



**REPÚBLICA BOLIVARIANA DE VENEZUELA
UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS**



**TIEMPO DE PROTROMBINA Y CÁLCULO DEL INR (RAZÓN
INTERNACIONAL NORMALIZADA) EN PACIENTES BAJO
TRATAMIENTO ANTICOAGULANTE CON WARFARINA SÓDICA CON
EL USO DE DOS TROMBOPLASTINAS**

Trabajo presentado como requisito para optar al grado de Licenciado en
Bioanálisis

Autora:

Márquez Muñoz, Lizber Carolina.

Tutor:

Prof. Carlos Mendoza Gaviria

Cotutor:

Prof. Hildebrando Romero

Mérida, febrero 2020

DEDICATORIA

A Dios todo poderoso y a la virgen santísima, por haberme regalado la vida y por permitirme cumplir esta meta.

A mis padres, Belen y Adolfo, por ser ejemplo de constancia, superación, carácter, darme su amor y apoyo incondicional, e inculcarme los valores para ser quien soy y cumplir esta meta; este triunfo es de ustedes, espero hacerlos sentir muy orgullosos. Los amo.

A mi hermana, Angélica, gracias por tu apoyo, cariño, amistad y por siempre estar presente. Te quiero mucho.

A mis sobrinos, Isabela y Beyder, por llenarme de amor y alegría, espero que esto sea un ejemplo para uds.

A mis abuelos, Martin, Paulina y Jovina, quienes me acompañan en espíritu y están siempre en mi corazón. Les dedico esta dicha.

A Gerardo y a mis amigos gracias por recorrer conmigo este camino y hacerlo mucho más alegre.

A mis demás familiares, quienes de una manera u otra siempre me apoyaron.

AGRADECIMIENTO

A Dios todo poderoso y a la virgen santísima por iluminarme y guiarme siempre durante este largo camino, permitirme culminar esta etapa con éxito y ser partícipe de todos mis logros y alegrías.

A la ilustre Universidad de Los Andes, por abrirme sus puertas y ser cuna de mi proceso formativo y desarrollo académico.

A mis padres y a mi hermana, por su apoyo y amor incondicional.

A mi tutor, Prof. Carlos Mendoza Gaviria, por depositar su confianza en mí para sacar adelante este trabajo de grado. Gracias por su tiempo, sus valiosos conocimientos, comprensión y ayuda.

A la licenciada Ivonne Durán, por permitirme realizar el trabajo experimental en su laboratorio y su ayuda desinteresada.

A todos ustedes, infinitas gracias.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I. EL PROBLEMA	4
Planteamiento del Problema	4
Justificación e importancia de la investigación	7
Objetivos de la investigación	8
<i>Objetivo general</i>	8
<i>Objetivos específicos</i>	8
Alcances de la investigación	8
Limitaciones de la investigación	9
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	10
Trabajos previos	10
Antecedentes históricos	14
Bases teóricas	18
<i>Hemostasia</i>	18
<i>Tiempo de protrombina</i>	25
Fundamento	26
Materiales	26
Interpretación de resultados	27
Interferencias	29
Recomendaciones	29
Equipos	30
<i>Razón internacional normalizada</i>	30
Ventajas para utilizar la RIN	32
Medicamentos que afectan al TP/RIN	32
<i>Anticoagulación oral con warfarina</i>	33
Mecanismo de acción	33
Rango terapéutico y seguimiento (control)	35

Sistema de hipótesis	36
Operacionalización de variables	36
Definición de términos	37
<i>Cumarínicos</i>	37
<i>Fibrinógeno</i>	37
<i>Otros Factores de la coagulación</i>	38
<i>Factor XII</i>	39
<i>Protrombina</i>	39
<i>Vía común</i>	40
<i>Vía extrínseca</i>	40
<i>Vía intrínseca</i>	40
<i>Zimógeno</i>	40
CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO	41
Tipo de investigación	41
Diseño de la investigación	41
Población y muestra	41
<i>Criterios de inclusión</i>	42
<i>Criterios de exclusión</i>	42
Técnica e instrumento de recolección de datos	43
Procedimientos o metodología	43
Procedimiento para la venopunción periférica	43
Preparación de las muestras	44
Procedimiento para la determinación del tiempo de protrombina	44
Diseño de análisis	45
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	46
Resultados	46
Discusión	52
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	53

Conclusiones	53
Recomendaciones	54
REFERENCIAS DOCUMENTALES	55
ANEXOS	58

www.bdigital.ula.ve

ÍNDICE DE FIGURAS

N°		Pág.
1.	Representación esquemática de la cascada de coagulación	22

www.bdigital.ula.ve

ÍNDICE DE TABLAS

N°	Pág.
1. TP y RIN obtenidos utilizando tromboplastina de cerebro de conejo	46
2. TP y RIN obtenidos utilizando tromboplastina de placenta humana	47
3. Distribución del género	48
4. Estadísticos descriptivos de la variable edad	48
5. Efectos adversos a la warfarina	48
6. Indicación de anticoagulación	49
7. Otro tratamiento farmacológico concomitante	50
8. Prueba t de student para una muestra	50
9. Comparación del TP	51
10. Comparación de la RIN	51

www.bdigital.ula.ve



**UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
LABORATORIO CLÍNICO EL BUHO
LINEA DE INVESTIGACION: HEMATOLOGÍA**



**TIEMPO DE PROTROMBINA Y CÁLCULO DEL INR (RAZÓN
INTERNACIONAL NORMALIZADA) EN PACIENTES BAJO
TRATAMIENTO ANTICOAGULANTE CON WARFARINA SÓDICA CON
EL USO DE DOS TROMBOPLASTINAS**
Trabajo de Grado

Autor:
Márquez Muñoz, Lizber Carolina
Tutor:
Prof. Carlos Mendoza Gaviria
Cotutor:
Prof. Hildebrando Romero

RESUMEN

El seguimiento de la terapia anticoagulante con Cumarínicos como la warfarina sódica se realiza a través de la determinación del tiempo de protrombina expresado en razón internacional normalizada (RIN o INR), ya que es la única forma que permite comparar valores entre laboratorios en este tipo de pacientes. La precisión del cálculo de la RIN implica el uso de una tromboplastina con un índice de sensibilidad internacional (ISI) cercano a 1,0. El objetivo de esta investigación fue comparar el tiempo de protrombina y el cálculo de la razón internacional normalizada en pacientes bajo tratamiento anticoagulante con warfarina sódica con el uso de dos tromboplastinas distintas. El trabajo consistió en un estudio comparativo de tipo experimental donde se incluyeron 11 pacientes bajo tratamiento anticoagulante con warfarina sódica, se compararon los valores de TP y RIN utilizado tromboplastina de cerebro de conejo (ISI 1,02) y tromboplastina de placenta humana (ISI 1,01). Para la evaluación de las diferencias se utilizó el programa SPSS versión 15, expresando los resultados en tablas. No existen diferencias significativas entre el TP y RIN calculado utilizando la tromboplastina de cerebro de conejo (ISI 1,02) y el obtenido mediante el uso de la tromboplastina de placenta humana (ISI 1,01), llevando a cabo el procedimiento manual. Las dosis inadecuadas de warfarina sódica son el reflejo de la falta de seguimiento por parte de los pacientes, debido a la poca asistencia a la consulta de cardiología, y falta de controles periódicos de TP/RIN, resultando en su mayoría, en eventos hemorrágicos.

Palabras claves: TP, RIN, ISI, tromboplastina, anticoagulante.

INTRODUCCIÓN

La hemostasia es un proceso caracterizado por mecanismos biológicos interdependientes cuya finalidad es prevenir la extravasación sanguínea espontánea, evitar la hemorragia excesiva en los vasos lesionados y mantener la fluidez de la sangre circulante. Los mecanismos de la hemostasia dependen de cuatro factores: a) pared vascular; b) función plaquetaria; c) coagulación sanguínea, y d) fibrinólisis.

El mantenimiento de la hemostasia normal supone el correcto funcionamiento de estos cuatro factores, de forma que la alteración de uno solo de ellos es siempre causa de patología.

El tiempo de protrombina (TP) es una prueba que evalúa la vía extrínseca de la coagulación y es sensible para detectar alteraciones en los factores plasmáticos II, V, VII y X. El TP es un ensayo de laboratorio que evalúa el tiempo que tarda en coagular una muestra de plasma, luego de añadir tromboplastina, que es un reactivo que aporta el factor tisular y fosfolípidos, y adicionar calcio. Puede prolongarse en enfermedades hepáticas y es una prueba que se utiliza para el control del rango terapéutico de pacientes anticoagulados con cumarínicos. Para el control de la anticoagulación es necesario que el resultado sea independiente del reactivo y de los equipos que se utilicen. Para ello los resultados se expresan usando la razón internacional normalizada (RIN, o en inglés international normalized ratio, INR) que es la relación del TP de un paciente objeto del estudio respecto al control, elevado a un valor denominado índice de sensibilidad internacional (ISI) que es propio de cada tromboplastina.

El tratamiento anticoagulante es una indicación frecuente en clínica, tanto en el área médica como en la quirúrgica. Las razones son extensas, siendo algunas de ellas, profilaxis para enfermedad tromboembólica, fibrilación auricular, cirugías y tratamiento de patologías como síndromes de hipercoagulabilidad, síndrome antifosfolípidos, entre otros. La warfarina sódica es un medicamento que actúa como anticoagulante. “Anti” significa “contra” y “coagulante” se refiere a la coagulación de la sangre. Un anticoagulante ayuda a evitar que se formen coágulos en la sangre. Evita la generación de trombina al inhibir los factores de la coagulación dependientes de la vitamina K. En presencia de warfarina, los hepatocitos son incapaces de usar la vitamina K para carboxilar los residuos de ácido glutámico de los factores II, VII, IX y X, y de los inhibidores naturales de la coagulación, proteínas C y S, que también son vitamina K dependientes.

La justificación de esta investigación radica en que el TP es la prueba analítica de elección para la vigilancia de la terapéutica anticoagulante oral con warfarina sódica. Para determinar la dosis individual requerida del fármaco se practica el TP antes del tratamiento para obtener un valor basal y luego periódicamente, hasta que se alcance el rango terapéutico de anticoagulación. Con la finalidad de eliminar las variaciones intra e inter laboratorio, la razón del TP debe expresarse usando la RIN (INR). Este procedimiento es recomendado para estandarizar la prueba y el tratamiento, en pacientes anticoagulados.

Este proyecto de investigación ha sido estructurado en cinco capítulos: el capítulo I, denominado el problema, contiene los siguientes elementos: planteamiento del problema, justificación e importancia, objetivos, alcances y limitaciones de la investigación. El capítulo II, llamado marco teórico, abarca: trabajos previos, antecedentes históricos, bases teóricas, sistema de hipótesis, operacionalización del evento de estudio y definición de términos. El capítulo III, intitulado marco metodológico comprende los siguientes puntos: tipo de investigación, diseño de investigación, población y muestra, técnica e instrumento de recolección de datos, procedimientos

de la investigación, diseño de análisis y aspectos administrativos. El capítulo IV comprende los resultados, análisis y discusiones que se obtuvieron durante el desarrollo de esta investigación. El capítulo V donde se plantean conclusiones y recomendaciones de la investigación. Por último, se encuentran las referencias documentales, las cuales sustentan la investigación. Se adjuntan los anexos tales como la carta de consentimiento informado para la toma de muestra, el cuestionario aplicado y el respaldo estadístico.

El estudio se realizó con la finalidad de establecer la diferencia entre el TP, el cálculo de la RIN en pacientes bajo tratamiento anticoagulante con warfarina sódica con el uso de dos tromboplastinas distintas, en el Laboratorio Clínico El Búho, en el Centro Profesional El Búho, desde enero de 2019 hasta enero de 2020.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

Planteamiento del Problema

El tiempo de protrombina (TP) es una prueba de detección importante para la evaluación de laboratorio de los pacientes con deficiencias hereditarias o adquiridas en las vías extrínseca y común de la cascada de la coagulación, y para la vigilancia de la eficiencia de la terapéutica anticoagulante oral (McKenzie, 2000). La prueba consiste en medir el tiempo de coagulación de un plasma citratado en presencia de tromboplastina (mezcla de factor tisular con fosfolípidos) y calcio. El TP es sensible para detectar alteraciones en los niveles de tres factores vitamina K-dependientes (FII, FVII, FX) y del FV (Martinuzzo, 2017).

El tratamiento con anticoagulantes cumarínicos (como la warfarina) debe ser supervisado estrechamente, ya que la eficacia y la seguridad de estos fármacos dependen del mantenimiento del efecto anticoagulante dentro de un margen terapéutico definido. El seguimiento se realiza a través de la determinación del TP, expresado en el parámetro RIN en cuyo cálculo, la determinación incluye el tiempo (expresado en segundos) que tarda en coagular la muestra del paciente, del control normal del laboratorio y el ISI del reactivo utilizado (Nieto, E. y col., 2015).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasia, recomiendan el uso de la razón internacional normalizada (RIN) o índice normalizado internacional (INR, por sus siglas en inglés) para informar los resultados del TP cuando se realiza la vigilancia de la terapéutica anticoagulante oral prolongada (McKenzie, 2000). Surgió por la necesidad de estandarizar los diferentes tipos de tromboplastinas, independientemente de su origen, de las cuales dependen las cifras del verdadero estado de anticoagulación que desea el facultativo, fundamentalmente en los pacientes con riesgo de eventos tromboembólicos (Mulet, D y col., 2012). El INR es el cociente (razón, fracción o quebrado) entre el TP del paciente y un TP control, y esa fracción elevada a un exponente denominado índice de sensibilidad internacional (ISI), que puede ser igual o distinto para cada tromboplastina.

Cuando se forman trombos en la vasculatura del organismo, se pueden producir eventos isquémicos incapacitantes o letales para el individuo. El uso de anticoagulantes orales, disminuye la posibilidad de que estos fenómenos aparezcan. Sin embargo, la mayor complicación de su uso es el sangrado. Por lo que un régimen anticoagulante óptimo es aquel que evita la trombosis sin que lleve al paciente a un estado hemorrágico (Sansores-Garcia y col., 1993). El único camino para alcanzar este balance es ajustar la dosis anticoagulante, de acuerdo con los resultados obtenidos de pruebas de laboratorio, realizadas regularmente en la sangre del paciente (Gaudens, 1984).

El modelo teórico que respaldó esta investigación fue el relacionado con la teoría de la coagulación de Morawitz en la que se propuso que la coagulación de la sangre ocurre 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 en fibrina gracias a la acción de la trombina (Izaguirre, 2006).

Años más tarde, Armando Quick desarrolló un método de laboratorio para reproducir dicha teoría, en esa prueba añadía extractos de tejidos al

plasma en presencia de calcio para convertir la protrombina a trombina y ésta a su vez transformar el fibrinógeno en fibrina. 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 o TP). La nueva prueba permitió entender la función de la vitamina K y las enfermedades hemorrágicas en que ésta se encuentra disminuida, así como vigilar el tratamiento con los anticoagulantes orales cumarínicos. Hasta la actualidad, el TP es la prueba de coagulación que se realiza con más frecuencia (Izaguirre, 2006).

Según la OMS, las enfermedades cardiovasculares (ECV) constituyen la principal causa de muerte en todo el mundo. Cada año mueren más personas por ECV, que por cualquier otra causa. Se estima que en el 2030 morirán cerca de 23,3 millones de personas por esta causa. Es así que, la importancia en la prevención y control es muy considerable, no sólo por la elevada mortalidad, sino también porque supone un importante motivo de ingresos hospitalarios, además de la incapacidad funcional temporal que produce en la persona, disminuyendo la calidad de vida y el rendimiento laboral de quienes las padecen (OMS, 2014). Las y los afectados con este tipo de alteraciones tienden a usar tratamiento con anticoagulantes cumarínicos como la warfarina; tratamiento farmacológico que debe seguirse con la realización del TP, cálculo de la RIN, con la finalidad de controlar el rango terapéutico de anticoagulación y minimizar el riesgo de eventos trombóticos y de efectos secundarios como los eventos hemorrágicos (Rodack, 2005).

Una vez descrito el problema de investigación se planteó el siguiente enunciado holopráxico:

¿Qué diferencia hay entre el tiempo de protrombina (TP) y el cálculo de la razón internacional normalizada (RIN o INR) en pacientes bajo tratamiento anticoagulante con warfarina sódica con el uso de dos

tromboplastinas distintas en el Laboratorio Clínico El Búho en el Centro Profesional El Búho, desde enero de 2019 hasta enero de 2020?

Justificación e importancia de la investigación

El TP es el método elegido para hacer el seguimiento de pacientes bajo tratamiento anticoagulante por vía oral con cumarínicos (warfarina) expresándolo en RIN (INR), debido a que es la única forma de expresión que asegura un valor muy comparable entre laboratorios en este tipo de pacientes. El interés dado a los pacientes anticoagulados se deriva de las complicaciones severas que se pueden presentar al no tener exámenes confiables que permitan hacer el seguimiento de una manera oportuna al tratamiento, así como su evolución y pronóstico.

Se conoce que estos fármacos son muy eficaces para su uso en la prevención de eventos tromboembólicos, pero se reconoce que tienen una serie de propiedades farmacológicas desfavorables tales como una estrecha ventana terapéutica (con el peligro de híper o hipodosificación), gran variabilidad de acción entre distintas personas y en el mismo individuo por lo que se requiere de la realización de recuentes controles.

Resulta relevante realizar el estudio con el uso de dos tromboplastinas diferentes, ya que, se pueden obtener valores divergentes de TP y de RIN para una misma muestra de plasma y esta situación puede conducir a la medicación inadecuada y riesgosa de los anticoagulantes, debido a que la diferencia observada podría inducir al clínico a hacer un cambio de la dosis de warfarina, sin que sea absolutamente necesario.

Objetivos de la investigación

Objetivo general

Comparar el tiempo de protrombina y el cálculo de la razón internacional normalizada en pacientes bajo tratamiento anticoagulante con warfarina sódica con el uso de dos tromboplastinas distintas en el Laboratorio Clínico El Búho en el Centro Profesional El Búho, desde enero de 2019 hasta enero 2020.

Objetivos específicos

- Caracterizar la técnica para la realización manual de la prueba de laboratorio denominada tiempo de protrombina utilizando tromboplastina de cerebro de conejo y tromboplastina de placenta humana.
- Diagnosticar la presencia de alteraciones en los resultados de la razón internacional normalizada en pacientes anticoagulados con warfarina sódica.
- Diferenciar los resultados obtenidos mediante el uso de dos tromboplastinas comerciales diferentes.

Alcances de la investigación

El alcance de una investigación se relaciona con la profundidad del conocimiento sobre el fenómeno de estudio. Establece la visión que posee el investigador para lograr los objetivos. Del alcance depende la estrategia

de investigación, así, el diseño, los procedimientos y otros componentes del proceso serán distintos en estudios con alcances descriptivo, exploratorio y correlacional (Hernández y col., 2010).

El alcance de esta investigación, es decir, la profundidad del logro a obtenerse es comparar el tiempo de protrombina y el cálculo de la razón internacional normalizada en pacientes bajo tratamiento anticoagulante con warfarina sódica, con el uso de dos tromboplastinas diferentes.

Limitaciones de la Investigación

Las limitaciones se ven representadas por la escasa disposición de material bibliográfico como artículos e investigaciones originales que sustenten este trabajo de investigación.

Disponibilidad de pacientes para la toma de muestras ya que, en su mayoría los mismos son personas de la tercera edad quienes padecen de diferentes patologías y su traslado hacia el laboratorio implicaba dificultad.

Escasa diversidad de reactivos (tromboplastinas) en el estado Mérida.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

Trabajos previos

La investigación realizada por Castañeda-Travieso, M y col., en el 2017 intitulada “Comparación de los tiempos de protrombina (INR) utilizando tromboplastinas de diferentes índices de sensibilidad internacional” tuvo como objetivo general la comparación de los tiempos de protrombina y la RIN, utilizando tromboplastinas con diferentes índices de sensibilidad internacional. El trabajo consistió en un estudio descriptivo, de corte transversal en 210 pacientes de la consulta de cardiología del HCQ Hermanos Ameijeiras, La Habana, Cuba, que estaban siendo tratados con warfarina como anticoagulante oral y 217 pacientes sin anticoagulación, ni otro tipo de medicamento, que asistieron para un chequeo anual de rutina en el laboratorio clínico entre el 28 de septiembre del 2016 y el 31 de enero del 2017. Se compararon los resultados del INR obtenido por punción venosa utilizando tromboplastinas ISI (1.20) con los obtenidos con muestra capilar ISI (1.0). Los resultados arrojaron que la distribución por sexo de los pacientes fue similar, al igual que las edades, las cuales oscilaron entre 47-66 años en los pacientes anticoagulados y de 42-61 en los pacientes que no recibieron tratamiento. La gran mayoría de los pacientes tenían como indicación la presencia de prótesis valvular, arritmias y fibrilación auricular y había un escaso número de pacientes con enfermedad tromboembólica venosa.

Se observó una alta correlación ($r: 0,97$) entre la RIN (ISI=1,0) y RIN con tromboplastina de cerebro de conejo ISI=1,2 para los pacientes anticoagulados y el coeficiente de correlación intraclase (concordancia) fue de 0,98 con un intervalo de confianza de 0,98 a 0,99; estadísticamente significativo ($p < 0,001$).

Los autores concluyeron que no existieron diferencias significativas en la RIN venosa usando reactivo de tromboplastina de cerebro de conejo (ISI=1,2) en el coagulómetro automatizado (CPM), con la RIN obtenida por muestra capilar usando la tromboplastina recombinante (ISI=1,0) en el equipo CoaguChek® (Roche). Recomendaron utilizar la tromboplastina recombinante con un ISI=1 (CoaguChek®) para realizar la determinación de la RIN.

Se presenta una relación significativa con el presente trabajo de investigación por la comparación entre el uso de dos tromboplastinas diferentes para la realización del tiempo de protrombina y el cálculo de la RIN en pacientes anticoagulados.

Posteriormente, en el trabajo realizado por Nieto, E. y col., en el 2015, titulado “Calidad de las Tromboplastinas utilizadas en el Laboratorio Clínico y en los equipos POCT y su impacto en la dosificación de acenocumarol en pacientes con terapia anticoagulante oral”, tuvo como objetivo comparar la RIN con dos tromboplastinas de diferente ISI, con la RIN obtenida por muestra capilar usando tromboplastina recombinante. Reclutaron 100 pacientes con tratamiento anticoagulante oral entre el 28 de abril del 2014 y el 7 de mayo de 2014. Para la evaluación de las diferencias se efectuó análisis de correlación (Pearson) y coeficiente de regresión. Los resultados indicaron que hubo una alta correlación ($r: 0,96$) entre la RIN capilar (ISI=1,0) y la RIN con tromboplastina de cerebro de conejo ISI=1,3. También hubo una alta correlación ($r: 0,95$) entre la RIN capilar (ISI=1,0) y la RIN venosa con tromboplastina recombinante humana ISI=1,0. Indicaron

que para pacientes cuya RIN pre-establecida es alta, se observaron importantes discrepancias entre los distintos métodos cuando la RIN fue mayor o igual a 3,0. Estos pacientes, cuyo riesgo tromboembólico era alto, que requirieron RIN cercanas o superiores a 3 presentaron mayor riesgo hemorrágico inherente al tratamiento. Por ello, el manejo de la terapia anticoagulante oral en estos casos requirió ajustes más precisos de dosis. Ello implicó que en un mismo paciente el valor de la RIN informado a partir del uso de uno u otro reactivo, pudo llevar a decisiones terapéuticas significativamente diferentes.

Los autores concluyeron que las discrepancias en los valores de la RIN observadas en pacientes que requerían mantener un nivel alto de RIN pueden conducir a un aumento del riesgo hemorrágico cuando la RIN se determina en muestras venosas y con tromboplastina proveniente de cerebro de conejo.

Existe relación entre la investigación realizada por Nieto, E. y col., y el presente proyecto de investigación en cuanto al estudio comparativo de cálculo de la RIN en pacientes anticoagulados con el uso de diferentes tromboplastinas.

Burneo, J. en el 2015, en el estudio intitulado “Tiempo de protrombina y razón normalizada internacional como pruebas control en personas con problemas cardiovasculares que son atendidos en el Hospital Isidro Ayora de la Ciudad de Loja” tuvo como objetivo la determinación del tiempo de protrombina y la razón internacional normalizada como pruebas control en personas con problemas cardiovasculares que fueron atendidos en el Hospital Isidro Ayora de la ciudad de Loja, Ecuador. La investigación fue de corte transversal y descriptivo, considerando 60 usuarios que acudieron a dicho laboratorio, durante el periodo marzo-junio de 2015; analizadas y procesadas mediante la detección de luz dispersa en el equipo Rayto Rt-2204C.

Realizados los análisis se obtuvieron los siguientes resultados: del total analizado, el 100 % de usuarios que no tomaban anticoagulantes, presentó valores normales de TP; al contrario de los que si tomaban anticoagulantes con tan solo el 20 % de valores normales; mientras que el 80 % exhibió valores disminuidos. En lo que respecta a la RIN, todos los pacientes que no tomaban anticoagulantes exhibieron valores normales (100 %); mientras que los que sí tomaban anticoagulantes, solamente el 20 % presentó valores dentro del rango de referencia; habiendo el 80 % que presentó valores disminuidos y con riesgo de formación de trombos o coágulos. Finalmente, en la relación tiempo de protrombina y razón normalizada internacional, se observó una correlación entre los valores disminuidos de los usuarios que tomaban anticoagulantes. Es decir, valores disminuidos de TP desembocaron por ende en valores disminuidos de RIN, existiendo la relación de estos dos análisis complementarios para controlar la terapia con anticoagulantes. Concluyendo así que las pruebas de laboratorio TP y RIN, son de particular importancia en pacientes con problemas cardiovasculares, pues a partir de éstas se toman varias decisiones, ya sean diagnósticas, terapéuticas y/o de seguimiento. Ahí radica la trascendencia para el seguimiento del tratamiento en usuarios con problemas cardiovasculares y que toman anticoagulantes cumarínicos,

fundamental para su prevención, evitando que ocurra un posible coágulo o una hemorragia.

Guarda concordancia con la presente investigación en la ejecución de TP y cálculo de la RIN haciendo resaltar su importancia en el control de la terapia anticoagulante.

Antecedentes Históricos

El estudio de la coagulación de la sangre se puede remontar hacia 400 años a.C., cuando Hipócrates, el padre de la medicina, observó que la sangre de un soldado herido se coagulaba cuando se enfriaba. Él también notó que el sangrado de una pequeña herida se detenía cuando una cicatriz cubría la sangre; cuando la cicatriz era removida, el sangrado comenzaba otra vez. Aristóteles notó que la sangre se coagulaba cuando se eliminaba del cuerpo y que el enfriamiento de la sangre iniciaba un deterioro que terminaba en la coagulación. Esto se conocía como la teoría del enfriamiento o coagulación sanguínea (Ciesla, 2014).

No fue sino hasta 1627 que Mercurialis observó coágulos en las venas a temperatura corporal. En 1770, Hewson desafió la teoría del enfriamiento, creyendo que el aire y la falta de movimiento eran importantes en la iniciación de la coagulación. Hewson describió el proceso de coagulación y demostró que el coágulo viene de la porción líquida de la sangre –la linfa coagulable– y no de las células, refutando la teoría de la coagulación (Ciesla, 2014).

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, quien logró integrar una teoría unitaria que ha resultado clásica a partir de su difusión en 1905. Morawitz propuso que la coagulación de la sangre ocurre 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 en fibrina, gracias a la acción de la trombina: protrombina + calcio + trombocinasa (factor tisular) = trombina; fibrinógeno + trombocinasa (factor tisular) = fibrina (Izaguirre-Ávila, 2006).

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 (protrombina). 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 trombocinasa (factor tisular) dentro del plasma. La trombocinasa, a su vez, forma trombina, junto con trombógeno y sales de calcio (Izaguirre, 2006).

Posteriormente el belga Pierre Norf manifestó en 1908 que la coagulación del plasma se debía a tres sustancias: el fibrinógeno, y el trombógeno (originados en el hígado) y a la trombozima (originada en el endotelio, ganglios linfáticos y leucocitos), mencionó que sólo eran ayudantes en el proceso de coagulación sanguínea y propuso agruparlos a todos bajo el nombre de "agentes coagulantes de tercer orden" (Owen et al, 2001).

A mediados de la década de 1930, Armand Quick desarrolló un método de laboratorio para reproducir la teoría de la coagulación de Morawitz. En esa prueba añadía extractos de tejidos al plasma en presencia de calcio para convertir la protrombina a trombina y ésta a su vez transformar el fibrinógeno en fibrina. El trabajo de Quick fue rechazado en ocho ocasiones por no coincidir con la teoría de Howell, hasta 1936. 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 o TP). 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 TP es la prueba de coagulación que se realiza con más frecuencia (Izaguirre, 2006).

El propio Quick observó algunas discrepancias en los resultados del TP: 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 plasma de pacientes tratados con cumarínicos (Izaguirre-Ávila, 2006).

En 1948 Quick y Owren casi simultáneamente descubrieron el factor V que aceleraba la coagulación. Al año siguiente (1949) André de Vries propuso la existencia de un factor que mejoraba la conversión de protrombina en el suero, que fue descrito en forma independiente el mismo año por Benjamin Alexander 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 (Izaguirre, 2006).

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, así que se hizo necesario establecer una nomenclatura que dejara claro cuántas sustancias existían. La idea vino de Irving Wright quien hizo la propuesta en 1954. El mismo año se estableció el Comité Internacional para Nomenclatura de los Factores de Coagulación bajo la presidencia del

propio Wright. La primera reunión ocurrió en Oxford en 1955 y después de 3 años de deliberaciones, se designaron los factores I a IX que fueron aprobados en la reunión de Roma en 1958. Estos dieron mayor objetividad a la terminología, independientemente de los diversos idiomas y del reclamo sobre la prioridad de los descubrimientos por los autores. Los factores X a XIII fueron agregados entre 1959 y 1963 (Izaguirre, 2006).

En cuanto al mecanismo fisiológico por el que operan los factores de la coagulación, Fischer, desde 1935, describió el proceso como una reacción en cadena que podría perpetuarse de manera infinita (Fisher, 1935). Una reacción en cadena perpetuada después de que se pierde el contacto con el factor tisular, permite 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 (Izaguirre, 2001).

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 activa 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 Robert MacFarlane (1907-1987) en Inglaterra y Oscar Ratnoff en colaboración con Davie en los Estados Unidos. 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 (Izaguirre, 2006).

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 (Brummel-Ziedins, et al. 2004). Éste modelo no es válido para explicar los mecanismos que llevan a la hemostasia in vivo; no le otorga importancia a cada uno de los complejos con actividad pro-coagulante; no

considera la interacción del sistema con las células que participan en la coagulación; no considera las interacciones entre las dos vías de la coagulación y falla en explicar con detalle los aspectos fisiopatológicos del sistema hemostático. En otras palabras, el modelo no permite explicar los distintos grados de tendencia a la hemorragia que resultan de deficiencias de los diferentes componentes de las dos vías (Gómez, R y cols. 2011).

En un intento por abordar el fenómeno de la hemostasia desde otra perspectiva, se han desarrollado modelos experimentales y conceptuales para probar las hipótesis en un modelo bioquímico *ex vivo*, y permitir un mejor entendimiento de cómo el sistema funciona *in vivo*. El más logrado de éstos, es el modelo celular de la coagulación desarrollado por Hoffman y col. en el 2003. El aspecto más importante del modelo, es considerar a las células como elementos esenciales en el proceso de formación del coágulo y demostrar que las superficies celulares poseen características especiales capaces de dirigir el proceso hemostático. El nuevo modelo, también hace énfasis en que la coagulación ocurre en tres fases, que ocurren simultáneamente en diferentes superficies celulares: iniciación, amplificación y propagación (Gómez, R y col. 2011).

Bases teóricas

Hemostasia

La sangre normalmente circula dentro de un sistema cerrado de vasos. Una lesión traumática, como la incisión en un dedo, secciona vasos sanguíneos y resulta en hemorragia. Para minimizar la pérdida de la sangre, normalmente se movilizan plaquetas inertes y las proteínas disueltas en el plasma para formar la masa insoluble o la barrera estructural que ocluye los vasos lesionados. La barrera se limita al sitio de lesión de manera tal que la circulación se mantiene en los vasos de otras partes del cuerpo. Los mismos elementos proporcionan un sistema continuo de vigilancia que en circunstancias normales evita el escape de plasma y de células al interior de los tejidos. El proceso de formación de la barrera contra la pérdida de

sangre y para la limitación en el sitio lesionado es la hemostasia. La masa de la barrera se conoce como tapón hemostático, coágulo sanguíneo o trombo. Se forma por el proceso de la coagulación de la sangre (Mckensie, 2000).

La hemostasia se produce en etapas llamadas hemostasia primaria, hemostasia secundaria y fibrinólisis. Durante la hemostasia primaria, las plaquetas interactúan con ellas mismas y con los vasos lesionados. Como resultado de esta interacción se forma un conjunto de plaquetas y en este punto el tapón hemostático se conoce como tapón hemostático primario, el cual detiene temporalmente la hemorragia, pero es frágil y fácilmente se desprende de la pared vascular, por lo que subsecuentemente se depositan tiras de fibrina sobre el tapón de plaquetas primario para hacerlo fuerte y estable y permitir la reparación de la herida sin pérdida adicional de sangre. La generación de fibrina constituye la etapa de hemostasia secundaria. La fibrina se forma mediante una serie de reacciones bioquímicas complejas de algunas proteínas del plasma llamadas factores de la coagulación, al vincularse con los vasos sanguíneos lesionados y con el tapón de plaquetas. El tapón, o coágulo, se llama entonces tapón hemostático secundario. Después que la herida se ha reparado el vaso sanguíneo, componentes del sistema hemostático desdoblan y retiran el coágulo en la etapa de la fibrinólisis (Mckensie, 2000).

El sistema vascular consta de tres tipos de vasos sanguíneos: arterias, venas y capilares. Las arterias llevan la sangre del corazón a los capilares. Las venas retornan la sangre de los capilares al corazón. Los vasos en los cuales se produce la hemostasia son las arterias más pequeñas (arteriolas) y las venas más pequeñas (vénulas) (Mckensie, 2000).

Después de la lesión, los vasos dañados inician la hemostasia. La primera respuesta del vaso a la lesión es la vasoconstricción o estrechamiento de la luz de las arteriolas para reducir al mínimo el flujo de sangre al área lesionada y el escape de ésta en el sitio de la herida. La vasoconstricción se produce inmediatamente y dura un tiempo corto. En parte esto es causado por factores neurogénicos y parcialmente por varias

moléculas reguladoras las cuales interactúan con los receptores en la superficie de la pared celular de los vasos sanguíneos, como la serotonina y el tromboxano A₂, ambos productos de la activación plaquetaria, y a la endotelina producida por las células endoteliales. Estas sustancias pueden ayudar a la prolongación de la vasoconstricción. En contraste, las células endoteliales sintetizan y secretan una prostaglandina, la PGI₂, llamada también prostaciclina, la cual contrarresta la constricción y causa vasodilatación de las arteriolas. La vasodilatación produce enrojecimiento de la piel y aumento de la permeabilidad vascular.

Las plaquetas son un componente principal del sistema hemostático, las cuales según un frotis de sangre periférica teñido con coloraciones tipo Romanowsky, aparecen como estructuras granulosas azulosas pequeñas. Circulan como partículas celulares anucleadas de forma discoide, con un tamaño aproximado de 2 a 4 micras. La concentración normal de las plaquetas en la sangre es de 150.000 a 440.000/mL (Mckensie, 2000).

Las plaquetas están implicadas en varios aspectos de la hemostasis:

- Vigilancia de la continuidad de los vasos sanguíneos.
- Formación del tapón hemostático primario.
- Formación del tapón hemostático secundario.
- Retracción del coágulo definitivo.
- Reparación del tejido lesionado.

Las plaquetas tienen forma de disco biconvexo y son inertes en el ambiente del endotelio normal. La lesión de los vasos sanguíneos produce un cambio en el ambiente normal, con exposición del colágeno subendotelial. Las plaquetas responden al cambio activándose. El tapón hemostático primario resulta de la transformación de las plaquetas de inactivas a activas. El tapón se forma en una secuencia específica de pasos y modificaciones estructurales y funcionales de las plaquetas, conocidos como adhesión, activación, agregación y secreción (Mckensie, 2000).

El tapón de plaquetas primario es relativamente inestable y se desagrega con facilidad, el mismo se estabiliza y ancla firmemente a la pared vascular por el proceso de hemostasia secundaria, la cual se inicia con la formación de fibrina alrededor de las plaquetas agregadas. La masa completa de plaquetas-fibrina se contrae entonces a un coágulo más firme, más cohesivo. La contracción se llama retracción del coágulo. Las plaquetas participan tanto en la formación de la fibrina como en la retracción del coágulo (Mckensie, 2000).

Se produce hemostasia secundaria cuando las proteínas plasmáticas solubles, llamadas factores de coagulación, interactúan en una serie de reacciones enzimáticas complejas para convertir a la proteína soluble fibrinógeno en fibrina insoluble. Las reacciones se realizan de manera de cascada, mediante las cuales los factores de coagulación inactivos y circulantes (zimógenos) se transforman en enzimas activas mediante un proceso de activación secuencial. Cada zimógeno actúa primero como un sustrato y luego como una enzima. El sustrato final en la cascada es el fibrinógeno y cuando recibe la acción de la enzima final, trombina, se convierte en fibrina. La activación de la cascada se inicia cuando los zimógenos se exponen a las capas subendoteliales de los vasos. Todas las reacciones enzimáticas, excepto la última (la formación de fibrina a partir del fibrinógeno), requieren un fosfolípido de superficie proporcionado por las membranas de las plaquetas activadas y por los vasos lesionados. El requerimiento de una superficie es importante ya que limita el lugar de las reacciones y de la formación de la fibrina al sitio de la lesión.

La coagulación es descrita por dos vías diferentes: la vía intrínseca y la vía extrínseca. La vía intrínseca inicia la coagulación, con el daño vascular y la interacción de superficies cargadas negativamente con tres proteínas plasmáticas: Factor XII, precalicreina (PK) y quininógeno de alto peso molecular (CAPM). La vía extrínseca que consiste de Factor VII y factor tisular (FT), el último de origen extrínseco a la circulación sanguínea. Ambas vías de la coagulación podrían activar al Factor X, que junto con el

Factor V convertirían a la protrombina en trombina. Estos conceptos fueron muy importantes; sin embargo, varios grupos han reconocido que los sistemas intrínseco y extrínseco de la coagulación no pueden funcionar de manera independiente uno del otro, ya que todos los factores de coagulación se interrelacionan entre sí (Martinez-Murillo, 2006).

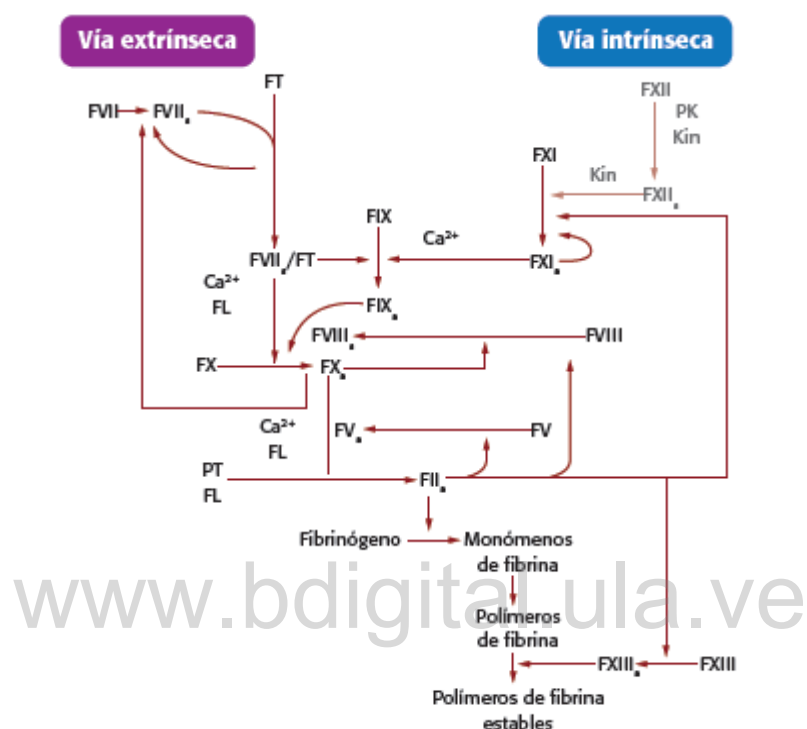


Figura 1. Representación esquemática de la cascada de coagulación (Moraleda, 2017). FL: fosfolípidos; FT: factor tisular; Kin: cininogeno de alto peso molecular; PK: precalicreina; PT: protrombina.

Aunque la clásica cascada ha sido útil para la interpretación de las pruebas clínicas de coagulación más empleadas (TP y TTPA), no es fiel ni exacta desde el punto de vista fisiológico (Moraleda, 2017).

Actualmente, se conoce un nuevo modelo de coagulación llamado teoría celular de la coagulación el cual se divide en tres fases: fase de iniciación, fase de amplificación y fase de propagación, donde, se reconoce que la generación o exposición del FT en el sitio de la lesión, y su interacción con el factor VII, es el episodio fisiológico primario en el inicio de la coagulación,

y que componentes de la vía intrínseca (por ejemplo, factores VIII, IX y XI) son responsables de la amplificación del proceso solo después de que una pequeña cantidad de trombina ha sido generada (Moraleda, 2017).

Así, la fase de iniciación se produce cuando la vasculatura es dañada y las células endoteliales como las células musculares lisas, los fibroblastos, monocitos, células mononucleares son expuestas al flujo sanguíneo, lo que provoca la liberación de micropartículas que expresan factor tisular inactivo en sus superficies. Este FT se une al factor VII, actuando como cofactor y activándolo, formando el complejo FT/FVIIa que activará directamente al factor X e indirectamente al Factor IX, lo que permite que el factor Xa se una al Factor Va para formar un complejo protrombinasa en las superficies fosfolípicas de células productoras de FT que convierte la protrombina (FII) en trombina en cantidades no suficientes para la formación de fibrina. Proteasas como el inhibidor de factor tisular (TFPI) y la inhibidora de antitrombina, limitan la difusión (Espitia-Huerter, 2015).

Posteriormente, la trombina acumulada, activa las plaquetas adheridas al colágeno subendotelial por un receptor específico (la glicoproteína la /IIa) y el factor de von Willebrand, que forma uniones entre las fibras de colágeno y las plaquetas para activarlas. La trombina activa el FV, amplificando la actividad protrombinasa y convirtiendo el FVIII en activado, el cual funciona como cofactor del factor IXa para mantener la generación del factor Xa, así mismo la trombina convierte factor XI en factor XIa. La plaqueta contiene en estos momentos factores activados además de factor de von Willebrand en su superficie. En esta fase conocida como fase de amplificación, se lleva a cabo la activación de los anticoagulantes naturales: TFPI (inhibidor del complejo TF/FVIIa), antitrombina y proteína C, importantes en la regulación procoagulante (Espitia-Huerter, 2015).

En las superficies celulares ricas en fosfolípidos procoagulantes, principalmente en las plaquetas, el factor XIa activa al factor IX, al unirse éste al factor VIIIa (FIXa + FVIIIa + Ca) cataliza la conversión del factor X

en factor Xa, formando el complejo FXa/FVa + Ca, que cataliza la conversión de trombina suficiente para la formación de fibrina (cascada de trombina). La trombina activa al FXIII o factor estabilizador de fibrina, responsable de la formación de enlaces covalentes entre las cadenas de fibrina para la formación del coágulo y del inhibidor fibrinolítico (TAFI), que tiene un efecto positivo en la estabilidad del coágulo y una resistencia a la plasmina que limita la lisis (Espitia-Huerter, 2015).

Inmediatamente durante la formación del coágulo, se pone en marcha un mecanismo para su lisis y la restauración de la estructura del vaso (Moraleda, 2017). La activación de la fibrinólisis produce una enzima proteolítica, la plasmina, que tiene la capacidad de digerir (por proteólisis) tanto a la fibrina como al fibrinógeno, así como a otros factores de la coagulación. Además, la digestión de la fibrina por la plasmina produce fragmentos llamados productos de la degradación de la fibrina (FDP), entre ellos el dímero D (dos dominios D de la fibrina, estabilizados por el factor XIIIa). que interfieren con la formación de fibrina catalizada por trombina. La plasmina deriva de su zimógeno precursor, el plasminogeno, mediante los activadores del plasminógeno (Mckensie, 2000).

Existen dos tipos fundamentales de activadores del plasminógeno:

Activador tisular del plasminógeno (tPA): es una enzima liberada por las células endoteliales bajo estimulación de varias sustancias, entre las que se encuentra la trombina. Circula en plasma como un complejo con su inhibidor natural, PAI-1, y es eliminado rápidamente por el hígado. De manera análoga al complejo protrombínico, la generación de plasmina por el tPA tiene lugar, de forma óptima sobre la superficie del coágulo de fibrina, lo que aumenta su eficiencia catalítica en cientos de veces, mientras que es escasa cuando el tPA está circulante.

Urocinasa: es el segundo activador fisiológico del plasminógeno. Está presente en altas concentraciones en la orina. Mientras que el tPA es el

responsable de iniciar la fibrinólisis intravascular, la urocinasa es el principal activador de la fibrinólisis en el compartimento extravascular. La urocinasa es liberada por las células epiteliales de diversos conductos, que deben mantenerse libres de fibrina, como los túbulos renales o los conductos de las glándulas salivales y mamarias. La urocinasa se une a un receptor de membrana y así se activa al unirse al plasminógeno en la superficie celular para generar plasmina (Moraleda, 2017).

Los componentes fundamentales del sistema fibrinolítico son: el plasminógeno, activadores del plasminógeno, plasmina, fibrina, productos de la degradación de la fibrina y del fibrinógeno e inhibidores de los activadores del plasminógeno y de la plasmina (Mckensie, 2000).

Tiempo de Protrombina (TP)

Es una prueba de detección importante, sensible para la evaluación en el laboratorio de los pacientes con deficiencias hereditarias o adquiridas en las vías extrínseca o común de la cascada de la coagulación y para la vigilancia de la eficacia de la terapia anticoagulante oral. La adición del plasma escaso en plaquetas (plasma pobre en plaquetas o PPP), precalentado a 37°C, al reactivo de protrombina-calcio precalentado activa la cascada de la coagulación a través de la formación del complejo tromboplastina (FT/factor VII). Se requiere tiempo para la formación del coágulo y éste se puede detectar por métodos ópticos o electromecánicos, con el uso de dispositivos manuales, semiautomáticos o automáticos (coagulómetros automatizados). Los resultados del TP se registran al medio segundo más cercano. El informe de los resultados debe incluir el resultado del paciente, el intervalo de referencia y la media del intervalo de referencia. Cada laboratorio debe establecer su propio intervalo de referencia (McKenzie, 2000)

La Organización Mundial de la Salud (OMS) y el International Committee on Thrombosis and Haemostasis, recomendó el uso del Índice Normalizado Internacional (INR, por sus siglas en inglés; RIN en español por razón internacional normalizada) para informar los resultados del TP cuando se realiza la vigilancia terapéutica anticoagulante oral prolongada. Como los resultados de la RIN son independientes de los reactivos y métodos usados del TP, estos resultados permiten realizar una mejor evaluación (McKenzie, 2000).

Fundamento

El proceso de medición del TP en una etapa única, mide el tiempo de coagulación del plasma después de la adición del factor tisular + fosfolípidos (tromboplastina) + calcio. La recalcificación del plasma en presencia del factor tisular genera el factor X activado. A su vez, el factor X activa el paso de la protrombina a trombina que convierte el fibrinógeno en un coágulo de fibrina insoluble (Ávila, G. 2014).

El plasma anticoagulado con citrato de sodio (plasma citratado), en presencia de tromboplastina (factor hístico y una mezcla de fosfolípidos) y cloruro cálcico se coagula a una velocidad dependiente de las actividades de la protrombina (factor II), los factores V, VII, X y el fibrinógeno, siempre que no existan inhibidores de la reacción.

Materiales:

1. Tromboplastina cálcica. Para los estudios de carácter diagnóstico es conveniente utilizar una tromboplastina simple con buena sensibilidad, es decir con un índice de sensibilidad internacional (ISI)

cercano a 1, similar a la tromboplastina de origen humano. Para el control del tratamiento anticoagulante oral, esta recomendación se hace imperativa, existiendo tromboplastinas simples o combinadas (aportan fibrinógeno y factor V) de muy alta sensibilidad.

2. Plasma citratado del paciente.
3. Plasma citratado control, preparado en el laboratorio (mezcla de 5 a 10, o más plasmas de donantes sanos) o bien comercial.
4. Equipo e instrumentos para la determinación manual (Vives, J. y Aguilar, J. 2006).

Expresión de resultados: control de tratamiento anticoagulante oral.

Los resultados se expresan en forma de razón internacional normalizada (RIN). El cálculo de la RIN requiere que se conozca la sensibilidad de la tromboplastina (dato aportado por el fabricante), expresada como ISI. Conocida ésta, el cálculo se realiza mediante la fórmula:

$$RIN = (TP \text{ del paciente} / TP \text{ del control})^{ISI}$$

Esta forma de expresión permite comparar resultados para el control de tratamiento anticoagulante oral realizados en diferentes laboratorios con reactivos de distinta sensibilidad, y debe reservarse para dicho control, no siendo correcto su uso en los estudios de carácter diagnóstico (Vives, J. y Aguilar, J. 2006).

Interpretación de resultados

El TP es sensible para detectar déficit de los factores de la coagulación de la vía extrínseca. La prueba es muy sensible a cualquier trastorno en la polimerización de la fibrina. Se altera poco en presencia de heparina, excepto a elevadas concentraciones, por contener las tromboplastinas comerciales neutralizantes de la misma. Se consideran valores normales

los cocientes iguales o menores de 1,2; aunque, como para otros parámetros, cada laboratorio deberá establecer su margen de referencia (Vives, J. y Aguilar, J. 2006).

El TP se prolonga en:

- Deficiencia de vitamina K. (Disminuye la síntesis de los factores de la coagulación II, VII, IX, X la proteína C y S)
- Hepatopatías (Debido a la trombocitopenia y alteraciones funcionales plaquetarias, síntesis anormal de fibrinógeno, coagulación, hiperfibrinólisis y defectos en la producción de los factores dependientes de la vitamina K).
- Tratamiento con anticoagulantes por encima de la dosis terapéutica.
- Obstrucción biliar (deficiencia de absorción de la vitamina K). Intoxicación por salicilatos (se produce hipoprotrombinemia, inhibición de los factores de la coagulación V, VII, X y disfunción plaquetaria)
- Hipervitaminosis E. (La vitamina E tiene efecto antiagregante y antagoniza los factores de coagulación dependientes de la vitamina K).
- Coagulación intravascular diseminada (La hiperfibrinólisis y el consumo de factores, favorecen la aparición de hemorragias).
- Hipofibrinogenemia (deficiencia del factor I).
- Lupus eritematoso sistémico (autoanticuerpos contra los factores II, V, VII, VIII y IX, XI, XIII, factor de Von Willebrand u otras glucoproteínas de membrana) (Henry, J. 1993).

El TP se acorta en:

- Hiperfunción ovárica.
- Enteritis / ileítis regional (aumento de los niveles del factor VIII, fibrinógeno, plaquetas, Factor V y un descenso en los niveles de antitrombina III) (Baños y col, 2003).

Pueden causar alteraciones del TP:

- Dieta: ingestión excesiva de vegetales verdes y con hojas (aumenta la absorción de vitamina K, que acelera la coagulación sanguínea).
- El alcoholismo y la ingestión excesiva de alcohol elevan el tiempo de protrombina (Son causa de hepatopatías).
- La diarrea y el vómito reducen el TP por deshidratación (Disminución del volumen sanguíneo circulante)
- Calidad de la punción venosa: el TP se acorta si la técnica es relativamente traumática.
- Influencia de los medicamentos prescritos (por ejemplo: la isoniazida, fenotiazidas, cefalosporinas, colestiramina, fenilbutazona, metrodinazol, hipoglucemiantes orales, feniotina) (Por su hepatotoxicidad). (Muñoz, 2000).

Recomendaciones:

- Conservar los viales que contienen la tromboplastina, sin abrir, entre 2°C y 8°C (temperatura de refrigeración).
- Reconstituir la tromboplastina con agua destilada/desionizada sin conservantes, conforme a las instrucciones indicadas en la etiqueta del vial o del fabricante, girar lentamente y dejar reposar el recipiente durante 15 minutos a temperatura ambiente.
- No invertir el frasco, ni agitarlo vigorosamente.
- Puede utilizarse líquido de reconstitución, que está disponible, si se duda de la calidad del agua.
- Tras la reconstitución, el reactivo puede conservarse bien tapado durante 12 días a una temperatura entre 2°C y 8°C, y durante 8 horas a 37°C. Almacenar entre 2°C y 8°C cuando no se use. No congelar.
- Mezclar con cuidado antes de usar el reactivo.
- Utilizar un dispositivo, como un agitador magnético, para mantener una suspensión adecuada durante el uso.
- La ausencia de vacío en los frascos puede provocar resultados erróneos, valores de control de calidad fuera de los intervalos

establecidos, las variaciones del color del producto son indicativos del deterioro del mismo.

- Sin embargo, un funcionamiento deficiente también puede deberse a otros factores de la prueba.

Equipos para la realización del TP.

1. Baño de María a $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$.
2. Una buena fuente de luz cerca del baño de María, a fin de poder detectar con exactitud la formación del coágulo.
3. Cronómetros.
4. Pipetas automatizadas (ya sean de volumen fijo o variable) capaces de dispensar 0,1 mL y 0,2 mL con exactitud y precisión.
5. Para las pruebas de coagulación, tubos de ensayo de cristal siliconizado limpios (7,5 cm X 1,2 cm). Siempre que sea posible, se evitará la reutilización de todo tipo de consumibles de vidrio, a menos que pueda probarse que los resultados de los ensayos no se ven afectados por el proceso utilizado. No deben reutilizarse los recipientes plásticos que se hayan usado en los equipos de análisis de coagulación.

Razón Internacional Normalizada (RIN)

La razón internacional normalizada (RIN), término adoptado por la OMS, para expresar el resultado de la determinación del TP en todo el mundo. Es el cociente entre el tiempo de protrombina del paciente y el tiempo de protrombina de la muestra control, y esa fracción elevada al exponente denominado índice de sensibilidad internacional (ISI), que puede ser igual o distinto para cada tromboplastina. El ISI es el valor representativo de la capacidad de respuesta de una tromboplastina específica ante la reducción

de los factores de coagulación que dependen de la vitamina K; así una tromboplastina más sensible, produce una activación de los factores de coagulación más lenta y da como resultado una mayor prolongación del TP; por el contrario, una tromboplastina menos sensible, activa más rápidamente los factores de coagulación residuales y da como resultado un TP menos prolongado. Las variaciones en el ISI de las diferentes tromboplastinas se deben a las diferencias en la manufactura, fuente y método de preparación, por ello, no se puedan comparar los cocientes que se determinan a partir de las diversas preparaciones de tromboplastina, y los valores de la RIN son más exactos, se logran cuando se utilizan tromboplastinas altamente sensitivas con valores de ISI cercanos a 1,0 (Esper, R. 2009).

La RIN se obtiene así:

$$INR = P/C^{ISI}$$

Dónde: P/C = razón simple del tiempo de protrombina del paciente dividido entre el TP control.

La RIN sirve para saber si la warfarina está funcionando o se debe ajustar la dosis del anticoagulante. Las personas que no están tomando warfarina tendrían que tener un resultado de aproximadamente 1. Si está tomando warfarina, el resultado de la RIN tendría que ser entre 2 y 3 (rango terapéutico de anticoagulación). Si la RIN es muy alta, la sangre está tomando mucho tiempo en coagularse. Esto aumenta las probabilidades de un evento hemorrágico. Si la RIN es muy baja, la sangre se está coagulando muy rápidamente y esto aumenta las probabilidades de un evento trombótico (Esper, R. 2009).

Los pacientes que tienen indicación de anticoagulación oral con warfarina debido a las siguientes condiciones cardiovasculares, deben realizarse los controles de TP/RIN para asegurarse que el tratamiento funciona correctamente y que el TP está aumentando de manera

adecuada, ya que están tomando anticoagulantes para conseguir el efecto deseado:

- Prótesis valvulares mecánicas.
- Fibrilación auricular.
- Trombosis venosa profunda y embolia pulmonar.
- Infarto de miocardio.
- Accidente cerebrovascular isquémico agudo.

Cuando se inicia la anticoagulación con warfarina se recomienda realizar control diario por cinco días, luego dos veces a la semana por 1 a 2 semanas, luego 1 vez semanal por 1 a 2 meses dependiendo de la estabilidad de la RIN, el cual, si permanece estable, permite continuar el control 1 a 2 veces por mes (Alulima, 2013).

Ventajas para utilizar la RIN

- La RIN se puede comparar, es decir, los valores de medición de la coagulación se pueden comparar, independientemente de que las tromboplastinas sean diferentes.
- La RIN permite una estandarización de la intensidad de coagulación para ciertos grupos de indicación, independientemente de la tromboplastina y el aparato utilizados.
- La RIN permite un mejor control terapéutico del paciente. El valor RIN se encuentra en proporción inversa al valor Quick (Esper, R. 2009).

Medicamentos que afectan al TP/RIN

Sustancias como el alcohol pueden afectar el TP/RIN. Algunos antibióticos, la aspirina y la cimetidina pueden aumentar el TP/RIN. Los barbitúricos, los

anticonceptivos orales y el tratamiento hormonal sustitutivo, y los suplementos de vitamina K, ya sea en forma de complejos multivitamínicos o suplementos nutricionales líquidos pueden disminuir el TP. Algunos alimentos como: el hígado de cerdo o de ternera, el té verde, el brócoli, los garbanzos, la col, los grelos (brócoli rabe), y productos derivados de las semillas de soya, contienen grandes cantidades de vitamina K y pueden alterar los resultados del TP. Debe tenerse la certeza de que el médico conoce todos los fármacos que se están tomando a la vez que informarle de si se ha ingerido recientemente algún alimento de los mencionados anteriormente, con la finalidad de que se interpreten correctamente los resultados del TP/RIN (Esper, R. 2009).

Anticoagulación oral con warfarina

La warfarina es uno de los anticoagulantes orales disponible en nuestro medio, relativamente poco costoso, ampliamente utilizado para la terapia a largo plazo por lo predecible de su inicio y duración de acción, su excelente biodisponibilidad, que tiene gran similitud química con la vitamina K (Alulima, 2013).

Mecanismo de acción

Los factores dependientes de la vitamina K (II, VII, IX, X, proteínas C y S), constan de una estructura proteica y glucoproteica, que es fisiológicamente inactiva desde el punto de vista hemostático normal y se pueden sintetizar en ausencia de vitamina K. Para que estos factores se tornen fisiológicamente activos se requiere la carboxilación de ciertos residuos de ácido glutámico presentes en su estructura, formándose así los ácidos gamma carboxiglutámico (Gla). Estos Gla (factores ya carboxilados) le confieren a la molécula la capacidad de ligarse a cationes bivalentes como el calcio y a fosfolípidos de la membrana que son los activadores normales;

ya que al parecer es indispensable la unión del calcio a estos factores para que ellos se unan a los fosfolípidos de la membrana (Ortiz, 2012).

Para que la carboxilación ribosomal se dé, es indispensable la presencia de vitamina K, en ausencia de ésta se pueden sintetizar dichos factores en su parte estructural, los cuales son antigénicamente activos; pero fisiológicamente inactivos y además pueden actuar como inhibidores de varias reacciones de la coagulación (Alulima, 2013).

El mecanismo de acción de la warfarina se basa en su similitud química con la vitamina K, a la cual antagoniza en forma competitiva, ya que ambas (vit. K y warfarina) interactúan con el mismo sitio sobre estos factores dependientes de vitamina K; así la warfarina desplaza la vitamina K impidiendo la carboxilación de dichos factores, igual sucede en ausencia de vitamina K. Es por esto que el efecto de la warfarina se hace sobre los factores susceptibles a ser inhibidos en su carboxilación y la manifestación de este efecto depende de la vida media de los ya carboxilados, o sea del tiempo que estos demoran en metabolizarse, explicando así la demora entre el momento en que se logra la máxima concentración plasmática del medicamento y su efecto anticoagulante máximo (Ortiz, 2012).

Como el factor VII tiene la vida media más corta, es el responsable de la prolongación del TP en las primeras 24 horas, pero el efecto anticoagulante pico se demora 72 a 96 horas, por la vida media más larga de los otros factores, que es aproximadamente 20 horas para el IX, 40 horas para el X, y 60 horas para el II (Ortiz, 2012).

La warfarina no actúa en la circulación, sino que lo hace en el hígado y actúa únicamente in vivo, por lo cual se le llama anticoagulante indirecto, a diferencia de la heparina que actúa in vivo e in vitro, por lo cual se le denomina anticoagulante directo. El efecto de la warfarina no es inmediato y no tiene acción sobre un trombo ya formado, pero evita su extensión y la formación de nuevos trombos (Alulima, 2013).

Rango terapéutico y seguimiento (control)

El tiempo de protrombina (TP) es el método más común utilizado para el control de la anticoagulación oral con warfarina y refleja la dosis dada 36 a 48 horas antes. Este TP es sensible a la disminución de tres de los cuatro factores procoagulantes dependientes de vitamina K. estos son: II, VII y X y para que se prolongue el TP sus niveles plasmáticos deben ser inferiores de lo normal.

El TP básicamente se realiza añadiendo calcio y tromboplastina al plasma citratado del paciente. La tromboplastina es una sustancia proteico-fosfolipídica extraída de tejidos que contienen el factor tisular y el fosfolípido necesario para promover la activación del factor X por el factor VII. Esta tromboplastina tiene diferentes orígenes: cerebro, pulmón, placenta, lo cual hace que la sensibilidad a las variaciones en los factores II, VII y X también sea diferente, de tal forma que para un mismo nivel de anticoagulación una tromboplastina poco sensible prolonga poco el TP, mientras que otras más sensibles lo prolonga más, esto hace que los resultados del TP no se puedan universalizar, en otras palabras un mismo TP con diferentes tromboplastinas refleja diferentes grados de anticoagulación, o sea que a menor sensibilidad de la tromboplastina mayor debe ser el grado de anticoagulación para obtener un rango terapéutico dado y lo contrario para una tromboplastina de mayor sensibilidad (Alulima, 2013).

Con la finalidad de superar todo lo anterior se creó la razón internacional normalizada (RIN) (en inglés, international normalized ratio o INR), para así poder estandarizar el reporte del TP.

Sistema de hipótesis

Existirá una diferencia entre el tiempo de protrombina y el cálculo de la RIN en pacientes anticoagulados con warfarina sódica con el uso de dos tromboplastinas diferentes.

Operacionalización de variables

Evento de estudio	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensiones	Indicadores
Tiempo de Protrombina (TP)	Es una prueba de laboratorio que es sensible para detectar defectos de los factores de la coagulación de las vías extrínseca y común (Ciesla, 2014)	El TP usa plasma anticoagulado con citrato. Después de la adición de una concentración óptima de calcio y un exceso de tromboplastina, la formación del coagulo se mide en segundos (Ciesla, 2014)	Déficit en la coagulación y riesgo a hemorragia. No se presenta ninguna alteración.	Valores de referencia: 12 a 14 segundos o no más de +/- 2 segundos en relación con el valor del TP de la muestra control (Ruiz-Bedolla, E. 2007)

RIN	Razón internacional normalizada, término adoptado por la OMS, para expresar el resultado de la determinación del tiempo de protrombina en todo el mundo. (Esper, 2009)	La RIN es el cociente entre el tiempo de protrombina del paciente y el TP control, y esa fracción elevada a un exponente (ISI) que puede ser igual o distinto para cada tromboplastina. (Esper, 2009)	Falla en la terapéutica anticoagulante Buen control anticoagulante	El rango normal para una persona sana es desde 0,9 hasta 1,3. En personas con tratamiento con base en warfarina sería de 2 a 3. (Mulet D., 2012)
------------	--	---	---	--

Definición de términos

www.bdigital.ula.ve

Cumarínicos

Cualquier anticoagulante derivado de la cumarina (4-hidroxycumarina). También reciben el nombre de anti-vitamina K y anticoagulantes orales no directos. Actúan impidiendo que la vitamina K intervenga en el hígado en la gammacarboxilación de los residuos terminales de ácido glutámico de la protrombina, de los factores VII, IX y X y de las proteínas C y S (Clínica Universidad de Navarra, 2015).

Fibrinógeno

Denominado Factor I de la coagulación, es una proteína sintetizada por el hígado principalmente y se libera a la circulación cuando se necesita, conjuntamente con otros factores de la coagulación que van ayuda a

detener el sangrado al favorecer la formación de coágulos de sangre. El valor plasmático normal es de 200 a 400 mg/dL.

Cuando se produce una lesión de un tejido o de una pared vascular, se inicia el proceso de hemostasia, en donde las plaquetas son las primeras en actuar ya que se adhieren y se agregan en el sitio afectado, iniciándose la cascada de la coagulación, a medida que ésta va completándose, el fibrinógeno soluble se transforma en hebras de fibrina insolubles, que se entrecruzan para formar una malla o red, ésta se adhiere junto a las plaquetas para formar un coágulo estable. Esta barrera impide pérdidas de sangre adicionales y permanece en el sitio lesionado hasta que la zona ha cicatrizado (Lab Test Online, 2014).

Otros factores de la coagulación

Son proteínas plasmáticas, procoagulantes que están clasificadas en varios grupos dependiendo de su procedencia y sus características químicas. Se identifican con números romanos, asignados en el orden en el que fueron descubiertos. A algunos factores plasmáticos no se les ha asignado un número romano, como son la precalicreína, calicreína, y el quininógeno de alto peso molecular. Los fosfolípidos plaquetarios no están incluidos en esta clasificación. Todas las proteínas y componentes celulares involucrados en el proceso de coagulación circulan en el plasma de forma inactiva en condiciones fisiológicas normales. Durante el proceso de la coagulación serán activados y entonces se representan con el sufijo “a” después del número romano. Se pueden englobar en varios grupos:

- Factores dependientes de la vitamina K: La síntesis de los factores de la coagulación se realiza, principalmente, en el hígado y en el endotelio vascular. Requieren vitamina K para su correcta funcionalidad, aquí se incluyen los factores II, VII, IX y X, así como las dos principales proteínas inhibitoras de la coagulación: proteínas C y S. También son conocidos como el grupo de la protrombina.

- Grupo del fibrinógeno: incluye a los factores I, V, VIII y XIII. También se conoce como el grupo consumible ya que se consumen durante la formación de la fibrina y, por lo tanto, están ausentes en el suero.
- Grupo de contacto: incluye a los factores XI y XII, así como a las proteínas del plasma, precalicreina, y a los cininógenos de alto peso molecular (CAPM). Están implicados en la activación inicial de la vía intrínseca de la coagulación y requieren del contacto con una superficie cargada negativamente para su actividad (Mckenzie, 2000).

Factor XII

Es un factor que forma parte de la vía intrínseca de inicio de la coagulación, es el que primero se activa producto de una injuria vascular. Cuando el factor XII se activa por entrar en contacto con el colágeno o un cristal, su configuración molecular cambia y se convierte en factor XII activado (F XIIa), y actuará sobre el factor XI activándolo, generando trombina una proteína que convierte el fibrinógeno en fibrina, que atrapa a las plaquetas y ayuda a mantener un coágulo en el lugar.

El factor XII se valora en la prueba tiempo de tromboplastina parcial (TTP), que evalúa la vía intrínseca de la coagulación (Almagro, 2015).

Protrombina

Es el factor II de la coagulación, que es una proteína plasmática producida en el hígado. Los factores de la coagulación se miden en forma indirecta y en especial este factor mediante el TP, el cual evalúa la función de las vías extrínseca y común de la coagulación dada por los factores VII, V, X, II, I y XIII, mediante la adición de tromboplastina al plasma, se evalúa el tiempo de formación del coágulo expresado en segundos sobre el tiempo que toma el plasma normal (Soza, 2015).

Vía común

Una de las tres vías de interacción en la cascada de coagulación. La vía común incluye tres etapas limitantes de la velocidad: 1) activación del factor X por las vías intrínseca y extrínseca, 2) conversión de la protrombina en trombina por el factor X activado y 3) escisión del fibrinógeno a fibrina (Mckenzie, 2000).

Vía extrínseca

Una de las tres vías interactuantes en la cascada de la coagulación. La vía extrínseca se inicia cuando el factor tisular entra en contacto con la sangre y forma un complejo con el factor VII. Este complejo activa al factor X. El término “extrínseca” se usa debido a que la vía requiere un factor extrínseco a la sangre, el factor tisular (Mckenzie, 2000).

Vía intrínseca

La vía intrínseca se inicia por la exposición de los factores de contacto de la coagulación (factores XII, XI, precalicreina y cininogeno de alto peso molecular) al tejido subendotelial vascular. Activa al factor X. El término “intrínseco” se usa debido a que los factores intrínsecos están contenidos dentro de la sangre (Mckenzie, 2000).

Zimógeno

Precursor inactivo que puede convertirse a la variante activa por una enzima, un álcali o un ácido. Los factores de la coagulación son zimógenos. También se denominan proenzimas (Mckenzie, 2000).

III CAPÍTULO

MARCO METODOLÓGICO

Tipo de Investigación

El tipo de investigación que se realizó para llevar a cabo este proyecto de investigación es de tipo comparativo.

La investigación comparativa es aquella cuyo propósito consiste en precisar diferencias y semejanzas entre dos o más grupos con respecto a un mismo evento (Hurtado, J. 2010).

Diseño de investigación

El diseño de la investigación es de tipo experimental, donde, según Fidias, 2012, es un proceso que consiste en someter a un objeto o grupo de individuos, a determinadas condiciones, estímulos o tratamiento (variable independiente), para observar los efectos o reacciones que se producen (variable dependiente).

Población y Muestra

La población o universo se refiere al conjunto para el cual serán válidas las conclusiones que se obtengan: a los elementos o unidades (personas, instituciones o cosas) involucradas en la investigación (Morles, 1994). El

universo es representado por los pacientes anticoagulados con warfarina sódica que acuden a diferentes consultas de cardiología en el Estado Mérida.

La muestra es un "subconjunto representativo de un universo o población" (Morles, 1994).

La muestra fue de once (11) pacientes bajo tratamiento anticoagulante con warfarina sódica, quienes acuden a diferentes consultas de cardiología, los cuales dieron su autorización para realizar los estudios correspondientes mediante una carta de consentimiento (anexo 1). El tipo de muestreo es probabilístico, que, según Fidias, 2012, es un proceso en el que se conoce la probabilidad que tiene cada elemento de integrar la muestra, siendo distribuidas de manera al azar simple considerando criterios de inclusión y exclusión.

Criterios de Inclusión

- Pacientes controlados en diferentes consultas de cardiología en la ciudad de Mérida que se encuentren bajo tratamiento anticoagulante crónico (más de tres semanas) con warfarina sódica.
- Ayuno de 12 horas.

Criterios de Exclusión

- Muestras sanguíneas hemolizadas.
- Muestras en cantidad insuficiente para el análisis.

Además, todos los participantes fueron informados de los objetivos y alcances de la investigación y manifestaron por escrito su voluntad de participar en el estudio, firmando un consentimiento informado. Cada participante fue entrevistado a fin de obtener datos socio-epidemiológicos de interés para el estudio.

Técnica e Instrumento de recolección de datos

Según Fidias, 2012, se entenderá por técnica de investigación, el procedimiento o forma particular de obtener datos o información. Dicha técnica se llevará a cabo mediante un instrumento de recolección de datos que es cualquier recurso, dispositivo o formato (en papel o digital), que se utiliza para obtener, registrar o almacenar información.

En función a lo anteriormente descrito, la encuesta fue la técnica de recolección de datos, para realizarla se utilizó como instrumento un cuestionario el cual fue completado de manera personal e individualmente, las preguntas fueron dirigidas a la historia clínica del paciente y el uso de warfarina sódica prescrito por el médico tratante (ver anexo 2).

Procedimiento o metodología

Procedimiento para venopunción

La mayoría de las veces, la sangre se extrae de una vena localizada en la parte interior del codo o el dorso de la mano.

1. Para la obtención de la sangre se utilizaron jeringas de extracción de un solo uso.
2. Se desinfectó el sitio anatómico para hacer la venoclisis, con alcohol isopropílico al 70 %.
3. Alrededor del brazo se colocó un torniquete para ejercer una pequeña presión y así se viera facilitada la punción, su función es permitir que las venas se tornen palpables al producir éstasis venoso.

4. Luego, se introdujo una aguja en la vena, siempre con el bisel hacia arriba en un ángulo aproximado de 45 grados.
5. Se recolectaron 3 mL de sangre en un tubo con citrato de sodio (anticoagulante).
6. Se procedió a retirar el torniquete del brazo. Se retiró la aguja y se presionó el sitio de la venoclisis con un fragmento de gaza, durante 10 a 15 minutos, hasta verificar la hemostasia.
7. Posteriormente, se indicó a los pacientes doblar el brazo por algunos minutos, para permitir que continuara la hemostasia y detener el sangrado.

Preparación de muestras

Durante la extracción de sangre, se llenó el tubo hasta la marca indicada a fin de que hubiera una proporción de 1 parte de anticoagulante con 9 partes de sangre venosa, se centrifugó a 4.000 rpm, durante 5 minutos, a temperatura ambiente. El plasma obtenido fue analizado en menos de la siguiente hora, debido a las variaciones que se podían presentar ya que, son pacientes que reciben terapia anticoagulante. El mismo no estuvo más de 10 minutos a temperatura ambiente.

Procedimiento para la determinación de Tiempo de Protrombina (TP)

Reactivo A: viales conteniendo tromboplastina de cerebro de conejo, cloruro de calcio y cloruro de sodio.

1. Se disolvió el reactivo A con 4 mL de agua destilada, se agitó y se dejó incubar por 15 minutos a temperatura ambiente.
2. Se colocó en un tubo de ensayo el plasma ya separado.
3. Se agregaron 200 μ L de reactivo A en otro tubo.
4. Posteriormente, se colocaron los tubos en el baño de María a 37°C por 3 minutos.

5. Transcurrido el tiempo se añadieron 100 μ L del plasma en el tubo que contenía el reactivo A.
6. Apenas se añadió el plasma se activó el cronómetro y se mezcló suavemente durante 5 segundos, sin sacarlo del baño de María.
7. Pasados los 5 segundos se sacó el tubo del baño de María y se observó a contraluz, mientras se seguía mezclando.
8. Se detuvo el cronómetro al observarse la formación de la malla de fibrina.

A continuación, se repitió el procedimiento utilizando el Reactivo B: viales conteniendo tromboplastina de placenta humana combinada con cloruro de calcio y estabilizadores.

Diseño de Análisis

En un proceso de investigación existen dos tipos de enfoques: cualitativo y cuantitativo (Hurtado, 2010), La metodología cuantitativa se basa en métodos de recolección de datos con medición numérica y análisis matemáticos. Esta investigación tiene un enfoque cuantitativo ya que, se basa en la medición de parámetros hematológicos como lo son el tiempo de protrombina y cálculo de la RIN, los cuales se presentarán a través de tablas y por medio de ellas se podrá comprobar si existen diferencias notables entre las tromboplastinas utilizadas.

Además, se utilizaron las herramientas de la estadística descriptiva para la caracterización de la muestra, además de intervalos de confianza al 95 %. Las pruebas se realizaron utilizando el programa SPSS© versión 15 para su análisis, los resultados incluyen la captura, depuración y validación de la base de datos. Los datos obtenidos se capturaron en el programa.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Resultados

En la tabla 1 se reflejan los valores de los tiempos de protrombina y el cálculo de la RIN obtenidos mediante el uso de la tromboplastina de cerebro de conejo, cuyo ISI fue de 1,02 y teniendo como TP control un valor de 12,2 segundos. Se puede observar que, de los 11 pacientes, 8 presentaron valores fuera del rango de referencia, donde, 5 obtuvieron valores prolongados y 3 valores acortados.

Tabla 1. TP y RIN obtenidos utilizando tromboplastina de cerebro de conejo.

N° de muestra	TP (segundos)	RAZÓN	RIN
1	30,00	2,45	2,50
2	65,00	5,32	5,51
3	23,20	1,90	1,92
4	29,40	2,37	2,41
5	35,62	2,90	2,98
6	22,52	1,85	1,87
7	47,10	3,90	4,00
8	40,30	3,36	3,44
9	53,70	4,40	4,53
10	18,60	1,52	1,53
11	37,60	3,10	3,17

Así mismo, en la tabla 2 se encuentran reflejados los valores de TP y el cálculo de la RIN obtenidos utilizando la tromboplastina de placenta humana, la cual tenía un ISI de 1,01 y un TP control de 15,1 segundos. En este caso, de los 11 pacientes, 6 arrojaron valores fuera del rango de referencia, 4 con TP alargados y 2 con TP acortados.

TABLA 2. TP y RIN obtenidos utilizando tromboplastina de placenta humana.

N° de muestra	TP (segundos)	RAZÓN	RIN
1	41,00	2,72	2,75
2	74,00	4,90	4,98
3	31,00	2,10	2,12
4	37,20	2,46	2,48
5	39,22	2,60	2,62
6	28,30	1,87	1,88
7	51,42	3,40	3,44
8	45,69	3,03	3,06
9	58,30	3,86	3,91
10	22,28	1,48	1,49
11	43,80	2,90	2,93

Autora: Márquez Muñoz, Lizber Carolina

El estudio estuvo conformado por once (11) pacientes, de los cuales el 54,5 % fue del género femenino, con una edad promedio de 63 años, con una variabilidad de 9 años aproximadamente, el género masculino representado por el 45,5 %, con una edad promedio de 58,6 años; con una variabilidad de 19 años. Tal como lo podemos observar en las tablas 3 y 4.

Tabla 3. Distribución del género.

Género	N	%
Femenino	6	54,5
Masculino	5	45,5
Total	11	100,0

Autora: Márquez Muñoz, Lizber Carolina.

Tabla 4. Estadísticos descriptivos de la variable edad.

Género	Media	Mediana	IC
Femenino	63,0 ± 9,25	64,0	53,29 – 72,71
Masculino	58,6 ± 19,69	57,0	34,16 – 83,04

Autora: Márquez Muñoz, Lizber Carolina.

Edad expresada como media ± desviación estándar, IC: Intervalo de confianza 95%.

De igual manera, en la siguiente tabla (tabla 5) podemos observar las respuestas que emitieron los pacientes con respecto a los eventos trombóticos y hemorrágicos, donde la mayoría en ambos géneros no presentó eventos trombóticos, mientras que, con respecto a los episodios hemorrágicos se observaron en su mayoría en el género femenino en un 66,7 %.

Tabla 5. Efectos adversos a la warfarina.

Género	¿Ud. ha presentado eventos trombóticos?				¿Ud. ha presentado eventos hemorrágicos?			
	Sí		No		Sí		No	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Femenino	1	16,7	5	83,3	4	66,7	2	33,3
Masculino	1	20,0	4	80,0	2	40,0	3	60,0

Autora: Márquez Muñoz, Lizber Carolina.

A continuación (tabla 6), se muestran las principales causas para la indicación de anticoagulación completa con warfarina sódica, observándose en su mayoría el reemplazo valvular aórtico con un 50 % en el sexo femenino y 40 % en el sexo masculino.

Tabla 6. Indicación de anticoagulación.

Indicación de la terapia anticoagulante	Femenino		Masculino	
	n	%	n	%
Arritmia cardíaca	1	16,6	2	40,0
Reemplazo vascular aórtico	3	50,0	2	40,0
Estenosis mitral	-	-	1	20,0
Fibrilación auricular	1	16,6	0	-
Síndrome antifosfolipídico	1	16,6	0	-
Total	6	100,0	5	100,0

Autora: Márquez Muñoz, Lizber Carolina.

Con respecto a la terapia farmacológica (tabla 7) empleada adicionalmente, un 50 % de las pacientes del género femenino y un 60 % del género masculino estaban bajo prescripción médica con fumarato de bisoprolol, un betabloqueante utilizado en enfermedades cardiovasculares como disritmias cardíacas, dicho medicamento no posee ninguna reacción cruzada con la warfarina sódica.

Tabla 7. Otro tratamiento farmacológico concomitante.

Medicamento concomitante	Femenino		Masculino	
	n	%	n	%
Fumarato de bisoprolol	3	50,0	3	60,0
Otros**	3	50,0	1	20,0
Ninguno	-	-	1	20,0
Total	6	100,0	5	100,0

Autora: Márquez Muñoz, Lizber Carolina.

**Carvedilol, espirolactona, enalapril, candesartan, nimodipina, atorvastatina, difenilhidantoína, clopidogrel, castaña de indias, diosmina-hesperidina, furosemida, hidroclorotiazida.

Se realizó la prueba t de student, para comparar el valor de referencia estandarizado para la RIN, que tiene un rango de 2 a 3, con la RIN calculada mediante el uso de las diferentes tromboplastinas, obteniendo que, si existen diferencias estadísticamente significativas entre este valor de referencia y los resultantes en ambos análisis, tromboplastina de cerebro de conejo (ISI 1,02) y tromboplastina de placenta humana (ISI 1,01). Dicha diferencia se relaciona proporcionalmente con lo demostrado en la tabla 5, donde, por alteración de la dosis terapéutica, se obtienen RIN fuera del rango control y, por consiguiente, el acontecimiento de un evento hemorrágico o trombótico.

Tabla 8. Prueba t de student para una muestra.

RIN	Valor de prueba = 2.5					
	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	95 % Intervalo de confianza para la diferencia	
					Inferior	Superior
ISI 1,02	1,566	10	,148	,58091	,2454	1,4072
ISI 1,01	1,282	10	,229	,37818	,2791	1,0355

Comparando los tiempos de protrombina obtenidos mediante el uso de la tromboplastina de cerebro de conejo y con los obtenidos utilizando la tromboplastina de placenta humana, se encontró que ambos resultados son muy similares, es decir, no existen diferencias comprometedoras como se observa en la tabla 11.

Tabla 9. Comparación de los tiempos de protrombina.

TP	Media	Desviación estándar	Media de error estándar
Tromboplastina de cerebro de conejo	36,64	14,21991	4,28747
Tromboplastina de placenta humana	42,92	14,54353	4,38504

Autora: Márquez Muñoz, Lizber Carolina.

Del mismo modo, al realizar el análisis del cálculo de la RIN proveniente de los tiempos de protrombina resultantes del uso de las diferentes tromboplastinas, se corroboró que los mismos no difieren unos de otros (tabla 12).

Tabla 10. Comparación de la RIN.

RIN	Media	Desviación estándar	Media de error estándar
Tromboplastina de cerebro de conejo	3,0782	1,22470	,36926
Tromboplastina de placenta humana	2,8782	,97845	,29501

Autora: Márquez Muñoz, Lizber Carolina.

Discusión

El ajuste de la terapia oral anticoagulante con warfarina sódica se ve relacionado con los valores de TP y RIN obtenidos en el laboratorio clínico, por lo tanto, es muy importante la exactitud y confiabilidad de los mismos tanto intra como inter laboratorio, tomando en cuenta que el cambio de un reactivo al momento del análisis de las muestras, puede alterar significativamente los resultados y con ello una modificación en la dosis del fármaco que contribuirían con el aumento del riesgo de fenómenos hemorrágicos y/o trombóticos.

Los resultados obtenidos mediante la determinación del tiempo de protrombina y el cálculo de la RIN, arrojaron que no existen diferencias estadísticamente significativas comparando el uso de la tromboplastina de cerebro de conejo (ISI 1,02) y la tromboplastina de placenta humana (ISI 1,01), valores similares a los obtenidos por Castañeda-Travieso, M y col. en el 2017. Esta mínima diferencia se debe a que el índice de sensibilidad estandarizado (ISI) de cada uno de los reactivos, es muy cercano a 1,0 por lo tanto, se considera óptimo.

De igual manera, en la investigación realizada por Nieto, E y col., en el año 2015 hubo una alta correlación entre la RIN obtenida mediante muestras de sangre capilar con el uso de una tromboplastina con un ISI=1,0 y la RIN con tromboplastina de cerebro de conejo (ISI=1,3). También hubo una alta correlación entre la RIN obtenida con muestras de sangre capilar y la RIN calculada con muestras de sangre venosa, con tromboplastina recombinante humana (ISI=1,0), corroborando así que no existen diferencias importantes en la RIN utilizando diferentes tromboplastinas, siempre y cuando el ISI sea cercano a 1.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

El trabajo de investigación realizado y los resultados obtenidos permiten llegar a las siguientes conclusiones:

1. No existen diferencias significativas entre el TP y RIN calculado utilizando la tromboplastina de cerebro de conejo (ISI 1,02) y el obtenido mediante el uso de la tromboplastina de placenta humana (ISI 1,01), llevando a cabo el procedimiento manual.
2. Las dosis inadecuadas de warfarina sódica son el reflejo de la falta de seguimiento por parte de los pacientes, debido a la poca asistencia a la consulta de cardiología, y a su vez controles periódicos de TP y RIN, lo cual resulta en la mayoría, en eventos hemorrágicos.

Recomendaciones

En virtud de los hallazgos, se recomienda:

1. Continuar la línea de investigación aplicándola a una población y muestra de estudio más grande, que permita lograr mayor significancia clínica.
2. Comparar el TP y RIN en pacientes bajo tratamiento anticoagulante mediante el uso de dos métodos diferentes, es decir, tanto de manera manual como automatizado.
3. Realizar la determinación de TP y RIN con tromboplastinas cuyo ISI sea lo más cercano a 1,0.
4. Concientizar a los pacientes con tratamiento anticoagulante sobre la importancia de los exámenes de laboratorio clínico que permiten controlar su evolución y que son una guía invaluable para el médico tratante, permitiendo así la dosis ideal del tratamiento anticoagulante.

Referencias Documentales

- Aguilera, R. (2010). Lo que conviene saber a todo anticoagulado sobre el INR. Disponible en: http://www.apam-malaga.org/uploads/5/6/9/3/569318/lo_que_debemos_saber_del_inr.pdf.
- Almagro, D. (2015). Teoría actual del mecanismo de coagulación sanguínea: Disponible en: http://www.sld.cu/galerias/pdf/uvs/patologiaclinica/teoria_actual_de_la_coagulacion.pdf.
- Alulima, K. (2013). *Actividad del tiempo de protrombina y el INR en pacientes con alteraciones cardíacas que acuden al laboratorio clínico del h.b.7-bi*. Universidad Nacional de Loma, Ecuador. Tesis de pre-grado.
- Ávila, G. (2014). *Determinación del error total máximo en las evaluaciones de tiempo de protrombina y tromboplastina con la aplicación de un programa de control de calidad interno en el laboratorio clínico de solca de la ciudad de Ambato*. Universidad Técnica de Ambato, Ecuador. Tesis de pre-grado.
- Baños y col. (2003). Complicaciones vasculares asociadas a la enfermedad inflamatoria intestinal. *An. Med. Interna*. 20: (2).
- Brummel-Ziedins K et al. (2004). **Blood coagulation and fibrinolysis. Wintrobe's Clinical Hematology**. USA. Lippincott Williams & Wilkins: 677-774.
- Castañeda-Travieso, M y col. (2017) "Comparación de los tiempos de protrombina (INR) utilizando tromboplastinas de diferentes índices de sensibilidad internacional. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*; 36.
- Ciesla, B. (2014). **Hematología en la práctica**. (ed 2). USA Almorca. 234-237.
- Clínica Universidad de Navarra, (2015) Cumarínicos. Disponible en: <https://www.cun.es/diccionario-medico/terminos/cumarinico>.
- Dávila, E. (2007). Warfarina y aspirina en pacientes con patología cardíaca. Disponible en: (http://www.scielo.org.bo/scielo.php?Pid=S101229662007000200004&script=sci_arttext)

- Esper. (2009). TP INR. *Revista Mexicana de Anestesiología*; 32:1-350.
- Espitia-Huerter, P. (2015). Actualidades en coagulación. *Revista mexicana de anestesiología*. 38: (1). 43-146
- Fidias, A (2012). **El proyecto de investigación**. (ed 6). Caracas. Editorial episteme.
- Gaudens., L. (1984) **Manual de Hemostasia y Coagulación sanguínea**. Caracas, Venezuela: Ediciones de la biblioteca. p119-121.
- Gómez, R y cols. (2011). Teoría celular de la coagulación: de las cascadas a las membranas celulares. *Medisur*. 9. 65-74.
- Henry, J. (1993). **Diagnóstico y Tratamiento Clínico**. (ed 9). España. MASSON-SALVAT Medicina. 195-214.
- Hernández, S y col. (2010). **Metodología de la investigación**. (ed 5). México. McGraw-Hill Interamericana.
- Izaguirre, R. (2006). A un siglo de la teoría clásica de la coagulación sanguínea. *Revista Mexicana de Anestesiología*, 29, 116-123.
- Izaguirre, R. (2001). **Historia de la hemofilia**. México: Editorial Prado. p1-17.
- Lab Test Online. (2014). Fibrinógeno. Disponible en: <http://www.labtestsonline.es/tests/Fibrinogen.html?tab=2>.
- Martinez-Murillo, C. (2006). Mecanismos de activación de la coagulación. *Rev Med Inst Mex Seguro So*. 44:(2). 51-58.
- Martinuzzo, M. (2017). Pruebas de laboratorio para la evaluación de la hemostasia: fundamentos básicos. *Fisiología de la hemostasia normal*; 21, 56-68.
- McKensie, S. (2000) **Hematología Clínica**. Mexico. El manual moderno. 757-758.
- Medline plus (2017). Venopunción. Disponible en: <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/003423.htm>.
- Molina, L (2010). Dietética y Moral. **Medicina y Filosofía en la antigüedad helenística**. *Estud. Filos*. 209-250.
- Moraleda, J. (2017). **Pregrado de hematología**. (ed 4). Madrid. Sociedad Española de Hematología y Hematoterapia. 559-578.
- Morles, V. (1994). **Planeamiento y análisis de investigaciones**. (ed 8). Caracas. El Dorado.

- Mulet, D y col. (2012) Coeficiente internacional normalizado, útil herramienta en la terapia anticoagulante oral. *Medisur*. 10. 184-187.
- Muñoz, G. (2000). ***Interpretación Clínica del Laboratorio***. (ed 6). Bogotá. Editorial Médica Panamericana. 120-122, 148-151, 197-198, 447-448.
- Nieto, E y col. (2015). Calidad de las Tromboplastinas utilizadas en el Laboratorio Clínico y en los equipos POCT y su impacto en la dosificación de acenocumarol en pacientes con terapia anticoagulante oral. *Rev Chil Cardiol*. 34: 134-139.
- Ortiz, A. (2012). Anticoagulación y trombosis. Disponible en: (<http://scc.org.co/wp-content/uploads/2012/08/capitulo13.pdf>).
- Owen, C. et al. (2001). ***A history of blood coagulation***. Rochester, EEUU: Mayo Foundation for Medical Education and Research. 59-91.
- Rodak. (2005). Hematología Fundamentos y Aplicaciones Clínicas. Madrid. 2ª Edición. Editorial Médica Panamericana. 355-370.
- Ruiz-Bedolla, E. y col. (2007). Evaluación del tiempo de protrombina y tiempo de tromboplastina parcial en sangre total. *Rev Mex Patol Clin*. 54: 136-143.
- Soza, A. (2015). Enfermedades del Hígado., de Tiempo de protrombina: Disponible en: <http://hepatitis.cl/292/protrombina>.
- Sansores-Garcia, L y col. (1993). El cociente de normalización internacional en la vigilancia de la terapia anticoagulante oral. *Rev Invest Clin*.45. 463-467.
- Vives, J. y Aguilar, J. (2006). ***Manual de técnicas de laboratorio en hematología***. (ed 3). España. Elsevier Masson.



Universidad de los Andes
Facultad de Farmacia y Bioanálisis
Escuela de Bioanálisis



Anexo 1.

CONSENTIMIENTO

Yo, _____, mayor de edad, titular de la cedula de identidad N° _____, declaro que después de conocer el contenido del proyecto de investigación “**Tiempo de protrombina y cálculo del INR (razón internacional normalizada) en pacientes bajo tratamiento anticoagulante con warfarina sódica con el uso de dos tromboplastinas**”, realizado por la Br. Lizber Carolina Márquez Muñoz V – 23.583.151, permito que se realice una historia clínica y la toma de muestra sanguínea, para la realización de las pruebas de laboratorio que se requieren para este estudio.

Me comprometo a seguir las normas que se indiquen para dicho estudio, confiando que ni el nombre, ni los datos proporcionados serán revelados o utilizados con fines de lucro, ni intereses personales que no sean el de la investigación planteada, confiando que los resultados obtenidos no serán revelados y en caso de obtenerse alguna alteración revelada por los mismos se me informará para tomar las medidas necesarias.

Firma del paciente y firma del investigador:

Paciente: _____

Teléfono: _____

Investigador: _____

Lugar y fecha: _____



Universidad de los Andes
Facultad de Farmacia y Bioanálisis
Escuela de Bioanálisis



Anexo 2.

ENCUESTA

Esta encuesta se lleva a cabo como parte de un proyecto de investigación titulado **“Tiempo de protrombina y cálculo del INR (razón internacional normalizada) en pacientes bajo tratamiento anticoagulante con warfarina sódica con el uso de dos tromboplastinas”** realizado por la Br. Lizber Carolina Márquez Muñoz V- 23.583.151, estudiante de Bioanálisis de la Universidad de los Andes.

Para ello solicitamos que responda el siguiente cuestionario y se recomienda leer cada una de las preguntas cuidadosamente y responder con total sinceridad.

A. Datos del paciente:

Apellidos y Nombres:

Cédula de identidad: V___ E___ _____ Sexo: F___ M___

Teléfonos: _____ / _____

Dirección:

B. Datos clínicos:

Diagnóstico(s):

Razón por la que Ud. toma warfarina

sódica: _____

Fecha de inicio del tratamiento con warfarina
sódica: _____

Marca comercial de la
warfarina: _____

Dosis de warfarina: _____ Hora de
administración: _____

Otro tratamiento farmacológico concomitante:

¿Ud. ha presentado eventos trombóticos bajo el tratamiento con
warfarina?

Sí ___ No ___

¿Ud. Ha presentado eventos hemorrágicos bajo el tratamiento con
warfarina?

Sí ___ No ___

Solo para usos del investigador.

Fecha de toma de muestra: _____

Fecha de realización de la prueba: _____

Resultados:

Casa comercial: _____ ISI: _____

TP _____

Razón: _____

RIN _____

Casa comercial: _____ ISI: _____

TP _____

Razón: _____

RIN _____