Rev. Chil. Pediatr. 56(3): 167-171, 1985

El Paciente con Hemorragia y Tiempo de Sangría Prolongado: Clasificación y Diagnóstico Diferencial

Dra. Esperanza Marzouka B.¹ *, Dr. Ernesto Ríos L.¹, Dr. Diego Mezzano A.², Dra. Waltraud Schuh O.¹,
B.Q. Eduardo Aranda L.², T.M. Cecilia Cataldo T.¹, T.M. Eugenia Legües S.².

Factor VIII and Platelet Aggregation in Patients with Hemorrhagic Symptoms and Prolonged Bleeding Time

Seventy six patients with hemorrhagic symptoms and prolonged template bleeding time were studied for Factor VIII (F. VIII) Complex components (F. VIII: C., F. VIII R.: Ag., F. VIII: CoR and bidirectional immune electrophoresis) and platelet aggregation. Among 66 patients which completed the laboratory work-up 51 (77%) were finally classified as Von Willebrand's Disease (V.W.D.): 45 corresponded to type I VWD and 6 to type II. Four patients were demonstrated to have congenital platelet abnormalities consisting in Storage Pool disease (n = 2) and Glanzman's disease (n = 2). Three patients showed evidence of mild A type Hemophilia, one of Ehlers-Danlos's Syndrome and in seven it was not possible to achieve a definite diagnosis.
(Key words: Factor VIII. Platelet aggregation. Prolonged bleeding time. Platelet abnormalities. Von Willebrand's disease).

La enfermedad de von Willebrand (E.v.W.) es un trastorno hereditario de la hemostásis, caracterizado por hemorragia de piel y mucosas y por un estudio de laboratorio con tiempo de sangría prolongado, disminución de la adhesividad plaquetaria y menor actividad procoagulante del factor VIII.

En los últimos años se ha avanzado enormemente en el estudio de la estructura, biología y función del factor VIII y se han desarrollado nuevos métodos de laboratorio, que han permitido el diagnóstico de las formas leves y moderadas de la enfermedad, como también una adecuada clasificación de ella.

Actualmente se postula que el factor VIII es un complejo molecular de dos componentes¹⁻²⁻³. El primero es una unidad coagulante de bajo peso molecular (F. VIII: C), que participa como cofactor en la vía intrínseca de la coagulación, se hereda ligado al cromosoma X, está ausente o disminuido en la hemofilia A y leve o moderadamente disminuido en la E.v.W. El segundo componente es la unidad antigénica (F. VIII R.: Ag) presente en el plasma en forma de multímeros de alto peso molecular (8×10^5 a 20

$\times 10^6$ daltons) que se hereda en forma autosómica: estos polímeros actúan como puente entre las plaquetas y el subendotelio vascular, permitiendo la adhesividad plaquetaria; además estabilizan y estimulan la síntesis del F. VIII: C. Por ello, la disminución del F. VIII R.: Ag. se acompaña de una disminución del F. VIII: C.

En la E.v.W. hay un defecto del segundo componente el F. VIII R.: Ag. Este se puede cuantificar por inmunoelectroforesis y también midiendo la actividad co-factor ristocetina (F. VIII: CoR), que estudia la capacidad de las plaquetas normales de aglutinarse en presencia de ristocetina.

Ruggeri y colaboradores⁴ han clasificado a estos pacientes en dos grandes grupos:

El Tipo I se caracteriza por una reducción cuantitativa de las actividades del complejo VIII. El Tipo II tiene un defecto cualitativo, con polimerización deficiente del complejo VIII, detectable por inmunoelectroforesis bidireccional de F. VIII (IEFB-VIII).

En los últimos años se ha avanzado también en el estudio de los defectos de la función plaquetaria⁵⁻⁷, que han sido calificados en defectos de adhesión (Enfermedad de Bernard Soulier), de agregación (Enfermedad de Glanzman, afibrinogemia) y de la secreción (Enfermedad del compartimiento de depósito o "Storage Pool Disease"). Estos trastornos se investigan con el tiempo de sangría y el estudio de la agregación plaquetaria.

Con estos antecedentes, que muestran el

1. Unidad de Hematología, Hospital Luis Calvo Mackenna, Facultad de Medicina, División Ciencias Médicas Oriente, Universidad de Chile.

2. Departamento de Hematología, Oncología y Banco de Sangre, Facultad de Medicina, Universidad Católica de Chile.

* Dirección actual: Instituto de Salud.

avance en el estudio de estas enfermedades, nos interesamos por dar mayor precisión al diagnóstico de 76 pacientes que consultaron con manifestaciones hemorrágicas y tiempo de sangría prolongado.

MATERIAL Y METODO

Se estudiaron 76 niños cuyas edades fluctuaron entre 1 y 15 años con antecedentes hemorrágicos personales, con o sin antecedentes familiares, entre los que destacaban, por su mayor frecuencia, epistaxis y equimosis espontáneas o secundarias a traumatismos, con menor frecuencia hemorragias secundarias a extracciones dentarias o a intervenciones quirúrgicas, metrorragia, hematomas, petequias y en un caso hematuria, que cumpliesen, además, los siguientes requisitos de laboratorio de orientación en coagulación:

Tiempo de sangría de Ivy modificado prolongado, sin ingestión de ningún medicamento en los 10 días previos. Es considerado normal un valor hasta 7,75 min.⁸ Recuento de plaquetas normal, hecho en cámara con contraste de fase⁹. Tiempo de tromboplastina parcial activado, normal o prolongado. Tiempo de protrombina normal.

Una vez incluidos en el estudio, se efectuaron en todos los pacientes una nueva medición del tiempo de sangría de Ivy modificado y estudio del complejo VIII.

La actividad procoagulante del complejo VIII (F. VIII: C) se determinó por el método en una etapa¹⁰, usando sustrato DADe; F. VIII R.: Ag se cuantificó por electroinmunoensayo mediante la técnica de Laurell¹¹, adaptada por Zimmerman¹². La actividad cofactor ristocetina (F. VIII: Co-R) se determinó por microtécnica de aglutinación en placa¹³.

En los pacientes con tiempos de sangría prolongados, pero con resultados normales para el complejo VIII, se continuó el estudio, realizándose uno o más de los siguientes exámenes:

Agregación plaquetaria en plasma rico en plaquetas con A.D.P., epinefrina, colágeno y araquidonato de sodio, usando un agregómetro Chrono-Log¹⁴. Inmunoelctroforésis bidireccional del F. VIII (I.E.F.B. - VIII)¹⁵. Repetición del estudio del complejo VIII.

RESULTADOS

De los 76 pacientes que ingresaron al estudio, 66 lo completaron. Los resultados de los exámenes del laboratorio, permitieron agruparlos en 4 grupos de enfermedades (Figura 1).

Figura 1. Diagnóstico en pacientes con antecedentes hemorrágicos y tiempo de sangría de Ivy modificado prolongado.

En 51 pacientes se diagnosticó Enfermedad de von Willebrand. De ellos, 45 pacientes corresponden a E.v.W. Tipo I. El diagnóstico se basó en los tiempos de sangría y en el estudio del complejo VIII, analizándose el número de parámetros de laboratorio alterados (tiempo de sangría, F. VIII: C, F. VIII R.: Ag, F. VIII: Cor). Los pacientes con dos o más exámenes de laboratorio anormales o 1 examen alterado, más el antecedente de un familiar con la enfermedad, se catalogaron como E.v.W. Tipo I. El análisis individual de los pacientes se muestra en las Tablas 1 y 2, destacando que 20 enfermos tuvieron 3 ó 4 parámetros de laboratorio alterados, 21 enfermos tuvieron 2 parámetros de laboratorio anormales y sólo 4 enfermos presentaron un solo examen alterado más el antecedente de un familiar con la enfermedad. Los restantes 6 niños (Tabla 3) pertenecen al Tipo II de la E.v.W. El diagnóstico, en 5 de ellos se basó en I.E.F.B. VIII alterada, con movilidad anódica excesiva del F. VIII R.: Ag y en 1 ó más de las otras pruebas alteradas. El sexto paciente de este grupo tuvo una I.E.F. B. VIII normal, pero presentaba síntomas hemorrágicos, un tiempo de sangría prolongado y tiene 2 hermanos en este mismo subgrupo.

En 4 pacientes se encontró un defecto congénito plaquetario; 2 presentaban malformaciones de las extremidades, recuentos de plaquetas entre 50 y 150 mil x mm³ y tiempos de sangría entre 9 y 30 minutos, desproporcionadamente prolongados con respecto a la trombocitopenia. Los exámenes revelaron funciones normales de F. VIII y agregación plaquetaria alterada en presencia de adrenalina, A.D.P. y colágeno, pero normal con araquidonato de sodio. Con estos

antecedentes se diagnosticó Enfermedad del compartimento de depósito. Los otros 2 pacientes de este grupo tenían tiempos de sangría de 14 minutos y de más de 20 minutos respectivamente, el estudio del Complejo VIII fue normal y no hubo agregación plaquetaria con A.D.P., adrenalina, colágeno, araquidonato de sodio e ionóforo. En ellos se confirmó la existencia de tromboastenia o Enfermedad de Glanzman.

Tabla 1.
Enfermedad von Willebrand Tipo I:
2 Parámetros de Laboratorio Alterados

	Sangría (minutos)	F. VIIIc (%)	F. VIII R: Ag (μ/ml)	F. VIII Cor (%)
1. A.C.V.	10	67	0.80	72
	8	90	0.77	54
2. B.I.R.	8.5	98	0.68	55
3. D.C.C.	11	100	1	76
4. E.M.A.	14	28	1.24	> 100
5. I.N.A.	9.5	90	0.96	55
6. H.O.S.	10	100	0.5	100
7. C.M.M. ^o	7.5	46	0.75	50
8. A.S.U.	15.5	42	0.99	95
		42	1	90
9. A.P.M.	11.5	90	0.52	77
10. B.P.M. ^o	5.5	100	0.52	80
11. A.S.M.	18	100	0.76	50
	10	100	1.08	73
12. S.T.E.	13.5	62	0.54	100
13. E.S.M.	8	100	0.88	58
	9.5	100	1.1	100
14. M.P.B.	9	25	1.1	75
15. V.A.C.	9.5	100	0.88	80
		62	0.6	65
16. R.G.R.	14	15	0.95	65
17. A.C.C.	17	80	0.72	75
18. S.H.B.	10	92	0.64	42
	6			
19. C.P.M.	12.5	100	0.96	33
	7.5			
20. L.T.E.	8.5	89	1.1	51
	5			
21. V.D.S.	11.5	100	0.75	75
	4.5			

Valores normales: 7.75 60-150 0.62-1.5 >60%

^o = Familiar de 2 pacientes con E.v.W.

En otros 4 pacientes se encontraron diferentes alteraciones de la coagulación; 3 tenían tiempos de sangría levemente prolongados, actividad disminuida de F. VIII:C y el resto del estudio normal, confirmando Hemofilia A leve. El cuarto paciente presentó tiempos de sangría prolongados, pero el estudio de funciones de F. VIII y la agregación plaquetaria fueron normales; en él se diagnosticó un síndrome de Ehlers-Danlos.

En 7 niños, a pesar del estudio repetido, no se logró un diagnóstico definitivo.

De los 10 pacientes excluidos del análisis de los resultados 6 presentaban sólo prolongación del tiempo de sangría y al reevaluar sus antecedentes hemorrágicos personales y familiares se encontró que estos eran pobres y sus nuevos tiempos de sangría fueron normales. Los 4 niños

restantes no pudieron ser bien evaluados, ya que, a pesar de tener todos los o más tiempos de sangría prolongados, antecedentes hemorrágicos personales, familiares o ambos, mostraron actividades normales de Complejo VIII y agregación plaquetaria, sin embargo, no pudo efectuarse en ellos I.E.F.B. - VIII ni repetir el estudio del Complejo VIII para lograr un diagnóstico definitivo.

Tabla 2.
Enfermedad von Willebrand Tipo I:
3 ó 4 Parámetros de Laboratorio Alterados

	Sangría (minutos)	F. VIIIc (%)	F. VIII R: Ag (μ/ml)	F. VIII Cor (%)
1. D.G.C.	20.5	24	0.25	<10
2. G.G.C.	> 25	25	0.25	<10
3. L.C.A.	9	50	0.25	29
4. G.L.P.	13.5	51	0.5	12.5
5. D.P.J.	12	45	0.6	39
6. G.S.I.	> 25	56	0.14	5
7. E.B.R.	23.5	75	0.32	36
8. S.B.R. ^o	4.5	30	0.22	4
9. V.M.A.	15	43	0.46	70
	15	20	0.75	65
10. A.T.T.	12	29	0.60	100
11. R.V.F.	16.5	15	0.57	90
12. S.P.E.	12			
	5.5	85	0.46	60
	8	100	0.8	90
13. G.J.T.	12	55	0.6	75
14. A.C.G.	9.5	70	0.88	100
	4	33	0.44	36
15. C.V.C.	14	43	0.75	60
	6.5	48	0.81	40
17. I.O.M.	8			
	6.5	48	0.92	52
18. H.G.R.	12.5			
	2.5	55	0.5	80
9. S.C.R.	8.5			
	6.5	30	0.75	80
20. M.B.P.	17.5	100	0.37	6
	7			

Valores normales: 7.75 60-150 0.62-1.5 >60%

^o = Familiar de 1 paciente con E.v.W.

Tabla 3.
Enfermedad von Willebrand - Tipo II

	Sangría (minutos)	F. VIIIc (%)	F. VIII R: Ag (U/ml)	F. VIII Cor (%)	I.E.F.B.
1. G.M.T.	10	100	0.55	15	Alt.
2. A.R.R.	11.5	> 100	1.25	69	Alt.
3. L.A.P.	7	47	0.74	90	
	6	> 100	2	100	Alt.
	9				
4. S.A.P.	3	70	0.77	100	Alt.
	6.5	> 100	1.3	100	
	8				
5. J.G.V.	8.5	100	1	90	
		50	0.86	100	Alt.
6. M.A.P. ^o	5	80	0.9	80	N
	4.5	90	1.5	100	
	9				

Valores normales: 7.75 60-150 0.62-1.5 >60%

N = Normal

Alt. = Alterado

^o = Hermano de los pacientes 3 y 4.

DISCUSION

La mayoría de los pacientes estudiados (77%) corresponde a la E.v.W. De éstos, 88% pertenecían al Tipo I de la enfermedad, con alteración cuantitativa del Complejo VIII y sólo 12% al Tipo II, con defecto cualitativo, detectable por I.E.F.B. - VIII. Esto concuerda con publicaciones del extranjero que señalan predominio de pacientes con E.v.W. Tipo I²⁶. En este grupo de enfermos no se observaron diferencias por sexo, hecho también comprobado en otras publicaciones.

El estudio de estos pacientes confirmó una amplia gama de variaciones entre ellos, no sólo en los resultados de laboratorio, sino también en las manifestaciones clínicas. Algunos enfermos tienen muy pocos síntomas y requieren estudios repetidos, para confirmar la E.v.W., y otros tienen muchos síntomas: entre ambos extremos hay una amplia gama de expresiones clínicas y de laboratorio. En la Figura 2 se observa claramente que algunos pacientes tienen compromiso de 3 ó 4 parámetros de laboratorio, ellos corresponden en general, aunque no siempre, a los pacientes con más síntomas en los que la enfermedad es más aparente. En cambio, los enfermos con un parámetro de laboratorio alterado y un familiar con la enfermedad o los pacientes con 2 parámetros de laboratorio alterados, son en general menos sintomáticos y el diagnóstico es más difícil.

Figura 2. Enfermedad de von Willebrand tipo I: Frecuencia de número de parámetros de laboratorio alterados.

Las variaciones descritas también se observan en un mismo individuo estudiado en diferentes momentos (Tabla 1 y 2), lo que justifica, en pacientes con manifestaciones hemorrágicas, repetir los exámenes para llegar al diagnóstico.

En 7 pacientes, a pesar de tener antecedentes hemorrágicos personales y familiares importantes y dos o más tiempos de sangría prolongados, con el resto de los exámenes normales, incluyendo el Complejo VII, I.E.F.B. - VIII y la agregación plaquetaria, no se pudo llegar a un diagnóstico definitivo. Este grupo puede corresponder a trastornos de hemostasia no identificables con los métodos actuales y aún corresponder a una Enfermedad de Bernard Soulier.

RESUMEN

Publicaciones recientes informan de una alta frecuencia de la Enfermedad de von Willebrand (E.v.W.) en pacientes con tiempo de sangría prolongado y recuento de plaquetas normal, destacando el uso de nuevos métodos de laboratorio que permiten el diagnóstico de los grados leves y moderados de la enfermedad.

Se estudiaron 76 pacientes pediátricos con antecedentes hemorrágicos y al menos un tiempo de sangría de Ivy prolongado, sin ingestión previa de medicamentos. De ellos, 66 completaron el estudio, pudiendo ser clasificados en las siguientes afecciones:

Enfermedad de von Willebrand, 51 pacientes, trastorno congénito de la función plaquetaria, 4, otros trastornos de la coagulación, 4 no se logró hacer un diagnóstico definitivo en 7 pacientes.

REFERENCIAS

1. Hoyer, L.W.: "The Factor VIII Complex, Structure and Function". *Blood* 58: 1, 1981.
2. Bloom, A.L.: "The Biosynthesis of Factor VIII". *Clin. Haematol.* 8: 53, 1979.
3. Zimmerman, T.S. and Ruggeri, Z.M.: "Von Willebrand's disease". *Clin. Haematol.* 12: 175, 1983.
4. Ruggeri, Z.M., Pareti, F.I., Mannucci, P.M., Ciavarella, N., Zimmerman, T.S.: "Heightened Interaction Between Platelets and Factor VIII / von Willebrand's Factor in a New Subtype of von Willebrand's Disease". *N. Engl. J. Med.* 302: 1047, 1980.
5. Shattil, S.J., Bennett, J.S.: "Platelets and their Membranes in hemostasis: physiology and Pathophysiology". *Ann. Intern. Med.* 94: 108, 1980.
6. Weiss, H.J.: "Congenital disorders of Platelet function". *Sem. Hematol.* 17: 228, 1980.
7. Vermilyen, J., Vadenhorst, P.N., Deckmyn, H. and Arnout, J.: "Normal Mechanism of Platelet Function". *Clin. Haematol.* 12: 107, 1983.
8. Ríos, E., Pinochet, M., Mandujano, M.: "Tiempo de sangría de Ivy modificado: Valores normales en edad pediátrica". *Rev. Chil. Pediatr.* 53: 552, 1982.
9. Brecher, M.: "The reproducibility and constancy of the platelet count". *Am. J. Clin. Pathol.* 23: 15, 1953.
10. Langdell, R.D., Wagner, R.H., Brinkhous, K.M.: "Effect of Antihemophilic Factor on One-Stage Clotting Tests. A Presumptive Test for Hemophilia and a Simple One-Stage Antihemophilic Factor: Assay Procedure". *J. Lab. Clin. Med.* 41: 637, 1953.

11. *Laurell, C.B.*: "Electroimmunoassay. Scand. J. Lab. Clin. Invest. 29 (Suppl. 124) 21, 1972.
12. *Zimmerman, T.S., Hoyer, L.W., Dickson, L., Edgington, T.S.*: "Determination of the von Willebrand's Disease Antigen (Factor VIII - Related Antigen) in Plasma by Quantitative Immunelectrophoresis". J. Lab. Clin. Med. 86: 152, 1975.
13. *Reisner, H.M., Katz, H.J., Golding, L.R., Barrow, E.S., Graham, J.B.*: "Use of a simple visual assay of von Willebrand Factor for Diagnosis and carrier identification". Brit. J. Haematol. 40: 339, 1978.
14. *Packham, M.A., Kintough Rathbone, R.L., Mustard, J.F.*: "Aggregation and Agglutination in Platelet". Function Testing. Ed. Day, H.J., Holmsen, H., Zucker, M.B. D.H.E.W. Public. N (N.I.H.) 78-1087, Bethesda, 1978, p. 66.
15. *Zimmerman, T.S., Roberts, J., Edgington, T.S.*: "Factor VIII Related Antigen: Multiple Molecular Forms in Human Plasma. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 72: 5121, 1975.
16. *Nilsson, I.M., Holmberg, L.*, von Willebrand's Disease Today. Clin. Haematol. 8: 147, 1979.