

Concentración de factor 3 plaquetario en niños con desnutrición severa*

DR. ELÍAS JIMÉNEZ FONSECA**

DR. SAMUEL DORANTES MESA***

SRTA. MARÍA DEL CARMEN PÉREZ PEÑA****

La presencia de sangrado anormal en relación con deficiencia de factor 3 plaquetario (F-3) ha sido descrita por varios autores, tanto en padecimientos congénitos como en padecimientos adquiridos (1-9). En el niño con desnutrición severa se ha observado la presencia de cuadro purpúrico con una frecuencia que ha variado del 15 al 25% (10-22), localizado sobre todo en tronco (10, 21-24). En un trabajo previo (22) se encontró relación entre cuadro purpúrico en el niño desnutrido y la presencia de plaquetopenia y/o alteraciones funcionales de las plaquetas.

En ese trabajo se encontró alteración de F-3 plaquetario en niños con desnutrición de tercer grado, y esta anormalidad era más frecuente en el grupo de niños con púrpura, aunque la diferencia no era significativa. Por tanto, se consideró importante estudiar la concentración de F-3 en niños desnutridos empleando una técnica cuantitativa, diferente a la utilizada en el trabajo previo. Con este fin, se seleccionó una técnica que ha dado resultados reproducibles en otros laboratorios y después de llevar a cabo su introducción y de conocer su variabilidad se aplicó en un grupo de niños con desnutrición de tercer grado (24-a) y púrpura, en otro con desnutrición de magnitud semejante a la anterior pero sin púrpura y en un grupo de niños bien nutridos que presentaban un accidente agudo semejante al que había determinado la presentación al Hospital de los niños desnutridos. Se ha establecido que la aparente deficiencia de F-3 en condiciones hereditarias se modifica cuando se incuban las plaquetas de estos pacientes con agua destilada, y que por el contrario, no se obtiene modificación en la actividad de F-3 cuando se incuban las plaquetas de pacientes con defectos adquiridos (6-7), por lo que se decidió incluir este aspecto en el presente estudio.

* Trabajo realizado en el Laboratorio de Investigación de Hematología. H. I. M.
** Asistente. Hospital Nacional de Niños. Costa Rica.
*** Jefe Departamento de Hematología. Hospital Infantil de México.
**** Laboratorio de Investigación de Hematología, H. I. M. (Hospital Infantil de México).

MATERIAL Y METODOS

Las características de los tres grupos de niños estudiados se resumen en la Tabla N° 1. El primero, estuvo constituido por 9 niños eutróficos internados en el Servicio de Terapia Intensiva (Hospital Infantil de México) con deshidratación secundaria a cuadro diarreico; el segundo, formado por 11 desnutridos de tercer grado, internados en la misma sala, también con enfermedad diarreica y deshidratación; y el tercero, integrado por 10 desnutridos de tercer grado, que además del proceso infeccioso mencionado, presentaban cuadro purpúrico de intensidad variable, internados la mayor parte de ellos en Hospitales Periféricos (D.D.F.). Las características clínicas principales de los tres grupos se señalan en la Tabla N° 2. En la mayor parte de los pacientes, se efectuó examen general de orina, urocultivo, coprocultivo, Rx de tórax o Mantoux para tratar de determinar la presencia o no de otro tipo de infección, además de la enteral. En tres casos, se aisló germen enteropatógeno como responsable del cuadro diarreico (*Salmonella* y *E. Coli* O 26 en dos desnutridos sin púrpura y *Salmonella* en un eutrófico). La concentración de F-3 se determinó mediante la técnica descrita por Hardisty y Hutton (25), con algunas modificaciones, todo lo cual se detalla a continuación:

1.—PREPARACION DEL MATERIAL:

a) Toma de la muestra: se utilizó la técnica de doble jeringa, con material siliconizado. Como anticoagulante se usó Citrato de Sodio 0.1 M, en proporción de 1:10.

b) Se separó el plasma rico en plaquetas, centrifugando a 1.000 r.p.m. durante 10', a 4°C. Se hizo cuenta de plaquetas en plasma con el método de Rees Ecker (25-a).

c) Se lavaron las plaquetas con solución amortiguadora-Tris-HCl (0.05 M, pH 7.2) dos veces y después se resuspendieron en la misma solución, con la cantidad necesaria para que quedaran a una concentración de 100.000 x mm³. Todo el material usado estaba siliconizado.

d) El mismo procedimiento se efectuó con un normal, masculino, de 28 años, sano, (el mismo en todas las ocasiones), haciendo 5 diluciones diferentes de sus plaquetas (100.000, 50.000, 25.000, 12.500, y 6.250 x mm³), las cuales se utilizaron para hacer en cada ocasión una curva de calibración (25). El plasma pobre en plaquetas obtenido al centrifugar se usó como sustrato, manteniéndolo refrigerado en tubo siliconizado por no más de tres horas hasta su utilización.

e) Para activar el sistema de coagulación se utilizó Caolín* suspendido en la solución amortiguadora mencionada, a una concentración de 10 mg/ml., concentración óptima de acuerdo a ensayo experimental previo.

2.—DETERMINACION DE LA CONCENTRACION DE F-3:

a) Técnica: En tubos de cristal de 13 x 75 mm., se puso 0.1 ml. del sustrato, se agregó 0.1 ml. de la suspensión de plaquetas requerida y con intervalos de 1 minuto se agregó a cada tubo 0.2 ml. de la suspensión de Caolín.

* Caolín, N. F. (J. T. Baker).

Se incubaron los tubos a 37°C. y a los 20 minutos exactos de haber incubado el primero se recalcificó con 0.2 ml. de Ca. Cl₂ 0.035 M y se determinó el tiempo de coagulación, repitiendo la recalcificación con intervalos de 1 minuto en todos los tubos siguientes. Cada determinación se hizo por duplicado utilizando el promedio como tiempo de coagulación.

b) Lectura: Se efectuó la curva de calibración sugerida por Hardisty y Hutton (25) en cada ocasión con las diferentes diluciones de las plaquetas normales. En la curva mencionada se buscó el tiempo de coagulación del tubo problema y se determinó a qué concentración teórica de plaquetas correspondía. Dividiendo la concentración teórica de plaquetas del tubo problema entre la concentración real (100.000 en todos los casos) y multiplicando el resultado por 100 se obtuvo el % de actividad del F-3.

Además de los grupos de pacientes estudiados, se hicieron 20 determinaciones de F-3 en un mismo normal, utilizando concentración constante de plaquetas, para determinar la variación del método.

En los pacientes en que se encontró concentración baja de F-3, se efectuó la prueba de la fragilidad osmótica (7), incubando las plaquetas a 37°C, durante 30 minutos, una alícuota en suero fisiológico y otra en agua destilada, repitiendo la curva de calibración utilizando plaquetas suspendidas en suero fisiológico para corregir la variación producida por el pH diferente.

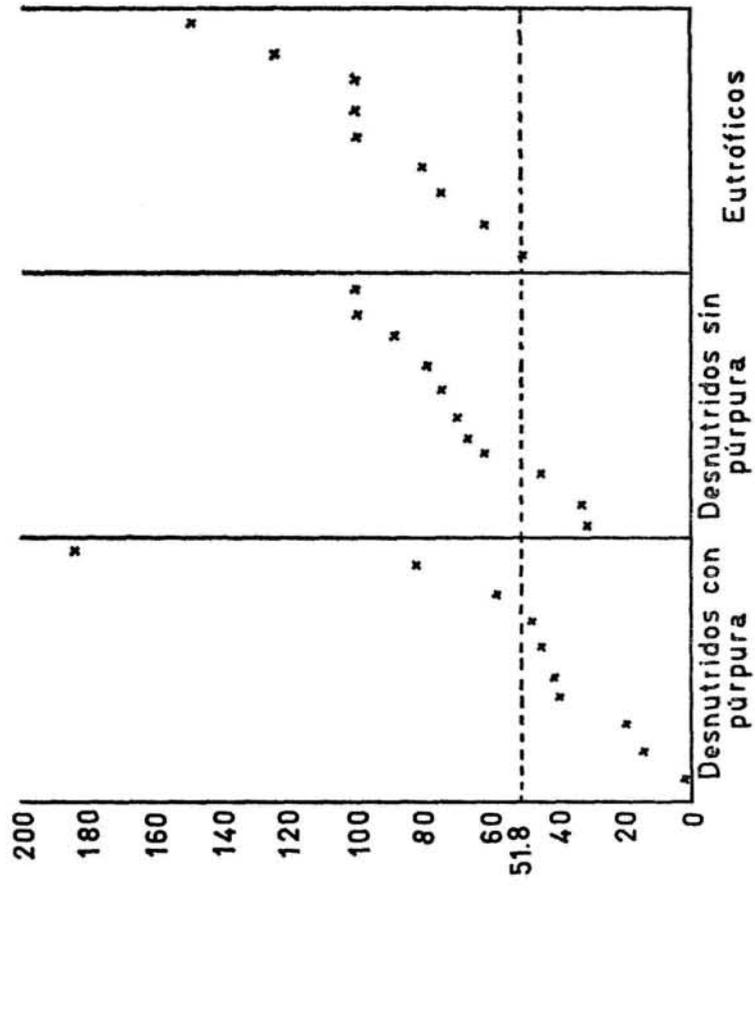
RESULTADOS

En las 20 determinaciones de F-3 en plaquetas normales se obtuvo un promedio de 107%, con una desviación estándar de ± 25.9 ; en consecuencia se consideró que los valores de F-3 inferiores a 51.8% no podrían explicarse por la variación del método.

En los tres grupos de niños se obtuvieron los valores señalados en la Tabla N° 3; los valores de F-3 en los desnutridos con púrpura tuvieron un promedio de 54%, en los desnutridos sin púrpura de 68.6% y en los eutróficos de 93.6%, la dispersión de los resultados con sobreposición amplia en los tres grupos, hace inútil la comparación de estos promedios. En cambio, se observa en la Gráfica N° 1 que las cifras bajas de actividad de F-3 son más frecuentes en los niños desnutridos con púrpura. En consecuencia, se decidió comparar la frecuencia de los valores inferiores a 51.8% en cada grupo, y se encontró que 7 de los 10 niños desnutridos con púrpura tenían valores inferiores, mientras que este fenómeno sólo se observó tres veces en 11 desnutridos sin púrpura y una vez en el grupo de niños eutróficos. Se estudió la significación de estas diferencias por medio de la prueba de X², encontrándose el valor de $p < 0.01$ entre el grupo de niños desnutridos con púrpura y el de eutróficos; los valores de p en las otras comparaciones fueron superiores a 0.5.

Se estudió el efecto de la incubación de las plaquetas en agua destilada en 5 niños desnutridos y en 3 de ellos no se incrementó la actividad de F-3 y en los otros 2 se apreció aumento, pero sin llegar a la actividad correspondiente a las plaquetas normales.

GRAFICO Nº 1
 CONCENTRACION DE FACTOR 3 PLAQUETARIO
 EN LOS GRUPOS DE NIÑOS ESTUDIADOS



COMENTARIOS

Es evidente en este trabajo la presencia de baja actividad de F-3 en los niños con desnutrición severa y a pesar de tratarse de una serie corta, se pudo demostrar que la diferencia entre la frecuencia de este fenómeno en desnutridos con púrpura en comparación con la que se observa en niños eutróficos es significativa. Bonnin (8) encontró una relación definida entre la actividad de F-3 y la severidad de los fenómenos hemorrágicos en 30 pacientes con plaquetopenia; Cheney y Bonnin (9) encontraron también una relación satisfactoria entre manifestaciones hemorrágicas y nivel de F-3 en pacientes con uremia y no cabe duda de que pacientes desnutridos con defecto severo de F-3 pueden tener fenómenos hemorrágicos activos atribuidos a esta alteración, por ejemplo el paciente con 2.2% tenía las manifestaciones cutáneas más importantes de toda la serie; sin embargo, debe recordarse que existen en las plaquetas del niño desnutrido otras alteraciones funcionales importantes que también por sí solas podrían explicar fenómenos purpúricos (22), por lo que es muy probable que en la mayoría de los casos, exista una concurrencia de varios factores.

La alteración encontrada en estos pacientes desnutridos, no es atribuible al episodio agudo que condujo a la mayoría a su presentación al Hospital, dado que el grupo control con episodios agudos gruesamente comparables, no tuvo alteración en la actividad del F-3. Es lícito considerar entonces que esta alteración está condicionada por algunos de los factores que actúan sobre el niño desnutrido durante la evolución previa de su condición y desde luego no es posible atribuirlo específicamente a la carencia de algún nutriente, a la diarrea prolongada o al efecto de infecciones.

Puede aceptarse en términos generales que la incubación de las plaquetas en agua destilada no incrementó la actividad de F-3. Esta observación está de acuerdo con las realizadas por Ulutín (7) y por Cetirgil (6) y Col. en relación a defecto adquirido de F-3 en escorbuto, uremia, hepatopatía y sprue y también está de acuerdo con un reporte reciente (26), donde se demostró en pacientes con defecto adquirido de F-3 una disminución significativa en el contenido de fosfolípidos de las plaquetas, mientras que estos eran normales en pacientes con defecto congénito de F-3, en los cuales la incubación con agua destilada corrige el defecto.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

Se estudiaron 10 niños con desnutrición severa y púrpura, 11 con desnutrición severa sin púrpura y 9 eutróficos. Se demostró defecto de F-3 en 7 desnutridos con púrpura y en 3 desnutridos sin púrpura y sólo en uno de los pacientes eutróficos. El predominio del defecto en desnutridos con púrpura fue

significativo en relación con la frecuencia de la alteración observada en los niños eutróficos. La deficiencia de F-3 no fue en general corregible por la incubación con agua destilada y se comportó desde este punto de vista como defecto adquirido. Se comentó la participación de este fenómeno en la patogenia de la púrpura del desnutrido.

TABLA N° 1

CARACTERISTICAS DE LOS PACIENTES ESTUDIADOS

	N° casos	Sexo		Edad Promedio
		F	M	
Desnutridos con púrpura.....	10	5	5	16.7 meses
Desnutridos sin púrpura.....	11	5	6	8.8 meses
Eutróficos.....	9	2	7	7.6 meses

TABLA N° 2

CARACTERISTICAS CLINICAS DE LOS PACIENTES ESTUDIADOS

	Diarrea y deshidratación	Otras infecciones	Edema
Desnutridos con púrpura.....	10/10	2/10	5/10
Desnutridos sin púrpura.....	11/11	3/11	1/11
Eutróficos.....	9/9	0/9	0/9

TABLA N^o 3
CONCENTRACION DE FACTOR-3 PLAQUETARIO (%)

Desnutridos con púrpura	Desnutridos sin púrpura	Eutróficos
2.2	33	50
17.5	36	62.5
19.9	44	75
40	62.5	80
42	67	100
45.8	70	100
47.5	75	100
58	79	125
82	88	150
186	100	
	100	
(10 casos)	(11 casos)	(9 casos)
X 54%	68.6%	93.6%

REFERENCIAS

- 1.—DE VRIES, A.; SHAFIR, E. EFRATI, P., AND SHAMIR, Z.
Thrombocytopathic purpura with normal prothrombin consumption. Hemorrhagic diathesis due to partial platelet dysfunction. *Blood*. 8:1000, 1953.
- 2.—HEMMELE, G.
Thrombopathie familiale. (Citado por Stefanini, M., and Dameshek, W.: *The Hemorrhagic Disorders*. Grune & Stratton, 1962).
- 3.—WEISS, H. J., AND EICHELBERGER, J. W.
The Detection of Platelet Defects in Patients with Mild Bleeding Disorders. *Am. J. Med.* 32:872, 1962.
- 4.—WEISS, H. J., AND EICHELBERGER, J. W.
Secondary Thrombocytopathia. *Arch. Inter. Med.* 112:827, 1963.
- 5.—LEWIS, J. H.; ZUCHER, M. B., AND FERGUSON, J. H.
Bleeding tendency in Uremia. *Blood*. 11:1073, 1956.
- 6.—CETINGIL, A. I.; ULUTIN, O. N., AND KARACA, M.
A platelet Defect in a Case of Scurvy. *Brit. J. Haemat.* 4:350, 1958.
- 7.—ULUTIN, O. N., AND KARACA, M.
A Study on the Pathogenesis of Thrombopathia using the "Platelet Osmotic-Resistance Test". *Brit. J. Haemat.* 5:302, 1959.

- 8.—BONNIN, J. A.
The Management of Thrombocytopenic States with Particular Reference to Platelet Thromboplastic Function. I. Idiopathic and Secondary Thrombocytopenic Purpura. *Brit. J. Haemat.* 7:250, 1961.
- 9.—CHENAY, K., AND BONNIN, J. A.
Haemorrhage, Platelet Dysfunction and other Coagulation Defects in Uraemia. *Brit. J. Haemat.* 8:215, 1962.
- 10.—GÓMEZ, F.
Púrpura caquética. *Bol. Méd. Hosp. Infant. (Méx.)*. 1:5, 1944.
- 11.—PAGOLA, J. G.
Los estados carenciales en México. *Acta Paediat.* 36:329, 1948.
- 12.—HANAFY, M.
The subacute subnutritional syndrome in infants. *Acta paediat.* 36:317, 1948.
- 13.—CHAUDHURI, K. G.
Nutritional disorders following gastro-enteritis in children. *Acta paediat.* 36:110, 1948.
- 14.—ACHAR, S. T.
Nutritional dystrophy among children in Madras. *Brit. Med. J.* 1:701, 1950.
- 15.—DIDIER, R.
Le Kwashiorkor, existe-t-il en Tunisie. *Arch. Franc. Pediat.* 10:357, 1953.
- 16.—GÓMEZ, F.; RAMOS GALVÁN, R.; CRAVIOTO, J., AND FRENK, S.
Malnutrition and Kwashiorkor. *Acta Paediat.* 43(suppl. 100):336, 1954.
- 17.—TROWELL, H. C.; DAVIES, J. P. N., AND DEAN, R. F. A.
Kwashiorkor. London. 1954. Edward Arnold, Ltd.
- 18.—MERSKEY, C., AND HANSEN, J. D. L.
Blood coagulation defects in kwashiorkor and infantile gastroenteritis. *Brit. J. Haemat.* 3:39, 1957.
- 19.—RAMOS GALVÁN, R.; CRAVIOTO, J., Y NAVARRETE, A.
La letalidad en el niño desnutrido. *Bol. Méd. Hosp. Infant. (Méx.)*. 15:875, 1958.
- 20.—JELLIFE, D. B.
Protein-calorie malnutrition in tropical preschool children. *J. Pediat.* 54:227, 1959.
- 21.—RAMOS GALVÁN, R., Y LÓPEZ LIZÁRRAGA, S. O.
Púrpura en el desnutrido. *Bol. Méd. Hosp. Infant. (Méx.)*. 21:99, 1964.
- 22.—DORANTES, S.; BARRÓN, I.; ARIAS, N.; VÁSQUEZ, J., AND SOTO, R.
Pathogenesis of Purpura in the Child with Severe Malnutrition. *J. Pediat.* 65:438, 1964.
- 23.—KENG, K. L., AND HIN, P. S.
Thrombocytopenic purpura in kwashiorkor. *Docum. med. geogr. Amst.* 8:357, 1956.
- 24.—CARUANA, M.; HAMZA, B., AND CHILEB, H.
Les formes oedémateuses des dystrophies nutritionnelles du nourison: premiere étude générale de 22 cas Tunisiens. *Tunis med.* 41:265, 1953.
- 25.—a) GÓMEZ, F.; RAMOS GALVÁN, R.; CRAVIOTO, J., AND FRENK, S.
Malnutrition in infancy and Childhood, with special reference to Kwashiorkor. *Adv. Pediat.* 7:131, 1955.
- 25.—b) HARDISTY, R. M., AND HUTTON, R. A.
The Kaolin Clotting Time of Platelet-Rich Plasma: A Test of Platelet Factor-3 Availability. *Brit. J. Haemat.* 11:258, 1965.
- 25.—c) TOCANTINS, L. M., AND XAZAL, L. A.
Blood Coagulation, Hemorrhage and Thrombosis New York, 1955, Grune & Stratton.
- 26.—KARACA, M., AND STEFANINI, M.
Studies on platelets. XXV. Chemical analysis of platelets from patients with congenital and acquired thrombocytopathy, with special reference to phospholipids. *J. Lab. and Clin. Med.* 67:229, 1966.