



**SUBDIRECCION DE INVESTIGACION  
Y ESTUDIOS DE POSTGRADO**

**“INFLUENCIA DEL SISTEMA NERVIOSO  
CENTRAL EN LOS MECANISMOS DE LA  
COAGULACION SANGUINEA EN PERROS”**

**TESIS QUE EN OPCION AL GRADO DE:  
MAESTRO EN CIENCIAS  
ESPECIALIDAD: FISIOLOGIA MEDICA**

**PRESENTA:**

**DR. DEMETRIO ARCOS CAMARGO**

**MONTERREY, N. L., FEBRERO DE 1988.**

TM

QP93

.5

A7

C.1



1080071350

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE MEDICINA

SUBDIRECCION DE INVESTIGACION

Y

ESTUDIOS DE POSTGRADO

" INFLUENCIA DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL EN  
LOS MECANISMOS DE LA COAGULACION SANGUINEA  
EN PERROS "

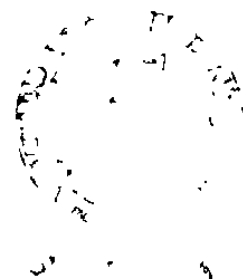
Tesis que en opción al grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS

Especialidad: FISILOGIA MEDICA

Presenta:

DR. DEMETRIO ARCOS CAMARGO



Monterrey, N.L., Febrero de 1988.

TM  
QP93  
.5  
A7



ASESOR: DR. JOSE PISANTY OVADIA

TRABAJO DE TESIS QUE SE DESARROLLO EN EL  
DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA DE LA  
FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD  
AUTONOMA DE NUEVO LEON, MEXICO.

## DEDICATORIA

A MI ESPOSA E HIJO, QUE SOLO CON SU AMOR  
AYUDARON A LA TERMINACION DE  
ESTA TESIS.

A MIS PADRES Y HERMANOS POR SU  
CARIÑO Y COMPRENSION

A LOS DRES.:  
J. PISANTY Y J. MARFIL POR SU  
ASESORIA

A MIS COMPANEROS DE MAESTRIA:  
PARA MEJORAR NUESTRO  
POSTGRADO

A LA FACULTAD MEDICINA DE LA UANL Y  
EN ESPECIAL AL DEPARTAMENTO DE  
FISIOLOGIA Y PERSONAL QUE  
LABORA EN EL, POR  
BRINDARME EL LUGAR APROPIADO  
PARA LA REALIZACION NO SOLO DE LA  
TESIS, SINO TAMBIEN PARA MI  
PREPARACION PROFESIONAL

## INDICE

CAPITULO		PAGINA
I	INTRODUCCION .....	1
II	MATERIAL Y METODOS.....	13
III	RESULTADOS.....	23
IV	DISCUSION Y CONCLUSIONES...	39
V	RESUMEN.....	43
VI	REFERENCIAS.....	45
	APENDICE 1.....	53
	APENDICE 2.....	61



## CAPITULO I

### INTRODUCCION:

Walter B. Cannon en 1932 se refirió a la homeostasis como: " Todos aquellos mecanismos fisiológicos que tratan de mantenernos en un equilibrio constante entre nuestro medio interno y externo ". Se ha estado investigando como trabajan ésta serie de mecanismos fisiológicos, como por ejemplo: los que controlan la presión arterial, la temperatura corporal, la formación de orina, entre otros, lógicamente influenciadas éstas funciones por medios internos (por ejemplo: la digestión) y externos (por ejemplo: la temperatura ambiental). Así también nosotros tratamos de estudiar un mecanismo homeostático: La Hemostasia.

La Hemostasia se define como: los mecanismos fisiológicos involucrados en mantener la fluidez de la sangre y evitar la pérdida de la misma a través de los vasos sanguíneos (44). Así, cuando un vaso sanguíneo pierde su continuidad se ponen en juego una serie de procesos encaminados a evitar la pérdida excesiva de sangre; en estos procesos o mecanismos participan:

- 1.- Vasos Sanguíneos .

- 2.- Plaquetas.
- 3.- Proteínas de la Coagulación.
- 4.- Fibrinólisis y reparación del tejido dañado.

Describiremos ésta serie de mecanismos:

1.- Vasos Sanguíneos: inmediatamente después de que se lesiona un vaso sanguíneo se produce un reflejo de vasoconstricción local.

2.- Plaquetas: la interrupción del endotelio vascular expone el colágeno a la luz del vaso y favorece que las plaquetas se adhieran a la superficie de éste endotelio, dando inicio a la formación del tapón hemostático plaquetario. Para que se realice la formación de éste tapón de plaquetas es necesario la participación del factor de von Willebrand que proviene del endotelio vascular (44); la actividad de las plaquetas inicia también la activación de otras plaquetas favoreciendo no solo la adhesión, sino también la agregación, y ésta se realiza por medio de una serie de fenómenos que se producen de manera progresiva: cambio de forma de la plaqueta (formación de pseudópodos) (14,44), liberación y oxidación del ácido araquidónico para la formación de tromboxanos (agregante plaquetario), secreción del contenido de

los gránulos alfa (factor plaquetario 4, fibrinógeno, factores V, VIII y XIII) y densos de la plaqueta (serotonina, ATP, ADP, Calcio) (30), al completarse ésta serie de reacciones da como resultado la formación de un trombo o tapón plaquetario.

Además se refiere que la superficie de la plaqueta puede servir para la unión del Cininógeno de Alto Peso Molecular (CAPM) con participación del zinc y calcio e iniciar la vfa de la coagulación intrínseca (18).

3.- Proteínas de la coagulación: una vez formado el tapón plaquetario, la activación de las proteínas de la coagulación se suceden de manera progresiva: la mayoría de éstas proteínas son serin proteasas que se encuentran en forma inactiva y se activan de manera progresiva. Estas enzimas también son denominadas factores de la coagulación y es común escribirlas con números romanos (Cuadro A) (44). El objetivo de la activación de los factores de la coagulación es la formación de un trombo de fibrina estable; para llegar a ello se ha dividido ésta activación en tres vfas (13) (Ver Figura 1):

a).- Vfa Intrínseca.

**CUADRO A:**  
**AGENTES QUE INTERVIENEN EN LA COAGULACION SANGUINEA.**

TIPO	NOMBRE	SINONIMO
PROENZIMAS DE CONTACTO	FACTOR XII	F. HAGEMAN
	FACTOR XI	ANTECEDENTE TROMBOPLASTINICO TISULAR
	PRECALICREINA	F. FLETCHER
PROENZIMAS DEPENDIENTES DE LA VITAMINA K	FACTOR II	PROTROMBINA
	FACTOR VII	PROCONVERTINA
	FACTOR IX	F. CHRISTMAS
	FACTOR X	F. STWART
COFACTORES	FACTOR VIII	F. ANTIHEMOFILICO
	FACTOR V	PROACELERINA
	FACTOR III	F. TISULAR
FACTORES DE DEPOSITO DE FIBRINA	LIPIDO PLAQUETARIO	
	CININOGENO DE ALTO PESO MOLECULAR	
	FACTOR I	FIBRINOGENO
	FACTOR XIII	FACTOR ESTABILIZADOR DE FIBRINA

CUADRO A: (CONTINUACION)

CONCENTRACIONES PLASMATICAS (micro- gramos/mililitro)		PESO MOLECULAR (DALTONS)	VIDA MEDIA (DIAS)
F.XII	29	80 000	2.0
F.XI	8	160 000	2.5
PRECALICREINA	45	88 000	
F.VII	0.5	50 000	0.2
F.IX	4	57 000	1.0
F.X	8	57 000	1.5
F.II	150	70 000	3.0
CAPM*	70	120 000	
F.V	7	330 000	1.5
F.VIII			0.5
F.I	2 500	340 000	4.5
F.XIII	8	320 000	7.0

F= FACTOR.

\* CAPM= CININOGENO DE ALTO PESO MOLECULAR

b).- Vía Extrínseca.

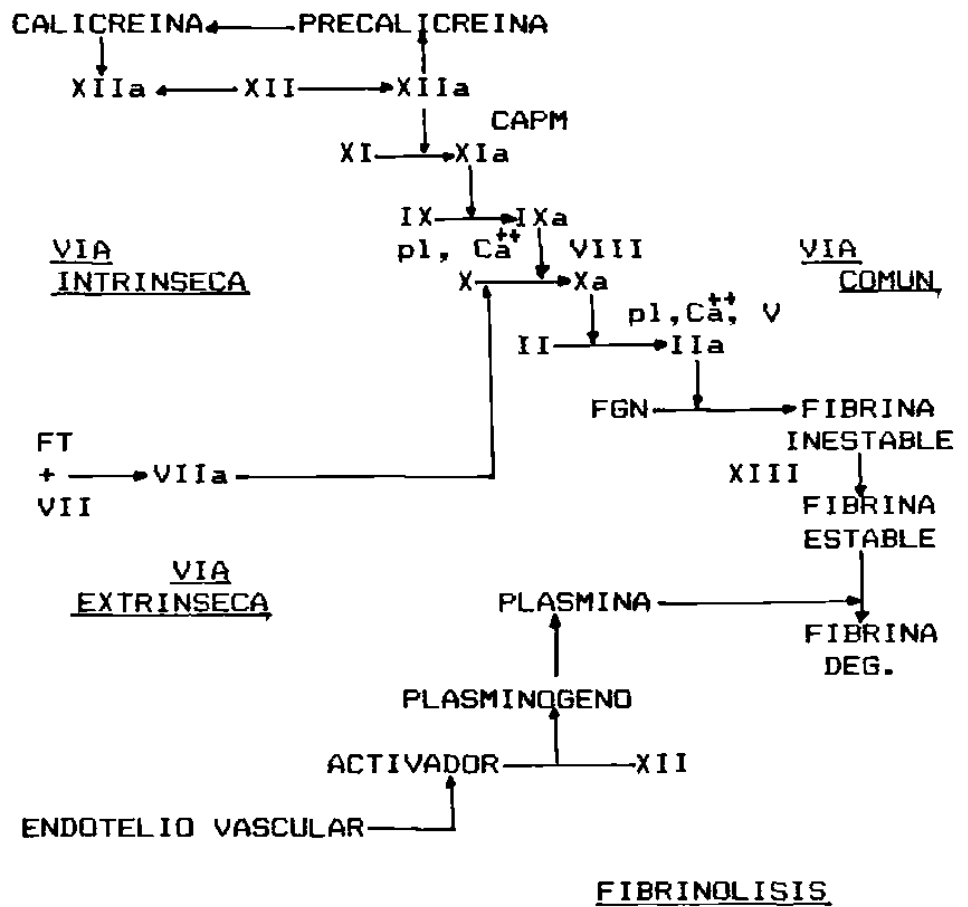
c).- Vía Común.

Vía Intrínseca: se inicia por la activación de los llamados factores de contacto: factor XII, XI y calicreínas. Para la activación de estos factores se necesita una superficie "extraña" (vaso lesionado, colágeno) y el CAPM. La activación del factor XII activa al factor XI, éste a su vez al factor IX en presencia de calcio y fosfolípidos, el factor IX activo, activa al X teniendo como cofactor al factor VIII.

Vía Extrínseca: la lesión vascular libera un factor importante para la activación de ésta vía: la tromboplastina tisular o factor tisular, que junto con el factor VII activan al factor X; puede activarse el factor X con la presencia del factor VII, pero ésta activación es potenciada si está presente la tromboplastina tisular (46).

Vía Común: la vía común se inicia al activarse el factor X; éste factor activado en presencia de fosfolípidos, calcio y el factor V activa al factor II el cual actúa sobre el fibrinógeno (factor I) para formar monómeros de fibrina, la fibrina formada es ines-

FIGURA 1  
 INTERACCION DE LOS FACTORES DE LA COAGULACION Y  
 FIBRINOLISIS



CAPM= CINIENO DE ALTO PESO MOLECULAR  
 FGN= FIBRINOGENO  
 pl= LIPIDOS PLAQUETARIOS  
 FT= FACTOR TISULAR  
 Ca= Calcio

table y por lo tanto necesita de un factor estabilizador de fibrina: el factor XIII. Con ésta serie de reacciones en "cascada" se forma un trombo mucho más estable y no fácilmente lisado.

4.- Fibrinólisis (1) (Ver Figura 1): la formación de un trombo estable solo debe durar el tiempo necesario para que el tejido repare el vaso dañado; por lo tanto, se necesita lisar éste trombo y esto se lleva a cabo por el mecanismo fibrinolítico. La activación de la fibrinólisis se inicia con la liberación de activadores de plasminógeno del endotelio vascular dañado, éste actúa sobre el plasminógeno para formar plasmina, una vez formada actúa sobre la fibrina para degradarla y así restablecer la fluidez de la sangre.

Existen además otra serie de mecanismos que impiden la formación de trombosis además del mecanismo fibrinolítico estos son (44,37):

1.- Proteína C: ésta proteína junto con la proteína S inactivan a los factores V y VIII activos, por lo tanto evitan la activación de la trombina; se sugiere también que ésta proteína C estimula la liberación de activadores de plasminógeno activando el mecanismo fibrinolítico.



2.- La antitrombina III: ésta protefna se une directamente a la trombina inactivandola y también se une a otras serin proteasas.

3.- Alfa 2 macroglobulina: su mecanismo de acción es también unirse a la trombina para inactivarla.

En los mecanismos homeostaticos existen influencias de diferente índole y la hemostasia no es la excepción. Existen ciertas influencias normales: el estrés, el ejercicio, la edad, el sexo, el embarazo, entre otros (1, 44), que pueden alterar los mecanismos homeostaticos, principalmente los mecanismos de la coagulación y de la fibrinólisis.

Cannon (7,8,9), Vosburg (42) y Grabfield (16) encontraron que la estimulación de los nervios espláncnicos, inyecciones de adrenalina o descargas adrenérgicas (producidas por situaciones de estrés) producían estados de hipercoagulación; Britton (4) refiere que la estimulación de la médula suprarrenal y por consiguiente la liberación de adrenalina produce liberación de activadores de plasminógeno; la inyección de sustancias vasoactivas también producen éste efecto además de inducir la liberación del factor VIII (27). Ingram (20) encontró un incremento de

aproximadamente 175 % de la actividad antihemofílica posterior a la infusión de sustancias adrenérgicas a estudiantes voluntarios de medicina.

También se han producido alteraciones en la hemostasia por estimulación del Sistema Nervioso Central: Chepurov y Marcosyan (10) insertando electrodo-cánula en hipotálamo de conejos y estimulando los núcleos de la zona anterior y posterior encontró hipocoagulación, relacionó éste hecho a que se encuentran zonas colinérgicas que ejercen éste efecto. Por otro lado, Gunn y Hampton (19) estimulando diversas áreas del tallo cerebral encontraron alteraciones en las concentraciones del factor VIII.

Esto da evidencias que tanto la actividad colinérgica del hipotálamo como adrenérgica (por medio de médula suprarrenal) podrían ejercer su influencia a través de la liberación de sustancias y que las captaran receptores alfa o beta adrenérgicos, como lo hizo notar Landaburu y cols. (23,24,25). La influencia del Sistema Nervioso Central es reforzada aún más cuando alteraciones en la coagulación sanguínea fueron reportadas en neurocirugías (2, 3, 22, 32, 40), traumatismos craneoencefálicos (6, 15, 21) o la presencia de tumores cerebrales (43) ( Por la participa-

ción de activadores de plasminógeno y tromboplastina tisular entre otros ).

Esta influencia del Sistema Nervioso Central, se refiere solo a estructuras subcorticales ?, o, tiene también influencia la corteza cerebral ? En un trabajo preliminar Tavitas y Pisanty (39) estimulando diversas áreas de corteza cerebral reportaron alteraciones en la coagulación sanguínea al estimular la corteza insular. Se propuso completar éste trabajo: basandose en los antecedentes antes mencionados se planteó la siguiente hipótesis:

" Existe influencia de la corteza cerebral, específicamente de la corteza insular, sobre los mecanismos de la homeostasia y ésta influencia es a través de vías nerviosas ".

Para poder comprobar nuestra hipótesis se plantearon los siguientes objetivos:

1.- Obtener valores control de los diferentes mecanismos de la hemostasia en perros para estandarizar nuestros datos (33,34).

2.- Observar el efecto de la anestesia y cirugía sobre los mecanismos de la hemostasia.

3.- Observar el efecto de la estimulación de la corteza cerebral.

4.- Observar el efecto de la interrupción de las conexiones nerviosas con la ínsula.

5.- Valorar el efecto de la interrupción de las conexiones nerviosas seguida de estimulación de la ínsula de Reil.

## CAPITULO II

### MATERIAL Y METODOS.

Se utilizaron perros machos, sin distinción de raza, ni edad, elegidos al azar, con peso entre 14-28 kg, en aparente buen estado de salud; anestesiados con pentobarbital sódico (Anestesal<sup>R</sup>, de los laboratorios Smith Kline Norden de México) a dosis de 33 mg/kg de peso corporal, la administración fue intravenosa. Se disecaron las venas: yugular externa y femoral izquierda, la primera fue con el propósito de extraer las muestras sanguíneas a analizar, la segunda para administración de dosis subsecuentes del pentobarbital en caso que fuese necesario. Se realizó intubación endotraqueal para ventilación mecánica cuando fue necesario, con un ventilador volumétrico (Marca Palmer); el volumen de ventilación fue de aproximadamente el 15% del peso corporal.

Las pruebas utilizadas para la valoración de los mecanismos de la hemostasia fueron: Tiempo de Sangrado (TS) (Método de Duke)(12), Tiempo de Protrombina (TP)(Método de Quick)(12), Tiempo de Coagulación Venosa (TCV)(Método de Lee y White)(12), Tiempo de Coagulación de Plasma Recalcificado (TCPR)(5), Tiempo

de Trombina (TT) (12) y Tiempo de Lisis de Euglobulinas (TLE) (Método de von Kaula) (41); con el fin de valorar: actividad vascular y plaquetaria (TS), vías extrínseca (TP), intrínseca (TCV y TCPR) y común de la "cascada" de la coagulación (TT) y el mecanismo fibrinolítico (TLE). Se utilizaron jeringas y agujas desechables para la recolección de las muestras sanguíneas. Se descartaron las muestras sanguíneas hemolizadas (Para el procedimiento de los tiempos antes mencionados, ver Apéndice I).

Para estandarizar los valores de tiempos de los mecanismos de la hemostasia se extrajeron 25 muestras sanguíneas inmediatamente después de anestesiados, a 25 perros elegidos al azar y posteriormente compararlos con los obtenidos en los diferentes grupos.

Los perros fueron agrupados en número de 5, formando los siguientes grupos experimentales:

**GRUPO:**

**OBJETIVO:**

- 1.....Valorar el efecto de la anestesia sobre las pruebas de los mecanismos de la hemostasia. Se extrajeron 5 muestras para su análisis: una inmediatamente después de anestesiado y una cada hora por 4

horas. A éste grupo se le realizaron solamente las venodisecciones.

2.....Valorar el efecto de la anestesia y cirugía sobre las pruebas antes mencionadas. La extracción de las muestras fue de la misma manera que en el grupo anterior. Se realizaron: venodisecciones y cirugía (la técnica quirúrgica se describe más adelante).

3.....Observar el efecto de la estimulación en la circunvolución silviana posterior en la región inferior. Las muestras sanguíneas extraídas fueron: una antes de la estimulación, al minuto, 10 y 20 minutos durante la estimulación y una adicional 10 minutos después de la estimulación (Figura 2).

4.....Observar el efecto de la estimulación en la región de la ínsula anterior. Se extrajeron las muestras de la misma manera que en el grupo anterior (Figura 2).

5.....Observar el efecto de la estimulación de

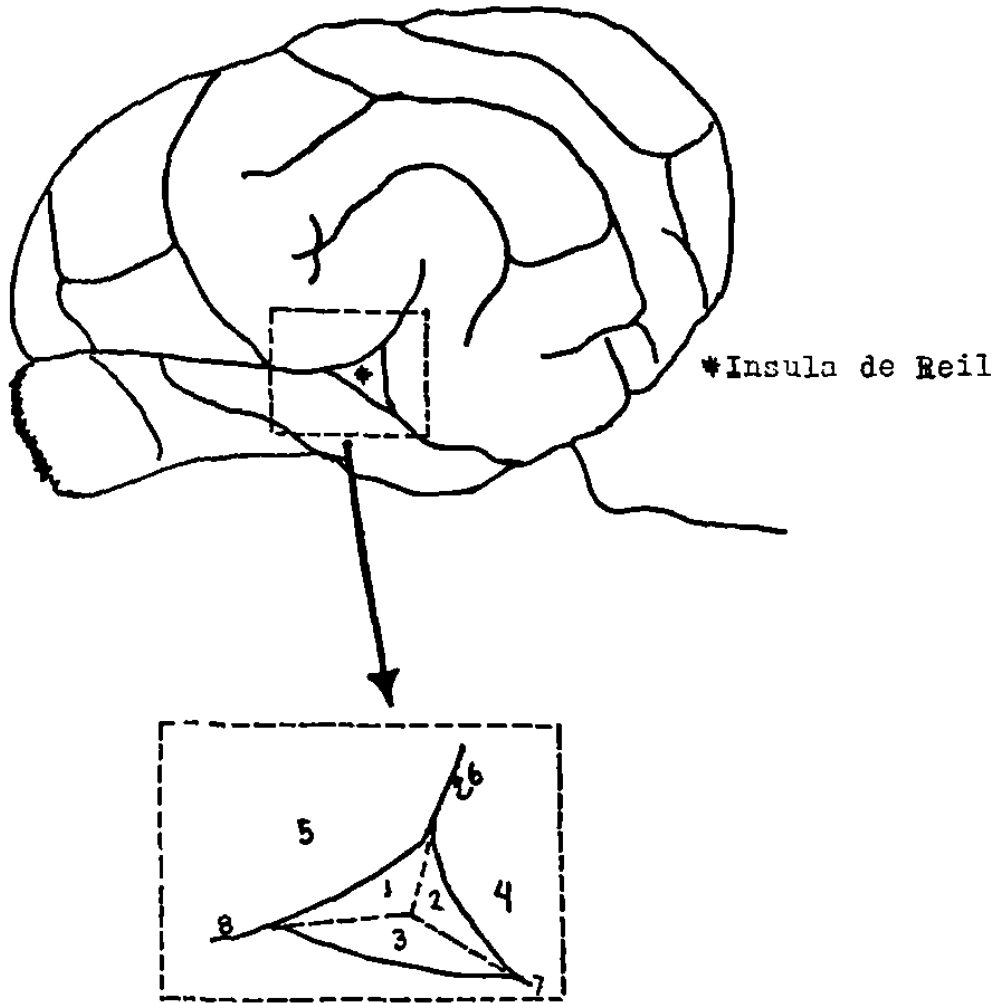
la insula posterior, realizándose el mismo procedimiento que en el grupo anterior (Figura 2).

6.....Observar el efecto de la estimulación de la corteza insular inferior, bajo el mismo procedimiento que en los grupos anteriores (Figura 2).

7.....Observar el efecto de la lesión sobre el hemisferio cerebral, con el fin de interrumpir las conexiones nerviosas de la corteza insular. La extracción de las muestras sanguíneas fue: antes de la lesión, al minuto, 10, 20 y 30 minutos después de la lesión (Figura 3).

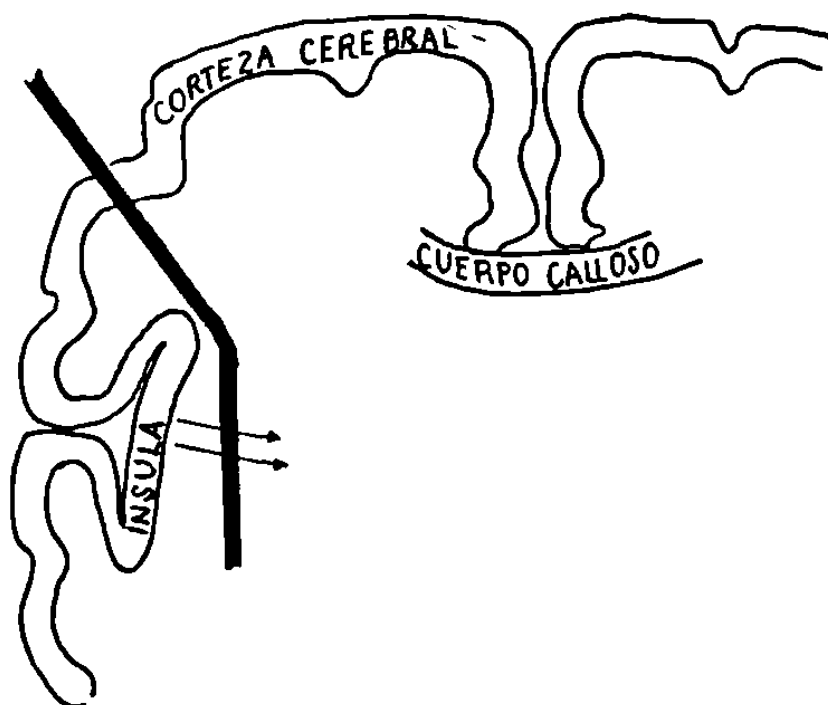
8.....Observar el efecto de la lesión seguida de estimulación de la corteza insular inferior al mismo tiempo; la extracción de las muestras sanguíneas fue: antes de la lesión-estimulación, al minuto, 10 y 20 minutos de estimulación y 10 minutos después de terminada la estimulación (Figura 3).





- |                                       |                            |
|---------------------------------------|----------------------------|
| 1.- INSULA ANTERIOR                   | 5.- CIRC.SILVIANA ANTERIOR |
| 2.- INSULA POSTERIOR                  | 6.- CISURA DE SILVIO       |
| 3.- INSULA INFERIOR                   | 7.- CISURA RINAL POSTERIOR |
| 4.- CIRCUNVOLUCION SILVIANA POSTERIOR | 8.- CISURA RINAL ANTERIOR  |

FIGURA 2: Representación esquemática de un hemisferio cerebral de perro que muestra la localización de la insula de Reil; en el cuadro las líneas punteadas se dibujaron con el fin de representar la división arbitraria de la corteza insular.



**FIGURA 3:** Representación esquemática de la lesión de corteza cerebral para la interrupción de conexiones nerviosas con la insula. La lesión se representa por la barra gruesa.

La técnica quirúrgica fue la siguiente: colocando al perro en decúbito lateral izquierdo, se realizó una insición sobre el arco cigomático, se diseca por planos hasta el arco, el cual es posteriormente removido previa desinserción de los músculos que en él se insertan (temporal y masetero). Ya removido el arco cigomático, se disocian las fibras musculares del masetero hasta el proceso coronoideo de la mandíbula, que también es removido, se disocian las fibras musculares del temporal hasta los huesos frontal y palatino, se realiza una craneotomía de aproximadamente dos centímetros de diámetro, se remueven meninges (duramadre y aracnoides), se localiza el entrecruzamiento de la cisura de Silvio con la cisura rinal anterior y posterior, abajo de las cuales se encuentra la corteza insular. Se hace énfasis en que la hemostasia de los vasos dañados es realizada por compresión o por ligadura de los mismos, y, no se utilizó electrocauterio. Se descartaron aquellos experimentos que hubo hemorragia moderada sobre corteza cerebral al realizar la craneotomía o en la remoción de las meninges.

Las áreas estimuladas fueron (Figura 2):

a).- Corteza Silviana Posterior en la región infe-

rior.

- b).- Corteza insular anterior.
- c).- Corteza insular posterior.
- d).- Corteza insular inferior

La estimulación de la corteza insular en las regiones antes mencionadas, se dividió así arbitrariamente, por lo siguiente: si tenemos como referencia el entrecruzamiento de la cisura de Silvio y las cisuras rinal anterior y posterior de manera perpendicular siendo las cisuras rinales la línea horizontal, la corteza insular tiene la forma de un prisma triangular, siendo su vértice hacia la región externa y teniendo tres caras: anterior, posterior e inferior, las cuales fueron tomadas como referencia para su estimulación.

La estimulación fue bajo los siguientes parámetros: pulsos cuadrados, con voltaje de 8 V, duración de 2 ms, frecuencia de 50 Hz, estimulándose continuamente por un tiempo de 20 minutos. Se utilizó un estimulador Grass (Modelo S48F); la estimulación fue a través de un electrodo de nicrom o de acero inoxidable, el cual se aisló hasta un mm antes de la punta; el grosor de los electrodos fue de aproximada-

mente 500 micras (electrodo de nicrom) y 100 micras (electrodo de acero inoxidable). Se colocó el electrodo con ayuda de un microscopio para cirugía (Marca Zeiss OPMI 99). Se descartaron los experimentos que hubo hemorragia moderada sobre corteza cerebral al colocar el electrodo.

Después de terminado el experimento se sacrificó al animal con una solución saturada de KCl, posteriormente con un aparato para producir lesión (Marca Stoelting Co., Chicago USA) se produjo ésta en el sitio donde se colocó el electrodo, por medio de corriente directa: 5 mA con una duración de 20 segundos para confirmar el área estimulada; se extrajo parte del hemisferio estimulado o lesionado y se fijó con formol al 10 %. La confirmación macroscópica del área estimulada o lesionada se realizó dos días después de la fijación con formol.

En caso de lesión del hemisferio cerebral para la interrupción de las conexiones nerviosas con la ínsula, se utilizó un objeto cortante de aproximadamente 100 micras de grosor y 7 mm de ancho éste se introdujo en el hemisferio cerebral de la siguiente manera: ya obtenido el trépano y removido meninges,

se localiza la cisura de Silvio y la cisura rinal posterior, entre ambas y a una distancia de aproximadamente medio centímetro de la cisura de Silvio se introduce el objeto cortante dirigiéndolo hacia adentro y adelante hasta aproximadamente dos centímetros de profundidad. Terminado el experimento y sacrificado el animal se extrae el hemisferio cerebral lesionado, se fija con formol y dos días después se observa macroscópicamente el lugar de la lesión.

La lesión se realizó de ésta manera, por que se produjo menor edema cerebral y hemorragia, además de conservarse la irrigación de la corteza insular.

Las pruebas estadísticas que se utilizaron para el análisis de los datos obtenidos fueron las siguientes: la prueba de análisis de varianza por bloques aleatorios para la comparación dentro del mismo grupo, y la prueba de Student-Newman-Kuels para localizar donde existe la diferencia dentro del mismo grupo.

### CAPITULO III

#### RESULTADOS:

A.- Los valores control obtenidos en las muestras sanguíneas extraídas en perros inmediatamente después de anestesiados fueron los siguientes ( se calculó la media aritmética con un intervalo de dos desviaciones estandard ):

- 1.- Tiempo de Coagulación Venosa (TCV):  $6.16 \pm 2.06$  minutos.
- 2.- Tiempo de Coagulación de Plasma Recalcificado (TCPR):  $83.76 \pm 30.38$  segundos.
- 3.- Tiempo de Sangrado (TS):  $2.37 \pm 1.66$  minutos.
- 4.- Tiempo de Protrombina (TP):  $10.72 \pm 2.24$  segundos.
- 5.- Tiempo de Trombina (TT):  $22.13 \pm 2.70$  segundos.
- 6.- Tiempo de Lisis de Euglobulinas (TLE):  $53.24 \pm 21.40$  minutos.

B.- Efecto de Anestesia y Cirugia sobre los diferentes tiempos en las muestras analizadas: En la gráfica 1, 2, y 3 (Apéndice 2: Cuadros 1, 2 y 3) .

observamos que en las diferentes pruebas analizadas (TCV, TCPR, TS, TP, TT y TLE) no se produjeron cambios significativos por efecto de la anestesia, ni por efecto de la cirugía comparados con los valores control. Sin embargo en el análisis estadístico hubo diferencia significativa por efecto de la cirugía en el TP dentro del mismo grupo, la diferencia existe desde la primera muestra sanguínea extraída con todas las demás.

C.- Efecto de la estimulación de la corteza cerebral; las áreas estimuladas fueron :

- Circunvolución Silviana Posterior en la región inferior.
- Corteza Insular Anterior.
- Corteza Insular Posterior.
- Corteza Insular Inferior.

Los valores encontrados en las diferentes áreas estimuladas no registraron cambios significativos comparados con los valores control, ni en el análisis estadístico, gráficas: 5,7,8 y 9 (Apéndice 2: Cuadros 5,7,8 y 9) excepto en lo observado en el TCPR y TCV, Gráficas 4 y 6 (Apéndice 2: Cuadros 4 y 6 ).

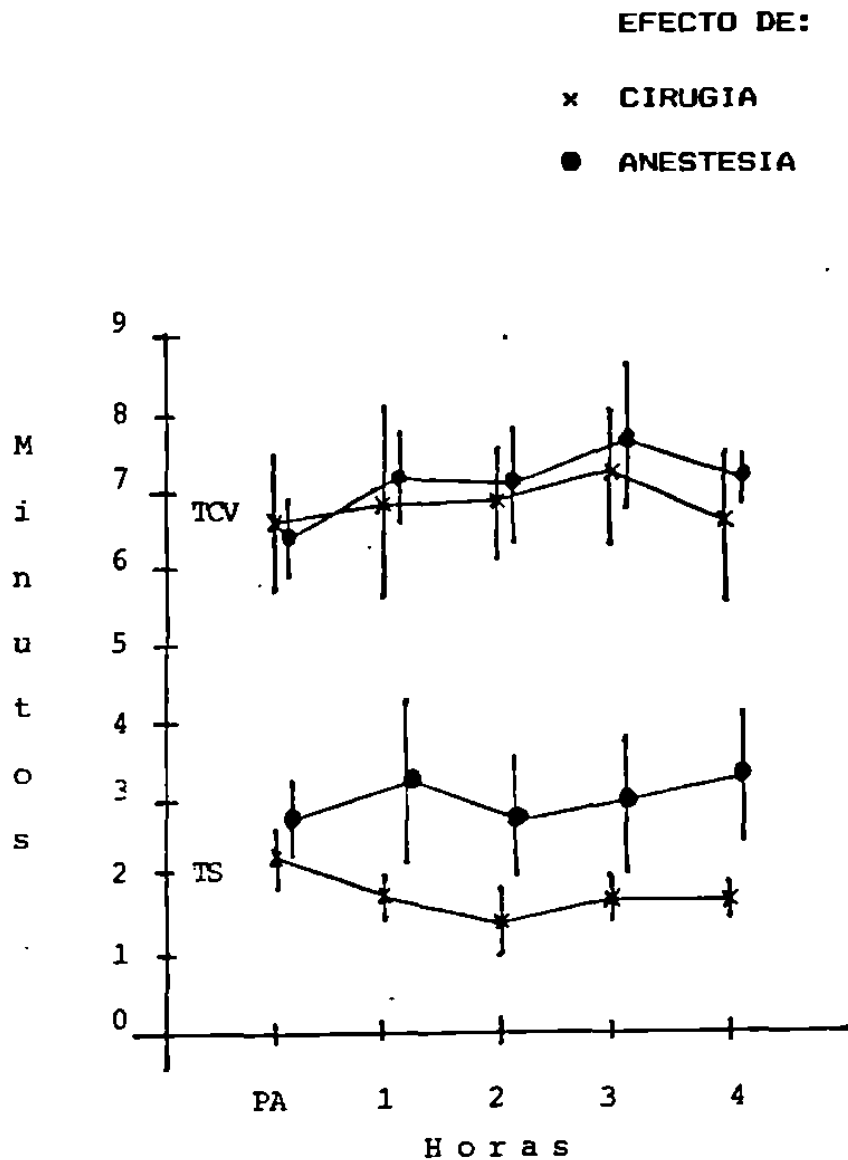


En la Gráfica 4 se observa que la estimulación de la Corteza Insular Inferior produce un acortamiento en el TCV de aproximadamente un 40% con respecto a las medias aritméticas comparadas con los valores control, con cambios importantes en el análisis estadístico; la diferencia se encuentra desde la segunda muestra sanguínea analizada hasta la quinta comparandola con la primera.

En la Gráfica 6 observamos cambios en el TCPR con un acortamiento de aproximadamente un 30% al estimularse la insula inferior, y con un alargamiento de aproximadamente 40% (con respecto a las medias aritméticas) al estimularse la insula posterior en comparación con los valores control, con diferencia significativa en el análisis estadístico en ésta última, la diferencia está entre la primera muestra sanguínea y la cuarta, esto es, a los 20 minutos de estimulación.

D.- Efecto de la lesión cortical para la interrupción de las fibras nerviosas y efecto de la lesión seguida de estimulación de la insula inferior: en la Gráfica 10, 11 y 12 (Apéndice 2; Cuadros 10, 11 y 12) se observa que las pruebas: TCV, TS, TLE, TT y TP no

se encontraron diferencias con respecto a los valores control. En la Grafica 10, se observa que en el TCPR hay cambios con respecto a los valores control, sin embargo en el análisis estadístico no existe diferencia significativa por el efecto de la lesión, pero si por efecto de la lesión + estimulación de la insula inferior, la diferencia significativa fue principalmente entre la primera y última muestra sanguínea analizada, no existiendo diferencia durante la estimulación de la insula inferior.

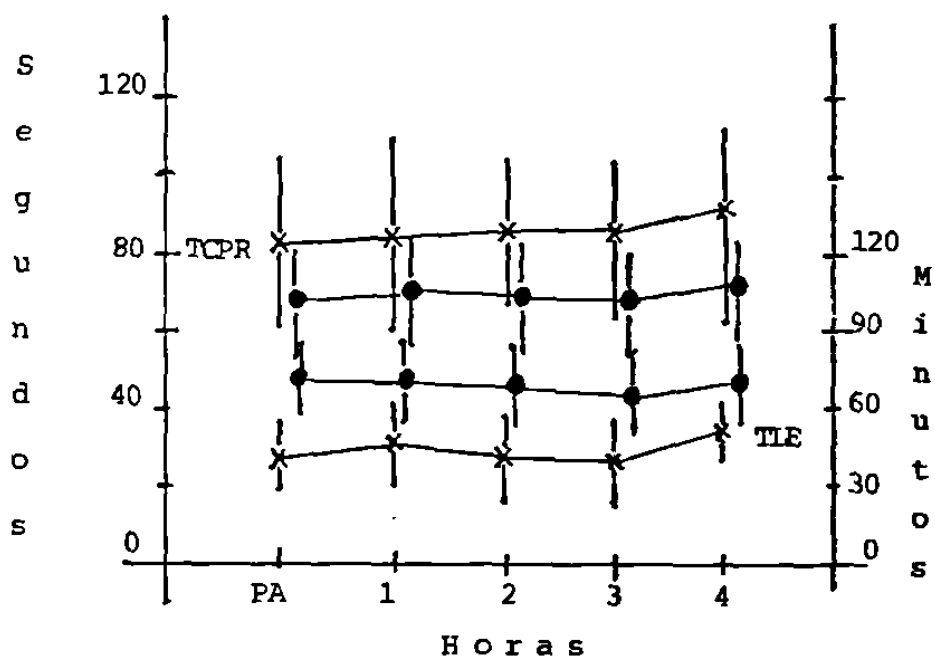


GRAFICA 1: Relación del efecto de la cirugía y anestesia sobre: Tiempo de Coagulación Venosa (TCV) y Tiempo de Sangrado (TS). PA: Postanestesia. Valores control: TS: 0.71-4.03 minutos; TCV: 4.10-8.22 minutos. Cada punto representa la media aritmética y las barras el error estándar. [n=5;  $\alpha=0.05$ ;  $F_t > F_o$ , n.s.;  $F_t$  y  $F_o$  son: análisis de varianza de tablas y calculada respectivamente, si  $F_t$  es mayor que  $F_o$  no hay diferencia significativa (n.s.)].

## EFECTO DE:

X CIRUGIA

● ANESTESIA

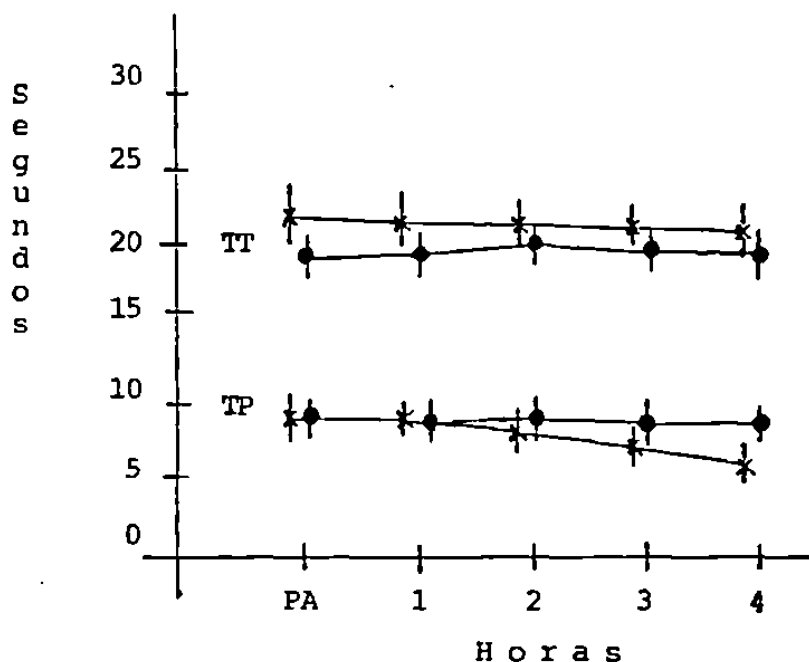


GRAFICA 2: Relación del efecto de la cirugía y anestesia sobre el: Tiempo de Coagulación de Plasma Recalcificado (TCPR) y Tiempo de Lisis de Euglobulinas (TLE). PA: Postanestesia. Valores control: TCPR: 53.38-114.14 segundos; TLE: 31.84-74.64 minutos. Cada punto representa la media aritmética y las barras el error estándar ( $n=5$ ;  $\alpha=0.05$ ;  $F_t > F_o$ ; n.s.).

EFECTO DE:

X CIRUGIA

● ANESTESIA

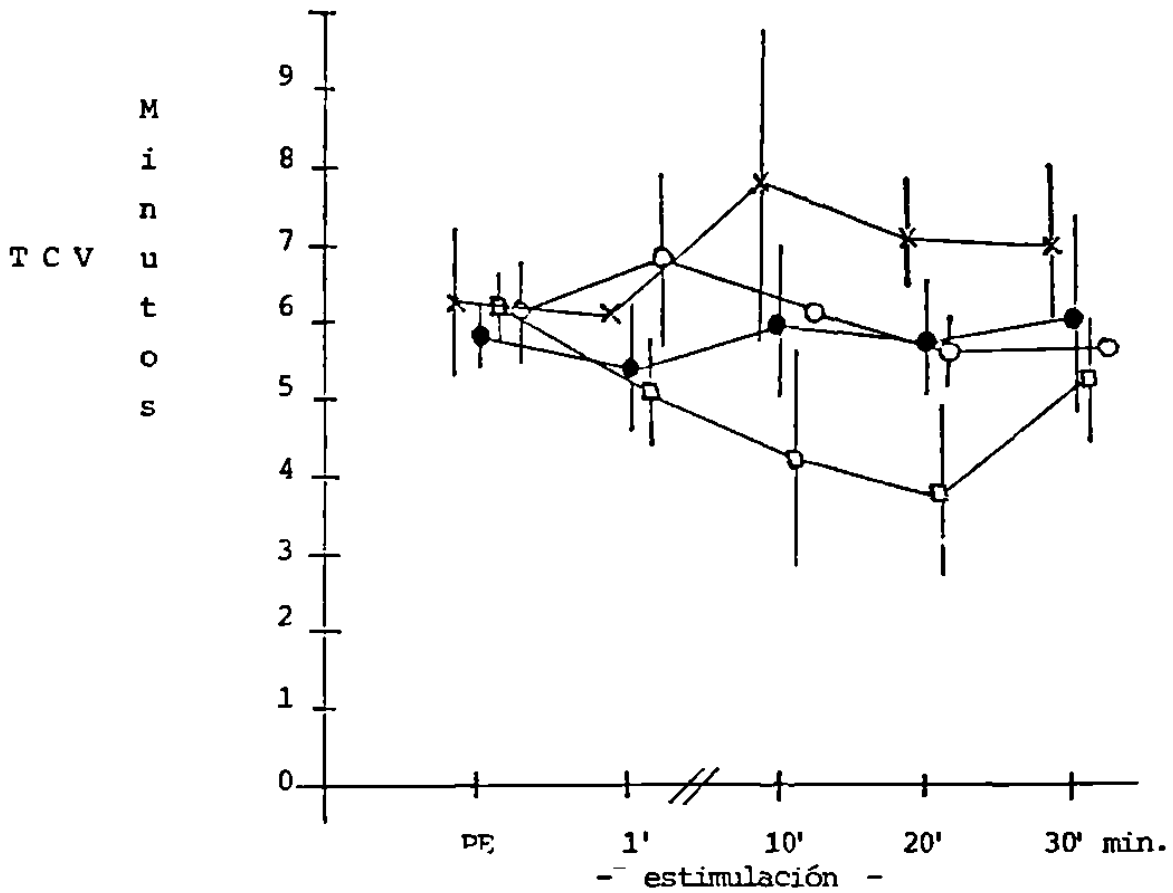


GRAFICA 3: Relación del efecto de la cirugía y anestesia sobre: Tiempo de Trombina (TT) y Tiempo de Protrombina (TP) PA: Postanestesia. Valores control: TT: 19.43-24.83 segundos; TP: 8.48-12.96 segundos.

Cada punto representa la media aritmética y las barras el error estándar ( $n=5$ ;  $\alpha=0.05$ ;  $F_t > F_0$ ; n.s.; excepto: TP, hay diferencia significativa entre la primera y las demás muestras sanguíneas analizadas).

## AREAS ESTIMULADAS:

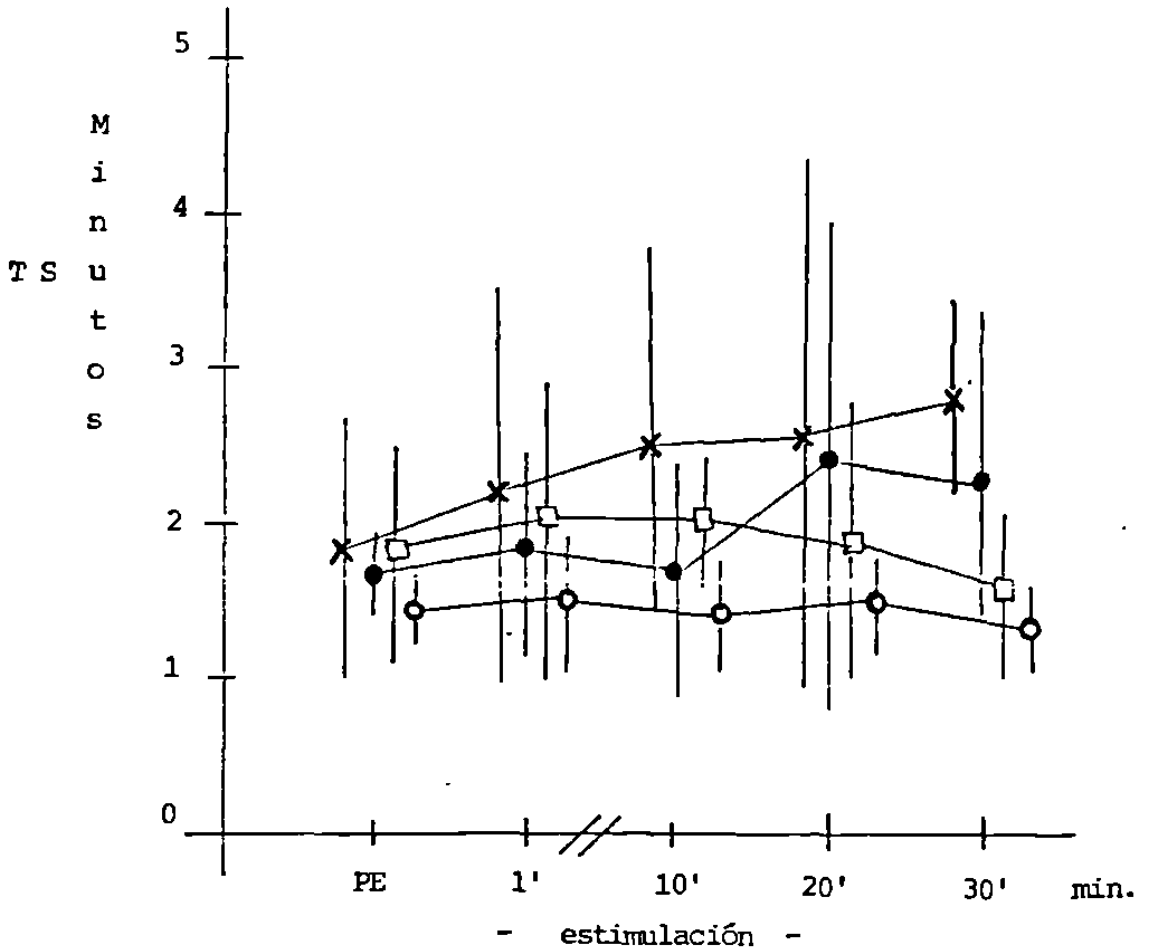
- CIRC. SILV. POSTERIOR
- X INSULA ANTERIOR
- INSULA INFERIOR
- INSULA POSTERIOR



GRAFICA 4: Relación entre la estimulación de la corteza silvana posterior, insula anterior, insula inferior e insula posterior sobre el Tiempo de Coagulación Venosa (TCV). PE: Preestimulación. Cada punto representa la media y las barras el error estandard ( $n=5$ ;  $\alpha=0.05$ ;  $F_t > F_0$ ; n.s.; excepto: en la estimulación de la insula inferior, si hay diferencia significativa, entre la muestra sanguínea extraída PA y la extraída a los 20 minutos de estimulación).

## AREAS ESTIMULADAS:

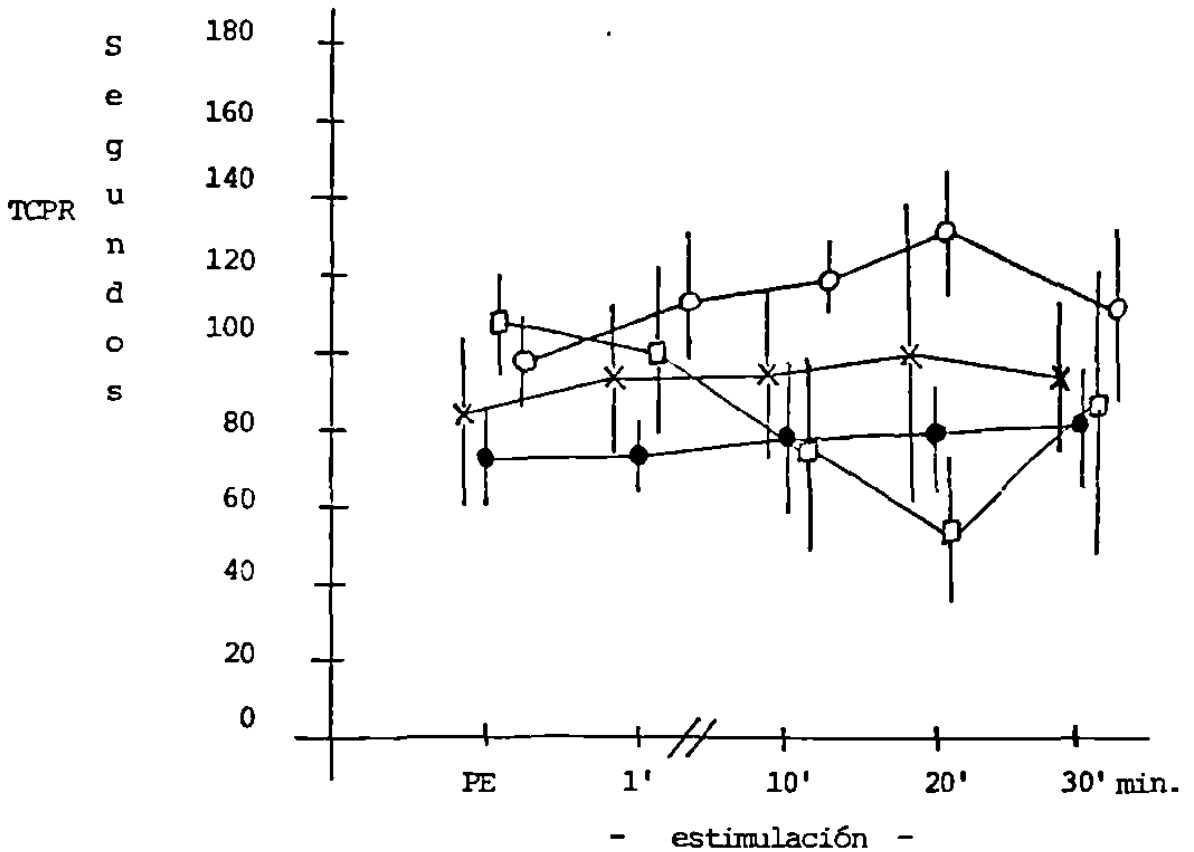
- CIRC. SILV. POSTERIOR
- X INSULA ANTERIOR
- INSULA INFERIOR
- INSULA POSTERIOR



GRAFICA 5: Relación entre la estimulación de la corteza silviana posterior, insula anterior, insula inferior e insula posterior sobre el Tiempo de Sangrado (TS). PE: Preestimulación. Cada punto representa la media aritmética y las barras el error estándar ( $n=5$ ;  $\alpha=0.05$ ;  $F_t > F_o$ ; n.s.).

## AREAS ESTIMULADAS:

- CIRC. SILV. POSTERIOR
- INSULA INFERIOR
- INSULA POSTERIOR
- X INSULA ANTERIOR

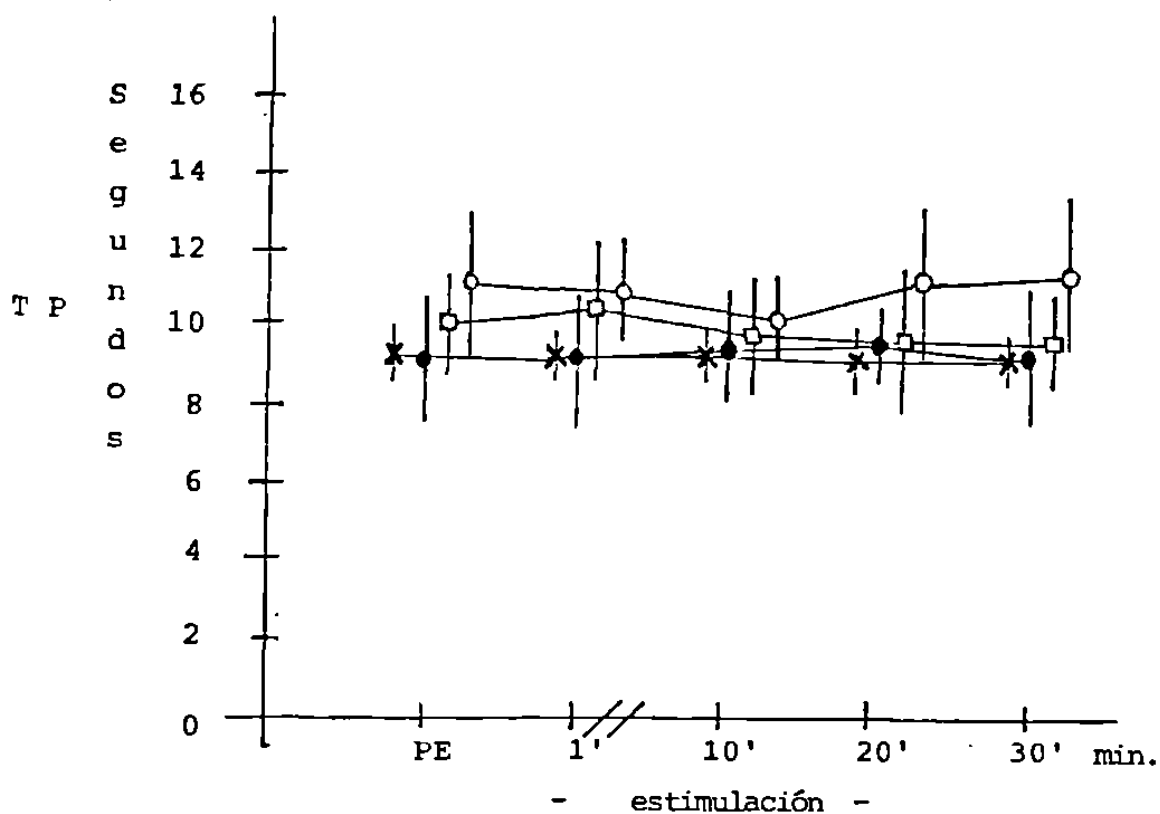


GRAFICA 6: Relación entre la estimulación de la corteza silviana posterior, insula anterior, insula posterior e inferior sobre el TCPR. PE: Preestimulación. Cada punto representa la media aritmética y las barras el error estándar ( $n=5$ ;  $\alpha=0.05$ ;  $F_t < F_o$ ; hay diferencia significativa en la estimulación de la insula posterior, en las demás áreas estimuladas no se encontró diferencia significativa).



## AREAS ESTIMULADAS:

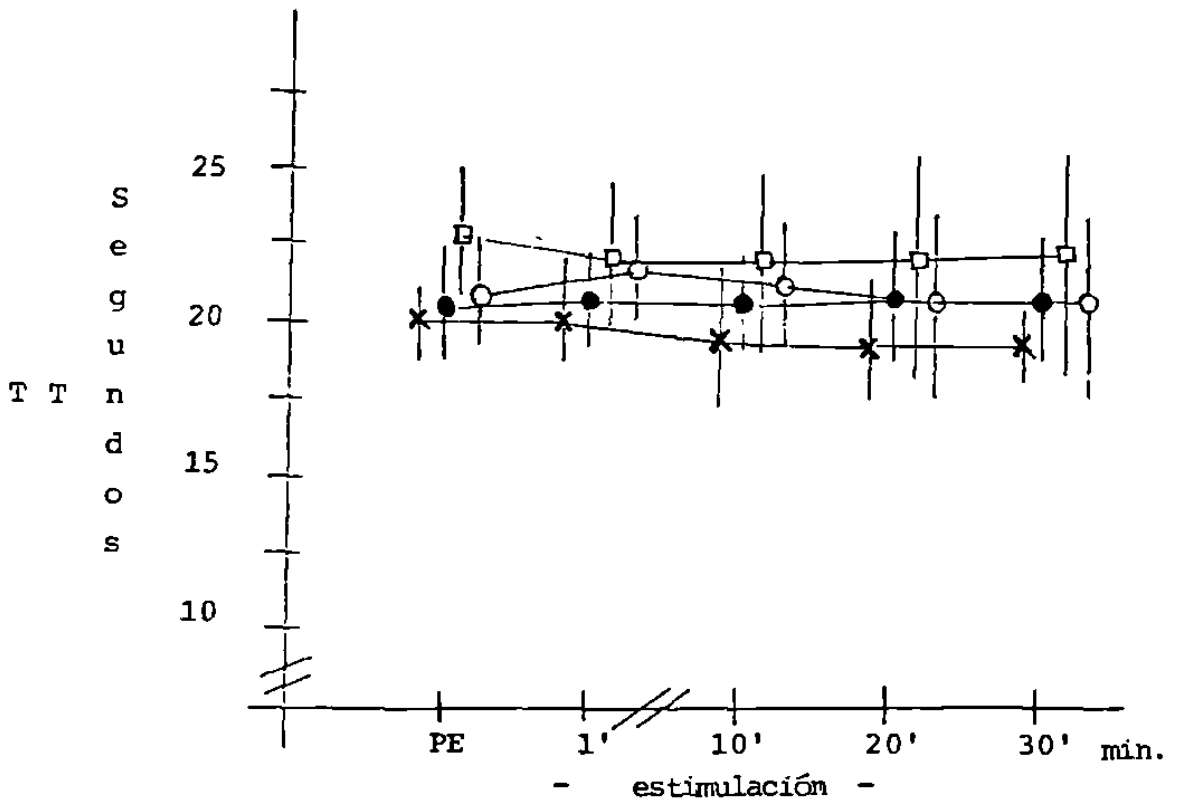
- CIRC. SILV. POSTERIOR
- INSULA INFERIOR
- INSULA POSTERIOR
- x INSULA ANTERIOR



GRAFICA 7: Relación entre la estimulación de la corteza silviana posterior, ínsula anterior, ínsula posterior e ínsula inferior sobre el TP. PE: Preestimulación. Cada punto representa la media aritmética y las barras el error estandard (n=5; Ft > Fo; n.s.;  $\alpha=0.05$ ).

## AREAS ESTIMULADAS:

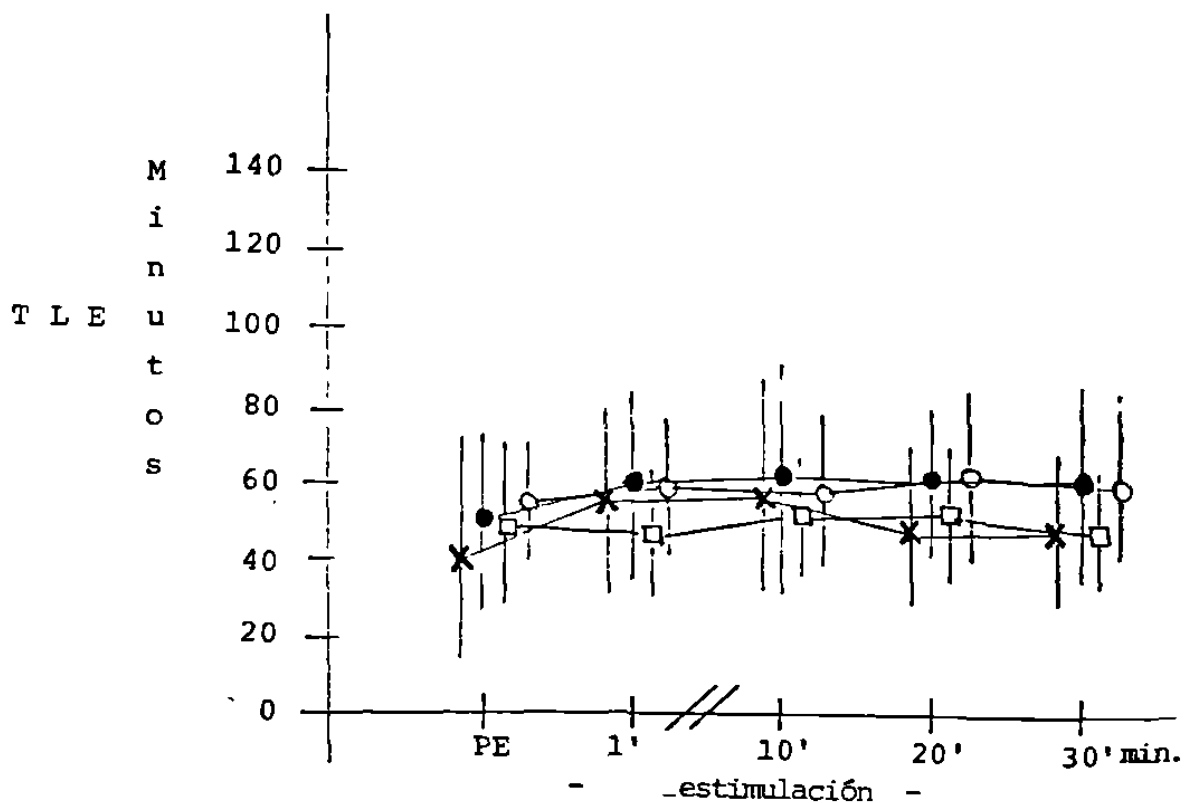
- CIRC. SILV. POSTERIOR
- INSULA INFERIOR
- INSULA POSTERIOR
- x INSULA ANTERIOR



GRAFICA 8: Relación entre la estimulación de la corteza silviana posterior, insula anterior, insula posterior e insula inferior sobre el TT. PE: Preestimulación. Cada punto representa la media aritmética y las barras el error estandar ( $n=5$ ;  $\alpha=0.05$ ;  $F_t > F_o$ ; n.s.)

## AREAS ESTIMULADAS:

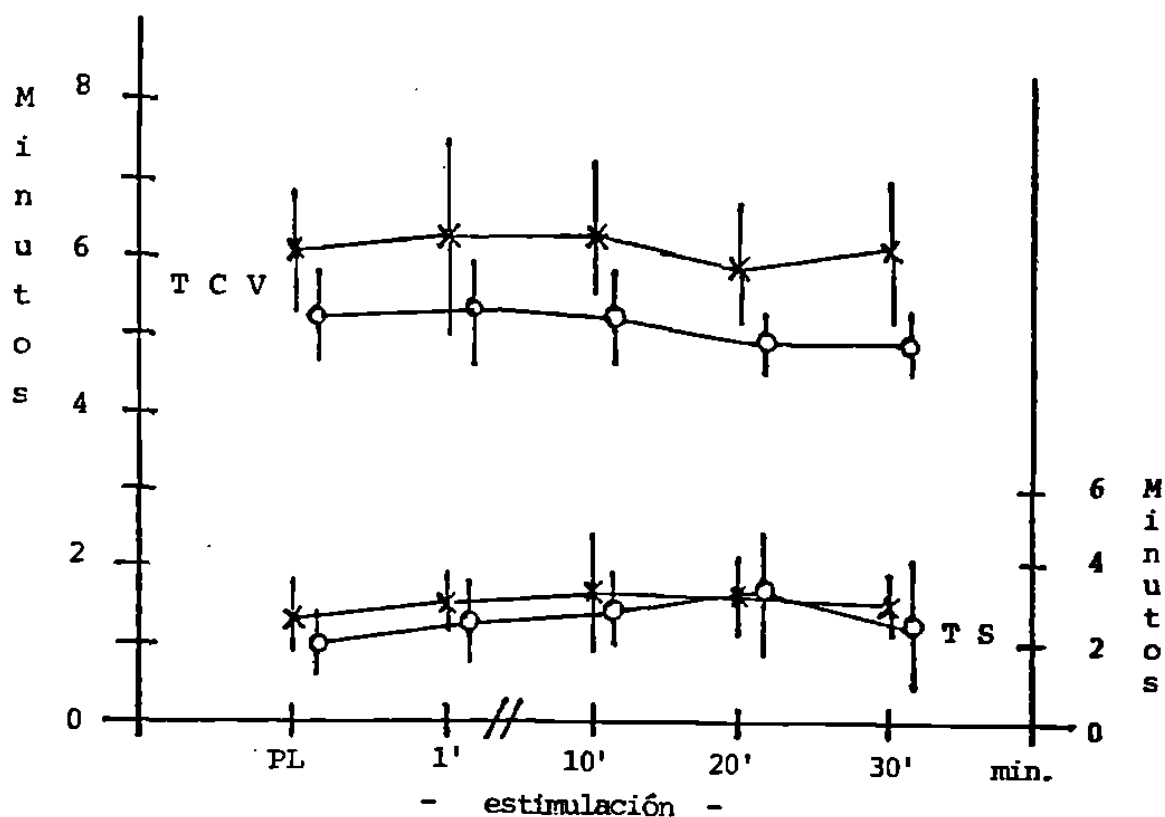
- CIRC. SILV. POSTERIOR
- INSULA INFERIOR
- INSULA POSTERIOR
- x INSULA ANTERIOR



GRAFICA 9: Relación entre la estimulación de la corteza silviana posterior, insula anterior, insula posterior e insula inferior sobre el TLE. PE: Preestimulación. Cada punto representa la media aritmética y las barras el error estándar ( $n=5$ ;  $F_t > F_0$ ; n.s.;  $\alpha=0.05$ ).

## EFECTO DE:

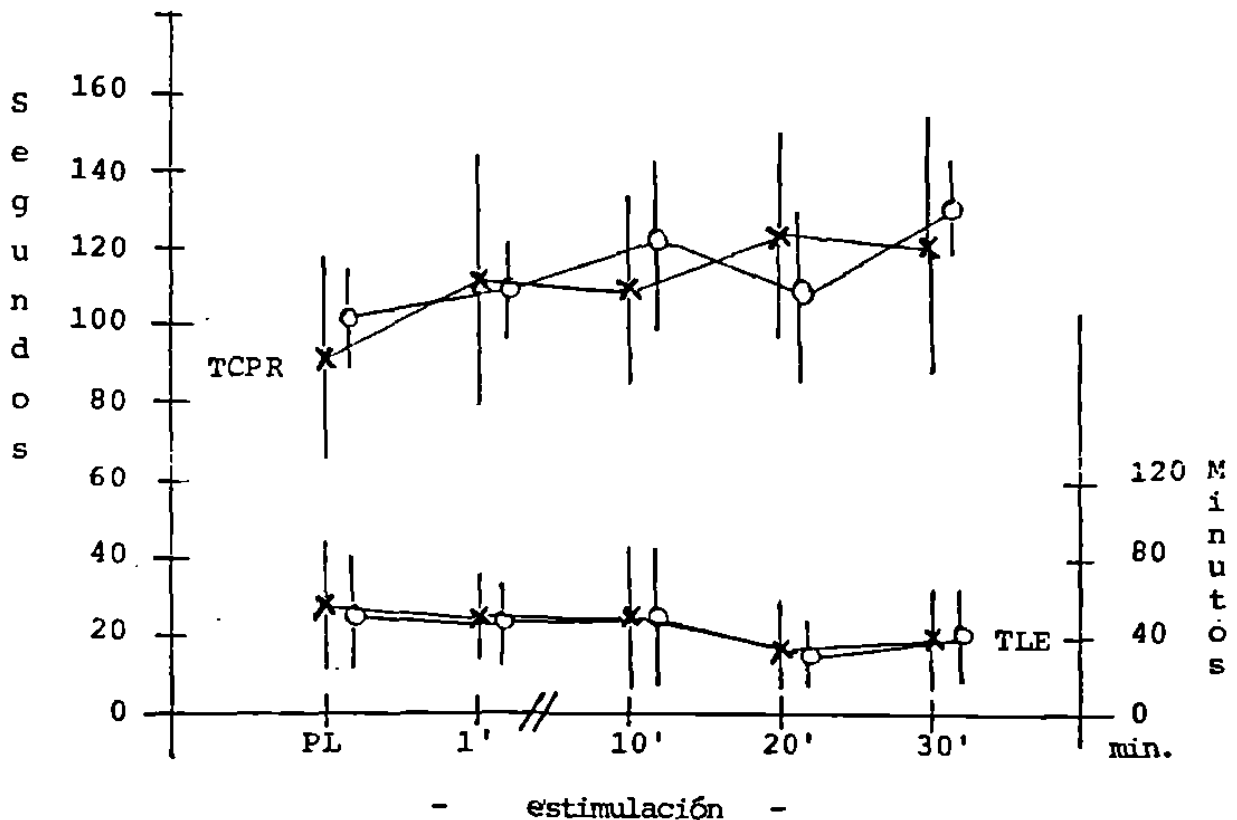
X LESION CORTICAL  
 O LESION CORTICAL +  
 ESTIMULACION INSULA  
 INFERIOR



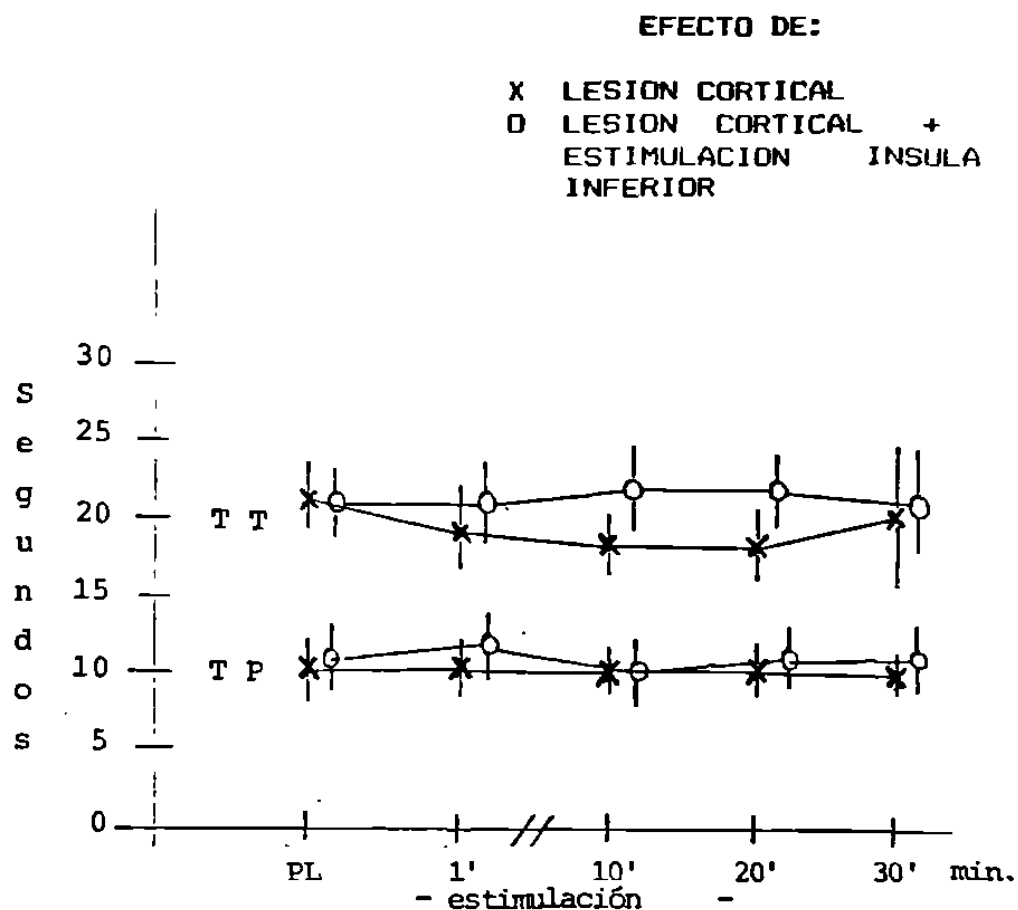
GRAFICA 10: Efecto de lesión de la corteza cerebral y efecto de lesión + estimulación de la insula inferior sobre el TCV y TS. PL: Prelesión. Cada punto representa la media aritmética y las barras el error estandard ( $n=5$ ;  $F_t > F_o$ ; n.s.;  $\alpha = 0.05$ ).

## EFECTO DE:

- X LESION CORTICAL  
 O LESION CORTICAL +  
 ESTIMULACION INSULA  
 INFERIOR



GRAFICA 11: Efecto de lesión de la corteza cerebral y efecto de lesión + estimulación insula inferior sobre el TLE y TCPR. PL: Prelesión. Cada punto representa la media aritmética y las barras el error estandar ( $n=5$ ;  $\alpha=0.05$ ; para TLE:  $F_t > F_o$ ; n.s.; para TCPR:  $F_t < F_o$ , en el efecto de lesión + estimulación de la insula inferior, la diferencia existe entre la muestra extraída PL y a los 30 minutos después de la lesión).



**GRAFICA 12:** Efecto de lesión de la corteza cerebral y efecto de lesión + estimulación de la insula inferior sobre el TT y TP. PL: Prelesión. Cada punto representa la media aritmética y las barras el error estándar ( $n=5$ ;  $F_t > F_o$ ; n.s.;  $\alpha = 0.05$ ).

## CAPITULO IV

### DISCUSION Y CONCLUSIONES:

La alteración observada en el TP por efecto de la cirugía era de esperarse, ya que hay liberación de tromboplastina tisular dando por resultado acortamiento de dicha prueba.

Al estimular la corteza insular inferior y posterior se observan cambios en las pruebas que valoran la vía intrínseca de la "cascada" de la coagulación (TCPR y TCV), por consiguiente los factores de la coagulación involucrados son: XII, XI, calicreínas, IX, los cofactores: V, VIII y CAPM, además de los factores de la vía común, sin embargo se pueden descartar estos últimos por que el TT que valora estos factores se encuentra dentro de límites normales.

La alteración de éstas pruebas pudo haber sido: a través de alguna conexión nerviosa de la ínsula con estructuras subcorticales o por algún factor neurohumoral liberado hacia el torrente sanguíneo. Se piensa que es menos probable que sea a través de un factor neurohumoral porque al lesionarse la corteza cere-

bral seguida de estimulación de la ínsula inferior hay un alargamiento del TCPR, si fuese por alguna sustancia liberada se produciría acortamiento en las pruebas mencionadas (TCPR y TCV), además en el análisis estadístico no se encontraron diferencias significativas por efecto de la lesión cortical, pero sí por efecto de la lesión-estimulación; en el análisis estadístico dentro del mismo grupo la diferencia se encuentra principalmente entre los valores obtenidos de la primera y de la última muestra sanguínea, por lo tanto se piensa que la alteración no es por efecto de la estimulación.

La otra posibilidad, de que el efecto producido sea por alguna vía nerviosa, se considera la más probable, ya que no se produce el efecto deseado: acortamiento del TCV y TCPR al producirse la lesión seguida de estimulación de la ínsula inferior.

Ante la pregunta: *Cuál puede ser la vía nerviosa involucrada?* Hay que recordar que las conexiones nerviosas de la ínsula con estructuras subcorticales pueden ser con: el hipotálamo, porque existen conexiones nerviosas del hipotálamo con corteza cerebral (17) y probablemente existan conexiones con la ínsula ya sea de manera directa o indirecta (por



ejemplo: a través del Sistema Límbico) (28, 29, 31); se piensa que sea la conexión nerviosa con ésta estructura diencefálica, por que en diversas investigaciones realizadas, se sugiere que el hipotálamo tiene un papel importante en el control de la coagulación sanguínea (10,24) y en el mecanismo fibrinolítico (25, 38).

Además no se puede descartar la idea de que exista una conexión directa o indirecta con otras estructuras del Sistema Nervioso, principalmente con los núcleos vagales y toracolumbares simpáticos; con los primeros, porque Correll (11) sugiere la participación de los núcleos vagales en el control de la coagulación sanguínea y con los núcleos simpáticos toracolumbares, por que la estimulación simpática también produce alteraciones en la coagulación (8).

El órgano efector que va a recibir la información de las estructuras antes mencionadas, ya sea por una vía nerviosa o por algún factor humoral liberado, se piensa que es el hígado, por la participación importante de este órgano en los mecanismos de la coagulación (11, 24, 25, 43). Se piensa también que la glándula suprarrenal puede tener participación, por

la influencia de sus hormonas liberadas sobre los mecanismos de la hemostasia (4,23,26).

En base a lo antes mencionado se concluye que:  
"EXISTE INFLUENCIA DE LA CORTEZA INSULAR SOBRE LOS MECANISMOS DE LA HEMOSTASIA, PRINCIPALMENTE SOBRE LA VIA INTRINSECA DE LA CASCADA DE LA COAGULACION Y ESTA INFLUENCIA MUY PROBABLEMENTE ES A TRAVES DE CONEXIONES NERVIOSAS CON AREAS SUBCORTICALES".

Por otro lado, se está conciente de la necesidad de realizar pruebas sangüneas más sensibles y específicas :determinación del factor VIII, V, VII, Tiempo de Tromboplastina Parcial, determinación de productos de degradación del fibrinógeno tanto de manera preoperatoria como transoperatoria (36) para poder determinar el sitio exacto de dicha influencia.

## CAPITULO V

### RESUMEN

En éste trabajo se planteó la hipótesis de que la corteza cerebral, específicamente la corteza insular tiene influencia en los mecanismos de la hemostasia y que ésta influencia es a través de vías nerviosas. En experimentos realizados en perros machos, sin distinción de raza, ni edad y elegidos al azar, agrupados en número de 5, se valoró el efecto de: anestesia, cirugía, estimulación de la corteza insular y de la circunvolución silviana posterior, además de valorar el efecto de la lesión de la corteza cerebral con la finalidad de interrumpir las conexiones nerviosas con la insula y observar el efecto de la lesión cortical seguida de la estimulación de la insula de Reil. Se extrajeron muestras sanguíneas de la vena yugular izquierda, para la determinación de las siguientes pruebas: Tiempo de Sangrado, Tiempo de Coagulación Venosa, Tiempo de Coagulación de Plasma Recalcificado, Tiempo de Protrombina, Tiempo de Trombina y Tiempo de Lisis de Euglobulinas. Se concluyó que: existe influencia de la corteza insular sobre los mecanismos de la coagulación sanguínea, principalmente sobre la

vía intrínseca de la cascada de la coagulación, y que ésta influencia probablemente es a través de alguna vía nerviosa en conexión con estructuras subcorticales. También se tiene conciencia que hay que realizar pruebas sanguíneas más sensibles y específicas, para poder determinar los factores de la coagulación involucrados.

## CAPITULO VI

### REFERENCIAS:

- 1.- Astrup, T., Thorsen, S.: The Physiology of Fibrinolysis. *Med. Clin. North. Am.* 56:153-162, 1972.
- 2.- Benzer, H., Blumel, H., Brenner, H., Piza, F.: Acerca de los transtornos de la coagulación consecutivos a lesiones e intervenciones sobre el cerebro. *Wien. Klin. Wschr.* 75: 725-726, 1963.
- 3.- Beverley, D.W., Chance, W.G., Inwood, M.J., Schaus, M., O'Keefe, B.: Intraventricular haemorrhage and haemostasis defects. *Arch. Dis. Child.* 59: 444-448, 1984.
- 4.- Britton, B.J., Wood, W.G., Peele, M., Hawkey, Ch., Irving, M.H.: Role of sympathoadrenal stimulation in the release of plasminogen activator. *Progress in Chemical Fibrinolysis and Thrombolysis.* 1:111-119, 1975.
- 5.- Bowie, J.W., Thompson, J.H., Didisheim, P., Owen, Ch.A.: *Mayo Clinic Laboratory Manual of Hemostasis.* Ed.W.B. Saunders Company, Philadelphia, USA. 1971.
- 6.- Buczko, W., Lukaszyk, A., Wisniewski, K.: Reacti-

- vity of the central nervous system in the disseminated intravascular coagulation in rats. *Pol. J. Pharmacol. Pharm.* 34: 101-106, 1982.
- 7.- Cannon, W.B., Gray, H.: Factors affecting the coagulation time of blood. II. The hastening or retarding of coagulation by adrenalin injections. *Am. J. Physiol.* 34:232-242, 1914.
- 8.- Cannon, W.B., Mendenhall, W.L.: Factors affecting the coagulation time of blood. III. The hastening of coagulation by stimulating the splanchnic nerves. *Am. J. Physiol.* 34: 243-250, 1914.
- 9.- Cannon, W.B., Mendenhall, W.L.: Factors affecting the coagulation time of blood. IV. The hastening of coagulation in pain and emotional excitement. *Am. J. Physiol.* 34:251-261, 1914.
- 10.- Chepurov, D.K., Markosyan, A.A.: Role of the cholinergic structures of the hypothalamus in the regulation of the blood clotting system. *Byull Ejsa Biol Med.* 63:20-35, 1967.
- 11.- Correll, J.W.: Central neural structures and Pathways important for control of blood clotting : Evidence for release of antiheparin factor. 5th Europ Conf Microcirculation Gothenburg, *Biol. Anat.*10:433-441, 1968.

- 12.- Davidsohn, I., Henry, J.B.: Diagnostico Clínico por el laboratorio . 6a Ed. Edit. Salvat, España, 1979.
- 13.- Esnouf, M.P.: Biochemistry of Coagulation. Recent advances in Haematology. A.V. Hoffbrand. Churchill Livingston, 1982.
- 14.- Gerzo, R.F., Nuñez, C.: Agregación plaquetaria anormal. Investigacion Médica Internacional. 11: 161-165, 1984.
- 15.- Goodnight, S.H., Kenoyer, G., Rapaport, S.I., Patch, M.J., Lee, J.A., Kurse, T.: Defibrination after brain tissue destruction. N. Engl. J. Med . 290: 1043-1047, 1974.
- 16.- Grabfield, G.P.: Factors affecting the coagulation time of blood. IX. The effect of adrenin on the factors of coagulation. Am. J. Physiol. 42: 46-55, 1916.
- 17.- Green, D.J., Morin, F.: Hypothalamic electrical activity and hypothalamo-cortical relationships. Am. J. Physiol. 172: 175-186, 1953.
- 18.- Greengard, J.S., Griffin, J.H.: Receptors for high molecular weigh kininogen on stimulated washed human platelets. Biochemistry. 23: 6863-6869, 1984.

- 19.- Gunn, C.G., Hampton, J.W.: CNS influence on plasma levels of factor VIII activity. *Am. J. Physiol.* 212: 124-130, 1967.
- 20.- Ingram, G.L.: Increase in antihemophilic globulin activity following infusion of adrenaline. *J. Physiol.* 156: 217-224, 1961.
- 21.- Kaufman, H.H., Moake, J.L., Olson, J.D., Miner, M.E., duCret, R.P., Pruessner, J.L., Gildenberg, P.L.: Delayed and recurrent intracranial hematomas related to disseminated intravascular clotting and fibrinolysis in head injury. *Neurosurgery.* 7: 445-449, 1980.
- 22.- Kraus, H.: Probleme der Blutgerinnungsstörungen in der Neurochirurgie. *Acta Neurochirurgica.* 20: 123-130, 1969.
- 23.- Landaburu, R.H., Castellanos, D.E., Giavedoni, E., Lo Presti, C.A.: Neurohumoral control of blood coagulation. I. Effects of adrenergic drugs or ACTH administration and stress. *Acta. Physiol. Latinoam.* 21: 64-73, 1971.
- 24.- Landaburu, H., Lo Presti, C.A., Hillar, M.A., Castellanos, D.E.: Neurohumoral control of blood coagulation. II. Participation of hypothalamus and hypophysis. *Acta. Physiol. Latinoam.* 21: 74-80, 1971.



- 25.- Landaburu, R.H., Quintana, C.M., Arevalo, C., Castellanos, D.E.: Neurohumoral control of blood coagulation. III. Prothrombin synthesis. *Acta. Physiol. Latinoam.* 21: 339-345, 1971.
- 26.- Landaburu, R.H., Castellanos, D.E.: Neurohumoral control of blood coagulation: Participation of the adrenal glands. *New. Istanbul. Contrib. Clin. Sci.* 10: 113-120, 1972.
- 27.- Mannucci, P.M.: Mechanism of plasminogen activator and factor VIII rise induced by vasoactive drugs. *Progress in Chemical Fibrinolysis and Thrombolysis.* 1: 109-110, 1975.
- 28.- Mesulam, M.M., Mufson, E.J.: Insula of the Old World Monkey. I. Architectonics in the insulo-orbito temporal component of the paralimbic brain. *The Journal of Comparative Neurology.* 212:1-22, 1982.
- 29.- Mesulam, M.M., Mufson, E.J.: Insula of the Old World Monkey. III. Efferent Cortical Output and Comments on function. *The Journal of Comparative Neurology.* 212: 38-52, 1982.
- 30.- Montfort, H.H.: Agregación plaquetaria y drogas antiagregantes plaquetarias. *Investigación Médica Internacional.* 11: 166-171, 1984.

- 31.- Mufson, E.J., Mesulam, M.M.: Insula of the Old World Monkey. II. Afferent Cortical Input and Comments on the Claustrum. *The Journal of Comparative Neurology*. 212: 23-37, 1982.
- 32.- Ojemann, R.G., Heros, R.C.: Spontaneous Brain Hemorrhage. *Stroke*, 14:468-475, 1983.
- 33.- O'Rourke, L., Feldman, B.F., Ito, R.K.: Coagulation, fibrinolysis, and kinin generation in adult cats. *Am. J. Vet. Res.* 43: 1478-1480, 1982.
- 34.- Pi Suffer, A.: *Sistema Neurovegetativo*. Edit. Hispano Americana, México, 1947.
- 35.- Prowse, C.V., Dow, R.C., Fink, G.: A Hypothalamic-Pituitary System that stimulates the release of plasminogen activator in the rat. *Brain Research*. 299: 133-138, 1984.
- 36.- Rapaport, S.I.: Preoperative Hemostatic Evaluation: Which Test, if Any ?. *Blood*. 61: 229-231, 1983.
- 37.- Schafer, A.I.: The Hypercoagulable States. *Annals of Internal Medicine*. 102: 814-828, 1985.
- 38.- Soreq, H., Miskin, R.: Plasminogen Activator in the rodent brain. *Brain Research*. 216: 361-374, 1981.

- 39.- Tavitas, J.R., Pisanty, J., Sepulveda, R., Treviño, H.: Alteraciones del mecanismo de la coagulación por estimulación del lóbulo de la insula. *Rev Mex Anest.* 18: 381-383, 1969.
- 40.- Tremoulet, M.M., Espagno, M.T., Boneu, B., Charlet, J.P., Espagno, J.: L'hypercoagulabilité sanguine en neuro-chirurgie. *Neurochirurgie*, 20: 171-173, 1974.
- 41.- Von Kaula, K.N., Von Kaula, E.: Remarks on the euglobulin lysis time. *Progress in Chemical Fibrinolysis and Thrombolysis*. Ed by J.F. Davidson, M.M., Samana., P.C. Desnoyers; Raven Press, New York, 2: 131-149, 1971.
- 42.- Vosburgh, Ch.H., Richards, A.N.: An experimental study of the sugar content and extravascular coagulation of the blood after administration of adrenalin. *Am. J. Physiol.* 9: 35-51, 1903.
- 43.- Weinberg, S., Phillips, L., Twersky, R., Cottrell, J.E., Braunstein, K.M.: Hypercoagulability in a patient with a brain tumor. *Anesthesiology*. 61:200-202, 1984.
- 44.- West, J.B.: Bases fisiológicas de la práctica médica. 11 ed. Edit. Panamericana, Argentina,

1986.

- 45.- Zondag, A.C., Kolb, A.M., Bax, N.M.: Normal values of coagulation in canine blood. Haemostasis. 15: 318-323, 1985.
- 46.- Zur, M., Radcliffe, R.D., Oberdick, J., Nemer-son, Y.: The dual role of factor VII in blood coagulation. J. Biol. Chem. 257: 5623-5631, 1982.

## APENDICE I

Procedimientos de las pruebas  
hemostaticas.

TIEMPO DE COAGULACION DE SANGRE TOTAL (METODO DE LEE Y WHITE):

PROCEDIMIENTO:

- 1.- Se recolecta la sangre con la técnica de las dos jeringas .
- 2.- Se coloca aproximadamente un mililitro de sangre en dos tubos de ensaye.
- 3.- Se pone en marcha el cronómetro en cuanto la sangre se pone en contacto con la segunda jeringa ; se colocan los dos tubos de ensaye en el baño de temperatura a 37 grados centígrados.
- 4.- Se inspecciona cada uno de los tubos inclinándolos suavemente cada 15-30 segundos, de modo que se le pueda invertir sin que fluya sangre por los lados del tubo, hasta que se haya formado un coagulo estable, se para el cronómetro y registrar el tiempo.

TIEMPO DE SANGRADO (METODO DE DUKE):

PROCEDIMIENTO:

- 1.- Se limpia el lóbulo de la oreja con alcohol y se deja secar (región interna de la oreja del perro).
- 2.- Se coloca un portaobjetos detras del lóbulo y se mantiene firmemente en su sitio.

3.- Con una lanceta se perfora el lóbulo mediante un golpe firme que penetre hasta el portaobjetos, tan pronto como se haga la herida se retira el portaobjetos y se pone el cronómetro en marcha (para la perforación en la oreja del perro, en lugar de la lanceta se utilizó una aguja No. 23).

4.- Se permitira que la sangre fluya de la herida sin presión, dejándola gotear sobre el papel de filtro que se moverá de modo que cada gota caiga en una área limpia. Cuando la sangre no tiffa el papel se para el cronómetro y se registra el tiempo empleado.

TIEMPO DE COAGULACION DE PLASMA RECALCIFICADO (PLASMA POBRE EN PLAQUETAS, METODO DE OWEN):

PROCEDIMIENTO:

1.- Recolectar la sangre con la técnica de la doble jeringa, y en un tubo de ensaye colocar 9 partes de sangre y una de anticoagulante (citrato de sodio 3.8%)

2.- Centrifugar a 3,000 rpm por un tiempo de 20 minutos.

3.- Separar el plasma obtenido y colocarlo en otro tubo de ensaye.

4.- En un tubo de ensaye colocar: 0.2 ml de plasma e incubarlo por un tiempo de 3 minutos, agregar 0.2 ml

de cloruro de calcio 0.02 M previamente incubado.

5.- En el momento que el cloruro de calcio toque el plasma se pone en marcha el cronómetro.

6.- Colocar la mezcla a baño de temperatura hasta el segundo 30, posteriormente se revisa el tubo cada 10 segundos hasta la formación de el primer hilo de fibrina. En este momento se para el cronómetro y éste es el tiempo de coagulación de plasma recalcificado.

7.- Hacer el ensayo por duplicado. Promediar los resultados.

#### TIEMPO DE PROTROMBINA (METODO DE QUICK):

##### PROCEDIMIENTO:

1.- Obtener plasma de la misma manera que en el tiempo de coagulación de plasma recalcificado.

2.- Pipetear 0.1 ml de plasma en un tubo de ensaye .

3.- Adicionar 0.1 ml de tromboplastina activada (de los Laboratorios Lafon S.A.) mezclar con el plasma y colocarlo en el baño de temperatura.

4.- Previamente incubado el cloruro de calcio 0.02 M, agregar 0.1 ml a la mezcla antes realizada.

5.- En el momento que toque el cloruro de calcio la mezcla poner en marcha el cronómetro.

6.- Mezclar bien e inclinar el tubo de ensaye hasta



la formación de los primeros hilos de fibrina. Se para el cronómetro, el tiempo transcurrido es el tiempo de protrombina. Realizar por duplicado y promediar los resultados.

#### TIEMPO DE TROMBINA (MODIFICACION AL METODO DE LEWIS Y DIDISHEIM):

##### PROCEDIMIENTO:

- 1.- Obtener el plasma como en las técnicas antes mencionadas.
- 2.- Colocar el plasma en un tubo de ensaye e incubar por 5 minutos.
- 3.- Por separado incubar el reactivo de trombina (Thrombostat, Lab. Parke-Davis, USA). en un tubo de ensaye.
- 4.- Pipetear 0.2 ml del plasma en un tubo de ensaye y agregar 0.02 ml de trombina de una solución que contenga 40 U del reactivo en un ml.
- 5.- En el momento que la trombina toque el plasma se pone en marcha el cronómetro.
- 6.- Incubar. Se para el cronómetro en el momento que aparecen los primeros hilos de fibrina. Hacer por duplicado y promediar los resultados.

Se debe estandarizar la primera muestra del plasma

para que se formen los primeros hilos de fibrina en un tiempo de aproximadamente 20-25 segundos agregando más o menos del reactivo de trombina. Para poder visualizar mejor la formación del coagulo se coloca en el tubo donde está la trombina 0.5 ml de agua destilada y posteriormente agregar el plasma.

TIEMPO DE LISIS DE EUGLOBULINAS (METODO DE VON KAULLA):

PROCEDIMIENTO:

- 1.- Pipetear 1 ml de citrato de sodio 3.8 % a un tubo de ensaye. Agregar 4 ml de sangre extraída de la misma manera que en los tiempos anteriores.
- 2.- Obtener el plasma igual que en los procedimientos anteriores.
- 3.- Transferir 1 ml de plasma a un tubo de 16x150 mm en el que previamente se ha colocado 9 ml de agua destilada.
- 4.- Agregar 0.36 ml de ácido acético al 1 %.
- 5.- Refrigerar a 4 grados centígrados por 10 minutos.
- 6.- Centrifugar a 2,500 rpm durante 3 minutos.
- 7.- Descartar el sobrenadante y mantener el tubo invertido por un minuto. Secar el interior del tubo.
- 8.- Redissolver el precipitado de euglobulinas agregando un ml de solución buffer pH 7.4 .

9.- Colocar 0.3 ml de euglobulinas disueltas en tubos de ensaye de 10x75 mm por duplicado.

10.- Coagular con trombina 0.05 ml (2 U) de una solución de 40 U/ml.

11.- Incubar a 37 grados centígrados. Los tubos se inspeccionan cada 5 minutos durante la primera media hora y cada 10 minutos posteriormente.

#### REACTIVOS:

##### I.- Solución Stock (reactivo):

- 9.714 gr de acetato de sodio.
- 14.714 gr de barbital sódico y agregar en agua previamente hervida. Llevar a 500 ml.

##### II.- Solución Stock (Buffer de Barbital-Acetato):

- 5 ml de la solución reactivo.
- 5 ml de HCl 1/10 N.
- 2 ml de cloruro de sodio 8.5 %.
- 15 ml de agua destilada.

Mezclar y ajustar a pH de 7.42. Usar solución stock reactivo para desviar al lado alcalino. Usar HCl para desviar al lado ácido.

III.- Solución de trabajo:

- Una parte del buffer barbital-acetato.
- 4 partes de cloruro de sodio 0.85 %.

Mezclar y ajustar a pH 7.42 con NaOH 1/10 N.

Refrigerar.

## CUADRO 1

## GRUPO No. 1 EFECTO DE ANESTESIA

PERRO	MUESTRA				
	1a	2a	3a	4a	5a
	T C V (Minutos)				
1	6.58	6.45	7.00	8.08	7.33
2	5.83	7.33	6.33	6.11	7.46
3	6.25	7.00	6.70	7.33	7.18
4	6.31	7.83	8.48	8.75	7.28
5	7.33	7.75	7.25	8.50	6.75
	T C P R (Segundos)				
1	55	74	54	63	61
2	55	53	62	53	60
3	68	87	65	63	64
4	62	74	81	89	80
5	90	65	85	73	90
	T S (Minutos)				
1	3.33	2.16	1.96	2.31	3.26
2	2.46	4.53	3.23	3.33	4.01
3	2.30	3.86	3.31	3.23	3.75
4	3.50	4.33	3.66	4.50	4.26
5	2.83	1.95	2.11	1.91	1.76
	T P (Segundos)				
1	9.63	9.09	9.63	8.77	7.62
2	7.90	7.24	8.98	7.77	7.31
3	8.05	6.76	8.89	7.75	8.97
4	8.85	9.96	9.21	7.17	7.30
5	7.79	9.87	9.94	9.79	9.55
	T T (Segundos)				
1	20.15	19.63	20.79	18.66	18.17
2	15.33	18.98	22.23	21.06	18.77
3	20.07	19.98	19.83	20.05	20.67
4	20.18	19.65	21.40	20.78	19.70
5	20.15	21.50	22.74	21.05	20.86
	T L E (Minutos)				
1	55	42	50	60	56
2	65	57	55	25	60
3	73	75	68	65	60
4	90	93	100	95	90
5	62	74	69	72	70

## CUADRO 2

## GRUPO 2: EFECTO DE CIRUGIA

PERRO \	MUESTRA				
	1a	2a	3a	4a	5a
	T C V (Minutos)				
1	6.75	6.00	6.75	6.98	7.66
2	7.85	8.58	6.46	8.15	6.90
3	5.48	5.13	6.60	6.25	4.75
4	7.33	7.75	8.25	8.50	6.75
5	5.71	7.00	6.46	6.75	7.31
	T C P R (Segundos)				
1	77	87	99	86	121
2	70	87	93	75	74
3	51	55	52	67	67
4	90	65	85	73	90
5	120	127	99	122	106
	T S (Minutos)				
1	2.43	1.35	1.13	1.46	1.59
2	3.06	2.20	1.35	1.36	1.38
3	1.46	1.66	1.50	1.73	1.91
4	2.83	1.95	2.11	1.91	1.76
5	2.03	1.85	1.05	2.21	2.00
	T P (Segundos)				
1	9.49	9.61	8.36	6.81	6.48
2	9.23	8.66	7.17	6.73	6.68
3	9.13	8.39	6.74	6.52	5.24
4	8.79	9.87	9.44	8.79	9.55
5	9.14	9.43	9.55	8.41	5.12
	T T (Segundos)				
1	24.86	21.23	23.01	24.10	22.65
2	24.34	24.71	23.38	21.47	22.29
3	20.13	20.27	23.62	21.21	19.72
4	20.65	21.50	22.74	21.05	20.66
5	23.80	25.39	21.24	25.48	23.38
	T L E (Minutos)				
1	30	28	25	26	59
2	48	42	41	39	51
3	49	52	40	40	48
4	62	79	69	72	70
5	30	37	22	20	36

## CUADRO 3

GRUPO 3: ESTIMULACION CIRCONVOLUCION  
SILVIANA POSTERIOR

PERRO \	MUESTRA				
	1a	2a	3a	4a	5a
	T C V (Minutos)				
1	6.11	5.50	6.33	6.23	7.73
2	6.35	5.15	5.65	6.31	6.46
3	5.50	6.93	7.83	6.43	7.15
4	5.53	5.26	5.25	4.65	4.38
5	5.66	4.50	5.01	5.55	4.90
	T S (Segundos)				
1	1.93	1.71	1.63	5.70	3.50
2	1.71	2.76	2.88	2.16	3.33
3	1.50	1.83	0.88	1.31	2.43
4	1.45	1.21	1.58	1.33	1.21
5	1.75	1.00	1.20	1.51	1.43
	T C P R (Segundos)				
1	95	80	69	71	79
2	60	61	61	61	61
3	70	68	68	100	102
4	60	78	119	79	77
5	80	79	77	79	88
	T P (Segundos)				
1	6.19	5.79	7.64	7.52	6.34
2	10.11	10.02	10.52	10.31	9.33
3	10.00	10.00	10.35	10.30	9.70
4	10.50	10.62	10.02	10.10	10.63
5	10.00	10.05	9.00	10.00	10.00
	T T (Segundos)				
1	23.18	22.79	24.22	24.57	24.92
2	20.00	20.01	20.09	20.00	20.00
3	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00
4	20.00	20.00	20.00	22.00	21.00
5	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00
	T L E (Minutos)				
1	23	23	24	29	25
2	45	55	58	58	58
3	90	100	110	95	85
4	50	75	70	83	90
5	40	48	43	50	45

## CUADRO 4

## GRUPO 4: ESTIMULACION INSULA ANTERIOR

PERRO	\ MUESTRA				
	1a	2a	3a	4a	5a
	T C V (Minutos)				
1	4.50	6.75	11.25	9.58	7.03
2	7.33	6.60	8.93	6.01	6.06
3	7.25	6.81	7.68	8.71	8.81
4	6.25	5.50	5.53	5.96	6.75
5	6.46	5.31	6.28	5.70	6.78
	T S (Minutos)				
1	2.41	4.56	4.60	5.90	4.05
2	1.48	1.70	1.53	1.86	1.91
3	3.25	3.08	3.50	3.25	4.50
4	0.91	1.25	1.30	1.08	1.75
5	1.28	0.85	2.06	1.10	1.81
	T P (Segundos)				
1	9.23	8.24	7.73	7.26	7.82
2	9.50	10.00	9.41	9.55	9.40
3	9.00	9.00	9.50	9.50	9.00
4	10.50	10.00	10.00	9.00	10.00
5	10.00	10.00	10.00	10.00	9.50
	T T (Segundos)				
1	20.19	19.53	15.57	15.90	17.22
2	20.31	20.85	20.60	20.31	19.99
3	20.00	21.00	20.00	21.00	20.00
4	20.00	21.00	21.00	21.00	20.00
5	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00
	T C P R (Segundos)				
1	121	107	101	89	127
2	57	126	130	178	104
3	86	87	86	87	88
4	70	70	70	70	69
5	78	78	77	78	78
	T L E (Minutos)				
1	35	90	90	80	80
2	21	38	34	35	45
3	40	40	54	54	45
4	14	28	20	23	25
5	80	75	80	43	44



## CUADRO 5

## GRUPO 5: ESTIMULACION INSULA INFERIOR

PERRO \	MUESTRA				
	1	2	3	4	5
	T C V (Minutos)				
1	5.65	4.41	3.95	2.90	4.31
2	6.13	4.63	2.51	2.50	4.96
3	6.75	5.08	4.55	4.50	5.46
4	6.30	6.27	6.45	5.31	6.47
5	5.30	5.30	5.00	4.53	4.45
	T S (Minutos)				
1	1.01	1.28	1.38	1.20	1.08
2	1.30	1.31	2.01	1.25	1.35
3	2.66	3.58	2.45	3.21	2.11
4	2.30	2.00	2.45	2.21	2.17
5	2.10	2.18	3.50	4.10	3.51
	T C P R (Segundos)				
1	101	74	61	53	69
2	129	99	81	43	64
3	94	100	45	34	56
4	109	134	118	83	147
5	108	128	110	124	180
	T T (Segundos)				
1	25.00	28.00	28.00	29.00	28.00
2	25.00	22.00	19.00	22.00	18.00
3	22.78	20.59	20.41	18.41	20.31
4	21.13	20.19	22.23	21.10	22.35
5	20.18	19.97	21.40	22.50	19.80
	T P (Segundos)				
1	9.00	8.00	8.00	8.00	8.25
2	9.30	10.53	9.84	9.72	9.51
3	10.55	10.60	9.61	8.58	9.13
4	12.41	12.93	12.24	13.02	11.50
5	9.50	9.40	9.06	9.25	9.57
	T L E (Minutos)				
1	25	30	30	30	30
2	35	40	45	45	50
3	80	70	74	74	65
4	55	43	55	55	43
5	100	39	43	43	43

## CUADRO 6

## GRUPO 6: ESTIMULACION INSULA POSTERIOR

PERRO \	MUESTRA				
	1	2	3	4	5
	T C V (Minutos)				
1	5.50	7.25	5.25	5.75	4.96
2	6.16	7.75	6.83	6.00	5.01
3	5.88	5.08	5.35	5.51	6.50
4	5.76	6.25	6.51	5.68	5.63
5	7.35	8.21	6.80	5.21	6.01
	T S (Minutos)				
1	1.35	1.45	1.18	1.45	1.00
2	1.35	2.01	1.63	1.76	1.65
3	1.45	1.96	2.08	1.91	1.65
4	1.63	1.33	1.16	1.25	1.13
5	1.68	1.15	1.28	1.26	1.50
	T C P R (Segundos)				
1	78	127	113	115	94
2	115	132	135	164	130
3	109	105	120	135	150
4	102	127	125	128	100
5	93	88	110	120	85
	T P (Segundos)				
1	11.85	12.25	12.20	13.45	12.00
2	10.53	10.94	10.34	10.50	11.00
3	12.11	11.81	12.41	13.03	14.54
4	12.33	11.48	10.30	11.33	11.81
5	10.00	9.00	9.00	9.00	8.35
	T T (Segundos)				
1	20.25	23.59	19.84	15.53	15.31
2	21.31	23.61	20.11	19.48	18.37
3	21.10	22.35	21.01	23.27	24.03
4	25.03	24.11	25.39	23.36	22.48
5	21.00	20.00	21.00	22.00	21.00
	T L E (Minutos)				
1	55	55	57	57	48
2	78	97	97	100	89
3	50	52	50	60	70
4	35	39	35	35	35
5	53	48	50	55	55

## CUADRO 7

## GRUPO 7: EFECTO DE LESION CORTICAL.

PERRO \	MUESTRA				
	1	2	3	4	5
	T C V (Minutos)				
1	7.25	7.30	7.00	5.28	5.35
2	5.46	5.30	6.35	6.00	6.11
3	6.15	7.25	6.26	6.15	7.45
4	6.45	7.54	7.04	7.23	6.49
5	5.06	4.33	5.09	5.11	5.17
	T S (Minutos)				
1	1.75	2.56	2.58	2.00	1.75
2	1.58	2.11	2.19	2.10	2.30
3	3.01	3.55	2.30	4.30	3.04
4	3.35	3.44	6.08	3.27	4.00
5	3.25	3.39	3.45	4.10	3.58
	T C P R (Segundos)				
1	120	105	113	97	131
2	61	66	79	76	59
3	113	163	149	147	153
4	60	124	115	173	145
5	102	106	94	130	124
	T P (Segundos)				
1	13.43	12.50	11.25	11.88	12.94
2	8.15	6.25	8.50	8.50	8.55
3	8.51	8.00	9.55	9.65	9.78
4	9.85	11.41	11.58	12.32	10.30
5	12.22	12.15	10.63	11.75	11.41
	T T (Segundos)				
1	24.11	22.84	22.57	24.00	29.21
2	20.00	17.00	18.00	16.00	18.00
3	20.15	21.00	15.18	17.18	17.21
4	23.13	21.19	20.15	20.13	19.37
5	20.31	17.31	18.19	17.44	17.25
	T L E (Minutos)				
1	35	20	15	15	17
2	69	60	120	69	79
3	105	59	39	31	20
4	53	60	45	40	40
5	20	41	43	25	50

## CUADRO 8

GRUPO B: EFECTO DE LESION CORTICAL +  
ESTIMULACION INSULA INFERIOR

PERRO \	MUESTRA				
	1	2	3	4	5
	T C V (Minutos)				
1	6.15	5.40	5.15	4.56	5.00
2	4.20	4.23	5.26	4.51	4.46
3	5.46	5.23	6.31	5.17	5.34
4	5.13	5.19	5.31	5.22	4.57
5	5.38	6.43	4.41	5.09	5.48
	T S (Minutos)				
1	3.13	4.22	2.51	2.05	3.25
2	1.23	1.41	1.33	1.51	1.02
3	2.33	3.08	3.36	3.35	1.21
4	1.35	2.34	3.17	4.06	1.50
5	2.30	2.13	4.01	5.29	5.37
	T C P R (Segundos)				
1	101	116	123	124	138
2	106	88	113	77	113
3	118	113	160	130	140
4	80	116	99	123	140
5	110	119	115	90	140
	T P (Segundos)				
1	11.37	10.58	9.85	11.40	11.35
2	13.55	16.45	14.38	13.57	14.31
3	13.24	13.97	11.41	12.03	12.66
4	11.69	10.75	10.03	10.13	9.91
5	9.63	8.89	8.47	8.49	8.00
	T T (Segundos)				
1	24.09	23.91	28.10	28.00	24.25
2	20.88	21.93	20.19	23.68	19.56
3	20.41	20.81	22.57	21.50	25.94
4	20.24	18.56	20.10	20.02	19.95
5	20.04	20.29	21.48	21.51	19.51
	T L E (Minutos)				
1	41	70	75	70	90
2	60	42	42	55	60
3	50	56	50	43	38
4	41	48	60	70	70
5	40	30	30	30	29

