

10524
3



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN

Departamento de Estudios Profesionales

“OBTENCIÓN DE VALORES DE REFERENCIA DEL TIEMPO DE TROMBOPLASTINA PARCIAL ACTIVADA (TTPA) Y DEL TIEMPO DE PROTROMBINA (TP)”

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA
P R E S E N T A
JUANA WENDY AGUILERA CALDERA

ASESOR: Q. B. P. ANTONIO SÁNCHEZ ORTEGA

A
2003



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.



VOTACIÓN NACIONAL
AVENIDA 14
MÉXICO

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

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

U. G. A. E.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLÁN



Departamento de
Exámenes Profesionales

**DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
P R E S E N T E**

**ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán**

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

"Obtención de los Valores de Referencia del Tiempo de Troboplastina
Parcial activada (TPPa) y el Tiempo de Protrombina (TP)"

que presenta La pasante: Juana Wendy Aguilera Caldera
con número de cuenta: 9551998-2 para obtener el título de:
Química Farmacéutica Bióloga

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido 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, Méx. a 7 de Noviembre de 2001

PRESIDENTE

Dr. Ricardo V. Santiago Díaz

VOCAL

Q.F.B. Ramón Cendejas Ramírez

SECRETARIO

Q.F.B. Antonio Sánchez Ortega

PRIMER SUPLENTE

Q.F.B. Idalia Avila Miyazawa

SEGUNDO SUPLENTE

Q.F.B. Rene Damián Santos

3

*Gracias Dios, por todo lo que soy y lo que poseo
Gracias por la oportunidad de vivir y compartir lo que ahora siento,
Gracias por enseñarme lo que otros pueden darme,
La oportunidad, el esfuerzo, la perseverancia,, la amistad, la humildad,
El conocimiento, la sabiduría, el amor, todo esto y muchas cosas más
Que vivirán eternamente en mí y en esta hoja de papel.*

*Agradezco a mis padres, quienes me han heredado el tesoro más valioso
Que puede dársele a un hijo: amor, sin escatimar esfuerzo Alguno
Han sacrificado gran parte de su vida por formarme y educarme.
A quines la ilusión de su vida ha sido convertirme en una persona feliz
Nunca podré pagar todos sus desvelos ni aún con las riquezas más
Grandes del mundo
Por esto y más...GRACIAS*

*Abuela Mercedes, he aquí, un pequeño testimonio por el gran apoyo
Brindado durante los años más difíciles de mi vida, en los cuales he logrado
Terminar mi carrera profesional, lo cual constituye un aliciente para continuar
Con mi superación, GRACIAS.*

*Tía Carmela, gracias por tu apoyo y consejos que ayudaron a realizar
Una de mis más grandes metas, la cual constituye la herencia más valiosa que podría recibir.*

Hermanos, Elizabeth y Marcos , GRACIAS, por soportar mis malos momentos.

Gracias Ana María y Alfredo por brindarme la amistad y el amor incondicional

*Gracias a todas aquellas personas que hicieron posible uno de mis grandes deseos,
Sabiendo que jamás existirá una forma de agradecer en esta vida de lucha y superación constante,
deseo expresarles que mis esfuerzos y logros han sido también suyos,
Y constituyen el legado más grande que pudiera recibir.
Con cariño, admiración y respeto*

C

-ÍNDICE-

	PÁGINA
1. INTRODUCCIÓN	3
2. HEMOSTASIA	4
2.1. DEFINICIÓN	5
2.2. COMPONENTES DEL PROCESO DE LA HEMOSTASIA	4
2.3. HEMOSTASIA PRIMARIA	4
2.4. HEMOSTASIA SECUNDARIA	16
2.4.1. FACTORES DE LA COAGULACIÓN	17
2.4.2. PROPIEDADES DE LOS FACTORES DE COAGULACIÓN	20
2.4.3. COAGULACIÓN SANGUÍNEA	28
2.5. MECANISMOS DE REGULACIÓN DE LA HEMOSTASIA	41
2.5.1. SISTEMA DE REGULACIÓN	42
2.6. FIBRINOLISIS FISIOLÓGICA	48
3. TERAPIA ANTITROMBOTICA	51
3.1. TERAPIA ANTICOAGULANTE	51
3.2. ANTICOAGULANTES ORALES	51
3.2.1. MECANISMO DE ACCIÓN DE LA VITAMINA K	51
3.2.2. MECANISMO DE ACCIÓN DE LAS COUMARINAS	53
3.3. TROMBOPLASTINA Y EL ÍNDICE DE SENSIBILIDAD INTERNACIONAL	53
3.4. SENSIBILIDAD DE LA TROMBOPLASTINA	55
3.5. RAZÓN INTERNACIONAL NORMALIZADA(RIN)	56
4. PRUEBAS DE DETECCIÓN DE LA HEMOSTASIA	57
4.1. PRUEBAS PARA EVALUAR EL SISTEMA VASCULAR	58
4.2. PRUEBAS PARA EVALUAR LA AGREGACIÓN PLAQUETARIA	59
4.3. PRUEBAS PARA EVALUAR LA CASCA DE COAGULACIÓN	63
5. VALORES DE REFERENCIA	65
5.1. DEFINICIONES	66
6. OBJETIVOS	69
7. MATERIAL Y MÉTODOS	70

8.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	73
9.	PROCEDIMIENTO PARA LA ESTIMACIÓN DE LÍMITES DE REFERENCIA	76
10.	RESULTADOS	78
11.	DISCUSIÓN	121
12.	CONCLUSIONES	125
	ANEXO	127
13.	BIBLIOGRAFÍA	135

I. INTRODUCCIÓN

Los laboratorios de química clínica producen datos que se usan como base para decisiones clínicas importantes, enfrentando con frecuencia la necesidad de establecer Valores de Referencia de determinados componentes del organismo humano de interés clínico.

Estas situaciones pueden surgir cuando se ha desarrollado un método nuevo o si se desea comparar su intervalo de valores normales con los que se encuentran en la literatura, así mismo, el uso de instrumentos, reactivos y tipo de población difiere para cada casa comercial.

Los valores de referencia, son valores obtenidos por medio de la observación o medida de un tipo particular de cantidad en un individuo perteneciente a una muestra grupal de referencia.⁽¹⁾ Los valores obtenidos han de tratarse por métodos estadísticos, su uso dependerá del número de datos disponibles, del tipo de datos obtenidos, su distribución relativa y del intervalo de referencia que se emplee.

Por lo tanto, el presente estudio pretende determinar los Valores de Referencia del Tiempo de Tromboplastina Parcial activada (TTPa) y del Tiempo de Protrombina (TP), en individuos sanos tomados al azar del Banco Central de Sangre Centro Médico Nacional la Raza y realizar un análisis estadístico para establecer los valores de referencia del laboratorio de urgencias del Hospital de Especialidades del Centro Médico la Raza, optimizando el diagnóstico clínico.

2. HEMOSTASIA^(19,20)

2.1. DEFINICIÓN

Normalmente, la sangre circula dentro de un sistema cerrado de vasos. Los vasos se revisten de una capa sencilla, confluyente, de células endoteliales. Estas células proporcionan un medio ambiente natural para los elementos celulares de la sangre y los constituyentes disueltos en el plasma. Un daño traumático, ocasiona que los vasos se rompan y escape la sangre. Para minimizar la pérdida sanguínea, algunos de los constituyentes plasmáticos se movilizan para formar un coágulo sanguíneo. El proceso en que se forma una barrera para impedir la pérdida de sangre, y que se limita al sitio de la lesión, se conoce como la hemostasia.

Desde el punto de vista práctico la hemostasia se divide en dos fases: la hemostasia primaria (interacción vaso sanguíneo-plaquetas) y hemostasia secundaria (proteínas plasmáticas de la coagulación).

El mecanismo hemostático normalmente es rápido y localizado, pero pueden presentarse anomalías, que conduzcan a ciertas patologías, es decir, una hemostasia en exceso conduce a una trombosis y si esta es insuficiente, conduce a una hemorragia.

2.2. COMPONENTES DEL PROCESO DE LA HEMOSTASIA

Los componentes que contribuyen al proceso de la hemostasia son :

**RESPUESTA VASCULAR
FORMACIÓN DE UN TAPÓN PLAQUETARIO
ACTIVACIÓN DE LA CASCADA DE COAGULACIÓN
SISTEMA FIBRINOLÍTICO**

2.3. HEMOSTASIA PRIMARIA

En los procesos de la hemostasia primaria la interacción entre plaquetas y células endoteliales es fundamental para el adecuado y equilibrio funcionamiento de

la hemostasia. Al originarse una lesión existe una respuesta al daño vascular iniciándose los mecanismos de reparación.

RESPUESTA VASCULAR(1.1.1)

La respuesta vascular esta dada por los vasos sanguíneos llamados capilares formados por una sola capa de células endoteliales. Existiendo vasos más grandes formados por:

INTIMA (endotelio)
LA MEDIA (músculo liso, colágena, algunos fibroblastos)
ADVENTICIA (colágena, fibras elásticas, fibroblastos)

La capa intima esta en contacto con la sangre, conformada por el endotelio y el subendotelio este último lo integran una lamina basal, microfibrillas y la elastina.

El endotelio vascular tiene varias funciones: actúa como barrera entre la sangre y los tejidos subyacentes, y previene en forma selectiva que células y macromoléculas abandonen la luz del vaso; además las células endoteliales intervienen en el procesamiento de antígenos transportados por la sangre para la inmunidad celular.

Varias actividades de las células endoteliales se relacionan en forma directa con la hemostasia; proporciona un entorno natural para los componentes del sistema, que permanecen inertes en presencia de un endotelio normal intacto. La lesión de las células endoteliales vasculares expone a los componentes de la coagulación disueltos en el plasma a las fibras de colágeno, provocando la activación de la cascada de coagulación, que culmina con la formación de un coágulo sanguíneo.

El endotelio lleva a cabo funciones de tromborregulación para ejercer su poder antiagregante al producir:

- **Prostaglandina I₂ (PGI₂)** que bloquea la activación plaquetaria al incrementar los niveles del AMPc.

- Liberación de óxido nítrico que incrementa los niveles de GMPc e inhibe la adhesión, agregación plaquetaria y es un poderoso vasodilatador local.
- Producción de ectoADPasa que agrega ADP (ya que es un agregante plaquetario)

Al ocurrir una lesión vascular, estos mecanismos fisiológicos de regulación dejan de funcionar y se favorece los mecanismos proagregantes que permiten la interacción del músculo liso, disminuyéndose el calibre del vaso, el endotelio queda incapacitado para ejercer sus funciones de tromborregulación y disminuye la producción de prostaciclina (PGI₂), la colágena del subendotelio queda expuesta e inicia el mecanismo de adhesión plaquetaria al unirse con las plaquetas a través de glucorreceptores específicos localizados sobre la superficie plaquetaria.

FORMACIÓN DE UN TROMBO PLAQUETARIO (ADHESIÓN)⁽¹⁹⁾

Las plaquetas desempeñan un papel crucial en la iniciación y localización en la formación del coágulo, una vez alterada la integridad vascular.

Las plaquetas son fragmentos citoplasmáticos de las células progenitoras, los megacariocitos, por lo que son anucleadas y con una vida media entre 9 y 12 días, las cuales circulan en forma de disco y miden en promedio de 2 a 4 de diámetro y 0.6 a 1.3 de grosor. Poseen dos funciones: la primera es la de formar un tapón plaquetario y la segunda es la de proporcionar fosfolípidos denominado Factor 3 plaquetario (F3P), que actúa como la superficie catalítica para iniciar el proceso de coagulación.

Las plaquetas constan de tres zonas bien diferenciadas con actividades funcionales específicas, las cuales son:

- ZONA PERIFÉRICA
- ZONA INTERMEDIA
- ZONA DE ORGANELOS

ZONA PERIFÉRICA⁽¹⁹⁾

Consta de una membrana citoplasmática circundada en su exterior por un recubrimiento esponjoso de proteínas absorbidas y en su interior por una región submembranosa. Esta zona representa la parte más externa de las plaquetas y esta formada por tres capas:

GLUCÓCALIX Ó CUBIERTA EXTERNA, la cual es responsable de la respuesta plaquetaria inicial, a los estímulos externos, a través de receptores glicoproteicos, llamados glucorreceptores (ver cuadro 1). Los glucorreceptores plaquetarios han sido identificados con los números I, II, III, IV, V, etc. Sin embargo, actualmente se han subclasificado en distintas familias: integrinas, glucoproteínas ricas en leucina y selectinas.

Las integrinas son complejos heterodiméricos que participan en diferentes interacciones plaquetarias, fundamentalmente en la adhesión plaquetaria.

Las glucoproteínas ricas en leucina contienen una secuencia de aminoácidos con un alto contenido de leucina. Dentro de estas familias se distingue al complejo glucoproteico Ib-IX y la Gp V.

Las selectinas, la más conocida es la P-selectina que se expresa en la superficie plaquetaria durante el proceso de activación plaquetaria.

Si bien, el complejo glucoproteico Ib-IX con aproximadamente 25,000 moléculas sobre la superficie, permite la adhesión de la plaqueta al subendotelio a través del FvW, y el complejo GpIIb-IIIa que se une al fibrinógeno y ADP, provoca cambio de forma, agregación y secreción plaquetaria; así mismo por intermedio del ADP participan otros agentes agregantes como adrenalina, serotonina, etc. La Gp V sirve como receptor para la trombina, otro poderoso agregante plaquetario. La GpIa constituye el receptor para la colágena que también es un agonista plaquetario. La

GpIV es un receptor de la trombospondina y también para la colágena tipo I. Se han identificado otros receptores para el tromboxano A2, Para la trombina (R1 y R2 de alta y baja afinidad, respectivamente), participando como agregantes plaquetarios.

Las integrinas sirven como receptores para las proteínas adhesivas como fibronectina, laminas, vitronectinas, trombospondina, colágena y el factor de Von Willebrand (FvW).⁽¹⁷⁾

CUADRO I. GLUCORRECEPTORES PLAQUETARIOS.⁽¹⁷⁾

RECEPTORES PLAQUETARIOS	FUNCIÓNES
Glicoproteína Ib-IX	Unión al FvW
Glicoproteína V	Unión a trombina
Glicoproteína Ia	Unión a colágena
Glicoproteína Iib-IIIa	Unión a fibrinógeno, fibronectina y FvW
Glicoproteína IV	Unión a trombospondina y colágena
Receptor a tromboxano	Unión a tromboxano
Receptor alfa-2	Adrenérgico
Receptor de trombina	Tipo R-1 alta afinidad, Tipo R-2 baja afinidad
Gp Iib-IIIa, receptor de la vitronectina ($\alpha 5 \beta 3$)	Vitronectina
Tipo R2- baja afinidad	Lamina

Los receptores plaquetarios participan importantemente en las diferentes fases de la activación plaquetaria, sea adhesión o agregación plaquetaria o bien en los mecanismos que se traducen en formación de segundos mensajeros intraplaquetarios.

MEMBRANA PLAQUETARIA O BICAPA FOSFOLIPIDICA. Esta capa es especialmente rica en ácido araquidónico. Cuando se activa la membrana expone una superficie cargada negativamente, indispensable para iniciar el proceso de coagulación. En esta capa se encuentra en F3P.⁽¹⁷⁾

LA SUBMEMBRANA, capa más interna de la plaqueta, donde se produce la transformación de las señales recibidas de la superficie externa.

ZONA INTERMEDIA O SOL GEL. (19)

La capa sol-gel o de microtúbulos, consiste de dos elementos principales; microtúbulos y microfilamentos, cuyas funciones primarias son proporcionar un citoesqueleto y un sistema contráctil. Los microtúbulos se componen de la proteína tubulina. Tienen importancia en la conservación de la forma discoidal de la plaqueta y en la contracción de la plaqueta activada. Los microfilamentos y fibras se forman de actina y miosina, que son proteínas contráctiles semejantes a la del músculo liso. Empero, al contrario del músculo liso, la proporción de actina a miosina es de 100:1. La actina se presenta en dos formas intercambiables una filamentosa y otra polimerizada, un aumento en la concentración del ión calcio incrementa la cantidad de la forma polimerizada, que se encuentra en los pseudópodos de las plaquetas activadas.

ZONA DE ORGANELOS. (19)

En esta zona se encuentran: Mitocondrias, Lisosomas, Aparato de Golgi, Gránulos densos que miden 200 a 300 nm, existiendo cinco por plaqueta; también se encuentran los gránulos alfa, siendo los más numerosos unos 50 por plaqueta son esféricos u ovales y miden de 300 a 500nm.

También, existe el *SISTEMA CANALICULAR ABIERTO (SCA)* y el *SISTEMA TUBULAR DENSO (STD)*. El SCA está constituido por canales abiertos a la superficie. Se encuentran también los denominados sistemas membranosos de las plaquetas plaquetaria; éstas son invaginaciones de la membrana plaquetaria que incrementan la superficie de contacto y permiten el intercambio de sustancias en zonas profundas de la plaqueta. El STD son canales de un contenido amorfo, esta zona no se comunica

con el exterior, sirve de reservorio del calcio plaquetarios y en él se alojan las enzimas del metabolismo de las prostaglandinas.

En el cuadro 2, se muestran los productos secretados por las plaquetas:

CUADRO 2. PRODUCTOS LIBERADOS POR PLAQUETAS. (19)

Gránulos alfa	Gránulos densos	Lisozimas
Fibrinógeno	ATP	B-Glucooridasa
Fibronectina	ADP	Fosfatasa Ácida
FvW	Serotonina	Catepsina
Trombospondina	Calcio	
Vitronectina		
PDGF		
TGF- β		
CTAP-III		
PDECGF		
PAF		
Gp IIB-IIIa		
Factor 4 plaquetario		
-Tromboglobulina		
P-selectina		
F.V.C		
FXI		
FXIII		
CAPM		
Inhibidor C1		
Proteína S		
PAI-1		

FvW: factor de von Willebrand; PDGF: Factor de crecimiento derivado de plaquetas; TGF: factor de crecimiento; CTAP-III: péptido III activador del tejido conectivo y probablemente es el precursor de la -tromboglobulina; PDECGF: factor de crecimiento endotelial derivado de plaquetas; PAF: factor activador plaquetario; Gp IIB-IIIa: complejo glicoproteico IIB-IIIa que participa en la agregación; P-selectina: proteína adhesiva también denominada GMP-140 e PADGEM, que participa en la adhesión; CAPM: cininógeno de alto peso molecular; Inhibidor C-1 del complemento; PAI-1: inhibidor del activador tisular del plasminógeno.

Cuando ocurre una lesión endotelial se desencadenan una serie de mecanismos que permitirán la formación del tapón plaquetario; dichos mecanismos se ordenan en las siguientes frases:

- 1) **ADHESIÓN PLAQUETARIA**, al subendotelio expuesto al daño vascular.
- 2) **AGRAGACION PLAQUETARIA PRIMARIA**, al activarse el complejo glicoreceptor IIb/IIIa y permitir la unión entre las plaquetas.
- 3) **REACCION DE LIBRACION**, de compuesto intraplaquetarios.
- 4) **AGREGACIÓN SECUNDARIA**, de nuevas plaquetas al tapón hemostático.
- 5) **CONSOLIDACIÓN y RETRACCIÓN del COÁGULO**.
- 6) **FORMACIÓN del TAPÓN HEMOSTÁTICO DEFINITIVO**, con la formación del polímero de fibrina y la detención de la hemorragia.

Del tal manera, que las primeras plaquetas que escapan por la lesión se adhieren a las fibras de colágena del interior de la pared vascular por medio de receptores específicos, son las glucoproteínas, de las cuales las que participan en la adhesión son: GP Ia, que sirve de sitio de unión a la colágena, el complejo GpIIb-IX se une al factor de von Willebrand y forma un puente de unión entre la GpIb-IX y la colágena; además de FvW se une también al glucoreceptor IIb-IIIa favoreciendo los mecanismos de adhesión plaquetaria.

Las adherencias de plaquetas a las fibras de colágena desencadena cambios morfológicos y funcionales en la plaqueta conocido como activación. Las características de la plaqueta activa son: 1) cambio de forma, 2) reacción de liberación de los gránulos intraplaquetarios incrementando la agregación plaquetaria secundaria. Existen diferentes sustancias que activan a la plaqueta, a estas sustancias se les denomina agonista-plaquetarios (ver cuadro 3) y fisiológicamente permiten a la plaqueta reaccionar adecuadamente ante una lesión.

Asociada con las modificaciones de forma plaquetaria y la reacción de liberación es la aparición del **FACTOR PLAQUETARIO 3** sobre la membrana plaquetaria. El factor plaquetario 3 sirve como sitio catalítico para las proteínas de coagulación y contribuye a iniciar el mecanismo de la coagulación.

CUADRO 3. AGONISTAS PLAQUETARIOS(19)

Agonistas	Receptor
Trombina	Gp V
Tromboxano A2	Receptor TXA2
Epinefrina	Receptor α -2 adrenérgico
PAF	Receptor PAF
Vasopresina	Receptor V1
ADP	GP IIb-IIIa
Colágena	Gp Ia/IIa, IV

Sustancia que activan a las plaquetas permitiendo la activación plaquetaria

TROMBOPOYESIS(12, 20,25)

Las plaquetas provienen de la fragmentación de la membrana del megacariocito de la médula ósea mediante un proceso denominado trombopoyesis, en el cuál, las células i maduras se diferencian en megacariocito maduro y adquiere la capacidad para producir plaquetas.

Los megacariocitos provienen de la célula madre totipotencial o *stem cell* que posteriormente da origen a la unidad formadora de colonias del bazo (CFU-S) o (CFU-GEMM): posteriormente se diferencian en células comprometidas en la línea megacariocítica; la primera de ellas denominada unidad formadora de brotes megacariocíticos (BFU-Meg) y después prosigue la unidad formadora de colonias megacariocíticas (CFU-Meg) y a continuación bajo el estímulo de ciertas citocinas se diferencian en células morfológicamente reconocidas en médula ósea, desde el promegacarioblasto hasta el megacariocito maduro y finalmente la formación de plaquetas a partir de la membrana del megacariocito.(ver figura 1)



Fig. 1. Trombopoyesis. CFU-S: Unidad formadora de colonias de bazo; BFU-Meg: unidad formadora de brotes megacariocíticos; CFU-Meg: unidad formadora de colonias megacariocíticas.(19)

Este proceso de duplicación, diferenciación y maduración megacariocítica se lleva a cabo por medio de factores estimulantes o factores de crecimiento, que promueven el desarrollo de megacariocitos en la médula ósea.

Dos factores de crecimiento han sido reconocidos: la trombopoyetina (TPO) y la actividad estimulante de colonias megariocíticas (CSA-Meg).

Al parecer el CSA-Meg influye en el número de megacariocitos los más probable es que este factor actúe a nivel de la célula precursora, induciendo proliferación y diferenciación de la célula tronco pluripotencial.

La trombopoyetina influye de manera primaria en el tamaño final del megacariocito y por lo tanto en el número de plaquetas producido.

En la actualidad se conocen que algunas citocinas tienen efecto estimulante tipo TPO e CSA-Meg. La interleucina (IL) 6 y la IL 11, ejercen un efecto estimulante en la producción de plaquetas, al igual que la eritropoyetina. La IL-11 se encuentra en la

actualidad, comercialmente disponible para el tratamiento de ciertas enfermedades que cursan con trombocitopenia.

Normalmente, dos terceras partes de las plaquetas liberadas de la médula ósea permanecen en circulación. El resto se almacena en el bazo, en un reservorio que se intercambia libremente con las plaquetas circulantes. En la esplenomegalia progresiva se almacena cantidades cada vez mayores de plaquetas en el bazo y, como consecuencia de ello, puede desarrollarse trombocitopenia periférica, a menos que la médula ósea aumente la producción de plaquetas en forma suficiente para contrarrestarla. La esplenomegalia por sí misma no reduce el promedio de vida de las plaquetas.(8,12)

En general existe una relación directa entre el número de megacariocitos en la médula ósea y la proporción con la que ingresan plaquetas a la circulación. Esta relación se rompe si el desarrollo de los megacariocitos es defectuosa o si se destruyen dentro de la médula. Bajo estas circunstancias se deteriora el ingreso de las plaquetas a la circulación y la trombopoyesis es ineficaz. La trombopoyesis ineficaz es un hallazgo frecuente en los enfermos con deficiencias de vitamina B12, o de folatos y es semejante al problema de producción de eritrocitos que ocurre en estos padecimientos y que determina eritropoyesis ineficaz.(8)

Si se estimula al máximo, la médula ósea puede aumentar hasta seis veces su producción de plaquetas. Sin embargo cuando hay destrucción acelerada de plaquetas, el incremento de ingreso a la sangre periférica tarda aproximadamente 5 días. Esto determina una trombocitopenia transitoria que puede persistir si las plaquetas no se producen a la misma velocidad a la que se destruyen.(8,12)

ACTIVACIÓN INTRAPLAQUETARIA..(19,20)

Ante el estímulo de los agonistas plaquetarios, la plaqueta inicia una serie de eventos bioquímicos en cadena que le permiten responder en caso necesario. La transducción de la señal al interior de la célula, se realiza a través de la proteína G (PG), que desencadena la formación de segundos mensajeros.

La PG es una proteína heterotrimérica compuesta de tres sub-unidades: La subunidad se une al guanidintrifosfato y se encargan del enclaje de la PG y además regulan las enzimas intraplaquetarias como: adenilato ciclasa y fosfolipasas A2 y C.

Existen varias PG con funciones deferentes:

Gs: Actúa estimulando a la adenilato ciclasa e incrementa los niveles de AMPc (agonistas: PGI2, PGE2).

G1: Actúa inhibiendo a la adenilato ciclasa y disminuye los niveles de AMPc (antagonista: trombina y epinefrina).

Gq: Activa a la enzima fosfolipasa C.

G: Activación de la fosfolipasa A2.

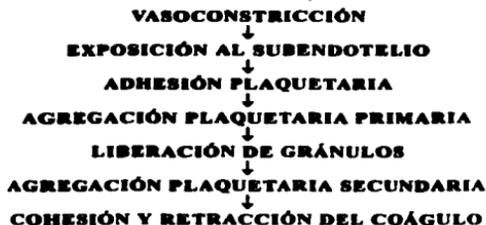
Las PG juegan un papel importante en los mecanismos de activación, al activar o inhibir diferentes enzimas, por lo tanto, se le considera el *switch* del sistema de activación. La PGs y la PG1 actúan regulando los niveles de AMPc, así, al incrementarse estos niveles, la plaqueta no se activa y permanece en estado inactivo, esto debido a la participación de la PGI2 liberada del endotelio. Por otra parte la PGq activa a la enzima fosfolipasa C que produce dos segundos mensajeros: diacilglicerol y fosfatidil inositol trifosfato, que se encarga de la activación de la protein-cinasa C y de la movilización de calcio respectivamente, que serán los responsables del cambio de forma plaquetaria y de la centralización y liberación de los gránulos.

Los niveles de AMPc regulados por la adenilato ciclasa y la fosfodiesterasa se encargan de la regulación de los niveles de la prostaglandinas, básicamente del

tromboxano A2, que constituye un poderosos agente agregante, a través de su regulación por la enzima fosfolipasa A2. La fosfolipasa A2 se activa por una PG y se encarga de las síntesis de prostaglandinas.

Todos estos mecanismos mencionados de activación plaquetaria funcionan equilibradamente, de tal suerte que un defecto en algunos de los mecanismos de activación se traducirán como defectos plaquetarios.

FASES DE LA FORMACIÓN DEL COÁGULO ANTE UNA LESIÓN.(19)



2.4. HEMOSTASIA SECUNDARIA.(20)

La hemostasia secundaria representa el cese fisiológico de la hemorragia, por medio de un mecanismo complejo que involucra un cambio de estado físico, de líquido a sólido con la formación de fibrina, interviniendo múltiples enzimas (factores y cofactores) y superficies celulares para la formación del coágulo insoluble.

2.4.1. FACTORES DE LA COAGULACIÓN (6,8,12,19,20,25)

Los factores de la coagulación se han designados por los números romanos, del I al XIII, de acuerdo con el orden de su descubrimiento, y no de su secuencia en la reacción; el factor VI no se incluye ya en la secuencia de la coagulación, en virtud de que este factor es la forma activada del factor V. Cuando un factor se activa, es decir, funciona como enzima, se agrega la letra "a" a la designación numérica (por ejemplo, el factor XII activado es XIIa). Hay varias excepciones en esta terminología. El factor II (protrombina) en su forma activada se conoce como trombina, más que como factor IIa y, cuando el fibrinógeno (factor I) se degrada por la trombina se llama fibrina; ésta, producto final de la cascada, no tiene propiedades enzimáticas. La tromboelastina tisular, y el calcio son cofactores y no tienen forma activa.

CUADRO 4. NOMENCLATURA DE LOS FACTORES DE LA COAGULACIÓN (26)

Factor	Símbolo
I	Fibrinógeno
II	Protrombina
III	Tromboelastina tisular, factor tisular
IV	Calcio
V	Factor lábil, proacelerina, acelerador de protrombina
VI	Deschade (en realidad factor V activado)
VII	Factor estable, proconvertina, acelerador de la conversión de la protrombina sérica (SPCA)
VIII	Factor antihemofílico (AHF) globulina antihemofílica (AHG)
IX	Factor antihemofílico B, factor de Christmas, componente tromboplastico del plasma (PTC)
X	Factor de Stuart Prower
XI	Antecedente de la tromboplastina (PTA), factor antihemofílico C
XII	Factor de Hageman
XIII	Factor de Fitzgerald
Ciniségeno de peso molecular elevado	Factor de Fitzgerald, factor de Fajess

CUADRO 5. FUNCIÓN BIOQUÍMICA DE LOS FACTORES DE LA COAGULACIÓN.(10)

Serina-proteasas	Cofactores	Transamidasa	Substrato
XIIa XIIa Calicreína Ira VIIa Xa Trombina(IIa)	HMWK VIII V	Factor XIII	Fibrinógeno

HMWK: Ciminógeno de peso molecular elevado

Las proteínas de la coagulación forman una cascada enzimática análoga a una reacción en cadena. El proceso de la coagulación es un sistema de amplificación biológico, que permite que relativamente pocas moléculas de los productos iniciadores induzcan la activación secuencial de una serie de proteínas inactivas, culminando con la producción de fibrina.

En 1905 MORAWITZ propuso la "Teoría Clásica de la Coagulación"; asumió que la coagulación comprende elementos básicos o esenciales: la protrombina, el fibrinógeno y el calcio, los cuales están presentes en la circulación sanguínea; la activación de la protrombina es por medio de una *trombocinasa*, la cual proviene del producto de la destrucción de leucocitos y plaquetas, o bien de la trombosis intravascular de tejidos dañados. El señaló la presencia de antitrombina en la circulación sanguínea que permite controlar que la trombocinasa esté presente en bajas concentraciones.(ver figura 2)

Los cuatro componentes de la coagulación fueron: 1) protrombina, 2) Trombocinasa o tromboplastina tisular, conocido como FT, 3) Trombina, y 4) Fibrinógeno, y los iones Ca fueron básicos para la reacción. Lo más importante es que Morawitz fue el primero que le da importancia a la tromboplastina tisular (vía extrínseca) como el iniciador de la coagulación.(19)

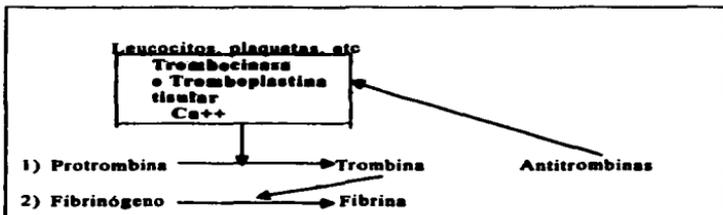


Fig 2. Esquema de Morawitz, "Teoría clásica de la coagulación". La coagulación comprende cuatro elementos básicos: Protrombina, Fibrinógeno, calcio y la trombocinas. (19)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

A partir de 1964 se propone la cascada de coagulación por Davie y tarnoff Y Mcfarlene, como un proceso enzimático de ensamblaje y de factores de coagulación que se activan sobre una superficie en la vecindad del daño, con la amplificación progresiva de las reacciones enzimáticas, proporcionándole un carácter autocatalítico. (19)

En esta teoría la coagulación es descrita por dos vías diferentes; se inicia con la vía intrínseca, con el daño vascular y la interacción de superficies cargadas negativamente con tres proteínas plasmáticas: Factor XII (Factor de Hageman), precalicreína (PK), y cininógeno de alto peso molecular (CAMP). La Pk y el CAMP circulan en plasma como un complejo; estas proteínas se unen a las superficies cargadas negativamente, activándose el FXII; la PK es convertida a Kalicreína, y el CAMP es dirigido para liberar la bradicinina (vasoconstrictor)

El segundo sustrato principal del FXIIa, es el factor XI, el cual también circula como complejo con el CAMP, y convertido a FXIa, el cual continúa la coagulación.

La vía extrínseca es un complejo formado entre el FT/FVII seguido de la activación secuencial de los factores VII, y X y la protombina.

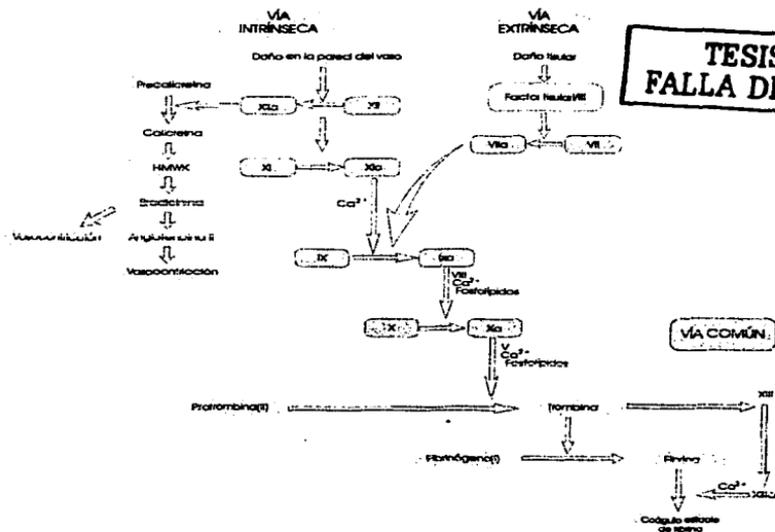


Fig. 3 Cascada de Coagulación. (19)

2.4.2. PROPIEDADES DE LOS FACTORES DE LA COAGULACIÓN. (19,20,24,25)

Los factores de la coagulación pueden dividirse en tres grupos según sus funciones bioquímicas:

- 1) GRUPO DE CONTACTO
- 2) GRUPO DE LA PROTROMBINA
- 3) GRUPO DEL FIBRINÓGENO

GRUPO DE CONTACTO

Este grupo comprende los factores XI y XII, precalicreinas y el cininógeno de peso molecular elevado (HMWK). Estos factores se ocupan de la activación inicial de la cascada de la coagulación, y requieren el contacto con una superficie con carga negativa para su acción.

FXII. Consiste de 596 aminoácidos (aa) en una sola cadena, convertido a una forma activa FXIIa por ruptura de una sola unión polipeptídica, Arg³⁵⁵ - Val³⁵⁴, formándose dos moléculas, una de cadena pesada que contiene el sitio para unirse a la superficie cargada negativamente y la cadena ligera que contiene el centro activo de las serin-proteasas; las cadenas están unidas entre sí por puentes de disulfuro.

El FXII tiene la capacidad de autoactivarse y su activación puede ocurrir en ausencia de precalicreina. El FXII convierte precalicreina en calicreína, y a su vez la enzima calicreína es el principal activador del FXII, el FXIIa también convierte FXI en FXIa y así continuar la coagulación.

FXI. Es un homodímero, formado por dos polipéptidos idénticos de 83Kd unidos por puentes disulfuro, cada monómero de factor XI es roto por el factor XIIa en la unión Arg³⁵⁵ - Ile³⁷⁰ formándose una cadena pesada y una ligera que contiene el sitio catalítico de serin-proteasa. El FXI circula en el plasma unido al HMWK: este último no tiene efecto sobre la actividad del factor XIa para activar el FIX.

Precalicreína. Glucoproteína que consiste de 619aa en una sola cadena polipeptídica, convertido a una enzima, calicreína por ruptura de una unión Arg-Ile, formándose la cadena pesada y ligera. El sitio activo está sobre la cadena ligera y el

sitio de unión al HMWK esta sobre la cadena pesada. La precalicreína y el HMWK circulan como un complejo en el plasma normal.

Cinínógeno de alto peso molecular (HMWK). Los cinínógenos en plasma se encuentran separados en dos clases: cinínógenos de alto peso molecular y el cinínógeno de bajo peso molecular. El HMWK es un cofactor que acelera la activación de contacto de plasma humano, mientras que el de bajo peso molecular es inerte. El HMWK es una glicoproteína de una sola cadena, circula en plasma unido en complejo con el FXI y la precalicreína; éstos son componentes conocidos de codepósitos sobre la superficie donde ocurre la activación de contacto.

GRUPO DE LA PROTROMBINA

Incluye los factores II, VII, IX y X y se conoce como factores dependientes de la vitamina K, ya que la requieren para su síntesis completa (también la proteína C y la proteína S la requieren).

La vitamina K se encuentra en algunos aceites vegetales y verduras, se sintetiza también en el intestino por varias bacterias. Esta vitamina liposoluble sólo se absorbe de las vías gastrointestinales en presencia de sales biliares. Los estudios indican que la vitamina K se necesita para la adherencia de un grupo COOH adicional al carbono de residuos de ácido glutámico (carboxilación γ) en el extremo N terminal de la cadena polipeptídica. Esta modificación posribosómica proporciona el receptor crítico para calcio, esencial para la fijación del factor a las superficies fosfolípidicas. Así en ausencia de vitamina K, los factores se sintetizan en el hígado y pueden encontrarse en el plasma, más son totalmente afuncionales, debido a que carecen de los grupos COOH necesarios para su fijación.

Los factores sin la modificación carboxilica se conocen en ocasiones como PIVKA (proteína inducida en ausencia de vitamina K o antagonista). Las formas funcionales y afuncionales son idénticas con respecto a sus determinantes antigénicos y su composición de aminoácidos.

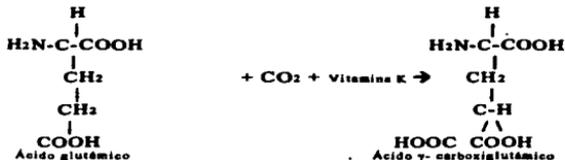


Fig 4. Gammacarboxilación del ácido glutámico dependiente de vitamina K. Los factores de la coagulación en el grupo de la protrombina deben experimentar esta carboxilación, postbiosómica de sus residuos de ácido glutámico, para volverse funcionales. El calcio se une a los grupos carboxilo de la proteína y a la superficie fosfolipídica de la plaqueta. (18)

Estos factores tiene estructuras similares en sus regiones con ciertas homología y contienen de 10 a 12 residuos Glu, los cuales son carboxilados a ácidos carboxiglutamínico, además tiene un dominio semejante al factor de crecimiento epidérmico(FCE) que se encuentra en los factores VII, IX, X, y XII, el cual probablemente sea necesario para la formación de complejos proteicos. La protrombina no tiene FCE y sólo tiene dos dominios Kringle, la cual probablemente sea necesario para la unión de complejos proteicos. El factor VII es un zimógeno (forma nativa), tiene la capacidad de autoactivarse en presencia de FT. Todos los factores K dependientes son serin-proteasas a excepción de la PS.

Las proteasas séricas o serin proteasas son enzimas desdobladoras. Podemos pensar en estas enzimas desdobladoras como si fueran cuchillos. El cuchillo se encuentra enviando (en su forma INACTIVA) hasta que es desvainado (ACTIVADO) por la proteasa sérica un paso a atrás en la cascada de coagulación.

Sólo los factores V, VIII y el fibrinógeno NO son enzimas desdobladoras.

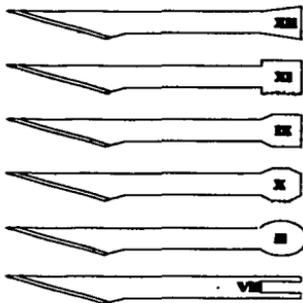


Las proteasa sérica se asemejan entre si en que son todas enzimas desdobladoras. Son diferentes entre si en que desdoblan diferentes sustratos. A continuación se diagrama su similitud dibujando igual la parte del filo, y sus diferencias con "mangos" diferentes. Todas la proteasas circulan en su forma inactiva y en elevada concentración. El factor limitante de su disponibilidad es la superficie fosfolipídica apropiada para la unión y activación de las proteínas de la coagulación. Existen dos tipos de superficie lipídicas biológicas que se tornan disponibles en el momento de la lesión:

• El fosfolípido de la membrana plaquetaria PF-3 se torna disponible en las plaquetas activadas en el sitio de la lesión. Las plaquetas no activadas no manifiestan su presencia.

• El fosfolípido tisular es liberado de las membranas de la superficie celular de los tejidos lesionados.

Los fosfolípidos unen las proteasas de la coagulación mediante un puente de calcio.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

GRUPO DEL FIBRINÓGENO

Este grupo incluye los factores I, V, VIII y XIII. Se les nombra también grupo de factor consumible por que utilizan durante la formación de fibrina y, por lo tanto, no existen en el suero.

Transglutaminasa, FXIII. Factor importante en hemostasia normal y en la formación de heridas. Es activado en presencia de trombina y su función es estabilizar a la fibrina en presencia de calcio, y produce resistencia a la degradación por plasmina. El FXIIIa es la única enzima de la coagulación que no es una serin proteasa, está formado por dos cadenas a (función catalítica) y dos cadenas b. Existe FXIII plaquetario que solamente contiene cadena a.

Fibrinógeno. Es uno de los primeros factores que se descubrieron; sintetizado por los hepatocitos, circula como un dímero de disulfuro formado por dos moléculas simétricas, cada una consiste de tres tipos de cadenas polipeptídicas 2α , 2β , 2γ , estas

cadena se encuentran orientadas de una manera antiparalela. Los péptidos terminales de las cadenas de aminoácidos se denominan FPA y FPB, que se forman por la acción de la trombina sobre fibrinógeno conduciendo a la formación de monómeros de fibrina y a la expresión de dos regiones: región E (contiene el FPA y FPB) y D, tienen cargas opuestas que le facilitan la polimerización espontánea, y posteriormente estabilizada la polimerización de la fibrina en presencia de FXIIIa.

El fibrinógeno tiene otras funciones; la agregación plaquetaria depende de la unión del fibrinógeno a plaquetas activadas por medio del receptor del fibrinógeno sobre la plaqueta la GpIIb/IIIa; este papel mediado por sitios específicos sobre la molécula, uno de los cuales está localizado en la cadena y del fibrinógeno.

Cofactores. Se dividen en dos grupos: prococfactores plasmáticos y celulares. Prococfactores plasmáticos. Se incluyen los factores V y VIII y el HMWK; los dos primeros tienen propiedades bioquímicas y estructurales similares; son sintetizados como una sola cadena con PM aproximadamente de 280 000, tienen tres homologías, tres dominios A, un gran dominio B y un par homólogo de dominio C. El FV circula en plasma como una proteína monomérica, y el FVIII circula con el factor de von Willebrand (FvW) y al activarse se disocian por proteólisis de uniones peptídicas. Ambas son sintetizadas como prococfactores, y al ser activadas por la trombina se convierten a cofactores formado parte de los complejos X-asa (FVIII) y la IIasa (FV) sobre la superficie plaquetaria; otra posibilidad de activación del FV es por parte del FXa; 25% del FV se encuentra en los alfa-gránulos de la plaqueta y es liberado en forma de prococfactor.

El otro grupo lo constituyen los prococfactores celulares: factor tisular (FT) y trombomodulina (TM). El FT es una proteína específica presente sobre la membrana

plasmática de membranas celulares como los monocitos y células endoteliales y rica de carbohidratos; es el único factor de la coagulación que no se encuentra normalmente en la circulación o en contacto con éste. A diferencia de los otros cofactores. Factor V y Factor VIII, el FT no requiere ningún proceso para su actividad y solo se necesita en contacto con FVII. Uno de los hallazgos más importantes del FT es que unido al FVII inicia la coagulación plasmática, y se ha observado que la iniciación solo depende de la ruptura de la barrera física que normalmente separa la FVIII del FT, y por lo tanto, para que la hemostasia ocurra, el daño por sí mismo puede ser suficiente para iniciar la coagulación.

La trombomodulina se expresa sobre células del endotelio vascular; de los cofactores es el único que participa como anticoagulante, activando a la proteína C (PC).

CUADRO 6. CARACTERÍSTICAS DE LOS FACTORES DE LA COAGULACIÓN. (20)

Factor	Órgano	U	100-500 mg/dl	3-5 días	Dependiente de vitamina K	4
II	Hígado	32	100µ/L	3-4 días	Dependiente de vitamina K	11
Factor tisular	Telido extra vascular	37	0		Proteína transmembrana	1
FV	Hígado	330	3-10µ/ml	15-24 hrs.	Cofactor de FVa	1
FVII	Hígado	50	0.5 µg/ml	4-6 hrs.	Dependiente de vitamina K	13
FVIII	Hígado/Celul a endotelial	350	100 pO/ml	8-12 hrs	Cofactor del FIXe	X
FIX	Hígado	55	3 µg/ml	18-30 hrs.	Dependiente de X vitamina K	X
FX	Hígado	55	10 µg/ml	40-50 hrs.	Dependiente de vitamina K	13
FXI	Hígado	160	3 µg/ml	60 hrs.	Homodimero	4
FIsado	Hígado	80	30 µg/ml	48-50 hrs.	Una sola cadena	3
FXIII Hígado	Hígado	320	10 µg/ml	4-8 hrs.	Tetramérica	22 1(β)
Fitzgerald	Hígado	130	20-50 µg/ml	6-5 días	Monomérica	5 6(α)
Fletcher(α) ²	Hígado	85-100	30-50 µg/l	35 hrs.	Monomérica	5

*Fv Precalcocalina

CUADRO 7. GRUPOS DE FACTORES DE LA COAGULACIÓN. (20)

Grupo de contacto	Grupo de protrombina	Grupo del fibrinógeno
XII, XI, prekalicreina, cistinogéno HMW (requiere contacto con una superficie para activación)	II, VII, IX, X (requieren vitamina K para su síntesis; absorbidos del plasma por BaSO ₄)	I, V, VIII, XIII (moléculas grandes; ausentes del suero)

Los factores de la coagulación pueden separarse en tres grupos, de acuerdo con sus propiedades fisiológicas y sus funciones bioquímicas en la cascada de la coagulación.

2.4.3. COAGULACIÓN SANGUÍNEA. (4, 8, 12, 20)

Existen cuatro reacciones claves en la formación de un coágulo insoluble de fibrina con el consiguiente cese de la hemorragia:

1. *Inicio de la coagulación. Dado por dos vías: Intrínseca y Extrínseca.*
2. *Activación del factor X.*
3. *Formación de trombina.*
4. *Formación del coágulo de fibrina*

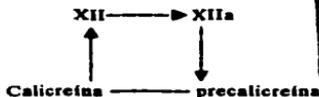
INICIACIÓN DE LA COAGULACIÓN. (10, 19, 20, 24)

Vía Intrínseca

La vía intrínseca se inicia con la exposición de los factores de contacto (FXII, FXI, Precalicerina y HMWK) a las estructuras vasculares subendoteliales (colágena, membrana basal).

Cuando se expone superficies con un carga negativa neta, los factores de contacto se unen a ella. Los iones de calcio no se necesitan para esta unión. Los factores de contacto se pueden absorber también in Vitro por superficies con carga negativa como vidrio, caolín, celita y ácido eláxico. En forma patológica, los lipopolisacáridos de las bacterias pueden servir como sitio de absorción para los factores de contacto. La absorción de esos factores a la subestructura vascular, inicia la interacción y activación del sistema de contacto.

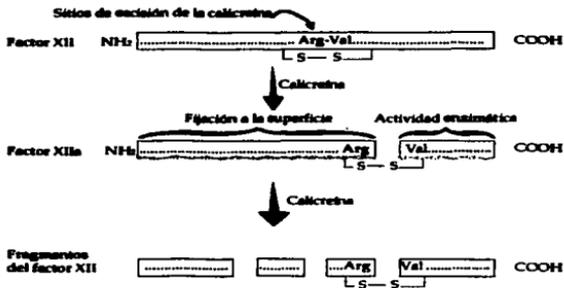
Los primeros factores que intervienen en la coagulación son XII y la precalicerina. Son proteínas que se activan en forma recíproca.



**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

La unión del factor XII con la superficie subendotelial expuesta, depende de la interacción de grupos con carga positiva en el factor XII u grupos con carga negativa en el subendotelio. Esta fijación ocasiona un cambio de conformación (pero no escisión) de la molécula XII, que expone de manera parcial su sitio de activación enzimática. Luego el factor XII, unido a la superficie divide por un proceso

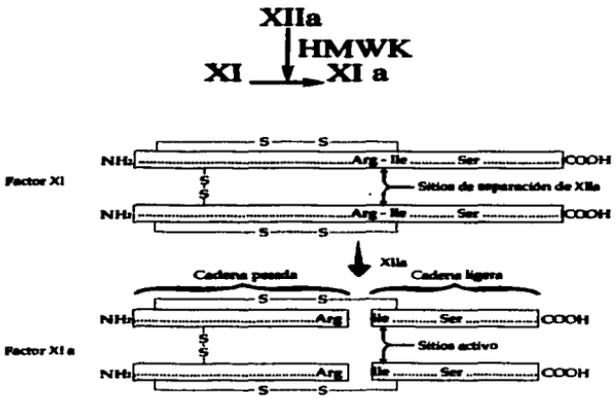
proteolítico a la precalicreína para formar a la proteasas calicreína. La precalicreína (factor Fletcher) circula como complejo con HMKW y se une a la misma superficie que el FXII. Más adelante, la calicreína junto HMWK como cofactor, actúa en forma proteolítica y divide al factor XII unido a la superficie, para liberar el factor XIIIa.



**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

Fig 7. El factor XII, cadena polipeptica sencilla, se escinde por calicreína para formar una molécula de dos cadenas enlazadas por puentes disulfuro. Esta forma molecular con actividad enzimática se puede degradar aún más por la calicreína a fragmentos del factor XII. La conversión de XIIIa a fragmentos, proteínas, potencia su actividad precalicreína → calicreína, pero decrece su acción procoagulante. El factor XII adsorbido a la colágena, experimenta un cambio de conformación que expone su sitio enzimáticamente activo, pero no se escinde hasta que actúa sobre él la calicreína. (De Shiffman, S.: factor XII. In CRC Handbook series in Clinical Factor Science. Editado por D. Seligson. Sección I: Hematología, vol III. Editado por R.M. Schmidt, Boca Ratón CRC Press, Inc. 1980). (20)

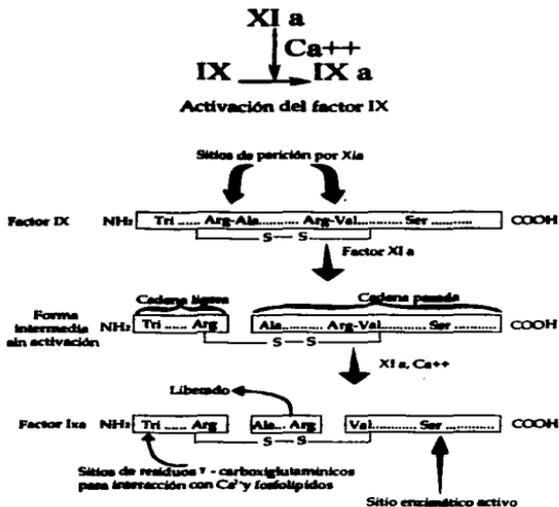
El FXIIa convierte el FXI a su forma activa, en presencia del cofactor HMWK. El FXI se compone de dos cadenas polipeptídicas idénticas, unidas por puentes disulfuro.



**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

Fig 8. Activación de factor XI. Este factor lo forman dos cadenas idénticas unidas por enlaces disulfuro. La activación por el factor XIIa ocurre cuando cada cadena se separa en dos fragmentos unidos por enlaces disulfuro. Los fragmentos más pequeños contienen los sitios con actividad enzimática. (De Griffin, J.H. y Bouma Coagulation Factor XI. In CRC Handbook series in Clinical Laboratory Science. Editado por D Seligson, sección I: Hematología, vol III. Editado por K.M. Schmidt, Boca Ratón, CRC Press, 1980).(25)

El FXIa en presencia de calcio activa al FIX, en una reacción de dos pasos; el calcio se necesita para la unión del FIX a la superficie fosfolípida de la plaqueta.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Fig 9. El factor IX es una cadena polipeptídica. La activación ocurre en un proceso de dos etapas. En la primera etapa se divide la cadena en dos secciones, ligera y pesada, que quedan unidas sólo por un puente disulfuro. En el segundo paso se separa y libera un péptido de activación. En apariencia la forma intermedia no tiene actividad enzimática, pero puede ser el paso limitante de la velocidad en la activación del factor IX. (De Marlar, R.A. Factor IX. Activation and function in Prothrombin and Other Vitamin K Proteins. Vol I, editado por W.H. Seegers y D.A. Walsy, Boca Ratón, CRC Press, 1986).(20)

Aunque la activación de los factores de contacto tienen lugar en la superficie subendotelial del vaso, la activación del factor IX y las reacciones en cascada subsiguientes, se llevan a cabo en la superficie fosfolipídica de las plaquetas en el tapón hemostático primario. Después de la activación, el factor IXa forma complejo con el cofactor, el factor VIII y calcio en la superficie fosfolipídica de la plaqueta, para activar el factor X.

IXa, VIII, PF3, Ca²⁺



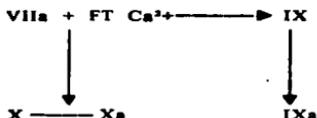
**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

El FVIII se compone de dos subunidades distintas unidas por enlaces no covalentes: factor VIII con actividad procoagulante (VIII:C) y la fracción que posee actividad de FvW (VIII/FvW). Aunque las concentraciones de las dos subunidades del complejo son muy semejantes en los estados normal y enfermedad no hematológica, cada porción tiene funciones y propiedades biológicas e inmunológicas distintas. La fracción coagulante se conoce también como factor antihemofílico y sirve como cofactor en la activación del factor X. Su función precisa en esta reacción, no se comprende, pero se sabe que se usa a la superficie plaquetaria fosfolipídica y, al parecer, gobierna la especificidad entre el sustrato (FX) y la enzima (FXIa).

Vía Extrínseca

La activación extrínseca comprende al factor VII proteínico plasmático y un cofactor, la tromboplastina tisular (FIII), llamado factor (FT).

El FVIIa y el FT forman un complejo que se une a la superficie fosfolípida por medio de puentes de calcio. El complejo sirve para activar al factor X unido a la superficie. Este complejo de activación extrínseco es también capaz de activar al FXI, evitando así la necesidad de la activación por contacto.



**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

Los conceptos actuales sobre la conversión del FVII a FVIIa sugieren que el FXa es el activador fisiológico principal, aunque la trombina y los factores XIIa y IXa pueden potenciar de manera significativa, la actividad del FVII.

La activación del FX por el FVII requiere la presencia del FT, el FT no requiere activación si no que tiene actividad como cofactor, este factor deriva de la tromboplastina de los tejidos y contiene proteína y fosfolípido, se libera y se hace accesible por la formación del complejo del F.VII, cuando el vaso se lesiona.

- a) Activación del FX
- b) Formación de trombina
- c) Formación del coágulo de fibrina.

Activación del factor X.⁽²⁰⁾

El factor X puede activarse por el complejo formado por el FT/FVIIa, FL y Ca⁺⁺ y por el factor IXa, FVIIa, FL y Ca⁺⁺.

Formación de Trombina.^(12, 19, 25)

La trombina se forma a partir de la activación del factor Xa, y la formación del complejo "protrombinasa" (factor Xa, V, Ca⁺⁺, FL), el cual puede ser formado sobre un célula o sobre la superficie de la membrana de fosfolípidos; por lo que este complejo activa la protrombina a trombina.

La protrombina es una glucoproteína de cadena sencilla que puede dividirse en la porción "pro" (fragmentos 1 y 2 o frangmento 1,2) y la porción trombina (pretrombina 2). El factor Xa separa por degradación proteolítica la molécula entre las porciones pro y trombina (fragmento 1,2 y pretrombina 2). La pretrombina 2 se divide en dos cadenas pepticas unidas por puente disulfuro que componen la potente enzima, trombina. La propia trombina puede escindir in Vitro a la protrombina en fragmento 1 a pretrombina 1, pero está degradación no se observa en el coágulo de sangre total, y se considera que no tiene importancia fisiológica.

La trombina una vez formada a su vez puede activar más al FV y al FVIII por ruptura de sus uniones peptídicas. El complejo protrombinasa es 300,000 más activo que las serin-proteasas individuales para activar al FII.

La trombina tiene dos funciones opuestas una vez que se forma; primero, activa a los cofactores V y VII y al FXI, e inmediatamente después se une a una proteína transmembrana (trombomolulina; TM) sobre la célula endotelial; la trombina unida a

la TM pierde su capacidad procoagulante (fibrino-formación, activación del FXIII y actividad plaquetaria), y activa a la proteína C (PC), y a la PCa inhibe la activación del FV y FVIII.

Formación del coágulo de fibrina^(12,19,20)

El proceso inicia con la conversión de fibrinógeno a fibrina por la acción de la trombina, formándose monómeros de fibrina; el ensamblaje es un inicio espontáneo, no enzimático, por uniones no covalentes de los monómeros de fibrina y la polimerización de ésta, finalmente uniones intermoleculares covalentes por la presencia de FXIIa.

El fibrinógeno es una molécula trinodular alargada con dos mitades idénticas. Cada mitad se compone de tres pares de cadenas, A α , B β y γ , unidades por tres puentes disulfuro, uno entre las cadenas y dos entre las cadenas. Los prefijos A y B de las cadenas α y β , designan a fibrino péptidos a los que se les separa de la molécula por la trombina, para formar fibrina. Las dos mitades del fibrinógeno se unen en extremos amino de las cadenas A α y B β y Y, formando un nódulo central llamado domino central o dominio E. Los extremos carboxilo de las cadenas β y γ , más una secuencia corta de la cadena α forman los dos nódulos terminales, uno a cada lado de la molécula. A estos nódulos se les remite también como dominios terminales o dominios D. Los tres nódulos se unen por hélices alfa superenrolladas; el ensamblaje entre ellos es no covalente. En presencia del FXIIa las uniones entre fibrina se convierten en covalentes por la formación de uniones isopeptídicas entre cadenas .

La fibrina con uniones no covalentes, y cuando son sujetas a estrés o fuerzas estos coágulos presentan una deformación viscosa algunas veces irreversibles, y con

la incorporación de uniones covalentes entre las uniones de fibrina cambian radicalmente sus propiedades de viscoelasticidad, siendo más rígido con elasticidad perfecta, y gran resistencia a la deformación irrecuperable.

La acción de la trombina sobre el fibrinógeno, es la siguiente: está desprende por proteolisis a los fibrinopéptidos A y B de las cadenas α y β del fibrinógeno. Esta molécula acortada por la trombina, se conoce como monómero de fibrina. Con acción de la trombina, las cargas negativas alrededor del dominio central, que hacen normalmente que moléculas individuales de fibrinógeno se repelen, se eliminan. El resultado es que la carga neta del dominio central cambia de -8 a $+5$. Pero, los dominios terminales retienen sus cargas negativas netas. Estos cambios en las fuerzas electrostáticas podrían explicar el segundo paso en la formación cada nódulo de la estructura trinodular contiene un sitio de polimerización que permite el crecimiento longitudinal y lateral de los polímeros de fibrina en el coágulo. Los dominios terminales con carga negativa de un monómero se ensambla de manera espontánea con el dominio central con carga positiva de otra moléculade monómero, creando una estructura polimérica.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

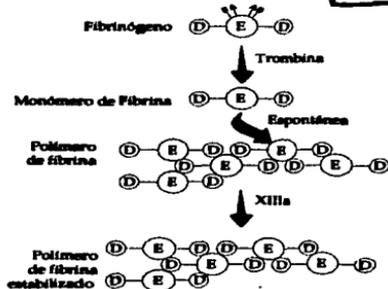


Fig. 12. La trombina desprende a los péptidos A y B del dominio E del fibrinógeno para formar el monómero de fibrina. En apariencia, esta separación cambia la carga negativa del dominio E a carga positiva. Esto permite el crecimiento espontáneo de polímeros de fibrina cuando el dominio E con carga positiva se ensambla con los dominios D con carga negativa de otros monómeros de fibrina. El ensamblaje se hace en un principio con puentes de hidrógeno. El factor XIII es presencia de Ca^{2+} cataliza la formación de enlaces covalentes entre residuos de glutamina y lisina de monómeros adyacentes, y estabiliza la malla de fibrina.(20)

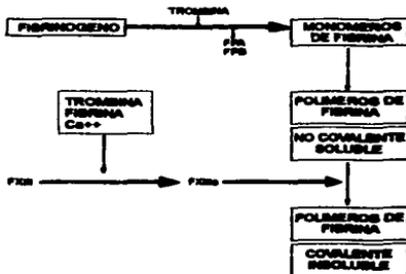


Fig. 13. Fibrinoformación y polimerización de la fibrina.(19)

La reacción final en la formación del coágulo de fibrina es la estabilización del polímero de fibrina, catalizada por el factor XIII, el cual se activa por la degradación de la trombina. El FXIIa es un transaminasa dependiente de calcio, cuya actividad consiste en catalizar la formación de enlaces covalentes entre los residuos glutamina y lisina del polímero de fibrina. Estos enlaces se desarrollan en los dominios terminales de las cadenas y entre los apéndices polares de las cadenas de monómeros próximos. La expresión de la actividad del FXIIa requiere, como ya se había mencionado, de iones calcio, los cuales se unen a la subunidad catalítica (A2) del factor XIII, causando un cambio de conformación que expone su centro activo. La malla de fibrina con enlaces cruzados covalentes producen un coágulo que tiene fuerza mecánica u resistencia a la digestión proteolítica por la plasmina. La presencia de estos enlaces únicos ocasionan la formación de productos específicos de degradación de la fibrina, cuando la plasmina digiere el coágulo.

Las funciones de la fibrina son las siguientes: 1) Permite la interacción con las plaquetas, por medio del GpIb/IIIa; 2) Interviene en la regulación de la trombina, ya que esta unida a la fibrina limita su difusión, regulando, así la propagación del coágulo; 3) Interviene en la regulación del FXIII, ya que la principal función de la fibrina sobre la activación del FXIII es integrar parte del complejo catalítico: trombina + FXIII + Fibrina + Ca^{++} ; Permite la activación de la fibrinólisis, debido a la presencia del FXIIIa, la 2α antiplasmina se "liga" al fibrinógeno o fibrina (reacción reversible) para modular las fases iniciales de la fibrinólisis; 5) Interviene en la reparación de heridas, ya que estimula la proliferación de fibroblastos, macrófagos, etc.

2.5. MECANISMOS DE REGULACIÓN DE LA HEMOSTASIA. (8,12,19,20)

Con la participación de inhibidores (proteínas inhibidoras) fisiológicas o "anticoagulantes naturales" se lleva a cabo el proceso de regulación con la finalidad de crear un estado de equilibrio y mantener así la sangre fluida dentro de los vasos. Se han descrito tres sistemas de mecanismos anticoagulantes naturales: el sistema de la antitrombina III (AT-III), sistema de la proteína C y proteína S y el sistema de inhibición a cargo del inhibidor de la vía extrínseca o del fractor tisular (IFT) (EPI extrinsic pathway inhibitor).

Existen otros inhibidores fisiológicos que también realizan importantes funciones de regulación como: los reguladores de la hemostasia primaria, los inhibidores de la fase de contacto de la coagulación, las proteasas nexinas, el PIX1 (platelet inhibitor of factor XIa).

Los inhibidores fisiológicos son proteínas plasmáticas solubles que forman complejos con los factores, previniendo la iniciación o la amplificación de la cascada de coagulación. Estos inhibidores son:

- | | |
|------------------------------|-----------------------------------|
| 1. Antitrombina III | 7. Cofactor II heparina |
| 2. Macroglobulina α 2 | 8. Inhibidor factor tisular (IFT) |
| 3. Antitripsina α 1 | 9. Proteasa nexina 1 |
| 4. Inactivador del C1 | 10. Proteasa nexina 2 |
| 5. Proteína C | |
| 6. proteína S | |

Estos inhibidores de la coagulación también se pueden dividir de acuerdo a la presencia de ciertos dominios sobre sus moléculas como los inhibidores tipo Kunitz y los inhibidores tipo "serpina" que neutralizan la actividad de los factores de coagulación que son proteasas de serina.

El IFT constituye el ejemplo característico de los inhibidores tipo Kunitz al formar uniones reversibles con su proteína inhibitoria. La AT-III es el prototipo de los inhibidores tipo serpins.

CUADROS. PROTEÍNAS REGULADORAS DEL SISTEMA DE LA COAGULACIÓN⁽¹⁹⁾

Inhibidores	Características	Peso molecular	Hígado	Activas	Tipo de Actividad
Antitrombina III	Glicoproteína	58Kd	Hígado	Ia, Xla, XIa, XIIa, XIa, XIa	Serpinas
Proteína C	Glicoproteína Vit. K dependiente	63 Kd	Hígado	V, VIII	Serpinas
Proteína S	Glicoproteína Vit. K dependiente	70Kd	Hígado	Unión a "proteína C"	Cofactor
Cofactor II Heparina	Glicoproteína	66 Kd	Hígado	Trombina	Serpinas
Inhibidor Factor Tissue (IFT)	Glicoproteína	43 Kd	Hígado endotelio	VIIIa, XIa	Kunitz
α -2 macroglobulina	Proteína dimérica	725 Kd	Hígado	Calicreína, Plasmina	Serpinas
α -1 antitripsina	Glicoproteína	53Kd	Hígado	XIa, plasmina	Kunitz
Inhibidor C1	Glicoproteína	105 Hd	Hígado	XIa, XIIa, calicreína, plasmina	Serpinas
Proteasa Nexina-1	Glicoproteína	43 Kd	Hígado endotelio	Trombina, plasmina	Serpinas
Proteasa Nexina-2	Glicoproteína	120 Kd	Pisquetas	F, XI, FIX	Serpens

* Proteína C activa

2.5.1. SISTEMA DE REGULACIÓN.^(20,21)

El endotelio juega un papel fundamental, ya que se encuentra situado estratégicamente, manteniendo un equilibrio constante entre las actividades antiagregantes, proagregantes, anticoagulantes, procoagulantes, antifibrinolíticas y fibrinolíticas. Esto lo logra mediante la síntesis y liberación de proteínas con funciones específicas dentro de la hemostasia.

Interacción entre plaquetas y células endoteliales

Existen evidencias de la presencia de tres sistemas metabólicos (tromborreguladores) los cuales regulan la reactividad plaquetaria con las células endoteliales: eicosanoides, EDRF (factor relajante derivado del endotelio), óxido nítrico y ectonucleotidasas.

Eicosanoides. Las plaquetas favorecen la síntesis de la prostaglandina I (PGI₂) por el endotelio, al liberar ácido araquidónico o endoperóxidos (ambos precursores de PGI₂). Esto produce un incremento en los niveles del AMPc intraplaquetario y produce un efecto inhibitor. Este sistema puede ser bloqueado con el empleo de aspirina.

EDRF- Óxido nítrico. Este sistema produce vasodilatación e inhibición de las adhesividad y agregación plaquetaria. El óxido nítrico es un agonista de la guanilato ciclasa en músculo liso y plaquetas, que culmina con la elaboración del GMPc que inhibe la reactividad plaquetaria. Su vida media es de 5 segundos. El óxido nítrico sirve como mecanismo de refuerzo en la regulación de la hemostasia primaria, cuando la producción de PGI₂ es insuficiente o ha sido eliminado por el empleo de aspirina.

ECTO ADPasa. La liberación de nucleótidos en respuesta al daño celular, constituye importante mecanismo fisiopatológico en la formación trombo. La ecto ADPasa es una difosfohidrolasa o aspirina que cataliza la hidrólisis del ATP y ADP en AMP y ortofosfatos. El AMP es transformado en edonosina por la -nucleotidasa. Así el efecto antiagregante de la ecto ADPasa, es bloquear al agonista ADP y la producción

de un metabolito antiagregante; la adenisona. Esto es importante para mantener el flujo sanguíneo.

Regulación de la fase de contacto⁽¹⁹⁾

La fase de contacto se encuentra regulado por cuatro proteínas inhibitorias antotrombina III, α -2macroglobulina, α -1 antitripsina y el inhibidor C1 del sistema del complemento

Antitrombina III, es una glucoproteína compuesta de una sola cadena polipeptídica que consta de 432 aminoácidos y un PM de 58 KD, con tres enlaces disulfuro y cuatro residuos de carbohidratos. Esta glucoproteína es sintetizada por el hígado y su vida media es de tres días. Es un potente inhibidor de la trombina y de otras serpinas (XIIa, XIa, y Xa).

La α -2 macroglobulina serpina que actúa sobre calicreína y plasmina. La α -1 antitripsina (α -1 proteasa inhibidor) es una serpina actúa sobre FXIa y plasmina. Finalmente el inhibidor C1 del complemento también es una serpina que actúa sobre XIIa, XIa, calicreína y plasmina.

Regulación del complejo factor V/FT^(19,20)

El inhibidor de la "vía extrínseca" o IFT es una proteína integral de la membrana, constituida de una cadena con un PM de 45,000 daltons, el cual circula unido a lipoproteína y cuya función es formar un complejo inhibidor con el FVIIa+FT. Además el IFT forma un complejo con el FXa para que se lleve a cabo el proceso de inhibición. Esta proteína inhibitoria esta constituida de tres dominios; estos dominios se encuentran localizados en los sitios de unión de los siguientes factores:

el primer dominio se une al complejo Fxa/EPI + FVIIa/FT y el segundo dominio se une a FXa/IFT.

La unión del FXa/IFT inhibe directamente la actividad del FVIIa al formar un complejo de inhibición FXa/IFT + FVIIa/FT, por lo tanto imposibilita la activación del factor FX del FIX.

Regulación del FV y FVIII^(19,20)

Estos dos cofactores son regulados por la trombina, participando en dos complejos; el FVIIa en el complejo Xasa y el FV en complejo protrombinasa.

El sistema de la proteína C/proteína S inhibe de manera irreversible al FVa y FVIIIa. La activación de este sistema se realiza por la trombina al unirse a una proteína endotelial, denominada trombomodulina, lo que permite la activación de la proteína C (PCa); a su vez la PCa necesita de un cofactor para inhibir a los factores V, VIII; este cofactor de la PCa se denomina proteína S.

La proteína C (PC) es una glicoproteína de 62,000d que circula en el plasma como zimogeno proteasa de serina que inhibe las formas activas de FV y VIII; además inhibe la actividad procoagulante de las plaquetas, incrementa la actividad fibrinolítica al inhibir al inhibidor t-PA. La PC es sintetizada en el hígado, y sufre una carboxilación en presencia de vitamina K; nueve residuos de ácido glutámico son transformados en ácido g-carboxiglutámico.

La molécula de la PC comprende 419 aminoácidos distribuidos en dos cadenas: la cadena ligera tiene los residuos Gla que permite la fijación de la PC sobre los fosfolípidos por medio de iones calcio, y la cadena pesada que tiene el sitio catalítico. La trombina es el activados de la PC por medio de un cofactor situado en

la superficie endotelias denominado trombomodulina, la trombina unida a este cofactor pierde su capacidad para activar plaquetas y formar el coágulo de fibrina.

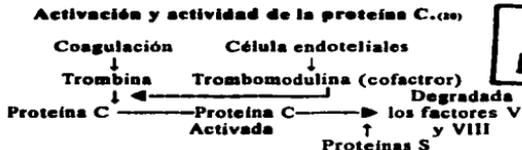
La inhibición de estos factores por la PCa, se realiza en la superficie de fosfolípidos plaquetarios en presencia de Ca^{++} y de su cofactor: PS.

Se ha descubierto que la PCa actúa a nivel del a.a. Arg. 506 del FV y una mutación en este a.a. ocasionará un estado de trombofilia, por lo que F.V juega un doble papel:

- Como cofactor del complejo protrombinasa.
- Como regulador de la activación de la trombina por intermedio de la acción de la PCa.

La PCa tiene un inhibidor denominado inhibidor de la PCa (PAI-3); además la α -1 antitripsina también puede ejercer este efecto inhibitor.

La Proteína S (PS) es el cofactor necesario para la acción de la PCa; es una glucoproteína vitamino K dependiente de una sola cadena polipeptídica que contiene 634 a.a. y con un P.M. de 70,000d, la cual es sintetizada en hígado, célula endotelial y probablemente en los megacariocitos. La PS se encuentra en los plasma bajo dos formas: una libre y una forma unida a la proteína del sistema del complemento "la proteína de unión C4" (C4PB); sin embargo, solo la forma libre es activa como cofactor de la PCa, favoreciendo su fijación a los fosfolípidos plaquetarios.



TESIS CON FALLA DE ORIGEN

Regulación sobre la activación y función de la trombina

Los reguladores específicos de la trombina son:

- Antitrombina III.
- Cofactor II de la heparina
- Proteasa-nexina-1

Antitrombina III. La acción de esta glicoproteína sobre la trombina, depende de la unión de su sitio activo (arginina-393) sobre el sitio serina de la trombina. Así se forma un complejo estequiométrico 1:1 trombina-antitrombina III (TAT), que es inactivo e irreversible.

El F.VIIa presenta una resistencia relativa a la inactivación por ATIII. Quizá la interacción del FVII con el FT, protege a esta proteasa de formar complejos con ATIII.

Cofactor II de la heparina. Mucopolisacárido sulfatado, sintetizado en el hígado, que actúa como cofactor con ATIII amplificando la velocidad de formación del complejo trombina/ATIII de 1,000 a 10,000 veces. La heparina se une a la trombina en el a.a. Arg 47 potencializando la reacción de la ATIII sobre la trombina.

Proteasa-nexina-1. La PN-1 es un inhibidor proteasa de serina (serpina de 43Kd) que inhibe rápidamente trombina, urokinasa y plasmina. PN-1 forma complejos que se unen a las células e inmediatamente son interiorizadas y degradadas. La PN-1 libre se une a la matriz extracelular y regula la actividad de la trombina. Se encuentra gran concentración en el cerebro.

2.6. FIBRINOLISIS FISIOLÓGICA. (20,25)

La fibrinólisis fisiológica es un sistema complejo que funciona a través de enzimas proteolíticas, desgranando al polímero de fibrina. La plasmina o fibrinolisisina constituye la enzima más importante, la cual es activada por medio del activador tisular del plasminógeno (t-PA) liberado del endotelio.

CUADRO 9. EFECTOS DE LOS INHIBIDORES FISIOLÓGICOS SOBRE LAS PROTEASAS DE LA COAGULACIÓN. (20)

	ATIII	Macrogl- obulina α2	Antitripsina α1	Inactivad or CI	Protein as C y S	Antiplasmi na α2
Factor XIIa	+	-	-	+	-	+
Factor XIIa	+	-	+	+	-	+
Factor Ixa	+	-	-	-	-	-
Factor Xa	+	-	-	-	-	+
Factor VIII	-	-	-	-	+	-
Factor V	-	-	-	-	+	-
Factor VII	-	-	-	-	-	-
Trombina	+	+	+	+	-	+
Calicreína	+	+	+	+	-	+
Plasmina	+	+	+	+	-	+

+ = Inhibición, - = sin inhibir

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

SISTEMA FIBRINOLÍTICO. (6)

El restablecimiento de la circulación normal exige con el tiempo el vaso lesionado se cicatrice y que el coágulo de fibrina sea removido mediante la lisis de coágulo, por consiguiente al activarse la fibrinólisis se produce una enzima que digiere por proteólisis la fibrina o el fibrinógeno. La digestión de la fibrina por plasmina produce fragmentos, llamados productos de degradación de fibrina, que perturban la formación de fibrina catalizada por la trombina.

Plasminógeno y plasmina

El plasminógeno es una globulina con PM aproximado de 80,000d, que se sintetiza en el hígado; la plasmina se deriva de su precursor zimógeno el plasminógeno, la plasmina puede digerir los factores V y VIII, la fibrina y el fibrinogeno.

El plasminógeno puede ser activado de manera intravascular (v.intrenseca) mediante la interacción del FXIIa con un proactivador del plasminógeno, resultando la conversión del proactivador (precalicreína) a activador (calicreína), que escinde al plasminógeno para formar la plasmina.

También puede activarse extravascularmente(v. Extrínseca) por un "activador tisular", una serina proteasa, que tiene gran afinidad por fibrina, donde interactuará con el plasminógeno adsorbido.

Varias proteínas aceleran la liberación del activador tisular como el factor Xa, trombina, factor activante de plaquetas, bradicininas y PC; así mismo, el endotelio, se puede estimular a liberar al activador tisular dentro de la circulación por el ejercicio, choque hipotensor, estimuladores farmacológicos y estasis venosa.

Digestión de la fibrina.(36)

La digestión del fibrinógeno y plasmina se emplea como modelo para explicar la digestión de la fibrina. La degradación del fibrinógeno por plasmina, ocurre en una secuencia definida: primero se desprenden péptidos pequeños de los extremos carboxilo de las cadenas alfa, produciendo el fragmento x. Este fragmento es aun capaz de reaccionar con trombina para formar fibrina; a continuación uno de los dominios D es separado del fragmento X y se forma el fragmento (DE) y un fragmento D. Por último el fragmento se escinde en los fragmentos D y E.

Degradación del fibrinógeno por plasmina. (26)

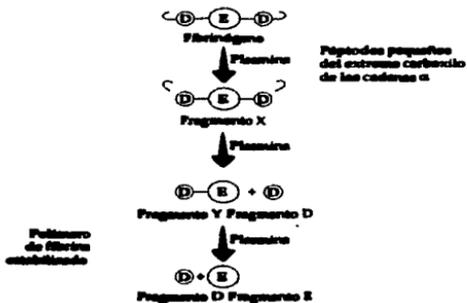


Fig 13. La digestión de la fibrina por plasmina ocurre en sitios de partición idénticos a los del fibrinógeno. Sin embargo, a causa de los enlaces covalentes del polímero estabilizado por XIII, la digestión es más lenta. Los derivados son diferentes también ya que algunos sitios no son tan accesibles al formarse la malla.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

3. TERAPIA ANTITROMBÓTICA.(7,19)

La terapia antitrombotica ha sido utilizada en el tratamiento de tromboembolismo durante 40 años. El principal propósito de la terapia es la prevención en la formación de trombos , por agentes anticoagulantes .

3.1.TERAPIA ANTICOAGULANTE.(7)

Los objetivos de la terapia anticoagulante son: reducir el potencial del mecanismo de la hemostasia en la formación de trombos, manteniendo una adecuada función hemostática, previniendo la hemorragia. El conseguir esta balance entenderlo, implica mecanismos y técnicas apropiadas por el control del laboratorio. Anticoagulante y su mecanismo de acción son mostrados en el cuadro 10. la opción de emplear un anticoagulante es determinado por la circunstancia clínica.

3.2. ANTICOAGULANTES ORALES.(10)

Anticoagulantes orales son usados generalmente, para tratamientos a largo plazo en pacientes con trastornos cardiovasculares en particular con eventos tromboembólicos.

Los anticoagulantes orales son antagonistas de la vitamina K, los cuales son: derivados cumarínicos, como la warfarina (coumadin), Acenocoumarina y fenprocoumarina.

3.2.1. MECANISMO DE ACCIÓN DE LA VITAMINA K.(10,19)

La vitamina K es liposoluble se absorbe en el intestino y se concentra en el hígado. El requerimiento diario es alrededor de 1mg/Kg. Todos los factores

dependientes de la vitamina K (II, VII, IX y X) existen como formas precursoras en los microsomas de los hepatocitos.

La vitamina K cataliza la formación de ácidos gama-carboxiglutámico, en lugares específicos de los factores de coagulación (en los residuos NH₂-terminal) así con de la proteína C anticoagulante y su cofactor (la proteína S). Los ácidos gama-carboxiglutámicos son responsables de la unión de estas proteínas a las superficies del fosfolípido por la vía de puentes de calcio, y son esenciales para el funcionamiento de las enzimas dependientes de la vitamina K.

En su absorción, la vitamina K (Quinona), es convertida a vitamina KH₂ (hidroxiquinona) por la vitamina K reductasa. La vit. KH₂ es el cofactor para la vitamina K dependiente de carboxilación que es convertida a vit. K epóxida (se encuentra reservada en los tejidos). Para ser útil, esta forma epóxida debe ser convertida a vit. K por la vit K epóxida reductasa.

Cuadro 10. Anticoagulantes y sus mecanismos en la hemostasia.

TIPO	EFEECTO
Anticoagulantes orales (ejm. Coumarinas.)	Antagonista de la vitamina K, Inhibición de síntesis proteica, produciendo PIVKA'S
Heparina	Interacción con antitrombina III, primer inhibidor de la actividad de las serin-proteasas en la cascada de la coagulación
Veneno de Serpiente	Acción directa en el fibrinógeno, reduciendo sus niveles en el plasma.
Fármacos Antiplaqueta	Inhibidor de plaqueta en la estimulación intra o extracelular, reduciendo la adhesión y agregación plaquetaria.

3.2.2 MECANISMO DE ACCIÓN DE LAS COUMARINAS.⁽¹⁰⁾

Los derivados de la coumarina bloquean a la vit. K reductasa y la vit. K epoxido reductasa, produciendo una deficiencia intracelular de v.k funcional. Cuando la acción de la vit. K se bloquea, aparecen en la circulación proteínas modificadas llamadas PIVKAS, proteínas inducidas por antagonistas de la vit. K. (moléculas des-gamacarboxiladas) por lo que no se pueden unir a la superficie fosfolipídica y no se activan los complejos.

Si bien las PIVKAS aparecen no tener una actividad fisiológica importante, pueden afectar las pruebas de TP realizadas con algunos reactivos de tromboplastina.

Después de la absorción, la coumarina en su forma libre se une a los microsomas hepáticos regulando la síntesis proteica inhibiendo la activación de la vitamina K, resultado acumulación intracelular de vit. K-2,3 epoxido y es inefectivo en la conversión de PIVKA proteínas a formas funcionales.

Tres formas de menadiona (V.K) reductasa estan presentes en el hígado, una de ellas la DT-diaforasa es inhibida completamente por la coumarina en una concentración de 5×10^{-6} mol/l.

3.3.TROMBOPLASTINAS Y EL INDICE DE SENSIBILIDAD INTERNACIONAL (ISI).^(10,11)

Los reactivos que más se emplean para valorar la coagulación in Vitro son las tromboplastinas, son lipoproteínas de un peso molecular aproximado de 37Kd, que consta de dos (fracciones: a) proteínas (termolabil y b) (termoestables). Las tromboplastinas se encuentran prácticamente en casi todos los tejidos, pero en mayores concentraciones en cerebro, pulmón, placenta, timo y testículo. Las tromboplastinas completas contienen las dos fracciones y se utilizan para realizar el

tiempo de protrombina (TP). Las tromboplastinas parciales solo contienen la parte fosfolipídica y se usan para valorar el tiempo de tromboplastina parcial (TTP).

Existen en el mercado diferentes tipos de tromboplastinas de diferente sensibilidad, dependiendo de su origen (humano, animal o recombinante) y método de preparación.

El tipo de tromboplastina que deberá utilizarse va a depender del tipo de población y estudio a realizar. Se emplean tromboplastinas de alta sensibilidad para el seguimiento de la anticoagulación oral. Para estudios en población de consulta externa, y estudios preoperatorios, es adecuado emplear tromboplastinas de baja o mediana sensibilidad.

Las tromboplastinas de buena calidad tienen incluidas en cada lote su índice internacional de sensibilidad (ISI).

El ISI comercial o fabricado en casa es obtenido por comparación con la preparación internacional de referencia (IRP). Por lo que es necesario obtener el TP logarítmico usando plasmas frescos de pacientes con una terapia de anticoagulantes orales a largo plazo y plasmas frescos de pacientes normales usando la tromboplastina de referencia, de tal manera que la tromboplastina debe ser calibrada y graficada en los ejes vertical y horizontal respectivamente, donde se obtendrá una ecuación lineal:

$$\text{LOG (prothrombin time)} = c \times \text{log (tiempo de protrombina)} + d$$

Donde c es la pendiente o inclinación, d es el intercepto y v y h significa la ordenada y la abscisa respectivamente. Esta ecuación forma la nueva base de la WHO como un esquema de calibración para las tromboplastinas. En principio cualquier tromboplastina puede ser calibrada usando la primera preparación de referencia internacional IRP, pero en la práctica es común utilizar la segunda preparación de referencia que es un intermedio de las dos.

Si bien, el ISI es la pendiente de la recta obtenida por regresión lineal del análisis gráfico de correlación del logaritmo de los TP obtenidos por una tromboplastina de Referencia Internacional (eje de las ordenadas) contra el logaritmo de los TP obtenidos con la tromboplastina en estudio (en el eje de las abscisas) en el mismo grupo de plasmas de personas normales y pacientes anticoagulados.

Por ejemplo: una tromboplastinas calibrada contra RBT/70 con un ISI=1.4, teniendo un pendiente de 0.9, el ISI de la "nueva" tromboplastina es: $0.9 \times 1.4 = 1.26$.

3.4.SENSIBILIDAD DE LA TROMBOPLASTINA.⁽¹⁹⁾

Distintos factores pueden contribuir a las diferencias de la capacidad de repuesta observada en varios reactivos de tromboplastinas; entre éstos están las especies y la fuente de tejido de la tromboplastina, y la concentración relativa de otros componentes en la formula, reactiva, tal como el calcio. Además la tromboplastinas varía su capacidad de respuesta a los PIVKAS, ésta puede ser una diferencia importante entre tromboplastinas de diferentes especies.

Una de las desventajas de emplear tromboplastinas de baja intensidad, se enfoca en que tal vez el TP no tenga bastante sensibilidad, especialmente cuando se emplea un alto ISI en las tromboplastinas. Por esta razón, una forma de alternativa del TP es usar el fragmento protrombina 1+2 (F1+2). El cual es un polipéptido que se libera durante la activación de la protrombina a trombina. Se considera un indicador confiable de la activación reciente de la trombina.

Se ha observado que los niveles del F1+2 decrecen en pacientes tratados con anticoagulantes orales. Existen estudios que muestran niveles normales del F1+2 al iniciar el tratamiento, que van decreciendo de manera que el tratamiento se prolonga.

El F1+2 aumenta su concentración plasmática en estados trombofilicos y trombosis establecida. La medición consecutiva de las concentraciones plasmáticas del fragmento protrombínico 1 + 2, es útil para evaluar el efecto de la terapia con anticoagulantes y puede servir como una variable de rutina al realizar el TP.

3.5. RAZÓN INTERNACIONAL NORMALIZADA (RIN) ⁽¹⁹⁾

La prueba conocida como tiempo de protrombina permite examinar la intensidad de la anticoagulación medida en segundos. Aunque ha sido utilizada desde 1935, no fue aceptada sino hasta 1948 cuando la Asociación Americana de Cardiología celebró una de sus primeras reuniones y recomendó que el TP adecuado para mantener una anticoagulación terapéutica debería de ser de 2 a 2.5 veces el valor del testigo registrado en el laboratorio. Actualmente, debido a la gran variabilidad de resultados en el TP, la Organización Mundial de la Salud ha propuesto un sistema de estandarización conocido como la Razón internacional Normalizada (RIN) (International Normalized Ratio o INR. Esta propuesta se estableció con la finalidad de que se utilizará universalmente el mismo parámetro de referencia. El factor de corrección del INR, por las diferentes respuestas de las tromboplastinas empleadas, fue denominado como Índice de Sensibilidad Internacional (ISI). El ISI es obtenido por el valor de la primera tromboplastina de referencia obtenida del cerebro humano (ISI=1.0), así pues, todas las tromboplastinas empleadas para la realización del TP deben de tener el valor de ISI. El INR de un paciente que se encuentra con terapia anticoagulante oral, resulta de la razón del TP elevada a la potencia del ISI.

Ejemplo: ISI: 1.3(tromboplastina de cerebro de conejo)
TP paciente 28 seg
TP testigo 11 seg TP razón = $(28/11)^{1.3}$
TP razón= 2.54
INR= 3.3

El INR recomendado para una terapia anticoagulante segura y efectiva es de 2.0 a 4.0.

Ventajas del índice normalizado Internacional (INR).⁽¹⁰⁾

Hay varias razones por las 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 óptimos al tener la ventaja de la experiencia obtenida en el tratamiento a través de todo el mundo. El reportar los resultados de los pacientes con INR proporciona valores terapéuticos más confiables y significativos y mejora la correlación entre los laboratorios. Los valores INR permiten 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.

4. PRUEBAS DE DETECCION DE LA HEMOSTASIA.^(11,12,20,24,25)

Cuando se sospecha de un problema hemorrágico o trombótico, es necesario realizar pruebas que evalúen la hemostasia, permitiendo así orientar y fundamentar el diagnóstico clínicos.

Para el adecuado diagnóstico de los defectos de la hemostasia, la historia clínica resulta imprescindible, puesto que aportará información para establecer el tipo de alteración que produce las manifestaciones hemorrágicas. Por hallazgo si un paciente presenta petequias, equimosis y epistaxis, probablemente se trate de un defecto que involucra la hemostasia primaria, ya sea una alteración del vaso sanguíneo, el factor de von Willebrand o bien una trombocitopenia o trombocitopatía. Por otra parte un paciente con presencia de hematomas, grandes equimosis y

hemartrosis, probablemente involucre un defecto en la coagulación, como: hemofilia A o B.

Otros aspectos importantes a investigarse, es el antecedente de manifestaciones hemorrágicas secundarias a extracciones dentales o a procesos quirúrgicos, ya que esto permite valorar in vivo como funcionan los mecanismos hemostáticos y determinar la severidad del defecto.

CUADRO 11 . SINTOMATOLOGÍA ASOCIADA A DEFECTOS DE LA HEMOSTASIA(6)

Datos clínicos	Defecto
Telaugmectasia, epistaxis, petequias	Vaso sanguíneo
Petequias, equimosis	Trombocitopenia
Gingivorragias, epistaxis	Trombocitopenia, Fv, W
Hematomas, hemartrosis	Factores de coagulación
Equimosis, hematuria, sangrado	
De órganos	
Hemorragias en sitios de venopunción	Fibrinolisis
Petequias, equimosis, hemorragias	Coagulación intravascular diseminada
En sitios de venopunción y dode	
Orugas múltiples	

De acuerdo al estudio de la hemostasis, las pruebas que la evalúan serán divididas en:

- 1) Pruebas que evalúan el Sistema Vascular o la integridad
- 2) Pruebas que evalúan la agregación vascular plaquetaria.
- 3) Pruebas que evalúan la cascada de coagulación.

4.1. PRUEBAS PARA EVALUAR EL SISTEMA VASCULAR.(6)

• PRUEBA DE RESISTENCIA CAPILAR.

Para evaluar la resistencia del vaso sanguíneo, han surgido dos pruebas: la prueba del torniquete y la prueba de la ventosa; los resultados de estas pruebas deben

interpretarse en el contexto de los datos clínicos, puesto que no es tan estandarizados y en ocasiones pueden ser falsamente negativos.

Prueba del torniquete o de Rumpeel Leede consiste en ejercer presión en el brazo por 5 minutos y posteriormente observar el número de petequias que aparecen a nivel del antebrazo; la prueba es positiva cuando aparecen más de 10 petequias en un círculo de aproximadamente 5cms de diámetro.

Prueba de la ventosa se realiza por medio de un angiósterómetro de Parrot o un capilarodinamómetro-de Lavollay, que permiten ejercer presión a nivel del pliegue del codo durante un minuto. La prueba normalmente es negativa a presiones menores de 30cm de mercurio, la prueba es positiva en los sujetos que presentan petequias a presiones menores de 30cm de mercurio.

4.2. PRUEBAS PARA EVALUAR LA AGREGACION PLAQUETARIA.(4,19)

***CONTEO O RECUENTO DE PLAQUETAS**

Las plaquetas se pueden cuantificar por métodos manuales o bien por métodos automatizados o semiautomatizados:

Cuenta de frotis. Consiste en identificar las plaquetas en un extendido de sangre periférica, en muestras obtenidas en toma directa o bien diluidas con sulfato de magnesio. Estas son técnicas semicuantitativas, poco reproducibles y con un amplio margen de error dependiente del observador.

Cuenta en cámara de Neubauer. Consiste en cuantificar las plaquetas con un diluyente, el oxalato de amonio al 1%, que causa la hemólisis de los eritrocitos. Se llena la cámara de Neubauer con el líquido diluido, se cubre la cámara con una caja

de Petri de 10 a 20 minutos para permitir que las plaquetas se sedimenten y se observa al microscopio.

Contador electrónico. Es la cuantificación de la plaquetas mediante el fundamento de apertura de la impedancia, en que las plaquetas que no son conductoras de la electricidad, pasa por una rejilla en un tubo de apertura entre dos electrodos. La interrupción de la corriente por parte de las plaquetas altera la carga eléctrica y produce una pulsación. La amplitud de cada pulsación es proporcional al volumen de la plaqueta y la cuenta total se determina a partir del número de señales

Este método permite determinar la cuenta y volumen plaquetario medio, proporcionando los histogramas de distribución y con ello poder categorizar los trastornos plaquetarios.

***RETRACCION DEL COAGULO**

Consiste en la observación del coágulo formado en un tubo de ensayo 24 horas después de extraer la sangre, las plaquetas comienzan a liberar suero al contraerse, mediante a la proteína contráctil trombastemina, ATP plaquetario.

***TIEMPO DE SANGRADO**

Esta prueba explora la función hemostática global de las plaquetas. Se mide determinando el tiempo necesario para que dejen de sangrar los pequeños vasos subcutáneos que han sido lesionados por una incisión estandarizada. Uno de los mayores problemas que confronta la medición del tiempo de sangrado es la reproductibilidad. Por esa razón se han desarrollado tres métodos, cada uno con aumento en la estandarización de la herida en profundidad y longitud.

METODO DE DUKE

Este es el mas antiguo y ya no se utiliza. Consiste en hacer una punción del lóbulo de la oreja con una lanceta estéril. La desventaja de este método es que es imposible estandarizar la profundidad de la incisión.

METODO DE IVY

Consiste en utilizar una lanceta o estilete para producir una incisión en la cara anterior del antebrazo. La navaja tiene un tope que limita la profundidad de la incisión. Además la cara anterior del antebrazo es suficientemente larga para permitir varias incisiones y promediar sus resultados. Adicionalmente este método está mejor estandarizada la presión del sistema vascular, ya que un esfingomanómetro que se coloca en el brazo (40mm Hg) mantiene la presión venosa dentro de los límites reducidos.

METODO DE MIELKE

Consiste en hacer una incisión estándar bajo las mismas condiciones que con el método de Ivy. La incisión se realiza con un bisturí colocado en una base o plantilla, de tal manera que sólo pueden tener 1mm de profundidad.

• PRUEBAS DE ADHESIVIDAD PLAQUETARIA.(s)

Consiste en pasar sangre en condiciones estrictamente controladas, a través de un filtro formado por una columna de perlas de vidrio, manteniendo un flujo constante de sangre por medio de una bomba de infusión. Finalmente se hace un conteo de plaquetas antes y después del paso de sangre a través de la columna,

expresándose la adhesividad plaquetaria como el porcentaje de plaquetas que se adhieren a la superficie del vidrio o son detenidas por el paso del filtro.

• PRUEBAS DE AGREGACIÓN PLAQUETARIA. (24,25)

Al ponerse en contacto plaquetas (plasma rico en plaquetas) con sustancias que actúan como activadores de la función plaquetaria, éstas se agregan (adherencia de plaqueta a plaqueta). Al igual que ocurre in vitro el activador se une a un receptor de la membrana plaquetaria; este receptor se comunica por reacciones químicas con las proteínas del citoesqueleto dando como resultado la contracción y liberación del contenido de los gránulos plaquetarios; este evento se le conoce como agregación primaria y corresponde a la primera onda de agregación. Entre las sustancias liberadas se encuentran el ADP, tromboxano A₂, epinefrina, ristocetina, colágena y ácido araquidónico entre otros; que actúan como agregantes plaquetarios; a este evento se le llama agregación secundaria que corresponde con la segunda onda de agregación.

Para medir la agregación plaquetaria se utiliza un espectofotómetro modificado llamado agregómetro. El PRP es agregado al espectofotómetro y varios agentes agregantes son adicionados al PRP. Cuando las plaquetas se agregan. Aumenta la cantidad de luz capaz de pasar a través del cambio espectofotométrico el cambio en la densidad de la luz (porcentaje de transmisión) es entonces registrado sobre una tira de papel milimétrico, dando un patrón de agregación típico.

La prueba valora la función agregante y secretoria de las plaquetas. Normalmente se forman dos ondas de agregación, la primera onda que se relaciona con los receptores plaquetarios y la segunda onda se relaciona con la liberación de las sustancias de los gránulos plaquetarios.

UTILIDAD. Se utiliza en el estudio de la trombopatías, vigilancia del tratamiento con medicamentos antiplaquetarios, en el estudio de estados de hiperagregabilidad plaquetaria (enfermedades trombóticas), así como de defectos congénitos de la función plaquetaria.

4.3. PRUEBAS PARA EVALUAR LA CASCADA DE COAGULACIÓN.(a.19) TIEMPO DE TROMBOPLASTINA PARCIAL ACTIVADA (TTPa).

Esta prueba mide el tiempo en segundo que tarda un plasma citratado en coagular después de agregarle la fracción lipídica de la tromboplastina (fosfolípidos) más calcio (Ca^{++}) mas un activador de contacto (caolín, celita o ácido elálgico), en condiciones óptimas de temperatura ($3.7^{\circ}C$), pH (7.4) y fuerza iónica (0.145u).

UTILIDAD. Esta prueba valora la "vía intrínseca" de la coagulación, que consiste en los factores de contacto: XII, Fletcher, Fitzgerald, XI, los factores del complejo Xasa: IX, VIII; además valora los factores de la "vía común": X, V y II. Además se utiliza como prueba para evaluar y vigilar la acción de los anticoagulantes no orales (heparina). La heparina potencializa el efecto anticoagulante de la antitrombina III. La AT III inhibe a todas las serino proteasas (Kalicreína, XIIa, XIa, IX, Xa y trombina que perteneces a la vía intrínseca.

El alargamiento en el TTPa con TP normal nos indica alguna anomalía en los factores de contacto y los factores del complejo Xasa, o bien la presencia de un inhibidor específico: un inhibidor adquirido "anticoagulante lúpico".

*** TIEMPO DE PROTROMBINA (TP)**

Esta prueba mide el tiempo en segundos que tarda un plasma citratado en coagular después de agregarle tromboplastina tisular y calcio en condiciones óptimas de temperatura ($37^{\circ} C$), pH (7.4), y fuerza iónica (0.145u).

UTILIDAD. esta prueba valora la llamada "vía extrínseca" de la coagulación, es decir, el factor VII; además valora la "vía común", el factor X,V, II y la formación del coágulo.

Es una prueba muy útil para la monitorización de los anticoagulantes orales (tipo cumarínicos), que permite observar los efectos de ellos in Vitro, esto es, la actividad anticoagulante.

El alargamiento del TP en forma significativa en relación al TP del testigo normal con TTPa normal nos indica deficiencia del factor VII o la presencia de un inhibidor.

* TIEMPO DE RUSSELL O TIEMPO DE STYPVEN

Consiste en agregar veneno de serpiente al plasma anticoagulado. Este veneno activa directamente al factor X. Además de ser útil para analizar la deficiencia de los factores X, V, protrombina y fibrinógeno, sirve para investigar la presencia del inhibidor tipo lúpico (ITL), pues este inhibe al veneno. El tiempo de Russell es normal en pacientes deficientes del factor VII.

* TIEMPO DE TROMBINA (TT)

Esta prueba mide el tiempo en segundos que tarda un plasma citratado en coagular después de agregarle trombina en condiciones óptimas de temperatura (3.7°C), pH (7.4) y fuerza iónica (0.145u).

UTILIDAD. Explora la conversión del fibrinógeno a fibrina, además valora al fibrinógeno en cantidad y calidad, por lo tanto las hipofibrinogemias, o fibrinogemias y disfibrinogemias cursan con tiempo de trombina prolongado, así como el empleo terapéutico de la heparina y la presencia de productos de

5. VALORES DE REFERENCIA.(1,2)

Los componentes del organismo humano están sometidos a variación causada por procesos fisiológicos, diferencias genéticas, enfermedades y factores ambientales. Una interpretación racional de los resultados de laboratorio demanda el conocimiento de la variación de estos componentes en el individuo en estudio o en uno o más conjuntos adecuadamente definidos de individuos de referencia. Un objetivo importante para los químicos, clínicos es, por lo tanto, proveer conjuntos relevantes de valores de referencia confiables.

La interpretación de los resultados de laboratorio debe ser guiada por los principios de un razonamiento lógico y el conocimiento de las cualidades y limitaciones de los estudios. Los valores de referencia-antes llamados cifras normales se establecen de un grupo de individuos aparentemente sanos, donde la mínima información comprende: método de selección, individuos de referencia, preparación de individuos, procedimiento para la recolección de las muestras, método analítico y número de individuos de referencia.

Debe comprenderse que en la selección de los individuos de referencia el criterio de salud aplicado, esta dictado por el objetivo de la investigación del laboratorio. De este modo, los individuos de referencia no siempre serán individuos sanos.

En clínica se requiere de límites adecuados que ayuden en la discriminación de lo normal y lo patológico, el establecimiento del diagnóstico, la toma de decisiones médicas y quirúrgicas, además del establecimiento del pronóstico, mismos que no pueden ser rígidos ni establecidos sin un fundamento científico sólido. Es importante reconocer que todo valor de referencia tiene limitaciones, ya que son la resultante de una serie de eventos interactuantes dentro de los que destacan edad, sexo, raza,

estado nutricional, ritmos circadianos, postura corporal, ritmos mensuales, época del año, ejercicio, etc., por lo que es necesario aplicar criterios de inclusión y de exclusión bien definidos evitando las generalizaciones. Dado que científicamente no es válido establecer lo normal con base en un ideal, debe determinarse con elementos estadísticos, dentro del intervalo central de los resultados de un población aparentemente sana.

El intervalo más frecuentemente usado para establecer los valores de referencia, es el intervalo en el cuál, cae el 95% de las personas aparentemente sanas. Es importante recordar que el 5% de estos individuos aparentemente sanos tienen valores fuera del rango de referencia.

El procedimiento para analizar los datos, es seleccionado dependiendo del número de datos obtenidos y de como están distribuidos. En el análisis de los valores de referencia se debe recordar que los métodos estadísticos son tan sólo herramientas y no deben ser utilizados inapropiadamente o ignorando sus suposiciones básicas. Por ejemplo, la opinión ampliamente sostenida de que los datos biológicos tienen, por lo general, una distribución Gaussiana es inadecuada. La mayoría de los datos biológicos, no están distribuidos simétricamente y requieren herramientas estadísticas que suponen otras clases de distribución o son independientes de la forma de la distribución.

5.1. DEFICIONES(1,2,3)

Los siguientes términos permiten una descripción y discusión inequívoca del tema valores de referencia.

- 1. INDIVIDUO DE REFERENCIA.** Es un individuo seleccionado para comparación utilizando criterios definidos.
 - 1.1.** Por lo general es importante definir el estado de salud del individuo.
- 2. POBLACION DE REFERENCIA.** Consiste en todos los individuos de referencia posibles.
 - 2.1** Una definición alternativa utilizando termino de la teoría de conjuntos: una población de referencia es el conjunto de todos los individuos de referencia posibles.
 - 2.2** La población de referencia generalmente tiene un número desconocido de miembros y, por lo tanto, es una entidad hipotética.
 - 2.3** La "población" de referencia puede consistir de un solo miembro, por ejemplo un individuo puede servir de referencia para si mismo o para otro individuo.
- 3. MUESTRA GRUPAL DE REFERENCIA.** Es un número adecuado de individuos de referencia tomados para representar la población de referencia.
 - 3.1.** Alternativamente: una muestra grupal de referencia es un subconjunto de la población de referencia.
 - 3.2.** Los individuos de referencia de la muestra grupal deben ser tomados al azar de la población de referencia.
- 4. UN VALOR DE REFERENCIA.** Es el valor obtenido por medio de la observación o medida de un tipo particular de cantidad en un individuo perteneciente a una muestra grupal de referencia.
 - 4.1** El término valor de referencia no debe ser confundido con el término limite de referencia.
- 5. UNA DISTRIBUCION DE REFERENCIA** es la distribución estadística de valores de referencia.

- 6. UN LIMITE DE REFERENCIA** es derivado de la distribución de referencia y se utiliza con propósitos descriptivos.
- 6.1** Es común definir el límite de referencia de modo que una fracción establecida de los valores de referencia sea menor que, o igual al límite con una probabilidad establecida.
- 6.2** El límite de referencia se refiere a valores de referencia y debe ser distinguido de diferentes tipos de límites de decisión (valores de discriminación) usados con propósitos interpretativos.
- 7. UN INTERVALO DE REFERENCIA** es el intervalo entre dos límites de referencia contenidos en él.

6. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Obtener los valores de Referencia del Tiempo de Tromboplastina parcial activado (TTPa) y del Tiempo de Protrombina (TP) en personas sanas tomadas al azar, que habitan la zona Noreste de la Ciudad de México, utilizando un Método automatizado, para establecer el diagnóstico e identificar el tratamiento adecuado.

OBJETIVO PARTICULAR

Realizar un análisis estadístico en la determinación de las pruebas de TTPa, TP e INR, de donadores clínicamente sanos escogidos al azar del Banco de Sangre del Hospital Centro Médico la Raza , para establecer los valores de referencia en base a métodos estadísticos adecuados, optimizando el diagnóstico clínico.

7. MATERIAL Y METODOS

MATERIAL BIOLÓGICO

El Tiempo de Protrombina (TP) Y el Tiempo de Tromboplastina Parcial Activado (TTPa) fueron determinados en el plasma de 475 donadores clínicamente sanos, según los criterios establecidos en el capítulo 5 (Manejo y selección de donantes alogénicos) de la Norma Oficial Mexicana (NOM)-003-SSA2-1993, "Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos". (ver Anexo 1), en el Banco Central de Sangre Centro Médico la Raza. 200 muestras fueron de mujeres y 275 de hombres.

Para este estudio los parámetros de exclusión, que pudieron influir en la determinación de los Valores de Referencia en el TP y TTPa, fueron los siguientes:

- a) Hepatitis
- b) Hemofílicos
- c) Equimosis múltiples no asociados a traumatismo
- d) Neoplasias Hemorrágicas
- e) Diátesis Hemorrágica (hemorragias en mucosas, hematomas, hemorragia gastrointestinal, entre otros...)

TOMA DE MUESTRAS

Se recolectaron las muestras sanguíneas por medio de una punción venosa, empleando trombotubos, (tubos de vidrio siliconizado o de Plástico), ya que el vidrio activa los factores de contacto. El anticoagulante de elección fue el citrato trisódico en una concentración de 3.8%, conservando la relación sangre/ anticoagulante en 9:1. Este anticoagulante preserva la integridad de los factores de

coagulación. No se debe colocar más sangre en el tubo que la calculada, pues puede coagularse la muestra resultando en tiempos falsamente alargados.

La agitación del tubo para la mezcla de la sangre y anticoagulante debe ser gentil. Se debe evitar la hemólisis, pues al lisar los eritrocitos éstos liberan factores tromboplásticos al medio que acortan los tiempos de coagulación.

MANEJO DE LA MUESTRA

Después que se tomaron las muestras, éstas pueden permanecer a temperatura ambiente hasta una hora después de haberse recolectado, pero no más de cuatro horas y separado el plasma conservándose entre 4-6 grados centígrados. Por lo que se mantuvieron en una charola con hielo, durante la toma y el transporte de estas al laboratorio de urgencias del Hospital de Especialidades Centro Médico la Raza. Se centrifugaron las muestras de 10-15 minutos a 3500 r.p.m. para obtener un plasma pobre en plaquetas. Se retiro el plasma del paquete globular con pipetas de material de plástico o pipetas automáticas con puntas plásticas, depositándolas en y se analizaron en el coagulometro ACL 200.

MATERIAL QUÍMICO

Los reactivos a emplear para procesar las muestras en el ACL 200 fueron:

- Reactivo de TP-Fibrinógeno HS.
- Reactivo de TTPa.
- Plasma de calibración.
- Control Normal.
- Control anormal bajo.

- Control anormal alto.
- Emulsión de Referencia.
- Agua destilada.

Para la prueba de TP, se empleo el reactivo de TP-Fibrinógeno H.S. El cuál es un extracto liofilizado de cerebro de conejo con una concentración óptima de iones de calcio. Un especial y meticoloso procedimiento de fabricación han conseguido una alta sensibilidad para los factores II, V, VII y X, dando resultados comparables con el Estándar de Referencia Internacional.

El Kit constituye de una tromboplastina cálcica de alta sensibilidad para la determinación simultánea del Tiempo de Protrombina y del Fibrinógeno, para la evaluación de la vía extrínseca de la coagulación y el control de la Terapia Anticoagulante Oral.

En la prueba de TTPa, se empleo el reactivo de Sílica Micronizada más cefalina de cerebro de bovino, (sustituto del factor 3) para activar el mecanismo de la coagulación, utilizando así, un activador en forma de partículas, fosfolípidos y la adición de cloruro de calcio.

El ensayo del TTPa es sensible a las deficiencias en las actividades de los factores II, V, VIII, IX, I, XI y XII debidas a los trastornos hereditarios de la coagulación, enfermedad hepática, deficiencia de vitamina K o diversos medicamentos, también es sensible a la presencia de heparina.

El Plasma de Calibración, consiste de un pool de plasma normal humano liofilizado, se empleo con el propósito de calibrar y checar constantemente la precisión y exactitud (reactivos + instrumento).

METODO UTILIZADO

El TTPa y el TP fueron determinados por el ACL 200, un analizador totalmente automatizado, controlado por microcomputadora, de alta productividad para sus uso clínico en pruebas de coagulación y/o fibrinólisis. El instrumento es un analizador centrífugo cuyo elemento de medida es un nefelómetro, el cual mide la intensidad de la luz dispersa de la muestra antes, durante y después de la formación del coágulo. La velocidad del incremento de la intensidad óptica al principio del coágulo esta relacionado con el valor del TTPa y el TP.

El ACL cuenta con un monitor que muestra continuamente el estado del equipo y da instrucciones de procedimiento. Las instrucciones se realizan por medio de un teclado de membrana. Es capaz de realizar una calibración automática, y de ofrecerle al operador una serie de programas auxiliares y puede llevar a cabo un sistema de precisión dentro de un programa de aseguramiento de la calidad.

8. ANALISIS ESTADISTICO

El análisis estadístico se realizó con el software de Análisis Estadísticos SAS (Statistical Analysis System) versión 6.11 para Windows. Por lo que el uso de una computadora fue necesario debido al número de datos utilizados, con la finalidad de facilitar la obtención de los valores de referencia, de los cuales fueron 200 para mujeres y 275 para hombres.

Al aplicar el procedimiento UNIVARIATE, el sistema SAS obtiene la media, la moda, desviación estándar, como medidas de tendencia central; también calcula medidas de dispersión de los datos, tales como porcentiles (fractiles) y Rango Intercuantilico. Este sistema al ordenar los valores de menor a mayor permite obtener tablas de frecuencias, histogramas, gráficas de caja y líneas, gráficas de tronco y hoja y graficas de probabilidad normal, mostrando el modo de distribución de los datos.

También presenta los valores extremos, es decir, el valor mayor y menor de los datos a estudiar.

Para el cálculo de los valores de referencia fue conveniente emplear un intervalo de referencia, establecido por el límite inferior y superior.

Los intervalos de referencia definidos por porcentiles son medidas de localización o dispersión que dividen a una serie de datos ordenados en 100 partes iguales. Son estimados tanto por métodos paramétricos como no Paramétricos. Por lo que el intervalo más frecuentemente usado es el intervalo en el cual contenga la fracción central 0.95 (95%) de la distribución de referencia.

El estimar porcentiles ayuda a establecer el margen de normalidad, donde los límites normales para numerosos análisis clínicos del laboratorio se establecen en los

porcentiles 0.25 (2.5%) y 0.975 (97.5%), de modo que estos límites normales contengan el 95% central de la distribución y eliminen el 2.5% de las observaciones más baja y más altas respectivamente.

De modo que al tener ordenados los valores de menor a mayor, se localiza el valor que ocupa el lugar 2.5% y el que ocupa el 97.5%. El valor de estos datos corresponderá al margen inferior y margen superior de normalidad.

El cálculo de los percentiles 0.025 y 0.975 es confiable, ya que para obtener estimaciones confiables, el número de valores u observaciones deberá ser por lo menos de 120.

Anteriormente se mencionaba que los fractiles pueden ser estimados por métodos paramétricos y métodos No Paramétricos. Si bien, las estimaciones paramétricas requieren que los datos se ajusten a una distribución gaussiana (distribución simétrica en forma de campana), o que tal distribución sea aproximada por la aplicación a los datos de funciones de transformación (p. ej., usando los logaritmos o raíz cuadrada de los valores medidos).

Las estimaciones No paramétricas, son distribuciones "libres" o distribuciones que a un empleando funciones matemáticas, no pueden distribuirse simétricamente.

Para asegurar y corroborar que tipo de distribución siguen los datos, además de emplear histogramas, gráficas de tronco y hoja y gráficas de probabilidad normal, es conveniente realizar pruebas de bondad de ajuste. En este trabajo se aplicará la prueba de Shapiro y Wilk, que sirve para verificar la Normalidad de los datos obtenidos, ya que el poder de esta prueba es más alto que el método de la ji cuadrada. Para ello es necesario seleccionar el nivel de significación de la prueba, que es el valor p . De manera que si p es igual o menor a 0.05 ó 0.01 los datos no se distribuyen normalmente, pero si estos son mayores la distribución que siguen es

normal. Por lo tanto el método estadístico a emplear en una distribución normal será el Método Paramétrico y en una distribución no normal o "libre" se empleará el Método No Paramétrico.

Por consiguiente con el empleo del Software SAS, se pueden realizar transformaciones logarítmicas o de Raíz cuadrada para normalizar los valores, pero al proporcionar el valor de p se puede elegir el método adecuado para el cálculo de los valores de referencia.

9. PROCEDIMIENTO PARA LA ESTIMACION DE LIMITES DE REFERENCIA

I) ESTABLECER PARAMETROS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

A) Edad, sexo, localidad, etc. (Ver anexo 1)

II) RECOLECTAR LOS VALORES OBTENIDOS

III) INSPECCION DE LA DISTRIBUCION

- A) Histogramas
- B) Gráficas de Tronco y Hoja
- C) Gráficas de Probabilidad Normal
- D) Estadísticas Descriptivas
 - Sesgo
 - Curtosis

IV) IDENTIFICAR LOS POSIBLES ERRORES DE DATOS. CORREGIR O ELIMINAR VALORES ABERRANTES:

A) Gráficas de caja y línea

V) SELECCIONAR UN MÉTODO. EVALUACION INTUITIVA:

A) Si la distribución observada no se ajusta a una distribución de gauss, normalizar los datos:

- NORMALIZACIÓN.

- Transformar la distribución observada, en una distribución de Gauss, probando diferentes funciones matemáticas (Logaritmos o raíz cuadrada).
- Probar si la distribución de los valores transformados se ajusta a una distribución de Gauss. Esto es, si p se ajusta a un nivel de significación mayor a 0.05 o 0.01, el método a emplearse será el Paramétrico.
- Aplicar la fórmula $\bar{X} \pm 2S$ a los datos transformados.
- Obtener los límites de referencia en la escala original a partir de $\bar{X} \pm 2S$, aplicando a estos valores la función inversa a la utilización en la transformación
- Si p no se ajusta a un nivel de significación siendo menor o igual a 0.05 o 0.01, el método a emplear será el No Paramétrico.
- Computar los números de rango del fractil 0.025 como $0.025 \cdot (N+1)$ y el fractil 0.975 como $0.975 \cdot (N+1)$.
 - Obtener los límites de referencia, considerando el Límite inferior igual al valor correspondiente del número de rango del percentil 0.025 o (25%). En otro caso los límites de referencia deben ser determinados por interpolación entre dos valores de referencia. Límite de referencia superior es determinado similarmente por el número de rango del fractil 0.975 o (97.5%).

B) Si la distribución observa a se ajusta a la distribución de Gauss:

- Obtener el intervalo de referencia aplicando la fórmula $\bar{X} \pm 2S$ a los valores observados.

10. RESULTADOS

Se trabajo en una población de 200 muestras de mujeres donde, la prueba de TP tuvo una media de 11.0 seg, una moda de 10.9 seg, una mediana de 11.1 seg y una desviación estándar de 0.84, así como, un valor de $p > a$ 0.5754. Como ya se había mencionado anteriormente para tener una distribución gaussiana, la media, la mediana y la moda deben de coincidir además, de que el valor de p (prueba estadística de bondad de ajuste), debe tener un nivel de significación mayor a 0.01 y 0.05, si no, se rechaza, por lo tanto, nuestros valores tienen una distribución normal.

En la tabla 1, 2 y 3 se muestra la distribución de frecuencias, los porcentiles, y valores extremos del TP para mujeres; en la figura 1 y 2 se observan sus correspondientes gráficas de tronco y hojas, caja y línea, la gráfica de probabilidad normal, por lo que se observa que siguen una distribución normal

TABLA DE FRECUENCIAS PARA LA VARIABLE TP

Valor	Cantidad	Porcentaje	Porcentaje Acumulable	Valor	Cantidad	Porcentaje	Porcentaje Acumulable
8.9	1	0.5	0.5	11.1	15	7.5	56.0
9.1	1	0.5	1.0	11.2	9	4.5	60.5
9.3	1	0.5	1.5	11.3	4	2.0	62.5
9.4	1	0.5	2.0	11.4	9	4.5	67.0
9.5	3	1.5	3.5	11.5	5	2.5	69.5
9.6	3	1.5	5.0	11.6	7	3.5	73.0
9.7	3	1.5	6.5	11.7	8	4.0	77.0
9.8	3	1.5	8.0	11.8	5	2.5	79.5
9.9	2	1.0	9.0	11.9	11	5.5	85.0
10.0	3	1.5	10.5	12.0	4	2.0	87.0
10.1	4	2.0	12.5	12.1	7	3.5	90.5
10.2	6	3.0	15.5	12.2	7	3.5	94.0
10.3	3	1.5	17.0	12.3	2	1.0	95.0
10.4	7	3.5	20.5	12.5	1	0.5	95.0
10.5	5	2.5	23.0	12.06	1	0.5	96.0
10.6	9	4.5	27.5	12.7	2	1.0	97.0
10.7	10	5.0	32.5	12.9	2	1.0	98.0
10.8	10	5.0	37.5	13.0	2	1.0	99.0
10.9	16	8.0	45.5	13.5	1	0.5	99.5
11.0	6	3.0	48.5	13.6	1	0.5	100.0

Tabla No. 1 .- Tabla de frecuencias de valores de TP en segundos para mujeres y su Correspondiente distribución de frecuencia acumuladas en por ciento.

FORCENTILES DE LA VARIABLE DE TP

100%	Max	13.6000	99.0%	13.2500
75%	Q3	11.7000	97.5%	12.9000
50%	Med	11.1000	95.0%	12.4000
25%	Q1	10.6000	90.0%	12.1000
0%	Min	8.9000	10.0%	10.0000
	Rango	4.7000	5.0%	9.6500
	Q3-Q1	1.1000	2.5%	9.5000
	Moda	10.9000	1.0%	9.2000

Tabla No 2. Porcentiles de los valores de TP en mujeres que indican los porcentajes de la distribución de los valores de la prueba de TP.

En esta tabla se observa el valor máximo que es de 13.6 seg, el medio de 11.1 seg el mínimo de 8.9 seg, la moda de 10,9 seg que corresponde al valor que se presenta con mayor frecuencia en la distribución; y el rango intercuantílico (Q3- Q1), el cual define la diferencia entre los porcentiles 25% y 75% correspondientes al primer percentil Q1 con un valor de 10.6 seg y el tercer percentil Q3 con un valor de 11.7 seg, de manera que se incluye el 50% central de los valores de la prueba de TP.

Bajos (seg)	Altos(seg)
8.9	12.9
9.1	13.0
9.3	13.2
9.4	13.5
9.5	13.6

Tabla No 3. Valores extremos de la variable TP en mujeres.

GRAFICAS DE TRONCO Y HOJA, DE CAJA Y LINEA DE LA VARIABLE TP

Gráfica de Tronco y Hoja

```

136 0
134 0
132'
130 00
128 00.
126 000
124 0
122 0000000000
120 000000000000
118' 0000000000000000
116 0000000000000000
114 0000000000000000
112 0000000000000000
110 000000000000000000000000
108 000000000000000000000000
106 0000000000000000000000
104 0000000000000000
102 0000000000
100 0000000
98 00000
96 000000
94 00000
92 0
90 0
88 0
    
```

Gráfica de caja y línea

```

#
1
1
0
2
2
3
1
9
11
16
15
14
13
21
26
19
12
9
7
5
6
4
1
1
1
    
```

MULTIPLICAR TRONCO.HOJA POR 101**

Fig 1 Gráfica de tronco y hoja, de caja y línea que genera el programa SAS para el TTPa en mujeres.

El primer gráfico se observa el orden de los primeros dígitos de los valores de TP de mayor a menor en el lado izquierdo, que representa "el tronco". Los ceros muestran el número de observaciones de cada valor, que representan "hojas". Por ejemplo existen 4 valores de 9.4 seg, 26 valores de 10.8seg; que se indican con el símbolo de número (#) en el lado derecho.

La gráfica de distribución y hoja, indica una posición y un modo de distribución aproximada a la normal.

La gráfica de caja y línea ilustra ciertas ubicaciones en la distribución, utilizando la primera gráfica. El signo de intercalación (\wedge) denota el punto medio de la distribución, que es el número que divide en dos mitades, esto es, 11.0 seg. Los signos de más (+) subdividen cada una de las mitades, superior e inferior en dos partes. Por lo que 10.6 seg. es el valor aproximado que divide 25% de las observaciones inferiores de 75% de valores superiores y 11.6seg divide 25% superior de 75% inferior de los valores. De manera que el 50% de los valores de TP, se encontró entre 10.6 y 11.6 seg. y la mitad de este 50% fue de 11.0 y 11.2 seg.

GRAFICA DE PROBABILIDAD NORMAL DE LA VARIABLE TP

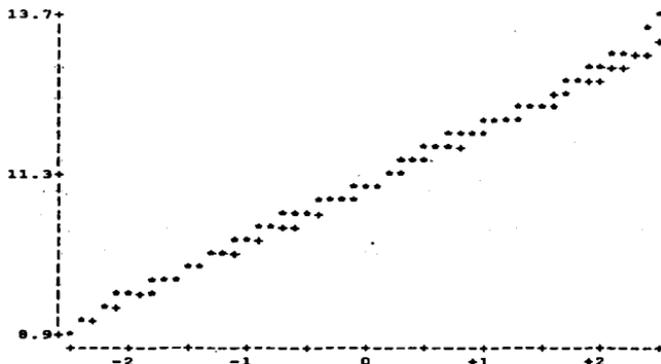


Fig. 2 Representación gráfica de los valores de TP en segundos para mujeres, que proporciona SAS, donde se observa que los datos siguen una distribución de Gauss.

Para la prueba de TTPs se tuvo una media de 28.17 seg, una mediana de 27.6 seg, una moda de 27.3 seg, una desviación estándar de 3.66 y un valor de p de 0.0123; por lo que no sigue una distribución normal, aunque no hay gran diferencia en estos.

En la tabla 4, 5 y 6 se muestra la distribución de frecuencia, los porcentajes y los valores extremos del TTPs para las mujeres

En la figura 4 y 5 se observa su correspondiente gráfica de tronco y hoja, de caja y línea, así como la gráfica de probabilidad normal, con lo cual se corrobora que no tienden a seguir una distribución normal.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

TABLA DE FRECUENCIAS PARA LA VARIABLE TTP:

Valor	Cantidad	Porcentaje	Porcentaje acumulado	Valor	cantidad	Porcentaje	Porcentaje acumulado
20.8	1	0.5	0.5	27.2	1	0.5	43.5
21.4	1	0.5	1.0	27.3	6	3.0	46.5
21.6	1	0.5	1.5	27.4	1	0.5	47.0
21.7	1	0.5	2.0	27.5	2	1.0	48.0
21.8	1	0.5	2.5	27.6	5	2.5	50.5
21.9	2	1.0	3.5	27.7	3	1.5	52.0
22.0	2	1.0	4.5	27.8	2	1.0	53.0
22.4	1	0.5	5.0	28.0	2	1.0	54.0
22.7	2	1.0	6.0	28.1	2	1.0	55.0
22.8	1	0.5	6.5	28.2	3	1.5	56.5
23.2	1	0.5	7.0	28.3	1	0.5	57.0
23.3	2	1.0	8.0	28.5	3	1.5	58.5
23.6	2	1.0	9.0	28.6	2	1.0	59.5
23.7	1	0.5	9.5	28.8	3	1.5	61.0
23.8	1	0.5	10.0	28.9	3	1.5	62.5
23.9	1	0.5	10.5	29.0	1	0.5	63.0
24.0	2	1.0	11.5	29.1	3	1.5	64.5
24.1	2	1.0	12.5	29.2	1	0.5	65.0
24.2	3	1.5	14.0	29.3	3	1.5	66.5
24.3	1	0.5	14.5	29.4	1	0.5	67.0
24.4	3	1.5	16.0	29.5	2	1.0	68.0
24.5	1	0.5	16.5	29.6	2	1.0	69.0
24.6	1	0.5	17.0	29.7	4	2.0	71.0
24.7	1	0.5	17.5	29.9	1	0.5	71.5
24.8	1	0.5	18.0	30.2	1	0.5	72.0
25.0	4	2.0	20.0	30.3	2	1.0	73.0
25.1	2	1.0	21.0	30.4	1	0.5	73.5
25.2	2	1.0	22.0	30.5	2	1.0	74.5
25.4	1	0.5	22.5	30.7	1	0.5	75.0
25.5	1	0.5	23.0	30.8	2	1.0	76.0
25.6	4	2.0	25.0	30.9	2	1.0	77.0
25.7	2	1.0	26.0	31.1	3	1.5	78.5
25.9	3	1.5	27.5	31.2	1	0.5	79.0
26.0	1	0.5	28.0	31.3	3	1.5	80.5
26.1	3	1.5	29.5	31.4	3	1.5	82.0
26.2	2	1.0	30.5	31.5	1	0.5	82.5
26.3	2	1.0	31.5	31.7	2	1.0	83.5
26.4	2	1.0	32.5	31.8	1	0.5	84.0
26.5	1	0.5	33.0	32.1	1	0.5	84.5
26.6	2	1.0	34.0	32.2	1	0.5	85.0
26.7	5	2.5	36.5	32.3	2	1.0	86.0
26.8	3	1.5	38.0	32.5	3	1.5	87.5
26.9	5	2.5	40.5	32.7	1	0.5	88.0
27.0	4	2.0	42.5	32.8	2	1.0	89.0
27.1	1	0.5	43.0	32.9	3	1.5	90.5

TABLA DE FRECUENCIA PARA LA VARIABLE TTPa

Valor	Cantidad	Porcentaje	Porcentaje Acumulable	Valor	Cantidad	Porcentaje	Porcentaje Acumulable
33.1	2	1.0	91.5	35.3	1	0.5	97.0
33.2	3	1.5	93.0	35.8	1	0.5	97.5
33.6	1	0.5	93.5	36.8	1	0.5	98.0
33.7	1	0.5	94.0	37.4	1	0.5	98.5
33.8	1	0.5	94.5	37.5	1	0.5	99.0
33.9	2	1.0	95.5	40.3	1	0.5	99.5
34.5	1	0.5	96.0	41.5	1	0.5	100.0
34.7	1	0.5	96.5				

Tabla No. 4. Tabla de frecuencia de valores de TTPa en segundos para mujeres y su correspondiente distribución de frecuencia acumuladas en porcentos.

PORCENTILES DE LA VARIABLE TTPa MUJERES

100%	Max	41.5000	99.0%	38.9000
75%	Q3	11.7000	97.5%	36.3000
50%	Med	27.6000	95.0%	33.9000
25%	Q1	25.6500	90.0%	32.9000
0%	Min	20.8000	10.0%	23.8500
	Rango	20.7000	5.0%	22.5500
	Q3-Q1	5.1000	2.5%	22.5500
	Moda	27.3000	1.0%	21.8500

Tabla No. 5. Porcentiles de los valores de TTPa en mujeres, que indican los porcentajes de la distribución de los valores de la prueba de TTPa.

Se observa el valor máximo de 41.5 seg, el medio de 27.6 seg, el mínimo de 20.8 seg; la moda de 27.3 seg que corresponde al valor que se presenta con mayor frecuencia en la distribución y el rango intercuantílico ($Q_3 - Q_1$), el cual define la diferencia entre los porcentiles 25% y 75% que corresponden al primer percentil Q_1 con un valor de 25.65seg y el tercer percentil Q_3 con un valor de 30.75seg, de manera que incluye el 50% central de los valores de la prueba de TTPa.

Bajas (seg)	Altos(seg)
20.8	36.8
21.4	37.4
21.6	37.5
21.7	40.3
21.8	41.5

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

Tabla No 6. Valores extremos de la variable TTPa en mujeres.

GRAFICA DE TRONCO Y HOJA , CAJA Y LINEA DE LOS VALORES DE TTPa EN SEGUNDOS PARA MUJERES

grafica de tronco y hoja

	#
41 5	1
40 3	1
39	
38	
37 45	2
36 8	1
35 30	2
34 57	2
33 1122267899	10
32 123355788999	13
31 11123334445778	14
30 23345578899	11
29 011123334556677779	18
28 0011222355566888999	19
27 000012333333455666677788	25
26 01112233445566777788899999	26
25 0000112244566677999	19
24 001122234445678	15
23 23366789	8
22 004778	6
21 467899	6
20 8	1

grafica de caja y línea

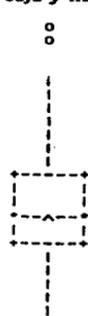


Figura 4. Gráfica de tronco y hoja de caja y línea, que genera el programa SAS.

En el primer gráfico se observa el reorden de los primeros dígitos de los valores de TTPa de menor a mayor en el lado izquierdo, que representa "el tronco"; los números de lado derecho representan los segundos dígitos de cada valor, que constituyen "las hojas". Por ejemplo, el valor más bajo para la prueba de TTPa fue de

20 seg; el anterior a él le correspondieron 6 observaciones de ese valor, que fueron, 21.4, 21.6, 21.7, 21.8, 21.9, 21.9 segundos. El símbolo de número (#) indica el número de observaciones correspondientes a cada valor.

En la gráfica de tronco y hoja, se observó que no presenta una posición y un modo de distribución normal o simétrica.

En la gráfica de caja y línea se ilustran ciertas ubicaciones en la distribución. Utilizando la primera gráfica. El signo de intercalación (^) denota el punto medio de la distribución, que es el número que la divide en dos mitades, esto es 27 seg, los signos de más(+), subdividen cada una de las mitades superiores e inferiores en dos partes. Por lo que 25 seg es el valor aproximado que divide 25% de las observaciones inferiores de 75% de valores superiores y 30 seg divide 25% superior de 75% inferior de los valores.

Estas cifras se designan además respectivamente primero (Q1) y tercero (Q3) percentiles y el valor medio de la distribución que se observan en la tabla No 5, que se usan en la construcción de gráficas de caja y línea.

GRAFICA DE PROBABILIDAD NORMAL DE LA VARIABLE TTPa
EN MUJERES.

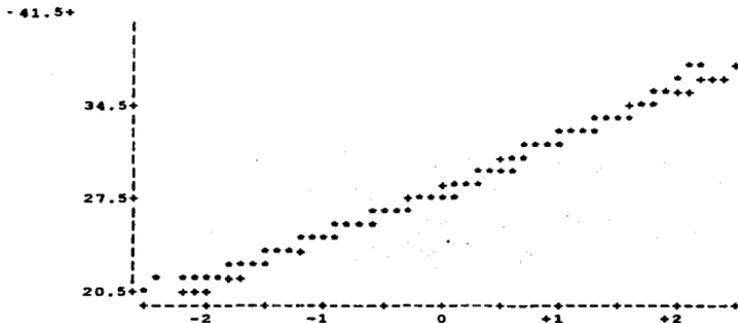


Fig 5. Representación gráfica de los valores de TTPa en segundos, para las mujeres, que proporciona SAS. Donde, se observa que los datos no presentan una distribución simétrica.

De manera que se transforman los datos mediante la función $\text{Ln } X$ que proporciona SAS, que al aplicar la inversa de la función da una media de 27.9 seg, una mediana de 27.6 seg, una moda de 27.3 seg y un valor de p de 0.4303, por lo que nuestros valores tienen a ajustarse a una distribución de gauss.

En la tabla 7, 8 y 9 se muestra la distribución de frecuencias, los percentiles y valores extremos del lnTTPa , en la figura 6 y 7 se observan sus correspondientes gráficas, con lo cual se corrobora que la población tiende a ser una distribución normal.

TABLA DE FRECUENCIAS PARA LA VARIABLE L₀ TTP₀ EN MUJERES

Valor	Cantidad	Porcentaje	Porcentaje Acumulable	Valor	Cantidad	Porcentaje	Porcentaje Acumulable
3.034953	1	0.5	0.5	3.303217	1	0.5	43.5
3.063391	1	0.5	1.0	3.306667	6	3.0	46.5
3.072693	1	0.5	1.5	3.310543	1	0.5	47.0
3.077312	1	0.5	2.0	3.314186	2	1.0	48.0
3.081810	1	0.5	2.5	3.317816	5	2.5	50.5
3.086487	2	1.0	3.5	3.321432	3	1.5	52.0
3.091042	2	1.0	4.5	3.325036	2	1.0	53.0
3.109061	1	0.5	5.0	3.332205	2	1.0	54.0
3.122366	2	1.0	6.0	3.335770	2	1.0	55.0
3.126761	1	0.5	6.5	3.339322	3	1.5	56.5
3.144152	1	0.5	7.0	3.342862	1	0.5	57.0
3.148453	2	1.0	8.0	3.346904	3	1.5	58.5
3.161247	2	1.0	9.0	3.353407	2	1.0	59.5
3.165475	1	0.5	9.5	3.360375	3	1.5	61.0
3.169680	1	0.5	10.0	3.363842	3	1.5	62.5
3.173878	1	0.5	10.5	3.367296	1	0.5	63.0
3.178054	2	1.0	11.5	3.370738	3	1.5	64.5
3.182212	2	1.0	12.5	3.374169	1	0.5	65.0
3.186353	3	1.5	14.0	3.377588	3	1.5	66.5
3.190476	1	0.5	14.5	3.380995	1	0.5	67.0
3.194583	3	1.5	16.0	3.384390	2	1.0	68.0
3.198673	1	0.5	16.5	3.387774	2	1.0	69.0
3.202748	1	0.5	17.0	3.391147	4	2.0	71.0
3.206803	1	0.5	17.5	3.394558	1	0.5	71.5
3.210844	1	0.5	18.0	3.407842	1	0.5	72.0
3.218878	4	2.0	20.0	3.411148	2	1.0	73.0
3.222868	2	1.0	21.0	3.414443	1	0.5	73.5
3.226844	2	1.0	22.0	3.417727	2	1.0	74.5
3.234749	1	0.5	22.5	3.424263	1	0.5	75.0
3.238678	1	0.5	23.0	3.427516	2	1.0	76.0
3.242592	4	2.0	25.0	3.430766	2	1.0	77.0
3.246491	2	1.0	26.0	3.437208	3	1.5	78.5
3.254243	3	1.5	27.5	3.440418	1	0.5	79.0
3.258097	1	0.5	28.0	3.443618	3	1.5	80.5
3.261635	3	1.5	29.5	3.446808	3	1.5	82.0
3.265759	2	1.0	30.5	3.449988	1	0.5	82.5
3.269560	2	1.0	31.5	3.456317	2	1.0	83.5
3.273364	2	1.0	32.5	3.459498	1	0.5	84.0
3.277145	1	0.5	33.0	3.466856	1	0.5	84.5
3.280911	2	1.0	34.0	3.471968	1	0.5	85.0
3.284664	5	2.5	36.5	3.475097	2	1.0	86.0
3.288402	3	1.5	38.0	3.481240	3	1.5	87.5
3.292126	5	2.5	40.5	3.487375	1	0.5	88.0
3.295837	4	2.0	42.5	3.493429	2	1.0	89.0
3.299534	1	0.5	43.0	3.493473	3	1.5	90.5

TABLA DE FRECUENCIAS PARA LA VARIABLE L_n TTP₂ EN MUJERES

Valor	Cantidad	Porcentaje Acumulable	Valor	Valor	Cantidad	Porcentaje	Porcentaje Acumulable
3.499533	2	1.0	91.5	3.563883	1	0.5	97.0
3.502550	3	1.5	93.0	3.577948	1	0.5	97.5
3.514526	1	0.5	93.5	3.605498	1	0.5	98.0
3.517498	1	0.5	94.0	3.621671	1	0.5	98.5
3.520461	1	0.5	94.5	3.624341	1	0.5	99.0
3.523415	2	1.0	95.5	3.696351	1	0.5	99.5
3.540959	1	0.5	96.0	3.725693	1	0.5	100.0
3.546740	1	0.5	96.5				

Tabla No. 7. Tabla de frecuencia de valores modificados del TTP₂ en segundos y su correspondiente distribución de frecuencia acumulada en porcentaje, para mujeres. Que proporciona el programa SAS, aplicando la función $L_n X$.

PORCENTILES DE LA VARIABLE L_n TTP₂ EN SEGUNDOS PARA MUJERES

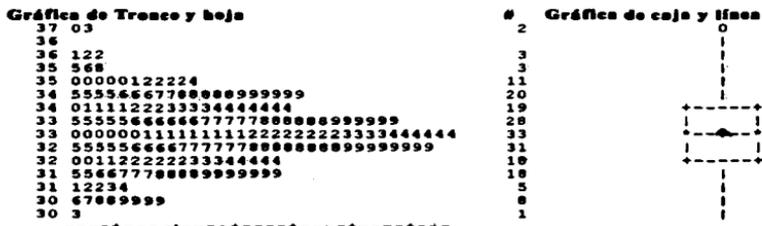
100%	Max	3.725693	99%	3.660346
75%	Q3	3.425889	95%	3.523415
50%	Med	3.317816	90%	3.493473
25%	Q1	3.244542	10%	3.171782
0%	Min	3.034953	5%	3.115713
	Rango	0.69074	1%	3.068042
	Q3-Q1	0.181347		
	Moda	3.306887		

Tabla No. 8. Porcentiles Modificados L_n TTP₂ en mujeres que proporciona el programa SAS, logrando ajustarlos a una distribución de Gaussiana.

Bajos	Altos
3.0354	3.605
3.0633	3.621
3.0726	3.624
3.0773	3.696
3.0819	3.725

Tabla No. 9. Valores extremos modificados L_n TTP₂ en mujeres.

GRAFICA DE TRONCO Y HOJA Y DE CAJA Y LINEA PARA LA VARIABLE LATTPa EN SEGUNDOS



Multiplicar Tronco.hoja por 10¹⁰-1

Fig. 6. Gráfica de tronco y hoja; de caja y línea, de los valores modificados del TTPa, que proporciona SAS aplicando la función Ln X, donde se observa que datos tienen a aproximarse a una distribución normal.

**TTPaS CON
FALLA DE ORIGEN**

GRAFICA DE PROBABILIDAD NORMAL DE L₁TTP_a PARA MUJERES

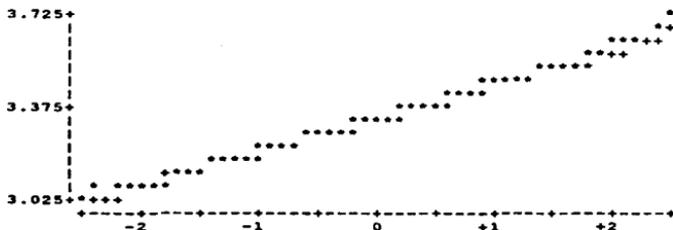


Fig. 7. Representación gráfica del TTP_a en mujeres, normalizada con la función L₁X, que proporciona SAS. Observándose que si se define una recta como se esperaría en una distribución gaussiana.

El INR presento una media de 0.95, una mediana de 0.95, una moda de 0.95 y un valor de p de 0.3896, por lo que sigue una distribución normal o de gauss.

En la tabla 10,11 y 12 se muestra la distribución de frecuencias, los percentiles y los valores extremos del INR en mujeres. En la figura 8 y 9 se observan sus correspondientes gráficas, donde se muestra que sigue una distribución normal.

TABLA DE FRECUENCIAS PARA LA VARIABLE INR EN MUJERES.

Valor	Cantidad	Porcentaje	Porcentaje Acumulado	Valor	cantidad	Porcentaje	Porcentaje Acumulado
0.70	1	0.5	0.5	0.95	15	7.5	56.5
0.72	1	0.5	1.0	0.96	9	4.5	61.0
0.74	1	0.5	1.5	0.97	4	2.0	63.0
0.75	1	0.5	2.0	0.99	9	4.5	67.5
0.76	3	1.5	3.5	1.00	5	2.5	70.0
0.78	3	1.5	5.0	1.01	7	3.5	73.5
0.79	3	1.5	6.5	1.02	8	4.0	77.5
0.80	3	1.5	8.0	1.03	4	2.0	79.5
0.81	2	1.0	9.0	1.05	11	5.5	85.0
0.82	3	1.5	10.5	1.06	4	2.0	87.0
0.83	3	1.5	12.0	1.07	7	3.5	90.5
0.84	6	3.0	15.0	1.08	6	3.0	93.5
0.86	4	2.0	17.0	1.09	1	0.5	94.0
0.87	6	3.0	20.0	1.10	2	1.0	95.0
0.88	6	3.0	23.0	1.12	1	0.5	95.5
0.89	9	4.5	27.5	1.13	1	0.5	96.0
0.90	12	6.0	33.5	1.15	2	1.0	97.0
0.91	8	4.0	37.5	1.17	2	1.0	98.0
0.92	3	1.5	39.0	1.19	2	1.0	99.0
0.93	13	6.5	45.5	1.25	1	0.5	99.5
0.94	7	3.5	49.0	1.26	1	0.5	100.0

Tabla No 10. Tabla de frecuencias de valores de INR para mujeres y su correspondiente distribución de frecuencias acumuladas en porciento.

PORCENTILES DE LA VARIABLE INR EN MUJERES

100%	Max	1.2600	99.0%	1.2200
75%	Q3	1.0200	97.5%	1.1700
50%	Med	1.9500	95.0%	1.1100
25%	Q1	0.8900	90.0%	1.0700
0%	Mín	0.7000	10.0%	0.8200
	Rango	0.5600	5.0%	0.7850
	Q3-Q1	0.1300	2.5%	0.7600
	Moda	0.9500	1.0%	0.7300

Tabla No. 11. Porcentiles de los valores de INR en mujeres, indicando los porcentajes de la distribución del INR.

Se observa el valor máximo del 1.26, el medio de 0.95, el mínimo de 0.70; la moda que es de 0.95, corresponde al valor que presenta con mayor frecuencia en la distribución y el rango intercuántico (Q3-Q1), el cual define la diferencia entre los percentiles 25% y 75%, que corresponden al primer percentil(Q1), con un valor de 0.89 y el tercer percentil (Q3) con un valor de 1.02, de manera que incluye el 50% central de los valores de la prueba de INR.

Bajos	Altos
0.7	1.17
0.72	1.19
0.74	1.19
0.75	1.25
0.76	1.26

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

Tabla No 12. Valores extremos de la variable INR en mujeres.

GRAFICA DE TRONCO Y HOJA Y DE CAJA Y LINEA DE LA VARIABLE INR EN MUJERES

grafica tronco y hoja

```

12 56
12
11 557799
11 0023
10 5555555555556666777777778888889
10 0000111111122222223333
9 55555555555555666666667777999999999
9 000000000000111111122233333333334444444
8 6666777777888888999999999
8 000112223334444444
7 5668888999
7 024
-----

```

grafica caja y linea



Multiplicar Tronco. Hoja por 10^{**}-1

Fig. 8. Gráfica de tronco y hoja; de caja y línea de los valores de INR en mujeres, que proporciona SAS. Donde se observa que los datos tienden a aproximarse a una distribución Gaussiana.

GRAFICA DE PROBABILIDAD NORMAL DE LA VARIABLE INR EN MUJERES

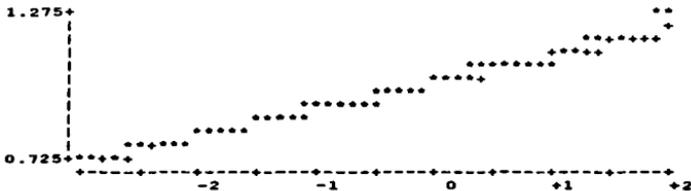


Fig. 9 . Representación gráfica del INR en mujeres que proporciona el programa SAS. Donde se observa que si se define una recta, como se esperaría en una distribución Gaussiana.

En la población de 275 hombre estudiada, para la prueba de TP se obtuvo una media de 11.2, una mediana de 11.2, y una moda de 11.4 y un valor de p de 0.0001, indicando que la distribución que tienen a seguir los datos no es normal.

Se transformaron los datos siguiendo el mismo procedimiento para la normalización de los valores de la población de mujeres, que dando una media de 11.2, una mediana de 11.2, una moda de 11.4, una desviación estándar de 0.0583 y un valor de p de 0.0006. Por lo que tampoco siguen una distribución normal o de Gauss, aunque no hay grandes diferencias en las medidas de tendencias central.

En la tabla 13, 14 Y 15 se muestra la distribución de frecuencias, percentiles y valores extremos del TP en hombres; en la tabla 16, 17 y 18 se observan los datos normalizados. En la figura 10 y 11 se observan sus correspondiente gráficas de trocero y hoja; de caja y línea, así como, la gráfica de probabilidad normal del TP. En la figura 12 y 13 se muestran las gráficas normalizadas, con lo que se corrobora que no tienen a tener una distribución normal.

TABLA DE REFERENCIAS PARA LA VARIABLE TP EN HOMBRES

Valor	Cantidad	Porcentaje	Porcentaje Acumulable	Valor	Cantidad	Porcentaje	Porcentaje Acumulable
9.9	2	0.7	0.7	11.5	16	5.8	70.5
10.0	1	0.4	1.1	11.6	11	4.0	74.5
10.1	8	2.9	4.0	11.7	14	5.1	79.6
10.2	4	1.5	5.5	11.8	13	4.7	84.4
10.3	8	2.9	8.4	11.9	8	2.9	87.3
10.4	12	4.4	12.7	12.0	8	2.9	90.2
10.5	10	3.6	16.4	12.1	6	2.2	92.4
10.6	9	3.6	19.4	12.2	2	0.7	93.1
10.7	11	4.0	23.6	12.3	1	0.4	93.5
10.8	16	5.8	29.5	12.4	5	1.8	95.3
10.9	16	5.8	35.3	12.5	1	0.4	95.6
11.0	14	5.1	40.3	12.7	3	1.1	96.7
11.1	17	6.2	46.5	12.8	2	0.7	97.5
11.2	15	5.5	52.0	12.9	4	1.5	98.9
11.3	17	6.2	58.2	13.0	3	1.1	100.0
11.4	18	6.5	64.7				

Tabla No. 13. Tabla de frecuencias de valores de TP en segundos para hombres y su correspondiente distribución de frecuencias acumuladas en porciento.

PORCENTILES DE LA TP EN HOMBRES

100%	Max	13.0	99.0%	13.0
75%	Q3	11.7	97.5%	12.8
50%	Med	11.2	95.0%	12.4
25%	Q1	10.8	90.0%	12.0
0%	Min	9.9	10.0%	10.4
	Rango	3.1	5.0%	10.2
	Q3-Q1	0.9	2.5%	10.1
	Moda	11.4	1.0%	0.7300

Tabla No. 14 . Porcentiles de los valores de TP en hombres que indican los porcentajes, de la distribución de la prueba.

Se observa que el valor máximo de 13.0 seg, el medio de 11.2 seg, el mínimo de 9.9 seg, la moda de 11.4 seg que corresponde al valor que se presenta con mayor frecuencia en la distribución; y el rango intercuantico (Q3-Q1), el cual define la diferencia entre los porcentiles 25% y 75% que corresponden al primer percentil Q1

ejemplo existen 2 valores de 9.8 seg. Valores para 10.0 seg.; que se indican con el símbolo de números (#) en el lado derecho.

Esta gráfica muestra que la posición y el modo de distribución de los datos no es simétrica como se esperaría en una distribución gaussiana.

La gráfica de caja y línea ilustra ciertas ubicaciones en la distribución, mediante la primera gráfica. El signo de intercalación (^) denota el punto medio de la distribución, que es el número que la divide en dos mitades, esto es, 11.2 seg. Los signos de más (+) subdividen cada una de las mitades, superior e inferior en dos partes. Por lo que 10.8 seg. Es el valor aproximado que divide 25% de las observaciones inferiores de 75% de valores superiores; y 11.6 seg. Divide 25% superior de 75% inferior de los valores. De manera que el 50% de los valores de TP, se encontraron entre 10.8 y 11.6 seg., aproximadamente, y la mitad de este 50% fue el 11.2 y 11.4 seg.

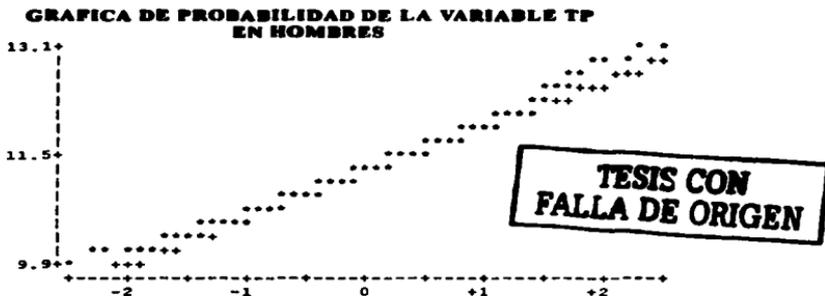


Fig. 11. Representación gráfica del TP en segundos en hombres, donde las cruces no definen una línea recta como se esperaría en una distribución gaussiana.

TABLA DE FRECUENCIAS PARA LA VARIABLE LnTP EN HOMBRES

Valor	Cantidad	Porcentaje	Porcentaje Acumulable	Valor	Cantidad	Porcentaje	Porcentaje Acumulable
2.292535	2	0.7	0.7	2.442347	16	5.8	70.5
2.302585	1	0.4	1.1	2.451005	11	4.0	74.5
2.312535	8	2.9	4.0	2.459589	14	5.1	79.6
2.322388	4	1.5	5.5	2.468100	13	4.7	84.4
2.332144	8	2.9	8.4	2.476558	8	2.9	87.3
2.341806	12	4.4	12.7	2.484907	8	2.9	90.2
2.351375	10	3.6	16.4	2.493205	6	2.2	92.4
2.360854	9	3.3	19.6	2.501436	2	0.7	93.1
2.370244	11	4.0	23.6	2.509599	1	0.4	93.5
2.379546	16	5.8	29.5	2.517696	5	1.8	95.3
2.388763	16	5.8	35.3	2.525729	1	0.4	95.6
2.397895	14	5.1	40.4	2.541602	3	1.1	96.7
2.406945	17	6.2	46.5	2.549445	2	0.7	97.5
2.415914	15	5.5	52.0	2.557227	4	1.5	98.9
2.424803	17	6.2	58.2	2.564949	3	1.1	100.0
2.433613	18	6.5	64.7				

Tabla No. 16. Tabla de frecuencias de valores modificados del TP y su correspondiente distribución de frecuencias acumuladas en porcentajes, para hombres, que genera SAS, aplicando la función LnX.

FORCENTILES DE LA VARIABLE LnTP EN HOMBRES

100%	Max	2.5649	99.0%	2.5649
75%	Q3	2.4596	97.5%	2.5572
50%	Med	2.4159	95.0%	2.5177
25%	Q1	2.3795	90.0%	2.4849
0%	Mín	2.2925	10.0%	2.3418
	Rango	0.2724	5.0%	2.3224
	Q3-Q1	0.0800	2.5%	2.3125
	Moda	2.4336	1.0%	2.3026

Tabla No. 17. Porcentiles modificados LnTP en hombres, que proporciona SAS, indicando los porcentajes de la distribución.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

Bajos	Altos
2.2925	2.5562
2.2935	2.5572
2.3025	2.5649
2.3125	2.5953
2.3135	2.5977

Tabla No. 18. Valores extremos de la variable Ln TP en hombres.

GRAFICAS DE TRONCO Y HOJA Y DE CAJA Y LINEA DE LA VARIABLE LnTP EN HOMBRES

grafico tronco y hoja

```

256 555
254 222997777
252 6
250 110888888
248 555555333333
246 0000000000000088888888887777777
244 222222222222221111111111
242 55555555555555444444444444444444
240 77777777777777778666666666666666
238 00000000000000009999999999999999
236 1111111111000000000
234 2222222222221111111111
232 222222222222
230 333333333
228 33

```

grafico caja y linea



Multiplicar Tronco.Hoja por 10⁰⁰-2

Fig. 12. Gráfica de tronco y hoja y de caja y línea, que genera SAS, de los valores modificados del TP en segundos, aplicando la función Ln X. Donde se observa que los valores no presentan una posición y un modo de distribución simétrica, como se esperaría en una distribución Gaussiana.

GRAFICA DE PROBABILIDAD NORMAL DEL LnTP EN HOMBRES

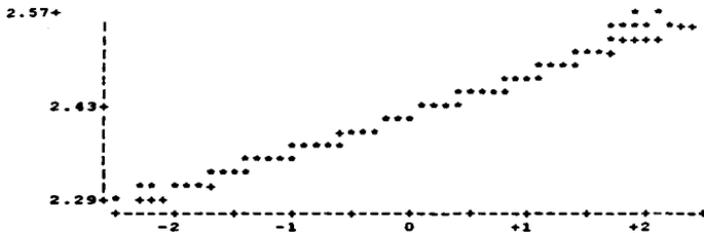


Fig. 13. Representación gráfica del Ln de TP en hombres, normalizada con la función Ln X, que proporciona SAS. Observándose que las cruces no definen una línea recta, como se esperaba en una distribución normal.

La prueba de TTPa tuvo una media de 27.8 seg, una mediana de 27.6seg, una moda de 27.8 seg, una desviación estándar de 3.21 y un valor de p 0.0230, aunque no hay gran diferencia en los valores, debido a que el valor de p no es muy significativo para ajustarse a una distribución normal, se normalizaron los datos, igual que el procedimiento anterior, obteniendo una media de 27.67 seg, una moda de 27.8 seg., una desviación estándar de 0.1147, así como un valor de p de 0.4390 por lo que los valores tienden a ser una distribución normal.

En la tabla 19, 20 y 21 se muestra la distribución de frecuencias, percentiles y valores extremos del TTPa en hombres; en la tabla 22, 23 y 24 se observa los datos normalizados. En la figura 14 y 15 se observa su correspondiente gráfica que genera SAS, mostrando que no tiene a seguir una distribución normal. En la figura 16 y 17 se muestran las gráficas normalizadas donde si se presenta una distribución normal.

TABLA DE FRECUENCIAS PARA LA VARIABLE TTP_a EN HOMBRES

Valor	Cantidad	Porcentaje	Porcentaje Acumulable	Valor	Cantidad	Porcentaje	Porcentaje Acumulable
19.6	1	0.4	0.4	26.7	4	1.5	39.6
21.0	1	0.4	0.7	26.8	3	1.1	40.7
21.5	1	0.4	1.1	26.9	2	0.7	41.5
22.0	1	0.4	1.5	27.0	1	0.4	41.8
22.2	1	0.4	1.8	27.1	4	1.5	43.3
22.3	1	0.4	2.2	27.2	4	1.5	44.7
22.4	2	0.7	2.9	27.3	3	1.1	45.8
22.5	1	0.4	3.3	27.4	4	1.5	47.3
22.7	1	0.4	3.6	27.5	4	1.5	48.7
22.8	4	1.5	5.1	27.6	4	1.5	50.2
22.9	2	0.7	5.8	27.7	2	0.7	50.9
23.1	1	0.4	6.2	27.8	8	2.9	53.8
23.2	1	0.4	6.5	27.9	1	0.4	54.2
23.3	2	0.7	7.3	28.0	3	1.1	55.3
23.4	2	0.7	8.0	28.1	4	1.5	56.7
23.6	2	0.7	8.7	28.2	4	1.5	58.2
23.7	1	0.4	9.1	28.3	3	1.1	59.3
23.9	3	1.1	10.2	28.4	4	1.5	60.7
24.0	1	0.4	10.5	28.5	3	1.1	61.8
24.1	2	0.7	11.3	28.6	2	0.7	62.5
24.2	2	0.7	12.0	28.7	2	0.7	63.3
24.3	3	1.1	13.1	28.8	6	2.2	65.5
24.5	4	1.5	14.5	28.9	1	0.4	65.8
24.6	6	2.2	16.7	29.0	3	1.1	66.9
24.7	3	1.1	17.8	29.1	2	0.7	67.6
24.8	3	1.1	18.9	29.2	3	1.1	68.7
24.9	2	0.7	19.6	29.3	4	1.5	70.2
25.0	1	0.4	20.0	29.4	1	0.4	70.5
25.1	1	0.4	20.4	29.5	3	1.1	71.6
25.2	2	0.7	21.1	29.6	3	1.1	72.7
25.3	5	1.8	22.9	29.7	1	0.4	73.1
25.4	3	1.1	24.0	29.8	2	0.7	73.8
25.5	3	1.1	25.1	29.9	1	0.4	74.2
25.6	2	0.7	25.8	30.0	3	1.1	75.3
25.7	3	1.1	26.9	30.1	2	0.7	76.0
25.8	4	1.5	28.4	30.2	5	1.8	77.8
25.9	2	0.7	29.1	30.3	2	0.7	78.5
26.0	6	2.2	31.3	30.4	2	0.7	79.3
26.1	2	0.7	32.0	30.5	2	0.7	80.0
26.2	5	1.8	33.8	30.6	2	0.7	80.7
26.3	2	0.7	34.5	30.7	1	0.4	81.1
26.5	3	1.1	35.6	30.8	2	0.7	81.8
26.6	7	2.5	38.2	30.9	6	2.2	84.0

TABLA DE FRECIENCIAS PARA LA VARIABLE TTPa EN HOMBRES

Valor	Cantidad	Porcentaje	Porcentaje Acumulable	Valor	Cantidad	Porcentaje	porcentaje Acumulable
31.0	4	1.5	85.5	33.0	1	0.4	93.5
31.1	2	0.7	86.2	33.1	1	0.4	93.8
31.2	1	0.4	86.5	34.0	3	1.1	94.9
31.3	1	0.4	86.9	34.1	2	0.7	95.6
31.4	1	0.4	87.3	34.4	1	0.4	96.0
31.5	2	0.7	88.0	34.7	1	0.4	96.4
31.7	1	0.4	88.4	34.8	3	1.1	97.5
31.9	3	1.1	89.5	34.9	1	0.4	97.8
32.0	1	0.4	89.8	35.0	1	0.4	98.2
32.2	1	0.4	90.2	35.5	1	0.4	98.5
32.3	1	0.4	90.5	35.8	1	0.4	98.9
32.5	3	1.1	91.6	36.0	1	0.4	99.3
32.6	1	0.4	92.0	36.2	1	0.4	99.6
32.7	2	0.7	92.7	36.7	1	0.4	100.0
32.9	1	0.4	93.1				

Tabla No. 19. Tabla de frecuencias de los valores de TTPa en segundos para hombres y su correspondiente distribución de frecuencias acumuladas en por ciento.

PORCENTILES DE LA VARIABLE TTPa EN HOMBRES

100%	Max	36.7	99.0%	36.0
75%	Q3	30.0	97.5%	34.8
50%	Med	27.6	95.0%	34.1
25%	Q1	25.5	90.0%	32.2
0%	Min	25.5	10.0%	23.9
	Rango	17.1	5.0%	22.8
	Q3-Q1	4.5	2.5%	22.4
	Moda	27.8	1.0%	21.5

Tabla No. 20. Percentiles de los valores TTPa en segundos en hombres, que indican los porcentajes de la distribución .

**GRAFICA DE PROBABILIDAD NORMAL DE LA VARIABLE TTP_a
EN HOMBRES**

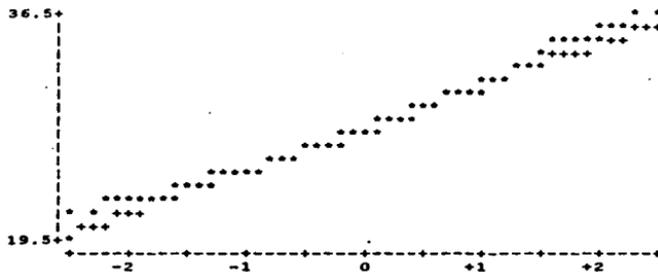


Fig. 15. Representación gráfica del TTP_a en hombres, observándose que no se define una línea recta como se esperaría en una distribución normal.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

**TABLA D FRECUENCIA DE LA VARIABLE LaTTPa
EN HOMBRES**

Valor	Cantidad	Porcentaje	Porcentaje Acumulable	Valor	Cantidad	Porcentaje	Porcentaje Acumulable
2.975530	1	0.4	0.4	3.284664	4	1.5	39.6
3.044522	1	0.4	0.7	3.288402	3	1.1	40.7
3.068053	1	0.4	1.1	3.292126	2	0.7	41.5
3.091042	1	0.4	1.5	3.295837	1	0.4	41.8
3.100092	1	0.4	1.8	3.299534	4	1.5	43.3
3.104587	1	0.4	2.2	3.303217	4	1.5	44.7
3.109061	2	0.7	2.9	3.306887	3	1.1	45.8
3.113515	1	0.4	3.3	3.310543	4	1.5	47.3
3.122363	1	0.4	3.6	3.314186	4	1.5	48.7
3.126761	4	1.5	5.1	3.317816	4	1.5	50.2
3.131137	2	0.7	5.8	3.321432	2	0.7	50.9
3.139833	1	0.4	6.2	3.325036	8	2.9	53.8
3.144152	1	0.4	6.5	3.328627	1	0.4	54.2
3.148453	2	0.7	7.3	3.332205	3	1.1	55.3
3.152736	2	0.7	8	3.335770	4	1.5	56.7
3.161247	2	0.7	8.7	3.339322	4	1.5	58.2
3.165473	1	0.4	9.1	3.342862	3	1.1	59.3
3.173878	3	1.1	10.2	3.346389	4	1.5	60.7
3.178054	1	0.4	10.5	3.349904	3	1.1	61.8
3.182212	2	0.7	11.3	3.353407	2	0.7	62.5
3.186353	2	0.7	12	3.356897	2	0.7	63.3
3.190476	3	1.1	13.1	3.360375	6	2.2	65.5
3.198673	4	1.5	14.5	3.363842	1	0.4	65.8
3.202746	6	2.2	16.7	3.367296	3	1.1	66.9
3.206803	3	1.1	17.8	3.370738	2	0.7	67.6
3.210844	3	1.1	18.9	3.374169	3	1.1	68.7
3.214868	2	0.7	19.6	3.377588	4	1.5	70.2
3.218876	1	0.4	20	3.380995	1	0.4	70.5
3.222868	1	0.4	20.4	3.384390	3	1.1	71.6
3.226844	2	0.7	21.1	3.387774	3	1.1	72.7
3.230804	5	1.8	22.9	3.391147	1	0.4	73.1
3.234749	3	1.1	24	3.394508	2	0.7	73.8
3.238678	3	1.1	25.1	3.397858	1	0.4	74.2
3.242592	2	0.7	25.8	3.401197	3	1.1	75.3
3.246491	3	1.1	26.9	3.404525	2	0.7	76.0
3.250374	4	1.5	28.4	3.407842	5	1.8	77.8
3.254243	2	0.7	29.1	3.411148	2	0.7	78.5
3.258097	6	2.2	31.3	3.414443	2	0.7	79.3
3.261935	2	0.7	32	3.417727	2	0.7	80.0
3.265759	5	1.8	33.8	3.421000	2	0.7	80.7
3.269569	2	0.7	34.5	3.424263	1	0.4	81.1
3.27345	3	1.1	35.6	3.427515	2	0.7	81.8
3.280911	7	2.5	38.2	3.430756	6	2.2	84.0

**TABLA DE FRECUENCIA DE LA VARIABLE LnTTPa
EN HOMBRES**

Valor	Cantidad	Porcentaje	Porcentaje Acumulable	Valor	Cantidad	Porcentaje	Porcentaje Acumulable
3.433987	4	1.5	85.5	3.496508	1	0.4	93.5
3.437208	2	0.7	86.2	3.499533	1	0.4	93.8
3.440418	1	0.4	86.5	3.526361	3	1.1	94.9
3.443618	1	0.4	86.9	3.529297	2	0.7	95.6
3.446808	1	0.4	87.3	3.538057	1	0.4	96.0
3.449988	2	0.7	88.0	3.546740	1	0.4	96.4
3.456317	1	0.4	88.4	3.549617	3	1.1	97.5
3.462606	3	1.1	89.5	3.552487	1	0.4	97.8
3.465736	1	0.4	89.8	3.555348	1	0.4	98.2
3.471966	1	0.4	90.2	3.569533	1	0.4	98.5
3.475067	1	0.4	90.5	3.577948	1	0.4	98.9
3.481240	3	1.1	91.6	3.583519	1	0.4	99.3
3.484312	1	0.4	92.0	3.589039	1	0.4	99.6
3.487375	2	0.7	92.7	3.602777	1	0.4	100.0
3.493473	1	0.4	93.1				

Tabla No 22. Tabla de frecuencia de valores modificados del TTPa en segundos para hombres y su correspondiente distribución de frecuencia acumulada en porciento, que proporciona SAS, aplicando la función Ln X.

PORCENTILES DE LA VARIABLE LnTTPa EN HOMBRES

100%	Max	3.6028	99.0%	3.5835
75%	Q3	3.4012	97.5%	3.5525
50%	Med	3.3178	95.0%	3.5293
25%	Q1	3.2387	90.0%	3.4720
0%	Min	2.9755	10.0%	3.1739
	Rango	0.6272	5.0%	3.1268
	Q3-Q1	0.1625	2.5%	3.1091
	Moda	3.3250	1.0%	3.0681

Tabla No. 23. Porcentiles modificados TTPa en hombres, que proporciona SAS, los cuales se ajustan a una distribución de Gauss.

GRAFICA DE PROBABILIDAD NORMAL DE LA VARIABLE LaTTPa EN HOMBRES

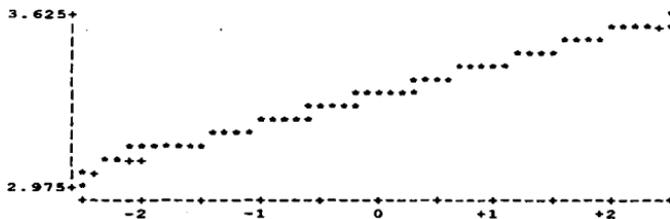


Fig. 17. Representación gráfica del LaTTPa en hombres, normalizada con la función Ln X, que proporciona SAS. Observando que las cruces, además los asteriscos, definen una línea recta como se esperaría en una distribución normal.

El INR tuvo una media de 0.96, una mediana de 0.96, una moda de 0.97, una desviación estándar de 0.080 y un valor de p de 0.0001, se transformaron los datos dando una media de 0.96, una mediana de 0.96 una modas de 0.97 y un valor de p de 0.0002, por lo que tampoco siguen una distribución normal o de Gauss, aunque no hay gran diferencia en las medidas de tendencia central.

En la tabla 25, 26 y 27 se muestra la distribución de frecuencias, los percentiles, y los valores extremos del INR; en la tabla 28, 29 y 30 se muestran los datos normalizados. En la figura 18 y 19 se observan sus correspondientes gráficas, también en las figuras 20 y 21 se muestran las gráficas normalizadas, indicando que no sigue una distribución simétrica.

TABLA DE FRECUENCIAS PARA LA VARIABLE INR EN HOMBRES

Valor	Cantidad	Porcentaje	Porcentaje Acumulable	Valor	Cantidad	Porcentaje	porcentaje Acumulable
0.81	2	0.7	0.7	0.98	12	4.4	62.2
0.82	1	0.4	1.1	0.99	7	2.5	64.7
0.83	8	2.9	4.0	1.00	17	6.2	70.9
0.84	4	1.5	5.5	1.01	10	3.6	74.5
0.85	5	1.8	7.3	1.02	14	5.1	79.6
0.86	5	1.8	9.1	1.03	13	4.7	84.4
0.87	11	4.0	13.1	1.05	8	2.9	87.3
0.88	10	3.6	16.7	1.06	8	2.9	90.2
0.89	9	3.3	20.0	1.07	6	2.2	92.4
0.90	12	4.4	24.4	1.08	2	0.7	93.1
0.91	14	5.1	29.5	1.10	1	0.4	93.5
0.92	10	3.6	33.1	1.11	5	1.8	95.3
0.93	7	2.5	35.6	1.12	1	0.4	95.6
0.94	14	5.1	40.7	1.15	3	1.1	96.7
0.95	16	5.8	46.5	1.16	2	0.7	97.5
0.96	14	5.1	51.6	1.17	4	1.5	98.9
0.97	17	6.2	57.8	1.18	3	1.1	100

Tabla No. 25. Tabla de frecuencias de los valores de INR en hombres y sus correspondientes distribuciones de frecuencias en por ciento.

PORCENTILES DE LA VARIABLE INR EN HOMBRES

100%	Max	1.18	99.0%	1.18
75%	Q3	1.02	97.5%	1.16
50%	Med	0.96	95.0%	1.11
25%	Q1	0.91	90.0%	1.06
0%	Min	0.81	10.0%	0.87
	Rango	0.37	5.0%	.84
	Q3-Q1	0.11	2.5%	0.83
	Moda	0.97	1.0%	0.82

Tabla No. 26. Porcentiles de los valores de INR en hombres, que indican los porcentajes de la distribución.

GRAFICA DE PROBABILIDAD NORMAL DE LA VARIABLE INR EN HOMBRES.

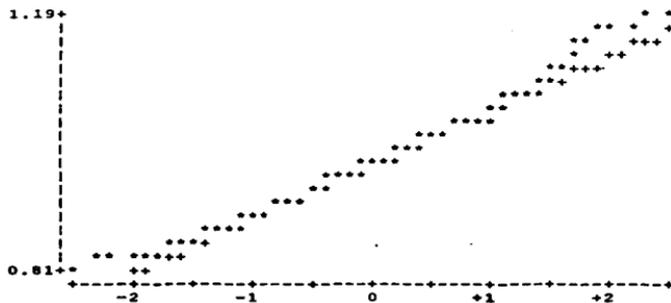


Fig. 19 Representación gráfica del INR en hombres, donde se observa no se define una recta, como se esperaría en una distribución gussiana.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

TABLA DE FRECUENCIAS DE LA VARIABLE LnINR PARA HOMBRES

Valor	Cantidad	Porcentaje	Porcentaje Acumulable	Valor	Cantidad	Porcentaje	Porcentaje Acumulable
-0.21072	2	0.7	0.7	-0.020200	12	4.4	62.2
-0.19845	1	0.4	1.1	-0.010050	7	2.5	64.7
-0.18633	8	2.9	4	0.000000	17	6.2	70.9
-0.17435	4	1.5	5.5	0.009950	10	3.6	74.5
-0.16252	5	1.8	7.3	0.019803	14	5.1	79.6
-0.15082	5	1.8	9.1	0.029559	13	4.7	84.4
-0.13926	11	4	13.1	0.048790	8	2.9	87.3
-0.12783	10	3.6	16.7	0.058269	8	2.9	90.2
-0.11653	9	3.3	20	0.067659	6	2.2	92.4
-0.10536	12	4.4	24.4	0.076961	2	0.7	93.1
-0.09431	14	5.1	29.5	0.095310	1	0.4	93.5
-0.08338	10	3.6	33.1	0.104360	5	1.8	95.3
-0.07257	7	2.5	35.6	0.113329	1	0.4	95.6
-0.06188	14	5.1	40.7	0.139762	3	1.1	96.7
-0.05129	16	5.8	46.5	0.148420	2	0.7	97.5
-0.04082	14	5.1	51.6	0.157004	4	1.5	98.9
-0.03046	17	6.2	57.8	0.165514	3	1.1	100

Tabla No. 28. Valores modificados del INR en hombres, que proporcionan el Programa SAS Aplicando la función Ln X. Los cuales no se ajustan a una distribución Gaussiana. Además se muestra la correspondiente distribución de frecuencias acumuladas en porcentaje.

PORCENTILES DE LA VARIABLE LnINR EN HOMBRES

100%	Max	0.1655	99.0%	0.1655
75%	Q3	0.0198	97.5%	0.1570
50%	Med	-0.0408	95.0%	0.1044
25%	Q1	-0.0943	90.0%	0.0583
0%	Mín	-0.2107	10.0%	-0.1393
	Rango	0.3762	5.0%	-0.1744
	Q3-Q1	0.1141	2.5%	-0.1863
	Moda	-0.0305	1.0%	-0.1985

Tabla No. 26. Percentiles modificados por LnINR en hombres, que proporciona SAS, donde se observa que no se ajustan a una distribución normal.

Bajos	Altos
-0.2107	-0.1571
-0.2106	-0.1570
-0.1984	-0.1655
-0.1863	-0.1654
-0.1862	-0.1653

Tabla No. 30. Valores extremos de la variable Ln INR en hombres que proporciona SAS aplicando la función Ln X.

GRAFICA DE PROBABILIDAD NORMAL DE LA VARIABLE Ln INR EN HOMBRRES

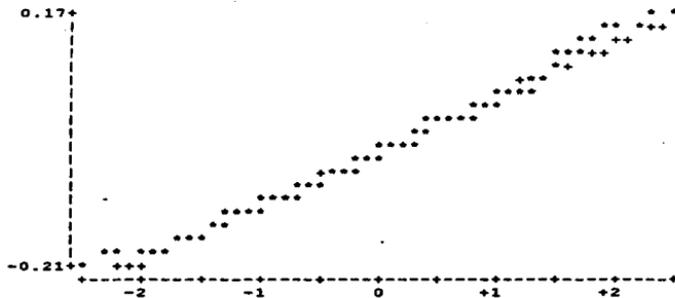


Fig. 21. Representación gráfica del Ln INR, observándose que los asteriscos y cruces no definen una recta, como se esperaría en una distribución normal.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

OBTENCIÓN DE LOS VALORES DE REFERENCIA POR EL MÉTODO PARAMÉTRICO

El siguiente método es solo apropiado cuando la distribución de los valores de referencia (o de los datos transformados) tienen una distribución gaussiana.

De la muestra de 200 valores para mujeres y 275 valores para hombres de las pruebas de coagulación TP y Tpa y del INR, se obtiene la media aritmética \bar{X} y la desviación estándar SD:

$$\bar{X} = \sum x_i / N, \text{ y} \\ SD = \{[\sum (x_i - \bar{x})^2 / (N - 1)]\}^{1/2};$$

donde $i=1, \dots, N$. A partir de estos estadísticos se estiman los percentiles (límites de referencia) como:

$$\bar{x} \pm C_1 \cdot SD,$$

donde $C_1 - \alpha = -C_\alpha$ es una desviación gaussiana estándar. Para los fractiles $\alpha = 0.025$ y $1 - \alpha = 0.975$ (intervalos de referencia 0.95) $C_1 - \alpha = 1.96$

**MEDIA Y DESVIACIÓN ESTANDAR DE LOS DATOS AGRUPADOS
PARA DETERMINAR EL LIMITE DE REFERENCIA DE TP EN
MUJERES**

$$\begin{aligned}\bar{x} &= 11.1015 \\ SD &= 0.8415 \\ 1.96 SD &= 1.6493\end{aligned}$$

Aplicando la fórmula $\bar{x} \pm 1.96 SD$ se obtiene el límite de 9.45 - 12.75 seg. Estos valores no se transformaron ya que originalmente presentaron una distribución Gaussiana.

**MEDIA Y DESVIACIÓN ESTANDAR DE LOS DATOS AGRUPADOS
PARA DETERMINAR EL LIMITE DE REFERENCIA DE TTP₀ EN
MUJERES**

$$\begin{aligned}\bar{x} &= 3.3303 \\ SD &= 0.1279 \\ 1.96 SD &= 0.2506\end{aligned}$$

Aplicando la fórmula $\bar{x} \pm 1.96 SD$ se obtiene el límite de referencia de 3.0797 - 3.5809, tomando la inversa de la función que se utilizó, el límite de referencia queda de la siguiente manera:

$$21.47 - 35.90 \text{ seg.}$$

**MEDIA Y DESVIACIÓN ESTANDAR DE LOS DATOS AGRUPADOS
PARA DETERMINAR EL LIMITE DE REFERENCIA DEL INR
EN MUJERES.**

$$\begin{aligned}\bar{x} &= 0.9511 \\ SD &= 0.1005 \\ 1.96SD &= 0.1969\end{aligned}$$

Aplicando la fórmula de $\bar{x} \pm 1.96 SD$, se obtiene el límite de referencia:

$$0.75 - 1.14$$

Estos valores no se transformaron ya que originalmente presentaron un Distribución de Gauss.

**MEDIA Y DESVIACIÓN ESTANDAR DE DATOS AGRUPADOS
PARA DETERMINAR EL LIMITE DE REFERENCIA DEL TTPa
EN HOMBRES**

$$\begin{aligned}\bar{x} &= 3.3206 \\ SD &= 0.1147 \\ 1.96SD &= 0.2248\end{aligned}$$

Aplicando la fórmula $\bar{x} \pm 1.96 SD$ se obtiene el límite de Referencia de: 3.0958 - 3.5454 y tomando la inversa de la función que se utilizó el límite queda de la siguiente manera:

$$22.10 - 34.65 \text{ seg.}$$

**OBTENCIÓN DE LOS VALORES DE REFERENCIA POR EL METODO NO
PARAMETRICO**

Este método se emplea cuando la distribución de los valores de Referencia (o de los datos transformados) no se ajustan a una distribución Gaussiana, de manera que se emplean los valores originales.

El método basado en el rango descrito es confiable y muy simple de aplicar, ya sea manualmente o usando una computadora. Para el método manual. Se clasifican los N valores de referencia de acuerdo a los valores numéricos crecientes y se asigna números de rango tales que el valor más bajo tenga No. 1 y el valor más alto tenga el No. X, $\leq X_2 \leq \dots \leq X_N$. Deben ser también asignados números de orden consecutivos a dos o más valores que sea iguales (valores apareados). Los valores apareados a menudo pueden ser evitados usando más dígitos en los valores de referencia, que son comúnmente usados para referir los resultados de los pacientes.

NOTA: No es necesario clasificar todos los valores. Cuando se realizan manualmente, puede ahorrarse considerable tiempo si sólo los valores de las colas de la distribución son clasificados e identificados.

Cuando se usa una computadora, se computan los números de rango del fractil 0.025, si este número es un entero. En otro caso los límites de referencia deben ser determinados por interpolación entre dos valores de referencia. El límite de referencia superior es determinado similarmente por el número de rango de fractil 0.975.

De la tabla de percentiles (Fractiles) para la prueba de TP se obtiene el límite de referencia de:

10.1 – 12.8 seg.

Que corresponde al límite de referencia inferior (percentil 2.5% ó 0.025) y al límite de referencia superior (percentil 97.5% o 0.975)

De la misma manera se obtiene el límite de referencia para el INR quedando de la siguiente manera.

0.83 – 1.16

11. DISCUSIÓN

Es importante el establecimiento de los valores de referencia en el laboratorio clínico ya que la determinación de límites adecuados ayudan a la discriminación de lo normal y patológico, implicando el diagnóstico y pronóstico en la toma de decisiones médicas y quirúrgicas.

Los valores de referencia de los tiempos de coagulación obtenidos para las pruebas de TP, TTPa e INR en las mujeres fueron (9.45 - 12.75 seg.), (21.74 - 35.90 seg) y (0.75 - 1.14) respectivamente. Y para los hombres un TP (10.1 - 12.8 seg), un TTPa de (22.1 - 34.65 seg) y el INR de (0.83 - 1.16)

Al comparar estos valores con los insertos de los reactivos de TP Fib-HS y TTPa sílica micronizada para el ACL, determinadas de una población heterogénea, sin clasificar por sexo los rangos obtenidos. Los valores de referencia dados fueron los siguientes, para el TP de 10.7 - 14.4 seg., TTPa 27 - 35 seg., y el INR de 0.95 - 1.15.

De manera que el rango del TP de las mujeres presentando tanto el límite inferior como el límite superior (9.45 - 12.75 seg) menor que el reportado (10.7 - 14.4 seg); En el TPT el límite inferior fue menor y el límite superior mayor (21.74 - 35.90) que el de los inciertos (27.0 - 35.0 seg) y para el INR el límite inferior como superior fue menor (0.75 - 1.14) que el reportado (0.95 - 1.15).

Para los hombres los rangos del TP y del TTPa mostraron límites inferiores y límites superiores, menores (10.1 - 12.8 seg), 22.1 - 34.65 seg) que los reportados (10.7 - 14.4) y (27.0 - 35.0 seg) respectivamente. El INR el límite inferior fue menor y el límite superior fue mayor (0.83 - 1.16) que el de la literatura.

La diferencia observada en la obtención de los rangos de las pruebas de TP, TTPa e INR al de los inciertos de los reactivos, pudo deberse a la variabilidad

biológica de la población en estudio, sujeta a la probabilidad de interrelación con parámetros como: el sexo, la edad, la raza, la ingesta de alcohol, cigarro, agentes activos farmacológicos utilizados para el tratamiento de enfermedades; anticonceptivos orales; estado fisiológico; embarazo, ejercicio, menopausia, etc.

Se ha comprobado que algunas de estas variables pueden afectar los tiempos de coagulación.

Balleisen y Cols⁽³⁾ reportan un estudio de los factores VII, VIII y fibrinógeno de una población industrial en relación con la edad, género, peso corporal, consumo de alcohol, cigarro; estado de menopausia y el uso de la píldora anticonceptiva.

Encontramos que estos factores se ven incrementados con la edad; el factor VII y el fibrinógeno con el peso corporal y el uso de la píldora anticonceptiva en mujeres; el factor VIII y el factor VII son altamente significativos en el comienzo, durante y después de la menopausia; niveles de fibrinógeno se ven aumentados en las personas que fuman. No encontrando incrementos de estos factores por el consumo de alcohol.

Krobot y Cols⁽¹⁶⁾. Reportan un estudio donde se determinan las concentraciones de fibrinógeno en relación al peso corporal, consumo de alcohol y cigarro, así con la edad y el sexo. El estudio se llevo a cabo en 4.940 sujetos sanos, con una distribución de edad de 25-74 años, donde la concentración de fibrinógeno se ve aumentada con la edad, peso corporal en ambos sexos; mencionando que existe una dosis dependiente en el consumo del cigarro reflejando en el aumento de la concentración de fibrinógeno, existiendo mayores concentraciones en los hombres que en las mujeres, reportando que en el consumo de alcohol no se ve aumentada la concentración de fibrinógeno.

Van den Burg y cols⁽¹⁵⁾. Reportan un estudio de cambio en los factores hemostáticos y la activación de sus productos después del ejercicio en sujetos

saludables de diferentes edades, el estudio se hizo en 38 hombres, dividiendo las edades en tres categorías (cat I-III; 20-30, 35-45, 50-60), estandarizando la prueba de ejercicio.

Miden los niveles de FVIII, FII, fibrinógeno, activación del fragmento protrombina t-PS y PAI-1. reportando que existe un incremento de FvW y FVIII, acortándose el TTPa y el potencial fibrinolítico (incrementándose t-PA y Upa- en las tres categorías. Concluyendo que el incremento de estos factores y sus productos de activación se ven aumentados conforme aumenta la edad.

La determinación de los valores de referencia se llevaron a cabo por el método paramétrico y el NO paramétrico, se compararon los rangos obtenido y se observa que los rangos son más angostos si son calculados por el segundo método; la literatura señala que las estimaciones de los rangos por el paramétrico son teóricamente más angostos, es decir, más precisas que las estimaciones no paramétricas(3).

Sin embargo el tipo de método generalmente no es conocido a priori, la incertidumbre inevitable de si una distribución observada (o su transformación) conforma la distribución gaussiana, se adiciona a la incertidumbre de las estimaciones, por lo tanto la diferencia real en la precisión entre los dos métodos generalmente es mínima(3).

El método no paramétrico es recomendado para su uso general por su simplicidad. Pero el método que se utilizo con más frecuencia es el paramétrico(3).

Se hace referencia que los datos originales que no siguen una distribución de gauss, sean transformados mediante una función matemática, como la raíz cuadrada o usando logaritmos. La transformación de los valores de referencia es solo una herramienta conveniente para estimar percentiles, el tipo de función que permite el mejor ajuste, no implica necesariamente una significación biológica(3).

Se compararon los valores de referencia de estas pruebas en varias literaturas, observando que los rangos reportados (límite inferior y límite superior) varían (6,8,19,20,25). Esta variación puede deberse al tipo de instrumento utilizado, técnicas de análisis (manual, semi-automatizadas o totalmente automatizadas), el tipo de reactivos, tipo de activador, la composición de tampones y fosfolípidos de los reactivos, etc.

12. CONCLUSIONES

Los valores de referencia encontrados para el laboratorio de urgencias del Hospital de Especialidades del Centro Médico la Raza fueron los siguientes:

TP en mujeres 9.45 - 12.75 seg
TP en hombres 10.1 - 12.80 seg

TTPa en mujeres 21.47 - 35.90 seg
TTPa en hombres 22.10 - 34.65 seg

INR en mujeres 0.75 - 1.14
INR en hombres 0.83 - 1.16

Con lo que respecta al valor de referencia obtenido para el TP y el INR en hombres por el método no paramétrico que no asume una distribución de gauss durante el tratamiento estadístico, resultando tan confiable como el método paramétrico, la diferencia real en la precisión entre los dos métodos generalmente es mínima.

Se pueden calcular fractiles confiables (0.025-0.975) para ambos métodos ya que se tienen más de 120 valores.(3)

El cálculo de INR ha contribuido a la estandarización del TP, teniendo una eficacia y satisfacción en la terapia de anticoagulantes orales. Expresando los resultados del TP en INR se aclara la estabilización del monitoreo con anticoagulantes. Los valores INR permiten al médico obtener una comparación directa entre los resultados del TP sin tomar en cuenta el sistema reactivo/instrumento empleado.

Dado a que existen variaciones al comparar estos valores de referencia con otras literaturas, ya que los reactivos comerciales, tipo de instrumentación y de población en estudio no son los mismos, cada laboratorio debe determinar sus propios límites de

normalidad. En este caso los valores de referencia sugeridos para el laboratorio de urgencias del Hospital de Especialidades del Centro Médico la Raza, son los obtenidos en este trabajo puesto que se trabajo con la población que acude a este centro hospitalario.

ANEXO 1

5. Manejo y selección de donantes alogénicos

5.1 El personal del banco de sangre deberá proporcionar a los donantes previamente a la recolección de sangre o de componentes sanguíneos, el folleto de autoexclusión confidencial (véase el apartado C.5 de esta Norma), con la finalidad de permitir que un candidato (o donante) se pueda excluir mediante cualquiera de los mecanismos siguientes:

- a) Que se autoexcluya antes de la selección médica, condicionado por el material educativo que contiene el folleto;
- b) Que el sujeto inquiera con el médico las incógnitas que le hubiesen surgido con la información contenida en el folleto y, mediante su interlocución, el médico pueda identificar prácticas o condiciones de riesgo a las que el candidato hubiese estado expuesto y de esta manera lo excluya;
- c) Que el sujeto con antecedentes o con prácticas de riesgo para adquirir los virus de la inmunodeficiencia humana o de la hepatitis, que ya hubiese proporcionado su sangre o componentes sanguíneos, tenga la facilidad, mediante el talón a que hace referencia el inciso d) del apartado C.6 de esta Norma, para notificar confidencialmente que no considera apta su sangre o componentes de ésta para uso transfusional y consecuentemente se les dé destino final inmediatamente después de su recolección.

5.2 El banco de sangre deberá proporcionar a los donantes después de la recolección de sangre o de componentes sanguíneos, lo que a continuación se indica:

- a) Alimento líquido y sólido con un valor calórico mínimo de 400 kCal y con un volumen mínimo de 500 mL;
- b) Prescripción de suplementos de hierro a donantes que proporcionen sangre, cuando se juzgue indicado.

5.3 Los candidatos a proporcionar sangre o componentes sanguíneos con fines de transfusión alogénica, se someterán a una valoración cuidadosa, que se registrará en una historia clínica conforme a las disposiciones que señala el apartado C.4 de esta Norma y que permita excluir a los siguientes:

5.3.1 Menores de 18 años y mayores de 65 años.

5.3.2 Los sujetos carentes del uso pleno de sus facultades mentales o aquellos coartados del ejercicio libre de su propia voluntad.

5.3.3 Los sujetos que a continuación se indican y que, por razón de sus prácticas sexuales o por exposición a condiciones de alto riesgo, tienen mayor probabilidad de adquirir infección por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana o por los virus de la hepatitis:

- a) Homosexuales masculinos;**
- b) Bisexuales;**
- c) Heterosexuales con varios compañeros sexuales;**
- d) Quienes ejercen la prostitución;**
- e) Farmacodependientes que usan la vía intravenosa;**
- f) Hemofílicos y politransfundidos;**
- g) Exproveedores remunerados de sangre o plasma;**
- h) Aquellos con antecedente de haber sido internos en instituciones penales o de enfermedades mentales;**
- i) Los compañeros sexuales de personas infectadas por virus de la inmunodeficiencia humana o de cualquiera de los individuos que indica este apartado.**

5.3.4 Los que tengan cualquiera de los antecedentes personales que se enlistan a continuación:

- a) Hepatitis;**
- b) Positividad en marcadores serológicos para los virus B o C de la hepatitis, o ambos;**
- c) Positividad en la prueba serológica para el Virus de la Inmunodeficiencia Humana, de cualquiera de sus tipos;**
- d) Manifestaciones clínicas o patológicas que puedan estar asociadas o no a enfermedad por Virus de Inmunodeficiencia Humana, entre las que figuran a continuación:**
 - Cuadro sugestivo de infección aguda por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana;**
 - Pérdida de peso involuntaria del 10 % o mayor del peso corporal habitual, ocurrida en un lapso de seis meses o menor;**
 - Fiebre, diarrea, odinofagia o astenia con duración igual o mayor de un mes;**

- **Candidiasis orofaríngea, vulvovaginal persistente, frecuente o con mala respuesta a tratamiento;**
 - **Herpes zoster, dos episodios distintos o que abarquen más de un dermatoma;**
 - **Herpes simple, mucocutáneo de más de un mes de duración;**
 - **Encefalopatías, síndromes demenciales, neuropatía periférica o mielopatía;**
 - **Displasia cervical moderada o grave, enfermedad pélvica inflamatoria o absceso tubo-ovárico;**
 - **Púrpura trombocitopénica;**
 - **Tuberculosis extrapulmonar;**
 - **Angiomatosis bacilar;**
 - **Listeriosis, u**
 - **Otras.**
- e) Brucelosis, con persistencia de positividad en la prueba serológica;**
 - f) Toxoplasmosis;**
 - g) Tripanosomiasis americana (enfermedad de Chagas) o positividad en las pruebas serológicas;**
 - h) Paludismo, por Plasmodium malarie o por especie no identificada;**
 - i) Lepra;**
 - j) Cardiopatías;**
 - k) Epilepsia o convulsiones;**
 - l) Diátesis hemorrágica;**
 - m) Neoplasias hematológicas u otras;**
 - n) Los que hubieran recibido hormona hipofisaria de crecimiento de origen humano.**

5.3.6 Los candidatos a donación que en los últimos cinco años tengan antecedentes de paludismo por Plasmodium vivax o falciparum.

5.3.6 Personas que en los últimos tres años tengan alguno de los antecedentes siguientes:

- Tuberculosis pulmonar;
- Haber tomado etretinato.

5.3.7 Sujetos que en los últimos dos años, tengan antecedentes de dos o más infecciones bacterianas, entre las siguientes:

- Septicemia;
- Neumonía;
- Meningitis;
- Abceso cerebral.

5.3.8 Aquellos que en el último año tengan cualquiera de los antecedentes siguientes:

- a) Sífilis, gonorrea, infección por Chlamydia u otras enfermedades transmitidas sexualmente;
- b) Violación o contacto sexual ocasional con desconocidos o con cualquiera de los señalados en el apartado 5.3.3 de esta Norma;
- c) Haber estado al cuidado o en estrecho contacto con pacientes con hepatitis viral;
- d) Haber recibido inmunoglobulina, por riesgo de transmisión del virus B de la hepatitis;
- e) Procedimientos o lesiones efectuados o provocados con instrumentos u objetos potencialmente contaminados con líquidos de riesgo (véase apartado 3.2.4 de esta Norma), tales como: tatuajes, acupuntura, perforación del lóbulo de la oreja, plioelectrólisis, cirugías o heridas accidentales;
- f) Transfusión de sangre, componente sanguíneo o crioprecipitado;
- g) Recepción de cualquier trasplante alogénico;
- h) Vacunación antirrábica.

5.3.9 Los que en los últimos seis meses hayan tenido cualquiera de los antecedentes siguientes:

- a) Cirugía o accidente mayor;
- b) Parto o cesárea;
- c) Embarazo terminado por muerte del producto en cualquier edad gestacional.

5.3.10 Personas que en los últimos 45 días hayan donado sangre.

5.3.11 Aquellos que en los últimos 28 días, hayan recibido cualquiera de las vacunaciones o de los medicamentos siguientes:

- Antivaricelosa;
- Antipoliomielítica por vía oral;
- Antisarampionosa;
- Anti rubéola;
- Anti parotiditis;
- Anti fiebre amarilla;
- Anti influenza;
- Inmunoglobulina antitetánica;
- Tetraciclinas;
- Isotretinoína.

5.3.12 Los que en las últimas 72 horas hayan sido sometidos a cualquiera de los procedimientos siguientes:

- Extracción dentaria no complicada;
- Cirugía menor;
- Proporcionado algún componente sanguíneo por aféresis.

5.3.13 Candidatos que al momento de la valoración médica, cursen con cualquiera de lo que a continuación se indica:

- a) Síntomas de hipotensión secundarios o no a medicamentos antihipertensivos;
- b) Infecciones agudas o crónicas;

- c) **Neumopatías agudas o crónicas;**
- d) **Enfermedades hepáticas activas o crónicas;**
- e) **Síntomas secundarios a cualquier inmunización;**
- f) **Efectos evidentes de intoxicación por alcohol, narcóticos, marihuana, inhalantes, o cualquier estupefaciente;**
- g) **Periodos menstrual, gestacional o de lactancia.**

5.3.14 Aquellos que en el examen físico tengan cualquiera de lo que figura a continuación:

- a) **Peso menor de 50 kg;**
- b) **Frecuencia cardíaca menor de 50 latidos por minuto (excepto en atletas) o mayor de 100;**
- c) **Cifras de tensión arterial de 100 o mayor para la diastólica y de 180 o mayor para la sistólica;**
- d) **Temperatura axilar de 37.0° C o mayor u oral de 37.5° C o mayor;**
- e) **Arritmia cardíaca;**
- f) **En piel y mucosas:**
 - **Ictericia;**
 - **Petequias;**
 - **Equimosis múltiples no asociadas a traumatismos;**
 - **Lesiones de sarcoma de Kaposi;**
 - **Candidiasis orofaríngea o leucoplasia pilosa;**
 - **Dermatitis persistente;**
 - **Lesiones activas o antiguas de herpes zoster, que abarquen más de un dermatoma;**
- g) **Huellas de múltiples venopunciones o mala calidad de venas;**
- h) **Adenomegalia en dos o más regiones extrainguinales;**
- i) **Hepatomegalia o esplenomegalia.**

5.3.15 Aquellos que tengan antes de cada recolección valores de hemoglobina o hematocrito por debajo de las cifras anotadas en la tabla 1, que corresponden a valores obtenidos por el método manual y con muestra de sangre obtenida por punción del dedo o por venopunción.

TABLA 1

HEMOGLOBINA O HEMATOCRITO MINIMOS PARA FLEBOTOMIA EN DISPONENTES ALOGENICOS

Altitud SNM	SEXO			
	MASCULINO		FEMENINO	
	HEMOGLOBINA	HEMATOCRITO	HEMOGLOBINA	HEMATOCRITO
0 a 1500 m	135 g/L	0.41	125 g/L	0.38
1501 m o más	145 g/L	0.44	140 g/L	0.42

NOTA: Cuando la muestra de sangre se obtiene del lóbulo de la oreja, los valores mínimos de hemoglobina o hematocrito deberán ser 5 g/L o 0.01 mayores a los que indica la tabla, respectivamente.

5.4 La selección de candidatos alogénicos a donación de componentes sanguíneos mediante aféresis, se realizará de acuerdo con los excluyentes a que hacen referencia los apartados 5.3 de esta norma, además de los siguientes:

5.4.1 Deberán contar, antes de la recolección, con los exámenes de laboratorio que señalan los apartados 7.1.1 al 7.1.6 y, en su caso, con los que señalan los apartados 7.2.1 al 7.2.3 de esta Norma.

5.4.2 Según el tipo de aféresis del que se trate, se excluirán los que se indican a continuación:

- a) Para plasmaféresis, los que tengan:
 - Proteínas séricas menores de 60 g/L, antes de cada procedimiento, así como;
 - Lo señalado en el inciso c) del apartado 6.4.4 de esta Norma.
- b) Para leucaféresis los que tengan una cuenta absoluta de neutrófilos menor de 4.0 x 10⁹/L, antes de cada procedimiento;
- c) Para plaquetaféresis, aquellos que tengan cualquiera de lo siguiente:

-Cuenta de plaquetas menor de 150 x 10⁹/L, antes de cada procedimiento;

- Antecedente de toma de ácido acetilsalicílico, en los últimos cinco días, si la toma es crónica, o en los últimos tres días, si fué toma única.

C.4 Los establecimientos que hacen actos de disposición de sangre y de sus componentes, deberán practicar a todos los candidatos a ser donantes, una historia clínica con carácter estrictamente confidencial, que en cualquier momento estará a la disposición de la autoridad sanitaria competente. Esta historia deberá registrar como mínimo la información siguiente:

- a) Se le asignará el número correspondiente a la unidad de sangre o componente sanguíneo que se hubiesen recolectado;
- b) Datos del donante originario que permitan su correcta identificación para efectos de citaciones posteriores, incluyendo los que figuran a continuación:
 - Nombre completo y firma;
 - Edad y fecha de nacimiento;
 - Sexo;
 - Ocupación;
 - Domicilio y teléfono;
- c) El señalamiento del tipo de disposición:
 - Familiar o altruista;
 - Con fines de transfusión alogénica o autóloga;-Recolección de sangre por extracción simple, o de componentes mediante aféresis;
- d) Si se trata de disposición de sangre o componentes con fines de transfusión alogénica, contendrá la información relevante que permita identificar los datos que puedan significar un riesgo para la salud del donante o del receptor, de conformidad con los apartados 5.3 y, en su caso, los 5.4 de esta Norma;
- e) Si la disposición es con fines de transfusión autóloga la historia clínica deberá consignar el cumplimiento de los requisitos que para cada procedimiento establece esta Norma.

13. BIBLIOGRAFÍA

1. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana. 1986. Concepto de los valores de referencia. (parte 1). Vol XX. N, 3. P. 486-492.
2. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana. 1986. Selección de individuos y recolección de muestras para la producción de valores de referencia. (parte 2). Vol XX. N, 3. P. 495-507.
3. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana. 1988. Tratamiento estadístico de Valores de Referencia obtenidos. Determinación de Límites de Referencia. (parte 5). Vol, XXII. N, 3. P 454-471.
4. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana. 1988. Presentación de valores observados relacionados con los valores de referencia. (parte 6). Vol, XXII. N, 4. P 614-621.
5. Balleisen, L. Biley, J. et, al. 1985. Epidemiological study on factor VII, and fibrinogen in an industrial population: I. Baseline data on the relation to age, gender, body-weight, smoking, alcohol, pill-ussing, and menopause. Thromb-Haemost. Vol 54, N, 2. P 475-479.
6. Bauer John D. 1986. Análisis Clínicos. Métodos e Interpretación. Edit, Reverte. España. P, 299-302.
7. Berkow Robert, et al. Manual Merck. 1999. Diagnóstico y Terapeuta. 9º ed. Edit, Océano. España.
8. Bruce L. Evatt. William Niggs, et, al. 1995. Fundamentos de diagnóstico Hematológico. Edit, . P 27-31.
9. Dawson-Saunders Beth y Trapp Robert G. 1997. Bioestadística Médica. Edit, el manual moderno. México D.F. P 25-26 y 108-115.

10. Eberhard F. Mammen, M.D. 1996. Monitoring Oral Anticoagulant Therapy. JIFCC. Vol, 8. No. 3. p 96-99.
11. Hall Roger, Malia Robert G. 1991. Medical Laboratory. 2ª, Ed. Edit Butterworth-Heinemann. p 673-678.
12. Henry Bernard John. 1993. Diagnóstico y Tratamientos Clínicos. 9ª, ed. Edit, Salvat. México D.F. P, 51-65.
13. International Committee for Standardization in Haematology, International Committee on Trombosis and Haemostasis: ICSH/OCT recommendations for reportin prothrombin time in oral anticoagulant control. 1985. Thromb-Haemost. Vol, 53, N 1, P 155-156.
14. Iriarte José Antonio, Vacas Martha. 1994. Control de Calidad del Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada. Sangre. Vol, 39. N, 3. P, 219-223.
15. Jonapa Megchun, Ma. Esther. 1991. Obtención de los valores de Referencia de Aspartato amino transferasa (AST), por tres métodos diferentes en suero de donadores clínicamente sanos. UNAM. FES C-1. Q.F.B. P 37-48.
16. Krobot, K, Hense, HW, et, al. 1992. Determinants of plasma fibrinogen; relation to body weight, waist-to-hip ratio, smoking, alcohol, age, and sex. Vol, 12. N, 7. P 780-788.
17. León Sánchez, Ma. Alejandra. Sánchez Fernández, Ma. Rocío. Valores de referencia de Creatinincinasa y Fracción MB. 1990. UNAM. FES C-1. Q.F.B. P, 14-30.
18. Loeliger, E.A. Poller L. 1985. Questions and Answers on Prothrombin Time Standardisation in Oral Anticoagulant Control. Trombosis and Haemostasis. Vol, 54. No. 2. p 515-517.

19. Martinez Murillo Carlos, Quintana González Sandra. 1996. Manual de Hemostasia y Trombosis. "Bases fisiológicas y Clínicas de las enfermedades hemorrágicas y trombóticas. Edit. Prada. México. P, 5-17, 25-33, 89-103 y 423-426.
20. Mckenzie Shirly b. 1991. Hematología Clínica. Edit. El manual Moderno. México, D.F. p 385-419.
21. Ortega Juan José, Sentis Margarita, et al. 1996. Primera Evaluación del analizador de coagulación ACL-FUTURA. Sangre. Vol, 41. N, 6. P, 417-426.
22. Ruiz Bedolla Eliseo. 1996. Determinación del Tiempo de Protrombina y Tiempo de Tromboplastina Parcial. Revista Mexicana de Patología Clínica. Vol, 44. No, 4. p 152-157.
23. Sybille Albrecht, et, al. 1995. Detection of circulating Tissue Factor VII in a Normal Population. Trombosis and hemostasis. Vol, 76. N, 4. 772-776.
24. Tietz N. W. 1972. Química Clínica Moderna. Edit. Interamericana. México, D.F. P, 798-803.
25. Todd-Sanford. 1988. Diagnóstico y Tratamiento Clínico por el Laboratorio. (Tomo 1). 8ª , Ed. Edit, Salvat. México. P, 58-69.
26. Tortora J, Gerard. Anagnostakos, Nicholas. 1993. Principios de anatomía y fisiología. 6ª ed, Edit. Harla. Colombia. P 686-688.
27. Van den Burg, P.J.M. et, al. 1995. Changes in Haemostatic Factors and Activation Products after Exercise in Healthy Subjects with Different Ages. Trombosis and Haemostasis. Vol, 76. N, 6. p 1457-1464.