

Mecanismo de la coagulación de la sangre y enfermedades hemorráparas ()*

Las enfermedades hemorrágicas constituyen un extraordinario problema en la práctica y el pediatra debe estar consciente de su importancia, porque:

1) una gran parte de las enfermedades hemorrágicas son congénitas y de naturaleza hereditaria por lo que aparecen durante la infancia,

2) muchas de las formas ligeras de la enfermedad hemorrágica son susceptibles de aparecer explosivamente después de intervenciones que se practican frecuentemente en la infancia: circuncisión, amigdalectomía y extracciones dentales,

3) el descubrimiento precoz de la existencia de un estado hemorráparo y su correcta identificación pueden ahorrar al paciente muchos inconvenientes futuros.

No es esencial que el pediatra práctico esté familiarizado con todos los detalles de la fisiología de la coagulación, o en condiciones de realizar por sí mismo todas las pruebas de laboratorio.

* Arreglado para la docencia hospitalaria según los conceptos de Irving Schulman, Carl Smith y Zinet Currimbhoy, Médicos del Departamento de Pediatría del Medical Center de Nueva York, por el Dr. E. Alemán, Jefe de Servicio del Hospital "Abali".

Pero es obligatorio sin embargo que esté consciente de los modos en que las enfermedades hemorráparas se manifiestan en la infancia y que tenga un concepto general del mecanismo de la coagulación, que le permita una aproximación racional al diagnóstico y al tratamiento, y los conocimientos suficientes de los métodos de laboratorio necesarios para lograr una ordenación inteligente de las distintas pruebas y la interpretación de sus resultados.

Son, pues, los objetivos de esta revisión y puesta al día los siguientes:

1) presentar un simple guión de trabajo en relación con el mecanismo de la coagulación que pueda servir como punto de partida para el estudio de un paciente con manifestaciones de diátesis hemorrágica,

2) describir y discutir las pruebas de laboratorio indicadas, los principios sobre que se basan aquellas y la significación de los resultados;

3) ilustrar con ejemplos específicos, el uso de estos auxiliares del diagnóstico.

Consideraciones clínicas generales

Uno de los conceptos más significativos que se derivan de los recientes avances en el conocimiento del mecanismo de la coagulación es que la intensidad de prácticamente todas las alteraciones hemorrágicas conocidas varían ampliamente. Esto ha traído como resultado que el médico se vea cada vez más consciente de los más finos signos clínicos que indiquen la presencia de una tendencia al sangramiento, y desde el punto de vista del laboratorio, para el desarrollo de métodos por los cuales identificar los estados hemorrágicos ligeros. Por ejemplo, se daba por descontado que la hemofilia clásica era un fenómeno perfectamente definido, de todo o nada, caracterizada por un tiempo de coagulación de la sangre total marcadamente prolongado. En los últimos años, sin embargo, se ha hecho evidente que algunos pacientes con hemofilia verdadera tienen tiempos de coagulación normales. Y ahora se sabe que pueden existir todos los grados de déficit del factor antihemofílico desde el paciente con hemofilia clásica sin factor antihemofílico *circulante* demostrable hasta aquellos que tienen el factor antihemofílico solo en cantidades de 5, 10, 20% o más de lo normal. La intensidad de las manifestaciones clínicas a la vez depende del grado de déficit que esté experimentando el paciente en cuestión, ocurriendo la misma situación aparentemente en casi todos los estados hemorrágicos hoy conocidos.

Las enfermedades hemorrágicas intensas son raras veces difíciles de iden-

tificar, pues el paciente ofrece generalmente características groseras de tendencia anormal para el sangramiento, ya espontáneamente o ya después de traumatismos mínimos, pudiendo ocurrir el sangramiento en cualquier parte del organismo: en la piel, en las membranas mucosas, en los músculos o en las vísceras. Con la posible excepción de la hemorragia intra-articular en la hemofilia grave, la localización del sangramiento es de poca ayuda para establecer un diagnóstico o una etiología específicos.

Pero aquellos pacientes que presentan formas ligeras de enfermedad hemorrágica, especialmente aquellas de origen congénito, el reconocimiento de las mismas es más difícil, pudiendo haber poca, si alguna, evidencia clínica de diátesis hemorrágica hasta que un traumatismo accidental o quirúrgico viene a provocar el sangramiento. La manifestación inicial más frecuente es el sangramiento excesivo después de una extracción dentaria o de una amigdalectomía. El sangramiento a consecuencia de heridas mínimas, que se prolonga y se controla con dificultad, es otra de las maneras de manifestarse. Los signos de hemorragia espontánea son relativamente raros, y en nuestra experiencia consisten principalmente en epístaxis severas y recurrentes, así como facilidad para la formación de equimosis. Los antecedentes de sangramiento prolongado después de la circuncisión, la formación de hematomas después de las inyecciones y el rezumamiento sanguíneo persistente después de la caída de los dientes temporales pueden indicar

también la presencia de una diátesis hemorrágica en el sujeto. La ocurrencia de alguna de las anteriores manifestaciones, especialmente la hemorragia profusa y prolongada a consecuencia de extracciones dentarias o de la amigdalectomía, deberán despertar sospechas, y por la misma razón si un sujeto ha soportado las extracciones dentarias o la amigdalectomía sin evidencias de hemorragias inusuales, existe poca probabilidad de que sufra de un estado hemorragíparo congénito, aunque ello no elimina, sin embargo, la posibilidad de una alteración adquirida tal como la púrpura trombocitopénica, debiendo subrayarse que los síntomas antedichos no son de ningún modo específicos de una enfermedad en particular: ellos pueden ocurrir en cualquiera de los estados hemorragíparos ligeros. Dado un paciente sospechoso, resulta obligatoria la demostración e identificación de la anomalía específica resulta entonces obligatoria.

Proceso de la coagulación normal

Como introducción al mecanismo de la coagulación y también como una guía para seleccionar e interpretar los distintos métodos de laboratorio, creemos útil considerar la coagulación de la sangre mediante el desarrollo de tres fases principales:

Fase I.—La primera fase de la coagulación tiene como meta final la formación de la tromboplastina plasmática activa, hallándose comprendidas en esta fase por lo menos tres, y probablemente más, proteínas plasmáticas denominadas precursores de la tromboplastina y

las plaquetas, que producen, al desintegrarse, un factor tromboplástico plaquetario. (Factor plaquetario 3).

—Es conveniente saber que además de su influencia sobre la fase I, las plaquetas resultan activas en la aceleración de la conversión de la protrombina en trombina y de la trombina en fibrinógeno mediante la liberación de los factores plaquetarios 1 y 2 respectivamente. Se cree que las plaquetas intervengan también en la regulación de por lo menos otras dos funciones importantes de la hemostasis: 1) vasoconstricción, por liberación de serotonina (5-hidroxitriptamina) y 2) retracción del coágulo por medio de liberación de una sustancia teórica, la "retractozima".

Las tres proteínas plasmáticas precursoras de la tromboplastina, de mayor significación hasta ahora son:

- 1) la globulina antihemofílica (GAH)
- 2) el componente plasmático de la tromboplastina (CTP)
- 3) el antecedente plasmático de la tromboplastina (ATP)

Han sido descrito además otros tres posibles precursores de la tromboplastina: el factor PTF-D, el factor X y el factor de Hageman.

Mientras ninguno de los factores ha sido aislado en forma pura o determinado químicamente de modo adecuado, pueden ser separados perfectamente unos de otros mediante el empleo de

varios métodos químicos, tales como precipitación por el sulfato de amonio, la absorción por sulfato de bario y el fraccionamiento del plasma.

El factor tromboplástico plaquetario ha sido también incompletamente caracterizado, pero se sabe que tiene un alto contenido en fosfolípidos: en efecto, la actividad tromboplástica plaquetaria resulta simulada casi exactamente por la cefalina cerebral humana.

El modo exacto de interacción de los precursores tromboplastínicos plasmáticos y el factor tromboplástico plaquetario es todavía objeto de discusión. Dos hechos, sin embargo, son ciertos: normalmente estos factores están presentes en gran exceso y un déficit significativo de uno de ellos llevaría a una diátesis hemorrágica que, básicamente, resulta de la inadecuada formación de tromboplastina. Ciertos hechos adicionales son de importancia tanto teórica como práctica: la GAH es lábil en "storage" y se consume totalmente durante el proceso de la coagulación, mientras el CPT y el APT son estables en "storage" y son consumidos también durante el proceso de la coagulación, siendo estas últimas características de gran significación para las pruebas de laboratorio y para seleccionar los agentes terapéuticos adecuados.

Fase II.—La segunda fase resulta en la conversión de la protrombina en trombina. Esta comprende la tromboplastina generada en la primera fase, la protrombina misma, el calcio y dos factores accesorios de la protrombina. La protrombina más los dos factores accesorios de la misma son a menudo denominados "complejo protrombina". La protrombina es una gluco-proteína que es estable en "storage" y que se utiliza en exceso de un 75% durante el proceso de la coagulación. De los dos fac-

tores accesorios, uno es lábil y se consume durante la coagulación, el otro es estable y no se consume. Emplearemos los términos de factor lábil y de factor estable, aunque estos factores se conocen por una variedad de nombres, de los cuales los más comunes son:

Factor lábil:

Factor V.

Pre-acelerina-acelerina.

Globulina-Ac del plasma.

Factor de conversión de la protrombina del plasma.

Factor estable:

Factor VII.

Preconvertina-convertina.

Globulina-Ac del suero.

Acclerador de la conversión de protrombina del suero.

Como sucede con los factores de la fase I, el modo exacto de interacción entre los distintos componentes de la fase II está siendo estudiado todavía. Sin embargo, cualquier déficit significativo de protrombina, o de los factores lábil y estable originarán una diátesis hemorrágica debida a fallo en la conversión de la protrombina en trombina. Un déficit de calcio bastante grande para alterar la coagulación es probablemente incompatible con la vida y no es necesario que sea considerado en los casos de enfermedad hemorrágica.

Fase III.—La tercera fase comprende la conversión del fibrinógeno en fibrina por medio de la acción de la trombina liberada en la fase II. El fibrinógeno es una globulina de alto peso molecular (500,000) que se halla normalmente en concentraciones de 250 a 350 miligramos. Se convierte completamente en fibrina durante la coagulación y por lo tanto no se halla en el suero. El ciclo entero de la coagulación puede describirse por medio de la figura 1.

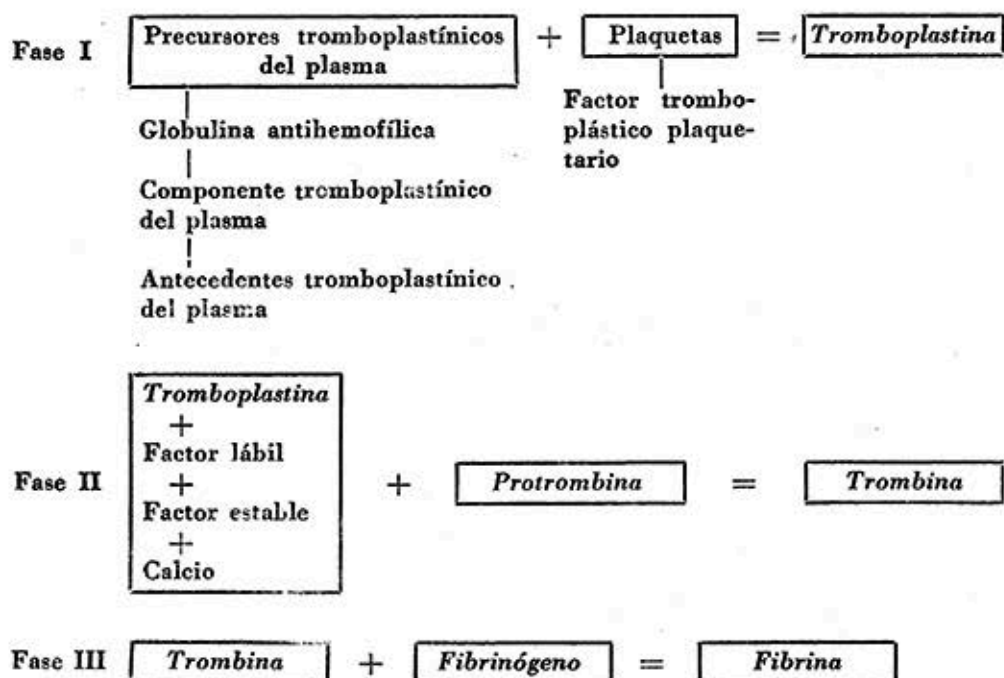


Fig. 1.—Ciclo normal de la coagulación.

Y aunque la anterior secuencia sirve como una guía útil tanto para el planteamiento clínico como para el de laboratorio en los pacientes con enfermedad hemorrágica, debe subrayarse que es en efecto esquemática, no incluyéndose en la descripción el factor esencial del bazo que es de significación vital en la hemostasis efectiva. No sólo son importantes los rendimientos de tromboplastina, trombina y fibrinógeno sino también la velocidad a que tiene lugar el proceso y en conjunto el mecanismo de la coagulación parece tener dos etapas básicas de velocidad: una fase inicial lenta seguida de una "fase autocatalítica" acelerada, extremadamente rápida, pudiendo obtenerse una impresión a grosso modo del fenómeno observan-

do la coagulación de la sangre en un tubo de ensayo: la sangre en lugar de coagularse lenta y progresivamente, permanece enteramente líquida durante 5 ó 10 minutos y luego se coagula en masa en un instante, creyéndose que la trombina sea la clave en la fase rápida. Así, cuando la primera pequeña cantidad de trombina se forma, inmediatamente tiene lugar un aumento explosivo en la velocidad del proceso de coagulación total.

Hay evidencia indicadora de que la trombina labiliza las plaquetas, convierte varios aceleradores de la protrombina del plasma en formas más activas y refuerza la actividad tromboplastica. Todo esto, en efecto, conduce además

a la formación de más trombina y de este modo a un mayor coágulo, y según Stefanini el mecanismo autocatalítico sirve para proteger al paciente con déficits entre ligeros y moderados, permitiendo la "completa utilización de los factores relativamente deficitarios".

Obviamente, a pesar de todas las fuerzas que favorecen la coagulabilidad de la sangre, otros mecanismos de naturaleza inhibitoria deben estar presentes a fin de mantener la fluidez de la misma, de modo que en todos los estadios del mecanismo de la coagulación existen y actúan anticoagulantes naturales, y como se ha señalado a menudo, el extraordinario balance entre la fluidez y la coagulabilidad es un magnífico ejemplo de las maravillas de la fisiología.

Fundamentos de las investigaciones de laboratorio

Las pruebas de laboratorio a practicar en un paciente que se sospeche afecto de una alteración hemorrágica tienen como metas el establecer que existe una tendencia anormal al sangramiento e identificar, de ser posible, el punto exacto de la anormalidad. Los métodos de laboratorio que pueden ser necesarios en un caso dado van desde el más simple al más complicado y deberán ser seleccionados a base de las indicaciones específicas. La tan común indicación de una "rutina de coagulación" culmina a menudo en la realización de pruebas innecesarias mientras aquellas que podrían ser específicas y definitivas resultan omitidas.

En general, el diagnóstico correcto de una alteración de la coagulación puede ser logrado con métodos posibles para la

mayoría de los laboratorios clínicos y las técnicas son relativamente sencillas, difiriendo el equipo muy poco del usualmente empleado y los materiales son baratos, fáciles de preparar y perfectamente procurables. Los "reactivos" más importantes que se requieren para los estudios de la coagulación se derivan de la sangre misma: tratando la sangre y el plasma por ciertos medios sencillos se pueden obtener "reactivos" que contienen algunos factores y carecen de otros. Las siguientes preparaciones, a partir de sujetos normales, así como de los pacientes en estudio, suministran los instrumentos básicos para el diagnóstico de los trastornos de la coagulación:

1).—*Plasma*: En los distintos estudios de la coagulación se le emplea con preferencia a la sangre total, usando un anticoagulante para la recolección de la sangre perfectamente estandarizado, puesto que los resultados variarán con el uso de distintos anticoagulantes. Frecuentemente se utiliza la sol. 0.1M de oxalato de sodio (13.4 Gr. de oxalato de sodio en 1,000 ml. de agua destilada), y para la preparación del plasma se agrega sangre total a la sol. 0.1M de oxalato de sodio en proporción de 9:1 (4.5 ml. de sangre para 0.5 ml. de oxalato) en un tubo de centrifuga. El tubo se invierte suavemente varias veces para asegurar la mezcla y luego se centrifuga a 2,000 rpm durante 10 minutos. El plasma que sobrenada se traspasa entonces para un tubo de ensayo limpio y se mantiene en el refrigerador hasta que se vaya a usar. Cuando se prepara a partir de sangre normal, el plasma contiene todos los factores de la coagulación que aparecen en la tabla 1.

Tabla 1.—Constituyentes de los "reactivos" preparados con sangre normal

Reactivo	Factores presentes		
	1ª fase	2ª fase	3ª fase
Plasma normal	GAH CTP ATP	Protrombina Factor lábil Factor estable	Fibrinógeno
Plasma normal absorbido (deprotrombinizado)	GAH ATP	Factor lábil	Fibrinógeno
Suero normal	CTP ATP	Factor estable

2).—*Suero*: Si se deja coagular la sangre total normal en un tubo de ensayo se utilizará en el proceso la globulina antihemofílica, el factor lábil, la protrombina y el fibrinógeno. Así, el suero normal constituye una fuente de CPT, de APT y del factor estable. Para preparar el suero "reactivo" se inclina el tubo que contiene la sangre completa frecuentemente hasta que ocurra la coagulación y se le deja entonces reposar en un baño maría a 37 C. durante una hora más. Se centrifuga entonces el tubo y se separa el suero. Para asegurarse de la utilización completa de la protrombina se colocan algunas perlas de vidrio en el tubo antes de añadir la sangre y se agita aquél frecuentemente hasta que tenga lugar la coagulación. Los "factores del suero" (CTP, ATP, factor estable) son estables en estorage y se puede tener a mano una provisión en todo momento.

3.—*Plasma absorbido*: Tratando el plasma con un gel de fosfato tricálcico o de sulfato de bario, es posible separar la mayor parte de la protrombina, el factor estable, el CTP y parte del ATP. El gel de fosfato tricálcico se prepara

según el método de Quick y se usa como suspensión 0,008 M. Antes de absorber el plasma, se centrifugan 1,0 ml. de fosfato tricálcico por cada 1,0 ml. del plasma a absorber. Cuando el gel ha sido centrifugado, el agua que sobrenada se vierte y se agrega entonces el plasma. El plasma con el fosfato tricálcico se agita durante 10 minutos y luego se centrifuga durante 20 minutos a 2,000 rpm. El plasma que sobrenada se transfiere a un tubo limpio y se guarda en la nevera hasta que se vaya a usar. El sulfato de bario se usa como absorbente agregando 75 a 100 mgr. de BaSO₄ en polvo por cada ml. de plasma a ser absorbido y se trata entonces igual que se hace con el fosfato tricálcico. A los plasmas tratados por el fosfato tricálcico o por el sulfato de bario se les denomina frecuentemente "plasmas deprotrombinizados", debiendo señalarse que la deprotrombinización con el fosfato tricálcico y el sulfato de bario debe realizarse con plasmas preparados con *oxalato* como anticoagulante. Si se emplea el citrato como anticoagulante, deberá entonces usarse como absorbente el gel de hidróxido de aluminio (preparado de modo específico).

La tabla 1 describe los factores que se encuentran en cada uno de los anteriores reactivos cuando se preparan a partir de sangre normal.

4).—*Suspensión de plaquetas*: en ciertas pruebas se requiere suspensión de plaquetas, y para obtener éstas deberán cubrirse todos los recipientes de cristal así como las agujas con superficies impermeables. Por tanto la cristalería se cubre con silicone y las agujas con Arquad C-2, según los métodos que se describen en detalle aparte. La sangre se recoge en tubos siliconados como para la preparación de plasma antes descrita. Un plasma rico en plaquetas se prepara primero centrifugando durante 5 minutos a 1,500 rpm. El botón de plaquetas obtenido se lava 3 veces con solución salina igual al tercio del volumen del plasma original.

5).—*Cloruro de calcio*: este se necesita para desarrollar el coágulo en to-

das las pruebas que requieren plasma; se emplea generalmente una sol. de 0.025 M de cloruro de calcio (2,77 Gm. de cloruro de calcio anhidro en 1 litro de agua destilada).

Pruebas rutinarias de la coagulación Valor y significación

La mayoría de los laboratorios usan generalmente un grupo de procedimientos denominados "tests rutinarios de coagulación" para diagnosticar por eliminación al paciente con alteraciones hemorrágicas. Estas pruebas comúnmente comprenden: tiempo de sangramiento, tiempo de coagulación de la sangre total, retracción del coágulo, prueba del torniquete y conteo de plaquetas. Sin embargo, la significación de estos procedimientos en la investigación de un paciente dado debe ser seriamente discutida. La tabla 2 da los resultados de estas pruebas en los casos en que

Tabla 2.—Resultado de las pruebas de rutina en los estados hemorrágicos
(N: normal; A: anormal)

Alteración	Tiempo de sangramiento	Tiempo de coagulación	Retracción del coágulo	Prueba del lazo	Conteo de plaquetas
Anormalidades plaquetarias:					
Trombocitopenia	A	N	A	A	A
Trombastenia	A	N	A	A	N
Déficit de GAH	N	A*	N	N	N
Déficit de CTP	N	A*	N	N	N
Déficit de ATP	N	A*	N	N	N
Déficit de protrombina	N o A	N o A	N	N o A	N
Déficit de factor lábil	N o A	N o A	N	N o A	N
Déficit de factor estable	N o A	N o A	N	N o A	N
Déficit de fibrinógeno	N	A	N	N o A	N
Alteraciones vasculares	N o A	N	N	N o A	N

* Puede ser normal en grados ligeros o medianos de déficit.

las plaquetas, los distintos factores de coagulación y los vasos sanguíneos son afectados independientemente. Solo en el caso de anomalías plaquetarias dieron las pruebas de rutina resultados específicos: las anomalías combinadas del tiempo de sangramiento, de la retracción del coágulo y de la prueba del torniquete son indicaciones muy precisas de disfunción plaquetaria, y un conteo bajo de plaquetas es naturalmente específico por sí mismo. Cuando se trata de deficiencias de los factores de la coagulación, por otra parte, los resultados de las pruebas de coagulación de rutina pueden variar e imbricarse considerablemente. Mientras que un tiempo de coagulación marcadamente alargado se observa más frecuentemente cuando se trata de déficits de los precursores plasmáticos de la tromboplastina, también ocurre en el caso de déficit de fibrinógeno, en la severa disminución de cualquier factor del complejo de protrombina y en presencia de anticoagulantes en la circulación. Por otra parte, pueden existir grados ligeros de déficit de GAH, CTP y ATP con tiempos normales de coagulación de la sangre total. En resumen, puede decirse que la ocurrencia de resultados anormales en las pruebas de coagulación de rutina indicará la presencia de un estado hemorrágico, pero son de muy poco valor para establecer un diagnóstico específico. Además, los resultados de esas pruebas cuando son normales *no eliminan* la existencia de un defecto hemostático, siendo aparente, por lo tanto, que serán necesarias otras pruebas cuando el resultado de las de rutina sean anormales, y también, y quizás de modo particular, cuando los resultados sean negativos cuando tratándose de casos en que haya antecedentes sugestivos de hemopatía.

Determinación de anomalías en cada una de las fases de la coagulación

Las etapas del ciclo de la coagulación se abordan mejor en orden inverso cuando se utilizan las pruebas establecidas para investigar cada fase individualmente.

La fase III se abordará primero ya que se requiere una concentración adecuada de fibrinógeno para producir la coagulación, la cual sirve como meta para algunos de los tests subsiguientes. La concentración de fibrinógeno plasmático se determina *químicamente* coagulando una cantidad *medida* de plasma con $ClCa$ y luego determinar el contenido nitrogenado del coágulo de fibrina por el método de micro Kjeldahl, pudiéndose usar otras técnicas. Hay un método semicuantitativo en el cual se le añade al plasma del paciente una cantidad determinada de trombina humana y se mide el tiempo que tarda en coagular la mezcla, siendo el tiempo de coagulación proporcional a la concentración de fibrinógeno. En la *afibrinogenemia* completa, la sangre total es incoagulable y no se forma coágulo en ninguno de los tests anteriores. En la *hipofibrinogenemia*, el tiempo de coagulación puede ser normal o ligeramente prolongado. Después que se completa la coagulación, el coágulo puede retraerse para ofrecer una masa muy pequeña suspendida sobre un volumen relativamente grande de eritrocitos. El coágulo puede realmente desprenderse y caer dentro, y quedar oculto dentro, de la masa de eritrocitos que se halla en el fondo del tubo. Inclinando el tubo de ensayo se revelará el coágulo, eliminando así la posibilidad de que el mismo se haya disuelto por fibrinólisis.

La ausencia completa de fibrinógeno es más frecuentemente el resultado de la afibrinogenemia congénita. El déficit adquirido de fibrinógeno ha sido encontrado en varias condiciones tales como leucemia, cáncer avanzado, policitemia vera, enfermedad cardíaca cianótica, enfermedad hepática, shock traumático o hemorrágico, quemaduras, accidentes obstétricos y reacciones transfusionales.

Las alteraciones de la fase II se identifican por medio del tiempo de protrombina en una fase de Quick. En esta prueba, todos los factores afectados en la segunda fase, con la excepción de los constituyentes del complejo de protrombina, se añaden en exceso, en otras palabras: la tromboplastina y el calcio se agregan al plasma del paciente y se determina el tiempo de coagulación de la mezcla. La tromboplastina usada se obtiene generalmente del cerebro o del pulmón de conejo, aunque el cerebro humano se utiliza también en algunos laboratorios. En el comercio se encuentran algunas excelentes preparaciones de tromboplastina bien estandarizadas.

El tiempo de protrombina en una fase, aunque simple, es de gran valor, requiriendo sin embargo una técnica muy exacta: el plasma del paciente debe ser obtenido de un modo "standard", la concentración del cloruro de calcio debe ser exacta, la temperatura controlada a 37° C., debiéndose usar un reloj de parada para tomar el tiempo y observar los controles. En la mayoría de las técnicas se agrega primero 0.1 ml de CaCl₂ a 0.1 ml de plasma del paciente a 37° C., y a continuación se agrega 0.1 ml. de tromboplastina. El cronometraje se comienza en este punto y se determina así el tiempo de coagulación. Hay preparaciones comerciales en las cuales la tromboplastina y el calcio están ya mezclados en cantidades

apropiadas. La prueba solo requiere entonces un solo paso. Las preparaciones de "plasma de control" para la prueba del reactivo de tromboplastina se hallan también disponibles en el comercio. Con la mayoría de los métodos, los tiempos de protrombina de una etapa son generalmente de 12 a 14 segundos. Puesto que la meta de la prueba consiste en la formación del coágulo, que a su vez requiere fibrinógeno, debemos estar seguros de que haya una concentración normal de fibrinógeno antes de interpretar el tiempo de protrombina, y por lo mismo un tiempo de protrombina normal sirve como evidencia de concentración normal de fibrinógeno.

El tiempo de protrombina en una sola fase es un indicador muy específico de alteraciones en la fase II, debiendo subrayarse sin embargo que este mide no sólo la protrombina sino el complejo protrombínico total: un tiempo de protrombina anormal, por lo tanto, puede indicar déficit de alguno de los tres factores. Un ejemplo de alteración de la fase I puede verse en el siguiente:

Ejemplo 1.—Paciente de 21 meses¹ que había estado sangrando por la nariz y la boca a la edad de 2 semanas. A los seis meses intenso sangramiento de las encías acompañando la erupción de los incisivos centrales inferiores. Y desde entonces hasta el momento del ingreso ha tenido frecuentes epístaxis, facilidad para hacer equimosis, sangramiento prolongado a causa de heridas mínimas y numerosos episodios de rezumamiento sanguíneo prolongado de las encías.

Pruebas de coagulabilidad: tiempo de sangramiento, más de 30 min.; tiempo de coagulación, 35 min.; retracción del

1. Este ejemplo y los demás corresponden a la casuística de los Dres. I. Schulman y C. H. Smith, recogida en el New York Hospital-Cornell Medical Center de Nueva York.

coágulo, se completa en una hora (coágulo friable); conteo de plaquetas, 330,000/mm³; fibrinógeno, 321 mgr. 100 ml. de plasma; tiempo de protrombina, 30 segundos (control, 12,5 seg.)

Interpretación: el tiempo de sangramiento está muy prolongado pero asociado a conteo de plaquetas y retracción del coágulo normales, tendiendo así a eliminar las anomalías plaquetarias. El tiempo de coagulación está también marcadamente prolongado, pudiendo indicar alteración en cualquiera de las tres fases de la coagulación. La concentración de fibrinógeno es normal. El tiempo de protrombina marcadamente prolongado, sin embargo, indica una anomalía en la segunda fase de la coagulación. La serie anterior de pruebas, por lo tanto, indica una severa **a n o r m a l i d a d** en el complejo de protrombina, pero el defecto específico en el complejo de protrombina solo puede ser aislado por pruebas posteriores.

Los defectos de la fase I se descubren por la prueba de *consumo de protrombina*: cuando la sangre normal colocada en un tubo de ensayo se coagula, se forma en la fase I suficiente cantidad de tromboplastina para convertir virtualmente toda la protrombina en trombina, de modo que al completarse la coagulación queda poca o ninguna protrombina en el suero (protrombina residual). Si el complejo de protrombina es normal, por lo tanto, la utilización o *consumo de protrombina* constituye una medida directa de la tromboplastina formada, resultando así la medida de la actividad de la fase I. Si toda la protrombina es utilizada (es decir si queda poca o ninguna presente en el suero) la fase I está intacta.

Por otra parte, si una gran cantidad de protrombina permanece en el suero después de la coagulación, ello indica

una anomalía en la fase I. La prueba del consumo de protrombina resulta por lo tanto la simple determinación del tiempo de protrombina del suero después de que haya ocurrido la coagulación (tiempo de protrombina del suero). Sin embargo, es un test de valor para la actividad de la fase I (formación de tromboplastina) únicamente si el complejo de protrombina es normal. Hay otra razón para abordar en reverso el ciclo de la coagulación en estas pruebas. Más comúnmente la prueba del consumo de protrombina se practica en el suero 1 hora después de ocurrir la coagulación, de modo semejante al tiempo de protrombina en una etapa realizado en el plasma con una adición. Puesto que el suero contiene factor estable pero no fibrinógeno ni factor lábil, éstos han de ser agregados a fin de determinar la protrombina residual después de la coagulación. El reactivo adicional que se necesita es el *plasma absorbido con sulfato de bario o fosfato tricálcico*. Este reactivo contiene el factor lábil y fibrinógeno, pero no protrombina. Los materiales para la prueba del consumo de protrombina son por lo tanto: 0.1 ml. de suero, 0.1 ml. de Cl₂Ca, 0.1 ml de plasma absorbido y 0.1 ml de tromboplastina. Normalmente el tiempo de protrombina del suero sería de 25 segundos, indicando así muy poca protrombina residual. En caso de haber alguna alteración de la fase I, el tiempo de protrombina del suero está por debajo de 25 segundos, y en casos graves puede ser tan corto como el tiempo de protrombina del plasma. Un ejemplo de anomalía grave de la fase I puede verse en el siguiente caso:

Ejemplo 2.—El paciente era un niño de 11 meses en el cual se había observado la formación de grandes equimosis al más ligero trauma desde la edad de 6 meses. Además sangraba excesiva-

mente en los sitios en que recibía inyecciones de inmunización. A los 11 meses de edad se le presentaron súbitamente convulsiones, cuadriplejía, completa y bloqueo espinal a nivel de la cuarta vértebra cervical. La operación reveló una hemorragia en la médula espinal. Sangramiento post-operatorio intenso en el lugar de la incisión que fue controlado con gran dificultad por medio de transfusiones frecuentes.

Pruebas de coagulabilidad: tiempo de sangramiento, 3 minutos; tiempo de coagulación, 45-110 min.; retracción del coágulo, normal; plaquetas 250.000 mm^3 ; fibrinógeno, 356 mgr./100 ml de plasma; tiempo de protrombina del plasma, 14 seg.; tiempo de protrombina del suero, 14 seg.

Interpretación: la anormalidad más obvia en este caso es el tiempo de coagulación marcadamente prolongado. El fibrinógeno del suero normal indica una fase III normal, y el tiempo de protrombina normal del plasma resulta expresión de una fase II normal. El tiempo de protrombina del suero que es el mismo que el del plasma indica un consumo de protrombina muy defectuoso y coloca el defecto en la fase I.

Hay que recordar que la fase I comprende las plaquetas y al menos 3 precursores tromboplastínicos del plasma (GAH, CTP y ATP). La prueba del consumo de protrombina anormal meramente indica que el defecto está en la fase I pero no identifica la deficiencia específica. Mientras: el tiempo de sangramiento normal, la retracción del coágulo y el conteo de plaquetas eliminan la anormalidad de éstas perfectamente, requiriéndose obviamente otras pruebas para la identificación del déficit que presenta este paciente.

Aunque el consumo de protrombina es uno de los tests de más valor de que actualmente disponemos, se ha hecho aparente que en algunos casos que tienen déficits en la fase I (ligero déficit de GAH, CTP o ATP) el resultado de la prueba del consumo de protrombina puede ser normal. La prueba de generación de tromboplastina descrito por Biggs y Douglas se usa como una prueba ulterior para determinar defectos de la fase I: es una de las pruebas más sensibles de que disponemos, la cual halla cada vez mayor aplicación tanto para el uso clínico como para la investigación. Dicha pruebas se basa en el principio siguiente:

El plasma deprotrombinizado contiene GAH, mientras que el suero contiene CTP y ATP (tabla 1). La adición de una suspensión de plaquetas suministrará por lo tanto todos los factores necesarios para la formación de tromboplastina. La prueba de la generación de protrombina se realiza incubando juntos el plasma deprotrombinizado, suero, suspensión de plaquetas y Cl_2Ca (1, 3, 5, 7 minutos, etc.) y se agregan partes alicuotas de la mezcla en incubación a un sustrato de plasma normal libre de plaquetas. La tromboplastina generada en la mezcla en incubación origina la coagulación del sustrato de plasma (como en la determinación del tiempo de protrombina) y la velocidad de coagulación se convierte en la medida de la protrombina formada. Normalmente un tiempo mínimo de coagulación de 8 a 10 segundos es logrado después de 3 a 7 minutos de incubación. Diluciones seriadas de la mezcla en incubación en el punto de máxima formación de tromboplastina (designado como 100%) y la añadidura de partes alicuotas de cada dilución al sustrato plasmático permite la construcción de una curva "standard" por

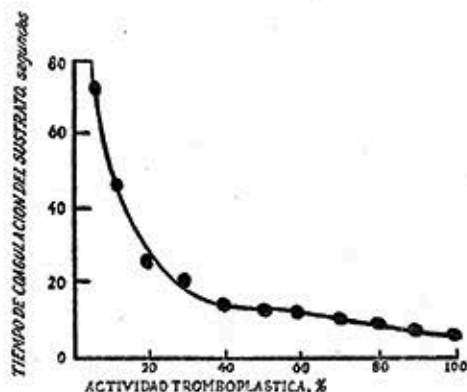


FIG. 2.—Curva "standard" relacionando el tiempo de coagulación del sustrato con la actividad trombotástica (en por ciento de la normal) en la prueba de la generación de trombotastina.

la cual se puede expresar el tiempo de coagulación del sustrato plasmático en términos de % de trombotastina generada (fig. 2).

La figura 3 demuestra 4 pruebas separadas de generación de protrombina

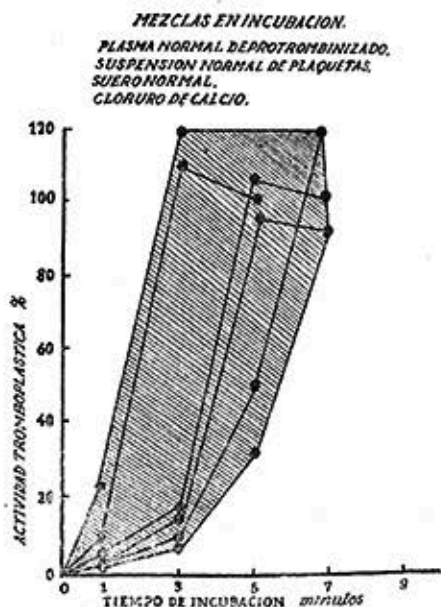


FIG. 3.—Generación de trombotastina en niños normales; resultados típicos de 4 determinaciones separadas y rango normal en 20 niños.

y el rango normal en 4 niños. Ella demuestra que normalmente al menos el 90% de la actividad trombotástica es lograda a los 7 minutos de incubación. La prueba de generación de protrombina con plasma, plaquetas y suero de un paciente sospechoso y un sustrato normal resulta un método muy sensible para identificar las alteraciones de la fase I.

El siguiente caso ejemplifica el uso de la prueba de generación de trombotastina para demostrar un defecto de la fase I:

Ejemplo 3.—El paciente era un muchacho de 17 años que ingresó por presentar una gran hematoma intramuscular del muslo derecho. Sus antecedentes eran significativos: había presentado fáciles equimosis y sangramiento después de amigdalectomía y algunas extracciones dentarias practicadas durante la niñez.

Pruebas de coagulación: tiempo de sangramiento, 4 min.; tiempo de coagulación, 7 min.; retracción del coágulo, normal; conteo de plaquetas, 200.000 mm³; fibrinógeno del plasma 300 mg/100 cc; tiempo de protrombina del plasma, 13.2 seg. (control 12.5 seg.); tiempo de protrombina del suero, 47 seg.

Interpretación: los resultados de todas las pruebas fueron normales, incluyendo el tiempo de consumo de protrombina. A causa de los antecedentes significativos, sin embargo, se practicó una prueba de generación de protrombina, que reveló un déficit en la fase I, es decir que la formación de trombotastina en el paciente fue de solo el 45% de la normal, (fig. 4).

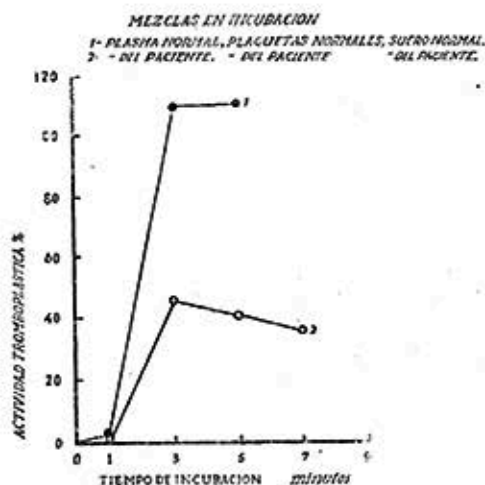


FIG. 4.—Prueba de generación de tromboplastina demostrativa de una anomalía en la fase I; la incubación de plasma deprotrombinizado, suspensión de plaquetas y suero con cloruro de calcio del paciente originó una actividad tromboplastica de sólo el 45% de la normal en su máximo.

Como en la prueba de consumo de protrombina, la prueba de generación de protrombina solo demuestra una anomalía en la fase I, pero no identifica el defecto específico. Si se usan otros pasos adicionales entonces la prueba se hará muy específica (ver fig. 9)

Determinación de déficits específicos

El diagnóstico del déficit específico en cada fase de la coagulación tiene interés no solo teórico sino que es además de importancia pronóstica y terapéutica. Así, un defecto de la fase II requiere métodos que identifiquen los déficits de protrombina factor lábil y factor estable; y las anomalías de la fase I requieren estudios que determinen los déficits de GAH, CTC, ATP y de plaquetas. Para establecer déficits específicos se siguen las dos reglas generales siguientes:

1) Proceder con el test "específico de fase", que da un resultado anormal y determina el factor que transformará el resultado anormal en normal. Así, en el caso de un defecto de la fase II comenzamos con el tiempo de protrombina anormal y proseguimos para determinar cuáles factores del complejo protrombínico producirán la corrección. En los defectos de la fase I se puede utilizar el tiempo de coagulación, el consumo de protrombina, la prueba de generación de protrombina, solos o en combinaciones, dependiendo de qué procedimiento sea el que demuestre la alteración.

2) Poner en el sistema todos los factores de la coagulación en exceso, exceptuando aquél que se está investigando.

Si tenemos disponibles pacientes previamente diagnosticados de defectos específicos de la coagulación entonces el medio más sencillo de abordar el diagnóstico es, por lo tanto, determinar el efecto corrector que hace la sangre del paciente en estudio sobre la del sujeto ya identificado. Tal situación, aunque muy deseable, es raramente obtenible. Sin embargo, con uno de los "reactivos" descritos antes puede demostrarse la mayoría de los déficits sin recurrir a un panel de sangres conocidas. Estos reactivos, hechos a partir de sangre normal, pueden ser preparados de manera sencilla en cualquier laboratorio. La distribución de los distintos factores de la coagulación en el plasma total, plasma absorbido y suero, permite la realización de las pruebas para el diagnóstico diferencial.

Diagnóstico de los déficits de la fase II.—El tiempo de protrombina en una etapa anormal sirve como "working test", pudiendo indicar el déficit de

uno de los 3 factores del complejo protrombínico. El plasma deprotrombinizado contiene solo el factor lábil, mientras el suero solo contiene el factor estable (tabla I) y por lo tanto si se mezcla el plasma del paciente con plasma deprotrombinizado, se reduce el tiempo de protrombina: el paciente carece de factor lábil. Por otra parte, si el tiempo de protrombina resulta disminuido por la adición de suero, ello indica que el paciente carece del factor estable. Si no se logra corrección alguna al añadir ambos reactivos, entonces tendrá el paciente un déficit de la protrombina misma. Obviamente estas mezclas introducen factores de dilución, por lo que el plasma normal de control deberá ser siempre tratado exactamente igual que el plasma a determinar. El uso de estos métodos se ilustra en los siguientes casos:

Ejemplo 4.—La paciente es una niña de 21 meses de edad que había presentado equimosis fáciles durante los primeros 9 meses de la vida. Y a la edad de 1 año tuvo numerosas epístaxis, hemorragias prolongadas por heridas de la lengua, labios y piel, y rezumamiento prolongado de sangre de las encías durante la erupción de los dientes temporales.

Pruebas de coagulabilidad: tiempo de sangramiento, más de 20 minutos; tiempo de coagulación, 30 min.; retracción del coágulo, normal; conteo de plaquetas, 300.000/mm³; fibrinógeno, 300 mg., 100 ml. de plasma; tiempo de protrombina, 41 seg. (control 13 seg.)

Interpretación: el tiempo de sangramiento, el tiempo de coagulación y el tiempo de protrombina son anormales.

El tiempo de protrombina en una etapa prolongado en presencia de concentración normal de fibrinógeno indica un defecto de la fase II. Tests adicionales (factor lábil, factor estable) son necesarios para determinar el déficit específico.

Prueba para el factor lábil.—Como demuestra la tabla 3, la adición de 9 partes de plasma deprotrombinizado a 1 parte de plasma del paciente (ej. 4) redujo el tiempo de protrombina de 41 a 29 seg. Así, mientras el tiempo de protrombina del plasma no diluido era marcadamente más largo que el normal, si se diluye el plasma al 1 × 10 con un reactivo conteniendo el factor lábil pero no protrombina o factor estable, se reduce el tiempo de protrombina de la mezcla al rango de control normal. Esto demuestra que el paciente carecía de factor lábil pero además que tenía una concentración adecuada de protrombina y de factor estable.

Un método sencillo adicional puede ser utilizado para determinar el factor lábil: en el plasma oxalotado dejado en almacenaje se pierde rápidamente el factor lábil, mientras que el factor estable y la protrombina se mantienen en alta concentración. El tiempo de protrombina en una etapa del plasma almacenado se hará progresivamente prolongado debido a la pérdida del factor lábil. Si el plasma que contiene cantidades normales del factor lábil se le agrega al plasma envejecido, entonces el tiempo de protrombina volverá a la normal. Así, en efecto, sirve como método para determinar la capacidad del factor lábil en un paciente sospechoso.

Tabla 3.—Prueba para el factor lábil (Ej. 4)

Plasma del paciente, ml	0.1	0.1	0	0
Plasma normal, ml	0	0	0.1	0.1
Plasma normal deprotrombinizado, ml	0	0.9	0	0.9
Tiempo de protrombina, seg.	41	29	14	24

La tabla 4 nos muestra los resultados de este método en el ejemplo 4. Puede parecer que mientras el plasma normal deprotrombinizado reducía el tiempo de protrombina prolongado del plasma envejecido, el plasma del paciente no demostraba tal efecto: el plasma del paciente, pues, no contenía factor lábil.

Ejemplo 5.—El paciente era un niño de 3 años que había sangrado profusamente de las encías al brotar los dientes temporales a los 5 meses de edad; al año de edad se le puso una inyección de penicilina que fue seguida de un gran equimosis en la región glútea y durante los 2 años siguientes se le ob-

servaron grandes equimosis en el tronco y extremidades al menor traumatismo.

Pruebas de coagulabilidad: tiempo de sangramiento, 10 min.; tiempo de coagulación, 12 min.; retracción del coágulo, normal; conteo de plaquetas, 370.000/mm³; fibrinógeno, 350 mgr./100 centímetro cúbico de plasma; tiempo de protrombina, 90 seg.

Interpretación: como en el caso 4 el tiempo de protrombina en una etapa marcadamente prolongada indica un déficit de la fase II y se requieren estudios adicionales para demostrar el déficit específico.

Tabla 4.—Prueba para el factor lábil (Ej. 4)

Plasma normal envejecido, ml	0.9	0.9	0.9
Plasma normal de protrombinizado, ml	0	0.1	0
Plasma del paciente de protrombinizado, ml	0	0	0.1
Solución salina normal, ml	0.1	0	0
Tiempo de protrombina, seg.	40	24	39

La prueba para el factor lábil, en contraste con los resultados del ej. 4, demostró que la adición de plasma deprotrombinizado al plasma del paciente hizo que el tiempo de protrombina empeorase (Tabla 5). Así, el ej. 5 no tiene déficit de factor lábil sino que puede estar deficiente sea en factor estable, sea en protrombina. El paso siguiente a realizar será, por lo tanto, una prueba para factor estable.

Por la tabla 6 puede verse que la adición de suero normal, un reactivo que contiene factor estable pero no protrombina o factor lábil, originó una marcada corrección del tiempo de protrombina. Si el paciente estuviera deficiente en protrombina misma, la adición del plasma deprotrombinizado y de suero no produciría una mejoría significativa en el tiempo de protrombina.

Tabla 5.—Prueba para el factor lábil (Ej. 5)

Plasma del paciente, ml	0.1	0.1	0	0
Plasma normal, ml	0	0	0.1	0.1
Plasma normal deprotrombinizado, ml	0	0.9	0	0.9
Tiempo de protrombina, seg.	90	180	14	23

Tabla 6.—Prueba para el factor estable (Ej. 5)

Plasma del paciente, ml	0.5	0.5
Sol. salina normal, ml	0.5	0
Suero normal, ml	0	0.5
Tiempo de protrombina, seg.	120	16

Las pruebas anteriores son simples, pero sólo de valor cualitativo. Se han descrito métodos más elaborados para la determinación cuantitativa de la protrombina y de las concentraciones de los factores lábil y estable.

Los estados deficitarios de los factores del complejo protrombínico pueden ser congénitos en su origen o pueden ser adquiridos en distintos estados patológicos. Los ejemplos 4 y 5 representan, respectivamente, casos de déficit congénito del factor lábil o parahemofilia y déficit congénito del factor estable que han sido estudiados en el laboratorio que dirige el Dr. Schulman. Aunque la hipoprotrombinemia congénita puede ocurrir sin duda, algunos casos reportados son difíciles de valorar puesto que la significación de los distintos componentes del complejo protrombínico no fue determinada.

Los déficits combinados de los 3 componentes del complejo de protrombina son hallados frecuentemente en las alteraciones del parénquima hepático, tal

como sucede en las hepatitis y las cirrosis. La vitamina K se necesita para la síntesis normal de la protrombina y del factor estable, pero aparentemente no para la formación del factor lábil, y así, los déficits combinados de protrombina y de factor estable pueden ocurrir cuando el aporte dietético es inadecuado o la absorción está alterada, como en la enfermedad celiaca, diarrea, malformaciones gastrointestinales o en la obstrucción biliar. El déficit del factor lábil ha sido reportado en la sepsis, leucemia, varios neoplasmas, después de la exanguino-transfusión y en los estados post-operatorios.

La enfermedad hemorrágica del recién nacido resulta de un déficit combinado de protrombina y factor estable. Las concentraciones de ambos factores son bajas al nacimiento y descienden bruscamente durante las primeras 48 horas de la vida post-natal. Una elevación espontánea ocurre entonces, recuperándose la actividad protrombínica inicial del plasma en 7 ó 10 días. De los dos factores afectados, las alteraciones en

las concentraciones del factor estable parecen ser más relativamente significativas en la patogenia de la enfermedad hemorrágica del recién nacido. La administración profiláctica de vitamina K evitará bastante la caída del nivel de protrombina y el de las concentraciones de factor estable; terapéuticamente, la vitamina K promoverá una elevación de la actividad protrombínica del plasma dentro de 4 a 6 horas.

Diagnóstico de los déficits de la fase I.

—En la mayoría de los casos, un defecto en la fase I que sea debido a anomalías plaquetarias se demuestra enseguida por el conteo de plaquetas, tiempo de sangramiento anormal y retracción anormal del coágulo. La mayor dificultad consiste en diferenciar los déficits de GAH, CTP y ATP. La facilidad en la diferenciación varía directamente con la intensidad de la alteración; casos que presenten una alteración grave de la coagulación pueden distinguirse utilizando métodos relativamente fáciles, mientras aquellos que tienen defectos ligeros requerirán procedimientos más elaborados. Como en los déficits de la fase II, las pruebas más frecuen-

temente usadas dependerán de la corrección del test anormal del paciente por medio de reactivos cuyo contenido sea conocido.

Los "reactivos normales" precedentemente descritos pueden ser empleados en algunos casos, y como se demuestra por la tabla 1, el plasma normal contiene GAH, ATP y CTP; el plasma deprotrombinizado contiene GAH y ATP; el suero contiene CTP y ATP. Los efectos esperados de estos tres agentes en la diferenciación de los déficits de la primera fase se ofrecen en la tabla 7. La prueba usada para demostrar la corrección, sin embargo, varía con la intensidad del proceso. En los pacientes con tiempo de coagulación de la sangre completa muy prolongado, puede usarse la prueba para valorar la capacidad de corrección de los antedichos reactivos. Por otra parte, si el tiempo de coagulación es cercano a la normal, la corrección de esta medida no es lo suficientemente definitiva, y el efecto de los anteriores reactivos sobre el consumo de protrombina deberá ser valorado. Si tanto el tiempo de coagulación como el consumo de protrombina son normales, el tipo de

Tabla 7.—Efecto del plasma normal, Plasma normal deprotrombinizado y suero normal sobre las anomalías de coagulación en caso de déficits de GAH, CTP y ATP

Reactivo añadido al plasma del paciente	Déficit		
	GAH	CTP	ATP
Plasma normal	Corrección	Corrección	Corrección
Plasma normal absorbido	Corrección	No corrección	Corrección
Suero normal	No corrección	Corrección	Corrección

prueba de corrección resulta generalmente inadecuado y deberá usarse el test de generación de protrombina.

El caso siguiente ilustra el uso de los métodos de corrección que identifican los déficits de los distintos precursores tromboelastínicos del plasma:

Ejemplo 6.—El paciente era un niño de 2 años de edad con historia de grandes equimosis que se formaban al menor traumatismo desde los 7 meses de edad.

Prueba de coagulación: tiempo de sangramiento, 3 minutos; tiempo de

coagulación, 27 minutos; plaquetas, 250.000/mm³; tiempo de protrombina del plasma, 14 seg.; tiempo de protrombina del suero, 12 seg.

Interpretación: Las pruebas demuestran un tiempo de coagulación prolongado, tiempo de protrombina del plasma, normal; y consumo de protrombina marcadamente alterado, colocándose así el defecto en la fase I de la coagulación, necesitándose por lo tanto las pruebas adicionales adecuadas.

La prueba para los factores de la fase I de la coagulación (tabla 8) demostró que el tiempo de sangramiento pro-

Tabla 8.—Prueba para los factores de la Fase I de la coagulación (Ej. 6)

Sangre del paciente, ml	2.0	2.0	2.0	2.0
Sol. salina	0.2	0	0	0
Plasma normal	0	0.2	0	0
Plasma normal deprotrombinizado	0	0	0.2	0
Suero normal	0	0	0	0.2
Tiempo de coagulación, min.	30	9	9	24
Tiempo de protrombina del suero, seg.	12	35	35	12

longado y el consumo de protrombina también prolongado que tenía el paciente resultaban completamente corregidos por el plasma normal y por el plasma normal deprotrombinizado, pero no por el suero: el paciente tenía, por lo tanto, hemofilia (déficit de GAH). La ligera corrección del tiempo de coagulación producida por el suero es inespecífica y demuestra por qué el método anterior no se puede usar cuando el tiempo de coagulación esté solo mínimamente prolongado.

A veces resulta difícil trabajar con mezclas de sangre total, por lo que po-

drán realizarse los estudios de corrección de modo similar utilizando plasma.

Análogo al tiempo de coagulación de la sangre total, pero más sensible, es el *tiempo de recalcificación*, que mide el tiempo de coagulación del plasma que ha sido recalcificado añadiéndole Cl₂Ca. El tiempo de recalcificación se determina después de mezclar cantidades iguales de plasma y sol. 0.025 M de Cl₂Ca a 37° C, siendo el rango de los valores normales entre 90 y 180 segundos. La técnica de recalcificación permite una realización más cómoda de las pruebas, su repetición, y, en general, un mejor

control. El uso de este método en el ejemplo 6 (tabla 9) mostró que el plasma normal y el plasma normal deprotrombinizado producían normalidad

completa, mientras que el suero producía solo ligera corrección, observándose también el ligero efecto inespecífico del suero.

Tabla 9.—Prueba para los factores de la Fase I de la coagulación (Ej. 6)

Plasma del paciente, ml	0.4	0.3	0.3	0.3
Plasma normal	0	0.1	0	0
Plasma deprotrombinizado	0	0	0.1	0
Suero	0	0	0	0.1
Cl ₂ Ca	0.4	0.4	0.4	0.4
Tiempo de recalcificación, seg.	480	140	160	300

Si los pacientes con déficits conocidos de los distintos precursores de la tromboplastina del plasma son procurables, pueden entonces realizarse los experimentos de corrección utilizando mezclas de la sangre o del plasma del paciente con los de los enfermos conocidos. Ejemplo 7 es una ilustración de esa prueba.

Ejemplo 7.—El paciente era un niño de un año de edad que presentaba facilidad para los equimosis desde los 6 meses.

Pruebas de coagulabilidad: Tiempo de sangramiento, 5 min.; tiempo de coagulación, 110 min.; tiempo de recalcificación 840 seg.; tiempo de protrombina

del plasma, 13.5 seg.; tiempo de protrombina del suero, 12.2 seg.; plaquetas 220.000/mm³.

Interpretación: el tiempo de coagulación prolongado y el consumo de protrombina anormal indican un déficit de la fase I. La prueba de corrección (tabla 10) mostró que los defectos del paciente en el tiempo de recalcificación y en el consumo de protrombina eran corregidos completamente por el plasma conocido deficiente en CTP pero no por el plasma deficiente en GAH. El paciente tenía por tanto hemofilia clásica (déficit de GAH).

Como se describe previamente, la prueba de la generación de tromboplas-

Tabla 10.—Prueba para los factores de la fase I de la coagulación (Ej. 7)

Plasma del paciente, ml	0.4	0.3	0.3	0	0
Plasma deficiente en GAH, ml	0	0.1	0	0.4	0
Plasma deficiente en CTP, ml	0	0	0.1	0	0.4
Cl ₂ Ca 0.025 M, ml	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
Tiempo de recalcificación, seg.	840	810	150	780	1,740
Tiempo deprotrombina del suero, seg.	14.0	14.0	39.2	15.2	12.0

tina se realiza incubando plasma deprotrombinizado, plaquetas y suero, los que juntos contienen todos los factores de la fase I necesarios para la formación de tromboplastina. Sustituyendo en el sistema normal los reactivos individuales del paciente, resulta posible la diferenciación de los déficits de GAH, CTP y ATP. Este método hace también posible la identificación cualitativa de las anomalías plaquetarias.

Los resultados obtenidos en casos típicos de marcado déficit en GAH, déficit en CTP, déficit en ATP y trombostenia se demuestran en las figs. 5 al 8, siendo de notar los siguientes puntos esenciales:

1) En el déficit de GAH, la generación de tromboplastina resulta anormal cuando se coloca en el sistema el plasma deprotrombinizado del paciente (fig. 5).

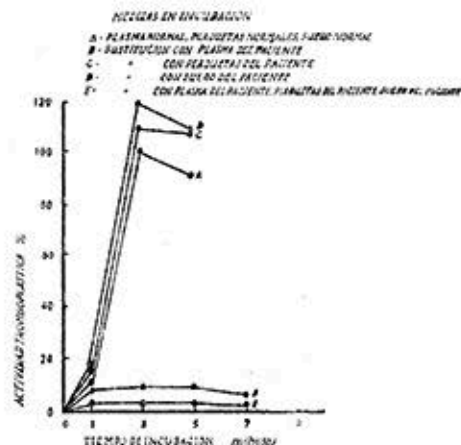


FIG. 5.—Caso 8. La prueba de la generación de tromboplastina indica déficit de GAH. El paciente era un niño de 18 meses que sangraba profusamente por la lengua y el frenillo lingual después de una caída; las pruebas de coagulación demostraron un tiempo de coagulación marcadamente prolongado y escaso consumo de protrombina; las pruebas de generación de protrombina, con los reactivos del paciente (curva E), confirmaron la existencia de un defecto en la fase I; la generación anormal cuando se sustituye por plasma del paciente un sistema normal (curva C) indica el déficit de GAH.

2) En el déficit de CTP, la generación de tromboplastina resulta anormal cuando se coloca en el sistema el suero del paciente (fig. 6).

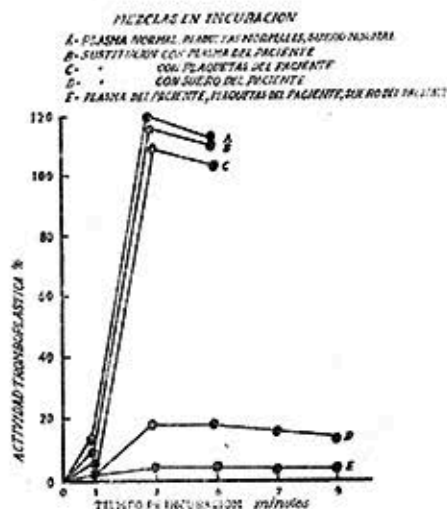


FIG. 6.—Caso 2. La prueba de generación de tromboplastina en caso de déficit de CTP. El paciente tenía un tiempo de coagulación marcadamente prolongado y un consumo de protrombina escaso, indicando defecto en la fase I; la curva E lo confirma; el test de generación de tromboplastina anormal cuando se sustituye con suero del paciente el sistema normal (curva D), indica déficit de CTP.

3) En el déficit de ATP, la generación de tromboplastina resulta anormal cuando se colocan en el sistema tanto el plasma deprotrombinizado como el suero del paciente, puesto que tanto el suero como el plasma normal contienen ATP. Así, el plasma del paciente más el suero normal ofrecen resultados normales al igual que cuando se añade el plasma normal al suero del paciente (fig. 7).

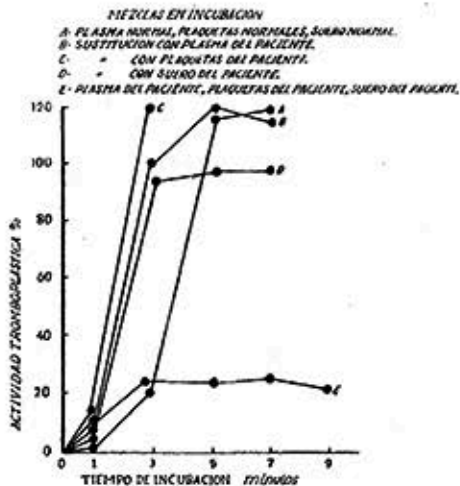


FIG. 7.—Caso 9. La prueba de generación de tromboplastina en caso de déficit de ATP. El paciente era una niña de 2 años con antecedentes de fáciles equimosis y sangramiento de las encías; la madre y 2 hermanos sangraban excesivamente después de las extracciones dentarias. Las pruebas de coagulación descubrieron tiempo de coagulación mínimamente prolongado (12 min.) y consumo de protrombina ligeramente alterado (20 seg.) La prueba de generación de tromboplastina con los reactivos del paciente (curva E), confirmaron la existencia de un defecto en la fase I; la corrección de esta anomalía por la sustitución con plasma o suero normal en el sistema indica el déficit de ATP.

4) En la trombostenia, resulta un déficit en la generación de tromboplastina anormal cuando se colocan en el sistema las plaquetas del paciente (figura 8).

La prueba de la generación de la tromboplastina tiene gran valor en aquellos casos de déficit ligero de los factores de la fase I en los que el tiempo de coagulación y el consumo de protrombina pueden ser anormales, excluyendo

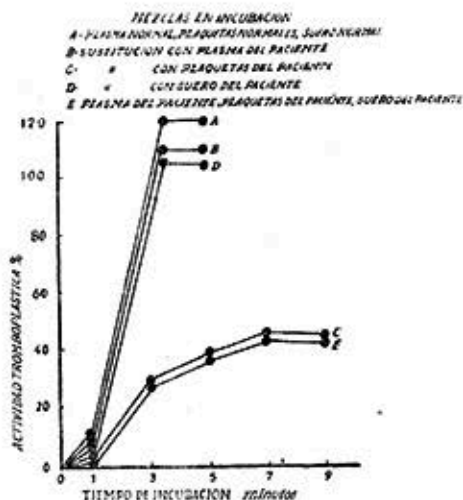


FIG. 8.—Prueba de generación de tromboplastina en caso de trombostenia (ejemplo hipotético): resultados anormales deberán presentarse cuando se usen reactivos del paciente (curva E), y también cuando se sustituye con plaquetas del paciente el sistema normal (curva C).

así los tests de corrección. Las figs. 9, 10 y 11 muestran ejemplos de déficits ligeros de GAH, CTP y ATP.

Los déficits de GAH, CTP y ATP son más frecuentemente de origen congénito. La hemofilia clásica y los déficits de CTP (también llamado *enfermedad de Christmas* y *hemofilia B*) se transmiten como mendelianos recesivos, ligados al sexo, y por tanto solo ocurren en los varones. El déficit de ATP, por otra parte, se transmite como mendeliano dominante y ocurre en ambos sexos. En teoría, la hemofilia clásica y el déficit en CTP pueden ocurrir en las hembras como resultado del matrimonio entre un varón enfermo y una hembra portadora. Se han reportado casos de hemofilia aparentemente verdadera en mujeres. Muy recientemente, sin embargo, se ha hecho aparente que pueda ocurrir un tipo de déficit congénito de globulina antihemofílica en ambos sexos, aparentemente transmitido como rasgo mendeliano domi-

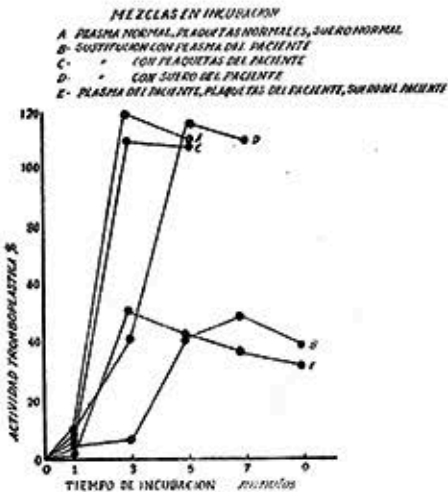


FIG. 9.—Caso 3. Prueba de generación de tromboplastina en caso de déficit ligero de GAH; resultados anormales con reactivos del paciente y también con la sustitución por plasma del paciente en el sistema normal.

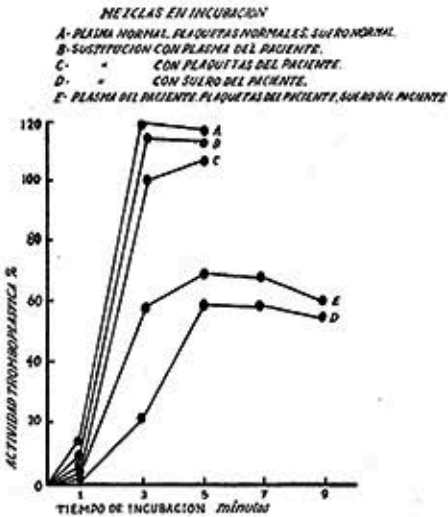


FIG. 10.—Prueba de generación de tromboplastina en caso de déficit ligero de CTP. El paciente era un niño de 16 años con hemorragia prolongada después de la extracción dentaria. Ninguna de las otras pruebas, incluyendo consumo de protrombina, reveló anomalía; el resultado de la prueba de generación de tromboplastina con los reactivos del paciente fue anormal, como también cuando se sustituía con suero del paciente el sistema normal.

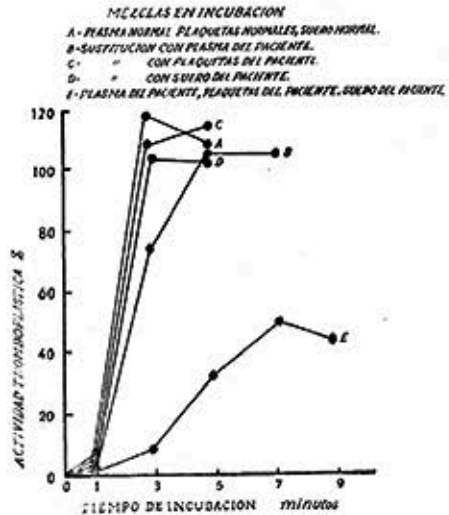


FIG. 11.—Caso 11. La prueba de generación de tromboplastina en caso de déficit ligero de ATP. El paciente era un niño de 7 años con hemorragia incontrolable después de la amigdalectomía. Las pruebas de coagulación revelaron una ligera disminución del consumo de protrombina (22 seg.) la generación anormal de tromboplastina ocurrió con los reactivos del paciente, indicando defecto en la fase I; ausencia de alteración al sustituir individualmente con plasma, plaquetas y suero del paciente el sistema normal indicó déficit de ATP.

nante. Los pacientes afectados presentan un diátesis hemorrágica definida y a veces grave, con equimosis, epistaxis y hemorragias a consecuencia de intervenciones quirúrgicas como manifestaciones más frecuentes. Al examen de laboratorio, sin embargo, el cuadro predominante es el de un largo tiempo de sangramiento, mientras el tiempo de coagulación es generalmente normal y el consumo de protrombina solo ligeramente defectuoso. El estudio de estos pacientes ha revelado 2 defectos: 1) una anomalía funcional y morfológica de los capilares, explicándose así la prolongación del tiempo de sangramiento; y 2) déficit en GAH, lo cual se demuestra mejor por el test de la generación de

tromboplastina. El déficit en GAH es menos intenso que en la hemofilia clásica, lo cual explica los tiempos de sangramiento normales, pero es lo suficientemente severo para causar marcada anomalía en la coagulación. Este grupo de pacientes ha sido separado de la clasificación de la "seudohemofilia" o de la enfermedad de von Willebrand, un grupo caracterizado por tendencia a las hemorragias en los cuales el único hallazgo consistente es el de un prolongado tiempo de sangramiento, habiéndose demostrado por trabajos recientes que el síndrome de von Willebrand debe ser dividido en dos grupos: el primero presentando solo la anomalía capilar pero sin defecto en la coagulación, el segundo presentando ambas cosas: anomalía capilar y déficit en GAH. Este último grupo, denominado *hemofilia vascular*. La identificación de los dos grupos tienen implicaciones terapéuticas importantes. El ejemplo 12 es característico de hemofilia vascular.

Ejemplo 12.—La paciente era una niña negra de 11 años, la cual a la edad de 7 meses manifestó sangramiento abundante de la lengua, teniendo que ser hospitalizada 3 veces por epístaxis espontáneas graves y dos veces por sangramiento persistente después de avulsión dentaria. Sufrió además de marcadas equimosis al más ligero trauma y en una ocasión presentó un gran hematoma intramuscular en el muslo, que luego hubo de calcificarse.

Pruebas de coagulación: tiempo de sangramiento, 30 min.; tiempo de coagulación, 8 min.; retracción del coágulo, normal; prueba del torniquete, negativa; conteo de plaquetas, 350.000/mm³; fibrinógeno, 300 mg./100 c.c. de plasma; tiempo de protrombina del plasma, 13.5 seg.; tiempo de protrombina del suero, 16 seg.

Interpretación: la anomalía más importante consiste en la marcada prolongación del tiempo de sangramiento. El conteo de plaquetas, la retracción del coágulo, el test del torniquete, sin embargo, son normales. Las fases III y II son normales, como lo indica la concentración de fibrinógeno y el tiempo de protrombina normales respectivamente. Hay una anomalía definida del consumo de protrombina, indicando anomalía de la fase I.

La prueba de la generación de protrombina (fig. 12) confirma la presen-

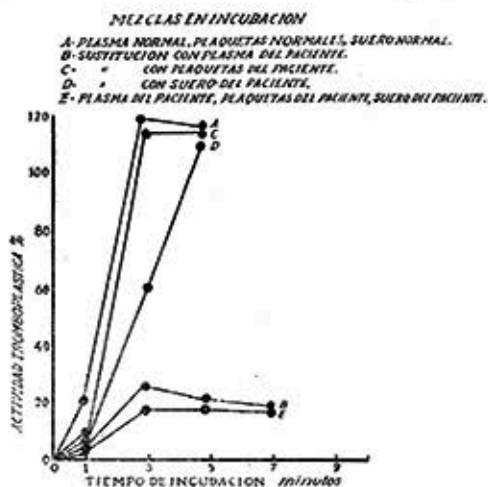


FIG. 12.—La prueba de generación de tromboplastina en la hemofilia vascular: la generación anormal ocurrió con los reactivos del paciente y también con la sustitución por plasma del paciente en el sistema normal; los resultados demostraron defecto en la fase I e indicaron déficit de GAH.

cia de una anomalía de la fase I y demuestra que el factor deficiente es uno que debería estar normalmente presente en el plasma deprotrombinizado. Un resultado anormal de la prueba de generación de protrombina cuando se

coloca el plasma del paciente en el sistema normal sugiere un déficit de GAH. Que el factor en déficit en esta paciente era efectivamente la GAH se demuestra por el fallo del plasma del paciente para corregir el test de generación de tromboplastina, anormal en la hemofilia clásica (fig. 13). La paciente tenía un tiem-

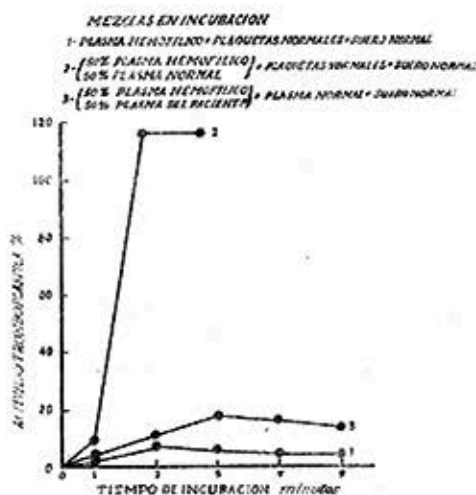


FIG. 13.— Caso 12. Demostración de déficit de GAH en la hemofilia vascular. Generación normal de tromboplastina con la mezcla de plasma normal con plasma hemofílico (curva 2); la mezcla de plasma del paciente con plasma hemofílico (curva 3), no logró corregir la generación anormal de tromboplastina de la hemofilia clásica (curva 1).

po de sangramiento marcadamente prolongado, lo cual no ocurre en la hemofilia clásica, y la microscopía capilar reveló las anomalías morfológicas mencionadas antes: la paciente padecía, pues, de un déficit de GAH, combinado con una anomalía vascular.

Como se demostró por los casos de las figuras 9, 10 y 11, pueden ocurrir déficits ligeros de GAH, CTC y ATP, lo cual constituye por ahora un serio problema, puesto que los pacientes afectados por ellos pueden presentar manifestaciones severas y significativas solo después de traumatismos o intervencio-

nes quirúrgicas. Métodos de eliminación sencillos y confiables no se hallan todavía en uso, por lo que el diagnóstico resulta amenudo difícil. Resulta evidente de las experiencias más recientes que su incidencia es probablemente mucho mayor de lo que antes se había sospechado, y por ahora el mejor test de eliminación consiste en una historia cuidadosamente obtenida por el médico, y es de esperarse que en un futuro no lejano podamos disponer de métodos más simples para el despistaje pre-operatorio.

Anticoagulantes circulantes

Como ya se dijo antes existen normalmente en la sangre sustancias anticoagulantes normales que contribuyen al mantenimiento de la fluidez de la misma. En distintos estados patológicos, sin embargo, pueden aparecer anticoagulantes circulantes capaces de producir una diátesis hemorrágica severa. Una prueba eliminadora para determinar la existencia de anticoagulantes se hace fácilmente y debería formar parte de un estudio completo de la coagulación. Los pacientes que tienen anticoagulantes circulando presentan usualmente tiempos de coagulación y de recalcificación prolongados. El fundamento de la prueba consiste en que en cualquier estado de déficit, el plasma total normal producirá su corrección mientras que en presencia de un anticoagulante la sangre o el plasma del paciente prolongará su tiempo de coagulación normal. La prueba de exclusión consiste en mezclar varias proporciones de la sangre o del plasma del paciente con sangre o plasma normal y determinar el tiempo de coagulación o

de recalcificación de las mezclas. El uso de esta prueba para demostrar la pre-

sencia o ausencia de anticoagulantes circulantes se muestra en las tablas 11 y 12.

Tabla 11.—Prueba para los anticoagulantes circulantes

(Anticoagulante ausente)

Sangre total

Sangre normal, ml	0	0.4	0.8	1.2	1.6
Sangre del paciente, ml	1.6	1.2	0.8	0.4	0
Tiempo de coagulación, min.	80	5	5	5	5

Plasma

Plasma normal, ml	0	0.1	0.2	0.3	0.4
Plasma del paciente, ml	0.4	0.3	0.2	0.1	0
Cl ₂ Ga 0.025 M, ml	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
Tiempo de recalcificación	1500	135	135	130	130

Tabla 12.—Pruebas para los anticoagulantes circulantes

(Anticoagulantes presentes)

Plasma normal, ml	0.4	0.3	0.2	0.1	0
Plasma del paciente, ml	0	0.1	0.2	0.3	0.4
Cl ₂ Ca 0.025 M, ml	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
Tiempo de recalcificación	170	285	335	445	840

La tabla 11 muestra que mientras la sangre o el plasma del paciente solo presentan un tiempo de coagulación marcadamente prolongados, la adición de pequeñas cantidades de sangre normal produce una rápida corrección. En efecto, incrementando la sangre del paciente hasta una proporción de 75 por ciento de

la mezcla total aquella falla en prolongar el tiempo de coagulación de la sangre normal. La tabla 12 muestra que ninguna mezcla de plasma normal y del paciente aún con 75 por ciento de plasma normal en la mezcla logra un tiempo normal de recalcificación. Aumentando las proporciones del plasma del paciente con relación al plasma normal

lo que se logra es un aumento de la anormalidad del tiempo de coagulación.

Factores vasculares

Es obvio que la discusión de la nemostasis no puede ser limitada solamente a la coagulabilidad de la sangre sino que debe incluir la consideración de los vasos sanguíneos mismos. Los factores vasculares de la hemostasis son sin duda de gran importancia, pero son poco comprendidos y difíciles de medir. Algunos de los desórdenes de la coagulación tienen un componente vascular obvio, siendo el más característico el que presenta disfunciones plaquetarias, en las cuales resulta prominente un tiempo de sangramiento prolongado y una prueba del lazo positiva. Uno de los factores plaquetarios parece hallarse de modo definido en relación con la contractilidad vascular, habiéndose demostrado una alteración de la contractilidad vascular en los estados trombocitopénicos. Clínicamente puede verse en los déficits plaquetarios una disociación entre las funciones tromboplásticas y las vasculares de las plaquetas, lo cual se pone de manifiesto con la vuelta a la normal del tiempo de sangramiento después de practicada la esplenectomía, antes de que tenga lugar la elevación del número de plaquetas. Los efectos beneficiosos de cortisona y de la ACTH en el componente vascular cuando se trata de trombocitopenia les confiere un gran valor terapéutico aún cuando resulte infrecuente la remisión del déficit plaquetario después de su administración.

Una segunda alteración en que se encuentran combinados un defecto de coagulación y uno vascular es el que se conoce como hemofilia vascular. En esta alteración coexiste el déficit de GAH con una anormalidad vascular morfológica y funcional. Si se emplean las pruebas de rutina, el fenómeno vascular pa-

rece predominante puesto que un tiempo de sangramiento prolongado está siempre presente mientras el tiempo de coagulación de la sangre total es normal, como normales son también las demás pruebas de coagulación de rutina.

Hay otros procesos de la coagulación que tienen aspectos vasculares sugestivos, aunque no tan claramente demostrables como en la trombocitopenia y en la hemofilia vascular. Por ejemplo: los déficits del complejo de protrombina no son infrecuentemente acompañados por un tiempo de sangramiento prolongado. Algunos autores, además, creen que las alteraciones vasculares pueden existir también en la hemofilia clásica, explicando así ciertas hemorragias aparentemente espontáneas a intervalos periódicos o cíclicos.

Finalmente, un gran grupo de alteraciones hemorrágicas permanecen al presente relacionadas solo con defectos vasculares, sin evidencia de modificaciones de la coagulación. Entre estas se hallan la pseudoemofilia (o síndrome de von Willebrand con coagulación normal), la púrpura de Henoch Schönlein, la telangiectasia hemorrágica hereditaria, el síndrome de Ehlers Danlos, el escorbuto, sepsis, uremia, hipertensión, diabetes y ciertos casos de epistaxis familiar. Estas no se discutirán aquí, pero es bueno subrayar que el diagnóstico de alteración vascular pura se justifica solo cuando el status de coagulación ha sido demostrado ser normal.

Aspectos genéticos

El modo de heredarse algunas de las alteraciones hemorrágicas congénitas están todavía lejos de haberse aclarado. En varios de dichos procesos no existen datos suficientes para establecer un patrón genético definido. La demostración de que un gene es dominante requiere

usualmente la identificación del defecto en uno de los padres; para un proceso recesivo ambos padres deben ser normales.

Con los últimos refinamientos de las técnicas de coagulación se ha hecho evidente que ciertos déficits menores previamente inaparentes pueden ser perfectamente despistados. Así, un padre que pueda haber sido considerado normal mediante ciertas pruebas puede manifestar perfecta anormalidad con otras pruebas, y bajo tales circunstancias el modo aparente de transmisión genética sería dominante más bien que recesivo. Estudios recientes han sugerido además que el "testing" adecuado de pacientes con genes "recesivos" puede poner de manifiesto alguna anormalidad, habiendo creciente evidencia de que en ciertas alteraciones congénitas hemorrágicas o de otra índole, el concepto clásico de genes dominantes y recesivos resulta inadecuado para explicar el patrón hereditario de donde el concepto de "dominancia parcial o incompleta".

Un individuo que es heterocigótico para un gene particular (por ejemplo:

tiene un gene alélico normal y otro anormal) puede ser un portador asintomático o puede tener signos mínimos de la alteración. Por otra parte, el sujeto que es homocigótico para el gene anormal, presentará la enfermedad de modo manifiesto. Tales patrones genéticos explican los distintos tipos de anemias congénitas como talasemia y los síndromes de hemoglobinas anormales. En estas alteraciones, sin embargo, las pruebas de laboratorio en uso permiten la identificación específica de la transmisión genética del padre al niño, pero en las alteraciones de la coagulación ciertas variaciones en la penetración y expresividad del gene en el heterocigote, puede hacer imposible su despistaje con las pruebas hoy disponibles, y aunque ambos padres puedan ser heterocigotes para el gene anormal, solo uno puede revelar una anormalidad, dando así la impresión de que la alteración es transmitida al niño como mendeliana dominante, aunque en realidad el niño haya recibido un gene anormal de cada uno de los padres.

En la tabla 13 están relacionados los patrones genéticos de las distintas alte-

Tabla 13.—Aspectos genéticos de las alteraciones congénitas de la coagulación

<u>Enfermedad</u>	<u>Incidencia sexual</u>	<u>Herencia</u>
Hemofilia clásica	Varones solamente	Recesiva-ligada al sexo
Déficit de CTP	Varones solamente	Recesiva-ligada al sexo
Déficit de ATP	Ambos sexos	Dominante
Hipoprotrombinemia	Ambos sexos	¿Dominante?
Déficit de factor lábil	Ambos sexos	Dominante parcial
Déficit de factor estable	Ambos sexos	Dominante
Afibrinogenemia	Ambos sexos	Dominante parcial
Hemofilia vascular	Ambos sexos	¿Dominante?
Seudohemofilia	Ambos sexos	Dominante

raciones hemorrágicas congénitas de acuerdo con la información que poseemos. La hemofilia clásica y el déficit de CTP son transmitidos como recesivos ligados al sexo. El déficit de ATP, por otra parte, parece ser heredado como mendeliano dominante. El déficit manifiesto del factor lábil parece resultar de estados homocigóticos, con el estado heterocigótico en los padres. Un patrón genético similar ha sido sugerido para la afibrinogenemia. El déficit de factor estable, como se pone en evidencia por el reporte de Owren parece ser transmitido como mendeliano dominante. En la hipoprotrombinemia vera no hay estudios disponibles para poder establecer los patrones genéticos. Son necesarios más estudios genéticos en los síndromes hemorrágicos congénitos que podrán suministrar información adicional acerca del campo creciente de los errores congénitos del metabolismo.

Clasificación

Las enfermedades hemorrágicas debidas a déficit de los factores plasmáticos de la coagulación pueden clasificarse del siguiente modo:

- I.—Déficit de los factores necesarios para la formación de tromboplastina (hemofilias).
 - A. Déficit de globulina antihemofílica (GAH)
 1. Hemofilia clásica (hemofilia A)
 2. Hemofilia leve
 3. Hemofilia vascular
 - B. Déficit del componente tromboplastínico del plasma (CTP, factor Christmas).
 1. Hemofilia B
 - C. Déficit del antecedente tromboplastínico del plasma (ATP)
 1. Hemofilia C
- II.—Déficit de los factores del complejo protrombina
 - A. Déficit de protrombina.
 - B. Déficit del factor lábil.
 - C. Déficit del factor estable.
- III.—Déficit de fibrinógeno.
 - A. Afibrinogenemia.
 - B. Hipofibrinogenemia.
 - C. Fibrinolisis excesiva.