

TUMORES Y COAGULACION

MERCEDES BRENNEISEN P. V.

Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas

RESUMEN

Se practicaron en 53 sujetos, las siguientes pruebas: tiempo de coagulación por los métodos de Lee-White y Plasma recalcificado; tiempo de sangría, por el método de Ivy; recuento de Plaquetas, por el método de contraste de fase; retracción del coágulo, método cuantitativo; determinación de Protrombina, Factor I, Factor VIII, actividad Fibrinolítica, generación de Tromboplastina con las respectivas correcciones y la prueba de Lazo.

De este grupo, 38 correspondieron a pacientes del Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas, portadores de Linfomas diseminados en su mayoría (29) y de otras neoplasias (Cuadro A-1) (9 casos). Las edades de los pacientes fluctuaron entre 7 y 72 años, con una media de 37 años, 26 del sexo masculino y 12 del sexo femenino. Como control sirvieron quince sujetos normales cuyas edades fluctuaron entre 19 y 30 años siendo 8 del sexo masculino y 7 del sexo femenino.

Los resultados obtenidos fueron expresados en 12 gráficas y tabulados en 5 cuadros para establecer diferencias, primero entre el grupo control y el total de neoplasias, luego entre Linfomas y otras neoplasias y, por último, entre los estados de "Hipercoagulabilidad" e "Hipo-coagulabilidad" con los valores normales.

Se discuten los resultados obtenidos y se concluye que existen alteraciones en los factores de coagulación, tanto en más como en menos en los pacientes con neoplasias malignas diseminadas.

Desde tiempo inmemorial, el hombre ha estado interesado en la sangre y sus propiedades. La debilidad y la muerte que frecuentemente seguían a la rápida pérdida de este líquido escarlata a través de una herida demostraban, dramáticamente, al hombre de las cavernas, su importancia para la vida. Gracias a una de sus sorprendentes propiedades la sangre conserva su estado líquido mientras circula en el interior del organismo como un sistema de transporte de toda clase de sustancias necesarias para la vida, mientras que, cuando es necesario, puede con-

vertirse localmente en un gel insoluble para ocluir una solución de continuidad.

La importancia de la coagulación sanguínea ha sido reconocida desde los tiempos más remotos. En antiguos escritos hebreos ya se describe la Hemofilia como un estado patológico y las leyes de aquel tiempo establecían que si el primogénito moría a causa de una hemorragia provocada por la circuncisión, los hijos siguientes quedaban dispensados de esta ceremonia. Del mismo modo las antiguas leyes familiares de Egipto prohibían que una mujer tuviera más hijos si su primo-

génito moría a consecuencia de una hemorragia causada por una herida leve.

Los primeros intentos por comprender las propiedades coagulantes de la sangre datan de 1666 (1); y tuvieron su origen en la observación de Malpighi, al observar que un coágulo sanguíneo lavado contiene una trama de fibras. Más de un siglo después se idearon los primeros métodos para mantener la sangre en estado líquido fuera del cuerpo. A principios del siglo XIX, Buchanan (8) comparó la coagulación de la sangre con el cuajado de la leche y opinó que, en ambos casos, la acción de un fermento producía un coágulo insoluble a partir de una proteína soluble.

En 1859, Denis, demostró que en el plasma había un material que era precursor soluble de la fibrina del coágulo, esta proteína recibió el nombre de Fibrinógeno. En 1872, Schmidt (38), llegó a la conclusión de que la formación de fibrina dependía de la interacción de fibrinógeno y globulina sérica en presencia de trombina, observando que esta última podía extraerse después de formado el coágulo, pero no podía demostrarse en estado líquido. De esta observación dedujo que la trombina se hallaba en la sangre circulante en forma inactiva o de precursor y así se desarrolló el concepto de Protrombina.

En 1879, Hammaersten (19), utilizando un mejor método para preparar el fibrinógeno, demostró que podía convertirse en fibrina en presencia de trombina, sin la participación de albúmina ni globulina del suero. En 1879, Hayem (30), fue el primero en señalar la intervención de las plaquetas, en el fenómeno de la

coagulación, al demostrar que eran diferentes de los leucocitos y que al aglutinarse poseían una estructura fibrilar. Creyó que tal estructura reaccionaba con el fibrinógeno.

En 1890 Arthus y Pages (2) demostraron que el calcio era esencial para la coagulación de la sangre. En 1904, Morawitz (32), formuló la teoría clásica de coagulación individualizando cuatro factores necesarios para la formación del coágulo: Tromboplastina, Calcio, Protrombina y Fibrinógeno. La protrombina, por acción de la tromboplastina o tromboquinasa y en presencia de calcio, se convierte en trombina, la misma que actúa sobre el fibrinógeno y lo transforma en fibrina.

Cinco años más tarde Howel concibe el carácter dinámico de la coagulación o sea el proceso en el que se enfrentan fuerzas positivas coagulantes y fuerzas negativas anticoagulantes.

La teoría de Morawitz permaneció sin modificación durante treinta años, pero sirvió de guía y marcó un punto decisivo en la historia de la coagulación. En la década de 1930 el método de Quick para la determinación de la protrombina en una etapa, y el de Warner Brinkhous y Smith en dos etapas, pusieron los estudios de la coagulación al alcance del laboratorio clínico ordinario. Los estudios basados en estas investigaciones permitieron atribuir el trastorno hemorrágico del ganado, conocido como "enfermedad del trébol oloroso", a una disminución de la actividad protrombínica causada por la ingestión del trébol oloroso descompuesto. Este descubrimiento condujo al aislamiento e identificación de la Bis-hidroxi-

cumarina (Dicumarol) a partir del trébol descompuesto y dió como resultado el amplio uso de este producto en ciertas enfermedades cardíacas para evitar la coagulación intravascular.

En los últimos treinta años, han aumentado enormemente las investigaciones sobre la coagulación, adquiriendo importancia práctica en el diagnóstico y tratamiento de los trastornos hemorrágicos. Uno de los grandes obstáculos en el estudio de la coagulación ha sido las diversas nomenclaturas utilizadas por distintos investigadores para denominar a un mismo factor (hasta 14). Para facilitar la comunicación, en el Primer Congreso Internacional de Trombosis y Embolias se creó un Comité para establecer una clasificación uniforme, y así, se acordó el uso de números romanos para designar los factores de la coagulación.

El primer factor que se descubrió fue el V, por Owren, luego el VII y el X. Pawlosky observó que se producía una mutua corrección del tiempo de coagulación, tanto "in vitro" como "in vivo", mezclando la sangre de dos hemofílicos, era evidente que había que rectificar el concepto de que todos los casos de hemofilia se debían a la deficiencia de un solo factor. Ággeler y col. encontraron la respuesta en 1952 al estudiar un enfermo considerado como hemofílico que padecía en realidad una deficiencia del Factor IX, al parecer éste nuevo factor, distinto al VIII, era también necesario para una coagulación normal.

Con el adelanto de la ciencia y el estudio de otros trastornos hemorrágicos que tenían como deficiencia un factor plasmático único, se llegó al reconoci-

miento de los factores que se describen hasta la actualidad. A pesar de los avances experimentados en los mecanismos de la coagulación, todavía existen algunos puntos no muy precisos.

La aplicación clínica de estos conceptos ha permitido una mayor comprensión de las diversas coagulopatías, ya sean congénitas o adquiridas; por ejemplo, la coagulopatía de consumo, descrita en 40 entidades diferentes, es posible actualmente controlarla gracias a una terapia adecuada.

En las neoplasias malignas, se han descrito fenómenos de trombosis desde hace más de 100 años; Trousseau (48) fue el primero en describirlo. Jürgens y Trautwein en 1930, fueron los primeros en reportar una diátesis hemorrágica resultante de fibrinogenopenia idiopática en un paciente con cáncer prostático. Cinco años más tarde, Risak (37), encontró niveles bajos de fibrinógeno en pacientes con cáncer y Fleischhacker (12), describió en un paciente con carcinoma de estómago, niveles bajos de fibrinógeno y diátesis hemorrágica. Tagnon, en 1952 y 1953 (43) y (44), describió el primer caso verificado de fibrinogenopenia y fibrinolisis en un paciente con cáncer de próstata y demostró que el tejido prostático poseía una enzima proteolítica, tanto en el tejido neoplásico como en el normal. Esta enzima, al destruir los factores I, V y VIII y la fibrina, producía diátesis hemorrágica.

Estudios posteriores en neoplasias, señalan también fenómenos de coagulación intravascular y fibrinolisis, con o sin evidencia clínica.

Nos ha parecido interesante, ya que

no existen referencias nacionales al respecto, formar nuestra propia experiencia investigando, en un grupo de pacientes portadores de neoplasias malignas, las posibles alteraciones de la coagulación y comparar nuestros resultados con lo observado por otros investigadores en el extranjero.

FISIOPATOLOGIA DE LA COAGULACION

La hemostasia es el resultado del equilibrio de dos fuerzas: una pro-coagulante y otra anticoagulante. El incremento de cualquiera de ellas, da como resultado manifestaciones clínicas de trombosis o hemorragia.

Hay tres factores importantes que intervienen en el proceso de la hemostasia: el vascular, el plaquetario y el dependiente de los factores plasmáticos.

El factor vascular es el primero en reaccionar frente a una injuria, respondiendo con vasoconstricción local por un reflejo axónico. Esto provoca retardo del flujo sanguíneo, liberación de tromboplastina tisular, adhesión, agregación y metamorfosis viscosa de las plaquetas con liberación del factor 3 tromboplástico por las mismas, todo lo cual, conjuntamente con los factores plasmáticos, conduce a la formación del coágulo de fibrina.

Según la teoría clásica la formación de fibrina se lleva a cabo en tres etapas. La primera que consiste en la formación de tromboplastina, producida por dos mecanismos, el intrínseco y el extrínseco.

El mecanismo intrínseco se inicia con la activación del factor XII (Hageman) por el factor de contacto, el que junto con

los factores XI (PTA), IX (PTC) y VIII (ÁGH), en presencia del calcio, va a dar origen al PRODUCTO UNO. Este último, junto con el factor 3 plaquetario y el calcio va a generar el PRODUCTO DOS, el que a su vez, en presencia de los factores V (Labil) y X (Stuart) da origen a la tromboplastina o protrombinasa.

El mecanismo extrínseco se inicia con la liberación de tromboplastina tisular o tromboplastina incompleta que por acción de los factores V, X, VII (estable) y calcio da origen a tromboplastina completa. Es importante anotar que el mecanismo intrínseco se realiza en el término de minutos, mientras que el mecanismo extrínseco en el término de segundos.

La tromboplastina inicia la segunda etapa de la coagulación transformando la protrombina en trombina. La tercera etapa consiste en la acción de la trombina sobre el fibrinógeno para transformarlo en fibrina, la que luego logra su estabilización gracias a la presencia del factor XIII.

Una nueva teoría de la coagulación es la denominada "Teoría de la Cascada", basada en un esquema en el cual lo más importante es la activación secuencial de los factores catalogados como pro-enzimas, a enzimas o factores activados. Esta sucesión se inicia con la activación del factor XII por la superficie de contacto, una vez activado el factor XII se produce la activación de los demás factores en el siguiente orden: XI, IX, VIII, X, V, II, I. El factor II activado corresponde a la trombina y el factor I activado corresponde a la fibrina.

Hay algunos puntos importantes a considerar en esta teoría, por ejemplo, la

acción del calcio, es requerida en varias etapas, pero parece no ser necesaria en la activación del factor XII y del fibrinógeno. Los fosfolípidos son requeridos en la activación del factor V, a nivel de la protrombina y posiblemente en la activación del factor VIII.

Los productos de los últimos estadios influyen en los primeros por medio de una reacción autocatalítica o de "feedback", constituyendo un factor importante en la coagulación normal. En particular la protrombina parece acelerar las reacciones que involucran a los factores VIII y V.

Los productos activos son rápidamente destruidos en la sangre normal. El tiempo de vida medio de la trombina ha sido estimado en 24 segundos y es posible que otros factores activos tengan igualmente vida corta. La concentración efectiva de estos factores es mantenida por unos minutos y si la destrucción se acelera no se producirá la coagulación.

El factor X puede ser activado por el factor tisular y el factor VII, pero su significado fisiológico en la hemostasia no está bien definido.

La naturaleza del proceso de activación en esta Teoría de la Cascada es desconocida en la mayoría de los estadios, pero en el caso del factor X y protrombina, existe una buena evidencia de la participación proteolítica de la molécula.

Para contrarrestar el sistema de coagulación, existe un sistema fibrinolítico que remueve la fibrina depositada, transformando la fibrina polimerizada en péptidos hidrosolubles de diversas longitudes de cadena. Al fermento fibrinolítico se le denomina Plasmina o Fibrinolisisina. Ana-

logando este sistema fibrinolítico al de la coagulación podemos considerar tres etapas que concluyen con la formación de plasmina a partir de una proteína inactiva: el Plasminógeno; que se forma al parecer en el hígado.

El activador de estas reacciones puede ser liberado de algunos tejidos (mucosa uterina, epitelio de las vías urinarias, etc.) en forma de activador tisular, o puede ser formado en el plasma a partir de un proactivador.

La formación del activador plasmático se llevaría a cabo en dos etapas, la primera estaría dada por la reacción entre diferentes lisoquinasas (activadores hidrosolubles), por ejemplo, de los leucocitos y un proactivador, el cual se transformaría en activador, capaz de estimular la formación de plasmina a partir del plasminógeno.

La plasmina es una proteinasa con gran afinidad por la fibrina que, en menor grado, desdobra también otras proteínas séricas como el fibrinógeno y los factores V y VIII.

Finalmente la proteólisis de la fibrina origina fibrinopéptidos, los cuales ejercen todavía acción biológica en el sistema general actuando como antitrombina; por consiguiente, la fibrinolisis determina la degradación de la fibrina y la inhibición de su neoformación.

Contra una actividad excesiva de las fuerzas procoagulantes y anticoagulantes, sobre todo en condiciones patológicas, el organismo se encuentra protegido por inhibidores fisiológicos, que al ser sobrepasados en su capacidad de control sobre estas fuerzas producen las manifestaciones clínicas.

MATERIAL Y METODOS

Se han estudiado 38 pacientes portadores de neoplasias malignas internados en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas (INEN). 29 correspondieron a linfomas diseminados y 9 a otras neoplasias (Cuadro 1-A), de las cuales 7 fueron diseminadas y 2 localizadas.

En todos los casos los diagnósticos clínicos fueron corroborados por el estudio anatómo-patológico de las biopsias quirúrgicas.

Los pacientes fueron escogidos al azar, sin tener en cuenta manifestaciones clínicas de trastornos de la coagulación; sólo un paciente presentó diátesis hemorrágica (Carcinoma de Mama localizada).

Del total de pacientes estudiados, fueron considerados 24 en tratamiento y 14 sin tratamiento, cuando había sido suspendida la quimioterapia o radioterapia,

Cuadro Nº 1 A

TIPOS NEOPLASIAS ESTUDIADOS	
1. Linfosarcomas	14 casos
2. Hodgkin	8 "
3. Sarcoma reticular	6 "
4. Cariocarcinoma	2 "
5. Micosis fungoide	1 "
6. Carcinoma de maxilar indiferenciado	1 "
7. Carcinoma de esófago	1 "
8. Carcinoma de mama	1 "
9. Adenocarcinoma broncogénico	1 "
10. Carcinoma embrionario de testículo	1 "
11. Neoplasia cerebral	1 "
12. Melanoma maligno	1 "

por lo menos un mes previo a la toma de muestra.

Las edades de los pacientes fluctuaron entre los 7 y 72 años con una media de 37 años; 26 fueron del sexo masculino y 12 del sexo femenino.

El grupo control estuvo integrado por 15 sujetos sanos, cuyas edades fluctuaron entre 20 y 30 años. De este grupo 7 correspondieron al sexo femenino y 8 al sexo masculino.

Las muestras de sangre fueron obtenidas en ayunas, extrayéndose 40 ml. de sangre venosa con jeringas descartables y aguja Nº 18, usando como anticoagulante citrato de sodio al 3.8% para realizar las siguientes determinaciones:

Tiempo de coagulación, método de Lee White; tiempo de coagulación en plasma recalcificado, recuento de plaquetas por contraste de fase; retracción del coágulo, método cuantitativo; tiempo y concentración de protrombina; consumo de protrombina; factor I, método de Quick modificado; Factor VIII, método de Bigas Mac Farlane modificado; actividad fibrinolítica cuantitativa y generación de trombolastina con sus respectivas correcciones, empleando cefaloplastina, plasma normal absorbido, suero normal y suero normal absorbido; además se practicó el tiempo de sangría por el método de Ivy y la prueba de Lazo.

Todas estas determinaciones fueron realizadas en la Sección Hematología del Instituto de Investigaciones Clínicas, del Programa Académico de Medicina con sede en el Hospital Dos de Mayo.

Tiempo de coagulación. Método de Lee-White.

1. La sangre venosa es recolectada

en jeringas secas con aguja N° 18, procurando no traumatizar la vena.

2. Se coloca 1 ml. de sangre en dos tubos de prueba de 13 X 100.

3. Con un cronómetro se mide el tiempo desde que la sangre fluye en la jeringa.

4. Después de dos minutos de reposo se inclinan los tubos cada medio minuto hasta que la sangre no se deslice por el tubo.

Se toma el promedio del tiempo de ambos tubos. Normal $8' \pm 2.33$.

Tiempo de coagulación en plasma recalcificado. Método de Howel modificado (22).

Reactivos.

1. Citrato de Sodio al 3.8%.
2. Cloruro de Calcio 1/40 M.

Técnica.

1. Se toma sangre anticoagulada con citrato de sodio al 3.8%.

2. Se centrifuga durante 5 minutos a 2,000 r.p.m. y se separa el plasma.

3. Se coloca 0.5 ml. de plasma en un tubo de prueba de 13 X 100 y se incuba en baño maría a 37°C.

4. Se agrega 0.5 ml de cloruro de calcio al 1/40 M, previamente calentado.

5. Simultáneamente se pone a andar el cronómetro y se inclina el tubo a intervalos regulares hasta que se forme el coágulo.

Normal = $123'' \pm 30$.

Tiempo de Sangría. Método de Ivy.

1. Se coloca un esfigmomanómetro en el brazo del paciente a una presión constante de 40 mm. de mercurio.

2. Con una lanceta tipo Hemolet, se punza la superficie interna del antebrazo.

3. Se empieza a tomar el tiempo desde el instante en que fluye la sangre.

4. Con un papel de filtro, se seca el borde de la sangre a intervalos de 15 segundos, sin tocar la piel hasta que no manche el papel y se detiene en este momento el cronómetro.

El resultado es el tiempo de sangría del paciente. Normal = $3' \pm 1.13'$.

Prueba de Lazo (20).

1. Se coloca el Esfigmomanómetro en el brazo del paciente tomándose la presión máxima y mínima.

2. Se mantiene el manguito a la presión media durante 10 minutos.

3. Se retira el manguito y se cuenta el número de petequias aparecidas.

En un sujeto normal es posible encontrar algunas petequias.

La valoración de esta prueba es cualitativa informándose en cruces de acuerdo al número de petequias aparecidas.

Determinación de plaquetas por contraste de fase. Método de G. Brecher y E. P. Cronkite.

Reactivos. Sol. de Oxalato de Amonio al 1% en agua destilada.

Aparatos.

1. Pipeta de glóbulos rojos certificada.
2. Cámara cuenta glóbulos.
3. Microscopio de contraste de fase: Ocular 10 x K; Objetivo Ph 40/0.65; d: 0.1.

Técnica.

1. Se pinza el dedo con una lanceta Hemolet.
2. Se descarta la primera gota y se aspira hasta la marca 0.05 como para recuento de hematíes y luego se completa hasta la marca 101 con la solución de oxalato de amonio y se mezcla.
3. Se agita por 3 minutos, en un agitador mecánico.
4. Se descartan las primeras cuatro gotas de la mezcla y se coloca en una cámara cuenta glóbulos por ambos lados. Se deja una cámara húmeda x 15 minutos.
5. Se cuenta el número de plaquetas en cinco cuadrados usados para el recuento de hematíes, en ambos lados de la cámara. El número obtenido del recuento de los 10 cuadrados se multiplica por 2,500. El resultado es el número de plaquetas por mm³.

Los valores normales son de 191,590 ± 53,899.

Retracción del coágulo modificada (25).

Material.

1. Tubo de centrifuga graduado con un tapón de jebes de cuyo centro pende

un alambre de cobre, que en los últimos cuatro centímetros está enrollado en espiral y su extremo distal está separado del fondo del tubo aproximadamente 0.5 a 1 centímetro.

Técnica.

1. Colocar 5 ml. de sangre en el tubo de centrifuga graduado y dejar aproximadamente por 7 minutos al medio ambiente, luego se pone el tapón de jebes con alambre de cobre.
2. Se coloca el tubo de centrifuga en baño maría durante una hora a 37°C.
3. Pasada la hora se saca el tubo, se destapa con cuidado y se retira el coágulo que está adherido al espiral.
4. Se centrifuga el suero durante 5 minutos a 3,000 r.p.m. y se separan los hematíes.
5. Se mide el volumen de suero restante y se aplica la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de Retracción} = \frac{\text{Sangre total} - \text{Suero}}{\text{Sangre total}} \times 100 = \text{Hcto.}$$

$$\text{Normal} = 13\% \pm 4.89.$$

Determinación de Protrombina. Técnica: "Dade"

1. Se emplea tromboplastina desecada (Casa DADE).
2. Se reconstituye la tromboplastina del Vial, con 4 ml. de agua destilada, mezclándose bien.
3. Se pipetea 0.2 ml. del reactivo de tromboplastina en 3 tubos de 13 x 100 mm.

Se calienta en bañomaría, por lo menos 1 minuto.

4. Se agrega 0.1 ml. de plasma problema, previamente calentado a 37°C. Simultáneamente se toma el tiempo en el cronómetro.

5. Se agita el tubo dentro del bañomaría, se deja sin agitar durante 2 o 3", después se inclina hasta ver la aparición de las primeras fibras de fibrina, esto marca el tiempo final de la determinación.

6. El segundo y tercer tubo sirven de control.

7. El tiempo obtenido en segundos se lee en la tabla de calibración dependiendo del anticoagulante usado (Citrato de Sodio al 3.8% u Oxalato de Sodio 0.1 molar).

Concentración Normal = 91% ± 8.

Consumo de Protrombina.

Reactivos.

1. Plasma de conejo libre de protrombina (DADE).
2. Tromboplastina activada (DADE).
3. Cloruro de Calcio 0.02 M.

Técnica:

1. Mezclar rápidamente en un tubo de prueba: 0.01 ml. de tromboplastina activada; 0.1 ml. de Cloruro de Calcio y 0.1 ml. de plasma de conejo libre de protrombina.

2. Agregar 0.1 ml. de suero problema y tomar el tiempo en un cronómetro hasta que se forma el coágulo.

El tiempo obtenido, expresado en se-

gundos, se traduce a concentración en la tabla de protrombina y se aplica la siguiente fórmula: (21).

$$\% \text{ Protrombina consumida} = \frac{\text{CPP} - \text{CPS}}{\text{CPP}} \times 100$$

Normal = 76% ± 4.

Determinación del Factor VIII. Método de Biggs y Mac Farlane modificado (21).

Reactivos:

1. Buffer citrato: 1 volumen de citrato de sodio al 3.8% y 5 volúmenes de Buffer Michaelis a pH 7.3.
2. Sustituto de plaquetas diluido al 1/100.
3. Kaolin, una suspensión de 5 mg/ml. en suero salino.
4. Plasma sustrato: Se requiere un plasma hemolítico carente de factor VIII. Se guarda en refrigeración a -20°C; en pequeños volúmenes.
5. Cloruro de Calcio 0.05 M.
6. Pool de plasma frasco normal.
7. Muestra problema.

Preparación de la Curva.

1. Se prepara diluciones de plasma normal al 1/2; 1/10; 1/20 y al 1/100, con Buffer citrato, correspondiendo estas diluciones al 50, 10, 5 y 1% respectivamente.

2. Se coloca 0.1 ml. de plasma sustrato en tres tubos de prueba.

3. Se añade 0.1 ml de Buffer; 0.1

ml. de sustituto de plaquetas y 0.1 ml. de kaolin en cada uno de los tres tubos.

4. Se incuban los tres tubos por 2 minutos a 37°C en bañomaria y se mueven suavemente a intervalos de 15 a 20''.

5. A cada tubo se le agrega 0.1 ml. de cloruro de calcio 0.05 M y se empieza a contar el tiempo en un cronómetro.

El promedio de este tiempo equivale al Blanco.

6. Se toma 0.1 ml. de plasma normal, se añade 0.1 ml. de Buffer, 0.1 ml. de sustituto de plaquetas, 0.1 ml. de kaolin: Se incuban a 37°C por dos minutos moviéndolos a intervalos de 15'' y luego se agrega cloruro de calcio 0.1 ml. previamente calentado, se toma el tiempo desde este instante hasta que se forme el coágulo. El resultado equivale al 100%.

7. Se toma 0.1 ml. de cada una de las diluciones en tres tubos de prueba y se repiten todos los pasos mencionados en el punto 6. El tiempo obtenido en segundos es graficado en un papel doble logarítmico, contra la concentración correspondiente de cada tubo.

Técnica.

Se toma 0.1 ml. de plasma problema en tres tubos de prueba.

2. Se añade 0.1 ml. de Buffer; 0.1 ml. de sustituto de plaquetas y 0.1 ml. de kaolin en cada tubo.

3. Se incuban los 5 tubos a 37°C por dos minutos agitándolos suavemente cada 15 segundos.

4. Se añade 0.1 ml. de cloruro de calcio 0.5 M e inmediatamente se em-

pieza a contar el tiempo en un cronómetro hasta que se produzca la coagulación.

Este tiempo obtenido en segundos se interpreta en la curva de Factor VIII y se obtiene la concentración, por 100 ml. de plasma.

Si los valores obtenidos son muy altos y no están graficados en la curva se prepara una dilución del plasma problema a la mitad y luego el resultado se multiplica por 2. Si fuera necesario se prepara más diluciones.

Normal = 98% \pm 32.

Determinación del Fibrinógeno. Método de Quick modificado.

Reactivos:

1. Oxalato de Sodio 0.1 molar.
2. Cloruro de Sodio al 0.85%.
3. Cloruro de Calcio al 0.2 molar.
4. Hidróxido de Sodio al 10%.
5. Reactivo fenol de Folin-Wu.
6. Solución de Carbonato de Sodio al 20%.
7. Patrón de Tirosina de 0.2 mg./ml.

Técnica.

1. Una vez obtenida la sangre, se centrifuga durante 5 minutos a 2,000 r.p.m. El plasma sobrenadante se separa en otro tubo.

2. Se diluye 1 ml. de plasma hasta un volumen de 30 ml. con la solución de cloruro de sodio al 0.85% y se añade 1 ml. de cloruro de calcio al 0.2 M.

3. Se incuban los tubos a 37°C durante 1 hora, si al final de 15 minutos no se formado un coágulo, se añade 100 ud. de trombina (Parke-Davis).

4. Transcurrida 1 hora, se extrae la fibrina que se ha formado y se enrolla alrededor de una varilla de vidrio.

5. Se lava el coágulo repetidas veces con agua destilada. El coágulo lavado se pasa a otro tubo que contenga 0.5 ml de una solución de hidróxido de sodio al 10% y se coloca en agua hirviendo durante 30 minutos para que se produzca la digestión del coágulo.

6. Después de hervida la solución, es diluida hasta 25 ml. con agua destilada y luego se traspasa a otro tubo 5 ml. de esta dilución.

7. Se añade 0.5 ml. de reactivo Fenol, se diluye la mezcla hasta 10 ml. con el agua destilada y finalmente se añade 3 ml de carbonato de sodio al 20%.

8. Se deja en reposo por 30 minutos.

Se desarrolla un color azul brillante cuya intensidad es directamente proporcional a la cantidad de fibrinógeno presente.

Se deja en reposo a la temperatura ambiente y se lee en el espectrofotómetro de Zeiss en cubetas de 0.5 ml. contra el Blanco, a una longitud de onda de 560 mu.

Preparación del Blanco. Se prepara al mismo tiempo que las soluciones objeto del examen.

1. Se diluye 0.1 ml de hidróxido de sodio al 10% hasta 5 ml con agua destilada.

2. Se añade 1 ml. de reactivo Fenol y se completa el volumen a 10 ml. con agua destilada.

3. Se añade 3 ml de carbonato de

sodio al 20% y se deja la solución en reposo por 30'.

Preparación del Patrón de Tirosina.

1. Se disuelve 200 mg. de Tirosina en 1 litro de solución de ácido clorhídrico 0.1 normal.

2. De esta solución patrón (0.2 mg/ml.) se toman diferentes volúmenes desde 0.5 hasta 0.5 ml.

3. El volumen se completa hasta 5 ml. con la adición de agua destilada.

4. A cada tubo se le agrega 0.1 ml. de solución hidróxido de sodio al 10%.

5. Se deja la solución en reposo durante 30 minutos y se añade 1 ml. del reactivo de Fenol, se diluye a 10 ml. con agua destilada y finalmente se añade 3 ml de carbonato de sodio al 20% y se deja 30' en reposo.

Se traza una curva de calibración comparando los valores de transmisión y la concentración de tirosina en mg/ml. de plasma en papel milimetrado. El valor obtenido de la curva de calibración se multiplica por 5, y se obtiene el contenido de tirosina en mg. por milímetro de Plasma. Para obtener el nivel de fibrinógeno el valor obtenido se multiplica por 10.7, este resultado es el equivalente de fibrina de la tirosina, para llevarlo a miligramos por 100 mililitros, se multiplica por 100.

El resultado final equivale a miligramos de fibrinógeno por 100 ml. de plasma.

Normal = 190.13 mg.% \pm 46.84.

Determinación de la actividad fibrinolítica. Método de Kaulla Von K.N. y Schultz R. L. modificado.

Técnica:

1. Colocar el Plasma normal y del enfermo por 3 minutos a 56°C.
 2. Enfriar, centrifugar y sacar el plasma sobrenadante defibrinogenado.
 3. Agregar 1 ml. de plasma normal citratado a cada tubo (4 tubos denominándoseles A, B, C y D).
 4. A los tubos A y B agregarles 1 ml. de plasma normal defibrinogenado, a los tubos C y D agregarles 1 ml. del plasma del enfermo defibrinogenado.
 5. Llevar el volumen total en cada tubo a 24 ml. con suero fisiológico.
 6. Colocar los cuatro tubos a incubar a 37°C.
 7. Agregar 100 und. de trombina en cada tubo.
 8. Después de 15 minutos de incubación, tomar los tubos A y C del baño de agua, recogiendo el coágulo de fibrina en una varilla de vidrio y lavar repetidas veces con agua destilada.
 9. Hacer la determinación del fibrinógeno.
 10. A las 24 horas sacar los tubos B y D determinar el fibrinógeno.
 11. La diferencia entre los valores de ambos fibrinógenos (15 minutos y 24 horas), da la actividad fibrinolítica, correspondiendo la muestra de los 15 minutos al 100%.
- Los valores normales son 13 ± 6.7 .

Test de Generación de Tromboplastina modificado.

Reactivos:

1. Citrato de Sodio al 3.8%.

2. Suero fisiológico al 0.85%.
3. Cloruro de Calcio 40 M.
4. Sulfato de Bario.

Técnica.

1. Se toma 25 ml. de sangre.
2. Se colocan 2 tubos de centrifuga con 1 ml. de citrato de sodio al 3.8% y se agrega a cada uno de ellos 9 ml. de sangre, en otro tubo se toma 5 ml. de sangre sin anticoagulante para obtener suero.
3. Uno de los tubos se centrifuga a 3,000 r.p.m. durante 10' para obtener 5 ml. de plasma.
4. Este plasma se absorbe con sulfato de bario en la proporción de 200 mg. por cada ml. de plasma.
5. La mezcla se incuba a 37°C por tres minutos y se centrifuga, el plasma sobrenadante debe dar un tiempo de protrombina no menor de uno ni mayor de cuatro minutos.
6. Este plasma se diluye al 1 por 5 con suero fisiológico al 0.85% denominándosele plasma absorbido.
7. El otro tubo que contiene 10 ml. de sangre, se coloca en una centrifuga a la que previamente se le añade hielo, y se centrifuga a 1,000 r.p.m. durante 15 minutos, el plasma sobrenadante es rico en plaquetas.
8. El plasma rico en plaquetas se centrifuga a 3,000 f.p.m. durante 15 minutos. El sedimento corresponde a las plaquetas y el sobrenadante al plasma substrato.
9. Las plaquetas se lavan por tres veces con suero fisiológico, quebrándolas en cada lavado con un aplicador de madera, después del tercer lavado se sus-

penden las plaquetas en suero fisiológico al 0.85% en un volumen igual a un tercio del original. Esta suspensión puede usarse sólo el día de la preparación.

10. El tubo conteniendo 5 ml. de sangre sin anticoagulante, se deja en reposo por dos horas a 37°C. Se centrifuga y se diluye al 1/10 con suero fisiológico.

Procedimiento.

1. Se colocan 6 tubos en baño maría a 37°C conteniendo 0.1 ml. de plasma substrato.

2. En otro tubo que se denomina tubo generador de tromboplastina, se coloca 0.3 ml. de plasma absorbido; 0.3 ml. de suero; 0.3 ml. de suspensión de plaquetas; 0.3 ml. de cloruro de calcio e inmediatamente se hace andar el cronómetro; a intervalos de 1 minuto se toma 0.1 ml. de esta mezcla y se agrega simultáneamente junto con 0.1 ml. de cloruro de calcio al primer tubo que contiene el plasma substrato, se toma el tiempo con otro cronómetro hasta que coagula la muestra, esto se repite cada minuto, generalmente dentro de los 6 primeros minutos se debe generar la tromboplastina. El tiempo obtenido se traduce a porcentaje en la curva de calibración.

Valor normal: 80 a 120% de generación.

Normal = $109 \pm 17\%$.

Curva de Dilución.

1. Para preparar la curva de dilución se siguen los mismos pasos anteriores en un sujeto normal hasta llegar al 100% de generación en el tubo genera-

dor de tromboplastina, en este momento se introduce en el hielo para detener la coagulación y a partir de él se hacen diluciones al 1 por 2, 1 por 4, 1 por 8, 1 por 16 y al 1 por 32 con suero fisiológico. Las diluciones se colocan en el hielo y se hacen las determinaciones con el substrato de plasma normal. De cada una de las diluciones se toma 0.1 ml. y se agrega 0.1 ml. de calcio que está en baño maría, tomándose el tiempo de coagulación en cada una de ellas. El tiempo del plasma normal correspondrá al 100% y las diluciones serán al 50%, 35%, etc.

Se grafica el tiempo contra la concentración en papel milimetrado.

Correcciones.

1. Cuando se obtiene una generación anormal de tromboplastina se puede corregir con los siguientes preparados

A. Plasma normal absorbido, que es fuente de los factores: I, V, VIII, XI y XII.

B. Suero normal absorbido, que es fuente de los factores: XII y XI.

C. Suero normal, que es fuente de los factores: VII, IX, X, XI y XII.

D. Cefaloplastina: que es fuente de material plaquetario.

RESULTADOS OBTENIDOS

Todos los valores de las determinaciones realizadas, fueron expresados en 12 gráficas y en 5 cuadros.

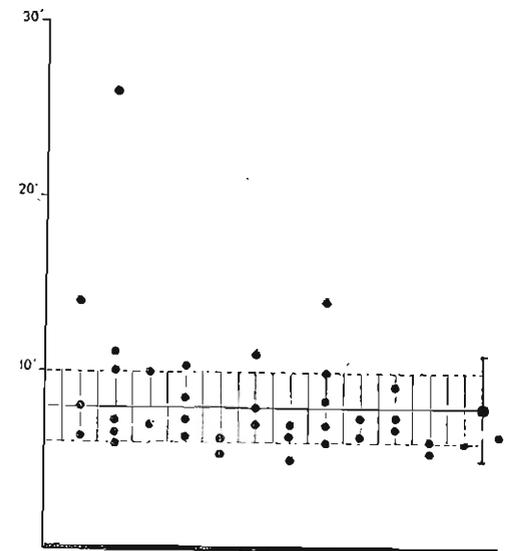
En cada gráfica se comparó los valores obtenidos en las neoplasias con los promedios normales y se estableció el

porcentaje de pacientes con "Hipercoagulabilidad" o "Hipocoagulabilidad".

El criterio para considerar a los pacientes con "Hipercoagulabilidad" o "Hipocoagulabilidad" fue la media, más o menos una desviación standard del normal.

En la Fig. 1 se comparan los tiempos de coagulación por el método de Lee-White; seis pacientes tienen tiempo de coagulación mayor de 10', representando 15% con "Hipocoagulabilidad"; tres pacientes tienen valores inferiores a 6', que equivale a 7% con "Hipercoagulabilidad", y 78% están dentro de los límites normales.

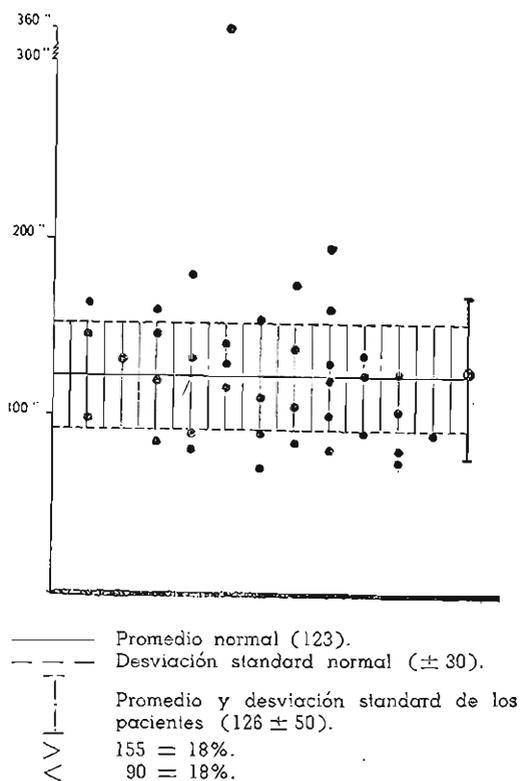
FIG. 1. TIEMPO DE COAGULACION LEE WHITE EN NEOPLASIAS MALIGNAS



— Promedio normal (8').
 - - - Desviación standard normal (± 2).
 | Promedio y desviación standard de los pacientes (8 ± 3).
 > 10 = 15%.
 < 6 = 7%.

En la Fig. 2 se comparan los tiempos de coagulación por el método de plasma recalcificado: siete pacientes presentan valores más altos de 155", o sea 18% con "Hipocoagulabilidad" y siete, valores inferiores a 90" representando 18% con "Hipercoagulabilidad". Dentro de los límites de normalidad encontramos 57%.

FIG. 2. TIEMPO DE COAGULACION PLASMA RECALCIFICADO EN NEOPLASIAS MALIGNAS

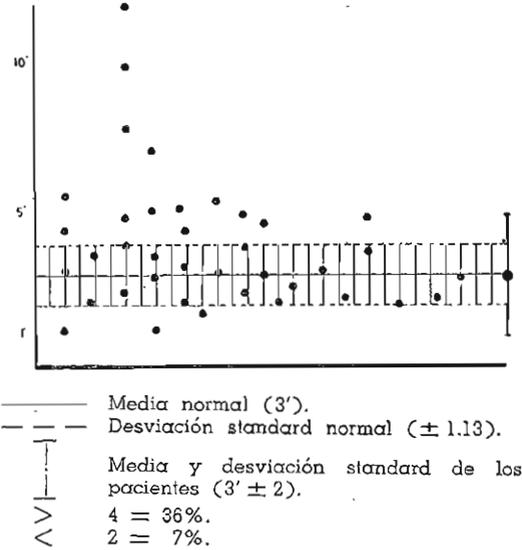


— Promedio normal (123).
 - - - Desviación standard normal (± 30).
 | Promedio y desviación standard de los pacientes (126 ± 50).
 > 155 = 18%.
 < 90 = 18%.

En la Fig. 3, se compara el tiempo de sangría; 14 pacientes tienen valores por encima de 4', o sea 36% con "Hipocoagulabilidad" y 3 tienen valores

inferiores a 2' o sea 7% con "Hipercoagulabilidad", 57% están en los límites de normalidad.

FIG. 3. TIEMPO DE SANGRIA EN CANCER



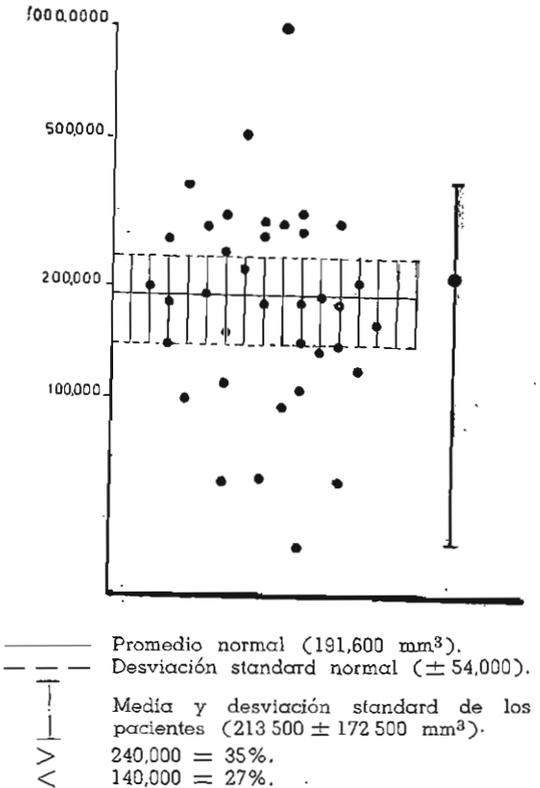
La Fig. 4 representa los valores hallados en el recuento de plaquetas, 13 pacientes, (35%) muestran estado de "Hipercoagulabilidad" (recuento mayor de 240,000 mm^3) y 10 muestran estado de "Hipocoagulabilidad" (recuento menor de 140,000) lo que representa el 27%; los 15 pacientes restantes, (38%), están dentro de los límites normales.

La Fig. 5 muestra la retracción del coágulo; 21 pacientes tienen valores por encima de 18%, o sea el 63% con "Hipocoagulabilidad", mientras que con "Hipercoagulabilidad" (valores inferiores a 8%) encontramos 3 pacientes que representan el 9%, hallándose 28% dentro del rango normal.

La Fig. 6 compara las concentraciones de Protrombina. Aquí vemos que ningún paciente puede ser considerado con "Hipercoagulabilidad" pues no se obtuvieron valores mayores de 100%; en cambio, por debajo de 83% encontramos 14, que nos da un porcentaje de 36% con "Hipocoagulabilidad". El resto (64%) fueron normales.

La Fig. 7 compara el porcentaje de consumo de protrombina; y se aprecia que por encima de 80% se encuentran 6 pacientes, 50% con "Hipercoagulabilidad"; por debajo de 72% están 3 pacientes, 25% con "Hipocoagula-

FIG. 4. PLAQUETAS EN NEOPLASIAS MALIGNAS



bilidad" y 25% se encuentran en los límites normales.

La Fig. 8 compara los valores de fibrinógeno: 27 casos están por encima de 230 mg.%, correspondiendo a 73% con "Hipercoagulabilidad" y 4 están por debajo de 150 mg.%, 10% con "Hipocoagulabilidad", sólo 17% están dentro de los límites normales.

La Fig. 10 compara los porcentajes de actividad fibrinolítica; 16 tienen valores por encima de 19%, que equivale a 45% con "Hipocoagulabilidad" y sólo hay 3 casos (8%) con "Hipercoagulabilidad" (valores inferiores a 8%), 47% están en los límites normales.

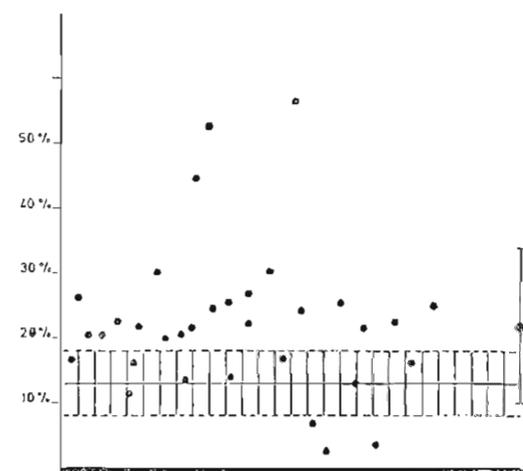
La Fig. 11 compara las concentraciones obtenidas a los 6' de generación de tromboplastina, ninguno exce-

de 120% de generación, no se detectan casos de "Hipercoagulabilidad", pero sí encontramos el 38% con "Hipocoagulabilidad", que corresponde a 14 pacientes con generación menor de 90%; 23 pacientes, (62%) están dentro de nuestro rango normal.

La Fig. 12 representa los valores extremos de la generación de tromboplastina en cada uno de los 6' y se encuentra que en los pacientes la generación es más lenta y hay un amplio margen de variación sin registrarse valores superiores a los normales.

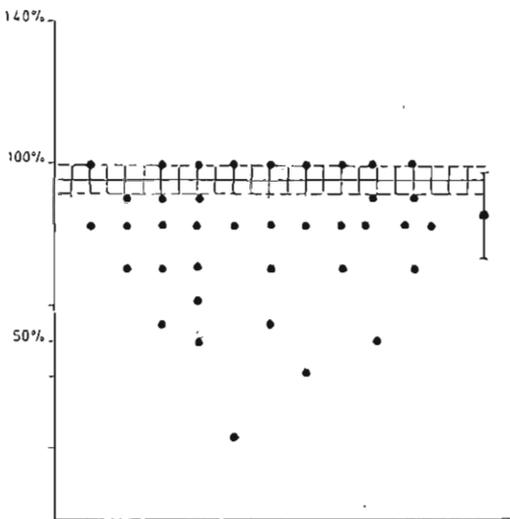
El Test de generación de tromboplastina resultó anormal en 10 pacientes, en

FIG. 5. RETRACCION DE COAGULO EN CANCER



— Promedio normal (13).
 - - - Desviación standard normal (± 5).
 } Media de los pacientes (22 ± 12).
 }
 } 18 = 69%.
 } 8 = 9%.

FIG. 6. CONCENTRACION DE PROTROMBINA EN NEOPLASIAS MALIGNAS



— Promedio normal (91%).
 - - - Desviación standard normal (± 8).
 } Media y desviación standard de los
 } pacientes (70 ± 24).
 }
 } 100 = 0%.
 } 83 = 36%.

cada uno de ellos se realizaron las respectivas correcciones con (a) cefaloplastina, (b) suero normal absorbido, (c) suero normal, (d) plasma normal absorbido.

En 6 de estos 10 casos, la generación se corrigió con sustituto de plaquetas (Cefaloplastina); 5 casos se corrigieron con la adición de plasma normal absorbido y 2 casos se corrigieron con suero normal; por lo tanto, se deduce que la generación anormal fue debida a: déficit de plaquetas en 6 casos, déficit de Factor V en 3, déficit de Factores XI y XII en uno, déficit de Factor IX en 1 y déficit de Factor X en otro.

FIG. 7. CONSUMO DE PROTROMBINA EN CANCER

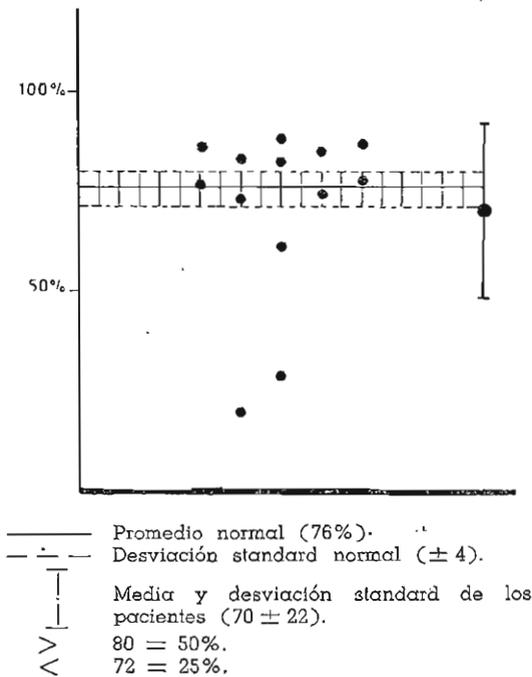
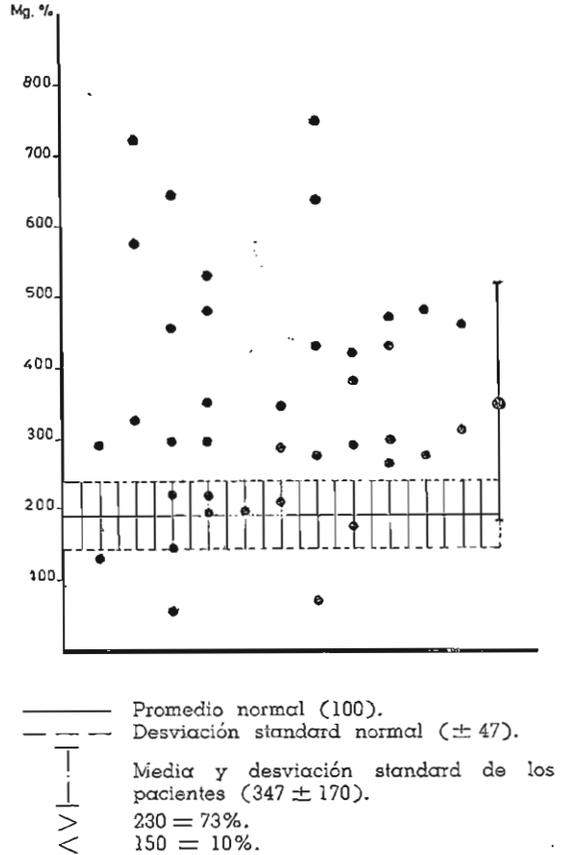


FIG. 8. FIBRINOGENO EN NEOPLASIAS MALIGNAS



Los valores obtenidos en cada una de las determinaciones efectuadas fueron tabulados en 5 cuadros.

En el Cuadro N° 1 se comparó los valores normales con el total de las neoplasias estudiadas, encontrándose significación estadística para la retracción del coágulo, concentración de protrombina,

Factor I, Factor VIII, actividad fibrinolítica y generación de tromboplastina.

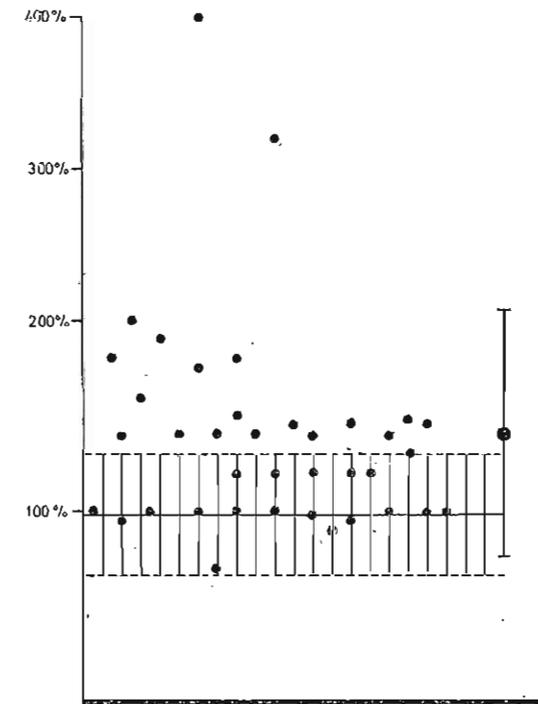
En el Cuadro Nº 2 se compararon los valores obtenidos de todos los casos de linfomas con el resto de neoplasias, no encontrándose significación estadística para ninguno de los parámetros estudiados.

En el Cuadro Nº 3 se comparó los pacientes en tratamiento y los pacientes sin

tratamiento, encontrándose significación estadística en el consumo de protrombina y actividad fibrinolítica.

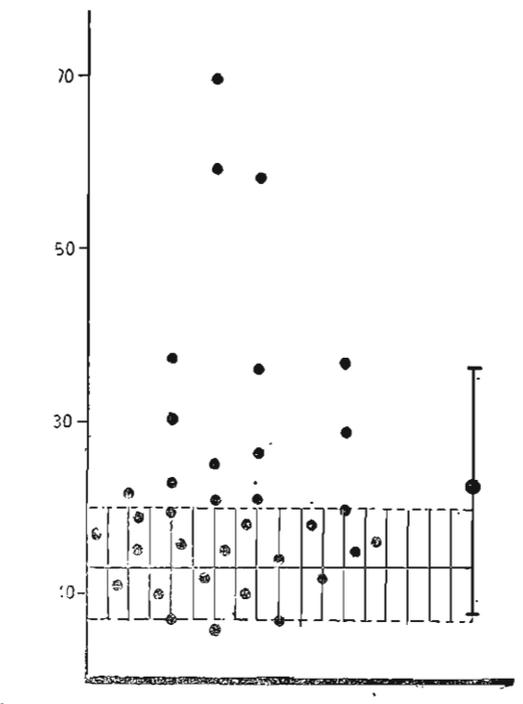
En el Cuadro Nº 4 se comparó los valores normales con los pacientes que presentaron estados de "Hipercoagulabilidad", encontrándose significación estadística en el tiempo de coagulación por ambos métodos, en el recuento de plaquetas, en el consumo de protrombina, en el Factor I y en el Factor VIII.

FIG. 9. FACTOR VIII EN NEOPLASIAS MALIGNAS



— Promedio normal (98).
 - - - Desviación standard normal (± 32).
 - · - · - Promedio y desviación standard de los pacientes (141 ± 65).
 130 = 47%.
 60 = 0%.

FIG. 10. ACTIVIDAD FIBRINOLITICA EN CANCER



— Promedio normal (13%).
 - - - Desviación standard normal (± 6.7).
 - · - · - Media y desviación standard de los pacientes (22.5 ± 15).
 19 = 45%.
 8 = 8%.

CUADRO N° 1.	N O R M A L E S (15)		N E O P L A S I A S (38)		
	MEDIA	D.S	MEDIA	D.S	P"
EXAMEN REALIZADO					
TIEMPO DE COAGULACION LEE-WHITE	8'	$\pm 2.33.$	8	$\pm 3.$	No
TIEMPO DE COAGULACION PLASMA RECALCIFICADO	123"	$\pm 30.$	126 "	$\pm 50.$	No
TIEMPO DE SANGRIA IVY	3'	$\pm 1.13.$	3'	$\pm 2.$	No.
RECUENTO DE PLAQUETAS CONTRASTE DE FASE	191,590 xmm ³ .	$\pm 53,899.$	213,539 xmm ³ .	$\pm 172,537.$	No
RETRACCION DEL COAGULO	13 %.	$\pm 4.98.$	22.17 %.	$\pm 11.52.$	> 0.001.
CONCENTRACION DE PROTROMBINA	91 %.	$\pm 8.$	79 %.	$\pm 18.$	> 0.02.
CONSUMO DE PROTROMBINA	76 %.	$\pm 4.$	70 %.	$\pm 22.$	No.
FACTOR I	190.13 mgrs %.	$\pm 46.84.$	346.90 mgrs%.	± 170.54	> 0.001.
FACTOR VIII	98 %.	$\pm 32.$	141 %.	$\pm 61.$	> 0.001.
ACTIVIDAD FIBRINOLITICA	13 %.	$\pm 6.7.$	22.46 %.	$\pm 14.9.$	> 0.001.
GENERACION DE TROMBOPLASTINA	109 %.	± 17	83 %.	$\pm 29.$	> 0.001.

CUADRO N° 2.	L I N F O M A S (29)		O T R A S N E O P L A S I A S (9)		
	MEDIA	D.S.	MEDIA	D.S	P
EXAMEN REALIZADO					
TIEMPO DE COAGULACION LEE-WHITE	8'	± 4	7' 58	± 1.5	No
TIEMPO DE COAGULACION PLASMA RECALCIFICADO	123"	± 55	136 "	± 33.6	No
TIEMPO DE SANGRIA IVY	4' 10	± 2	4' 38	± 1.6	No
RECUENTO DE PLAQUETAS CONTRASTE DE FASE	198,568xmm ³ .	$\pm 181,682.$	237,687xmm ³ .	$\pm 89,362.$	No
RETRACCION DEL COAGULO	23.21 %	$\pm 11.76.$	16.1 %.	$\pm 2.88.$	No
CONCENTRACION DE PROTROMBINA	78.27 %	$\pm 18.17.$	80 %.	± 15	No
CONSUMO DE PROTROMBINA	69.10 %	$\pm 23.8.$	—	—	—
FACTOR I	361.91 mgrs %.	$\pm 163.59.$	300.23 mgrs %	± 192.44	No
FACTOR VIII	147.26 %	$\pm 67.05.$	118.8 %.	± 30.9	No
ACTIVIDAD FIBRINOLITICA	23.4 %.	$\pm 17.05.$	18.90 %.	± 6.88	No.
GENERACION DE TROMBOPLASTINA	83.15 %.	$\pm 28.99.$	88.1 %	± 23.3	No.

CUADRO N° 3.	CON TRATAMIENTO		SIN TRATAMIENTO		
	MEDIA	D.S.	MEDIA	D.S.	"p"
TIEMPO DE COAGULACION LEE-WHITE	8'	± 2.4 .	9'	± 5	No.
TIEMPO DE COAGULACION PLASMA RECALCIFICADO	119 "	± 37 .	138 "	± 75 .	No.
TIEMPO DE SANGRIA IVY	4'	$\pm 2,4$.	3'	± 2 .	No.
RECUENTO DE PLAQUETAS CONTRASTE DE FASE	213,152 xmm3.	$\pm 203,407$.	229,392xmm3.	$\pm 123,850$.	No.
RETRACCION DEL COAGULO	22 %.	± 13.8 .	18.38 %.	± 25.54 .	No.
CONCENTRACION DE PROTROMBINA	77 %.	± 18 .	80 %.	± 19 .	No.
CONSUMO DE PROTROMBINA	57 %.	± 27 .	82 %.	± 5 .	>0.01
FACTOR I	338.17 mgrs %.	± 164.48 .	339.90 mgrs%.	± 160.35 .	No.
FACTOR VIII	137 %.	± 53 .	146 %.	± 76 .	No.
ACTIVIDAD FIBRINOLITICA	18.69 %.	± 7.8 .	29 %.	± 20.7 .	>0.05.
GENERACION DE TROMBOPLASTINA	80 %.	± 28 .	92 %.	± 27 .	No.

CUADRO N° 4.	NORMALES		"HIPERCOAGULABILIDAD"		
	MEDIA	D.S.	MEDIA	D.S.	"p"
TIEMPO DE COAGULACION LEE-WHITE	8'	± 2.33 .	5'	± 0.7 .	>0.001
TIEMPO DE COAGULACION PLASMA RECALCIFICADO	123 "	± 30 .	80 "	± 5.5	>0.001.
TIEMPO DE SANGRIA IVY	3'	± 1.13 .	1'	---	---
RECUENTO DE PLAQUETAS CONTRASTE DE FASE	191,590 xmm3.	$\pm 53,899$.	366,000 xmm3.	$\pm 206,561$.	>0.001.
RETRACCION DEL COAGULO	13 %.	± 4.89 .	---	---	---
CONCENTRACION DE PROTROMBINA	91 %.	± 8 .	---	---	---
CONSUMO DE PROTROMBINA	76 %.	± 4 .	84 %.	± 2 .	>0.001
FACTOR I	190.13 mgrs %.	± 46.84 .	415.76mgrs %.	± 138.64	>0.001.
FACTOR VIII	98 %.	± 32 .	177 %	± 68 .	>0.001.
ACTIVIDAD FIBRINOLITICA	13 %.	± 6.7 .	---	---	---
GENERACION DE TROMBOPLASTINA	109 %.	± 7	---	---	---

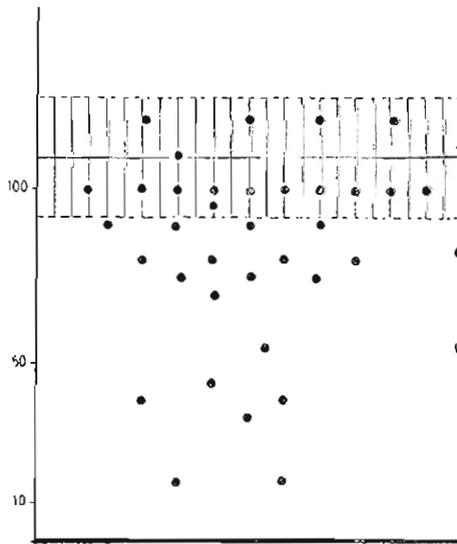
En el Cuadro N° 5 se comparó los valores normales con los pacientes que presentaban en estado de "hipocoagulabilidad", encontrándose significación estadística para ambos tiempos de coagulación, recuento de plaquetas, retracción del coágulo, concentración de protrombina, actividad fibrinolítica y generación de tromboplastina.

DISCUSION

Como ya ha sido reportado, en las neoplasias malignas es posible encontrar

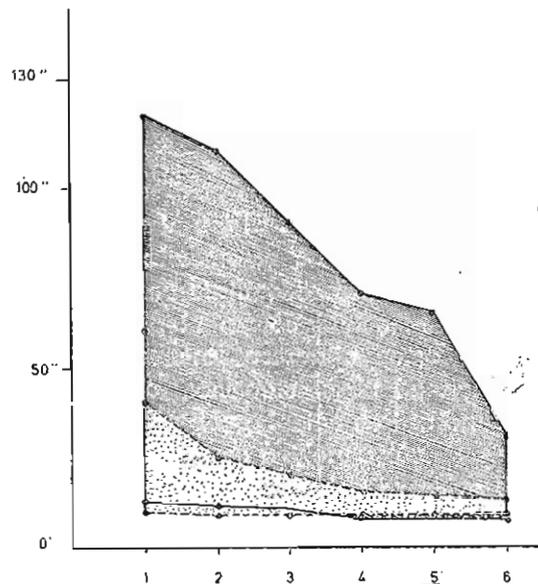
trastornos del mecanismo de la coagulación que pueden traducirse clínicamente como trombosis y/o diátesis hemorrágica. Estos hallazgos clínicos han sido relacionados, ya sea a estados de hiperfibrinólisis o a estados de coagulación intravascular y, últimamente, Didisheim, ha considerado un síndrome de "Coagulación intravascular-Fibrinólisis" (ICF Syndrome), para explicar las alteraciones de la coagulación en las diversas neoplasias; sin embargo, el por qué la trombosis y la hemorragia pueden coexistir en cáncer sigue siendo un misterio. Un indicio puede hallarse en el hecho que

FIG. 11. GENERACION DE TROMBOPLASTINA EN NEOPLASIAS MALIGNAS



— Promedio normal (109).
 - - - Desviación standard normal (± 17).
 | Media y desviación standard de los pacientes (83 ± 29).
 > 120 = 0%.
 < 90 = 38%.

FIG. 12. TEST DE GENERACION DE TROMBOPLASTINA EN NEOPLASIAS MALIGNAS



- - - Valores extremos de la generación normal.
 — Valores extremos en los pacientes.

ciertas enzimas proteolíticas, tales como la tripsina, quimi tripsina, y algunos venenos de serpientes, tienen propiedades trombogénicas y hemorrágicas. Dependiendo, en parte, de la concentración, estas enzimas pueden simular a la trombina, tromboplastina, o fibrinolisis, en su capacidad de acelerar o retardar la coagulación, o disolver coágulos. Se puede especular que las proteasas son sintetizadas por las células tumorales malignas en su máximo grado de producción y que inducen eventos clínicos variables dependiendo de factores diversos tales como el tipo y actividad del tumor, la concentración sanguínea local de la

proteasa, tasa de flujo sanguíneo y la capacidad de los anticoagulantes y anti-fibrinolíticos naturales del organismo.

En algunos casos se producen verdaderos trastornos de la coagulación sin que haya evidencia clínica de ello, como ha sido reportado por Miller y col.

En los pacientes estudiados por nosotros, solamente en un caso se presentó diátesis hemorrágica correspondiendo a un carcinoma de mama localizado, en el que se evidenció incremento en la actividad fibrinolítica. No se evidenciaron otras manifestaciones clínicas en nuestros casos, porque no se seleccionó a los pacientes y no se siguió la evolución de ellos.

CUADRO N° 5.	NORMALES		"HIPOCOAGULABILIDAD"		
	MEDIA	D.S.	MEDIA	D.S.	"p"
TIEMPO DE COAGULACION LEE-WHITE	8'	±2.33.	14'	±4	>0.001.
TIEMPO DE COAGULACION PLASMA RECALCIFICADO	123 "	±30.	199 "	±72.	>0.001.
TIEMPO DE SANGRIA IVY	3'	±1.13.	6'	±2.	No.
RECUESTO DE PLAQUETAS CONTRASTE DE FASE	191,590 xmm ³ .	±53,899.	85,300 xmm ³ .	±29,388.	>0.001.
RETRACCION DEL COAGULO	13 %.	±4.89.	27 %.	±10.	>0.001.
CONCENTRACION DE PROTROMBINA	91 %.	±8.	59 %.	±14.	>0.001.
CONSUMO DE PROTROMBINA	76 %.	±4.	---	---	---
FACTOR I	190.13 mgrs %.	±46.84.	---	---	---
FACTOR VIII	98 %.	±32.	---	---	---
ACTIVIDAD FIBRINOLITICA	13 %.	±6.7.	33. %.	±15.	>0.001
GENERACION DE TROMBOPLASTINA	109 %.	±17	56 %.	±24	>0.001

Para poder establecer las alteraciones de la coagulación en los pacientes con neoplasias malignas que hemos estudiado, se hicieron varias comparaciones. En primer lugar, se comparó el total de pacientes con los valores normales (Cuadro N° 1) y luego, se analizó cada prueba, con el fin de establecer su importancia clínica.

En el tiempo de coagulación por el método de Lee-White y de plasma recalcificado, no se encontró diferencia estadística, lo mismo ha sido reportado por otros autores.

El tiempo de sangría y el recuento de plaquetas no mostraron diferencias estadísticas, a pesar de haber encontrado la retracción del coágulo significativamente disminuida en los pacientes; esto nos hace pensar que existe un defecto tanto cuantitativo como cualitativo plaquetario, lo que ya ha sido reportado por otros autores, Pileggi (34), señala en las leucemias mieloides crónicas, deficiencia cualitativa de las plaquetas, nuestros resultados apoyan esta hipótesis pues hallamos que existe disminución de plaquetas sólo en 10 casos, mientras que la retracción del coágulo está disminuida en 21. No se encontró relación directa entre el tiempo de sangría y el recuento plaquetario, debido probablemente a que muchos de los pacientes recibían Prednisona. La Prueba de Lazo se encontró positiva sólo en tres pacientes y uno de ellos correspondió al carcinoma de mama con síndrome purpúrico.

La concentración de protrombina, estuvo disminuida en los pacientes, hallándose diferencia estadísticamente significativa, lo cual nos hace pensar que los

factores integrantes del complejo de protrombina, en su mayoría vitamina K dependientes (II, VII, IX y X), están alterados. Es posible que esto se deba a compromiso hepático metastásico; Miller lo atribuye a obstrucción del conducto biliar común o a daño parenquimal hepático por metástasis (30).

En la prueba de consumo de protrombina no se obtuvo diferencia estadística, en cambio las determinaciones del Factor I, Factor VIII y actividad fibrinolítica mostraron niveles superiores a los normales con significado estadístico. La generación de tromboplastina por el contrario, estuvo disminuida. Estos hallazgos son similares a los obtenidos por Miller (30) y Amundsen (1).

La retracción del coágulo, concentración de protrombina, actividad fibrinolítica y generación de tromboplastina, mostraron "Hipocoagulabilidad"; el Factor I y VIII mostraron "Hipercoagulabilidad".

En segundo lugar, se dividió el grupo total de pacientes, en dos subgrupos: Linfomas y otras neoplasias (Cuadro N° 2); no lográndose establecer ninguna diferencia en las pruebas realizadas, esto es probablemente debido a la escasa muestra y a la variedad de diagnósticos del segundo subgrupo, que no permite comparación etiológica.

En tercer lugar, se trató de establecer diferencias entre los pacientes en tratamiento y sin tratamiento (Cuadro N° 3), apreciándose solamente diferencia estadística en el consumo de protrombina y actividad fibrinolítica, en el sentido de "Hipocoagulabilidad": para el consumo de protrombina en los pacientes con tratamiento y para la actividad fibrinolítica

en los pacientes sin tratamiento, esto concuerda con lo observado por Girolami (28) en pacientes con linfomas, él encuentra incremento de la actividad fibrinolítica en 20%, disminuyendo este porcentaje con el tratamiento específico. Nosotros encontramos en 37% de los linfomas; incremento de actividad fibrinolítica; la diferencia entre estos porcentajes es probablemente debida al método, en nuestro laboratorio usamos el método cuantitativo que es más sensible que el de Euglobulinolisis empleado por este autor.

En cuarto lugar, separamos los pacientes que presentaban estado de "Hipercoagulabilidad" (Cuadro N° 4), según el criterio ya enunciado, encontrándose que el tiempo de sangría, retracción del coágulo, concentración de protrombina, actividad fibrinolítica y generación de tromboplastina, no son útiles para el diagnóstico de los estados de "Hipercoagulabilidad".

Otros autores consideran útiles, el tiempo de coagulación en tubo siliconizado, el tiempo de protrombina, el fibrinógeno y el Factor VIII (51). La generación de tromboplastina ha sido aplicada en menor grado, aunque es una buena medida de la primera fase de la coagulación, cuando está aumentada en algunos pacientes se asocia a tromboflebitis idiopática y oclusión arterial aguda, Miller (30), la considera como un buen método para determinar estados de "Hipercoagulabilidad". La diferencia con nuestros hallazgos podría deberse a la diversidad de neoplasias estudiadas y al grado de diseminación.

Nosotros encontramos que las prue-

bas de tiempo de coagulación (Lee-White y plasma recalcificado), recuento de plaquetas, consumo de protrombina, Factor I y Factor VIII, son buenos parámetros para demostrar estados de "Hipercoagulabilidad"; pues existe diferencia estadísticamente significativa. Miller y col. (47), no consideran útiles las pruebas de tiempo de coagulación Lee-White y Plasma recalcificado.

De acuerdo a los resultados hallados, logramos de terminar "Hipercoagulabilidad" en tres pacientes (dos con Linfomasarcoma y uno con Hodgkin corroborada con todos los parámetros considerados por nosotros en dos de ellos, mientras que en el tercero, todas las pruebas, excepto el plasma recalcificado y las plaquetas revelaron este estado.

En quinto lugar, comparamos los pacientes con "Hipocoagulabilidad" (Cuadro N° 5), observando que el tiempo de sangría, el Factor I y VIII, no sirven para detectar este estado. El consumo de protrombina fue determinado sólo en 11 casos y probablemente ésta es la razón por la que no hallamos diferencias estadísticas.

Es importante anotar que en el caso del Factor VIII, ningún paciente presentó valores inferiores al rango normal y 50% presentó valores más altos.

Las pruebas de tiempo de coagulación por ambos métodos, el recuento de plaquetas, la retracción del coágulo, concentración de protrombina, actividad fibrinolítica y generación de tromboplastina, dieron valores estadísticamente significativos.

Tomando en cuenta estos parámetros, determinamos "Hipocoagulabilidad" en

cinco pacientes (2 Hodgkin, 2 Sarcomas a células reticulares y 1 carcinoma indiferenciado de maxilar inferior). El tiempo de coagulación por ambos métodos fue útil en todos los casos, así como la retracción del coágulo; el recuento de plaquetas fue útil en tres; la protrombina y la actividad fibrinolítica en dos casos.

La generación de tromboplastina resultó anormal en 10 de los 38 casos estudiados, al hacer las correcciones respectivas se pudo demostrar: déficit de plaquetas en seis; déficit de Factor V en tres; déficit de los Factores XI y XII en uno; déficit del Factor IX en uno y déficit de Factor X en otro, lo cual demuestra la importancia de los factores vitamínica K dependientes en nuestros pacientes.

CONCLUSIONES

1. Cuando son comparados los valores normales, con los pacientes portadores de neoplasias malignas, se encuentra la retracción del coágulo deficiente en las neoplasias, la concentración de protrombina inferior a lo normal, el Factor I, Factor VIII y actividad fibrinolítica incrementados y la generación de tromboplastina disminuida.

2. Cuando son comparados los linfomas con otras neoplasias no hallamos ninguna diferencia en las pruebas de coagulación.

3. Cuando se compara las neoplasias en tratamiento y sin tratamiento, se encuentra, que la actividad fibrinolítica es mayor en los pacientes sin tratamiento, mientras que el consumo de protrombina está disminuido en los pacientes con tratamiento.

4. Para determinar los estados de "Hipercoagulabilidad" son importantes los tiempos de coagulación por el método de Lee-White y plasma recalcificado, el recuento de plaquetas, consumo de protrombina, Factor I y Factor VIII. Considerando estos parámetros, hallamos tres pacientes con "Hipercoagulabilidad".

5. Para determinar los estados de "Hipocoagulabilidad", los exámenes más importantes son: Tiempo de coagulación por el método de Lee-White y de plasma recalcificado, recuento de plaquetas, retracción del coágulo, concentración de protrombina, actividad fibrinolítica y generación de protrombina, actividad fibrinolítica y generación de tromboplastina. Tomando en cuenta estos parámetros, cinco pacientes presentaron "Hipocoagulabilidad".

6. Se demostró, por las correcciones del Test de generación de Tromboplastina, deficiencia de plaquetas en seis de diez generaciones anormales, deficiencia de Factor V en tres, deficiencia de Factor IX en un caso, deficiencia de Factor X en uno y de XI y XII en otro caso.

REFERENCIAS

1. Amundsen, M. A.; Spittel, J. A. Jr.; Thompson, J. H. y Owen, C. A.: Hipercoagulability Associated with Malignant Disease and with the Post-Operative State. Evidente for elevated levels of AHG. *Ann. of Int. Med.* 58: 608-616, 1963.
2. Arthus, M. y Pages, C.: Nouvelle theorie chimique de la coagulation du sang. *Arch. Physiol. Norm. et Path.* 2: 739-746, 1890. (ver 9).
3. Baker, W. G.; Bang, N. U.; Nachman, R. L.; Raafat, F. y Horowitz, H. J.: Hy-

- pofibrinogenemic Hemorrhage in Acute Myelogenous Leukemia Treated with Heparin *Ann of Int. Med.* 51: 116-123, 1964.
4. Biben, R. L. y Tyan, M. L.: Hemorrhagic Diathesis in Carcinoma of the Stomach. A Case Report. *Ann. of Int. Med.* 49: 917-922, 1958.
 5. Biggs y Mac Farlane: Treatment of Hemophilia and other Coagulation Disorders. 1a. edición Editorial Blackwell, 1966.
 6. Blix, S. y Jacobsen, C. D.: The Defibrination Syndrome in a patient with Hemangio-Endothelio-Sarcoma *Acta Med. Scand.* 173: 377-383, 1963.
 7. Brown, R. C.; Campbell, D. C. y Thompson, J. H.: Increased Fibrinolysin with Malignant Disease. *Arch. of Int. Med.* 109-204, 1962.
 8. Buchanan, A.: On the Coagulation of the Blood and other Fibriniferous liquids. *J. Physiol.* 2: 158 1879. 1845. (cit. en 9).
 9. Cartwright, G. E.: Diagnostic Laboratory Hematology. 4th. edition, 1968.
 10. Cooperberg, A. A. y Neiman, G. M. A.:
 11. Didisheim, E. J.; Bowie y Owren, C. A. Jr.: Intravascular Coagulation-Fibrinolysis (ICF) Syndrome and Malignancy. Historical Review and Report of two cases with metastatic Carcinoid and with Acute Myelomonocytus Leukemia. *Thromb. Diath. Haemorrh.* 36: 215, 1969.
 12. Fleischhacker, H.: Über die Herkunft der Plasmaewe Körper. *Wien. Arch. Inn. Med.* 34: 96 1940. (citado en 16).
 13. Fountain, J. R. y Holman, R. L.: Acquired Fibrinogen Deficiency Associated with Carcinoma of the Bronchus. *Ann. Int. Med.* 52: 459-463, 1960.
 14. Gamgee, A.: Physiological Chemistry of London. 1. 1880 (citado en 9).
 15. Girolami, A. y Clifton, E. E.: Fibrinolysis and Proteolysis in Patients with Lymphoma. *Arc. of Int. Med.* 117: 773-783, 1966.
 16. ————: Fibrinolytic and Proteolytic Activity in Acute and Chronic Leukemia. *Am. J. of. Med. Sci.* 251: 638-645
 17. Girolami, A.; Mootse, G. y Clifton, E. E.: Blood Plasminogen (Profibrinolysin) Levels in Patients with Leukemia and Lymphoma *Am. J. of Med. Sci.* 254: 334-341. 1967.
 18. Goodman, D. H.: Early clue to visceral carcinoma. Haemorrhage after intravenously given Warfarin *J.A.M.A.* 166: 1037-1040, 1958.
 19. Hammarsten, O.: Über das fibrinogen. *Pfluegers Arch ges Physiol.* 19: 563 1879. (Citado en 9).
 20. Hayem, G.: Sur la formation de la fibrina du sang. *Etudes au microscope. Compt. Rend. Acad. Sci.* 86: 58- 1873. Citado en 9.
 21. Jurgens, R. y Trauwein, H.: Über fibrinopenic (Fibrinogenopenie) beim Erwachsenen nebst Bemerkungen über die Herkunft des Fibrinogens. *Deutsches Arc. f. Klin. Med.* 169: 28- 1930. (Citado en 13).
 22. Kaulla, K. N. von y Schulz, R. L.: Methods for the evaluation of human fibrinolysis. Studies with two combined techniques. *Am. J. Clin. Path.* 29: 104-112, 1958.
 23. Leavell y Thorup.: *Hematología Clínica.* 1a. Ed. 1960. Editorial Interamericana.
 24. Levin, J. y Lockard Conley, C.: Thrombocytosis associated with malignant disease. *Arch. of Int. Med.* 114: 497-500, 1964.
 25. Lieberman, J. S.; Borrero, J.; Urdaneta E. y Wright, I. S.: Thromboembolism associated with neoplasm. Review of seventy seven cases. *Circulation*: 22: 730-1960.
 26. Lloyd, F. C.: Treatment of Hodgkin's Disease. *Treatment of Cancer and allied diseases.* IX Lymphomas Pack y Ariel, Ed. 1967.
 27. Manual Hyland. Pruebas de Coagulación. 2a. Ed. Hyland Laborat.
 28. Merskey, C.; Johnson, A. J.; Pert, J. H. y Wohl, H.: Pathogenesis of fibrinolysis in defibrination syndrome. Effect of heparin administration. *Blood.* 24: 701-715, 1964.
 29. Miller S. P. y Davison, T.: Defibrination

- syndrome in Cancer treated with Heparin. *New York State J. of Med.* 67: 452- 1967.
30. Miller, S. P.; Sanche Avalos, J. Stefanski, T. y Zuckerman, L.: Coagulation disorders in Cancer. I: Clinical and Laboratory studies. *Cancer* 20: 1452-1465,
31. Mohler, E. R. Jr.; Kennedy, J. N. y Brakman, J.: Blood coagulation and fibrinolysis in multiple myeloma. *Am. J. of Med. Sci.* 253: 325-332, 1967.
32. Morawitz, P.: Transl. By Hartman, R. C. y Gunther, P. F.: The chemistry of blood coagulation. Thomas, C. C., Springfield I, 11- 1958, (Citado en 9).
33. Pascuzzi, C. A. y Spittel, J. A. y col.: Thromboplastin generation accelerator, a newly recognized component of the blood coagulation mechanism present in excess in certain thrombotic states. *J. Clin. Invest.* 40: 1006-1018, 1961. (citado en ref. 21).
34. Pileggi, J. E.: Trastornos de la Coagulación en las leucemias. *Prensa Med. Arg.* 47: 332-337, 1960.
35. Pisciotta, A. V. y Schltz, E. J.: Fibrinolytic purpura in acute leukemia. *Am. J. of Med.* 19: 824-828, 1955.
36. Rappaport, S. y Chapman, C.: Coexistent hypercoagulability and acute Hypofibrinogenesis in a patient with prestatic carcinoma. *Am. J. of Med.* 27: 144- 1959.
37. Risak, E.: Die Fibrinopenie. *Z. Klin. Med.* 128: 605- 1935. (Citado en 16).
38. Schmidt, A.: Neue Untersuchungen über die Faserstoffgerinnung. *Pfluegers. Arc. ges. Physiol.* 6: 413- 1872. (Citado en 9).
39. Sigstad, H. y Lamvik, J.: Haemorrhagic diathesis, fibrinolysis and Med. *Scand.* 173: Fasc. 2: 215-222, 1963.
40. Stefanini, M. y Lameshek, W.: The haemorrhagic disorders. 2a. Ed. Editorial Blackwell, 1966.
41. Stefanini, M.; Giammalvo, J. T. y Karaca, M.: Demstration od two additional mechanism in the pathogenesis of the syndrome of acquired fibrinogenopenia. *Amer. J. Med. Sci.* 246: 58-68, 1963.
42. Straub, P. W.; Riedler, G. y Frick, P. G.: Hipofibrinemia in metastatic carcinoma of the prostate: Supression of systemic fibrinolysis by Heparin. *J. Clin. Path.* 20: 152-157, 1967.
43. Tagnon, H. J.; Whitmore, W. F. Jr. y Schulman, N. R.: Fibrinolysis in metastatic cancer of the prostate. *Cancer* 5: 9-12, 1952.
44. Tagnon, H. J.; Whitmore, W. F. Jr. Schulman, P. y Kravitz, S. C.: The significance of fibrinolysis occurring in patients with metastatic cancer of the prostate. *Cancer* 6: 63-67, 1953.
45. Tagnon, H. J.; Whitmore, W. F. Jr. y Schulman, N. R. y Kravitz, S. C.: The significance of fibrinolysis occurring in patients with metastatic cancer of the prostate. *Cancer*: 6: 63-67, 1953.
46. Tagnon, H. J.; Sculman, P.; Whitmore, W. F. y Leone, L. A.: Prostatic febrinolysin. Study of a case illustrating role in haemorrhagic diathesis of cancer of the prostate. *Am. J. of Med.* 15: 875-884, 1953.
47. Toccantis, L. y Kazal, L.: Coagulación de la sangre. Hemorragia y trombosis. 1a. Ed. Editorial Científico Médica, 1969.
48. Trousseau, A.: Lectures on clinical medicine delivered at Hotel Dieu. Paris. Transl. from edition of 1868 by Cormick, J. R. London: The New Sydenham Society. 5: 287- 1872. (Citado en 11a).
49. Van de Loo, J. y Gross, R.: Coagulación y fibrinolisis. *Clinica Médica Universitaria.* Colonia, Alemania, 1965.
50. Warren, R.; Amdur, M.; Belko, J. y Baker, D.: Post-operative alterations in the coagulation mechanism of the blood. Observation on circulating thromboplastin. *Arch. Surg.* 61: 419-432, 1950. (Citado en 50).
51. Welborn, J. K.; Brennan, M. J. y Hathaway, J. C. Jr. Acute fatal fibrinolysis with gastric carcinoma. *Am. J. Surg.* 108: 344-348, 1964.
52. Zeller, J.; Okagaki, T. y Richart, R. M.: Fibrinolytic activity in cervical and endometrial neoplasia. *Am. J. of Obst. y Gynec.* 107: 1071-1078, 1970.