

14
rej.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
"CUAUTITLAN"

" IDENTIFICACION Y CORRECCION PREOPERATO-
RIAS DE LAS ALTERACIONES DE LA HEMOSTASIA EN
PACIENTES QUIRURGICOS CON RIESGO DE
SANGRADO "

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO
B I O L O G O

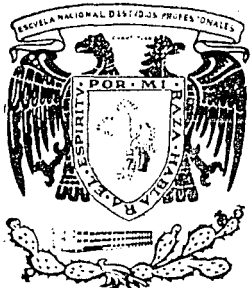
P R E S E N T A :

MARIA DEL ROCIO FLORES ILLESCAS

DIRECTOR DE TESIS:

DR. JOSE GONZALEZ LLAVEN

1988





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

I N D I C E

	PAGINA
RESUMEN	1
ABREVIATURAS	2
I.- INTRODUCCION.	3
II.- OBJETIVOS.	5
III.- MATERIAL Y METODOS.	6
III.1 Material biológico.	6
III.2 Métodos.	9
III.2.a Tiempo de sangrado.	9
III.2.b Tiempo de tromboplastina parcial activada.	17
III.2.c Tiempo de protrombina.	12
III.2.d Tiempo de trombina.	14
III.2.e Fibrinógeno.	15
III.2.f Cuenta de plaquetas.	17
III.2.g Fibrinógeno (por termoprecipitación).	18
III.2.h Productos de fragmentación fibrina-fibrinógeno.	19
III.2.i Lisis de euglobulina.	21
III.2.j Cuantificación de factores.	22
IV.- RESULTADOS.	24
V.- DISCUSION.	40
VI.- CONCLUSIONES.	46
VII.- ANEXOS.	49
VIII.-BIBLIOGRAFIA.	54

RESUMEN

Se estudiaron 33 pacientes con diversas enfermedades y alteraciones de la hemostasia, con indicación quirúrgica electiva. Para su estudio los pacientes fueron divididos en dos grupos: I) Pacientes con PTI y II) Pacientes con diversas alteraciones de la hemostasia.

Se observó que los pacientes con PTI no necesariamente deben ser transfundidos con plaquetas en el periodo preoperatorio, ya que los episodios de sangrado quirúrgico anormal fueron en igual proporción en el grupo que recibió plaquetas que en el que no las recibió.

En el grupo de pacientes con diversas alteraciones de la hemostasia las diferencias entre los pacientes con sangrado normal y anormal en el periodo preoperatorio fueron: predominio de hombres en el grupo con sangrado anormal; y terapia preoperatoria con vitamina K y TT prolongados en los pacientes con sangrado anormal. Las causas de las alteraciones del TT solo se pudieron identificar en dos casos - (uno por hiperfibrinogenemia y otro por disfibrinogenemia) en los demás casos se demostró un efecto inhibitorio del plasma del paciente sobre el normal.

A B R E V I A T U R A S

A/G	:	Relación albúmina/globulina.
CA	:	Cáncer.
F	:	Femenino.
Fib.	:	Fibrinógeno.
Fcrito:	:	Fibrinocrito.
Hrs.	:	Horas.
LE	:	Lisis de euglobulinas.
LNH	:	Linfoma no Hodgkin.
M	:	Masculino.
m ²	:	Metro cuadrado.
mg	:	Miligramos.
ml	:	Millilitros.
mm ³	:	Milímetros cúbicos.
min.	:	Minutos.
M	:	Molar.
PN	:	Plasma normal.
PPF	:	Productos de fragmentación fibrina-fibrinógeno.
PTI	:	Púrpura trombocitopénica idiopática.
Seg.	:	Segundos.
SSF	:	Solución salina fisiológica.
TP	:	Tiempo de protrombina.
TS	:	Tiempo de sangrado.
TT	:	Tiempo de trombina.
TTP _a	:	Tiempo de tromboplastina parcial activada.
U/ml	:	Unidades por mililitro.
vit	:	Vitamina.
VW	:	Von Willebrand.

I.- INTRODUCCION

La determinación del riesgo de sangrado con el trauma quirúrgico se establece por medio de datos clínicos y con pruebas de laboratorio que evalúan la hemostasia de los pacientes. Estos dos métodos son complementarios y no es conveniente prescindir de ninguno de ellos. Si bien es cierto que la mayoría de los enfermos con tendencia hemorrágica puede identificarse clínicamente, existe un grupo que no da manifestaciones clínicas y solamente por pruebas de laboratorio se puede identificar. Tal es el caso de los pacientes que tienen deficiencias plasmáticas leves.

Actualmente se tienen recursos tecnológicos que ayudan a evaluar con más precisión las diferentes etapas de la hemostasia y sus alteraciones (con manifestaciones clínicas o sin ellas), así como nuevos recursos para el tratamiento de las deficiencias hemostáticas.

Con frecuencia los pacientes que tienen enfermedades que se acompañan de alteraciones de la homostasia requieren de intervenciones quirúrgicas, algunas veces de urgencia, - lo que obliga a hacer un diagnóstico rápido de dichas alteraciones para su corrección.

Las principales enfermedades que se encuentran asociadas a alteraciones de la coagulación son : a) Enfermedades hepáticas (3)(12)(29)(32); b) Trombocitopenia -- (causada por hiperesplenismo, PTI) (1)(9)(34); c) Neoplasias (10)(25); d) Enfermedades hematológicas -- (hemofia A, B o C; enfermedad de von Willebrand; deficiencia de factores de coagulación) (19)(23); e) Enfermedades sépticas.

Los pacientes con estos antecedentes pueden no sangrar anormalmente durante las intervenciones quirúrgicas, especialmente aquellas consideradas como cirugía menor. En otros casos, la cirugía o algunos de los factores que se asocian a ella (stress, anestésicos, manejo de órganos o tejidos, hipotensión arterial etc.), pueden modificar la hemostasia en el periodo transoperatorio, condicionando con ello sangrados.

En general, la mayoría de los pacientes con alteraciones hemostáticas reciben un tratamiento sustitutivo con fracciones de sangre para su corrección, sin embargo no todos lo requieren, dependiendo esto del tipo de alteración y del grado de la misma, así como de la intensidad de la agresión quirúrgica.

II.- OBJETIVOS

Con la evaluación clínica completa y con los recursos técnicos disponibles en la actualidad, es posible.

1. Identificar a la totalidad de los enfermos que tienen una alteración de la hemostasia en el periodo perioperatorio (pre-, trans, y post-operatorio).
2. Hacer la corrección de tales alteraciones de acuerdo con los criterios establecidos.
3. Evitar las complicaciones hemorrágicas debidas a las alteraciones de la hemostasia y que surgen durante la cirugía electiva o de urgencia.

III.- MATERIAL Y METODOS

III.1.- MATERIAL BIOLÓGICO

Se estudiaron 33 pacientes con indicación quirúrgica - electiva que tenían alteraciones de la hemostasia, de los Departamentos de Hematología y de Cirugía General del Hospital de Especialidades y del Departamento de Cirugía General del Hospital General del Centro Médico La Raza.

A cada paciente se le elaboró su historia clínica con la siguiente información: sexo, edad, peso, talla; antecedentes hemorrágicos personales o familiares; medicación; alcoholismo, tabaquismo, transfusiones; padecimiento (s) existente (s) en el momento de hacer el estudio y tipo de cirugía al que se habrían de someter. (Anexo I).

Se intentó caracterizar el defecto hemostático de dichos pacientes, el cual fue corregido en el periodo preoperatorio si estaba dentro del rango que requería tratamiento, lo que se decidió con base en los niveles hemostáticos de los factores de coagulación afectados. Las concentraciones de los factores se infirieron de comparar los tiempos de coagulación del plasma problema con los del plasma normal y diluciones del mismo para obtener concentraciones teóricas de los factores de coagulación equivalentes al 100%, 75%, 50% y 25%; los valores de referencia se anotan en el anexo II. En el anexo III se anota la frecuencia con que se aplicaron los tratamientos, con base en la vida media de los factores que se intentaron corregir.

Se tomaron de 3 a 4 muestras sanguíneas -según fuera el caso- por paciente, de 7 ml cada una, por punción venosa. La primera se toma al momento de confirmar la cirugía, otra después del tratamiento de las alteraciones de la hemostasia - (si éste fue necesario), para comprobar la corrección, una más durante el período post-operatorio inmediato y la última, 24 hrs. después de la cirugía.

Cada muestra se separó en tres porciones, dos de las cuales se agregaron en trombotubos de 2.5 ml. cada uno, conteniendo citrato de sodio al 3.8% como anticoagulante en una porción 1:10. La parte restante se adicionó a un tubo con anticoagulante (Versenato de sodio al 10%) en una proporción de 1:10 para el recuento plaquetario.

Se catalogó el sangrado trans-operatorio en normal o - - anormal. Se consideró sangrado trans-operatorio anormal al que se describe como en coa, durante cualesquiera de los - tiempos quirúrgicos y aquel que exceda el 8% del volumen sanguíneo del paciente. En el Anexo IV se anotan las cantidades correspondientes al 8% del volumen sanguíneo en hombres y mujeres, cantidades que podrían aceptarse como pérdidas "normales". No se consideró como anormal sangrado ocasionado por - problemas técnicos durante la intervención quirúrgica, tales como: una incisión mal realizada, vasos sanguíneos inadvertidos por hipotensión, ligadura inadecuada de vasos (pinzamiento incompleto), etc.

El cálculo de la pérdida de sangre se hizo sumando el volumen sanguíneo colectado en los frascos del aspirador más

el volumen absorbido en gasas, apósitos y compresas, siendo su volumen máximo de absorción de 10 ml, 30 ml y 50 ml respectivamente.

Los casos de sujetos con trombocitopenia, debida a púra trombocitopénica inmunológica se dividieron aleatoriamente en dos grupos : a) Con transfusión de plaquetas en el periodo pre-operatorio y b) Sin transfusión.

Se evaluaron los siguientes parámetros :

1. Caracterización del defecto de hemostasia.
2. Corrección pre-operatoria de dicho defecto.
3. Relación de las anomalías de la hemostasia con el sangrado anormal trans-operatorio.
4. Comparación del sangrado trans-operatorio y consumo de fracciones de sangre en relación con los dos criterios para su substitución (corregidos y no corregidos).
5. Utilidad de las transfusiones de plaquetas en el periodo pre-operatorio y respuesta a la esplenectomía.

III.2. METODOS

A todos los pacientes se les practicaron las siguientes pruebas :

- a) Tiempo de sangrado. (17) (22) (2)
- b) Tiempo de Tromboplastina parcial activada. (27)
- c) Tiempo de protrombina. (28)
- d) Tiempo de trombina. (15)
- e) Fibrinógeno. (7)
- f) Cuenta de plaquetas. (4)

A aquellos pacientes que resultaron con alteraciones hemostáticas, se les practicaron las pruebas necesarias para definir el tipo de alteración, tales como :

- g) Fibrinógeno por termoprecipitación. (14) (31)
- h) Productos de fragmentación fibrina-fibrinógeno. (16)
- i) Lisis de euglobulinas. (5)
- j) Factores de coagulación. (18) (26)

Los pacientes cuyas pruebas resultaron anormales, recibieron tratamiento sustitutivo específico (plasma fresco, - plasma rico en plaquetas, concentrados plaquetarios, crioprecipitados, etc.), durante el período pre-operatorio.

III.2.a. TIEMPO DE SANGRADO

Esta prueba permite evaluar la función plaquetaria y vascular, y forma parte de las pruebas básicas de la hemostasia.

Material y equipo :

Baumanómetro.

Cronómetro.

Bisturí del No. 11.

Discos de papel filtro.

Torundas de algodón con alcohol.

TECNICA :

1. Se coloca el baumanómetro en el brazo del paciente, - más arriba del codo. Se hace subir la presión hasta 40 mm de mercurio, y se mantiene exactamente este nivel - durante toda la operación.
2. Se limpia una zona situada en la parte interna del antebrazo con una torunda con alcohol y se deja secar. -
3. Por debajo del pliegue del codo. Se mantiene la piel - tirante asiendo firmemente el brazo por debajo de la - zona elegida y se efectúan dos cortes longitudinales - de 10 mm de largo por 0,5 mm de profundidad cada uno, de 5 cm de distancia uno debajo del otro, evitando alcanzar cualquier vena subcutánea. Se pone en marcha el cronómetro.
4. Se seca cada 30 segundos, la sangre de cada uno de los cortes mediante dos discos distintos de papel filtro. El papel no debe rozar en ningún momento las heridas.
5. Cuando la sangre deje de fluir, se detiene el cronómetro se afloja el baumanómetro.
6. Se anota el tiempo de sangrado de cada corte y se calcula la media para obtener el resultado final.

Valor normal: de 2 a 7 minutos.

Valores prolongados: Luego de la ingesta de aspirina; trombocitopenia; purpura vascular; trombopatías; hiper heparinemia.

III.2.b. TIEMPO DE TROMBOPLASTINA PARCIAL ACTIVADA

En la sangre el calcio es enlazado por el anticoagulante, lo que impide la coagulación. Después de centrifugación, el plasma contiene todos los factores intrínsecos de la coagulación, excepto calcio y plaquetas. Se añade al plasma calcio, un sustituto fosfolipídico de las plaquetas (la trombo-plastina parcial) y caolín (activador de contacto). El resultado del tiempo de tromboplastina parcial activada es el tiempo que tarda en coagular dicho plasma.

Material y equipo :

Baño maría a 37°C.

Tubos de 12 x 75 mm.

Cronómetros.

Pipetas automáticas de 0.1 y 0.2 ml.

Centrífuga.

Reactivos :

CaCl₂ 0.025 M.

Tromboplastina parcial (Patromthin).

Caolín al 2%.

Plasma testigo normal.

TECNICA :

1. La sangre obtenida se mezcla con anticoagulante (citrato de sodio) en proporción de 1:10 y se centrifuga a - 2500 rpm durante 10 minutos.
2. Separar el plasma y colocarlo en un tubo de ensaye, - manteniéndolo en baño de hielo-agua o bién en refrigerador.
3. Se inouba una cantidad suficiente de cloruro de calcio 0.025 M a 37°C.

4. Se mezcla en partes iguales la suspensión de caolín - con el Patromthin. Esta mezcla se mantiene en hielo.
5. Se pipetea 0.1 ml de plasma testigo normal (o plasma problema) en un tubo de ensaye.
6. Se agita vigorosamente la mezcla del paso 4 y se pipetea 0.1 ml y se agregan al tubo del paso 5.
7. Se mezcla con rapidez el contenido del tubo y se coloca en el baño maría durante 2 minutos.
8. Una vez transcurrido exactamente este tiempo, se añade en el tubo 0.1 ml de cloruro de calcio precalentado y se pone en marcha el cronómetro.
9. Se agita el contenido del tubo y se deja en el baño - maría. Después de 30 segundos se saca el tubo del baño y se observa la formación del coágulo, momento en el que se detendrá el cronómetro.
10. Tanto las pruebas del plasma testigo como del plasma - problema deben efectuarse por duplicado, obteniendo el promedio de ambas pruebas, con un margen de variación de + 1.5 segundos. Si después de 2 minutos no se observa la formación del coágulo puede detenerse la prueba, haciendo constar un resultado mayor de 120 segundos.

Valor normal: de 25 a 46 segundos.

Valores aumentados: Deficiencia de factores VIII, IX, XI, XII, V, X y/o I.

III.2.c. TIEMPO DE PROTROMBINA

En la sangre, el calcio es enlazado por el citrato de - sodio, lo que impide la coagulación. La tromboplastina tisular, a la cual se ha añadido calcio se mezcla con el plasma activándose la vía extrínseca de la coagulación, lo cual lleva a la formación del coágulo. Se mide el tiempo de coagula-

ción.

Material y equipo :

Baño maría a 37°C.

Baño hielo-agua.

Tubos de 12 x 75 mm.

Cronómetros.

Pipetas automáticas de 0.1 a 0.2 ml.

Reactivos :

Plasma testigo normal.

CaCl₂ 0.025 M.

Tromboplastina completa activada (Tromborel).

NaCl 0.85%

TECNICA :

1. Se centrifuga la sangre no coagulada a 2500 rpm lo más rápidamente posible después de la extracción.
2. Se extrae el plasma y se coloca en baño de hielo-agua o bien en refrigeración.
3. Se mezcla la tromboplastina completa con el CaCl₂ (volumen a volumen). Esta mezcla se conserva en baño de hielo - agua.
4. Se incuba en baño maría a 37°C por 7 minutos el volumen necesario de Tromborel para el número de pruebas que se vayan a realizar.
5. En un tubo de ensaye se deposita 0.1 ml de plasma testigo normal (o plasma problema) y se incuba a 37°C por 2 minutos, tiempo después del cual se agregan 0.2 ml de Tromborel preincubado, poniéndose en marcha simultáneamente el cronómetro.
6. A los 9 segundos de adccionado el Tromborel, sacar el tubo del baño maría y volverlo a introducir espaciadamente segundo a segundo hasta observar la formación del coágulo, momento en el cual se detendrá el cronómetro.

7. Cada prueba debe efectuarse por duplicado. Cuando el TP es inferior a 30 segundos ambos resultados deben coincidir con un margen de variación de \pm de 0.5 segundos. Este margen puede aumentar si el Tp es superior a 30 segundos.
8. Se calcula la media entre los dos resultados y se anotan los valores del TP del plasma problema, así como los valores de TP del plasma testigo normal.

Valor normal: de 11 a 14 segundos.

Valores aumentados: Deficiencia de Factores I, II, V, VII y/o X.

III.2.d. TIEMPO DE TROMBINA

Este método mide el tiempo durante el cual el fibrinógeno presente en el plasma se transforma en fibrina por la acción de una cantidad estandarizada de trombina.

Material y equipo :

- Tubos de vidrio de 12 x 75 ml.
- Pipetas automáticas de 0,1 a 0,2 ml.
- Pipetas graduadas de 1 ml.
- Baño maría a 37°C.
- Cronómetro.
- Tubos de plástico de 15 ml.
- Baño de hielo-agua.

Reactivos :

- Plasma testigo normal.
- Trombina bovina 50 U/ml.
- Solución salina 0.85%.

TECNICA :

1. La sangre obtenida se mezcla con anticoagulante (citrato de sodio en proporción de 1:10 y se centrifuga a - 3000 rpm durante 10 minutos.
2. Se separa el plasma en un tubo de ensaye y se conserva en baño de hielo-agua.
3. A partir de una solución madre de trombina (50 U/ml), tomar 0.5 ml y diluir hasta 15 ml con solución salina fisiológica. Estandarizar la trombina, de tal manera que se obtengan con un plasma normal tiempos de coagulación de entre 28 y 30 segundos.
4. Colocar 0.1 ml de plasma problema (o normal), e incubar durante 60 segundos a 37°C.
5. Agregar 0.2 ml de trombina, comenzando a cronometrar en el momento de la adición.

Valor normal: no más de 4 segundos sobre el testigo,
Valores aumentados: afibrinogenemia; hipofibrinogenemia, inhibidores circulantes, productos de degradación fibrina, fibrinógeno, heparina.

III.2.e. FIBRINOGENO

Se sabe que el tiempo de coagulación del plasma diluido al adicionar trombina, es inversamente proporcional a la concentración de fibrinógeno. El tiempo de coagulación obtenido se compara con una curva patrón previamente preparada, con una cantidad de fibrinógeno conocida.

Material y equipo :

Baño maría.
Baño de hielo-agua,
Cronómetros.

Tubos de 12 x 75 mm.

Pipetas de vidrio graduadas 1.0 y 2.0 ml.

Pipetas automáticas 0.1 y 0.2 ml.

Reactivos :

Trombina bovina (100 U/ml).

Plasma testigo normal.

Amortiguador de Owren pH 7.35.

TECNICA :

1. La sangre obtenida se mezcla con anticoagulante (citrato de sodio en proporción de 1:10 y se centrifuga a - 2500 rpm, durante 10 minutos.
2. Separar el plasma y colocarlo en un tubo de ensaye, - manteniéndolo en baño de hielo-agua o bien en refrige-
rador.
3. Diluir el plasma en proporción 1:10 con amortiguador.
4. Depositar en un tubo de 0,2 ml de plasma diluido.
5. Incubar por 30 segundos y agregar 0.2 ml de trombina.
Poner en marcha el cronómetro, deteniendolo al obser-
varse la formación del coágulo.
6. Interpolar el resultado en la curva de calibración.

Curva de calibración:

- Preparar diluciones 1:5, 1:10, 1:20 de plasma testi-
go normal con amortiguador de Owren.
- Determinar el tiempo de coagulación por duplicado pa
ra cada determinación.

Valor normal: de 200 a 400 mg/dl de plasma.

Valores aumentados: Hipo o afibrinogenemia, disfibrinoge-
nemia, hepatopatías; coagulación intravascular.

III.2.f CUENTA DE PLAQUETAS

La sangre total se diluye con oxalato de amonio al 1%, el cual hemoliza completamente los hematíes para que estos no interfieran la visualización de plaquetas, facilitando - de esta forma su observación. Las plaquetas se cuentan en - la cámara de Neubauer con la ayuda de un microscopio de contraste de fases.

Material y equipo :

- Microscopio de contraste de fases.
- Cámara de Neubauer.
- Pipeta para cuenta de glóbulos rojos.
- Cámara húmeda.

Reactivos :

- Oxalato de amonio al 1%.

TECNICA :

1. Cargar la pipeta de toma de glóbulos rojos con sangre anticoagulada hasta la marca de 1 y completar el volumen con oxalato de amonio hasta la marca 101 (dilución 1:100).
2. Agitar la pipeta por 10 minutos en el agitador mecánico con el objeto de lisar los eritrocitos y los leucocitos.
3. Desechar las 5 primeras gotas del contenido y llenar - la cámara de Neubauer.
4. La cámara de Neubauer se coloca en una caja Petri que contiene algodón húmedo (Cámara húmeda), y se deja reposar por 15 minutos de manera que las plaquetas se se dimenten y puedan contarse.

5. En un microscópio de contraste de fases se cuentan las plaquetas que se localizan en la cuadrícula central - que normalmente se destina a la cuenta de glóbulos rojos.

6. Cálculos :

No. de plaquetas/mm ³	=	No. de plaquetas contadas	Factor X de dilución.	X	Factor de volumen.
----------------------------------	---	---------------------------	-----------------------	---	--------------------

7. La prueba se realiza por duplicado y se promedian los resultados.

Valor normal: de 150,000 a 400,000/mm³.

Valores disminuidos: PTI, esplenomegalia, esferocitosis hereditaria.

III.2.g. FIBRINOGENO (POR TERMOPRECIPITACIÓN)

Esta técnica se basa en la precipitación del fibrinógeno, por calentamiento, de una pequeña cantidad de plasma.

Material :

Baño maría a 56°C.

Tubos capilares 67 mm.

Ocular 10X de microscopio.

Microescala 50 mm.

Mechero Bunsen.

TECNICA :

1. Los capilares de 67 mm se marcan a 40 mm y se llena - hasta esta marca con plasma problema. Se cierran al - calor por el extremo opuesto del llenado.
2. Centrifugar a 1500 rpm durante 30 segundos para empa- car el plasma.

3. Cerrar con calor el extremo por donde se hizo el llenado.
4. Introducir el capilar en baño maría a 56°C por 15 minutos.
5. Centrifugar a 3000 rpm durante 10 minutos. El fibrinógeno precipitado se empaca en el fondo.
6. Para leer el paquete de fibrinógeno se hace coincidir - el cero de la escala con el fondo del tubo. Hacer la - lectura con el ocular 10X invertido.
7. Medir la lectura del plasma (H.P.), y la del fibrinógeno precipitado (H.F.). Se obtiene la expresión porcentual del fibrinógeno precipitado y centrifugado al que por analogía con el hematocrito se designó fibrinocrito

$$\text{Fibrinocrito} = \frac{\text{H.F.}}{\text{H.P.}} \times 100$$

8. Para convertir fibrinocrito a fibrinógeno en mg/dl, se multiplica por 75.4 (constante de conversión).

Valor normal: de 200 a 400 mg/dl de plasma.

Valores disminuidos: Hipo o afibrinogenemia.

III.2.h. PRODUCTOS DE FRAGMENTACION FIBRINA-FIBRINOGENO (METODO DE AGLUTINACION DEL STAPHYLOCOCCO).

Es una prueba específica y sensible que puede ser usada para identificación de monómeros de fibrina y productos de fragmentación "x" y "y" séricos, ya que tanto los monómeros de fibrina como los productos de fragmentación, aglutinan ciertas cepas de Staphylococcus.

Material y equipo :

Tubos de 12 x 75 ml.

Matraz aforado de 100 ml..

Pipetas de 0.1, 0.2, 1.0, y 2.0 ml.

Placas con fondo negro para pruebas de aglutinación.

Aplicadores de madera.

Reactivos :

Tubos especiales para las tomas de muestras los cuales -
llevan la cantidad apropiada de trombina y aprotamina pa
ra un volumen de 2 ml. de sangre.

Suspensión de Staphylococco D₂C Newman Coagulasa negativo
Buffer Tris (pH 7.4).

TECNICA :

1. En los tubos para muestra, colocar 2 ml. de sangre com
pleta e incubar por 30 minutos a 37°C.
2. Desprender el coágulo de los tubos y centrifugarlos -
por 10 minutos a 3000 rpm.
3. El suero obtenido se diluye con amortiguador Tris en
proporciones 1:2, 1:4, 1:8, y 1:16.
4. En una placa para pruebas de aglutinación depositar -
0.05 ml. de cada dilución y añadir 0.05 ml. de la sus-
pensión de Staphylococco, mezclar con un aplicador de
madera y mover la placa con movimientos rotatorios por
2 minutos y leer la aglutinación.
5. La máxima dilución que dió aglutinación se multiplica
por 0.6 para obtener los valores en ug/ml.

Valor normal: Negativo - 4.8 ug/ml.

Valores aumentados: Fibrinólisis aumentada.

III.2.i. LISIS DE EUGLOBULINAS

Esta prueba se basa en precipitar la fracción euglobulínica del plasma que contiene plasminógeno, fibrinógeno y activadores capaces de pasar el plasminógeno a su estado activo: la plasmina. La formación de plasmina en esta prueba depende de la cantidad de activadores del plasminógeno presentes en la muestra de sangre del paciente. La plasmina va a lizar el coágulo que se forma al adicionar CaCl_2 al precipitado euglobulínico.

Material y equipo :

Baño maría a 37°C.

Tubos de 13 x 100 mm.

Pipetas de 0.2, 1.0 y 10.0 ml.

Reactivos :

Amortiguador de boratos (pH 9.0).

Acido acético al 1%.

Plasma normal.

Cloruro de calcio 0.025 M.

Agua destilada.

TECNICA :

1. En un matraz Erlenmeyer colocar 9.0 ml. de agua destilada y adicionarle 0.1 ml. de ácido acético al 1%.
2. Agregar al matraz 0.5 ml. de plasma normal y dejar reposar a 4°C por 15 minutos (testigo). Hacer lo mismo para los plasmas problema.
3. Vaciar el contenido del matraz a 2 tubos de ensaye, y centrifugarlos a 2500 rpm, por 10 minutos y decantar.
4. Secar las paredes del tubo y con una varilla de vidrio despegar el precipitado del fondo. Adicionar 0.25 ml.

de amortiguador de boratos y agitar con la varillas hasta que se disuelva el precipitado. Agregar 0.25 ml. de CaCl_2 agitar levemente.

5. Incubar los tubos testigo y problemas y revisar la posible lisis del coágulo cada 10 minutos durante la primera hora y cada 5 minutos la siguiente hora.

Valor normal: Lisis del coágulo a partir del minuto 90.

Valores aumentados: Fibrinólisis aumentada.

III.2.j. CUANTIFICACION DE FACTORES

El porcentaje de actividad de los factores de coagulación en plasma puede ser determinado por grado de corrección que se obtiene cuando al plasma problema se le adiciona un sustrato deficiente del factor que se desea cuantificar. El grado de corrección se determina por el tiempo protrombina (TP), para los factores de la vía extrínseca de la coagulación; y por el tiempo de tromboplastina parcial activada, (TTP_a), para los factores de la vía intrínseca de la coagulación. El resultado se interpola en una curva de calibración hecha a partir de plasma normal.

Material y equipo :

Baño maría a 37°C.

Baño hielo-agua.

Tubos de 12 x 75 ml.

Pipetas de 0.2, 1.0, 2.0 y 5.0 ml.

Reactivos :

Sustrato deficiente del factor que se desea cuantificar.

Tromboplastina completa activada.

Tromboplastina parcial activada.

Cloruro de calcio 0.025 M.
Amortiguador de Owren pH 7.35.
Mezcla de plasmas normales.

TECNICA :

1. Curva Patrón: Hacer diluciones seriadas de plasma normal con amortiguador Owren, en proporciones 1:10, 1:20 1:40, 1:80 y 1:160.
2. En un tubo depositar 0.1 ml. de la primera solución (1:10) y 0.1 ml. del plasma deficiente en el factor que se desea cuantificar.
3. Continuar con la técnica necesaria (TP para factores de la vía extrínseca y TTP_a para factores de la vía intrínseca).
4. Seguir el mismo mecanismo para las demas soluciones, y para los plasmas problemas (previamente diluidos - 1:5 con amortiguador de Owren).
5. Graficar en papel logarítmico los segundos que tarda la coagulación (en las Ordenadas) y los porcentajes de actividad (en las Abcisas).
6. Interpolar los valores de los problemas en la gráfica.
7. Informar el resultado en por ciento de actividad.

Valores normales: de 50 a 150% actividad.

IV.- R E S U L T A D O S

Se estudiaron 33 pacientes de ambos sexos con diversas enfermedades y alteraciones de la hemostasia, con indicación quirúrgica electiva. En la tabla I se anotan los datos generales, el diagnóstico y el tipo de cirugía de cada uno .

Para su estudio los pacientes fueron agrupados de la siguiente manera:

Grupo I Pacientes con PTI.

A.- Con transfusión pre-operatorio de plaquetas.

B.- Sin transfusión.

Grupo II Pacientes con alteraciones diversas de la hemostasia.

A.- Con tratamiento pre-operatorio.

B.- Sin tratamiento.

El grupo I lo constituyeron 15 pacientes, 6 hombres y 9 mujeres con edades de entre 17 y 53 años a quienes se les practicó la esplenectomía. Las pruebas pre-operatorias que se les practicaron resultaron con valores normales, excepto las pruebas de recuento plaquetario y tiempo de sangrado.

El grupo de 8 pacientes con PTI que recibieron tratamiento (Tabla II), tuvieron en promedio 20,000 plaquetas/mm³ con Ts de más 13 minutos. A 6 pacientes se les aplicó una dosis de 4 concentrados plaquetarios por m² de superficie corporal. Un paciente recibió una unidad de plaquetas obtenidas por

TABLA I

DATOS GENERALES, DIAGNOSTICO Y CIRUGIA
DE TODOS LOS PACIENTES.

No.	NOMBRE	SEXO	EDAD	PESO	Dx.	CIRUGIA
1	L.B.R.	F	35	53	P.T.I.	Esplenectomía
2	G.D.V.	F	18	48	P.T.I.	Esplenectomía
3	S.H.T.	F	22	65	P.T.I.	Esplenectomía
4	E.S.S.	M	17	80	P.T.I.	Esplenectomía
5	R.I.V.	F	34	61	P.T.I.	Esplenectomía
6	S.M.R.	F	36	54	P.T.I.	Esplenectomía
7	R.R.C.	F	32	57	P.T.I.	Esplenectomía
8	S.P.L.	F	17	55	P.T.I.	Esplenectomía
9	J.L.B.	M	29	72	P.T.I.	Esplenectomía
10	H.G.C.	M	31	57	P.T.I.	Esplenectomía
11	F.M.G.	M	31	63	P.T.I.	Esplenectomía
12	R.M.L.	M	22	47	P.T.I.	Esplenectomía
13	M.M.M.	F	53	60	P.T.I.	Esplenectomía
14	C.L.P.	F	26	52	P.T.I.	Esplenectomía
15	A.R.J.	M	25	67	P.T.I.	Esplenectomía
16	M.G.G.	F	41	59	Cole.	Colecistectomía
17	E.D.T.	M	49	68	I.R.C.	Cateter
18	J.A.C.	F	34	60	O.V.B.	Cálculo residual
19	A.T.H.	M	46	60	CA Pan	Derivación
20	S.H.M.	M	55	64	Cole.	Colecistectomía
21	L.C.R.	F	67	50	Cole.	Colecistectomía
22	E.G.I.	F	57	55	L.N.H.	Esplenectomía
23	L.H.V.	M	23	76	Esfero	Esplenectomía
24	N.P.C.	M	20	68	CA Hig.	Biopsia
25	I.V.R.	M	49	59	Esfero	Esplenectomía
26	C.S.A.	M	68	80	Cole.	Colecistectomía
27	P.R.C.	F	23	45	Cole.	Colecistectomía
28	B.G.Z.	F	56	60	O.V.B.	Colecistectomía
29	G.R.C.	F	54	50	CA Hig.	Biopsia
30	R.H.A.	M	49	83	CA Pan	Derivación
31	A.R.V.	M	59	65	Cirrosis	Hernia Inginal
32	A.H.G.	F	20	50	Espleno	Laparotomía
33	A.V.J.	F	47	47	I.R.C.	Biopsia

Cole. = Coledocolitiasis.
O.V.B. = Obstrucción de vías biliares.
Esfero = Esferocitosis.
Espleno = Esplenomegalia.
I.R.C. = Insuficiencia renal crónica.

TABLA II

**Pacientes con Púrpura Trombocitopénica Idiopática
Grupo A - Con Transfusión Preoperatoria
de Plaquetas**

Nº	PREOPERATORIO		TRATAMIENTO	POST-TRATAMIENTO		POSTOPERATORIO		INCREMENTO DE PLAQUETAS	POST-OP 24hrs. CUENTA DE PLAQUETAS	CANTIDAD DE SANGRADO	MESES POST-ESPLENECTOMIA	CUENTA DE PLAQUETAS ACTUAL
	CUENTA DE PLAQUETAS	TIEMPO DE SANGRADO		CUENTA DE PLAQUETAS	TIEMPO DE SANGRADO	CUENTA DE PLAQUETAS	TIEMPO DE SANGRADO					
1	15 000	+ 15'	PLAQUETAS DE PERESIS	29 000	—	60 000	2'	45 000	11 000	300ml	4	150 000
2	14 000	12'	3 PLASMAS RICOS EN PLAQUETAS	15 000	10' 30"	36 000	7'	22 000	50 000	1000ml	+ 6	40 000
3	7 500	+ 15'	6U DE CONCENTRADO PLAZMATICOS	21 000	10'	58 000	8'	50 500	63 000	700ml	+ 6	60 000
4	42 000	12'	II	56 000	6' 30"	80 000	6'	38 000	250 000	200ml	+ 6	200 000
5	14 000	+ 15'	II	39 000	7'	60 000	8'	46 000	108 000	200ml	+ 6	100 000
6	30 000	15'	II	40 000	6' 40"	70 000	6' 30"	40 000	120 000	300ml	+ 6	151 000
7	33 000	8'	II	50 000	—	90 000	6'	57 000	180 000	300ml	6	364 000
8	5 000	15'	II	19 000	—	152 000	3'	147 000	190 000	200ml	2	349 000
\bar{x}	22 200	13' 20"		33 700	8' 10"	75 700	5' 50"	56 000	121 000			176 600
S.D.	12 600	2' 20"		14 000	1' 45"	32 500	2'	35 800	75 400			114 000

T A B-L A III

**Pacientes con Púrpura Trombocitopénica Idiopática :
Grupo B- Sin Transfusión Preoperatoria
de Plaquetas**

NUMERO	PREOPERATORIO		POSTOPERATORIO		INCREMENTO DE PLAQUETAS	POST-OP. 24 HRS. CUENTA DE PLAQUETAS	CANTIDAD DE SANGRADO	MESES POST-ESPLE- NECTOMIA.	CUENTA DE PLAQUETAS ACTUAL
	CUENTA DE PLAQUETAS	TIEMPO DE SANGRADO	CUENTA DE PLAQUETAS	TIEMPO DE SANGRADO					
9	10 500	15'	12 000	+ 15'	1 500	49 500	720ml.	+ 6	395 000
10	28 000	10' 30"	50 000	7'	23 000	162 000	200ml	+ 6	180 000
11	76 000	7' 10"	130 000	6'	46 000	180 000	350ml	+ 6	151 000
12	5 000	+ 15'	26 000	12'	21 000	130 000	250ml	+ 6	160 000
13	20 000	10' 45'	90 000	3' 52"	70 000	160 000	400ml	+ 6	200 000
14	40 000	6' 50"	66 000	4'	26 000	88 000	200ml	2	290 000
15	57 000	8'	70 000	7'	13 000	52 000	300ml	2	150 000
\bar{x}	33 800	10' 30"	52 000	7'	28 600	117 000			218 000
SD	± 23 000	± 3' 40"	± 28 000	± 4'	± 22 000	± 52 000			± 91 000

por plaquetaféresis; y el paciente No. 2 recibió 3 plasmas - ricos en plaquetas ya que no se obtuvieron concentrados plaquetarios en el banco de sangre. A los 60' de la transfusión, la cuenta de plaquetas ascendió en promedio a $33,000/\text{mm}^3$ y el TS fué de 8' en promedio.

En dos pacientes hubo sangrado anormal, uno atribuido a trombocitopenia y otro a complicación quirúrgica (lesión de Pedículo esplénico). Ambos tuvieron las cifras más bajas de plaquetas después de la transfusión de concentrados y al término de la cirugía; así mismo, ambos tuvieron cifras de plaquetas por debajo de cien mil por milímetro cúbico a las 24 horas post-cirugía.

Durante los seis meses post-esplenectomía, los tres pacientes (1, 2 y 3) que a las 24 horas post-cirugía tuvieron cifras menores a $100,000/\text{mm}^3$, no tuvieron respuesta y requirieron otros tratamientos. En cambio de los 4 pacientes que tuvieron más de $100,000$ plaquetas/ mm^3 a las 24 horas post-esplenectomía, todos tuvieron respuesta completa sostenida, algunos por más de 6 meses.

El grupo B estuvo constituido por 7 pacientes que no recibieron tratamiento con plaquetas en el período preoperatorio (Tabla III). El promedio de la cuenta de plaquetas basal de estos pacientes fué de $33,000/\text{mm}^3$, el TS promedio fué de 10 min. 30 seg. y en dos pacientes fué de más de 15 min. Solamente un paciente tuvo sangrado anormal en capa atribuido a trombocitopenia. 4 pacientes tuvieron más de $100,000$ plaquetas/ mm^3 a las 24 horas. Post-cirugía. los cuatro tienen remisiones prolongadas. Dos pacientes (con $49,500$ y $88,000$ plaquetas/ mm^3 a las 24 horas. post-cirugía) también remitieron por tiempo prolongado. Solamente uno de tres pacientes con menos de $100,000$ plaquetas/ mm^3 a las 24 horas post-esplenectomía requirió otros tratamientos.

TABLA IV

Pacientes que Recibieron Tratamiento Preoperatorio con Sangrado Anormal de Tipo Quirúrgico

CASO Nº	DIAGNOSTICO Y TIPO DE CIRUGIA	ALTERACION DE LA HEMOSTASIA Y GRADO	CANTIDAD DE SANGRADO	FRACCIONES DE SANGRE TRANSFUNDIDAS
22	LNH; Laparotomía mas Esplenectomía	Trombocitopenia (78 000) T8-N; F fase ↑ T ↑ ↑	No cuantificada por herida post-operatoria	—
23	Estercofistosis; Esplenectomía más Colectectomía	TTP ↑ corregido	700 ml. lesión hilio	1 P.G. 300 ml. PFC 300 ml.
24	Cáncer de Hígado Biopsia Hepática	TTP ↑ corregido TP ↑ corregido Plaquetas 42 000 T8-N	Sangrado por herida Quirúrgica, Hemostasia Quirúrgica deficiente	—
25	Estercofistosis mas deficiencia de F VIII y V Esplenectomía.	TTP ↑ TP ↑ corregidos	2000 ml lesión hilio espleno	600 ml P.G. 600 ml PFC Crios 20 U ^o /8 hrs.

LNH: Linfoma no Hodgkin.

PG: Paquete Globular.

PFC: Plasma Fresco Congelado.

Crios: Crioprecipitados.

El grupo II, constituido por pacientes con diversas alteraciones de la hemostasia, se subdividió en dos grupos:

A.- 12 pacientes que recibieron diferentes tratamientos en el período pre-operatorio inmediato. Este subgrupo se dividió a su vez en:

- a) Pacientes con sangrado trans-operatorio anormal.
- b) Pacientes con sangrado trans-operatorio normal.

El sangrado anormal fue defecto de hemostasia quirúrgica en cuatro pacientes (Tabla IV), en los que se corrigieron las deficiencias hemostáticas satisfactoriamente. Los 4 tuvieron TTP_a alargado que corrigió. Dos más tenían TTP_a y TP_a largos mas trombocitopenia con TS normal. De los cuatro, tres fueron esplenectomías. Dos de ellos con bazo grande y con adherencias. En dos casos hubo defecto de hemostasia quirúrgica; el sangrado en ambos fué escaso, ya que no requirió terapia sustitutiva y en otros dos casos requirieron 300 ml. de paquete globular y 600 ml. de plasma fresco congelado. Uno de estos enfermos (No. 22) fue reintervenido por defecto de hemostasia quirúrgica.

Los pacientes que tuvieron sangrado anormal por defecto de hemostasia fueron 5. Todos ellos tuvieron en comun alargamientos del TT que fué mayor de 10 seg. y en promedio fué de 15.2 seg. Solamente en un paciente (caso 21) el TT fué la única alteración, en los otros 4 coincidió con alteraciones de la 1a. y 2a. fases y con trombocitopenia en uno. En los 4 pacientes estas alteraciones fueron corregidas a niveles de " seguridad hemostática " en el período preoperatorio así que la única alteración, persistente fué el TT prolongado. (Tabla V).

El estudio de las alteraciones de la 3a. fase se resumen en la Tabla VI. Las diluciones 1:2 y 1:4 del plasma pro

TABLA V

Pacientes con Sangrado Anormal Transoperatorio por Deficiencias de la Hemostasia

Nº	PREOPERATORIO				Tratamiento	POSTRATAMIENTO				POSTOPERATORIO				cantidad sangrado
	TP	TTPa	TT	otros		TP	TTPa	TT	otros	TP	TTPa	TT	otros	
26	3.6	9.0	21.0	Fib. 620 Fc. 660 LE 120	Vit. K	N	9.3	19.0	—	2.0	6.0	18.0	—	700 ml
27	3.0	19.8	19.7	Fib. 310 Fc. 362 PFF. Neg.	Vit. K	N	10.0	17.0	—	2.8	10.9	16.3	—	2500 ml.
28	N	21.4	10.4	—	Vit. K	N	3.6	11.0	—	N	3.6	11.0	—	250 ml (en capa)
29	4.0	10.0	200	Fp. 180 LPR. N Pq. 60 000	Plasma	4.0	16.0	26.0	Fc. 223	7.0	11.3	12.0	—	600 ml
21	-1.9	02	18.0	Fib. 680 Fc. 646 LE 120	—	—	—	—	—	8.0	11.6	22.8	TR 205	600 ml (en capa)
X	3.3	16.7	17.9	—	—	N	7.6	15.6	—	4.2	8.5	16.0	—	—

N. Normal
Pq. Plaquetas
Fc. Fibrinocrito
TR. Tiempo de Reptilasa

blema con el plasma normal persisten alargados lo que sugiere un efecto inhibitor del plasma enfermo. Las determinaciones de fibrinógeno por dos técnicas no resultan en diferencias significativas. No hay incremento en la concentración de los PFF, y las LE fueron negativas en los 3 casos en que se realizaron. La concentración de proteínas totales y la relación albúmina/globulinas fueron normales en todos excepto en uno (No. 27) que tuvo inversión del índice A/G. (Tabla VII).

El grupo b (pacientes con alteraciones corregidas que no sangraron) lo constituyeron 4 pacientes (Tabla VIII), con diagnósticos de cirrosis más hernia inginal, CA de páncreas, esplenomegàlia e IRC.

Tres de ellos (casos 30,32 y 33) corrigieron sus defectos a niveles satisfactorios en el período pre-operatorio y en uno persistió anormal en el post-operatorio con TTP_a de + 34 seg. sobre el testigo.

El grupo B lo constituyeron 6 pacientes que no recibieron tratamiento pre-operatorio ya que no reunieron los criterios para terapia sustitutiva. De los 6 pacientes, sólo en uno, las alteraciones se mejoraron espontáneamente en el período pre-operatorio inmediato. Las alteraciones prevalecieron en los períodos trans- y post-operatorios y solo uno de los 6 tuvo sangrado anormal. En uno de ellos, los alargamientos se atribuyeron a heparina subcutánea (Tabla IX).

En el análisis de las diferencias del grupo con alteraciones de la hemostasia, de los cuales unos sangraron y otros no, el único parámetro que resultó con diferencias significativas fué la comparación de los TT (U de Mann Witney), que fue más alto en los pacientes con sangrado anormal. Cuando se analizaron solamente los pacientes con TT largo de ambos grupos no se encontró diferencia.

TABLA VI

TT Largos en Pacientes con Sangrado Anormal Durante la Cirugía por Deficiencias en la Hemostasia

NUMERO	DIAGNOSTICO	TT	DILUCIONES		FIBRINOGENO		PFF	LE	TT	DILUCIONES		OTRAS ALTERACIONES	
			1:2	1:4	CLAUSS	FCRITO				LCPR	POSTOP.	1:2	1:4
26	COLEDOCOLITIASIS	+21	+20	+10	620	640	---	+120	+18	+15	+9	+9	+3.8
27	OBSTRUCCION DE VIAS BILIARES	+20	+19	---	310	382	NEG.	---	+16	+13	---	+19.8	+3
28	OBSTRUCCION DE VIAS BILIARES	+10.5	+5	+2	---	---	---	---	+7	+5	+2	+21.4	+2.5
29	CANCER DE HIGADO CIRROSIS	+20	+7.8	+5.8	180	---	---	+120	+12	---	---	+10	+4
21	COLEDOCOLITIASIS	+18	+12	+10	680	646	---	+120	+22	+10	+4	-1.9	+0.2
\bar{x}		+17.9	+13	+8	450	580	---	+120	+16	+11	+8	+16.7	+3.3
SD		± 4.2	± 6.6	± 3.8	± 241	---	---	---	± 6.3	± 4.3	± 3.6	± 8.4	± 0.9

TABLA VII

**Concentracion de Proteinas en Pacientes
con TT Largo**

PACIENTE Nº	PROTEINAS TOTALES	A/G
26	7.7 g/dl	1.0
27	7.0 g/dl	0.8
28	6.8 g/dl	1.2
29	7.3 g/dl	1.1
21	6.5 g/dl	1.1

TABLA VIII

**Pacientes Tratados con Sangrado Normal
Transoperatorio**

CASO Nº	DIAGNOSTICO Y TIPO DE CIRUGIA	ALTERACION DE LA HEMOSTASIA Y GRADO	TRATAMIENTO	CANTIDAD DE SANGRADO
30	CIRROSIS HEPATICA HERNIA INGUINAL	TS ↑ TROMBOCITOPENIA (47 000) FIBRINOLISIS ↑	PLASMA	400 ml
31	CANCER DE PANCREAS CIRUGIA DERIVATIVA	TTP ↑ TT ↑ DISFIBRINOGENEMIA	PLASMA	150 ml
32	ESPLENOMEGALIA LAPAROTOMIA EXPLORADORA	TROMBOCITOPENIA (25000) T3 ↑	PLASMA RICO EN PLAQUETAS	500 ml
33	IRC BIOPSIA RENAL	TTP ↑	PLASMA	5 ml

Los pacientes con sangrado normal con TT largo recibieron 300 ml de plasma fresco congelado por indicación del cirujano antes de la cirugía y continuaron con el tratamiento por tres días. El grupo que sangró anormalmente recibió tratamiento pre-operatorio con Vitamina K.

El análisis de las diferencias del TTP_a y del TP antes de la cirugía y después del tratamiento en el mismo grupo - (con sangrado anormal o normal) y comparando los dos grupos (con sangrado normal o anormal, tampoco dieron diferencias significativas. En el grupo con sangrado normal, se eliminó a un paciente cuyo TT estaba prolongado debido a efecto heparínico.

TABLA IX

**Pacientes con Deficiencias Hemostáticas que no
Recibieron Tratamiento Preoperatorio**

CASO Nº	DIAGNOSTICO Y TIPO DE CIRUGIA	ALTERACION DE LA HEMOSTASIA Y GRADO	EVOLUCION	CANTIDAD DE SANGRADO
16	COLEDOCOLITIASIS COLECISTECTOMIA	TTP ↑ POR DEFICIENCIA TT ↑ POR INHIBIDOR	SE MANTIENE EN TRANS Y POSTOPERATORIO	150 ml
17	IRC COLOCACION CATETER	TTP ↑ POR DEFICIENCIA TT ↑	SE MODIFICO SOLO EN EL PREOPERATORIO	30 ml.
18	EXTRACCION CALCULOS RESIDUALES	TTP ↑ TT ↑ TP ↑	NO SE MODIFICO	200 ml
19	CANCER DE PANCREAS DERIVACION	TTP ↑ TP ↑ EN LIMITE	TTP CORRIE TP SE MANTIENE	300 ml
20	COLEDOCOLITIASIS COLECISTECTOMIA	TTP ↑ TT ↑ TP ↑ POR ANTICOAGULANTE	SE MANTIENE EN TRANS Y POSTOPERATORIO	200 ml
21	COLEDOCOLITIASIS COLECISTECTOMIA	TT ↑	SE MANTIENE EN TRANS Y POSTOPERATORIO	600 ml EN CAPA

TABLA X

**Comparacion de los Tiempos de Coagulacion de
los Pacientes con Sangrado Normal y
Anormal en los Diferentes Tiempos
Quirurgicos**

	S A N G R A D O					
	N O R M A L			A N O R M A L		
	I	II	III	I	II	III
TTPa	18.3"	9.0"	16.3"	16.7"	7.6"	8.5"
TP	5.2"	3.9"	4.1"	3.3"	0	4.2"
TT	12.5"	13.7"	4.0"	17.9"	15.6"	16.0"

I . Preoperatorio.
II Post- tratamiento.
III Postoperatorio.

TABLA XI

Efecto del Tratamiento en Pacientes con TT Prolongado

Nº	SANGRADO NORMAL			Nº	SANGRADO ANORMAL		
	I	II	III		I	II	III
30	18"	8.0"	3.0"	26	21.0"	19.0"	18.0"
31	12"	6.3"	0	27	19.7"	17.0"	16.3"
32	-3"	0	8.3"	28	10.4"	11.0"	9.0"
33	0	-4.2"	-4.4"	29	20.0"	26.0"	12.0"
				21	18.0"	-	22.8"

I Preoperatorio.
 II Post-tratamiento.
 III Postoperatorio.

V.- D I S C U S I O N

Con estos resultados podemos considerar que:

Las pruebas que utilizamos fueron las adecuadas para identificar alteraciones de la hemostasia en este grupo heterogéneo de pacientes, puesto que ninguno de los que tuvieron pruebas normales sangraron anormalmente por alteraciones de hemostasia.

La caracterización de este defecto de hemostasia se hizo con un alto grado de precisión cuando dicho defecto fue por alteración en el número de plaquetas y en las alteraciones de TTP_a y TP. El uso de correcciones con plasma normal en proporción 1:2, 1:4 ofrecen una ayuda diagnóstica complementaria y las diluciones del plasma problema con solución salina fisiológica ofrecen parametros "gruesos" de referencia para deducir concentraciones de los factores de coagulación.

Por el contrario, cuando el TT fué anormal (Tabla VI) con las técnicas disponibles actualmente, no fué posible precisar la causa de dicha alteración y sólo se pudo identificar un defecto con características de inhibidor.

Los pacientes que tuvieron sangrado anormal se estudia ron por separado en cada uno de dos grupos:

El grupo I fueron pacientes con PTI que se sometieron a esplenectomía y que en el periodo preoperatorio se aleatoriza ron para recibir (Grupo A) o no (Grupo B) plaquetas.

El grupo II lo constituyeron los pacientes con alteraciones diversas de la hemostasia.

En el grupo I-A (que recibió plaquetas) se demostró un buen efecto hemostático (incremento de plaquetas y corrección del TS). En un paciente refractario, la cuenta de plaquetas y el TS no corrigieron y en un segundo paciente hubo un incremento de plaquetas de $14,000/\text{mm}^3$ que fue el promedio de incremento del grupo, pero el TS permaneció prolongado. Estos dos pacientes tuvieron sangrado abundante por defecto de hemostasia (Casos 2 y 3, Tabla I), El promedio del TS corrigió a 8 min. después del tratamiento y en la muestra pre-operatoria (de 4 horas después de terminada la cirugía) hubo mayor incremento de plaquetas ($x=75,000/\text{mm}^3$) y mayor acortamiento del TS ($x=5$ min.).

En el grupo B (pacientes que no recibieron transfusión pre-operatoria) los controles realizados 4 hrs. después de terminar la cirugía, demostraron un ascenso en el número de Plaquetas ($x=52,000/\text{mm}^3$ y el TS disminuyó en promedio a 7 min.). Dos de siete pacientes tuvieron sangrado anormal por defecto de hemostasia, uno de 750 ml. y otro de 400 ml.; ninguno los dos tuvo repercusión ni requirieron transfusión de fracciones de sangre.

El paciente que sangró 750 ml. tuvo uno de los tiempos de sangrado más prolongados (15 min.). Sin embargo otro paciente con TS 15 min. tuvo sangrado trans-operatorio normal.

Con base en estas observaciones podemos decir que no debe ser general la transfusión pre-operatoria de plaquetas en pacientes con PTI sometidos a esplenectomía. Los únicos pacientes que demostraron ser refractarios tuvieron sangrado anormal; dos enfermos con sangrado anormal por estar en el grupo B, no se pudo comprobar si eran o no refractarios.

De los 14 pacientes operados y que tenían una o más alteraciones de la hemostasia (Grupo II), 5 tuvieron sangrado anormal atribuido a hemostasia deficiente. Comparando los datos - de estos 5 pacientes con los otros 9 no sangraron, no encontramos diferencias en edad, tipo de cirugía, prolongación de TTP_a , TP, TS y plaquetas. Las únicas diferencias encontradas fueron el sexo (predominio de mujeres en el grupo de sangrado anormal); mayor prolongación del TT ($p > 0,05$), y en la preparación preoperatoria, ya que el grupo que no sangró se preparó con fracciones de sangre (principalmente plasma) y el grupo con sangrado anormal se preparó con vitamina K. Si analizamos los resultados de los tiempos de coagulación del plasma (TTP_a y TP), en ambos grupos, podemos ver que no hay diferencias significativas en los dos grupos, en los diferentes periodos en los que se realizaron dichas pruebas. (Tabla IX).

En ambos grupos hubo una corrección adecuada de los tiempos a niveles que corresponden a concentraciones "hemostáticas" de los factores de coagulación e inclusive en el control post-operatorio que se realizó de una a cinco hrs. después - de la cirugía, tampoco hay diferencias.

Con estos resultados, la diferencia entre los pacientes que sangraron y no sangraron cuando fueron sometidos a la cirugía fue el TT prolongado. Si se analizan por separado las diferentes etapas en los dos grupos, se observa que en el grupo con sangrado normal, tratado con plasma los TT se corrigieron después de la administración del mismo (Tabla XI), en cambio en el grupo de pacientes que no recibieron tratamiento con el plasma los tiempos permanecieron iguales ($p > 0,05$). Estos antecedentes deben orientar la búsqueda de la explicación de porque los pacientes con TT largo tienen predisposición a sangrar anormalmente en el periodo trans-operatorio.

Los tiempos de trombina (TT) pueden prolongarse por varias razones: a) Falta o exceso del sustrato de la fibrina (a-, hipo-, o hiper-fibrinogenemia) (6); b) Defecto funcional en la molécula de fibrinógeno; c) Interferencia por anticoagulantes exógenos (heparina); d) Presencia de sustancias anti-trombinas como la antitrombina VI o PFF; e) Aumento de residuos de ácido siálico en la molécula de fibrinógeno como sucede en pacientes con cirrosis y con carcinoma renal (21)(24); f) Incrementos en los niveles plasmáticos de las glicoproteínas ricas en histidina (20); g) Anticuerpos antifibrinógeno (30) y h) Pueden estar relacionados con la composición de la trombina utilizada en el laboratorio (diferentes proporciones de trombina $\alpha_1, \alpha_2, \gamma$) (13).

Analizando estas causas en los pacientes que sangraron anormalmente con TT largo la disminución cuantitativa del fibrinógeno no se observó en ningún caso. La hiper-fibrinogenemia se observó en algunos pacientes, sin embargo al hacer las diluciones con plasma normal (como se puede observar en la Tabla VI, pacientes 21 y 26) 1:2 y 1:4 las prolongaciones persisten, por lo que la hiper-fibrinogenemia no es la causa de la prolongación.

En un paciente (Tabla VIII, No.31), el TT si tiene un comportamiento de estar prolongado por hiper-fibrinogenemia, ya que en el plasma problema solo, el TT fué >18seg., en la dilución 1:2 con plasma normal fué > 9 seg, y 1:4 fué >3seg. este fue un paciente con C.A de Páncreas.

Definitivamente una disfibrinogenemia no la podemos descartar. Si bien las concentraciones de fibrinógeno realizadas con técnica de Clauss (que mide proteína coagulable) y por termoprecipitación (que lo mide como proteína total), no dieron diferencias significativas. El único caso que tuvo TT

prolongado (Caso 29 Tabla V) y que se hicieron pruebas con diluciones salinas (que corrigieron el TT largo con NaCl) y con CaCl_2 (que no corrigió) son sugestivas de disfibrinogenemia. Esta paciente tuvo CA hepático que es una entidad a la que frecuentemente se le encuentra asociada a disfibrinogenemia.

Por otra parte se han informado aumentos en residuos de ácido siálico en el fibrinógeno de pacientes con cirrosis hepática y en CA renal. El exceso de ácido siálico prolonga el TT y éste se corrige cuando se trata con neuraminidasa. Esta posibilidad no la podemos descartar como tampoco la de la presencia de glicoproteínas ricas en histidina, que se han relacionado con TT prolongado.

En los casos donde se determinaron PFF y LE éstos no se encontraron elevados, por lo que el TT prolongado no parece ser secundario a antitrombinas. Ningún caso de los que tuvieron TT prolongado y sangrado anormal tuvo efectos de anticoagulantes exógenos (heparina).

Las alteraciones de las concentraciones de las trombinas α, β , y γ , se descarta ya que los testigos dieron valores normales. Tampoco se piensa que el TT prolongado sea secundario a anticuerpos anti-fibrinógeno, ya que los pacientes no presentan los padecimientos que se asocian a esta situación.

VI. CONCLUSIONES

- 1.- Las pruebas de la hemostasia realizadas en el periodo pre-operatorio tienen suficiente sensibilidad para identificar las alteraciones de la hemostasia en los pacientes quirúrgicos.
- 2.- Las técnicas disponibles son suficientes para identificar las causas de las alteraciones, cuando las pruebas miden la primera y segunda fases de la coagulación. Para aclarar la naturaleza de las alteraciones de la tercera fase de la coagulación es necesario ampliar los estudios de laboratorio.
- 3.- Los pacientes con trombocitopenia secundaria a púrpura trombocitopénica autoinmune, no necesariamente deben ser transfundidos con plaquetas en el periodo preoperatorio, ya que los episodios de sangrado quirúrgico fueron en igual proporción en el grupo que recibió plaquetas que en el que no las recibió. Los pacientes que recibieron las plaquetas y sangraron se demostró que eran refractarios, ya que no demostraron el ascenso de plaquetas, que tuvieron los no refractarios ni la corrección del tiempo de sangrado a los 60 min. después de la transfusión. Tampoco demostraron el ascenso de plaquetas al término de la operación ni a las 24 hrs. post-cirugía. Estos pacientes no respondieron a la esplenectomía.

- 4.- El TTP_a y el TP en plasmas normales que fueron diluidos con solución salina para obtener las concentraciones teóricas del 75%, 50% y 25% de los factores de la coagulación, resultaron adecuadas para decidir la terapia sustitutiva y vigilar su evolución.
- 5.- Los criterios para la terapia sustitutiva con fracciones de sangre, basada en los niveles de hemostasia en condiciones traumáticas, resultaron adecuadas especialmente cuando hubo hipocoagulabilidad por factores de la primera y segunda fases de la coagulación. Esto no fue valioso para alteraciones de la tercera fase de la coagulación, con características de inhibición.
- 6.- El análisis de las diferencias entre los grupos de sangrado normal y anormal en el período preoperatorio fueron: predominio de hombres en el grupo de sangrado normal; terapia preoperatoria con vit. K y TT prolongados en los pacientes con sangrado anormal.
- 7.- Sólo en unos pocos casos fue posible identificar las causas de las alteraciones del TT: una por hiperfibrinogenemia, otra por disfibrinogenemia. En los demás casos se demostró un efecto inhibitorio en el plasma del paciente sobre el normal. Este defecto se mejoró con la administración de plasma, pero no cuando los enfermos fueron tratados con vit. K. Se pue-

den considerar poco probables como causas responsables de estas alteraciones y con base en los resultados que obtuvimos, las siguientes: Hipofibrinogenemia, deficiencia de anti-trombina III, efecto inhibitorio por anticoagulantes exógenos (heparina) y endógenos (antitrombinas, especialmente VI o productos de fragmentación por la fibrinólisis), proporciones anormales de trombina , y en los reactivos utilizados, y finalmente alteraciones en las concentraciones de proteínas plasmáticas, ya que todas estaban dentro de los límites normales. Dos posibilidades deben explorarse: presencia de glicoproteínas ricas en histidina y alteraciones por incremento en los residuos del ácido sílico en los fibrinógenos de esos pacientes.

- 8.- Se requiere de un estudio prospectivo basado en estas observaciones y con mayor metodología para aclarar las causas del TT prolongado en estos casos.

VII.- A N E X O S

ANEXO I

EVALUACION CLINICA DEL PACIENTE

1) Antecedentes familiares .

Familiares con tendencia hemorrágica.

2) Antecedentes personales.

Alimentación.- Desnutrición; aporte de vitamina K.

Alcoholismo.

Contacto con sustancias químicas potencialmente mielo
tóxicas, en el trabajo o en el domicilio (disolventes,
pegamentos, thinner, insectisidas, etc.).

Medicamentos recibidos, tipo, tiempo, dosis; equimo-
sis post-aplicación IM de medicamentos. Relación del
medicamento con la lesión hemorrágica.

Antecedentes transfusionales: sangre total o fraccio
nes. Cantidad, fecha de la última transfusión, reac-
ciones transfusionales.

Menstruación: cantidad, duración, frecuencia. La pre-
sencia de coágulos, escurrimiento a través de la toa-
lla sanitaria y más de un cambio nocturno, generalmen
te son signos de sangrado excesivo.

Enfermedad hepática.

Hipertensión arterial.

Magnitud del sangrado post-parto.

3) Padecimiento Actual.

Manifestación hemorrágica: tipo, localización, edad -
de inicio, abundancia, duración, frecuencia, presenta
ción espontanea o factores desencadenantes, secuelas,
tratamiento y respuesta.

4) Aparatos y sistemas,

Identificación de enfermedades que pueden relacionarse etiológicamente con la manifestación hemorrágica: colagenopatía, cirrosis, nefropatía, infección, tumor maligno: secuelas óseas, articulares, neurológicas y vasculares.

5) Estudios de laboratorio y/o gabinetes previos.

Anotarlos en orden cronológico.

6) Exploración física,

Hipertensión arterial, hipertermia, cálculo de superficie corporal, volumen sanguíneo y volumen plasmático con base al peso y talla, datos que son útiles para el cálculo del tratamiento sustitutivo.

Fondo de ojo: presencia de hemorragia, retinopatía anémica, hiperviscosidad, etc.

fosas nasales: Lesión local, telangiectasias, taponamientos.

Mucosas orales: Lesiones hemorrágicas, telangiectasias en labios, lengua, paladar y piso de boca. Características del epitelio de la lengua. Visceromegalia, adenopatía, dolor óseo.

Describir las características de las lesiones hemorrágicas: tipo, localización, extensión, pápulas hemorrágicas (púrpura palpable), etc. En casos de hematoma muscular o hemartrosis, evaluar el estado funcional del aparato locomotor.

ANEXO II

RELACION DE LOS TIEMPOS DE COAGULACION Y CONCENTRACION DE
LOS FACTORES CON DILUCIONES CON SOLUCION SALINA FISIOLÓGICA.

PRUEBA	TIEMPOS DE COAGULACION A CONCENTRACIONES			
	100 %	75 %	50 %	25 %
TTP _a	32.5"	40.6"	55.7"	-
TP	12.0"	15.8"	19.8"	29.7"
TT	28.0"	32.4"	37.8"	43.1"

ANEXO III
BASES PARA LA TERAPIA DE REPOSICION

FACTOR	VIDA MEDIA BIOLÓGICA	CONCENTRACION MINIMA PARA HEMOSTASIA.		FORMULA PARA EL CALCULO DE LA DOSIS		FRACCIONES DE SANGRE
		BASAL	CON TRAUMATISMO	DOSIS INICIAL	DOSIS DE MANTENIMIENTO	
I	3-6 días	100mg/dl	150mg/dl	150 - NIVEL REAL x kg peso x 0.4	Igual c/48-72h. según control	Crioprecipitados de 200mg/u Plasma fresco 300mg/100ml. Fibrinógeno concentrado.
II	3-4 días	15 %	25 %	1) 12.5 ml x kg peso 2) 40 x kg peso x .4 $x \frac{\text{nivel deseado} - \text{nivel real}}{100}$	Igual c/72 h.	PLASMA
V	24 h.	15 %	25 %		Igual c/24 h.	PLASMA FRESCO
VII	6 h.	6 %	10 %		Igual c/6 h.	PLASMA FRESCO
X	2 días	10 %	25 %		Igual c/48 h.	PLASMA
XI	2-3 días	15 %	20 %		Igual c/48 h.	PLASMA
XII	2-3 días	10 %	20 %		Igual c/48 h.	PLASMA
VIII	12 h.	15 %	30 %	1) 50ml x kg peso x nivel deseado (en decimal) 2) $\frac{\text{nivel deseado} \times \text{kg peso} - \text{unid. FVIII}}{2}$	Igual c/12 h.	1 unidad FVIII-1 ml plasma Plasma fresco. Crioprecipitados: cada unid. equivale a 100 ml de plasma o 100 unid. de FVIII. Concentrados de FVIII.
V.W.	24 h.	15 %	30 %	50ml x kg peso x .3	Igual c/24 h.	Plasma fresco. Crioprecipitados.
IX	36 h.	25 %	40 %	40 ml x kg peso x nivel deseado.	Igual c/24 h.	Plasma fresco. Concentrado F IX.

ANEXO IV
EQUIVALENCIA DEL 8% DEL VOLUMEN SANGUINEO TOTAL
EN RELACION CON EL PESO CORPORAL.

PESO CORPORAL (Kg)	VOLUMEN SANGUINEO TOTAL (ml)		8% DEL VOLUMEN SANGUINEO TOTAL.	
	Hombres	Mujeres	Hombres	Mujeres
100	7000	6500	560	520
90	6300	5850	504	468
80	5600	5200	448	416
70	4900	4550	392	364
60	4200	3900	336	312
50	3500	3250	280	260
40	2800	2600	224	212

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

1. Akwari, O & Itani, K.M. Splenectomy for primary and recurrent immune thrombocytopenic purpura (IPT). *Ann Surg.* 1987; 206; 529-41.
2. Barber A., Green D et al. The bleeding time as a preoperative screening test. *Am J Med* 1985; 78; 761-4.
3. Boks A., Brommer E, et al. Hemostasis and fibrinolysis in severe liver failure and their relation to hemorrhage. *Hepatology* 1986; 6; 79-86.
4. Brecher G & Cronkite P Morphology and enumeration of human - blood platelets. *J Appl Physiol.* 1950; 3;365.
5. Buckell M. The effect of citrate on euglobulin methods of estimating fibrinolytic activity. *J Clin Path.* 1958; 11;403.
6. Carr M.E., Gabriel D. Hyperfibrinogenemy as a cause of prolonged thrombin clotting time. *South Med J.* 1986; 79;563-70
7. Clauss A. Gerinnung physiologische schnell method zurbestimmung desdibrinogens. *Acta Hematol.* 1957; 17;237.
8. Corrigan J. Monete J., et al. Prothrombin antigen and coagulant activity in patients with liver disease. *JAMA.* 1982; 248;1736-9.
9. Dawson A, Jones P & King D. Splenectomy in the management of haematological disease. *Br J Surg.*1987; 74; 353-7.
10. Edwards R.L. Rickles F & Cronlund M. Abnormalities of blood coagulation in patients with cancer. *J Lab Clin Med.* 1981; 98; 917-28.
11. Eisenberg J.M., Clarke J et al. Prothrombin and partial thromboplastin times as a preoperative screening tests. *Arch Surg* 1982; 117;48-51.

12. Escribana, Maluenda M et al. Alteraciones de la coagulación en hepatopatías. Sangre. 1982; 27:680-704.
13. Fareed J. Coagulant amidolytic properties of human and bovine thrombins. Implications in standardization and diagnostic use. Sem Thromb hemost. 1986; 12:310.
14. Foster J.B., De Natale A et al. Determination of plasma fibrinogen by means of centrifugation after heating. Am J clinical Path. 1959; 31:42.
15. Hardisty R.M. & Ingram G.I. Bleeding disorders investigations and management. Black Well Scientific Publication Oxford 1965,
16. Hawiger J et al. J. Lab Clin. Med. 1970; 75:93-108.
17. Ivy A.C. et al. The Bleeding tendency in jaundice. Surg. Gynec. Obstet. 1935; 60:781.
18. Koler F., Loeliger A & Duckert F. Act. Haemat. 1951;6:1.
19. Lang L.P. Transfusión support in acquired coagulation disorders. Clin. Haematol. 1984; 13:137-49.
20. Lawrence L, Leung K. interaction of Histidine rich glycoprotein with fibrinogen and fibrin. 1986; 77:1305.
21. Martínez J. the role of sialic acid in the dysfibrinogenemy associated with liver disease. Distribution of sialic acid on the constituent chain, blood 1983; 61:1192-1202.
22. Mielke J, Kenshiro et al. The standardized normal Ivy bleeding time and its prolongation by aspirin, Blood 1969; 34:64.
23. Munson A. Evaluation and management of coagulation disorders in elective surgical patient. Laryngoscope . 1981 91:1484-500.
24. Narvaiza M.J. Fernández J. et al, Role of sialic acid in acquired dysfibrinogenemia associated with liver cirrhosis Ric. Clin. Lab. 1986;16:563-8.
25. Osterud B. & Due J, Blood coagulation in patient with benign and malignant tumours before and after surgery. Scand J. Haematol. 1984; 32:258-64.

26. Owen C & Bollman, Bleeding. Disorders. Proc Biol Med 1948. 67:231.
27. Proctor r & Rappaport S I. The Partial Thomboplastin time with caolin. Am J Clin Path. 1961:36:212.
28. Quick A. Bleeding Prolens in clinical medicine. W. B. Saunders Company, Filadelfia. 1970:43,
29. Roberts H R & Cederbaum A I. The liver and Blood coagulation: Physiology and pathology. Gastroentology. 1982; 61: 297-320.
30. Ruiz A A Espontaneous reversal of acquired autoimmune dysfibrinogenemy probably due to and antiidiotypic antibody directed to and interespecies cross-reactive idiotype. - Expressed on antifibrinogen antibodies. Enviado a pública ción.
31. Ruiz R G & Jimenez Vazquez. Rev. Mex. Clin, 1965; 19:3.
32. Siefkin A D & Bolt R J . Valoración pre-operatorio de paciente con enfermedades hepáticas o gastrointestinales. Sangre. 1980; 4:1301-15.
33. Soria J, Soria C et al. Analysis of afibrin formation abnormality in case of multiple mieloma. Scand J Haematol. 1975; 15:207-18.
34. Van der Lelie J, Kerst J M et al Platelet volume analysis in thrombocytopenia in relation to bleeding tendency. Scand J Haematol. 1986; 37:25-8.