



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

División de Estudios de Posgrado e Investigación  
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

01685  
2ej.

# Patogénesis de la Diátesis Hemorrágica en la Fiebre Porcina Clásica Aguda

Tesis presentada para obtener el grado de  
DOCTOR EN CIENCIAS VETERINARIAS  
(área patología)

POR  
NORMA LETICIA CALDERÓN APODACA

Directores de tesis:  
MVZ. Ph.D. LEOPOLDO HENRI PAASCH MARTÍNEZ  
Dra. TERESA FORTOUL VAN DER GOES



México, D.F.

1998

264329

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

**El autor da consentimiento a la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Medicina y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México para que la tesis esté disponible para cualquier reproducción e intercambio bibliotecario.**

---

**Norma Leticia Calderón Apodaca**

## **COMITÉ TUTORAL Y JURADO**

### ***Presidente***

**Dra. Aline Shunemann de Aluja**

### ***Secretario***

**Dr. Roberto Cervantes Olivares**

### ***Vocal***

**Dr. Adolfo Martínez Palomo**

### ***Vocal***

**Dr. Jan Bouda**

### ***Vocal***

**Dr. Guillermo Téllez Isaías**

### ***Suplente***

**Dr. Leopoldo H. Paasch Martínez**

### ***Suplente***

**Dr. Gilberto Chávez Gris**

## **DEDICATORIA**

**A mis Padres, quienes me han apoyado siempre en el curso de estos  
largos estudios**

**A Rosy**

**A mi Familia**

**A mis Amigos**

**À mes amis de la France et du Canada**

**Al Dr. Leopoldo Paasch**

## **AGRADECIMIENTOS**

**Este trabajo se realizó en el Departamento de Producción Animal: Aves de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, el Departamento de Biología Celular y Tisular de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México, y el Departamento de Patología y Microbiología (Laboratorio de Patología Clínica) de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de Montreal, Canada.**

**Este trabajo fue apoyado por Química Hoechst y el programa de apoyo a proyectos de investigación para tesis de doctorado, Proyecto PADEP 016304, de la Coordinación de Estudios de Posgrado e Investigación de la UNAM.**

**Mi agradecimiento al Consejo Nacional de Ciencia Y Tecnología por la beca que me otorgó durante estos tres años de estudio.**

**Al Dr. Guillermo Téllez Isaías y a todos los miembros del departamento de Producción Animal: Aves, agradezco su apoyo y compañerismo.**

***Al Dr. Leopoldo H. Paasch Martínez.***

**Por haberme confiado esta investigación, por sus valiosos consejos en mis actividades académicas y por compartir todos sus conocimientos.**

**Que encuentre en este trabajo la expresión de mi más sincero agradecimiento.**

***A la Dra. Teresa Fortoul van des Goes.***

**Sincero agradecimiento por aceptar ser mi asesora, por tu siempre disponibilidad en el trabajo y por tu amistad.**

***A los Miembros del Comité Tutorial.***

**Mi agradecimiento por el honor que ellos me han otorgado aceptando la tarea de ser miembros del jurado.**

***A la Dra. Anne Lanevski.***

**Por su hospitalidad y por compartir sus conocimientos en los estudios de coagulación sanguínea.**

***A la Dra. Silvia Antuna, Al Dr. Adrian Rondan, al Sr. Luis Antonio Morales.***

**En agradecimiento por su colaboración en las técnicas de microscopía electrónica y técnicas histológicas.**

***Al Sr. Francisco Pasos .***

**Por sus consejos y colaboración en materia de fotografía.**

## ÍNDICE

<b>Resumen.....</b>	<b>VII</b>
<b>Summary .....</b>	<b>IX</b>
<b>Introducción .....</b>	<b>1</b>
<b>Objetivos .....</b>	<b>4</b>
<b>Hipótesis.....</b>	<b>5</b>
<b>Material y métodos .....</b>	<b>5</b>
<b>Resultados .....</b>	<b>9</b>
<b>Discusión.....</b>	<b>14</b>
<b>Conclusiones .....</b>	<b>17</b>
<b>Literatura citada.....</b>	<b>19</b>
<b>Cuadros .....</b>	<b>23</b>
<b>Figuras.....</b>	<b>27</b>
<b>Anexo</b>	
<b>Revisión de la literatura de la Coagulación Intravascular</b>	
<b>Diseminada y las pruebas de discernimiento para su diagnóstico.....</b>	<b>41</b>
<b>La coagulación intravascular diseminada .....</b>	<b>42</b>
<b>Biología de la CID .....</b>	<b>47</b>
<b>Determinación en laboratorio de la CID.....</b>	<b>50</b>
<b>Resultados positivos de las pruebas diagnósticas en caso de CID.....</b>	<b>54</b>
<b>Literatura citada.....</b>	<b>55</b>
<b>Cuadro .....</b>	<b>58</b>
<b>Figuras .....</b>	<b>60</b>



## RESUMEN

Con objeto de contribuir al esclarecimiento de la patogénesis de la diátesis hemorrágica que acompaña a la fiebre porcina clásica en su fase aguda se realizaron estudios de parámetros hematológicos y hemostáticos así como evaluaciones histológicas y ultraestructurales de la médula ósea y de los glomérulos renales en 16 cerdos infectados experimentalmente con el virus de la fiebre porcina clásica y en cuatro cerdos testigos. En este estudio no se determinaron cambios significativos en los resultados de las pruebas que exploran las vías intrínseca y extrínseca de la coagulación, sin embargo, a partir del tercer día posinfección se detectó una significativa y progresiva reducción de la cuenta plaquetaria. Los hallazgos histológicos consistieron en vacuolización de los megacariocitos a partir del segundo día posinfección, proceso degenerativo que concluyó con necrosis de éstas células precursoras de las plaquetas al cuarto día posinfección. Otro hallazgo importante fue la severa hinchazón y necrosis de las paredes de vasos de pequeño calibre. Ultraestructuralmente se observó degeneración progresiva de los megacariocitos con la presencia de numerosas partículas virales asociadas a vesículas citoplasmáticas dilatadas a partir del primer día posinfección. Los glomérulos renales presentaron fragmentación de la membrana basal, degeneración hidrópica de las células endoteliales y de los podocitos en los que se observaron partículas virales. Con base en los resultados de este trabajo, se considera que la trombocitopenia y el daño en los endotelios vasculares

**son la causa de la diátesis hemorrágica en la fase aguda de la enfermedad y asimismo se concluye que la coagulación intravascular diseminada no tiene un efecto patogénico en la misma. La identificación de las partículas virales en los megacariocitos degenerados permite concluir que el daño en estas células es causado por el virus de la fiebre porcina clásica. Consecuentemente la degeneración y necrosis de los megacariocitos se identifican como responsables de la trombocitopenia detectada en los primeros estadios de la infección.**

**Palabras clave: Coagulación intravascular diseminada, diátesis hemorrágica, fiebre porcina clásica, trombocitopenia.**



## SUMMARY

Aiming to shed more light on the pathogenesis of haemorrhagic diathesis in classical swine fever, studies on haematological and haemostatic parameters as well as histological and ultrastructural evaluations of bone marrow and kidney cortex were performed in 16 pigs experimentally infected with the classical swine fever virus and in four control pigs. In this study no significant changes were determined in the variables of intrinsic and extrinsic coagulation pathways, however, a significant and progressive reduction of platelet counts was detected starting at the third day post infection. The histological findings consisted in swelling and vacuolization of megakaryocytes at the second day post infection and necrosis of the same cells at four days post infection. Other outstanding changes were necrosis of small vessel walls. Ultrastructurally a progressive degeneration of megakaryocytes with numerous viral particles contained in dilated cytoplasmic vesicles was detected starting at day 1 post infection. Renal glomeruli exhibited fragmentation of basement membranes, vacuolization of endothelial cells and podocytes in which viral particles were also observed. Based on the aforementioned findings, thrombocytopenia and endothelial damage are considered the basic causes of haemorrhagic diathesis in acute stages of the disease. Thus, disseminated intravascular coagulation is not considered to be involved as causative factor of haemorrhagic diathesis, at least in early stages. Since classical swine fever viral particles were observed in degenerated megakaryocytes it is concluded that damage caused by

**classical swine fever virus is responsible for the thrombocytopenia detected in early stages of this disease.**

**Keywords: Classical swine fever, disseminated intravascular coagulation, haemorrhagic diathesis, thrombocytopenia.**



# **PATOGÉNESIS DE LA DIÁTESIS HEMORRÁGICA EN LA FIEBRE PORCINA CLÁSICA AGUDA**

## **INTRODUCCIÓN**

**La Fiebre Porcina Clásica (FPC), es una enfermedad viral de los cerdos que se caracteriza por una diátesis hemorrágica producto de la degeneración y necrosis de las células endoteliales vasculares. Las hemorragias ocurren en muchos sitios, pero con mayor frecuencia en los nódulos linfáticos y en los riñones (Terpstra, 1991).**

**En el curso de la FPC, además de la diátesis hemorrágica masiva, también se presenta trombosis múltiple, principalmente en el bazo, intestino, riñones e hígado (Trautwein, 1988).**

**La combinación de diátesis hemorrágica y trombosis diseminada puede ser considerada como sugestiva de coagulopatía por agotamiento de los factores de coagulación (Robinson y Grant Maxie 1993; Terpstra 1991). Esta condición se presenta en enfermedades sistémicas graves en las que se activan los mecanismos de coagulación con la extensiva formación de microtrombos en arteriolas y capilares y se designa como Coagulación Intravascular Diseminada (CID) (Bick 1988; Bithell 1993; Cotran et al. 1994; Wyers 1985).**

**Durante el curso de la CID, se agotan las plaquetas de la sangre así como los factores de la coagulación, el fibrinógeno se polimeriza en los capilares y aunque se activa el sistema fibrinolítico, el exceso de fibrina no puede ser eliminado (Bick 1988; Jobin 1995; Robinson y Grant Maxie**

**1993). En casos de CID existe diátesis hemorrágica y en el diagnóstico clínico se puede detectar trombocitopenia, disminución de la concentración plasmática de fibrinógeno y de antitrombina III, incremento de los productos de degradación de la fibrina y del fibrinógeno, prolongación del tiempo de protrombina, del tiempo de tromboplastina parcial activada y del tiempo de trombina, así como la presencia de numerosos esquistocitos (Bick 1988; Bithell 1993; Jobin 1995; Meyers y Wardrop 1991).**

**La CID, se presenta frecuentemente en diversas infecciones en todas las especies de mamíferos, principalmente en aquellas que dañan los endotelios vasculares (Bick 1988; Cotran et al. 1994).**

**Las enfermedades virales que dañan extensivamente a las células endoteliales, exponen al tejido conectivo subendotelial como factor de agregación plaquetaria y asimismo la necrosis endotelial es fuente tanto de tromboplastina tisular como de otros factores procoagulantes (Debbie y Abelseth 1971; Jobin 1995; Robinson 1993).**

**En la hepatitis infecciosa canina, por ejemplo, los defectos hemostáticos incluyen trombocitopenia, incremento del tiempo de protrombina y reducción de la actividad del factor VIII de la coagulación. El número reducido de plaquetas refleja su secuestro en los sitios de daño endotelial (Wigton, 1976).**

**Es factible que la patogenia descrita para la hepatitis infecciosa canina sea semejante a la de otras infecciones por virus endoteliotrópicos que cursan con diátesis hemorrágica como es el caso del virus de la FPC. Sin embargo, existen evidencias que la trombocitopenia podría jugar un papel importante en la patogenia de las alteraciones hemostáticas en la**

**FPC en forma independiente a la CID (Heene et al. 1971; Müller-Berghaus1989).**

**En el curso de la infección, por ejemplo, la trombocitopenia es detectable antes que los signos de coagulopatía, por lo que cabe suponer que la reducción en la cuenta plaquetaria no solo se debe a su agregación en el proceso de trombosis, sino que probablemente exista daño directo a las plaquetas y posiblemente a la trombopoyesis en la médula ósea (Heene et al. 1971).**

**Hasta donde se conoce, no se ha demostrado que el virus de la FPC infecte a las plaquetas o a sus precursores, sin embargo, es factible que esto ocurra, dada la patogénesis que se ha descrito para este agente (Robinson y Grant Maxie 1993; Trautwein 1988).**

**En condiciones de infección natural, el virus de la FPC ingresa por vía oronasal y después de su replicación inicial en las células epiteliales de las criptas de las tonsilas, el virus invade al tejido linfoide y a los macrófagos por los que es transportado a los nódulos linfáticos regionales. En ellos el virus se multiplica en grandes cantidades en el bazo, aparato digestivo y médula ósea (Ressag 1973; Susa et al. 1992).**

**El hecho de que el virus pueda aislarse de la médula ósea (Trautwein, 1988), hace posible la infección de los megacarioblastos, promegacariocitos y megacariocitos precursores de las plaquetas. La infección de las plaquetas se ha demostrado con algunos virus como el de la leucemia murina a través de la visualización de las partículas virales en vacuolas citoplasmáticas de plaquetas de ratones infectados (Dalton y Maloney 1962).**

**A este respecto es importante mencionar que el virus de la FPC es demostrable mediante la microscopía electrónica de transmisión en cortes ultrafinos en forma de partículas esféricas de 40 a 60 nm de diámetro caracterizadas por un núcleo electrodenso y una cubierta menos densa (Enzmann y Weiland 1971; Horzinek et al. 1967; Moenning 1992 Scherrer et al. 1970). Las observaciones con el microscopio electrónico de transmisión de las células infectadas con virus de la FPC, indican que las partículas virales se integran y maduran dentro de vesículas intracitoplasmáticas y se liberan mediante exocitosis (Scherrer et al. 1970).**

**En la medida que el origen celular de las plaquetas se lleva a cabo en la médula ósea y en íntimo contacto con los endotelios capilares (Rhodin, 1977), ofrece una perspectiva de estudio en la FPC para determinar el posible origen de una trombocitopenia previa a la agregación plaquetaria en un proceso diseminado de trombosis intravascular.**

**Por lo tanto, el presente trabajo está orientado a estudiar los diferentes mecanismos patogénicos involucrados en la diátesis hemorrágica en la FPC aguda planteando para tal propósito, los siguientes objetivos:**

- 1. Evaluar mediante estudios de microscopía óptica y microscopía electrónica de transmisión la patología de los precursores de las plaquetas en la médula ósea y de los endotelios vasculares para determinar el origen de la trombocitopenia en la FPC.**

- 2. Evaluar mediante pruebas específicas el sistema de coagulación intrínseco y extrínseco para detectar un agotamiento indicativo de CID.**
- 3. Investigar mediante determinación secuencialmente estratégica de las cuentas plaquetarias el grado de reacción entre la trombocitopenia y la CID.**

## **HIPÓTESIS**

**En la Fiebre Porcina Clásica, se infectan los precursores de las plaquetas en la médula ósea, lo que ocasiona una trombocitopenia que asociada al daño endotelial, provoca una diátesis hemorrágica previa al proceso diseminado de trombosis intravascular.**

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

**Los estudios se realizaron en 20 cerdos de ambos sexos, híbridos, provenientes de varias lechigadas. Al inicio del experimento, los animales tuvieron un peso entre 20 y 25 Kg y edades entre 6 y 8 semanas. Los cerdos fueron obtenidos de granjas certificadas libres de FPC. Antes de iniciar el experimento se constató la ausencia de anticuerpos contra FPC mediante la prueba de seroneutralización.**

**Dieciséis cerdos se infectaron con una sola dosis de 1 ml del virus de la FPC 10<sup>6</sup> DL 50% cepa Ames Iowa por vía intramuscular. Cuatro**

- 2. Evaluar mediante pruebas específicas el sistema de coagulación intrínseco y extrínseco para detectar un agotamiento indicativo de CID.**
- 3. Investigar mediante determinación secuencialmente estratégica de las cuentas plaquetarias el grado de reacción entre la trombocitopenia y la CID.**

## **HIPÓTESIS**

**En la Fiebre Porcina Clásica, se infectan los precursores de las plaquetas en la médula ósea, lo que ocasiona una trombocitopenia que asociada al daño endotelial, provoca una diátesis hemorrágica previa al proceso diseminado de trombosis intravascular.**

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

**Los estudios se realizaron en 20 cerdos de ambos sexos, híbridos, provenientes de varias lechigadas. Al inicio del experimento, los animales tuvieron un peso entre 20 y 25 Kg y edades entre 6 y 8 semanas. Los cerdos fueron obtenidos de granjas certificadas libres de FPC. Antes de iniciar el experimento se constató la ausencia de anticuerpos contra FPC mediante la prueba de seroneutralización.**

**Dieciséis cerdos se infectaron con una sola dosis de 1 ml del virus de la FPC 10<sup>6</sup> DL 50% cepa Ames Iowa por vía intramuscular. Cuatro**

- 2. Evaluar mediante pruebas específicas el sistema de coagulación intrínseco y extrínseco para detectar un agotamiento indicativo de CID.**
- 3. Investigar mediante determinación secuencialmente estratégica de las cuentas plaquetarias el grado de reacción entre la trombocitopenia y la CID.**

## **HIPÓTESIS**

**En la Fiebre Porcina Clásica, se infectan los precursores de las plaquetas en la médula ósea, lo que ocasiona una trombocitopenia que asociada al daño endotelial, provoca una diátesis hemorrágica previa al proceso diseminado de trombosis intravascular.**

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

**Los estudios se realizaron en 20 cerdos de ambos sexos, híbridos, provenientes de varias lechigadas. Al inicio del experimento, los animales tuvieron un peso entre 20 y 25 Kg y edades entre 6 y 8 semanas. Los cerdos fueron obtenidos de granjas certificadas libres de FPC. Antes de iniciar el experimento se constató la ausencia de anticuerpos contra FPC mediante la prueba de seroneutralización.**

**Dieciséis cerdos se infectaron con una sola dosis de 1 ml del virus de la FPC  $10^6$  DL 50% cepa Ames Iowa por vía intramuscular. Cuatro**

**cerdos se utilizaron como testigos y se inocularon con 1 ml agua destilada por vía intramuscular.**

**Tanto los cerdos infectados como los testigos se alojaron en el bioterio de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México.**

**Los animales fueron divididos en dos lotes, uno de 16 cerdos constituido por los animales infectados y el otro de 4 cerdos testigos que fueron alojados en un recinto aislado del lote infectado.**

**Los cerdos recibieron una ración de crecimiento convencional. El agua y alimento se suministraron *ad libitum*.**

**Los signos clínicos y la temperatura corporal se registraron todos los días en cada animal. Se sacrificaron diariamente a dos cerdos infectados a partir del primer día posinfección hasta el octavo día, mediante una sobredosis de anestesia parenteral (pentobarbital sódico). Los cuatro cerdos testigos se sacrificaron simultáneamente al octavo día.**

### **Estudios hematológicos**

**Con el propósito de determinar los parámetros hemostáticos, así como las pruebas de hemograma, se obtuvo diariamente sangre completa de los animales, durante tres días antes de la inoculación viral, posteriormente de 6 animales infectados durante 8 días y los cuatro cerdos testigos fueron sangrados diariamente durante el experimento (Cuadro 1.1). A los 16 cerdos infectados se les muestreó en forma alternada, de tal manera que un mismo animal no fue sangrado en días consecutivos. Se le extrajo a cada uno 7 ml de sangre mediante punción venosa en el seno de las yugulares. La muestra se colocó dividida en 2**

tubos de ensayo. Uno de estos contuvo sales de ácido etilendiaminotetracético (EDTA) en proporción de una gota por cada 3 ml de sangre, el otro contuvo citrato trisódico al 3.8% en proporción en 1:9 para 4 ml de sangre.

Para la obtención de plasma sin paquete plaquetario, se centrifugaron los tubos con sangre citratada a razón de 1000 x g durante 10 minutos. Posteriormente el plasma obtenido se congeló a -70°C.

Las muestras sanguíneas con EDTA se utilizaron para conteo plaquetario y para realizar los hemogramas.

El análisis de los factores de coagulación incluyó las siguientes determinaciones:

1. Cuenta plaquetaria mediante el método directo (Duncan y Prasse, 1986).
2. Hemograma.
3. Tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa).\*
4. Tiempo de protrombina (TP).\*\*
5. Tiempo de trombina con trombina bovina purificada (TT).\*\*\*  
(Ver Anexo).

---

\* Kit APTT, Instrumentation Laboratory EUA.

\*\* Kit PT-Fibrinógeno HS, Instrumentation Laboratory EUA.

\*\*\* Kit II Test, tiempo de trombina, Instrumentation Laboratory EUA.

**Para los 20 animales de estudio, se tomaron los parámetros comparativos respecto a los valores previos a la infección, se evaluaron los parámetros individuales y se determinó su significancia mediante la prueba T de Student.**

### **Estudios histológicos**

**De cada animal sacrificado se extrajo médula ósea de la porción proximal del fémur para ser fijada en formalina al 10% amortiguada pH 7.2. Las muestras incluidas en parafina fueron seccionadas a 4 micrómetros de espesor, teñidas con hematoxilina y eosina, así como con tinción de Wright.**

**Para el estudio de los endotelios vasculares se tomaron muestras de riñón, las cuales se procesaron con la misma técnica.**

### **Estudios ultraestructurales**

**Las muestras de médula ósea y de riñón para microscopía electrónica de transmisión fueron obtenidas simultáneamente a las utilizadas en los estudios histológicos. Las muestras se fijaron en glutaraldehído al 2.5% con amortiguador de cacodilato, pH 7.4 y fueron divididas en secciones de 3 a 5 mm de diámetro, posfijadas en tetróxido de osmio al 1% durante 2 horas, deshidratadas en series de alcoholes e incluidas en Epon 812. Se obtuvieron cortes semifinos de 90 nm de espesor que fueron teñidos con solución acuosa al 1% de azul de toluidina y se observaron al microscopio óptico para detectar secciones con presencia de megacariocitos en el caso de médula ósea y de endotelios vasculares en el caso de los demás órganos. Los cortes finos**

de 60 nm fueron contrastados con acetato de uranilo y citrato de plomo de Reynold para ser observados y fotografiados en un microscopio electrónico de transmisión Zeiss EM 109.

## RESULTADOS

Todos los animales inoculados presentaron fiebre de 40°C a 41°C a partir del primer día posinfección. En los siguientes días se observó en todos los animales anorexia, letargia, incoordinación, diarrea, vómito y eritema cutáneo. Los cerdos testigos permanecieron normales (Cuadro 1.2).

### Estudios hematológicos

Los resultados obtenidos del hemograma en los animales antes de la inoculación viral, se presentan en el Cuadro 1.3. Se tomó el promedio de los valores obtenidos por día, debido a que no se encontraron diferencias significativas entre los animales del mismo día. Tampoco se encontraron diferencias significativas entre los resultados del hemograma de los cerdos antes de la inoculación viral y los cuatro cerdos testigos durante el experimento.

La cuenta plaquetaria tuvo un ligero aumento durante los dos primeros días posteriores a la infección, en los días consecutivos hubo una significativa reducción en la cuenta plaquetaria ( $p < 0.001$ ). Entre tres y cinco días posinfección se observó 47.28% de reducción respecto de los testigos, entre los 6 y 8 días esta reducción alcanzó 78% (Figura 1.1).

de 60 nm fueron contrastados con acetato de uranilo y citrato de plomo de Reynold para ser observados y fotografiados en un microscopio electrónico de transmisión Zeiss EM 109.

## **RESULTADOS**

Todos los animales inoculados presentaron fiebre de 40°C a 41°C a partir del primer día posinfección. En los siguientes días se observó en todos los animales anorexia, letargia, incoordinación, diarrea, vómito y eritema cutáneo. Los cerdos testigos permanecieron normales (Cuadro 1.2).

### **Estudios hematológicos**

Los resultados obtenidos del hemograma en los animales antes de la inoculación viral, se presentan en el Cuadro 1.3. Se tomó el promedio de los valores obtenidos por día, debido a que no se encontraron diferencias significativas entre los animales del mismo día. Tampoco se encontraron diferencias significativas entre los resultados del hemograma de los cerdos antes de la inoculación viral y los cuatro cerdos testigos durante el experimento.

La cuenta plaquetaria tuvo un ligero aumento durante los dos primeros días posteriores a la infección, en los días consecutivos hubo una significativa reducción en la cuenta plaquetaria ( $p < 0.001$ ). Entre tres y cinco días posinfección se observó 47.28% de reducción respecto de los testigos, entre los 6 y 8 días esta reducción alcanzó 78% (Figura 1.1).

**Los resultados del hemograma de los animales inoculados con el virus, no mostraron cambios significativos ni desviaciones fuera de los parámetros normales en los valores de hematócrito, hemoglobina, proteínas plasmáticas y fibrinógeno.**

**La cuenta leucocitaria total tuvo una significativa reducción a partir del primer día posinfección ( $p < 0.001$ ), (Figura 1.2). Los valores entre el sexto y octavo días posinfección fueron 72% inferiores respecto a los testigos; por su parte, las reducciones de 1 a 2 días y de 3 a 5 días posinfección fueron de 37% y 67% respectivamente.**

**Las cuentas linfocitarias permitieron determinar linfocitosis a partir del sexto día posinfección con incremento promedio de 38% por encima de los valores de los animales testigos.**

**El porcentaje de neutrófilos con respecto a la cuenta total de leucocitos, tuvo un ligero incremento entre el primero y el tercer día posinfección; entre el cuarto y el sexto días el porcentaje de neutrófilos disminuyó 35%; finalmente entre el séptimo y octavo días disminuyó el 50% respecto a los testigos (Figura 1.3).**

**En referencia a los parámetros de evaluación de la coagulación intrínseca y extrínseca, consistentes en el tiempo de tromboplastina parcial activada, tiempo de protrombina y tiempo de trombina, no se detectaron cambios significativos ni desviaciones fuera de los valores normales en los animales con la inoculación viral respecto a los valores de los animales antes de la inoculación viral ni a los animales testigos durante el experimento. Se tomaron los promedios y se determinó la desviación estándar de los valores obtenidos por día (Cuadro 1.4).**

### **Estudios histológicos**

Los cambios histológicos en la médula ósea al día 2 posinfección consistieron en disminución de la serie granulocítica, así como degeneración hidrópica y vacuolización citoplásmica de los megacariocitos (Figura 1.4). Para el día 4 posinfección, la disminución de la serie granulocítica fue muy severa y los megacariocitos se encontraron en avanzado estado de vacuolización citoplasmática, algunos otros con degeneración del citoplasma y núcleo así como con necrosis (Figura 1.5). Asimismo, numerosos vasos sanguíneos de pequeño calibre presentaron un engrosamiento de sus paredes y vesiculación de los núcleos de las células endoteliales.

Entre los días 5 y 7 posinfección la médula tenía una muy reducida población celular, los escasos megacariocitos aún presentes se observaron con necrosis y los vasos sanguíneos mostraron una hinchazón extensa de las células endoteliales con necrosis fibrinoide de las paredes (Figura 1.6).

### **Estudios ultraestructurales**

Las observaciones al microscopio óptico de los cortes semifinos revelaron una vacuolización citoplasmática de los megacariocitos hasta degeneración severa de los mismos caracterizada por la incorporación en su citoplasma de elementos celulares extraños tales como eritrocitos, linfocitos u otras células, lo que se conoce como emperipolesis y finalmente necrosis.

Al primer día posinfección, las imágenes de microscopía electrónica revelaron dilatación severa de los túbulos y vesículas de

**demarcación de la mayoría de los megacariocitos. La transición entre la zona intermedia y la zona marginal fue muy abrupta y las plaquetas recién formadas no presentaron delimitación citoplasmática normal. Las plaquetas emergentes no presentaban los gránulos citoplasmáticos normales (Figura 1.7).**

**En algunas vesículas dilatadas de megacariocitos, se detectaron estructuras esferoidales de 40 a 60 nm de diámetro y electrodensas las cuales corresponden a partículas virales (Figura 1.8). Muchos megacariocitos de los cerdos infectados presentaron disminución y degeneración de mitocondrias en comparación con los megacariocitos de los cerdos testigos.**

**En los días 2 y 3 posinfección, los megacariocitos presentaron mayor abundancia de vesículas citoplasmáticas dilatadas conteniendo partículas esferoidales electrodensas y prácticamente se perdió el contorno de los túbulos de demarcación. Los gránulos densos y claros fueron menos abundantes y los agregados de glucógeno fueron más evidentes (Figura 1.9).**

**Entre los días 4 y 6 posinfección, los megacariocitos fueron muy difíciles de localizar en los cortes finos en la medida que su número se redujo en forma notable.**

**En los megacariocitos remanentes, había abundancia de partículas virales en vesículas dilatadas. Los túbulos de demarcación tenían contornos muy poco definidos y se detectaron acúmulos de glucógeno en áreas focales del citoplasma (Figura 1.10).**

**Finalmente entre los días 7 y 8 posinfección los megacariocitos estaban necróticos, asimismo se observaron numerosos fragmentos**

**citoplasmáticos de las diferentes líneas celulares y en algunos de estos fragmentos se encontraban partículas virales dentro de vesículas dilatadas (Figura 1.11).**

**Para el estudio de los endotelios vasculares se realizó el análisis en los cortes semifinos de riñón, en los cuales se encontró al día 4 posinfección un engrosamiento segmental de la membrana basal del ovillo glomerular así como núcleos hinchados y vesiculares. En algunas zonas había presencia de material proteináceo. En algunos túbulos renales se observó degeneración hidrópica de las células epiteliales y en la luz del túbulo también se encontró material proteináceo.**

**En el estudio ultraestructural de los días 1 al 3 posinfección, la membrana de filtración glomerular presentó zonas de degeneración de la membrana basal así como acortamiento de los pies de los podocitos y en algunas áreas fusión de los mismos.**

**En los días 4 al 6 posinfección, la ultraestructura reveló degeneración de la membrana de filtración glomerular, caracterizada por fragmentación de la membrana basal, las células endoteliales presentaban núcleos muy vesiculares y citoplasma poco definido, los podocitos mostraron una degeneración hidrópica muy severa en los pies de las células que están en contacto con la célula endotelial (Figura 1.12), en algunos de los podocitos había la presencia de numerosos partículas electrodensas degeneradas dentro de las estructuras que corresponden a los poros hendidos (Figura 1.13), otras partículas virales electrodensas se observaron dentro de vesículas dilatadas correspondientes a los lisosomas celulares (Figura 1.14).**

Los días 7 y 8 se observó poca definición de los límites de las estructuras de la membrana de filtración glomerular y se encontraron grandes vesículas conteniendo detritus celulares en el citoplasma de los podocitos.

En las observaciones realizadas de los cortes de médula ósea y riñón no se encontraron trombos en el estudio de microscopía óptica ni de microscopía electrónica de transmisión.

## **DISCUSIÓN**

Los signos clínicos detectados en los cerdos infectados en el presente estudio fueron compatibles con los descritos en la literatura para la FPC aguda, excepto que en los animales experimentales de esta investigación, el inicio de la fiebre se detectó al primer día posinfección, mientras que en la literatura consultada, la fiebre se refiere al segundo día de infección. En este sentido, debe tomarse en cuenta que diversos aislamientos virales suelen ser de virulencia y patogenicidad variable (Dahle y Liess 1992; Trautwein 1988; Van Oirschot 1988).

Desde hace más de 50 años se sabe que el virus de la FPC ejerce un efecto directo sobre el sistema vascular y que los signos clínicos y lesiones macroscópicas resultan del daño a los capilares, precapilares, arteriolas y venas. Por esa razón en las lesiones macroscópicas se presenta congestión hemorragia o infarto, dependiendo de la localización anatómica, de la severidad y del curso de los cambios vasculares (Kernkamp, 1939).

Los días 7 y 8 se observó poca definición de los límites de las estructuras de la membrana de filtración glomerular y se encontraron grandes vesículas conteniendo detritus celulares en el citoplasma de los podocitos.

En las observaciones realizadas de los cortes de médula ósea y riñón no se encontraron trombos en el estudio de microscopía óptica ni de microscopía electrónica de transmisión.

## **DISCUSIÓN**

Los signos clínicos detectados en los cerdos infectados en el presente estudio fueron compatibles con los descritos en la literatura para la FPC aguda, excepto que en los animales experimentales de esta investigación, el inicio de la fiebre se detectó al primer día posinfección, mientras que en la literatura consultada, la fiebre se refiere al segundo día de infección. En este sentido, debe tomarse en cuenta que diversos aislamientos virales suelen ser de virulencia y patogenicidad variable (Dahle y Liess 1992; Trautwein 1988; Van Oirschot 1988).

Desde hace más de 50 años se sabe que el virus de la FPC ejerce un efecto directo sobre el sistema vascular y que los signos clínicos y lesiones macroscópicas resultan del daño a los capilares, precapilares, arteriolas y venas. Por esa razón en las lesiones macroscópicas se presenta congestión hemorragia o infarto, dependiendo de la localización anatómica, de la severidad y del curso de los cambios vasculares (Kemkamp, 1939).

**La degeneración y necrosis generalizada de las células endoteliales, han hecho suponer que la liberación de los factores coagulantes, tales como la tromboplastina tisular o bien la exposición de la colágena subendotelial, desencadenan los mecanismos intrínsecos de la coagulación( Bick 1988; Bithell 1993). Con base en estas circunstancias es viable suponer que la diátesis hemorrágica en la FPC tuviera un importante componente patogénico en el agotamiento de las plaquetas y factores de la coagulación, derivado de la trombosis capilar diseminada (Heene et al. 1971). Sin embargo, en el presente estudio no se detectaron cambios significativos en los parámetros de coagulación intrínseca y extrínseca. En este sentido, es importante destacar, que en nuestra investigación, el cambio hematológico que se detectó simultáneamente a la aparición de la fiebre el primer día posinfección correspondió a leucopenia y a partir del tercer día, hubo una significativa reducción en la cuenta plaquetaria.**

**La trombocitopenia progresiva que alcanzó niveles límite entre los días 6 y 8 posinfección junto con la evidente disminución de otros elementos de origen mieloide, apuntan hacia un daño de los elementos celulares en la médula ósea como base de las alteraciones hemostáticas. Por lo tanto, los hallazgos hematológicos del presente estudio, sugieren que la trombocitopenia es independiente a los trastornos de la coagulación y la reducción plaquetaria progresiva no es debida a su agregación en el proceso de trombosis, sino a un daño directo de la trombopoyesis en la médula ósea.**

**El origen de la trombocitopenia sugerido por los estudios hematológicos, fue corroborado en este trabajo por los hallazgos**

**histológicos que demostraron una degeneración progresiva de los megacariocitos a partir del segundo día posinfección, culminando con necrosis de estas células acompañada de severos cambios endoteliales a partir del cuarto día posinfección. Estos hallazgos concuerdan con otro trabajo que refieren que la reducción progresiva de las cuentas plaquetarias es consecuente con los resultados de biopsias secuenciales de la médula ósea que muestran una progresiva degeneración de la serie mieloide (Hoffmann et al. 1971).**

**En la medida que la necrosis de megacariocitos y la necrosis fibrinoide subendotelial son eventos simultáneos, ambos pueden explicar el origen temprano de la diátesis hemorrágica en la FPC.**

**Con la microscopía electrónica de transmisión, el daño de los megacariocitos se detectó al primer día de infección y desde ese momento un hallazgo muy significativo fue la observación de las partículas electrodensas esferoidales, correspondientes a partículas virales en vesículas citoplasmáticas dilatadas.**

**En estudios previos, llevados a cabo específicamente para visualizar las partículas virales de la FPC mediante microscopio electrónico de transmisión, se describe a las partículas como esferas irregulares con núcleo electrodenso y una capa periférica menos electrodensa de diámetro promedio total de 45 nm (Enzmann y Weiland 1978; Horzinek et al. 1967; Ritchie y Fernelius 1968; Scherrer et al. 1970). Las partículas visualizadas en el presente estudio responden a las mismas características de tamaño y morfología que las partículas previamente descritas. Adicionalmente, en observaciones de microscopía electrónica de transmisión en infecciones experimentales con el virus de**

la FPC en cultivo de tejidos, se refiere a las partículas virales en el interior del aparato de Golgi y en otras vesículas citoplásmicas y vacuolas (Scherrer et al. 1970). Las partículas virales en nuestro estudio siempre se encontraron asociadas a túbulos y vesículas dilatados de los megacariocitos.

En los megacariocitos normales, la mayor parte de su citoplasma lo ocupan las membranas de demarcación formadoras de plaquetas, las cuales derivan de las vesículas y túbulos de demarcación (Zucker-Franklin, 1970).

Las membranas de demarcación integran la membrana citoplasmática de las plaquetas que se derivan de los megacariocitos (Zucker-Franklin, 1970). A este respecto es muy importante enfatizar que el presente estudio, los megacariocitos infectados sufrieron un importante daño de su sistema tubular caracterizado por una severa dilatación a partir del primer día de infección hasta su total degeneración al cuarto día. Es altamente probable que los cambios descritos en los megacariocitos sean la causa directa de la trombocitopenia temprana en la FPC aguda.

## **CONCLUSIONES**

- I. En la FPC aguda el agotamiento de plaquetas y otros factores de la coagulación intravascular diseminada no constituye un factor patogénico de diátesis hemorrágica en las fases tempranas de la enfermedad, ya que en su curso no se detectaron cambios en los parámetros de evaluación de la coagulación intrínseca y extrínseca.**

la FPC en cultivo de tejidos, se refiere a las partículas virales en el interior del aparato de Golgi y en otras vesículas citoplásmicas y vacuolas (Scherrer et al. 1970). Las partículas virales en nuestro estudio siempre se encontraron asociadas a túbulos y vesículas dilatados de los megacariocitos.

En los megacariocitos normales, la mayor parte de su citoplasma lo ocupan las membranas de demarcación formadoras de plaquetas, las cuales derivan de las vesículas y túbulos de demarcación (Zucker-Franklin, 1970).

Las membranas de demarcación integran la membrana citoplasmática de las plaquetas que se derivan de los megacariocitos (Zucker-Franklin, 1970). A este respecto es muy importante enfatizar que el presente estudio, los megacariocitos infectados sufrieron un importante daño de su sistema tubular caracterizado por una severa dilatación a partir del primer día de infección hasta su total degeneración al cuarto día. Es altamente probable que los cambios descritos en los megacariocitos sean la causa directa de la trombocitopenia temprana en la FPC aguda.

## **CONCLUSIONES**

- I. En la FPC aguda el agotamiento de plaquetas y otros factores de la coagulación intravascular diseminada no constituye un factor patogénico de diátesis hemorrágica en las fases tempranas de la enfermedad, ya que en su curso no se detectaron cambios en los parámetros de evaluación de la coagulación intrínseca y extrínseca.**

**II. La trombocitopenia temprana aunada a los daños del endotelio vascular son los elementos contribuyentes en la presentación de la diátesis hemorrágica en la Fiebre Porcina Clásica aguda.**

**III. Los megacariocitos precursores de las plaquetas en la médula ósea sufren daños severos en su sistema tubular y de membranas de demarcación a partir del primer día de infección en la FPC. En la medida que el sistema mencionado es responsable de la formación de las plaquetas, su destrucción es responsable de la trombocitopenia en la Fiebre Porcina Clásica aguda.**

**IV. La destrucción del sistema tubular formador de plaquetas en los megacariocitos es debido a la infección de estas células por el virus de la Fiebre Porcina Clásica durante el curso de la enfermedad.**

## LITERATURA CITADA

**Bick RL. Disseminated intravascular coagulation and related syndromes: A clinical review. Semin Thromb Hemostasis 1988;14: 299-338.**

**Bithell TL. Acquired coagulation disorders. In: Wintrobe's clinical hematology, 9th ed. Philadelphia:Lea and Febiger 1993; 2:1473-1510**

**Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. Pathologic basis of disease, 5th ed. Philadelphia:WB Saunders Company, 1994.**

**Dahle J, Liess B. A review on classical swine fever infections in pigs: Epizootiology, clinical disease and pathology. Comp Immun Microbiol Infect Dis 1992; 15:203-211.**

**Dalton AJ, Maloney JB. Recovery of virus from rats with induced leukaemia. In: Harris RJC, editor. The interpretation of ultrastructure. New York: Academic press, 1962;1:385-392**

**Debbie JG, Abelseth MK. Pathogenesis of epizootic hemorrhagic diseases. I. Blood coagulation during viral infection. J Infect Dis 1971;124:217-222.**

**Duncan JR, Prasse KW. Veterinary laboratory medicine. 2nd ed. Iowa State University Press, 1986.**

**Enzmann P-J, Weiland F. Structural similarities of hog cholera virus with togaviruses. Arch Virol 1978;57:339-348.**

**Heene D, Hoffmann-Fezer G, Hoffmann R, Weiss E, Müller-Berghaus G, Lasch HG. Gerinnungsstörungen bei akuter Schweinepest. Beitr Pathol Bd 1971;144:259-271.**

**Hoffmann R, Hoffmann-Fezer G, Weiss E. Knochenmarksveränderungen bei akuter Schweinepest mit besonderer Berücksichtigung der thrombopoetischen Zellen. Berl Münch Tierärztl Wschr 1971;84:301-305.**

**Horzinek M, Reckzko E, Petzoldt K. On the morphology of hog cholera virus. Arch ges Virusforsch 1967;21:475-478.**

**Jobin F. L'hémostase. Québec Canada: Les Presses de L'Université Laval, 1995.**

**Kernkamp HCH. Lesions of hog cholera: Their frequency of occurrence. J Am vet med Ass 1939;95: 159-166.**

**Meyers K, Wardrop KJ. Acquired or complex coagulation disorders. Disseminated intravascular coagulation. In: Cotter SM, editor. Advances in veterinary science and comparative medicine. Academic Press Inc, 1991;36: 131-136.**

**Moening V. The hog cholera virus. Comp Immun Microbiol Infect 1992;15:189-201.**

**Müller-Berghaus G. Pathophysiologic and biochemical events in disseminated intravascular coagulation: Dysregulation of procoagulant and anticoagulant pathways. Semin Thromb Hemostasis 1989;15:58-87.**

**Ressag AA. Studies on the pathogenesis of hog cholera. Ztrbl Vet Med 1973;20: 256-271.**

**Ritchie AE, Fernelius AL. Direct immuno-electron microscopy and some morphological features of hog cholera virus. Arch ges Virusforsch 1968;23:292-298.**

**Robinson WF, Grant Maxie M. The cardiovascular system. In: Jubb KVF, Kennedy PC Palmer N, editors. Pathology of domestic animals. 4th ed. Academic Press, Inc. 1993;3:89-94**

**Rhodin JAG. Histology. A text and atlas. 2nd. printing. New York Medical College, 1977.**

**Salmon J, Lambert PH. Determination of fibrinogen derivative by experimental and clinical kidney disorders. Scand J Haematol 1971;8 (Suppl. 13) :851.**

**Scherrer R, Aynaud J-M, Cohen J, Bic E. Étude au microscope électronique du virus de la peste porcine classique (hog cholera) dans des coupes ultra-fines des cellules infectées in vitro. C R Acad Sc Paris 1970;271:620-623.**

**Susa M, König M, Saalmüller A, Reddehase MJ, Thiel HJ. Pathogenesis of classical swine fever: B-lymphocyte deficiency caused by hog cholera virus. J Virol 1992;66:1171-1175.**

**Terpstra C. Hog cholera: An update of present knowledge. Br vet J 1991;147: 397-406**

**Trautwein G. Pathology and pathogenesis of diseases. In: Liess B, editor. Classical swine fever and related infections. Boston:Martinus Nijhoff Dordrecht, 1988:27-54.**

**Van Oirschot JT. 1988: Description of the virus infection. In: Liess B, editor. Classical Swine Fever and Related Infections. Boston:Martinus Nijhoff Dordrecht, 1988:1-25**

**Wigton DH. Infectious canine hepatitis. Blood 1976;47:287.**

**Wyers M. Lésions consecutives aux troubles circulatoires. En: Anatomie pathologique générale. École Nationale Vétérinaire d'Alfort, Paris. 1985;11:108-109.**

**Zucker-Franklin D. The ultrastructure of megakaryocytes and platelets. In: Gordon AS, editor. Regulation of hematopoiesis. New York:Appleton Century Crofts 1970;2:1533-1583.**

**Cuadro 1.1 Calendario de sangrado de los cerdos para las pruebas de hemostasis y biometría hemática.**

	<b>Día</b>	<b>No. de Animales Total</b>	<b>No. de Animales Sangrados</b>
<b>Preinoculación viral</b>	<b>1</b>	<b>20</b>	<b>6</b>
	<b>2</b>	<b>20</b>	<b>7</b>
	<b>3</b>	<b>20</b>	<b>7</b>
<b>Posinoculación viral</b>	<b>1</b>	<b>16</b>	<b>6</b>
	<b>2</b>	<b>14</b>	<b>6</b>
	<b>3</b>	<b>12</b>	<b>6</b>
	<b>4</b>	<b>10</b>	<b>6</b>
	<b>5</b>	<b>8</b>	<b>6</b>
	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
	<b>7</b>	<b>4</b>	<b>4</b>
	<b>8</b>	<b>2</b>	<b>2</b>
<b>Testigos</b>	<b>1 al 8</b>	<b>4</b>	<b>4</b>

**Cuadro 1.2 Signos clínicos y temperaturas promedio de los animales testigos e infectados durante el estudio.**

<b>Animales</b>	<b>Día</b>	<b>Signos Clínicos</b>	<b>Temperatura <math>\bar{X}</math></b>
<b>TESTIGOS</b>	<b>1-8</b>	<b>Comportamiento normal</b>	<b>39.2° C</b>
<b>INFECTADOS</b>	<b>1</b>	<b>Letargia</b>	<b>40.7° C</b>
	<b>2</b>	<b>Tremor muscular y postración</b>	<b>41.06° C</b>
	<b>3</b>	<b>Anorexia, tremor muscular y apatía</b>	<b>40.78° C</b>
	<b>4</b>	<b>Anorexia, apatía y eritema ventral</b>	<b>41.5° C</b>
	<b>5 - 8</b>	<b>Postración, paresia, movimientos involuntarios, vómito y diarrea</b>	<b>40.9° C</b>

**Cuadro 1.3 Resultados de los valores promedio del hemograma de los cerdos tres días antes de la inoculación con el virus de la Fiebre Porcina Clásica. (Valores de referencia Duncan y Prasse, 1986)**

No. animales/ total	Día	% Hematocrito	Hemoglo- bina g/dl	Proteínas plasmáticas g/dl	Fibrinógeno g/dl	Leucocitos x 10 <sup>9</sup> /L	% Neutrófilos	Linfocitos x 10 <sup>9</sup> /L	Plaquetas x 10 <sup>11</sup> /L
6/20	1	39	11.2	6.8	266	21.166	41.2	5.4	4.32
7/20	2	41	11.6	6.6	300	20.081	40.12	5.8	3.96
7/20	3	38	10.4	6.4	285	20.412	40.35	5.0	4.05
Valores de referencia		36 - 43	9 - 13	6.0 - 8.0	200 - 400	11 - 22	20 - 70	3.8 - 16.5	2 - 5

**Cuadro 1.4. Resultados promedio de las pruebas de discernimiento de la coagulación sanguínea en los cerdos testigos e infectados.**

<b>TESTIGOS</b>	<b>Día</b>	<b>TP seg./d.e.</b>	<b>TTPa seg./d.e.</b>	<b>TT seg./d.e.</b>
n = 6	1	11.48 ± 0.41	37.8 ± 2.6	13.5 ± 2.81
n = 7	2	12.02 ± 0.94	38.3 ± 1.56	11.98 ± 3.1
n = 7	3	11.95 ± 0.49	36.9 ± 1.26	12.6 3 ± 2.5
n = 4	1 - 8	11.56 ± 0.84	37.6 ± 1.78	13.35 ± 2.92
<b>INFECTADOS</b>				
n = 6	1	10.06 ± 0.4	36.4 ± 1.35	12.41 ± 2.1
n = 6	2	11.73 ± 0.33	37.5 ± 1.34	13.17 ± 1.36
n = 6	3	12.04 ± 0.36	36.3 ± 2.48	12.6 4 ± 1.9
n = 6	4	10.7 ± 1.12	37.3 ± 1.8	11.62 ± 2.35
n = 6	5	11.48 ± 0.43	38.1 ± 2.12	13.38 ± 1.82
n = 6	6	12.3 ± 0.76	37.45 ± 1.6	13.1 9 ± 0.94
n = 4	7	12.2 ± 0.79	38.61 ± 1.29	12.81 ± 1.34
n = 2	8	13.1 ± 0.6	37.93 ± 2.13	11.96 ± 2.34

**TP: Tiempo de Trombina**

**TTPa: Tiempo de Tromboplastina Parcial activada**

**TT: Tiempo de Trombina**

**seg: segundos**

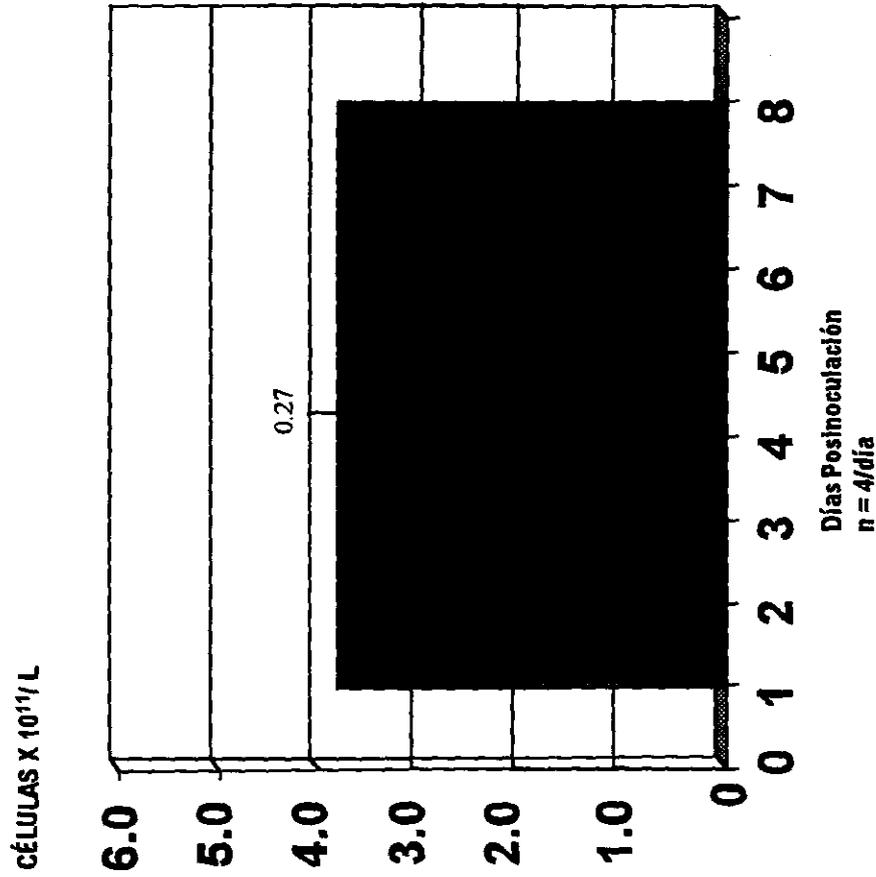
**d.e.: Desviación estándar**

**Testigos días 1 - 3: Preinoculación viral**

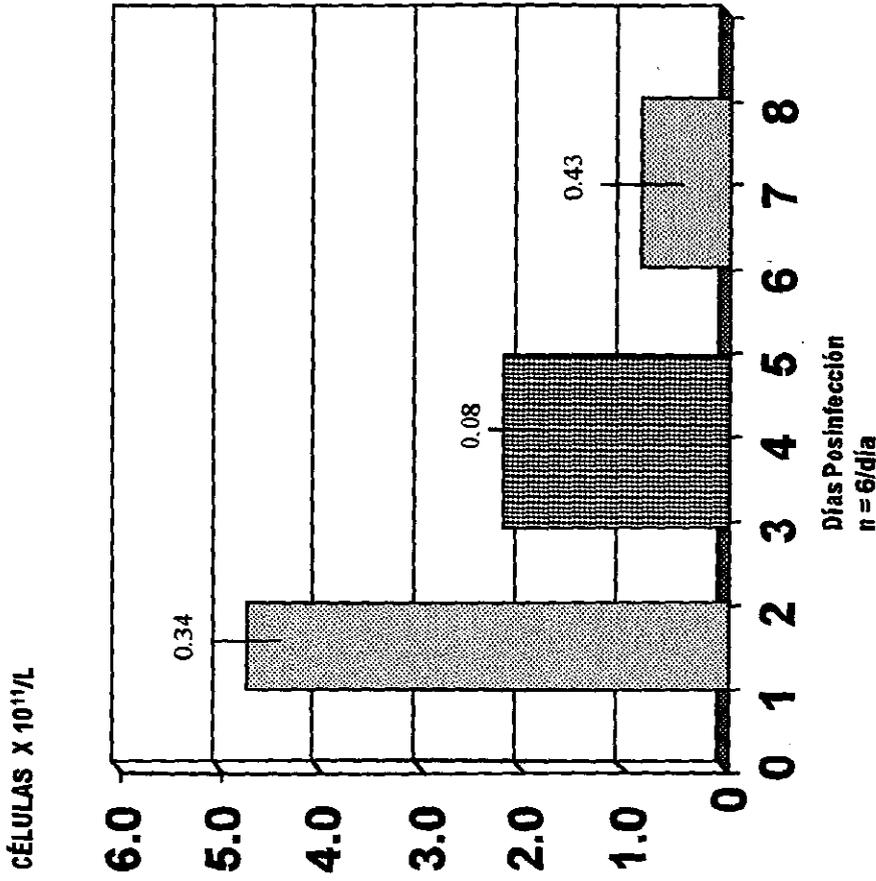
**Testigos días 1 - 8: Posinoculación viral**



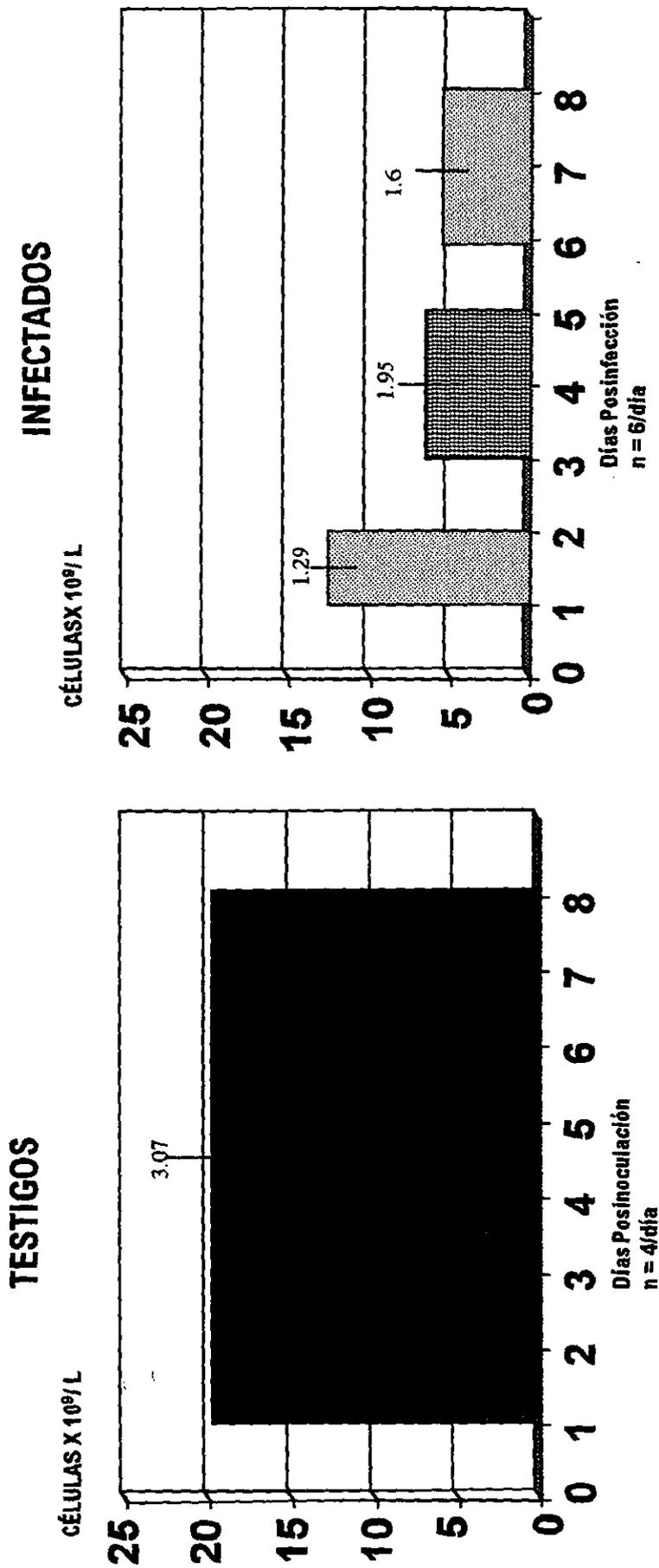
### TESTIGOS



### INFECTADOS

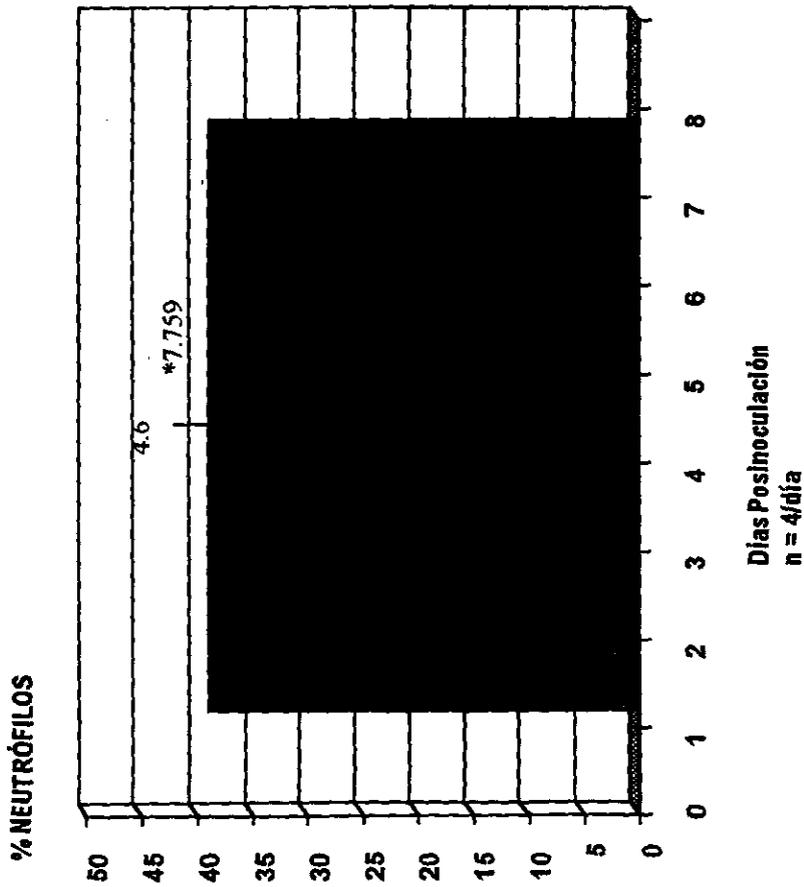


**Figura 1.1. Cuenta plaquetaria en cerdos testigos e infectados. (Valores de referencia (Duncan and Prasse 1986)  $2-5 \times 10^{11} / L$ ) La desviación estándar está presente en la línea sobre las barras.**

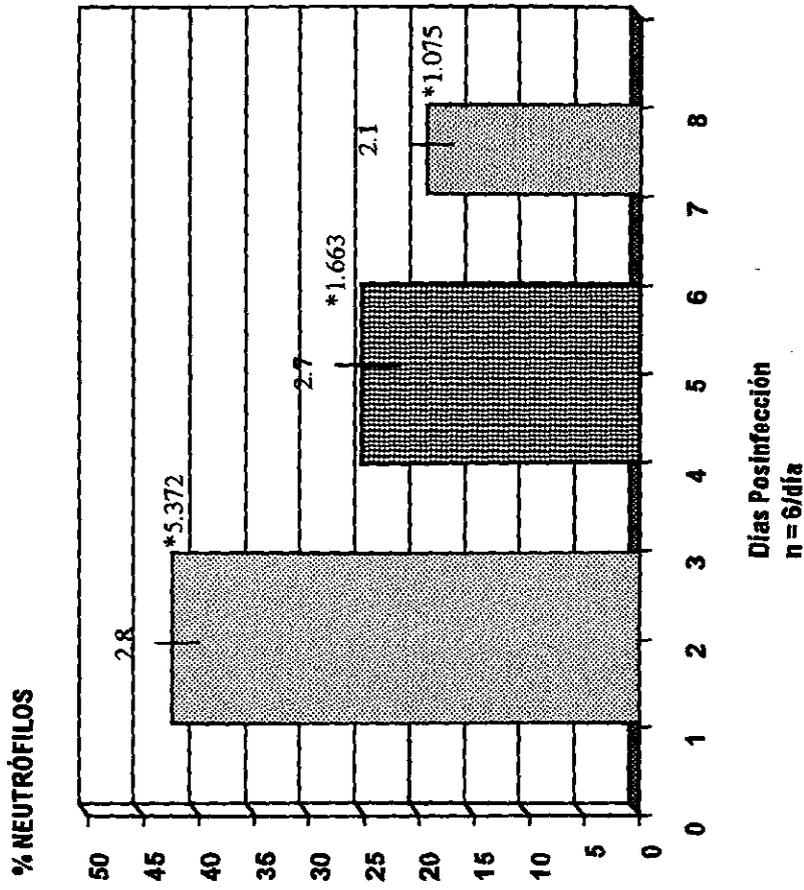


**Figura 1.2. Cuenta Leucocitaria en cerdos testigos e infectados. (Valores de referencia (Duncan and Prasse 1986) 11- 22x 10<sup>9</sup>/L) La desviación estándar está presente en la línea sobre las barras**

## TESTIGOS



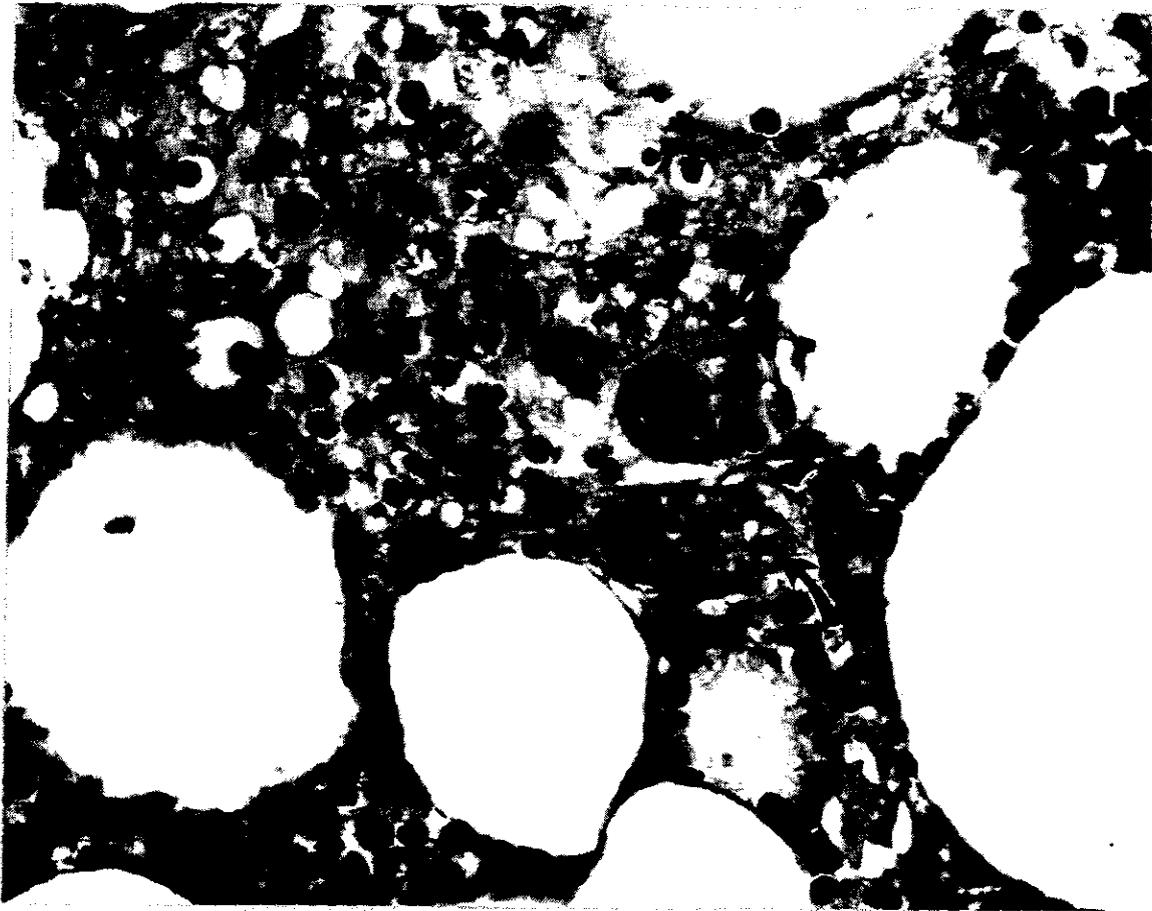
## INFECTADOS



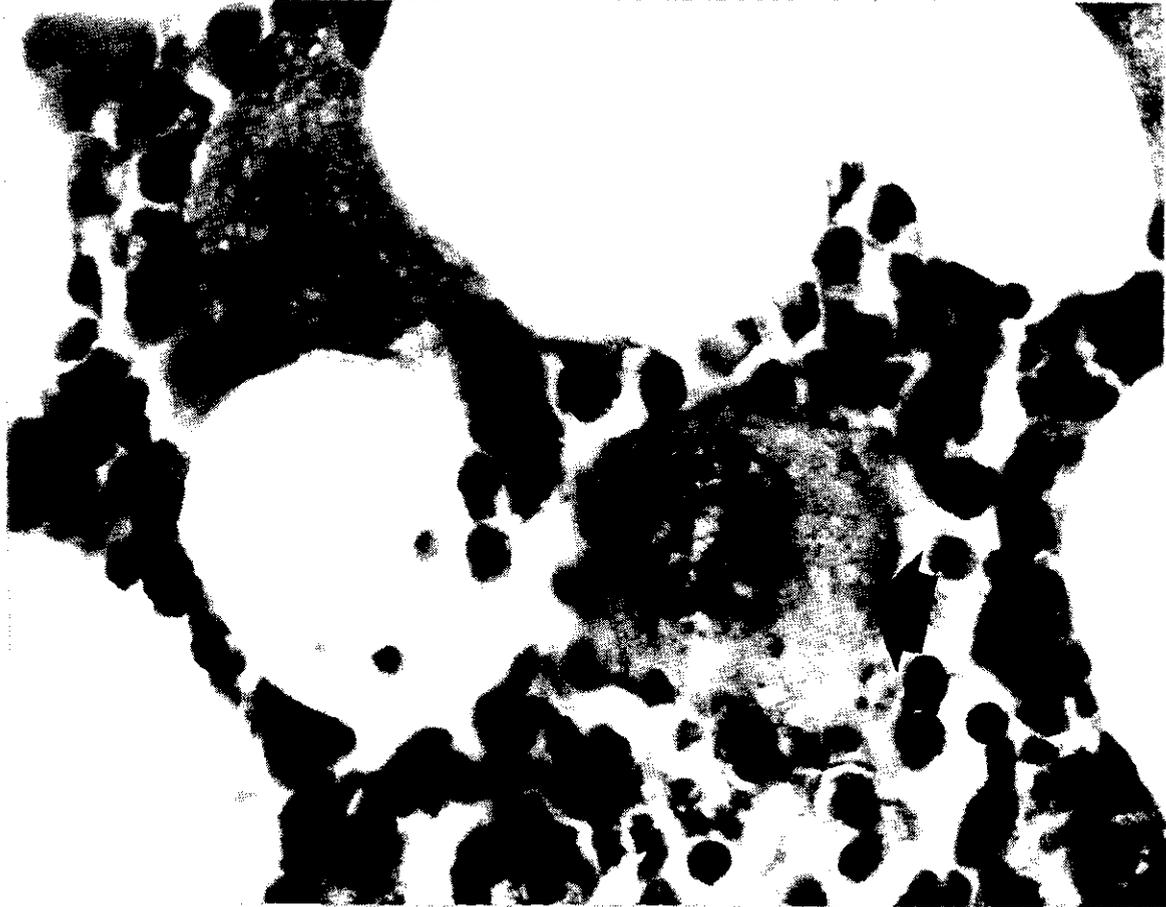
**Figura 1.3. Porcentaje de neutrófilos presente en la cuenta total de leucocitos en cerdos testigos e infectados. (Valores de referencia (Duncan and Prasse 1986) 20 - 70%).**

La desviación estándar está presente en la línea sobre las barras.

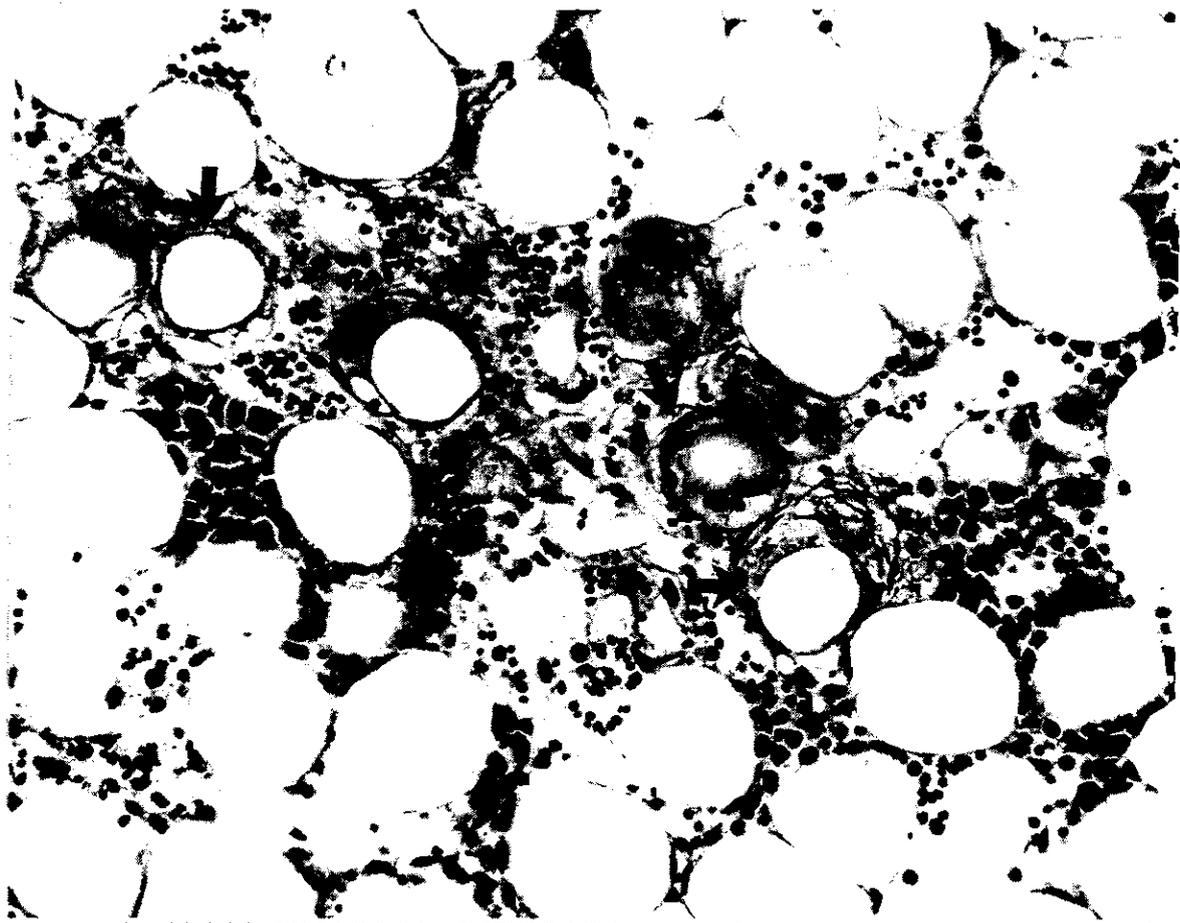
Las cifras marcadas con el \* son valores absolutos del No. de neutrófilos X 10<sup>9</sup>/L



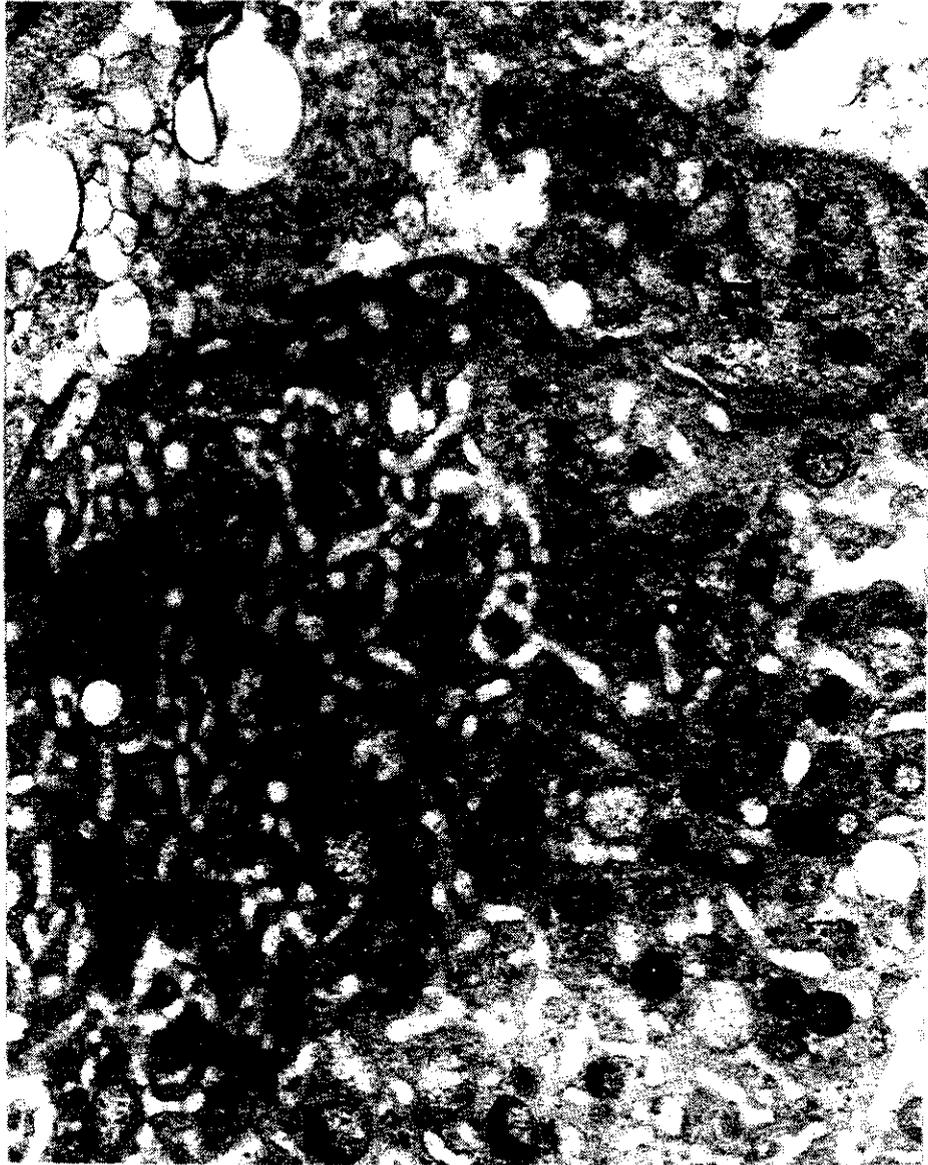
**Figura 1.4 Megacariocitos con vacuolización citoplasmática (flechas) en la médula ósea de cerdo al día 2 posinfección. H.E. 400X**



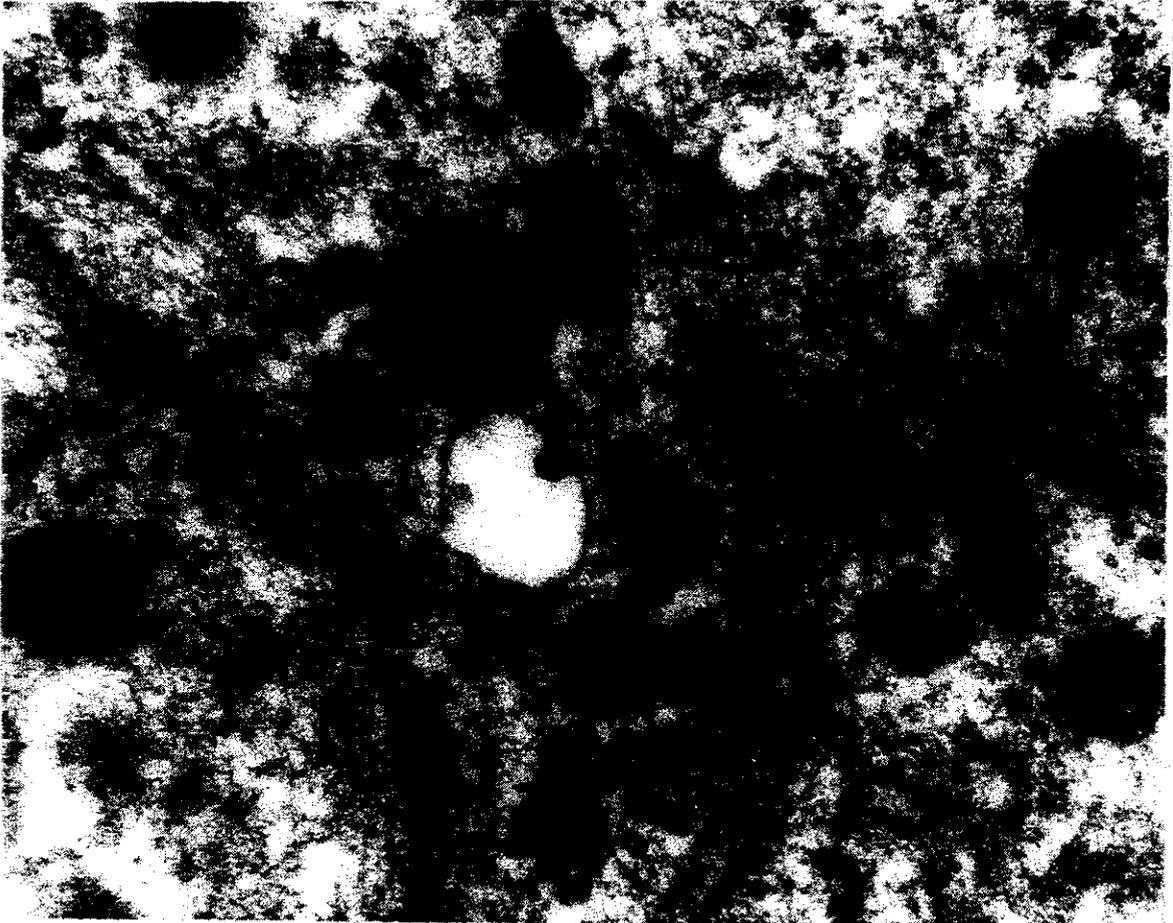
**Figura 1.5** Disminución en la población celular de médula ósea, en el centro se observa un megacariocito necrótico (flecha). Cerdo al día 4 posinfección. H.E. 1000X



**Figura 1.6 Degeneración fibrinoide de las paredes de los vasos sanguíneos (flechas) en la médula ósea de un cerdo al día 4 posinfección. H.E. 400X**



**Figura 1.7 Megacariocito con vesículas de demarcación y túbulos dilatados. En el ángulo derecho superior se observa una plaqueta con gránulos y membrana citoplásmica poco definidas (P). Médula ósea de cerdo al día 1 posinfección. Microscopía electrónica de transmisión. Citrato de plomo - Acetato de uranilo. 7000X**



**Figura 1.8 Megacariocito con vesícula citoplasmica dilatada conteniendo una partícula viral esférica electrodensa (flecha). Médula ósea de cerdo al día 1 posinfección. Microscopía electrónica de transmisión. Citrato de plomo - Acetato de uranilo. 30000X**



**Figura 1.9 Megacariocito con disminución de gránulos, pérdida de túbulos de demarcación y vesículas dilatadas con partículas virales (flechas). Médula ósea de cerdo al día 3 posinfección. Microscopía electrónica de transmisión. Citrato de plomo - Acetato de uranilo. 12000X**



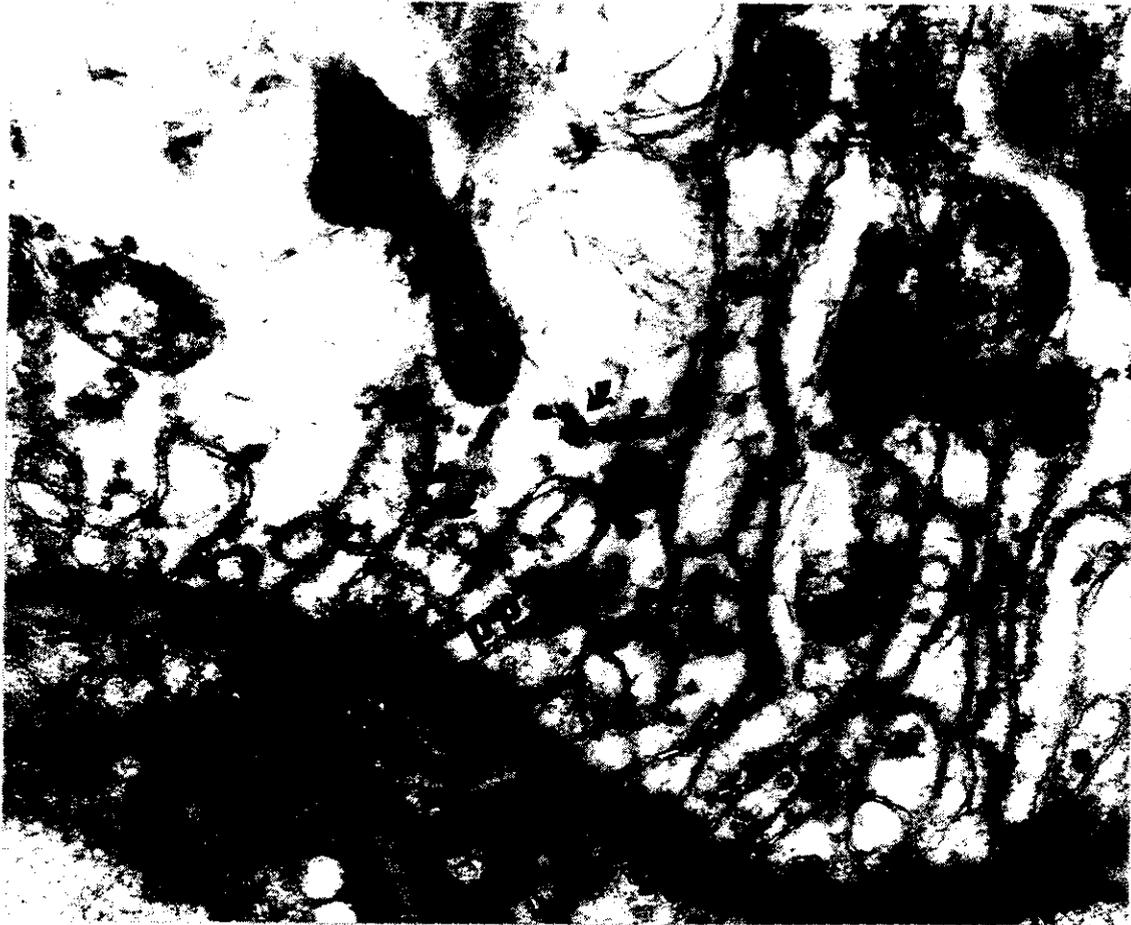
**Figura 1.10 Megacariocito con agregados de glucógeno (g), degeneración mitocondrial (M) y vesículas dilatadas con partículas virales (flechas). Médula ósea de cerdo al día 5 posinfección. Microscopía electrónica de transmisión. Citrato de plomo - Acetato de uranilo. 12000X**



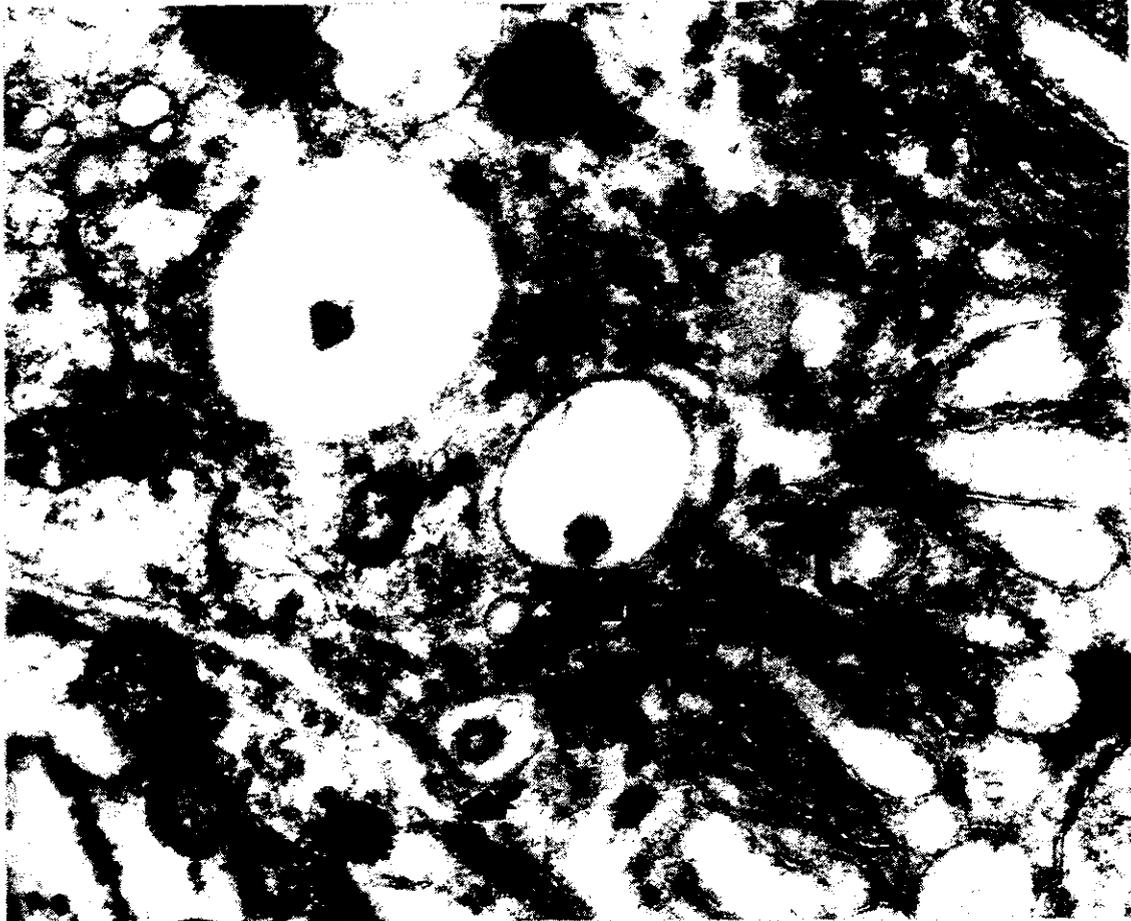
**Figura 1.11 Abundantes detritus celulares y célula del sistema fagocítico mononuclear (f) conteniendo numerosas vesículas dilatadas con partículas electrodensas (flechas). Médula ósea de cerdo al día 7 posinfección. Microscopía electrónica de transmisión. Citrato de plomo - Acetato de uranilo. 7000X**



**Figura 1.12 Membrana de filtración glomerular en la que se observa el podocito (P) y la célula endotelial (E) con degeneración hidrópica y núcleos muy vesiculares (n). Glomérulo renal de cerdo al día 4 posinfección. Microscopía electrónica de transmisión. Citrato de plomo - Acetato de uranilo. 4400X**



**Figura 1.13 Membrana de filtración glomerular con degeneración de la membrana basal (mb), degeneración hidrópica de los pies de los podocitos (pp) y numerosas partículas electrodensas degeneradas (flechas). Glomérulo renal de cerdo al día 5 posinfección. Microscopía electrónica de transmisión. Citrato de plomo - Acetato de uranilo. 12000X**



**Figura 1.14 Partículas virales esféricas electrodensas en lisosomas dilatados de podocito (flechas). Glomérulo renal de cerdo al día 5 posinfección. Microscopía electrónica de transmisión. Citrato de plomo - Acetato de uranilo. 30000X**

## **ANEXO**

### **Revisión de la literatura de la Coagulación Intravascular Diseminada y las pruebas de discernimiento para su diagnóstico.**

**Esta revisión se realizó para apoyar los estudios de coagulación  
sanguínea incluidos en et trabajo de investigación.**

## **LA COAGULACIÓN INTRAVASCULAR DISEMINADA**

**La coagulación intravascular diseminada (CID) no es una enfermedad independiente, sino un mecanismo intermedio de enfermedad donde pueden asociarse entidades clínicas bien definidas (Bick 1988; Mc Kay 1964).**

**La CID es debida a una inadecuada y excesiva activación del proceso de coagulación.**

**En la CID, la hemostasis y la fibrinólisis se activan profusamente, en el compartimiento intravascular. Los mecanismos de protección contra la trombosis resultan insuficientes, sin embargo, se presenta un agotamiento de los factores hemostáticos. La microtrombosis difusa puede conducir a la insuficiencia circulatoria generadora de isquemia, falla orgánica múltiple y muerte (Bithell 1993; Meyers y Wardrop 1991; Müller-Berhaus 1989).**

**La CID se produce cuando hay:**

- a) una activación intravascular difusa e intensa de la coagulación y;**
- b) una insuficiencia de los mecanismos fisiológicos de protección contra la coagulación y la fibrinólisis intravascular.**

**Estos trastornos provocan a su vez:**

**c) una hiperfibrinólisis e hiperfibrinogénesis secundaria, localizada en los múltiples microtrombos o diseminada, que si bien es benéfica en la medida que produce lisis de los trombos también es nociva debido a que exacerba la coagulopatía.**

**En consecuencia, en lugar de constituir eventos transitorios y circunscritos a las superficies plaquetarias y endoteliales, los procesos de coagulación y la consecuente fibrinólisis se perpetúan, se intensifican e invaden la fase fluida intravascular.**

**Entre las repercusiones graves e incluso letales que desencadenan estos trastornos de la coagulación pueden citarse las siguientes:**

- I. El consumo de los factores de coagulación y de las plaquetas, que puede ser masivo, ocasiona que la producción de los factores de coagulación sea insuficiente para compensar las pérdidas de los mismos, lo que resulta en un agotamiento del sistema hemostático.**
- II. Es frecuente la presentación de un síndrome hemorrágico, que en las formas graves de CID se caracteriza por su severidad.**
- III. Se forman múltiples trombos fibrinoplaquetarios sobre todo en la microcirculación, pero a veces también en los grandes vasos. La excesiva producción de los monómeros y oligómeros solubles de fibrina conduce a la formación de tapones fibrinosos que ocluyen**

**parcial o totalmente la microcirculación (Bithell 1993; Cotran et al. 1994; Jobin 1995; Müller-Berhaus 1989).**

**Entre los mecanismos que pueden desencadenar CID se han identificado los siguientes:**

**1. Entrada anormal a la circulación sanguínea de sustancias tisulares procoagulantes tales como:**

- ◆ factor tisular combinado a los fosfolípidos o tromboplastina tisular y;**
- ◆ enzimas coagulantes previamente formadas en sitios extravasculares.**

**2. Alteraciones diseminadas de los endotelios o activación de los receptores endoteliales procoagulantes.**

**3. Liberación o formación en la sangre de sustancias procoagulantes:**

- ◆ por la activación de monocitos o lisis de células sanguíneas; y**
- ◆ por de la inyección intravascular de enzimas coagulantes en transfusiones que contienen factores preactivados o la inoculación de venenos procoagulantes en las mordeduras de serpientes.**

**4. Déficit severo del sistema anticoagulante de la proteína C.**

- ◆ en anomalías genéticas debidas a homocigosis de un gen recesivo que ocasiona la falta de producción de la proteína C (Bell 1994; Bick 1988; Bithell 1993; Slappendel 1988).**

**La CID puede ser inducida experimentalmente en la condición que se conoce como reacción de Shwartzman, la cual se genera mediante la aplicación parenteral múltiple de endotoxinas bacterianas. Esta reacción transcurre con cinco características de la CID (Robinson y Grant Maxie 1993).**

- I. Deficiencia de factores de la coagulación, principalmente fibrinógeno.**
- II. Trombocitopenia.**
- III. Presencia de anticoagulantes en la circulación.**
- IV. Fibrinólisis y fibrinógenolisis excesivas.**
- V. Hemorragias diseminadas (Robinson y Grant Maxie 1993).**

**El principal anticoagulante en la circulación es la plasmina que ocasiona fibrinólisis y fibrinógenolisis. La elevada concentración de productos de degradación de la fibrina (PDF), incrementan la hipocoagulabilidad y contribuyen a la diátesis hemorrágica a través del bloqueo de la formación de monómeros de fibrina a partir del fibrinógeno (Fletcher et al. 1966; Wyers 1985).**

**La CID puede ser consecuencia de complicaciones obstétricas en el ser humano tales como la separación prematura de la placenta o la retención fetal. También se presenta en crisis hemolíticas agudas, en quemaduras y traumatismos extensivos y en diversas infecciones en todas las especies de mamíferos principalmente en aquellas que dañan los endotelios vasculares (Cuadro 2.1) (Bick 1988; Cotran et al. 1994; Müller-Berhaus 1989; Robinson y Grant Maxie 1993).**

**En lo que concierne a las endotoxinas bacterianas estas pueden desencadenar daño por medio de tres mecanismos:**

- 1. Exposición de la colágena subendotelial con la adhesión y activación de las plaquetas, y activación del factor XII y de la vía intrínseca de la coagulación (Müller-Berhaus 1989; Slappendel 1988).**
- 2. Modulación y activación de la superficie endotelial bajo la influencia de citocinas, ya sea el factor de necrosis tumoral o la interleucina-1. La trombomodulina anticoagulante es entonces interiorizada en la célula, mientras que el factor tisular o receptor activador del factor VII es exteriorizado en la superficie. Las vías intermedias y extrínseca de la coagulación se activan por este mecanismo en la superficie de los endotelios (Libby et al. 1986).**
- 3. transferencia a la superficie celular del factor tisular de monocitos y macrófagos por el efecto de la infección. Las membranas de los monocitos y las superficies endoteliales se convierten entonces en focos muy eficientes de activación y amplificación de la coagulación (Edwards y Rickles 1984).**

**Las enfermedades virales que dañan extensivamente a las células endoteliales pueden producir CID en la medida que la necrosis endotelial expone al tejido conectivo como factor de agregación plaquetaria y a su**

vez es fuente de tromboplastina tisular y de otros factores procoagulantes (Cheville et al. 1983; Jobin 1995; Robinson y Grant Maxie 1993).

Resumen de la fisiopatología de la coagulación intravascular diseminada (Figura 2.1).

## **BIOLOGÍA DE LA COAGULACIÓN INTRAVASCULAR DISEMINADA**

En la CID típica, las pruebas de la hemostasis y las evaluaciones específicas de los factores de coagulación revelan múltiples deficiencias y una trombocitopenia (Bithel 1993; Jobin 1995).

### ***Coagulopatía de consumo***

- ♦ Durante la coagulación intravascular intensa, la cascada enzimática puede provocar un consumo masivo de los factores de coagulación con abatimiento de sus niveles normales en la sangre. Las deficiencias de los factores pueden ser aún más severas si su síntesis no aumenta de manera reactiva. Incluso esta síntesis puede haber disminuido antes que la propia CID, tal es el caso de la cirrosis hepática o por hemopatía maligna causando trombocitopenia (Bithel 1993; Jobin 1995).
- ♦ El perfil de disminución de los factores varía individualmente según la relación de la tasa de síntesis y de destrucción respectiva de cada factor (Bithel 1993; Jobin 1995).

vez es fuente de tromboplastina tisular y de otros factores procoagulantes (Cheville et al. 1983; Jobin 1995; Robinson y Grant Maxie 1993).

Resumen de la fisiopatología de la coagulación intravascular diseminada (Figura 2.1).

## **BIOLOGÍA DE LA COAGULACIÓN INTRAVASCULAR DISEMINADA**

En la CID típica, las pruebas de la hemostasis y las evaluaciones específicas de los factores de coagulación revelan múltiples deficiencias y una trombocitopenia (Bithel 1993; Jobin 1995).

### ***Coagulopatía de consumo***

- ◆ Durante la coagulación intravascular intensa, la cascada enzimática puede provocar un consumo masivo de los factores de coagulación con abatimiento de sus niveles normales en la sangre. Las deficiencias de los factores pueden ser aún más severas si su síntesis no aumenta de manera reactiva. Incluso esta síntesis puede haber disminuido antes que la propia CID, tal es el caso de la cirrosis hepática o por hemopatía maligna causando trombocitopenia (Bithel 1993; Jobin 1995).
  
- ◆ El perfil de disminución de los factores varía individualmente según la relación de la tasa de síntesis y de destrucción respectiva de cada factor (Bithel 1993; Jobin 1995).

### ***Determinantes fisiológicos***

- ♦ Los factores I, II, XIII y las plaquetas tienen una tasa de síntesis fisiológica relativamente lenta, su catabolismo fisiológico tiene un tiempo medio que varía entre 60 y 120 horas. Estos tres factores y las plaquetas se consumen masivamente al final de la cascada enzimática, bajo el efecto de amplificación y de la generación explosiva de trombina (Bithel 1993; Jobin 1995).
- ♦ Inactivación de los factores V y VIII por la trombina y la proteína C. Los factores V y VIII tienen una tasa de renovación más rápida, pero estos son destruidos eficientemente por la acción antagonista de la trombina (activación de los factores V y VIII) combinada con la inactivación subsecuente de los factores Va y VIIIa por la proteína C (Bithel 1993; Jobin 1995).

### ***Destino de los factores consumidos***

- ♦ Los factores I, XIII, plasminógeno y plaquetas son atrapados en los microtrombos y neutralizados por la antitrombina III, el sistema de la proteína C y sobre todo por la alfa-2-antiplasmina. Estas proteínas inactivadoras son consumidas a su vez, hasta alcanzar en ocasiones tasas anormalmente inferiores. La falta de proteínas inactivadoras por el excesivo consumo de sus reservas ocasiona:
- ♦ una depuración de enzimas activas, complejos inactivos y productos de degradación de la fibrina que son eliminados por el sistema histiocitario fijo, eficaz pero saturable por lo que puede fallar igualmente (Bithel 1993; Jobin 1995).

## ***Fibrinólisis y Fibrinógenólisis***

**La importancia de la fibrinólisis y de la fibrinógenólisis secundaria puede ser evaluada por conteo de los productos de la fibrinólisis conocidos como dímeros-D o de la fibrinógenólisis llamados productos de degradación del fibrinógeno o PDF (Francis y Marder 1982; Fukutake et al. 1993 Plow y Edgington 1982).**

**La hiperfibrinólisis secundaria se observa en más del 90% de los casos de CID. Los títulos de fragmentos de proteólisis del fibrinógeno y de la fibrina son igualmente muy elevados y la especificidad de la anomalía como criterio de diagnóstico aumenta con el título correspondiente (Bick 1988).**

**El gran aumento en el plasma de productos de degradación del fibrinógeno y de la fibrina disminuye la producción y la polimerización de los monómeros de fibrina por una inhibición de la trombina y por compartir los mismos sitios de reconocimiento que los monómeros de fibrina. Los PDF tienen también efectos de inhibición y de agregación sobre las plaquetas y lesionan los endotelios (Aoki 1986; Bachmann 1987).**

**La plasmina libre, produce lisis de la fibrina en los tapones hemostáticos donde la presencia de esta última es escasa en el inicio.**

**La fibrinólisis elimina indiscriminadamente toda la fibrina, lo cual es útil al disolver los trombos fibrinosos pero negativa al provocar hemorragias por destrucción de los tapones hemostáticos (Aoki 1986; Bachmann 1987).**

**La depuración y la lisis de los productos de degradación del fibrinógeno por el sistema de histiocitos fijos constituye la principal línea de defensa contra los efectos anticoagulantes, microtrombóticos y vasculares de los fragmentos solubles e insolubles de la fibrina. Este mecanismo es eficaz pero llega a saturarse. El estado funcional del sistema de los histiocitos tiene un impacto decisivo sobre el grado de severidad de la CID y sus consecuencias trombo-hemorrágicas (Aoki 1986; Bachmann 1987).**

### **DETERMINACIÓN EN LABORATORIO DE LA COAGULACIÓN INTRAVASCULAR DISEMINADA**

**El síndrome clínico de la CID es causado en última instancia por la formación de trombina y plasmina. El diagnóstico de este síndrome requiere siempre la combinación de la evaluación clínica y la realización de una serie de exámenes de laboratorio (Bovill 1993; Jobin 1995).**

**Las pruebas de discernimiento tradicional para el diagnóstico y monitoreo de la CID que constituyen la primera línea de exploración de las reacciones de coagulación incluyen:**

- ♦ Tiempo de Tromboplastina Parcial activada (TTPa);**
- ♦ Tiempo de Protrombina (TP) y**
- ♦ Tiempo de Trombina (TT) (Bovill, 1993).**

**Estas pruebas se realizan con plasma citratado y pobre en plaquetas y se evalúan determinando el número de segundos que**

**La depuración y la lisis de los productos de degradación del fibrinógeno por el sistema de histiocitos fijos constituye la principal línea de defensa contra los efectos anticoagulantes, microtrombóticos y vasculares de los fragmentos solubles e insolubles de la fibrina. Este mecanismo es eficaz pero llega a saturarse. El estado funcional del sistema de los histiocitos tiene un impacto decisivo sobre el grado de severidad de la CID y sus consecuencias trombo-hemorrágicas (Aoki 1986; Bachmann 1987).**

### **DETERMINACIÓN EN LABORATORIO DE LA COAGULACIÓN INTRAVASCULAR DISEMINADA**

**El síndrome clínico de la CID es causado en última instancia por la formación de trombina y plasmina. El diagnóstico de este síndrome requiere siempre la combinación de la evaluación clínica y la realización de una serie de exámenes de laboratorio (Bovill 1993; Jobin 1995).**

**Las pruebas de discernimiento tradicional para el diagnóstico y monitoreo de la CID que constituyen la primera línea de exploración de las reacciones de coagulación incluyen:**

- ♦ Tiempo de Tromboplastina Parcial activada (TTPa);**
- ♦ Tiempo de Protrombina (TP) y**
- ♦ Tiempo de Trombina (TT) (Bovill, 1993).**

**Estas pruebas se realizan con plasma citratado y pobre en plaquetas y se evalúan determinando el número de segundos que**

transcurren entre la activación de la primera reacción y el inicio de la formación del coágulo. En consecuencia las cadenas de reacción terminales evaluadas respectivamente por las tres pruebas mencionadas son las mismas, es decir, la vía final y común por dos de ellas y la fibrinoformación por las tres (Jobin 1995).

**TTPa, evalúa la vía intrínseca y final común. La prueba consiste en agregar al plasma citratado partículas de silicatos que activan fuertemente la fase de contacto. La cefalina o la cefaloplastina sustituyen a los fosfolípidos procoagulantes de las plaquetas activadas. Además se utiliza calcio ionizado, necesario en la mayoría de las reacciones posteriores a la fase de contacto (Figura 2.2) (Kit APTT, Instrumentation Laboratory®).**

**TP, es una prueba que evalúa la vía extrínseca e intermedia de la coagulación y consiste en añadir al plasma citratado el calcio ionizado y una preparación concentrada de factor tisular y de fosfolípidos (tromboplastina tisular). Esta potente tromboplastina activa vigorosamente el factor VII, de tal suerte que la coagulación se produce rápidamente (Figura 2.3) (Kit PT-Fibrinógeno HS, Instrumentation Laboratory®).**

**TT, es una prueba que explora la fase final de la coagulación. A una solución de trombina se le agrega el plasma citratado y se determina el tiempo en segundos que toma la aparición del coágulo de fibrina. Esta prueba explora las dos primeras etapas de la fibrinoformación, mediante la proteólisis de los ffibrinopéptidos A y B por la trombina y la**

**polimerización de los monómeros de fibrina que finalizan en polímeros insolubles en agua. Estos polímeros al precipitar y constituyen el coágulo de fibrina (Figura 2.4) (Kit IL Test tiempo de trombina, Instrumentation Laboratory®).**

**La segunda etapa de la exploración de la coagulación consiste en realizar pruebas de cuantificación:**

- ♦ **fibrinógeno plasmático;**
- ♦ **productos de degradación de la fibrina (Dímero-D);**
- ♦ **productos de degradación del fibrinógeno (PDF) y**
- ♦ **antitrombina III (AT III).**

#### **Determinación cuantitativa del fibrinógeno plasmático.**

**El fibrinógeno es una proteína muy abundante en el plasma, dos enzimas, la trombina y el factor estabilizante de la fibrina (Factor XIIIa), lo transforman en fibrina insoluble y bioquímicamente estabilizada (Figura 2.5). En presencia de un exceso de trombina, el tiempo de coagulación de un plasma diluido en proporciones adecuadas, es directamente proporcional a la tasa de fibrinógeno plasmático (Salmon y Lambert 1971).**

**Determinaciones cuantitativas de los productos de degradación de la fibrina, los dímeros-D y del fibrinógeno los PDF. La plasmina separa las moléculas del fibrinógeno (Figura 2.6) y de la fibrina en puntos precisos dando origen a algunos productos principales de degradación, de peso y de secuencia determinada. Los dímeros-D se originan de la**

**proteolisis por la plasmina de la fibrina polimerizada y estabilizada previamente por el factor XIIIa (Figuras 2.7) (Jobin 1995).**

**La determinación semicuantitativa del dímero-D, se realiza por medio de la aglutinación en placa de partículas de latex sensibilizadas con la ayuda de un anticuerpo monoclonal. En presencia del antígeno correspondiente, las partículas de latex sensibilizadas forman agregados macroscópicos cuando la concentración del dímero-D es al menos igual a 0.5 mg/ml (Fukutake et al. 1993; Rowbotham et al. 1993).**

**Para la determinación de los PDF, se realiza la misma prueba que para el dímero-D, sólo cambia el anticuerpo monoclonal (Kit FDP Plasma, Diagnostica Stago®).**

**La antitrombina III (AT III), es uno de los inhibidores plasmáticos más potentes y más importantes en la fisiología de la formación del coágulo. La AT III inhibe proteasas de acción lenta y progresiva, neutraliza varias enzimas hemostáticas tales como la trombina, los factores Xa, IXa, XIa y la plasmina, formando con cada uno un complejo molecular. Cuando hay una producción masiva de trombina, la concentración de AT III baja en forma crítica, constituyendo así un elemento importante de evaluación de CID (Bick 1977; Huseby y Smith 1980).**

**Para medir la concentración de AT III en el plasma citratado se utiliza un substrato cromógeno sintético. El método utiliza dos pasos. Primero se incuba el plasma a evaluar con un exceso de trombina conocido, en presencia de heparina y segundo, la trombina residual es cuantificada por su acción amidolítica sobre el sustrato cromógeno**

**sintético. La cantidad de trombina neutralizada en el primer paso es proporcional al nivel de AT III en el plasma. Asimismo, la trombina residual de la segunda reacción es inversamente proporcional al nivel de AT III en el plasma (Kit Stachrom® AT III 3, Diagnostica Stago®).**

**RESULTADOS POSITIVOS DE LAS PRUEBAS DIAGNÓSTICAS DE  
LABORATORIO EN CASOS DE COAGULACIÓN INTRAVASCULAR  
DISEMINADA.**

**A. Prolongación de TTPa, TP y TT.**

**B. Disminución de la concentración de fibrinógeno plasmático.**

**C. Incremento de los productos de degradación de la fibrina y del fibrinógeno (dímero-D y PDF).**

**D. Deficiencia en la hemostasis primaria, caracterizada por trombocitopenia.**

**E. Presencia de numerosos esquistocitos (fragmentos de eritrocitos).**

**F. Disminución de la concentración plasmática de antitrombina III (Bick 1988; Bithell 1993; Jobin 1995; Meyers y Wardrop 1991).**

**sintético. La cantidad de trombina neutralizada en el primer paso es proporcional al nivel de AT III en el plasma. Asimismo, la trombina residual de la segunda reacción es inversamente proporcional al nivel de AT III en el plasma (Kit Stachrom® AT III 3, Diagnostica Stago®).**

**RESULTADOS POSITIVOS DE LAS PRUEBAS DIAGNÓSTICAS DE LABORATORIO EN CASOS DE COAGULACIÓN INTRAVASCULAR DISEMINADA.**

**A. Prolongación de TTPa, TP y TT.**

**B. Disminución de la concentración de fibrinógeno plasmático.**

**C. Incremento de los productos de degradación de la fibrina y del fibrinógeno (dímero-D y PDF).**

**D. Deficiencia en la hemostasis primaria, caracterizada por trombocitopenia.**

**E. Presencia de numerosos esquistocitos (fragmentos de eritrocitos).**

**F. Disminución de la concentración plasmática de antitrombina III (Bick 1988; Bithell 1993; Jobin 1995; Meyers y Wardrop 1991).**

## **LITERATURA CITADA**

**Aoki N. Fibrinolysis: Its initiation and regulation. J Protein Chem 1986; 5: 269-277.**

**Bachmann, F.: Fibrinolysis. In: Verstraete M, Vermeylen J, Lijnen R, Amout J, editors. Thombosis and Haemostasis. Leuven University Press, 1987:227-265**

**Bell WR. The pathophysiology of disseminated intravascular coagulation. Semin Hematol 1994;31 (Suppl. 1):19-24.**

**Bick RL. Disseminated intravascular coagulation and related syndromes: A clinical review. Semin Thromb Hemostasis 1988;14: 299-338.**

**Bick RL, Dukes ML, Wilson WL, Fekete L. Antithrombin III (AT- III) as a diagnostic aid in disseminated intravascular coagulation. Thromb Res 1977;10: 721.**

**Bithell TL. Acquired coagulation disorders. In: Wintrobe's clinical hematology. 9th ed. Philadelphia: Lea and Febiger, 1993;2:1473-1510**

**Bovill EG. Disseminated intravascular coagulation: Pathophysiology and laboratory diagnosis. Fibrinolysis 1993;7 (Suppl 2): 17-19.**

**Cheville NF, Kumar V, Robbins SL. Cell Pathology. 2nd. ed. Ames Iowa, USA: The Iowa State University Press. 1983.**

**Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. Pathologic basis of disease. 5th de. Philadelphia: WB Saunders Company, 1994.**

**Edwards RL, Rickles FR. Macrophage procoagulants. Prog Hemost Thromb 1984;7:183-209.**

**Fletcher AP, Alkjaersig N, Fisher S, Sherry S. The proteolysis of fibrinogen by plasmin: The identification of thrombin-clottable fibrinogen**

**derivatives which polymerize abnormally. J Lab Clin Med 1966;68:780-802.**

**Francis CW, Marder VJ. A molecular model of plasminic degradation of cross-linked fibrin. Sem Thromb Hemost 1982;8:25.**

**Fukutake K, Kuroso K, Isogai N, Shinozawa K. Clinical evaluation of D-dimer testing in disseminated intravascular coagulation (DIC). Fibrinolysis 1993;7 (Suppl. 2):20-22.**

**Huseby RM, Smith RE. Synthetic oligopeptide substrates: Their diagnostic application in blood coagulation, fibrinolysis, and other physiological states. Sem Thromb Hemost 1980;6:173.**

**Jobin, F.: L'hémostase. Québec, Canada. Les Presses de L'Université Laval, 1995.**

**Libby P, Ordovas JM, Auger KR, Robbins AH, Birinyi LK, Dinarello CA. Endotoxin and tumor necrosis factor induce interleukin-1 gene expression in adult human vascular endothelial cell. Am J Pathol 1986;124:179-185.**

**Mc Kay DG: Disseminated intravascular coagulation. An Intermediary mechanism of disease. New York Harper and Rau 1964;715-728.**

**Meyers K, Wardrop KJ. Acquired or complex coagulation disorders. Disseminated intravascular coagulation. In: Cotter SM, editor. Advances in veterinary science and comparative medicine. Academic Press Inc, 1991;36: 131-136.**

**Müller-Berghaus G. Pathophysiologic and biochemical events in disseminated intravascular coagulation: Dysregulation of procoagulant and anticoagulant pathways. Semin Thromb Hemostasis 1989;15:58-87.**

**Plow EF, Edgington TS. Surface markers of fibrinogen and its physiologic derivatives related by antibody probes. Sem Thromb Hemost 1982;8:36**

**Robinson WF, Grant Maxie M. The cardiovascular system. In: Jubb, K.V.F., Kennedy, P.C. and Palmer, N, editors. Pathology of Domestic Animals. 4th ed. Academic Press Inc, 1993;3:89-94.**

**Rowbotham B, Whitaker AN, Masci P. D-dimer antibodies. Powerful reagents for study of human thrombosis and fibrinolysis. Fibrinolysis 1993;7 (Suppl 2):9-11**

**Salmon J, Lambert PH. Determination of fibrinogen derivative by experimental and clinical kidney disorders. Scand J Haematol 1971;8 (Suppl 13):851**

**Slappendel RJ. Disseminated intravascular coagulation. Vet Clin North Am 1988;18:169-184.**

**Wyers M. Lésions consecutives aux troubles circulatoires. En: Anatomie pathologique générale. École Nationale Vétérinaire d'Alfort, Paris. 1985;II:108-109.**

**CUADRO 2.1. Agentes y condiciones que producen coagulación intravascular diseminada en animales (tomado de Patología de los animales domésticos. Jubb, Kennedy y Palmer 4th. edition, 1993).**

<b>Bacterias</b>	<b>Gram negativas (endotoxinas)</b> <b>Gram positivas</b>
<b>Helmintos</b>	<b><i>Dirofilaria immitis</i></b> <b><i>Theileria spp</i></b> <b><i>Sarcocystis spp</i></b> <b><i>Babesia</i></b>
<b>Rickettsias</b>	<b><i>Rickettsia rickettsii</i></b>
<b>Virus</b>	<b>Fiebre porcina africana</b> <b>Fiebre porcina clásica</b> <b>Lengua azul</b> <b>Enfermedad epizótica y hemorrágica de los ciervos</b> <b>Hepatitis infecciosa canina</b> <b>Peritonitis infecciosa felina</b> <b>Enfermedad Auleciana del vison</b>
<b>Neoplasias</b>	<b>Carcinoma</b> <b>Leucemia</b> <b>hemangiosarcoma</b>

**Otras**

**Aflatoxinas**

**Complejos antígeno-anticuerpo (transfuciones  
sanguíneas incompatibles)**

**Dilatación gástrica (volvulus)**

**Estrés calórico**

**Daño endotelial inmunológico**

**Ingestión de plantas tóxicas**

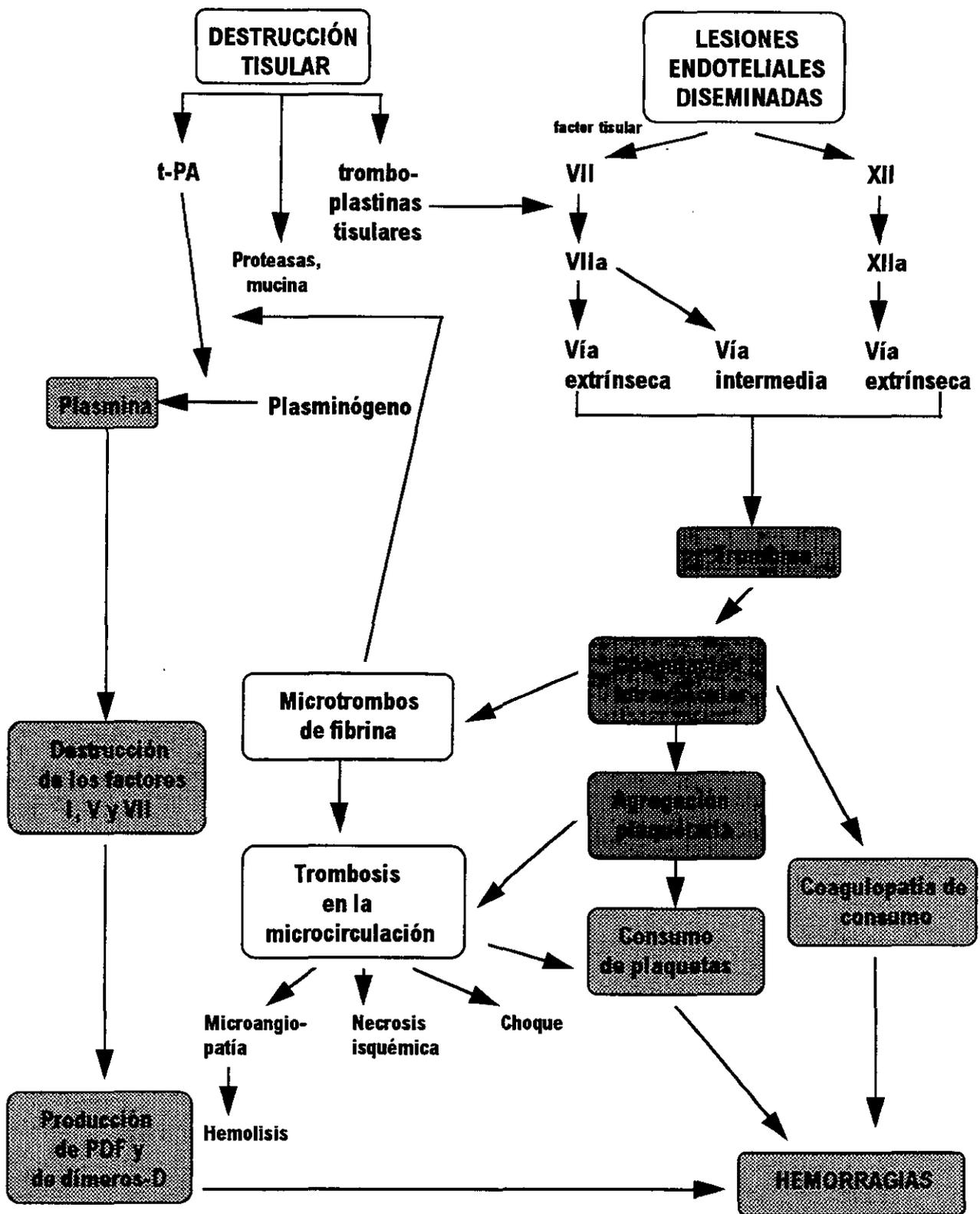
**Enzimas proteolíticas**

**Choque, estasis vascular, anestesia prolongada**

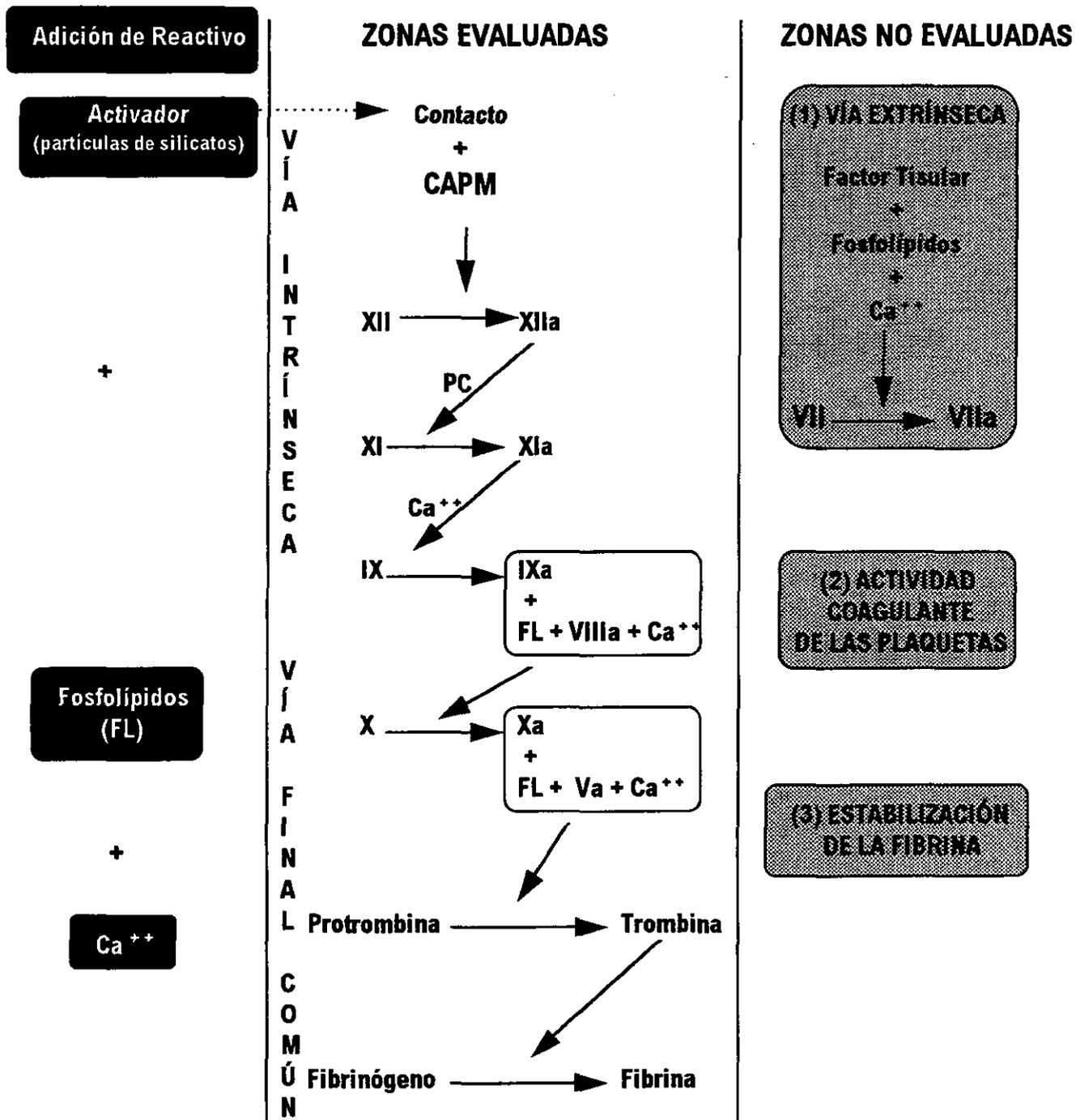
**Acidosis**

**Necrosis tisular (hepática, pulmonar,  
poscirugías, quemaduras extensas).**

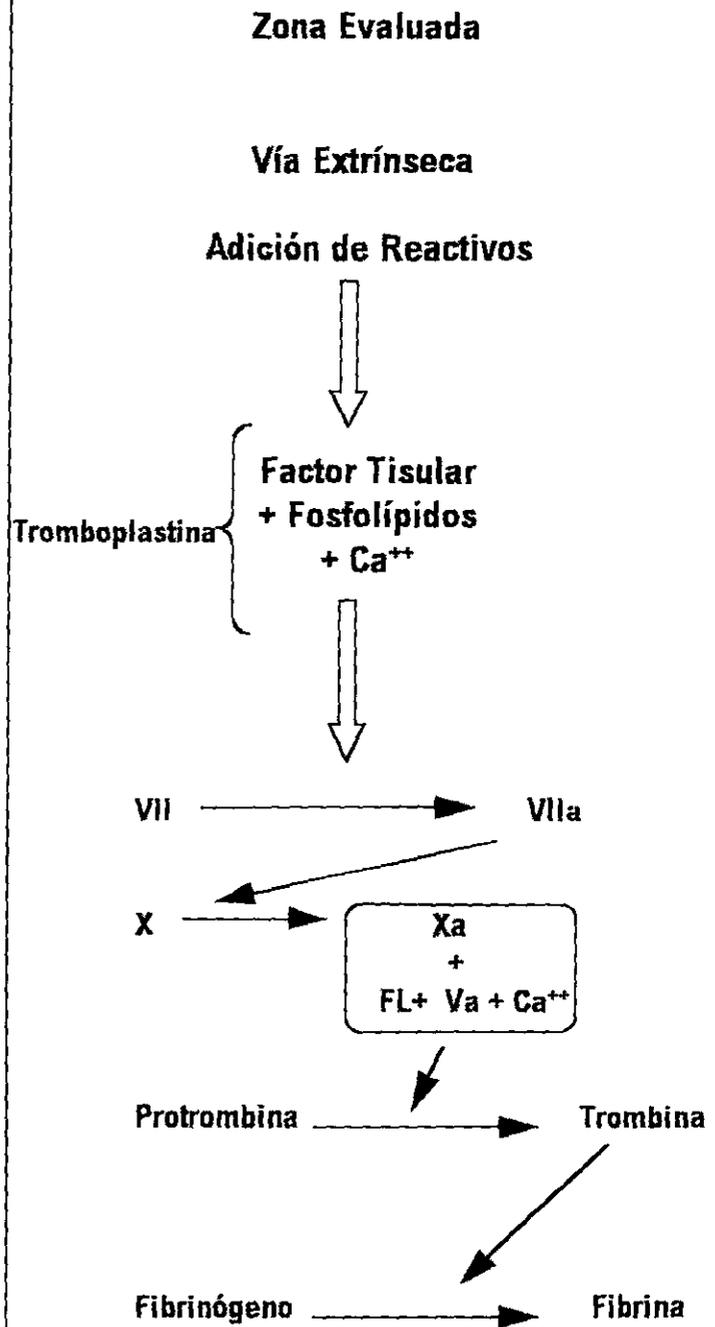
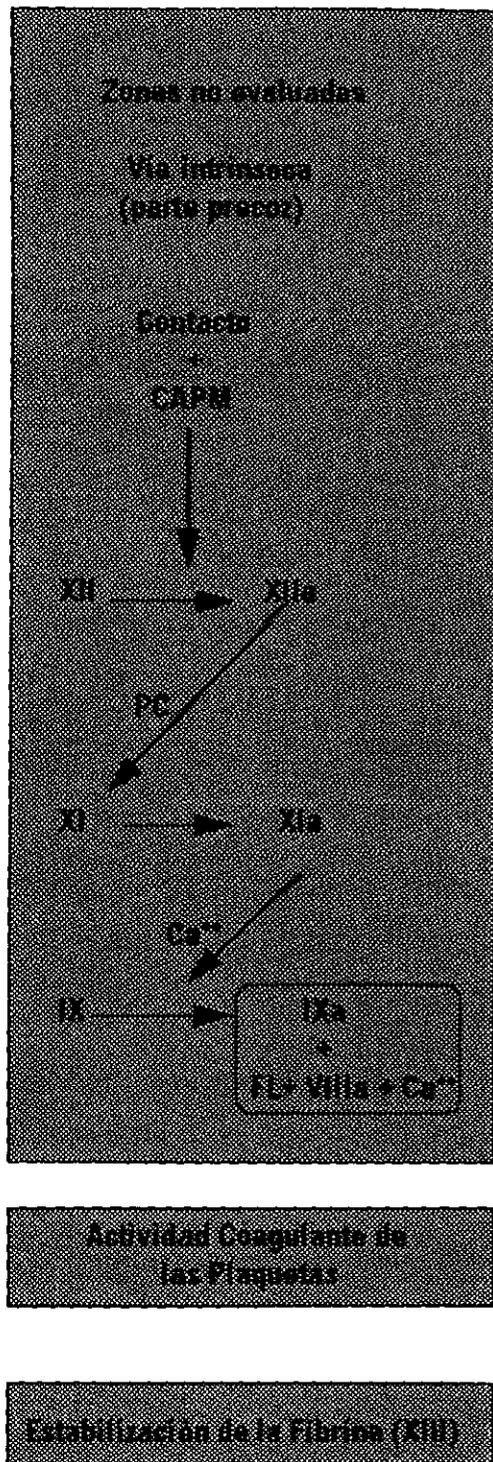
**ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA**



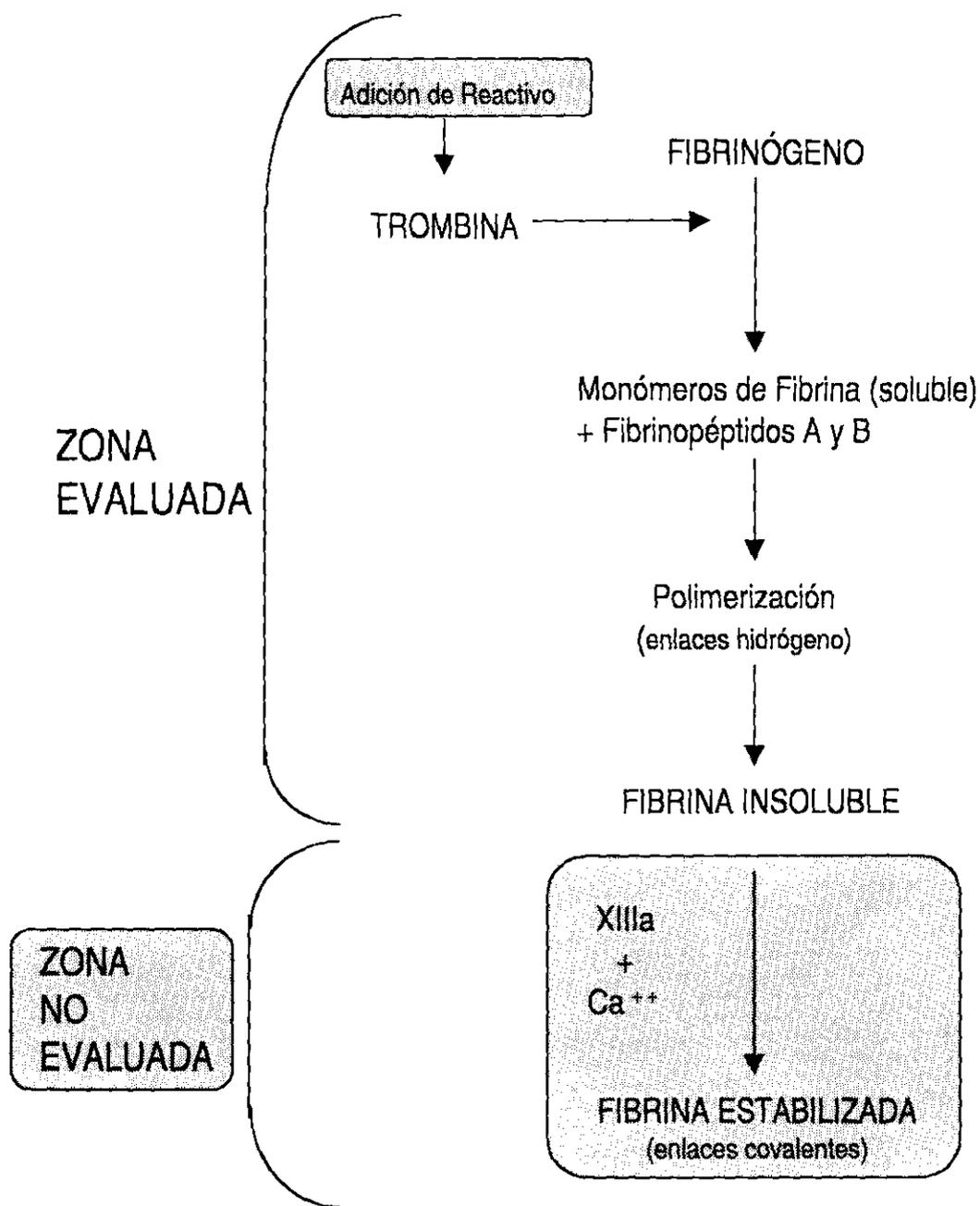
**Figura 2.1 Fisiopatología de la coagulación intravascular diseminada.**  
(Tomado de l'Hémostase. Jobin, 1995).



**Figura 2.2 Zonas evaluadas por el tiempo de tromboplastina parcial activada. CAPM: Cininógeno de alto peso molecular. PC: Precalicroina. (Tomado de l'Hémostase. Jobin, 1995).**

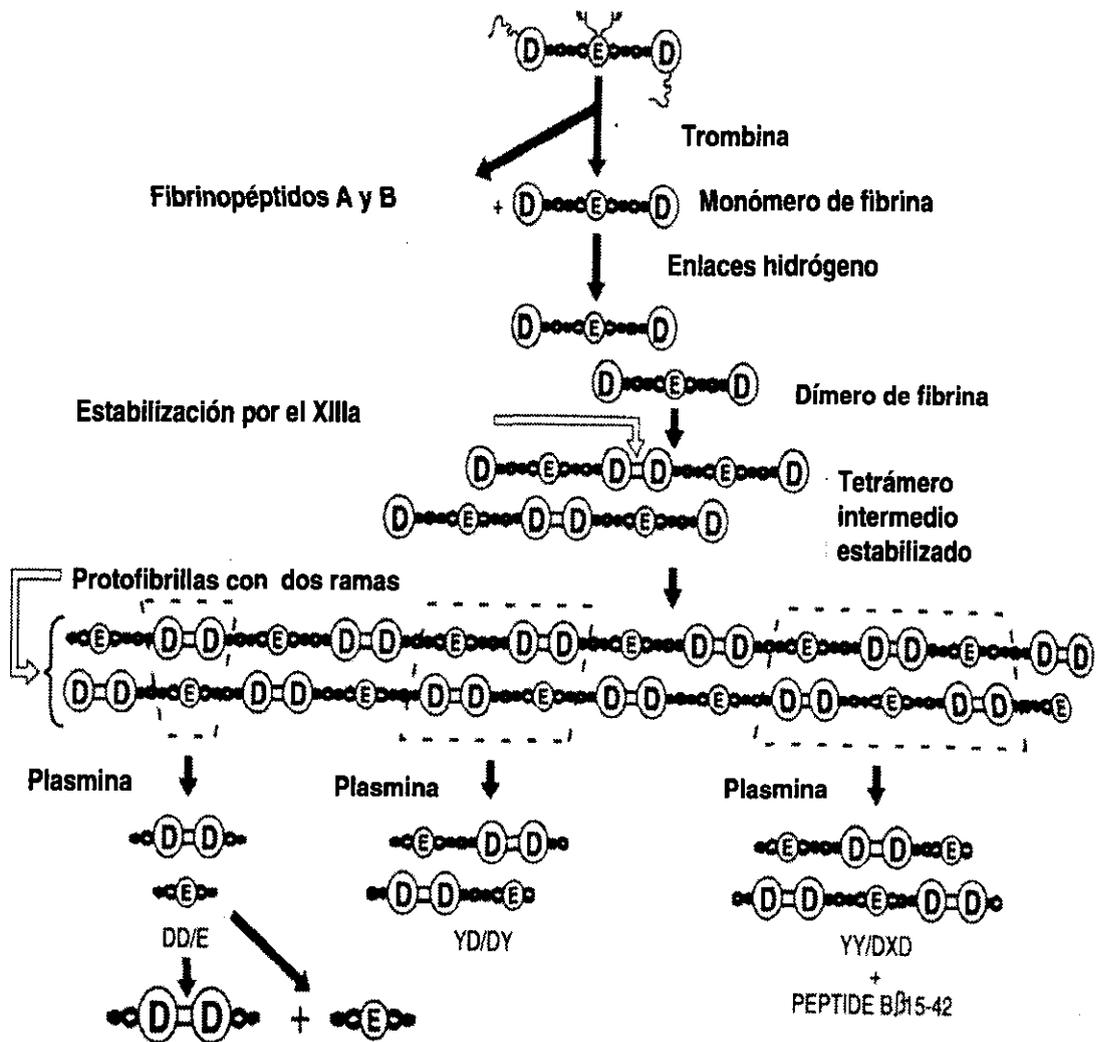


**Figura 2.3 Zonas evaluadas por la prueba de tiempo de protrombina.**  
 CAPM: Ciniógeno de alto peso molecular  
 FI: Fosfolípidos PC: Precalícireina.  
 (Tomado de l'Hémostase. Jobin, 1995).



**Figura 2.4** Zona evaluada por el tiempo de trombina.  
(Tomado de l'Hémostase. Jobin, 1995).

## Proteolisis de la fibrina estabilizada por la plasmina



**Figura 2.7** Degradación de la fibrina estabilizada por la plasmina.  
(Tomado de l'Hémostase. Jobin, 1995)