



Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES

"CUAUTITLAN"

**ESTABLECIMIENTO DE UN PROGRAMA DE
CONTROL Y DETECCION DE HEMOFILIA "C"
Y UTILIZACION EN PACIENTES CON SANGRADOS
RECIDIVANTES**

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A

SERGIO MARTINEZ SAAVEDRA

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX.

1985



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

- C O N T E N I D O -

- I.- RESUMEN
- II.- INTRODUCCION
 - A.- HEMOSTASIS
 - B.- HEMOFILIAS "A" Y "B"
 - C.- HEMOFILIA "C". DEFICIENCIA DE FACTOR XI
- III.- OBJETIVOS
- IV.- DIFERENCIACION DE ALTERACIONES HEMOSTATICAS
- V.- PROGRAMA DE DETECCION PARA LA HEMOFILIA "C"
- VI.- ESTUDIO DE UN PACIENTE CON SANGRADOS RECIDIVANTES.
RESULTADOS
- VII.- MATERIAL Y METODOS
- VIII.- DISCUSION Y PROGRAMA DE CONTROL
- IX.- CONCLUSIONES
- X.- BIBLIOGRAFIA

R E S U M E N

En el siguiente trabajo se establece un método por medio del cual se puede diagnosticar una alteración hemostática, Hemofilia "C" (deficiencia de factor XI), partiendo inicialmente de las manifestaciones clínicas y posteriormente de los estudios de laboratorio.

Se establecen todas las técnicas para la detección de dicha Hemofilia, así como los métodos necesarios para dar un buen tratamiento y control adecuados al paciente Hemofílico.

Empleando el método anterior se estudió un paciente con diagnóstico presuntivo de Hemofilia C, en el cual se llevaron a cabo todas las técnicas necesarias para el estudio de la misma, donde se encontró sin embargo que el padecimiento no era una Hemofilia C, sino que se trataba de una alteración Hemofílica A, deficiencia de factor VIII. Se trata de un niño escolar, - el cual ha presentado sangrados recidivantes y que ha sido -- tratado previamente con plasma fresco congelado y crioprecipitados, sin tener un diagnóstico exacto de la enfermedad que padece. Con los estudios realizados en este trabajo se puede diferenciar la Hemofilia de otro tipo de alteración hemostática, siendo esta diferenciación muy importante para asegurar el bienestar del paciente.

II.- INTRODUCCION

En la sangre va implícita la vida, pues ningún ser humano puede prescindir de ella, sin embargo sufre agregaciones constantemente y los más delicados son las hemorragias. Frecuentemente el organismo sufre heridas de diferentes tipos y magnitudes que ocasionan dichas hemorragias, sin embargo no nos preocupamos lo suficiente, pues sabemos que basta con oprimir en el sitio de la herida o usando algún torniquete, damos tiempo a que tal lesión sea reparada por el propio organismo pero hay ciertas alteraciones congénitas o adquiridas que hacen que el reparado de la herida no sea adecuado y la hemorragia sea tan abundante que pueda costar la vida, como sucede con las hemofilias (1) (8).

Otro tipo de alteración que sufre la sangre circulante en el organismo, ya sea congénito o adquirido es que se coagule anormalmente, es decir, se formen trombos o coágulos, los cuales impidan el funcionamiento normal de la misma (8).

La sangre se encuentra mantenida en condiciones normales por dos sistemas fisiológicos propios del organismo, éstos son: El sistema hemostático y el sistema fibrinolítico, que se hallan en perfecto balance. El sistema hemostático está regulado por 3 mecanismos principalmente, el vascular, el plaquetario y el de coagulación plasmática (3). El sistema fibrinolítico está regulado por el mecanismo del plasminógeno-plasmina (2).

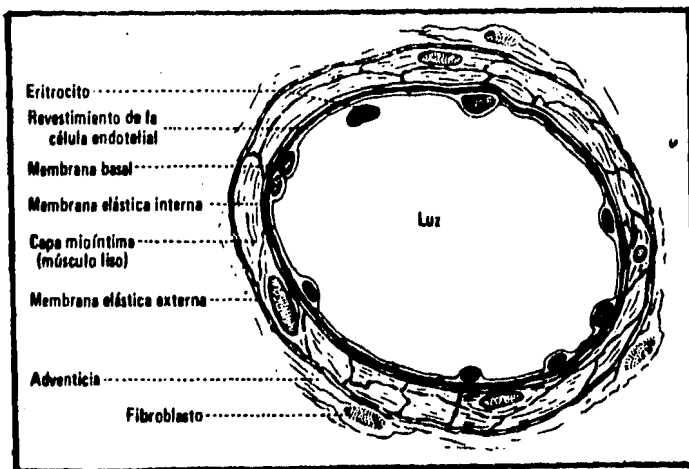
A.- Hemostasis. Es una serie de mecanismos encargados de mantener la sangre dentro de los conductos por donde ella circula y prevenir el derrame sanguíneo por una reparación rápida de cualquier ruptura vascular (3). Para lo anterior la hemostasis involucra la interacción de los siguientes mecanismos:

- 1.- Vasos sanguíneos
- 2.- Plaquetas
- 3.- Coagulación plasmática. Todo esto para formar un sello mecánico bien localizado y que subsecuentemente sea removido por el sistema 4.- Fibrinolítico, para una reparación final de la lesión. El desequilibrio en una dirección origina un sangrado o hemorragia y en la otra una trombosis (3).

1.- Vasos Sanguíneos, Estructura y Función. (14) La sangre normalmente circula dentro de un revestimiento continuo de células endoteliales, constituyendo una superficie inerte, figura 1. Estas células están dispuestas en forma de mosaico, estando separadas, aunque suficientemente adherentes para funcionar como una barrera eficaz para macromoléculas. La función del intercambio metabólico de la sangre depende de los capilares de circulación lenta y de la pared delgada de los mismos.

Los capilares están formados principalmente por células endoteliales planas (endotelio) y por una estructura fibrilar diversa (fibroblastos). Las venas y arterias tienen una estructura más compleja, están formadas por: a) Túnica interna, que incluye el endotelio formado por una membrana basal, tejido elástico y colágeno; b) Túnica media, compuestas por células del músculo liso, fibras de colágeno y fibroblastos ocasionales, y c) Túnica adventicia, que consiste en fibroblastos y fibras de colágeno. Conforme aumenta el tamaño de los vasos aparecen microfibrillas no colágenas en el subendotelio, y los componentes elásticos se condensan en una lámina elástica interna bien definida, que separa la túnica interna de la media. La nutrición de la pared del vaso grande a través de la pared del mismo se torna inadecuado, por lo que el aporte sanguíneo adicional para la media y adventicia, está dado por una red de capilares llamados "vasa vasorum"

--- Figura 1. Estructura Arteriolar .

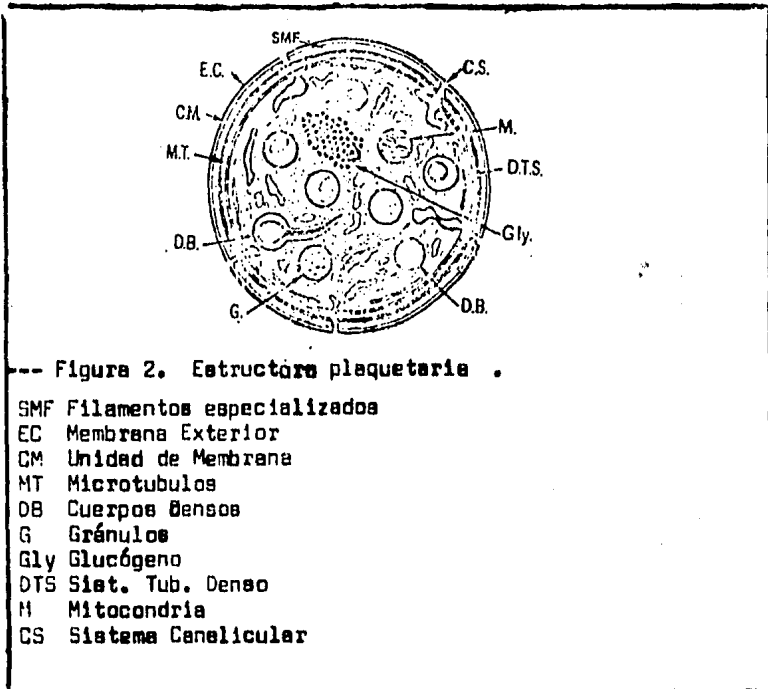


El daño vascular activa directamente a todos los componentes del sistema hemostático. Vasocostricción, comprende una respuesta del vaso lesionado y estimulación refleja de vasos adyacentes. El sangrado reducido fomenta la mayor eficacia para la adhesividad plaquetaria y una acción eficiente de los factores de la coagulación. Aunque la vasoconstricción no es necesaria para que ocurra la hemostasis, es crítica para prevenir desangramientos después de la ruptura de grandes vasos especialmente arterias. Adhesividad Plaquetaria, los vasos intervienen en este mecanismo por exposición de los grupos EPSILON-amino de la lisina del colágena que se pone en contacto con las plaquetas para dar la adhesividad. Coagulación Plasmática, el sistema vascular interviene en la formación de coágulo por activación de los factores de coagulación, estimulando los sistemas intrínseco y extrínseco. En el sistema intrínseco activando los factores XII o Hageman, por exposición de las cargas negativas de los grupos carboxilo libres de los aminoácidos glutámico y aspártico de la colágena. En el sistema extrínseco proporcionando factor tisular o factor III. El sistema vascular también interviene en la fibrinólisis estimulando por activación del plasminógeno por la liberación de proactivadores de este.

2.- Plaquetas. Estructura y Función (4) (17) (29). La estructura plaquetaria consta de 3 zonas principales, figura 2, Zona Periférica, cubierta externa que es importante en la recepción de estímulos y en la adhesividad y agregación plaquetaria. En ella también se distinguen, la zona de membrana que está formada como cualquier otra membrana de proteínas y fosfolípidos y la zona de submembrana, que es un sistema canalicular que está en contacto con el exterior, interviniendo en el intercambio de sustancias durante la reacción de liberación. En esta zona se encuentran todas las enzimas necesarias para la síntesis de prostoglandinas y además, es sitio de almacenamiento de Ca.

Zona Sol-Gel.- constituida por diversas fibras, microtúbulos que forman el citoesqueleto que la rodea y microfilamentos que es el

sistema contráctil formado por proteínas contráctiles como la actinomicina. Zona de Organelos.- es donde se encuentran una gran cantidad de cuerpos como mitocondrias, aparato de golgi, gránulos de glucógeno, gránulos ALFA donde se hallan factores como el V, I, VIII-R, factor 3 plaquetario, BETA-Tromboglobulinas, factor mitogénico, factor 4, plaquetario. Gránulos DELTA donde se encuentran el ADP, AMP, Ca, serotonina y epinefrina entre otras sustancias.



Las plaquetas desempeñan una función muy importante en la hemostasis que consiste en: mantenimiento continuo de la integridad vascular; paro inicial del sangrado por formación del tapón plaquetario y estabilización de dicho tapón por la contribución de un fosfolípido al proceso de la coagulación (3). Todas estas funciones son resultado de otras íntimas de las plaquetas. Adhesividad, que se lleva a cabo por conducto con los grupos EPSILON-amino de la colágena y la plaqueta, existiendo un puente de unión entre ambos formado por el factor VIII-R o Von Willebrand. Cambio de forma, que se efectúa por un proceso de relajación-contracción en el cual se involucra los microfilamentos.

Agregación que se lleva a cabo entre plaqueta y plaqueta y que para que ocurra se requiere de fibrinógeno, calcio y ciertas glucoproteínas (15). Para explicar la agregación existen 3 teorías, 1a. Que la agregación se lleva a cabo por glucoproteínas de una plaqueta que tiene receptores específicos en la otra plaqueta. 2a. Que se lleva a cabo entre la unión de la glucoproteína de una plaqueta con la glucoproteína de la otra plaqueta y 3a. Que existe una sustancia intermedia que es el fibrinógeno que sirve de puente de enlace entre las glucoproteínas de cada plaqueta. Reacción de liberación, es una consecuencia de la contracción-relajación que produce una desgranulación y salida del contenido de dichos gránulos.

3.- Coagulación Plasmática (2). Aunque las plaquetas son la causa primaria de la formación del trombo, éste depende de la índole física del polímero de fibrina que se forma como producto terminal de una serie compleja y controlada de reacciones seriadas de factores de coagulación. La nomenclatura de dichos factores de coagulación ha sufrido varias revisiones en el curso de los años y actualmente se conocen los que se muestran en la tabla 1.

Por comodidad los factores son designados con números romanos y cada uno indica el orden de su descubrimiento y no su secuencia en la intervención hemostática para la formación del coágulo. Tales números denotan a los factores tal y como se encuentran en el plasma, es decir, en su forma inactiva de procoagulante. Para indicar su forma activa cada número del factor debe llevar una "a" como subíndice, por ejemplo XIa, Etc., Otras características se muestran en la misma tabla 1. La mayoría de los factores logran activarse al desprenderse una pequeña porción del procoagulante. La mayoría de factores activados son serinproteasas, que son una familia de enzimas -- desdobladoras de proteínas, con serina en su centro activo (2). Los factores V, VIII, XIII y fibrinógeno son excepciones notorias.

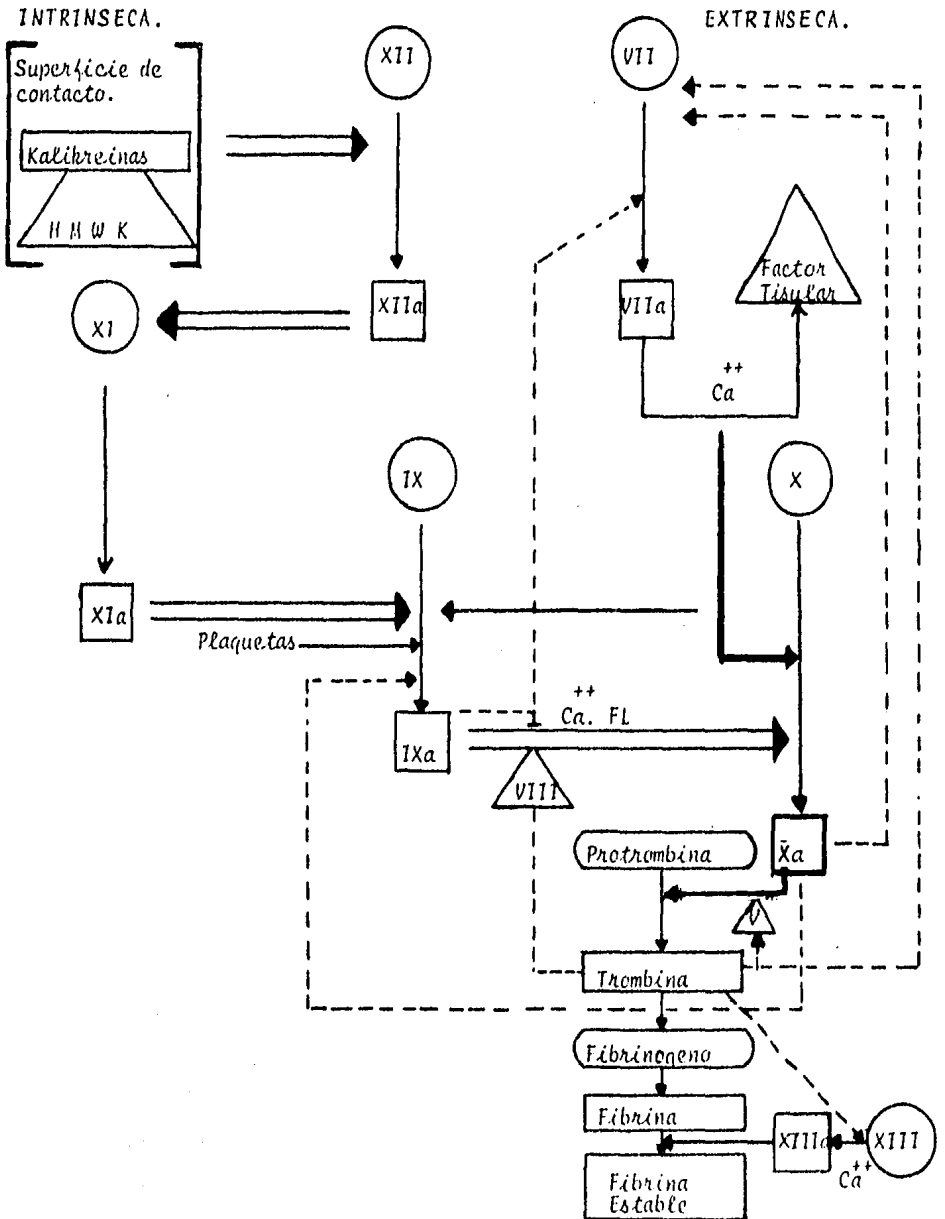
La relación entre estos factores en el mecanismo de la coagulación, se esquematiza a continuación.

La cascada de la coagulación esquema 1, es una serie de reacciones (4) (16) que envuelven en general la conversión de una proteína precursora que se encuentra en circulación en forma inactiva, representada en -- círculos en el esquema anterior, en forma activa representada en rectángulos. Algunas de las proteínas activadas son serinproteasas, otras son cofactores representadas en triángulos. La clásica división en dos vías del sistema de coagulación nos da la vía intrínseca por un lado, representada por flechas dobles y la vía extrínseca, por otro lado indica por el contacto con el factor tisular, que se representa con flechas sencillas. Las proteínas que se encuentran en circulación que participan en la interacción con el factor tisular se muestran con flecha negra gruesa. La activación de la protrombina está dada por las dos vías. Las reacciones descubiertas, recientemente, mostradas con flechas punteadas, muestran al sistema como un complejo mecanismo y sugiere que tal mecanismo es más -- apto que la clásica línea en cascada de la coagulación. Algunas reacciones de retroalimentación aceleran el proceso de la coagulación, como un -- resultado de la activación de cada proteína cofactor. Excepto para el paso de XII a XIIa y trombina a fibrinógeno, todas las demás reacciones requieren de calcio iónico y un probable fosfolípido de superficie. El esquema está basado en la clásica cascada propuesta por Macfarlane (1964) y por Davie y Ratnoff (1964), con un acomodo y acondicionamiento adicional más recientemente descubiertos. Estudios actuales indican que la inactividad de los factores V y VIII son funcionalmente inertes, esto aparentemente sugiere que únicamente después de la formación de trombina estos factores son puestos en acción, permitiendo que el sistema realice toda su potencia: alternativamente, algunos mecanismos aún no conocidos pueden ser responsables de la activación de los factores anteriores, VIII y V. Así pues, el mecanismo de la coagulación está dado por 3 fases: fase inicial o activación por contacto que está dada por los factores XII, XI, HNK (FACTOR FITZGERAL), KALIKREINAS (FACTOR FLETCHER). Fase intermedia o formación de trombina que está dada por la vía intrínseca con los factores IX, X, VIII V, Protrombina y Ca iónico, y también está dada por la vía extrínseca con los factores VII, VIII V, X, Protrombina y Ca²⁺ y por último tenemos la fase final o formación y estabilización de la fibrina que está dada por los factores, Fibrinógeno, XIII y Ca²⁺ (3).

Proteínas de la Coagulación Plasmática.

1.- Factor XII, es una proteína que activado nos da 2 moléculas ALFA-XIIa y BETA-XIIa con pesos moleculares de 52 000 y 28 000 respectivamente (4).


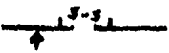

--- Esquema 1. Relacion de los diferentes factores en el mecanismo de la coagulación.



... TABLA 1. PROPIEDADES DE LOS FACTORES DE LA COAGULACION.

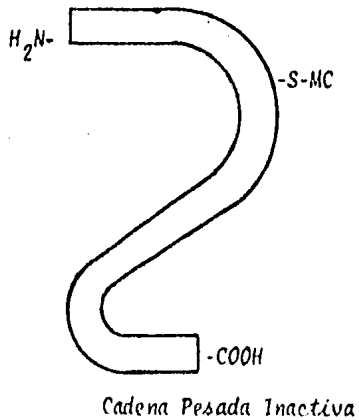
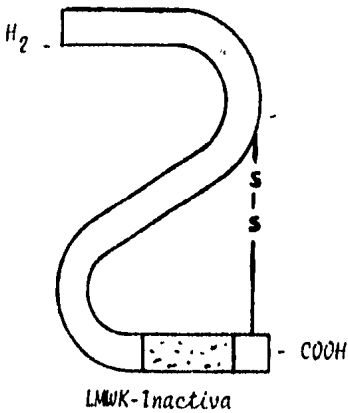
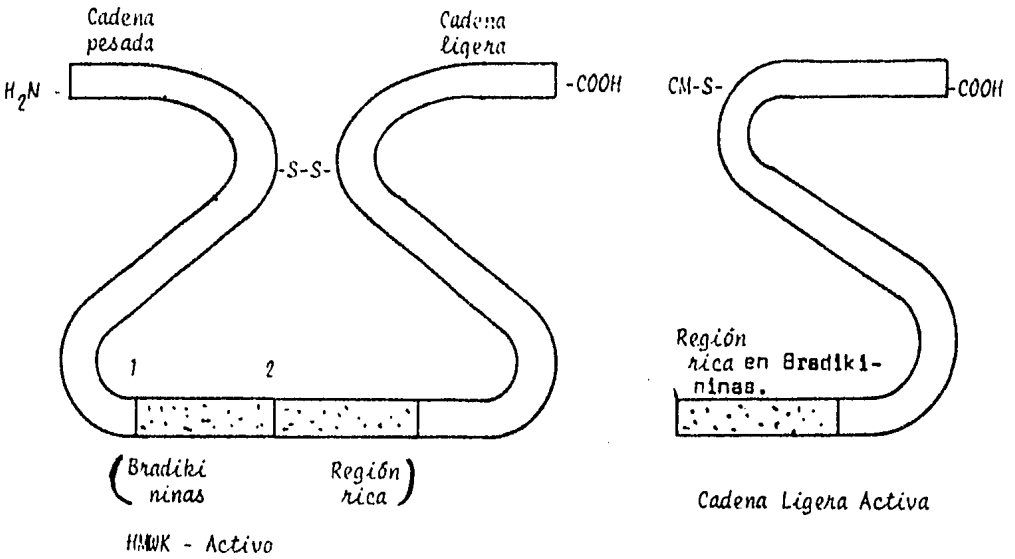
FACTOR: NOMBRE Y SINONIMOS	SITIO DE SINTESIS	VIDA MEDIA (HS)	PESO MOLECULAR	VITAMINA K DEPENDIENTE	MOVILIDAD ELECTROFORETICA	CONCENTRACION NORMAL μ	ESTABILIDAD EN SANGRE TOTAL.	TIPO DE CADENA
I.- FIBRINOGENO	HIGADO	2-120	344 000	NO	-	10-25	ESTABLE	3 PARES
II.- PROTROMBINA	HIGADO	67-106	70 000	SI	ALFA	40	ESTABLE	SIMPLE
III.- TROMBOPLASTINA NISTICA, EXTRAC- TO TISULAR, FOSFOLIPIDOS TISU- LARES.	-	-	-	-	-	-	-	-
IV.- CALCIO	-	-	-	-	-	-	-	-
V.- PROACELERINA, FACTOR LABIL.	HIGADO	12-36	NAS 203 000	NO	ALFA	10-15	INESTABLE	-
VII.- PROCONVETINA, FACTOR ESTABLE ACELERADOR DE LA CONVERSION DE PROTRUBINA DEL SUERO.	HIGADO	4-6	40 000	SI	ALFA	5-10	ESTABLE	SIMPLE
VIII.- FACTOR ANTITROMBOLITICO A, GLOBULINA ANTITROMBOLITICA FACTOR ANTITROMBOLITICO.	CELULAS ENDO- TELIALES- ¹) HE- CACARIOSITOS EL VIII-R, VIII-C ²	10-14	200 000 o 2 MILLONES	NO	-	10-40	INESTABLE	-
IX.- FACTOR ANTITROMBOLITICO B, FACTOR CRISTINAS, COM- PONENTE PLASMATICO DE TROMBOPLASTINA (PTC)	HIGADO	24	57 000	SI	ALFA	10-40	ESTABLE	SIMPLE
X.- FACTOR STUART-PROWER	HIGADO	20-60	56 000	SI	ALFA	10-15	ESTABLE	DOBLE
XI.- ANTECEDENTE TROMBOPLASTICO DEL PLASMA (PTA), FACTOR AN- TITROMBOLITICO C.	HIGADO	46-84	160 000	NO	GAMA	*6MICROG/ML	ESTABLE	DOBLE
XII.- FACTOR HAGEMAN	HIGADO	22-100	80 000	NO	BETA	*30MICROG/ML	ESTABLE	SIMPLE
XIII.- FACTOR ESTABILIZADOR DE LA FIBRINA, TRANSAMIDASA PLAS- MATICA, FIBRINOLITICA.	HIGADO	72-160	320 000	NO	-	1-5	ESTABLE	DOBLE
INBWK FACTOR FIRZGERALD, FACTOR WILLIAMS, KININOGENO DE ALTO PESO MOLECULAR, FACTOR ACTIVA- DOR DE CONTACTO.	-	-	110 000	NO	ALFA	*70MICROG/ML	-	SIMPLE
PREKALIKREINA, FACTOR FLETCHER, FACTOR DEPENDIENTE DEL FACTOR XII.	-	-	85 000	NO	GAMA	*50MICROG/ML	-	SIMPLE

*TOMADOS DE DIFE- RENTE ARTICULO.

FORMA MOLECULAR	UNION A SUPERFICIE	ACTIVA A PREKALIKREINA	ACTIVA A FACTOR XI
F- X11 PM= 80 000 	++	-(?)	-(?)
ALFA-X11a PM= 52 000 	++	++	++
BETA-X11a PM= 28 000 	-	++	-(±)

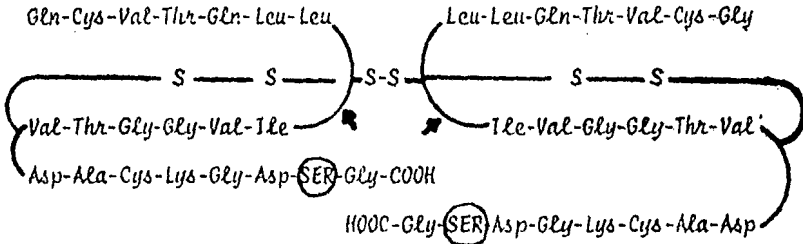
2.- HMWK (Factor Fitzgerald) su estructura, esquema 2, está basado en estudios humanos y bovinos (4) (50). El desdoblamiento por la Kalikreina es en T y 2, liberando Kininas. La alquilación de las cadenas en HMW y LMW Kininógenos no son procoagulantes. La alquilación de la cadena ligera o el HMWK como tal son los únicos que poseen enteramente actividades procoagulante.

--- Esquema 2. Factor Fitzgerald (HMWK).



- 3.- Prekalikreina (4) (18), es una glucoproteína de una cadena simple polipeptídica, es serinproteasa que se activa con el factor XIIa, que actúa en los péptidos internos de la cadena desdoblándola dando la Kalikreina, formada por una cadena pesada y una ligera unidas por -- puentes disulfuro. La prekalikreina exhibe la secuencia de aminoácidos homólogos al factor XI. Como una proteasa, la Kalikreina es capaz de desdoblar los Kininógenos en Kininas.
- 4.- Factor XI, (Antecedente tromboplastínico del plasma, PTA). Es una proteína del plasma (41) (49) (51) (58), que ha sido extensamente purificada de plasma humano, bovino y conejo, es una glucoproteína con una constante de sedimentación de 8s, el contenido de carbohidratos es de 5% en el humano, mientras que en el bovino es de 11%. Está compuesto por dos cadenas polipeptídicas idénticas con un peso molecular de 80 000 cada una (Esquema 3), estas dos cadenas están unidas por enlaces disulfuro. La secuencia aminoterminal de estas cadenas es: Gly-Cys-Val-Thr-Gln-Leu-Leu-Lys-Asp-Thr-Gln-Phe-Gln Gly.

---Esquema 3. Factor XI PTA.



En el esquema 3, el sitio de acción del factor XI es mostrado con flechas gruesas negras. El sitio activo es la serina mostrado con letras mayúsculas.

Karachi y Davie 1977 (5), demostraron que el factor XI humano está compuesto por dos cadenas polipeptídicas idénticas las cuales están unidas por puentes disulfuro. El residuo aminoterminal es la Glicina. Este factor es convertido a serinproteasa o factor XIa por la acción del factor XIIa (58) y el factor Fitzgerald, por un doble ataque peptídico interno en las dos cadenas, esto se muestra con flechas gruesas en el esquema 3. Dicho ataque se lleva a cabo en las uniones Arginina-Valina. El paso de factor XI a XIa da como resultado dos cadenas polipeptídicas pesadas de aproximadamente 35 000 de peso molecular, y dos cadenas ligeras de peso molecular 25 000. Por lo tanto el factor XIa está compuesto por 4 cadenas polipeptídicas, que están unidas entre sí por puentes disulfuro y con un sitio serin activo que se encuentra en-

cada una de las cadenas ligeras.

El factor XI tiene dos sitios susceptibles a la tripsina (39)(41) en donde ésta actúa y forma también el factor XIa, sólo que en este caso la cadena de 80 000 es desdoblada en tres cadenas polipeptídicas de peso molecular 46 000, 37 000 respectivamente. Parece ser que inicialmente la cadena de 46 000 sufre un desdoblamiento no destructivo para dar la cadena de peso molecular igual a 26 000.

Ruth Margalit y S. Schiffman 1980 (36) encontraron que los Kininógenos de alto peso molecular (HKWK) juegan un papel muy importante en la activación a superficie del factor XI. Llevaron a cabo experimentos para evaluar el papel del HKWK en la adsorción del factor XI a superficie de vidrio usando I 125- Factor-XI. Se encontró que el factor -- Fitzgerald cuando se encuentra en concentraciones disminuidas, no permite la adecuada adsorción del factor XI en comparación con plasmas -- normales y se corrige agregando HKWK o plasma normal. Por otro lado - observaron que la adición en concentraciones elevadas de HKWK reduce la unión del factor XI a superficie, agregándolo a plasmas normales se ha visto el mismo efecto. La conclusión de esto es que el HKWK cuando se encuentra en concentraciones muy elevadas (de lo normal) produce un efecto contrario impidiendo la unión a superficie del factor XI, ya -- que se forma el complejo Factor-XI-HKWK.

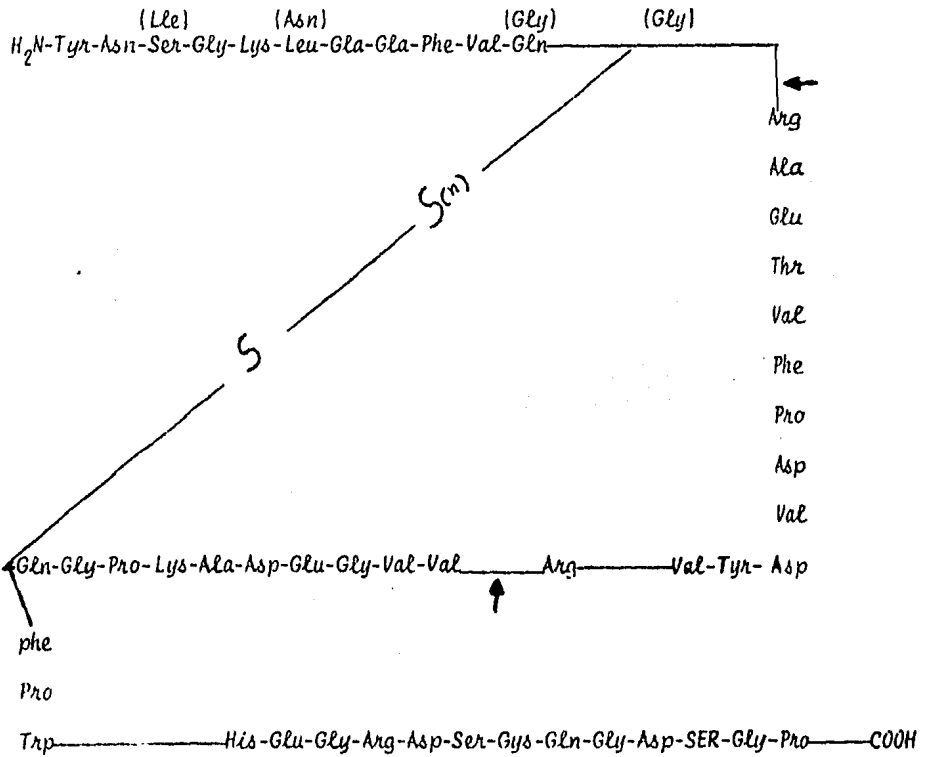
En 1980 Hideito Saito (6) (42) reportó la generación de plasmina en forma muy disminuida en 11 plasmas deficientes de factor XI y la corrección de los mismos por la adición de dicho factor purificado. Parece ser que es la primera demostración que la activación del plasminógeno mediado por contacto es dañado en plasmas deficientes de PTA (factor XI). El daño en la generación de plasminógeno no fue debida a la presencia de inhibidores, ni a la deficiencia de plasminógeno, prekalikreinas o kininógenos. El plasma deficiente de factor XI reconstituido con PTA purificado corrige completamente el daño en la generación de plasmina por la actividad de contacto, por lo que la función del factor XI en la coagulación, no es la única, sino que también forma parte del sistema fibrinolítico.

Chales D. Farbes y O.D Rotnoff 1972 (24) nos dan algunas propiedades del factor XI parcialmente purificado en buffer barbitol salino con concentraciones de 1na unidad por ml. Fue estable por varios días a 4°C al obtenerlo por sephadex G200 ó G150. A temperatura superior a 37°C, pierde su actividad progresivamente en 10 minutos, no permanece después de calentar la preparación a 60°C. La estabilidad a 37°C fue superior en concentraciones elevadas y en soluciones más diluidas se aumenta por la actividad de 1% de albúmina bovina (W/V). En la preparación por sephadex fue más estable a pH 7.6. Además demostraron que la actividad por diisopropil fosfofluoridato, fenil-m-sulfonil fluorida, apirasa de papa y con las fosfatasa acidas de germen de trigo es disminuida.

El plasma normal rico en plaquetas congelado y descongelado contiene aparentemente elevaciones marcadas de factor XIa, en comparación con plasmas normales pobres en plaquetas. Las plaquetas aisladas de sangre normal y de sangre deficiente en PTA contienen la misma cantidad pequeña de factor XIa, que incrementa ligeramente con el congelamiento y descongelamiento, lo que demuestra que esta pequeña cantidad de factor XIa está asociado únicamente con las plaquetas. Por lo tanto, la aparente marcada elevación de factor XIa en plasma rico en plaquetas congelado y descongelado es muestra que refleja la interacción de un activador plaquetario con un activador de la coagulación del plasma (factor XI) que produce un posterior intermediario que activa la coagulación (56).

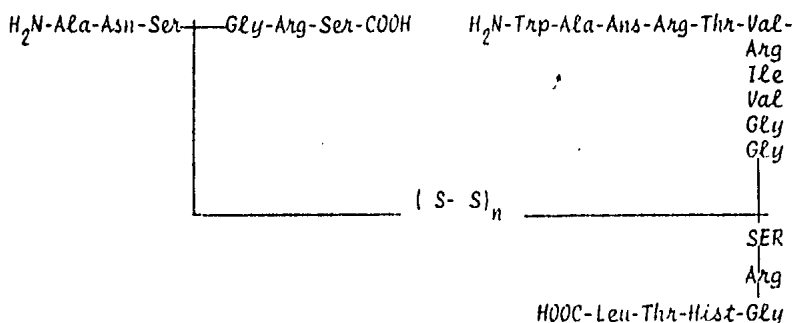
5.- Factor IX. Es una glucoproteína de cadena simple de peso molecular aproximado de 57 000 (5). Su activación se lleva a cabo por un doble rompimiento proteolítico que se marca con flechas gruesas en el esquema 4, eliminándose un trozo de polipeptidos y quedando factor IXa.

--- Esquema 4. Factor IX .



6.- Factor X. Es una glocoproteína con un peso molecular aproximado de 56 000 (5), consiste en una cadena pesada con un peso molecular de 39 200 y una cadena ligera de 16 500 (14). Las dos cadenas --
~~se~~ son mantenidas juntas por un puente de disulfuro. Esquema 5, un pep-
 tido de activación con un peso molecular aproximado de 11 000 es des-
 doblado del extremo del aminoterminal de la cadena pesada durante la
 reacción de activación en la vía intrínseca o extrínseca. Esto da --
 origen a un nuevo grupo aminoterminal con la cadena pesada del factor
 Xa, y reduce el peso molecular del precursor de 56 000 a 44 000. La
 cadena pesada ahora contiene la secuencia aminoterminal Ileu-Val-Gly-
 Gly, la cual es común a las serin proteasas.

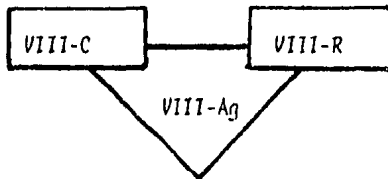
--- Esquema 5. Factor X (bovino)



7.- Factor VIII. Parece ser una glucoproteína aunque se sospe-
 cha que sea una lipoproteína, emigra en las ALFAglobulinas (8). Es -
 activado por la trombina, la cual lo destruye cuando ésta se encuen-
 tra en concentraciones elevadas. Esta proteína se designa por 3 uni-
 dades, factor VIII-antihemofílico, factor VIII-antigénico y factor --
 VIII-von Willebrand. Aunque algunos autores lo designan sólo por dos
 unidades (35), factor VIII-R (antigénico o von Willebrand) y factor -
 VIII-C (procoagulante o antihemofílico).

En el esquema 6 se muestra el factor VIII como 3 subunidades el VIII-R se sintetiza en las células endoteliales y macrófagos (43), mientras que el VIII-C no se sabe exactamente el sitio de síntesis. Tampoco se conoce -- exactamente el sitio o el mecanismo por el cual se unen estas dos unidades -- en la circulación sanguínea. Este factor en el mecanismo de la coagulación sólo actúa como factor (2) (30) (31).

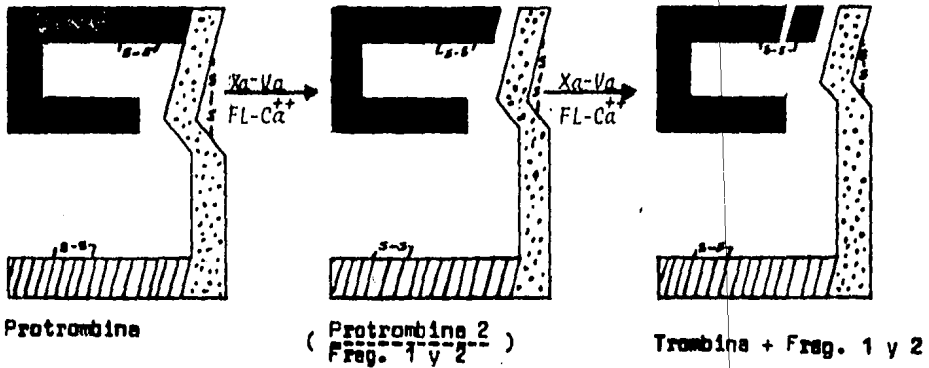
---Esquema 6. Factor VIII.



8.- Factor V. El peso molecular de estas proteínas se ha estimado que es superior a los 200 000, es atacada por la trombina dando lugar a un aumento en la reactividad de la coagulación (8) y un descenso en el tamaño de su molécula. El exceso de trombina destruye la actividad del factor y también es alterado por la acción del veneno de la víbora de Russell que aumenta su actividad varias veces. La papaina en concentraciones bajas aumenta su actividad, mientras que en altas concentraciones lo destruye.

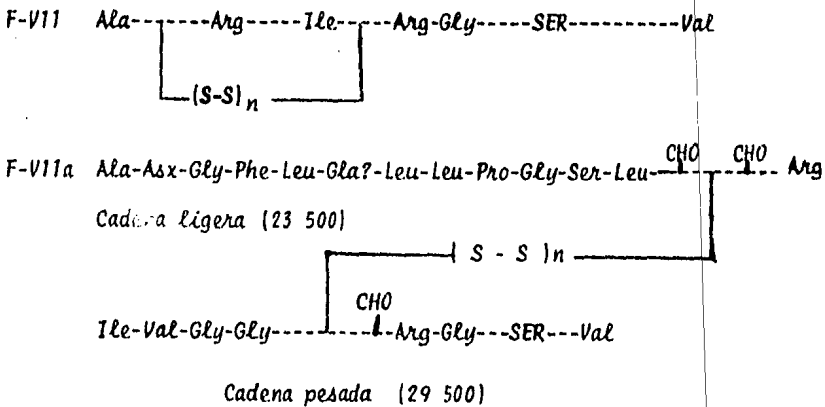
9.- Factor II. La protrombina (4) (44) (47), es una glicoproteína con -- una cadena polipeptídica sencilla y es desdoblada en dos lugares por el complejo protrombinasa (Xa, Ca, F1, V). En el primer rompimiento nos da dos fragmentos, en el segundo rompimiento el fragmento que está todo negro en el esquema 1, es transformado a trombina, que está formada por dos cadenas polipeptídicas que están unidas por puentes disulfuro.

---Esquema 7. Transformación proteolítica de protrombina trombina y fragmentos.



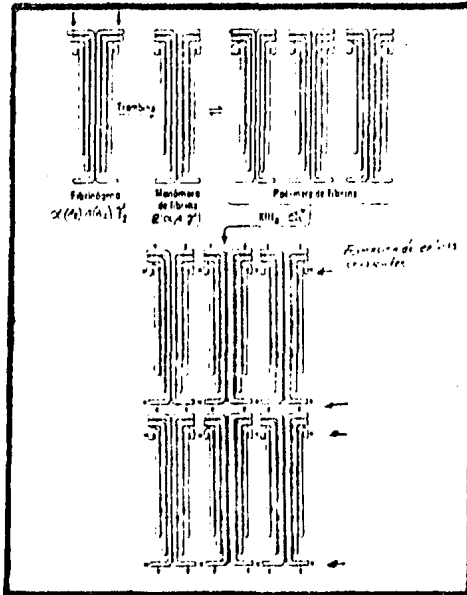
1.- Factor VII. Es una glucoproteína de cadena simple con un peso molecular aproximado de 53 000, contiene aproximadamente 10% de carbohidratos, la activación del factor VII bovino se da en el esquema 8, el cual sufre un rompimiento proteolítico, marcado con flecha en el esquema, para dar dos fragmentos 1 pasado de peso molecular 29 000 y 2 ligero de peso molecular 23 500 (4).

---Esquema 8. Activación de factor VII bovino.



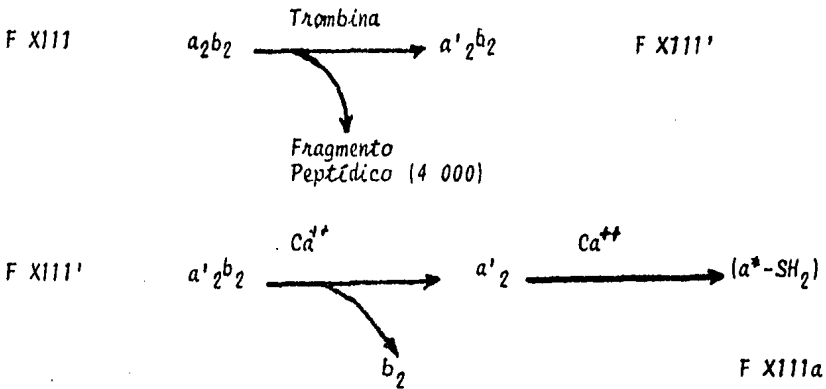
11.- Factor I. El fibrinógeno es una proteína con un peso molecular de 330 000, compuesto por 3 pares de cadenas polipeptídicas, ALFA(A)₂, BETA(B)₂, GAMA₂. La trombina lleva a cabo 4 rompimientos proteolíticos a nivel de Arg-Gly desdoblando la molécula de fibrinógeno en dos pares de fibrinopéptidos A y B de los extremos aminoterminales de las cadenas ALFA y BETA respectivamente. El fibrinopéptido A contiene 19 residuos de aminoácidos y es liberado en la primera etapa de la reacción. El fibrinopéptido B contiene 21 residuos de aminoácidos y se libera en fases posteriores de la reacción. Después de la liberación de los fibrinopéptidos, los monómeros de fibrina resultantes son estabilizados por enlaces covalentes entre las cadenas ALFA-ALFA y GAMA-GAMA de los diferentes monómeros de fibrina, por el factor XIIIa, esquema 9 (2)(3)(45).

--- Esquema 9. Formación y Estabilización de la Fibrina.



12.- Factor X111. Es una transamidasa que está compuesta por dos subunidades dissociables, a_2b_2 (factor X111). En el caso de la activación por la trombina sufre una hidrólisis en la unión Arg-Gly en la terminación de la subunidad "a", liberandose un péptido de peso molecular 4 000 y dando el factor X111' a'_2b_2 , esquema 10, la adición de iones Ca^{++} causan cambios dramáticos en el complejo a'_2b_2 para dar el factor X111a (4).

--- Esquema 10. Activación del factor X111

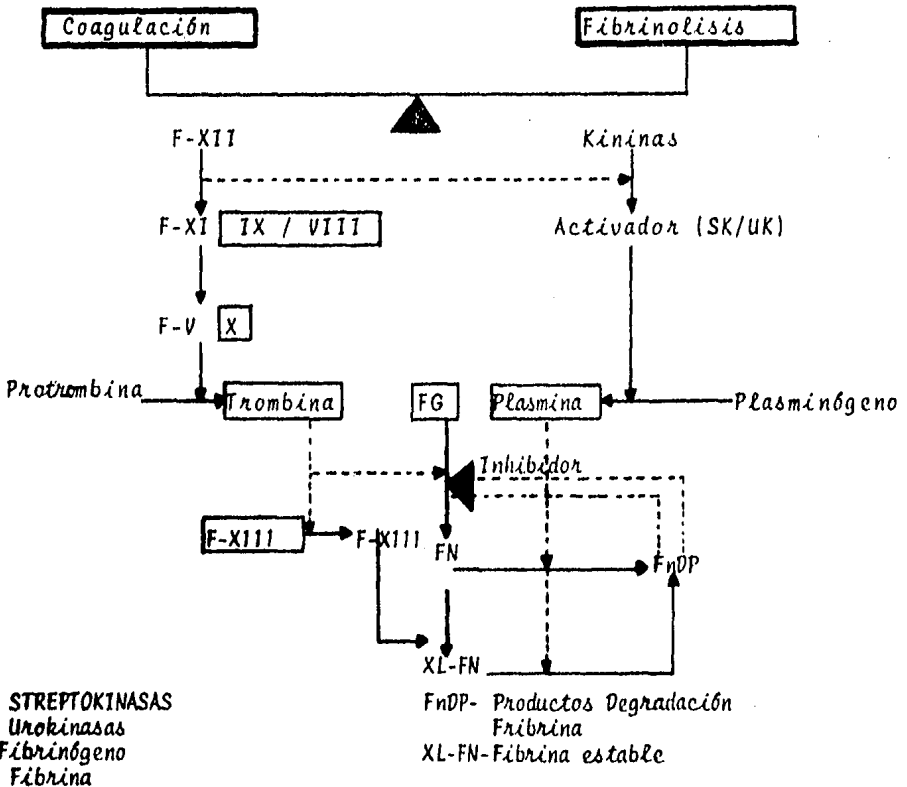


(a^*-SH_2) : Sólo esta especie es titulable por Iodacetamida y muestra actividad catalítica.

Nota: Algunas características de estas proteínas de la coagulación son omitidas ya que se encuentran en la tabla No. 1.

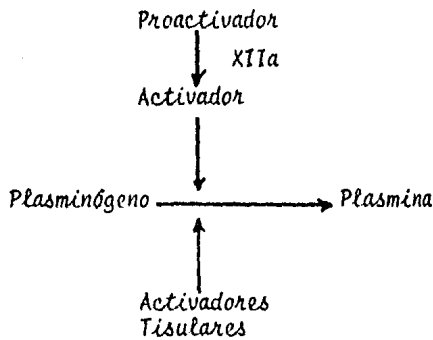
4.- Sistema fibrinolítico. Es una serie de mecanismos enzimáticos encargados de degradar los polímeros de fibrina que han formado el coágulo, en fragmentos de diferente peso molecular que son fácilmente eliminados -- por el sistema retículo endotelial (2)(4). Este sistema depende del mecanismo plasminógeno-plasmina y su relación con la coagulación se ilustra en el esquema 11.

---Esquema 11. Relación Balanceada entre la Fibrinólisis y Coagulación.



El plasminógeno puede ser activado por diferentes vías (2) (4) (7) (42): Intrínseca por factor XII, extrínseca por factores tisulares (14) y exógenos por estroptokinasas y urokinasas, esquema 11. La activación por contacto requiere la presencia de por lo menos 4 proteínas plasmáticas: factor XII (46) prekalikreínas, kininógenos y plasminógeno (1). Sin embargo, se ha demostrado que la activación del plasminógeno medida por contacto es dañada en plasmas deficientes en factor XI (PTA), Hadehito Saito, 1980 (6). En el esquema 12 se muestra el paso de plasminógeno a plasmina. El activador desdobla al plasminógeno en su extremo aminoterminal en el enlace Arginal dando lugar -- así a la plasmina.

--- Esquema 12. Activación del plasminógeno.



La plasmina o fibrinolisis es una enzima que se parece en mucho a la tripsina por su amplitud de acción como endopeptidasa que rompe los enlaces Lis-Arg de la fibrina. Ataca al fibrinógeno de la misma intensidad que la fibrina. En la degradación inicial el fibrinógeno disminuye su peso molecular de 340 000 a 270 000 con la liberación de fragmentos bajo peso molecular a partir.....

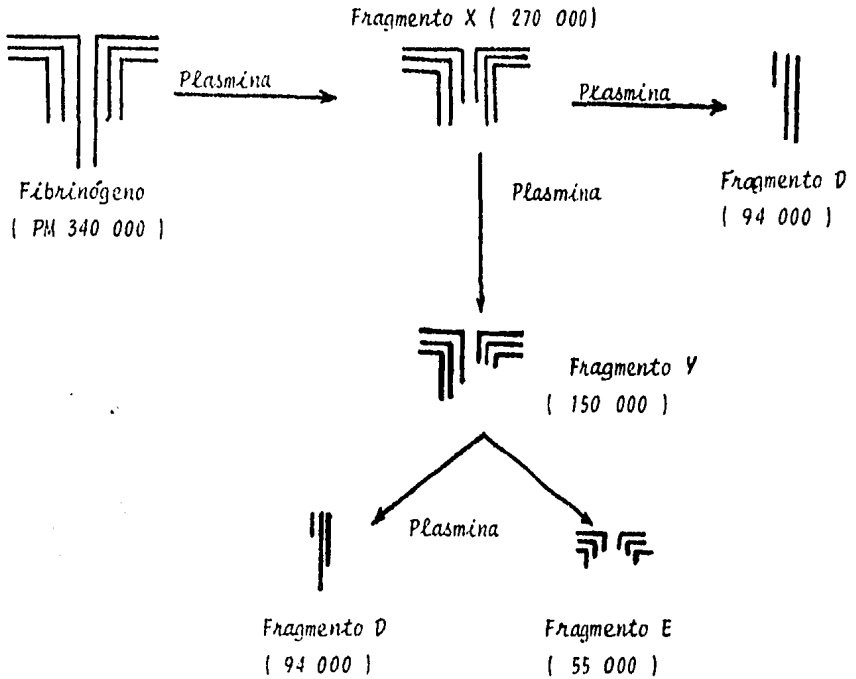
de los extremos carboxiterminales de las cadenas ALFA-A y de los extremos aminoterminales de las cadenas BETA-B. Este último contiene los fibrinopéptidos B, la estructura molecular que permanece llamada fragmento X (peso molecular aproximado 270 000) retiene la propiedad de participar en la formación del coágulo, cuando se expone a la trombina. Sin embargo coagula con lentitud y su presencia debilita la estructura del coágulo. El fragmento X tiene todavía más divisiones por la acción de la plasmina, hasta derivados llamados fragmentos Y (peso molecular aproximado de 150 000) y fragmento D (peso molecular aproximado de 94 000), ambos son no coagulables aunque interfieren en la formación de hilos de fibrina, y son anticoagulantes potentes. Conforme se completa la degradación, el fragmento Y se reduce hasta 2 fragmentos más: D y E. Este último contiene el nudo disulfuro-N terminal, con peso molecular aproximado de 55 000 y es relativamente menos activo en relación al efecto coagulante.

Cada molécula o monómero de fibrina (fibrinógeno) da origen a dos moléculas de fragmento D y una molécula de fragmento E, más un número de péptidos de peso molecular pequeño, esquema 13. Estos productos de degradación son eliminados de la circulación por el sistema retículo endotelial en un tiempo medio aproximado de 9 hs. (2). Tienen funciones de inhibidor en la formación de fibrina por bloqueo competitivo de la polimerización del monómero de fibrina, además, alteran la agregación plaquetaria.

Inhibidores Naturales de la Hemostasis.

La coagulación sanguínea y fibrinólisis es un sistema enzimático multi componente formado por proenzimas, cofactores e inhibidores. El control regulación de estos sistemas ocurre por: a) control de la activación de las proenzimas similares a la tripsín-serin proteasas, o de la liberación de estas enzimas a la sangre, y b) por neutralización de estas enzimas, activadas, por inhibidores. Estos inhibidores con la excepción de la ALFA₂macroglobulina, forman una relación estequiométrica 1:1 con las proteasas.

--- Esquema 13. Degradación del Fibrinógeno



El mecanismo de reacción de los inhibidores de proteasas, exactamente no ha sido bien establecido, pero las evidencias acumuladas muestran que el mecanismo de interacción puede ser de naturaleza similar al establecido entre proteasas e inhibidores de bajo peso molecular de origen animal o vegetal: a saber, formación de enlaces covalentes entre un centro reactivo del inhibidor y el centro Serina de la proteasa, (4), tabla 2.

INHIBIDOR	CONCENTRACION mg/100mc	PESO MOLECULAR	CONTENIDO AMINOCIDOS	CONTENIDO CARBOHIDRADA.	NUMERO CADENAS	PROTEINAS INHIBIDAS
ALFA ₁ ANTITRIPSINA	290±45	5.1 000	86	12	1	XIa, TROMBINA PLASMINA, TRIPSINA.
ALFA ₁ -ANTIQUIMOTRIPSINA	49±7	69 000	73	25	1	PLASMINA, QUIMOTRIPSINA.
INHIBIDOR INTER-ALFA TRIPSINA	50	160 000	90	8		PLASMINA.
ANTITROMBINA III	24± 2	65 000	85	13	1	TROMBINA, XIa IXa, Xa, XIIa.
C ₁ INHIBIDOR	24± 3	104 000	65	35	1	C ₁ S, KALIKREINA, PLASMINA, XIa XIIa.
ALFA ₂ -MACROGLOBULINA	260± 70	725 000	92	8	4	PLASMINOGENO ACTIVADO, PLASMINA, KALIKREINA.
ALFA ₂ -ANTIPLASMINA	7±2	70 000	87	13	1	PLASMINA.
INHIBIDOR DE I. PLASMINOGENO		80 000				PLASMINOGENO ACTIVADO.

--- TABLA 2. INHIBIDORES NATURALES DE LA COAGILACION .

B.- Hemofilia "A" y "B" (1) (8). Otto fue quien primero demostró que la enfermedad hemofílica iba ligada al sexo, quedando limitada a los varones y que las hembras son quienes la transmiten siendo ellas aparentemente normales. Listen, en 1819, había notado la lenta coagulación de la sangre, pero no fue sino hasta 1893 cuando Almvot wright desarrolló una técnica para medir el tiempo de coagulación en esta enfermedad y notó que el mismo era muy largo. En 1911, Addis, en un experimento, demostró que una fracción de globulina preparada por dilución y acidificación de plasma normal, podía corregir el defecto de la coagulación hemofílica, sin embargo, como suele suceder en otras ciencias, estos experimentos quedaron olvidados, y no fue sino hasta 1936 cuando Patch y Taylor confirmaron, que en efecto, la hemofilia se debía a una deficiencia de una fracción globulínica, nombrada subsiguientemente - "globulina antihemofílica" o "factor antihemofílico". Aunque el contenido de protrombina fue hallado normal, Buinkhous demostró en 1939, que la protombina era activada y convertida a trombinina a una velocidad relativamente lenta. Comprobó también que el bloqueo en la conversión de la protombina podía ser corregida por transfusión de sangre y concluyó que el defecto básico en la hemofilia iba asociado con la falta de tromboplastina de la sangre. En 1947, Povlosky demostró que mezclando sangre de ciertos pacientes hemofílicos el resultado era una corrección mutua de sus defectos. Sin embargo la correcta interpretación de este hallazgo no fue efectuada hasta el trabajo de Aggeler y colaboradores en 1952, que estudiaron un paciente varón que sufría graves hemorragias, asociadas con un tiempo de coagulación prolongado, encontraron que aunque las características hemorrágicas eran indiferenciables de la hemofilia A o clásica, el efecto no pudo ser corregido in vivo o in vitro por preparados fuertes de factor antihemofílico. El paciente tenía concentraciones plasmáticas normales de todos los factores de la coagulación - ya previamente conocidos en ese tiempo, sin embargo, la anomalía de coagulación pudo ser corregida por suero normal, pero un tratamiento previo del suero con sulfato de bario dió como resultado una pérdida de esta propiedad. A este respecto el nuevo factor de la coagulación que ellos designaron como "componente tromboplastínico del plasma" (PTC) era el deficiente, y se conoce ahora como factor IX de la coagulación.

Con respecto a las hemofilias A y B, los dos trastornos no pueden distinguirse clínicamente, excepto por pruebas de laboratorio, ambas están ligadas al sexo: por lo tanto, se transmiten por mujeres asintomáticas y solo la padecen cuando son hemocigóticas que provienen de padres afectados y madres portadoras. La hemofilia grave se caracteriza por hemartrosis repetidas y, finalmente, artritis crónica y destrucción articular. Se ha encontrado la hemofilia A asociada con deficiencia de factor XI (57).

En la actualidad los factores de la coagulación han sido definidos por su actividad biológica, por tanto la deficiencia de actividad de un factor determinado se ha considerado como deficiencia de éste. Sin embargo, la purificación de ciertos factores, por métodos bioquímicos ha permitido relacionar actividad biológica con una proteína determinada. De tal manera que se puede disociar actividad biológica y estructura antigénica de dichos factores, así pues, se ha podido demostrar que en ciertas afecciones existe ausencia de una determinada función coagulativa pero no ausencia de la molécula proteica a la que se atribuye esta función. Ahora bien; la hemofilia se define como la deficiencia hereditaria de una proteína dotada de una determinada función biológica, sin embargo, como se ha mencionado antes, puede ser debida a la ausencia de síntesis de la proteína o a la síntesis de una variedad no funcional de dicha proteína.

La hemofilia puede darse en casos *in novo*, es decir en personas que no tengan antecedentes familiares, o bien puede darse el caso que haya una pseudohemofilia que es causada por la presencia en la circulación sanguínea de inhibidores de los factores antihemofílicos interrumpiendo su actividad biológica. La mayoría de los inhibidores del factor VIII se encuentran en un 20% de todos los pacientes con hemofilia A, que reciben múltiples transfusiones de plasma o crioprecipitados (34) y la mayoría de ellos son del tipo IgG. Se han descrito algunos casos excepcionales, con un inhibidor del tipo IgM; otro con inhibidor IgA que era un paciente con mieloma. Se han observado inhibidores del factor IX en un porcentaje medio del 5% de todos los pacientes de hemofilia B. La presencia espontánea de inhibidores de factor IX en individuos previamente sanos es casi desconocida. Los niveles aumentan después de la exposición a concentrados de factor IX o a plasmas normales.

En el laboratorio, la exploración de la fase vascular y plaquetaria es generalmente normal, sólo hay que hacer notar que en la hemofilia el tiempo de sangrado es normal, pero al cabo de un rato la herida puede volver a sangrar e incluso si la deficiencia es muy intensa puede aparecer un tiempo de sangrado alargado. Hay que recordar que los factores plasmáticos son necesarios para la formación del tapón plaquetario. El tiempo de coagulación de sangre completa, el tiempo de recalcificación del plasma y el tiempo de tromboplastina parcial se encuentran alterados; el tiempo de protombina y el de trombina son normales, ya que el primero detecta alteraciones en la vía extrínseca y el segundo principalmente del fibrinógeno.

C.- Hemofilia C. Deficiencia de Factor XI. R.L. Rosenthal en 1953 (9), habla evidenciado un nuevo factor del plasma, que presentaba hemorragias y coagulación casi similar a las hemofílicas, esto se habla reportado en dos ocasiones en diferentes pacientes y se sabía que la sangre

de estos corregía los defectos de coagulación de los verdaderos hemofílicos. Rosenthal y colaboradores siguieron 3 pacientes en una misma familia, quienes tenían una enfermedad hemofílica que fue mutuamente corregida por sangre de verdadera hemofilia. Los resultados llegaron a la conclusión de que esos 3 factores deficientes pueden formar 3 tipos de enfermedades hemorrágicas representantes de hemofilia. Los factores son: globulina anti-hemofílica (actualmente factor VIII), componente tromboplastínico del plasma (actualmente factor IX) y el factor deficiente encontrado por Rosenthal llamado antecedente tromboplastínico del plasma (PTA) (actualmente factor XI). Los tres pacientes de Rosenthal revelaron que no corregían una al otro la coagulación por lo que era obvio que padecían el mismo defecto. Esta familia representa el primer tipo de deficiencia que ha sido designado al antecedente tromboplastínico del plasma (PTA) (9).

Rosenthal encontró la forma de distinguir los tres tipos de hemofilia y era como sigue: la deficiencia de globulina antihemofílica, factor VIII, es corregida por el tratamiento de plasma normal con sulfato de bario (BaSO₄) o plasma adsorto, pero no se corrige por suero normal o suero envejecido; la deficiencia del componente tromboplastínico del plasma (PTC), factor IX, no es corregido por el plasma adsorto, pero sí con el suero incubado; la deficiencia del antecedente tromboplastínico del plasma, factor XI, es corregida por ambos.

La hemofilia C (deficiencia de factor XI) ocurre principalmente en judíos, específicamente en descendientes de familias Ashkenazi que emigraron a Europa Oriental (10) (13) (32). Liba y colaboradores 1965 calcula que de 0.1 a 0.3% de judíos Ashkenazi en Israel son homocigóticos para esta enfermedad y de 5.5 a 11% son heterocigóticos (13). 50% de los heterocigóticos obligados tienen niveles normales de factor XI, la incidencia real de esta condición en dicha población puede ser más elevada. La deficiencia de factor XI parece ser rara en judíos de otro origen y en otras razas. Se han dado casos en que la deficiencia de factor XI se asocia con la enfermedad de Von Willenbrand (26) y también se ha encontrado en pacientes que padecen lupus eritematoso sistémico (LES) (9) (38). Las tendencias hemorrágicas en esta hemofilia son usualmente poco severas, excesivos moretones pueden estar asociados y es mucho más común en mujeres que en hombres (33). Otros síntomas incluyen epistaxis, sangrados que pueden ser muy severos - después de alguna cirugía o extracción dentaria. Las hemorragias y coagulación intramuscular son raras (48). P. Jolk y John Federico 1977, encontraron miositis osificans en un jugador de fútbol americano que padecía esta enfermedad (12).

La deficiencia del antecedente plasmático de la tromboplastina (PTA) - es un desorden hereditario que puede presentar sangrados por deficiencia de una proteína del plasma (19) (55), requerida para la generación de trom-

boplastina en la sangre. Afecta ambos sexos, Rosenthal y Dreskin, quienes primero reportaron esta enfermedad, informan que es un rasgo transmitido - como autosómico dominante con un alto grado de penetrabilidad. Rapaport y col. 1961 (10)(11)(12) reportaron que estaba dado por un gen autosómico re secivo incompleto y designaban dos formas de deficiencia del PTA 1^a. - de deficiencia mayor, caracterizada por niveles por abajo del 20% con respecto al plasma normal y que se presentaba exclusivamente en homocigóticos; 2^a - deficiencia menor, caracterizada por niveles de un 20 a 65% con respecto al plasma normal y que sólo se presentaba en heterocigóticos.

Sandra Schiffman y col. 1981 (36) reportaron el primer caso de una -- aparente deficiencia de factor XI por la presencia de un inhibidor que -- impidía la adsorción a vidrio. Ellos midieron y determinaron que el factor XI procoagulante se encontraba dentro de los límites normales por lo que concluyeron que la actividad se inhibía *in vivo*, pudiendo éstos inhibidores, actuar de 3 formas: bloqueando el desdoblamiento proteolítico del factor XI, bloqueando la actividad proteolítica del factor XI hacia el factor IX y bloqueando la actividad de adsorción a superficie. Ellos demostraron lo último y se piensa que estos inhibidores son del tipo Igm. - Frecuentemente los pacientes de LES presentan anticoagulantes o inhibidores que operan en los inicios de la coagulación involucrando al factor VIII o la forma activa del factor XI (factor XIa) (54). Henry Krieger, John P. Leddy y col. 1975 (28) reportaron unos inhibidores en pacientes con LES que interfieren en la actividad del factor XI hacia la activación del factor IX. Estos inhibidores se encuentran entre las GAMA-globulinas del plasma, y se encontró principalmente una fracción con globulinas Igm, -- aunque también pequeñas cantidades de IgG, por lo que se puede pensar en una mezcla de ambos anticuerpos.

III. OBJETIVOS.

- a).- Establecer un programa de pruebas de laboratorio para el diagnóstico de hemofilia C.
 - b).- Utilización de Este programa en paciente con sangrados recidivantes.
 - c).- Establecer un programa de diferenciación de las diferentes hemofilias, para dar un tratamiento y control adecuados.
-

IV. DIFERENCIACIÓN DE ALTERACIONES HEMOSTATICAS (4).

La mayoría de pacientes conducidos a un laboratorio para la evaluación de la coagulación sanguínea y hemostasis general, son aquellos que muestran una tendencia a sangrar anormalmente. Algunos son conducidos para una evaluación preoperatoria para evitar sangrados excesivos. Otros pacientes son examinados como parte de una investigación clínica, es decir, al estudiar algún órgano, por ejemplo, el hígado. Otro grupo de pacientes lo forman aquellos que muestran tendencias trombóticas.

Una tendencia a sangrar puede manifestarse en diferentes formas, en las alteraciones de coagulación ligera puede ocurrir sólo en asociación a traumas o heridas. En enfermedades congénitas hemorrágicas, como las hemofilias. Los sangrados pueden ocurrir espontáneamente. Por otro lado, las hemorragias pueden ser de varios tipos, en la piel, por ejemplo, pueden aparecer en forma de puntas de alfiler, petequias, hematomas o equimosis. Las petequias y hematomas pueden ocurrir en tejido, así también como en membranas mucosas, los sangrados pueden aparecer por nariz, tubo digestivo, uterino, tracto urinario y otros. La acumulación de sangre en tejidos trae como consecuencia a los hematomas. La sangre también puede escapar dentro de cavidades serosas, por ejemplo, en hemotórax y hemartrosis. El tipo de sangrado en un caso dado puede dar valores que nos guíen a una etiología, de tal forma que en condiciones hemorrágicas se pueda pensar en anormalidades vasculares, desorden plaquetario, defectos en la coagulación plasmática, o desorden en el sistema fibrinolítico. En alteraciones vasculares, por ejemplo, en el síndrome de Henoch schonlein las petequias y púrpuras aparecen espontáneamente, sin embargo, las hemorragias fuertes son raras. En el desorden plaquetario las púrpuras y petequias dispersas son comunes, también los sangrados en membranas mucosas es característico de este desorden. Un defecto en la coagulación plasmática usualmente no se asocia con defectos primarios de la hemostasis, es decir el tapón plaquetario es formado normalmente. Sin embargo se requiere definitivamente la formación de la red de fibrina. Por lo tanto es típico que en un defecto de este tipo el sangrado primeramente sea detenido, pero como no hay red de fibrina se hace recurrente como en las hemofilias.

La primera etapa en el diagnóstico de una alteración en la coagulación es haciendo una historia muy detallada que nos enfocará hacia una investigación subsiguiente. En esta historia clínica debe establecerse:

- 1)- El tipo de sangrado
- 2)- Curso del sangrado
- 3)- Antecedentes familiares
- 4)- Tratamiento previo o actual
- 5)- Enfermedades asociadas

1)- En el tipo de sangrado debe establecerse si hay petequias, púrpuras, equimosis, episidios únicos de gran sangrado o asociados, si hay de-

formidad de articulaciones e inmovilidad.

2) En el curso del sangrado, es importante establecer si su aparición es espontánea o después de alguna lesión, con que frecuencia aparece, si su duración es de poco tiempo o de por vida y su gravedad, es necesario saber si la coagulación es normal después de una intervención quirúrgica, incluyendo la circuncisión y extracciones dentarias.

3) - En los antecedentes familiares es importante interrogar sobre la historia familiar en general. La característica del modo de transmisión genética puede ser revelado con un árbol genealógico. Se debe establecer si la enfermedad es de herencia ligada al sexo, autosómica dominante o recesiva. Los sangrados prolongados como primeros síntomas desde la infancia, es probable que se deba a una alteración intrínseca de la coagulación. En la hemofilia, por ejemplo, los recién nacidos no presentan sangrados, pero los hematomas subcutáneos aparecen cuando los niños empiezan a caminar. Las inflamaciones, hemartrosis, también pueden ser primeros síntomas. Cuando en los niños pequeños son encontrados grandes hematomas, de inmediato deben ser sometidos a examen médico por sospecha de un desorden en la coagulación. La tendencia a sangrar en las primeras etapas de la vida es más probable que se refiera a un desorden de la coagulación, como la enfermedad de Von-Willebrand o una hemofilia, sin embargo, puede no haber manifestaciones clínicas, sobre todo cuando la alteración es ligera.

4) - El conocimiento del tratamiento previo es muy importante, ya que algunos medicamentos como la aspirina alteran el mecanismo hemostático, -- particularmente la función plaquetaria, otros como las transfusiones, inmunizaciones, heparinas y quimioterapias del cancer pueden alterar la hemostasis.

5) - En las enfermedades asociadas se debe tener en cuenta sobretodo las de la sangre y hepáticas, ya que pacientes con estas alteraciones son propensos a adquirir algún desorden hemostático. Las alteraciones intestinales pueden impedir la absorción correcta de vitamina K por lo tanto alterarse la hemostasis, alterndose los factores dependientes de esta vitamina.

En los desórdenes adquiridos de la hemostasis a menudo se manifiestan otras enfermedades que pueden ser reveladas por un examen clínico: alteraciones hepáticas, gastrointestinales, leucemias, linfomas, mielomas y otras enfermedades malignas, como las autoinmunes pueden acompañarse de síntomas de sangrado.

El descubrimiento del agrandamiento de nódulos linfáticos, el avance de enfermedades hepáticas y esplénicas pueden conducir a un diagnóstico correcto. La valoración con rayos X y estudios de laboratorio pueden ser indicados. Las pruebas de laboratorio pueden comprender determinación de hemoglobina, conteo plaquetario, reticulocitos, diferenciación celular, algunas veces enzimas hepáticas, proteínas plasmáticas y electroforesis, pruebas serológicas y otras más. Como regla general, deben ser llevadas a cabo antes de

referir al paciente a estudios concretos de la coagulación.

Diferenciación por Laboratorio. No obstante a la orientación que brinda el examen clínico, el diagnóstico del desorden hemostático depende finalmente de las pruebas realizadas por el laboratorio. Es necesario un estudio sistemático para la delineación eficaz de la anomalía en cada paciente. Con las pruebas sencillas de laboratorio, podemos clasificar las anomalias hemostáticas de la siguiente manera:

- A. - Anomalías Vasculares
Prueba del torniquete
- B. - Anomalías Plaquetarias
Conteo de plaquetas
Tiempo de sangrado
- C. - Anomalías de la Coagulación Plasmática
Tiempo de Protrombina (TP)
Tiempo de tromboplastina parcial (TTP)
Tiempo de trombina (TT)

Con estas pruebas (1) podemos darnos cuenta de a que nivel se encuentra la alteración. Si está a nivel del mecanismo vascular, plaquetario, o la coagulación plasmática. En esta última se encuentran las enfermedades hemofílicas y la deficiencia de algún otro factor. Para diferenciar las hemofilias o el factor deficiente se requiere de las pruebas del plasma adsorbido y suero incubado y la curva de por ciento de actividad de factores.

V.- PROGRAMA PARA LA DETECCION DE HEMOFILIA C.

Este programa consiste de:

- a).- Examen e historia clínicos
- b).- Evaluación por el laboratorio
 - b₁.- Pruebas generales
 - b₂.- Pruebas de hemostasis
- c).- Pruebas específicas de hemostasis para la comprobación del factor deficiente.
 - a).- El paciente en el primer caso debe ser estudiado para que quede claro el tipo de sangrado, curso del mismo, antecedentes familiares, tratamiento previo o actual y enfermedades asociadas. La exploración física es con el fin de observar la magnitud y cantidad de hematomas o equimosis, así también como la afección de otros órganos, como la inmovilidad de articulaciones, de dedos, codos, o rodillas provocados por las hemartrosis que se presentan en las hemofilias.

La historia clínica y el examen físico nos conducen a pensar que las hemorragias sufridas por el paciente son debidas a un desorden hemostático, por lo que el siguiente paso es:

b).- La evaluación por el laboratorio, donde se llevan a cabo las b₁.- pruebas generales, con el fin de confirmar que la alteración de la coagulación plasmática, no sean resultado de alguna otra enfermedad, sino una alteración propia del mecanismo hemostático. Estas pruebas incluyen: Biometría Hemática, pruebas de funcionamiento Hepático y pruebas para detectar deficiencia de vitamina K. Confirmadas estas pruebas se procede a b₂.- pruebas de hemostasis, sobre todo las que detectan anomalías de la coagulación plasmática. Cada una de estas pruebas miden los factores en cada fase de la cascada de coagulación (ver Esquema 1).

El tiempo de protrombina (TP) detecta deficiencia de los factores de la vía extrínseca: VII,III,X,V,II,I.

El tiempo de tromboplastina parcial (TTP), detecta la deficiencia de los factores de la vía intrínseca: XII, XI, IX, VIII, X, V, II, I.

El tiempo de trombina (TT) que detecta principalmente alteraciones de fibrinógeno.

Ahora bien, en la hemofilia C, el factor deficiente es el XI y como - éste se encuentra en la vía intrínseca, la prueba que única y exclusivamente se ve alterada es la del tiempo de tromboplastina parcial (TTP). Como esta prueba se altera por normalidades de varios factores de la coagulación, se hacen:

c).-Pruebas específicas para la detección del factor deficiente factor XI, tales pruebas son: plasma adsorto y suero incubado y curva de porcentaje de actividad de factores de coagulación (ver métodos).

VI.-ESTUDIO DE UN PACIENTE CON SANGRADOS
RECIDIVANTES. RESULTADOS.

A continuación se describe el estudio de un niño con desorden hemostático, desde sus inicios hasta la comprobación de la alteración que padece. Se inicia su padecimiento a los dos meses de edad en que los padres notan la aparición de manchas equimóticas en número escaso y de tamaño - aproximado de 0.5 - 10 cm. localizadas en el torax y extremidades, las que desaparecieron a los 7 días en forma espontánea. Al mes siguiente vuelve a presentarlas en diferentes partes del cuerpo. Desde entonces ha tenido diversos periodos, periodos asintomáticos y periodos en los que presenta manchas equimóticas. Es importante hacer notar que dichas manchas se presentan preferentemente en superficies de grandes articulaciones, tales como tobillos, rodillas, codos y hombros. A los dos años de edad se aprecia que dichos hematomas se forman cada día más grandes, en ese entonces se presentaron en pie izquierdo en donde también se presentó tumefacción. A los 3 años de edad sufre una segunda recaída pues espontáneamente se formaron hematomas en baja pelvis, región axilar derecha, así como en pubis inguinales, genitales y periné. Se realizaron los primeros estudios del laboratorio que mostraron hemoglobina de 6.8, hematocrito de 19, plaquetas normales, TP normal (12seg. con testigo de 12seg.), tiempo de tromboplastina parcial muy alargado. Se transfunde sangre fresca, 2 unidades - 100 ml. cada una. A los 2 días la hemoglobina corrige a 13.5. A los 4 días de esta hospitalización es tratado con unidades de --

crioprecipitados (4 unidades), evolucionando satisfactoriamente.

A los 4 años de edad ingresa de nuevo al hospital, es golpeado con una pelota en el hemiabdomen del lado izquierdo. Los 3 días de su ingreso se nota aumento de volumen en el lugar, irritabilidad y dolor a la palpación. Se presentan petequias y equimosis de aproximadamente 2 cm de diámetro. Algunas petequias en dorso de la mano derecha y brazo izquierdo, también se presentaron en el lado anterior del muslo. La biometría hemática nos da una hemoglobina de 7.7 plaquetas aumentadas (867 000 contradictorio a la formación de petequias), el tiempo de protrombina nos da de 13 con testigo de 12.5 segundos, el tiempo de tromboplastina parcial es de 1 min-21 seg.-- con testigo de 43 seg. por lo que se procedo a la transfusión de 4 unidades de crioprecipitados y posteriormente otras 2 unidades. A los 10 días egresa del hospital.

A los 8 años de edad, es hospitalizado por un derrame conjuntival y dolor torácico izquierdo. Hay huellas de sangrado en los labios, equimosis diseminada en extremidades inferiores. Deformidad y alteración de movimiento en codo derecho, muñeca izquierda y ambos pies, con inversión importante de los tobillos de éstos. Para entonces se trata con factor antihemofílico y crioprecipitados hasta la completa evolución.

El paciente ha sido tratado desde sus inicios con crioprecipitados y sangre fresca, y en la última hospitalización con factor antihemofílico. Sin embargo un diagnóstico certero de la enfermedad que padece no se le ha dado. Se habla de una posible hemofilia A, de una posible enfermedad de Von Willebrand, de una posible hemofilia C. Por lo que se ha procedido a estudiar al paciente empleando el programa de detección de hemofilia.

Historia Clínica. 1º.- En cuanto al tipo de sangrado, éste se presenta en forma de equimosis y hematomas desde muy temprana edad, posteriormente hay sangrados ocasionales por enclás, deformidad y ligera inmovilización de algunas articulaciones, así también como hemartrosis en las mismas, principalmente en las articulaciones de las extremidades. 2º El curso del sangrado ha sido de aparición espontánea presentandose en forma de petequias hematomas y equimosis, ligero sangrado por enclás y aparición de grandes hematomas al recibir cualquier golpe, dando lugar por ellos a la transfusión de crioprecipitados y sangre total fresca. 3º.- Con respecto a los antecedentes familiares, se intentó hacer un árbol genealógico pero por la no cooperación familiar fue suspendido. Sin embargo los padres -

afirman que en sus familiares nunca nadie presentó hemorragias o hemofilias, por lo que se piensa que sea caso in novo.
 4º En el tratamiento previo tenemos que ha sido controlado con erio precipitados, factor antiheflico y sangre total fresca. 5º.- De en fermedades asociadas no se ha diagnosticado ninguna, no hay alteraciones hepáticas ni leucemias, mielomas o algún otro tipo de cancer, tampoco hay coagulación intravascular diseminada ni púrpura trombocitopénica idiopática ni deficiencia de vitamina K.

Evaluación del Laboratorio. Fase vascular, prueba del torniquete, esta prueba salió normal con 6 petequias en un círculo de 2 cm de diametro (ver métodos). Fase plaquetaria, conteo de plaquetas, - el conteo fue de 250 000/mm³ y el tiempo de sangrado de Duke fue - de 1 min. con 5 seg. (ver métodos), que también estan dentro de los valores normales.

Fase de Coagulación Plasmática:

Tiempo de trombina----11 seg., con testigo de 12 seg.
 Tiempo de protrombina----13 seg, con testigo de 12.5 seg.
 Tiempo de tromboplastina parcial----137 seg., con testigo de 43 seg.

Esta última prueba está completamente anormal, por lo que la alteración hemostática se encuentra a nivel de la coagulación plasmática y no en fase vascular ni plaquetaria.

Para descartar la presencia de inhibidores o anticuerpos contra un determinado factor de la coagulación se realizó la prueba siguiente:

- (a) Plasma del paciente
- (b) Pool de plasma Normal

Tiempo de tromboplastina parcial de (a) = 105 seg.

Tiempo de tromboplastina parcial de (b) = 38 seg.

Mezclas 1:1 Tiempo de incubación (37°C) TTP.

(a) + (b)	0 Minutos	54 seg
(a) + (b)	15 Minutos	56 seg
(a) + (b)	60 Minutos	57 seg

Con éstos resultados la presencia de inhibidores naturales o adquiridos es descartada. Pues los TTPs de la mezcla del plasma del paciente con el plasma normal, desde un tiempo cero de incubación - hasta 60 minutos no varia considerablemente para aceptar la presencia de tales inhibidores (25) (26) (27) (28) (29).

Pruebas específicas de homeostasis para la detección del factor deficiente.

Prueba del plasma adsorto y suero incubado. Esta prueba se realiza en dos ocasiones con intervalos de 19 días por carencia de reactivos (ver métodos).

1ª Realización

Plasma paciente	Plasma paciente más Plasma adsorto (1:1)	Plasma paciente más suero incubado(1:1)
TTP	TTP	TTP
135 seg	45 seg	60 seg

2ª Realización

Plasma del paciente	Plasma del paciente más plasma adsorto (1:1)	Plasma del paciente más suero incubado(1:1)
TTP	TTP	TTP
133 seg.	52 seg.	62 seg.

En esta prueba la corrección del tiempo de tromboplastina parcial del plasma del paciente se da principalmente a nivel del plasma adsorto, con lo cual se puede decir que la deficiencia es del factor VIII-C que es el que produce la alteración llamada, Hemofilia A. Para comprobar lo anterior se elaboró la siguiente prueba:

TTP DEL PLASMA DEL (previamente diluido PACIENTE DILUIDO- con el buffer) 1:1 CON EL FACTOR-			% DE ACTIVIDAD
FACTOR	DEFICIENTE		
XII	78.8 segundos		59 (Gráfica 1)
XI	73.0 segundos		86 (Gráfica 2)
IX	65.6 segundos		59 (Gráfica 3)
VIII	100.0 segundos		2.5 (Gráfica 4)

Con la prueba anterior confirmamos que en realidad el factor deficiente en este paciente es el factor VIII-C, que nos da una actividad de 2.5 %, (gráfica 4).

Los otros factores que se estudiaron en esta prueba se encuentran con una actividad normal.

--- TABLA 3. Curva de % de actividad para los factores: XII, XI
IX y VIII.

VII.- MATERIAL Y METODOS

Material:

Tubos de ensayo. 10 X 75 mm y 15 X 75 mm
Trombotubos. 2,5 y 5.5 ml
Jeringas de plástico desechables. 3,5 y 10 ml
Centrífuga para tubos de ensayo
Refrigerador y congelador de plasmas
Cronómetro
Micropipetas automáticas. de 0.1 y 0.2 ml
Baño María (37°C)
Papel doble logarítmico
Camara de Neubauer
Tubos de Winthrobe
Microscopio
Baumanómetro

Reactivos:

Oxalato de sodio al 3% p/v
Citrato de sodio al 3.8% p/v
E.D.T.A. al 8% p/v
Gel de hidróxido de aluminio
Sulfato de Bario en polvo
Cloruro de calcio al 0.02 M
Oxalato de amonio al 1%
Pool de plasma de personas normales
Plasma deficiente del factor XI (Química-Hoechst)
Plasma deficiente del factor XII (Química-Hoechst)
Plasma deficiente del factor IX (Química-Hoechst)
Plasma deficiente del factor VIII (Química-Hoechst)
Buffer Dietil-barbiturato acetato pH 7.6 (Química-Hoechst)
Plasma adsorto con $Al(OH)_3$ o SO_4Ba
Suero incubado de persona normal

Reactivo para TT (Trombin (Human) Fibrindex-OrtoDiagnostic System)
Reactivo para TP (Simplastin-General Diagnostics)
Reactivo para TTP (Plastelin Plus Activator-General Diagnostics)
Agua destilada y desionizada libre de calcio

Metodología.

1.- Toma de muestra de sangre (1)(3)(40).

La sangre se toma de cualquiera de las venas cefálica o basilica que se encuentra en el pliegue del codo, con jeringa desechable de plástico. La punción se hace preferentemente sin ligadura o ligando levemente, o bien, usando el método de las 2 jeringas, es decir, con la primera se pica y se extrae una porción de sangre y sin sacar la aguja se cambia de jeringa cuya sangre extraída de ésta es la usada para la prueba de coagulación. Puede usarse mariposa para hacer la punción, pues de esta forma es mucho más fácil el cambio de jeringa. La cantidad de sangre que se extrae depende del trombotubo usado, pues hay de 2.5 ml y de 5ml. El anticoagulante usado es el citrato de sodio y la cantidad usada es la que marca el trombotubo en su parte inferior pues la de la parte superior es para la sangre y se usa a una concentración de 3,8 %. La sangre extraída debe ser usada de inmediato, es decir separar el plasma por centrifugación (3000 rpm/10min) y usarse cuanto antes o bien congelarlo para su uso posterior. Mientras se esta trabajando los plasmas y reactivos, usados en coagulación, deben permanecer en hielo. Estos reactivos se preparan con agua destilada y desionizada totalmente libre de calcio. Son liofilizados y se agrega el volumen de agua que indica el frasco.

2.- Prueba del torniquete. (1)(8)

Se toma la presión arterial con un baumanómetro y se saca la media entre la sistólica y diastólica. Por ejemplo si nos da una presión de 90mmHg de diastólica y 120 mmHg de sistólica, la media sería 105 mmHg. Esta presión media es la que se aplica en el brazo durante 5 minutos. Seguidamente abajo del baumanómetro se pinta un círculo de 2 cm. de diámetro en la piel y dentro de éste, no debe haber más de 20 petequias, de lo contrario, podría pensarse en una alteración vascular.

3.- Cont. de plaquetas. (1)(3)(8)

Se toma la muestra de sangre del paciente, en trombotubo con anticoagulante EDTA al 8%, se invierte varias veces para homogenizar y con una pipeta "toma" para conteo de glóbulos rojos se absorbe sangre hasta la marca de 0.5. Posteriormente con oxalato de amonio al 1% se llena la misma hasta la marca de 101. Se agita la pipeta durante 5 minutos, para que las demás células sanguíneas, excepto las plaquetas, sean destruidas por el oxalato. Se

prepara la cámara de Neubauer limpiándola perfectamente bien con agua y alcohol, se le pone el cubreobjetos y enseguida se le pone la sangre de la pipeta "toma". Antes de colocar la sangre en la cámara se desecha un cuarto del volumen de sangre de la pipeta, con el fin de eliminar el exalato que se haya quedado en el inicio de la pipeta. Una vez puesta la sangre en la cámara, ésta se coloca en una cámara húmeda, que se puede preparar con una caja petri y un papel filtro humedecido, durante 8 minutos para permitir la sedimentación de las plaquetas. Pasando este tiempo se procede a contar las plaquetas al microscopio con el ocular 40X y en la región para glóbulos rojos de la cámara de Neubauer. Alternativamente las plaquetas se pueden contar en un frotis sanguíneo siendo éste cualitativo, ya que se cuentan las plaquetas observadas en 10 campos y se multiplican por 2 000 para el total de plaquetas.

4.- Tiempo de sangrado modificado de Ivy. (3) (8)

Se coloca el baumanómetro en el antebrazo y se aplica una presión de 40 mmHg. Se toma una lanceta estéril y se hace una hendidura en la piel, abajo del baumanómetro, de 9mm de largo por 1mm de profundidad. A la hora de hacer la hendidura se hecha andar el cronómetro. Con un papel filtro se absorbe la sangre que brota de la herida hasta que ésta cese, y en ese momento se para el cronómetro, registrándose el tiempo.

5.- Preparación del pool de plasma normales (1) (40).

El pool de plasmas es un testigo que puede usarse en las pruebas de hemostasia, tales como el TT, TP, TTP, plasma adsorto y suero incubado y en la curva de porciento de actividad de factores. Se prepara tomando sangre de normales en trombotubos y con anticoagulante de citrato de sodio al 3.8%. Se separa el plasma de cada tubo por centrifugación a 3 000 rpm/10 min. y en otro tubo perfectamente limpio se colectan los plasmas diferentes formando el pool de plasmas. En las pruebas que se use como testigo debe sufrir el mismo tratamiento que el problema.

6.- Tiempo de trombina (3) (8).

Se colecta sangre venosa del paciente con jeringa estéril de plástico en un trombotubo con anticoagulante de citratos de sodio al 3.8%. Se separa el plasma por centrifugación a 3 000 rpm/10min, se prepara el reactivo para TT y en un tubo de ensayo, haciendo uso de una micropipeta, se ponen partes iguales del plasma problema y del reactivo. Al agregar éste último se hecha andar el cronómetro y agitando lentamente el tubo se toma tiempo hasta la formación de los primeros hilos de fibrina, no olvidando correr el testigo (pool de plasmas) de la misma manera.

7.- Tiempo de protrombina (1) (3) (8).

El plasma restante en la prueba del TT puede ser usado en esta prueba. Se prepara el reactivo para el TP. En tubos diferentes, se ponen a calentar a baño maria (37°C) por 5 minutos un poco del plasma y en el otro tubo un poco del reactivo. En otro tubo se ponen una parte del plasma dos del reac-

tivo (de los que previamente fueron calentados) con micropipeta automática y al agregar el reactivo sin sacar el tubo del baño maria, se toma tiempo con cronómetro, hasta la formación de los primeros hilos de fibrina, agitando levemente el tubo. No olvidando correr el testigo.

8.- Tiempo de tromboplastina parcial (1)(3)(8).

Se puede usar el plasma restante usado en la prueba (7). Se prepara el reactivo para TTP y en un tubo de ensaye se ponen partes iguales y reactivo con micropipeta automática se pone a calentar el tubo a baño maria --- 37°C por 5 min. Por otro lado también se pone a calentar cloruro de calcio 0.02 M a la misma temperatura y tiempo. Se agrega cloruro de calcio a la mezcla del plasma y reactivo, la misma cantidad que fueron agregados de cada una de ellos. Sin sacar del baño maria, se toma tiempo hasta la formación de los primeros hilos de fibrina, agitando levemente el tubo, no olvidando correr el testigo.

9.- Preparación del suero incubado. (1)(8)

Se colectan 5 ml de sangre de persona perfectamente sana en un tubo de ensaye completamente limpio, se le agregan unas perlas de vidrio, se tapa y se invierte varias veces hasta la formación del coagulo. Se incuba a baño maria 1 hora/37°C se puede incubar 2 o más horas, Después de este tiempo se separa el suero por centrifugación 3 000 rpm/10 minutos, quedando listo para su uso.

10.- Preparación del plasma adsorto (1)(8).

Se toman 5 ml. de sangre en un tubo de ensaye limpio o en un trombotubo con anticoagulante de oxalato de sodio al 3% del enfermo. Se separa el plasma a 3 000 rpm/10 min. en otro tubo limpio y se adsorbe con sulfato de bario a razon de 100 mg/ml de plasma, incubandolo a 37°C/15 min., agitando cada 2 minutos para que haya adsorción completa. Se centrifuga a 3 000 rpm/20 minutos para separar el plasma del sulfato de bario.

Alternativamente el plasma adsorto se puede efectuar con hidróxido de aluminio 100mg/ml. de plasma con anticoagulante de citrato de sodio al 3.8% y siguiendo el mismo procedimiento que el anterior. Se corre un testigo que puede ser el pool de plasma de la misma forma que el problema. Para comprobar que el plasma está completamente adsorbido se le hace un TP y debe dar un tiempo de 45 a 300 seg. con un testigo de 12 seg.

11.- Técnica del plasma adsor y suero incubado (1)(8).

Se prepara el plasma adsorto y el suero incubado como en 9 y 10, con testigo para cada uno de ellos. El sulfato de bario o el hidróxido de aluminio tienen la propiedad de adsorber cientos factores de la coagulación, de-

tal manera que después de la incubación, en el plasma adsorto sólo permanecen los factores: XII, XI, VIII, V, I, siendo adsorbidos los otros factores. En el suero incubado normal después de las 2 horas de incubación, -- permanecen los factores: XII, XI, X, IX, y VII.

Se toma sangre del paciente y se separa el plasma (como en 1). Con el plasma adsorto y el suero incubado se hacen diluciones 1:1 con el plasma del paciente, con micropipeta automática y en tubos de ensaye perfectamente limpios (se corre de la misma manera el testigo). A estas diluciones se les hace un TTP o un TP (como en 7 y 8) dependiendo de que prueba de éstas se haya encontrado previamente alterada. Al hacer las diluciones lo que estamos haciendo es agregar el factor deficiente al plasma problema. Si es deficiente en un factor que se encuentra en el plasma adsorto, se esta agregando al mezclarlo con éste y si es deficiente en un factor del suero incubado, también se esta agregando al mezclarlo con éste. De tal manera que el tiempo de coagulación alargado del plasma problema puede corregirse con el plasma adsorto o con el suero incubado, o bien, con ambas sustancias. Esto implicaría deficiencia de un factor que se encuentra -- tanto en suero incubado como en plasma adsorto, y estos serían los factores XII y XI descartandose el XII porque no hay manifestaciones clínicas. Si la corrección se da en plasma adsorto implica deficiencia de los factores: VIII, V y I descartandose el I porque se detecta con el TT. Si clínicamente hay manifestaciones hemofílicas se descarta el V o bien se hace un TP a ésta mezcla y si da normal implica deficiencia de VIII, en caso contrario sería de V. Si la corrección se dió en suero incubado implica deficiencia de los factores: X, IX y VII. Si previamente fue el TP el alterado el factor deficiente es el VII. Si hay manifestaciones hemofílicas se descarta el X o bien se hace un TP a ésta mezcla y si da normal implica deficiencia de IX, en caso contrario sería el X.

12.- Técnica de la curva de % de actividad.

Se prepara el pool de plasmas como se ha mencionado en técnica 5. Se preparan las diluciones del pool de plasmas con la solución tampón pH 7.6 y a cada una de éstas diluciones se les determina el tiempo de coagulación TTP o TP, dependiendo de cual sea el alterado, como se muestra a continuación.

Estos resultados corresponden a las gráficas 1,2,3, y 4.

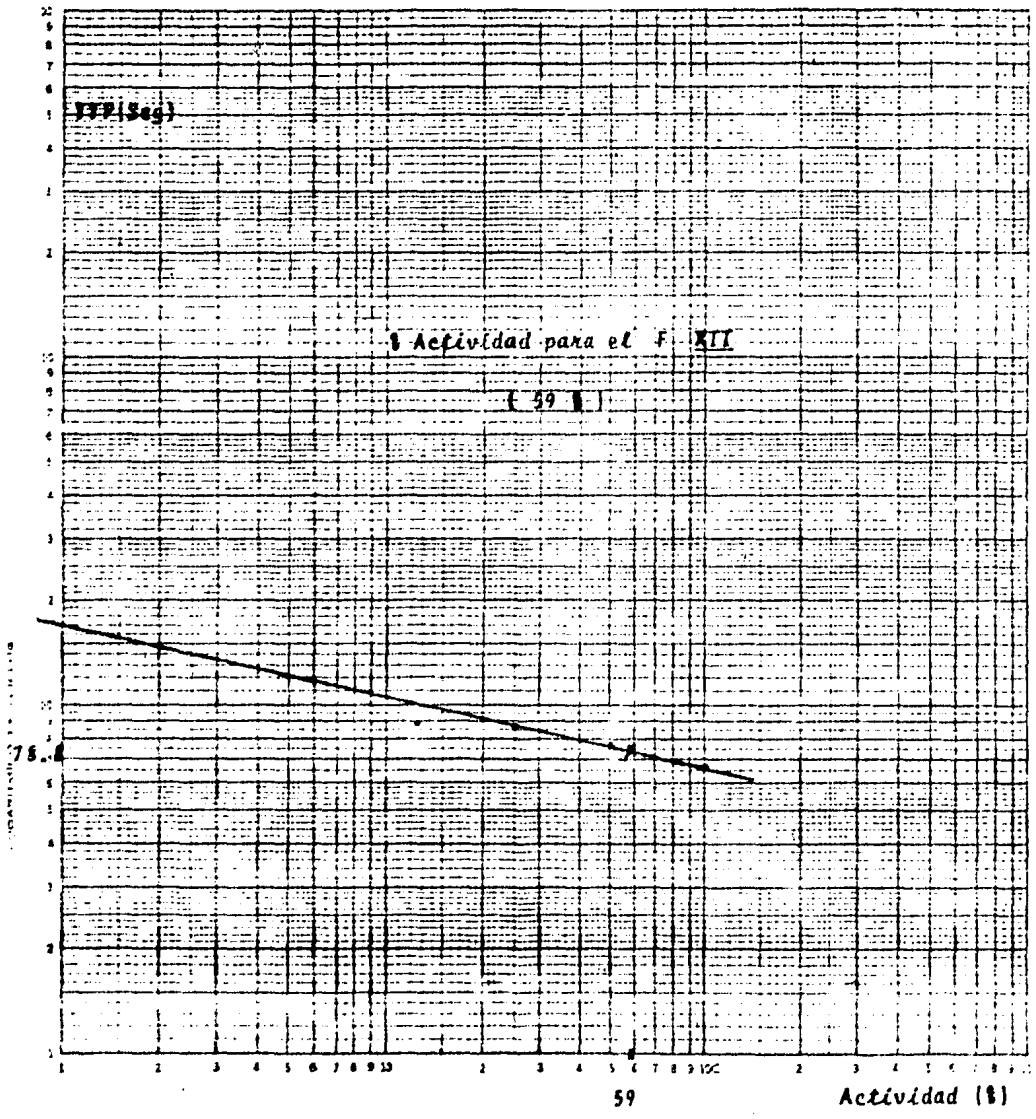
FACTOR.	DILUCION DEL POOL DE PLASMAS CON EL BUFFER DIETIL-BARBITURATO ACETATO pH 7.6	TTP(seg)	% DE ACTIVIDAD
XII	1:10	67.3	100
	1:20	76.0	50
	1:40	86.5	25
	1:80	86.9	12.5
	Plasma del paciente diluido 1:10 con el Buffer y mezclado con el factor XII deficiente en relación 1:1.	77.4 80.3	
		$\bar{X} = 78.8$	59
XI	1:10	74.4	100
	1:20	76.9	50
	1:40	86.9	25
	1:80	94.3	12.5
	"	73.3 72.8	
		$\bar{X} = 73.0$	86
IX	1:10	58.8	100
	1:20	68.8	50
	1:40	75.4	25
	1:80	94.3	12.5
	"	65.9 65.3	
		$\bar{X} = 65.6$	59

VIII	1:10	60.6	100
	1:20	65.5	50
	1:40	72.3	25
	1:80	80.3	12.5
	"	95.8	
		<u>104.3</u>	
		X = 100	2.5

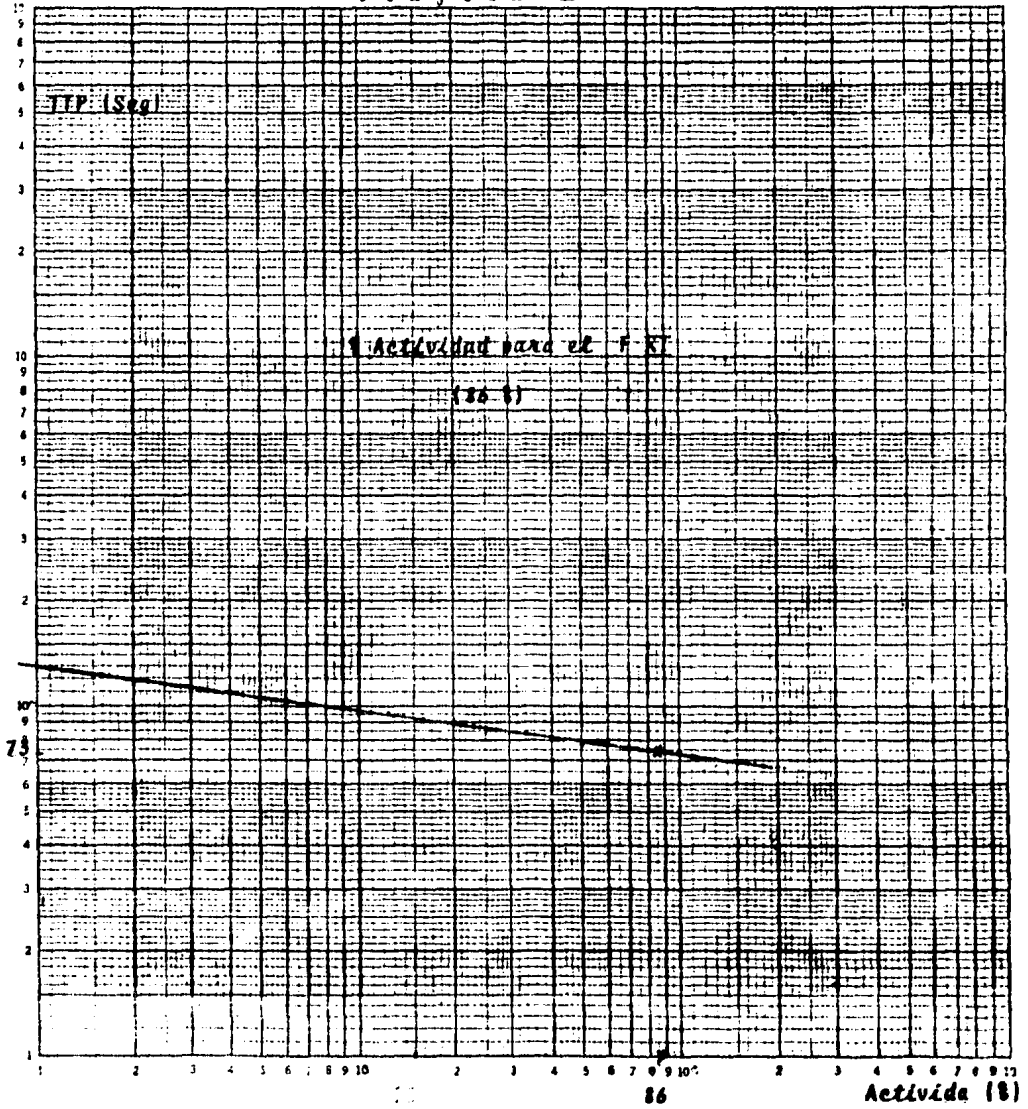
En papel doble logarítmico se grafica en el eje de las "Y" el tiempo de coagulación y en el eje de las "X" los % de actividad, correspondiendo el 100% de actividad a la dilución más concentrada. Esto sólo para las diluciones del pool de plasmas con el buffer.

Para hallar el % de actividad del problema, primeramente se toma la muestra de sangre al paciente y posteriormente se separa el plasma. Este se diluye con el buffer pH 7.6 1:10, tal como la primera dilución del pool de plasmas usado en la construcción de la gráfica (si la primera dilución para la gráfica fuese de 1:5 u otra, también el plasma o del paciente debe diluirse 1:5). El plasma diluido del paciente, es mezclado en volúmenes iguales con el plasma deficiente del factor estudiado. A esta mezcla se le hace el tiempo de coagulación correspondiente y el resultado es localizado en la gráfica y por interpolación se encuentra el % de actividad del factor en estudio.

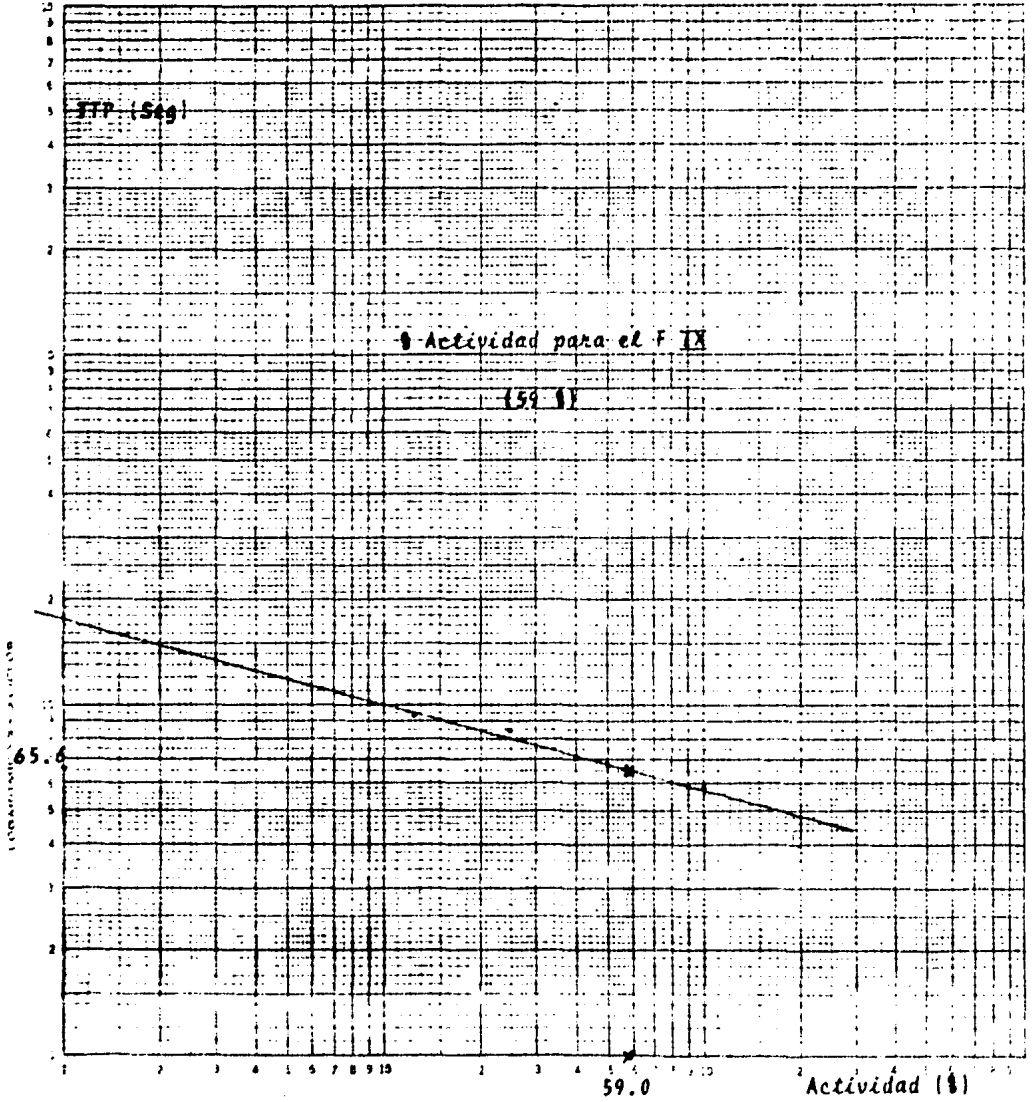
G r a f i c a : 1



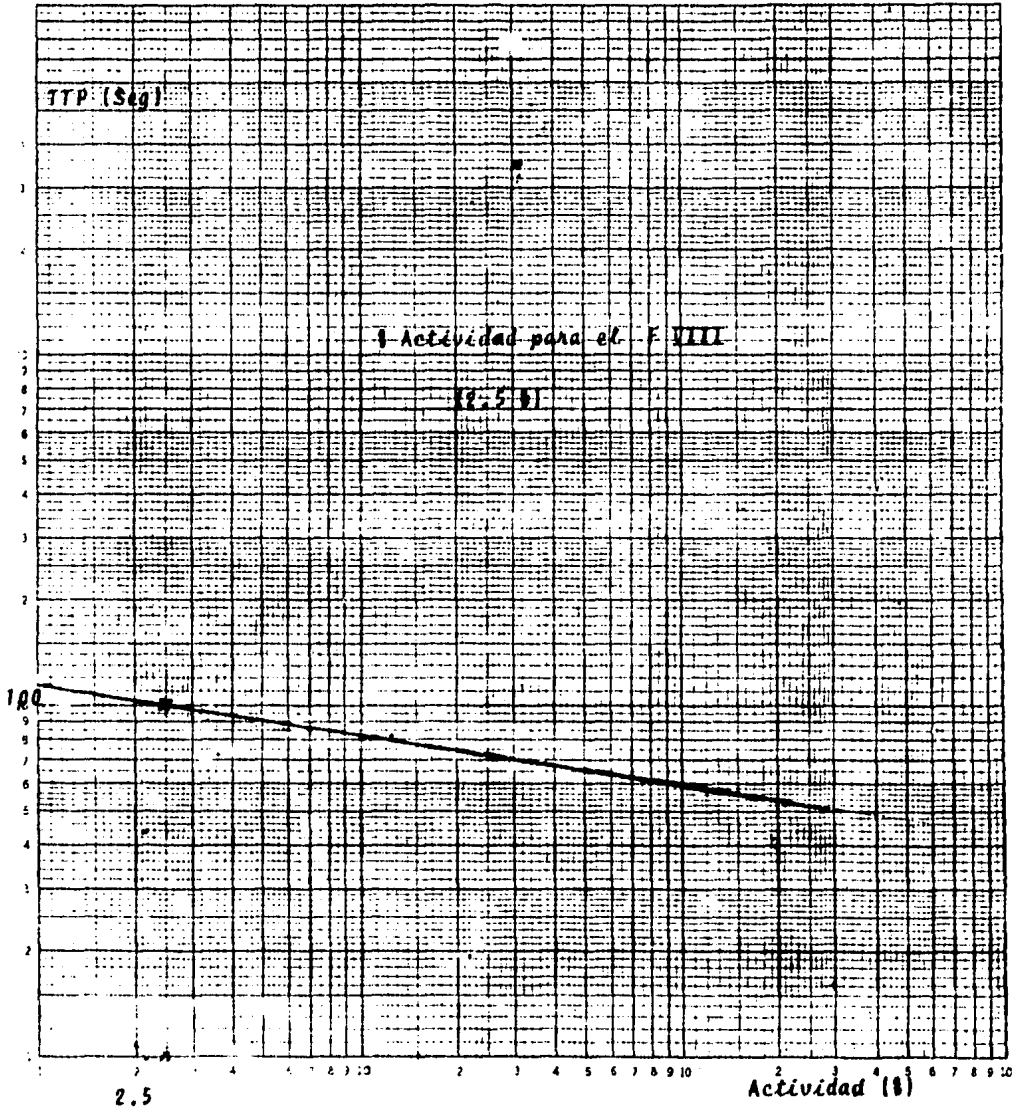
G r a f i c a : 2



G r a f í c a : 3



G r a f i c a : 4



VIII.-DISCUSION Y PROGRAMA DE CONTROL.

En el estudio del paciente, se ve que hay una corrección del TTP-con el plasma adsorto principalmente, por lo que más que una deficiencia del factor IX u XI, se trata de una deficiencia del factor VIII-C que se manifiesta como hemofilia A. Para comprobar lo anterior se elaboraron curvas de % de actividad para 4 factores: XII, XI, IX y VIII, dando los resultados que se muestran en la tabla 3. En dichas curvas vemos como es en el factor VIII precisamente donde se presenta la deficiencia, pues la actividad para este factor es de 2.5% (Gráfica 4). Tampoco las alteraciones sufridas por el paciente son debidas a deficiencia de factor XII ya que los desordenes de este factor se manifiestan asintóticamente. Por otro lado los inhibidores que nos darian una pseudohemofilia (59) estan ausentes, como se muestra en el estudio para la detección de estos (pagina 39).

La gravedad de una hemofilia depende de que tan deficiente sea el factor o cantidad de anticoagulantes (inhibidores) presentes, de ahí la importancia de hacer una correcta diferenciación de las mismas para un buen tratamiento. Estos trastornos son tratados de diferente forma. La hemofilia A y B, son tratadas y controladas a base de factor antihemofílico A o B, segun el caso, que se vende en el mercado en forma de liofilizado. La dosis debe ser individualizada y de acuerdo con las necesidades del paciente, así como sus características, peso, severidad hemorrágica, presencia y/o cantidad de inhibidores.

La hemofilia C, desde sus inicios, ha sido tratada a base de plasmas frescos congelados (21)(48)(53). En el tratamiento de pacientes con dicha alteración hemofílica, muy poco del material administrado entra inmediatamente a los espacios extravasculares. Los niveles de factor XI muestran un gradual decremento en los 7-9 días de administrarlos. Su actividad puede ser medida por ensayo directo o por un TTP. En general los niveles máximos de factor XI en el plasma despues de la transfusión de 7-20 ml/Kg de peso es de 25-50% (52) y parece asegurar una adecuada hemostasis en los episodios hemorrágicos y posible cirugías. Un sobrenadante de crioprecipitados contiene aproximadamente un 100% de factor XI, administrado en dosis diarias de 10 ml/Kg. mantiene los niveles en un 30-50% en pacientes con cirugía. Una dosis preoperatoria de 30 ml/Kg. y una dosis mantenida de plasma fresco congelado diaria (5ml/Kg.) o de 10 ml/Kg. cada dos días ha tenido particular eficacia en pacientes con procedimiento quirúrgico (22)(23)(24).

H.L. Nossel y Col. 1964 (2), nos informa que la transfusión de -- 250 ml de plasma fresco congelado incrementa los niveles de PTA (factor XI), de 11-12% y que la infusión de 250ml de plasma fresco congelado -- puede elevarlos desde 28-43%. En 1965 Rosen thal y Esther Sloan (21) esta

blecieron el TTP de dos personas deficientes de factor XI en 1980 y 250 segundos y después de la infusión de 500 ml de plasma fresco congelado se disminuyeron a 80 y 120 segundos respectivamente.

Más recientemente Soencer W. Redding y Col. 1980 (19) informaron - que el tratamiento para la hemofilia C, con plasma congelado es eficiente y que la aplicación de 4.5 ml/Kg. de peso puede aumentar los niveles de dicho factor hasta en un 10%.

Actualmente en el mercado existe PTA en forma liofilizada que al -- igual que los otros factores antihemofílicos son económicamente difíciles de obtener, sobre todo para personas de clase baja y media. Este -- liofilizado se administra de acuerdo a las necesidades del paciente: peso, severidad hemorrágica, y cantidad presente de inhibidores. En la tabla 4 se muestran los tratamientos y dosis para diferentes alteraciones hemorrágicas.

Estos pacientes con hemofilia C, son controlados con la administración de plasma fresco congelados (PFC), o liofilizados comerciales, como se ha mencionado antes. Periódicamente deben asistir al laboratorio, con el fin de valorar la actividad de dicho factor ya sea directamente con la curva de porcentaje de actividad, o indirectamente con el TTP, de tal manera que se encuentre en la concentración normal requerida para la hemostasis.

Cuando éstos pacientes requieren de una intervención quirúrgica es necesaria una dosis preoperatoria del plasma fresco congelado para mantener los niveles normales. Nunca debe ser intervenido sin previo tratamiento y sin que se encuentre con niveles normales de factor XI (??).

Tales pacientes no deben llevar una vida agitada, sino hasta cierto punto restringida, evitando golpes, heridas u otros traumas que puedan poner en peligro su integridad. Deben tener una orientación por personal profesional, psicólogos, médicos químicos que apoyen conjuntamente al paciente, hacerle ver que la enfermedad que padece se puede volver drástica en cualquier momento, por lo que debe asistir al laboratorio, cuando se indique para una valoración de la enfermedad; que no debe provocar riñas entre compañeros que lo puedan lastimar; que no deba practicar juegos rudos y peligrosos; que deba evitar caídas, no correr y caminar con cuidado.

A los familiares del paciente, si es que éste es infante, también se les debe dar una plática adecuada, donde quede bien claro las características de la enfermedad, los riesgos que corren si no cuidan del infante y no siguen las indicaciones dadas por los médicos y químicos.

TABLA 4. Material administrado y dosis en alteraciones hemorrágicas.

DEFECTO	MATERIAL DE TRANSFUSION	DOSIS
=====		
DEFECTOS ADQUIRIDOS:		
Trombocitopenia	concentrado plaquetario. CP.	10 ml/Kg
Enfermedad hemorrágica en recién nacido	Plasma fresco congelado PFC.	10-15 ml/Kg
Consumo por coagulopatía	PFC o CP	10-15 ml/Kg
DEFECTOS HEREDITARIOS:		
Afibrinogenemia	Crioprecipitados CPP.	1 Paquete/3 Kg
Deficiencia del factor:		
II	CPP	1 Paquete/ 3 Kg
VII	Complejo Protrombina	1 U concentrado = 8 del nivel en sangre por Kg. por 1.0.
X	Factor X concentrado o PFC.	1 U conc.=8 del nivel en sangre por Kg.por 1.0
IX	PFC	10-15 ml/Kg
VIII	CPP o Factor VIII concen.	1 U conc.=8 de nivel en sangre por Kg.por 0.5 (1 CPP=100 U).
V	PFC	10-15 ml/Kg.
XI	PFC	10-15 ml/Kg.
XIII	PFC	10 ml/Kg.
Enfermedad de von Willebrand	CPP	1 paquete/3 Kg.

NOTA: 1 Unidad de factor es el equivalente a la cantidad de coagulante en un ml. de plasma fresco normal.

IX.- CONCLUSIONES

La Hemofilia C, es una de las alteraciones hemostáticas más raras en nuestro País. Esta alteración se presenta con mayor frecuencia en gente de naturaleza judía. Su diagnóstico requiere de un estudio bien detallado, tanto del médico como del químico. Rosenthal, reporta que se transmite como un rasgo autosómico dominante con un alto grado de penetración, y Rapaport reporta que la mayor deficiencia de PTA se da en homocigotos y la menor en heterocigotos. A los familiares del caso reportado se les interrogó con el fin de buscar una transmisión genética, sin embargo parece ser que ninguno de sus familiares cercanos, han padecido o padecieron alteraciones hemostáticas. Por lo que es de esperarse que sea un caso IN-NOVO de Hemofilia.

Un buen diagnóstico de Hemofilia ya sea A, B o C, depende de la capacidad tanto del médico como del químico, y por ende el rápido tratamiento y mejoría del paciente. El diagnóstico de la Hemofilia C y de alguna otra alteración hemostática requiere de personal altamente calificado, -- que maneje a la perfección las pruebas de coagulación principalmente las del plasma adsorto y suero incubado, así también como las curvas de porcentaje de actividad de los factores, que, como hemos visto, son de las pruebas más eficaces para la determinación de un factor deficiente. Aunque la hemofilia C no es tan drástica como la A o B, no debe tomarse tan a la ligera, sino todo lo contrario, debe de tratarse y controlarse como se ha mencionado, ya que si no se tiene un conocimiento certero de la enfermedad se pueden suministrar excesos de crioprecipitados o plasmas frescos, que puedan acarrear otros problemas post-transfusionales, como hepatitis y alteraciones inmunológicas sanguíneas.

Así pues, los problemas hemostáticos, no solo basta con detectarlos clínicamente, sino que deben de ser llevados al laboratorio donde se diferenciara con exactitud el tipo de problema. De tal manera que el laboratorio es de vital importancia para el estudio de la hemostasis, la cual depende en su mayor parte de este, la hemostasis, es una rama de la hematología que estudia lo relacionado con la coagulación sanguínea, y como para que ésta sea eficiente son varias las causas involucradas, con el pasar de los años se han elaborado técnicas y más técnicas para el estudio de la misma, siendo tan amplia en número, que hay instituciones de servicio social y privado que cuentan con un departamento exclusivo para el estudio y detección de trastornos hemostáticos. Aunque se debe hacer la aclaración que en nuestro País son pocas las instituciones que cuentan con ese privilegio, ya que, como en muchos otros laboratorios, la mayoría de reactivos y aparatos usados son de importación.

Los pacientes con trastornos hemostáticos, remitidos a estudios de laboratorio especializados, normalmente siguen un mismo patrón, es decir,

X.- B I B L I O G R A F I A

- (1)-*Diagnóstico hematológico, laboratorio y clínica.*
Federico Cisar Rius, Pedro Farraras
Editorial JIMS, Barcelona, Esp. 1979
- (2)-*Hematología aspectos fisiológicos.*
Allan J. Erslev.
Nueva Editorial Interamericana, México, D.F. 1981.
- (3)-*Hemostasis manual.*
Laurence A. Harker
F. A. Davis Company Philadelphia P.A., 1974.
- (4)-*Hemostasis and Trombosis.*
Arthur L. Bloom and Duncan P. Thomas.
Edinburgh London Melbourne and New York., Firest published, 1981.
- (5)-*Activation of Human factor XI (Plasma Thomboplastin Antecedent. PTA) by factor XIa (activated Hageman factor).*
Katoku Kurachi and Earl W. Davie.
Biochemistry. Vol: 16, No.26 1977.
- (6)-*The participation of PTA (factor XI) in contac-activated Fibrinolisis.*
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 104(2); 153-7. 1980
Hideito Saito.
- (7)-*Influence coagulation on tha activation of plasminogen by streptokinase and urokinase.*
Takada, A., T.Urano, Y., Takada
Thrombosis and Hemostasis. vol.42, No;3, Oct. 1979.
- (8)-*Hematología.*
Williams J. Williams, Ernest Beuthar, Allan J, Erslev y R.W. Rundles.
Salvat Editores. Barcelona, Esp., 1979.

- (9)-New hemophilia-like. Disease caused by deficiency of a Third plasma Thromboplastin Factor.
Robert L. Rosenthal, O. Herman Dreskin, and Nathan Rosenthal.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 82:171-174, 1953.
- (10)-The mode of inheritance of deficiency: evidence for the existence of major PTA deficiency and minor PTA deficiency.
Samuel I. Rapaport, Robert R. Proctor, Mary Jane Patch. and Maurice Yetra.
Blood 18:149-165, 1961.
- (11)-Factor XI activity and factor XI antigen in homozygous and heterozygous factor XI deficiency.
Abraham Rimon, Sandra Schiffman, D.I. Feinstein and S.I. Rapaport.
Blood vol:48, No: 2, aug. 1976.
- (12)-Myositis Ossificans traumatica, association with hemophilia "C" in a football player.
Peter Jokl, John Federico
JAMA. 237:2215-2216. 1977.
- (13)-Hain gene frequency of factor XI (PTA) deficiency in Askenazi jews.
Blood 51:6 pag.1223. June 1978.
- (14)-The fibrinolytic activity of human tissue.
B.J.H. pag. 284-291. 1981.
- (15)-Fibrinogen and ADP-induced platelet aggregation.
J.F. Mustard, M.A. Packman et. All.
Blood vol: 52 No. 2 Aug. 1978.
- (16)-Basic Mecanisms in blood coagulation.
Davie E.W. and Fujikawak.
Ann. Rev. Biochem. 44:799. 1975.
- (17)-The effects of cold on haemostasis.
Oral .Surg. Apr. 1980 49(4), 294-300

- (18)-Activation and function of human Hageman factor. The role of high molecular weight Kininogen (HMWK) and prekallikrein, Meier H.L., Pierce J.V., Colmm. RW.
J. Clin. Invest. 60:18 1977.
- (19)-Factor XI deficiency (PTA deficiency): A case study. Spencer W. Redding, D.D.S., and Allan S. Shan.
Journal Oral Medicine. vol: 35 No: 2 April-June. 1980.
- (20)-Blood PTA (factor XI) levels following plasma infusion. Proc. Soc. Biol. & Med. 115:896, 1964.
- (21)-PTA (factor XI) levels and coagulation studies after plasma infusion, in PTA-deficiency patients. Lab. Clin. Med. vol: 66, No. 5 Novem. 1965.
- (22)-Surgical Haemostasis with a factor XI-containing concentrate. J. A. M. A. 229:163-165, 1974.
- (23)-Deficit of plasma thromboplastin antecedent and major surgery. A family study. Sangre (barc.) 23(5): 606-9. 1978 (eng-abstr) (spa).
- (24)-Studies on plasma thromboplastin antecedent (factor XI), PTA deficiency and inhibition of PTA by plasma: pharmacology in hibitors and specific antiserum. Charles D. Forbes and Oscar D. Ratnoff.
J. Lab. Clin. Med. vol: 79. No. 1 January 1972.
- (25)-Hemorrhage in a cat caused by inhibition of factor XI (PTA). J. Am. Vet. Med. Assoc., 182(6): 189-91 1983.
- (26)-Combined severe factor XI deficiency and von Willebrand dises. Am. J. Clin. Pathol. 74(1): 108-14. 1980.
- (27)-A circulating anticuagulant directed against factor XIa in systemic lupus erithematosus. Arthritis Rheum. 22(10):1135-8. 1979.
- (28)-Studies on a circulating anticoagulant in SLE: evidence for inhibition of de function of activated plasma tromboplastin antecedent (factor XIa). Henry Krieger, John P. Leddy and Robert T. Brecknridge.
Blood. vol:46. No.2. Aug. 1975.

- (29)-Comparison of the coagulant activities of platelets and phospholipids.
Pert N. Walsh and Hyatt.
B.J.H. vol:33. No: 1. May 1976.
- (30)-The complex multimeric composition of factor VIII/von Willebrand factor.
Zaveri M. Rugeri and Theodors S. Zimmerman.
Blood. vol:57. No. 6. Jun. 1981.
- (31)-Interaction of blood clotting enzymes, VIII. The relation between clotting time and clotting velocity.
Hemker, H.C., J. Kop, G.M. Eijlens.
Thrombosis and Hemostasis vol:41 No.2. April 1979.
- (32)-A simple, specific on-stage assay for PTA activity (XIa).
Samuel I. Rapaport, Sandra Schiffman, et Al.
J. Lab. & Clin. Med. vol:57. No:5. May. 1961.
- (33)-The haemostatic mechanism and menstruation.
Thrombosis and Haemostasis.
42(5). Feb. 1980.
- (34)-Detection of factor VIII inhibitors with the partial thromboplastin time.
Thomas S. Lossing, Carol K. Kasper, and Donald I. Feinstein.
Blood. vol:49. No.5. 1977.
- (35)-Isolation and characterization of human factor VIII.
Legaz, M., Schmer, G., Counts, K. and Davie, E.
J. Biol. Chem. 248:266. 1973.
- (36)-Pseudo F XI-Deficiency: effects of an inhibitor of factor XI adsorption to surface.
S. Schiffman, Ruth Margalit, M. Roserve and D. Feinstein.
Blood. vo:57. No.3 pag. 437.
- (37)-Evidence that platelets contain only minimal factor XI activity and antigen.
S. Schiffman, Abraham Rimon and S.I. Rapaport.
B.J.H. 35(3). March. 1977.

- (38) - Acquired factor XI deficiency in systemic lupus erythematosus
G.M. Vecellotti and D.F. Msher,
Throm. Haemost. 48(3):250-2 Dec. 1982.
- (39) - Trypsin activation of human factor XI.
Christine Mannhalter, Sandra Schiffman and Aaron Jacobs.
J. Biol. Chem. 255(7): 2667-2669. 1980.
- (40) - Blood specimen collection tuber for coagulation test.
Blackbum and N.K. Shinton.
B.J.H. vol:43 No. 1. Sep. 1979.
- (41) - Partial purification of PTA (factor XI) and activation
by trypsin.
Hideito Saito, Oscar D. Ratnofff et. All.
J. Clin. Invest. vol:52 850-861 1973.
- (42) - Factor XI-dependent fibrinolysis: a double function of plasma
Kalikrein dependent plasminogen proactivator.
Kluft, M.M., Trumpi Kalshoren, A.F.H. Jei and E.C. Veldhuyzen
Throm. Haemos. vol:41 No.4 1977.
- (43) - Willwbran factor in haemostasis in the in-vitro bleeding time.
Michael W. Long, Raymond L. Henry.
Blood. vol.54. No. 6 Dec. 1979.
- (44) - Hypoprothrombinemia: case report.
R.R. Montgomery, A. Otsuka.
Blood. vol:51 No. 2 Feb. 1978.
- (45) - Fibrin formation: Effect. of calcium ions.
Eric P. Brass, Walter B. Forman et. All.
Blood. vol:52 No.4 Oct. 1978.
- (46) - Factor XII induced fibrinolysis: studies on the separation
of prekalikrein, plasminogen proactivator and factor XI in
human plasma.
Lake, K. and Vennerod, A.M.
Thrombosis Research 328-303. 1974.

- (47)-The biochemistry of prothrombin activation.
Craig M. Jackson.
B.J.H. vol.39 No.1 May 1978.
- (48)-PTA deficiency: clinical, coagulation, therapeutic and hereditary aspect of a new hemophilia-like disease.
Blood. 10:120 1955.
- (49)-PTA (factor XI): A specific and sensitive radioimmunoassay.
Blood. 46:161-173 1975.
- (50)-Immunological studies of human factor XI and prekallikrein demonstration with high molecular weight kininogen.
Adv. Exp. Med. Biol. 156:109-13. 1983.
- (51)-Factor XI activator content of normal and factor XI deficient serum.
Throm. Res. 12(6):1195-200 1978.
- (52)-The prevalence of PTA (factor XI) deficiency.
Muir, W.A., and Ratnoff O.D.
Blood. 44:569-570. 1974.
- (53)-PTA deficiency (factor XI deficiency)
Morphy J.B., Robinson K. and Segelman A.
Oral Surg. 42:26-30. 1976.
- (54)-Factor XI PTA deficiency: surgical and obstetric aspects.
Obstet. Gynecol. 35:69 1970.
- (55)-Hemorrhagic diathesis due to a familial, isolated factor XI (PTA) deficiency.
Med. Welt. 24:701-3 Apr. 1973.
- (56)- The use of antibodies to investigate the role of factor XI in platelets.
Thromb. Res. 1-15 Jan. 1980.
- (57)-Familial & genetic, combined deficiency of factor VIII and factor XI.
AM.J.Haemet. 1(3):319-24.

- (58)-Human blood coagulation factor XI. Purification, properties and mechanism, of activation by activated factor XIIa.
J. Biol. Chem. 252:6432. 1977
- (59)- plasma Thromboplastin Antecedent deficiency and its association with pseudohemophilia.
Isr. Med. J. 19:85 1960.