

HEMOSTASIA

La hemostasia (hemo-> sangre; estasis-> parada) es un sistema de defensa del organismo cuya principal función es prevenir la salida de la sangre del interior de los vasos, detener la hemorragia, mantener la integridad de la pared vascular y restablecer la circulación de la sangre cuando se ha obstruido un vaso. Se divide en hemostasia primaria y secundaria.

La hemostasia consta de varias etapas :	En ella interviene varios factores :
1. Espasmo vascular 2. Formación del tapón plaquetario 3. Formación del coágulo sanguíneo 4. Fibrinolísis: restauración de la zona lesionada y lisis del coágulo	1. Tisulares: vasos y factores tisulares de la coagulación. 2. Trombocitarios: plaquetas y factores plaquetarios de la coagulación. 3. Humorales: factores plasmáticos, activadores e inhibidores de la coagulación y de la fibrinolísis.

Hemostasia primaria

La hemostasia primaria es un conjunto de procesos que comienzan cuando se lesiona un vaso, y culmina con la formación de un agregado o trombo plaquetario. Es una respuesta rápida y provisional de la hemostasia, en la que interaccionan tres tipos de elementos:

- Pared vascular.- contracción de la pared vascular debido a un espasmo microorgánico local. Efecto de los factores humorales (tejidos traumatizados y plaquetas).
- Plaquetas.- son discos redondos de 2-4 μm de diámetro, se forman a partir de megacariocitos, viven entre 8-12 días y su concentración normal está entre 150mil-400mil/mm³. Son además fundamentales en el dispositivo de **formación del tapón plaquetario**. La formación de este tapón plaquetario, consta a su vez de dos fases:
 - Adhesión plaquetaria*

Las plaquetas se adhieren entre sí, construyéndose la agregación reversible de las mismas. Este agregado se caracteriza por ser permeable. Las plaquetas conservan su morfología. Así se forma una monocapa de plaquetas que recubre la zona lesionada. Los factores más importantes para que se produzca esta fase son:

- Factor von Willebrand (FvW) (endotelio)
- Receptor plaquetario de la glicoproteína Ib

- Agregación plaquetaria*

El tapón de la fase anterior, sufre una serie de modificaciones, que terminan con la formación de un tapón plaquetario eficiente. Se liberan sustancias contenidas en los gránulos y se forma una masa viscosa e impermeable de plaquetas, perdiendo estas su morfología. Por eso la aglutinación es irreversible.

- Factores plasmáticos de la coagulación.

Mecanismo de coagulación

Definimos la coagulación como una serie de interacciones entre proteínas de carácter enzimático (factores de la coagulación), que conducirán a la transformación de una proteína soluble (fibrinógeno) en una proteína insoluble (fibrina) por acción de la trombina.

FIBRINOGENO

FIBRINA

TROMBINA

En la coagulación intervienen:

- ❖ Los factores de la coagulación que son proteínas, a excepción del calcio, y de los fosfolípidos de las plaquetas.
- ❖ El calcio presente en la mayor parte de las etapas de la coagulación.
- ❖ El fosfolípido 3 plaquetario (f3p)

Número	Nombre	
I	Fibrinógeno	
II	Protrombina	
III	Tromboplastina (factor tisular)	
IV	Calcio	
V	Proacelerina	
VII	Proconvertina	
VIII	Globulina antihemofílica	Factores antihemofílicos
IX	Componente de la tromboplastina del plasma	
X	Factor Stuart-Power	
XI	Antecedente de la tromboplastina del plasma	
XII	Factor Hageman	
XIII	Factor estabilizador de la fibrina	

- ❖ La tromboplastina tisular o factor tisular.

Los distintos factores de la coagulación, se representan con la letra F seguida de un número romano del I al XIII (según su orden de descubrimiento), cuando están en su forma inactiva (ej.: FI), añadiéndole la letra a minúscula en sus formas activadas (ej.: Fla). Son de naturaleza proteica y la mayoría se sintetizan en el hígado, a excepción del factor VIII. Los factores FII, FVII, FIX y FX requieren de la presencia de vitamina K para su síntesis hepática (vitamina K dependientes)

Además hay que incluir otros dos factores de la fase de contacto, que activan la coagulación pero no son factores de la coagulación:

- Precalicreína. Activada a calicreína con el quininógeno de alto peso molecular que convierte al FXII en FXIIa.
- Quininógeno de alto peso molecular. Coayuda con la calicreína en la activación del FXII.

Podemos dividir los factores de la coagulación en cuatro grupos según su función:

1. Vitamina K dependientes
2. Cofactores
3. Activación del sistema de contacto
4. Fibrinógeno y factor XII

GRUPOS	FACTORES	LUGAR DE SÍNTESIS
Factores vitamina K dependientes	II VII IX X	Hígado (hepatocito) Hígado Hígado (hepatocito) Hígado (hepatocito)
Cofactores	V VII: C	Hígado, plaqueta, células endoteliales Células endoteliales
Activadores del sistema de contacto (por reconocimiento de los daños en cambios de permeabilidad, etc.)	XI XII Precalicreína Quininógeno	Hígado Hígado Hígado Hígado
Fibrino-formación	Fibrinógeno XIII	Hígado (hepatocito) Hígado, plaqueta

En 1963 se propuso el modelo de **activación en cascada**. Cada factor depende de la activación del inmediato anterior, de tal forma que cada factor de coagulación es el enzima del inmediatamente inferior y sustrato del superior (supone reacciones en cadena enzima-sustrato). El inicio del proceso puede desarrollarse por dos vías, la **vía intrínseca** y la **vía extrínseca**, ambas convergen en una **vía común**.

DIAPOSITIVA CASCADA DE LA COAGULACIÓN

La vía intrínseca

La vía intrínseca, es un sistema exclusivamente sanguíneo, ya que sólo actúan productos presentes en el plasma. Cuando la sangre entra en contacto con superficies con carga negativa, se activa el llamado sistema de contacto (FXII, FXI, Precalicreína-PKK y el quininógeno de alto peso molecular-HMWK).

El FXII se activa por la acción proteolítica de la calicreína en FXIIa. La calicreína procede de la activación de la Precalicreína, y esta es llevada a cabo por el propio FXIIa, con ayuda del HMWK. De esto se desprende que la activación de FXII es, realmente un fenómeno circular en el que los factores que intervienen se activan entre sí. La acción proteolítica del FXIIa transforma al FXI en FXIa. El FXIIa realiza esta función activadora con la colaboración de HMWK. Además se ha visto que la activación del XI se produce, en condiciones fisiológicas, por trazas de trombina. El

FIX se activa debido a la acción proteolítica del FXIa, transformándose en FIXa. El FX se activa debido a la acción proteolítica del FIXa, transformándose en Xa. El FIXa realiza esta función activadora con la colaboración del FVII-Ca⁺⁺ y del f3p (factor 3 plaquetario). El FVII-C es activado por la trombina, transformándose en FVII-Ca.

La vía extrínseca

La vía extrínseca, requiere la entrada en la circulación sanguínea, de sustancias procoagulantes que proceden de los tejidos dañados (factor tisular). Es mucho más rápida que la intrínseca. Sin embargo, ambas vías no excluyentes, es decir, pueden desarrollarse a la vez, y, además, existen interrelaciones entre ellas.

La vía extrínseca, más correctamente vía del factor tisular, constituye en condiciones fisiológicas el inicio de la coagulación. El FVIIa libre es un enzima muy débil, pero una vez unido al FT es el activador más potente de la coagulación. Pequeñas cantidades de FVIIa están siempre presentes en la circulación. El FT puede unirse al FVII o al FVIIa. El FVII además puede ser activado por el Ca. Una vez formado el complejo FT/FVIIa, a la cascada de la coagulación puede seguir dos vías: una de ellas es la activación del IX y la otra la activación del X.

La vía común

La trombina (FIIa) se forma por la activación de la protrombina (FII) y ésta se produce a consecuencia de la actuación del complejo protrombinasa (FXa, FVa, f3p y Ca⁺⁺). La activación del FV es llevada a cabo por la propia trombina, por lo que éste es otro fenómeno circular de activación del proceso coagulativo. El FVa interviene, en la protrombinasa como cofactor del factor proteolítico FXa.

La trombina, una vez activada (FIIa), produce la activación del fibrinógeno (FI) hasta fibrina soluble (Fla) y así mismo activa al factor estabilizante de la fibrina (FXIII), el cual una vez activado y en presencia Ca⁺⁺ (FXIIIa + Ca) transforma la Fibrina soluble en insoluble.

Inhibidores fisiológicos de la coagulación

Cuando se produce una lesión en el interior de un vaso, el proceso de coagulación se circumscribe a la zona lesionada sin extenderse a lo largo del árbol vascular. Esta localización del fenómeno de la coagulación se debe a la existencia de un sistema de inhibición, que actúa bloqueando la activación de determinados factores de la coagulación para evitar, en definitiva, la transformación de fibrinógeno en fibrina en lugares alejados de la lesión vascular. Los más importantes son:

- Antitrombina III
- Proteína C-proteína S
- Inhibidor de la vía del factor tisular (TFPI)
- Sistema de la proteína Z (PZ-PZI)

Exploración de la fibrinolísis

Una vez que la lesión tisular ha sido reparada, el coágulo sufre una fibrinolísis, por acción sobre la fibrina de una sustancia de naturaleza enzimática, llamada fibrinolisina o plasminógeno. Se produce la fragmentación de la fibrina en trozos incapaces de reformar la trama de la misma, los productos de degradación (PDFs y dímero D). Los activadores principales del sistema fibrinolítico son:

- a) Endógenos: Pueden encontrarse en los tejidos, en la orina o en la sangre. Los más importantes son el FXIIa, calicreína, t-PA (activador tisular del plasminógeno), uriquinasa.
- b) Exógenos: Suelen ser bacterianos. Entre ellos está la estreptoquinasa, producida por los estreptococos β hemolíticos.

El tPA convierte el plasminógeno en plasmina, que a su vez fragmenta la fibrina en pequeños fragmentos que son eliminados por el sistema de limpieza monocitos-macrófagos. La plasmina puede degradar también el fibrinógeno.

PLASMINÓGENO

Activadores endógenos
exógenos

Activadores

PLASMINA

FIBRINA

X, D, Y, E)

PDF (Fragmentos

Cuando el proceso de la fibrinolisis está exacerbado o ante determinadas circunstancias, el organismo produce una serie de sustancias mediante las cuales se frena este proceso, son los inhibidores de la fibrinolisis. Estas sustancias inhibidoras son:

1. Inhibidor del activador tisular del plasminógeno (PAI), que inactiva al t-PA.
2. α_2 antiplasmina y α_1 macroglobulina que inhiben a la plasmina
3. inhibidor de la fibrinolisis activado por trombina (TAFI)

Los tapones hemostáticos o trombos que se forman en las venas que el flujo sanguíneo es lento son muy ricos en fibrina y hematíes atrapados y contienen relativamente pocas plaquetas. A menudo se denominan trombos rojos que pueden desprenderse y embolizar a la circulación pulmonar.

Los coágulos que se forman en las arterias en condiciones de flujo elevado están compuestos predominantemente por plaquetas y poseen poca fibrina. Estos trombos blancos pueden desprenderse fácilmente de la pared arterial y embolizar a lugares distantes, ocasionando isquemia temporal o permanente. Esto es particularmente frecuente en las circulaciones cerebral y retiniana, y puede ocasionar disfunción neurológica transitoria con ceguera monocular temporal o apoplejías.

Recogida, transporte y conservación: fuentes de error analítico

Extracción y recolección de las muestras

Las muestras de sangre para los estudios de la hemostasia, deben ser obtenidas de tal manera que se preserve la integridad de todos los factores plasmáticos de la coagulación.

- Se recoge la sangre periférica, generalmente de vena cubital
- En ciertos casos como son el recuento plaquetario, el tiempo de hemorragia, el tiempo de protrombina y el tiempo parcial de tromboplastina activado, puede utilizarse la sangre capilar.
- Los métodos de recolección pueden ser los siguientes:
 - o Método del Vacutainer
 - o Método de los tubos CTAD: Su utilización se recomienda en aquellos tests en los que es muy importante evitar la liberación de los factores plaquetarios. Se obtienen comercialmente y contienen una solución de citrato sódico (0,105 mol/l) más teofilina y dipiridamol. Estas tres sustancias previenen la activación de las plaquetas y por tanto la agregación y la liberación de proteínas. Han de enfriarse inmediatamente.
- Anticoagulantes: Los más utilizados son el citrato trisódico y el oxalato sódico. Se añaden 9 volúmenes de sangre por 1 de anticoagulante. Si se utiliza EDTA, se emplea una disolución al 2% de etilendiaminotetraacetato dipotásico. La sangre debe mezclarse con el anticoagulante por inversión.

Fuentes de error pre-analíticos

- Δ Posición del cuerpo
- Δ Aplicación prolongada del torniquete
- Δ Incorrecta proporción del anticoagulante
- Δ Forzar la salida de la sangre en la obtención de sangre capilar

Preparación de las muestras

Muchas veces se utiliza el plasma citratado rico en plaquetas (PRP) y el plasma citratado pobre en plaquetas (PPP). La obtención del PRP consiste en extraer la sangre por el método convencional estandarizado y centrifugarla a 800 rpm durante 5 minutos, mientras que el PPP se obtiene después de 15 minutos de centrifugación de la sangre a 2500 rpm.

Valoración del estado de las plaquetas

Recuento plaquetario

El intervalo de referencia para el recuento es de unos $150 \text{ a } 400 \times 10^9 / \text{l}$. Muestra: sangre total, Recipiente: tubo con EDTA, Volumen mínimo: 1 ml., Almacenamiento: refrigerado.

Tiempo de sangría (método Ivy)

Es posible que la mejor prueba de detección siga siendo el tiempo de sangría (IVY) cuidadosamente realizado. Mide el tiempo que tarda en detenerse la salida de sangre,

provocada por una incisión estandarizada, realizada en los pequeños vasos superficiales.

Se coloca un manguito de presión arterial en torno al brazo y se hincha para mantener una presión constante de 40 mmHg, para llenar los capilares y eliminar la variabilidad del tono capilar. Se realizan 3 incisiones rápidas y estandarizadas en la superficie volar del antebrazo, se pone en marcha un cronómetro y a intervalos de 30 segundos se absorben con papel de filtro las gotas de sangre que van brotando. Cuando el papel de filtro ya no se tiñe se para el cronómetro.

Los tiempos de sangría prolongados (superiores a 7 minutos) se asocian con la ingestión previa de fármacos o enfermedades de la coagulación (enfermedad von Willebrand, trastornos congénitos...).

Prueba del torniquete (fragilidad capilar)

Es una prueba que mide la fragilidad capilar, producida en circunstancias anormales tales como desnutrición, intoxicaciones plaquetarias severas o desarreglos hormonales, en las que la sangre sale de forma anormal a los tejidos circundantes, lo que se manifiesta por la aparición de pequeñas manchas (petequias).

La prueba consiste en aplicar un manguito de presión en el brazo y observar un tiempo determinado la aparición de petequias debajo del sitio de presión. Los valores normales son de 0-2 petequias.

Retracción del coágulo

Es una prueba que mide la capacidad contráctil de las plaquetas activadas y que condiciona la contracción o retracción de los coágulos formados.

Consiste en colocar 3 tubos de hemólisis perfectamente limpios, 1 ml de sangre y se incuban a 37º C. Después de dos horas se observa la mejor retracción de los tres tubos.

Agregación plaquetaria

La agregación plaquetaria ha sido estudiada por el método turbidimétrico en el que se utiliza PRP.

Consiste en monitorizar la agregación plaquetaria en respuesta a un estímulo químico añadido mediante la evaluación de los cambios en la transmisión de la luz. Los agregantes utilizados son el ADP, el colágeno, la ristocetina, el ácido araquidónico y la trombina.

Existen también pruebas denominadas funcionalismos plaquetarios, que miden la capacidad de agregación plaquetaria por adición de agonistas plaquetarios.

Pruebas de despistaje en las alteraciones de la coagulación

Tiempo de protrombina (TP). Tiempo de quick.

Se lleva a cabo añadiendo extracto tisular (tromboplastina) y calcio al plasma. Esto desencadena la coagulación pero se salta la vía intrínseca, solo analiza la vía extrínseca. Está alterado en pacientes con deficiencias en los factores FVII, FX y FV,

la protrombina y el fibrinógeno o en pacientes en tratamiento con anticoagulantes orales. El rango de normalidad oscila entre los 11-13 segundos.

Tiempo parcial de tromboplastina activado (APTT)

Se lleva a cabo añadiendo al plasma primero caolín y después fosfolípidos. La coagulación se inicia al añadirá esta mezcla cloruro cálcico. El APTT presentará valores alterados en aquellos pacientes con deficiencias en los factores FXII, FXI, FIX, FVIII, FX y FV, protrombina o fibrinógeno. Los valores de normalidad dependen del reactivo utilizado y del sistema de determinación, manual o automático, oscilando entre 25-40 segundos.

Tiempo de trombina

Se realiza añadiendo trombina a la sangre o al plasma. Está alterada en pacientes con bajo nivel de fibrinógeno (hipofibrinogenemia), ausencia total d fibrinógeno (afibrinogenemia) o pacientes con inhibidores de la reacción de conservación (heparina). Los valores de normalidad se sitúan entre los 15-20 segundos.