y menor a 4.5, lo cual fué corroborado clínicamente

El 11.97% (14 pacientes) con valores de INR superiores a 4.5 presentaron problemas hemorrágicos siendo el más frecuente la epistaxis y la equimosis, lo cual requirió la suspensión de uno o dos días de la anticoagulación oral y hacer ajustes en la dosis de acuerdo a los controles del tiempo de protrombina y a los valores de INR posteriores.

Algunos autores confirman que un INR igual a 5 de alta intensidad conlleva un riesgo elevado de eventos hemorrágicos y a su vez un INR por debajo de 2 obliga necesariamente a intensificar la anticoagulación o a identificar las causas que bloquean el efecto anticoagulante deseado. El intervalo terapéutico que ha de alcanzarse se halla en general entre 2.0 y 4.8 de valores de INR, según sea el cuadro clínico. Dentro de este intervalo, la mayoría de los enfermos tratados no presentan una recidiva de la trombosis ni complicaciones hemorrágicas graves.

El establecimiento y mantenimiento de una dosis adecuada de los anticoagulantes orales, que en algunos casos se puede plantear de por vida, esta influenciada por varios aspectos (causa del estado de hipercoagulabilidad, edad, metabolismo, antecedentes clínicos, padecimientos actuales, nutrición, respuesta individual, politerapia, tiempo de vida media y farmacología de la droga, etc.), es una tarea que se debe individualizar para cada uno de los pacientes. Tomando en cuenta las marcadas diferencias individuales, la dosis de mantenimiento se fijará de acuerdo con los resultados de las pruebas de laboratorio para determinar periódicamente el Tiempo de Protrombina del paciente. La dosis de mantenimiento individual sólo podrá ajustarse si se controlan regularmente y con exactitud los valores del INR, por ejemplo una vez al mes, de modo que se eviten las fluctuaciones fuera del margen terapéutico

La dosis de mantenimiento varía en general entre 1.0 y 7.5 miligramos al día en función del valor del INR, del paciente en concreto y de la enfermedad.

La determinación del TP se ha acreditado como prueba de rutina. Deberá realizarse antes de instituir el tratamiento y luego cada semana hasta que se establezcan los niveles de anticoagulación en el óptimo intervalo. Posteriormente pueden realizarse las determinaciones del TP mensualmente. Se recomienda que la administración del anticoagulante oral la realice el paciente a la misma hora del día.

La correcta indicación de las drogas anticoagulantes depende de su farmacología, ya que ellas se asocian frecuentemente a otros medicamentos, incluso antiplaquetarios, pudiendo causar efectos colaterales graves y aún fatales. Siendo las más usadas clínicamente las drogas antiplaquetarias con acción sobre la vía del ácido araquidónico como el ácido acetil salicílico (22), el ibuprofeno y las drogas que aumentan los niveles del AMP- cíclico, como el dipiridamol.

4.5 CONCLUSIONES

Dado que en la actualidad el control del tratamiento anticoagulante implica a un número considerable de pacientes, que ésta tarea forma parte de la rutina asistencial y que en ocasiones es sólo superficialmente controlada por personal experto, el control de los enfermos puede llegar a verse comprometido. Por ello se hace imprescindible una estandarización de las pruebas que, conservando el máximo nivel de especificidad, sensibilidad y reproducibilidad incrementen el nivel de la seguridad en la emisión de los resultados

Consideramos que el uso de la expresión de los resultados del Tiempo de Protrombina en términos del International Normalized Ratio (INR) para establecer y mantener al paciente en niveles de anticoagulación terapéutico es más útil que sólo el incrementar dos o dos veces y media el tiempo de protrombina basal, en el control de los enfermos anticoagulados con warfarina o acenocumarina y tiene la ventaja de poder ser calculada en sistemas automatizados; ello permite atender a un gran número de pacientes que requieren de un tratamiento anticoagulante oral en forma más efectiva y razonable.

A menudo se señalan los resultados en "porcentaje de la actividad normal", comparándolos con una curva de la velocidad de coagulación del plasma diluido normal, pero este método es inexacto, porque la dilución de la muestra altera el mecanismo de la coagulación. El método llamado International Normalized Ratio (INR), dá resultados más precisos, indicando en segundos, el tiempo de protrombina del paciente entre el tiempo de protrombina normal promedio, razón que se eleva al valor del Índice de Sensibilidad Internacional (ISI) del reactivo

Por lo tanto proponemos que se debe aceptar y usar el INR, y así hacer posible el control de pacientes con riesgo de trombosis, de una manera más segura y eficaz. Un sistema de estandarización aceptado internacionalmente, facilitará un acuerdo más universal sobre los rangos terapéuticos al tener la ventaja de la experiencia obtenida en el tratamiento a través de todo el mundo. El reportar los resultados de los pacientes en INR proporciona valores terapéuticos más confiables y significativos y mejora la correlación entre los laboratorios.

Los valores del INR permite al médico obtener una comparación directa entre los resultados del TP sin tomar en cuenta el sistema reactivo/instrumento empleado. Cuando un laboratorio cambia reactivos o instrumentos para las pruebas del TP, la conversión a INR debe ayudar a minimizar cualquier diferencia que pudiera ocurrir.

REFERENCIAS

1. ABILDGAARD, C.F , HARRISON, J. Fletcher factor deficiency. Family study and detection. Blood, 43: 641-644, 1974.
2. BAXTER, DIAG. INC Innovin Dade: Un reactivo sensible del tiempo de protrombina (TP). Dade News, Vol. 1, No. 1: 1-4, junio 1993.
3. BERNDT, M.C and CAEN, J.P., Platele glycoproteins, Prog. Hemost. Thromb., 7: 111-150, 1988.
4. BERTINA, R.M , VAN DER LINDE, I.K. Hereditary heparin cofactor II deficiency and the risk of development of thrombosis. Thromb. Haemos., 57. 196-200, 1987.
5. BLOOM, A, and THOMAS, D.P., Haemostasis and thrombosis, Churchill Livingstone, 214-222, 1987.
6. BRECKER, G , CRONKITE, E.P., Morphology and enumeration oh human blood platelets. Appl. Physiol., 3: 365, 1989.
7. BROEKMANS, A W , BERTINA, R.M. Hereditary protein S deficiency and venous thromboembolism. Thromb. Haemostas., 52: 273-277, 1985.
8. CHMIELEWSKA, J , RANBY, M. Evidence for a rapid inhibitor to tissue plasminogen activator in plasma. Thromb. Res., 31: 427-436, 1983
9. CLOUSE, L.H., COMP, P.C. The regulation of hemostasis. The protein C system. N. Eng. J Med., 314: 1298, 1986.
10. COLLEN D. On the regulation and control of fibrinolysis. Thromb Haemos, 45-50,1990.
11. COLMAN ROBERT W. Haemostasis and trombosis Thromb Haemostas. 20; 1993-97, 1989.
12. COMP, F C., ESMON, C.T Generation of fibrinolytic activity by infusion of activated protein C into dogs. J. Clin. Invest., 68: 1221-28, 1981.

- 13 DANIEL, WAYNE W Bioestadística: Base para el análisis de las ciencias de la salud. Ed. Limusa, México, 1983
- 14.DAVIE EV, FUJIKAWA K, KISIEL W, The coagulation cascade : initiation maintenance and drug regulation. Biochemistry 30; 1363-70, 1991
- 15.ESCRIBA A, MALUENDA P, DEL POTRO E. Alteraciones de la coagulación en hepatopatías. Sangre 27; 680-682, 1990
- 16.ESCRIBA A, PEREZ VIZCAINO, Anticoagulantes orales. Trombosis cardiovascular 189-195, 1990.
- 17.ESMON, C. and OWEN, W., Identification of an endothelial cell cofactor for thrombin catalyzed activation of protein C. Proc. Natl. Acad. Sci , 78, 249, 1988
- 18.EVATT, H.L., HROGAN, D. Effect of thromboplastin and instrumentation on the prothrombin time test. Clin. Lab. Haematol., 3: 331-42, 1981.
- 19.FURIE B, FURIE B C. The molecular basis of blood coagulation Cell 53; 505-18. 1990.
- 20.FURIE B, FURIE B C. Molecular basis of vitamin K-dependent gamma-carboxylation. Blood, 75; 1753-62, 1990.
- 21.FURIE B. Oral anticoagulant therapy. Hematology. 1431-1436, 1991.
- 22.FUSTER, V, BADIMON, L, BADIMON, J. Drugs interfering with platelet functions: mechanisms and clinical relevance. Thrombosis and Haemostasis 1987.
- 23.GINSBERG J.S, HIRSH J, TURNER D.C, Risk to fetus of anticoagulant therapy during pregnancy. Thromb Haemostas. 61; 197-203, 1991.
- 24 GONIAS, S.L., PIZZO, S.V, SALVATORE, V., The biochemistry of haemostasis. Clin. Lab. Haemat. (Review). 8: 281-301, 1988.
- 25 HARRIS, K.W., ESMON, C T Protein S is required for bovine platelets to support activated protein C binding and activity J Biol. Chem., 260: 2007-10, 1985.

26. HEDNER, U, NILSSON, I.M. The role of fibrinolysis. Clin. Haematol., 10: 327, 1989.
27. HELEN T., MORIARTY, PIERRE, R.L. Comparison of thromboplastins using this ISI and INR system. Pathology 22: 71-77, 1990.
28. HEMKER HC: Coagulation expert viewpoint. XIII th congress of the International Society on thrombosis and haematologie 18-19, 1991.
29. HIRSH, J. Oral anticoagulant drugs. N Engl.J. Med. 324: 1865-1868; 1991.
30. HIRSH, J, POLLER, L., Optimal therapeutic range for oral anticoagulants. Chest. 95 (Suppl): 5-11, 1989
31. JACKSON, C.M. Recommended nomenclature for blood clotting zymogens and zymogen activation products of the International Committee on Thrombosis and Haemostasis Thromb. Haemostas., 38: 567-577, 1978.
32. KERBIRIOU, B.M., GRIFFIN, J.H. Human high molecular weight kininogen J. Biol Chem., 252: 12020-27, 1979.
33. LOELIGER, E.A., POLIER, L. Question and answers on prothrombin time standardisation in oral anticoagulant control. Thromb. and Haemos., 54(2): 515-517, 1985
34. MANHALTER, CHRISTINE H Contact Phase. Coagulation Disorders, Sem thromb. Hemost, 13, 15, 1991.
35. MANN K.G., JENNY RJ, KRISHNASWAMY S. Cofactor proteins in the assembly and expression of blood clotting enzyme complexes Annu Rev. Biochem. 57: 915-20, 1990.
36. MANNUCCI, M, TRIPODI, A Laboratory screening of inherited thrombotic syndromes. Thromb. Haemostas., 57: 247-251, 1987
37. MONCADA, S., HIGGS, E.A. Arachinodate metabolism in blood cells and the vessel walls. Clin. Haematol. 15: 273-292, 1986.

38. NATIO K, FUJIKAWA K. Activation of human blood coagulation factor XI independent of factor XII: factor XI is activated by thrombin and factor XIa in the presence of negatively charged surfaces. J. Biol. Chem 266: 753-58, 1991.
39. NELSESTUEN, G.L., BRODERIUS, M. Role of gammacarboxyglutamic acid. An unusual protein transition required for the calcium dependent binding of prothrombin to phospholipid. J. Biol Chem., 251: 5648-56, 1976.
40. NURDEN, T.A., Platelet membrane glycoproteins and their clinical aspects. Thrombosis and Haemostasis, 1987
41. OSTERUD B., RAPAPORT S.I. Activation of factor IX by the reaction product of tissue factor and factor VII: additional pathway for initiating blood coagulation. Proc. Natl Acad Sci; 74:5260-4 1991.
42. OWREN, P.A., Control of anticoagulant therapy, Arch Int Med, 111,248, 1963.
43. PACKHAM, M.A., MUSTARD, J.F. Platelet adhesion. Prog. Hemost. Thromb 7: 211-288, 1989.
44. POLLER, L., THOMSON, J.M. Standardization of prothrombin time and partial thromboplastin time: En: Colman, R.W., ed. Disorders of thrombin formation. Oxford Churchill Livingstone, 53-83, 1983.
45. ROA LV.; RAPAPORT SI. Activation of factor VII bound in tissue factor: a key early step in tissue factor pathway of blood coagulation. Proc. Natl Acad Sci USA 85, 6687-91, 1991.
46. SALVAT EDITORES. Diccionario terminológico de ciencias médicas. 1978, 11ª. Ed; 37,53,116,171,194,290,316,345,347,373,403,404,444,465,518,527,612,774,817,819,820, 865,866,1012.

- 47.SAMAMA, H., HORELLOU, M.H. Successful progressive anticoagulation in a severe protein C deficiency and previous skin necrosis at the initiation of oral anticoagulant therapy Thromb. Haemost., 51: 132-133, 1984
- 48.SANOFI, A L. Nuevos conceptos en factores predisponentes de trombosis. 1ª Reunión de la Red Sanofi América Latina. Boletín No.1: 2-13, 1996.
- 49.SANOFI, PHARMA, XIIIth Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. Sanofi Pharma, Amsterdam, 1991.
- 50 SAS, G. Hereditary antithrombin III deficiency: biochemical aspects. Haematologica, 17: 81-86, 1984
- 51.SLIGSOHN, U , BERGER, A. Homozygous protein C deficiency manifested by venous thrombosis in the newborn. N. Eng. J. Med. 310. 559-562, 1984
- 52.SUTTIE, J, W Recent advances in hepatic vitamin K metabolism and function. Hepatology, 7: 367, 1993.
- 53.TAYLOR, N., EXNER, T. Studies with various thromboplastins used for the prothrombin time test Aust. Jour. Of Medical Lab. Science, Vol. 8: 4-5, 1987.
- 54.TERRES SPEZIALE, ARTURO M., Monografía de control de calidad. Baxter S.A. de C V , Div. Diagnósticos, México, 1993
- 55.THOMSON, J.M., Tomenson, J.A. The calibration of the second primary International Reference Preparation for thromboplastin Thrombosis and Haemostasis, 52: 336-342, 1984
- 56 VERMYLEN, J, BADENHORST, P.N , Normal Mechanisms of platelet function. Clin. Haematol, 12: 107-151, 1993.
- 57.WARDER, V.J., FRANCIS, C.W. Clinical aspects of fibrinolysis In Hematology. Williams, W.J., Beutler, E., Mc Graw Hill, 1543-58, 1990.

58.ZAMARRON, C , LIJNEN, H.R. Influence of exogenous and endogenous tissue type plasminogen activator on the lysability of clots in a plasma milieu.in vitro. Thromb. Res., 35. 335-345, 1984.