

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

FACULTAD DE MEDICINA

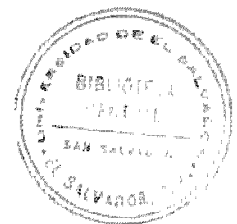
ESCUELA DE TECNOLOGIA MEDICA - LABORATORIO CLINICO

EL LABORATORIO DE INVESTIGACION EN LOS SINDROMES
PURPURICOS EN NIÑOS DEL HOSPITAL "BENJAMIN BLOOM".

Seminario de Graduación previa
opción al título de :

LICENCIADO EN LABORATORIO CLINICO

Ponentes : ANA VILMA AVALOS GONZALEZ
YANINA MARTHA GODOY PORTILLO



Noviembre 1983

San Salvador

El Salvador

Centro América

T
612.115
A945

UES BIBLIOTECA CENTRAL



INVENTARIO: 10117672

TRABAJO DE GRADUACION

PRESENTADO POR : ANA VILMA AVALOS GONZALEZ
YANINA MARTHA GODOY PORTILLO

ASESOR : T.M. ANABELLA LOBOS DE LOPEZ

JURADO : DRA. GRACIELA FE ECHEGOYEN DE
HERNANDEZ
DR. GUILLERMO SANCHO COLOMBARI
DR. JULIO CESAR RUIZ

I N D I C E

	PAGINAS
INTRODUCCION	1
MARCO TEORICO	2 - 4
MATERIAL	5
METODOS	6 - 25
RESULTADOS	26 - 29
CUADROS	30
COMENTARIO Y DISCUSION	31 - 36
CONCLUSIONES	37 - 38
BIBLIOGRAFIA	39 - 41

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

Nuestro trabajo es un estudio verificado en cincuenta niños con síndrome purpúrico. El objetivo primordial del trabajo es el estudio funcional de las plaquetas, especialmente.

En base a la sintomatología presentada por los pacientes, se seleccionamos técnicas hematológicas para el estudio de la función plaquetaria, que además de ajustadas a la capacidad de nuestro medio, dieran margen para el estudio cualitativo y cuantitativo de las plaquetas, las cuales en mayor proporción están involucradas en los síndromes hemorrágicos.

Las técnicas seleccionadas fueron montadas y probadas con anterioridad, es decir, fueron aplicadas a sueros, plasmas y sangre completa de personas supuestamente sanas, para verificar los resultados con los rangos de los valores normales que da cada técnica seleccionada. Los resultados obtenidos fueron satisfactorios.

Con las técnicas, así probadas, fueron analizados, el suero, el plasma, la sangre completa y las plaquetas en 50 niños con síndrome purpúrico. Con el propósito de informar del papel que juegan las plaquetas en los síndromes purpúricos hicimos uso de técnicas hasta cierto punto poco utilizadas en nuestro medio, las cuales, a la par de las técnicas convencionales pueden conducir a una mejor evaluación de estos síndromes.

M A R C O T E O R I C O

Las plaquetas o trombocitos se derivan de la fragmentación del citoplasma del megacariocito trombocitógeno en la médula ósea. Las plaquetas son elementos que no pueden reproducirse, pues carecen de ácido nucléico, sin embargo, tienen un complicado mecanismo y un metabolismo con más de ochenta reacciones enzimáticas, además de que poseen ciento cincuenta veces más ATP que el eritrocito. La vida media es de siete a diez días, su diámetro es de dos a cinco micras, susceptibles a variaciones en su forma que comprenden los microtrombocitos (2 micras) y los macrotrombocitos (5 micras o más).

Las plaquetas desempeñan un papel decisivo en el fenómeno de la hemostasis y es necesario mencionar, aunque de una manera breve, la fisiología plaquetaria, la cual se desarrolla de la siguiente manera: en la hemostasis, posteriormente a la injuria del endotelio de un vaso, se inicia la fase plaquetaria, la colágena entra en contacto con las plaquetas liberando el ADP, el cual estimula la agregación en el sitio mismo donde la plaqueta contactó con la colágena (funciones de adhesión y agregación), produciendo un pequeño tapón o trombo plaquetario en el punto de la lesión (Coágulo blanco). Además del trombo de plaquetas o hemostático, con sus propiedades de adhesividad, agregación y reacción de liberación, incluye la liberación de trombina, colágena, ADP, serotonina y enzimas.

Las plaquetas tienen entre sus funciones:

La procoagulante por medio del factor 3 plaquetario; la de contracción vascular por medio del transporte y liberación de serotonina; la de retracción por medio de la acción de la tromboastenina y la función de fagocitosis.

Siendo la adhesividad y la agregación plaquetaria fundamentales en el mecanismo de hemostasis nos parece conveniente, comentar separadamente algunas propiedades de estos fenómenos.

Los investigadores han demostrado que la adhesividad plaquetaria está condicionada por varios elementos como son la fibra del colágeno y la membrana basal de los endotelios. El colágeno actúa como un polímero de cadena peptídica el cual asociado a un factor plasmático, con propiedades semejantes a las del factor VIII del plasma, producen la adhesividad plaquetaria. Diversidad de agentes son capaces de provocar agregación.

La agregación es la capacidad que poseen las plaquetas de unirse unas con otras hasta formar grumos y es la más importante propiedad porque se producen reacciones fisiológicas propias y características.

Fase de Agregación:

Las plaquetas aisladas se adhieren entre sí para formar pequeños agregados que a su vez se adhieren entre sí, formando agregados mayores.

Explicación del fenómeno: Inducción por ADP, reversible momentáneamente; mientras se libera ADP, y colágeno, luego pasa a ser irreversible.

Fase de metamorfosis viscosa:

Al unirse a otras las plaquetas forman un conglomerado sin estructura por lo que se llama "Metamorfosis Viscosa", en esta fase el ADP liberado actúa sobre la tromboastenina, proteína plaquetaria, que al recibir el estímulo del ADP se contrae, se forman pseudópodos, puentes de calcio y proteína entre las plaquetas, formando un coágulo irreversible, con lo cual la fase de agregación concluye.

Fase de liberación:

Es la liberación de los compuestos contenidos en las plaquetas, para que entren a reaccionar con el medio externo, como el ADP, Serotonina, calcio, enzimas y el fibrinógeno intraplaquetario; todos importantes para la formación del trombo.

En la formación del trombo plaquetario hay que reconocer la importancia que tienen los lípidos plaquetarios en el proceso de coagulación. Hasta el momento el más importante de ellos el factor 3 plaquetario, el cual interviene como procoagulante en la coagulación intrínseca, contribuyendo esencialmente a la hemostasis. Esta sucesión de hechos en los cuales las plaquetas tienen un papel importante en la hemostasis, determinan la formación de un coágulo en el lecho de un vaso injuriado, consolidado por el cruzamiento de filamentos de fibrina que atrapan eritrocitos y leucocitos.

Estos trombos de plaquetas, dentro de la hemostasis y la coagulación, para evitar su propagación en la luz de los vasos, interreaccionan con ciertos factores para autolimitarlos y destruirlos después de cumplida su función, y entre ellos podemos mencionar las reacciones vaso constrictoras y fibrinolíticas, condiciones éstas que proceden después de la retracción del coágulo activada por la tromboastenina.

M A T E R I A L

Material humano:

Cincuenta niños estudiados, pertenecientes a la Consulta Externa de Hematología y a los servicios de Escolares y Lactantes del -- Hospital Benjamín Bloom.- Sus edades oscilan entre seis meses y doce años.

Material de laboratorio:

Para el presente trabajo se utilizó tubos y pipetas siliconizadas y jeringas plásticas.

Como anticoagulante utilizamos citrato de sodio que es el anticoagulante de elección.

Equipo de laboratorio:

Centrífuga

Baño de María

Cronómetro

M E T O D O S

. Tiempo de Coagulación

Método de Lee-White (12)

Principio : Esta prueba mide de una manera muy general, los factores que intervienen en el Sistema intrínseco de la coagulación.

Material : Tubos de ensayo 12 x 75 mm, cronómetro, baño de María a 37 grados centígrados, jeringas y agujas descartables.

Procedimiento: Se obtiene sangre venosa, la punción debe ser perfecta pues la contaminación con linfa modifica los resultados. En el momento que la sangre penetra en la jeringa se pone en marcha el cronómetro.

Verter cuidadosamente en tres tubos de ensayo un centímetro de sangre, mantenerlos en baño de María a 37 grados centígrados.

El tubo número uno se inclina cada 30 segundos hasta que el coágulo aparezca, los tubos dos y tres se tratan a continuación similarmente y el tiempo de coagulación lo define la formación de un coágulo sólido formado en el tercer tubo.

Valores normales de 4 a 10 minutos.

Retracción del Coágulo

Método : de Mac FARLANE, R.G. (12)

Principio: La retracción del coágulo depende de la actividad trombotodinámica de la plaqueta, la tromboastenina es la responsable de esta función. La retracción del coágulo depende del número de plaquetas, de su actividad funcional y de la concentración del fibrinógeno.

Material : Tubos de centrífuga graduada.
Aplicadores de madera.

Procedimiento: Extraer uno a dos mililitros de sangre del paciente y colocar cantidades alícuotas en tubos de 10 x 75 mm.; incubarlos en baño de María a 37°C.; observarlo en una hora exactamente, y a la mañana siguiente, lo que permite evaluar las condiciones físicas del coágulo como apariencia, dureza, tamaño, estabilidad y porcentaje de -- retracción.

La técnica que utilizamos en nuestro trabajo - fué una Modificación del Método MacFarlane hecha por el doctor Javier Pizzuto, (13) y es la siguiente:

Extraer 1 ml. de sangre del paciente y colocarlo en un tubo de 10 x 75 mm.; incubarlo en baño María a 37°C. durante una hora exactamente; sacar el tubo y con un aplicador de madera desprender el coágulo; el suero pasarlo al tubo de centrífuga graduado y anotar el volumen; este tubo centrífugarlo a 3,000 R.P.M. durante 5 min. ---

y medir el suero libre y el paquete globular; agregarle el coágulo y medir el total. Ejemplo:

Glóbulos rojos + Suero Libre	0.6
Suero Libre	0.5
paquete glóbulos rojos	0.1
	0.1
Total	1.2

Por otra parte, se toma el hematócrito del paciente y se resta de $(100 - 46) = 54$ por lo -- que, si fué de 46 tenemos 0.54, cifra que multiplicamos por el total 1.2; lo que nos dá -- 0.648.

El suero libre lo dividimos entre esta cifra y el resultado lo multiplicamos por 100, obteniendo así el porcentaje de retracción, por lo que en nuestro ejemplo tendremos: $0.5 \text{ entre } 0.648 = 0.771 \times 100 = 77.1 \%$

Valores normales : de 40 a 94%

· Tiempo de Protombina

Método : QUICK (12)

Principio: En el tiempo de protombina intervienen los factores de la fase extrínseca de la coagulación activada hasta convertir la protombina, en presencia de la actividad de la protombinasa, en trombina y ésta convierte el fibrinógeno a fibrina. La cantidad de formación de fibrina depende de la concentración de los factores V, VII, X protombinasa y fibrinógeno y la prueba mide la actividad total de dichos factores.

Material: Copas de plástico
Pipetas de 0,2 ml. terminales
Tromboplastina con Cl Ca.

Procedimiento: En una copa de plástico poner:
0,2 ml. de tromboplastina con Cl Ca
0,1 ml de plasma. En el momento de agregar el plasma contar el tiempo con el fibrinómetro.
Valores normales: Se toman dependiendo del valor que den los plasmas controles de coagulación.

Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada. (Utilizando trombofax Activado) (12)

Principio : La Variabilidad del Contacto plasmático puede ser controlada por exposición del plasma o un activador soluble, contenido en el reactivo para el tiempo parcial de tromboplastina. La presencia de un Activador acortará el número de segundos requeridos para que el plasma normal coagule, y estrechará por tanto los límites del rango normal.

Reactivos:

- a) Reactivo para el tiempo de tromboplastina parcial con activador (trombofax activado)
- b) Cloruro Cálcico 0,02 M
- c) Plasma Normal

Método:

1. Calentar en baño a 37° C. durante 5 minutos un tubo que contenga trombofax activado, y un tubo que contenga cloruro cálcio 0.02 M. No incubar el plasma.
2. En un tubo de 12 x 75 mm añadir 0.1 ml del plasma a estudiar y 0.1 ml de trombofax activado. Agitar el tubo para mezclar el reactivo y el plasma.
Colocarlo en baño a 37°C de 3 a 5 minutos.

3. Tras el período de incubación añadir 0.1 ml de cloruro cálcico en la mezcla plasma-trombofax activado; simultáneamente en marcha el cronómetro. Agitar para mezclar el contenido. Dejar a 37°C de 20 a 25 seg.
4. Tras la incubación de 20 a 25 seg. eliminar el tubo del baño y observar la formación del coágulo, deteniendo entonces el cronómetro y midiendo el tiempo de coagulación.
5. Debe utilizarse siempre un Control Normal.

RESULTADOS:

Los rangos normales utilizando trombofax activado están comprendidos entre 25 a 40 segundos.

Tiempo de Sangría**Método:** de DUKE (12)

Principio : Mide el tiempo que tarda en detenerse la salida de la sangre provocada por una herida estandarizada que daña los pequeños vasos capilares de la piel, su objetivo es medir la función -- plaquetaria independientemente del mecanismo de coagulación.

Materiales: Lanceta descartable estéril.
Papel filtro. Cronómetro.

Procedimiento: Con una lanceta se practica punción de unos 3 mm., de profundidad, en el niño puede usarse la yema del dedo a modo que corten perpendicularmente la dirección de las huellas digitales, o el lóbulo de la oreja, A intervalos de medio minuto, se aplica cuidadosamente sobre la gota de sangre, el borde un pequeño disco de papel filtro. Se toma como punto final, el momento en el cual el papel filtro ya no absorve la - sangre,

Valores normales : de 1 hasta 4 minutos.

Cuenta de Plaquetas.

Método : de BRECHER y CRONKITE Modificado (8)

Principio: Se basa en la cuenta de plaquetas en sangre capilar obtenida por punción directa a través de la piel.

Material: Pipeta de Thoma para glóbulos rojos, oxalato de amonio al 1%, citrato de sodio, ácido etilendiaminotetra acético (EDTA) y solución de Hayen.

Procedimiento: Se aspira sangre con una pipeta de Thoma hasta la marca 0.5, luego se llena de líquido de dilución hasta la marca 101. Se agita durante un minuto, luego se monta la cámara - NEUBAUER y se pone en una caja de petri sobre un disco de papel filtro húmedo, se tapa la cámara y se espera de 10 a 20 minutos para que se depositen bien las plaquetas, al cabo de este tiempo se procede al conteo en toda el área Central, y se multiplica el número de plaquetas encontrados por 2000.

Valores Normales: de 150,000 a 400.000 plaquetas por milímetro cúbico.

Método de fonio (Indirecto)

Este es un método no muy recomendado ya que el margen de error que nos proporciona es muy grande, se puede utilizar solamente para tener una idea de como andan aproximadamente las plaquetas.

De ambos métodos el que nos ofrece una mayor ventaja por su exactitud y confiabilidad es el Método directo.-

Agregación Plaquetaria

Método: con adrenalina (13)

Principio: La adrenalina ejerce o induce una acción directa sobre las plaquetas y provoca una respuesta de agregación primaria.

Aún cuando la adrenalina misma puede provocar agregación, se observa una segunda fase originada por la liberación de ADP de las plaquetas. Medirá por lo tanto, anomalías en la respuesta primaria, la liberación y la capacidad de las plaquetas para responder al ADP.

Material :
 Tubos de 10 x 75 mm. siliconizados
 Pipetas de 0.2 terminales
 Cronómetro
 Adrenalina (10 U. gr/ml)

Procedimiento: En un tubo de 10 x 75 mm., siliconizado colocar:

0,5 ml de plasma rico en plaquetas
 0,2 ml de adrenalina

En el momento de agregar la adrenalina se marca el tiempo en el cronómetro, se agita el tubo y se empieza a ver la aglutinación macroscópica de las plaquetas, agitando el tubo suavemente. En el momento en que empieza la aglutinación, parar el cronómetro.

Correr un testigo de las mismas condiciones; la prueba debe efectuarse no más de 30 minutos de extraída la sangre.

Valores normales: de 18 a 31 segundo.

Adhesividad Plaquetaria.

Método: de BORCHGREVINK (13)

Principio: Las plaquetas tienen la propiedad de adherirse al colágeno, constituyente del tejido conectivo y presente en las estructuras subendoteliales de los vasos, iniciando una secuencia de fenómenos que en el caso de una injuria vascular culminará en la formación del tapón plaquetario.

El propósito de la prueba es medir la propiedad de adhesión de las plaquetas.

Material: Cronómetro
Lancetas
Pipetas de Thoma
Torundas con alcohol
Oxalato de amonio al 1%

Procedimiento: Efectuar las mismas operaciones que para el tiempo de sangría; en el momento de aparecer la gota de sangre marcar el tiempo en el cronómetro y con intervalos de 1 minuto tomar sangre con una pipeta de Thoma hasta la marca 0.5 y llevar hasta la marca 101 con el líquido diluyente. Esta misma operación repetirla hasta que la sangre deje de fluir. Se cuentan las plaquetas con el método habitual; se divide entre el número de cuentas y el resultado se resta del número de la cuenta venosa y se efectúa una regla de 3. Ejemplo:

Suponiendo que se hayan hecho 7 tomas:

- 1.- 230.000
- 2.- 200.000
- 3.- 222.000
- 4.- 178.000
- 5.- 177.000
- 6.- 130.000
- 7.- 142.000

Sumando el total tendremos: 1,279.000 que dividido entre el número de cuentas da 182, 714 y suponiendo que el número de la cuenta venosa a tomar como 100% haya sido de 380.000 entonces se le resta 182.714 por lo que nos queda -- 197.286; efectuando la regla de 3 nos queda:

$$\begin{array}{r} 380.000 - 100\% \\ 197.286 - x\% \end{array}$$

x % es igual a 52 que es el porcentaje de adhesividad.

Valores Normales : de 17% a 60%

Factor 3 Plaquetario (13)

Método: de HARDISTY, R.M. y HUTTON modificado

Principio: El factor 3 plaquetario se hace disponible de las plaquetas por modificación en la membrana, el cual se libera en contacto con el caolín.

Un plasma rico en plaquetas se pre-incuba en presencia de caolín; de esta forma se estimula su presencia y sirve como medida de la disponibilidad del factor 3 plaquetario. La actividad del factor 3 plaquetario o sus derivados se manifiesta por un acortamiento del tiempo de coagulación comparado con un blanco.

Material:

- Tubos de 10 x 75 mm. siliconizados
- " " 12 x 75 " "
- Pipetas de 0.1 ml
- Cronómetro
- Plasma problema, rico en plaquetas
- Plasma normal, pobre en plaquetas
- Caolín al 2% en amortiguador de imidazole
- Caolín al 8% en " " "
- Solución salina
- Cloruro de calcio al 0.025 M

Método:

Al plasma rico en plaquetas del problema, determinarle el número de ellas por milímetro cúbico de igual manera que se hace en sangre total; de acuerdo con el resultado, ajustar a tener exactamente 100.000 plaquetas por mm^3 efectuando las diluciones con solución salina; si el plasma no tiene más de 100.000 plaquetas se efectúan las diluciones necesarias a obtener 50, 25 ó -- 12.000; ya teniendo la dilución deseada se coloca exactamente 1 ml. en un tubo de 12 x 75 mm. siliconizado, y en otro tubo igual se coloca 1 ml de solución salina, la cual nos servirá de blanco.

Por otro lado se coloca una serie de tubos de 10 x 75 mm. a los cuales se les pone:

0,3 ml de plasma pobre en plaquetas

0.15 ml de caolín al 2%

Se coloca en baño María a 37°C.

En el momento de agregar al tubo de 12 x 75 mm., que contiene el ml. de la dilución de plaquetas, 0.5 ml de caolín al 8%, se marca el tiempo en el cronómetro; se agita el tubo y se coloca en baño María a 37°C. durante 10 minutos exactamente; - transcurridos los 10 minutos tomar 0.05 ml de la dilución de plaquetas y colocarlos en el tubo - que contiene los 0,3 ml. de plasma normal pobre en plaquetas; en el momento de agregarlos marcar el tiempo en el cronómetro; agitar e incubar - 30 segundos; después agregar 0,4 ml. de Ca Cl - 0.025 molar; marcar el tiempo en el cronómetro; agitar e incubar 30 segundos y sin parar el ---

cronómetro empezar a ver la formación del coágulo; en el momento de su formación parar el cronómetro. Efectuar las mismas operaciones para el blanco, únicamente que al agregar el Ca Cl colocar 0.3 ml. Ejemplo:

Después de 10 minutos de incubación:

Tubo problema (1ml con 100.000 plaquetas) 54" 56"

blanco (1ml con solución salina) 67" 69"

Se restan los tiempos del problema a los de la solución salina, lo que nos da:

$68 - 55 = 13$, por lo que:

$68 - 100\%$

$13 - x\%$ de donde $X = 20\%$

para 100,000 plaquetas por mm^3 de 23 a 33 %

50,000 " " " " 15 a 25 %

25,000 " " " " 9 a 20 %

12,000 " " " " 3 a 16 %

·Determinación de anticuerpos antiplaquetarios (8)

Método: De Karpatkin S. y Siskin, G.W.

Principio: El factor antiplaqueta es detectado empleando una fracción globulínica del suero del paciente, plaquetas normales humanas y un producto de contacto, así, en esta técnica se ensaya una injuria plaquetaria en la cual se prueba la habilidad de las plaquetas a hacer útil o provechoso el Factor 3 Plaquetario (fosfolípido) en la cascada de la coagulación.

Equipo: Jeringas, pipetas y tubos siliconizados
Baño de María a 37°C
Cronómetros
Tubos de celofán para diálisis.

Reactivos a) Fracción globulínica (F.G.)
para la preparación de esta fracción del suero se utiliza:

1. Buffer salino de fosfato, que se prepara a partir de un buffer de fosfatos 1 Molar, el cual se obtiene mediante el agregado de una solución de Fosfato ácido de potasio 1 Molar ($\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$) a una solución de fosfato dipotásico 1 Molar (PO_4HK_2) hasta alcanzar un PH 7.40 ± 0.05 .

El Buffer salino de fosfatos se obtiene agregando 8.77 gr. de Cl Na a 10 ml. de -- Buffer de fosfatos diluyéndolo a 1000 ml. con agua destilada, PH f-nal 7.40.

2. Solución saturada de Sulfato de Amonio.

b) Producto de contacto (P. C.)

Para la preparación de P.C. se requiere:
Celite, agua destilada, solución de Cl Na
al 10% y solución de Cl Na al 0.85%.

c) Para la determinación de los tiempos de coagulación se requiere Cl Ca 0.025 M.

Método:

Preparación de la fracción globulínica.

A un volumen conocido de suero se agrega un volumen igual de solución saturada de sulfato de amonio, se deja que el precipitado sedimente a 4°C y luego se centrifuga durante 30 minutos.

Se prepara una solución de lavado mezclando volúmenes iguales de solución saturada de Sulfato de Amonio, con Buffer salino de fosfatos.

Después de descartar el sobrenadante se lava el precipitado resuspendiéndolo en 10 veces su volumen. Se repite el procedimiento 2 veces.

El precipitado es luego disuelto en Buffer salino de fosfatos en un volumen igual al inicial del suero.

Posteriormente se dializa el mismo contra Buffer salino de fosfatos en una proporción de 100 a 1, efectuando 3 cambios del mismo cada doce horas.

Preparación del producto de contacto (P.C.)

El mismo se prepara por la absorción de plasma pobre en plaquetas (P.P.P) citratado usando celite en una proporción de 20 mg. por ml. de plasma.

La suspensión se incuba 10 min. a 37°C mezclándola cada 2 min. por inversión del tubo. Se centrifuga a 4000 G. durante 20 min. se elimina el sobrenadante, lavando el celite con agua destilada en un volumen igual al del P.P.P inicial. Este procedimiento se repite 5 veces.

Eliminando el sobrenadante en el último lavado, el celite es resuspendido en solución de Cl Na al 10%, utilizando la mitad del volumen inicial del P.P.P. la suspensión se incuba 10 min. a 37°C mezclándola por inversión cada 2 min. Este método separa el P.C. del celite.

Se elimina el celite por centrifugación y se diáliza el sobrenadante en solución del cloruro de sodio al 0.85% en una proporción de 1.75 a -- 4°C, durante 24 horas.

Después de la diálisis se fracciona el P.C. en pequeñas cantidades congelándolo a 20°C.

Preparación del plasma rico en plaquetas (P.R.P.)

Nueve volúmenes de sangre se extraen con equipo siliconado en un volumen de Citrato Trisódico - al 3.8%. El plasma rico en plaquetas es obtenido por centrifugación a 150 y 200 G. durante 10 minutos separándolo cuidadosamente.

Desarrollo del

Método:

El Cl Ca al 0.025M es mantenido a 37°C en el baño mientras que los otros reactivos ----- (F.G., P.C., P.R.P.) son mantenidos en hielo, y en un tubo se coloca:

0.1 ml de F.G.

0.1 ml de P.C.

0.1 ml de P.R.P.

Todo lo anterior se incuba a 37°C durante 5 min. y se agrega 0.1 ml. de Cl Ca, se dispara el cronómetro, se agita suavemente el tubo midiendo el tiempo de aparición de un coágulo de fibrina.

Con la fracción globulínica el control de tiempo de coagulación debe oscilar en 90 seg. aproximadamente. Este método se realiza en duplicado y los tiempos deben coincidir con diferencias no mayores de 5 seg.

Los controles son comparados con muestras de pacientes, considerando actividad antiplaquetaria (test positivo) una reducción de 10 segundos o más en la muestra del paciente, con respecto al control.

Interpretación:

El método demuestra la propiedad de los anticuerpos plaquetarios de activar el Factor Plaquetario III (Pf3). Este interacciona con los factores V, Xa, y calcio promoviendo la activación de la Protrombina.

Es así que la presencia de aglutininas plaquetarias séricas se evidencia por un acortamiento en los tiempos de coagulación con respecto a los valores control.

R E S U L T A D O S

Hemos estudiado 43 casos de niños con trastornos hemorrágicos de tipo purpúrico.

Trabajando con un grupo de técnicas, cuya finalidad como dijimos al principio, es la de evaluar el papel o función de la plaqueta.

Para una mejor comprensión y exposición de nuestro trabajo, analizamos los resultados por medio de diferentes cuadros y así los resultados en nuestro trabajo son como siguen:

Cuadro 1, 2, 3 y 4. En estos cuadros hemos anotado las principales pruebas que se interrelacionan entre sí, tomando siempre como parámetro principal la cuenta de plaquetas. Las otras pruebas son: tiempo de sangría, retracción del coágulo, agregación plaquetaria, adhesividad plaquetaria, factor 3 plaquetario, verificadas en 43 pacientes. Aclaremos que no hemos tomado en cuenta siete pacientes con sospecha de problema de factores de coagulación, los cuales se describen en el cuadro No.6. El tiempo de coagulación fué excluído de estos cuadros (1, 2, 3, y 4) ya que esta prueba fué usada como una prueba complementaria junto al tiempo de protombina y el tiempo de tromboplastina parcial activada que estudian otro tipo de problema dentro de los síndromes hemorrágicos.

Tomando como parámetro la cuenta de plaquetas hemos dividido los 43 casos estudiados en dos grupos;

a) Pacientes con cuenta de plaquetas disminuídas

(Cuentas menores de $150.000/\text{mm}^3$) = 27 pacientes (62.7 %)

b) Pacientes con cuenta de plaquetas normales

(cuentas mayores de 150.000 plaquetas/ mm^3) = 16 pacientes
(37.3%)

RESULTADOS DE LOS 27 PACIENTES CON CUENTA DE PLAQUETAS DISMINUIDAS.

Los valores de la cuenta de plaquetas fueron variables desde valores de 10,000 plaquetas/mm³ hasta valores de 150.000 plaquetas/mm³. Hemos colocado los resultados, dependiendo de la cuenta plaquetaria, en los cuadros 1-2-3 y 4.

Cuadro 1 : Cuenta de plaquetas de 10.000 a 50.000 x mm³
9 casos = 33.3 %

El tiempo de sangría, en este grupo, osciló entre 2 minutos y 20 minutos; en este grupo se registraron los casos con tiempo de sangría más elevados.

La retracción del coágulo no se produjo en siete casos; en dos casos, con una retracción sumamente disminuída.

La prueba de agregación plaquetaria fué normal en los nueve casos.

La adhesividad plaquetaria, en cinco casos presentó valores de adhesividad disminuídos (2.4 % a 12.6 %); en cuatro casos presentó valores normales de adhesividad.

En ocho casos el factor 3 plaquetario detectó valores normales; solamente el caso No.19 presentó un valor normal.

Cuadro 2 : Cuenta de plaquetas de 50.000 a 100.000 x mm³
13 pacientes = 48.1 %

Tiempo de sangría: los valores oscilaron entre 2 y 12 minutos.

Retracción del coágulo: en diez casos no se observó retracción; un caso con retracción bajo lo normal, y dos de retracción normal con cuenta de plaquetas de 98.000 plaquetas/mm³, el caso No.8 y 92.000 plaquetas/mm³, el caso No.46, con el tiempo de sangría de 4 y 3 minutos respectivamente. El caso No.46 fué el de un paciente con tratamiento a base de esteroides, el resto de sus pruebas resultaron normales.

En doce casos la agregación fué anormal, la única prueba de agregación normal fué la del caso No.46 del paciente con tratamiento a base de esteroides.

En este grupo de pacientes la adhesividad plaquetaria también mostró variantes: siete de los trece casos presentó porcentajes de adhesividad disminuidos oscilando los resultados entre 3.9% y 14% de adhesividad plaquetaria.

Los casos restantes presentaron un valor de adhesividad normal.

Solamente un caso (No.46) no se le practicó la prueba de adhesividad por no presentarse el paciente a la cita que se le -- indicó.

El factor 3 plaquetario en once de los casos resultó con valores por debajo de lo normal. Solamente dos casos presentaron el factor 3 plaquetario normal, los casos No.1 y No.46.

Cuadro 3 : Cuenta de plaquetas de 100.000 a 150.000 x mm³.
5 pacientes = 18.5 %

El tiempo de sangría: osciló entre 3 y 9 minutos.

Retracción del coágulo: en cuatro casos no se observó retracción; un caso (No. 39) tuvo un porcentaje de retracción bajo lo normal (19%)

La agregación plaquetaria resultó anormal en los cinco casos.

La prueba de adhesividad plaquetaria resultó disminuída en cuatro casos con valores que oscilaron entre 7.8% a 15% de adhesividad, el caso No.39 fué el único de este grupo que presentó porcentaje normal de adhesividad.

El factor 3 plaquetario resultó disminuído en cuatro casos, el único caso de este grupo que presentó porcentaje normal fué el caso No,39 : 31% con 150.000 plaquetas.

Pacientes con cuenta de plaquetas normales.

Cuadro No.4: Cuenta de plaquetas: más de 150.000 plaquetas x mm^3 .
16 pacientes = 37.2 %

El tiempo de sangría: Osciló entre 1 a 6 minutos.

La retracción del coágulo fué normal en 13 casos (81.2%), dos casos (12.5%) con retracción ligeramente bajo lo normal y un caso (6.2%) (No.11) no retráctil.

La agregación plaquetaria fué anormal en 11 casos (68.7%) y normal en cinco casos (31.2%).

La adhesividad plaquetaria en cinco casos (31.2%) fué anormal y en 11 casos (68.7%) presentó valores normales.

El factor 3 plaquetario presentó resultados dentro de los valores normales en catorce casos (87.5%), dos de éstos aproximados al límite mínimo inferior normal; uno (6.2%) con 16% del valor y uno (6.2%) (No.50) en quien no se hizo.

Cuadro No.5.

De los 50 casos estudiados, no fué posible realizarles el estudio de los anticuerpos antiplaquetarios a todos los casos, solamente se les realizó a 39 casos (78%) en vista de que unos pacientes no se presentaron a la cita y otros no fué posible controlarlos.

Los resultados del Cuadro No.5 son como sigue:

- a) Doce pacientes presentaron anticuerpos antiplaquetarios positivos, (30.8%) todos los casos presentaron una cuenta plaquetaria disminuída cuyos valores oscilaron entre 10.000 y 186.000 plaquetas/ mm^3 .
- b) Veintisiete casos presentaron anticuerpos antiplaquetarios negativos (69.2%) con cuentas plaquetarias variables dentro de lo normal.

C U A D R O S . -

CUENTA DE PLAQUETAS DE 10,000 P/mm.³ A 50,000 P/mm.³

PACIENTE Nº	CUENTA DE PLAQUETAS VN= DE 150,000 A 400,000 P/mm. ³	TIEMPO DE SANGRIA VN= DE 1 A 4 min.	RETRACCION DE COAGULO VN= DEL 40 AL 94 %	AGREGACION PLAQUETARIA VN= DE 18 A 31 seg.	ADHESIVIDAD PLAQUETARIA VN= DEL 17 AL 60 %	FACTOR III PLAQUETARIO VN= DEL 23 AL 33%
4	44,000 P/mm. ³	3 min.	5%	ANORMAL > 31 seg.	20%	20 %
15	10,000 "	12 "	NO RETRACTIL 0%	ANORMAL > 31 seg.	7.7 %	16.0 %
19	50,000 "	14 "	14 %	ANORMAL > 31 seg.	2.4 %	28.9 %
21	28,000 "	20 "	NO RETRACTIL 0%	ANORMAL > 31 seg.	3.28%	4.5 %
22	20,000 "	15 "	NO RETRACTIL 0%	ANORMAL > 31 seg.	4.3 %	9 %
24	42,000 "	2 "	NO RETRACTIL 0%	ANORMAL > 31 seg.	17 %	6.2 %
33	42,000 "	5 "	NO RETRACTIL 0%	ANORMAL > 31 seg.	12.6%	20 %
38	50,000 "	6 "	NO RETRACTIL 0%	ANORMAL > 31 seg.	18 %	20 %
47	50,000 "	7 "	NO RETRACTIL 0%	ANORMAL > 31 seg.	20 %	21 %

CUADRO Nº 2

CUENTA DE PLAQUETAS DE 50,000 P/mm.³ A 100,000 P/mm.³

PACIENTE Nº	CUENTA DE PLAQUETAS VN=DE 150,000 A 400,000 P/mm. ³	TIEMPO DE SANGRIA VN= DE 1 A 4 min.	RETRACCION DE COAGULO VN= DEL 40 AL 94 %	AGREGACION PLAQUETARIA VN= DE 13 A 31 seg.	ADHESIVIDAD PLAQUETARIA VN= DEL 17 AL 60%	FACTOR III PLAQUETARIO VN= DEL 23 AL 33%
1	75,000 P/mm	2 min.	14 %	ANORMAL > 31 seg.	6.7 %	33 %
2	60,000 "	11 "	NO RETRACTIL 0 %	ANORMAL > 31 seg.	12.0 %	21 %
8	98,000 "	4 "	44 %	ANORMAL > 31 seg.	52 %	16 %
23	72,000 "	7 "	NO RETRACTIL 0%	ANORMAL > 31 seg.	14 %	9 %
25	80,000 "	4 "	NO RETRACTIL 0%	ANORMAL > 31 seg.	22 %	5.7%
26	86,000 "	6 "	NO RETRACTIL 0%	ANORMAL > 31 seg.	20.6 %	7.6 %
27	84,000 "	12 "	NO RETRACTIL 0%	ANORMAL > 31 seg.	3.9 %	5.0%
28	80,000 "	8 "	NO RETRACTIL 0%	ANORMAL > 31 seg.	20.0 %	11.0%
29	86,000 "	8 "	NO RETRACTIL 0%	ANORMAL > 31 seg.	17.6 %	7.1 %
30	84,000 "	6 "	NO RETRACTIL 0%	ANORMAL > 31 seg.	19 %	12 %
44	60,000 "	3 "	NO RETRACTIL 0%	ANORMAL > 31 seg.	6.2 %	10 %
45	92,000 "	4 "	NO RETRACTIL 0 %	ANORMAL > 31 seg.	10 %	7 %
46	92,000 "	3 "	59%	NORMAL < 31 seg.	NO SE HIZO	26 %

CUADRO Nº 3

CUENTA DE PLAQUETAS DE 100,000 P/mm.³ A 150,000 P/mm.³

PACIENTE Nº	CUENTA DE PLAQUETAS VN = DE 150,000 A 400,000 P/mm. ³	TIEMPO DE SANGRIA VN = DE 1 A 4 min.	RETRACCION DE COAGULO VN = DEL 40 AL 94 %	AGREGACION PLAQUETARIA VN = DE 18 A 31 seg.	ADHESIVIDAD PLAQUETARIA VN = DEL 17 AL 60 %	FACTOR III PLAQUETARIO VN = DEL 23 AL 33 %
18	108,000 P/mm. ³	7 min.	NO RETRACTIL 0%	ANORMAL > 31 seg.	11.5 %	4.4 %
37	102,000 "	9 "	NO RETRACTIL 0%	ANORMAL > 31 seg.	9.8 %	12.5 %
39	150,000 "	3 "	19 %	ANORMAL > 31 seg.	30 %	31 %
40	140,000 "	4 "	NO RETRACTIL 0%	ANORMAL > 31 seg.	15 %	5.2 %
48	116,000 "	7 "	NO RETRACTIL 0%	ANORMAL > 31 seg.	7.8 %	22.0 %

CUADRO No. 4
PACIENTES CON CUENTA DE PLAQUETAS NORMALES

Pacien- te No.	CUENTA DE PLAQUETAS VN=150.000 a 400.000	TIEMPO DE SANGRIA VN=DE 1 a 4 min.	RETRACCION DE COAGULO VN=DEL 40% AL 94%	AGREGACION PLAQUETARIA VN= DE 18 a 31 seg.	ADHESIVIDAD PLAQUETARIA VN=DEL 17 AL 60%	FACTOR III PLAQUETARIO VN= DEL 25 AL 33%
3	210.000	5 minutos	56 %	ANORMAL >31 seg.	18 %	25 %
5	316.000	1 "	60 %	ANORMAL >31 seg.	7.5 %	28 %
6	174.000	6 "	54 %	ANORMAL >31 seg.	12.6 %	50 %
7	226.000	5 "	57 %	ANORMAL >31 seg.	23 %	54 %
9	318.000	1 "	64 %	ANORMAL >31 seg.	15 %	26 %
10	360.000	2 "	70 %	NORMAL <31 seg.	15 %	28 %
11	186.000	5 "	NO RETRACTIL	ANORMAL >31 seg.	15 %	36 %
12	272.000	3 "	52 %	ANORMAL >31 seg.	28.6 %	20.3 %
13	318.000	2 "	45 %	NORMAL <31 seg.	27. %	27.4 %
14	312.000	2 "	72 %	NORMAL <31 seg.	6.73 %	28.9 %
17	418.000	2 "	63 %	NORMAL <31 seg.	36 %	24.7 %
20	306.000	2 "	76 %	ANORMAL >31 seg.	9.8 %	16.3 %
32	384.000	3 "	40 %	NORMAL <31 seg.	18 %	23 %
41	284.000	3 "	35 %	ANORMAL >31 seg.	29 %	20 %
49	159.000	4 "	34 %	ANORMAL >31 seg.	56 %	32 %
50	432.000	2 "	62 %	NORMAL <31 seg.	28 %	NO SE HIZO

CUADRO Nº 5

ANTICUERPOS ANTIPLAQUETAS

PACIENTE Nº	CUENTA DE PLAQUETAS	ANTICUERPOS ANTIPLAQUETAS POSITIVOS < 95 seg.	ANTICUERPOS ANTIPLAQUETAS NEGATIVOS > 95 seg.
1	75,000 P/mm. ³	—	NEGATIVO > 95 seg.
2	60,000 "	POSITIVO 75 seg.	—
3	210,000 "	—	NEGATIVO > 95 seg.
4	44,000 "	POSITIVO 65 seg.	—
5	316,000 "	—	NEGATIVO > 95 seg.
6	174,000 "	—	NEGATIVO > 95 seg.
7	226,000 "	—	NEGATIVO > 95 seg.
8	98,000 "	—	NEGATIVO > 95 seg.
9	318,000 "	—	NEGATIVO > 95 seg.
10	360,000 "	—	NEGATIVO > 95 seg.
11	186,000 "	POSITIVO 87 seg.	—
15	10,000 "	POSITIVO 65 seg.	—
16	376,000 "	—	NEGATIVO > 95 seg.
18	108,000 "	—	NEGATIVO > 95 seg.
19	50,000 "	POSITIVO 74 seg.	—
20	306,000 "	—	NEGATIVO > 95 seg.
21	28,000 "	POSITIVO 58 seg.	—
22	20,000 "	POSITIVO 66 seg.	—
23	86,000 "	—	NEGATIVO > 95 seg.
24	58,000 "	—	NEGATIVO > 95 seg.
26	72,000 "	—	NEGATIVO > 95 seg.
27	42,000 "	POSITIVO 81 seg.	—
30	84,000 "	—	NEGATIVO > 95 seg.
31	306,000 "	—	NEGATIVO > 95 seg.
33	42,000 "	—	NEGATIVO > 95 seg.
34	198,000 "	—	NEGATIVO > 95 seg.
35	358,000 "	—	NEGATIVO > 95 seg.
36	339,000 "	—	NEGATIVO > 95 seg.
37	102,000 "	—	NEGATIVO > 95 seg.
38	50,000 "	POSITIVO 83 seg.	—
40	140,000 "	—	NEGATIVO > 95 seg.
42	386,000 "	—	NEGATIVO > 95 seg.
43	412,000 "	—	NEGATIVO > 95 seg.
44	60,000 "	POSITIVO 75 seg.	—
45	92,000 "	—	NEGATIVO > 95 seg.
46	92,000 "	—	NEGATIVO > 95 seg.
47	50,000 "	POSITIVO 55 seg.	—
48	216,000 "	—	NEGATIVO > 95 seg.
49	159,000 "	POSITIVO 74 seg.	—
T O T A L E S		12 POSITIVOS	27 NEGATIVOS

CUADRO N° 6

PACIENTES CON POSIBLE PROBLEMAS DE FACTORES DE COAGULACION

PACIENTE N°	CUENTA DE PLAQUETAS VN=DE 150,000 A 400,000 P/mm. ³	TIEMPO DE COAGULACION VN=DE 4 A 10 min.	TIEMPO DE SANGRIA VN= DE 1 A 4 min.	TIEMPO DE TROMBOPLASTINA PARCIAL	TIEMPO DE PROTOMBINA	RETRACCION DE COAGULO VN=DEL 40 AL 94 %	AGREGACION PLAQUETARIA VN= DE 18 A 31seg.	ADHESIVIDAD PLAQUETARIA VN=DEL 17 AL 60%
16	376,000 P/mm. ³	25 min.	2 min.	P = 112 seg. CN = 32.9seg.	P = 13.9 seg. CN = 11.5 seg. V = 60 %	59%	NORMAL < 31 seg.	22 %
31	306,000 "	5 "	4 "	P = 38.5 seg. CN = 29.5 seg.	P = 11.0 seg. CN = 12.4 seg. V = 100 %	53%	NORMAL < 31 seg.	65 %
34	198,000 "	14 "	3 "	P = 44.3seg. CN = 29.5 seg.	P = 12.1 seg. CN = 12.4 seg. V = 100%	52%	NORMAL < 31 seg.	20.7 %
35	358,000 "	23 "	4 "	P = 51.5 seg. CN = 29.5 seg.	P = 19.3 seg. CN = 12.4 seg. V = 36 %	61%	NORMAL < 31 seg.	36 %
36	339,000 "	30 "	3 "	P = 44.8seg. CN = 29.5seg.	P = 14.4 seg. CN = 12.4 seg. V = 71%	NO RETRACTIL	ANORMAL > 31 seg.	35 %
42	386,000 "	3 "	5 "	P = 59.0 seg. CN = 29.5 seg.	P = 10.5 seg. CN = 12.4 seg. V = 100 %	58 %	ANORMAL > 31 seg.	23 %
43	412,000 "	13 "	5 "	P = 56.0seg CN = 29.5seg	P = 11.7 seg. CN = 12.4 seg. V = 100%	55 %	NORMAL < 31 seg.	22 %

COMENTARIO Y DISCUSION.

Cada año se detecta una cantidad regular de pacientes con síndrome hemorrágico en la consulta externa del Hospital de Niños "Benjamin Bloom", esto nos motivó para verificar un grupo de pruebas de laboratorio que investigan la función plaquetaria y observar sus resultados. El parámetro más significativo en nuestro trabajo fué la cuenta de plaquetas por el método directo en cámara cuenta glóbulos, ésta, junto con las demás pruebas verificadas nos permitieron, hasta cierto punto, considerar la exactitud y valor de dichas pruebas en nuestro ensayo metodológico.

En aquellos casos en que la cuenta plaquetaria fué muy baja (casos con trombocitopenia severa) con cuenta de 10.000 a 50.000 plaquetas/mm³ (Cuadro 1) se observó tiempos de sangría muy elevados o prolongados, se puede pensar que no existía la cantidad suficiente de plaquetas para formar el trombo plaquetario. Comprobando que el número de plaquetas está directamente en relación al tiempo de sangramiento.

En dos casos del Cuadro "1" (Casos No.4, 24) con cuenta de plaquetas entre 44.000 y 42.000 plaquetas/mm³ y tiempo de sangría de 3 y 2 minutos respectivamente, al revisar los casos se encontró que estos niños recibían tratamiento con esteroides.

En el resto de grupos según la cuenta de plaquetas ----- (Cuadros "2" y "3") siempre se encontró algunos casos con tiempo de sangría normales y cuenta de plaquetas bajas; estos valores de tiempo de sangría normales se pueden explicar por los posibles factores de error que se sucedieron al aplicar la técnica.

Aunque el tiempo de sangría, presentó variaciones se puede apreciar en los 4 grupos pacientes ("1", "2", "3", "4") que a medida que la cuenta de plaquetas aumenta, los valores del tiempo de sangría van disminuyendo y normalizándose, así en el último grupo de cuenta normal de plaquetas todos los tiempos de sangrado se consideraron normales.

En los grupos con cuenta baja de plaquetas en la mayoría de los casos no hubo retracción de coágulo por la técnica de Macfarland, a una hora de observación.

En los cuadros "1" y "2" donde hemos incluido los casos con cuenta de plaquetas más baja todos los casos presentaron coágulos no reatractiles coincidiendo en la mayoría de los casos con tiempos de sangría elevados; en todos estos casos con cuenta de plaquetas bajas, la cantidad de plaquetas no proporciona la suficiente trombostenina para que se lleve a cabo la retracción del coágulo.

La tromboastenina es una proteína contráctil sintetizada por la plaqueta que está relacionada con la formación de dendritas en la superficie plaquetaria, interactuando con las agujas de fibrina formando nudos, estos nudos de fibrina al formarse se retraen.

El número de plaquetas es importante pues cuando la cuenta de plaquetas es baja, el coágulo sanguíneo es menos adherente y menos firme que lo normal.

En el cuadro "2" encontramos la excepción, los casos (8 y 46), los cuales con cuenta moderadamente baja de plaquetas, 98.000 y 92.000 plaquetas por mm^3 respectivamente, presentaron porcentajes de retracción en límites dentro de lo normal.

El caso No.8 presentó tiempo de sangría de 4 minutos, cuenta de plaquetas de 98.000 plaquetas/ mm^3 , agregación plaquetaria ----

anormal, factor 3 plaquetario anormal y anticuerpos antiplaquetarios negativos.

El caso No.46 presentó el resto de las pruebas normales. Se hace la observación que estos casos recibieron o recibían tratamiento a base de esteroides.

En el cuadro "3", la cuenta de plaquetas oscila entre 100.000 y 150.000 plaquetas/mm³, aún con estas cuentas se observó alteración en las diversas pruebas, a excepción del caso No.39, en el cual solamente la agregación plaquetaria fué normal y la retracción del coágulo bajo lo normal, pero este paciente había recibido una transfusión de sangre recientemente.

En el cuadro No.4 hemos incluido los pacientes con cuenta de plaquetas normales.

El resultado obtenido fué de dieciseis pacientes. Ninguno de ellos mostró alteración en el tiempo de sangría a excepción de cuatro casos en tiempo ligeramente prolongado y solamente uno mostró alteración en la retracción del coágulo.

De los dieciseis pacientes con cuenta normal de plaquetas, cuatro de ellos resultaron con porcentajes de adhesividad deficientes.

La liberación del factor 3 plaquetario fué normal en catorce de estos casos a un caso no se le practicó la prueba y otro caso además de presentar el factor 3 plaquetario disminuído presentó un porcentaje de adhesividad bajo (Caso No.20).

El conjunto de pruebas para función plaquetaria en los doce casos, trabajó bien, evaluando los casos como pacientes sin ninguna alteración plaquetaria.

La agregación plaquetaria, que es la capacidad que poseen las plaquetas para unirse unas a otras hasta formar grumos, en los 4 grupos de casos se presentó anormal, en el grupo "1", la agregación fué anormal en los 9 casos, mientras que la adhesividad---

se presentó disminuída en 5 casos nada más, presentando estos casos a la vez una liberación deficiente de factor 3 plaquetario y tiempos de sangría muy elevados.

En este grupo de pacientes con trombocitopenia severa la función de la plaqueta está obviamente alterada, la poca cantidad de plaquetas afecta de una manera directa su función pues no proporciona el suficiente ADP para lograr una adecuada agregación.

Obtuvimos casos en que la adhesividad de la plaqueta trabajó bien, así los cuatro casos restantes presentaron una adhesividad dentro de los valores normales pero es necesario hacer notar que el rango normal comprende de 17 a 60% de adhesividad y en los cuatro casos el máximo valor fué de un 20% de adhesividad, acercándose al límite normal inferior pero el resto de las pruebas orientaron siempre a una alteración plaquetaria.

Analizando el vínculo de las pruebas encontramos la siguiente contradicción : una prueba de agregación anormal con adhesividad normal, sabemos que en el proceso de formación del trombo plaquetario, la agregación y la adhesividad son fenómenos concomitantes en los casos normales la plaqueta libera ADP este bloquea la formación de atpasa (que es la enzima que le mantiene la forma normal a la plaqueta) y comienza la plaqueta a deformarse y a aparecer cambios en su membrana comenzando la fase de agregación en donde intervienen numerosas sustancias como la adrenalina, la serotonina, etc.

In vitro nosotros usamos una técnica que ocupa adrenalina, cuando esta técnica se probó con plasma rico en plaquetas de personas sanas (con valores normales de plaquetas) los resultados fueron satisfactorios pero en el transcurso del trabajo la técnica presentó valores normales cuando la cuenta plaquetaria fué superior a $300.000 \text{ plaquetas/mm}^3$, éstos posiblemente se debió al--

hecho de que la adrenalina no fué conservada en óptimas condiciones que son libre de luz solar y congelada en alícuotas de 1 ml revestido el frasco en que se tiene de papel de aluminio, al no conservarse en esta forma pierde su actividad.

En todos los casos con cuenta de plaquetas disminuídas la agregación resultó anormal, pero en algunos casos no correspondió a aquellos porcentajes de valores normales de agregación, éstos nos preocupó, y estudiando otras técnicas recientes de -- agregación por adrenalina encontramos cómo se tiene que conservar.

La adrenalina en muestras con cuenta de plaquetas normales aún bajo condiciones no adecuadas de conservación funciona durante algún tiempo, pero para muestras con plaquetas disminuídas, no es confiable en esas condiciones.

Esta contradicción de valores anormales de agregación con valores de porcentaje normales de adhesividad se observa en el transcurso del trabajo o sea en los 3 grupos.

Los porcentajes de adhesividad a lo largo del trabajo presentaron variación.

Hablamos de los porcentajes disminuídos en aquellos casos de trombocitopenias severas, pero también encontramos casos de porcentajes de adhesividad normales con cuentas menores de 50.000 - plaquetas/mm³, estos resultados no podemos explicarlos concretamente o esta fase de la función plaquetaria trabajó adecuadamente o la técnica de estos casos no fué muy precisa, recordando -- que la técnica ocupada fué una técnica de adhesividad IN VIVO en la cual también ocupamos una lanceta descartable para provocar la cortadura en el paciente, así es probable admitir cierto grado de error en la técnica. Al ver los cuadros encontramos que (los casos con adhesividad) algunos casos con adhesividad normal y cuenta de plaquetas disminuídas presentaron tiempos de sangría normales, probablemente errores en la verificación.

En el cuadro No.5 hemos incluido los Anticuerpos antiplaquetarios.

La existencia de anticuerpos antiplaquetarios humanos y sus efectos perjudiciales sobre las plaquetas han sido bien establecidas por varios autores.

Practicamos la técnica de KARPATKIN y Colaboradores.

En los 39 casos estudiados usamos una fracción globulínica control (de persona supuestamente sana) en la cual el tiempo de coagulación en el método de anticuerpos antiplaquetarios osciló entre los 90 y 100 segundos.

Esta técnica considera que existe actividad antiplaquetaria o sea una prueba positiva cuando se da un reducción de 10 segundos o más en el tiempo de coagulación de la fracción globulínica y el producto de contacto, en la muestra del paciente con respecto al tiempo de control, de los 39 casos estudiados, solamente 12 pacientes (el 30.2%) demostró actividad antiplaquetaria o sea demostraron la presencia de anticuerpos antiplaquetarios en su plasma.

La mayoría de estos casos (Ver Cuadro No.5) mostró trombocitopenia severa, al analizar las otras pruebas encontramos lo siguiente: En los 12 casos con actividad de anticuerpos antiplaquetarios la prueba de retracción del coágulo se presentó desde coágulos sin retracción hasta coágulos hiporetráctiles.

Los tiempos de sangramiento se presentaron bastante elevados con tiempos de hasta 20 minutos, solamente dos casos presentaron tiempos de sangramiento normales; anteriormente discutimos acerca de las posibles causas de error de esta técnica.

La adhesividad y el factor 3 plaquetario al igual que en los grupos que hablamos anteriormente fué variable.

CONCLUSIONES

El tiempo de sangría es prolongado en las trombocitopenias, esto se debe a que no existe la cantidad suficiente de plaquetas para la formación del tromboplaquetario.

Desafortunadamente esta es una de las pruebas de laboratorio de coagulación que tiene más factores de error, el más común, no practicar una herida suficientemente profunda; esto en parte explica el que algunos pacientes con cuenta de plaquetas muy bajas dieran sus tiempos de sangría valores normales.

En las trombocitopenias la retracción del coágulo es ausente o deficiente, pero en nuestro trabajo tenemos ciertos casos -- (caso 8 y 46), en que el grado de retracción no se correlaciona muy bien con el número de plaquetas, cuentas de plaquetas bajas nos dieron una retracción normal. Estos casos tenían tratamiento con estéroides, el resto de casos si se relaciona número bajo de plaquetas con retracciones ausentes o deficientes.

La prueba de agregación plaquetaria inducida por adrenalina, es una prueba que si tiene valor, pero como se mencionó anteriormente hubo una serie de errores técnicos que la prueba no funcionó como se esperaba a razón de esto no se le puede dar valor en nuestro trabajo,

La adhesividad plaquetaria por el método de BORGHGREVINK esta influida por todas las variables del tiempo de sangría e inclusive por el hematocrito ya que los muy bajos nos darán una -- adhesividad anormal, influye también el número de plaquetas ya que en las trombocitopenias la adhesividad plaquetaria es anormal y puede dar lugar a una mala interpretación.

En nuestro trabajo, la mayoría de casos que tenían cuenta de plaquetas bajas dieron adhesividades anormales.

Una prueba en vitro que mida verdaderamente el factor 3 plaquetario no es posible actualmente, los sistemas que se usan en vitro para medirlo se basan en el principio de que la actividad del factor 3 plaquetario se manifiesta por un acortamiento del tiempo de coagulación comparado con un blanco pero estos sistemas no son completamente adecuados; en nuestro trabajo la técnica usada se basa en este principio y no es lo suficiente fidedigna para la evaluación de dicho problema.

En los anticuerpos antiplaquetarios se puede observar que los pacientes que dan resultados tienen su retracción de coagulo deficiente, esto se debe a que poseen el número de plaquetas bajas y esto afecta la retracción del coagulo. Y vamos a observar también que tiene sus tiempos de sangría prolongados por la misma razón, algunos casos que sus resultados no coinciden con sus valores de plaquetas posiblemente sean -- errores de tipo técnico por que hay que recordar que esta parte de la hematología en lo que respecta a la investigación de laboratorio en nuestro medio aún se encuentra en sus inicios.

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

=====

1. Bigg, R. : Coagulación Sanguínea, Hemostasia y Trombosis Cap. VIII, Pags. 137-159, Editorial Jums-Barcelona, 1975.
2. Borchgrevink C.F. : A method for Measurin Platelet Adhesiveness in vivo. Acta Médica Scandinava, Vol. 168, Pag. 157, 1960.
3. Bowie, E.J.W.- Ovien Jr. : CA. The Value of Measuring Platelet Adhesiveness in the diagnosis of bleeding disease -- A.M.J. Clinic Pathol., Vol. 60, Pag. 302, 1973.
4. Ciscar F.- Farrera P. : Diagnóstico Hematológico Laboratorio Clínico. Tomo II, Cap. XXV, XXVI, XXVII, Págs. 1667-1856, Editorial Jims - Barcelona, 1972.
5. Chanarin, I. : Platelet Autoimmunity, British Journal of Hematology, Vol. 37, Pag. 238, 1977.
6. Gandolfo, G.M. : Enfermedades Hemorrágicas, Dx de Laboratorio 283. Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires, 1973.
7. Girolami A., Baunetli, A., Fioretti, Dr. Gravin E. : Congenital Trombocitopathy (Platelet Factor 3 defect). Acta Hematology. Vol. 50, Pag. 116, 1973.
8. Grupo Glaht (Grupo Latinoamericano de Hemostasis y trombosis) Técnicas de Hemostasis y Trombosis Cap. VIII, -- Págs. 1 - 18, 1975.

9. Hardisty, R.M.- Hutton, R.A. : The Kaolin Clottin time of platelet rich plasma a test of platelet factor 3 availability, Brit. J. Hematology, Vol. 11, Pag. 258, 1965.
10. Karpatkin S. y Col. In vitro detection of platelet antibody in pacientes with idiopathic trombocitopenic purpura and -- Sistemic lupus Erythematosis. Blood, Vol. 33, Pag. 795, 1969.
11. Leanell Y.S. y Thorup O.A. Jr. : Hematología Clínica, Cap. -- XVI y XVII, Pag. 514-633, Editorial Interamericana, México, 1978.
12. Linch, M.J., Raphael, S.S., Mellor, L. : Métodos de Laboratorio, Cap. XXII, págs. 806-844. Editorial Interamericana, - México, 1972.
13. Manual de Técnicas de Coagulación, Instituto del Seguro Social Mexicano, año 1973.
14. Sancho G. y Bloch M. : Síndromes Hemorrágiparos revisión, Volum. 17, No. 4 A.C.M.E.S., 1964.
15. Speat, T.H., Cintroen, J. : Studies on Platelet factor 3 availability, Brit, J. Hematology, Vol. 11, Pag. 69, 1965.
16. Stuart, M.J. : Inherited defects of Platelets function. British J. Hematology, Vol. 12, Pag. 233, 1975.
17. Wendell F. Rose, : Platelet Antibody in autoimmune thrombocytopenic British Journal Hematology, Vol. 31, Pag. 129, 1975.

18. Wintrobe, Maxwell M. y Otros: Hematología Clínica, Parte IV, Sección 1 y 2, Pags. 3-110, Editorial Intermédica, Buenos - Aires, 1979.-