



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

**"Factores Químicos que intervienen
en la Hemofilia A en los Humanos"**

Trabajo Monográfico

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

Químico

PRESENTA:

Elva Elvira Ramírez Vidals

MEXICO, D.F.

1983



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 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.

INDICE DE CAPITULOS DE QUE CONSTA LA TESIS

- I. INTRODUCCION.
- II. AVANCES CONSIGNADOS EN TORNO A LA HEMOFILIA A.
- III. CARACTERISTICAS METABOLICAS Y BIOQUIMICAS INHERENTES A LA HEMOFILIA A.
- IV. AISLAMIENTO DEL FACTOR VIII DESTINADO AL TRATAMIENTO DE ALGUNOS CASOS DE HEMOFILIA.
- V. CONCLUSIONES.
- VI. BIBLIOGRAFIA.

I INTRODUCCION

I. I N T R O D U C C I O N

Definiciones:

La sangre es un líquido salino cuya función principal consiste en transportar el oxígeno, elemento indispensable para los organismos vivos. Además elimina materiales de desecho como las toxinas, mantiene el balance de agua y electrolitos y transporta una cantidad considerable de sustancias tales como hormonas y enzimas con fines ya sea nutrientes o de protección. (Fig. 1)

Las propiedades coagulantes de la sangre, empleadas por el organismo como sello en el caso de heridas, son debidas a la presencia de fibrinógeno, de la protrombina y a iones de calcio, así como a la participación de otros elementos identificados en el plasma. La falta de estos componentes da por resultado un sistema anormal de coagulación, ya sea defectuoso, lento o incluso inexistente, el cual recibe diferente nombre dependiendo de la causa que lo provoque (1).

Así, la hemofilia ha sido definida como un defecto -

hereditario provocado por la deficiencia o falta de un compuesto en la sangre, la cual sufre un decaimiento en su función coagulante (2). Se sabe, además, que este defecto es causado por un gene recesivo, estrechamente relacionado con el sexo, dado que se encuentra localizado en el cromosoma X femenino. Es típico de esta enfermedad que la madre sea portadora de ella sin padecerla, en tanto que los hijos varones suelen sufrirla con mucha mayor frecuencia (3) (4).

El compuesto responsable de la hemofilia pertenece a un grupo de proteínas denominadas Factores de Coagulación, de los cuales existen trece en el plasma (Tabla 1). El fibrinógeno, el Factor V y el Factor VIII están ausentes en el suero de la sangre normal, como resultado del proceso o coagulante.

El mecanismo de coagulación de la sangre involucra tres etapas principales: 1) formación de plasma tromboplastina, 2) conversión de protrombina a trombina, y 3) conversión de fibrinógeno a fibrina.

En el primer paso, el contacto del tejido dañado con la sangre provoca la activación del Factor XII, el cual reacciona con el calcio, y la activación de los Factores XI, IX, VIII, III, V y X para producir tromboplastina intrínseca o de la sangre. La tromboplastina extrínseca o de los tejidos se --

forma en menos de 12 segundos en partes como el pulmón o el cerebro en presencia de iones de calcio y de los Factores V, VII y X. Durante la segunda fase, la tromboplastina cataliza la conversión de protrombina a trombina, en un lapso de 8 a 15 segundos, con la ayuda de los Factores IV, V, VII y X. Finalmente, en la tercera etapa la trombina rápidamente convierte el fibrinógeno en fibrina la cual forma una red fibrosa que atrapa a los glóbulos rojos y forma el coágulo de la sangre. Aún cuando puede observarse que los trece Factores de coagulación intervienen en el proceso, la falta de uno sólo de ellos puede provocar grandes trastornos o enfermedades serias.

Se han distinguido dos tipos de hemofilia: A y B, -- las cuales indican una deficiencia importante del Factor -- VIII y del Factor IX respectivamente. En el presente trabajo se prestará mayor atención a la llamada hemofilia A.

II AVANCES CONSIGNADOS EN
TORNO A LA HEMOFILIA A

II. AVANCES CONSIGNADOS EN TORNO A LA HEMOFILIA A.

Desde 1930 se sabía que la hemofilia podía ser corregida mediante la transfusión de los elementos faltantes en la sangre. En nuestros días se conocen estos elementos como Factores, y específicamente el Factor antihemofílico o Factor VIII es el responsable de la hemofilia A.

La detección de la enfermedad se efectúa con métodos biológicos de coagulación, comparando con patrones establecidos, el tiempo requerido por la sangre del paciente en coagularse (5).

Uno de los obstáculos que se ha encontrado en el estudio de la hemofilia A, es la gran similitud que presenta con la enfermedad de Von Willebrand, ya que en ambos casos se detecta un bajo nivel del Factor VIII en la sangre. Sin-

embargo, ambas enfermedades difieren clínica, genética e inmunológicamente (6). En el caso de los hemofílicos, se encuentra en la sangre un bajo nivel del Factor VIII, compuesto de bajo peso molecular, pero además se encuentra un componente de mayor tamaño que afecta la agregación de plaquetas y que por lo tanto funciona como antígeno para el Factor VIII (22), y el cual no se encuentra en grandes cantidades en la sangre de personas con la enfermedad de Von Willebrand. Cuando un hemofílico recibe la transfusión, la actividad antihemofílica de su plasma alcanza el máximo previsto en base a la cantidad de Factor VIII administrada, y luego declina rápidamente. En el caso de la enfermedad de Von Willebrand durante la transfusión la actividad antihemofílica del plasma aumenta hasta más allá de la cantidad prevista (5).

Actualmente existen algunos métodos que permiten diferenciar ambas enfermedades. Entre éstos, se ha desarrollado uno en el Hemophilic Center del Churchill Hospital de Oxford, en el cual se determina el nivel del antígeno relacionado con el Factor VIII por electro inmunoensayos. Con este sistema, eminentemente cuantitativo, pudieron distinguirse claramente los dos grupos de pacientes, de un total de 83, donde 63 eran hemofílicos y el resto padecían la enfermedad de Von Willebrand. (7)

En la mayoría de los pacientes con la enfermedad de Von Willebrand existe una reducción correspondiente del Factor VIII y de su antígeno. El tiempo de sangrado se prolonga, existe una disminución en la adhesión de plaquetas y el Factor de Von Willebrand, medido como ristocetina inducida por la agregación de plaquetas, disminuye incluso hasta un nivel mucho más bajo del esperado por las mediciones del antígeno del Factor VIII. En una minoría de pacientes con enfermedad de Von Willebrand se han demostrado varias combinaciones de permutas en los compuestos sanguíneos que dan lugar a numerosas anormalidades. Esto sugiere que tanto el Factor VIII y su antígeno como la adhesión de las plaquetas y la falta de agregación de ellas como respuesta a la ristocetina, están sólo indirectamente relacionadas con la mutación genética que provoca la enfermedad de Von Willebrand. La capacidad del plasma hemofílico para producir un aumento del Factor VIII en la enfermedad de Von Willebrand, sugiere que debe existir en el plasma hemofílico humano alguna molécula funcional ausente en la enfermedad de Von Willebrand. (8).

En un trabajo realizado en la Universidad de Carolina del Norte, se hace una descripción de los fenotipos hemofílicos transmitidos como herencia dominante en tres genera-

ciones de mujeres. El fenotipo anormal se caracteriza por un tiempo parcial de tromboplastina y un consumo de protrombina ligeramente anormales, en tanto que el tiempo de sangrado, el de formación de protrombina y la prueba del torniquete se encuentran dentro de los límites normales. La concentración, en los casos estudiados, de Factores I, II, V, VII, IX, X y XII son normales, pero la actividad del Factor VIII está reducida hasta el 2 a 5% de los valores de control. Excepto este último valor, el resto de las constantes, tales como la agregación de plaquetas en presencia de ristocetina, ó los patrones proteínicos e incluso la concentración del antígeno relativo al Factor VIII son normales. De acuerdo a los estudios genéticos y de laboratorio realizados, se excluye la posibilidad de la enfermedad de Von Willebrand. (9)

La particularidad de la hemofilia de ser transmitida sólo por la madre ha hecho que la detección de los portadores sea de vital importancia para prevenir transtornos por esa causa. Así, algunos investigadores basaron sus pruebas en el hecho de que el plasma de pacientes con hemofilia clásica, además de la deficiencia del Factor VIII, presenta cantidades normales de material antígeno. Por inferencia, el plasma de los portadores debe resultar relativamente deficiente del Factor antihemofílico pero debe contener cantidades normales del antígeno: Mediante el análisis de 81 personas obligatoriamente portadoras de hemofilia, el 90% pudo --

ser identificado fácilmente por este método, y además se encontró que por lo menos las dos terceras partes de madres de individuos catalogados como casos aislados de hemofilia, resultaron identificadas como portadoras de la enfermedad. Esto lleva a la conclusión de que son raros los casos de mutación espontánea hacia la hemofilia. (10)

Otro método de detección de portadores emplea un anticuerpo del Factor VIII obtenido de conejo. La proteína -- del plasma que reacciona con este anticuerpo debe estar estrechamente referida al antígeno del Factor VIII. Para detectar a los portadores se empleo la relación % de actividad del Factor VIII contra el % de actividad del antígeno. Con este método se estudiaron 37 mujeres normales, 33 portadoras obligatorias, 12 portadoras probables y 39 portadoras posibles, encontrándose los siguientes datos: 91% de las personas normales es decir 33 fueron identificadas como portadoras; 20 de las 39 portadoras posibles se clasificaron como portadoras, es decir 51%, y 10 de las 12 portadoras probables fueron identificadas positivamente, igual que las portadoras obligatorias. Los resultados indicaron que otras variables, como la cantidad de Factor VIII o del antígeno no mejoran los resultados. (11)

Lo anterior nos lleva a la conclusión de que existe un número mayor del sospechado de mujeres que transmiten la

enfermedad, lo cual se reafirma con el estudio realizado con el Oxford Haemophilia Center, donde 39 de 41 madres de casos aislados de hemofílicos fueron identificadas como portadoras. (12)

Para determinar la especificidad y sensibilidad de las técnicas actuales de detección de transmisores de hemofilia, tres investigadores efectuaron pruebas simultáneas por diferentes métodos de identificación de transmisores obligatorios y de no transmisores. Se encontró que la máxima precisión obtenida es de 90% (26 de 29) para la detección de portadores, pero se clasificaron como portadoras 21 personas que, sin embargo, eran normales. No obstante, las diferencias obtenidas parecen ser, en parte, resultantes de las técnicas de manipulación en el laboratorio y no de los métodos. Como conclusión, se dictaminó que la medición de la actividad del antígeno relativo al Factor VIII es la técnica más aceptable para reconocer el estado transmisor de la hemofilia en una persona. (14)

Sin embargo, esta última aseveración no es compartida por todos los investigadores de la hemofilia.

En otro estudio, realizado esta vez en Varsovia, se determinó la actividad del Factor VIII y de su antígeno en 78 personas identificadas como seguras, probables o poten-

cialmente portadoras de la hemofilia, así como en 74 mujeres normales. Los datos de éstas últimas servirían como patrones de comparación. En 11 de las 24 personas portadoras seguras se encontró un bajo valor de la actividad del Factor VIII, así como en 11 de las 26 portadoras probables y en 10 de las 28 portadoras potenciales, por otra parte, la relación de la actividad del Factor VIII con respecto a su antígeno disminuye significativamente, en 79% en las portadoras definidas, en 50% en los portadores probables y en 21% en los portadores potenciales. Esto lleva a la conclusión de que la determinación de la actividad tanto del Factor VIII como del antígeno correspondiente, es un método que lleva a resultados más precisos que la determinación aislada de la actividad del Factor VIII. (15)

Pese a las diferencias de opinión respecto a los métodos empleados para la detección de los portadores, nadie ignora la importancia de determinar las actividades del Factor VIII en el plasma, incluso para diferenciar la hemofilia de la enfermedad de Von Willebrand. Así mismo se encontró que la activación del plasma en adultos hemofílicos es menor que en niños hemofílicos. Los experimentos llevaron a la hipótesis de que el Factor VIII requiere, para su activación, de un activador específico o de un sistema de activación, el cual es detenido por inhibidores naturales, es decir, que puede sugerirse que la dificultad de coagulación en pacien-

tes hemofílicos no se debe a la ausencia o deficiencia del Factor VIII en el plasma, sino a la ausencia o deficiencia del activador de dicho Factor. De ahí que pueda decirse que en la enfermedad de Von Willebrand este sistema activador se encuentra presente, pero falta el Factor VIII. (16)

En la Universidad de Texas se pudo dilucidar que son necesarios múltiples Loci*, en por lo menos dos cromosomas, para la expresión normal de la actividad del Factor VIII. (17)

Los doctores Graham y Miller de la Universidad de Carolina del Norte hicieron una descripción de una familia donde el padre padecía una moderada hemofilia típica. La investigación se efectuó debido a que una de las hijas estaba clínicamente afectada. Esta chica presentó un fenotipo del que se supuso era heterocigoto con alelos no activos. Ella y sus dos hermanos presentaron los tres fenotipos posibles para heterocigotos del sexo femenino: a) clínicamente afectada, b) clínicamente normal pero fenotípicamente anormal, determinada por pruebas de laboratorio y c) clínica y fenotípicamente normal. (18)

La hemofilia A en mujeres ocasionalmente se confunde con la enfermedad de Von Willebrand. Tal es el caso de una-

* Loci.- Plurar de Locus.- Posición que ocupa un gene en el cromosoma.

señora de 53 años de edad con un historial de sangrados recu
rrentes y complicaciones, desde su infancia. Se encontró -
que tenía un nivel marcadamente bajo de actividad del Factor
antihemofílico, así como la relación de actividades del Fac-
tor VIII con respecto al antígeno; presentó un nivel normal-
de agregación de plaquetas por inducción de ristocetina y un
nivel normal de actividad del Factor de Von Willebrand, todo
lo cual es un cuadro típico de hemofilia A clásica. (19)

Existen también casos de hemofilia espontánea, es de de
cir, de casos donde los antecedentes genéticos no permiten -
suponer la presencia de la enfermedad. Aún cuando, como he-
mos visto, estos casos son aislados, existen sin embargo en-
la literatura reportes de aquellos que se han detectado. Co
mo ejemplo, citamos el caso de una niña de 11 años de quien-
se dictaminó que no habían existido trastornos sanguíneos -
hasta en tres generaciones sucesivas. Sin embargo, la niña-
tenía menos del 1% de globulina antihemofílica. La madre de
la paciente tenía una concentración de globulina antihemofí-
lica del 200%, lo que añadido a una concentración ligeramen-
te alta del antígeno del Factor VIII, permitió desechar la -
posibilidad del estado transmisor de la hemofilia por la ma-
dre. (21)

La importancia de la elección de las pruebas de labora
torio adecuadas queda de manifiesto por el caso de una ni-

ña de 5 años, en quien se detectó la presencia de un antígeno del Factor VIII y del Factor IX, después de haber padecido hemorragias moderadas durante varios años. Mediante inmunoelectroforesis se detectó una cantidad anormal de la fracción correspondiente a β 1 A - globulinas, lo que no pudo ser identificado por electroforesis en papel o en pruebas de difusión en gel. (23)

Aún cuando en principio el método más acertado para detener las hemorragias por hemofilia es la transfusión o administración de globulina antihemofílica, algunas investigaciones han encontrado que en sujetos que han sufrido algunas transfusiones se desarrollan anticuerpos que inhiben o anulan los efectos del Factor VIII, e incluso en algunos casos se han observado síntomas de shock. (24)

Al parecer, la única terapia efectiva es la transfusión de intercambio, es decir, la sustitución total del plasma hemofílico, de manera que no haya posibilidad de la creación de anticuerpos. (24)

**III CARACTERISTICAS METABOLICAS Y
BIOQUIMICAS INHERENTES A LA
HEMOFILIA**

III. CARACTERISTICAS METABOLICAS Y BIOQUIMICAS INHERENTES A LA HEMOFILIA

Son muchos los estudios realizados para definir el estado bioquímico o metabólico que se presenta en el caso de la hemofilia. Esto resulta de gran utilidad tanto en función de un diagnóstico prematuro, como para recurrir a todas las posibles soluciones en el caso de las enfermedades graves.

Una clara visión de la situación bioquímica general resulta imprescindible para el conocimiento de las causas y efectos de la hemofilia, pero el establecimiento preciso de los compuestos ya sea del plasma o de todos aquellos involucrados en los trastornos provocados por la coagulación deficiente es una tarea estadística que requiere de numerosos casos estudiados bajo las mismas condiciones. Es obvio que la dificultad de efectuar estas pruebas así como los adelantos que se presentan entre uno y otro caso, no permiten establecer sin lugar a dudas el tipo de metabolismo específico ocasionado por la hemofilia A. En base a esto, se citan algunos estudios de los más significativos, sin que esto quiera de

cir que deban estar todos completamente de acuerdo o que - - sean invariables.

En Moscú, las investigaciones realizadas llevaron a la conclusión de que en la Hemofilia A el tiempo de recalcificación del plasma aumenta considerablemente. En cuanto al consumo de protrombina, en individuos sanos fué de 6.4 u/ml y en hemofílicos de 0.84 a 0.89 unidades por mililitros. La inactivación de la trombina, que normalmente ocurre en 32 minutos aproximadamente, no tuvo lugar en el caso de pacientes hemofílicos, en quienes la administración de globulina anti-hemofílica restaura la formación de trombina y su inactivación. (25)

Algunos estudios demuestran que en los pacientes hemofílicos el máximo nivel del Factor VIII en la sangre se alcanza en los primeros minutos después de la transfusión. La renovación de esta actividad va a reconocerse por tres fases: una fase inicial, con duración de una o dos horas, durante - la cual la actividad decae hasta 3 ó 4% del valor máximo. En la fase intermedia, de 2 a 20 horas, este nivel se mantiene o bien aumenta ligeramente y finalmente en las últimas horas la actividad decrece gradualmente hasta el nivel basal. Se llama período de estabilización al tiempo transcurrido desde la administración del Factor VIII hasta la fase final, y su duración está correlacionada al nivel máximo alcanzado de --

factor VIII. (26)

La supervivencia del Factor VIII en la sangre de hemofílicos se estudió administrando a 6 pacientes Factor VIII marcado con Iodo radiactivo (Iodo 125) y empleando a 6 personas sanas como control. El Factor VIII marcado mostró una desaparición bifásica de 2.9 horas para la primera fase y 18.6 horas para la segunda. Esta supervivencia fué similar para las personas sanas y para las hemofílicas. Las formas de Factor VIII de más alto peso molecular desaparecieron más rápidamente que las otras. Esto se estableció mediante el análisis de las fracciones obtenidas por cromatografía en gel de plasma recuperado a diferentes intervalos de tiempo. La fracción del Factor VIII recuperada por crio-precipitación del plasma, representa 90% de la radiactividad inicial. (27)

La distribución del fibrinógeno se estudió en diez pacientes con hemofilia A, empleando fibrinógeno autólogo con Iodo 131 y fibrinógeno homólogo con Iodo 125. ambos se comportaron similarmente. En pacientes con hemofilia A la proporción catabólica y sintética de fibrinógeno fueron marcadamente aumentados en tanto que la concentración de plasma fibrinógeno, el fibrinógeno intravascular e intersticial y la relación de transferencia transcapilar de fibrinógeno fueron prácticamente iguales. Las pequeñas diferencias encontradas fueron debidas principalmente a la respuesta personal

del paciente al fibrinógeno. (28).

Una nueva técnica para medir la cantidad de anticuerpo neutralizante del Factor VIII absorbido por el factor - - VIII, fué desarrollada en el Churchill Hospital de Oxford. - El método fué aplicado con Factor VIII proveniente de donantes sanos, y con antígeno proveniente de pacientes con hemofilia A. Cuando la absorción fué estudiada para un relativo exceso de anticuerpo, se encontró que la mayor parte de las muestras hemofílicas absorben algo de este anticuerpo pero - en cantidad menor de la normal. Cuando se empleó una concentración menor de anticuerpo y ésta había sido absorbido con el Factor VIII normal, pudieron dividirse los antígenos hemofílicos en dos tipos. Los pacientes diagnosticados con hemofilia A+ proporcionan un antígeno que absorbe una cantidad normal de anticuerpo, el cual no es absorbido por el antígeno de personas son hemofilia A-. (29)

Estudios recientes, empleando técnicas inmunológicas han indicado que existen por lo menos, dos formas de la enfermedad:

Los plasmas de la mayoría de los pacientes de hemofilia A son incapaces de neutralizar los anticuerpos del Factor VIII que se presentan naturalmente. Sin embargo los plasmas de una pequeña proporción de pacientes de hemofilia-

A son capaces de neutralizar los anticuerpos del Factor VIII. La interpretación obvia de estos resultados es que los plasmas que neutralizan los anticuerpos del Factor VIII contienen una forma de Factor VIII antigénicamente activa pero funcionalmente inactiva, mientras que el Factor VIII está completamente ausente de aquellos plasmas que no tienen efecto sobre el anticuerpo del Factor VIII.

La hemofilia A puede ser debida, por lo tanto, al fallo de sintetizar el Factor VIII o a la síntesis de una molécula de Factor VIII funcionalmente inactiva. En ambos casos, el efecto es el de una deficiencia del Factor VIII.

Se ha sugerido el empleo de los términos A+ y A- para distinguir las formas de hemofilia A con y sin actividad neutralizadora de anticuerpos respectivamente.

Al parecer, menos del 10% de todos los pacientes de hemofilia A son A+. La herencia de éstas dos formas de hemofilia es la misma y no se han descrito diferencias clínicas definidas, ambos tipos de hemofilia A han sido hallados en la misma familia.

Todos los estudios anteriores revelan la diversidad de caminos que han tomado los investigadores en su búsqueda hacia las posibles soluciones a la hemofilia o hacia la pre-

vención de los males mayores causados por esa enfermedad.

La literatura cita algunos de los trabajos más importantes y por ellos podemos ver que la naturaleza exacta tanto de los Factores de coagulación de la sangre como de sus anticuerpos y antígenos, no está perfectamente dilucidada. Aun cuando se conocen ya los mecanismos de reacción de algunos de estos componentes de la sangre, no ha sido posible determinar como se originan en el organismo o como pueden ser destruidos. Muy grande es la ayuda en que los últimos 10 años se ha podido obtener de animales sometidos a la hemofilia y los cuales se estudian y observan con sumo cuidado (35), así que es de esperarse que está cercano el momento en que los pacientes afectados de hemofilia encuentren un tratamiento rápido y eficaz que les evite los problemas que padecen actualmente.

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS:

La gravedad clínica de la alteración varía mucho de familia a familia, pero entre los varios miembros afectados de una familia, la gravedad de la enfermedad es aproximadamente la misma. Mientras se acepta en general que la hemorragia verdaderamente espontánea, es decir, la hemorragia no relacionada con trauma, no se presenta con la hemofilia, el trauma puede ser tan ligero que el paciente no lo haya nota-

do y, por lo tanto, la hemorragia puede aparecer como espontánea.

CLASIFICACION.

La gravedad de la enfermedad está relacionada directamente con el nivel de Factor VIII, en un espectro continuo que va desde los pacientes que llevan una vida completamente normal hasta los que deben ser frecuentemente hospitalizados.

Es conveniente y útil clasificar los casos en tres grupos principales: graves, moderados y ligeros. Los casos graves tienen menos de 1% de Factor VIII y la mayoría, si no todos los pacientes sufren de hemartrosis. Tienen una historia de hemorragias que vienen desde la infancia, a menudo como resultado de la circuncisión.

Los casos moderados tienen niveles de Factor VIII -- que van del 1 al 5%; la mayoría de los pacientes sufren de hemartrosis ocasionales pero pueden llegar a la edad adulta sin deformidades mutilantes. Los casos ligeros tienen niveles de Factor VIII que van del 6 al 30%. Estos pacientes sufren raramente de hemartrosis y llevan una vida activa y -- prácticamente normal; su diagnóstico no se hace hasta el final de la adolescencia y muchos de ellos participan activamente en los deportes. Muy a menudo se empieza a poner aten

ción en este tipo de hemofilia ligera cuando se presenta una hemorragia consiguiente a una extracción dentaria o cualquier otra operación de cirugía menor.

Estos pacientes pueden tener períodos de completa remisión, que puede durar años, especialmente después de la pubertad.

EXTRACCION DENTARIA.

Un síntoma común a todas las formas de hemofilia es la hemorragia excesiva consiguiente a una extracción dentaria.

HEMATOMAS.

Los hematomas son usualmente subcutáneos o intramusculares.

COMPLIACIONES NEUROLOGICAS.

La compresión de un nervio periférico puede ocasionar neuropatías periféricas con dolor agudísimo, parestesias y atrofia muscular.

La compresión es casi siempre consecuencia de una hemorragia intramuscular y puede producir la atrofia de un - -

miembro, e incluso, la pérdida del reflejo de un tendón pro fundo.

HEMARTROSIS.

Las hemartrosis son la indicación más frecuente de la necesidad de hospitalización. El orden, por frecuencia - decreciente de afectación, es el siguiente: rodilla, tobillo, cadera, codo, muñeca y hombro.

HEMATURIA.

La hemorragia de los riñones en la hemofilia es a me nudo causada por trauma, puede ser debida a una contusión en el riñón y ocasionalmente a infección. La hematuria se presenta en aproximadamente el 20% de los casos moderados y gra ves y el 5% de los ligeros.

EPISTAXIS.

Son comunes en la hemofilia y en algunos casos constituye el síntoma principal, sin embargo, menos del 1 por - 1000 de los pacientes que se presentan con epistaxis como in dicación única de tendencia hemorrágica demuestran tener hemofilia u otro estado relacionado con ella.

Parece por lo tanto superfluo investigar todos estos pacientes en busca de una diátesis hemorrágica, a menos que-

se tenga intención de operar.

QUISTES OSEOS Y SEUDOTUMORES.

Los quistes hemofílicos, conocidos también como seudotumores son una rara pero peligrosa complicación de la hemofilia.

**IV AISLAMIENTO DEL FACTOR VIII DESTINADO
AL TRATAMIENTO DE ALGUNOS CASOS
HEMOFILIA**

IV. AISLAMIENTO DEL FACTOR VIII DESTINADO AL TRATAMIENTO DE ALGUNOS CASOS DE HEMOFILIA.

Como se ha definido originalmente, el Factor VIII - se relaciona con la hemofilia, por lo que se le considera el único medio de prevención o de curación de dicha enfermedad.

El método general consiste en administrar al paciente, vía intravenosa, plasma conteniendo una cierta cantidad de Factor VIII. La preparación de este plasma puede hacerse por diferentes caminos, para llegar al mismo resultado.

En el caso de la hemofilia, el Factor VIII administrado tiene una vida media de 12 horas, un poco más corta -- que en el caso de la enfermedad de Von Willebrand. (36)

Dado que la estructura bioquímica exacta del Factor VIII permanece incierta, los problemas para seleccionar el método de preparación del plasma se multiplican. Aparentemente, los descubrimientos de laboratorio para la hemofilia y la enfermedad de Von Willebrand son similares. La clasifi-

cación exacta puede depender de la respuesta al Factor VIII-
empleado en el tratamiento, y esta respuesta puede coincidir
con variaciones genéticas específicas. (37)

En algunos casos el paciente hemofílico presenta sín-
tomas de otros desórdenes, como resultado de una transfu- --
sión (24), pero también pueden presentar variaciones en la -
sangre, como generación de anticuerpos, tal como fué detecta-
do en un estudio del Doctor Frommel. Este investigador efec-
tuó pruebas en pacientes con severa hemofilia y en sus herma-
nos. Se encontró concordancia en la respuesta inmunológica-
en 19 parejas de hermanos, de 25. Las ses parejas restantes
no presentaron concordancia. Esto parece sugerir que en la -
hemofilia, los factores genéticos están involucrados en la -
reactividad inmunológica al Factor VIII isólogo, normal. (38)

Un método simple y económico de preparación del plas-
ma con Factor VIII es la crioprecipitación. Empleado para --
tratar 18 pacientes con hemofilia severa durante períodos de
sangrado, la hemostasis clínica se completó con pequeñas in-
fusiones diarias del material. (39)

En otra evaluación del Factor VIII preparado por es-
te método, se trataron 8 pacientes hemofílicos durante 11 --
crisis de sangrado. Durante los ensayos in vitro se observó
una amplia variación de los resultados: alrededor de 113 uni

dades del factor antihemofílico crioprecipitado. La actividad del crioprecipitado, después de la transfusión en los pacientes, fue de 81% en promedio de la actividad observada in vitro. La ventaja de este método de preparación del Factor VIII es que es fácil y económico y puede ser preparado por el banco de sangre de cualquier hospital sin requerir de otro proveedor. Además, no se han observado complicaciones excesivas cuando se ha utilizado durante las hemorragias de los pacientes hemofílicos. (40)

A pesar de las ventajas de la recuperación del Factor VIII de plasma por crioprecipitación, muchos investigadores siguen experimentando nuevos métodos en su búsqueda hacia una solución más difícil o más eficaz para la hemofilia.

Así se ha investigado la separación del factor antihemofílico a partir del riñón de cerdo, de perros y de humanos, utilizando preparaciones de benceno-amino-peptidasa. -- Filtrando en gel se separa el factor antihemofílico sin que haya detectado ningún otro Factor de coagulación en las preparaciones purificadas. El factor así obtenido se preserva con cloruro de magnesio; para obtener su máxima activación se requiere de incubación a 40°C en presencia de cloruro de manganeso. La técnica de filtración óptima emplea Gel 6-200 Sephadex, con lo que se obtiene un Factor VIII de peso molecular entre 25,000 y 28,000, excluyendo el resto de las pro-

teínas y garantizando así su máxima pureza. La diferencia de peso molecular entre el Factor VIII preparado de plasma y el preparado de riñón, sugiere que este último debe ser la forma monómera a una sola de las unidades del factor antihe-mofílico de plasma. (41)

Cuando se ha obtenido el Factor VIII, es preciso que su pureza sea confiable, tanto como su caracterización a fin de evitar reacciones de rechazo en los pacientes a quienes se ha de administrar.

Una técnica de purificación, a partir del Factor VIII crioprecipitado, consiste en la adsorción de los contaminantes en una columna cromatográfica con hidróxido de aluminio-soportado en celulosa con citrato de calcio. El producto final resultó homogéneo al ser examinado por electroforesis, por sedimentación y por inmunolectroforesis. (42)

Es importante que la conservación de la sangre, cuando se destina a hemofílicos, sea adecuada, ya que las variaciones en la temperatura de almacenamiento o de la concentración del estabilizador, afecta no sólo la actividad antihemofílica del plasma sino también la vida media del Factor VIII o de otros componentes como la protrombina. (43)

Como puede observarse, la manipulación del plasma --

conteniendo elevadas concentraciones del Factor VIII es de capital interés tanto como su preparación.

Dado que la mayor parte de los estudios acerca de la hemofilia permanecen a nivel experimental, los avances en este terreno son siempre relativos, al menos, en tanto no se tenga la certeza de que la composición propuesta para los diversos elementos sanguíneos sea la correcta, y en tanto el mecanismo de reacción de todos estos elementos permanezca en el plan de hipótesis. No obstante, ya los conocimientos que se tienen permiten abrigar grandes esperanzas a todos aquellos que se ven afectados por estos defectos de coagulación de la sangre.

V CONCLUSIONES

1.- La deficiencia del Factor VIII en la sangre es la causa directa de la hemofilia A, trastorno cuya sintomatología incluye hemorragias prolongadas y coagulación difícil o inexistente. Esta enfermedad se transmite por el cromosoma X.

2.- En el plasma de los pacientes hemofílicos, se encuentra un antígeno al Factor VIII, el cual no se detecta en el plasma con la enfermedad de Von Willebrand.

3.- Al parecer se requiere de una porción cuando menos de la molécula del Factor VIII para que este pueda ser inducido o sintetizado.

4.- Se ha detectado un crecido número de portadores de la hemofilia A, mayor del que podría esperarse. Esto reduce el número de casos espontáneos de hemofilia.

5.- La detección de mujeres transmisoras puede efectuarse mediante la medición de la cantidad de antígeno presente en el plasma, o bien haciendo reaccionar el plasma con un anticuerpo del Factor VIII obtenido del conejo. Otro método es la estimación del título del Factor antihemofílico.- La máxima precisión obtenida en la detección de portadores es de 90%.

6.- Se ha sugerido que la hemofilia puede deberse a la ausencia del activador del Factor VIII, más que a la deficiencia de éste.

7.- La inmunolectroforesis es un método de detección de globulinas anormales, más valioso que la electroforesis en papel o la difusión en gel.

8.- La duración de la actividad del Factor VIII introducido vía intravenosa en la sangre es de aproximadamente 12 horas.

9.- El método de obtención de plasma contenido a elevadas concentraciones del Factor VIII, que resulta más viable y económico es el de crioprecipitación.

10.- Es importante la conservación adecuada del plasma destinado a pacientes hemofílicos para evitar complicaciones laterales.

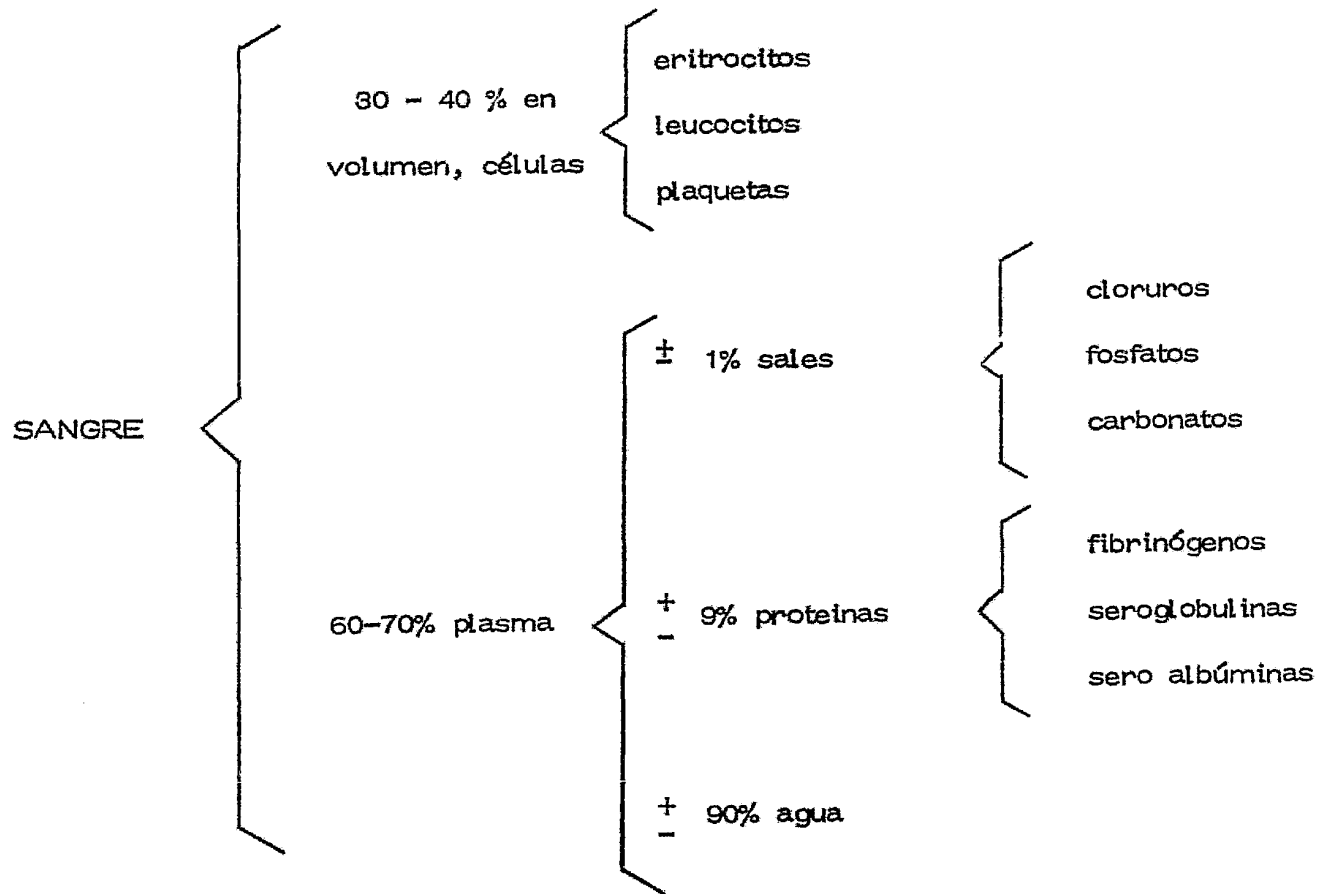


FIG. 11

TABLA I. FACTORES DE COAGULACION DE LA SANGRE

FACTOR	NOMENCLATURA
I	Fibrinógeno.
II	Protrombina.
III	Tromboplastina (Tejido).
IV	Calcio.
V	Factor lábil, proacelerina.
VI	No ha sido asignado.
VII	Factor estable, proconvertina.
VIII	Globulina antihemofílica (AHG).
IX	Factor de Christmas.
X	Factor Stuart-Power.
XI	Antecedente de plasma trombo- plastina.
XII	Factor Hageman.
XIII	Factor estabilizante de fibrina.

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

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

- 1.- Kirk Othmer Encyclopedia
2nd Ed.
Interscience Publishing, New York.
- 2.- Remington's Pharmaceutical Sciences.
15th Ed. 1975.
Mack Publishing Co., Pennsylvania.
- 3.- Fraser, Alex.
Heredity, Genes and Chromosomes.
Mc Graw Hill Book Co., New York, 1976.
- 4.- Gobbi, F.; Ascari, E.; Barbieri, U.
Congenital combined deficiency of Factor VIII (antihe--
mophilic globulin) and Factor V (proaccelerin) in two -
siblings.
Thromb. Diath. Haemorrh. 17 (1/2) 194-204, 1967.
Chem. Abstr. 67: 9508 n.
- 5.- Marx, J. L.
Hemophilia: new information about the "Royal Disease".
Science (U.S.A.) 1975, 188/4183 (41-42).
Excerpta Med. 76040505.

- 6.- Snyder, D.S.
Von Willebrand's disease, hemophilia A and Factor VIII.
Hum. Path. (U.S.A.) 1974, (5/3) 277-289.
Excerpta Med. 75050075.
- 7.- Gruson, R.; Hermon, P.B.
Diagnosis of Von Willebrand' disease by means of the
quantitative immunological assay of factor VIII rela-
ted antigen.
Dtsch. Med. Wschr. (Germany, W.), 1974 99/31 (1593-1595)
Excerpta Medica 75072535.
- 8.- Ekert H.; Girkin, B.G.
Recent advances in haemophilia and Von Willebrand's
disease.
Vox Sang. (Basel) Switz. 1975 28/6 (409-421).
Excerpta Medica 76072851.
- 9.- Graham J. B.; Banow, E.S.
Dominant inheritance of hemophilia A in three genera-
tions of women.
Blood (U.S.A.) 1975, 46/2. (175-188).
Excerpta Medica 76123377.
- 10.- Ratnoff, O.D.; Jones P.K.
The detection of carriers of classic hemophilia: H.P.
Smith memorial lecture.
Amer. J. Clin. Path. (U.S.A.) 1976, 65/2 (129-135).
Excerpta Medica 77019962.
- 11.- Hathway H.S.; Lules, M. L.
Carrier detection in classical hemophilia.
Pediatrics (U.S.A.) 1976 57/2 (251-254).
Excerpta Medica 77059402.

- 12.- Biggs, R.; Rizza, C.R.
The sporadic case of haemophilia A.
Lancet, (England) 1976, 2/7983 (431-433).
Excerpta Medica, 77144633.
- 13.- Ratnoff, O. D.; Jones, P. K.
The laboratory diagnosis carrier state for classic hemophilia.
Ann. Intern. Med. (U.S.A.) 1977, 86/5 (521-528).
Excerpta Medica 78091666.
- 14.- Klein, H. G.; Aledort, L. M. et al.
A cooperative study for the detection of the carrier state of classic hemophilia New Engl. J. Med. (U.S.A.) 1977 86/5 (521-528).
Excerpta Medica 78 093058.
- 15.- Mickalski, R.; Pniejnia O.W.; et al.
Detection of the carrier state for haemophilia A
Acta Haematol. Pol. (Pol.) 1977 8/3 (229-233).
Excerpta Medica 78225540.
- 16.- Mingers, A. M.
Studies on Factor VIII activation potential in hemophilia A plasma and its significance for the comprehension of hemophilia.
Eur. J. Pediat. (Germ. West) 1976, 123/3 (187-198)
Excerpta Medica 77161221.
- 17.- Cimo, P. L. Moake, J. L.; et al.
Inherited combined deficiency of Factor V and Factor VIII: report of a case with normal Factor VIII antigen and ristocetin-induced platelet aggregation.

Am. J. Hematol. (U.S.A.) 1977, 2/4 (385-391).
Excerpta Medica 75229664.

18.- Graham, J. B.; Miller, C.H.

The phenotypic range of hemophilia A carriers.
Amer. J. Hum. Genet. (U.S.A.) 1976, 28/5 (482-488).
Excerpta Medica 77184942.

19.- Joist, J. H.; Bouhasin, J. D.; Roodman, S.

Classic hemophilia A in female.
Acta Haematol. (Switz.) 1977, 58/2 (94-102).
Excerpta Medica 78146126.

20.- Samama, M.; Penatez, Ch.; Houissa, R.; et. al.

Haemophilia A in a girl with deletion of a part of the
long arm of one X Chromosome.
Path. Biol. (France) 1977, 25/supl. (10-17)
Excerpta Medica 78293892.

21.- Afifi, A. M.

Spontaneous haemophilia in a genotypically normal female.
A family study.
Acta Haemat. (Switz.) 1974, 52/2 (112-119).
Excerpta Medica 75113834.

22.- Zimmerman, T.S.; De la Pointe, L.; Edgington, T.

Interaction of Factor VIII antigen in hemophilic plas-
mas with human antibodies to Factor VIII.
J. Clin. Invest. 1977, 59(5) 984-9.
Chem. Abstr. 87: 3688 n.

23.- Reussi, C.; Altman, R. et. al.

Combined blood clotting Factor VIII and IX inhibitors
in a girl.

Thromb. Diath. Haemorr. 16(3-4) 549-58 (1966).
Chem. Abstr. 66:74182 v.

- 24.- Blaeker, F.; Fischer, K.; Landbeck, G.
Development of inhibitors after prolonged Substitution
of human antihemophilic globulin during severe hemophi-
lia.
Klin. Wochenschr 45(12) 630-3 (1967).
Chem. Abstr. 67: 62622.
- 25.- Rutberg, R.A.
Some peculiarities of the blood coagulation system in
hemophilia.
Probl. Gematol. Perelin Kroni 11(11), 9-15 (1966).
Chem. Abstr. 66:27194 r.
- 26.- Paulovsky, A.; Andino, A.; et. al.
Turnoner of Factor VIII.
Diath. Haemorr. Suppl. 13, 209-15 (1965)
Chem. Abstr. 67:41784 k.
- 27.- Over, J.; Sixma, J.
Survival of 125 iodine-labeled factor VIII in normals
and patients with classic hemohpilia. Observations on
the heterogeneity of human Factor VIII.
J. Clin. Invest. 1978, 62(2), 223-34.
Chem. Abstr. 89: 127370 p.
- 28.- Takeda, Y.; Chen, A.Y.
The metabolism and distribution of fibrinogen in pa-
tients with hemophilia A.
J. Clin. Invest. 46(12), 1979-85 (1967).
Chem. Abstr. 68:37557 s.

- 29.- Biggs, R.
Absorption of human factor VIII neutralizing antibody -
by factor VIII.
Brit. J. Haematol. 1974, 26(2), 259-67.
Chem. Abstr. 80:93686 t.
- 30.- Bluemel, G.; Fischer, M.; Lechner, K.
Plasma Kininogen level and proteinase inhibitors during
substitution therapy in patients with hemophilia.
Thromb. Diath. Haemorrh. 18(3-4) 364-74.
Chem. Abstr. 68:67685 z.
- 31.- Cooper, H. A.; Wagner, R.H.
Defect in hemophilic and Von Willebrand's disease
plasmas studied by a recombination technique.
J. Clin. Invest. 1974, 54(5), 1093-9.
Chem. Abstr. 82:2352 h.
- 32.- Holmberg, L.
Clinical, Genetical and biochemical aspects of factor
VIII.
Thisis, Malmo, 1974 (58p).
Excerpta Medica 76130812.
- 33.- Lazarchick, J. Hoyer, L.W.
The properties of immune complexes formed by human
antibodies to factor VIII.
J. Clin. Invest. (U.S.A.), 1977, 60/5 (1070-1079).
Excerpta Medica 78224863.
- 34.- Poon, M. C.; Wine, A.C., et. al.
Heterogeneity of human circulating anticoagulants
against antihemophilic factor VIII.
Blood (U.S.A.) 1975, 46/3 (409-416).
Excerpta Medica 76133912.

- 35.- Eodds, W.J.
Inherited hemorrhagic disorders.
J. Amer. Anim. Hosp. Ass. (U.S.A.) 1975, 11/3 (366-373).
Excerpta Medica 76100958.
- 36.- Bloom, A.L.; Peake, I. R.
Factor VIII and its inherited disorders.
Br. Med. Bull., (Inglaterra) 1977, 33/3 (219-224).
Excerpta Medica 78167800.
- 37.- Bloom, A.L. Peake, I. R.
Molecular genetics of factor VIII and its disorders.
Semin. Hematol. (U.S.A.) 1977, 14/3 (319-339).
Excerpta Medica 78145697.
- 38.- Frommel, D.; Allain, J.P.
Genetic predisposition to develop Factor VIII antibody
in classic hemophilia.
Clin. Immunol. Immunopathol. (U.S.A.) 1977, 8/1 (34-38).
Excerpta Medica
- 39.- Simson, L.R.; Oberman, H. A.; Penner, J. A.
Clinical evaluation of cryoprecipitated Factor VIII.
J. Amer. Med. Ass. 199(8) 554-8 (1967).
Chem. Abstr. 66:74833 h.
- 40.- Prentice, C.R.; Breckenridge, R.T. et. al.
Treatment of hemophilia (factor VIII deficiency) with
human antihemophilic factor prepared by cryoprecipitate
procedures.
Lancet 1967-I (7488) 457-60.
Chem. Abstr.: 66: 84660 p.

- 41.- Barrow, E. M.; Graham, J. B.
Kidney antihemophilic factor. Partial purification and
some properties.
Biochemistry 1968, 7(1), 3917-25.
Chem. Abstr. 70:9812 u.
- 42.- Legaz, M. E.; Schmer, G. et. al.
Isolation and characterization of human Factor VIII
(antihemophilic factor).
J. Biol. Chem. 1973, 248(11), 3946-55.
Chem. Abstr. 79: 40414 a.
- 43.- Honorato, R.; Novoa, E.; et. al.
Importance of anticoagulant concentration for the acti-
vation of some human blood clotting factors.
Thromb. Res. 1976, 8(6), 757-67.
Chem. Abstr. 85: 120659 g.