

Estudio Comparativo de Varios Métodos de Laboratorio para Detectar Productos de Degradación de Fibrinógeno/ Fibrina en Diversas Situaciones que Pueden Condicionar Coagulación Intravascular (C. I. V.)

DR. FERNANDO ATMETLLA*

DR. GERMAN F. SÁENZ*

DR. JORGE ELIZONDO**

INTRODUCCION

En nuestro medio las pruebas más utilizadas para la detección de los productos de degradación de la fibrina son las del sulfato de protamina en diluciones seriadas (8, 14), y la de gelificación de plasma con etanol (3, 4), y, para la detección de productos de degradación del fibrinógeno (y/o fibrina), la aglutinación de partículas sensibilizadas con anticuerpos antifibrinógeno (3, 5, 12, 18), y últimamente la aglutinación del estaphylococo (9, 11).

Por considerarlo de interés práctico hemos decidido reportar los hallazgos que hemos encontrado en un estudio comparativo con varias de estas pruebas, en pacientes con diferentes condiciones clínicas, internados en el Hospital San Juan de Dios.

MATERIAL Y METODOS

Para detectar productos de degradación de la fibrina y/o monómeros de fibrina, utilizamos dos pruebas de paracoagulación, la del sulfato de Protamina en diluciones seriadas (S.P.D.S.), y la gelificación del plasma con etanol (ETHO) (3, 4). Con la primera se montaron 4 diluciones tal y como lo proponen sus autores (8, 14), leyéndose las 4 a los 30 minutos y a las 24 horas, e interpretándose la formación del gel (G) y fibras (F), como una prueba positiva, mientras negativa, la formación de finas plumas (P) o de un precipitado granular (—). Se

* Cátedra de Hematología, Departamento de Análisis Clínicos. Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica.

** Departamento de Medicina Interna, Laboratorio de Hematología Hospital San Juan de Dios y Facultad de Medicina Universidad de Costa Rica.

usó también el Fi-test (12), ligeramente modificado (18), como procedimiento que utiliza partículas de latex sensibilizadas con anticuerpos antifibrinógeno, con el cual se consigue detectar productos de degradación de la fibrina como también del fibrinógeno. Además, y como complemento, se les hizo a la mayoría de los pacientes cuantificación de fibrinógeno (7), ligeramente modificado (1), y la prueba de lisis de euglobulinas (10), la cual se consideró normal cuando el coágulo no se lisaba al cabo de dos horas de incubación. En donde correspondía la magnitud de la reacción positiva se consigna de la manera usual.

Estas determinaciones se realizaron en 100 individuos internados en el Hospital San Juan de Dios, con trastornos varios, clasificados en 5 grupos (tabla 1).

TABLA 1

GRUPO	Nº DE CASOS
I Coagulación Intravascular	2
II Diversos carcinomas en mujeres	14
III Diversos carcinomas en hombres	32
IV Embarazo y aborto	29
V Trastornos varios	23
TOTAL	100

RESULTADOS

En la tabla 2 se presentan los resultados de todos los pacientes que dieron una o más pruebas positivas.

Con respecto a la cuantificación del fibrinógeno, este se le determinó a 70 de los 100 pacientes estudiados, encontrándose un solo caso con valor bajo (190 mg%, normales para el método de Goodwin 270-586 mg% (1)), que correspondió a un cuadro de CIV y, dos valores más que estuvieron en el límite inferior normal que también presentarían positivas las pruebas de sulfato de protamina y del Fi-test modificado. Además, en nueve pacientes se observaron títulos más altos que lo normal, lo cual no es sorprendente tratándose de personas que cursaban con condiciones o enfermedades en donde se sabe que la concentración de fibrinógeno está incrementada, como es el embarazo, carcinomas y septicemias.

TABLA 2

Tipo de entidad o trastorno	SPDS 30' 1-2-3-4	SPDS 24 hs 1-2-3-4	Gelificación con ETOH	Fi test modificado	Lisis de Euglobulinas
C.I.V.	— — — —	F F F —	—	+ + + +	+
C.I.V.	— P F F	P F F —	—	+	+
Ca.Mama	— F — —	F F — —	—	+	—
Ca.gástrico	— — — —	F — — —	—	+	—
Ca. gástrico	— — — —	— — — —	—	+	—
Ca. gástrico	— — — —	— — — —	—	+	—
Ca. gástrico	— F F F	F F G F	—	+	—
Ca. gástrico	— — — —	— — — —	—	+	—
Ca. gástrico	— — — —	— — — —	—	+	—
Ca. lengua	— — — —	— — — —	—	+	—
Hemangiendotelioma	— — — — F	— — — P F	—	+	—
Ca. testículo	— — — —	— — — P	—	+	—
Melanoma	— — — —	— — — F	—	+	—
Neurofibromatosis de Van Recklinghausen	— — — —	— — — —	—	+	—
Ca.Epidermoide	— — — —	— — — —	—	+	—
Ca.columna	— — — —	— F — —	—	+	+
Ca.mama con metástasis en axila	— — — —	— P — —	—	+	—
Ca. dedo	— — — —	— F P —	—	—	—
Ca. faringe	P P P F	P P P F	—	—	—
Ca.testículo	— P — —	— P F —	—	+	—
Condrosarcoma costal	P P — —	F P — —	—	+	—
Amenaza aborto	— — — —	F — — —	—	—	—
Aborto séptico	— — — —	F — — —	—	—	—
Aborto séptico	— — — —	P F F —	—	+ + + +	—
Aborto séptico	— — — —	F — — —	—	—	—
Aborto	— — — —	— — — —	—	+ + + +	+
Aborto	— — — —	F F — —	—	—	—
Aborto	— — — —	F — — —	—	+	—
9 meses embarazo	— — — F —	— F F —	—	—	—
9 meses embarazo	— — — —	— F — —	—	+	—
9 meses embarazo	— — — —	G — — —	—	+	—
9 meses embarazo	— — — —	G — — —	—	—	—
9 meses embarazo	— — — —	G F — —	—	—	—
9 meses embarazo	— — — —	— G — —	—	+ + + +	—
9 meses embarazo	— — — —	F — — —	—	—	—
9 meses embarazo	— — — —	F — — —	—	—	—
Anemia megaloblástica	— — — —	— F F P	—	—	—
Anemia megaloblástica	— — — —	— F F —	—	—	—
Mordido serpiente	— — — F —	— F F —	—	+	—
Mordido serpiente	— — — —	F — — —	—	—	—
Anemia hemolítica	G — — —	G F — —	—	—	—
Drepanocitosis	— — — —	— F F —	—	+	—
Abceso pulmonar	— — — —	— F F —	—	+	—
Mieloma múltiple	F — F —	F F F F	—	—	—
Politraumatizado	— — — —	— — — —	—	+	—
Hernia	— — — —	— — — P —	—	+	+
Linfoma	— F — —	G F — —	—	—	—
Anemia hemolítica	— — — —	— G G —	—	+	—

DISCUSION Y COMENTARIO

El síndrome de coagulación intravascular se puede presentar en dos formas; la aguda que dura de pocas horas a pocos días y, la subaguda o crónica de algunos días a semanas o incluso a meses (crónica) (13).

En la forma aguda clásica el paciente presenta el síndrome en estado tan activo que su diagnóstico (a través del binomio clínico-laboratorio), presenta poco problema, siendo afortunadamente los casos menos frecuentes y en donde la vida del paciente corre serio peligro. En nuestro estudio solo dos pacientes presentaban esta forma del síndrome (tabla 2) de CIV. El estado subagudo o crónico es el que se presenta con mucho más frecuencia y es producido por un estímulo continuado que promueve el síndrome. El diagnóstico de estos casos es más difícil porque la coagulación intravascular usualmente es de poca intensidad y las anormalidades en las pruebas de laboratorio no son tan conspicuas como en el síndrome agudo.

De los 100 pacientes estudiados por nosotros, no encontramos en ninguno positiva la prueba de gelificación con etanol, en tanto que la de sulfato de protamina, que detecta lo mismo (8), dio positiva en treinta y seis casos. Esto es debido a que la primera es mucho menos sensible que la segunda, ya que como lo demostró Niewarowski et al. (14), la gelificación con etanol solo da positiva cuando la concentración de productos de degradación de la fibrina excede los 200 mg%, mientras que la del sulfato de protamina detecta de 2 a 5 mg% de monómeros de fibrina y de 5 a 10 mg% de los productos iniciales de la degradación de la fibrina (X^o). La positividad de la prueba de sulfato de protamina que encontramos en ciertos trastornos probablemente refleje una ligera y limitada activación del mecanismo de coagulación, ya que ella aparentemente es específica para monómeros de fibrina y el fragmento X^o, tal y como lo consignan sus preconizadores (8). Probablemente ningún paciente estudiado llegó a tener más de 200 mg% de productos de degradación de fibrina en el momento en que hicimos las pruebas. Incluso en los dos pacientes que sufrían CIV, posiblemente el estímulo que estaba desencadenando el síndrome había desaparecido cuando fueron sangrados, puesto que la prueba de ETOH dio negativa y el sulfato de protamina no dio formación de gel, al encontrarse bajas las concentraciones de los monómeros de fibrina y fragmentos X^o.

Con respecto a los resultados obtenidos en las 14 mujeres con diversos carcinomas, únicamente una paciente con Ca de mama dio positiva la prueba del sulfato de protamina y la del Fi-test, las demás de este grupo, en el cual estaban diez Ca de cervix, dieron todas las pruebas negativas. Condición diferente ocurrió con los pacientes varones con diferentes tipos de carcinomas, puesto que de los treinta y dos estudiados, dieciocho manifestaron una o más pruebas positivas. De esos dieciocho, dieciséis presentaron la prueba del Fi-test positiva y únicamente dos dieron sulfato de protamina positivo con Fi-test negativo. El total de la prueba de sulfato de protamina positivas en este grupo fue de nueve y solamente siete coincidieron con ambas pruebas positivas. Es bien sabido que ciertos tumores han sido implicadas en la liberación de procoagulantes dentro del torrente sanguíneo a un ritmo lento pero por un largo período. Estos procoagulantes probablemente se mezclan con activadores del plasminógeno implantándose por ello un estado fibrinolítico y no necesariamente una coagulación intravascular (17). Ahora bien, si los productos líticos del fibrinógeno proveyesen de una lisis localizada en tejido y los fluidos extravasculares contienen fibrinógeno y plasminógeno (19), ello nos puede explicar por qué el Fi-test da positivo en un número mayor de pacientes

con diferentes carcinomas con relación al sulfato de protamina que, como se dijo anteriormente, da negativa con productos de degradación del fibrinógeno.

El grupo de obstetricia estudiado lo dividimos en dos subgrupos: a) pacientes con aborto reciente y b) pacientes con 9 meses de embarazo. De los quince con aborto, la prueba de sulfato de protamina dio positiva en seis, mientras el Fi-test únicamente en tres, coincidiendo dos de ellos con la de sulfato de protamina, quedando únicamente un caso con sulfato de protamina negativa y Fi-test positivo, pero con productos líticos positivo, lo cual explica el hallazgo. Los casos de embarazo a término fueron catorce pacientes que estaban a punto de dar a luz. De ellos ocho presentaron la prueba de sulfato de protamina positiva y únicamente tres dieron positiva el Fi-test. En las seis pacientes restantes todas las pruebas fueron negativas.

En el embarazo normal, frecuentemente existe un estado de hipercoagulabilidad (16) que conjuntamente con la estasis circulatorio de la mujer embarazada, forman una "base vulnerable para complicaciones tromboembólicas" (15). Woodfield et al. (19), estudiaron productos de degradación de fibrina/fibrinógeno en embarazadas y no embarazadas, encontrando un aumento significativo en las primeras, fundamentalmente a nivel del tercer trimestre. Los autores creen posible que el aumento de esos productos de degradación al final del embarazo puede estar relacionado con un aumento en la incidencia del daño placentario. Bonnar et al. (2) sugieren la formación de depósitos extravasculares y localizados de fibrina, por lo que la cantidad anormal de estos productos en el suero es debida a una lisis localizada de la fibrina en el compartimiento vascular en vez de una proteólisis del fibrinógeno circulante. Esto puede explicar por qué en las parturientas estudiadas por nosotros el sulfato de protamina dio más positividad que el Fi-test, ya que éste último es de sensibilidad media y puede que no ponga de manifiesto esa lisis localizada de la fibrina, mientras que la del sulfato de protamina al detectar no solo el producto inicial de la degradación de la fibrina (X^o), sino también monómeros de fibrina, resulta ser una prueba más sensible. Otra explicación posible es la de que en ciertas condiciones solo los fragmentos grandes (X^o), de los productos de degradación de la fibrina pueden estar en el plasma ya que son aclarados de la circulación más lentamente que los fragmentos de bajo peso molecular (D-E) (6). Aquellos son coagulados por la trombina cuando no están formando complejos con los monómeros de fibrina, por lo que son removidos junto con el fibrinógeno cuando la sangre es coagulada con trombina para obtener el suero. Como la prueba del Fi-test se usa para detectar productos de degradación en suero es explicable que dicha prueba de negativa en estos casos.

De los veintitrés pacientes con trastornos varios, diez dieron la prueba del sulfato de protamina positiva y únicamente seis la del Fi-test.

La prueba de lisis de euglobulinas creemos que da positiva únicamente cuando el mecanismo fibrinolítico está exacerbado. En nuestro estudio únicamente cinco pacientes presentaron lisis de euglobulinas positiva, los cuales presentaron a su vez Fi-test positivo; por otra parte el resto con Fi-test positivos presentaron una lisis normal.

Los resultados aquí ofrecidos pueden llegar a ser de utilidad para estudios posteriores, muy especialmente cuando se lleguen a dilucidar cuáles son los cambios íntimos que ocurren en los mecanismos de coagulación sanguínea y fibrinólisis en estos diferentes trastornos. Por el momento, debemos aceptar que el establecimiento rápido de un diagnóstico de certeza de coagulación intravascular es de gran importancia puesto que la terapia específica puede salvar la vida del

paciente. Este diagnóstico suele ser relativamente simple en los casos agudos, en tanto que en los subagudos o crónicos se dificulta un poco por lo que entre mayor número de pruebas de laboratorio se realicen, tendientes todas ellas a detectar productor de degradación de fibrina/fibrinógeno, más claramente se puede llegar, en unión de la clínica, a conclusiones definidas que señalen el pronóstico de la situación así como la justificación de una terapia específica.

R E S U M E N

Se discuten brevemente los alcances médicos y el mecanismo de la coagulación intravascular diseminada (CIV), presentándose, asimismo, un estudio comparativo de varias pruebas para detectar productos de degradación del fibrinógeno/fibrina en 5 grupos de pacientes con diversas condiciones clínicas, internados en el Hospital San Juan de Dios, con interpretación de los resultados obtenidos.

S U M M A R Y

Five groups of patients were studied; all this patients had different clinic conditions which could eventually develop intravascular coagulation.

Blood from this patients were used to make and compared different tests to detect split products of fibrinogen fibrin. Results were analysed.

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

- 1.—ATMETLLA, F., SÁENZ, G. Y ARROYO, G.
Determinación de fibrinógeno plasmático. Evaluación de tres métodos rápidos y valores normales en adultos de Costa Rica. *Rev. Méd. Hosp. Nal. de Niños*, 5(2):113-127, 1970.
- 2.—BONNAR, J., DAVIDSON, J. F., PIDGEON, F., CHRISTINE, MC NICOL, G., P.; AND DOUGLAS, A., S.
Fibrin degradation products in normal and abnormal pregnancy and parturition. *British Medical Journal*, 3:137-140, 1969.
- 3.—BREEN, F. A., AND TULLIS, J. L.
Ethanol gelation: a rapid screening test for intravascular coagulation. *Ann. of Int. Med.*, 69(6):1197-1206, 1968.
- 4.—CONARD, J., SAMMAMA, M., BILSKY-PASQUIER, G. ET BOUSSER, J.
Le test de gelification du plasma par l'alcool dans le diagnostic de coagulations intravasculaires disséminées. *La Presse Medicale*, 79(24):1123-1124, 1971.
- 5.—ELLMAN, L., CARVALHO, A. AND COLMAN, R., W.
The Thrombo-Wellco test as a screening test for disseminated intravascular coagulation. *The New England Journal of Medicine*, 288(12):633-634, 1973.
- 6.—FICHER S., FLETCHER, A. P., ALKJAERSIG, N. AND SHERRY, S.
Immunoelectrophoretic characterization of plasma fibrinogen derivatives in patients with pathological plasma proteolysis. *J. Lab. Clin. Med.*, 70:903, 1967.
- 7.—GOODWIN, J., F.
Microestimation of fibrinogen with a semimicro modification applicable to icterec plasma. *Clin. Chem.*, 13(11):947-952, 1967.

- 8.—GUREWICH, V AND HUTCHINSON, ELIZABETH.
Detection of intravascular coagulation by a serial-dilution protamine sulfate test. *Annals of Int. Med.*, 75:895-902, 1971.
- 9.—HAWIGER, J., NIEWIAROWSKY, S. AND GUREWICH, V.
Measurement of fibrinogen and fibrin degradation products in serum by staphylococcal clumping test. *J. Lab. Clin. Med.*, 75(10):93:108, 1970.
- 10.—KOWALSKI, E., KOPEC, M. AND NIEWIAROWSKY, S.
An evaluation of the euglobulin method for the determination of fibrinolysis. *J. Clin. Path.*, 12:215-218, 1959.
- 11.—LIPINSKI, B., HAWIGER, J., AND JELJASZENICS, J.
Staphylococcal clumping with soluble fibrin monomer complexes. *J. of Experimental med.*, 126(5):979-988, 1967.
- 12.—MERSKEY, C. KLEINER, G., J. AND JOHNSON, A., J.
Quantitative estimation of split products of fibrinogen in human serum, relation to diagnosis and treatment. *Blood*, 28(1): 1-8, 1966.
- 13.—MERSKEY, C., JOHNSON, A., J., KLEINER, G., J. AND WOHL, H.
The defibrination syndrome: Clinical features and laboratory diagnosis. *British J. of Haematology*, 13(4):538-549, 1967.
- 14.—NIEWIAROSKI, S. AND GUREWICH, V.
Laboratory identification of intravascular coagulation. The serial dilution protamine sulfate for the detection of fibrin monomer and fibrin degradation products. *J. Lab. Clin. Med.*, 77(4):665-676, 1971.
- 15.—PECHET, L. AND ALEXANDER, B.
Increased clotting factors in pregnancy. *The New England Journal of Medicine*, 265(22): 1093-1097, 1961.
- 16.—PIZZUTO, J.
Características de la coagulación en el embarazo normal. En resúmenes del Primer Seminario de Hematología, págs. 149-151. Instituto Mexicano del Seguro Social, Centro Médica Nacional, 1973.
- 17.—RODRÍGUEZ-EDERMAN, F.
Bleeding due to increased intravascular blood coagulation. Hemorrhagic syndromes caused by consumption of blood-clotting factors (Consumption-coagulopathies). *The New England Journal of Medicine*, 273(25):1370-1378, 1965.
- 18.—THOMA, D., P., NIEWIAROSKI, S., MYERS, A., R., BLOCH, K., J. AND COLMAN, R., W.
A comparative study of four methods for detecting fibrinogen degradation products in patients with various diseases. *The New England Journal of Medicine*, 283(13): 663-668, 1970.
- 19.—WOODFIELD, D., C., COLE, S., K., ALLAN, A. G., E., CASH, J., D.
Serum fibrin degradation products throughout normal pregnancy. *Crit. Med. J.*, 4:665-668, 1968.