



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES

“ZARAGOZA”



**MANUAL SOBRE PRUEBAS DE COAGULACIÓN Y COAGULOPATÍAS DE LA HEMOSTASIA  
PRIMARIA Y EVALUACIÓN DE SU UTILIDAD EN LOS ESTUDIANTES DE LAS ÁREAS  
BIOMÉDICAS**

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIOLÓGICO

PRESENTA

ALEJANDRO MILLÁN FIGUEROA

DIRECTOR: QFB PATRICIA VIDAL MILLÁN  
ASESOR: QFB PABLO JUÁREZ DE LOS SANTOS

Ciudad de México, 2016



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis 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.

## ÍNDICE

### CAPITULO I

HISTORIA DE LA COAGULACIÓN SANGUÍNEA.....	4
Teoría del enfriamiento y del contacto con el aire.....	4
Teoría de la detención del flujo sanguíneo.....	4
Teoría de la pérdida de la <i>fuera vital</i> .....	5
Período pre-clásico.....	5
Período clásico.....	6
Período de la protrombina.....	8
Edad de oro de la coagulación.....	8
Época actual.....	11
Referencias.....	12

### CAPITULO II

FISIOLOGÍA DE LA COAGULACIÓN.....	13
Hemostasia primaria.....	13
Fase vascular.....	13
Fase plaquetaria.....	16
Hemostasia secundaria.....	21
Fase plasmática (Mecanismo de la coagulación).....	21
Factores dependientes de vitamina K. (II, VII, IX, X).....	22
Factores independientes de vitamina K.....	22
Teoría clásica de la coagulación.....	23
El mecanismo intrínseco.....	23
El mecanismo extrínseco.....	23
Vía común.....	24
<i>Modelo celular de la coagulación</i> .....	24
Iniciación.....	26
Amplificación.....	28
Propagación.....	30
Fase Fibrinolítica.....	32
Fase de control.....	33

Referencias.....	33
------------------	----

### CAPITULO III

CONTROL DE CALIDAD EN EL LABORATORIO DE HEMOSTASIA.....	35
<i>Fase preanalítica</i> .....	35
<i>Fase analítica</i> .....	38
<i>Fase postanalítica</i> .....	39
Referencias.....	39

### CAPITULO IV

PRUEBAS DE ESCRUTINIO HEMOSTÁTICO.....	41
Cuenta plaquetaria.....	41
<i>Tiempo de hemorragia</i> .....	43
<i>Prueba de agregación de las plaquetas</i> .....	45
<i>Prueba de retracción del coágulo</i> .....	46
<i>Tiempo de Protrombina (TP)</i> .....	47
Tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPA).....	51
Tiempo de Trombina (TT).....	54
Fibrinógeno (Método de CLAUSS).....	57
Recomendaciones cuando hay alargamiento del TP y/o TTPa... ..	60
Cuantificación del factor XIII.....	60
Referencias.....	62

### CAPITULO V

COAGULOPATÍAS DE LA HEMOSTASIA PRIMARIA.....	63
Diagnóstico de los trastornos hemorrágicos.....	63
Abordaje diagnóstico del sangrado de origen hematológico.....	64
TRASTORNOS DE LA HEMOSTASIA PRIMARIA.....	66
Enfermedad de von Willebrand.....	66
Trombastenia de Glanzmann.....	78
Síndrome Bernard Soulier.....	81
Deficiencias de almacenamiento (del pool plaquetario).....	84
Referencias... ..	86

## CAPITULO I

### HISTORIA DE LA COAGULACIÓN SANGUÍNEA

Los intentos iniciales más antiguos para controlar el sangrado los realizaron los griegos, quienes perfeccionaron el uso de las ligaduras, mientras que los faraones egipcios epilépticos confiaban en su “hombre hemostático” para que controlara sólo con su presencia, el sangrado de las trepanaciones a las que eran sometidos. Sin embargo fue hasta la Edad Media que se dio un avance significativo en la hemostasia, con el uso de la cauterización y del aceite hirviendo, que desarrollo la medicina árabe. Entre los primeros médicos en descartar el uso del cauterio se encuentran Salicetti de Bologna (1210-1270), su estudiante Lanfranchi y el francés Henri de Mondeville (1260-1320), quienes recomendaron el uso de pinzas hemostáticas, la compresión digital y la ligadura de vasos para el control de la hemorragia.<sup>1</sup>

Tiempo después Wilhelm Fabry de Hilden (1560-1624) inventó el primer torniquete, quien improvisó una sencilla ligadura ajustable por medio de un palo de madera.

Durante este periodo el conocimiento de los trastornos de la coagulación no existía, con algunas excepciones que, en retrospectiva, adquirieron significado. Por ejemplo, la prohibición de la circuncisión que refiere El Talmud en caso de que ésta haya resultado fatal en dos hijos, de manera sucesiva puede reflejar el primer reconocimiento de la hemofilia.<sup>1</sup>

#### Teoría del enfriamiento y del contacto con el aire

Los antiguos filósofos y médicos griegos pensaron que la coagulación de la sangre se producía a través de la solidificación por enfriamiento. Este concepto prácticamente no sufrió cambios durante más de quince siglos.

El descubrimiento de la circulación sanguínea permitió afirmar que la sangre tiene que volver al corazón para dos fines: licuarse mediante el calor del corazón y preñarse del *espíritu vital* venido de la respiración. Así, la sangre presta su beneficio gracias a que se mantiene líquida por el calor corporal. En el cadáver, los coágulos contienen sustancias en descomposición y putrefacción debidas al frío de la muerte.

La teoría del enfriamiento fue rebatida en la segunda mitad del siglo XVIII por el inglés William Hewson (1739 – 1774), quien observó cómo ocurría la coagulación bajo condiciones variables de temperatura. Demostró que la sangre recién extraída de los vasos coagulaba a mayor velocidad y que ésta no se coagulaba por el enfriamiento, sino por el calor. También observó que se podía mantener incoagulable al agregarle ciertas sales, como el sulfato de sodio. En contra de la teoría de Galeno, encontró que el frío retrasaba o impedía la coagulación y que ésta podía ocurrir sin la presencia de los glóbulos rojos, concluyendo que era una propiedad exclusiva del plasma.<sup>2</sup>

#### Teoría de la detención del flujo sanguíneo

La difusión de la teoría circulatoria a partir de 1628 introdujo un concepto de dinamismo en el líquido hemático. Los fisiólogos de la época atribuían al movimiento circulatorio varias propiedades que mantenían líquida la sangre; así, la formación de un coágulo se interpretaba como el cese de este movimiento vital. El problema de la precipitación de la sangre para formar un coágulo fue abordado en el siglo XVII por Marcelo Malpighi (1628 –1694), quien estudiando cuidadosamente los coágulos cadavéricos de las cavidades cardíacas, logró eliminar las *partículas rojas* mediante varios lavados, lo que le permitió descubrir la fibrina. En la obra *De Polypo Cordis*, publicada en 1666, menciona: “... Hay en la sangre una materia más abundante para formar la costra... tras repetidos lavados...todo el coágulo se vuelve pálido. Si os complace la vista de una cosa bella, examinad esta sangre al microscopio. Veréis un tejido fibroso y una red de hilos. Creo que esta

*retícula blanca de la sangre es la fuerza de todo el coágulo, prestando mayor firmeza a su estructura ... La blanca estructura de la sangre se halla constituida por una apretada red de finas mallas, con lo que la costra que se forma es muy compacta*". Malpighi pensaba que la red de fibras estaba compuesta por la aglutinación de filamentos más pequeños que viajan en el torrente sanguíneo en forma diminuta, separadas entre sí gracias a la mezcla originada por la fuerza impelente del corazón.<sup>3</sup>

### **Teoría de la pérdida de la *fuerza vital*.**

Harvey pensaba que la sangre contenía una *fuerza vital* que la mantenía líquida y que al extraerla de los vasos, esa fuerza se evaporaba. Thomas Willis (1621 – 1675), quien estudiaba medicina en Oxford durante la época en que Harvey dio cursos allí para demostrar experimentalmente la doctrina de la circulación de la sangre, pensaba que ésta se formaba en el interior de las venas por una *fermentatio* natural y que la coagulación era similar a la formación del cuajo láctico.

John Hunter (1728 – 1793), otro de los exponentes del vitalismo en Inglaterra, suponía que la sangre estaba *animada* y que la retracción del coágulo era la acción final de su *animación*, relacionando este fenómeno con el *rigor mortis* de los músculos cadavéricos. A finales del siglo XVIII, Hewson atribuía la coagulación a la *linfa coagulable* de la sangre, que seguramente era el fibrinógeno, descubierto casi un siglo después en la Universidad de Upsala por Olaf Hammarsten (1841 – 1912).<sup>4</sup>

### **Período pre-clásico**

Al iniciarse el siglo XIX se conocía bien la existencia de la fibrina y se consolidaba la idea de Hewson de que la coagulación es una propiedad del plasma. Para 1832 Johannes Müller (1801 – 1858), en Alemania, atacó la teoría de la *fuerza vital*, afirmando que la sangre no estaba animada, debido a que sus células carecen de movimiento propio. Descartó a los glóbulos sanguíneos como la fuente de la fibrina y reafirmó que ésta se encuentra disuelta en el plasma.<sup>5</sup>

Rudolph Virchow, el destacado patólogo alemán, pensó que el oxígeno tiene efecto sobre la coagulación y en 1856 destacó la importancia de estudiar los exudados, que podrían proporcionar datos para explicar el fenómeno; también afirmó que la fibrina no existía en los fluidos en un estado líquido, sino que debía haber un precursor de características completamente diferentes, para el que propuso el término *fibrinógeno*, aún sin demostrarlo.<sup>6</sup>

En 1861 Alexander Schmidt (1831 – 1894), nacido en Estonia, mezcló el suero y los coágulos con grandes volúmenes de alcohol y logró aislar una sustancia que podía coagular completamente soluciones de plasma a un pH neutro y a 37 grados de temperatura. Después de la reacción, el suero remanente aún contenía actividad procoagulante. Esto le convenció de la naturaleza enzimática de la reacción y llamó a la sustancia procoagulante *fermento de la fibrina* y posteriormente *trombina*.

Al mezclar la sangre entera con alcohol, no ocurría lo mismo, por lo que concluyó que dicho *fermento* no existe en la sangre como tal, sino en forma de un precursor. Más tarde Cornelius Pekelhearing (1848 – 1922) llamó *protrombina* a ese precursor.

Entre 1877 y 1879, Olav Hammerstein (1841 – 1932), de la Universidad de Upsala, observó que la velocidad de la coagulación y la cantidad de fibrina generada varían con la concentración de calcio, como ocurre en la leche. Clasificó al calcio como una *sustancia fibrinoplástica*. Por vez primera logró aislar fibrinógeno del plasma en una forma muy pura, precipitándolo después de saturar el plasma con cloruro de sodio y, por ser insoluble en agua, lo clasificó como globulina.

Hammerstein observó en 1899 que el fibrinógeno puro no coagulaba al agregarle calcio, sino sólo cuando éste se mezclaba con la trombina. Así se concluyó que el calcio sólo es necesario para la aparición de trombina y no para la generación de fibrina.<sup>7</sup>

## Período clásico

A principios del siglo XX aún prevalecía un gran desconcierto sobre la coagulación de la sangre. Se habían descrito varios hechos en forma aislada, como la capacidad de los tejidos de acelerar la coagulación, observada por Buchanan, la presencia de un *fermento procoagulante* tanto en los coágulos como en el suero, descrita por Schmidt y la necesidad del calcio para que ocurriera. Estos conocimientos fueron revisados extensamente por Paul Morawitz (Fig. 1.1)<sup>1</sup>, quien logró integrar una teoría unitaria que ha resultado clásica a partir de su difusión en 1905.<sup>8</sup>



Fig. 1.1. Paul Morawitz (1879 – 1936).

Entre 1903 y 1906 Morawitz publicó una serie de trabajos sobre la coagulación de la sangre, que fueron resultado de la cuidadosa revisión de los conocimientos existentes hasta entonces, en especial el trabajo de Fuld y Spiro de 1904.

En la nueva teoría, Morawitz reunió los cuatro factores descubiertos hasta esa época: fibrinógeno, protrombina, calcio y factor de los tejidos (factor tisular o tromboplastina la cuál contiene trombocinasa). La nueva teoría, dada a conocer en 1905 en una extensa monografía de más de 100 páginas y 490 citas bibliográficas, fue la base del enorme desarrollo que experimentó el conocimiento sobre la fisiología de la coagulación durante el siglo XX. Morawitz propuso que la coagulación de la sangre ocurría en dos etapas. La primera era la conversión de protrombina a trombina mediante la acción del factor tisular en presencia de calcio y la segunda mediante la conversión de fibrinógeno a fibrina gracias a la acción de la trombina (Fig. 1.2)<sup>2</sup>.

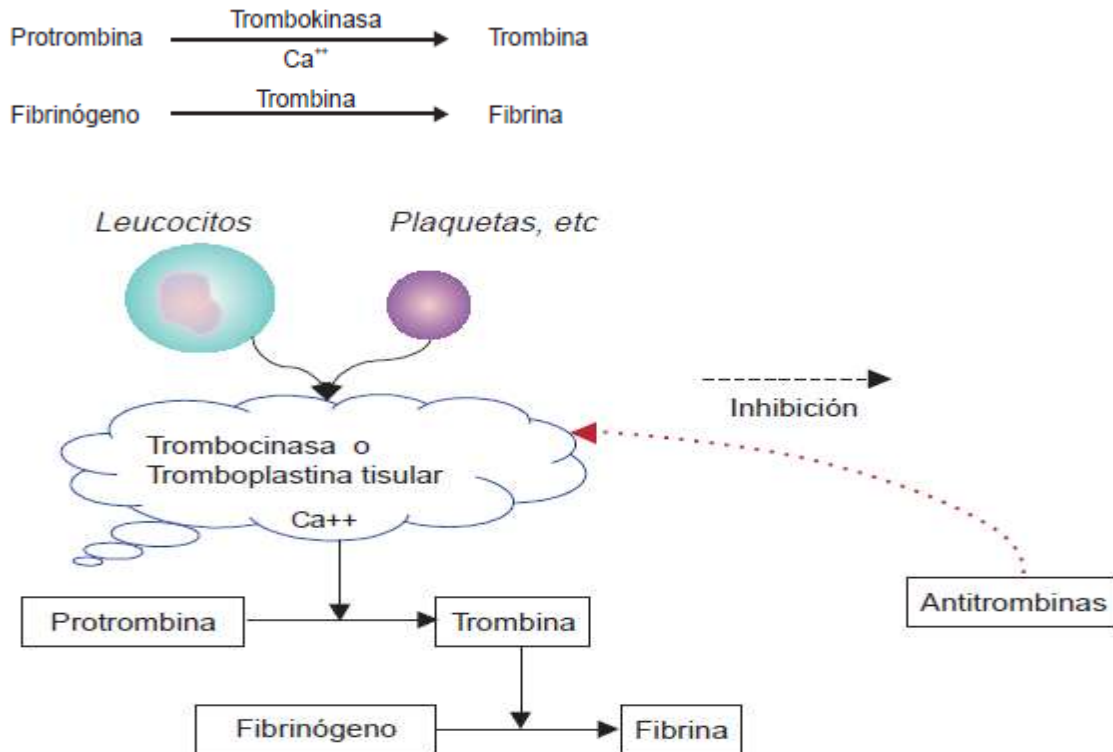


Fig. 1.2. Esquema de Morawitz. "Teoría clásica de la coagulación" La coagulación comprende cuatro elementos básicos: protrombina, fibrinógeno, calcio y Factor tisular (Tromboplastina).

Introdujo el término *trombokinasa* para designar la sustancia activa de los jugos tisulares y prefería el término *trombógeno* (en lugar del término *protrombina*) para designar al precursor de la trombina. Consolidó el concepto enzimático de la coagulación, al comparar esta función con la generación de tripsina a partir del tripsinógeno mediante la acción de la enterocinasa. Morawitz resumió la doctrina de la coagulación con las siguientes palabras: *"En el plasma de la sangre circulante existen fibrinógeno, sales de calcio y probablemente también trombógeno. Una vez que la sangre sale de los vasos, los elementos formes, especialmente las plaquetas cuando se irritan por el contacto con cuerpos externos, liberan trombokinasa dentro del plasma. La trombokinasa, a su vez, forma trombina, junto con trombógeno y sales de calcio"*.<sup>9</sup>

William Henry Howell (1860 – 1945), mejor conocido por haber descrito las inclusiones de los eritrocitos (cuerpos de Howell-Jolly), también mostró un gran interés por la coagulación. En la segunda edición de su tratado de fisiología, publicado en 1908 mencionó la teoría de Morawitz prácticamente sin modificaciones. En los siguientes años estudió el factor tisular, al que dio el nombre de *tromboplastina*, término que se ha empleado hasta la actualidad. Al estudiar las propiedades procoagulantes de la tromboplastina, su alumno Jan MacLean descubrió en 1916 un principio anticoagulante, al que el propio Howell llamó *heparina*.

Este hecho hizo que Howell modificara el concepto sobre la coagulación y en su tratado de fisiología de 1919 sostenía que la heparina era una *anti-protrombina* que viajaba en el plasma unida a la protrombina para impedir la coagulación y que la tromboplastina separaba esta unión, liberando a la protrombina para que mediante la acción del calcio se convirtiera a trombina. La heparina disociada, a su vez, se unía al exceso de tromboplastina para limitar el proceso de coagulación. La teoría de Howell terminó por imponerse a través de numerosos escritos y libros para mantenerse por largos años.



Las técnicas de laboratorio para estudiar la coagulación de la sangre se apoyaban en su teoría. De acuerdo a Jaques, el papel dominante de Howell en el ámbito científico de Norteamérica hizo imponer y mantener su teoría por muchos años e impidió que los siguientes descubrimientos fueran aceptados con facilidad. Eso influyó para que los editores de numerosas revistas no aceptaran la divulgación de nuevos conocimientos, como la aparición de la prueba de protrombina de Armando Quick (Fig. 1.3)<sup>3</sup>. La preparación y la naturaleza de la protrombina y el descubrimiento de la globulina antihemofílica.<sup>2</sup>

### Período de la protrombina

A fines de la década de 1920, Henrik Dam, trabajando en la Universidad de Copenhague, diseñó experimentos para demostrar el papel del colesterol en la dieta. Descubrió que en los pollos alimentados sin grasas se desarrollaba una enfermedad hemorrágica, que se corregía administrando un extracto lipídico de alfalfa. Sus estudios le llevaron, a principios de la década de 1930, a aislar y caracterizar el compuesto activo, la filoquinona, que se conoció como la *vitamina de la coagulación*. Debido a que el término en danés se escribe con k, se le denominó *vitamina K*.<sup>10</sup>

Por su parte, Edward A. Doisy, trabajando en San Luis Missouri, demostró que además de las plantas verdes, numerosas bacterias sintetizan vitamina K. A ambos investigadores se les concedió el Premio Nobel en 1941 por el descubrimiento de esta vitamina liposoluble.<sup>11</sup>

El descubrimiento de la vitamina K significó un avance en el conocimiento sobre la bioquímica de la coagulación y su empleo en clínica originó resultados espectaculares en la enfermedad hemorrágica del recién nacido y en la hemorragia colémica.

A mediados de la década de 1930, Armand Quick (1894 – 1978) desarrolló un método de laboratorio para reproducir la teoría de la coagulación de Morawitz. En esa prueba añadía extractos de tejido al plasma en presencia de calcio para convertir la protrombina a trombina y ésta a su vez transformar el fibrinógeno en fibrina. Debido a que el trabajo de Quick tenía como fundamento la teoría de Morawitz y no coincidía con la teoría de Howell, fue rechazado ocho veces de las revistas más influyentes, antes de ser publicado en 1936.<sup>12</sup> Como sólo se conocían cuatro factores, se pensaba que el proceso se iniciaba al activar la protrombina, lo que explica el nombre con el que aún se conoce esta prueba de coagulación “Tiempo de Protrombina”. La nueva prueba permitió entender la función de la vitamina K y las enfermedades hemorrágicas en que ésta disminuye, así como vigilar el tratamiento con los anticoagulantes orales recién descubiertos. Hasta la actualidad, el Tiempo de Protrombina es la prueba de coagulación que se realiza con más frecuencia.



Fig. 1.3. Armand Quick, uno de los forjadores del conocimiento actual sobre la coagulación. Desarrolló la prueba de coagulación más empleada, el Tiempo de Protrombina y descubrió los factores V y VII.

### Edad de oro de la coagulación

El propio Quick observó algunas discrepancias en los resultados del Tiempo de Protrombina: encontró que si la prueba se hacía varias horas después de la extracción de sangre, el tiempo de coagulación se prolongaba, y si se practicaba inmediatamente a la extracción de sangre, el tiempo de coagulación era más breve. Corroboró que en el primer caso, el tiempo de coagulación se abreviaba al agregar el plasma de pacientes tratados con cumarínicos. En 1948 postuló la existencia de dos factores más; un quinto factor que acelera la coagulación y que se destruye durante el almacenamiento, por lo que le llamó *acelerina* o *factor lábil* y de un sexto o *factor estable*. A la postre, resultaron

servariantes de la misma sustancia, así que este último se eliminó de la lista de factores de la coagulación.

Casi en forma simultánea, Paul Owren (1905 – 1990), en Noruega, también descubrió el quinto factor. Al año siguiente (1949) André de Vries propuso la existencia de un factor que mejoraba la conversión de protrombina en el suero y sin embargo la sigue mejorando, que fue descrito en forma independiente el mismo año por Benjamín Alexander (1909 – 1978) y el mismo Owren en 1950. Este último llamó *convertina* al nuevo factor y *proconvertina* a su precursor, al que correspondió el número séptimo entre los factores que causan la coagulación del plasma.

Arthur Patek encontró en 1936 que al agregar plasma normal al plasma de un enfermo con hemofilia se corrige el tiempo de coagulación y sugirió que la fracción cruda del plasma normal contenía un principio al que se llamó *factor antihemofílico*.<sup>14</sup>

En 1947 en Buenos Aires, Alfredo Pavlovsky (1907–1984) comunicó que el tiempo de coagulación de la sangre de un hemofílico se abreviaba al agregar sangre de otro hemofílico y que la transfusión de plasma de ciertos enfermos con hemofilia también abreviaba el tiempo de coagulación de otro hemofílico, con lo que se postuló la existencia de dos tipos de esta enfermedad. Así, en 1952 Paul Aggeler (1911 – 1969) e Irving Shulman en Inglaterra postularon la existencia de otro factor, al que llamaron *componente tromboplastínico del plasma*, y que para algunos fue la largamente postulada y buscada *tromboplastina del plasma*, que suponían era análogo en función a la tromboplastina de los tejidos.<sup>15</sup>

El mismo año, Rosemary Biggs (1912 - 2001), Stuart Douglas y Robert MacFarlane (1907 – 1987) comunicaron haber encontrado siete enfermos con una anomalía hemorrágica diferente a la hemofilia clásica, a la que llamaron *Enfermedad de Christmas* por el nombre de uno de los niños que la padecía (Stephen Christmas). A este nuevo factor descubierto se le llamó también *factor de Christmas* y posteriormente le correspondió el número IX.<sup>16</sup>

En 1955 François Duckert (1922 – 1998) encontró una alteración de la coagulación en una mujer llamada Audrey Prower y describió un principio al que identificó como un *factor del suero* que se encontraba disminuido en enfermos que ingerían anticoagulantes orales y en los que sufrían hepatitis. Al año siguiente (1956) y de manera independiente, Telfer comunicó la primera deficiencia familiar de este factor y un año después (1957) Cecil Hougie encontró una alteración similar en un enfermo llamado Rufus Stuart. Más adelante, al nuevo factor de Stuart-Prower le correspondió el número X.

Robert Rosenthal descubrió una tercera clase de hemofilia en 1953 que, a diferencia de las previamente descritas, afectaba a dos mujeres y un varón de una familia. Atribuyó la enfermedad a la falta de un factor al que llamó *antecedente tromboplastínico del plasma*. A la enfermedad la llamó Hemofilia C. Varios años después, a este factor se le asignó el número XI.

En 1955 Oscar Ratnoff comunicó un defecto en la coagulación de un ferrocarrilero llamado John Hageman y su estudio le llevó a descubrir un nuevo factor al que dio el nombre del propio enfermo (*factor de Hageman*). Cinco años después se le asignó el número XII.

Entre 1944 y 1948 Robbins y Laki describieron el *factor estabilizador de la fibrina*, que en 1963 pasó a ser el número XIII.

Para mediados de la década de 1950 se habían descrito tantos factores con nombres y propiedades diferentes, que existía una gran confusión sobre los compuestos que participaban en la coagulación. La *trombocinasa* de Morawitz había resultado ser la suma de numerosas fracciones diferentes. Varios investigadores habían descubierto el mismo factor y habían propuesto términos diferentes, así que se hizo necesario establecer una nomenclatura que dejara claro cuántas sustancias existían. La idea vino de Irving Wright (1901-1997), profesor de Medicina Interna en Cornell University, quien hizo la propuesta en 1954 durante una conferencia internacional de

trombosis. El mismo año se estableció el *Comité Internacional para Nomenclatura de los Factores de Coagulación* bajo la presidencia del propio Wright y contó con 23 miembros, entre los que sobresalieron los nombres de Kenneth Brickhous, Robert Macfarlane, Paul Owren, Alfredo Pavlovsky, Armand Quick, Oscar Ratnoff, Walter Seegers, Jean Pierre Soulier y Marc Verstraete.<sup>17</sup>

Milstone explicó en 1949 que durante la lesión vascular, la sangre se ponía en contacto con los jugos tisulares, que producen la primera aparición de un coágulo para sellar la herida. Esta primera capa aísla a la sangre del estímulo tisular y si cesara el proceso por falta de estímulo, el coágulo inicial podría ser insuficiente para contener la hemorragia. Una reacción en cadena perpetuada después de que se pierdía el contacto con el factor tisular, permitía continuar la reacción hasta generar la suficiente cantidad de fibrina y consolidar el coágulo hasta hacerlo muy firme mediante la retracción. Este concepto continúa siendo fundamental en la moderna concepción de la coagulación.<sup>18</sup>

En 1964 dos grupos de investigadores concibieron, casi en forma simultánea, una serie de reacciones enzimáticas secuenciales, en las que el producto de una serie activaba a la siguiente, y la compararon a una reacción *en cascada*, término que aún se emplea en un amplio sector de la comunidad científica. El concepto sobre una *cascada de la coagulación* se debe a Oscar Ratnoff en colaboración con Davie en los Estados Unidos, y a Macfarlane en Inglaterra.<sup>19-20</sup>

El modelo establecía que la coagulación se inicia de dos maneras. Una por la activación del factor de contacto (XII), a lo que se denominó *vía intrínseca*, y otra a través del factor VII y el factor tisular, a lo que se denominó *vía extrínseca*. Ambas vías conducen a la activación del factor X hasta generar fibrina, a lo que se llamó *vía común*.

Así, a mediados del siglo XX se vivió una verdadera edad de oro en el conocimiento sobre la coagulación, cuando se dilucidó prácticamente en forma completa su mecanismo. Inmediatamente se descubrieron varios sistemas de regulación de la hemostasia: los diferentes tipos de antitrombinas, siendo la más importante la III, el sistema fibrinolítico, el sistema de las proteínas C (*autoprotrombina II anticoagulante*), S y trombomodulina. También se descubrieron las innumerables interrelaciones de la coagulación con otros sistemas de defensa orgánica, como los de la inflamación, complemento y de la regulación del tono y crecimiento vascular.<sup>2</sup>

A continuación se presentan en la (Fig. 1.4)<sup>1</sup>, de manera resumida los aspectos más importantes ocurridos durante la edad de oro de la coagulación sanguínea.

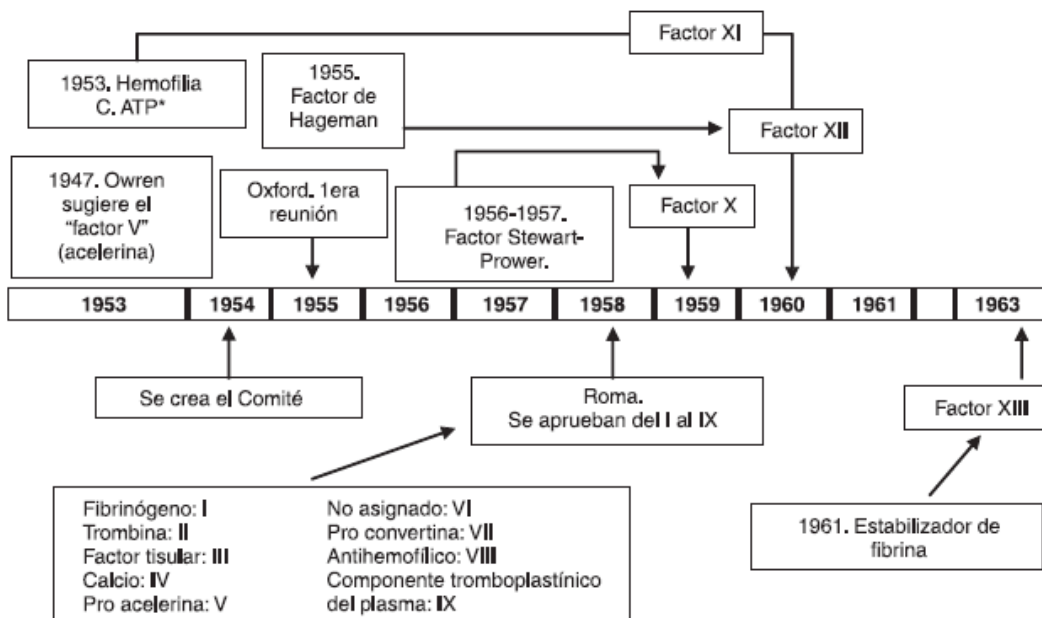


Fig. 1.4. Edad de oro de la coagulación. Aparecen el año de descubrimiento de varios factores y el año en que fueron incorporados al sistema de nomenclatura del Comité Internacional para la Estandarización y Nomenclatura de los Factores de la Coagulación Sanguínea. \*ATP: antecedente trombotástico del plasma.

## Época actual

En la década de 1980 se cuestionó el modelo de la coagulación basado en las vías extrínseca, intrínseca y común. No era suficiente para explicar la hemorragia grave que ocurre en los hemofílicos y la vía intrínseca perdió importancia.

En su sentido más amplio, el concepto actual sobre la coagulación no difiere notablemente de la doctrina de Morawitz. La moderna visión de la coagulación da énfasis al papel de las células como fuente de factor tisular y de fosfolípidos de superficie para integrar los complejos enzimáticos. Siendo el componente primordial de los tejidos, las células ya estaban incluidas también en la *trombocinasa*.

Entre los hitos de este siglo de la coagulación se encuentran las numerosas técnicas de laboratorio que exploran casi la totalidad del sistema y permiten hacer diagnósticos de alta precisión. Los resultados inmediatos sobre la terapéutica hemostática, anticoagulante, antiplaquetaria y fibrinolítica han sido evidentes. Con el perfeccionamiento de las transfusiones de sangre se logró separar sus fracciones y preparar concentrados de factores específicos a partir del plasma. Una aportación mayor ha sido la producción de algunos de ellos mediante la biotecnología (factores VIIIr, IXr y VIIr). También se han producido concentrados de proteínas anticoagulantes, como la *antitrombina-III*, la *proteína C activada* y el *inhibidor de la vía del factor tisular*, que se han empleado no sólo en las enfermedades tromboticas, sino también en sepsis grave. La genética ha permitido descubrir la transmisión de enfermedades hemorrágicas y tromboticas y numerosos polimorfismos genéticos asociados a ellas. Con la integración de la doctrina de la coagulación hace un poco más de 100 años se abrió un panorama inconmensurable en la fisiología, en la patogenia y en la terapéutica médicas, que se ha extendido al campo no sólo de las enfermedades hemorrágicas, sino también de las tromboticas, en problemas de salud pública tan importantes y variados que van desde la aterosclerosis y su más grave complicación, el infarto agudo del miocardio, hasta la pérdida gestacional recurrente y los estados de preeclampsia.

Prácticamente no hay patología ni procedimiento médico o quirúrgico, que no tenga alguna relación con la fisiología y patología de la coagulación, porque la sangre y sus propiedades, normales o alteradas, están presentes en el cotidiano ejercicio de la medicina.<sup>2</sup>

#### Referencias

1. Jaime Pérez J, Gómez Almaguer D. Hematología la sangre y sus enfermedades. 3ª ed. México DF: Mc Graw Hill; 2012.
2. Isaguirre Ávila R. Centenario de la doctrina de la coagulación sanguínea. Arch Cardiol Mex.2005; 75 Supl 3: 118-129.
3. Malpighi M. *De viscerum structura exercitatio anatomica. Accedit dissertatio eiusdem de Polypo Cordis*. Bolonia, Iacobo Monti, 1666.
4. Forge E. *Histoire de la Chirurgie*. En: Lavastine L. Ed. Histoire Générale de la Médecine, de la Pharmacie, de l'art dentaire et de l'art vétérinaire. París. Albin Michel Editeurs, 1936; 2: 351.
5. Buchanan A: *Contributions to the physiology and pathology of the animal fluids*. London Med Gaz 1836; 18: 50-54.
6. Schmidt A: *Ueber den faserstoff und die ursachen seiner gerinnung*. Reichert DuBois Reymond's P. Arch Anat Physiol 1861: 545-587, 675-721.
7. Arthus M. *La coagulation du sang et les sels de chaux (rèfutation expérimentale des objections d'Alexander Schmidt)*. Arch Physiol 1896; 8: 47-61.
8. Wintrobe M. *Hematology, the blossoming of a science: a story of inspiration and effort*. Philadelphia: Lea & Fabiger, 1985: 102-103.
9. Arthus M. *Précis de Physiologie*. París: Masson & Cie Éditeurs, 1912: 32-37.
10. Dam H. *Vitamin K, its chemistry and physiology*. Adv Enzymol 1942; 2: 285-324.
11. Doisy EA, Binkley SB, Thayer SA. *Vitamin K*. Chem Rev 1941; 28: 477-517.
12. Quick A, Stanley-Brown M, Bancroft FW. *A study of the coagulation defect in hemophilia and in jaundice*. Am J Med Sci 1935; 190: 501-511.
13. Isaguirre Ávila R. A un siglo de la teoría clásica de la coagulación sanguínea. Rev Mex Anest. 2006; 29 (2): 116-123.
14. Patek AJ, Taylor FHL. *Hemophilia II. Some properties of a substance obtained from normal plasma effective in accelerating the clotting of hemophilic blood*. J Clin Invest 1937; 16: 113-124.
15. Pavlovsky A. *Contribution to the pathogenesis of hemophilia*. Blood 1947; 2: 185-191.
16. Izaguirre R. *Historia de la Hemofilia*. En: Martínez, C. Ed: Hemofilia. México: Editorial Prado, 2001: 1-17.
17. Fischer A. *Coagulation of the blood as a chainreaction*. Nature 1935; 1075: 135.
18. Milstone JH. *The chain reaction of the blood clotting mechanism in relation to the theory of hemostasis and thrombosis*. Blood 1949; 4: 1290-1297.
19. Davie EW, Ratnoff OD. *Waterfall sequence for intrinsic blood clotting*. Science 1964; 145: 1310-1312.
20. Macfarlane RG. *An enzyme cascade in the blood clotting mechanism and its function as a biochemical amplifier*. Nature 1964; 202: 498-499.

#### Referencias usadas en imágenes

1. Isaguirre Ávila R. Centenario de la doctrina de la coagulación sanguínea. Arch Cardiol Mex.2005; 75 Supl 3: 118-129.
2. Martínez-Murillo C. Mecanismos de activación de la coagulación. Rev Med Inst Mex Seguro Soc. 2006; 44 Supl 2: 51-58.
3. Isaguirre Ávila R. A un siglo de la teoría clásica de la coagulación sanguínea. Rev Mex Anest. 2006; 29 (2): 116-123.

## CAPITULO II

### FISIOLOGÍA DE LA COAGULACIÓN.

Todos los días de nuestras vidas se ven amenazados con macro y microtraumas que afectan la integridad de nuestro sistema circulatorio. Para esto la naturaleza ha ideado un sistema complejo pero ingenioso para mantener la sangre dentro del árbol vascular en forma líquida y sin coágulos y sin embargo permitir la formación rápida de un tapón sólido de sangre para cerrar roturas u otras lesiones de los vasos sanguíneos.<sup>1</sup>

Al generarse daño en las células endoteliales se expone el colágeno subendotelial, una proteína altamente trombogénica. Las plaquetas tienden a adosarse a esta proteína, fenómeno denominado “activación”. Durante la activación, la plaqueta sufre cambios en su forma y produce una reacción de liberación de sustancias por ejemplo: difosfato de adenosina (ADP), Tromboxano A2 (TxA2) y serotonina, las que tienden a reclutar un mayor número de plaquetas que se van agregando sobre las anteriores. Esta reacción plaquetaria se produce en minutos desde el inicio de la lesión y se denomina hemostasia primaria. Casi en forma simultánea, la liberación de factores titulares en el lugar de la lesión, combinados con factores plaquetarios, activa el sistema de la coagulación del plasma que culmina en la formación de la trombina. La trombina cataliza la formación de fibrinógeno en fibrina y estimula el reclutamiento y la liberación de más plaquetas. A esta se le denomina hemostasia secundaria y requiere de más tiempo para desarrollarse.

Finalmente se produce el tapón permanente, en donde la fibrina polimerizada junto con los agregados plaquetarios, forman una masa sólida que impide la hemorragia desde el lugar de la lesión.<sup>1</sup>

Podemos describir el mecanismo en una serie de acontecimientos:

1. Hemostasia primaria
  - Fase Vascular
  - Fase Plaquetaria
2. Hemostasia Secundaria
  - Fase Plasmática (mecanismo de coagulación)
  - Fase Fibrinolítica
  - Fase de control

#### Hemostasia primaria

##### Fase vascular

El aparato circulatorio está formado por una serie de componentes por los cuales circula la sangre y se divide en:

- Sistema arterial: se caracteriza por su alta velocidad, lo que produce un mínimo tiempo de tránsito, alta presión, un movimiento rítmico y constante de la sangre y un flujo casi laminar.
- Sistema venoso: se distingue por baja velocidad y produce un moderado a lento tiempo de tránsito, presión intermedia (depende del nivel en relación con el corazón); la sangre puede hallarse detenida y su flujo es menor laminar.
- Microcirculación: se caracteriza por baja velocidad, con largo tiempo de tránsito, baja presión y flujo constante; se desconoce la forma de flujo a este nivel.

- Cámaras cardiacas: en situaciones normales se asemeja al sistema arterial, pero cuando hay obstrucción a su vaciado se producen turbulencias del flujo sanguíneo, lo que reduce el tiempo de tránsito de la sangre a su través.

Los vasos sanguíneos están distribuidos a lo largo de todo el organismo y están formados por una serie de estructuras, de las cuáles las más importantes, desde el punto de vista hemostático, son la célula endotelial, la membrana basal o “subendotelial” y la capa muscular.

El endotelio vascular está constituido por una monocapa de células que “tapizan” todo el árbol vascular, Tiene una serie de funciones, entre ellas la síntesis de factores que regulan la interacción de la pared vascular con los componentes plasmáticos, como el factor de von Willebrand Y la colágena.<sup>2</sup> Es el órgano más grande de la economía y está formado por células endoteliales que intervienen directamente en varios aspectos de la hemostasia. Por una parte, poseen propiedades antiplaquetarias, anticoagulantes y fibrinolíticas, y por otra, cuando se lesionan o activan, ejercen acciones procoagulantes. El equilibrio entre las propiedades determina si se produce la formación, propagación o disolución de un trombo.<sup>1</sup>

Las funciones del endotelio se logran gracias a que:

-Sintetiza proteoglicanos, en particular sulfato de heparán, que es intensamente anticoagulante.<sup>2</sup>

-Sintetiza y libera prostaciclina (PGI<sub>2</sub>), un derivado del ácido araquidónico fuertemente vasodilatador y antiagregante plaquetario así como factor de relajación endotelial óxido nítrico (NO).<sup>3</sup>

-Produce proteínas antihemostáticas como la antitrombina (AT) y el cofactor II de la heparina (Coll-Hep) (inhibidores de factores hemostáticos activados), produce la trombomodulina (Tm) la cual inhibe a la trombina, y finalmente produce el inhibidor de la vía del factor tisular (IVFT) que es una proteína reguladora de la hemostasia.<sup>3</sup>

La membrana basal es una estructura que sirve de soporte para las células endoteliales y está formada por fibras de colágena, proteoglicanos, como el sulfato de dermatán y heparán y tejido conjuntivo.<sup>2</sup>

Por último se encuentra la capa muscular formada por músculo liso, cuya principal función es la contracción vascular para el control del flujo de la sangre y la presión arterial.<sup>2</sup>

La participación del sistema vascular en la hemostasia parece estar limitada a una vasoconstricción inmediata posterior a la lesión vascular. Las arterias pequeñas y las venas tienen una capa muscular que les permite contraerse rápida y fuertemente. Por otro lado, los capilares no tienen esta capa muscular, pero existe un esfínter “precapilar” que al contraerse reduce el flujo sanguíneo y se controla la hemorragia.<sup>2</sup>

Vasoconstricción refleja

Es fácil la activación de la vasoconstricción refleja. Después de un pinchazo no se reconoce de inmediato el lugar de la incisión; se percibe el dolor, pero no es posible identificar su situación. Unos 10 segundos después aparecen las primeras gotas de sangre. Durante este periodo se ha producido una vasoconstricción refleja de la microcirculación. Por consiguiente, tras una lesión de un vaso se desencadena un reflejo que provoca localmente su constricción o la disminución del flujo por constricción de los vasos (Fig. 2.1)<sup>1</sup>.

## Vasoconstricción

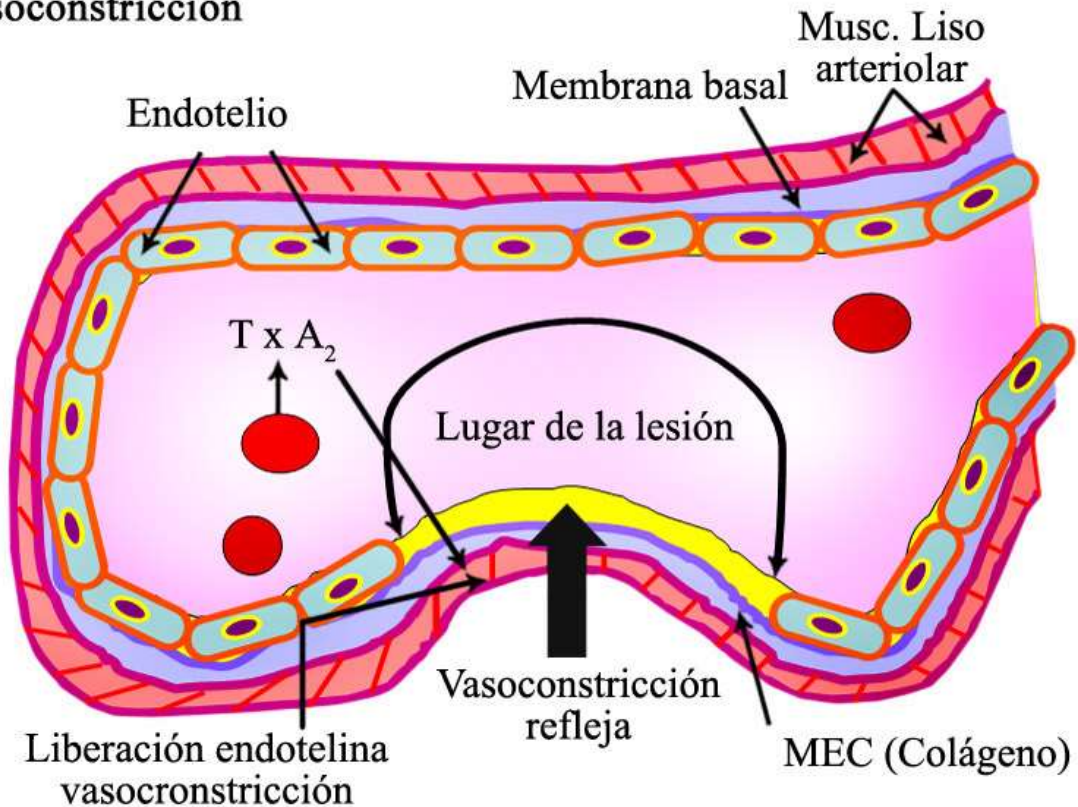


Fig. 2.1. Representación de la vasoconstricción en el lugar de la lesión.

Este mecanismo tiene dos finalidades: evitar la pérdida de sangre a través de la herida y provocar variaciones en la velocidad y tipo de flujo sanguíneo que permitan que actúe la fase plaquetaria. Hay dos tipos de inervación de la microcirculación con capacidad vasoconstrictora: las fibras simpáticas y la inervación sensitivomotora.

La estimulación de ambas provoca, por vía refleja, la liberación de sustancias con actividad vasoconstrictora: la noradrenalina, la adrenalina, la bradicidina, etc. Se conoce poco acerca de este mecanismo en su vertiente hemostática, aunque es seguro que posee una gran preponderancia en la producción de trombosis.

Por otro lado, la lesión del endotelio vascular activa directamente los otros componentes del mecanismo hemostático:

-Al exponerse la membrana subendotelial, las plaquetas se adhieren de inmediato y después se agregan.

-La coagulación se inicia a través del complejo factor tisular/factor VIIa (FT/FVIIa).

-El mecanismo fibrinolítico se activa al liberarse el activador hístico del plasminógeno que se encuentra dentro de la célula endotelial.<sup>2</sup>



## Fase plaquetaria

Las plaquetas son fragmentos celulares anucleados de 2 a 4 micras de diámetro que proceden del citoplasma de los megacariocitos de la médula ósea. Su función más reconocida es en el proceso de la hemostasia, ya que son indispensables para la formación del trombo primario, sin embargo, también juegan un papel importante y activo en la inflamación, la inmunidad, la progresión tumoral y por supuesto, en la trombosis<sup>4</sup> (Fig. 2.2)<sup>2</sup>.

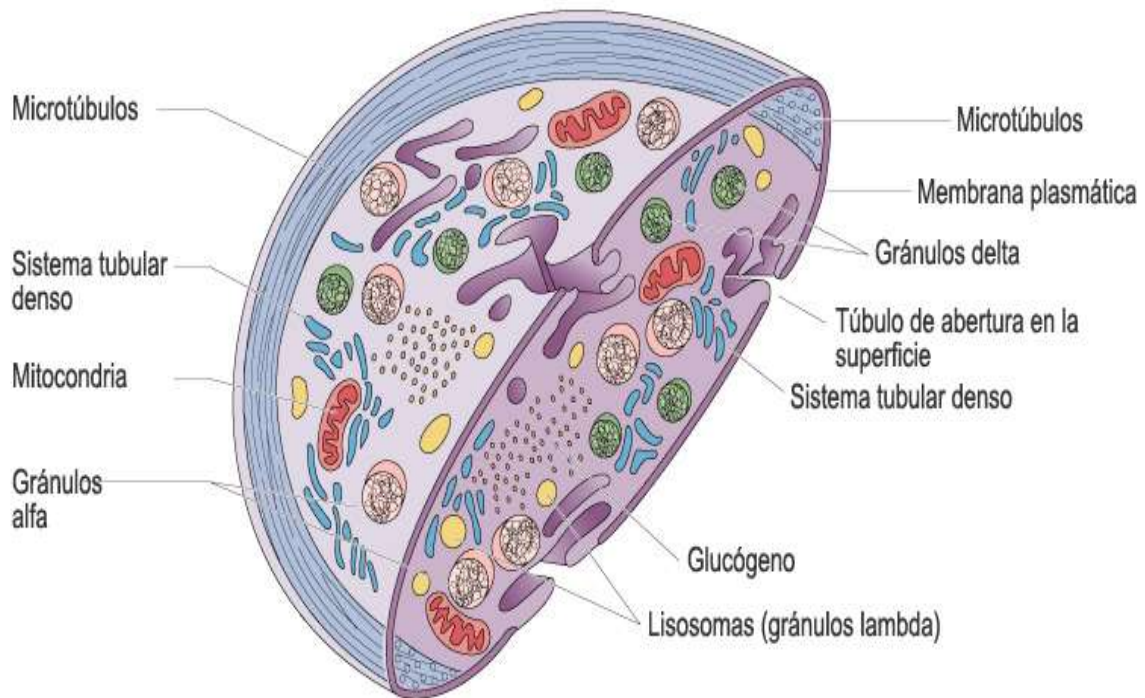


Fig. 2.2. Estructura de una plaqueta.

En la microscopía electrónica se observa que las plaquetas contienen diversos organelos: mitocondrias, peroxisomas, ribosomas, así como glucógeno y gránulos, estos últimos se dividen en tres tipos:

1) Alfa: que contienen fibrinógeno, factor de von Willebrand, factor de crecimiento derivado de plaquetas y otros factores de crecimiento (Cuadro 2.1)<sup>3</sup>.

Cuadro 2.1. Contenido de los gránulos alfa plaquetarios y su función.

Contenido	Función
<b>Quimiocinas Citocinas</b>	Regulación de inflamación, quimiotaxis
Factor plaquetario 4	
B Tromboglobulina	
RANTES	
Proteína inflamatoria de macrófagos 1 $\alpha$	
Interleucina 1, Interleucina 8	
<b>Proteínas adhesivas</b>	Interacciones celulares, coagulación
Trombospondina 1 y 2	
Fibrinógeno	
Fibronectina	
<b>Factores de crecimiento</b>	Proliferación y diferenciación celular, quimiotaxis, angiogénesis, síntesis de matriz extracelular
Factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF)	
Factor de crecimiento transformante $\beta$ (TGF $\beta$ )	
Factor de crecimiento epidérmico o epitelial (EGF)	
Factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF)	
Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 (IGF-I)	
Factor de crecimiento de hepatocitos (HGF)	
<b>Inmunoglobulinas</b>	Función inmunológica
IgA, IgE, IgM e IgG	
<b>Factores de la coagulación (V y VIII)</b>	Producción de trombina
<b>Factor de von Willebrand</b>	Adherencia plaquetaria a la colágena del subendotelio
<b>Inhibidor del activador de Plasminógeno</b>	Inhibición de la fibrinólisis
<b>P-selectina</b>	Interacción leucocito-plaqueta

Los gránulos  $\alpha$  contienen una gran cantidad de factores de crecimiento, proteínas adhesivas y factores procoagulantes.  
RANTES: Regulated on activation normal T cell expressed and secreted.

2) Gránulos delta o densos: que contienen ADP, Adenosin Trifosfato (ATP) y serotonina; que son potentes agonistas o activadores plaquetarios (Cuadro 2.2)<sup>3</sup>.

Cuadro 2.2. Contenido de los gránulos densos plaquetarios

Serotonina
Adrenalina
Noradrenalina
Dopamina
Histamina
Cationes divalentes (Ca <sup>+2</sup> y Mg <sup>+2</sup> )
ADP y ATP
GDP y GTP
P- selectina ( en la membrana)

Los gránulos densos contienen principalmente moléculas que promueven la activación plaquetaria (agonistas plaquetarios). Al liberarse el contenido de estos gránulos se garantiza que otras plaquetas serán activadas para formar el coágulo primario.

3) Gránulos Lambda: que son lisosomas, que ayudan a disolver el coágulo una vez que ha cumplido su función.<sup>5</sup>

Además de las funciones clásicamente descritas para las plaquetas, recientemente se han referido que a pesar de la ausencia de núcleo y de ADN, las plaquetas cuentan con un sistema para realizar síntesis proteica, poseen copias de ARNm para casi un tercio de las proteínas conocidas en el genoma humano, procesan el ARNm y traducen eficazmente distintas proteínas. Estos descubrimientos han cambiado la forma de ver a las plaquetas, reconociendo que tienen la capacidad de sintetizar proteínas como respuesta a cambios en su ambiente. Además, también se

ha demostrado la presencia de factores de transcripción y debido a que las plaquetas no tienen núcleo, se están investigando algunas funciones no genómicas de estos factores, tales como su efecto en vías de señalización que involucran la activación plaquetaria y su papel en la síntesis de *novo* de factores tanto pro- como antiinflamatorios.<sup>6</sup>

La gran cantidad de factores de crecimiento contenidos en los gránulos plaquetarios, la capacidad de síntesis de *novo* de proteínas, así como su activación microbicida y moduladora de la inflamación, favorecen la proliferación celular y la síntesis de matriz extracelular, promoviendo la cicatrización, la reparación de heridas y otras lesiones tisulares. Por todas estas funciones, se ha llevado a proponer el uso de plasma rico en plaquetas autólogo para la reparación y regeneración de distintos tejidos.<sup>7</sup>

Cuando se produce el daño vascular, las plaquetas toman contacto con la matriz subendotelial y a partir de este momento se producen tres fenómenos:

- La adhesión y el cambio de forma;
- La secreción (reacción de liberación);
- La agregación.

A estos tres eventos en conjunto se les conoce como reacción plaquetaria. Cuando hablamos de adhesión plaquetaria nos referimos a la unión de la plaqueta con el colágeno tipo IV de la membrana basal. Para tal efecto es necesaria la presencia del Factor von Willebrand (FvW). Esta proteína actúa como un puente molecular entre el colágeno y el receptor de Glucoproteínas Ib (GpIb) presente en la membrana plaquetaria<sup>1</sup> (Fig. 2.3)<sup>4</sup>.



Fig. 2.3. Adhesión plaquetaria.

El déficit genético del FvW (enfermedad de Von Willebrand) o de los receptores glucoproteicos da lugar a defectos en la adhesión.

La secreción o reacción de liberación de los gránulos plaquetarios se produce poco después de la adhesión. Es un fenómeno de activación plaquetaria y secreción que se inicia por la unión de los agonistas a los receptores plaquetarios. Dicha activación involucra a la fosfolipasa C, que determina la exposición de un complejo de fosfolípidos sobre la superficie plaquetaria, evento de crucial importancia dado que es el lugar en donde se ligan los factores de la coagulación y el calcio iónico para activar la vía Intrínseca de la coagulación y formación de la trombina.<sup>1</sup>

Finalmente ocurre la agregación plaquetaria, que es la adherencia entre las plaquetas<sup>1</sup> (Fig. 2.4)<sup>5</sup>.

Se conocen al menos, tres estímulos de la agregación. La liberación de ADP, el TxA2 (que además, es un potente vasoconstrictor) y la trombina. El fibrinógeno es un cofactor importante en la agregación plaquetaria. Las plaquetas activadas por ADP ligan el fibrinógeno, que después unen plaquetas contiguas a través de sus receptores la glicoproteína IIb-IIIa (GpIIb-IIIa).<sup>1</sup>

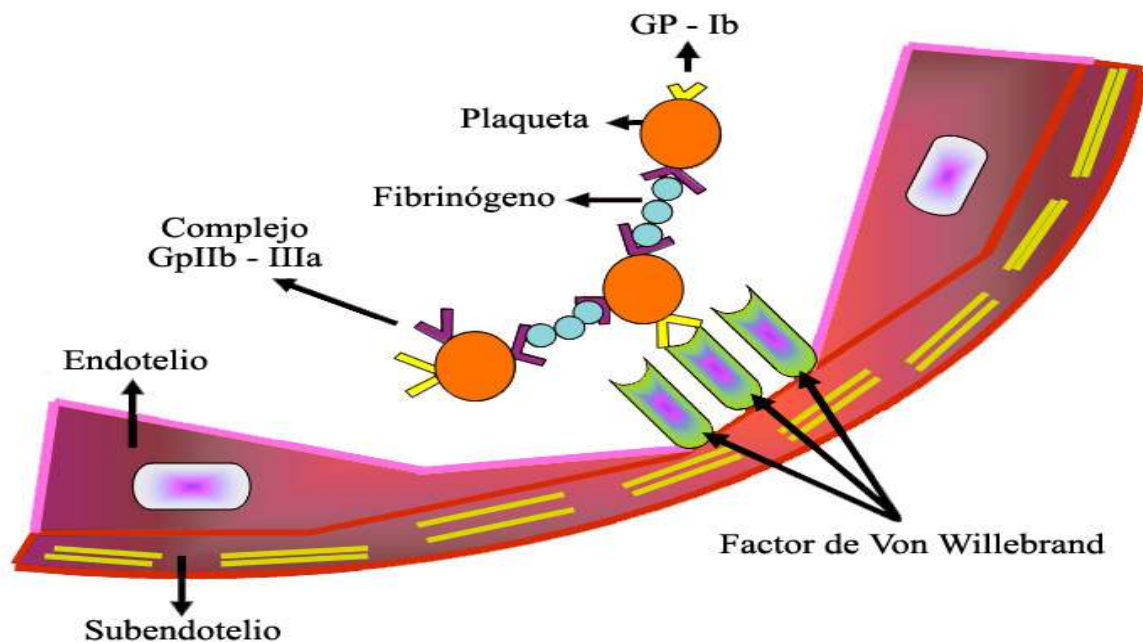


Fig. 2.4. Después de la adhesión plaquetaria, viene la agregación a través de la unión de las plaquetas mediante la GPIIb-IIIa y el fibrinógeno.

En condiciones fisiológicas normales ocurren estos mecanismos en la fase primaria de la hemostasia, sin embargo cuando ocurre una alteración en algunas de las Glicoproteínas (GP) que intervienen en esta fase de la hemostasia primaria, se rompe el equilibrio fisiológico dando lugar a diversas enfermedades como la enfermedad de von Willebrand donde el FvW está ausente o es anormal con repercusiones en la adhesión plaquetaria, enfermedad de Bernard Soulier donde se carece de la GpIb ocasionando también alteraciones en la adhesión plaquetaria y pacientes con una enfermedad que se denomina Trombastenia de Glanzmann, tienen una disminución o ausencia de GpIIb-IIIa que se manifiesta con disminución de la agregación plaquetaria y hemorragias severas (Fig. 2.5)<sup>6</sup>.

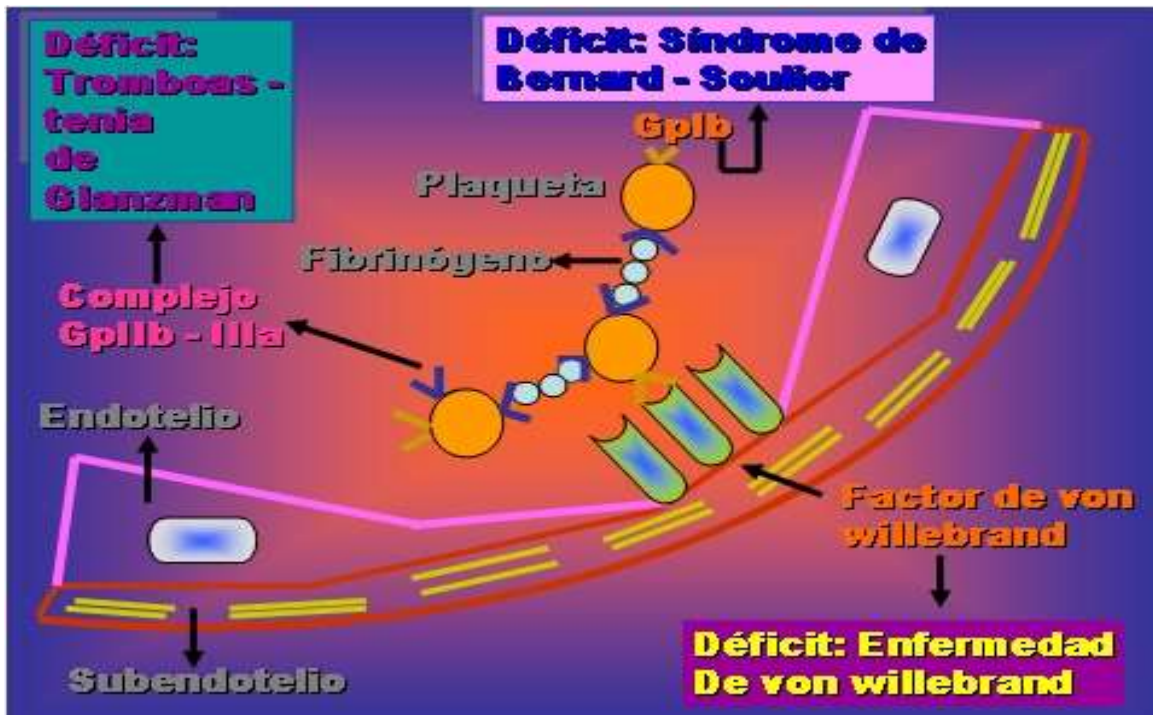


Fig. 2.5. La deficiencia cualitativa o cuantitativa del FvW, GPIb y GPIIb-IIIa, producen como resultado diferentes enfermedades en la fase primaria de la coagulación.

Habitualmente, la interacción de la prostaglandina 12 (PG12) y el NO inhiben la agregación plaquetaria.

El mecanismo de la hemostasia generado por las plaquetas es muy importante para cerrar pequeñas roturas de vasos sanguíneos de calibre microscópico que ocurren varias veces por día<sup>1</sup> (Fig. 2.6)<sup>7</sup>.

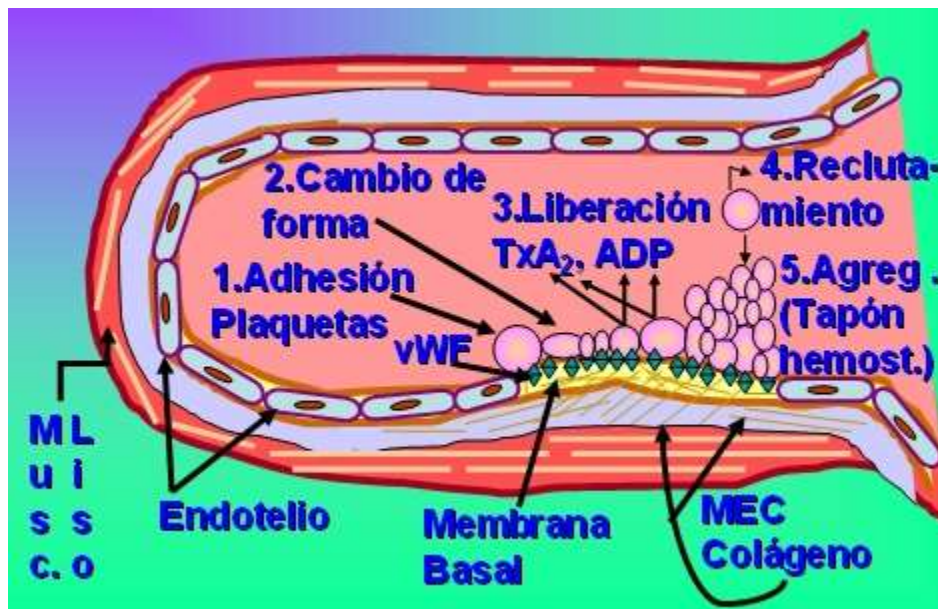


Fig. 2.6. Representación esquemática de los eventos que ocurren durante la hemostasia primaria.

## Hemostasia secundaria

Después de la fase primaria en donde el resultado final es un coágulo, es necesario estabilizarlo y hacerlo fuerte mediante una malla de fibrina que proporcionará estabilidad y resistencia para la reparación posterior del tejido. Para esto el organismo pone en marcha la fase secundaria de la hemostasia que a continuación se describirá.

### Fase plasmática (Mecanismo de la coagulación)

La coagulación de la sangre es el resultado final de una serie de reacciones complejas que abarcan proteínas plasmáticas llamadas factores de la coagulación. Las proteínas plasmáticas que actúan en la hemostasia son de tres tipos:

- *Proteínas estructurales:* Son proteínas cuya función consiste en modificarse o no a fin de contraer la estructura; en consecuencia, pertenecen a este grupo el fibrinógeno, el factor de von Willebrand y el factor tisular.
- *Cimógenos:* Son proteínas que circulan en estado inerte, pero que necesitan otra proteína que las active, y en estas condiciones pueden activar a su vez a otra. Es decir, una proteína activada actúa sobre los factores inactivos, al exponerles el centro activo que permite que activen a su vez a otro factor en estado inactivo. Se les denomina también **Proteasas de Serina** porque el centro activo es un grupo serina. Los factores activados se acompañan de una letra "a". Aquí debe recordarse que, si bien en condiciones fisiológicas casi todas estas proteínas circulan inactivas, un pequeño porcentaje de moléculas se halla naturalmente activado. Un ejemplo de estas proteínas es el factor II o protrombina, que por acción del factor Xa (X activado) se convierte en factor IIa, también llamado trombina. Pertenecen a este grupo los factores XII, XI, X, IX, VII, II, XIII y la proteína C.<sup>2</sup>
- *Cofactores:* Son proteínas encargadas de permitir que una proteína pueda actuar sobre otra. Estas proteínas pueden hallarse activadas o no; por ejemplo, para que el factor VIII ayude a que el factor IXa (factor IX activado) active al X es necesario que se encuentre en su forma activa, es decir factor VIIIa; en otros no se ha demostrado, por ejemplo, la proteína S. También es posible que un cimógeno, en su forma activa, actúe de cofactor de otra reacción de la coagulación, como sucede con el factor Xa que actúa de manera conjunta con el inhibidor del factor tisular para neutralizar a este factor. Se incluyen en este grupo al factor VIII, factor V, proteína S, activador tisular de plasminógeno (tPA), prourocinasa (Pro-UK) y antitrombina III.<sup>2</sup>

Por otro lado tenemos que existen factores dependientes e independientes de vitamina K (Fig. 2.7)<sup>8</sup>.

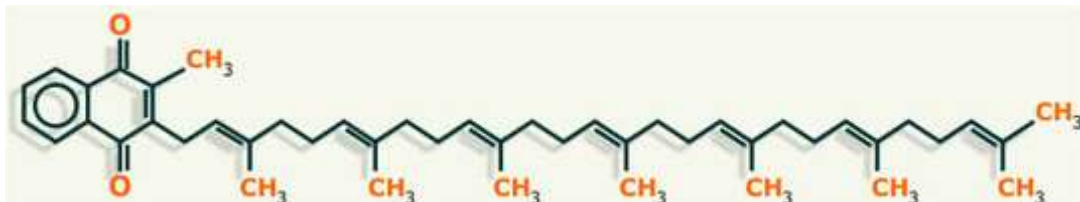


Fig. 2.7. Estructura química de la vitamina K.

## Factores dependientes de vitamina K. (II, VII, IX, X)

La activación de estos factores depende de un adecuado suplemento de vitamina K, la cual viene de la dieta y, una pequeña proporción, de la síntesis bacteriana en el tracto gastrointestinal. Los factores X, IX, II y VII sintetizados en ausencia de esta vitamina, son las llamadas proteínas inducidas por ausencia o antagonistas de la vitamina K (PIVKAS); estas proteínas son inactivas y, para ser biológicamente activas, necesitan la "carboxilación" de los ácidos glutámicos residuales.<sup>14</sup>

Los factores de la coagulación dependientes de vitamina K, comparten características bioquímicas y estructurales especiales; la más importante de estas es la presencia de un dominio de ácido y carboxiglutámico en la región amino-terminal de la molécula. Este dominio contiene entre 8 y 12 residuos de glutamato (Gla) y tiene 3 funciones de gran importancia fisiológica: 1) permitir la activación de la proteína a través de la carboxilación de residuos de ácido glutámico; 2) favorecer la unión con iones de calcio (Ca) y otros cofactores para catalizar las reacciones de proteólisis; 3) facilitar la interacción de los fosfolípidos de carga negativa para aumentar la actividad proteolítica.<sup>8</sup>

Además de la estructura, estos factores de la coagulación comparten características funcionales especiales; todos son sintetizados en el hígado y sufren cambios postranscripcionales consistentes en: eliminación del propéptido señal y la mencionada carboxilación de los residuos de ácido glutámico a través de la enzima glutamato-carboxilasa.<sup>8</sup>

Los antagonistas de la vitamina K (dicumarínicos) inhiben esta carboxilación y el resultado es un impedimento en la unión a los fosfolípidos en presencia de Ca.<sup>14</sup>

## Factores independientes de vitamina K

Son los que no necesitan la vitamina K para su producción, ya que no requieren el calcio para su actuación, pertenece a este grupo el resto de los factores.

A continuación se presenta en el (Cuadro 2.3)<sup>9</sup>, las características de los factores de coagulación.

Cuadro 2.3. Características generales de los factores de coagulación.

Factor	Sinónimo	Vida media (horas)	Concentración plasmática (µg/mL)	Cromosoma
Factor I	Fibrinógeno	72-120	2000-4000	4
Factor II	Protrombina	60-70	100-150	11
Factor V	Proacelerina, factor lábil	12-16	5-10	1
Factor VI	No asignado	--	--	--
Factor VII	Proconvertina, autoprotrombina I	3-6	0-5	13
Factor VIII	Factor antihemofílico A, globulina antihemofílica	8-12	0-1	X
Factor IX	Factor de Christmas, componente tromboplastínico del plasma, autoprotrombina II, factor antihemofílico B.	18-24	4-5	X
Factor X	Factor de Stuart-Prower, trombocinasa, autoprotrombina III.	30-40	8-10	13
Factor XI	Antecedente tromboplástico del plasma	52	5	4
Factor XII	Factor de Hageman	60	30	5
Factor XIII	Factor estabilizante de la fibrina, protransglutamidasa, fibrinasa, fibrinolisasa	4-8	10	1,6
FT	Factor tisular	--	--	1
Precalcreína	Factor de Fletcher	35	30-50	4
Cininógeno de alto peso molecular	Factor de Fitzgerald-Williams-Flaujeauc	150	70-90	3

## Teoría clásica de la coagulación

La coagulación de la sangre se produce en tres pasos fundamentales:

- En respuesta a la ruptura o a la lesión de un vaso sanguíneo se forman unas sustancias, que constituyen el llamado complejo activador de la protrombina.
- El activador de la protrombina cataliza la transformación de la protrombina en trombina.
- La trombina actúa como una enzima para convertir el fibrinógeno en fibras de fibrina, que atrapan plaquetas, eritrocitos y plasma para formar el coágulo.<sup>9</sup>

Al iniciarse la coagulación se forma el activador de la protrombina el cual puede producirse por dos vías: 1) la vía extrínseca, que comienza con un traumatismo de la pared vascular y de los tejidos circundantes y 2) la vía intrínseca, que se inicia en la propia sangre. El punto en común en ambas vías es la activación del factor X y a partir de este se avanza hasta la conversión de protrombina en trombina.<sup>1</sup>

### El mecanismo intrínseco

Para el inicio de la formación del activador de la protrombina comienza con un traumatismo de la propia sangre o con la exposición de la sangre al colágeno de la pared de un vaso sanguíneo lesionado. El proceso se produce mediante la siguiente cascada de reacciones:

#### 1. Activación del factor XII y liberación de fosfolípidos plaquetarios.

Debido al traumatismo el factor XII se activa para formar una enzima proteolítica llamada factor XII activado (XIIa). Simultáneamente, el traumatismo sanguíneo daña las plaquetas, por lo que se liberan fosfolípidos plaquetarios que contienen una lipoproteína llamada factor III plaquetario, que interviene en las reacciones de coagulación posteriores.

#### 2. Activación del factor XI.

El factor XIIa actúa enzimáticamente sobre el factor XI para activarlo. Este segundo paso de la vía intrínseca requiere la presencia de Cininógeno de Alto Peso Molecular (CAPM).

#### 3. Activación del factor IX por el factor XIa.

El factor XIa actúa luego enzimáticamente sobre el factor IX para activarlo.

#### 4. Activación del factor X.

El factor IXa junto con el factor VIIIa, los fosfolípidos plaquetarios y el factor III de las plaquetas dañadas, activan al factor X.<sup>9</sup>

### El mecanismo extrínseco

Para el inicio de la formación del activador de la protrombina comienza cuando la pared vascular o un tejido extravascular sufren un traumatismo y se produce mediante los pasos siguientes:

#### 1. Liberación de tromboplastina tisular (Factor tisular)

El tejido lesionado libera un complejo de varios factores, llamado Factor tisular (FT), estos factores son fosfolípidos de las membranas de los tejidos dañados y un complejo lipoproteico que actúa como enzima proteolítica.



## 2. Activación del factor X para formar factor X activado (Xa)

El complejo lipoproteico del Factor tisular se combina con el factor VII de la coagulación y en presencia de los fosfolípidos de los tejidos dañados y de iones calcio, actúa enzimáticamente sobre el factor X para dar factor Xa.<sup>9</sup>

### Vía común.

#### Efecto del factor Xa para formar el activador de la protrombina.

El factor Xa se combina inmediatamente con los fosfolípidos tisulares liberados, que forman parte del factor tisular y con el factor V para formar el complejo llamado activador de la protrombina. A los pocos segundos se activa la protrombina (factor II) formando trombina y este a su vez activa al factor I (fibrinógeno) para formar fibrina y factor XIII para la polimerización de la fibrina. El proceso de coagulación prosigue como se ha descrito<sup>9</sup> (Fig. 2.8)<sup>10</sup>.

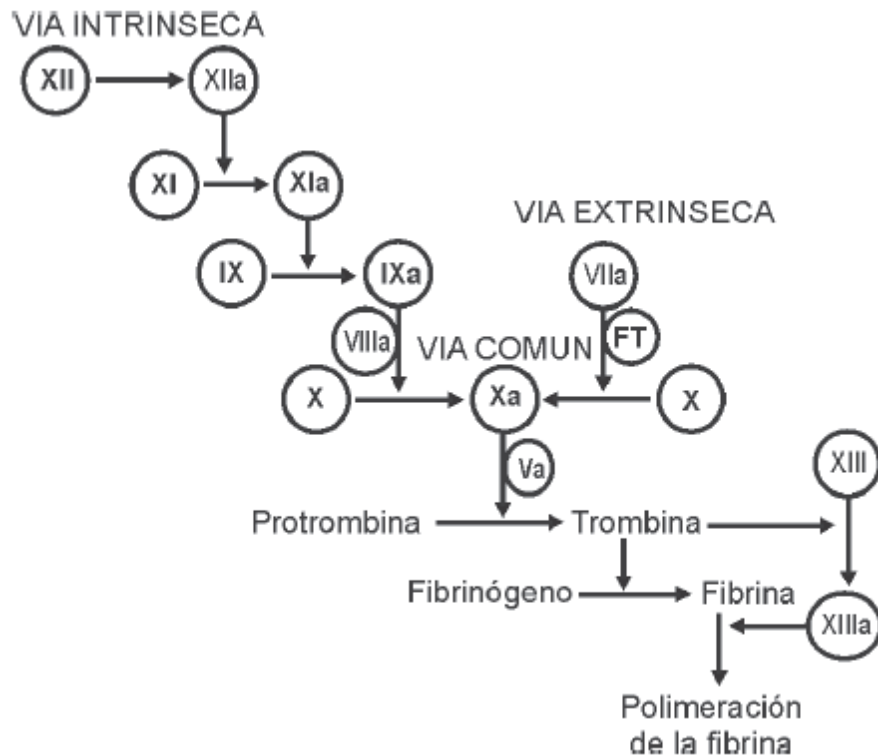


Fig. 2.8. Representación de la cascada clásica de la coagulación.

### Modelo celular de la coagulación.

De acuerdo a este modelo, el proceso de la hemostasia se realiza sobre una superficie celular y el disparador es el complejo FVIIa/FT. Sus elementos fundamentales son:

1. Factor tisular
2. Plaquetas activadas
3. Células endoteliales
4. Mecanismos de control

El factor tisular es una proteína de membrana que se expresa en células extravasculares que rodean los vasos sanguíneos (fibroblastos, células musculares lisas), endotelio y leucocitos. Es el único factor de la coagulación que normalmente no está presente en la sangre y su síntesis se encuentra bajo control transcripcional, activándose en respuesta a trauma, inflamación y estímulos hormonales. Una vez que se expresa se une al factor VII para formar el complejo FVIIa/FT, el cual una vez anclado a la superficie celular activa a los factores IX y X. Las plaquetas activadas constituyen el templete en donde se unen los cofactores VIIIa y Xa y sus enzimas (Factor IXa y Xa), lo que resulta en la formación del complejo **Protrombocinasa**. La lesión endotelial por su parte, expone a la circulación grandes cantidades de factor tisular que junto con la activación plaquetaria induce activación de trombina. El exceso de trombina es inhibido por la antitrombina, proceso que se desarrolla adyacente al endotelio al ser activada la trombomodulina. El complejo trombina-trombomodulina activa a la proteína C, la cual en presencia de proteína S inactiva a los factores Va y VIIIa, de esta manera la formación de trombina y el coágulo hemostático queda localizado a la zona de daño endotelial. Los mecanismos de control del proceso de coagulación son el IVFT, la proteína C, la antitrombina y los glucosaminoglicanos de la pared vascular.

El nuevo modelo celular de la hemostasia complementa y enriquece el modelo tradicional en donde el papel de las células era exclusivamente el de ofrecer una superficie portadora de fosfatidilserina que servía para armar a los complejos procoagulantes. De acuerdo al modelo celular la hemostasia se desarrolla en tres fases simultáneas sobre diferentes superficies celulares. La primera o de iniciación se lleva a cabo en células portadoras de factor tisular (endotelio- subendotelio), en la segunda o de amplificación, el sistema se prepara para la producción a gran escala de trombina y finalmente la tercera fase o de propagación ocurre en la superficie plaquetaria<sup>10</sup> (Fig. 2.9)<sup>11</sup>.

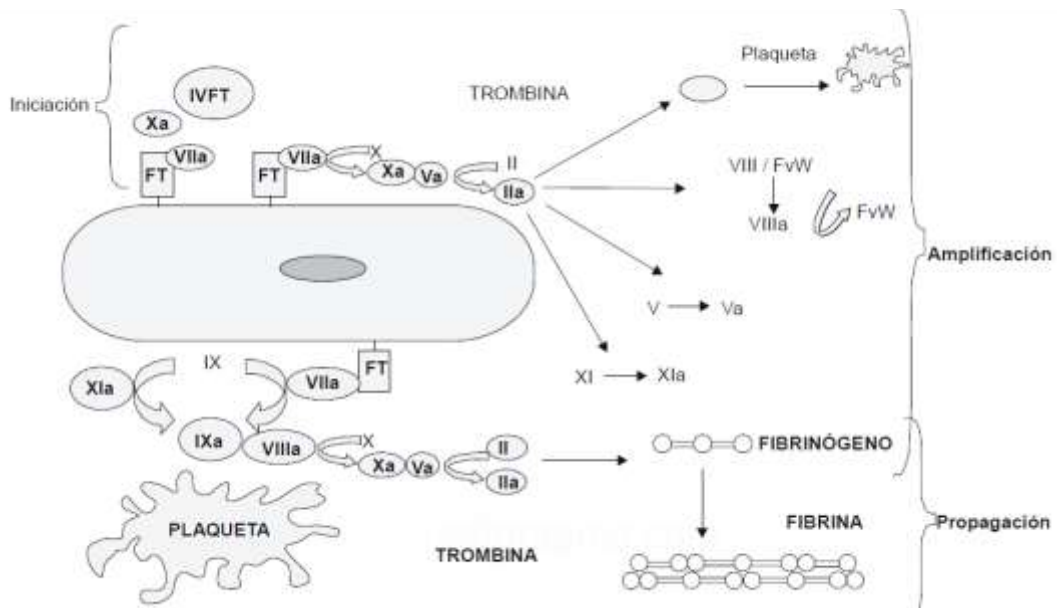


Fig. 2.9. Modelo celular de la hemostasia. FT- Factor tisular, IVFT- Inhibidor del factor tisular, FvW- Factor de von Willebrand.

A continuación veremos de manera más detallada cada una de las fases en las que se lleva a cabo este proceso

## Iniciación

La coagulación sanguínea de manera fisiológica solamente ocurre en el sitio del daño vascular momento en el cual es expresado el FT. La coagulación se inicia sobre las células que expresan el FT, las cuales forman el complejo FT/FVIIa.

- **Factor tisular (FT):** Un gran número de células expresan el FT, incluyendo fibroblastos, células mononucleares, macrófagos y células endoteliales, pero el FT usualmente no está en contacto con la sangre hasta que ocurre el daño vascular (Fig. 2.10)<sup>12</sup>.

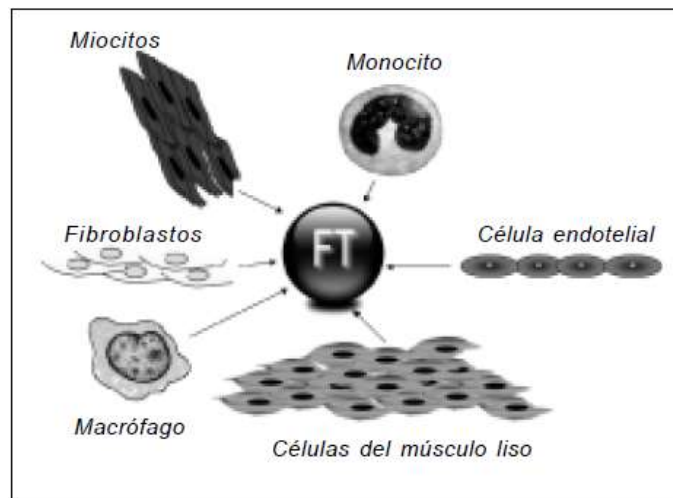


Fig. 2.10. Células que expresan factor tisular.

- **Complejo FT y FVII:** El FT es el receptor celular y cofactor para el FVII, cuando el FVII se asocia a su cofactor el FT, la enzima se activa completamente. El dominio extracelular del FT y la cadena ligera del FVIIa forman una estructura semejante a un tallo, con la cadena ligera en la parte superior. El contacto más importante con el FT es a través del dominio EGF-1, el cual también es el área de contacto más grande. En el complejo el FT y FVIIa son muy eficientes para actuar sobre sus sustratos; el FX y el FIX incrementando del  $10^5$  a  $10^7$  veces<sup>11</sup> (Fig. 2.11)<sup>13</sup>.

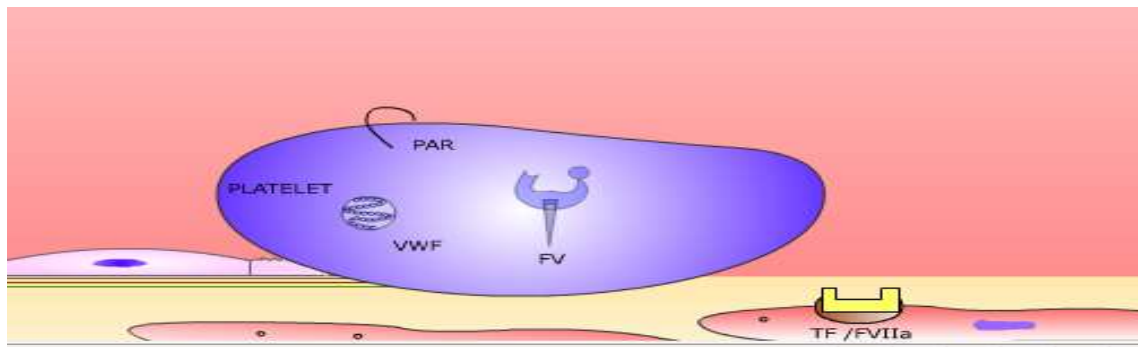


Fig. 2.11. Formación del complejo FT/FVIIa

El complejo FT/FVIIa activa pequeñas cantidades de factor X y factor IX (Fig. 2.12 y 2.13.)<sup>13</sup>.

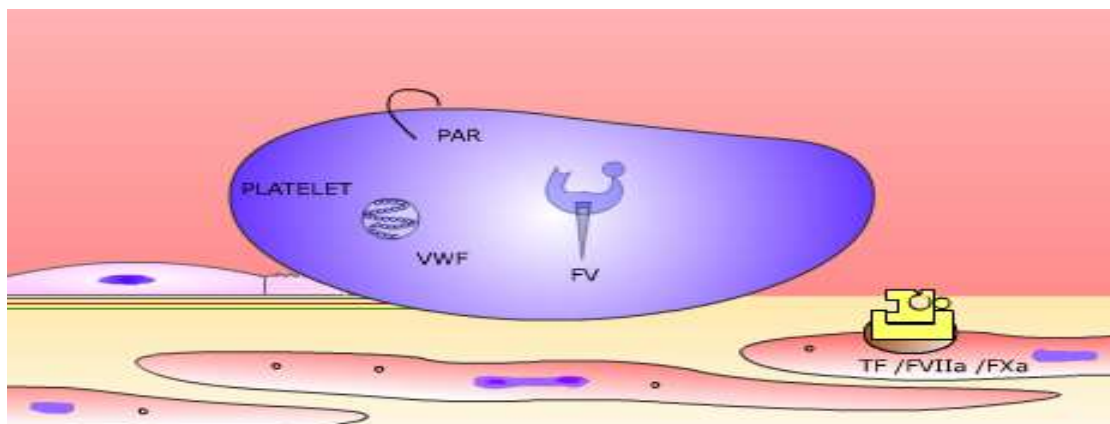


Fig. 2.12. Activación del factor X. En este punto el factor Xa, no se logra obtener en grandes cantidades porque es inhibido por la antitrombina o por el inhibidor de la vía del factor tisular.

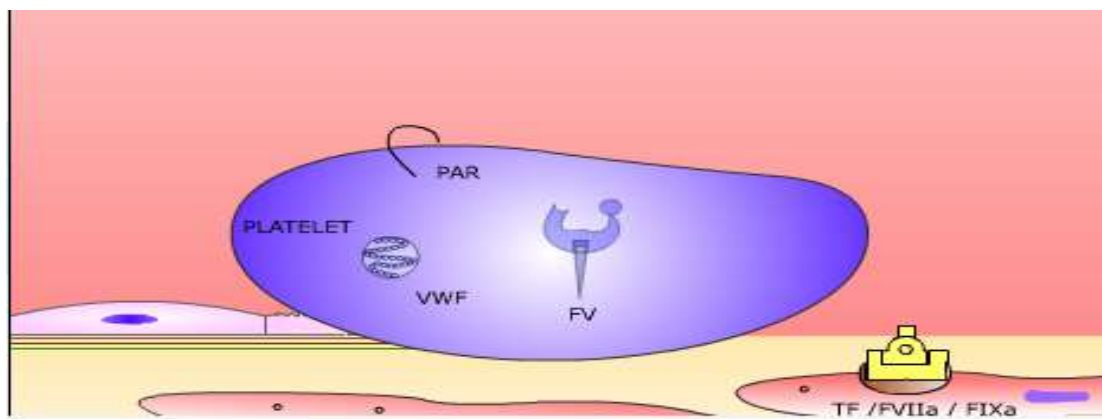


Fig. 2.13. Activación del factor IX a factor IXa el cual a diferencia del factor Xa no es inhibido por la VIFT y de esta manera estará a la espera de ser utilizado en la fase de propagación.

El factor Xa se une en complejo con su cofactor el factor Va (Fig. 2.14)<sup>13</sup>, formando el complejo protrombinasa en la superficie celular de las células que expresan el FT. El factor Va proviene de las plaquetas que inicialmente después de una lesión vascular se adhieren, se activan y promueven la secreción de factor V parcialmente activado en los  $\alpha$ -gránulos de estas plaquetas. El factor V se puede activar también por el factor Xa o por proteasas que no son factores de coagulación.

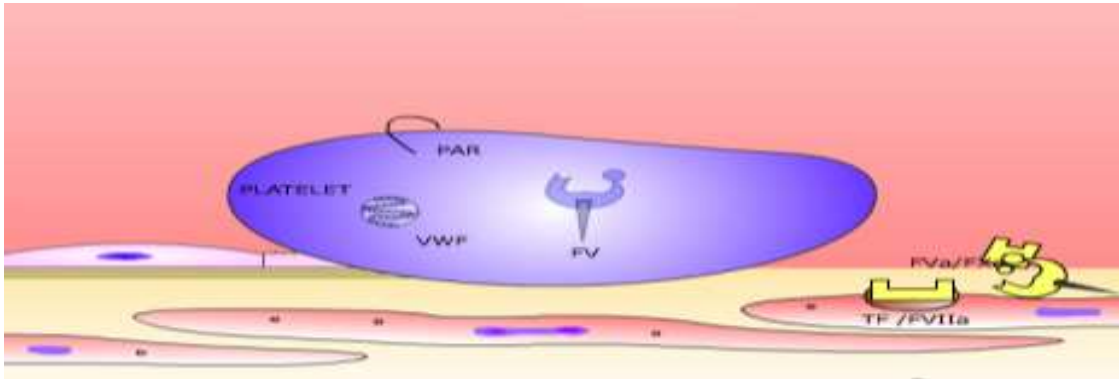


Fig. 2.14. Unión del FVa con el FXa para después formar el complejo protrombinasa.

El complejo protrombinasa activa a la protrombina generando así pequeñas cantidades de trombina (Fig. 2.15)<sup>13</sup>.

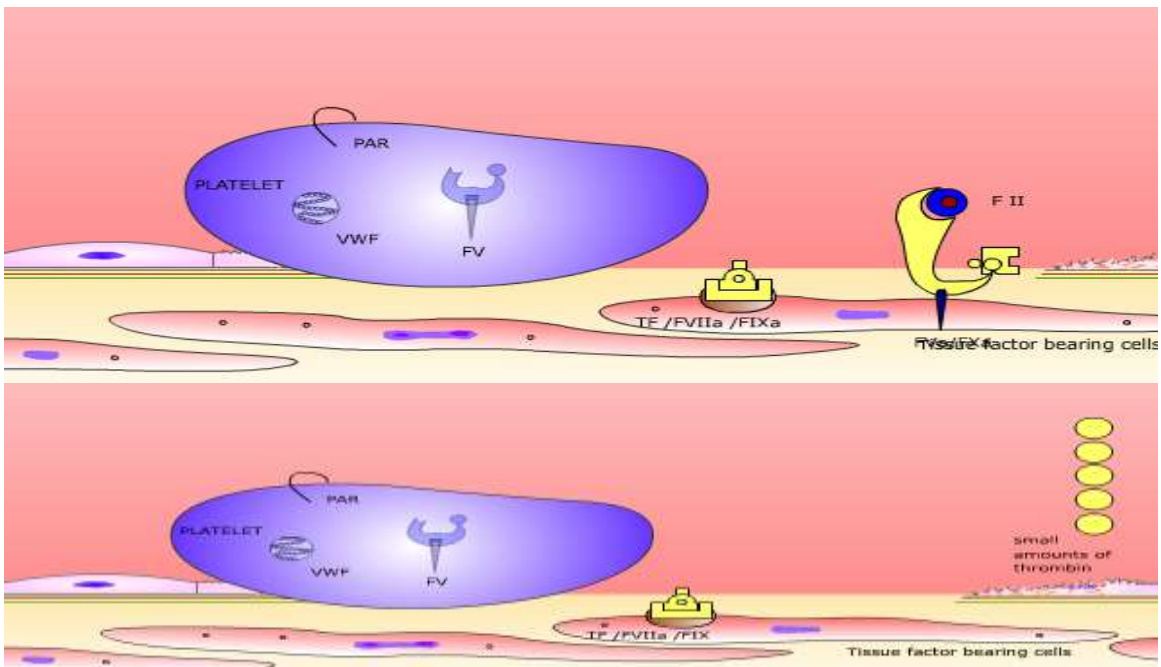


Fig. 2.15. Arriba, activación del FII por el complejo protrombinasa. Abajo, el producto final es la generación de FIIa (Trombina).

### Amplificación

La generación de trombina, aun cuando ésta es limitada, activa plaquetas (las cuales proporcionarán la superficie necesaria para llevar a cabo la fase de amplificación), los cofactores de coagulación V y VIII, y la activación del factor XI; este factor tiene sitios de alta afinidad en la superficie de las plaquetas activadas y es capaz de activar al factor IX. Esto explica que el factor XII y otros factores de contacto no son siempre necesarios para la coagulación como inicialmente se postuló en la cascada clásica de la coagulación<sup>11</sup> (Fig. 2.16 a la Fig. 2.20)<sup>13</sup>.

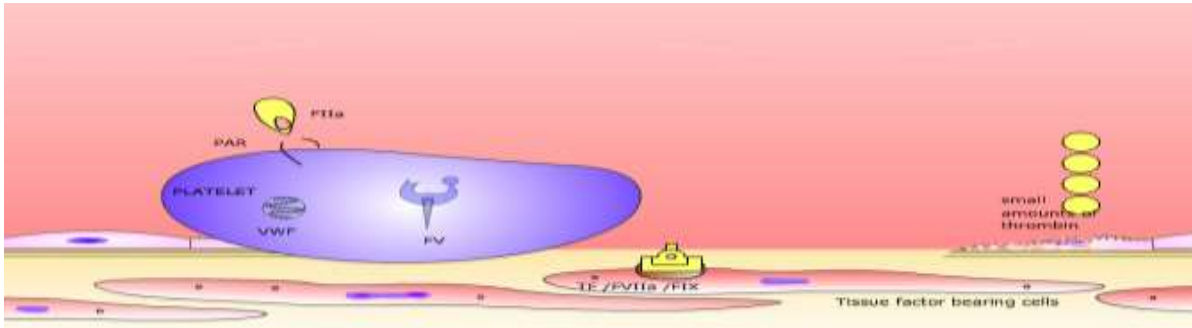


Fig. 2.16. Activación de la plaqueta a través de los receptores activados por proteasas (PAR).

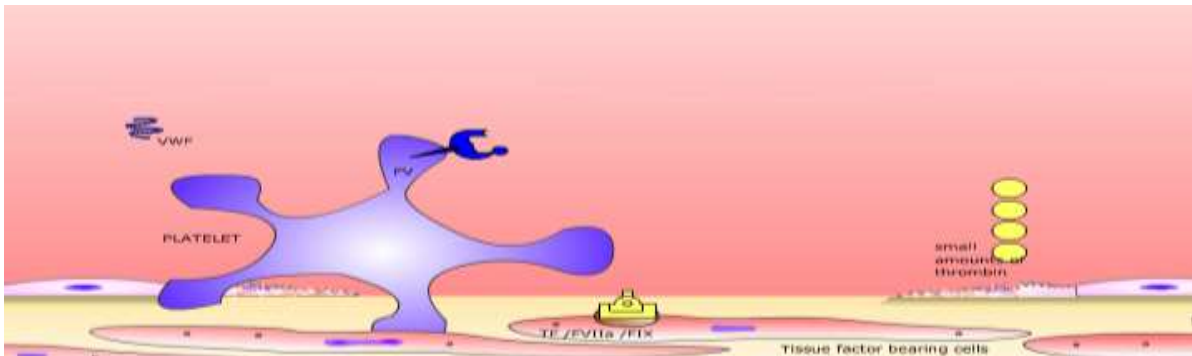


Fig. 2.17. Al ser activada la plaqueta por la protrombina, se libera desde su interior FvW y expresa FV en su superficie.

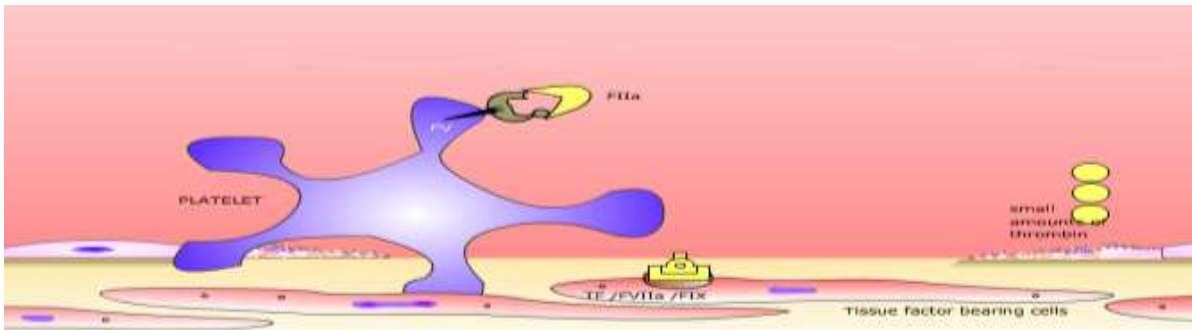


Fig. 2.18. Activación del FV.

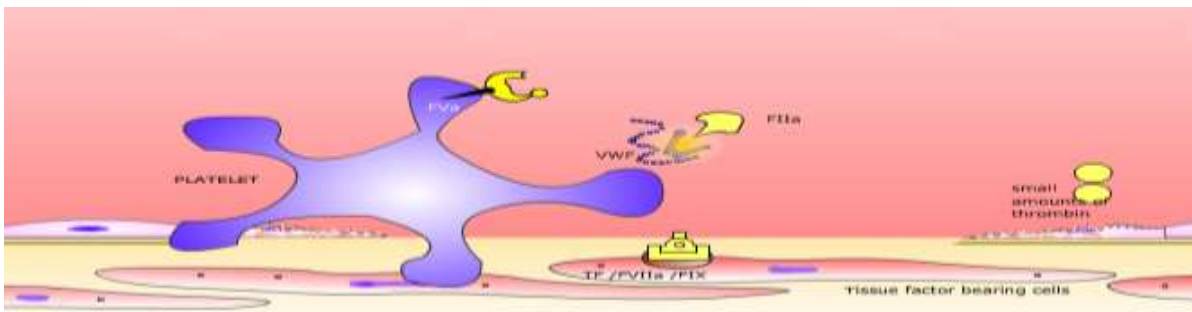


Fig. 2.19. Liberación y activación del FVIII.

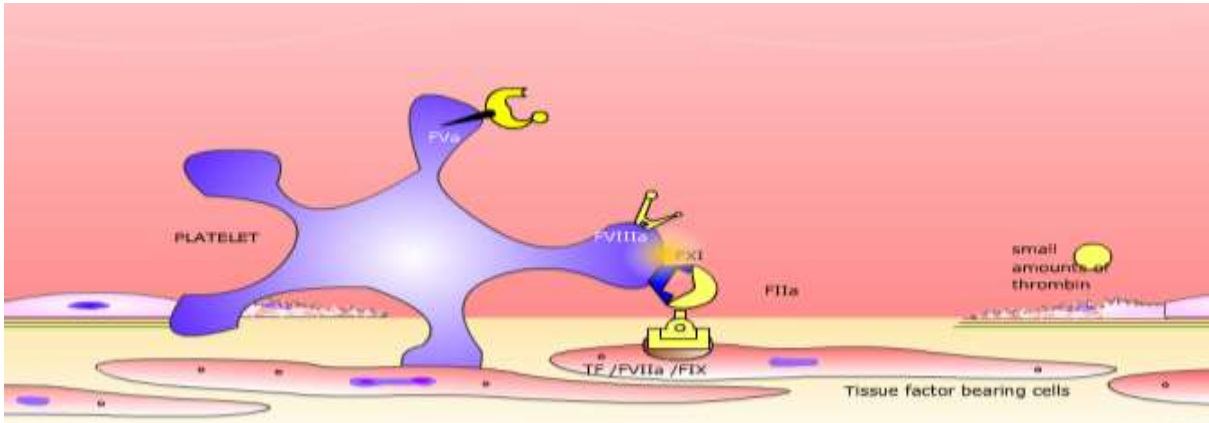


Fig. 2.20. Activación del FXI.

### Propagación

Durante la fase de propagación el factor IXa se une a su cofactor el FVIIIa sobre la superficie de las plaquetas activadas. El factor IX puede ser activado por el complejo FT/FVIIa y por el factor XIa sobre las plaquetas activadas.

Una vez formado el complejo FIXa/FVIIIa activa al factor X, formando el factor Xa, el cual inmediatamente se une a su cofactor el factor Va, este complejo protrombinasa; FXa/FVa y convierte grandes cantidades de protrombina a trombina y la trombina a su vez rompe el fibrinógeno en fibrina, el cual se polimeriza y se consolida para formar un coágulo estable de fibrina en presencia de FXIIIa, el cual se activa por la presencia de trombina. Adicionalmente, la trombina en esta fase modula la fibrinólisis a través de la activación del inhibidor de la fibrinólisis activada por trombina (TAFI).<sup>11</sup> (Fig. 2.21 a la Fig. 2.25)<sup>13</sup>.

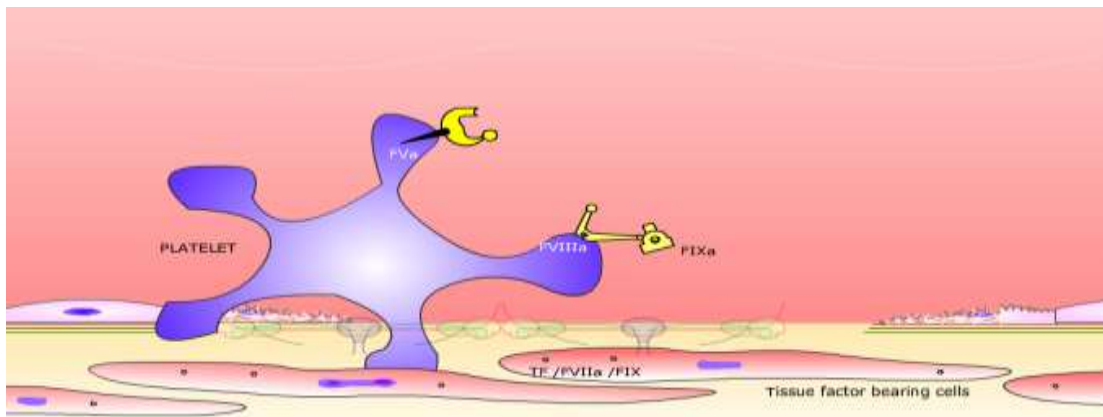


Fig. 2.21. Unión del FIXa con su cofactor el FVIIIa en la superficie plaquetaria.

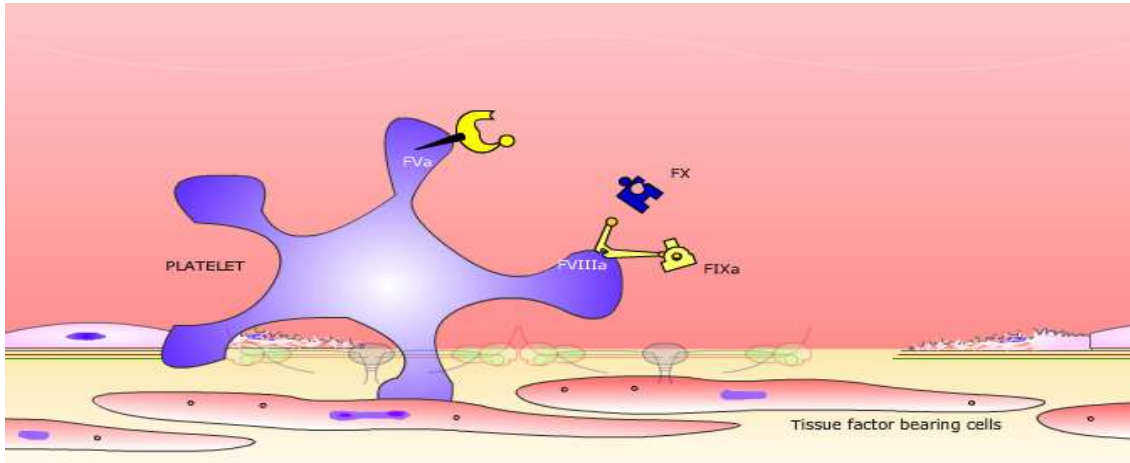


Fig. 2.22. El complejo FIXa/VIIIa Activa al FX.

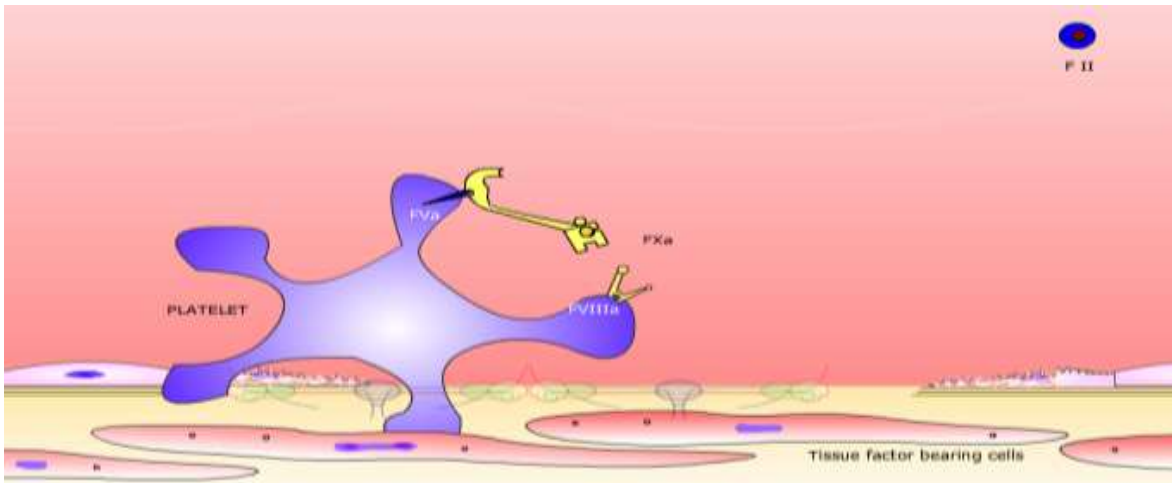


Fig. 2.23. El FXa se une a su cofactor el FVa formando un complejo protrombinasa FVa/FXa.

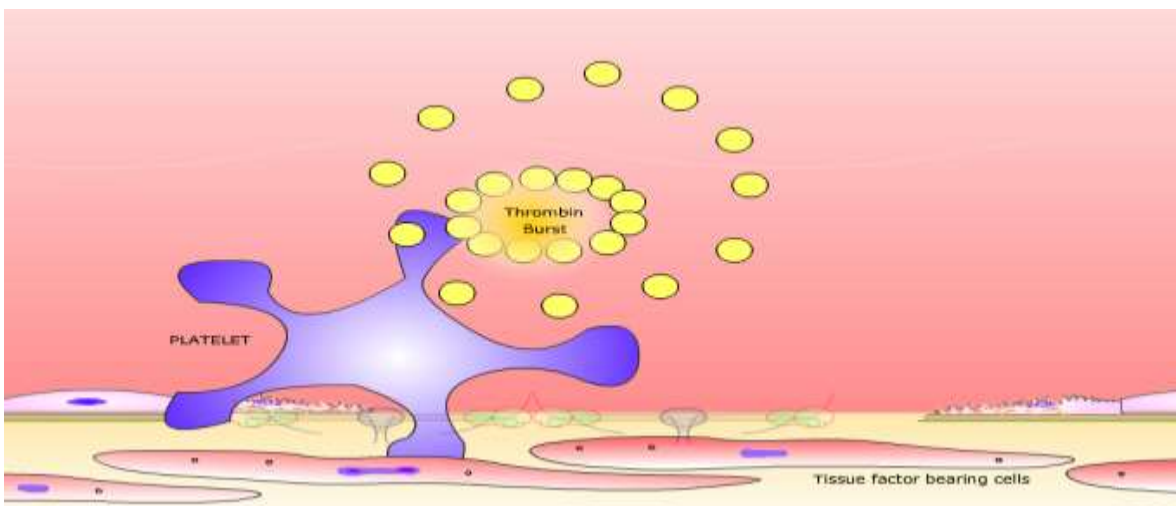


Fig. 2.24. El complejo protrombinasa convierte grandes cantidades de protrombina en trombina.



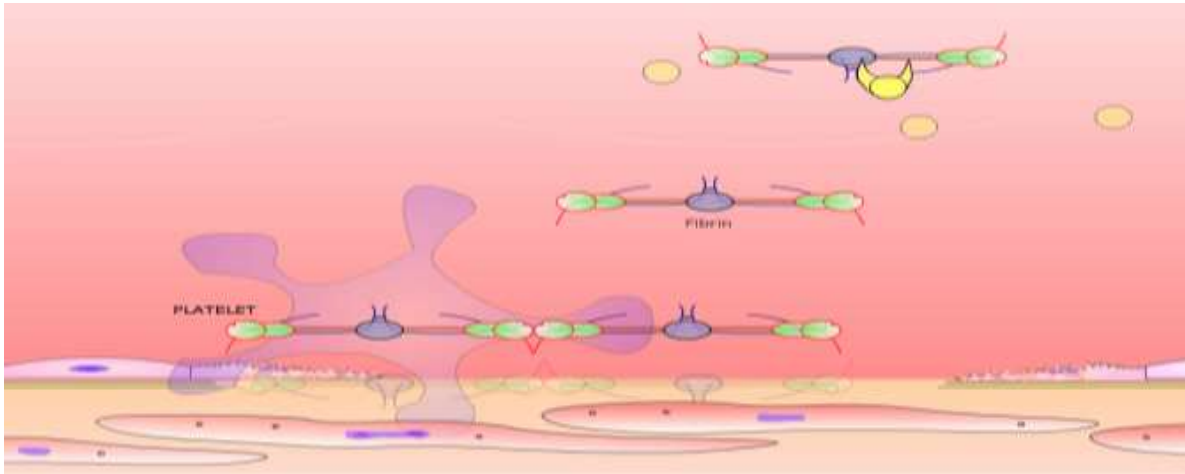


Fig. 2.25. La trombina convierte el fibrinógeno en fibrina polimerizándose por la acción del factor XIII.

La fase de propagación también se caracteriza por la activación del sistema de retroalimentación negativa a través de la activación de la antitrombina III, sistema de proteína C y S y del inhibidor del factor tisular.

Con el modelo celular de la hemostasia se explica el comportamiento *in vivo* de la coagulación, lo que ha revolucionado no solamente el modelo conceptual del proceso hemostático, sino que también ha servido para desarrollar un nuevo abordaje terapéutico para la hemorragia crítica aguda tanto en pacientes hemofílicos como no hemofílicos.

### Fase Fibrinolítica

La fibrinólisis es un mecanismo esencial para eliminar los coágulos de fibrina durante el proceso de cicatrización, así como remover los coágulos intravasculares para impedir la trombosis. El efector final del sistema es la plasmina, que degrada la fibrina en productos de degradación de la fibrina (PDF) y dímero D (DD).<sup>12</sup> (Fig. 2.26)<sup>14</sup>.

La plasmina es producida a partir de un precursor inactivo, el plasminógeno, por acción de dos activadores del plasminógeno: activador tisular (tPA) y activador tipo urocinasa (u-PA). La regulación de los activadores tiene lugar por la acción de inhibidores (PAI), de los que el más relevante es el PAI-1, mientras que la plasmina circulante es rápidamente inhibida por la  $\alpha$ 2-antiplasmina, lo que evita una fibrinólisis sistémica.

La fibrinólisis se inicia por el tPA liberado desde el endotelio en respuesta a diversos estímulos (trombina, oclusión venosa, ejercicio físico, etc). Una vez liberado se une a la fibrina donde activa el plasminógeno a plasmina que degrada la fibrina del coágulo. La trombina puede activar otro inhibidor fibrinolítico, el TAFI, el cual elimina residuos de lisina de la fibrina, lo que impide la unión del plasminógeno y ulterior degradación del coágulo.<sup>12</sup>

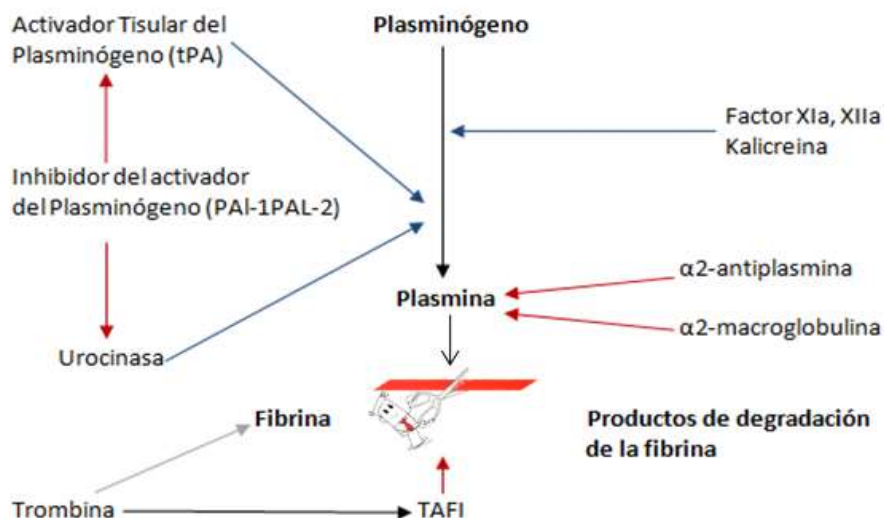


Fig. 2.26. Fase fibrinolítica.

### Fase de control

La regulación de la coagulación sanguínea se ejerce en cada nivel de la activación, ya sea por inhibición enzimática o por modulación de la actividad de los cofactores. La presencia de un sistema igualmente poderoso y equilibrado de anticoagulación o de regulación antitrombótica resulta del poder de amplificación y efector de la coagulación. Muchas de las enzimas de la coagulación son inhibidas por inhibidores de proteasa de serina también denominadas serpinas, como en el caso específico de la antitrombina, que inhibe específicamente a la trombina y otras proteasas de serina. La proteína C regula la coagulación por modulación de la actividad de los cofactores, factores VIIIa y IXa de la coagulación. La existencia de nuevos reguladores de la actividad procoagulante como el caso del IVFT, constituyen una nueva generación de inhibidores con un gran potencial en la salud y enfermedad.<sup>13</sup>

### Referencias

1. Uncos D. Sistema de la coagulación: nuevos conceptos. Rev Arg Anest. 2006; 64(1): 37-55.
2. Jaime Pérez J, Gómez Almaguer D. Hematología la sangre y sus enfermedades. 3ª ed. México DF: Mc Graw Hill; 2012.
3. Ruíz Reyes G, Ruíz Argüeles A. Fundamentos de interpretación clínica de los exámenes de laboratorio. 2ª ed. México DF: Medica Panamericana; 2010.
4. Ombrello C, Block RC, Morrel CN. Our Expanding View of Platelet Functions and Its Clinical implications. J Cardiovasc Trans Res 2010;3(5):538-546.
5. González villalva A. Capítulo 6. Sangre. En: Fortoul y Castell. Histología y Biología Celular. México: Mc Graw-Hill Interamericana, 2010 p. 147-154.
6. Spinelli SL, Maggirwar SB, Blumberg N, Phipps RP. Nuclear Emancipation: A Platelet Tour de Force. Science signal 2010;3(144):pe37.
7. Nurden AT. Platelets, Inflammation and tissue regeneration. Thromb Haemost 2011;105(suppl 1):S13-S33.
8. Carrillo Esper R, Villaseñor Ovies P. Coagulopatía del paciente quirúrgico. El nuevo modelo celular de la coagulación y su aplicación en anestesiología. Rev Mex Anest. 2004; 27 (4): 219-230.

9. Gómez Baute R, Guerra Alfonso T, Dita Salabert L, Fernández Águila J, Cabrera Zamora M. Teoría celular de la coagulación: de las cascadas a las membranas celulares. *MediSur*. 2011; 9(2): 65-74.
10. Carrillo Esper R, Antigua Bretón Y, Carrillo Córdova J. Modelo celular de la hemostasia y utilidad del factor VII recombinante activado en la práctica clínica. *Acta Médica Grupo Ángeles*. 2007; 5(1): 27-34.
11. Quintana González S, Martínez Murillo C. Modelo Celular de la Coagulación. *Revista de Hemostasia y Trombosis*. 2008; 2(1):59-65.
12. Páramo J.A, Panizo E, Pegenaute C, Lecumberri R. Coagulación 2009: una visión moderna de la hemostasia. *Rev Med Univ Navarra*. 2009; 53(1): 19-23.
13. Quintana-Gonzalez S, Martínez-Murillo C, Jiménez R, Flores-Chapa J. Actualidades en hemostasia. *Gac Med Mex*. 2002; 138 Supl 1: 47-59.
14. <http://www.cirugest.com/revisiones/cir01-04/01-04-01.htm>
15. <http://reddymed.com/cbc/>

#### Referencias usadas en imágenes y cuadros

1. <http://gsdl.bvs.sld.cu/greenstone/collect/estomato/index/assoc/HASH01cf.dir/fig03a03.png>
2. <http://www.uaz.edu.mx/histo/gartext/10-10e.htm>
3. Carrillo Mora P, González Villalva A, Macías Hernández S, Pineda Villaseñor C. Plasma rico en plaquetas. Herramienta versátil de la medicina regenerativa? *Rev Cir Cir*. 2013; 81: 74-82.
4. [http://www.genomasur.com/BCH/BCH\\_libro/capitulo\\_06.htm](http://www.genomasur.com/BCH/BCH_libro/capitulo_06.htm)
5. [http://www.lookfordiagnosis.com/mesh\\_info.php?term=Agregaci%C3%B3n+Plaquetaria&lang=2](http://www.lookfordiagnosis.com/mesh_info.php?term=Agregaci%C3%B3n+Plaquetaria&lang=2)
6. <http://www.revistaciencias.com/publicaciones/EEukkAVAFIGkpEUJuk.php>
7. <http://www.sld.cu/sitios/reumatologia/temas.php?idv=5149>
8. <http://www.plantas-medicinal-farmacognosia.com/gr%C3%A1fica/formula-quimica-vitamina-k/>
9. Martínez-Murillo C. Mecanismos de activación de la coagulación. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc*. 2006; 44 Supl 2: 51-58.
10. Quintana-Gonzalez S, Martínez-Murillo C, Jiménez R, Flores-Chapa J. Actualidades en hemostasia. *Gac Med Mex*. 2002; 138 Supl 1: 47-59.
11. Carrillo Esper R, Antigua Bretón Y, Carrillo Córdova J. Modelo celular de la hemostasia y utilidad del factor VII recombinante activado en la práctica clínica. *Acta Médica Grupo Ángeles*. 2007; 5(1): 27-34.
12. Quintana González S, Martínez Murillo C. Modelo Celular de la Coagulación. *Revista de Hemostasia y Trombosis*. 2008; 2(1):59-65.
13. <http://reddymed.com/cbc/cbc.html>
14. [http://www.coaguchek.net/es/index.php?target=/es/professionals/informacion\\_sobre\\_coagulacion/fundamentos\\_de\\_la\\_coagulacion](http://www.coaguchek.net/es/index.php?target=/es/professionals/informacion_sobre_coagulacion/fundamentos_de_la_coagulacion)

### CAPITULO III

#### CONTROL DE CALIDAD EN EL LABORATORIO DE HEMOSTASIA.

Los procedimientos de control de calidad en el laboratorio son importantes en su organización y funcionamiento. Su objetivo es proporcionar exámenes confiables, reproducibles, exactos y ser por sí mismos relevantes para el diagnóstico y vigilancia clínica de los pacientes.

Para lograr estos objetivos se requiere de una administración experta que supervise el trabajo del laboratorio, que garantice que se logre el nivel necesario de las buenas prácticas de laboratorio y que éste se mantenga constantemente, para lo cual es necesario llevar a cabo un programa de aseguramiento de calidad.<sup>1</sup> Este programa contempla 3 aspectos:

1. Fase preanalítica.
2. Fase analítica.
3. Fase postanalítica.

##### *Fase preanalítica.*

Es la etapa del estudio que incluye:

- a) Solicitud de laboratorio.
- b) Indicaciones al paciente.
- c) Identificación del paciente.
- d) Sitio de punción.
- e) Recolección de la muestra
- f) Manejo de la muestra.

##### a) Solicitud de Laboratorio.

Las muestras deben de ir acompañadas de una solicitud debidamente formulada con la siguiente información: nombre completo, número de registro, edad, sexo, origen étnico, diagnóstico, medicamentos que recibe, última dosis de medicamentos anticoagulantes, inhibidores de fibrinólisis o fibrinolíticos<sup>1</sup> (Cuadro 3.1)<sup>1</sup>.

Cuadro 3.1. Fármacos que afectan las pruebas de laboratorio.

<b>Prueba</b>	<b>Medicamento</b>	<b>Efecto</b>
Factores II, V, VII, VIII IX, X, XII	Anticonceptivos orales	Aumentan la actividad
Adhesión y agregación Plaquetaria	Anticonceptivos orales	Aumentan la actividad
Tiempo de protrombina	Anticoagulantes orales Cumarínicos	Interfieren con las enzimas que reducen la vitamina K y limitan el proceso de carboxilación (TP alargado)
TTPa o TT	Heparina no fraccionada	Inhibe al Factor X y II (TTPa alargado)
Plaquetas	Aspirina y antiinflamatorios no esteroides	Antiagregantes. Inhiben a la ciclooxigenasa para la síntesis de tromboxano A <sub>2</sub> .

b) Indicaciones al paciente (cuando el paciente no se encuentre hospitalizado).

El paciente debe presentarse a la toma de muestra con un ayuno de cuando menos 4 horas. La última ingesta de alimentos debe de ser baja en grasas, ya que la lipemia produce turbidez que interfiere con los métodos coagulométricos y nefelométricos.<sup>2</sup>

c) Identificación correcta del paciente.

Es de primordial importancia etiquetar cada muestra en presencia del paciente con información suficiente para evitar confusión con otras muestras.

Obtener una muestra de sangre de un paciente es mucho más que insertar una aguja en la vena o extraer una gota de sangre de un dedo. Es el primer eslabón de una cadena de eventos que se completan cuando el médico recibe los resultados de las pruebas de su paciente y es el principio del control de calidad en el laboratorio clínico.<sup>3</sup>

La muestra debe tomarse correctamente y bajo condiciones favorables. El paciente debe estar tranquilo, relajado, ya que el estrés y el ejercicio afecta los factores de coagulación, así como la liberación de plaquetas a la circulación (Cuadro 3.2)<sup>1</sup>.

Cuadro 3.2. Alteraciones causadas por el estrés y el ejercicio.

<b>Prueba</b>	<b>Efecto</b>
Factor VIII	Aumenta su nivel en plasma
Función plaquetaria	Afecta la 2a. fase de la agregación por ADP y Epinefrina
Cuenta de plaquetas	Aumenta
Fibrinólisis	Aumenta

d) Seleccionar el sitio de punción.

Elegir una vena de fácil acceso, como es la vena central, cefálica o radial del antebrazo, evitar áreas de hematomas o de cicatrización extensa.

Se le pide al paciente que cierre el puño y se le frota el brazo de abajo hacia arriba, con objeto de hacer más visibles las venas. Debe evitarse el ejercicio excesivo de la mano porque aumentan los factores de coagulación.

La punción debe ser limpia y única y sin exceder del tiempo de ligadura de un minuto; quitar la ligadura tan pronto como la sangre comience a fluir para evitar la estasis local (Cuadro 3.3)<sup>1</sup>.

Cuadro 3.3. Alteraciones causadas por estasis venosa prolongada.

<b>Causa</b>	<b>Efecto</b>
Liberación de Factor Tisular	Activación de proteínas procoagulantes y anticoagulantes
Hemólisis	Liberación de fosfolipido activación de factores
Salida de Plaquetas	Activación

e) Recolección de la muestra.

El anticoagulante de elección es el citrato de sodio al 3.2% (0.102 M), en una proporción 9 partes de sangre y 1 de anticoagulante, recomendada por el Comité de Trombosis y Hemostasia.<sup>4</sup> Es importante señalar que la recolección de la muestra para las pruebas de coagulación debe de ser la primera de las muestras en recolectarse, en tubos de plástico o de vidrio siliconizado (Fig. 3.1)<sup>2</sup>. Una vez obtenida la muestra, debe ser mezclada con el anticoagulante mediante movimientos de inversión. Se debe evitar la hemólisis de la muestra, debido a que los eritrocitos liberan factores tromboplásticos al medio, que afectan acortando los tiempos de coagulación.<sup>5</sup>



Fig. 3.1 Tubos para la recolección de sangre.

f) Manejo de la muestra.

La estabilidad de las pruebas de coagulación es crítica para el diagnóstico y para el mantenimiento de la terapia anticoagulante. También lo es la temperatura de conservación mantenida durante el transporte y almacenamiento de las muestras. Siempre se conserva el tubo tapado hasta su valoración analítica (incluido el tiempo de la centrifugación), para evitar la pérdida de  $\text{CO}_2$  y la elevación del pH.<sup>3</sup>

Para la obtención de plasma pobre en plaquetas (PPP), que se utiliza en la mayoría de las pruebas de coagulación, la muestra de sangre se debe centrifugar a 3500 rpm durante 15 minutos.<sup>6</sup>

#### Fase analítica.

Es la etapa que considera a las variaciones relacionadas con el procedimiento técnico en sí mismo, que afectan los resultados finales del estudio del paciente.

El control de calidad interno se utiliza para determinar si una serie de técnicas y procedimientos se están realizando correctamente, durante un determinado periodo de tiempo. Se emplea para asegurar el buen funcionamiento diario del laboratorio.<sup>7</sup>

Para asegurar que un método está bajo control, a diferentes niveles de un dato concreto, es importante incluir muestras de control de calidad con valores normales y anormales. Los materiales de control de calidad de origen humano tienen las máximas probabilidades de parecerse a las muestras de pruebas humanas.

La evaluación interna de la calidad está basada en el uso de una hoja de control de registro diario (gráfica de Levey-Jenning) para obtener el control gráfico de la desviación estándar (DE) y calcular el coeficiente de variación (CV), indicadores de precisión de cada tipo de estudio que se realiza a través de un calibrador o control.

La gráfica de control de calidad se basa en realizar 20 determinaciones de la prueba a determinar, utilizando un plasma comercial o de fabricación casera de preferencia (mezcla de plasmas). Se representa gráficamente el resultado obtenido del control de cada día de acuerdo a la marca y número de lote del reactivo<sup>6</sup> (Fig. 3.2)<sup>3</sup>.

#### Elementos del Gráficos de Levey-Jennings

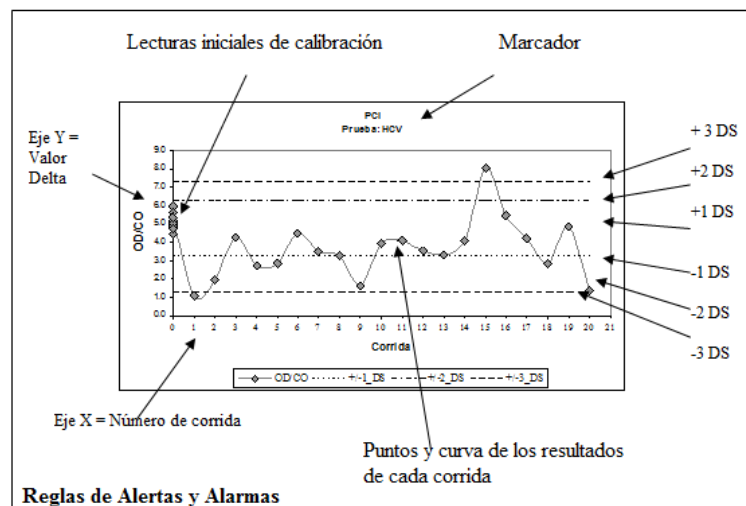


Fig. 3.2. Elementos del gráfico de Levey-Jennings.

Preparación del "pool" de plasma.

Se recomienda como mínimo 20 personas sanas, que no tomen medicamentos que interferían con los factores y reacciones de la coagulación. Se recolecta la sangre de un número aproximadamente igual de hombres y mujeres. El rango de edad debe estar entre 20 y 50 años, una vez obtenida la sangre colocarla en hielo. Durante la preparación del plasma normal ("pool"), centrifugar a 4°C durante 15 minutos, a 3500 rpm; mezclar en un contenedor de plástico por lo menos 1mL de cada muestra de plasma y poner alícuotas en viales de plástico y congelar inmediatamente en un congelador a -70°C. Hasta 6 meses conservan su estabilidad las muestras.<sup>9</sup>

El Control de Calidad Externo.

Se utiliza para detectar el grado de acuerdo que hay entre los resultados de un laboratorio y los resultados de otros centros. Permite no sólo conocer el funcionamiento de un laboratorio concreto, sino también aquellos reactivos y métodos que producen resultados poco fiables o equívocos.

El Comité Internacional de Estandarización en Hematología, ha definido una preparación de referencia como aquella sustancia o instrumento con una o más propiedades suficientemente establecidas como para ser usado para la calibración de un instrumento, para el chequeo de un método de medición o para asignar valores de un material.

Existen 3 categorías: estándar primario (internacional), estándar secundario (nacional o regional) y terciario (comercial o local).<sup>6</sup>

En las ciencias biomédicas la autoridad en estándares internacionales es la Organización Mundial de la Salud (OMS) y más recientemente se han incorporado a esta actividad el Comité Internacional de Estandarización en Hematología, la Federación Internacional de Química Clínica, también el Instituto Nacional para Estándares Biológicos y Control del Reino Unido y el Instituto Nacional para Estándar y Tecnologías del Reino Unido.<sup>9</sup> Estas organizaciones son también responsables de la producción de estándares secundarios.

*Fase postanalítica.*

Es la confrontación de todas las fases de análisis y tiene la finalidad de correlacionar los resultados obtenidos con los diagnósticos de los pacientes así como hacer una entrega oportuna de los resultados.<sup>10</sup>

Referencias

1. Borzotta AP, Keeling MM. Value of the preoperative history as an indicator of hemostatic disorders. *Ann Surg* 1984; 200:648-52.
2. Quintana GS, Martínez-Murillo C, Ambriz FR. Fisiología de la Coagulación, En: Hemofilia, Martínez-Murillo C, Quintana GS, Ambriz FR, Kasper C, editores. México: Editorial Prado; 2001. p. 19-42.
3. NCCLS. Clinical laboratory procedure manual. Approved guideline. NCCLS Document 10 CP2 A. Villanova, PA:NCCLS, 1984; 4 (2):vii + 27.53.
4. ICSH. Standardization of blood specimen collection procedure for reference value. *Clin Lab Haematol* 1982; 4:83-6.
5. Martínez-Murillo C, Quintana-González S. Fisiología de la Hemostasia Primaria En: Manual de Hemostasia y Trombosis. Martínez-Murillo C, Quintana-González S, editores. México: Editorial Prado; 1996; p. 5- 22.
6. Lewis SM. Standards, reference materials and reference methods. En: Lewis SM, Koepke JA (eds). *Hematology: Laboratory Management and Practice*. Oxford: Butterworth-Heinemann;1995. p. 129-35.



7. Koepke JA, Rodgers H, Ollivier MJ. Preanalytical instrumental variables in coagulation testing. *Am J Clin Pathol* 1975; 64:591-6.
8. Kitchen S, Mc Craw A. Diagnóstico de la hemofilia y otros trastornos de la coagulación. *Federación Mundial de Hemoftilia*; 2002.
9. Koepke JA, Bull BS. The intralaboratory control quality. En: Lewis SM, Koepke JA (eds). *Hematology: Laboratory Management and Practice*. Oxford: Butterworth- Heinemann; 1995. p. 183-98.
10. Schman AL, Griner PP. Diagnostic uses of the partial thromboplastin time and prothrombin time. *Ann Intern Med* 1986; 104:810-6.

#### Referencias usadas en imágenes

1. Ochoa Rico M. Control de calidad en el laboratorio de hemostasia. *Revista de Hematología*. 2006; 7(1):1-5.
2. <http://spanish.alibaba.com/product-gs/vacuum-coagulation-blood-collection-tube-469245563.html>
3. Moreno Hernández M y Cols. Consenso sobre estandarización de las pruebas de coagulación. *Revista de Hemostasia y Trombosis*. 2008; 2(2, 3, y 4):102-114.

## CAPITULO IV

### PRUEBAS DE ESCRUTINIO HEMOSTÁTICO

Después de la historia clínica y exploración del paciente con hemorragia o trombosis, es necesario evaluar qué tipo de prueba se requiere para complementar un diagnóstico. Los pacientes con hemorragia corresponden a cuatro categorías: pacientes con tendencia hemorrágica grave, leve, dudosa y sin tendencia hemorrágica. La hemorragia aparece por alteraciones del vaso, de las plaquetas, en la fase fluida o en la fibrinólisis. Excepto en la enfermedad de Von Willebrand, las alteraciones hereditarias se localizan en sólo una de estas categorías pero las adquiridas se pueden localizar en todos.

#### Cuenta plaquetaria

La trombocitopenia puede ser multifactorial. Con excepción de los traumatismos, la trombocitopenia es la causa más frecuente de hemorragia. Toda trombocitopenia debe corroborarse en el frotis de sangre periférica. En general, la hemorragia es rara si las plaquetas son mayor a 50 000/  $\mu$ L. Sin embargo no sólo el número es importante sino también la calidad. En ciertas condiciones congénitas y adquiridas se asocian trombocitopenia y alteraciones cualitativas pero en la mayoría de los trastornos cualitativos la cuenta plaquetaria es normal<sup>1</sup> (Fig. 4.1).<sup>1</sup>

Las plaquetas se pueden contar por métodos manuales o automatizados. Los métodos manuales se practican al diluir una muestra de sangre entera y contar las plaquetas en una alícuota para calcular el número por litro. Los procedimientos descritos comúnmente son los métodos de Rees y Ecker, y de Brecker- Cronkite.

El método de Rees y Ecker emplea un líquido diluyente que contiene azul de cresil brillante. La tinción ayuda a hacer más visibles las plaquetas. El conteo se realiza con el uso de un microscopio de luz. El líquido diluyente del método de Brecker-Cronkite es oxalato de amonio al 1% obtenido comercialmente. Para un conteo preciso se sugiere un microscopio de fase y un hemocitómetro plano especial. También puede usarse un microscopio de luz y un hemocitómetro sencillo. Hoy en día se dispone de instrumentos automatizados y semiautomatizados confiables para el conteo de las plaquetas y su uso se prefiere sobre los métodos manuales debido a que son más precisos y se pueden controlar con facilidad. Algunos instrumentos usan sangre entera anticoagulada y otros requieren centrifugación de la sangre para obtener plasma rico en plaquetas.

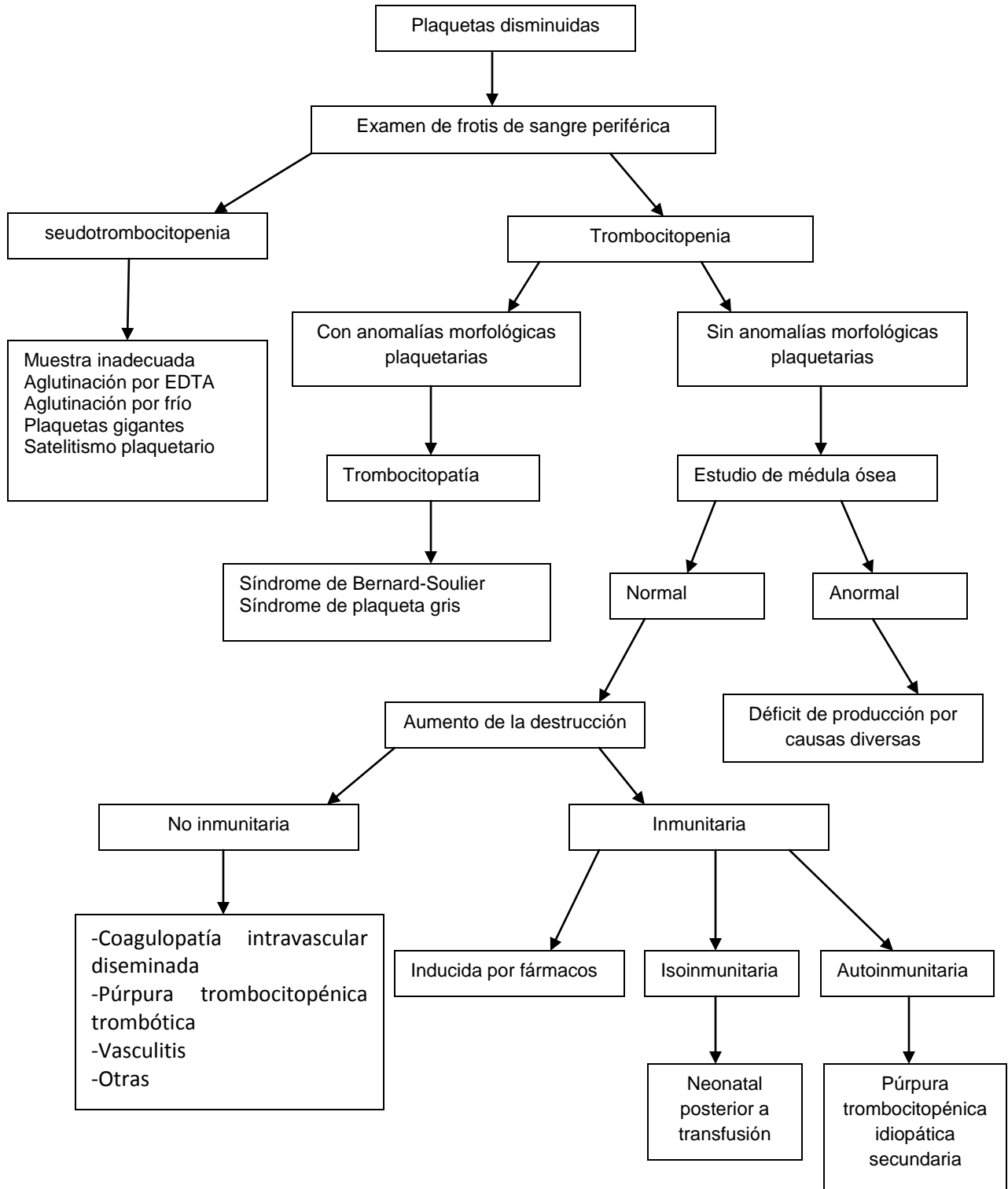


Fig. 4.1. Interpretación del recuento de plaquetas.

Ya sea que se usen métodos manuales o automatizados, es necesario correlacionar el conteo con la concentración de plaquetas en un frotis de sangre periférica bien preparado. El número de plaquetas se puede estimar al multiplicar el número promedio encontrado en 5-10 campos con aumento a 1000x por 20 000, si el frotis se hizo con la sangre de la punta de la aguja o con sangre capilar, debe usarse un factor de 15 000 si la sangre estaba anticoagulada. La morfología de las plaquetas también se debe observar y tomarse nota de la presencia de formas grandes, formas granulosas y otras plaquetas anormales<sup>2</sup> (Fig. 4.2)<sup>2</sup>.

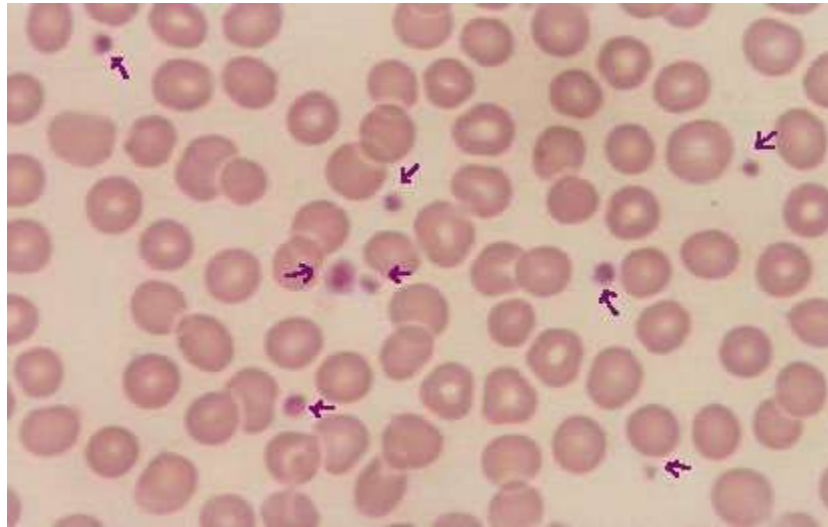


Figura 4.2. Morfología de las plaquetas en frotis de sangre periférica.

### ***Tiempo de hemorragia***

Tiempo que transcurre entre la producción de una pequeña herida en la piel hasta el momento en que la hemorragia cesa. Es difícil de estandarizar pero proporciona información muy importante. Evalúa las etapas hemostáticas iniciales: la interacción entre plaquetas y vaso así como la formación del coagulo.<sup>1</sup>

En este procedimiento se hace una incisión en la piel y se mide con un reloj el tiempo que tarda la hemorragia en detenerse. Se describen tres métodos para practicar esta prueba. Difieren principalmente en el sitio y en la manera de hacer la incisión.

El método Duke, descrito por primera vez en 1910, es el método menos reproducible y ha sido abandonado por la mayor parte de los laboratorios. Se punciona el lóbulo de la oreja con una lanceta desechable estéril y se registra el tiempo que tarda en suspenderse la hemorragia.

El método Ivy que fue introducido en 1941, se practica al aplicar un manguito de presión en el brazo del paciente a 40mmHg (Fig. 4.3)<sup>3</sup>. Se hacen 2 o 3 incisiones de 1mm de ancho y 3 mm de profundidad en la superficie anterior del antebrazo con una lanceta desechable estéril. Se promedia el tiempo de hemorragia de las cortadas. Aunque con el uso del manguito de presión se produce un tiempo de hemorragia más prolongado es más reproducible debido a que inhibe la influencia de los capilares. Los capilares seccionados tienden a colapsarse al vaciarse de sangre lo cual acorta el tiempo de hemorragia de manera no dependiente de la función plaquetaria. La venostasia producida por el manguito de presión hace que los vasos permanezcan llenos con sangre. Por tanto, la hemorragia se detiene debido al agregado de las plaquetas y por la formación

del tapón hemostático primario. Sin embargo, con el método Ivy el tamaño del corte todavía es variable e influye sobre la reproductibilidad de la prueba.



Fig. 4.3. Representación del manguito de presión usado para el tiempo de hemorragia.

En 1969, Mielke introdujo el tiempo de hemorragia con plantilla (un método de Ivy modificado) el cual produce un corte de longitud y profundidad standarizadas además de la estasis producida por el manguito de presión. El tiempo de hemorragia con plantilla se ha encontrado altamente reproducible. El tiempo de hemorragia normal con el método de la plantilla es de 1 a 9 minutos.<sup>2</sup>

Hoy la prueba aceptada es la de Ivy en la fosa antecubital mediante una incisión de 5mm de longitud por 1 mm de profundidad, que se realiza con un dispositivo comercial mientras se practica una presión continúa en el brazo insuflando un manguito de baumanómetro arriba del corte cutáneo.

Se prolonga en la trombocitopenia, con plaquetas disfuncionales o cuándo estas no interactúan con el vaso. También se prolonga por ausencia o anomalía del FvW, fibrinógeno o FV, por alteraciones vasculares como en el escorbuto, la ingesta de medicamentos principalmente analgésicos no esteroideos (Fig. 4.4)<sup>1</sup>. Si no existe explicación para el alargamiento, el paciente tiene pseudohefilia.<sup>1</sup>

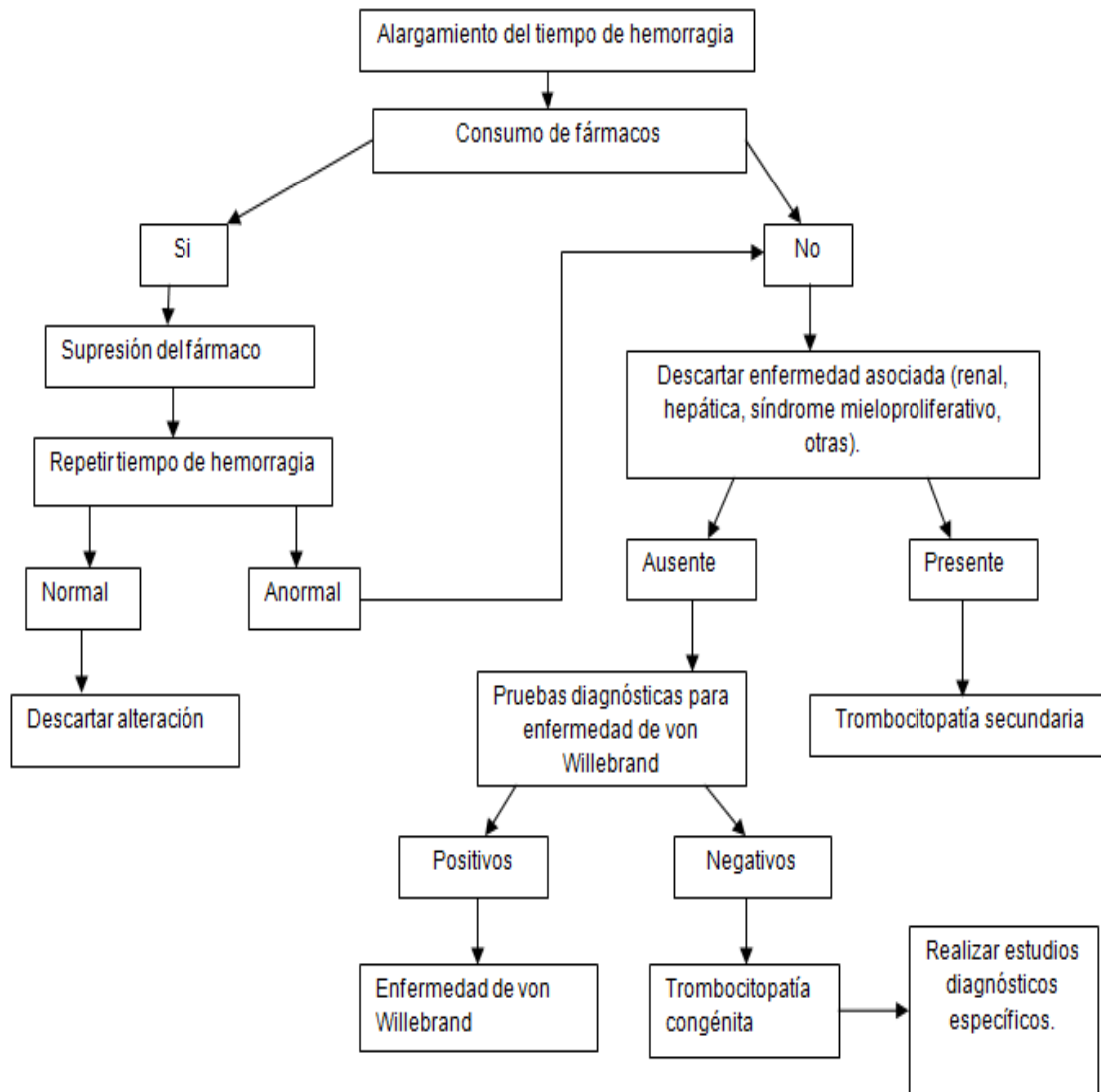


Fig. 4.4. Interpretación del alargamiento del tiempo de hemorragia.

El tiempo de hemorragia no debe practicarse dentro de un plazo de siete días previos en pacientes quienes han digerido aspirina o productos que la contienen. La aspirina produce un ligero aumento en el tiempo de hemorragia en casi todas las personas normales. Comienza a corregirse a las 48 horas después de que se toma una dosis.<sup>2</sup>

#### **Prueba de agregación de las plaquetas**

La prueba de agregación de las plaquetas es una prueba que evalúa la capacidad *in vitro* que tienen estas para agregarse con ciertos agonistas: esta prueba se puede indicar en pacientes quienes tienen tiempos de hemorragia prolongados en presencia de cifras normales de plaquetas, y puede ayudar a precisar la causa de la función anormal de estas. La agregación se mide espectrofotométricamente y se registra con un agregómetro de plaquetas. La medición se basa en la disminución de la densidad óptica producida en una solución al agregarse las plaquetas. La muestra requerida depende del tipo de instrumento. Algunos usan plasma rico en plaquetas y otros usan sangre entera con anticoagulante citrato de sodio.

Para practicar la prueba, la muestra se coloca en un tubo (cubeta), se calienta a 37°C y se mantienen a esa temperatura durante todo el procedimiento. La muestra se agita constantemente con una varilla para conservar a las plaquetas en suspensión permanente sin permitir que choquen entre sí: La agregación no se produce si no se agitan. Se agrega un agonista y se prueba individualmente con una alícuota por separado de la muestra. Un dispositivo registro vigila la agregación obtenida con cada agonista durante un periodo de cerca de 15 minutos. La agregación se mide como una disminución en la densidad óptica (absorbancia) de la suspensión de plaquetas. Inicialmente la suspensión es turbia, pero al agregarse las plaquetas la suspensión se vuelve más clara y disminuye la densidad óptica. De manera alterna, la agregación se puede expresar como porcentaje de transmitancia de luz, que es el log negativo de la densidad óptica.

Los reactivos de agregación usados más frecuentemente en la clínica son ADP, adrenalina, colágena y ristocetina, un antibiótico conocido por causar trombocitopenia: a veces se usan trombina y ácido araquidónico.

La agregación anormal de las plaquetas en respuesta a uno o más agonistas se ve en varios trastornos de la función plaquetaria. Es particularmente útil como un auxiliar en el diagnóstico de la enfermedad de von Willebrand, de la enfermedad de Bernard Soulier y de la trombostenia de Glanzmann. La prueba puede ser anormal después de la administración de varios fármacos incluso aspirina y como en el caso del tiempo de hemorragia, el paciente debe estar sin haber tomado aspirina durante una semana antes de la prueba. El retorno a la normalidad de la prueba de agregación de las plaquetas toma más tiempo en comparación con el tiempo de hemorragia después de la ingesta de aspirina.<sup>2</sup>

### ***Prueba de retracción del coágulo***

El proceso de retracción del coágulo conduce a la consolidación de un coágulo hemostático o trombo. La retracción ocurre por la interacción entre los pseudópodos de las plaquetas y las hebras de fibrina. Esto ocurre dentro de los 60 minutos y el coágulo ocupa el 50% del volumen total de sangre. La retracción del coágulo resulta en una masa estabilizada de plaquetas y de fibrina que cierra firmemente el vaso dañado para prevenir futuras pérdidas de sangre.

La retracción comienza a la hora con un máximo a las 24 horas. La retracción del coágulo depende de la función plaquetaria, de una proteína contráctil proveniente de la membrana plaquetaria (trombostenina), del magnesio, ATP y piruvato cinasa. La concentración y la habilidad funcional del fibrinógeno y el nivel del hematocrito deben estar dentro de los límites normales para arribar a una conclusión válida acerca de la función plaquetaria. La trombostenia de Glanzman es una condición hemorrágica hereditaria donde el conteo de plaquetas es normal, pero el tiempo de sangría se encuentra prolongado, existe una marcada disminución de la retracción del coágulo, y agregación y adhesión de plaquetas anormales. La retracción del coágulo defectuosa puede reflejar una falla en la activación de la actina en la membrana plaquetaria. En la trombostenia de Glanzman existe una disminución de la cantidad de Gp IIb-IIIa de la membrana plaquetaria<sup>3</sup> (Fig. 4.5)<sup>4</sup>.

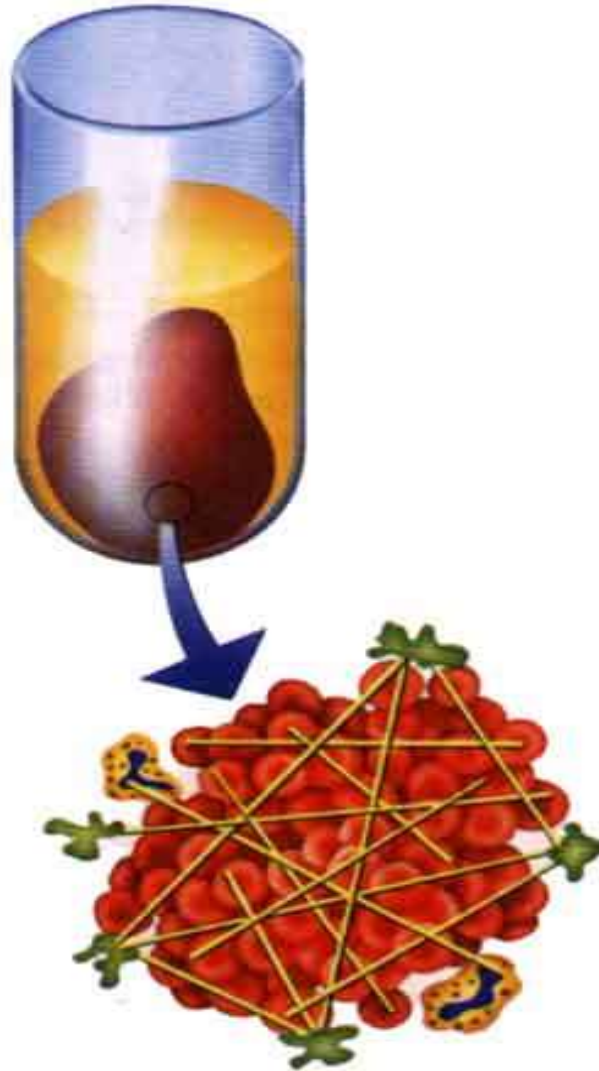


Fig. 4.5. Retracción del coágulo.

La prueba de retracción del coágulo ya no es un procedimiento clínico muy usado.

### Tiempo de Protrombina (TP)

#### Principio

El TP es un ensayo de escrutinio que permite valorar las vías extrínseca y común del sistema de la coagulación. El método mide el tiempo que tarda en coagular el plasma citratado, *in vitro*, después de agregarle un extracto de tromboplastina completa (factor tisular, apoproteína y fosfolípidos) y calcio, en condiciones óptimas de temperatura (37 °C) y pH de 7.3<sup>4</sup> (Fig. 4.6)<sup>5</sup>.



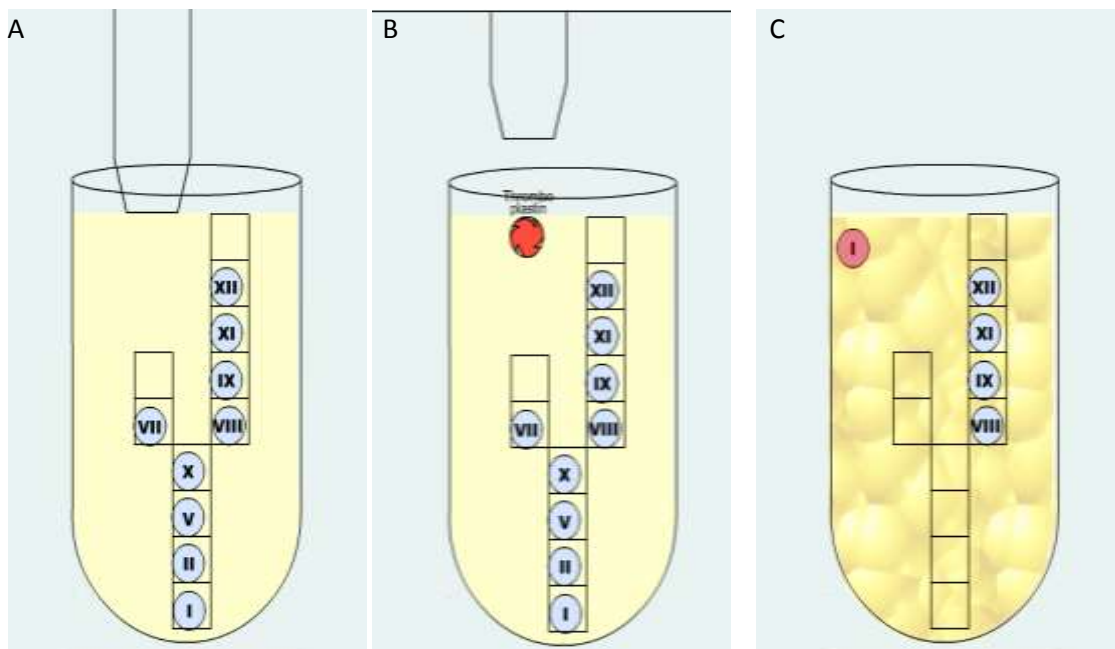


Fig. 4.6. Representación de la prueba del TP. A: se adiciona plasma a una cubeta, B: agregación del reactivo tromboplastina, C: se activa la vía extrínseca culminando en la formación de fibrina.

## Resultados

Se debe informar conjuntamente con el de una mezcla de plasmas normales obtenida de donadores sanos (plasma testigo normal).

## Interpretación clínica

El TP se emplea como prueba de evaluación preoperatoria y se prolonga en los siguientes casos: deficiencia congénita o adquirida de FII, FV, FVII y FX, tratamiento con anticoagulantes orales (antagonistas de la vitamina K como acenocumarina o warfarina), falla hepática, fibrinólisis, coagulación intravascular diseminada (CID), hipofibrinogenemia, enfermedad hemorrágica del recién nacido, desórdenes de reabsorción intestinal, intoxicación por salicilatos. El TP se acorta en: embarazo, hiperfunción ovárica, diarrea y vómito (por deshidratación).

## Obtención y preparación de la muestra biológica

Obtener sangre venosa o arterial del paciente, mezclar con solución de citrato de sodio 0.102 M (3.2%) en una proporción de nueve partes de sangre por una del anticoagulante. Las muestras pueden obtenerse directamente en tubos citratados, comerciales al vacío (tubo con tapón azul). Mezclar la muestra de sangre suavemente y de manera inmediata. Centrifugar por 15 min a 2,500 g (3,500 rpm) para obtener plasma pobre en plaquetas. Realizar la medición del TP antes de dos horas después de haberse obtenido la muestra.

Es importante no exponer los plasmas al hielo o refrigeración debido a que se ha observado que se incrementa la actividad de los factores FVII, XI y XII. El plasma es estable por 4 h a una temperatura entre 18 a 24 °C; si no es posible realizar el ensayo, se recomienda congelar el plasma de inmediato y, al momento del análisis, descongelarlo en baño maría a 37 °C en un intervalo de 5 a 10 minutos. Si se observan grumos en el plasma después del procedimiento anterior, repetir la centrifugación como se indicó. Los plasmas son estables un mes a -20 °C y a -70 °C hasta 6 meses.

## Reactivos Spinreact

- Tromboplastina completa
- Agua bidestilada o tridestilada. Se han observado resultados satisfactorios si se usa agua inyectable estéril. Es importante asegurarse que el pH del agua sea de 7.3 o ajustarlo si es necesario.

## Material y equipo

- Cronómetro.
- Baño maría a 37 °C.
- Centrifuga refrigerada.
- Potenciómetro.
- Puntas para pipetas.
- Pipetas automáticas de 100µL, 200µL y 1,000µL (calibradas).
- Coagulómetro semiautomatizado o automatizado.
- Refrigerador para almacenar los reactivos a 4 °C.
- Tubos de 10 x 75 mm.
- Cubeta de reacción (para el equipo automatizado o semiautomatizado, si cuenta con él).

Se recomienda utilizar plasma control normal y anormal (comercial o casero). El plasma testigo control (mezcla de plasmas normales, preparado en el laboratorio con un mínimo de 20 donadores sanos).

## Método

La determinación del TP se puede realizar de forma manual, semiautomatizada o automatizada. Si se cuenta con métodos automatizados, es importante apegarse a las especificaciones y recomendaciones que se indican en los insertos para el tratamiento de los reactivos y uso de los equipos empleados.

El método que a continuación se describe, por ser manual, se debe realizar por duplicado. Es recomendable que al iniciar la rutina de trabajo se determine la prueba en estudio a los plasmas controles (normales y/o anormales) y al plasma testigo normal.

### Método manual

Preincubar a 37 °C el reactivo de tromboplastina completa. En tubos de 10 x 75 mm, incubar por separado a 37 °C 100µL del plasma de prueba y/o controles por 3 minutos, añadir inmediatamente 200µL del reactivo de tromboplastina completa precalentado. Mezclar suave mente y accionar el cronómetro y detenerlo al observar el inicio de la formación del coágulo. Promediar los tiempos obtenidos. El TP por duplicado no debe ser diferente  $\pm 1$  segundo entre ambos resultados.

### Informe de resultados

Informar el tiempo de protrombina en segundos.

### Control de calidad

Para detectar precisión, exactitud o errores sistemáticos en la corrida de muestras, y asegurar la calidad de

Los resultados, se sugiere seguir las siguientes recomendaciones:

- Incluir en cada sesión de trabajo las determinaciones de TP de los plasmas: control normal, control anormal y testigo normal.
- Realizar los gráficos control (Levy-Jennings).
- Interpretar las gráficas siguiendo las reglas de Westgard.
- En caso necesario, repetir la corrida de los plasmas controles.

### Valores de referencia

12.5-13.7 segundos

El límite de referencia es variable dependiendo de la naturaleza de la tromboplastina y del equipo que se utilice. Se recomienda que cada laboratorio establezca sus límites de referencia para cada población que se atiende y bajo las circunstancias de trabajo. Sin embargo, se considera que los valores de referencia sean  $\pm 3$  segundos en relación al plasma testigo normal.

### Recomendaciones

- a) Los límites de referencia deben incluirse en el informe de resultados.
- b) Es importante incluir en el informe del TP el resultado obtenido del plasma testigo, si la diferencia entre ambos tiempos es  $> 3$  segundos, el resultado es anormal y debe estudiarse al paciente.
- c) Los resultados del tiempo de protrombina no son afectados por niveles de hasta 1 UI/mL de heparinas.
- d) Los reactivos idóneos para el manejo de los pacientes anticoagulados deben tener un ISI cercano a 1.0; las evidencias señalan que los reactivos con ISI mayor a 1.4 no son recomendables para calcular el INR.
- e) Dependiendo del origen y calidad del reactivo, puede variar la sensibilidad para detectar la deficiencia de los diferentes factores de la vía extrínseca de la coagulación. Usted debe seleccionar el tipo de tromboplastina que se ajuste a sus necesidades.

### Bioseguridad

Las muestras biológicas y las tromboplastinas comerciales (a pesar de haber sido sometidas a inactivación de virus tales como VIH, Hepatitis B y Hepatitis C), dado su origen, deben considerarse potencialmente infecciosas, por lo que el personal debe emplear el equipo necesario para manipularlas.

### COCIENTE ESTANDARIZADO INTERNACIONAL (INR).

La OMS recomienda un programa de calibración para tromboplastinas que permite la estandarización internacional del control a largo plazo de los pacientes tratados con anticoagulantes orales. La OMS recomienda informar los resultados empleando el INR. Esta medida se basa en la relación obtenida entre el TP del paciente con el TP de una mezcla de plasmas de individuos "sanos" o "libres de enfermedad aparente", y representa la proporción de TP que se obtendría si las pruebas se llevaran a cabo con la Preparación de Referencia Internacional (PRI 67/40) utilizando la técnica manual del tubo inclinado .

Para obtener el INR se debe tomar en cuenta la sensibilidad de la tromboplastina (ISI). Las diferentes casas comerciales fabrican sus tromboplastinas calibradas con valores precisos del ISI que permiten determinar los valores del INR en pacientes con terapia anticoagulante oral, por lo que es indispensable seguir las instrucciones del fabricante para la realización de la prueba. De acuerdo con las recomendaciones del Comité Internacional de Estandarización en Hematología y del Comité Internacional en Trombosis y Hemostasia, el valor del ISI deberá determinarse en relación a una tromboplastina de

referencia que ha sido calibrada y que se denomina Preparación de Referencia Internacional de la Organización Mundial de la Salud.

### **Cálculo del INR**

El valor del INR se obtiene, primero a través del cálculo del índice de protrombina (IP): dividiendo el resultado del TP del paciente entre el resultado del TP testigo. Después, esta razón se eleva a la potencia del ISI, el resultado es el INR y se expresa con la siguiente fórmula:

$$\text{INR} = \left[ \frac{\text{TP del paciente}}{\text{TP del testigo}} \right]^{\text{ISI}}$$

Ejemplo:

El valor de testigo = 12.2 seg.  
El valor de TP del paciente = 20.9 seg.  
El valor de ISI del TP = 1.2

$$\text{INR} = \left[ \frac{20.9}{12.2} \right]^{\text{ISI}} = (1.71)^{\text{ISI}}$$

$$\text{INR} = (1.71)^{1.2}$$
$$\text{INR} = 1.9$$

Por lo tanto, el INR puede obtenerse utilizando una calculadora científica de bolsillo que ejecute la función exponencial  $X^Y$ . Algunos equipos automatizados calculan el INR directamente ingresando el valor del TP del plasma testigo y el valor del ISI; el equipo hace el cálculo directamente. Hay varias razones por las cuales debemos aceptar y utilizar el INR ya que a través de su uso es posible realizar el control de los pacientes con riesgo de trombosis de una manera más segura y eficaz. Informar los resultados con el INR permite lograr valores terapéuticos más confiables, seguros, significativos y mejorar la correlación entre los laboratorios. El INR permite al médico comparar directamente los resultados del TP sin tomar en cuenta el sistema reactivo/ instrumento empleado. Si un laboratorio cambia de marca de reactivos o instrumentos para determinar el TP, la con-versión a INR minimiza cualquier diferencia que pudiera ocurrir.

### **Tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPA)**

El Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada (TTPa) es un ensayo de escrutinio que permite valorar las vías intrínseca y común del sistema de la coagulación. Esta prueba se fundamenta en la medición del tiempo que tarda en coagular el plasma en presencia de una tromboplastina parcial (cefalina) activada mediante una sustancia de contacto (caolín, celite, ácido elágico, soya) más la presencia de calcio. Refleja la integridad global del sistema intrínseco de la coagulación (Fig. 4.7)<sup>5</sup>.

Esta prueba es especialmente sensible a los defectos de los factores que intervienen en la primera fase o vía intrínseca como: VIII, IX, XI, XII, así como a la presencia de inhibidores específicos e inespecíficos (anticoagulante lúpico), y a la administración de heparina de alto peso molecular.

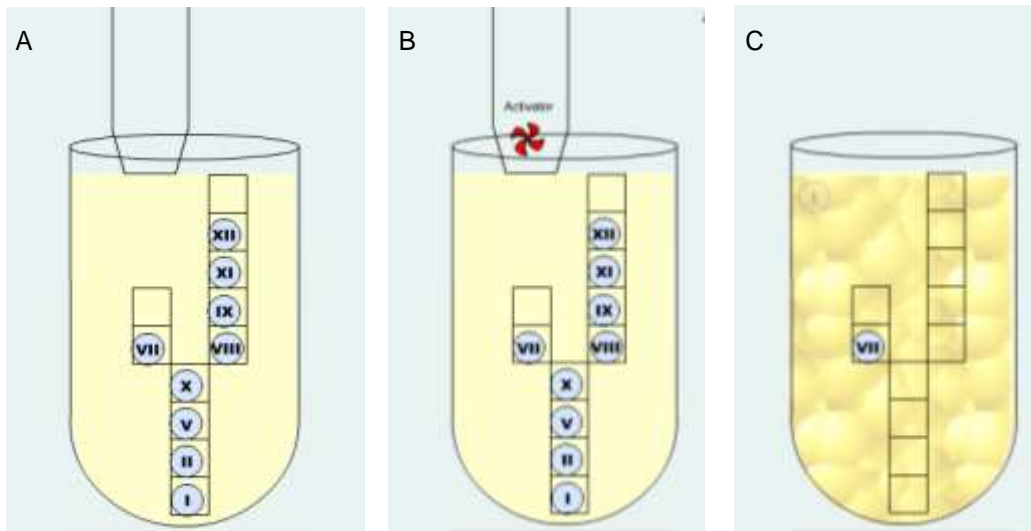


Fig. 4.7. Representación de la prueba del TPP. A: se adiciona plasma a una cubeta. B: agregación del reactivo TTPa + calcio. C: se activa la vía intrínseca culminando en la formación de fibrina.

### Indicaciones clínicas

Se emplea en la evaluación preoperatoria y es fundamental para descartar deficiencias congénitas o adquiridas de factores de la coagulación, así como en el seguimiento de la terapia anticoagulante con heparina de alto peso molecular.

La prolongación del TTPa se observa en los siguientes casos: deficiencias de FVIII, FIX, FXI, FXII, precalicreína y cininógeno de alto peso molecular, falla hepática (cirrosis, hepatitis), CID, anticuerpos circulantes específicos para algún factor de la vía intrínseca e inhibidores tipo lúpico.

### Fundamento

El TTPa es una prueba que se basa en la recalcificación del plasma in vitro en presencia de fosfolípidos como sustituto de plaquetas y de una sustancia activadora.

### Obtención de la muestra biológica

Obtener sangre venosa o arterial del paciente, diluirla con solución de citrato de sodio 0.102 M (3.2%) en una proporción de 9 partes de sangre por 1 del anticoagulante. Las muestras pueden obtenerse directamente en tubos citratados, comerciales (tubo con tapón azul). Mezclar la muestra de sangre suavemente y de manera inmediata. Centrifugar por 15 min a 2,500 g (3,500 rpm) para obtener plasma pobre en plaquetas. Realizar la medición del TTPa antes de dos horas después de haberse obtenido la muestra.

### Estabilidad de la muestra

Es importante no exponer los plasmas en hielo o refrigeración debido a que se ha observado que disminuye la actividad del FVII por ser una proteína termolábil.

El plasma es estable por 4 h entre 18 a 24 °C; sin embargo, es recomendable realizar el análisis antes de dos horas de haberse obtenido la muestra, si esto no es posible, entonces se recomienda congelar el plasma de inmediato y al momento del análisis descongelarlo en baño maría a 37 °C en un lapso de 5 a 10

minutos. Si observa grumos en el plasma después del procedimiento antes mencionado, repetir la centrifugación en las condiciones señaladas en el punto anterior. Los plasmas son estables un mes a -20 °C y a -70 °C hasta seis meses.

### **Reactivos Spinreact**

- Tromboplastina parcial activada (reactivo de TTPa).
- Cloruro de calcio 0.025 M.
- Agua bidestilada o tridestilada. Se han observado resultados satisfactorios si se utiliza agua inyectable estéril. Es importante asegurarse que el pH del agua sea de 7.3 o ajustarlo si es necesario.

### **Material y equipo**

- Cronómetro.
- Baño maría a 37 °C.
- Centrífuga refrigerada.
- Potenciómetro.
- Puntas para pipetas.
- Pipetas automáticas de 100 µL, 200 µL y 1000 µL (calibradas).
- Coagulómetro semi-automatizado o automatizado.
- Refrigerador para almacenar los reactivos a 4 °C.
- Tubos de 10 x 75 mm.
- Cubeta de reacción (para el equipo automatizado o semiautomatizado, si cuenta con él).

### **Plasmas controles (evaluación de la calidad)**

Se recomienda utilizar plasma control normal (comercial o casero), plasma control anormal (comercial o casero) del que se obtienen tiempos prolongados y plasma testigo normal (mezcla de plasmas normales preparado en el laboratorio con un mínimo de 20 donadores sanos).

### **Método**

La determinación del TTPa se puede realizar de forma manual, semiautomatizado o automatizado. Si se cuenta con métodos automatizados, es importante apearse a las especificaciones y recomendaciones que se indican en los insertos para el tratamiento de los reactivos y uso de los equipos empleados.

El método que a continuación se describe se debe realizar por duplicado. Es recomendable que al iniciar la rutina de trabajo se determine la prueba en estudio a los plasmas controles (normales y/o altos) y al plasma testigo normal.

### **Método manual**

Preincubar a 37 °C la solución de cloruro de calcio 0.025 M (CaCl<sub>2</sub> 0.025 M). En tubos de 10 x 75 mm, calentar por separado a 37 °C por 3 min, 100 µL de los plasmas control normal, por separado colocar 100 µL del plasma problema o plasmas controles y añadir inmediatamente 100 µL de tromboplastina parcial activada, mezclar suavemente el tubo e incubar a 37 °C por 3 minutos. Añadir inmediatamente 100 µL de CaCl<sub>2</sub> precalentado, accionar de inmediato el cronómetro y detenerlo al observar el inicio de la formación del coágulo. El TTPa por duplicado no será diferente  $\pm$  3 segundos entre ambos resultados,

### **Informe de resultados**

Se debe informar el tiempo promedio en segundos que tarda en formarse el coágulo del plasma testigo normal y plasma problema.

## Control de calidad

Para detectar imprecisión e inexactitud o errores sistemáticos en la corrida de muestras y de esta forma controlar y asegurar la calidad de los resultados, se sugiere seguir las siguientes recomendaciones:

- En cada sesión de trabajo se incluyan las determinaciones del TTP del plasma control normal, plasma control alto y plasma testigo normal.
- Realizar los gráficos control (Levy-Jennings).
- Interpretar las gráficas siguiendo las reglas de West-gard.
- En caso necesario, repetir la corrida de los plasma controles.

## Valores de referencia

30-33 segundos.

El límite de referencia es variable dependiendo de la tromboplastina parcial activada y del equipo que se utilice. Se recomienda que cada laboratorio determine sus límites de referencia para cada población que se atiende y bajo las circunstancias de trabajo. Sin embargo, se considera que los valores de referencia sean  $\pm 5$  segundos en relación al plasma testigo normal.

## Recomendaciones

- a) Los límites de referencia deben incluirse en el informe de resultados.
- b) Es importante incluir en el informe del TTPa el resultado obtenido del plasma del paciente, así como el TTPa del plasma testigo normal, si la diferencia entre ambos tiempos es  $> 5$  segundos, el resultado es anormal y debe estudiarse al paciente.
- c) Los reactivos que emplean caolín como activador de la tromboplastina parcial son más sensibles a la presencia de anticoagulante lúpico y heparina.
- d) Dependiendo del origen y calidad del reactivo, éste será sensible a la deficiencia de factores de la coagulación, por lo que debe seleccionar el tipo de tromboplastina que se ajuste a sus necesidades.
- e) Para la deficiencia de factor XII se recomienda medir el TTP con reactivo de tromboplastina parcial sin activar, o bien, realizar la dosificación directa del FXII, ya que algunos de los reactivos previamente activados (por el proveedor) no detectan deficiencias de este factor y/o la de otros elementos de la fase de contacto.

## Bioseguridad

Las muestras biológicas y las tromboplastinas comerciales (aun cuando se sometieron a pruebas para inactivación de virus tales como VIH, Hepatitis B y Hepatitis C), por el origen de donde se obtienen, deben considerarse potencialmente infecciosas, por lo que el personal debe emplear guantes para manipularlas.

## Tiempo de Trombina (TT)

El tiempo de trombina es una prueba que debe incluirse en el panel de las pruebas de escrutinio. Evalúa la última fase de la coagulación, es decir, la función y calidad del fibrinógeno. La trombina es una enzima altamente específica que actúa sobre el fibrinógeno, transformándolo en fibrina y no se encuentra en sangre circulante.

## Indicaciones clínicas

El alargamiento del TT se observa cuando el fibrinógeno está disminuido, en alteraciones congénitas como la hipofibrinogenemia, afibrinogenemia y disfibrinogenemia, en hipofibrinogenemias adquiridas como consecuencia de una coagulación intravascular diseminada (CID), fibrinólisis o enfermedad hepática,

agentes antitrombóticos como la heparina y presencia de productos de degradación de fibrinógeno-fibrina (PDF).

### Fundamento

El TT es un parámetro que permite medir el tiempo durante el cual el fibrinógeno presente en el plasma *in vitro* se transforma en fibrina, por la adición de una cantidad estandarizada de trombina (Fig. 4.8)<sup>6</sup>.

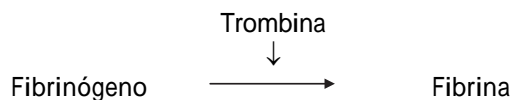


Fig. 4.8. Conversión del fibrinógeno a fibrina por acción de la trombina.

### Obtención de la muestra biológica

Obtener sangre venosa o arterial del paciente, diluirla con solución de citrato de sodio 0.102 M (3.2%) en una proporción de 9 partes de sangre por 1 del anticoagulante. Las muestras pueden obtenerse directamente en tubos citratados, comerciales (tubo con tapón azul). Mezclar la muestra de sangre suavemente y de manera inmediata. Centrifugar por 15 min a 2,500 g (3,500 rpm) para obtener plasma pobre en plaquetas. Realizar la medición del TT antes de dos horas después de haberse obtenido la muestra.

### Estabilidad de la muestra

Es importante no exponer los plasmas en hielo o refrigeración debido a que se ha observado que disminuye la actividad del FVII por ser una proteína termolábil. El plasma es estable por 4 h a una temperatura de 18 a 24 °C; sin embargo, es recomendable realizar el análisis antes de dos horas de haberse obtenido la muestra, si esto no es posible, entonces se recomienda congelar el plasma de inmediato y al momento del análisis descongelarlo en baño maría a 37 °C en un lapso de 5 a 10 minutos. Si observa grumos en el plasma después del procedimiento antes mencionado, repetir la centrifugación en las condiciones señaladas en el punto anterior. Los plasmas son estables un mes a -20 °C y a -70 °C hasta seis meses.

### Reactivos Spinreact

- Reactivo de Trombina ajustado (es importante que se considere la sugerencia en el inciso A en la parte de la recomendación).
- Agua bidestilada o tridestilada. Se han observado resultados satisfactorios si se utiliza agua inyectable estéril. Es importante asegurarse que el pH del agua sea de 7.3 o ajustarlo si es necesario.

### Material y equipo

- Cronómetro.
- Baño maría a 37 °C.
- Centrífuga refrigerada.
- Potenciómetro.
- Puntas para pipetas.
- Pipetas automáticas de 100µL, 200µL y 1,000µL (calibradas).
- Coagulómetro semiautomatizado o automatizado.
- Refrigerador para almacenar los reactivos a 4 °C.



- Tubos de 10 x 75 mm
- Cubeta de reacción (para el equipo automatizado o semiautomatizado).

### **Plasmas controles (evaluación de la calidad)**

Se recomienda utilizar plasma control normal (comercial o casero), plasma control anormal (comercial o casero) del que se obtienen tiempos prolongados y plasma testigo normal (mezcla de plasmas normales preparado en el laboratorio con un mínimo de 20 donadores sanos).

### **Método**

La determinación del TT se puede realizar de forma manual, semiautomatizado o automatizado. Si se cuenta con métodos automatizados, es importante apegarse a las especificaciones y recomendaciones que se indican en los insertos para el tratamiento de los reactivos y uso de los equipos empleados.

El método que a continuación se describe se debe realizar por duplicado. Es recomendable que al iniciar la rutina de trabajo se determine la prueba en estudio a los plasmas controles (normales y/o altos) y al plasma testigo normal.

### **Método manual**

Preincubar a 37°C el reactivo de trombina. En tubos de vidrio de 10 x 75 mm, calentar por separado a 37 °C por 3 min, 200µL de los plasmas control, testigo y problema, e inmediatamente añadir 200µL del reactivo de Trombina precalentado. Mezclar suavemente, y accionar el cronómetro y detenerlo al observar el inicio de la formación del coágulo. El TT por duplicado no debe ser diferente  $\pm 1$  segundo entre ambos resultados.

### **Informe de resultados**

Informar el tiempo promedio en segundos que tarda en formarse el coágulo del plasma testigo y plasma problema.

### **Control de calidad**

Para detectar imprecisión e inexactitud o errores sistemáticos en la corrida de muestras y de esta forma controlar y asegurar la calidad de los resultados, se sugiere seguir las siguientes recomendaciones:

- En cada sesión de trabajo se incluyan las determinaciones del TT de los plasmas control normal, control alto y testigo normal.
- Realizar los gráficos control (Levy-Jennings).
- Interpretar las gráficas siguiendo las reglas de Westgard.
- En caso necesario, repetir la corrida de los plasma controles.

### **Valores de referencia**

17.7-20 segundos

El límite de referencia es variable dependiendo del reactivo de trombina y del equipo que se utilice. Se recomienda que cada laboratorio determine sus límites de referencia para cada población que se atienda y bajo las circunstancias de trabajo. Sin embargo, se considera que los valores de referencia sean  $\pm 2$  segundos en relación con el plasma testigo normal.

## Recomendaciones

- Antes de realizar el TT, el reactivo de trombina comercial que se va a utilizar debe ajustarse, para ello primero hay que medir el TT a una mezcla de plasmas normales con el reactivo de trombina tal como se obtiene del fabricante (generalmente el resultado se obtiene entre 10 y 15 segundos), por lo que debe diluirse hasta obtener una concentración aproximada de 10-15 U/mL, ajustar la concentración para que la con la mezcla de plasmas normales se obtenga el valor deseado en segundos (entre 18-22seg). La Federación Mundial de Hemofilia recomienda en su manual de laboratorio, que se almacenen alícuotas del reactivo hidratado a -35 °C o temperaturas menores, para ser diluida al momento de realizar el ensayo, ya que es termolábil y se deteriora a temperatura ambiente.
- Los límites de referencia deben incluirse en el informe de resultados.
- Es importante incluir en el informe del TT el resultado obtenido del plasma del plasma testigo normal, si la diferencia entre ambos tiempos es  $\pm 2$  segundos, el resultado es anormal y debe estudiarse al paciente.
- Se ha observado que el TT es significativamente más alargado en personas jóvenes y se acorta en ancianos.

## Bioseguridad

Las muestras biológicas y las tromboplastinas comerciales (aun cuando se sometieron a pruebas para inactivación de virus tales como VIH, Hepatitis B y Hepatitis C), por el origen de donde se obtienen, deben considerarse potencialmente infecciosas, por lo que el personal debe emplear guantes para manipularlas.

La (Fig. 4.9)<sup>7</sup>, ilustra los diferentes caminos que siguen cada una de las pruebas TP, TTP y TT.

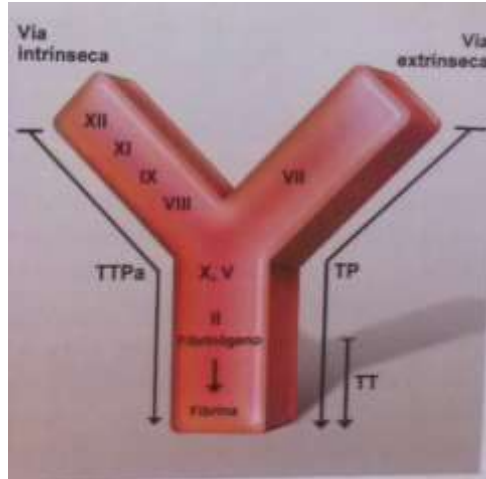


Fig. 4.9. Evaluación de cada una de las vías de la cascada de la coagulación de acuerdo al TP, TTP y TT.

## Fibrinógeno (Método de CLAUS)

El fibrinógeno es una glicoproteína sintetizada por el hígado (1.7 a 5 g/día), por acción enzimática de la trombina, el fibrinógeno es transformado en péptidos de fibrina. La concentración normal en plasma circulante es de 180-400 mg/dL, dependiendo de la edad, sexo y grupo étnico. Tiene una vida media de 3 a 5 días (Fig. 4.10)<sup>5</sup>.

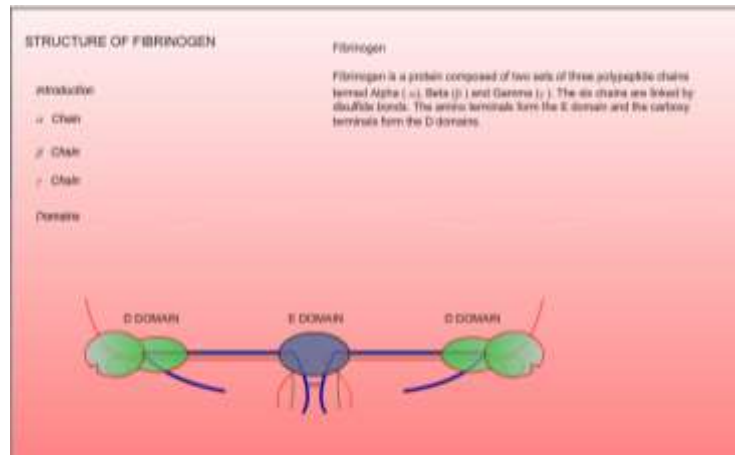


Fig. 4.10. Estructura del fibrinógeno.

### Indicaciones clínicas

Las concentraciones del fibrinógeno aumentan en caso de diabetes, infarto agudo del miocardio, fenómenos tromboticos cardiovascular, embolia pulmonar, trombosis, infarto cerebral, síndrome nefrótico, síndromes inflamatorios y por obesidad, hiperfibrinogenemias (aumento marcado de la concentración). El fibrinógeno se ve disminuido en fibrinólisis, CID, afibrinogenemia congénita (la proteína prácticamente está ausente), disfibrinogenemia (la concentración es normal pero funcionalmente inactiva), hipofibrinogenemia (disminución en la concentración), hipodisfibrinogenemia (la concentración de la proteína es baja con alteración en su función).

### Fundamento

En presencia de un exceso de trombina, el tiempo de coagulación de la muestra de plasma diluida es inversamente proporcional a la concentración de fibrinógeno.

### Obtención de la muestra biológica

Obtener sangre venosa o arterial del paciente, diluirla con solución de citrato de sodio 0.102 M (3.2%) en una proporción de 9 partes de sangre por 1 del anticoagulante. Las muestras pueden obtenerse directamente en tubos citratados, comerciales (tubo con tapón azul). Mezclar la muestra de sangre suavemente y de manera inmediata. Centrifugar por 15 min a 2,500 g (3,500 rpm) para obtener plasma pobre en plaquetas. Realizar la medición del fibrinógeno antes de dos horas después de haberse obtenido la muestra.

### Estabilidad de la muestra

Es importante no exponer los plasmas en hielo o refrigeración debido a que se ha observado que disminuye la actividad del FVII por ser una proteína termolábil. El plasma es estable por 4 h entre 18 a 24 °C; sin embargo, es recomendable realizar el análisis antes de dos horas de haberse obtenido la muestra, si esto no es posible, entonces se recomienda congelar el plasma de inmediato y al momento del análisis descongelarlo en baño maría a 37 °C entre 5 a 10 minutos. Si observa grumos en el plasma después del procedimiento antes mencionado, repetir la centrifugación en las condiciones señaladas en el punto anterior. Los plasmas son estables un mes a -20 °C y a -70 °C hasta seis meses.

### Reactivos Spinreact

- Trombina concentrada.
- Solución amortiguadora de imidazol o veronal, pH 7.35.
- Agua bidestilada o tridestilada. Se ha observado resultados satisfactorios si se utiliza agua inyectable

estéril. Es importante asegurarse que el pH del agua sea de 7.3 o ajustarlo si es necesario.

### **Material y equipo**

- Cronómetro.
- Baño maría a 37 °C.
- Centrífuga refrigerada.
- Potenciómetro.
- Puntas para pipetas.
- Pipetas automáticas de 100µL, 200µL y 1,000µL (calibradas).
- Coagulómetro semiautomatizado o automatizado.
- Refrigerador para almacenar los reactivos a 4 °C.
- Tubos de 10 x 75 mm.
- Cubeta de reacción (para el equipo automatizado o semiautomatizado).

### **Plasmas controles (evaluación de la calidad)**

- Plasma control normal (comercial o casero).
- Plasma control alto (comercial o casero).
- Plasma testigo normal (mezcla de plasmas normales, preparado en el laboratorio con un mínimo de 20 donadores sanos).

### **Método**

La determinación del fibrinógeno se puede realizar de forma manual, semiautomatizado o automatizado. Si se cuenta con métodos automatizados, es importante apegarse a las especificaciones y recomendaciones que se indican en los insertos para el tratamiento de los reactivos y uso de los equipos empleados.

El método a continuación descrito se debe realizar por duplicado. Es recomendable que al iniciar la rutina de trabajo se determine la prueba en estudio a los plasmas controles (normales y/o altos) y al plasma testigo normal. Realizar una curva de calibración.

### **Método manual**

Preincubar a 37 °C reactivo de trombina concentrada. Diluir el plasma problema o control 1:10 con solución amortiguadora, en un tubo de 10 x 75, agregar 200µL del plasma diluido e incubar durante 3' e inmediatamente después añadir 100µL de la trombina precalentada. Mezclar suavemente y accionar el cronómetro y detenerlo al observar el inicio de la formación del coágulo. El fibrinógeno por duplicado no será diferente  $\pm$  1 segundo entre ambos resultados.

### **Informe de resultados**

Se debe informar en mg/dL.

### **Control de calidad**

Para detectar imprecisión e inexactitud o errores sistemáticos en la corrida de muestras y de esta forma controlar y asegurar la calidad de los resultados, se sugiere seguir las siguientes recomendaciones:

- En cada sesión de trabajo se incluyan las determinaciones del fibrinógeno del plasma control normal, plasma control alto y plasma testigo normal.
- Realizar los gráficos control (Levey-Jennings).

- Interpretar las gráficas siguiendo las reglas de Westgard.
- En caso necesario, repetir la corrida de los plasma controles.

### Valores de referencia

El límite de referencia es 200-400 mg/dL. Se recomienda que cada laboratorio determine sus límites de referencia para cada población que se atiende y bajo las circunstancias de trabajo.

### Recomendaciones

- Los límites de referencia deben incluirse en el informe de resultados.
- Disfibrinogenemias adquiridas se observan en diversas patologías, por ejemplo: en hepatopatías, nefropatías, mieloma múltiple, hiperhomocisteinemia.
- Hiperfibrinogenemia se observa en el embarazo en condiciones fisiológicas, así como en patologías con procesos inflamatorios y cáncer.
- Una concentración de fibrinógeno elevada, sin llegar a considerarse hiperfibrinogenemia, ha sido postulada como factor de riesgo de enfermedad cardiovascular isquémica.

### Bioseguridad

Las muestras biológicas y las tromboplastinas comerciales (aun cuando se sometieron a pruebas para inactivación de virus tales como VIH, hepatitis B y hepatitis C), por el origen de donde se obtienen, deben considerarse potencialmente infecciosas, por lo que el personal debe emplear guantes para manipularlas.<sup>4</sup>

### Recomendaciones cuando hay un resultado de TP y/o TTPa prolongado

Cuando hay un resultado de TP y/o TTPa prolongado, lo primero que debe hacerse es comprobar si se trata del déficit de vitamina K, de un factor o la existencia de un anticoagulante (natural, adquirido, artificial o anticuerpo). Para ello se realiza una mezcla del plasma del enfermo con una mezcla de plasmas normales. Esta mezcla se obtiene a una concentración de vol:vol, es decir, 1 a 1. Después de un breve periodo de incubación a 37°C, se repite la prueba que había sido anormal. La continuación del tiempo de coagulación prolongado indica la presencia de un anticoagulante, en tanto que, si se corrige, se detecta una deficiencia en alguno o varios de los factores de la coagulación. En este último caso se detecta el factor deficiente y para ello se cuantifica la concentración de los factores, sin perder de vista que:

- Si el tiempo de protrombina está prolongado, los factores que pueden estar disminuidos son VII, X, V, II y I.
- Si se halla el tiempo de tromboplastina parcial anormal, los factores que pueden encontrarse disminuidos son XII, XI, calicreína, cininógeno de alto peso molecular, IX, VIII, X, V, II y I.
- Si ambos están alargados, lo más probable es que esté afectado uno o varios factores de la vía común: X, V II y I.<sup>5</sup> Tabla 1.

### Cuantificación del factor XIII

El factor XIII es el único factor cuya disminución no puede ser detectada por los estudios de laboratorio mencionados (TP y TTPa). En este caso debe cuantificarse por la capacidad que tiene el coágulo formado de ser insoluble en la urea. Se solicita cuando haya una diátesis hemorrágica notable, por lo general tardía o retardada, y que las pruebas de detección sean normales.<sup>5</sup>

## Diagnóstico diferencial

El uso adecuado de las pruebas antes descritas permite discriminar alteraciones hemostáticas adquiridas y hereditarias (Cuadros 4.1 y 4.2)<sup>7</sup>.

Cuadro 4.1. Clasificación de las anomalías hemostáticas.

Deficiencia	TTPa Prolongado	TP Prolongado	Patrón tipo
CAPM	+	-	I
PK	+	-	I
FXII	+	-	I
FXI	+	-	I
FIX	+	-	I
FVIII	+	-	I
FVII	-	+	II
FV	+	+	III
FX	+	+	III
FII	+	+	III
Fibrinógeno	+	+	III, IV
FXIII	-	-	III, IV

Cuadro 4.2. Evaluación hemostática global.\*a menos que la deficiencia de fibrinógeno o su inhibición sean graves.

Grupo	TP	TTPa	TT
Vía Intrínseca alterada	Normal	Anormal	Normal
Vía Extrínseca alterada	Anormal	Normal	Normal
Vía común alterada o defectos múltiples	Anormal	Anormal	Usualmente normal
Fibrinógeno alterado	Normal	Normal*	Anormal

### Relación de los cuadros 1 y 2

- Las alteraciones del **patrón I** tienen actividad anormal de los factores iniciales de la fase fluida y se subdividen en dos grupos: La deficiencia de CAMP, PK y FXII no se asocia a hemorragia, no así la deficiencia de los otros tres.
- El **patrón II** corresponde a un TP prolongado con TTPa y TT normales. La única condición asociada a este patrón es en la deficiencia de FVII tanto hereditaria (muy rara), como adquirida (deficiencia de vitamina K, cumarínicos, antibióticos, malabsorción o ictericia obstructiva).

- El **patrón III** consiste en TTPa y TP prolongados con TT normal o anormal. Estos pacientes tienen deficiencia funcional hereditaria (fibrinógeno, FII, FV o FX) o deficiencia funcional adquirida (deficiencia de vitamina K, coagulación intravascular diseminada, anticoagulantes circulantes o insuficiencia hepática). Si el fibrinógeno está deficiente o anormal, el TT también se prolonga. La deficiencia de las proteínas de la vía común (fibrinógeno, FII, FV, y FX), pueden tener este patrón. Ocasionalmente, ocurren deficiencias mixtas de FV y FVII. En la deficiencia de K-dependientes, II, IX, VII y X están reducidos y el FV está normal. En pacientes con hepatopatía, el fibrinógeno es anormal lo que alarga el TT. El patrón IV tiene TT prolongado y TP Y TTPa normal o alargado. Estos pacientes pueden tener hipofibrinogenemia, disfibrinogenemia, presencia de productos de degradación del fibrinógeno (PDFs) o heparina. Si existe deficiencia total de fibrinógeno ninguna de las pruebas tiene fin. En la hipofibrinogenemia moderada el TT tiende a ser más alargado que el TP y el TTPa. La hipofibrinogenemia puede ser hereditaria pero más frecuente se debe a CID descompensada o insuficiencia hepática.<sup>1</sup>

#### Referencias

1. Ruiz Argüelles G, Fundamentos de hematología. 4ª ed. México DF: Médica Panamericana; 2009.
2. McKenzie S. Hematología clínica. 2ª ed. México DF: El manual moderno; 2000.
3. Tietz N. W. Clinical Guide to Laboratory test, edited by W.B. Saunders Company, third edition, United States of America ,1995.
4. Moreno Hernández M y Cols. Consenso sobre estandarización de las pruebas de coagulación. Revista de Hemostasia y Trombosis. 2008; 2(2, 3, y 4):102-114.
5. Jaime Pérez J, Gómez Almaguer D. Hematología la sangre y sus enfermedades. 3ª ed. México DF: Mc Graw Hill; 2012.

#### Referencias usadas en imágenes y cuadros

1. Borbolla J. Hematología algoritmos diagnósticos. México DF: Mc Graw Hill; 2004.
2. <http://leucemiaihemostasia.blogspot.mx/2009/09/las-plaquetas.html>
3. [http://reddymed.com/lab/st\\_bleeding.html](http://reddymed.com/lab/st_bleeding.html)
4. <https://quimicoclinico.wordpress.com/2008/04/04/retaccion-del-coagulo/>
5. <http://www.reddymed.com/index.html>
6. Martínez-Murillo C. Mecanismos de activación de la coagulación. Rev Med Inst Mex Seguro Soc. 2006; 44 Supl 2: 51-58.
7. Ruiz Argüelles G, Fundamentos de hematología. 5ª ed. México DF: Médica Panamericana; 2009.

## CAPITULO V

### COAGULOPATÍAS DE LA HEMOSTASIA PRIMARIA

#### EVALUACIÓN DEL PACIENTE CON HEMORRAGIA ANORMAL

Definición del síndrome hemorrágico

Con excepción de la hemorragia menstrual que presentan las mujeres en la vida sexual activa, toda hemorragia se considera por definición como anormal. Sin embargo, en algunas situaciones la hemorragia no se relaciona con el estímulo que la originó, o bien se presenta de manera espontánea. Es a este tipo de hemorragia al que se le considera como “anormal”, es decir, cuando hay una hemorragia espontánea o el estímulo agresor no explica una hemorragia profusa. Cuando un enfermo acude a evaluación con un cuadro hemorrágico es imprescindible, antes de tomar cualquier decisión terapéutica, que se realice un interrogatorio directo al paciente o sus familiares y una exploración física detallada.<sup>1</sup>

#### DIAGNÓSTICO DE LOS TRASTORNOS HEMORRÁGICOS

Las manifestaciones clínicas son variadas y su intensidad es generalmente proporcional a la gravedad del defecto. El tipo de hemorragia puede indicar la porción defectuosa del mecanismo hemostático. La hemorragia de vasos sanguíneos subcutáneos en piel intacta se puede ver como petequia o equimosis. Las petequias son manchas pequeñas de color rojo a morado menores de 3mm de diámetro. Resultan de los escape de sangre a través del recubrimiento intacto de los capilares endoteliales. Las petequias suelen presentarse en las extremidades debido a la presión venosa alta y cuando se originan espontáneamente sin traumatismos son indoloras. Las lesiones acompañan característicamente a las anomalías de las plaquetas y de los vasos sanguíneos (Fig. 5.1)<sup>1</sup>.



Fig. 5.1. Petequias.



La equimosis son magulladuras mayores de 3mm de diámetro y también tienen como causa los escapes de sangre a través del endotelio intacto al interior del tejido subcutáneo. Son de color rojo a morado cuando se forman por primera vez, y se vuelven verde amarillentas con el tiempo. La equimosis puede presentarse espontáneamente o con traumatismos, y puede ser dolorosa e hipersensible (Fig. 5.2)<sup>2</sup>.



Fig. 5.2. Equimosis.

Cuando se encuentran equimosis en números mayores que los normales y con traumatismos menores de lo ordinario, el trastorno se conoce como diátesis hemorrágica y puede producirse en las anomalías de los vasos sanguíneos, de las plaquetas o de los factores de la coagulación.

El término púrpura, que significa amoratado, se usa para describir tanto petequias como equimosis. La púrpura también se usa como parte del nombre de las enfermedades en las cuales se producen estos signos clásicos.

Un hematoma es una magulladura que se forma cuando escapa sangre de la abertura en un vaso y se colecta por debajo de la piel intacta. Es color azul o amoratado y ligeramente elevado. Los hematomas se pueden presentar en cualquier órgano o tejido y pueden hacerlo bajo la forma de un coágulo<sup>2</sup> (Fig. 5.3)<sup>3</sup>.



Fig. 5.3. Hematoma.

### **ABORDAJE DIAGNÓSTICO DEL SANGRADO DE ORIGEN HEMATOLÓGICO**

La valoración del paciente con la finalidad de diagnosticar un proceso hemorrágico se lleva a cabo en alguna de las siguientes cuatro situaciones:

1.- Pacientes que acuden al médico por presentar una historia actual o pasada de hemorragias inesperadas o excesivas.

2.- Enfermos en los que se ha detectado la existencia de alguna anomalía en las pruebas de hemostasia de rutina realizadas en el laboratorio y cuyo significado requiere aclaración.

3.- Pacientes sin trastornos previos de la coagulación que son sometidos a pruebas de rutina antes de someterse a un procedimiento con penetración corporal o a una cirugía programada.

4.- Enfermos que presentan una hemorragia inesperada o excesiva tras un procedimiento con penetración corporal o cualquier tipo de cirugía.

En todos los casos, la historia clínica es fundamental; debe definir:

-Si la hemorragia está relacionada con un factor local o es expresión de una anomalía generalizada.

-El origen hereditario o adquirido del proceso (Cuadro 5.1)<sup>4</sup>.

-El tipo de alteración hemorrágica, lo cual permite sospechar si la anomalía afecta a la hemostasia primaria o a la formación de fibrina (Cuadro 5.2)<sup>4</sup>.

Cuadro 5.1. Tipo de enfermedad hemorrágica.

	Hereditaria	Adquirida
Edad de aparición	Infancia	Cualquiera
Historia de sangrado previo	Presente	Ausente
Historia familiar	Presente	Ausente
Tipo de hemorragia	Localizada	Generalizada
Asociación con enfermedades o fármacos	Ausente	Presente

Cuadro 5.2. Tipo de alteración hemorrágica.

	Hemostasia primaria	Hemostasia secundaria
Forma de inicio	Espontánea	Secundaria a traumatismos
Aparición tras traumatismo	Inmediata	Tardía
Tipo de hemorragia	Prolongada y no recurrente	Prolongada y recurrente
Localización de la hemorragia		
Piel	Petequias y equimosis	Hematomas
Mucosas	Frecuentes	Raras
Músculos y articulaciones	Raras	Frecuentes

Una vez que la historia clínica ha demostrado la posibilidad de que exista una alteración hemorrágica, es necesario recurrir al laboratorio para poder establecer el diagnóstico concreto. La aplicación racional de determinadas pruebas rutinarias de laboratorio permite clasificar el defecto como una alteración de la hemostasia primaria o secundaria.

La realización de cuatro pruebas de rutina, es decir recuento de plaquetas, tiempo de hemorragia, tiempo de protrombina (TP) y tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa), permiten diferenciar los defectos de la hemostasia primaria de aquellos que afectan a la formación de fibrina. Los dos primeros valoran la integridad de la hemostasia primaria y los otros dos la hemostasia secundaria.<sup>3</sup>

## TRASTORNOS DE LA HEMOSTASIA PRIMARIA.

### Enfermedad de von Willebrand

La enfermedad de von Willebrand (EvW) es la anomalía en la coagulación de carácter hereditaria más común entre los humanos, aunque también puede ser adquirida como consecuencia de otras enfermedades. Se debe a una deficiencia cualitativa o cuantitativa del factor de von Willebrand (FvW), una proteína multimérica que participa de manera primordial en la hemostasia primaria y secundaria.

La EvW fue descrita por primera vez por el doctor Erick von Willebrand en 1926 cuyos miembros de una familia padecían de hemorragias que afectaban a hombres y mujeres por igual, siendo este padecimiento diferente a la hemofilia<sup>4</sup> (Fig. 5.4)<sup>5</sup>.



Fig. 5.4. Dr Erick Von Willebrand.

El factor von Willebrand es una glicoproteína multimérica requerida para la adhesión plaquetaria. El gen del FvW se localiza en el cromosoma doce (12p13.2). Tiene 52 exones que abarcan 178 Kilobases (kb) que originan un mRNA de 8923 pares de bases.<sup>5</sup>

El FvW (barra amarilla Fig. 5.5)<sup>6</sup>. Tiene dominios funcionales etiquetados como dominios A, B, C y D, así mismo el FvW circula en forma de multímeros como alto, medio y bajo peso molecular. La unidad más pequeña es un dímero. Los multímeros más grandes son más hemostáticamente activos.

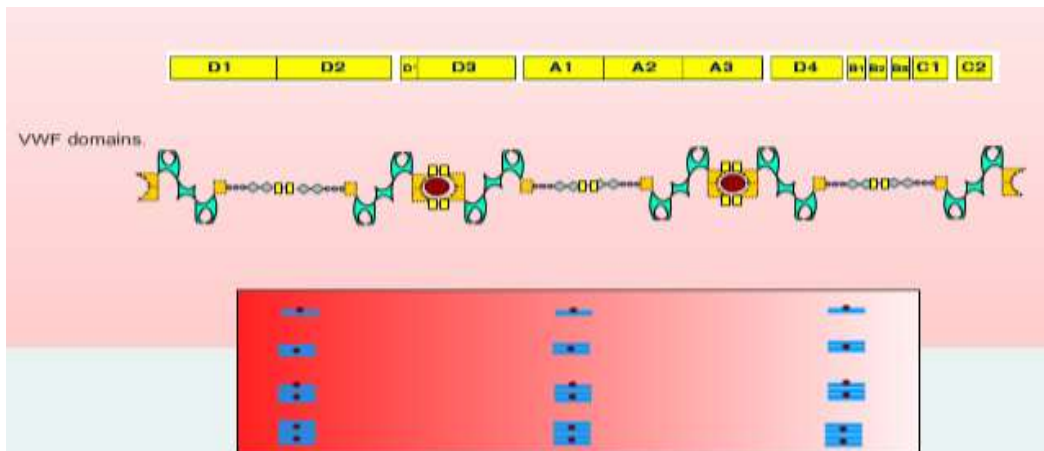


Fig. 5.5. Dominios funcionales del FvW.

## Dominios

El monómero básico del FwW es una proteína de 2050 aminoácidos. Cada monómero contiene varios dominios con una función concreta en las que se pueden destacar (Fig. 5.6-5.11)<sup>6</sup>:

Fig. 5.6. Dominio A

- A1 Sitio de unión, se une a la Glicoproteína Ib (GPIb) de las plaquetas.
- A3 Sitio de unión a colágeno, se une al colágeno

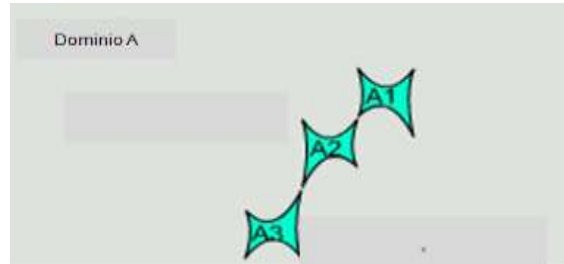


Fig. 5.7. Dominio D

- Región de unión de FVIII

Dominio D

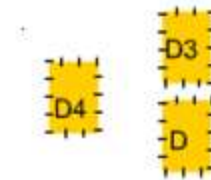


Fig. 5.8. Dominio C

- C2 C1



Fig. 5.9. Dominio B

- B1-3

Dominio B



Fig. 5.10. Enlaces disulfuro

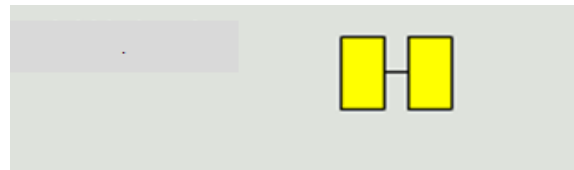
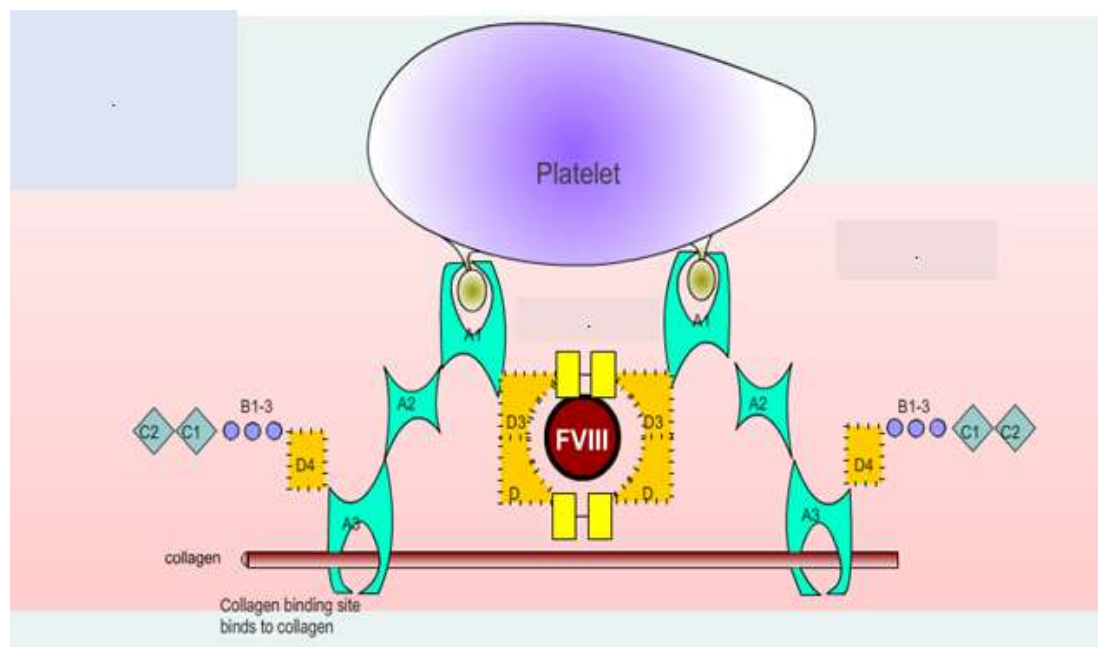


Fig. 5.11. Dominio A3: Sitio de unión a colágeno se une al colágeno

Dominio A1: Sitio de unión se une a las plaquetas GP1b

Dominio D: Región de unión de FVIII



### Síntesis del FvW

El FvW es sintetizado por células endoteliales, megacariocitos y plaquetas donde se almacena en los cuerpos de Weibel-Palade del endotelio y los gránulos alfa de las plaquetas. También se

encuentra unido a diferentes tipos de colágena de la matriz subendotelial. En el plasma, la metaloproteasa ADAMTS-13 actúa sobre los multímeros del FvW en el dominio A2, entre Y1605 y M1606. Este proceso crea las diferentes formas en que encontramos al factor que van desde su forma de dímero simple hasta las 20 unidades que forman el multímero más complejo (Fig. 5.12)<sup>6</sup>.

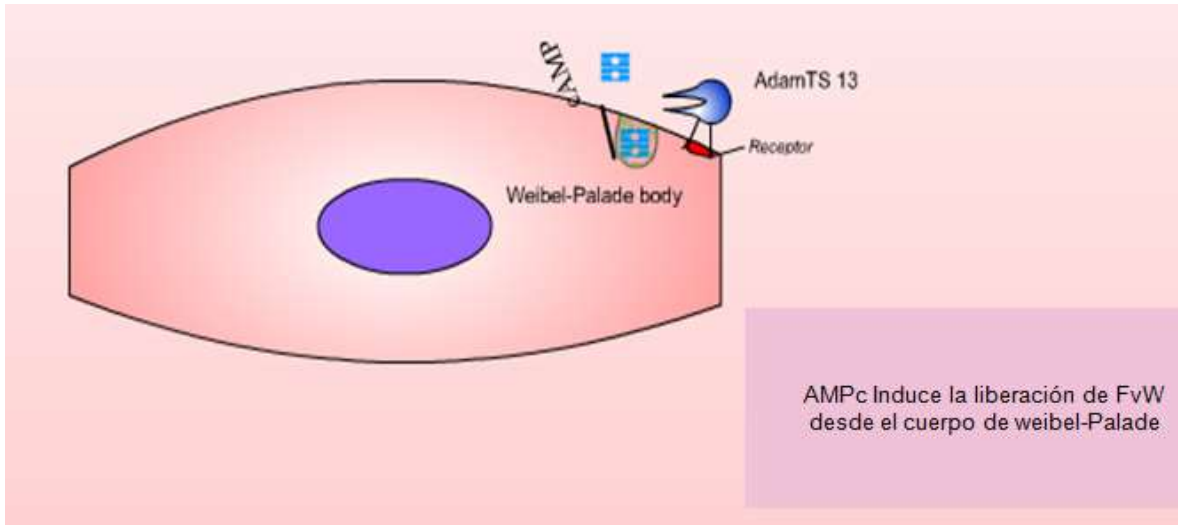


Fig. 5.12. El FvW se produce por las células endoteliales. Se almacena en los cuerpos Weibel-Palade en el citoplasma del endotelio. AMPc induce la liberación de FvW desde el cuerpo de Weibel-Palade.

#### FvW producción de megacariocitos

El megacariocito, la célula precursora de las plaquetas, se encuentra principalmente en la médula ósea. Su citoplasma incluye gránulos alfa, gránulos densos, lisosomas y peroxisomas. El FvW es producido por los megacariocitos y se almacena en los gránulos alfa (Fig. 5.13)<sup>6</sup>.

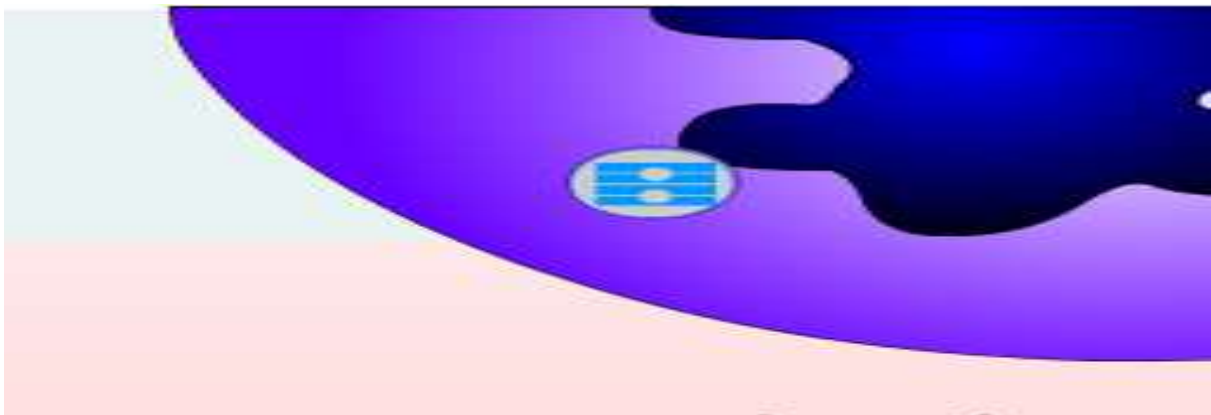


Fig. 5.13. Megacariocito almacenando FvW en los gránulos alfa.

Las plaquetas se forman como resultado de la gemación citoplásmica de los megacariocitos o como resultado de la invaginación de la membrana de demarcación en la superficie. Ellos contienen gránulos alfa y gránulos densos, lisosomas y peroxisomas (Fig. 5.14)<sup>6</sup>.

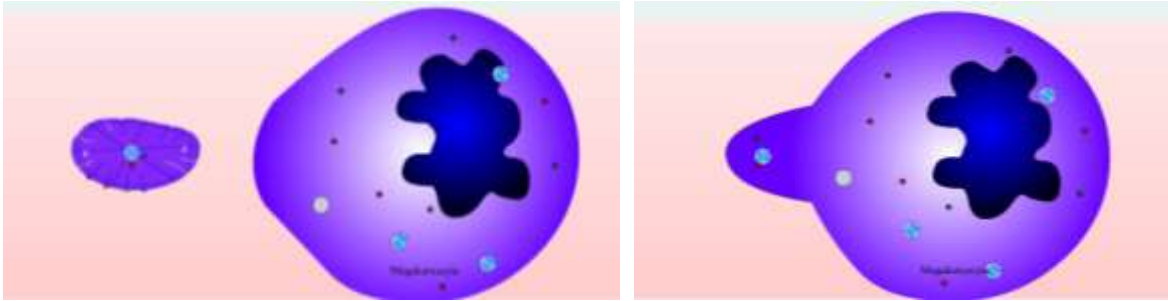


Fig. 5.14. Producción de plaquetas por el megacariocito.

## Funciones del FvW

### Función FvW-Adhesión

Cuando un vaso sanguíneo se lesiona, el endotelio se rompe y las plaquetas vienen al sitio de la lesión. Las plaquetas se adhieren a la membrana basal subendotelial, colágeno y fibronectina. El FvW secretado por el endotelio, se une a la glicoproteína plaquetaria Ib (GPIb) y la ata de tal manera que la plaqueta no se deja llevar por el flujo sanguíneo (Fig. 5.15)<sup>6</sup>.

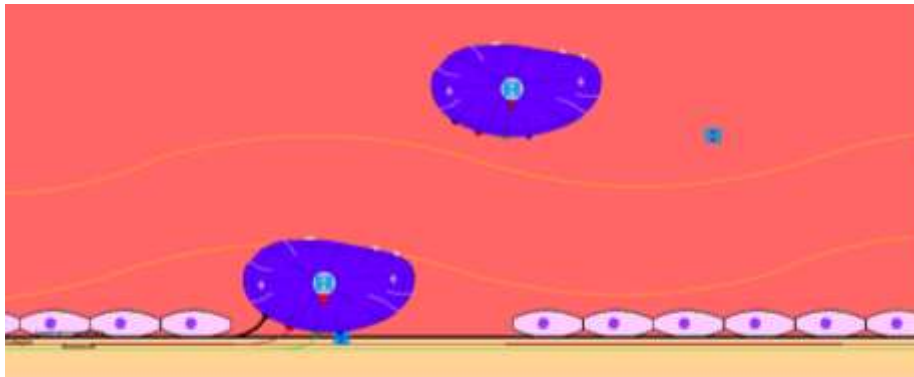


Fig. 5.15. Adhesión de las plaquetas a células de la matriz subendotelial por la interacción del FvW con la colágena, fibronectina y la GPIb.

### Función FvW - Protección

El FvW interacciona en su dominio D' con el FVIII manteniéndolo en un estado activo, pero inhibiendo su actividad sobre la trombina y prolongando su vida media en el plasma. Otro modo de acción del FvW es compitiendo con los sitios de unión a fosfolípidos del FVIII y evitando que el factor de la coagulación sea degradado por la actividad de proteasas de serina, incluyendo a la proteína C activada (Fig. 5.16)<sup>6</sup>.



Fig. 5.16. El FvW funcionando como una proteína portadora para el factor VIII que participa en la coagulación de la sangre, también funciona evitando la degradación proteolítica del FVIII por la proteína C activada (PCA).

Fisiopatología de la Enfermedad de von Willebrand.

### Tipo 1

#### Introducción

La EvW tipo 1, se manifiesta de forma autosómica dominante, todos los tamaños de multímeros de FvW están presentes, pero disminuyeron en cantidad. Esto se traduce en menor adhesión de plaquetas y sangrado. Aproximadamente el 70-80% de la EvW son de tipo 1.

#### Multímeros

El patrón de multímeros del FvW en una electroforesis es reducido, lo que describe a la variante como una deficiencia parcial cuantitativa del factor (Fig. 5.17)<sup>6</sup>.



Fig. 5.17. Todos los tamaños de los multímeros están presentes; que son normales en estructura pero reducen en cantidad.

#### Alteraciones en la función

En el tipo 1 de la EvW, cuando el endotelio está lesionado, las plaquetas se adhieren a la membrana basal subendotelial, colágeno y fibronectina. Debido a la disminución en la cantidad de FvW, las plaquetas no están ancladas correctamente y no forman un tapón de plaquetas. El sangrado continúa (Fig. 5.18)<sup>6</sup>.

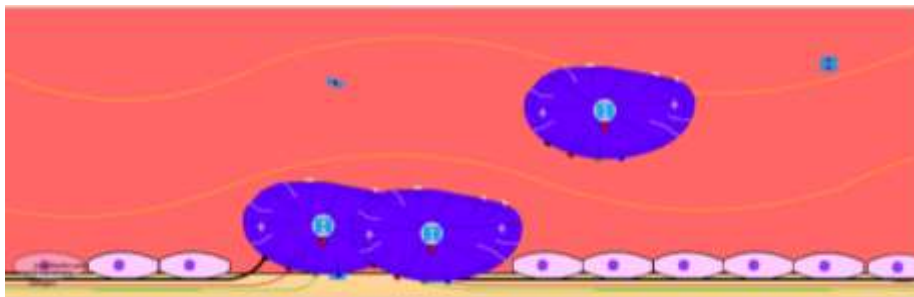


Fig. 5.18. El FvW está disminuido, notese a la plaqueta derecha que no está anclada correctamente por la deficiencia del factor.

### Tipo 2

En este grupo se incluyen las diferentes formas de la enfermedad en las que la proteína cualitativamente es anormal por un defecto en la estabilidad, función o en la distribución de sus



multímeros. La herencia de estas variantes es autosómica dominante con excepción del tipo 2N que es recesiva.

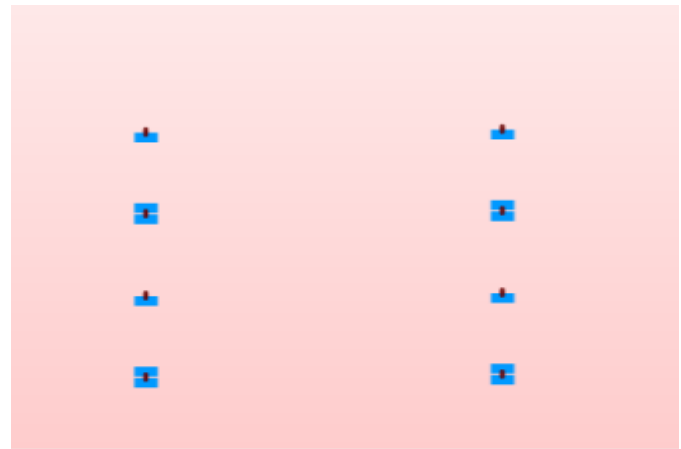
### Tipo 2A

Los multímeros de elevado e intermedio peso molecular están ausentes o disminuidos.

El tipo 2A de la EvW está caracterizado por un defecto cualitativo del FvW.

Los multímeros de elevado e intermedio peso molecular están disminuidos (Fig. 5.19)<sup>6</sup>. Esto es debido ya sea a la producción anormal del multímero (dimerización defectuosa o multimerización) o a una proteólisis acelerada.

Fig. 5.19. En el tipo 2A, los multímeros de alto e intermedio peso molecular son disminuidos o ausentes.



### Alteraciones en la Función

En el tipo 2A de la EvW, cuando el endotelio está lesionado, las plaquetas se adhieren a la membrana basal subendotelial, colágeno y fibronectina. Sin embargo, a causa de la ausencia de multímeros de elevado e intermedio peso molecular, las plaquetas se atan de forma incorrecta; Por lo tanto el sangrado no se detiene (Fig. 5.20)<sup>6</sup>.



Fig. 5.20. Las plaquetas se atan de manera incorrecta al endotelio.

## Tipo 2B

### Introducción

La EvW tipo 2B se caracteriza por multímeros de elevado peso molecular anormales con una alta afinidad por la GPIb.

Los multímeros de alto peso molecular anormales están "consolidados" a las plaquetas. El defecto es en el FvW que tiene una mayor afinidad por la glicoproteína de plaquetas GPIb: Las plaquetas con los multímeros unidos se eliminan rápidamente de la circulación (Fig. 5.21)<sup>6</sup>.

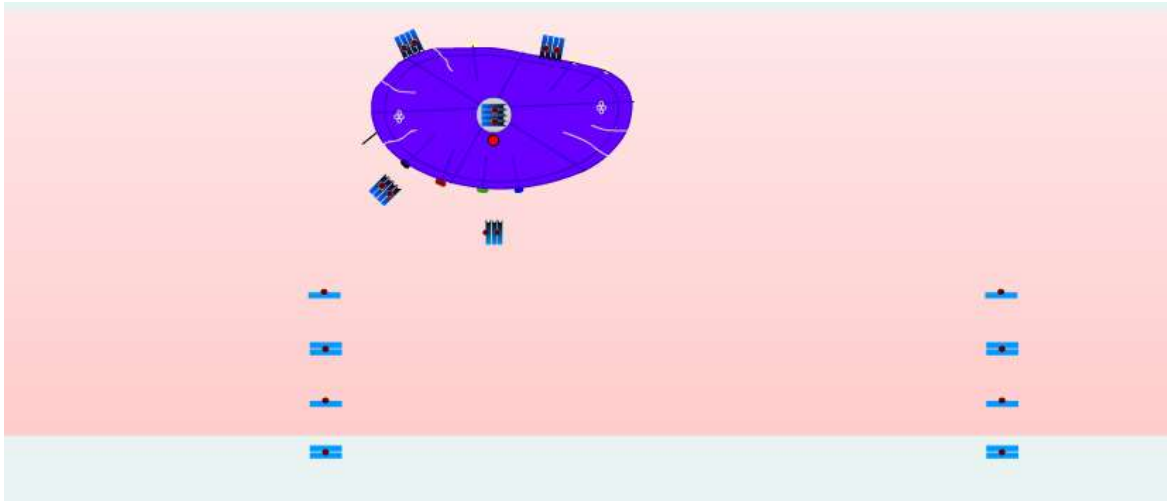


Fig. 5.21. Los multímeros de FvW anormales de alto peso molecular (barras de color azul con puntas negras) tienen una alta afinidad por el receptor de la plaqueta GPIb. Las plaquetas con los multímeros unidos se eliminan del plasma, lo que resulta en trombocitopenia.

## Tipo 2 M (Tipo Milwaukee).

La variante 2M se debe a un defecto cualitativo en la función del FvW que no le permite interactuar adecuadamente con las plaquetas por lo que se observa una disminución en las funciones de las plaquetas. Esto resulta en un sangrado de leve a moderado. La unión del FvW al FVIII es normal, como se muestra por la molécula de FVIII marrón dentro del FvW (Fig. 5.22)<sup>6</sup>.

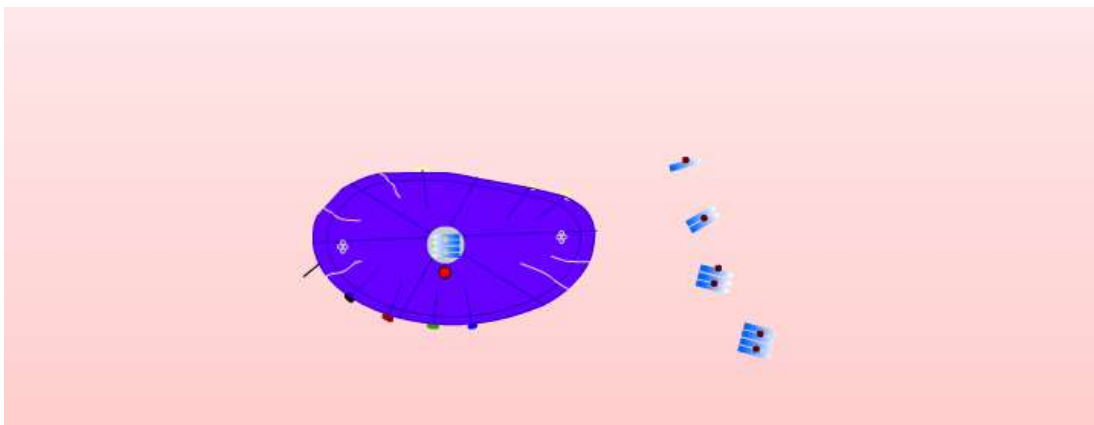


Fig. 5.22. El FvW anormal falla para unirse a las plaquetas. La anomalía es representada por el sombreado blanco de las puntas de los multímeros. La unión del FvW al FVIII es normal.

## Tipo 2N

La variante 2N (tipo Normandía) se debe a un defecto en la región de unión al FVIII sin cambio en la distribución de los multímeros del FvW en el plasma. Debido a la interacción del FvW con el FVIII es importante poder distinguir la variante de la hemofilia, una enfermedad ligada al cromosoma X (Fig. 5.23)<sup>6</sup>.



Fig. 5.23. Normalmente, el FvW actúa como una proteína portadora para el factor VIII y la protege de la proteólisis. En el tipo 2 N, el FvW no puede enlazar y proteger el FVIII. El sitio de unión anormal del FvW se representa como un área blanca dentro de las barras de los multímeros. El FVIII no enlazado sufre proteólisis dando por resultado niveles bajos de FVIII circulante.

Los bajos niveles de factor VIII causan sangrado. Muchos casos de 2N tipo son mal diagnosticados como leves de la hemofilia A. La unión del FvW a las plaquetas y las funciones de las plaquetas (adhesión, agregación y cambio de forma) son normales (Fig. 5.24)<sup>6</sup>.

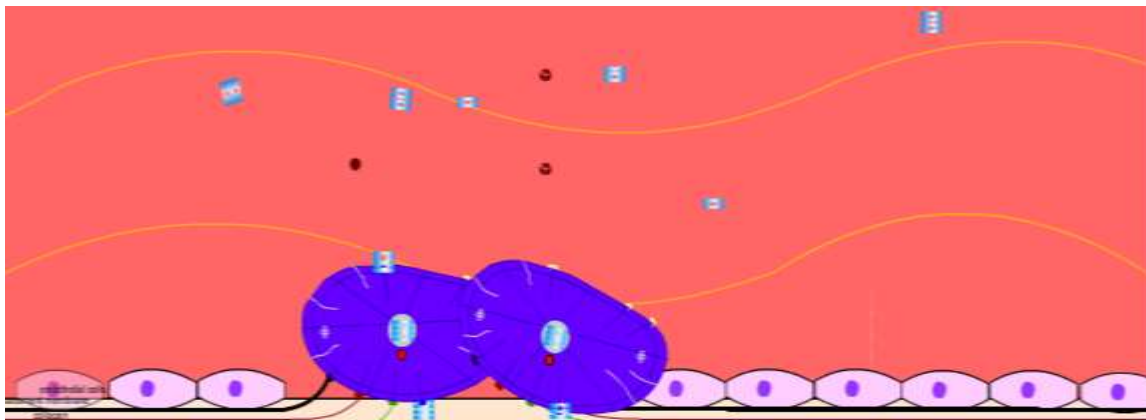


Fig. 5.24. Note la ausencia del FVIII dentro de los multímeros de FvW, sin embargo esto no interfiere con la unión plaqueta-FvW.

### Tipo 3

Esta variante de la enfermedad es la forma clínica más severa debido a la ausencia o a los niveles muy bajos del FvW. El modo de herencia es autosómico recesivo.

El FVIII se encuentra sin protección y es proteolizado por lo que los pacientes tienen niveles bajos de FVIII. Además de hemorragia mucocutánea severa pueden tener hemorragias articulares, como los hemofílicos (Fig. 5.25)<sup>6</sup>.



Fig. 5.25. En ausencia de FvW, las moléculas de FVIII son susceptibles a la proteólisis trayendo como consecuencia niveles bajos de FVIII.

### Alteraciones en la Función

En la EvW tipo 3, el sangrado es grave por dos razones. 1. La ausencia de FvW que limita enormemente la adhesión de las plaquetas a la pared del vaso sanguíneo y el sangrado no se detiene. 2. Este sangrado se ve agravada por los bajos niveles de FVIII que perjudica la cascada de coagulación (Fig. 5.26)<sup>6</sup>.

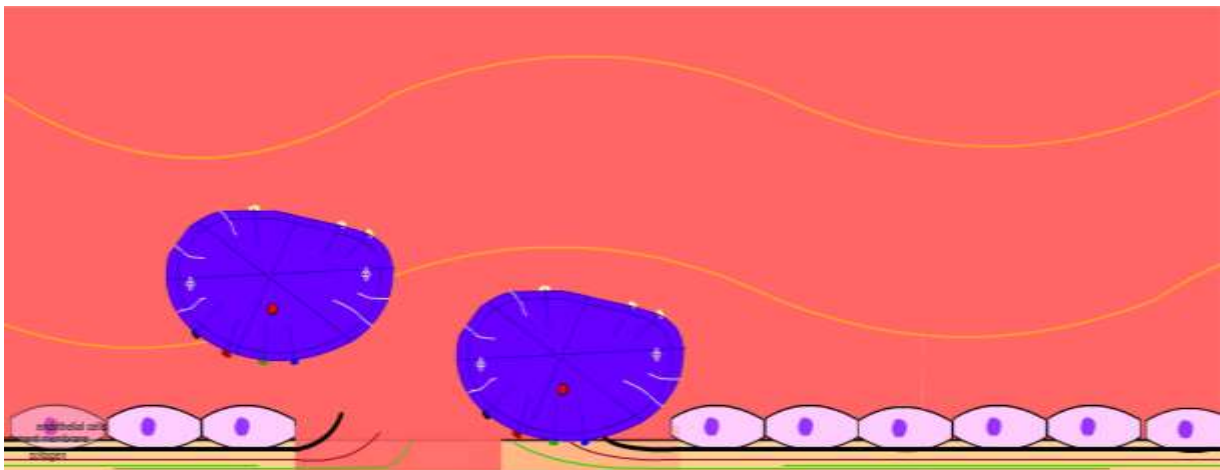


Fig. 5.26. Ante la ausencia de FvW, las plaquetas no pueden adherirse al endotelio.

## Tipo Pseudo plaquetas

No del todo considerada como una variante de la EvW sin embargo se incluye aquí por su relación con el FvW. El defecto aquí es una mutación en el receptor de la GPIb que resulta en la unión mejorada de los más grandes multímeros de FvW por el receptor GpIb. La plaqueta anormal es representada por un color púrpura sombreada. La condición es autosómica dominante (Fig. 5.27)<sup>6</sup>.

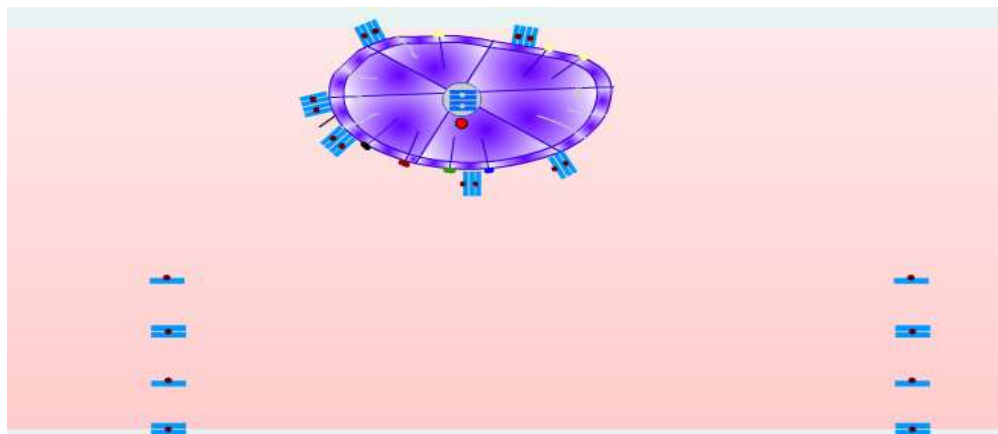


Fig. 5.27. Desorden en las plaquetas con una afinidad incrementada del FvW por la GPIb plaquetaria. Puede haber trombocitopenia.

## Multímeros

Las plaquetas con los multímeros unidos se eliminan del plasma, lo que resulta en trombocitopenia leve. Este tipo debe ser diferenciado del tipo 2b de la EvW en donde ocurre todo lo contrario, es decir en la que el FvW es anormal e incrementa la afinidad a un receptor plaquetario normal Gp1b. RED1

## Diagnóstico

A. Clínico: Desde la descripción original de la EvW, los datos clínicos predominantes son: epistaxis, menorragia, equimosis, hemorragia gastrointestinal, hemorragias posterior a procedimientos y en algunas variantes de la enfermedad se pueden presentar hematomas y hemartrosis.

En los pacientes con la forma grave (Tipo 3) el principal sitio de hemorragia es la cavidad oral (54%), seguido de hemartrosis (45%), hematomas (28%) y hasta el 8% presentan hemorragia intracraneal. Se han desarrollado escalas de hemorragia donde a cada síntoma se le otorga un valor desde -1 hasta 4. Incluye: epistaxis, equimosis, hemorragia gastrointestinal, cavidad Oral, menorragia, hemorragia postparto, etc. Esto con objeto de establecer una mayor posibilidad diagnóstica.

El desarrollo de un puntaje de hemorragia para la EvW o mejor conocido como el *Bleeding Score* (BS) se efectuó para establecer el número y la gravedad de la hemorragia e incrementar la sensibilidad y especificidad e identificar los portadores de la enfermedad. Este BS establece una graduación para los diferentes síntomas de acuerdo a la gravedad.

Este sistema de graduación de los síntomas va desde 0 (ausencia de síntomas), grado 1 (presencia de hemorragia, grado 2 (los síntomas requieren evaluación médica sin alguna intervención), grado 3 (los síntomas de hemorragia requieren alguna intervención médica, ejemplo:

cauterización, antifibrinolíticos, etc) y grado 4 (cuando la hemorragia requiere transfusión o administración de desmopresina (DDAVP). También se ha agregado -1 cuando existe ausencia de síntomas en procedimientos invasivos o extracciones dentales).<sup>6</sup>

#### B. Laboratorio:

La primera fase de estudio del paciente con EvW debe incluir la determinación de las pruebas de escrutinio con: Biometría hemática completa, Tiempo de hemorragia (TH) de Ivy, Tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa), tiempo de protrombina (TP) y Tiempo de Trombina (TT).

El tiempo de hemorragia es una prueba no específica y está sujeta a variación operacional. Las variables que pueden afectar los resultados incluyen el llanto, niños intranquilos, diferencias en la aplicación de la presión sanguínea, profundidad de la lanceta automática, entre otros.

El tiempo de hemorragia o sangrado (TH) en EvW tiene una sensibilidad del 64.2% y especificidad del 99.1%. Se recomienda solicitar los siguientes estudios de laboratorio en los pacientes con sospecha de EvW: Biometría Hemática Completa, TTPa, TP, TT, TH. Estas pruebas no determinan la EvW pero evalúan la posibilidad de EvW.

La segunda fase que establece el diagnóstico de EvW son las siguientes pruebas:

- FvW antigénico (FvW:Ag)
- Actividad del FvW; cofactor de ristocetina (FvW:RiCo)
- Actividad de Factor VIII (FVIII:C)

Si las pruebas para establecer el diagnóstico de la EvW están disminuidas y/o si el rango de FvW:RiCo y FvW:Ag se encuentra entre 0.5-0.7 realizar las pruebas que determinen el tipo de EvW. Las pruebas que establecen el subtipo de EvW son:

- Análisis de multímeros del FvW
- Agregación plaquetaria inducida por ristocetina (RIPA) a dosis bajas
- Prueba de unión del FvW al FVIII (FvW:FVIII B)
- Prueba de unión a la colágena (FvW:CB)
- Prueba de unión del FvW a plaquetas fijadas en paraformaldehído con bajas concentraciones de ristocetina (FvW:PB)
- Razón entre el FvW:RCo y FvW:Ag (Razón FvW:RCo/FvW:Ag) Determinación de FvW plaquetario y Análisis secuencial de DNA.<sup>6</sup>

#### Tratamiento

En los pacientes sin diagnóstico definitivo de EvW, pero con historia de hemorragia y niveles del FvW:RCo de entre 30 y 50 UI/dL, pueden requerir tratamiento para las hemorragias.

Las personas con niveles de FvW:RCo >10 IU/dL y FVIII >20 IU/dL, deben ser evaluados para respuesta con desmopresina 1-desamino-8-D-arginina vasopresina (DDAVP), mientras se encuentra en un período asintomático (no hemorragias).

Los pacientes con valores menores tienen menor probabilidad de respuesta de acuerdo a informes de estudios clínicos.

-Desmopresina (DDAVP). Se recomienda el uso de desmopresina en pacientes con EvW tipo 1 y que se demuestre previamente la prueba de respuesta a la DDAVP.

La desmopresina es administrada en niños y adultos a dosis de 0.3 g/Kg de peso en 20-30 mL de solución fisiológica en infusión continua durante 30 minutos por vía intravenosa, en promedio aumentará el Factor VIII y el FvW de 3-5 veces de las concentraciones basales de estos factores en un lapso de 30-60 minutos, cada 8-12 hrs y no más de 72 hrs. No debe administrarse en menores de 2 años de edad.

-Antifibrinolíticos. Se recomienda el empleo de antifibrinolíticos para hemorragias en mucosas o postquirúrgicas en pacientes con hemofilia A o B.

Los antifibrinolíticos se pueden administrar en forma sistémica o local, entre ellos se encuentran al ácido epsilon aminocaprónico (Amicar) que se indica a dosis de 50-60mg/Kg./6 hrs. el ácido tranexámico (10-15mg./Kg/8 hrs.), puede administrarse VO, IV o tópica.

-Concentrados de Factor von Willebrand. El tratamiento de la EvW puede realizarse con terapia sustitutiva con concentrados de factor VIII que contengan FvW, para ello existen diferentes estudios clínicos con diferentes concentrados de FVIII/FvW. La mayoría de ellos con resultados de efectividad por arriba del 90%.

Se recomienda el uso de concentrados de factor VIII/FvW en el tratamiento de la EvW con productos que tengan alta efectividad y bioseguridad.<sup>6</sup>

### **Trombastenia de Glanzmann.**

La TG fue descrita en 1918 por Edward Glanzmann, pediatra suizo contemporáneo (1887-1959) en un grupo heterogéneo de pacientes integrado por iraquíes, hebreos y árabes. Este autor describe la enfermedad como "tromboastenia hemorrágica hereditaria en niños", postulando que las alteraciones en la retracción del coágulo eran debidas a la deficiencia de una enzima llamada retractozima.

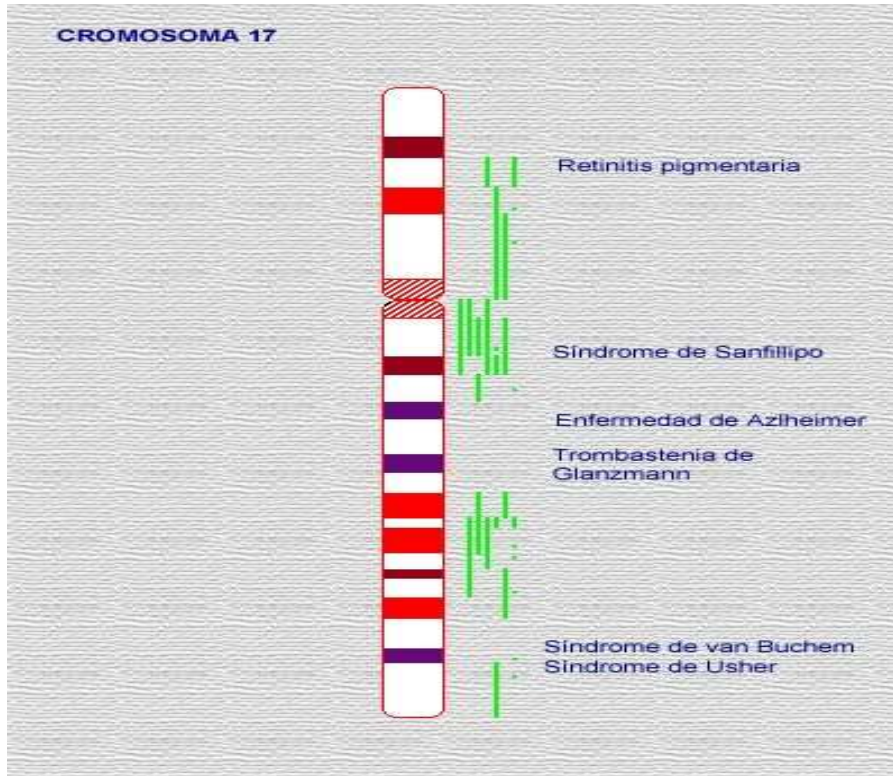
En 1956 Braunsteiner y Pakesch, efectuando una revisión de las alteraciones de la función plaquetaria, describieron a la tromboastenia como una enfermedad congénita caracterizada por plaquetas de tamaño normal que no se adhieren a superficies endoteliales impidiendo la retracción del coágulo. Posteriormente otros estudios reportaron que la morfología y la sobrevivencia plaquetaria eran normales.

Hardisty y Zucker, demostraron ausencia de agregación plaquetaria, la cual fue atribuida a anomalías en la membrana plaquetaria. La herencia autosómica recesiva fue sugerida por varios investigadores al comprobar igual incidencia en ambos sexos.<sup>7</sup>

La trombastenia de Glanzmann es un defecto plaquetario congénito infrecuente, con una incidencia de 1 por millón que se hereda en forma autosómica recesiva.<sup>8</sup> Este desorden se asocia frecuentemente con consanguinidad y presenta: a) recuento plaquetario normal, b) ausencia absoluta o parcial de la retracción del coágulo, c) defectos en la agregación plaquetaria inducidos

por agonistas; Adenosindifosfato (ADP), Colágeno, Ac. Araquidónico y a Trombina, d) agregación con Ristocetina normal, e) tiempo de sangría normal o prolongado.<sup>9</sup>

La TG es producida por la ausencia, reducción o disfunción del complejo receptor específico de membrana. La Glicoproteína IIb-IIIa (GP IIb-IIIa), es una de los miembros de la súperfamilia de las integrinas, caracterizadas por ser receptores de adhesión que reconocen una secuencia peptídica Arginina-Glicina-Ac. Aspártico (RGD) en sus respectivos ligandos.<sup>10</sup>



El gen para la GP IIb-IIIa se encuentra localizado en el extremo proximal del brazo largo del cromosoma 17.q 21,23 donde se produce el desequilibrio de unión (Fig. 5.28)<sup>7</sup>. Mientras las plaquetas permanecen inactivas, el complejo glicoproteico IIb-IIIa, no interactúa con las macromoléculas adhesivas. Las plaquetas al ser activadas, expresan en su superficie alrededor de 80.000 receptores GP IIb-IIIa.<sup>11</sup>

Fig. 5.28. Representación del cromosoma 17 y su relación con algunas enfermedades.

Actualmente se distinguen dos subtipos de TG:

a) subtipo I: se caracteriza por ausencia en la superficie plaquetaria del complejo GP IIb-IIIa (< del 5 %) con niveles muy bajos de fibrinógeno secretado por los  $\alpha$ -gránulos plaquetarios y profundos defectos en la agregación plaquetaria y retracción del coágulo.

b) subtipo II: el complejo GP IIb-IIIa puede estar presente pero marcadamente disminuido (< del 10-20%), la secreción de fibrinógeno por los  $\alpha$ -gránulos es normal y la retracción del coágulo está parcialmente alterada. Las plaquetas tienen suficiente GP IIb-IIIa para formar microagregados plaquetarios, pero no para la formación de macroagregados.

Se han descrito variantes de los dos subtipos, las más conocidas son la denominada variante Cam, descrita en hombres y mujeres, las plaquetas de los individuos afectados no agregan con ADP y a trombina y no se produce la retracción del coágulo. Los niveles del complejo GP IIb-IIIa se encuentran cercanos al normal pero la secreción de fibrinógeno por los  $\alpha$ -gránulos plaquetarios está marcadamente disminuida.<sup>12</sup>



## SÍNTOMAS

Dentro de las manifestaciones algunos pacientes pueden presentar una variedad clínica que van desde erosiones mínimas hasta tener hemorragias severas o potencialmente fatales.<sup>13</sup> Los síntomas de sangrado son claramente definidos como: lesiones purpúricas, epistaxis, sangrado gingival, menorragias y menos frecuentemente sangrado gastrointestinal, hematuria, hemartrosis, hematoma muscular y sangrado en el sistema nervioso central.<sup>14</sup> El sangrado puede aparecer tras un trauma, estornudo, tos, llanto, erupción dental y hasta un simple resfrío común. También pueden aparecer sangrados como complicaciones tras procedimientos como extracciones dentales, cirugías y en el periodo de alumbramiento.<sup>13</sup> La epistaxis es la causa más común de sangrado severo y es típicamente más severo en la infancia.<sup>15</sup> Los síntomas hemorrágicos ocurren solo en pacientes homocigóticos de Tromboastenias de Glanzmann, mientras que la condición heterocigótica es mayormente asintomática. En muchos de los casos, los síntomas de sangrado pueden manifestarse rápidamente después del nacimiento aunque ocasionalmente el diagnóstico se hace en etapas avanzadas de la vida. En general el sangrado tiende a disminuir con la edad<sup>16</sup> (Fig. 5.29)<sup>8</sup>.



Fig. 5.29. Lesiones purpúricas, nótese las equimosis y petequias.

## DIAGNÓSTICO

Para el diagnóstico de la TG debemos encontrar: a) recuento y morfología plaquetaria normal, b) ausencia absoluta o parcial de la retracción del coágulo, c) defectos en la agregación plaquetaria inducidos por agonistas: ADP, colágeno, ácido araquidónico (AA) y trombina, d) agregación con ristocetina normal, e) el tiempo de sangría normal o prolongado. Las deficiencias en la respuesta plaquetaria al AA pueden apuntar tanto a una anomalía hereditaria en la formación de tromboxano A2 o un defecto de función plaquetaria temporalmente adquirida a través de la ingestión de aspirina. La TG es la única enfermedad en la que la agregación plaquetaria es defectuosa a todos los agonistas, mientras que la retracción del coágulo ausente es otra característica frecuente. La deficiencia de integrina plaquetaria IIb  $\beta$ 3 debe ser confirmada en pacientes nuevos y esto debe de hacerse con anticuerpos monoclonales y citometría de flujo. La detección de rasgos de integrina plaquetaria  $\alpha$  IIb  $\beta$ 3 intracelulares por Western Blot puede dar pistas sobre la identidad de los genes afectados.<sup>14</sup>

El diagnóstico diferencial debe realizarse con las púrpuras trombóticas, en especial con las congénitas, y dentro de ellas con el síndrome de Bernard –Soulier.

## TRATAMIENTO

Cuando se produce hemorragia en la TG, se intenta inicialmente corregirla con transfusiones de plaquetas, las unidades que se transfunden varían, según la magnitud de la misma. Aproximadamente un 15 al 30% de los pacientes, presenta refractariedad plaquetaria, que se produce como consecuencia de transfusiones de múltiples donantes desarrollando anticuerpos a la GP IIb-IIIa y/o al sistema mayor de histocompatibilidad (HLA). En presencia de refractariedad plaquetaria las opciones de tratamiento son: a) transfusión de unidades de plaquetas a intervalos menores de 24 horas, b) transfusión de plaquetas HLA compatibles de un solo donante, c) transfusión de plaquetas cruzadas compatibles, d) administración simultánea de Inmunoglobulina intravenosa a 400 mg/Kg/día, e) transfusión masiva con plaquetas de donantes múltiples tratadas con inmuoabsorción, f) considerar y tratar otras condiciones clínicas que favorezcan la refractariedad plaquetaria.<sup>17</sup> La mayoría de los pacientes que producen aloanticuerpos lo hacen tempranamente, con las 10 primeras unidades transfundidas, en estos casos se recomienda realizar la transfusión plaquetaria por aféresis, método eficaz que permite obtener dosis de plaquetas suficientes para un enfermo de un solo donante.<sup>18</sup>

Como medidas coadyuvantes se han realizado experiencias con infusión de Desmopresina que puede acortar el tiempo de sangría en pacientes con TG tipo II, sin embargo los resultados son controvertidos.<sup>19</sup> En zonas donde se puede realizar compresión local, se utilizan esponjas o gasas de gelatina embebidas con agentes antifibrinolíticos (Ac. Tranexánico).<sup>20</sup>

Actualmente, el Factor VII activado humano recombinante (rVFIIa) está indicado en pacientes con TG con anticuerpos a la GP IIb-IIIa y/o HLA y con historia previa o actual de resistencia a transfusiones de plaquetas.

El rVFIIa juega un papel fundamental en el tratamiento de hemorragias críticas que requieren más de 8 unidades de plaquetas. Este nuevo agente hemostático, generado sintéticamente, acelera y refuerza el proceso natural de la coagulación, produciendo un incremento en la generación de trombina que conduce a la formación del coágulo de fibrina estable resistente a la fibrinólisis. De esta manera, se reducen las pérdidas masivas de sangre, la necesidad de transfusiones, los riesgos de infección, y de fallo multiorgánico especialmente el síndrome de distrés respiratorio.<sup>20</sup>

### Síndrome Bernard Soulier

El Síndrome de Bernard-Soulier también llamado distrofia trombocítica hermorragica<sup>21</sup> es una enfermedad de herencia autosómica recesiva, descrita por primera vez por los médicos franceses Jean Bernard and Jean-Pierre Soulier en el año de 1948<sup>22</sup>.

Este síndrome es extremadamente raro, ya que menos de 100 casos han sido reportados en la literatura, la mayoría de ellos en Japón, Europa y América del Norte<sup>21</sup>; y se estima que la incidencia es menor a 1 en un millón de personas por lo que se requiere de un alto índice de sospecha para su diagnóstico.

Sus síntomas se distinguen por episodios hemorrágicos frecuentes, con localización cutáneo-mucosa que se manifiestan desde la infancia, así como epistaxis, equimosis espontánea, metrorragias, gingivorragias y ocasionalmente sangrados gastrointestinales o hematuria.

Desde el punto de vista fisiopatológico el Síndrome de Bernard-Soulier se produce por una alteración del complejo GP Ib/IX/V, receptor del Factor von Willebrand (FvW) alterando de esta forma la hemostasia primaria (Fig. 5.30, 5.31, 5.32.)<sup>9</sup>.

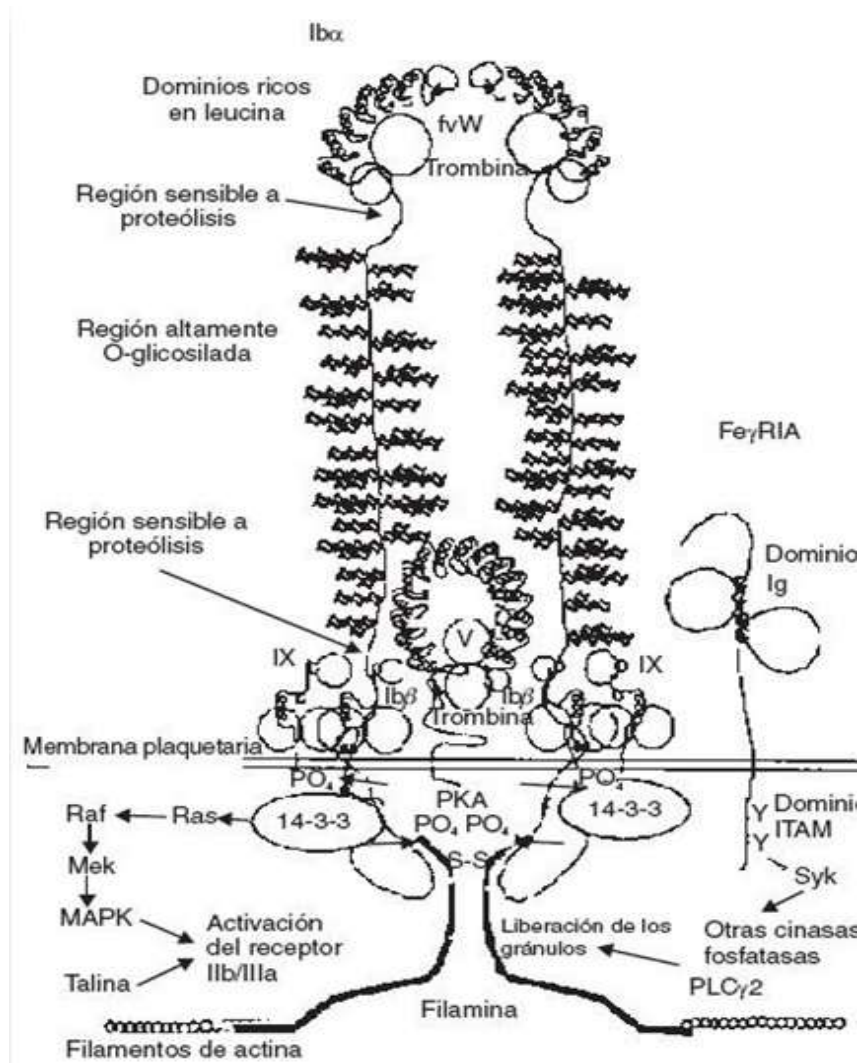


Fig. 5.30. Estructura del receptor (GP Ib- V-IX) del factor de von Willebrand y su asociación a la filamina A. Este receptor también representa el sitio de unión de alta afinidad para la trombina.

Para su diagnóstico, los datos distintivos que se encuentran en el laboratorio son un tiempo de sangrado prolongado, plaquetas gigantes (volumen 11-16  $\mu\text{m}^3$ ; diámetro de 4-10  $\mu\text{m}^3$  Fig. 5.33)<sup>10</sup>, trombocitopenia, prueba de retracción de coágulo normal, y agregación deficiente de las plaquetas con el agonista ristocetina.<sup>23</sup>

Los marcadores utilizados para el estudio son: CD42a para la glicoproteína IX, CD42b para la glicoproteína 1b $\alpha$ , CD42c para las células que expresan la glicoproteína 1b $\beta$  y CD42d para las que expresan la glicoproteína V; los pacientes con variación en la expresión de alguna de estas glicoproteínas tienen el Síndrome de Bernard-Soulier.<sup>24</sup>

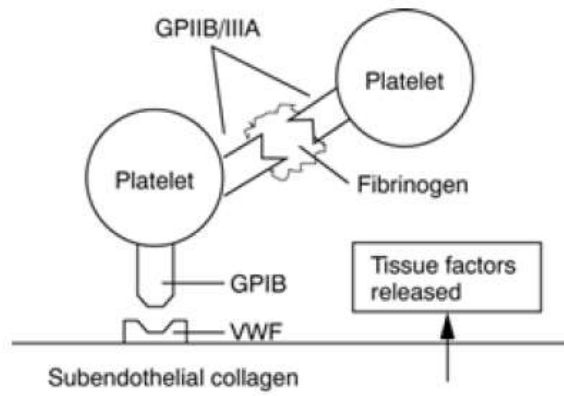


Fig. 5.31. Interacción de complejos glicoproteicos y del R<sub>c</sub> del FwV

El enfoque terapéutico para el tratamiento de los pacientes con este síndrome involucra tanto medidas generales de apoyo como tratamiento específico para los episodios de sangrado. Las medidas generales incluyen la educación de los pacientes para evitar el trauma aún relativamente menor y asesorarlos en cuanto al uso de los antiagregantes plaquetarios como la aspirina, así mismo el mantener una higiene dental adecuada.

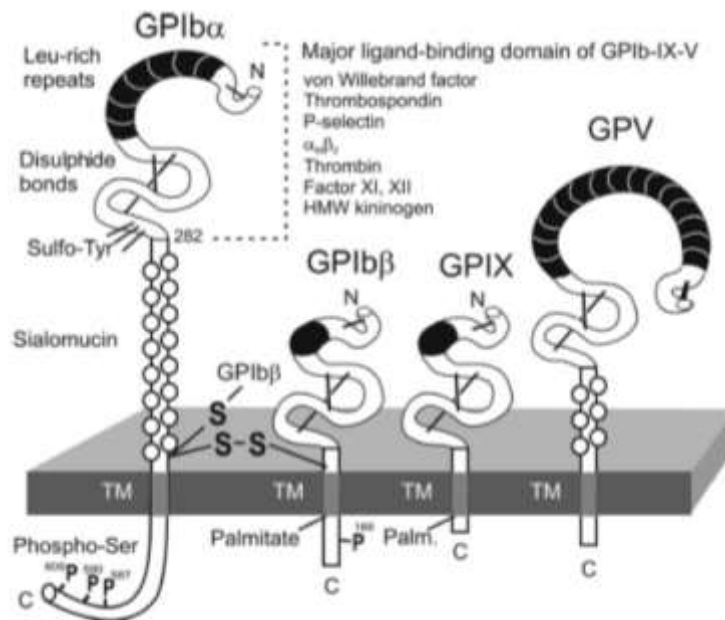


Fig. 5.32. El complejo GpIb-IX-V compuesto de GpIb $\beta$ , y no covalentemente asociada con GpIX y GpV. Enlaces disulfuro dentro de los dominios ya sea de los dominios repetidos ricos en leucina se representan como barras sólidas de color negro. La posición de los residuos de tirosina (sulfatados Sulfo-Tir en 276, 278 y 279 de GpI $\alpha$ ), los residuos de serina fosforilados (Fosfato-Ser) y residuos de Palmitato Cis de GpIb $\beta$  y PIX se indican: C,C-terminal, N,N-Terminal; TM, el dominio transmembrana.

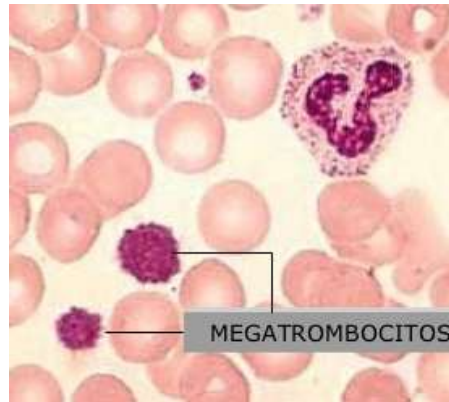


Figura 5.33. Plaquetas gigantes en la enfermedad de Bernard-Soulier.

### Deficiencias de almacenamiento (del pool plaquetario)

Las deficiencias de almacenamiento (del pool plaquetario) son un grupo de trastornos causados por anomalías en los gránulos de las plaquetas. Los gránulos son pequeños sacos al interior de las plaquetas en los que se almacenan proteínas y otras sustancias químicas importantes para la función plaquetaria. El contenido de los gránulos se libera durante la fase de secreción de la activación plaquetaria (véase la figura 1), y funciona como señales químicas para reclutar más plaquetas y otras células al lugar de la lesión a fin de detener la hemorragia. Hay dos tipos de gránulos: gránulos alfa y gránulos densos.

Algunas deficiencias de almacenamiento son causadas por una falta de gránulos o su contenido, pero las más comunes se deben a la incapacidad de las plaquetas para vaciar el contenido de los gránulos al torrente sanguíneo.

La manera en la que se heredan las deficiencias de almacenamiento (es decir, se transmiten de padres a hijos) es menos consistente que en otros tipos de trastornos plaquetarios y varía de una persona a otra.

**1. Los DEFECTOS DE LIBERACIÓN** son un grupo de trastornos diversos debidos a una anomalía en el mecanismo secretor. A pesar de que los gránulos están presentes al interior de las plaquetas, sus contenidos no se descargan adecuadamente al torrente sanguíneo.

**2. La DEFICIENCIA DE ALMACENAMIENTO DELTA** es un trastorno de la función plaquetaria causado por la falta de gránulos densos y las sustancias químicas que normalmente se almacenan dentro de éstos. Sin estas sustancias, las plaquetas no se activan adecuadamente y el vaso sanguíneo lesionado no se constriñe para ayudar a detener la hemorragia. Este tipo de problema hemorrágico puede ser característico de otros trastornos hereditarios tales como el síndrome de Hermansky-Pudlak y el síndrome de Chediak-Higashi.

**3. El SÍNDROME DE PLAQUETAS GRISES** es un trastorno de la función plaquetaria muy poco común causado por la falta de gránulos alfa y las sustancias químicas que normalmente se almacenan dentro de éstos. Sin estas sustancias químicas, las plaquetas no pueden adherirse a las paredes del vaso sanguíneo, aglutinarse entre sí o reparar el vaso sanguíneo lesionado del modo en que deberían hacerlo.

## SÍNTOMAS

- Los síntomas de las deficiencias de almacenamiento varían de una persona a otra, pero por lo general son de leves a moderados.
- Las personas con deficiencias de almacenamiento podrían presentar:
- Propensión a los moretones
- Hemorragia nasal (epistaxis)
- Hemorragia de las encías
- Periodos menstruales abundantes o prolongados (menorragia), hemorragia durante la ovulación, o durante o después del parto
- Hemorragias anormales durante o después de cirugías, circuncisión o trabajos dentales

## DIAGNÓSTICO

No existe una sola prueba que pueda diagnosticar todos los trastornos de la función plaquetaria. El diagnóstico de las deficiencias de almacenamiento requiere de un cuidadoso historial médico y de una serie de pruebas que debería realizar un especialista en un centro de tratamiento para trastornos de la coagulación.

En personas con deficiencias de almacenamiento:

Las plaquetas no se aglutinan del modo en que deberían hacerlo en una serie de pruebas de laboratorio llamadas estudios de agregación plaquetaria. Las pruebas de agregación plaquetaria constituyen la manera más útil para diagnosticar estos trastornos.

Los gránulos podrían no ser visibles cuando se observan las plaquetas a través de un microscopio específico, llamado microscopio electrónico.

El tiempo de sangrado (una prueba estandarizada que mide el tiempo que tarda en dejar de sangrar una herida pequeña) es mayor al normal. Esta prueba podría ser difícil de realizar en niños pequeños y no se utiliza comúnmente donde se dispone de pruebas más específicas.

## TRATAMIENTO

La mayoría de las personas que padece deficiencias de almacenamiento requiere tratamiento durante intervenciones quirúrgicas (incluidos trabajos dentales) o después de lesiones o accidentes. En caso necesario, las deficiencias de almacenamiento pueden recibir tratamiento con:

- Fármacos antifibrinolíticos.
- Desmopresina (podría no ser útil en la deficiencia de gránulos alfa).
- Transfusiones de plaquetas.
- Terapia de supresión hormonal (anticonceptivos) y/o dispositivo/sistema intrauterino liberador de levonorgestrel para controlar el sangrado menstrual excesivo
- Reposición de hierro conforme sea necesario para el tratamiento de la anemia provocada por hemorragias excesivas o prolongadas.
- Selladores de fibrina.<sup>25</sup>

## Referencias

1. Jaime Pérez J, Gómez Almaguer D. Hematología la sangre y sus enfermedades. 3ª ed. México DF: Mc Graw Hill; 2012.
2. Mckenzie S. Hematología clínica. 2ª ed. México DF: El manual moderno; 2000.
3. Borbolla J. Hematología algoritmos diagnósticos. México DF: Mc Graw Hill; 2004.
4. Von Willebrand E. Hereditar pseudohefemofili. *Finska Lakar. Hand* 1926; 68: 87-112.
5. Mancuso D, Tuley E, Westfield L, Worrall N, Shelton B, Sorace J, Avely Y, Sadler J. Structure of the gene for human von Willebrand factor. *J Biol Chem* 1989; 264: 19514-27.
6. Guía de referencia rápida GRR. Diagnóstico y Tratamiento de la Enfermedad de von Willebrand.
7. Caen JP, Castaldi PA, Leclerc JC et al: Congenital Bleeding disorders with long bleeding time and normal platelet count. I Glanzmann's Thrombasthenia. *Am. J. Med.*; 41: 4, 1966.
8. Bellucci, S; Caen J.P., Molecular basis of Glanzmann's thrombasthenia and current strategies in treatment. *Blood Rev*, 16: 193-202. 2002.
9. George JN, Caen JP, Nurden AT, Glanzmann: The Spectrum Of Clinical Disease; *Blood*; Cap 75; 1383 – 1395. 1990.
10. Sans – Sabrafen J..Hematología Clínica. 3º Edición. Editorial Mosby – Doyma. Púrpuras angiopáticas, trombopénicas y trombopáticas. Castillo R., Casals F. J. 34, 515 – 532, 1994.
11. Ruggeri ZM, De Marco L. Gatti L, Bader R, Montgomery RR. Platelets have more than one binding site for von Willebrand factor. *J Clin Invest*; 72: 1 – 12. 1983.
12. Fournier DJ, Kabral A, Castaldi PA et al. A variant of Glanzmann's Thrombasthenia characterized by abnormal glycoprotein IIb –IIIa complex formation. *Thromb Haemost*; 62: 977-983. 1989.
13. Nurden A. Glanzmann thrombasthenia. *Orphanet J Rare Dis*. 2006;1:10.
14. Seegmiller A, Sarode S. Laboratory Evaluation of Platelet Function. *Hematol Oncol Clin N Am*. 2007;21:731-7.
15. Lupien G, Amesse C, Bissonnette D, Lacroix S. Canadian Hemophilia Society. Glanzmann Thrombasthenia. In: *An Inherited Bleeding Disorder*. Montreal: The Society; 2001.
16. Hoffman M, Monroe DM. A cell-based model of hemostasis. *Thromb Haemost*. 2001;85:958-65.
17. College of American Pathologist Practice Guidelines. Practice parameters for the use of fresh frozen plasma, cryoprecipitate and platelets. *JAMA* 271:777, 1994.
18. Veldman A, Hoffman M, Ehrenforth S. New insights into the coagulation system and implications for new therapeutic options with recombinant factor VIIa. *Curr Med Chem*; 10: 797-811. 2003.
19. Shapiro AD, Gilchrist GS, Hoots WK, Cooper HA, Gastineau DA. Prospective, randomised trial of two doses of rFVIIa (NovoSeven) in haemophilia patients with inhibitors undergoing surgery. *Thromb Haemost*; 80: 773-778. 1998.
20. Wilcox DA, White GC. Gene therapy for platelet disorders: studies with Glanzmann's thrombasthenia. *J Thromb Haemost*. Summary; 1: 2300-2311. 2003.
21. Lanza F: Bernard- Soulier Syndrome (Hemorrhagic platelet dysfunction), *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 2006; 1: 46-52.
22. Bello A: Fisiopatología y Trastornos de la Coagulación, *Pediatría Integral*, 2008; 12(5): 469-483.
23. Canche A, Garza V, Rodríguez F: El valor de la agregometría en el diagnóstico diferencial de alteraciones plaquetarias, *Acta Médica Grupo Angeles*. 2010; 8(1): 25-32.
24. Parra I: El laboratorio en el diagnóstico de las alteraciones congénitas de las plaquetas: síndrome de Bernard-Soulier, *Medicina Universitaria*. 2006;8(31):105-10.
25. [www.wfh.org](http://www.wfh.org)

#### Referencias usadas en imágenes y cuadros

1. <http://opcionmedica.parentesisweb.com/articulos/s%C3%ADndrome-de-embolia-grasa>
2. [http://gryx-nosologiacabeza.blogspot.mx/2011\\_08\\_01\\_archive.html](http://gryx-nosologiacabeza.blogspot.mx/2011_08_01_archive.html)
3. <http://www.saluddiaria.com/13285/moretone-hematomas-causas-tratamientos/>
4. Borbolla J. Hematología algoritmos diagnósticos. México DF: Mc Graw Hill; 2004.
5. <http://reddymed.com/vwd/vwf.html>
6. <http://reddymed.com/cbc/>
7. <http://www.iqb.es/cromosomas/cromosoma17.htm>
8. Valdivieso Falcon LP, Ajalcriña Guerrero HR, Contreras Maldonado R. Trombastenia de Glanzmann. *Pediátrica*. 2007; 9 (2).
9. Rodríguez Mirales M, Flores Uribe C, Jiménez Mercado J. Síndrome de Bernard-Soulier. A propósito de un caso. *Rev EDEMM*. 2011-2012;6:5-9.
10. <http://es.slideshare.net/WEATS/patologia-plaquetaria>





UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA  
QUÍMICA FARMACÉUTICO BIOLÓGICO

ALUMNO: MILLÁN FIGUEROA ALEJANDRO

Nº DE CUENTA: 098216642

AÑO DE TÉRMINO DE CARRERA: 2009

ORIENTACIÓN: BIOQUÍMICA CLÍNICA

TÍTULO DEL PROYECTO:

ELABORACIÓN DE UN MANUAL SOBRE PRUEBAS DE COAGULACIÓN Y COAGULOPATIAS DE LA HEMOSTASIA PRIMARIA Y EVALUACIÓN DE SU UTILIDAD EN LOS ESTUDIANTES DE LAS ÁREAS BIOMÉDICAS

AREA ESPECÍFICA DEL PROYECTO: HEMATOLOGÍA

DIRECTOR DE TESIS: QFB PATRICIA VIDAL MILLÁN

ASESOR: QFB PABLO JUÀREZ DE LOS SANTOS

LUGAR DONDE SE DESARROLLÓ EL TRABAJO: BIBLIOTECAS DE LA FES ZARAGOZA, FACULTAD DE MEDICINA UNAM Y ALGUNAS INSTITUCIONES DEL SECTOR SALUD.

OPCIÓN DE TITULACIÓN: TESIS EXPERIMENTAL

Ciudad de México, 2016

## Agradecimientos

A mis profesores por todo el tiempo dedicado a cada uno de sus alumnos y la paciencia con la que ejercen su actividad docente, por su esfuerzo que hacen para que cada uno de sus alumnos dé lo mejor de sí mismo en el campo laboral y así contribuir a una mejor nación. Quiero agradecer especialmente a la profesora Patricia Vidal Millán por su invaluable apoyo, por la paciencia que me ha tenido y sobre todo por su confianza en mí para poder realizar este trabajo, al profesor Pablo Juárez de los santos por sus enseñanzas, al profesor José Oscar González Moreno por sus comentarios críticos y estimulantes, por sus matemáticas amigables y por su amistad incondicional, al profesor Ángel por sus críticas constructivas para el mejoramiento del presente trabajo.

## Dedicatoria

A mi linda madre María Figueroa

Por todo el apoyo incondicional que me ha otorgado, por todas sus enseñanzas, consejos y hacer todo lo que estuvo a su alcance para mi formación, a la Química Eugenia Zerón por todas sus enseñanzas en el área laboral, por su confianza en mí, a la Bióloga Rosa María Dehesa por su invaluable apoyo, confianza y por creer en mi trabajo, por sus consejos y regaños para hacerme crecer. A cada uno de los que han contribuido en mi educación y formación Mil gracias.

## ÍNDICE

Introducción.....	4
Marco Teórico.....	4
Planteamiento del problema.....	12
Hipótesis.....	12
Objetivos.....	12
Material y métodos.....	13
Resultados.....	13
Discusión de resultados.....	37
Conclusiones.....	37
Perspectivas.....	37
Referencias.....	37

## INTRODUCCIÓN

Los exámenes de coagulación, conocidos como Pruebas de Coagulación contemplan una serie de análisis destinados a entregar información acerca del proceso de la coagulación en el ser humano. Estos resultados son extremadamente útiles para cualquier área de la medicina, ya que entregan una visión al médico del estado del paciente respecto a estos procesos, fundamentales al momento de programar por ejemplo una cirugía, o un parto normal. Además, en pacientes con diversas patologías, estos exámenes le permiten al clínico realizar un monitoreo de los tratamientos aplicados. La rama que estudia estas pruebas es la hemostasia, la cual es un área de la hematología que involucra el mecanismo usado para entender cómo es que ante una herida el organismo en condiciones normales es capaz de detener el sangrado producido por la lesión, para explicar este mecanismo en los años 60 se propuso un modelo mejor conocido como cascada de la coagulación el cual incorporaba una serie de pasos en donde la activación secuencial de factores resultaba en la generación de trombina. En este modelo la cascada de coagulación se dividió en dos sistemas, el extrínseco y el intrínseco. Sin embargo en los últimos años se propuso el nuevo modelo celular de la coagulación el cual pone de manifiesto la importancia del papel que juegan algunas células para explicar la coagulación *in vivo*. Por todo lo anterior se realizó un manual con información actualizada que explica paso a paso cómo es que se lleva a cabo el mecanismo de la coagulación en condiciones normales y cómo es que ante una irregularidad en alguno de los elementos que intervienen en tan importante mecanismo tiene como consecuencia la aparición de diversas coagulopatías que en este caso sólo se tocaron aquellas que involucran a la hemostasia primaria. Todo esto con la finalidad de que los estudiantes de las áreas biomédicas (Químicos Farmacobiólogos, Médicos, etc.), tengan a la mano un material de apoyo que les ayude a comprender el complejo mecanismo de la coagulación y sus coagulopatías de la hemostasia primaria, así mismo que estén familiarizados con los fundamentos y la realización adecuada de las pruebas de coagulación. Para esto se evaluó el manual aplicando un cuestionario a un grupo de alumnos que cursan el octavo semestre de la carrera de QFB en la FES Zaragoza, para averiguar qué tan útil resultó ser el manual en la comprensión del tema.

## MARCO TEÓRICO

Los intentos iniciales más antiguos para controlar el sangrado los realizaron los griegos, quienes perfeccionaron el uso de las ligaduras, mientras que los faraones egipcios epilépticos confiaban en su “hombre hemostático” para que controlara sólo con su presencia, el sangrado de las trepanaciones a las que eran sometidos. Sin embargo fue hasta la Edad Media que se dio un avance significativo en la hemostasia, con el uso de la cauterización y del aceite hirviendo, que desarrollo la medicina árabe. Entre los primeros médicos en descartar el uso del cauterio se encuentran Salicetti de Bologna (1210-1270), su estudiante Lanfranchi y el francés Henri de Mondeville (1260-1320), quienes recomendaron el uso de pinzas hemostáticas, la compresión digital y la ligadura de vasos para el control de la hemorragia.<sup>1</sup>

El conocimiento sobre este fenómeno se ha incrementado notablemente en el último siglo y ha permitido comprender numerosos fenómenos fisiopatogénicos en diversas enfermedades hemorrágicas y trombóticas. Esta era se inició en 1905, cuando Paul Morawitz publicó una extensa monografía sobre los cuatro factores de coagulación conocidos hasta entonces (fibrinógeno, trombina, trombocinasa y calcio). En ese trabajo propuso un modelo de coagulación dividido en dos etapas: la generación de trombina y la coagulación del fibrinógeno.<sup>2</sup>

A partir de la década de 1940 se vivió una verdadera época de oro de la coagulación, cuando aparecieron los frutos de la prueba de laboratorio de coagulación más empleada desde entonces, el tiempo de protrombina descrito por Armand Quick en 1935; éstos incluyeron el descubrimiento y clasificación de numerosos factores involucrados en esta función. El descubrimiento y la introducción de la heparina y los cumarínicos en la terapéutica anticoagulante abrieron un panorama inconmensurable para el advenimiento de los nuevos medicamentos antitrombóticos. A mediados del siglo XX se había logrado descifrar el mecanismo de la coagulación prácticamente en forma completa y se propusieron diversos modelos basados en funciones enzimáticas secuenciales, llamadas en cadena primero y en cascada después. En la segunda mitad del siglo XX se identificaron numerosos mecanismos de regulación de la coagulación y aparecieron diversas pruebas de laboratorio que han permitido diagnosticar con alta precisión numerosas enfermedades. Las técnicas de separación sanguínea permitieron producir concentrados de factores para uso clínico. Con la identificación de los genes que codifican la síntesis de los factores de coagulación se hizo posible su producción por técnicas de biología molecular, siendo los de mayor trascendencia clínica la de los factores VIII, IX y VII. El modelo actual de la coagulación se basa en la activación por el factor tisular y en la participación de las células, conceptos que ya estaban implícitos en la teoría clásica de Morawitz.<sup>2</sup>

## **Fisiología de la coagulación**

La hemostasia es un mecanismo fisiológico para mantener en un estado líquido a la sangre. La coagulación de la sangre es mediada por componentes celulares y proteínas plasmáticas solubles. En respuesta al daño vascular, las plaquetas circulantes se adhieren, agregan y proveen de una superficie celular para la unión de complejos enzimáticos de la coagulación sanguínea.<sup>3</sup>

La formación, precisa y balanceada de trombina en sitios de lesión vascular es el resultado de una serie ordenada de reacciones que colectivamente se conocen como coagulación sanguínea<sup>4</sup>. Sin embargo, en condiciones patológicas donde exista la deficiencia de alguna proteína que participa en la hemostasia su traducción clínica puede ser hemorragia como en el caso de la Enfermedad de von Willebrand (EvW), cuya característica primordial es un defecto en la molécula del factor de von Willebrand (FvW) que altera la interacción con las glucoproteínas plaquetarias. Por otro lado, en caso de existir una deficiencia de una proteína reguladora de la coagulación como la deficiencia de proteína C, esto generará una tendencia trombótica, sin embargo, existen defectos adquiridos más comunes como en la Coagulación Intravascular Diseminada que se caracteriza por una activación

generalizada de la coagulación y la formación de microtrombosis en la microvasculatura.<sup>5</sup>

En los años 60 se propuso por Davie y Ratnoff un modelo de coagulación que incorporaba una serie de pasos en donde la activación secuencial de factores resultaba en la generación de trombina. En este modelo las vías de la coagulación se dividieron en dos sistemas, el extrínseco y el intrínseco. De manera común ambas vías activaban al factor X, el cual en unión con el cofactor Va convertían la protrombina a trombina. Este modelo, denominado también cascada de la coagulación, es razonablemente bueno para explicar la activación *in vitro* de la coagulación a través del tiempo de protrombina (TP) y del tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa) que corresponden a las vías extrínseca e intrínseca respectivamente. Sin embargo, con base en los conocimientos generados en los últimos años este modelo es inadecuado para explicar las vías fisiológicas de la hemostasia *in vivo*, no considera la interacción del sistema con las células que participan en la coagulación y es inconsistente con el comportamiento clínico de la disfunción de la hemostasia, como puede determinarse por el hecho de que no hay una relación entre la vía intrínseca y extrínseca, ya que la activación del factor X por la vía extrínseca no compensa la deficiencia de factor VIII o IX.<sup>6</sup>

El **mecanismo extrínseco** para el inicio de la formación del activador de la protrombina comienza cuando la pared vascular o un tejido extravascular sufren un traumatismo y se produce mediante los tres pasos siguientes:

Liberación de tromboplastina tisular: El tejido lesionado libera un complejo de varios factores, llamado tromboplastina tisular; estos factores son fosfolípidos de las membranas de los tejidos dañados y un complejo lipoproteico que actúa como enzima proteolítica.

Activación del factor X para formar factor X activado: El complejo lipoproteico de la tromboplastina tisular se combina con el factor VII de la coagulación y en presencia de los fosfolípidos de los tejidos dañados y de iones calcio, actúa enzimáticamente sobre el factor X para dar factor X activado.

Efecto del factor X activado para formar el activador de la protrombina: El factor X activado se combina inmediatamente con los fosfolípidos tisulares liberados, que forman parte de la tromboplastina tisular y con el factor V para formar el complejo llamado activador de la protrombina. A los pocos segundos, este escinde la protrombina para formar trombina y el proceso de coagulación prosigue como se ha descrito. El factor X activado es la proteasa que realmente produce la ruptura de la protrombina para dar trombina.<sup>7</sup>

El **mecanismo intrínseco** para el inicio de la formación del activador de la protrombina comienza con un traumatismo de la propia sangre o con la exposición de la sangre al colágeno de la pared de un vaso sanguíneo lesionado. El proceso se produce mediante la siguiente cascada de reacciones:

1. Activación del factor XII y liberación de fosfolípidos plaquetarios: Debido al traumatismo el factor XII se activa para formar una enzima proteolítica llamada factor XII activado. Simultáneamente, el traumatismo sanguíneo daña las plaquetas, por lo que se liberan fosfolípidos plaquetarios que contienen una lipoproteína llamada factor III plaquetario, que interviene en las reacciones de coagulación posteriores.
2. Activación del factor XI. El factor XII activado actúa enzimáticamente sobre el factor XI para activarlo. Este segundo paso de la vía intrínseca requiere la presencia de cininógeno de alto peso molecular (CAPM).
3. Activación del factor IX por el factor XI activado. El factor XI activado actúa luego enzimáticamente sobre el factor IX para activarlo.
4. Activación del factor X. El factor IX activado junto con el factor VIII, los fosfolípidos plaquetarios y el factor III de las plaquetas dañadas, activan al factor X. Este paso de la vía intrínseca es igual que el último de la vía extrínseca, es decir, el factor X activado se combina con el factor V y con los fosfolípidos plaquetarios o tisulares para formar el complejo llamado activador de la protrombina. El activador de la protrombina, a su vez, inicia la escisión de la protrombina para formar trombina, poniendo en marcha el proceso final de la coagulación (Fig.1).<sup>7</sup>

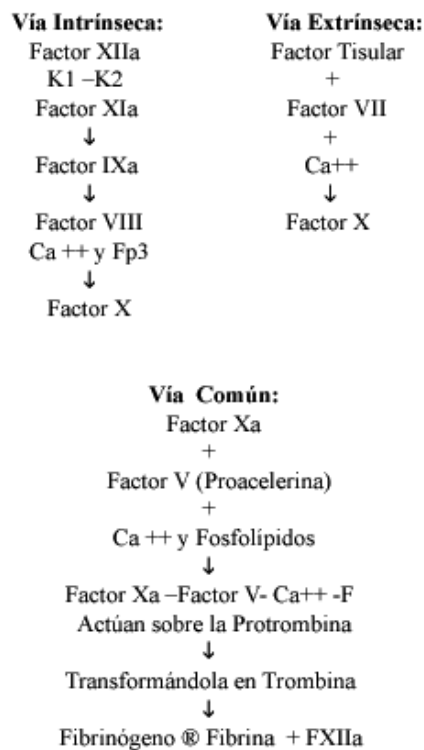


Fig.1. Representación de la cascada clásica de la coagulación.<sup>7</sup>

## Modelo celular de la coagulación

Las superficies celulares constituyen el ambiente natural donde se desarrollan las reacciones de la coagulación sanguínea. Para que se produzca una hemostasia eficaz deben cooperar diferentes tipos celulares. Las plaquetas suministran la superficie más eficiente para la generación de trombina; sin embargo, carecen de Factor Tisular (FT), y por ello no pueden iniciar la coagulación. Otras células expresan el FT en su superficie y algunas, como los monocitos, son capaces de ensamblar en su superficie al complejo activador del factor X y al complejo protrombinasa, por lo que para generar trombina de forma eficiente deben participar al menos dos tipos celulares. El modelo actual de la coagulación es dependiente de superficies celulares y del FT y consiste en una serie de mecanismos que se inician cuando existe la lesión vascular y se expone el FT de fuentes extravasculares, de células inflamatorias o del endotelio.<sup>8</sup>

Según la visión actual, la coagulación se produce en tres etapas interrelacionadas: La *fase de iniciación*, que tiene lugar a nivel de células productoras de FT, como fibroblastos o monocitos, y conlleva la generación de los factores Xa, IXa y pequeñas cantidades de trombina, suficientes para iniciar el proceso. La *fase de amplificación* se traslada a la superficie de las plaquetas, que son activadas por la trombina generada y acumulan factores y cofactores en su superficie, permitiendo el ensamblaje necesario para que tengan lugar las reacciones enzimáticas. Finalmente, en la *fase de propagación*, las proteasas se combinan con los cofactores en la superficie plaquetaria, promoviendo la generación de grandes cantidades de trombina que favorecen la formación de fibrina y su ulterior polimerización para constituir un coágulo estable.<sup>9</sup>

### Iniciación

El factor VIIa y el factor tisular son elementos esenciales para la hemostasia. El factor VII circula en la sangre, predominantemente como molécula inactiva y sus funciones, a concentraciones fisiológicas, son virtualmente nulas en ausencia de su cofactor. El factor tisular no está en contacto con la sangre y se encuentra fuera del sistema vascular hasta que se pierde su integridad. Al expresarse el factor tisular e interactuar con el factor VII se incrementa la actividad de éste en  $10^7$  veces. El complejo VIIa/FT activa a los factores IX y X. El factor Xa genera a nivel local pequeñas cantidades de trombina. Existe evidencia de que esta fase inicial se desarrolla a pequeña escala en la microcirculación y fuera de ésta en condiciones fisiológicas. El factor VII, X y la protrombina, son capaces de permear al espacio intersticial y pueden ser detectados en la linfa y tejidos perivasculares. Con base en estas observaciones, se formuló la teoría de la mínima función, en la cual el sistema del factor tisular tiene actividad constante, generando pequeñas cantidades de trombina.<sup>6</sup>

### Amplificación

La fase de amplificación depende de las plaquetas activadas y de la interacción de éstas con los factores de la coagulación, en especial con cantidades limitadas de trombina que se genera en la vecindad de la célula portadora de factor tisular. Las



plaquetas se activan y desgranulan al tiempo que se adhieren y agregan formando un tapón en el endotelio dañado. En esta fase las plaquetas expresan en su superficie fosfolípidos de carga negativa como la fosfatidilserina, los cuales sirven como templete para la activación del factor X y mayor síntesis de trombina. La trombina recluta plaquetas y retroalimenta de manera positiva al sistema al activar a los factores V, VIII y XI. El complejo IXa/VIIIa se ensambla en la superficie plaquetaria y genera grandes cantidades de factor X, evento que genera más trombina.<sup>6</sup>

### Propagación

En la fase de propagación se presenta un cambio de locación en los procesos que llevan a la generación de trombina, esto es de la célula portadora de factor tisular a la plaqueta activada. La expresión de fosfolípidos plaquetarios amplifica en esta fase la generación de trombina en  $10^8$  veces. La trombina generada condiciona la escisión proteolítica del fibrinógeno y la formación de monómero de fibrina que se polimeriza para consolidar el inestable coágulo inicial de plaquetas en un coágulo firme y organizado de fibrina. La trombina a su vez activa al factor XIII, lo que da mayor estabilidad al coágulo, la fase de propagación también se caracteriza por la activación del sistema de retroalimentación negativa a través de la activación de la antitrombina III, sistema de proteína C y S y del inhibidor del factor tisular.<sup>6</sup>

### Pruebas de escrutinio en coagulación

Después de la historia clínica y exploración del paciente con hemorragia o trombosis, es necesario evaluar qué tipo de prueba se requiere para complementar un diagnóstico. Los pacientes con hemorragia corresponden a cuatro categorías: pacientes con tendencia hemorrágica grave, leve, dudosa y sin tendencia hemorrágica. La hemorragia aparece por alteraciones del vaso, de las plaquetas, en la fase fluida o en la fibrinólisis.<sup>10</sup>

### Cuenta plaquetaria

La trombocitopenia puede ser multifactorial. Con excepción de los traumatismos, la trombocitopenia es la causa más frecuente de hemorragia. Toda trombocitopenia debe corroborarse en el frotis de sangre periférica. En general, la hemorragia es rara si las plaquetas son mayor a  $50 \times 10^9$  / Litro. Sin embargo no sólo el número es importante sino también la calidad. En ciertas condiciones congénitas y adquiridas se asocian trombocitopenia y alteraciones cualitativas pero en la mayoría de los trastornos cualitativos la cuenta plaquetaria es normal.<sup>10</sup>

### Tiempo de hemorragia

Tiempo que transcurre entre la producción de una pequeña herida en la piel hasta el momento en que la hemorragia cesa. Es difícil de estandarizar pero proporciona información muy importante. Evalúa las etapas hemostáticas iniciales: la interacción entre plaquetas y vaso así como la formación del coágulo.<sup>10</sup>

En 1969, Mielke introdujo el tiempo de hemorragia con plantilla (un método de Ivy modificado) el cual produce un corte de longitud y profundidad estandarizadas además de la estasis producida por el manguito de presión. El tiempo de hemorragia con plantilla se ha encontrado altamente reproducible. El tiempo de hemorragia normal con el método de la plantilla es de 1 a 9 minutos.<sup>11</sup>

#### Prueba de agregación de las plaquetas

La prueba de agregación de las plaquetas es una prueba de la capacidad *in vitro*, evalúa la capacidad que tienen estas para agregarse con ciertos agonistas: esta prueba se puede indicar en pacientes quienes tienen tiempos de hemorragia prolongados en presencia de cifras normales de plaquetas, y puede ayudar a precisar la causa de la función anormal de estas. La agregación se mide espectrofotométricamente y se registra con un agregómetro de plaquetas. La medición se basa en la disminución de la densidad óptica producida en una solución al agregarse las plaquetas. La muestra requerida depende del tipo de instrumento. Algunos usan plasma rico en plaquetas y otros usan sangre entera con anticoagulante citrato de sodio.<sup>11</sup>

#### Tiempo de protrombina (TP)

El TP se utiliza para evaluar el funcionamiento de las vías común y extrínseca del mecanismo de la coagulación. El TP mide la capacidad coagulante de los factores I, II, V, VII y X. Cuando estos factores de la coagulación se encuentran en cantidades insuficientes, el TP se prolonga. Muchas enfermedades y fármacos se asocian a una disminución de los niveles de estos factores. Los resultados del TP y sus valores control suelen darse en segundos, valor normal 10-12 segundos.<sup>12</sup>

#### Tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa)

El TTPa mide los factores de coagulación intrínsecos (XII, XI, IX y VIII) y los factores de la vía común. El término tromboplastina parcial se refiere a la adición de fosfolípidos sin factor tisular, es decir, una parte o tromboplastina parcial. Se denomina TTP activada cuando se añade un activador de contacto, simulando una lesión del endotelio vascular, con carga de superficie negativa como el caolín. El TTPa tarda un promedio de 35 a 42 segundos en formar fibrina.<sup>13</sup>

#### Tiempo de trombina (TT)

El TT mide el tiempo que tarda el fibrinógeno en convertirse en fibrina, una vez añadida la trombina (utilizada como reactivo). Su intervalo normal es de 14-21 segundos.<sup>14</sup>

El TT se prolonga sólo en cuatro situaciones: si el fibrinógeno está bajo, en las disfibrinogenémias, en presencia de productos de degradación del fibrinógeno (PDFs) y si hay heparina en el plasma.<sup>10</sup>

## Cuantificación del fibrinógeno

Para estudiar el fibrinógeno suele emplearse el método funcional de Clauss, que consiste en añadir una gran concentración de trombina a plasma diluido del paciente y contar el tiempo que tarda en formarse el coágulo; de este modo, el tiempo de coagulación es inversamente proporcional a la cantidad de fibrinógeno en la muestra. El rango normal de fibrinógeno funcional se encuentra entre 150 y 400 mg/100 mL.<sup>15</sup>

## Trastornos de la hemostasia primaria

### Enfermedad de von Willebrand

El factor de von Willebrand (FvW) es una glicoproteína multimérica de gran tamaño, que se expresa en las células endoteliales y megacariocitos de todos los vertebrados. Participa de manera primordial en la hemostasia primaria y secundaria, ya que induce la adhesión de las plaquetas al endotelio vascular y la agregación de las mismas cuando en el organismo hay una lesión. También se une al factor VIII de la coagulación evitando su proteólisis. La deficiencia o la síntesis inadecuada del FvW provocan la Enfermedad de von Willebrand (EVW), padecimiento hereditario hemorrágico más frecuente en humanos, principalmente de mucosas y sitios cutáneos.<sup>16</sup>

La alteración más importante que se encontró fue el tiempo de coagulación prolongado con cuenta normal de plaquetas, por lo que se sugirió que se debía a un defecto funcional de las plaquetas que estaba asociado a la lesión sistémica de las paredes de los vasos, por lo que inicialmente se denominó pseudohemofilia hereditaria.<sup>17</sup> Sin embargo en 1971 se identificó que el responsable de esta enfermedad era el factor de von Willebrand y no el factor VIII (FVIII).<sup>18</sup> Las principales manifestaciones clínicas de la EVW son hemorragias mucocutáneas como epistaxis, gingivorragias, hemorragias del tubo digestivo, equimosis en la piel, hematomas y metrorragias.<sup>19</sup>

### Trombastenia de Glanzmann

La trombastenia de Glanzmann es un defecto plaquetario congénito infrecuente, con una incidencia de 1 por millón que se hereda en forma autosómica recesiva.<sup>20</sup> Este desorden se asocia frecuentemente con consanguineidad y presenta: a) recuento plaquetario normal, b) ausencia absoluta o parcial de la retracción del coágulo, c) defectos en la agregación plaquetaria inducidos por agonistas; Adenosindifosfato (ADP), Colágeno, Ac. Araquidónico y Trombina, d) agregación con Ristocetina normal, e) tiempo de sangría normal o prolongado.<sup>21</sup>

### Síndrome Bernard Soulier

Este síndrome es extremadamente raro, ya que menos de 100 casos han sido reportados en la literatura, la mayoría de ellos en Japón, Europa y América del Norte<sup>22</sup>;

y se estima que la incidencia es menor a 1 en un millón de personas por lo que se requiere de un alto índice de sospecha para su diagnóstico.

Sus síntomas se distinguen por episodios hemorrágicos frecuentes, con localización cutáneo-mucosa que se manifiestan desde la infancia, así como epistaxis, equimosis espontánea, metrorragias, gingivorragias y ocasionalmente sangrados gastrointestinales o hematuria.

Desde el punto de vista fisiopatológico el Síndrome de Bernard-Soulier se produce por una alteración del complejo GP Ib/IX/V, receptor del Factor von Willebrand (FvW) alterando de esta forma la hemostasia primaria.<sup>23</sup>

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Las pruebas de coagulación son una herramienta muy importante para apoyar al médico en su toma de decisiones en la evaluación clínica así como para establecer diagnósticos clínicos sobre los principales problemas de sangrado y trombosis. Sin embargo para realizar estas pruebas es necesario comprender a la perfección el mecanismo fisiológico de la coagulación lo que en muchas ocasiones causa confusión a los estudiantes de las áreas biomédicas, por la manera en que los factores de la coagulación se van incorporando sin llevar un orden en el número romano con el que se han identificado. Por lo tanto, al realizar un manual que explique paso a paso el mecanismo de la coagulación, se contribuirá al mejor entendimiento del funcionamiento y medición a través de las pruebas de coagulación, de la hemostasia.

## **HIPÓTESIS**

Los mecanismos de coagulación son una parte complicada en el proceso de aprendizaje, por lo tanto, al realizar un manual que explique a detalle la fisiología de la hemostasia y el uso de las pruebas de coagulación, se pretende que el estudiante del área biomédica pueda entender con más facilidad los mecanismos fisiológicos de la coagulación, así como interpretar las pruebas de coagulación y su relación con las coagulopatías de la hemostasia primaria.

## **OBJETIVOS**

- Elaborar un manual sobre pruebas de coagulación y coagulopatías de la hemostasia primaria, para que pueda ser utilizado como material de apoyo para los estudiantes de las áreas biomédicas.
- Que los estudiantes de las áreas biomédicas comprendan sin dificultad al hacer uso de un material de apoyo didáctico la fisiología de la hemostasia y la importancia del uso de las pruebas de coagulación y la relación que hay con las coagulopatías de la hemostasia primaria.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se realizó una revisión documental de la literatura (libros, revistas y páginas electrónicas) sobre la hemostasia y coagulopatías de la hemostasia primaria, con la información obtenida se elaboró el manual con las generalidades que involucran a cada uno de estos temas.

El manual obtenido como resultado de la recopilación de la información, fue sometido a una evaluación por un grupo de 23 alumnos de octavo semestre de la carrera de QFB para determinar que tan útil les fue el manual como apoyo en la comprensión del tema.

Para la evaluación del manual como material de apoyo en la comprensión del tema se aplicó un cuestionario compuesto por 20 preguntas de opción múltiple a cada uno de los alumnos antes y después de leer el manual para evaluar los conocimientos generales sobre el tema. Cabe mencionar que en la aplicación del cuestionario después de leer el manual, se anexo otro cuestionario con nueve preguntas abiertas para que evaluaran directamente el contenido del manual para recabar información sobre los cambios que los alumnos consideraron útiles para mejorarlo.

Finalmente con la información obtenida en la evaluación del manual, se realizó un estudio estadístico descriptivo e inferencial para visualizar el impacto que tuvo el manual como material de apoyo en la comprensión del tema y posteriormente se modificó el manual de acuerdo a las sugerencias hechas por los alumnos.

## **RESULTADOS**

Como resultado de este proyecto de tesis, se elaboró el manual titulado “Pruebas de coagulación y coagulopatías de la hemostasia primaria” el cual consta de los siguientes capítulos:

- Capítulo I HISTORIA DE LA COAGULACIÓN SANGUÍNEA.
- Capítulo II FISIOLÓGÍA DE LA COAGULACIÓN.
- Capítulo III CONTROL DE CALIDAD EN EL LABORATORIO DE HEMOSTASIA.
- Capítulo VI PRUEBAS DE ESCRUTINIO HEMOSTÁTICO.
- Capítulo V COAGULOPATÍAS DE LA HEMOSTASIA PRIMARIA.

Cada capítulo se encuentra estructurado de la siguiente manera:

## CAPITULO I HISTORIA DE LA COAGULACIÓN SANGUÍNEA

- ✚ Teoría del enfriamiento y del contacto con el aire
- ✚ Teoría de la detención del flujo sanguíneo
- ✚ Teoría de la pérdida de la *fuera vital*
- ✚ Período pre-clásico
- ✚ Período clásico
- ✚ Período de la protrombina
- ✚ Edad de oro de la coagulación
- ✚ Época actual
- ✚ Referencias

## CAPITULO II FISIOLÓGÍA DE LA COAGULACIÓN

- ✚ Hemostasia primaria
- ✚ Fase vascular
- ✚ Fase plaquetaria
- ✚ Hemostasia secundaria
- ✚ Fase plasmática (Mecanismo de la coagulación)
- ✚ Factores dependientes de vitamina K. (II, VII, IX, X)
- ✚ Factores independientes de vitamina K
- ✚ Teoría clásica de la coagulación
- ✚ El mecanismo intrínseco
- ✚ El mecanismo extrínseco
- ✚ Vía común
- ✚ *Modelo celular de la coagulación*
- ✚ Iniciación
- ✚ Amplificación
- ✚ Propagación
- ✚ Fase Fibrinolítica
- ✚ Fase de control
- ✚ Referencias

## CAPITULO III CONTROL DE CALIDAD EN EL LABORATORIO DE HEMOSTASIA

- ✚ *Fase preanalítica*
- ✚ *Fase analítica*
- ✚ *Fase postanalítica*
- ✚ Referencias

## CAPITULO IV PRUEBAS DE ESCRUTINIO HEMOSTÁTICO

- ✚ Cuenta plaquetaria
- ✚ *Tiempo de hemorragia*
- ✚ *Prueba de agregación de las plaquetas*
- ✚ *Prueba de retracción del coágulo*
- ✚ *Tiempo de Protrombina (TP)*
- ✚ Tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa)
- ✚ Tiempo de Trombina (TT)
- ✚ Fibrinógeno (Método de CLAUSS)
- ✚ Recomendaciones cuando hay alargamiento del TP y/o TTPa
- ✚ Cuantificación del factor XIII
- ✚ Referencias

CAPITULO V COAGULOPATÍAS DE LA HEMOSTASIA PRIMARIA

- ✚ Diagnóstico de los trastornos hemorrágicos
- ✚ Abordaje diagnóstico del sangrado de origen hematológico
- ✚ Trastornos de la hemostasia primaria
- ✚ Enfermedad de von Willebrand
- ✚ Trombastenia de Glanzman
- ✚ Síndrome Bernard Soulier
- ✚ Deficiencias de almacenamiento (del pool plaquetario)
- ✚ Referencias

Al final del trabajo se anexa el CD del manual elaborado en formato PDF.

Para la determinación de la utilidad del manual como material de apoyo se evaluó contestando un cuestionario antes y después de leer el manual y a su vez en la aplicación del cuestionario después de leer el manual se otorgo otro cuestionario con preguntas abiertas en particular sobre el material didáctico (estructuración, información, imágenes, etc). La población estudiada fue de 23 alumnos de un grupo de octavo semestre de la carrera de QFB del cual se obtuvieron los siguientes datos estadísticos:

Comparación entre el número total de respuestas que acertó cada alumno antes y después de consultar el manual.

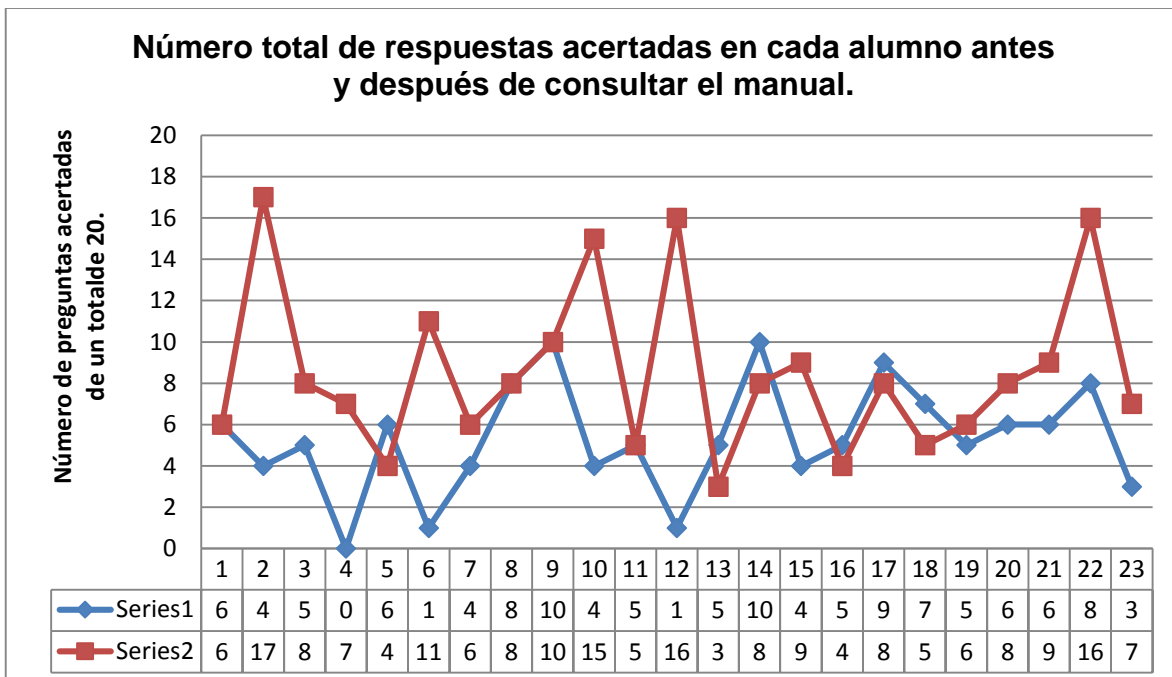


Figura 1. En azul se muestra los aciertos obtenidos por cada alumno antes y en rojo después de consultar el manual. Total de alumnos evaluados 23.

Media de aciertos antes de leer el material didáctico= 5.3      13%  
 Media de aciertos después de leer el material didáctico= 8.5      37%

Cuadro 1. Comparación entre el número de alumnos que contestaron correctamente la pregunta antes y después de leer el manual, se calcula en cada pregunta el índice de dificultad. Total de alumnos evaluados 23.  $Id = \text{Total de alumnos que respondieron bien en cada pregunta} / \text{Total de alumnos evaluados}$ .

Cuadro 1. Respuestas al cuestionario antes y después de leer el manual.

Número de pregunta	Alumnos que contestaron correctamente antes de leer el manual.	Alumnos que contestaron correctamente después de leer el manual.	Índice de dificultad por pregunta antes de leer el manual	Índice de dificultad por pregunta después de leer el manual.
1	7	8	0.30	0.34
2	3	9	0.13	0.39
3	13	18	0.56	0.78
4	4	12	0.17	0.52
5	6	10	0.26	0.43
6	2	9	0.08	0.39
7	16	19	0.69	0.82
8	9	12	0.39	0.52
9	6	10	0.26	0.43
10	9	9	0.39	0.39
11	5	5	0.21	0.21
12	4	10	0.17	0.43
13	3	5	0.13	0.21
14	5	9	0.21	0.39
15	3	8	0.13	0.34
16	4	6	0.17	0.26
17	8	7	0.34	0.30
18	4	6	0.17	0.26
19	8	13	0.34	0.56
20	3	11	0.13	0.47

A continuación se presenta el cuestionario que se aplicó a los alumnos y los resultados obtenidos en cada pregunta antes de leer el manual (ALM) y después de leer el manual (DLM).



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO, FES ZARAGOZA, CARRERA DE QFB.

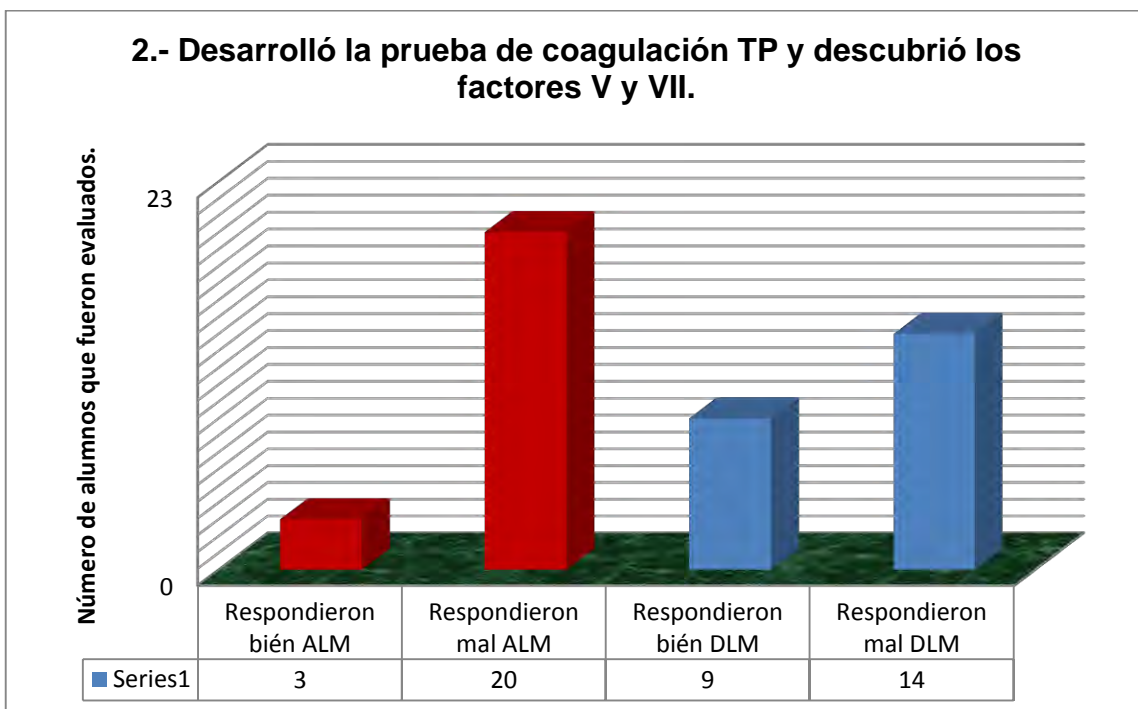
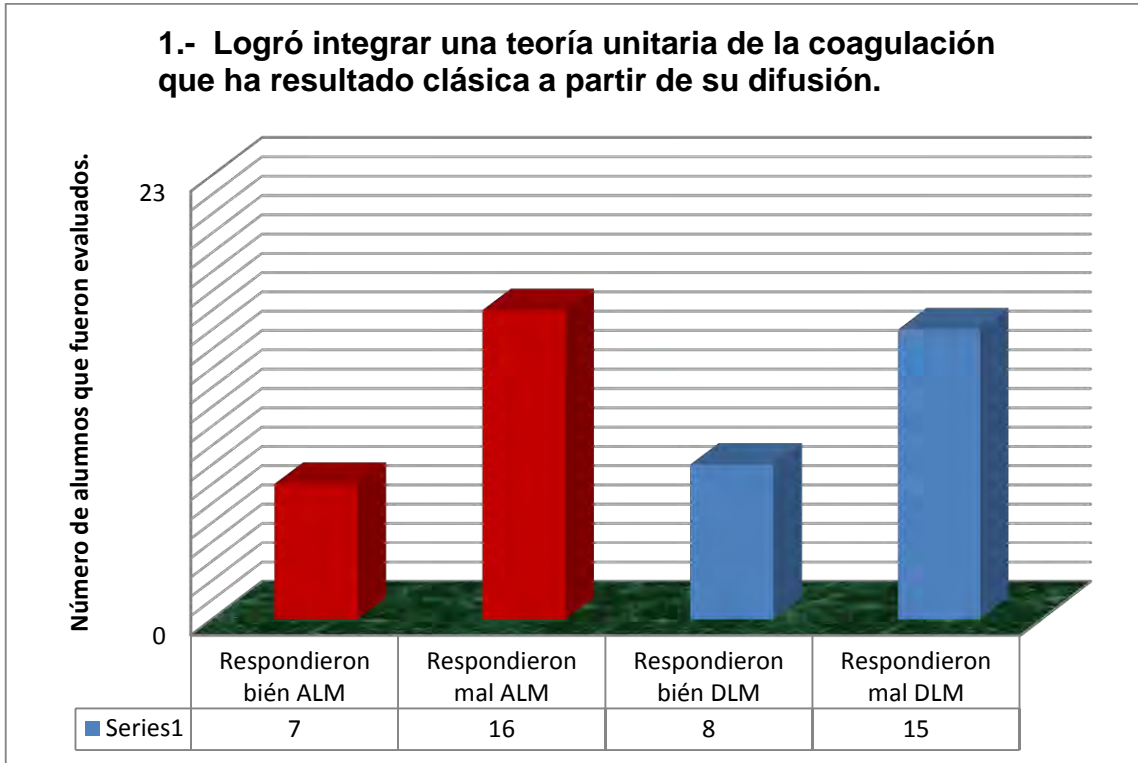
Cuestionario para la evaluación del manual sobre "Pruebas de coagulación y coagulopatías de la hemostasia primaria.

Nombre del alumno \_\_\_\_\_

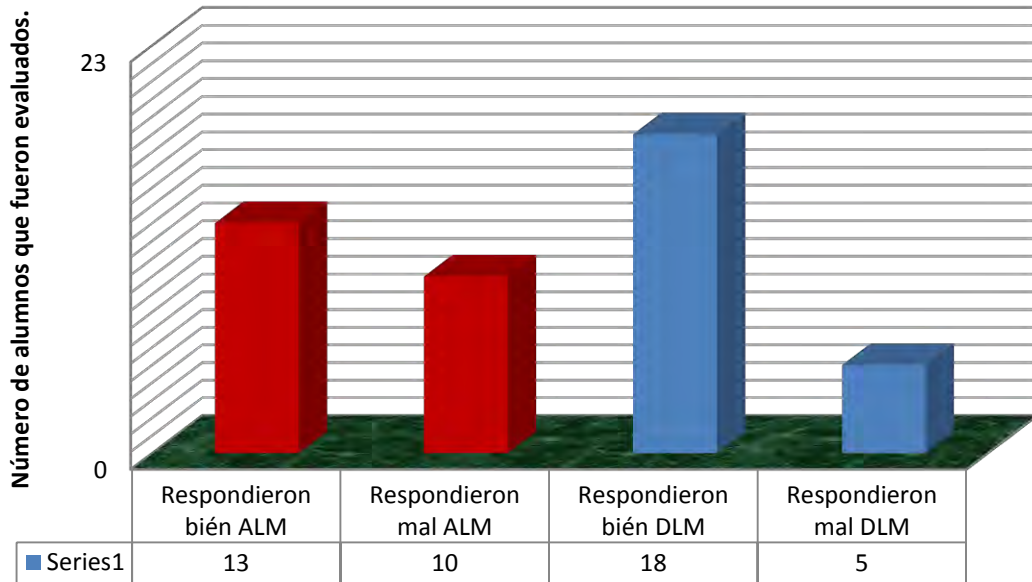
1. Logró integrar una teoría unitaria que ha resultado clásica a partir de su difusión.  
A) Armand Quick    B) Pierre Nolf    C) Paul Morawitz    D) Willian Henry Howell
2. Desarrolló la prueba de coagulación TP y descubrió los factores V y VII  
A) Armand Quick    B) Pierre Nolf    C) Paul Morawitz    D) Willian Henry Howell
3. ¿Fase de la hemostasia primaria en donde se produce vasoconstricción?  
A) Vascular    B) Plasmática    C) Plaquetaria    D) Propagación
4. La ausencia de este factor provoca que la adhesión plaquetaria no se lleve a cabo  
A) XIII    B) V    C) FvW    D) GPIb
5. ¿Son factores dependientes de la vitamina K?  
A) II, V    B) VII, X, V    C) II, VII, IX, X    D) II, XII, XIII
6. La presencia de trombocitopenia y plaquetas gigantes son comunes en  
A) Trombastenia de glanzmann    B) Enfermedad de von Willebrand C) Enfermedad de Bernard Soullier    D) Vasculitis
7. Se caracteriza por ausencia o disminución del Factor von Willebrand.  
A) Trombastenia de glanzmann    B) Enfermedad de von Willebrand    C) Enfermedad de Bernard Soulier    D) Vasculitis
8. Se caracteriza por la ausencia de la GpIIb/IIIa.  
A) Trombastenia de glanzmann    B) Enfermedad de von Willebrand C) Enfermedad de Bernard Soulier    D) Vasculitis
9. Evalúa la vía Extrínseca de la coagulación.  
A) Fibrinógeno    B) TT    C) TTP    D) TP
10. Evalúa la vía intrínseca de la coagulación.  
A) Fibrinógeno    B) TT    C) TTP    D) TP
11. Evalúa la vía común de la coagulación  
A) Fibrinógeno    B) TT    C) TTP    D) TP

12. Se caracteriza por sus fases de iniciación, amplificación y propagación
- A) Vía intrínseca  
C) Cascada clásica de la coagulación  
coagulación
- B) Enfermedad de Bernard Soulier  
D) Modelo celular de la coagulación
13. Factor que estabiliza y da resistencia a la fibrina
- A) X  
B) V  
C) VII  
D) XIII
14. Numero de muestras necesarias para preparar un pool plasmático.
- A) 5  
B) 10  
C) 15  
D) 20
15. Prueba que se basa en el método de Ivy
- A) Tiempo de hemorragia  
C) Retracción del coágulo  
fibrinógeno
- B) Agregación plaquetaria  
D) Determinación de fibrinógeno
16. Dominio del FvW que se une a la GpIb
- A) Dominio A1  
B) Dominio A3  
C) Dominio C  
D) Dominio D
17. Dominio de FvW que se une al colágeno
- A) Dominio A1  
B) Dominio A3  
C) Dominio C  
D) Dominio D
18. Esta variante de la enfermedad de von Willebrand es la forma clínica más severa debido a la ausencia o a los niveles muy bajos de FvW. El modo de herencia es autosómico recesivo.
- A) Tipo 1  
B) Tipo 2N  
C) Tipo 2M  
D) Tipo 3
19. Se caracteriza por la falta de gránulos alfa en la plaqueta
- A) Trombocitopenia  
C) Síndrome de plaquetas grises  
Higashi
- B) Síndrome de Hermansky-Pudlak  
D) Síndrome de Chediak-Higashi
20. Fase del modelo celular de coagulación que se caracteriza por la producción de pequeñas cantidades de trombina.
- A) Iniciación  
B) Amplificación  
C) Propagación  
D) Fibrinólisis

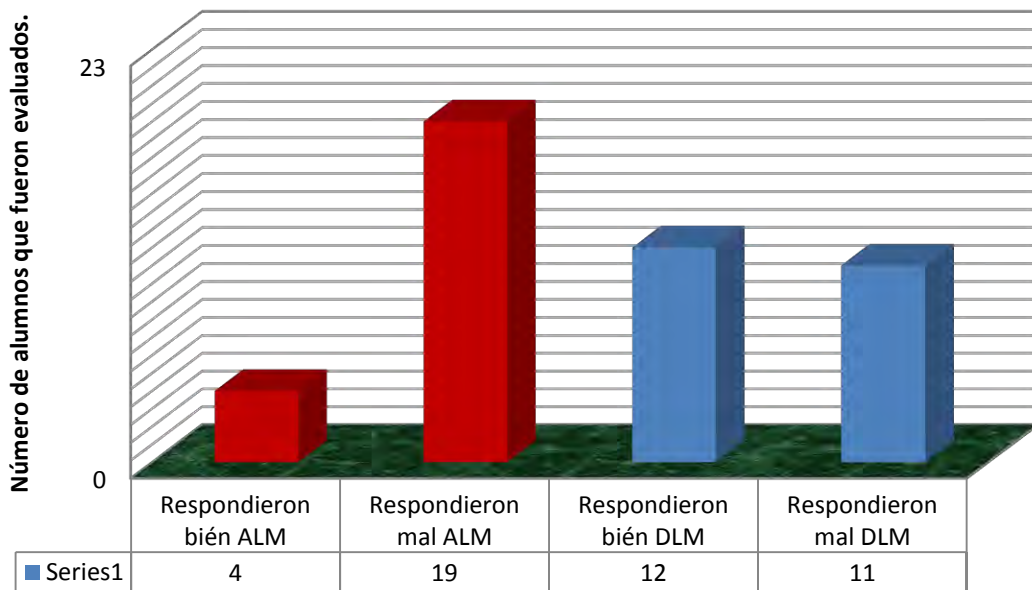
En cada gráfica se indica el número de pregunta y el total de alumnos que respondieron correctamente e incorrectamente antes en rojo y en azul después de leer el manual.



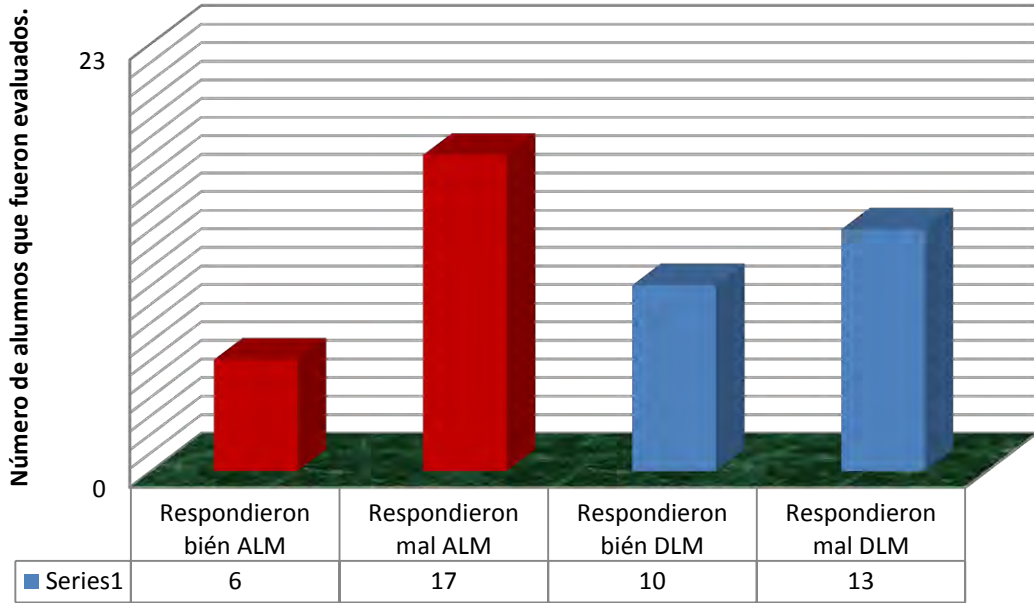
**3.- Fase de la hemostasia primaria en donde se produce vasoconstricción.**



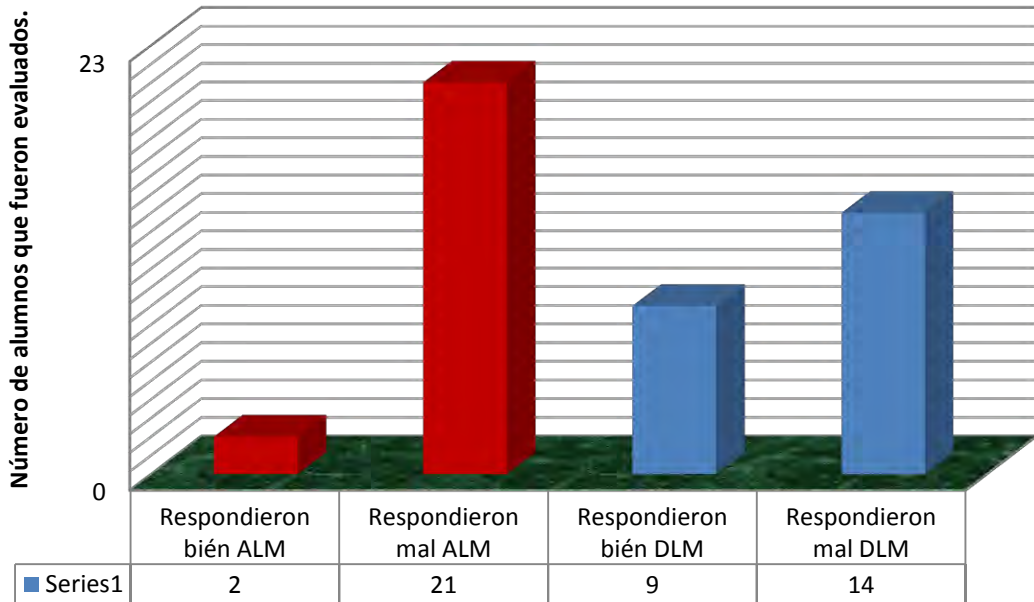
**4.- La ausencia de este factor provoca que la adhesión plaquetaria no se lleve a cabo.**



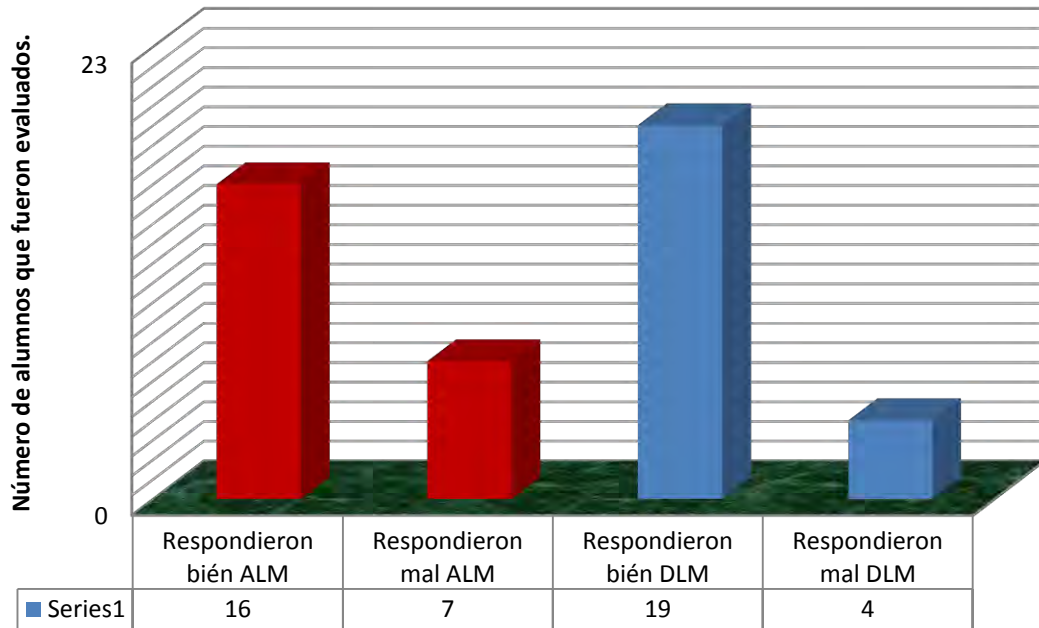
**5.- Son factores dependientes de la vitamina K.**



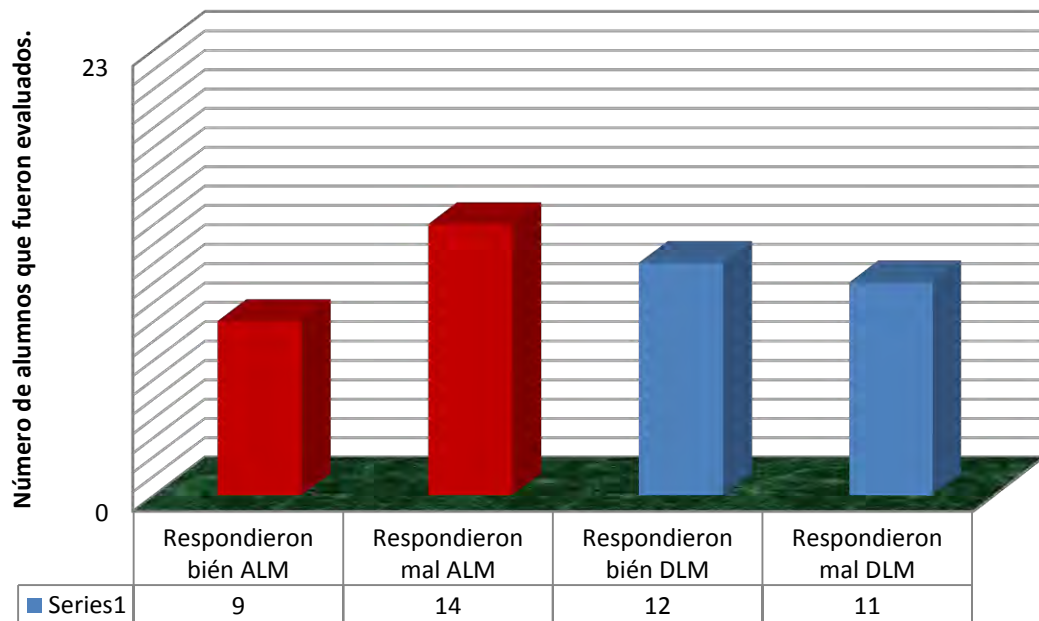
**6.- La presencia de trombocitopenia y plaquetas gigantes son comunes en:**



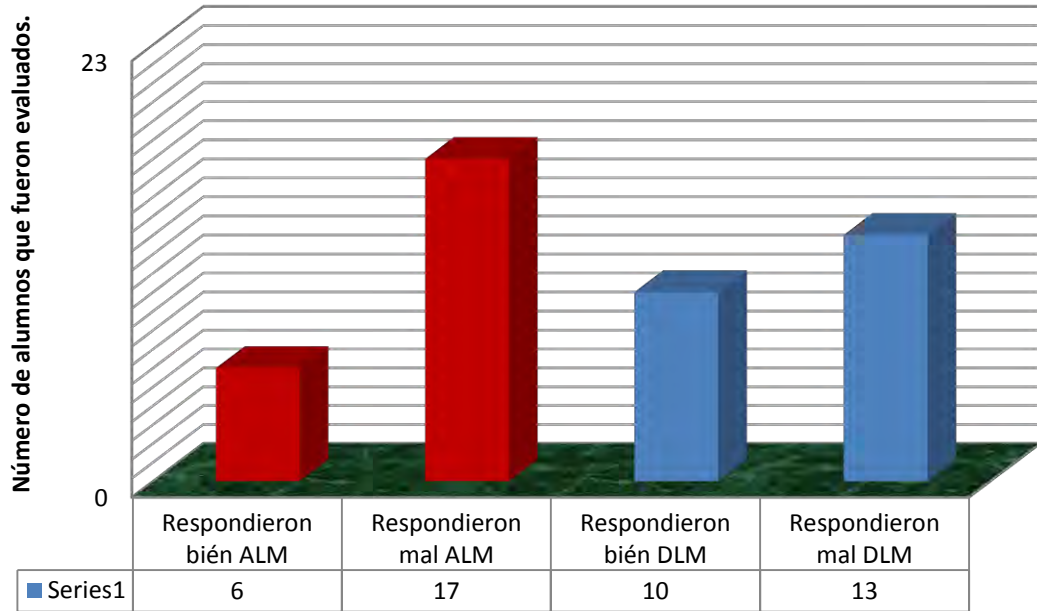
**7.- Se caracteriza por ausencia o disminución del factor von Willebrand.**



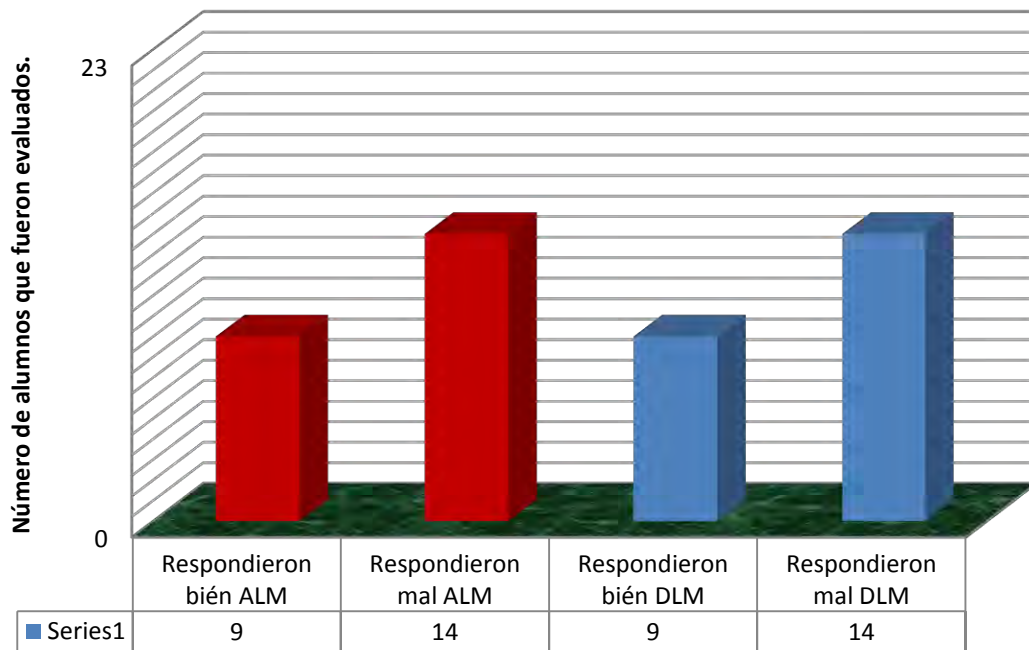
**8.- Se caracteriza por la ausencia de la GPIIb/IIIa.**



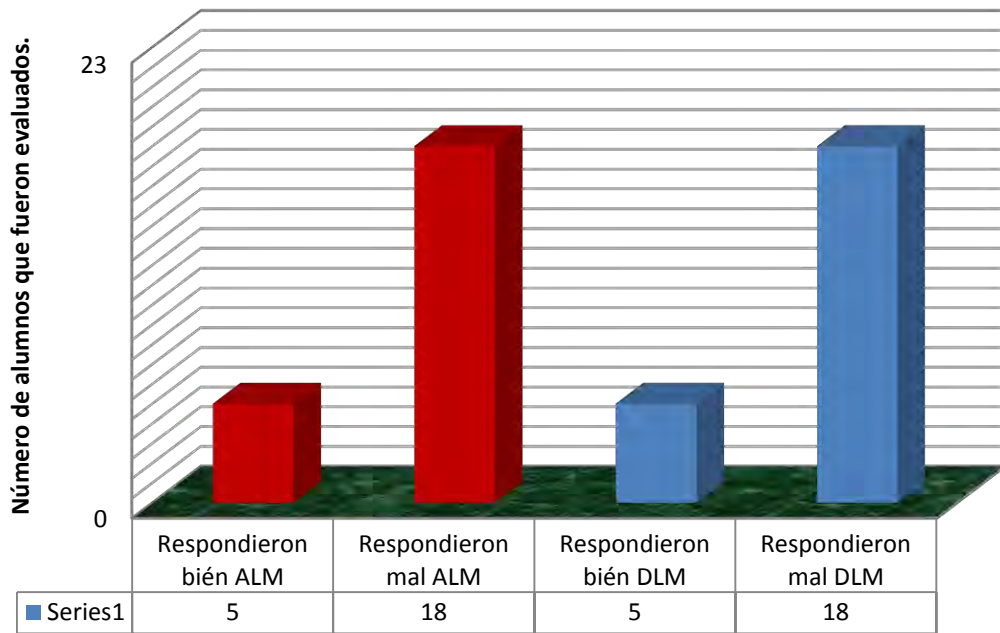
### 9.- Evalúa la vía extrínseca de la coagulación.



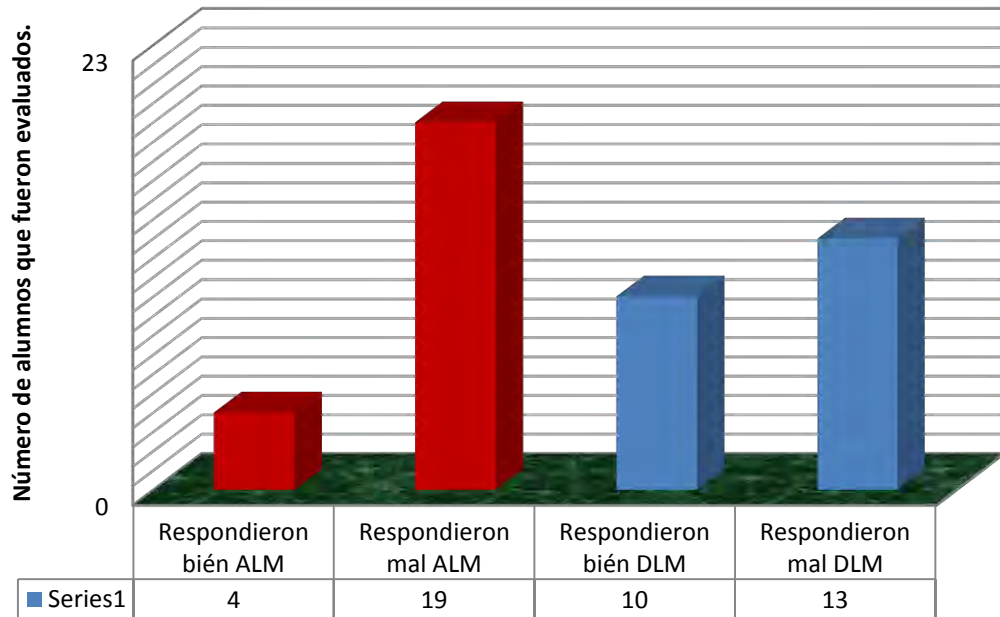
### 10.- Evalúa la vía intrínseca de la coagulación.



### 11.- Evalúa la vía común de la coagulación.

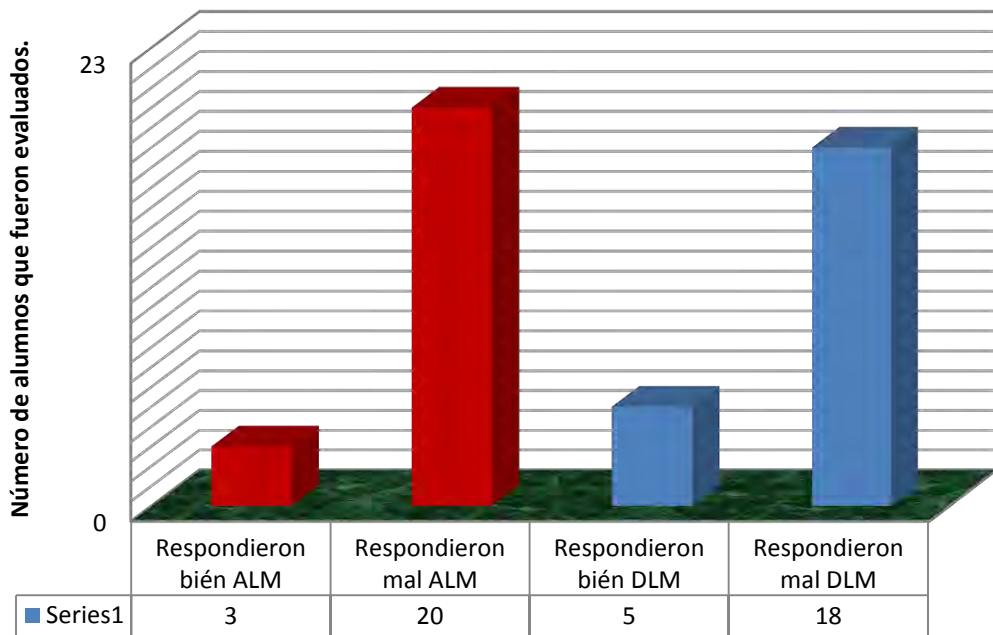


### 12.- Se caracteriza por sus fases de iniciación, amplificación y propagación.

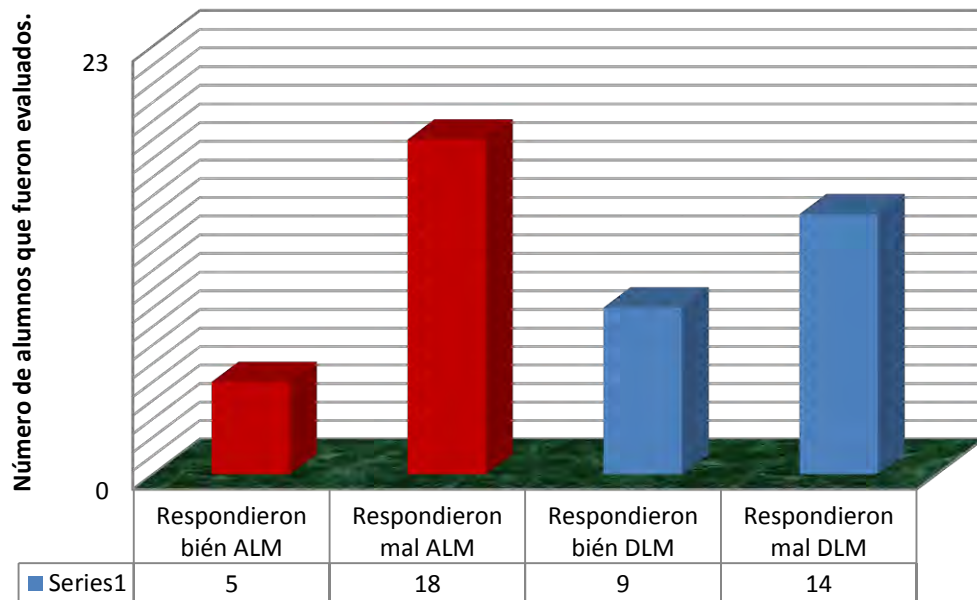




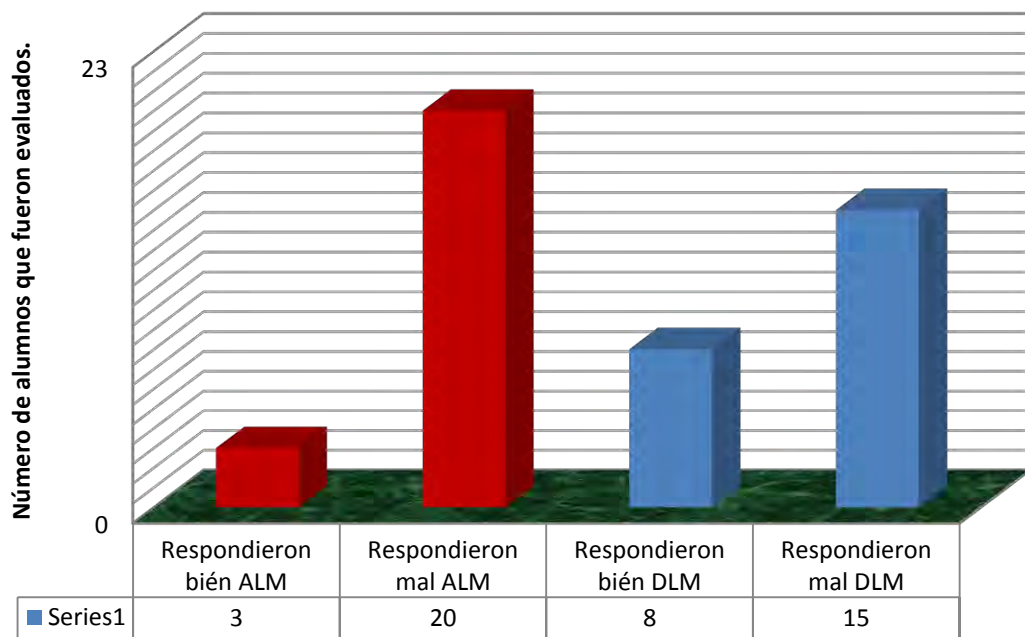
**13.- Factor que estabiliza y da resistencia a la fibrina.**



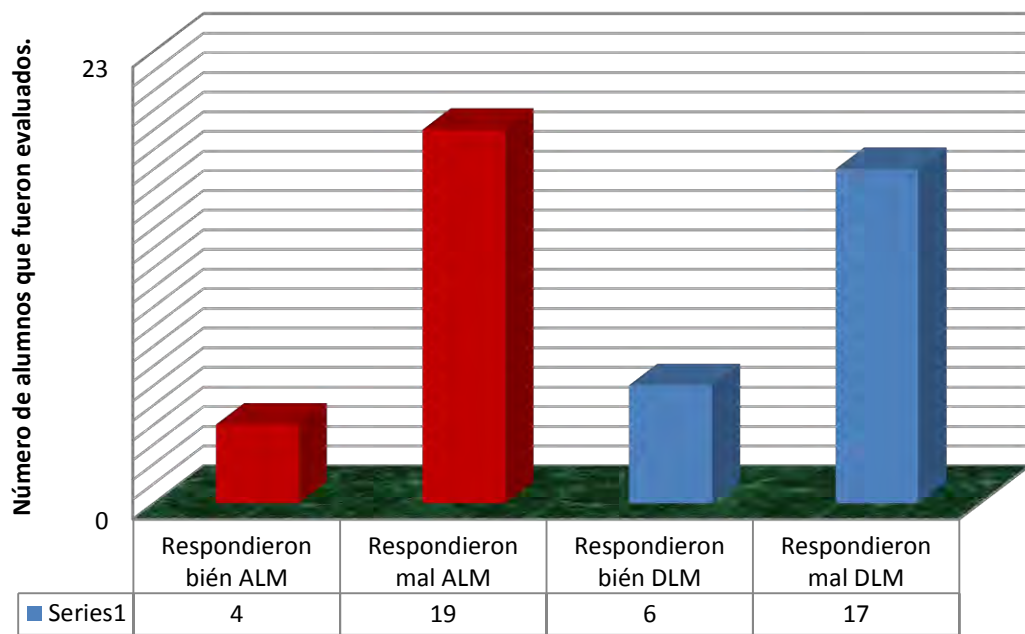
**14.- Número de muestras necesarias para preparar un pool plasmático.**



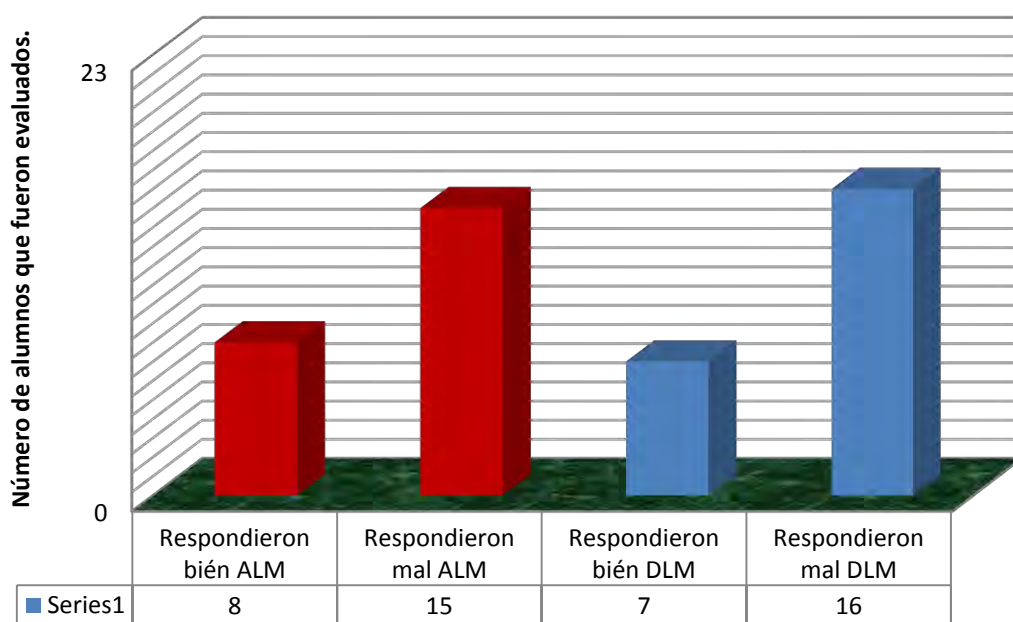
### 15.- Prueba que se basa en el método de Ivy.



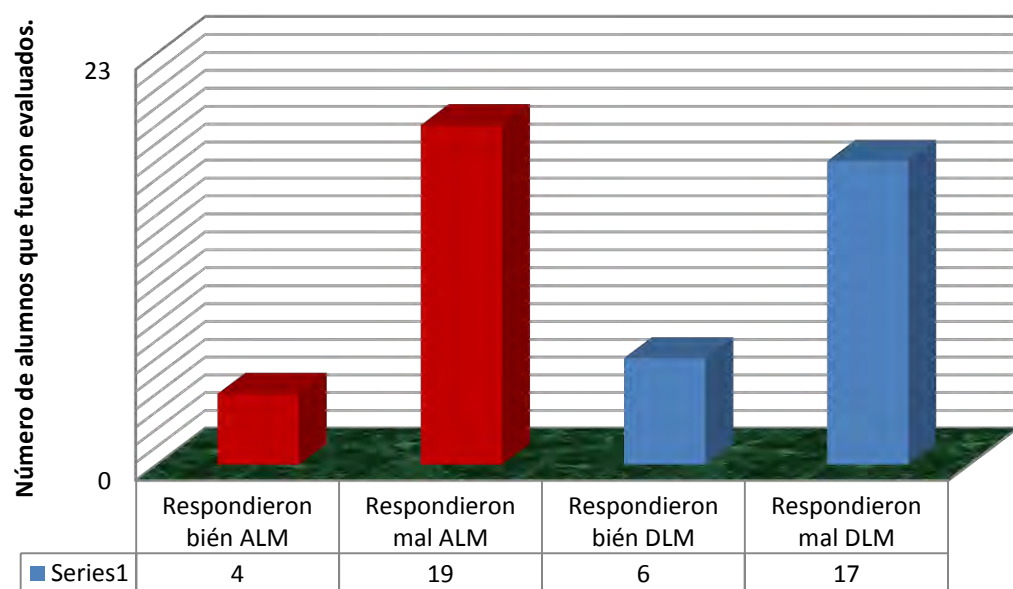
### 16.- Dominio del FvW que se une a la GP Ib.



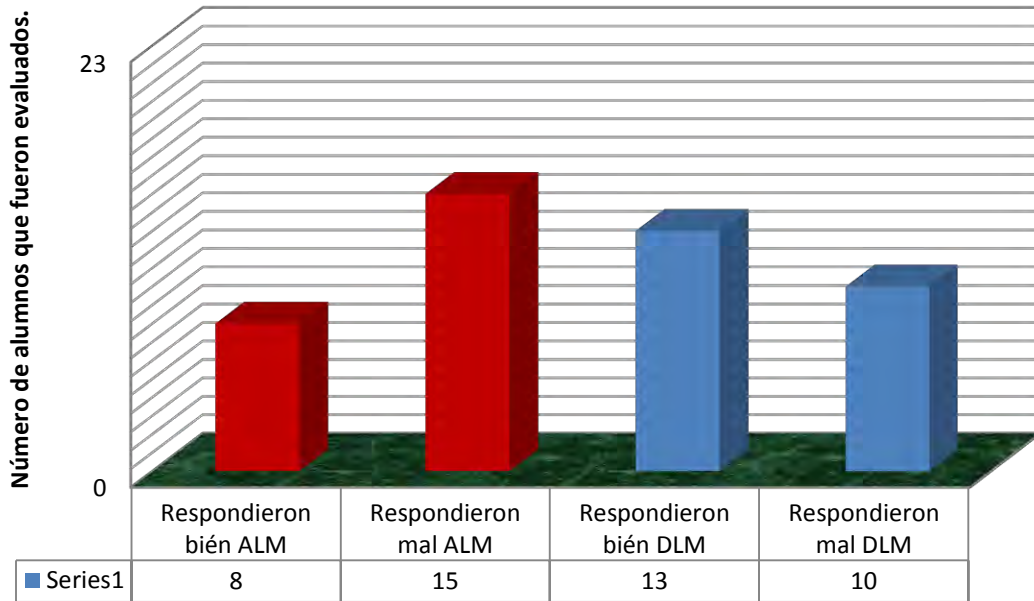
### 17.- Dominio del FvW que se une al colágeno.



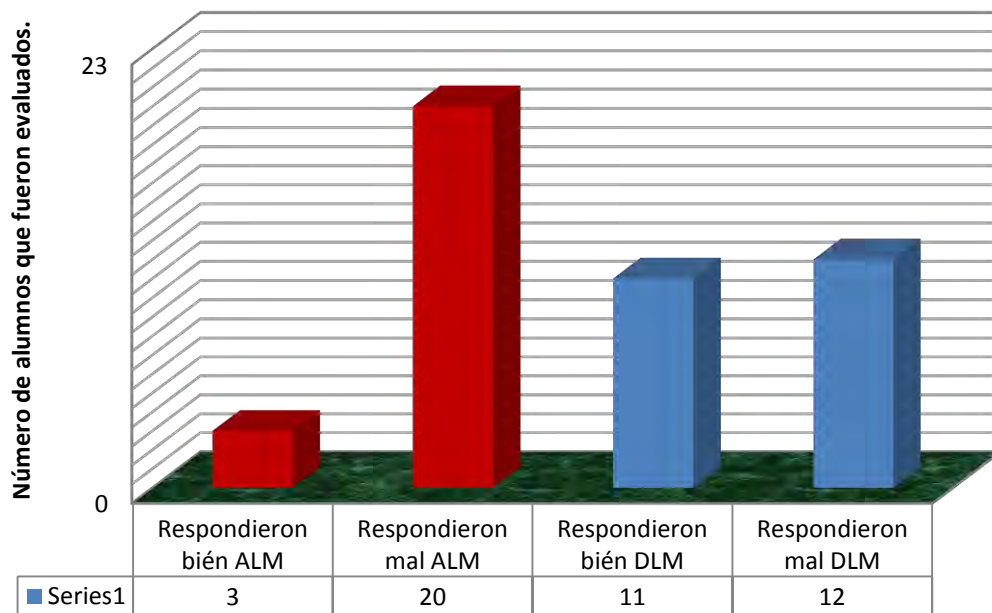
### 18.- Esta variante de la enfermedad de von Willebrand es la forma clínica más severa debido a la ausencia o a los niveles muy bajos de FvW. El modo de herencia es autosómico recesivo.



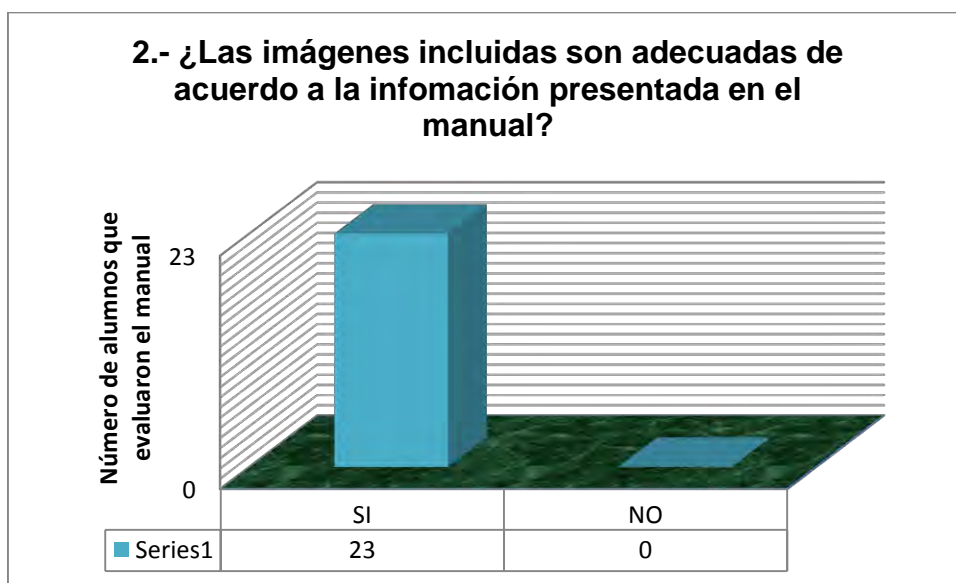
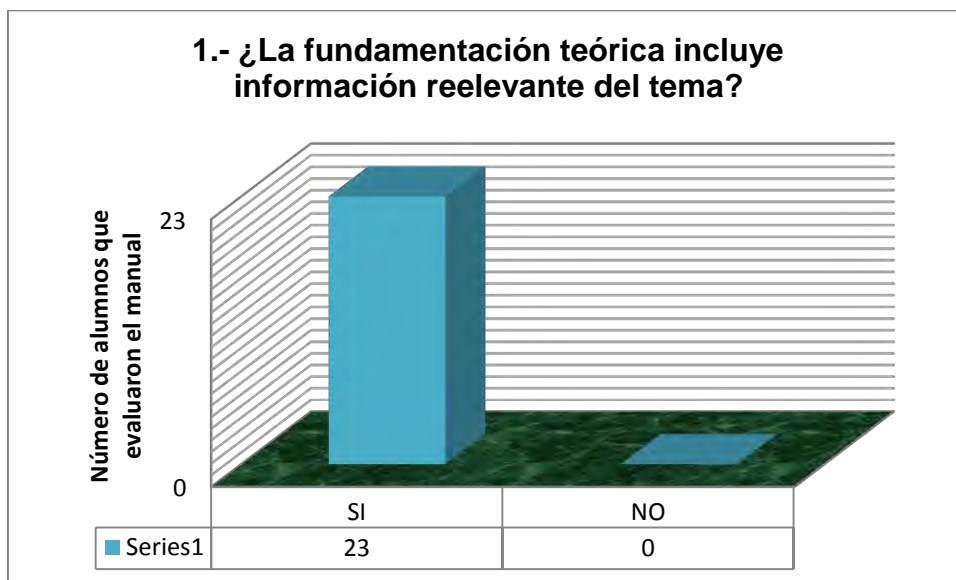
**19.- Se caracteriza por la falta de granulos alfa en la plaqueta.**



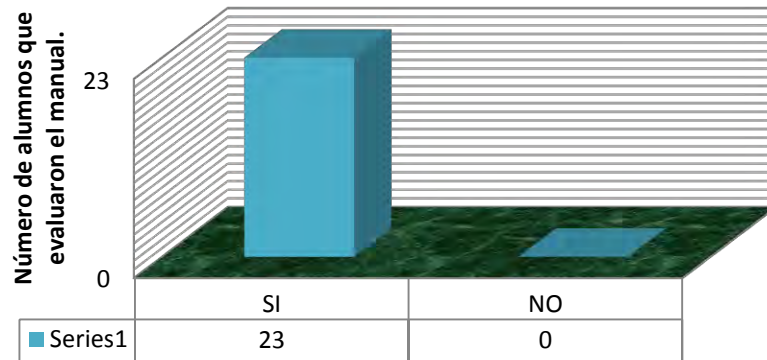
**20.- Fase del modelo celular de coagulación que se caracteriza por la producción de pequeñas cantidades de trombina.**



A continuación se presentan los resultados de la evaluación directa del manual, realizada por los mismos alumnos. En cada gráfica se indica la pregunta y las respuestas dadas por cada uno de ellos.

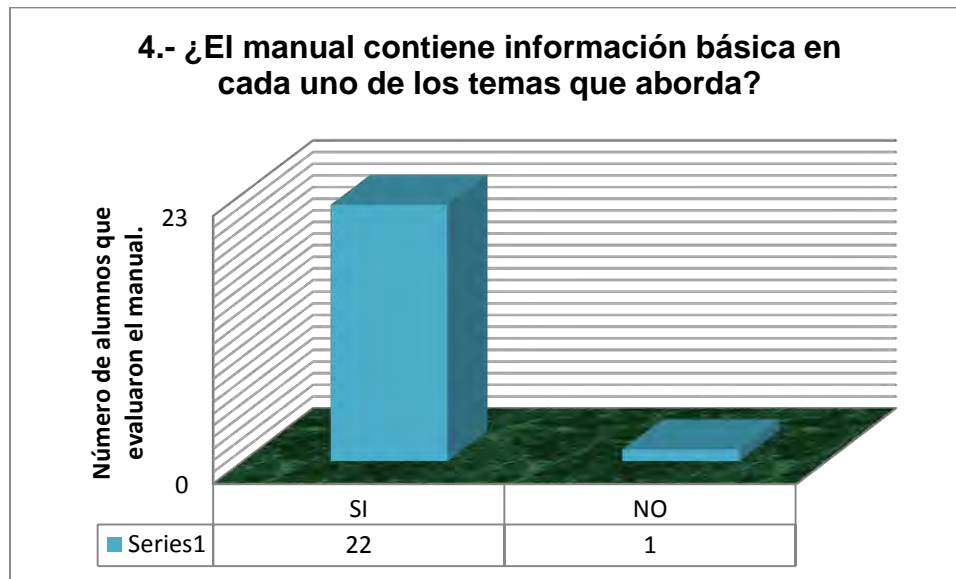


**3.- El manual pruebas de coagulación y coagulopatías de la hemostasia primaria ¿cumple su función como material de apoyo al estudiante?**



Criterios cualitativos que argumentaron los alumnos del ¿por qué? Cuando respondieron SI.

La información se acompaña de imágenes	4
La información es fácil de entender	8
La información sigue una secuencia ordenada	2
La información que contiene es amplia	9

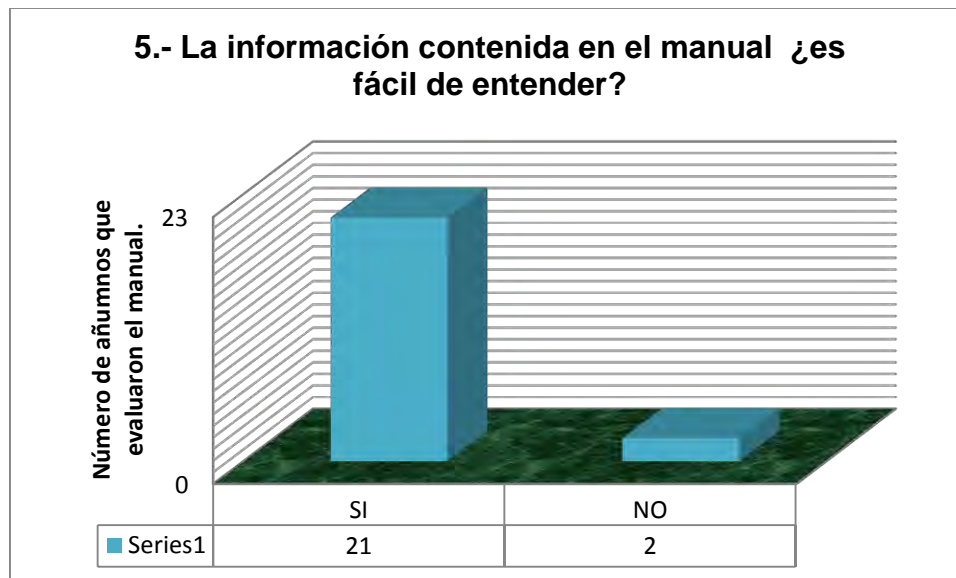


Criterios cualitativos que argumentaron los alumnos del ¿por qué? Cuando respondieron SI.

Describe los procesos de lo más básico a lo más complejo	4
Cumple con información suficiente en cada tema y de manera sintetizada	6
Contiene información necesaria para aclarar dudas y entender el tema	7
Incluye fundamentos e incorpora conceptos fáciles de entender	5

Criterios cualitativos que argumentaron los alumnos del ¿por qué? Cuando respondieron No.

Falta meter conceptos sobre cada punto que se toca	1
--	---



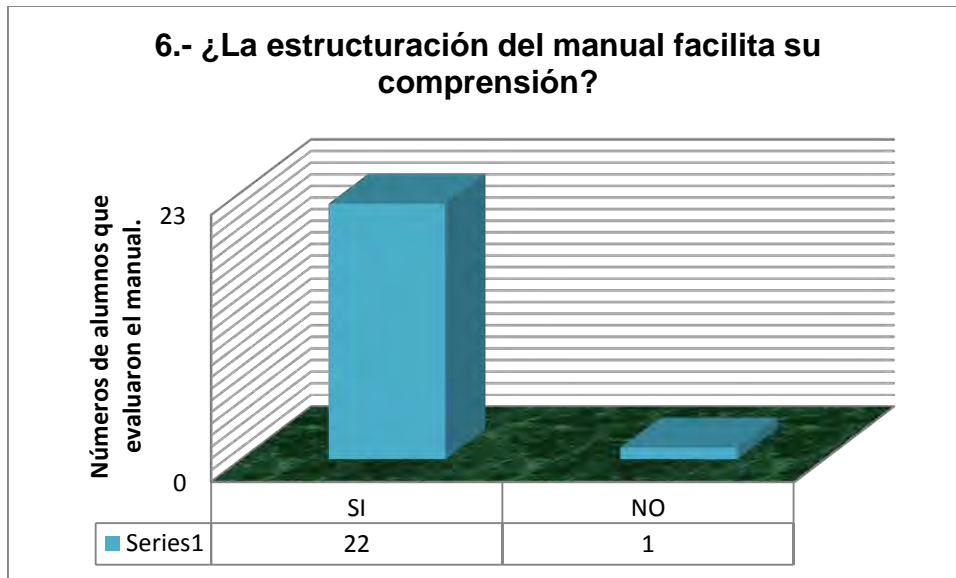
Criterios cualitativos que argumentaron los alumnos del ¿por qué? Cuando respondieron SI.

Lleva una secuencia en orden que facilita su comprensión	3
Explica términos que se van incorporando de manera clara	4
Por las imágenes incluidas	3
Tiene suficiente información clara y digerible	11

Criterios cualitativos que argumentaron los alumnos del ¿por qué? Cuando respondieron NO.

Tema complejo	1
Tiene Mucha información y se necesita condensar	1



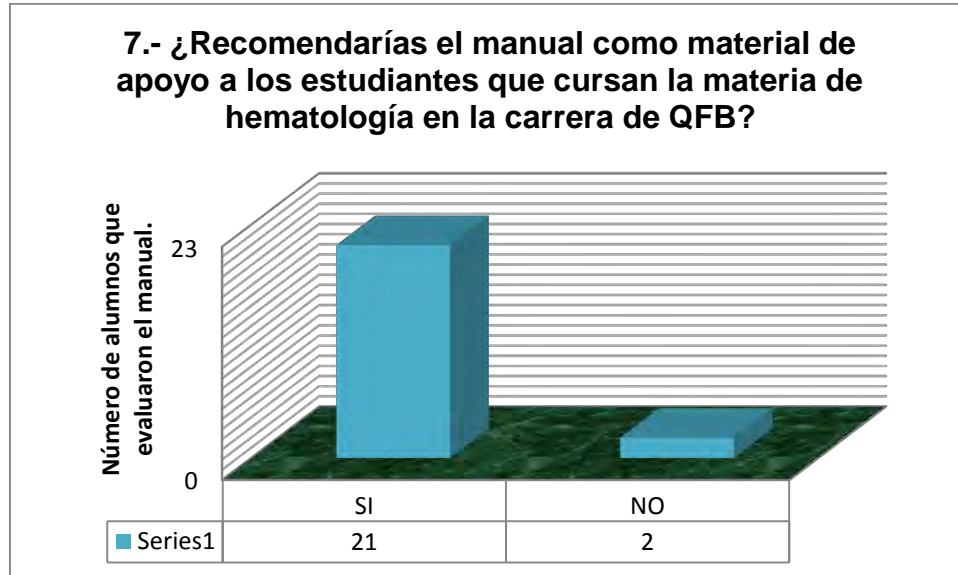


Criterios cualitativos que argumentaron los alumnos del ¿por qué? Cuando respondieron SI.

La secuencia está bien estructurada ya que va de lo más sencillo a lo más complejo	16
Las imágenes y esquemas ayudan a su comprensión	4
Está bien redactado	2

Criterios cualitativos que argumentaron los alumnos del ¿por qué? Cuando respondieron NO.

Contiene mucha Información	1
----------------------------	---

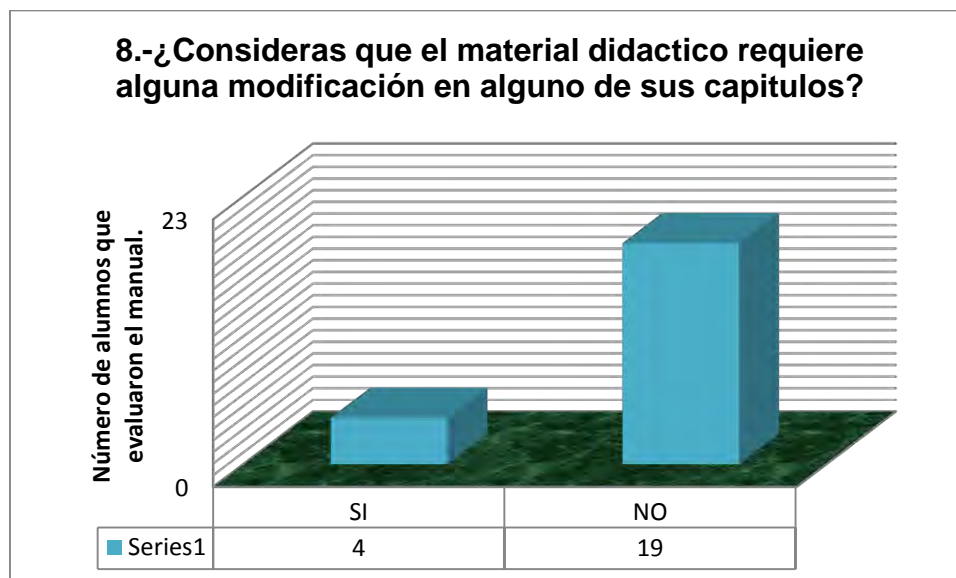


Criterios cualitativos que argumentaron los alumnos del ¿por qué? Cuando respondieron SI.

Es comprensible y completo	8
Tiene fundamentos entendibles	3
La información es buena y concisa	3
Es buen material de apoyo	7

Criterios cualitativos que argumentaron los alumnos del ¿por qué? Cuando respondieron NO.

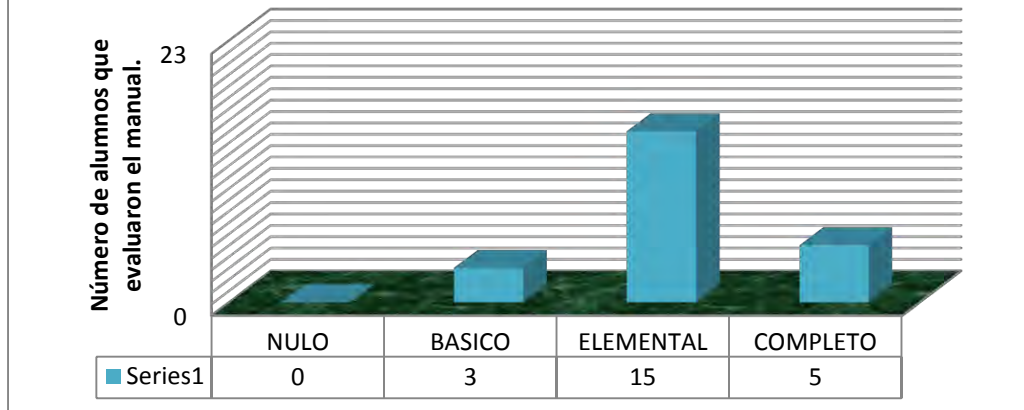
Esta demasiado extenso	1
Esta muy cargado	1



Criterios cualitativos que argumentaron los alumnos cuando su respuesta fue SI

Incluir menos historia	1
Verificar errores de dedo	1
Necesita imágenes con más información	2

**9.- Indica el grado de utilidad que el manual "Pruebas de coagulación y coagulopatías de la hemostasia primaria" tuvo en tu proceso de aprendizaje como apoyo didáctico en el modulo de Hematología**



### Análisis estadístico inferencial

Diferencia de medias de las respuestas que contestan los alumnos correctamente antes y después de consultar el manual.

$$H_0: \mu_1 = \mu_2$$

$$H_a: \mu_1 \neq \mu_2$$

Estadígrafo de contraste con t pareada

$$t = \frac{\bar{X}_D - \Delta_0}{\frac{S_D}{\sqrt{n}}}$$

$\bar{X}_D$ : diferencia de las respuestas por cada alumno, antes y después de consultar el manual.

$S_D$ : Desviación estándar de las diferencias de medias.

n= 23 datos apareados

t calculada= 3.0923

t de Studen con  $\alpha = 0.005$

$t_{0.995, 22} = 2.8188$

## DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Con base en los resultados obtenidos a través del análisis estadístico descriptivo se observó un aumento en el número de aciertos al contestar el cuestionario después de leer el manual, así mismo la media de preguntas acertadas aumentó significativamente de 3 a 8.5 (13% a 37%) en promedio por cada alumno. Por otra parte el índice de dificultad por pregunta arroja un ligero aumento hacia la unidad, lo cual se traduce que al leer el manual las preguntas son contestadas con mayor facilidad por los alumnos. Así mismo al realizar el análisis estadístico inferencial se observó diferencia significativa con alfa igual a 0.005 lo cual quiere decir que si hay diferencia notable en el aprendizaje de los alumnos al consultar el material de apoyo ( manual). Con respecto a la aceptación del manual como material de apoyo didáctico en el conocimiento del tema fue muy bien aceptado por parte de los alumnos con algunas sugerencias muy menores para modificarlo las cuales fueron tomadas en cuenta para mejorar el material didáctico.

## CONCLUSIONES

Se concluye que el material didáctico producto de esta investigación es una buena herramienta que ayuda a una mejor comprensión de las pruebas de coagulación más usadas, así como su relación con las coagulopatías de la hemostasia primaria. Así mismo es útil en el ámbito docente como en el profesional, esto debido a su estructuración, información actualizada y enriquecida con imágenes como estrategia para facilitar el aprendizaje y comprensión del tema.

## PERSPECTIVAS

El uso de materiales didácticos en la formación profesional representa un gran apoyo al estudiante, porque es una guía condensada de lo que son los temas a tratar y son un buen camino para adentrarse poco a poco hacia lo más complejo. En este caso la hemostasia es un tema que se les dificulta comprender a muchos estudiantes por lo que al contar con un material didáctico de apoyo y leerlo de manera minuciosa, el alumno logrará sin ningún problema adentrarse en la fisiología de la coagulación y de esta manera comprender la relación que hay entre las pruebas de coagulación y las coagulopatías de la hemostasia primaria ya que el manual cuenta con gran variedad de imágenes que llevaran paso a paso al estudiante para que así logre dominar el tema.

## Referencias del proyecto

1. Jaime Pérez J, Gómez Almaguer D. Hematología la sangre y sus enfermedades. 3ª ed. México DF: Mc Graw Hill; 2012.
2. Isaguirre Ávila R. Centenario de la doctrina de la coagulación sanguínea. Arch Cardiol Mex.2005; 75 Supl 3: 118-129.
3. Martínez Murillo C. Actualización en hemostasia y trombosis. Gac Med Mex. 2003; 139 supl 2: 28-30.
4. Carrillo Esper R, Villaseñor Ovies P. Coagulopatía del paciente quirúrgico. El nuevo modelo celular de la coagulación y su aplicación en anestesiología. Rev Mex Anest. 2004; 27 (4): 219-230.
5. Quintana-Gonzalez S, Martínez-Murillo C, Jiménez R, Flores-Chapa J. Actualidades en hemostasia. Gac Med Mex. 2002; 138 Supl 1: 47-59.
6. Carrillo Esper R, Antigua Bretón Y, Carrillo Córdova J. Modelo celular de la hemostasia y utilidad del factor VII recombinante activado en la práctica clínica. Acta MédicaGrupo Ángeles. 2007; 5(1): 27-34.
7. Gómez Baute R, Guerra Alfonso T, Dita Salabert L, Fernández Águila J, Cabrera Zamora M. Teoría celular de la coagulación: de las cascadas a las membranas celulares. MediSur. 2011; 9(2): 65-74.
8. Martínez-Murillo C. Mecanismos de activación de la coagulación. Rev Med Inst Mex Seguro Soc. 2006; 44 Supl 2: 51-58.
9. Páramo J.A, Panizo E, Pegenaute C, Lecumberri R. Coagulación 2009: una visión moderna de la hemostasia. Rev Med Univ Navarra. 2009; 53(1): 19-23.
10. Ruiz Argüelles G, Fundamentos de hematología. 4ª ed. México DF: Médica Panamericana; 2009.
11. McKenzie S. Hematología clínica. 2ª ed. México DF: El manual moderno; 2000.
12. Deska Pagana K, Pagana T. Guía de pruebas diagnósticas y de laboratorio. 8ª ed. España: Elsevier; 2008.
13. Ruíz Reyes G, Ruíz Argüelles A. Fundamentos de interpretación clínica de los exámenes de laboratorio. 2ª ed. México DF: Médica Panamericana; 2010.
14. Williamson M, Michael Snyder L. Wallach Interpretación clínica de pruebas diagnósticas. 9ª ed. Barcelona: Wolters Kluwer; 2012.
15. Borbolla J. Hematología algoritmos diagnósticos. México DF: Mc Graw Hill; 2004.
16. Melo-Nava B, Peñaloza R. Biología molecular de la enfermedad de Von Willebrand. Rev Invest Clin. 2007; 59 (5): 401-408.
17. Von Willebrand E. Hereditar pseudohemofili. Finska Lakar. *Hand* 1926; 68: 87-112.
18. Federici A. The factor VIII/von Willebrand Factor complex: basic and clinical issues. *Haematologica* 2003; 88: 3-12.
19. Castaman G, Federic A, Rodegheiro F, Mannuccio P. Von Willebrand's disease in the year 2003: towards the complete identification of gene defects for correct diagnosis and treatment. *Haematologica* 2003; 88: 90-108.
20. Bellucci, S; Caen J.P., Molecular basis of Glanzmann's thrombasthenia and current strategies in treatment. *Blood Rev*, 16: 193-202. 2002.
21. George JN, Caen JP, Nurden AT, Glanzmann: The Espectrum Of Clinical Disease; *Blood*; Cap 75; 1383 – 1395. 1990

22. Lanza F: Bernard- Soulier Syndrome (Hemorrhagic platelet dysfunction), Orphanet Journal of Rare Diseases, 2006; 1: 46-52.
23. Bello A: Fisiopatología y Trastornos de la Coagulación, Pediatría Integral, 2008; 12(5): 469-483.

#### Referencias del manual.

1. Jaime Pérez J, Gómez Almaguer D. Hematología la sangre y sus enfermedades. 3ª ed. México DF: Mc Graw Hill; 2012.
2. Isaguirre Ávila R. Centenario de la doctrina de la coagulación sanguínea. Arch Cardiol Mex. 2005; 75 Supl 3: 118-129.
3. Malpighi M: *De viscerum structura exercitatio anatomica. Accedit dissertatio eiusdem de Polypo Cordis*. Bolonia, Iacobo Monti, 1666.
4. Forge E: *Histoire de la Chirurgie*. En: Lavastine L. Ed. Histoire Générale de la Médecine, de la Pharmacie, de l'art dentaire et de l'art vétérinaire. París. Albin Michel Editeurs, 1936; 2: 351.
5. Buchanan A: *Contributions to the physiology and pathology of the animal fluids*. London Med Gaz 1836; 18: 50-54.
6. Schmidt A: *Ueber den Faserstoff und die Ursachen seiner Gerinnung*. Reichert DuBois Reymond's P. Arch Anat Physiol 1861: 545-587, 675-721.
7. Arthus M: *La coagulation du sang et les sels de chaux (réfutation expérimentale des objections d'Alexander Schmidt)*. Arch Physiol 1896; 8: 47-61.
8. Wintrobe M: *Hematology, the blossoming of a science: a story of inspiration and effort*. Philadelphia: Lea & Fabiger, 1985: 102-103.
9. Arthus M. *Précis de Physiologie*. París: Masson & Cie Éditeurs, 1912: 32-37.
10. Dam H: *Vitamin K, its chemistry and physiology*. Adv Enzymol 1942; 2: 285-324.
11. Doisy EA, Binkley SB, Thayer SA: *Vitamin K*. Chem Rev 1941; 28: 477-517.
12. Quick A, Stanley-Brown M, Bancroft FW: *A study of the coagulation defect in hemophilia and in jaundice*. Am J Med Sci 1935; 190: 501-511.
13. Isaguirre Ávila R. A un siglo de la teoría clásica de la coagulación sanguínea. Rev Mex Anest. 2006; 29 (2): 116-123.
14. Patek AJ, Taylor FHL: *Hemophilia II. Some properties of a substance obtained from normal plasma effective in accelerating the clotting of hemophilic blood*. J Clin Invest 1937; 16: 113-124.
15. Pavlovsky A: *Contribution to the pathogenesis of hemophilia*. Blood 1947; 2: 185-191.
16. Izaguirre R: *Historia de la Hemofilia*. En: Martínez, C. Ed: Hemofilia. México: Editorial Prado, 2001: 1-17.
17. Fischer A: *Coagulation of the blood as a chain reaction*. Nature 1935; 1075: 135.
18. Milstone JH: *The chain reaction of the blood clotting mechanism in relation to the theory of hemostasis and thrombosis*. Blood 1949; 4: 1290-1297.
19. Davie EW, Ratnoff OD: *Waterfall sequence for intrinsic blood clotting*. Science 1964; 145: 1310-1312.

20. Macfarlane RG: *An enzyme cascade in the blood clotting mechanism and its function as a biochemical amplifier*. Nature 1964; 202: 498-499.
21. Uncos D. Sistema de la coagulación: nuevos conceptos. Rev Arg Anest. 2006; 64(1): 37-55.
22. Jaime Pérez J, Gómez Almaguer D. Hematología la sangre y sus enfermedades. 3ª ed. México DF: Mc Graw Hill; 2012.
23. Ruíz Reyes G, Ruíz Argüeles A. Fundamentos de interpretación clínica de los exámenes de laboratorio. 2ª ed. México DF: Medica Panamericana; 2010.
24. Ombrello C, Block RC, Morrel CN. Our Expanding View of Platelet Functions and Its Clinical implications. J Cardiovasc Trans Res 2010;3(5):538-546.
25. González villalva A. Capítulo 6. Sangre. En: Fortoul y Castell. Histología y Biología Celular. México: Mc Graw-Hill Interamericana, 2010 p. 147-154.
26. Spinelli SL, Maggirwar SB, Blumberg N, Phipps RP. Nuclear Emancipation: A Platelet Tour de Force. Science signal 2010;3(144):pe37.
27. Nurden AT. Platelets, Inflammation and tissue regeneration. Thromb Haemost 2011;105(suppl 1):S13-S33.
28. Carrillo Esper R, Villaseñor Ovies P. Coagulopatía del paciente quirúrgico. El nuevo modelo celular de la coagulación y su aplicación en anestesiología. Rev Mex Anest. 2004; 27 (4): 219-230.
29. Gómez Baute R, Guerra Alfonso T, Dita Salabert L, Fernández Águila J, Cabrera Zamora M. Teoría celular de la coagulación: de las cascadas a las membranas celulares. MediSur. 2011; 9(2): 65-74.
30. Carrillo Esper R, Antigua Bretón Y, Carrillo Córdova J. Modelo celular de la hemostasia y utilidad del factor VII recombinante activado en la práctica clínica. Acta Médica Grupo Ángeles. 2007; 5(1): 27-34.
31. Quintana González S, Martínez Murillo C. Modelo Celular de la Coagulación. Revista de Hemostasia y Trombosis. 2008; 2(1):59-65.
32. Páramo J.A, Panizo E, Pegenaute C, Lecumberri R. Coagulación 2009: una visión moderna de la hemostasia. Rev Med Univ Navarra. 2009; 53(1): 19-23.
33. Quintana-Gonzalez S, Martínez-Murillo C, Jiménez R, Flores-Chapa J. Actualidades en hemostasia. Gac Med Mex. 2002; 138 Supl 1: 47-59.
34. Borzotta AP, Keeling MM. Value of the preoperative history as an indicator of hemostatic disorders. Ann Surg 1984; 200:648-52.
35. Quintana GS, Martínez-Murillo C, Ambriz FR. Fisiología de la Coagulación, En: Hemofilia, Martínez-Murillo C, Quintana GS, Ambriz FR, Kasper C, editores. México: Editorial Prado; 2001. p. 19-42.
36. NCCLS. Clinical laboratory procedure manual. Approved guideline. NCCLS Document 10 CP2 A. Villanova, PA:NCCLS, 1984; 4 (2):vii + 27.53.
37. ICSH. Standardization of blood specimen collection procedure for reference value. Clin Lab Haematol 1982; 4:83-6.
38. Martínez-Murillo C, Quintana-González S. Fisiología de la Hemostasia Primaria En: Manual de Hemostasia y Trombosis. Martínez-Murillo C, Quintana-González S, editores. México: Editorial Prado; 1996; p. 5- 22.
39. Lewis SM. Standards, reference materials and reference methods. En: Lewis SM, Koepke JA (eds). Hematology: Laboratory Management and Practice. Oxford: Butterworth-Heinemann;1995. p. 129-35.



40. Koepke JA, Rodgers H, Ollivier MJ. Preanalytical instrumental variables in coagulation testing. *Am J Clin Pathol* 1975; 64:591-6.
41. Kitchen S, Mc Craw A. Diagnóstico de la hemofilia y otros trastornos de la coagulación. Federación Mundial de Hhemoftilia; 2002.
42. Koepke JA, Bull BS. The intralaboratory control quality. En: Lewis SM, Koepke JA (eds). *Hematology: Laboratory Management and Practice*. Oxford: Butterworth- Heinemann; 1995. p. 183-98.
43. Schman AL, Griner PP. Diagnostic uses of the partial thromboplastin time and prothrombin time. *Ann Intern Med* 1986; 104:810-6.
44. Ruiz Argüelles G, Fundamentos de hematología. 4ª ed. México DF: Médica Panamericana; 2009.
45. Mckenzie S. Hematología clínica. 2ª ed. México DF: El manual moderno; 2000.
46. Tietz N. W. *Clinical Guide to Laboratory test*, edited by W.B. Saunders Company, third edition, United States of America ,1995.
47. Moreno Hernández M y Cols. Consenso sobre estandarización de las pruebas de coagulación. *Revista de Hemostasia y Trombosis*. 2008; 2(2, 3, y 4):102-114.
48. Jaime Pérez J, Gómez Almaguer D. Hematología la sangre y sus enfermedades. 3ª ed. México DF: Mc Graw Hill; 2012.
49. Mckenzie S. Hematología clínica. 2ª ed. México DF: El manual moderno; 2000.
50. Borbolla J. Hematología algoritmos diagnósticos. México DF: Mc Graw Hill; 2004.
51. Von Willebrand E. Hereditar pseudoheftofili. *Finska Lakar. Hand* 1926; 68: 87-112.
52. Mancuso D, Tuley E, Westfield L, Worrall N, Shelton B, Sorace J, Avely Y, Sadler J. Structure of the gene for human von Willebrand factor. *J Biol Chem* 1989; 264: 19514-27.
53. Guía de referencia rápida GRR. Diagnóstico y Tratamiento de la Enfermedad de von Willebrand.
54. Caen JP, Castaldi PA, Leclerc JC et al: Congenital Bleeding disorders with long bleeding time and normal platelet count. I Glanzmann's Thrombasthenia. *Am. J. Med.*; 41: 4, 1966.
55. Bellucci, S; Caen J.P., Molecular basis of Glanzmann's thrombasthenia and current strategies in treatment. *Blood Rev*, 16: 193-202. 2002.
56. George JN, Caen JP, Nurden AT, Glanzmann: The Espectrum Of Clinical Disease; *Blood*; Cap 75; 1383 – 1395. 1990.
57. Sans – Sabrafen J..Hematología Clínica. 3º Edición. Editorial Mosby – Doyma. Púrpuras angiopáticas, trombopénicas y trombopáticas. Castillo R., Casals F. J. 34, 515 – 532, 1994.
58. Ruggeri ZM, De Marco L. Gatti L, Bader R, Montgomery RR. Platelets have more than one binding site for von Willebrand factor. *J Clin Invest*; 72: 1 – 12. 1983.
59. Fournier DJ, Kabral A, Castaldi PA et al. A variant of Glanzmann's Thrombasthenia characterized by abnormal glycoprotein IIb –IIIa complex formation. *Thromb Heamost*; 62: 977-983. 1989.
60. Nurden A. Glanzmann thrombasthenia. *Orphanet J Rare Dis*. 2006;1:10.

61. Seegmiller A, Sarode S. Laboratory Evaluation of Platelet Function. *Hematol Oncol Clin N Am.* 2007;21:731-7.
62. Lupien G, Amesse C, Bissonnette D, Lacroix S. Canadian Hemophilia Society. Glanzmann Thrombasthenia. In: *An Inherited Bleeding Disorder.* Montreal: The Society; 2001.
63. Hoffman M, Monroe DM. A cell-based model of hemostasis. *Thromb Haemost.* 2001;85:958-65.
64. College of American Pathologist Practice Guidelines. Practice parameters for the use of fresh frozen plasma, cryoprecipitate and platelets. *JAMA* 271:777, 1994.
65. Veldman A, Hoffman M, Ehrenforth S. New insights into the coagulation system and implications for new therapeutic options with recombinant factor VIIa. *Curr Med Chem;* 10: 797-811. 2003.
66. Shapiro AD, Gilchrist GS, Hoots WK, Cooper HA, Gastineau DA. Prospective, randomised trial of two doses of rFVIIa (NovoSeven) in haemophilia patients with inhibitors undergoing surgery. *Thromb Haemost;* 80: 773-778. 1998.
67. Wilcox DA, White GC. Gene therapy for platelet disorders: studies with Glanzmann's thrombasthenia. *J Thromb Haemost. Summary;* 1: 2300-2311. 2003.
68. Lanza F: Bernard- Soulier Syndrome (Hemorrhagic platelet dysfunction), *Orphanet Journal of Rare Diseases,* 2006; 1: 46-52.
69. Bello A: Fisiopatología y Trastornos de la Coagulación, *Pediatría Integral,* 2008; 12(5): 469-483.
70. Canche A, Garza V, Rodríguez F: El valor de la agregometría en el diagnóstico diferencial de alteraciones plaquetarias, *Acta Médica Grupo Angeles.* 2010; 8(1): 25-32.
71. Parra I: El laboratorio en el diagnóstico de las alteraciones congénitas de las plaquetas: síndrome de Bernard-Soulier, *Medicina Universitaria.* 2006;8(31):105-10.