

COAGULACION INTRAVASCULAR
DISEMINADA



DEPTO. DE PASANTES Y
EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLGO
P R E S E N T A
ANGELA REYNA ESTRADA QUEVEDO





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.

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE: Profa. Dea coronado Perdomo
VOCAL: Profa. Dolores Lastra Azpilicueta
SECRETARIO: Prof. José Luis Domínguez Torix
1er. SUPLENTE: Prof. Victor Sánchez Hidalgo
2do. SUPLENTE: Prof. Raul Nieto Camacho

Sitio donde se desarrolló

el tema:

BIBLIOTECA CENTRAL DEL I.M.S.S.,
BIBLIOTECA DEL D.I.F., BIBLIOTECA
DEL INSTITUTO NACIONAL DE CARDIO-
LOGIA, BIBLIOTECA DEL HOSPITAL DE
GINECOOBSTETRICIA N° 4. BIBLIOTECA
DEL C.M. LA RAZA. FACULTAD DE --
QUIMICA.

Angela R. Estrada Q.

Nombre del SUSTENTANTE: Angela Reyna Estrada Quevedo

Nombre del ASESOR:

José Luis Domínguez Torix
Prof. José Luis Domínguez Torix

Por tí DANTE...

Estés donde estés

Con infinito cariño.

A mi HIJO.

Quien con su presencia en esta vida,
me impulsó para llegar a esta meta.

Con respeto y veneración a mis
queridos padres:

Sr. CLODOMIRO ESTRADA ESPINOZA y
Sra. NATIVIDAD QUEVEDO DE ESTRADA

A mis suegros:

Con profundo agradecimiento al
Sr. HUMBERTO GONZALEZ GONZALEZ
Por toda la confianza y cariño
que me ha brindado y
Sra. MARIA DE LA LUZ LOPEZ DE
GONZALEZ (+)

A mis hermanos:

Muy especialmente a JOSE ANIBAL

MANUEL EUSTORGIO

DANELIA

JOSEFA ELIZABETH y

NORMA LUZ

POR SU ESPERANZA Y FE EN MI

CON GRAN AMOR PARA TODOS MIS SOBRINOS

A mis amigas:

ISABEL

Ma. ESPERANZA y

Ma. GUADALUPE.

Con afecto a todos aquellos que
me orientaron, ayudaron e impul
saron.

Con Agradecimiento al DR. JOSE LUIS DOMINGUEZ TORIX
Jefe del SERVICIO DE HEMATOLOGIA Y BANCO DE SANGRE
Del Hospital de Ginecobstetricia N° 4 I.M.S.S.
Por su orientación y ayuda para
la realización de este trabajo.

"La coagulación de la sangre no es el único factor que controla las hemorragias y posiblemente ni el más importante.

Se debe considerar que en el control hemostático de una hemorragia, la sangre y los vasos sanguíneos constituyen una unidad inseparable, siendo erróneo atribuir todas las anomalías de la hemostasia a la sangre, como igualmente erróneo atribuir las solamente a los vasos".

MORAWITZ (1904)

I N D I C E

	Página
INTRODUCCION	1 .
CAPITULO I.	
Evolución de los conocimientos sobre la Hemostasia	4
CAPITULO II.	
Coagulación Intravascular Diseminada	38
CAPITULO III	
Diversos Métodos de Investigación de Productos Líticos o de Degradación de la Fibrina	62
C O M E N T A R I O S	78
BIBLIOGRAFIA	79

INTRODUCCION

Las alteraciones de la hemostasia constituyen un problema médico siempre en revisión, propiciada por diversas situaciones:

1o.- El conocimiento y la comprensión cada vez mejores del complejo mecanismo hemostático.

2o.- El mejoramiento de la metodología de estudio tanto de la hemostasia fisiológica como en aquellos enfermos en que se encuentra alterada.

De esta suerte, algunos padecimientos o bien complicaciones de estos mismos, cuyo común denominador es una hemorragia casi siempre generalizada, con la característica de que la sangre es incoagulable y cuya resultante era con frecuencia la muerte de la persona por sangrado incoercible, en la actualidad, al ser diagnosticados oportunamente permi

ten al clínico combatir estos trastornos.

Tal es el caso de la llamada coagulación intravascular diseminada, complicación frecuente en numerosas enfermedades y aún en estados fisiológicos como puede ocurrir en obstetricia.

JUSTIFICACION.

La bibliografía de estas alteraciones es muy abundante, por lo que paradójicamente, le resulta difícil al estudiante actualizarse en forma didáctica acerca del tema.

El objetivo primario de este trabajo monográfico, es presentar en forma reducida pero con un apoyo bibliográfico amplio, el tema de la coagulación intravascular diseminada con un enfoque primordialmente bioquímico puesto que es a nivel de bioquímica celular y molecular, en donde ocurren los cambios que generan esta complicación tomando en consideración que uno de los objetivos de esta tesis, es que tenga utilidad práctica, fundamentalmente para los alumnos que cursan Hematología tanto en la Facultad de Química, como en la de Medicina; es por eso que se decidió presentarlo en tres capítulos. El primero comprende una revisión actualizada del concepto de la Hemostasia; en la segunda parte, se revisa el tema de la coagulación intravascular diseminada y en el tercero se describen las técnicas de laboratorio consideradas como las más útiles.

A lo largo de la exposición se profundiza tanto en la bioquímica, como en la fisiopatología de la hemostasia procurando exponer con claridad y sencillez los conceptos, a fin de facilitar tanto la comprensión, como el aprendizaje del contenido, a quien tenga el interés y la paciencia de consultar este trabajo.

CAPITULO I

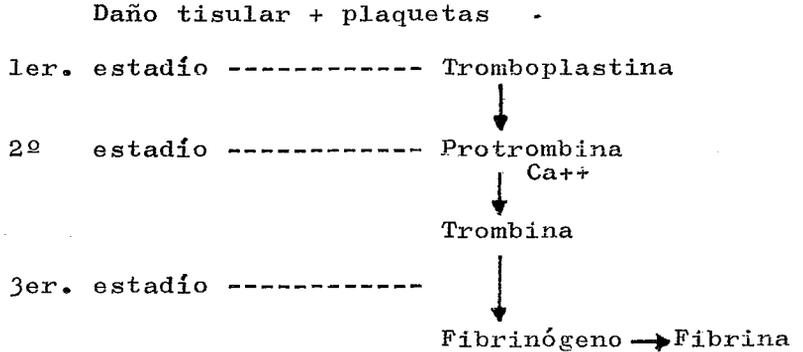
EVOLUCION DE LOS CONOCIMIENTOS SOBRE LA HEMOSTASIA

El progreso en el estudio de la hemostasia y la trombosis ha pasado por diferentes etapas. En un principio se realizaron valiosas investigaciones aisladas que no lograban explicar el proceso globalmente.

Sin embargo, estas contribuciones ayudaron a las generaciones posteriores para comprenderlo mejor. Entre otros investigadores se deben mencionar: P. E. Weil, Schmidt, Arthus, Bordet, Fonio, Howell, Schloesman, Minot, Nolf, etc.

Morawitz (1904) reunió la información realizada en ese período y la integró en el clásico esquema que sirvió como antecedente para los futuros intentos de ordenar lo

lo conocido. Reconoció como necesarios cuatro elementos o componentes: Tromboplastina, calcio, protrombina y fibrinógeno cuya interacción dividida por etapas concluía con la formación del coágulo de fibrina.



Pocos años después, Collingwood y Mac Mahan concluyeron que la formación de tromboplastina debía representar una fase adicional en el proceso de la coagulación.

Para investigar estos problemas se emplearon diferentes técnicas cuyas conclusiones eran un tanto dispares.

Con el intento de ordenar ciertas ideas en el estudio de la coagulación de la sangre y problemas afines, se efectuaron conferencias organizadas por la fundación Josiah Macy, realizadas anualmente desde 1948-1952 en New York. En la primera reunión participaron destacados investigadores: I. S. Wright, J. R. Flynn, I. Astrup, N. W. Barker, K. P. Link, R. S. Owerman, W. H. Seegers, L. H. Tocantins, a los que se fueron agregando en las siguientes conferencias nuevos investiga-

dores.

En estas reuniones se discutieron diversos temas de la coagulación así como técnicas utilizadas, entre las que sobresalieron, la técnica de dosificación de protrombina.

Un buen aporte en el estudio de la hemostasia se obtuvo inicialmente por quienes estudiaron la Hemofilia. No porque esta enfermedad fuera muy común, sino porque se trataba de una enfermedad producida por la deficiencia de un factor cuya participación en la coagulación permitía avanzar en los conocimientos sobre ella (década del 30).

Pioneros en estos estudios fueron P.E.Neil y Fonio. En esta época existía cierto caos referente a la nomenclatura de los factores de la coagulación. Por ejemplo, dos escuelas se enfrentaron en la conferencia de Macy, la de Quick y la de Seegers; una se basaba en los efectos fisiológicos y la otra, en transformaciones bioquímicas.

También se utilizó una terminología anárquica, pues cada investigador utilizaba su propia denominación, así, un mismo factor era llamado bien por su constitución química (globulina antihemofílica), por su estabilidad (factor lábil o estable), o por el nombre del paciente en que se descubría el defecto. De este modo, un mismo factor tenía hasta doce denominaciones diferentes.

Fué en 1957, en Brasilea, por sugerencia de Irving Wright en la Reunión Internacional sobre Trombosis que se creó el Comité Internacional de Nomenclatura de los Facto-

res de la Coagulación.

Uno de los primeros objetivos de ese comité por sugerencia de F. Koller fué el de denominar a los factores en estudio con números romanos, precisándose además, la enfermedad que producían, las técnicas de investigación, el estudio del metabolismo y la purificación de esos factores.- Hasta el momento la lista de factores estudiados es la siguiente:

Factor I	Fibrinógeno
Factor II	Protrombina
Factor III	Tromboplastina
Factor IV	Calcio
Factor V	Proacelerina
Factor VII	Proconvertina; SPCA
Factor VIII	Factor antihemofílico A (AHF)
Factor IX	Componente tromboplástico del plasma (PTC) Factor Cristmas o Factor antihemofílico B
Factor X	Factor Stuart-Prower
Factor XI	Antecedente tromboplástico del plasma (PTA)
Factor XII	Factor Hageman
Factor XIII	Factor estabilizador de la fibrina (FSF)

A medida que se incorporaron nuevos miembros con nuevas disciplinas, el comité cambió su denominación de Comité Internacional de Nomenclatura de los Factores de la Coagulación por el de Comité Internacional de Trombosis y Hemosta-

sis.

En el transcurso de varios años, se observó, que partiendo de un simple esquema como el de Schmidt y Morawitz, posteriormente se fueron proponiendo esquemas cada vez más completos a medida que se descubrían nuevos factores y precisaban las alteraciones bioquímicas que se producen durante la activación del proceso.

En el estudio de un factor, se requiere la coordinación de todos los datos posibles de obtener, ya sean fisiológicos, bioquímicos, clínicos etc. así como determinar la enfermedad que provoca su deficiencia.

Los estudios bioquímicos han permitido la purificación de los factores de la coagulación, continuando con gran interés en esta línea y en el conocimiento de la estructura molecular. Seegers ha sido un pionero en este aspecto, purificando en alto grado la protrombina.

Diversas escuelas fueron estudiando otros factores que intervienen en el complejo equilibrio entre la hemorragia y la trombosis. Este equilibrio hemostático está condicionado por diversos sistemas: a) Componente vascular, que involucra la fragilidad, permeabilidad, y tono capilares los factores intra y extravasculares. b) Sistema plaquetario. c) Coagulación, tanto en su mecanismo intrínseco, como extrínseco para la activación de la trombina y la transformación de fibrinógeno en fibrina. d) Sistema de inhibi-

dores o activadores de los factores de la coagulación y de la función plaquetaria. e) Sistema hemodinámico condicionado por la velocidad y presión con que circula la sangre. f) Sistema fibrinolítico.

El conocimiento de la participación plaquetaria en el proceso de la coagulación es esencial para la formación del tapón hemostático primario y desempeñan el rol estelar en las trombosis arteriales.

Los anticoagulantes en exceso pueden llevar a síndromes hemorrágicos severos o a complicar el tratamiento de pacientes hemofílicos. Por otra parte, la carencia y el déficit de anticoagulantes predispone a condicionar estados trombóticos.

En cualquier esquema de la coagulación deben ser considerados tanto los aspectos fisiológicos como las transformaciones bioquímicas que se producen.

Los conceptos fisiológicos dieron origen a los primitivos esquemas de Schmidt y Morawitz, que fueron reformándose y ampliándose a medida que se profundizaba en el conocimiento de los factores.

Estudios bioquímicos recientes de la coagulación han intentado considerar las distintas alteraciones observadas y los cambios estructurales durante el proceso de la coagulación, determinando su composición molecular en los diferentes estadios.

Finalmente, la participación de la fibrinolisis en la hemostasis tiene lugar cuando, después de un traumatismo aparece un hematoma o un trombo intravascular, el mecanismo fibrinolítico interviene, tendiendo a disolver la masa sanguínea extravasada o al trombo. En ocasiones el mecanismo fibrinolítico es excesivo y precozmente activado por diversos factores, no permitiendo la formación del coágulo (fibrinolisis primaria); por otra parte el fenómeno contrario puede ocurrir: La nula o insuficiente activación del mecanismo fibrinolítico dejando grandes hematomas sin ser reabsorbidos o trombos sin disolver. (93).

HEMOSTASIA

La hemostasia es un proceso fisiológico que tiene el organismo para interrumpir la pérdida de sangre cuando un vaso es lesionado.

Mecanismo de la Hemostasia

Desde el punto de vista dinámico es necesario considerar que en el mecanismo hemostático intervienen seis componentes: 1) Componente vascular, 2) componente celular o plaquetario, 3) Formación del coágulo, 4) Anticoagulante, 5) Componente hemodinámico, 6) Mecanismo fibrinolítico de disolución del coágulo.

1. Componente vascular. Cuando la pared de un vaso sanguíneo es lesionada, la respuesta inmediata es una vasoconstricción neurohumoral, provocada por la acción vasopresora de aminas liberadas a nivel de la lesión, esta vasocons-

tricción es muy breve, apenas de unos cuantos segundos y es continuada temporalmente (15 a 18 minutos) por acción vasoconstrictora de la serotonina plaquetaria sobre la musculatura del vaso. Por otro lado, las paredes de los vasos pequeños y capilares, se "juntan" o "pegan" cuando hay alteración del endotelio por la precipitación de una proteína adhesiva que le confiere pegajosidad a la célula endotelial. (54)

2.- Mecanismo plaquetario. En los últimos años el estudio ultraestructural y cinético de las plaquetas ha permitido conocer más ampliamente tanto su estructura íntima, como la explicación bioquímica de sus múltiples funciones.

Consideramos de utilidad hacer una revisión somera de estos conocimientos, toda vez que su participación en el proceso hemostático normal y en las alteraciones del mismo, muy especialmente en la coagulación intravascular diseminada, es incuestionable.

El concepto más aceptado en la actualidad respecto del origen de las plaquetas, es la hipótesis de Wright, quien las considera como porciones del citoplasma de los megacariocitos en la médula ósea. (44). Diversos estudios en que se emplea el microscopio electrónico han confirmado dicha conclusión.

Los megacarioblastos se diferencian siguiendo una tercera sublínea para formar megacariocitos; estas células dan ori

gen a las plaquetas de la sangre. Los megacariocitos circulan en pequeño número en la sangre venosa de personas normales. Se ha demostrado que los pulmones "aprisionan" la mayoría de estas células voluminosas, liberándose aproximadamente del 9 al 26% de las plaquetas de los capilares pulmonares por estos megacariocitos maduros. Los trombócitos o plaquetas son los elementos celulares más pequeños observados en sangre periférica, con un diámetro de 2 a 4 micras; tienen forma irregular, generalmente discoide sin núcleo y con una membrana doble constituida por hidratos de carbono y fosfolípidos provenientes de la cubierta celular del megacariocito. En sangre circulante se encuentran cifras variables que van de: 150 000 a 400 000 células por mm^3 (44).

Observadas en microscopio óptico aparecen constituidas por dos componentes. La mayor parte de la plaqueta está formada por una substancia hialina denominada hialómera y, dispuesto hacia la parte central de la plaqueta, un material que se tiñe intensamente de azul o púrpura, la cro-
matómera o granulómero.

La hialómera está formada por un material homogéneo, generalmente granuloso fino, y cerca de la periferia contiene microtúbulos y microfilamentos. Los primeros forman un haz compacto de aproximadamente quince túbulos situados en extremos opuestos del perfil de la plaqueta, ordenándose

paralelamente a la membrana plasmática, adoptando una situación subyacente. Los microtúbulos contribuyen a conservar la forma estructural normal de las plaquetas. El hialoplasma le da al interior de la célula una estrecha proximidad con el medio que la rodea, Los microfilamentos están formados por una proteína denominada trombostenina o actomiocina de acción contractil, lo que explica la capacidad de las plaquetas para cambiar de la forma discoide a esférica durante la agregación plaquetaria y posterior retracción del coágulo.

Los componentes de la granulómera son: a) gránulos alfa, redondos u ovals con diámetro de 0.2 o 0.3 micras, separadas de la membrana unitaria. Estos gránulos contienen varias sustancias relacionadas con algunas de las funciones de la plaqueta, entre ellas el factor III de la coagulación de la sangre. b) las mitocondrias contenidas en la plaqueta son suficientemente pequeñas con tan solo dos o tres crestas. Estos organelos proporcionan a la plaqueta la energía esencial para su viabilidad y función. c) Los siderosomas son vesículas redondeadas, con una superficie interna revestida de pequeños gránulos densos de ferritina (contenido de hierro), de 55 A° de diámetro. d) Gránulos muy densos que contienen serotonina y que son descargadas durante la agregación, provocando la contracción del músculo de las arteriolas y arterias, o en otros casos

su relajación (44). Otras de estas partículas densas, contienen ADP, produciendo también la agregación por una alteración de cargas en la membrana de la plaqueta o actuando como fuente de energía. e) Los gránulos de glucógeno, cuando la plaqueta queda expuesta a la trombina van a estimular la oxidación de la glucosa proporcionando la energía necesaria para la agregación. f) Los ribosomas, no son frecuentes en la plaqueta, y cuando existen indican que la plaqueta es de forma reciente. g) Se ha descrito un sistema de túbulos y vesículas que parece ser parte de una "figura esponjosa" que facilita la absorción e interacción con varios factores de la coagulación. Este sistema también contiene un material bastante rico en electrones, provenientes del aparato de Golgi de los megacariocitos que forman las plaquetas (30)(44).

Todos estos organitos contenidos en las plaquetas o sus precursores, se formaron mientras la plaqueta era parte del megacariocito (44).

El tiempo de sobrevida normal de las plaquetas varía de 5 a 9 días en sangre circulante.

Las plaquetas contienen todas las enzimas de la vía glucolítica y del ciclo del ácido cítrico, produciéndose una estimulación intensa de la oxidación de la glucosa cuando la plaqueta queda expuesta a la trombina.

En las plaquetas tiene lugar la síntesis de ácidos gra

sos, pues disponen de un sistema de síntesis completa, aunque no es seguro que puedan sintetizar fosfolípidos (63).

Las plaquetas tienen receptores del tipo D clásico que les permiten fijar serotonina. El papel de la serotonina en la hemostasia es desconocido, y se libera por exposición a la trombina, calcio y reserpina. La avidéz de las plaquetas por esta amina quizá sea por su almacenamiento. En los gránulos de las plaquetas se han identificado fosfatasa ácida, betaglucoronidasa y catepsina; en la fracción soluble hay catalasa y deshidrogenasa de ácido láctico (63).

Las plaquetas son también ricas en antígeno de histocompatibilidad (Ag HLA) y poseen además antígenos específicos (PLA, PLA-2, Duzo). Una isoimmunización transfusional o fetomaterna es posible contra estos antígenos (8).

Diversas sustancias de las mencionadas, incluyendo ácidos grasos saturados de cadena larga, trombina, colágena, difosfato de adenosina (ADP), 5-hidroxitriptamina y noradrenalina, son capaces de provocar agregación plaquetaria in vitro.

Las plaquetas son indispensables en el proceso de la hemostasia. Dos de sus propiedades inician tal proceso cuando un vaso sanguíneo es lesionado: Adhesividad y Agregación. Por ser los corpúsculos más pequeños y más livianos (1/6 del peso de un eritrocito y mucho menos que un leucocito)

circulan suspendidas en el plasma, en la periferia de la corriente sanguínea muy cerca de la pared endotelial de la que se encuentran separadas merced al potencial Z. El endotelio vascular posee cargas eléctricas positivas (+) y negativas (-), predominando estas últimas. Lo mismo ocurre con la plaqueta cuyas cargas negativas (20.5×10^5) predominan sobre sus cargas positivas (3.5×10^5) (93). Al ocurrir una herida, migrarán inmediatamente hacia la solución de continuidad, porque ésta se carga positivamente. De ahí que, las primeras plaquetas se fijarán en el sitio de la herida, tanto por la carga positiva de ésta, como porque en este sitio entrarán en contacto con la colágena en donde en término de uno o dos segundos se inicia el proceso de agregación plaquetaria, con la formación de una masa cohesiva estrechamente aglutinada (78). Este proceso es mantenido primeramente por liberación de la energía almacenada en los gránulos de las plaquetas (ADP endógeno, catecolaminas, serotonina) con posterior liberación de fibrinógeno plaquetario y enzimas lisosómicas, participando también la contracción de la actomiosina (trombostenina) inducida por la trombina. (30) Está demostrado que otros agentes pueden causar aglutinación: -iones de cargas eléctricas fuertemente positivas; -la configuración natural de la molécula de colágena relacionada con la presencia de grupos epsilon-amino libre, complejos antígeno-anticuerpo, aminas biogénicas (serotoni-

na epinefrina), enzimas proteolíticas, por ejemplo trombina, tripsina, extracto de veneno de serpiente, fibrina polimerizada, etc. En resumen, la aglutinación inducida por todos estos agentes, procede a través del mecanismo común de la liberación de ADP endógeno proveniente de las plaquetas. Por otra parte, la aglutinación es bloqueada por varios agentes farmacológicos, de los cuales el más potente es la prostaglandina E. (86)(112).

Una vez que la sangre sale de los vasos, acumulándose en el espacio tisular, se inicia el proceso de coagulación, tanto a través del sistema intrínseco por el efecto activante del colágeno y la elastina sobre el Factor XII, como a través del sistema extrínseco por activación del factor hístico y Factor VII incluyendo la esencial aportación plaquetaria 3 (fosfolípido) para consolidar y estabilizar permanentemente la formación de fibrina.

Durante la agregación plaquetaria se forman las prostaglandinas E_2 y $F_2\alpha$. La agregación de plaquetas activa una fosfolipasa (A_2), la cual libera el ácido araquidónico que con intervención de las enzimas del ciclo oxigenasa de la membrana plaquetaria genera una potente aunque efímera agregación de endoperóxidos cíclicos. Los endoperóxidos cíclicos son transformados a una pequeña cantidad de prostaglandina inactiva PGE_2 o $PGF_2\alpha$ o por acción de un sistema microsomal, Tromboxan-sintetasa, va a producir una gran can

tividad de otro potente agente de agregación, pero de vida corta, el Tromboxan TxA_2 . Como resultado, se puede afirmar que el TxA_2 junto con los endoperóxidos y prostaglandinas son agentes importantes para la agregación plaquetaria.

(30)(81)

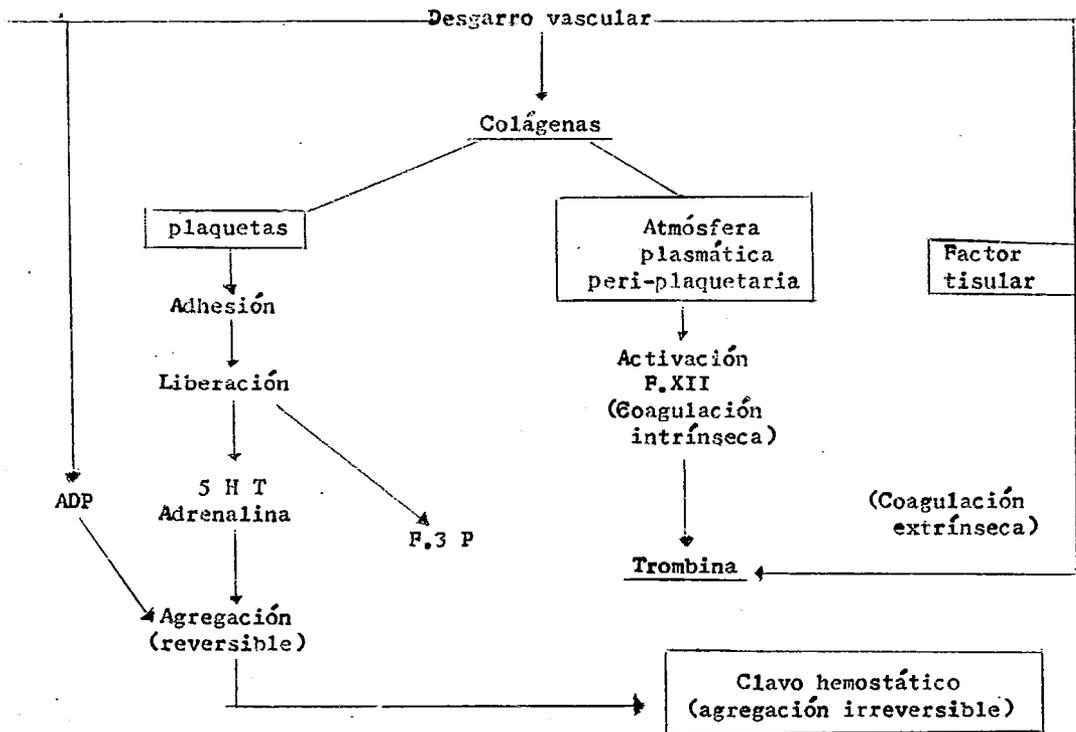
Amplios estudios al respecto, también han reportado que una enzima aislada de arteria de conejo y cerdo, transforma a los andoperóxidos y prostaglandinas en sustancias inestables (PGX) y (E_1), las cuales inhiben la agregación de plaquetas en humanos. El endoperóxido PGX fué 30 veces más potente que la prostaglandina E_1 . (81)

Esta generación de PGX y E_1 puede ser un mecanismo bioquímico fundamental de la única capacidad de los vasos para resistir la adhesión plaquetaria. Por otra parte, un balance entre la formación enzimática de sustancias "anti" y "pro"-agregatorias, también pueden contribuir al mantenimiento de la integridad del endotelio vascular y por consiguiente explicar el mecanismo de formación de trombos intraarteriales en ciertas condiciones etiopatogénicas.

La adición de aspirina o indometacina altera la formación de ambas prostaglandinas. (30)

Todas estas observaciones han permitido la integración del mecanismo responsable de la formación del tapón plaquetario hemostático.

Considerando que el componente vascular y el componente celular o plaquetario del mecanismo hemostático constituyen o forman parte de la Hemostasia primaria, (formación del clavo plaquetario y consecuentemente, paro del sangrado); simplificaremos este punto en el siguiente esquema:



Por último, el trombo plasmático se formará sobre el clavo plaquetario y será consolidado como resultado de la coagulación. (8)

3. Formación del coágulo. La tercera etapa del proceso hemostático es la coagulación, fenómeno dinámico complejo por cuanto intervienen numerosos elementos casi en su totalidad de naturaleza enzimática, de origen protéico y cuya interacción perfectamente coordinada a través de reacciones químicas bien definidas, da como resultado la formación de un trombo en el sitio lesionado.

El coágulo se produce dentro y fuera del vaso dañado; el que se forma dentro, es el que contribuye a la hemostasia, mientras el que se forma afuera, es de poca importancia para detener la hemorragia porque no contrarresta la presión de la corriente sanguínea.

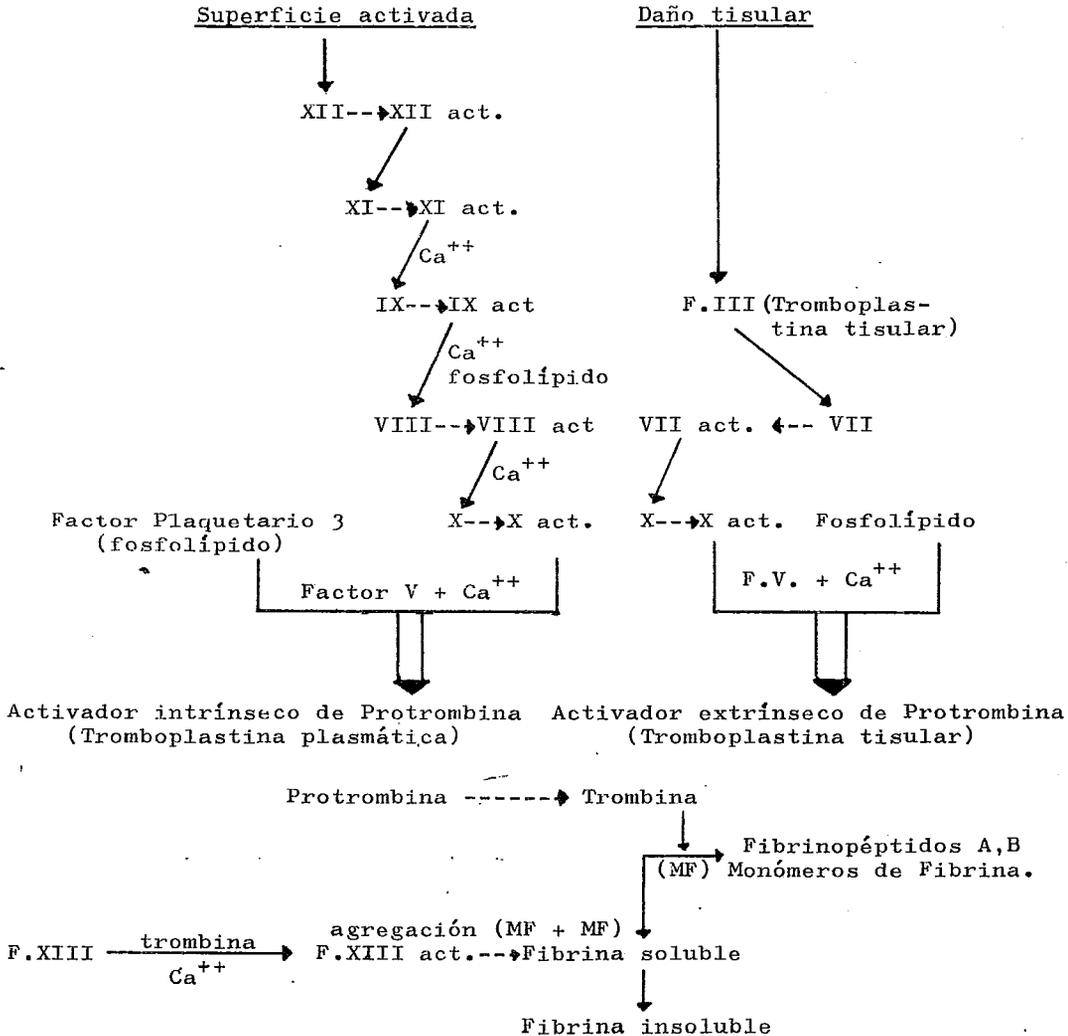
El coágulo interior no requiere de la presencia de humores tisulares y es generado a partir de la activación de los factores XII y XI, colágena u otra sustancia cargada negativamente. (123) Una vez activados, estos compuestos en presencia de calcio activan el factor IX que interactúa con el factor VIII y un fosfolípido plaquetario (PF3) siempre en presencia de calcio formando un complejo que activa el factor X (Stuart), este al combinarse con el factor lábil (F.V) y calcio formará finalmente el activador intrínseco de la protrombina o tromboplastina plasmática (89)(107)(113)

El coágulo formado fuera del vaso dañado (vía extrínseca) se inicia con la activación del factor VII por acción de la tromboplastina tisular y una vez activado y en presen

cia de calcio actuará sobre el factor X, siguiendo un camino similar al descrito en la vía intrínseca para formar el activador extrínseco de la protrombina o tromboplastina tisular.

Durante la segunda fase de la coagulación, la protrombina será activada, por ambos activadores, transformándose en trombina, enzima que posee una gran actividad proteolítica.

La fase final de la coagulación es la producción de fibrina a partir de la degradación del fibrinógeno.



Conviene detallar esta etapa desde el punto de vista químico para comprender mejor la etiopatogenia de la coagulación intravascular diseminada.

El fibrinógeno es una proteína con un peso molecular aproximadamente de 330 000. Químicamente se trata de una glucoproteína constituida por tres pares de cadenas de po lipéptidos identificadas $\alpha(A)_2$, $\beta(B)_2$ y γ_2 .

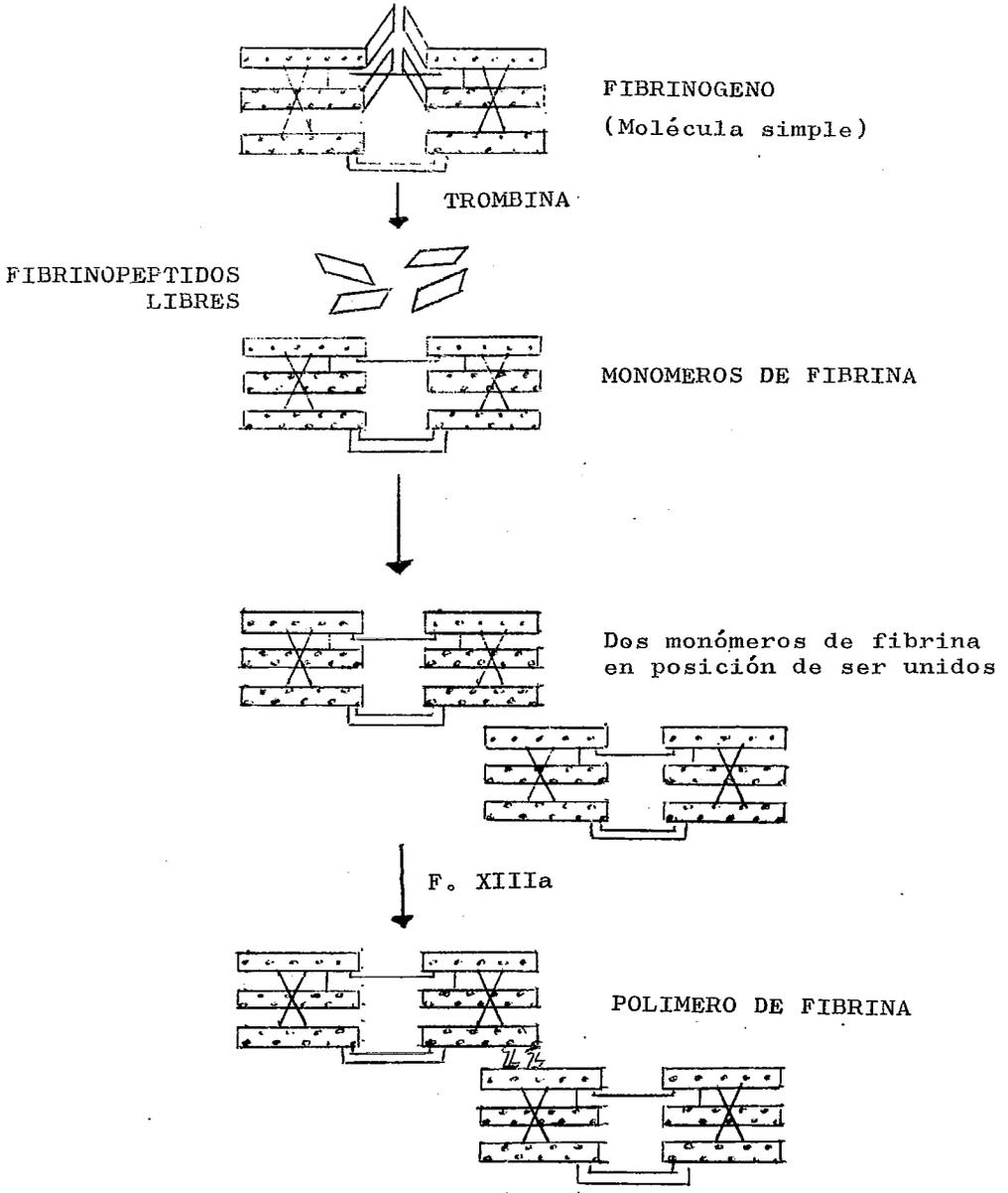
La acción de la trombina consiste en hidrolizar cuatro enlaces arginil-glicina específicos, desdoblado aproximadamente un 3% de la molécula de fibrinógeno en dos moléculas de fibrinopéptidos A y dos moléculas de fibrinopéptidos B de los extremos aminoterminales de las cadenas α y β respectivamente. (12)(30). El fibrinopéptido A contiene 19 residuos de aminoácidos y el fibrinopéptido B contiene 21. Estos fibrinopéptidos tienen acción anticoagulante e inhibidora de algunas funciones plaquetarias.

Para distinguir los fibrinopéptidos A y B respectivamente fueron efectuadas pruebas de electroferesis en gel de sodio dodecil sulfato-poliacrilamida, demostrando que la cadena $A\alpha$ es más susceptible a la degradación por plasmina. (71)

La parte restante de la molécula de fibrinógeno que es un monómero de fibrina, se une a otras fracciones iguales para formar un polímero mediante enlaces de hidrógeno constituyendo una red de fibrina o coágulo inicial soluble (por despolimerización) en Urea 5 M o en ácido monocloracético

al 1% (Fig. 1) (23)(88).

Figura 1. Conversión de Fibrinógeno a Fibrina (88)



En esta etapa, el factor estabilizador de la fibrina (Factor XIII) es activado por acción de la trombina a través de la eliminación proteolítica de un péptido de la cadena pesada de esta molécula (71). En presencia de calcio ionizado, el factor XIIIa cataliza la formación de enlace peptídico entre la cadena y el grupo epsilon-amino de la lisina de un monómero de fibrina adyacente (71). Esta reacción ocurre rápidamente entre las cadenas γ y con más lentitud entre las cadenas α . El número total de ligaduras cruzadas es aproximadamente de seis por cada molécula de fibrina, cuatro para las cadenas α y dos para las γ . La fibrina resultante es insoluble y constituye el coágulo definitivo que también es más resistente que el polímero a la acción de la plasmina. (71)

Morawitz en 1904 decía: "La coagulación de la sangre no es el único factor que controla las hemorragias y posiblemente ni el más importante. Se debe considerar que en el control hemostático de una hemorragia, la sangre y los vasos sanguíneos constituyen una unidad inseparable, siendo erróneo atribuir todas las anomalías de la hemostasia a la sangre, como igualmente erróneo atribuir las solamente a los vasos" (54).

4.- Componente anticoagulante. En su estado normal, en la sangre existen factores activadores e inhibidores del mecanismo de la coagulación (procoagulantes y anticoagulantes) cuya interacción perfecta determina el estado normal de la

sangre circulante. La amenaza de una hemorragia con hipovolemia severa consecutiva, puede ocurrir cuando el mecanismo de la coagulación es bloqueado por exceso de anticoagulantes o por disminución de los activadores de la coagulación. Biggs y Denson (1972) agruparon a los inhibidores naturales y patológicos de la coagulación en: a) Los que previenen la coagulación. b) Inhibidores naturales contra los factores activadores. c) Inhibidores irreversibles que destruyen los factores de la coagulación (muchos son anticuerpos). d) Inhibidores reversibles que aparecen en enfermedades por autoinmunidad, interfiriendo alguna reacción de la coagulación pero sin destruir ninguna sustancia específica. El más frecuente de los inhibidores de factores de coagulación es el inhibidor del factor VIII. También se han descrito inhibidores de los factores IX y X, y menos frecuentes, de los factores V, VII y XIII. (32)

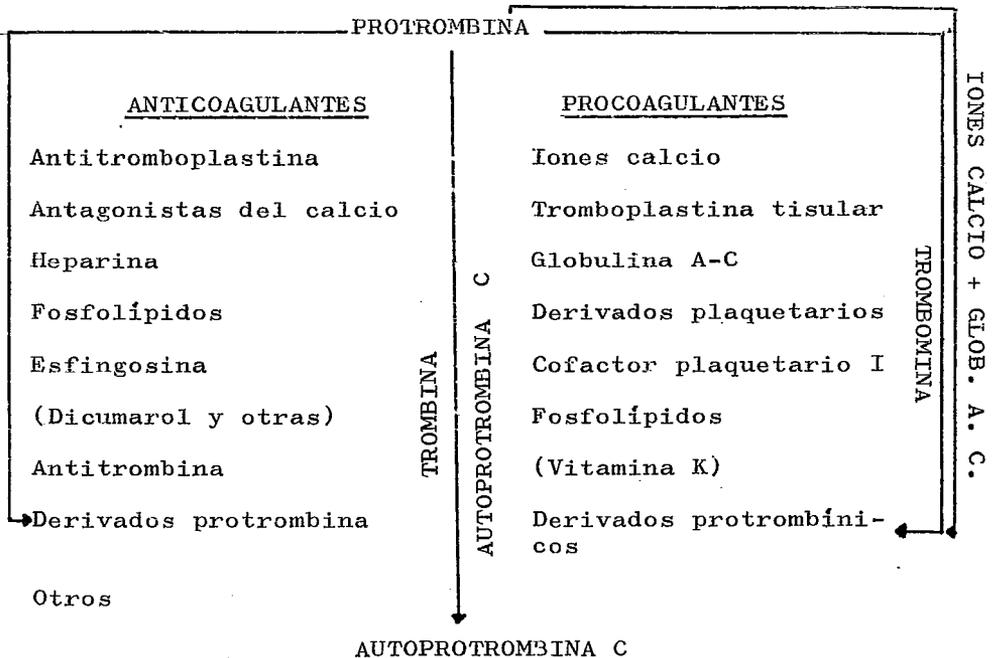
En enfermedades hemorrágicas con deficiencia congénita de algún factor como en la Hemofilia A por deficiencia de F.VIII, o la B por deficiencia del IX y en las deficiencias del V y del XI, se han descrito inhibidores específicos del factor deficiente luego de múltiples transfusiones (10)(94)

Se ha comprobado el desarrollo de inhibidores en un gran número de afecciones: Disproteïnemias, nefritis, macroglobulinas, mieloma, artritis reumatoide, colagenopatías co

mo el L.E.D., dermatitis herpetiforme. En algunas mujeres normales después de un parto normal se ha observado el desarrollo de un inhibidor anti-VIII, en coagulopatías por consumo con aumento de la actividad fibrinolítica (10)(15)(31)(33)(35)(38)(50).

Seegers ha impulsado este campo de la investigación proponiendo un esquema propio:

SEEGERS (1963)(107)



Por otra parte, la carencia o el déficit de anticoagulantes predispone estados trombóticos.

5. Componente Hemodinámico. La velocidad con que circula normalmente la sangre, a partir de su salida del ventrículo

lo izquierdo, misma que disminuye conforme se va acercando a la red capilar, está condicionada principalmente por tres fuerzas: Energía de la contracción ventricular, elasticidad de la pared arterial y viscosidad de la sangre. La combinación de estas tres fuerzas permite un movimiento continuo del fluido sanguíneo, característica que evita entre otras, la activación plaquetaria y la activación intrínseca del factor de Hageman. La disminución de la velocidad de circulación de la sangre y su casi consecuente estancamiento en la circulación capilar, favorece esta activación y por lo tanto la coagulación intravascular. El enfermo policitémico y el enfermo con varices en los miembros inferiores, con relativa frecuencia sufren complicaciones tromboembólicas.

En el desarrollo del proceso hemostático ocupa un lugar importante la combinación de estos tres elementos, por tal razón se considera éste, el componente hemodinámico de la hemostasia.

6.- Mecanismo Fibrinolítico. Se entiende por fibrinolisis al proceso fisiológico de la coagulación que cuya finalidad es remover los depósitos anormales de fibrina en el interior de los vasos sanguíneos. Esto se realiza mediante la activación del sistema fibrinolítico por medio de activadores hísticos que al actuar sobre una proenzima plasmática, el plasminógeno, se transforma en plasmina, una pro

teasa específica que digiere los polímeros de fibrina esta bilizada. Este proceso es fisiológico y ocurre solamente como consecuencia de la formación del coágulo de fibrina, es decir, se trata de un fenómeno secundario a la coagulación, por lo que se le denomina fibrinolisis secundaria. La activación o inhibición anormal de este sistema plasminógeno-plasmina sin que exista coagulación previa, provoca alteración de la hemostasia y secuelas importantes, mismas que posteriormente se describirán (Fibrinolisis primaria) (113).

COMPONENTES FIBRINOLITICOS.

El Plasminógeno es una glucoproteína de peso molecular aproximadamente de 85 000 que circula en el plasma en una concentración de 0.11 ± 0.02 mg/ml. Su vida media biológica es alrededor de 40 horas con un recambio aproximado de 50 μ g/ml/día. Esta proteína es producida probablemente en el hígado.

Activador funcional del Plasminógeno. El plasminógeno es convertido en plasmina en presencia de "activadores". Se ha encontrado que estos activadores son producidos como un precursor soluble por el endotelio vascular, en particular venas y arterias pulmonares, y quizá también por gránulos lisosómicos (93)(115)(119). La activación por lesión histi-ca transforma el precursor a un activador del plasminógeno enzimático del tipo de la serinproteasa. Un activador urina

rio, la urocinasa, consiste en una cadena polipeptídica sencilla, hidroliza específicamente el pasminógeno para formar plasmina (112). Estudios recientes han demostrado que la urocinasa tiene importante papel en la terapéutica trombolítica. En el plasma puede haber otro proactivador que es activado por el factor XIIa de la coagulación proporcionando, un puente entre la actividad fibrinolítica y la iniciación de la coagulación (109)(112)

La plasmina es una serinproteasa compuesta de dos cadenas polipeptídicas unidas por un puente disulfuro que hidroliza los enlaces arginilo y lisilo. No tan solo digiere la molécula de fibrina (o fibrinógeno) sino que también puede digerir varias proteínas del plasma a semejanza de la tripsina. De especial importancia hemostática es el potencial de la plasmina para degradar los factores de la coagulación V y VII in vivo.(2)

Antiplasmina. Además del sistema activador de la plasmina, el plasma normal, contiene un inhibidor de la serinproteasa, conocido como antiplasmina. Una de estas sustancias inhibidoras de la plasmina, es una globulina α -1 con actividad doble, lenta e inmediata. Otra de estas sustancias, es de reacción inmediata más estable en valores extremos de pH, y resistente a temperaturas elevadas, esta es una macroglobulina α -2. La participación de las proteínas plasmáticas en el mecanismo fibrinolítico sugiere que ac-

tuan como reguladoras e inhibidoras de una fibrinolisis ex:
cesiva. Las plaquetas también poseen propiedades antiplas-
mina. (82)(109)

Una vez inducida la coagulación por la vía intrínseca
simultaneamente se activa el mecanismo fibrinolítico, cuyo
objetivo será la digestión del coágulo de fibrina y recana-
lización del vaso lesionado, por la acción proteolítica de
la plasmina. (90)(91)

La actividad proteolítica de la plasmina sobre el fi-
brinógeno y la fibrina se efectúa hidrolizando las uniones
peptídicas a nivel de los enlaces de la arginina con la li
sina, dando origen a diversos fragmentos moleculares o pro-
ductos de degradación. En contraste con la restringida es-
pecificidad de la trombina, la plasmina también ejerce su
acción proteolítica sobre otros factores de la coagulación,
tales como el II, V, VIII y XIII, y distintas proteínas co
mo la somatotrofina, el glucagón, ciertos componentes del
complemento. (2)(80)(85). Es de interés señalar que en un sistema
purificado, el fibrinógeno es digerido por la plasmina tan
fácilmente como la fibrina; pero en presencia de inhibido-
res, como sucede en el plasma, la plasmina tiene una mayor
especificidad sobre la fibrina. Así mismo, debe hacerse no
tar la diferente acción de la plasmina con respecto a la
trombina, sobre la digestión del fibrinógeno: la trombina
separa los enlaces peptídicos de las cadenas α y β , rápi-

damente, mientras que la plasmina sólo las libera después de una muy prolongada y extensa digestión (83)(113)

La fragmentación del fibrinógeno y la fibrina por la plasmina se hace, según Marder(1971)(72) en forma asimétrica, dando en primer término al fragmento X (o fracción I de Fletcher) y los polipéptidos o fragmentos A, B y C, de carácter transitorio y pequeño peso molecular. En una segunda etapa, la plasmina actúa sobre el fragmento X desdoblándolo en los Fragmentos Y y D. Continuando su acción proteolítica, la plasmina desdobla el Fragmento Y en los Fragmentos D y E. Los Fragmentos X y Y, son también denominados PDF "iniciales" o de "alto peso molecular", mientras que los Fragmentos D y E son designados PDF "finales" o de "bajo peso molecular". El Fragmento X se parece al fibrinógeno en que aún es coagulable por la trombina, siendo la coagulación muy lenta, y el coágulo de fibrina de estructura defectuosa. En cambio, los fragmentos Y, D y E no son coagulables por la trombina. La vida media de los productos de degradación de bajo peso molecular oscila entre 5 y 15 horas, y la de los productos de alto peso molecular varía entre 24 y 72 horas. (56)(71).

La proteólisis de la fibrina por acción de la plasmina es muy similar a la efectuada sobre el fibrinógeno: los Fragmentos D, E y Y parecen ser muy similares si no idénticos. Contrariamente, existe una diferencia fundamental en-

tre el Fragmento X originado en la proteólisis del fibrinógeno, del que se origina a partir de la fibrina; por lo que actualmente se designan PDF a los productos de degradación del fibrinógeno, y pdf a los productos de degradación de la fibrina. Los PDF son inhibidores potentes y específicos del proceso de la coagulación y de ahí que su conocimiento sea primordial para entender la fisiopatología de la coagulación intravascular diseminada y la fibrinólisis patológica. En primer término, los PDF actúan inhibiendo la acción de la trombina, interfiriendo en la conversión del fibrinógeno en monómero de fibrina (en particular los PDF "iniciales" prolongan el tiempo de trombina mucho más que los PDF "finales"). Así mismo, los PDF ejercen una acción inhibitoria en el proceso de polimerización del monómero de fibrina en polímeros de fibrina por lo que provocan actividad fibrinolítica (los fragmentos Y y D son los más activos) (42)(71).

Los PDF también ejercen su acción sobre las plaquetas inhibiendo sus propiedades de adhesividad y agregación (siendo los PDF "iniciales" más activos que los "finales")

Los productos de degradación del fibrinógeno pueden ser estudiados por métodos inmunológicos, puesto que guardan la antigenicidad del fibrinógeno sin tener su función (8)(34)

La fibrinólisis excesiva se observa más espectacularmente en asociación con desfibrinación masiva (coagulopa-

tía de consumo). En este caso, la cifra de productos de de gradación de la fibrina en el suero aumenta lo suficiente para causar alteración grave de un mecanismo hemostático ya comprometido. Si aparece plasmina en la circulación de prime aún más los valores de fibrinógeno, factores V y VIII. (84)(90)(113)

Teóricamente, la fibrinólisis puede estar acrecentada independientemente por inhibición disminuída o activación aumentada como sucede por tratamiento con estreptocinasa o urocinasa (Fibrinólisis primaria). Por otro lado, la asociación de la fibrinólisis primaria con tumores, necrosis hística, etc. es indudablemente debida a fibrinólisis aumentada secundaria a coagulación intravascular(3)(46)(102)(114)

Es de gran interés la relación existente entre alguna anomalía del mecanismo fibrinolítico y las enfermedades trombóticas. Se ha comprobado que muchos episodios de trombosis se acompañan de un incremento de los inhibidores o de activadores de plasminógeno, o en valores elevados de antiplasmina y de antiplasminógeno.(31)(46)(90)(91)

CAPITULO II

COAGULACION INTRAVASCULAR DISEMINADA

Ya se ha visto cuándo, cómo y por qué se pone en juego el mecanismo hemostático. Así mismo se comprende que es la coordinación perfecta y sincronizada de la función de cada uno de los seis componentes de la hemostasia lo que dará como resultado la formación de un tapón hemostático cuando un vaso es lesionado.

Sabemos que este mecanismo al ser fisiológico únicamente se dispara cuando alguna parte del organismo lo requiere.

No obstante la aseveración anterior, en numerosas situaciones clínicas o bien como complicación de estados fisiológicos como puede ocurrir en obstetricia, (38)57)(75) el proceso hemostático se altera provocándose una coagulación de la san-

gre circulante con formación de trombos intravasculares que obstruyen la circulación, provocando daños tisulares importantes. (6)(7)(18)(72)(75)

Este proceso puede iniciarse en diversas formas cuyo común denominador es la activación anormal del mecanismo hemostático, proceso complejo que afecta al endotelio vascular, a las plaquetas y a los factores de la coagulación intrínsecos o extrínsecos. (1)(17)(22)(63)(66)(69)(118)(102)

En el cuadro N^o I se enumeran aquellos estados clínicos en los que se ha informado cursan con Coagulación Intravascular Diseminada (C.I.D.). Esta formación de coágulos puede resultar del contacto de la sangre con una superficie extraña, endotelio vascular lesionado o inflamado, acción plaquetaria, activación del sistema intrínseco o del sistema extrínseco de la coagulación, por ingreso de sustancias procoagulantes a la circulación (4)(5)(6)(7)(24)(46)(57)(60)(72)(75)(89)(98)(108).

Con fines didácticos se pueden clasificar las principales causas de C.I.D. y su posible mecanismo de acción:

- I.- Anormalidades de la sangre.
- II.- Anormalidades de la pared vascular.
- III.- Anormalidades del flujo sanguíneo.

I.- Anormalidades de la sangre:

a) Tromboplastina eritrocitaria. Está comprobado experimental y clínicamente que la hemoglobina liberada a consecuencia de la destrucción de eritrocitos dentro de los vasos

sanguíneos, actúa como activador del sistema intrínseco de la coagulación, tal sería el caso de las crisis de desglobulización en el paludismo, -la destrucción masiva de eritrocitos durante una transfusión incompatible, -la hemolisis intravascular producida por el ingreso de sustancias hemolizantes como ciertos venenos de serpientes o de arácnidos, la introducción accidental de agua o de alcohol, y en el caso de circulación extracorpórea (3)(13)(19)(25)(45)(47)(49)(50)(55)(58)(67)(72)(76)(79)(84)(108)

CUADRO N^o I
ESTADOS CLINICOS INFORMADOS CON LA CID (72)

<ul style="list-style-type: none"> - Accidentes obstétricos: Desprendimiento placentario prematuro Placenta previa Feto muerto y retenido Embolia de líquido amniótico Hemólisis Aborto séptico - Hemoglobinuria nocturna paroxística - Reacción transfusional - Paludismo - Púrpura trombocitopénica trombótica - Muerte súbita por enfermedad de células falciformes - Mordeduras de serpientes (víbora de cascabel) - Mordedura de perro (¿P. multocida?) - Infecciones (por cualquier microorganismo) - Púrpura fulminante - Síndrome de Waterhouse-Frideriksen Reacción de Schwartzman 	<ul style="list-style-type: none"> - Enfermedades inflamatorias agudas, LEG - Pancreatitis - Síndrome hemolítico-urémico - Vasculitis - Quemaduras graves - Medicamentos: Dilantin Heparina Complemento protrombínico Adriamicina - Alteraciones diversas: Cirrosis Neonatales (¿infarto placentario?) Aneurisma disecante Menorragia Cardiopatía congénita Ataque al corazón Síndrome de insuficiencia respiratoria en el adulto.
---	--

b) Tromboplastina tisular. Son numerosas las sustancias que al ponerse en contacto con los factores plasmáticos inducen o activan la coagulación (97); por esta razón

se les designa genéricamente como tromboplastinas tisulares o sustancias procoagulantes.

La lista es cada vez más grande. Así podríamos citar, procedentes de los tejidos:

- Embolia del líquido amniótico
- Quemaduras
- En las neoplasias malignas
- Feto muerto y retenido
- Leucemias agudas
- Eclampsia
- Mola hidatiforme
- Traumatismos craneanos

c) Procedentes del exterior

- Bacteremias principalmente por gram-negativos
- Complejos Antígeno-Anticuerpo
- Virus
- Rickettsias
- Embolia grasosa
- Hiperlipemia (ácidos grasos libres, quilomicrones)

d) De naturaleza enzimática (enzimas proteolíticas):

- Tripsina
- Veneno de serpiente

II.- Anormalidades de la pared:

El hallazgo en la sangre circulante de células endoteliales desprendidas en la reacción generalizada de Schwartzman, confirma la importancia de la lesión endotelial como factor que inicia el mecanismo de aparición de C.I.D. (37). Tal situación puede ocurrir en la acidosis (20) (117), en la fiebre manchada de las Montañas Rocosas (103), y en la insolación (4)(110). (97), hipotermia.

III.- Anormalidades del flujo sanguíneo:

Cualquier causa que provoque el estancamiento de la sangre favorecerá la activación del mecanismo hemostático,

así, se ha observado la complicación en:

- Coagulopatías congénitas cianóticas.
- Embolia pulmonar masiva
- Hemangiomas gigantes (síndrome de Kasabach-Merritt)
- Síndrome de choque

Hardaway(48)entre otros ha insistido en la importancia que tiene la vasoconstricción de la microcirculación en el choque para la aparición de la Coagulación intravascular diseminada. Al respecto se sabe que la estimulación interrumpida del receptor alfa-andrenérgico en el choque experimental por catecolaminas, puede actuar a través del mismo mecanismo (122).

Con relativa frecuencia pueden coexistir en un enfermo factores múltiples que provoquen la C.I.D., por ejemplo en presencia de endotoxinas bacterianas en un enfermo con septicemia por gérmenes Gram-negativos, puede caer en choque y desarrollar acidosis metabólica (22)(72)(97)

Se ha reportado C.I.D. en embarazadas con infección de vías urinarias y pancreatitis (60), y en otros en el que coexistieran seis factores diferentes que desencadenaran la C.I.D.: acidosis, choque, uso prolongado de noradrenalina, ácidos grasos libres y quilomicrones aumentados en el plasma y aumento de la aglomeración plaquetaria (60).

En los cuadros II y III se esquematizan los principales lugares de activación en la producción de C.I.D.

DUADRO II

PRINCIPALES CAUSAS DE C.I.D. Y SU POSIBLE MECANISMO DE ACTIVACION (97)

PRINCIPALES LUGARES DE ACTIVACION EN LA PRODUCCION DE C.I.D.

Activadores de la coagulación directos (D) o indirectos (I)	Mecanismo de la coagulación	
Toxinas bacterianas (I)		
Complejos antígeno-anticuerpo(I)	Activación de Factores XI y XII	Agregación plaquetaria
Materia en partículas(I)	Tromboplastina tisular	Agregación plaquetaria
Extractos tisulares (D)		
Células neoplásticas		
Hemólisis		
Lesión endotelial		
Traumatismos	Trombina	Protrombina
Enzimas proteolíticas (D)	Fibrinógeno	Fibrina

El cuadro clínico de Coagulación Intravascular Diseminada resulta complejo toda vez que al presentarse como complicación de un padecimiento primario, a las manifestaciones de la enfermedad inicial se suman en un momento dado las manifestaciones de la complicación. Por otra parte, no debe olvidarse que el organismo posee una capacidad compensadora variable en cada individuo tanto por sus condiciones previas a la enfermedad, como por la afectación de sus mecanismos normales de defensa contra la trombosis de los que se conocen fundamentalmente tres:

A.- Sistema Reticuloendotelial. La fibrina y otras partículas normalmente son eliminadas de la circulación por el sistema reticulo-endotelial, evitando así la formación de acúmulos con desarrollo ulterior de la coagulación (11)(64) , Además, este sistema también elimina los procoagulantes y tromboplastinas, de la circulación (31)(112) La participación del sistema reticulo-endotelial se comprueba fácilmente en el modelo experimental del C.I.D. de la reacción generalizada de Shwartzman (53)(46). Se administran dos inyecciones intravenosas de endotoxina de E.coli a un conejo, con intervalos de 2 $\frac{1}{4}$ horas. Después de la segunda inyección el animal desarrolla C.I.D. con microtrombos difusos. La explicación lógica es que el sistema reticulo-endotelial se satura con la primera inyección razón por la cual no ocurre nada. Con la aplicación de la segunda inyección se dispara el mecanismo de la coagulación tanto por la activación del Factor XII, como por favorecer la aglomeración plaquetaria, y por lesión directa de las células del endotelio vascular. (36)(39)(41)

CUADRO III

PRINCIPALES CAUSAS DE C.I.D. Y SU POSIBLE MECANISMO DE ACTIVACION (97)

Factores que favorecen o impiden la formación y la persistencia de fibrina

Factores favorecedores

Factores inhibidores

Procoagulantes
 Antifibrinolíticos
 Bloqueadores de S.R.E.
 Estasis circulatoria
 Acidosis
 Hipovolemia
 Hiperlipemia
 Sustancias vasoactivas
 Cortisona, ACTH

Anticoagulantes
 Fibrinolíticos
 Estimuladores de S.R.E.
 Hipercirculación
 Amortiguación
 Hipovolemia
 Depuración de lípidos
 Bloqueadores adrenérgicos

Ahora bien, si previamente a la primera inyección se bloquea el sistema reticulo-endotelial con thorotrast o tinta china, la primera inyección de endotoxina provoca la C.I.D. (39).

En conclusión, la coagulación intravascular diseminada se provocará en este caso por cuatro mecanismos:

- a) Bloqueo de la capacidad de depuración del sistema reticulo-endotelial
- b) Estimulación directa del F.XII por la toxina misma que se continua por su contacto con una superficie extraña y áspera a consecuencia de
- c) Lesión de las células endoteliales
- d) Por acción directa de las plaquetas

B.- Hígado. En condiciones normales una vez iniciada la coagulación algunos factores plasmáticos activados no son utilizados completamente; se han identificado el factor X y el XII mismos que son eliminados por un hígado sano (26) ; en cambio cuando su función está alterada, por ejemplo en la cirrosis hepática, se dificulta esta eliminación o clarificación, predisponiendo al organismo a desarrollar trombosis y C.I.D. por estancamiento de la sangre (14)(121).

C.- Sistema Fibrinolítico. Ya sabemos como funciona el mecanismo fibrinolítico en la prevención de la trombosis.

Cuando existen inhibidores de la fibrinolisisina en exceso, se puede desarrollar un estado de hipercoagulabilidad y predispone al individuo a desarrollar C.I.D.(82)

Experimentalmente se ha provocado la coagulación intravascular diseminada en ratas mediante la inyección intravenosa de trombina. Cuando se administró adicionalmente un inhibidor como el ácido E-amino-caproico hubo formación extensa de microtrombos. En cambio a los animales testigos en los que no se administró el inhibidor, hubo eliminación de los depósitos intravasculares de fibrina en el lapso de una hora (73)(74)(111)

Estos hallazgos demuestran con toda claridad que la fibrinolisis local en la microcirculación es un mecanismo de

defensa importante contra el depósito intravascular de fibrina.

Lo anterior no puede soslayarse y permite comprender mejor lo complejo de las manifestaciones clínicas de esta alteración de la hemostasia. Este cuadro se presenta más frecuentemente como complicación aguda de algunos de los padecimientos o situaciones clínicas mencionadas, no obstante en algunos casos sigue una evolución subaguda o crónica.

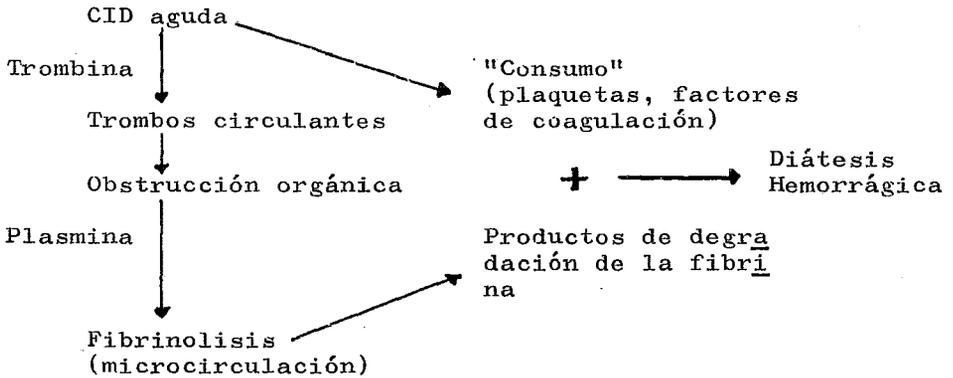
El cuadro agudo que es el más frecuentemente observado y el más dramático tiene dos etapas: una primera subclínica iniciada por un estado de hipercoagulabilidad de la sangre. En esta etapa no hay manifestaciones clínicas que la descubran, por lo que sería deseable que existieran pruebas de laboratorio suficientemente sensibles para detectarla, pero desafortunadamente no las hay (97).

Este estado continúa con el de C.I.D. que como ya se explicó inicialmente es local y al generalizarse lo hace en lechos capilares, provocando estancamiento de la sangre y disminución del pH por aumento del ácido láctico celular (1) (48). Por otra parte al ponerse en marcha el mecanismo de la coagulación en grandes sectores, ocurren dos situaciones: a) algunos factores plasmáticos son utilizados y consumidos con mayor rapidez de lo que pudieran ser repuestos por el hígado principalmente. b) el mecanismo fibrinolítico es acti

vado iniciándose la fibrinólisis fisiológica (72). Ver cuadro IV.

CUADRO IV

SECUENCIA DE LOS SUCESOS DE LA COAGULACION DURANTE LA C.I.D. GRAVE (72)

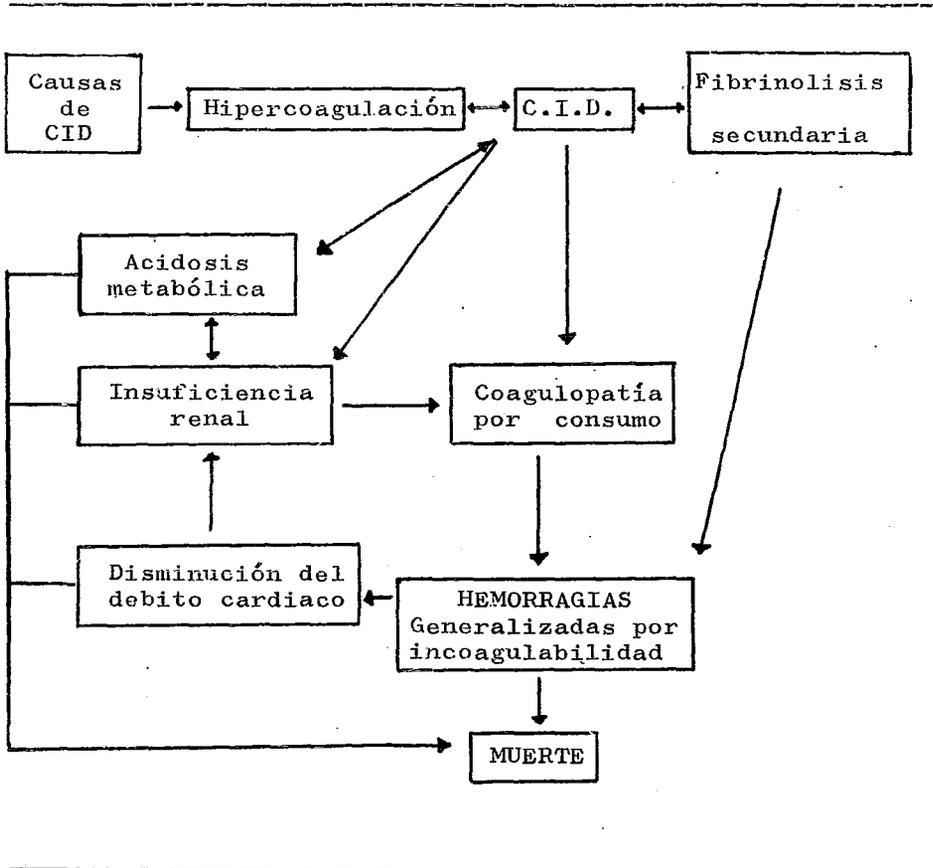


En esta segunda etapa cuando la complicación se vuelve visible, es cuando aparecen hemorragias provocadas por hipocoagulabilidad causada a su vez por el consumo excesivo de los factores de la coagulación. Se agrega al cuadro, hipertensión inicial y estado de choque, tanto por hipovolemia consecutiva a la hemorragia, como por la activación anormal del sistema de bradicininas a consecuencia de la activación del Factor XII (59) y del estancamiento, y obstrucción de la microcirculación por trombos múltiples (97).

Ocasionalmente esta etapa es transitoria, porque la causa que la provocó puede ser fugaz o autolimitada o porque los mecanismos compensatorios de depuración del organismo son suficientes para conservar la hemostasia fisiológica (6)(101).

En otros casos la gravedad va en aumento porque persiste la causa que la provocó o por las malas condiciones del enfermo. El cuadro se agrava más cuando a consecuencia de la formación de múltiples trombos capilares se obstruye el riñón provocándose retención de productos nitrogenados en la sangre, acidosis metabólica, situación que retroalimenta a la C.I.D., deshidratación y choque. En el cuadro V se puede apreciar la secuela de las complicaciones. En contraste con el cuadro agudo, la coagulación intravascular diseminada subaguda o crónica generalmente cursa con pocos síntomas o asintomática toda vez que aquí las alteraciones de la coagulación con frecuencia son menores. El cuadro clínico dominante es el de la enfermedad principal (97).

CUADRO V



Fisiopatología de la C.I.D. (29)

Por esta razón, en algunos enfermos la coagulación intravascular diseminada puede pasar inadvertida y aún las alteraciones de laboratorio son difíciles de demostrar (43)

La capacidad para sintetizar los factores de la coagulación puede compensar y en ocasiones hasta sobrepasar su consumo (114) . por lo que las pruebas de coagulación resultan poco alteradas o normales e incluso algunos factores como el VIII y las plaquetas, pueden estar aumentados por lo que a este cuadro se le ha denominado hiperactivo o sobrecompensado (92)(95)

ESTUDIOS DE LABORATORIO

Como se puede apreciar, el cuadro clínico de la coagulación intravascular diseminada es complejo y muy dinámico ya que suceden cambios que van de hiper a hipocoagulación de la sangre en lapsos muy breves.

Sería muy útil que los estudios de laboratorio pudieran dilucidar las distintas etapas de la evolución del cuadro no obstante, no hay pruebas específicas para establecer un diagnóstico certero por el laboratorio (97).

A mayor abundamiento, el cuadro de la fibrinolisis primaria que consiste en la activación anormal del plasminógeno, y en su acción proteolítica sobre el fibrinógeno desarrolla manifestaciones clínicas muy parecidas al cuadro de C.I.D. Por tal razón sería deseable encontrar pruebas que permitieran hacer la diferenciación de estos dos cuadros.

Numerosos intentos se han realizado a fin de alcanzar este objetivo, no obstante, las pruebas que se realizan, aunque permiten confirmar las sospechas clínicas de alteración en la hemostasia, no así el tipo de alteración con certeza, pues debido precisamente a los cambios hemodinámicos que se suceden durante la evolución del cuadro, van modificándose los componentes y su funcionamiento, por ejemplo las plaquetas y el fibrinógeno que en un principio es-

tán normales y aún eventualmente pueden estar aumentadas (57), durante el desarrollo de la complicación van disminuyendo (72).

Precisamente por tal situación de cambios, desde el punto de vista clínico como ya se ha indicado, es imperativo recordar las etapas clínicas del cuadro y en razón de esta división se podrán interpretar más eficientemente los resultados de las pruebas de hemostasia realizadas.

Las pruebas a realizar se deben apoyar en el conocimiento de la patogenia del síndrome. Tomando en cuenta lo rápido de los cambios que se producen, deben reunir óptimamente tres requisitos, como ser de fácil realización, proporcionar resultados confiables y en un tiempo breve.

La investigación de la coagulación se puede hacer mediante las llamadas tres "T".

- Tiempo de protrombina (TP)
- Tiempo de tromboplastina parcial (TTP)
- Tiempo de trombina(TT).

Es útil aunque no indispensable la cuantificación del fibrinógeno (únicamente cuando es posible realizar una técnica rápida).

Las alteraciones plaquetarias se podrán investigar a través de:

- Cuenta de plaquetas
- Observación directa en el frotis de S.P.
- Tiempo de retracción del coágulo*

* Esta prueba por ser tardada prácticamente no debe realizarse en estos casos.

El síndrome mismo de coagulación intravascular diseminada a través de la búsqueda de monómeros de fibrina resultantes de la acción de la trombina sobre el fibrinógeno (PDF).

- La investigación de productos líticos resultantes de la actividad fibrinolítica sobre la fibrina (pdf).
- Búsqueda de eritrocitos fragmentados

La actividad fibrinolítica secundaria a la C.I.D. por medio de:

- Lisis de euglobulinas
- Tiempo de trombina seriado (18) :

Otras investigaciones tales como cuantificación de la actividad de factores plasmáticos de la coagulación, identificación de PDF y/o pdf por técnicas más sofisticadas como contra-inmunolectroforesis, demostración de criofibrinógeno, cuantificación de plasmina y plasminógeno(61)etc. son pruebas que aunque pueden realizarse requieren de equipo más seleccionado y no reúnen los tres requisitos indicados con anterioridad (42)(51)

Cuando se trata de hacer un trabajo de investigación esas y otras pruebas pueden hacerse de acuerdo a un protocolo preestablecido, pero para hacer el diagnóstico de un cuadro de C.I.D., con las mencionadas basta.

El cuadro VI reúne algunas pruebas que han sido sugeridas como las que con más frecuencia sufren alteraciones y pueden ayudar a establecer un diagnóstico diferencial en

tre C.I.D. y fibrinolisis primaria (97).

CUADRO VI

DIAGNOSTICO DIFERENCIAL ENTRE FIBRINOLISIS PRIMARIA
Y SECUNDARIA (97)

	Fibrinolisis primaria	Fibrinolisis secundaria(C.I.D)
1. CLINICA		
Etiología	Casi exclusivamente en cirróticos y a veces en prostatactomizados	Múltiple
Frecuencia	Raro	Frecuente
2. LABORATORIO		
Plaquetas	Siempre normales	Siempre bajas (cinética)
Lisis de euglo bulinas	Siempre (+)	Generalmente(-)
Fragmentación eritrocítica	Siempre (-)	A veces presen te

El resto de los exámenes de laboratorio son inespecíficos porque pueden estar alterados indistintamente en uno u otro síndrome, según su gravedad.

Al examinar los resultados se puede comprobar lo indicado anteriormente, es decir, la poca especificidad de la mayoría de las pruebas y la inespecificidad de otras.

A propósito de las llamadas pruebas de la paracoagulación y de los productos líticos de la fibrina:

Quando clínicamente por las pruebas de hemostasia indicadas se orienta el diagnóstico hacia una C.I.D. como ya se indicó, el paso siguiente es la búsqueda de PDF y/o pdf, de

las cuales se han realizado numerosos intentos a través del tiempo para demostrarlas, desafortunadamente con resultados poco satisfactorios principalmente porque dichos fragmentos son muy efímeros. No obstante estos intentos han llevado al establecimiento de pruebas con los más diversos principios(85)

Los cuatro fragmentos más importantes de los productos de degradación de la fibrina-fibrinógeno (X,Y,D y E), tienen un determinante antigénico en común con el del fibrinógeno de suero antihumano como anticuerpo, pueden aplicarse una gran variedad de pruebas inmunológicas para la identificación de los productos de degradación de la fibrina y fibrinógeno (70). Entre otros cabe citar la prueba Fi que emplea partículas de latex (21), las de floculación (34) e inmunodifusión, inmunolectroforesis y la inmunológica de la inhibición de la hemaglutinación de eritrocitos tanizados (77). Los fragmentos más voluminosos (X,Y y D) pueden producir así mismo aglutinación de la cepa de Newman DC₂ de un staphylococcus aureus coagulasa-negativa. Una técnica de aglutinación de estafilococos puede proporcionar una prueba cuantitativa rápida que identifique los PDF (52)

En presencia de etanol o de sulfato de protamina los fragmentos más voluminosos de los productos de degradación del fibrinógeno pueden experimentar formación de un gel o

de tiras de fibrina. A este fenómeno se le conoce como paracoagulación y constituye la base de la prueba de gelación del etanol (16). de la de paracoagulación con sulfato de protamina : (107). ; sin embargo, los fragmentos más pequeños no experimentan para-coagulación. Frecuentemente en casos de coagulación intravascular diseminada los PDF y pdf se desintegran en fragmentos pequeños por lo que dichas pruebas pueden resultar negativas.

Niewiarowski y Gurewich creen que los fragmentos provenientes de la degradación del fibrinógeno en el curso de una fibrinolisis primaria se encuentran desintegrados en fragmentos pequeños, por lo cual las pruebas de paracoagulación resultarían negativas, y en cambio los provenientes de fibrina degradada por ser mayores darán positivas las pruebas (87)(105)

Recientemente Marder y cols. comparando seis métodos diferentes para la investigación de PDF y productos líticos se pronuncian a favor de la prueba de Merskey para detectar fragmentos X y Y; sin embargo reconocen que en los casos agudos del síndrome, siguen siendo más recomendables por su sencillez y rapidez las pruebas de floculación.

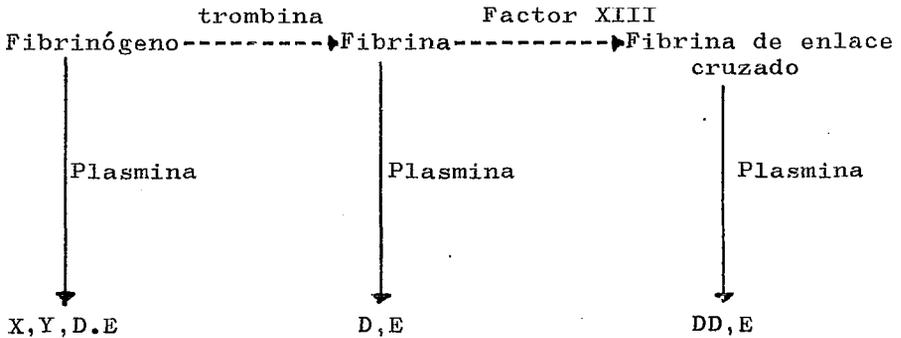
Otros investigadores compararon cuatro pruebas: --aglutinación de estafilococos, --Merskey, --Fi e --Inmunodifusión y concluyeron que en enfermos con coagulación intravascular diseminada hubo buena correlación en tres

pruebas: Aglutinación de estafilococos, Merskey y aglutinación de partículas de latex (Fi) (116)

Como ya se indicó, en ocasiones es un problema la distinción entre C.I.D. y la fibrinolisis primaria, debido a que los PDF y pdf son bastantes similares en su estructura y función. En el cuadro VII tomado de Marder (72) se puede apreciar esquemáticamente la variación en la estructura molecular de los productos de degradación plasmáticos dependiendo de los cambios producidos en el sustrato de fibrinógeno por la acción enzimática de la trombina y el factor XIII.

En la fibrinogenolisis la plasmina degrada al fibrinógeno plasmático hasta los productos de degradación X, Y, D y E. Por otra parte en la C.I.D. el fibrinógeno es coagulado por la trombina para formar fibrina siendo estabilizado por el factor XIII por medio de enlaces cruzados. La acción de la plasmina sobre la fibrina que sufrió la reacción cruzada, da como resultado un producto de degradación llamado dímero D o fragmento DD. Actualmente se llevan a cabo pruebas para distinguir el fragmento DD de otros productos de degradación, ya que tendría una gran ventaja en la diferenciación entre una fibrinolisis primaria y una coagulación intravascular diseminada (65)(72)

CUADRO VII



Los productos de degradación plasmáticos varían en su estructura molecular, lo que depende de los cambios producidos en el sustrato del fibrinógeno por la acción enzimática de la trombina y el factor XIII. El cambio más importante es la formación de una D doble o forma del dímero D, de la fibrina de enlace cruzado que no tiene su contraparte en los productos de degradación del fibrinógeno o fibrina sin enlace cruzado. La identificación específica de esta mitad DD en la sangre del paciente confirmaría que la fibrina de enlace cruzado ha sido degradada, y esto indicaría que se ha producido coagulación intra o extravascular. (72).

En relación con el control del manejo terapéutico, en esta revisión únicamente describiremos las pruebas que el clínico considera de utilidad para conocer las modificaciones del síndrome durante el tratamiento.

Así por ejemplo, cuando el enfermo es anticoagulado con heparina, es indispensable disponer de un servicio de

laboratorio adecuado durante las 24 horas. Pizzuto y cols. recomiendan un control individual realizando en cada caso una "curva de requerimientos de heparina", procedimiento que consiste en efectuar cuantificaciones de tiempo de trombina (TT) del plasma del enfermo sin diluir y después de diluirlo con plasma normal en proporciones 1:2, 1:4 y 1:8.

Los resultados que proporciona el método, según sus autores han sido de gran utilidad clínica, tanto por su rapidez como por su exactitud y reproductividad y sobre todo porque se puede practicar a cualquier hora, aún por personal no muy especializado en los procedimientos del laboratorio respecto a la hemostasia (96).

La prueba más comunmente utilizada para este control es y sigue siendo el tiempo de coagulación de Lee White o: el tiempo de tromboplastina parcial activado del plasma y de la sangre total (62)(68)(99)(100).

CAPITULO III

DIVERSOS METODOS DE INVESTIGACION DE PRODUCTOS LITICOS O DE DEGRADACION DE LA FIBRINA

A.- GELIFICACION DEL ETANOL

(Método de Breen - Tullis)

Este método fué publicado en 1968 y luego modificado en 1969. Está basado en el conocimiento de que los pdf y PDF se precipitan en presencia de etanol al 50% formando un gel o un precipitado grueso (Tullis). De todas las pruebas utilizadas esta es la más sencilla y rápida. Inicialmente sus autores pensaron haber descubierto la prueba ideal, toda vez que detectaba pdf en aquellos casos de C.I.D. (40)(18)

Equipo:

Tubos de coagulación

Pipetas graduadas

Baño de agua a temperatura constante: 37°

Cronómetro

Centrífuga

Reactivos:

Citrato de sodio 0.1 M

Trasylo1 (5000 U/ml)

Alcohol al 50%

Método:

Para 4.0 ml de sangre necesaria para la prueba se usa 0.4 ml de citrato de sodio 0.1 M adicionado de 0.025 de trasylo1 (5000 U/ml). Se centrifuga la sangre para obtener plasma sin plaquetas.

- 1) Se coloca en un tubo 0.5 ml de plasma pobre en plaquetas.
- 2) Se añaden 0.22 ml de etanol al 50% y se mezcla con suavidad.
- 3) La mezcla se deja estar 10 min. a la temperatura ambiente y luego se coloca 10 min. en baño de agua a 37°C.

Interpretación de los resultados:

La aparición de gel o fibras significa resultado positivo, que se expresa por Cruces:

+++ gel

++ fibras gruesas

+ fibras finas

De 128 normales pertenecientes al banco de dadores de sangre, hubo 2 casos positivos. En pacientes con cierta frecuencia se observa que la positividad obtenida a T.A. desa

parece cuando se coloca el tubo a 37°C por otros diez minutos.

Se comprobó que esta diferencia se debe, en parte a los altos niveles de fibrinógeno, que afectan la prueba. Por tanto para interpretar los resultados debe tenerse en cuenta el nivel de fibrinógeno.

Considerando lo expuesto, se resta valor a la prueba positiva que se negativiza a 37°C.

B.- DETERMINACION DE LOS PRODUCTOS DE DEGRADACION DEL FIBRINOGENO.

(Método de inhibición de la aglutinación de eritrocitos.) (77)

Cuando un suero anti-fibrinógeno es añadido a eritrocitos tanados sensibilizados con fibrinógeno, los anticuerpos se unirán al fibrinógeno en la membrana de los hematíes y consecuentemente estos se aglutinarán. Los productos de degradación de fibrinógeno/fibrina tienen una afinidad igual para el anticuerpo y si están presentes se producirá un fenómeno competitivo con el fibrinógeno. Por lo tanto, esta prueba detecta la cantidad de productos de degradación por el grado de inhibición de la aglutinación de los hematíes.

Equipos:

Placa para grupos sanguíneos transparentes (Perspex) con excavaciones redondas de 1.6 mm de diámetro por 1.6 mm de profundidad.

Pipetas de 0.1-0.2 ml calibradas de modo que una gota equivalga a 0.025 ml.

Tubos de ensayo de 12 x 75 mm.

Tubos de centrifuga de 50 ml de capacidad.

Incubadora a 37°C.

Agitador magnético.

Centrífuga.

Reloj.

Reactivos:

-Buffer fosfato-salino pH 6.4 (1 vol. buffer fosfato 0.15 M + 1 vol. salina normal)

-Buffer fosfato-citrato pH 6.4 (1 vol. buffer fosfato 0.15 M + 1 vol. citrato de sodio 0.1 M).

-Antisuero al fibrinógeno humano diluido en buffer fosfato-citrato

-Albúmina sérica humana USP o albúmina sérica bovina.

-Standard de plasma normal citratado (Pool) conteniendo 50 Uds de Trasylol/ml (almacenar a menos 20°C en pequeñas cantidades).

-Hematíes grupo O (ACD), pueden ser guardados dos o tres días a 4°C en solución ACD antes de la sensibilización.

-Muestra a investigar: Se obtiene suero añadiendo 1 volumen de una mezcla de ácido epsilon-aminocaproico 0.1 M, Sol. salina isotónica, Cloruro de calcio 0.0025 M a la cual se añade trombina bovina 50 Uds/ml a 1 volumen de plasma citratado, se mantiene a temperatura ambiente por 30 minutos. Se elimina la fibrina y se centrifuga la muestra a 5 000 g por 10 minutos.

Sensibilización de los Hematíes:

- 1) Lavar las células tres veces en 20 vol. con buffer fosfato-salina.
- 2) Mezclar volúmenes iguales de una suspensión de células al 2% (en buffer fosfato-salina) y una dilución al 1/20 000 de ácido tánico fresca.
- 3) Incubar 30 minutos a temperatura ambiente mezclando suavemente y constantemente con un agitador magnético.
- 4) Lavar las células tres veces en 20 vol. de buffer fosfato-citrato para eliminar el ácido tánico.
- 5) Sensibilizar las células por incubación de volúmenes iguales de suspensión al 4% de células en buffer fosfa-

to-citrato y plasma normal citratado a una dilución 1 en 250 en el mismo buffer, durante una hora a 37°C con mezcla ocasional.

- 6) Sensibilizar células control del mismo modo con suero normal tratado con trombina en vez de plasma. Ellas no deben aglutinar con el antisuero.
- 7) Para almacenar a 4°C suspender las células al 4% en buffer fosfato-citrato conteniendo albúmina sérica al 0.25% y azidasódica al 0.1%. Antes de utilizarlas lavar una vez las células y resuspenderlas en buffer fosfato-citrato.

Método:

Muestras diluidas para asegurar una concentración de proteínas relativamente constante.

Se utiliza buffer fosfato-citrato conteniendo albúmina sérica bovina al 2% para todas las diluciones excepto las dos diluciones dobles iniciales del suero sin diluir las cuales son preparadas con buffer fosfato-citrato sin adicionarle albúmina.

Determinación de la concentración del antisuero que va a ser utilizado.

-- Se preparan diluciones dobles de antisuero (vol. 0.1 ml) en buffer citrato que contiene albúmina sérica bovina al 2%; en una placa de grupo sanguíneo se añade 0.1 ml de buffer y una gota (0.025 ml) de células tratadas con plasma en cada excavación. La concentración del antisuero usada en la prueba debe ser 1-2 diluciones dobles menor que la mayor dilución del antisuero que da una buena aglutinación en 15 minutos.

Ejemplo: Si una dilución al 1 en 20 000 produce una buena aglutinación debe usarse una dilución al 1 en 5 000 en la prueba.

- Se preparan diluciones del plasma normal standard en las excavaciones de la placa para grupos sanguíneos. Las diluciones deben tener un rango de 1 en 50 hasta alrededor de 1 en 25 000.
- Se preparan diluciones similares con la muestra a investigar. Las diluciones iniciales dependerán de la concentración esperada del antígeno.
- Se añade un volumen de antisuero a cada excavación (ha bitualmente la dilución de antisuero utilizada es 1:2 000)

Se mantiene la mezcla antígeno-anticuerpo durante 30 min. a 4°C. Se añade una gota (0.025 ml) de células tra tadas con plasma a cada excavación; se mezcla suavemente y se deja a temperatura ambiente.
- Los resultados se leen a los 30 minutos. El punto final se determina por la última excavación en la cual la aglutinación ha sido inhibida por examen macroscópico.
- La inhibición producida por la dilución de una muestra desconocida se compara directamente con la del plasma, dando el resultado inmediatamente.

Interpretación:

Un plasma normal standard en una dilución al 1:6 400 gene-

ralmente inhibe la aglutinación.

Si el plasma contiene 320 mg % de fibrinógeno, la dilución contiene:

$$320 \times \frac{1000}{100} \times \frac{1}{6400} \text{ ug/ml} = 0.5 \text{ ug/ml}$$

Si la muestra desconocida produce una inhibición similar en una dilución al 1:50, contendrá:

$$50 \times 0.5 \text{ ug/ml} = 25 \text{ ug/ml de productos de degradación del fibrinógeno o fibrina}$$

Cifra normal: Hasta 10 ug/ml.

Bibliografía:

Merskey, C., Lalezari, P., and Johnson, A. J.: A rapid, simple, sensitive method for measuring fibrinolytic split products in human serum. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 131:871, 1969.

C.- DETERMINACION DE LOS PRODUCTOS DE DEGRADACION DEL FIBRINOGENO

(Método de aglutinación de estafilococos) (77)(93).

Equipo:

- 1) Policubetas de por lo menos 3 mm de profundidad
- 2) Pipeta automática con puntas descartables de 0.1 ml
- 3) Centrífuga
- 4) Tubos de coagulación
- 5) Pipetas Pasteur.

Material:

- 1) Medio de cultivo: Corazón-Cerebro (Difco)
- 2) Cepa de *Stafilococos aureus* Newman D2C coagulasa negativa. (Se puede adquirir cultivo liofilizado de *Stafilococos aureus* Newman D2C en American Type-Culture Collection - 12301 Parklawn Drive, Rockville, Maryland 20852, U.S.A.)

-Procedimiento para la preparación de *Stafilococos Newman D2C*: Sembrar en agar (pico de flauta) un grueso inóculo de estafilococos. Incubar a 37°C durante 18 horas. Luego llenar el tubo con bastante cantidad de aceite mineral es téril para cubrir la superficie (pico de flauta) para reprimir de esta manera el crecimiento. Guardar a temperatu ra ambiente.

El cultivo puede permanecer así por lo menos un año.

Se hacen resiembras de este cultivo cada vez que se nece-
site.

Hacer también resiembras en placas con agar sangre para asegurar la existencia y pureza del cultivo.

Preparación de una suspensión de estafilococos en medio de cultivo (corazón-cerebro). Se preparan 5 litros del medio de cultivo Corazón-Cerebro, distribuirlos en frascos (500 ml/frasco) y esterilizar en autoclave.

Sembrar luego en cada frasco 2 ml. de la suspensión de estafilococos e incubar en estufa de cultivo a 37°C durante 18 horas, con agitación (90 rpm).

Después de 18 horas de incubación se centrifugan los frascos a 2 000 rpm durante 10 min.

Descartar el sobrenadante y resuspender el sedimento en NaCl 0.145 M (4,1 gramos de NaCl en 1 litro de agua destilada estéril)

Posteriormente se inactivan los estafilococos a 70°C en Baño María durante 90 minutos o a 56°C durante 3 horas.

Después de la inactivación tomar una pequeña cantidad del material y sembrar en placa conteniendo agar sangre; esto es para el control de esterilidad.

El control de esterilidad se realiza por una coloración de Gram. Si se logró la inactivación de los estafilococos, cen trifugarlos a 2 000 rpm durante 10 minutos y descartar el sobrenadante.

Volver a resuspender los estafilococos inactivos en 0,145 M NaCl y centrifugar a 2 000 rpm durante 10 minutos. Repetir este procedimiento usando agua destilada estéril.

Después de un segundo lavado con agua destilada estéril re suspender los estafilococos en una pequeña cantidad de agua destilada estéril (usar la cantidad justa para suspen der las bacterias).

Inmediatamente hacer la extensión en capa fina. Luego liofilizar el material y guardar a 4°C.

Si la liofilización no se realiza inmediatamente después de haber hecho la extensión, se debe guardar el material en cámara fría a 70°C.

Es fundamental, para obtener lotes de *Estafilococos* con actividad aglutinante, cumplir todas las etapas de la metodología en el menor tiempo posible.

Se debe conseguir la inactivación de los estafilococos en

un solo calentamiento y también es importante hacer previo a la liofilización, un shell de capa muy fina, porque de otra manera cambia el estado físico del polvo, su solubilidad y con ello la habilidad aglutinante.

La técnica para obtener estafilococos es la descrita por Hawiger.

3) Buffer:

--Imidazol-buffer: 0.34 % Imidazol en NaCl 0.58 %, pH 7.3, ajustar el pH con HCl N

--Fosfato-Citrato-Albúmina: Na₂HPO₄..... 3.2 gramos
KH₂PO₄..... 7.2 gramos
Na-Citrato14.7 gramos

, Añadir 800 ml de agua destilada

Albúmina bovina 4.0 gramos

Na-Azida al 10%10.0 ml

Llevar a 1 litro con agua destilada.

4) Estandar de Fibrinógeno: (o Fibrinógeno purificado FITA).- El estandar de fibrinógeno se prepara de la siguiente manera: Se hace un pool de plasmas normales y en él se determina el contenido en fibrinógeno por el método gravimétrico, luego se diluye dicho plasma con buffer Fosfato-Citrato-Albúmina hasta obtener una concentración de fibrinógeno de 10 ug/ml. Dividir en alícuotas (2.5 ml) y guardar a 20°C.

5) Trombina

6) Trasylol (25.000 UIC)

Procedimiento:

La Sangre se recibe sobre trombina (0.1 ml) y Trasylol (0.1 ml) como inhibidor fibrinolítico, después se lleva a un Baño María a 37°C durante 1 hora, luego de la retracción del coágulo se centrifuga y se separa el suero, pudiendo realizarse la investigación de productos de degradación de inmediato o conservar el suero congelado para realizar la prueba más adelante.

Se pesan 140 mg del liofilizado de bacterias y se suspenden en 45 ml de Imidazol-buffer, la suspensión se usa recién preparada.

Se realiza una curva de sensibilidad colocando en cada orificio de la placa 0.1 ml de Imidazol-buffer para obtener diluciones seriadas comenzando por el estandard de fibrinógeno con 10 ug/ml.

Lo mismo se hace para las distintas muestras. Luego se añade a cada dilución 0.05 ml de la suspensión de estafilococos. Se agita la placa, si es posible con agitador mecánico y se observa a partir de los 10 minutos, usando adecuada iluminación.

Interpretación de los resultados:

Los resultados se expresan en gammas/ml de fibrinógeno equivalente.

Esta determinación tiene ventaja sobre la Prueba de la Inhibición de la aglutinación de los glóbulos rojos teñidos, en cuanto a su mayor rapidez y simplicidad.

En la pared de la célula de la mayoría de las cepas de Estafilococos aureos y especialmente en la cepa Newman D2C, coagulasa negativa, hay un factor de aglutinación (coagulasa) que hace que los estafilococos se aglutinen cuando hay: fibrinógeno, productos tempranos (X,Y) de degradación del fibrinógeno y de la fibrina (X^0 , Y) o cuando están presentes Monómeros de Fibrina (MF) provenientes de la ruptura de sus complejos solubles.

D.- PRUEBA DEL SULFATO DE PROTAMINA (106)

La prueba de precipitación por sulfato de protamina (PS) fue propuesta por primera vez por Lipinski B. para medir complejos solubles, utilizando densidad óptica o midiendo el volumen del precipitado de sangre entera.

Posteriormente fué descrita formación no enzimática de fibrina (paracoagulación) indicándose especificidad de esta prueba para detectar monómeros de fibrina y tempranos pdf. Describimos el método de Gurewich y Hutchinson. (40)

Equipo:

Tubos de coagulación
Pipetas graduadas
Centrífuga

Reactivos:

- Citrato de sodio 0.01 M
- Trasylo1 (5 000 U/ml)
Buffer Tris 0.05 M, pH 6.5. Pesar 6.057 g de Tris (hidroxi metilamino, etano) y disolver en 1 litro de agua destilada previo ajuste de pH con ácido clorhídrico N.
- Sulfato de protamina Lilly. Se utiliza solución fresca al 1%, utilizando buffer tris como diluyente. De esta solución madre se prepara cuatro diluciones con el mismo buffer 1/5, 1/10, 1/20 y 1/40 a partir de la solución madre.

Método:

Recolección de la sangre: se usa citrato de sodio 0.01 M como anticoagulante en la relación 1/10 y se añade trasylo1 en la proporción 0.062 ml (5 000 U/ml) para 10 ml de sangre. Se centrifuga para obtener un plasma pobre en plaquetas. Después de agitar con suavidad se dejan los tubos a temperaa

tura ambiente, manteniéndoles tapados. Se observan a los 30 minutos, 2 horas, y a las 2⁴ horas usando una luz directa y fondo negro.

En tubos de coagulación se colocan 0.20 ml de cada una de las diluciones y se mezcla con igual volumen de plasma en estudio.

La prueba se debe realizar antes de las 2 horas de extraída la muestra.

Interpretación de los resultados:

La aparición de un precipitado formado se informa como sigue:

g: aparición de gel
fs: Fibras
fy: precipitado plumoso
negativo: precipitado granuloso
solución clara

La prueba se considera positiva cuando hay aparición de: g, fs y fy. La positividad es franca en el caso de gel o fs débil cuando se observa fy.

Según Gurewich y col. la prueba de precipitación por SP no puede usarse para detectar complejos solubles, debido a la interferencia de fibrinógeno.

Recientemente se ha venido empleando la nefelometría con rayo laser en la cuantificación de PDF. A continuación se describe el método:

El método se basa en la producción de anticuerpos en animales, específicos para la proteína que se desea medir, y en la cuantificación posterior de la turbiedad que se origina al mezclar, en concentraciones óptimas, el suero o plasma con el antisuero correspondiente. En esta comunicación se propone una nueva técnica que, aplicando este principio, estima PDF. (88b)

Material:

Se examinaron 26 muestras de suero de sujetos de ambos sexos, clínicamente normales, cuyas edades fluctuaban entre 18 y 55 años. Se estudiaron también pacientes con diversas afecciones en quienes cabía esperar PDF elevados por padecer cirrosis, haberse sometido a cirugía del tórax, sufrido traumatismos graves, o tener coagulación intravascular diseminada. Fué estudiado así mismo un voluntario a quien se provocó un estado transitorio de hiperfibrinólisis mediante la aplicación endovenosa de ácido nicotínico.

Método:

Reactivos.-

- 1.- Trombina de 1000 U/ml. Se disuelve un frasco de trombina de 5000 U (Parke-Davis) en 5 ml de sol. salina isotónica.
- 2.- Tromboplastina comercial para determinar tiempo de protrombina.
- 3.- Acido epsilonaminocaproico al 25% ("Amicar" Lederle).
- 4.- Solución salina filtrada
- 5.- Suero antifibrinógeno. Se obtiene inyectando fibrina humana a conejos y se emplea diluido 1:7 con solución salina filtrada. En el comercio se dispone de sueros antifibrinógeno que pueden usarse con el mismo propósito.

Recolección de las muestras.

Se marca un tubo de ensayo de 13 x 70 mm a 2.66 ml y se agrega 0.05 ml de trombina, 0.05 ml de tromboplastina y 0.05 ml de ácido epsilonaminocaproico. La sangre, obtenida

con jeringa de plástico, se añade hasta la marca y se mezcla. La coagulación ocurre de inmediato. Después se centrifuga el tubo a 3000 rpm durante 5 minutos y se separa el suero para el estudio.

Elaboración de la curva de referencia.

1. Se hacen varias diluciones con solución salina filtrada de algún plasma comercial, cuya concentración de fibrinógeno sea conocida.
Cualquier plasma humano normal, al que se haya determinado fibrinógeno mediante algún procedimiento exacto, puede substituir al comercial.
2. Se numeran 8 celdas para nefelometría y, estando vacías, se toma la lectura de cada una en el nefelómetro de rayo laser anotándolas.
3. Se colocan 100 ul de cada dilución en las celdas.
4. Se les agrega a todas 200 ul de suero antifibrinógeno.
5. Se mezclan suavemente y se dejan reposar 60 minutos
6. Se hacen las lecturas en nefelómetro, anotando los valores en voltios y restando de cada una, la lectura obtenida cuando estaban vacías.
7. El valor final de cada celda se multiplica por 1000 para obtener milivoltios.
8. En papel doble logarítmico se grafica la concentración en ug/ml de fibrinógeno en cada dilución, con

el valor correspondiente en milivoltios y se traza la curva de referencia.

Técnica.

1. El suero problema se estudia sin diluir y diluido (1:2, 1:10, 1:20, 1:51 y 1:101) con salina filtrada.
2. Se numeran las celdas requeridas y se leen en el nefelómetro estando vacías.
3. Se colocan 100 ul de cada dilución de suero en dos celdas (1-1B, 2-2B, etc.). Una se usa para mezclar la con el suero anti-fibrinógeno y la otra como blanco.
4. En las primeras se ponen 200 ul de suero anti-fibrinógeno y en las usadas para blanco, 200 ul de solución salina filtrada.
5. Se mezclan suavemente y se dejan reposar 60 minutos
6. Se hace la lectura de cada dilución (problemas y blancos) restando las lecturas registradas cuando estaban vacías las celdas.
7. A las lecturas problema se les resta, además, la del blanco correspondiente y el resultado se multiplica por 1000 para obtener el valor en milivoltios.
- 8.- Con este dato se busca la concentración equivalente de PDF expresada en ul/ml de fibrinógeno en la curva de referencia.

9. Entre las diluciones del suero se escogerá el valor ubicado en la porción central de la curva de referencia.

Si bien este procedimiento ha mostrado superioridad frente a otros principalmente en cuanto a sensibilidad se refiere, aún es limitada su aplicación, pues pocas Instituciones Hospitalarias cuentan con un nefelómetro de rayo la ser.

C O M E N T A R I O S

El objetivo que nos propusimos alcanzar en la presente revisión monográfica del tema Coagulación Intravascular Diseminada, era primordialmente, revisar y explicar las distintas técnicas y procedimientos que existen para confirmar el diagnóstico clínico.

Sin embargo, pronto nos dimos cuenta de dos situaciones:

- 1a) Para entender el mecanismo de dichas pruebas de laboratorio, era necesario conocer la fisiopatología de la CID.
- 2a) La abundante información encontrada, nos obligaba a revisar el dinámico proceso de la hemostasia, mismo que gracias a las investigaciones cada vez más abundantes de que se dispone en la actualidad, permite tener una idea más completa de este complejo proceso.

Por tales razones, se consideró no solo útil, sino indispensable extender la revisión bibliográfica a estos temas.

Así, pudimos conocer mejor por ejemplo, la cinética plaquetaria, revisando desde la fina estructura de la plaqueta, hasta su fascinante mecanismo de acción tanto en -

en la hemostasia en general, como en el mecanismo de la coagulación en especial.

Por otra parte, entendimos mejor, cómo y por qué la CID es una complicación grave que se observa cada vez -- con más frecuencia, tanto en el curso de algunos padecimientos, como intoxicaciones, procesos tóxicos y shock bacterémicos, así como en situaciones normales como durante un parto, etc.

Pero lo que resulta más importante desde nuestro -- punto de vista químico, es la participación responsable en alto grado que tiene el químico clínico en el estudio de un paciente con esta complicación, participación que además de rápida, debe ser muy precisa y eficiente, pues un diagnóstico de laboratorio equivocado, puede conducir al médico tratante a un error en la aplicación de la terapéutica útil para corregir el cuadro.

La investigación cuidadosa de los productos lúcticos que aparecen en la CID, es de capital importancia para confirmar el diagnóstico clínico presuncional.

Igualmente importante, pero con mayor responsabilidad es el diagnóstico diferencial con la fibrinólisis -- primaria. Al respecto, continúan realizándose investigaciones, de tal suerte, que ya no basta con identificar -

los PDF o los pdf, sino, es menester la identificación de los distintos componentes de los mismos.

Quiero finalizar este comentario insistiendo que entre mayor sea el conocimiento y comprensión de la hemostasia, mejor será la comprensión de la CID y puesto que los estudios de laboratorio son decisivos para la confirmación del diagnóstico y para el manejo terapéutico, así como para la vigilancia de la evolución, cualquier esfuerzo que hagamos los químicos clínicos para contribuir al estudio del enfermo, redundará en beneficio del mismo y en la satisfacción de haber participado positivamente en el equipo humano de atención para la salud.

B I B L I O G R A F I A

- 1.- Abildgaard, Ch.F.: Recognition and treatment of intravascular coagulation. *Pediatrics* 74:163, 1969.
- 2.- Alkjaersig, N., Fletchet, A.P., and Sherry, S.: The mechanism of clot dissolution by plasmin. *J.Clin.Invest.*, 38:1086. 1959.
- 3.- Al-Mondhiry, H.: Disseminated intravascular coagulation Experience in a Mayor cancer center. *Thrombos. Diath. Haemorrh (Stuttg)*, 34:181, 1975.
- 4.- Bachmann, F.: Evidence of hipercoagulability in heat stroke. *J.Clin.Invest.* 46:1033, 1967.
- 5.- Beecham, J.B., Watson, W.J., and Clapp, J.F.: Eclampsia, pre-eclampsia and disseminated intravascular coagulation. *Obstet Gynecol* 43:576, '74,
- 6.- Beecham, J.B.: Association of microangiopathic hemolytic anemia with severe pre-eclampsia. *Am.J.Obstet Gynecol* 121(2):292, 15 Jan '75.
- 7.- Beller, F.K., and Uszynski, M.: Disseminated intravascular coagulation in pregnancy, *Clin.Obstet Gynecol* 17(4):250-78, Dec. '74
- 8.- Bernard, J., Lévy, J.P.: *Manual de Hematología*. 2ª edición. pag. 201 Ed. Toray-Masson, S.A. 1979.
- 9.- Bessman, J.D.: Disseminated intravascular coagulation with elevated platelet count fibrinous. *N.England Jour Medical* 299(19):1076 '79
- 10.- Biggs, R. and Denson, K.W.E.: Natural and pathological inhibitors of Blood Coagulation in Human Blood coagulation (Ed.R.Biggs), Blackwell Sc.Publications, Oxford, 133, 1972.
- 11.- Bleyl, V., Kuhn, W. and Graeff, H.: Reticuloendotheliale clearance intravascular monomere in der milz. *Thromb. Diath Haemorrh.* 22:87, 1969.
- 12.- Blomback, B.: The N-terminal disulphide Knot of human fibrinogen. *Brit. J.Haematol.*, 17:145, 1969.
- 13.- Bouhasin, J.: Purpura fulminans. *Pediatrics* 34:264, 1964.



- 14.- Braunstein, K.M.: Minimal heparin cofactor activity in disseminated intravascular coagulation and cirrhosis, *Am.J.Clin Pathol* 66(3) 488-94, Sep. '76.
- 15.- Breckenridge, and Ratnoff, O.D.: Studies on the site - of active of a circulating anticoagulant in disseminated lupus erythematosus. *Am.J.Med.*, 35:813, 1963.
- 16.- Breen, F.A., Jr., and Tullis, J.L.: Ethanol gelation. A rapid screening test for intravascular coagulation. *Annals Int. Med.* 69:1197, 1968.
- 17.- Brodsky, I., Meyer, A.N., Kahn, S.B., and Ross, E.M.: Laboratory diagnosis of disseminated intravascular coagulation. *Am.J.Clin.Path.* 50:211, 1968.
- 18.- Brodsky, I., Ross, E., and Reid, W.O.: The use of the serial thrombin time in evaluating therapy with epsilon aminocaproic acid in massive thrombolysis and proteolysis. *Am.J.Clin.Path.*, 41:589, 1964.
- 19.- Brodsky, I., and Siegel, N.H.: The diagnosis and treatment of disseminated intravascular coagulation. *Med. Clin.N.A.* 54:555, 1970.
- 20.- Broersman, R.J.; Bullemer, G.D., and Mammen, E.F.: Blood coagulation changes in hemorrhagic shock and acidosis *Thromb. Diath Haemorrh.Suppl.* 36:171, 1969.
- 21.- Castelan, D.J., Hirsch, J., and Martin, M.: Latex-Bound antifibrinogen test for plasma fibrinogen assay, *J. Clin. Path.* 21:268, 1968.
- 22.- Corrigan, J.J., Jordan, Ch.M., and Bennet, B.B.: Disseminated intravascular coagulation in septic shock Report of Three cases not treated with heparin. *Am. J.Dis.Child.*: 126-626, 1973.
- 23.- Cronlund, M.: Fibrinopeptide A in plasma of normal subjects and patients with disseminated intravascular coagulation and systemic lupus erythematosus. *J.Clin. Invest.* 58(1): 142-51, Jul '76.
- 24.- Cyr, D.P., and Mehta, V.B.: Disseminated intravascular coagulation. *Clin. Med.N.A.* 54, 301, 1970.
- 25.- Dennis, L., Eichelberger, J.W., Inman, M.M., and Conrad, M.E.: Depletion of coagulation Factors in drug-resistant plasmodium Falciparum Malaria Blood, 29:713, 1967

- 26.- Deykin, D.: The hepatic clearance of the thrombosis inducing capacity of serum. *J.Clin.Invest.*, 44:1040, 1965.
- 27.- Deykin, D., Cochios, F., De Camp, G., and Lapez, A.: Hepatic removal of activated factor X by the perfused rabbit liver. *Am.J.Physiol.*, 214:414, 1968.
- 28.- Dixon, R.E.: Disseminated intravascular coagulation: a paradox of thrombosis and hemorrhage. Significance in obstetrics and gynecology. *Obstet Gynecol Surv* 28(6): 385-95, Jan 73
- 29.- Domínguez T.J.L.: Comunicación personal. 1980.
- 30.- Erslev and Gabuzda: Pathophysiology of Blood. Second Edition. pages 157-172 W.B. Saunders Company/Philadelphia/London/Toronto, 1979
- 31.- Eurenus, K.: Letter: DIC-fibrinolysis with low anti-thrombin-heparin cofactor. *N.Engl.J.Med* 292(15):810, 10 Apr 75.
- 32.- Feinstein, D.I., Rapaport, S.I., Mc Gehee, W.G., and Patch, M.J.: Factor V anticoagulants: clinical biochemical and immunological observations. *J.Clin Invest.* 49:1578, 1970.
- 33.- Feinstein, D.I., and Rapaport, S.I.: Acquired inhibitors of blood coagulation. In *Progress in Hemostasis and Thrombosis*. Spaet, T.H.(ed) Grune and Stratton New York, 1972, p.75
- 34.- Ferreira, H.C., and Murat, L.G.: an immunological Methods for demonstratin fibrin degradation products in serum and its use in the diagnosis of fibrinolytic states. *Brit.J.Haemat.*, 9:299, 1963.
- 35.- Frick, P.G.: Acquired circulating anticoagulants in systemic "collagen disease": Autoimmune thromboplastin deficiency. *Blood*, 10:691, 1955.
- 36.- Garner, R.: The rol of complement in endotoxin shock and disseminated intravascular coagulation: experimental observation in the dog. *Br.J.Haematol* 28(3): 393-401, Nov '74
- 37.- Gaynor, E., Bouvier, C.A., and Spaet, T.H.: Circulating Endothelial cells in endotoxin-treated rabbits. *Clin Ros.*, 16:535, 1968.
- 38.- Gilabert, J.: Alteración en la coagulación y sistema fibrinolítico en embarazo, trabajo de parto... *Throm. Haemost* 40(2):387-96)ct 878.

- 39.- Good,R.A., and Thomas,L.: Studies on the generalized Shwartzman reaction. II. The production of bilateral cortical necrosis of the kidneys by a single injection of bacterial toxin in rabbits previously treated with throttrast or trypan blue. J.Exp.Med., 96:625, 1952.
- 40.- Gurewich,V.: Letter: Causes of a negative ethanol gelation test in diffuse intravascular coagulation. Thromb.Diath.Haemorrh 32(1):243-4-30 sept. '74.
- 41.- Gurewich,V.: Proceedings: The role of platelets and leukocytes in endotoxin induced disseminated intravascular coagulation (DIC). Thromb Diath.Haemorrh 34(2):603, 15 Nov. '75
- 42.- Hafter,R.: Porceedings: Estimation and characterization of soluble fibrin monomer complexes (SFMC) during endotoxin induced disseminated intravascular coagulation (DIC). Thromb.Diath.Haemorrh 34(2):585 15 Nov '75.
- 43.- Hagedorn,A.B., Bowie,E.J.W., Eleveback,L.R., and Owen Ch.A.: Coagulation abnormalities in patients with inoperable lung cancer. Mayo Clin Proc.49:647, 1974
- 44.- Ham Arthur,W.: Tratado de Histología. Sexta Edición Pags: 14, 304-13, 369-71.
- 45.- Hardaway,R.M., Mckay,D.G., Wahle,G.H., Tartock,D.E., and Eldestein,R.: Pathologic study of intravascular coagulation following incompatible blood transfusion in dogs. I. Intravenous injection of incompatible blood. Am.J.Surg. 91:24, 1956
- 46.- Hardaway,R.M., Husni,E.A., Geever,F.F., Noyes,E.H., and Burns,J.W.: Endotoxin shock. A manifestation of intravascular coagulation. ANN. Surg. 154:791, 1961.
- 47.- Hardaway,R.M.: Syndromes of Disseminated Intravascular Coagulation with special Reference to Shock and hemorrhage. Springfield. III, Charder C. Thomas,1966.
- 48.- Hardaway,R.M.: Disseminated Intravascular Coagulation in Experimental and clinical Shock. Am.J.Card. 20:161 1967.

- 49.- Hardaway, R.M., Dumke, R., Gee, T., Meyers, Ts., Joyner, J. Graf, J., Lee, D., Revels, J.: The danger of hemolysis in shock. *Ann.Surg.* 189, No.3:373, March. 1979.
- 50.- Hardisty, R.M., and Ingram, G.I.C.: *Bleeding Disorders Investigations and management* Blackwell Sc Publications. Oxford, 1965.
- 51.- Hathaway, W.E.: Cord Blood coagulation studies in infants of high-risk pregnant women. *Am.J.Obstet Gynaecol.* 121(1):51-7, Jan '75.
- 52.- Hawiger, J., Niewiarowski, Gurewich, V., and Thomas, D. P: Measurement of fibrinogen and fibrin degradation products in serum by staphylococcal clumping test. *J. Lab.Clin.Med.* 75:93, 1970.
- 53.- Hjort, P.F., and Rapaport, S.C.: The Shwartzman reaction Pathogenic mechanism and clinical manifestations *Ann. Rev. Med.*, 16;135, 1965.
- 54.- Honorato, C.R.: *Técnicas de Hemostasis y trombosis.* Grupo Cooperativo Latino Americano de Hemostasia y Trombosis (CLAHT). Cap. Mecanismo de la Hemostasia 1975.
- 55.- Ingram, G.I.C.: The bleeding complications of blood transfusion. *Transfusion* 5:1, 1965.
- 56.- Jacobsen, C.D.: Fibrinogen-fibrin related antigen pattern in human blood. Differences between plasma and serum from patients with disseminated intravascular coagulation. *Thromb.Diath.Haemorrh.* 32(2-3):266-76 31 Dec. '74.
- 57.- Jewett, J.F.: Rupture of the cecum after cesarean section. *N.Engl. J.Med.* 299:253-254, 1978.
- 58.- Kalowski, S.: Effects of intravascular clotting on the activation of the complement system The role of platelet. *Am.J.Pathol* 78(3):525-36, Mar '76.
- 59.- Kaplan, A.P., and Austin, K.F.: A proalbumin activator of prekallikrein. II. Derivators of prekallikrein from active Hageman factor by digestion with plasmin. *J.Exp.Med.* 133:696. 1971.
- 60.- Kwaan, H.C.: *Coagulación Intravascular Diseminada.* *Clin. Med.N.A. Trastórmps Je, prr^oagocps.* 177-192, Enero 1972.

- 61.- Lane, D.A.: Caracterización de fibrinógeno sérico y de fragmentos de fibrina producidos durante la C.I.D. B.J.Haematol 40(4):609-15, '78.
- 62.- Lash, H.G.: Heparin therapy of diffuse intravascular coagulation (DIC) Thromb.Diath.Haemorrh. 33(1): 107-112, 28 feb. '75.
- 63.- Leavell Thrup. Hematología Clínica. 3ª Ed. pags: 305-432 Editorial Interamericana.
- 64.- Lee, L., Prose, P.M., and Cohen, M.H.: The role of the reticuloendothelial system in diffuse low grade intravascular coagulation. Thromb.Diath.Haemorrh. Suppl 20 p. 87, 1966.
- 65.- Lerner, R.G.: The difibrination syndrome. Med.Clin. North.Am. 60(5):871-80, Sep '76
- 66.- Leroux, M.E.: Diagnosis of disseminated intravascular coagulations. Sem.Hop.Paris 50(37-38):2327-30, 20 Sep '74.
- 67.- Lohmann, E.: Proceedings: Activation of endotoxin-induced intravascular coagulation in congenitally C6--deficient rabbits. Thromb.Diath. Haemorrh 34(2):603-4, 15 Nov '75
- 68.- Mac Aulary, M.A., Frisch, C.R., and Kliensky, B.L.: Relation ship of the partial thromboplastin time to the Lee-White coagulation time. AM.J.Clin.Path. 50:403, 1968.
- 69.- Mackenzie, I.Z.: Coagulation changes during second trimester abortion induced by intra-amniotic prostaglandin E2 and hypertonic solutions. Lancet 2(7944):1066-9, Nov. 75.
- 70.- Marder, V.J., Matchett, M.O., Sherry, S.: Detection of serum fibrinogen and fibrin degradation products. Comparison of six technics using purified products and application in clinical studies. Amer.J.Med., 51:71, '71.
- 71.- Marder, V.J.: Degradation products of fibrinogen and crosslinked fibrinprojected clinical applications. Thromb.Diath.Haemorrh 32(1):49-56 '74

- 72.- Marder, V.J.: Síndromes de coagulaci3n intravascular diseminada. Porgresos recientes en Hematologia. Ciclos sobre el avance continuo de la Medicina. IMSS, p. 141 1978.
- 73.- Margaretten, W., Zunker, H.O., and Mckay, D.G.: Production of the generalized shwartzman reaction in pregnant rats by intravenous infusion of thrombin. Lab. Invest. 13:552, 1964.
- 74.- Margaretten, W., Cravossy, I., and Mckay, D.G.: Ann electron microscopic study of thrombin-induced disseminated intravascular coagulation. Blood 29:169, 1967.
- 75.- Mckay, D.G.: Hematologic evidence of disseminated intravascular coagulation in eclampsia. Obstet gynecol surv. 27(6):399-417 '72.
- 76.- Merskey, C., Johnson, A.J., Kliner, G.J., and Wohl, H.: The defibrination syndrome: clinical features and laboratory diagnosis. Brit. J. Haemat. 13:528, 1967.
- 77.- Merskey, C., Lalezari, P., and Johnson, A.J.: A rapid, simple, sensitive method for measuring fibrinolytic split products in human serum. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 131:871, 1969.
- 78.- Mills, D.C.B., Robb, I.A., and Roberts, G.C.K.: The release of nucleotides, 5-hidrxytryptamine and enzymes from human blood platelets during aggregation. J. Physiol., 195:715, 1968.
- 79.- Minna, J.D., Robboy, S.J., and Colman R.W.: Disseminated intravascular coagulation in man. Charles C. Thomas. Springfield. Illinois, p.3, '74.
- 80.- Mitterstieler, G.: Consumption coagulopathy and isolated platelet deficiency in childhood septicaemia. Dtsch. Med. Wochenschr. 100(8):342-6, 351-5, Feb. '75.
- 81.- Moncada, S., Gryglewski, S., Bunting, S., and Vane, J.R. An enzyme isolated from arteries transforms prostaglandin endoperoxides to an unstable substance that inhibits platelet aggregation. Nature 263-663, '76.
- 82.- Moriau, M.: Comparative effects of proteinase inhibitors, plasminogen antiactivators, heparin and acetylsalicylic acid on the experimental disseminated intravascular coagulation induced by thrombin. Thromb. Diath. Hemorrh. 32(1):171-38 Sep '74

- 83.- Moriau, M.: Effects of alpha and beta receptor stimulating and blocking agents on experimental disseminated intravascular coagulation. *Thromb. Diath. Haemorrh* 32(1):157-70, Sep '74
- 84.- Müller Berghaus, G.: Pathophysiology of disseminated Intravascular coagulation. *Thromb. Diath. Haemorrh.* (Stuttg) Suppl. 36:45, 1969.
- 85.- Müller Berghaus, G.: The role of complement in endotoxin-induced disseminated intravascular coagulation: studies in congenitally C6-deficient rabbits. *Br. J. Haematol* 28(3):403-18, Nov. '74
- 86.- Mustard and Packham: factors affecting platelet function. Adhesion, release and aggregation. *Pharmacol Revs.* 22:97, 1970.
- 87.- Niewiarowski, S., and Gurewich, V.: Laboratory identification of intravascular coagulation. The serial dilution protamine sulfate test for the detection of fibrin monomer and fibrin degradation products., *J. Lab Clin. Med.* 77:665, 1971.
- 88.- Nossel, H.L.: Radioimmunoassay of fibrinopeptides in relation to intravascular coagulation and thrombosis. *N. Engl. J. Med* 295(8):428-32 Aug 76.
- 89.- Oski and Naiman.: Hematologic problems in the newborn. Sec. Ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia, London. Toronto, 1972.
- 90.- Owen, C.A.: Letter: Effect of induced chronic intravascular coagulation on plasminogen activator in dogs. *Thromb Diath Haemorrh*, 34(1):309-11 Sept. 75
- 91.- Owen, C.A. Jr.: Effect of heparin on chronically induced intravascular coagulation in dogs, *am. J. Physiol* 229(2):449-54, Aug 75.
- 92.- Pareti, P.: Proceedings: Acquired storage pool deficiency in platelets during DOC, *Thromb. Diath. Haemorrh* 34(1):361, Sep 75
- 93.- Pavlovsky miguel.: Técnicas de Hemostasia y Trombosis. Grupo Cooperativo Latino-Americano de Hemostasia y Trombosis. Cap. I. Evolución de los conocimientos sobre la hemifasia (CLAHT) 1975.
- 94.- Payne, R.W., and Harris, M.C.: Factor VIII inhibitors: acquired haemostatic defect in a non haemofiliac patient with rheumatoid arthritis. *Scott. Med. J.*, 17:310, 1972.

- 95.- Pizzuto, J.: Coagulación intravascular diseminada.V. Tratamiento. Actualidades Médicas y Quirúrgicas.XII. Jornadas Médicas Nacionales, Puebla,Pue. Ac.Nal.Med. 1971, México,D.F. p.220
- 96.- Pizzuto, J., Reyna, M.P., Valdez, R. y García Méndez, S.: Un nuevo método en el control terapéutico de la heparina. Segundo Seminario de Hematología en el IMSS y primera reunión del grupo cooperativo Latinoamericano de Hemostasis. Julio de 1975, México, D.F. p.85
- 97.- Pizzuto, Ch.J., Valdez, R., Morales, P.M.R., Reyna, M. de la P.: Síndrome de Coagulación intravascular diseminada. Anuario de actualización en Medicina. IMSS. IX.: Fasc.25, 189, 1977.
- 98.- Rabiner, S.F., and Friedman, L.H.: The role of intravascular haemolysis and the reticuloendothelial system in the production of a hypercoagulable state. Brit. J. Haemat. 14:105, 1968.
- 99.- Ray, P.K., and Harper, T.A.: Comparison of activated recalcification and partial thromboplastin test as controls of heparin therapy. J.Lab. & Clin Med. 77:901, 1971.
- 100- Reno, J.W., Rotman, M., Grombine, F.C., Dennis, L.H., and Mohler, E.R.: Evaluation of BART test (a modification of the whole-blood activated recalcification time test) as a means of monitoring heparin therapy. J.Clin Path. 61:78, 1974.
- 101- Rodríguez-Erdmann, F.: Treatment of the shwartzman reaction. N.Engl.J.Med., 271:632, 1964.
- 102- Rodríguez-Erdmann, F.: Bleeding due to increased intravascular blood coagulation. New.Engl.J.Med., 273:1370, 1965.
- 103- Rubio, T., Riley, H.D., Nida, J.R., Brooksaler, F., and Nelson, J.D.: Thrombocytopenia in Rocky Mountain spotted Fever. Am.J.Dis.Child., 116:88, 1968.
- 104- Ruiz, R.G.: Agrupación Mexicana para el estudio de la hematología, A.C. XX Jornada Anual. Mérida, Yucatán. Nov. 1979.
- 105- Sallio Bruno, F.: The protamine sulfate serial dilution test in a sample of newborn infants. Minerva Pdeiatrics 27(39): 2183-7 Dec '75

- 106.- Seaman, A.J.: The recognition of intravascular clotting. The plasma protamine paracoagulation test. Arch. Int. Med. 125:1016, 1970.
- 107.- Seegers, W.H., Sakuragawa, N., McCoy, L.E., Sedensky, J.A. Dombrose, F.A.: Prothrombin activation: AcGlobulin, Lipid, Platelet membrane and Autoprothrombin C (Factor Xa) Requirements thrombosis Res. 1:293, 1972.
- 108.- Sheehy, T.W.: Letter: disseminated intravascular coagulation and severe falciparum malaria. Lancet 1 (7905):516 Mar '75
- 109.- Sherry, S.: Fibrinolysis, Ann.Rev.Med., 19:247, 1968.
- 110.- Sohal, R.S., Sun, S.C., Colcolough, N.L. and Butch, G.E.: Heat stroke. An electron microscopic study of endothelial cell damage and disseminated intravascular coagulation. Arch.Int.Med., 122:43, 1968.
- 111.- Spaet, T.H., Morewitz, H.I., Zucker-Franklin, D., Cinton, J., and Biezenski, J.J.: Reticuloendothelial clearance of blood thromboplastin by rats. Blood 17:196, 1961.
- 112.- Spaet, T.H., and Sucker, M.B.: Mechanism of platelets plug formation and role of adenosin diphosphate, Amer. J.Physiol 206:1267, 1964.
- 113.- Stafford, J.L.: Fibrinolysis and intrinsic Haemostasis. Brit.Med.Bull 20(3)179-84, '64
- 114.- Sun, N.C.J., Bowie, L.J.W., Kazmier, F.J., Elveback, L.R., and Owen, Ch.A.: Blood coagulation studies in patients with cancer. Mayo Clin.Proc.49:636, 1974
- 115.- Sun, N.C.: Effect of induced chronic intravascular coagulation on plasminogen activator in dogs. Thromb.Diath.Haemorrh 32(1):189-202, Sep '74
- 116.- Thomas, D.P., Niewiarowski, S., Myers, A.R., Bloch, K.J. and Colman, R.W.: A comparative study of four methods for detecting fibrinogen degradation products in patients with various diseases. New Engl.J.Med. 283: 664, sep 1970.
- 117.- Tomikawa, M.: Patho-physiological studies on lactic acid-induced pulmonary thrombosis in rat. I. Effect of heparin, acetylsalicylic acid, urokinase and tranexamic acid. Thromb. Diath.Haemorrh 34(1):145-58, sep. '75

- 118.- Van Royen, E.A.: Hypertonic saline induced abortion as pathophysiologic model of low grade intravascular coagulation. *Scand.J.Haematol* 13(3):166-74, 1974.
- 119.- Warren, B.A.: Fibrinolytic activity of Vascular Endothelium. *Brit.Med.Bull.* 20(3):213-15, 1954.
- 120.- Watanabe, K: Pruebas de precipitación con Ristocetin: Una nueva prueba simple para detectar monómeros de fibrina y degradación de productos de fibrina. *AM.J.Clin.Pat.* 70(4):691-6, Oct '78
- 121.- Wessler, S: Studies in intravascular coagulation III. The pathogenesis of serum-induced venous thrombosis. *J.Clin.Invest.* 34:647, 1955.
- 122.- Whitaker, A.N., Mokay, D.G., and Csavossy, I.: Studies of catecholamine shock. I. Disseminated intravascular coagulation. *Am.J.Path.*, 56:153, 1969.
- 123.- Wilner, G.D., Nossel, H.L., and Leroy, E.C.: Activation of Hageman factor by collagen. *J.Clin.Invest.*, 47:2608, 1968.

ESTE TRABAJO SE IMPRIMO EN LOS TALLERES
GRAFICOS DE GUADARRAMA IMPRESORES, S. A.
AV. CUAUHTEMOC 1201, COL. VERTIZ NARVARTE
MEXICO 13, D. F. TEL. 659 22 77 CON TRES LINEAS

