



**SUB-DIRECCION DE INVESTIGACION
Y ESTUDIOS DE POST-GRADO**

**"RESPUESTA DEL SISTEMA FIBRINOLITICO
A LAS INFUSIONES DE DEXTROSA, FRUCTOSA E
INSULINA EN PERROS NORMOGLUCEMICOS Y
EN PERROS CON DIABETES POR ALOXANA"**

**TESIS QUE EN OPCION AL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS**

PRESENTA

L.C.B. SONIA A. LOPEZ GARCIA

MONTERREY, N. L.,

TM
QP93
.5
L6
c.1



1080071400

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE MEDICINA
SUB-DIRECCION DE INVESTIGACION Y ESTUDIOS DE POST-GRADO

"RESPUESTA DEL SISTEMA FIBRINOLITICO A LAS INFUSIONES -
DE DEXTROSA, FRUCTOSA E INSULINA EN PERROS NORMOGLUCEMI
COS Y EN PERROS CON DIABETES POR ALOXANA".



tesis que en opción al grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS

presenta

L.C.B. SONIA A. LOPEZ GARCIA

Monterrey, N.L.,

T M
93
93
5
26



DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA

FACULTAD DE MEDICINA

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

Asesor:

DR. JOSE PISANTY OVADIA.

Al DR. JOSE PISANTY

con afecto y respeto.

La autora agradece la asesoría del Dr. José Pisanty, la coordinación académica de la Dra. Nancy Fernández, la colaboración técnica de la Q.C.B. - Ariadna Trejo G., Q.C.B. Cecilia Arrambide F., y - L.C.B. Pablo A. Sánchez, la asistencia en análisis estadístico del Dr. Salvador Borrego y el Sr. Roggerio González y el trabajo secretarial de la Sra. Reyna O. Rdz. de Nudding. A los miembros del jurado Dr. Hugo Barrera, Dr. Jorge Espinosa y Dr. Rogelio Cázares un reconocimiento especial por sus - valiosas observaciones y sugerencias.

Agradecimiento Especial:

El presente trabajo recibió el apoyo económico del Programa Nacional de Educación Superior (PRONAES) de la Secretaría de Educación Pública a través de la Subsecretaría de Educación Superior e Investigación Científica (Convenio Número: 84-01-0090).

I N D I C E

CAPITULO		PAGINA
I	INTRODUCCION	1
II	MATERIAL Y METODOS	20
III	RESULTADOS	23
IV	DISCUSION Y CONCLUSIONES	53
V	RESUMEN	65
VI	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	67
VII	APENDICE A	82
	APENDICE B	84
	APENDICE C	86
	APENDICE D	97

CAPITULO I

INTRODUCCION

La fibrinolisis es la degradación de los polímeros de fibrina, mediada por la plasmina. Se le considera el principal mecanismo para eliminar a la fibrina una vez que ésta ha cumplido con su función hemostática.

En consecuencia, es un proceso de gran importancia para garantizar el libre flujo de la sangre a través del árbol vascular.

Si bien desde tiempos de Aristóteles e Hipócrates se especuló acerca de la existencia y disolución de redes o fibras en la sangre, no fué sino hasta fines del siglo XIX cuando se planteó la existencia de un mecanismo especializado para llevar a cabo ésta función.

El término fibrinolisis fué acuñado por Dastré en 1893 (1) basándose en una idea análoga a la de Claude Bernard: "glucolisis". Bernard se refería a la desaparición de glucosa de la sangre, Dastré a la remoción de fibrina.

El hecho de que la palabra fibrinolisis se haya generado en otra correspondiente al metabolismo de la glucosa (glucolisis) no deja de ser una casualidad feliz.

Sin embargo, la interrelación entre la glucemia y los

mediadores de su homeostasia, y el mecanismo fibrinolítico, no fué explorada en mucho tiempo.

De hecho, los trabajos acerca de la fibrinolisis fueron muy escasos en la primera mitad de éste siglo.

Los hematólogos, ha señalado agudamente Tocantins, (2) "vieron demasiado tiempo el problema de la hemostasia a través del ojo de la cerradura de la coagulación".

En la reseña histórica de Marsh (3) se advierte - que a partir de la década de los treinta, cobró - auge la investigación en el campo de la fibrinolisis con hallazgos importantes como el descubrimiento en 1933 de un principio fibrinolítico activo en los filtrados de estreptococo hemolítico debido a los - trabajos de Tillet y Garner; la naturaleza de la - plasmina, descrita por Schmitz en 1936 y el plasminógeno por Milstone en 1941.

El activador tisular del plasminógeno fué reportado por Astrup y Permin en 1947, la urocinasa por - Williams en 1951, la actividad antiplasmina descubierta por Norman y Hill en 1958 y la participación del factor XII en 1959 por Niewiarowsky y Prou-War--telle.

Así, entre 1930 y 1960 se obtuvo y ensambló la información necesaria para entender la estructura gene

ESTRUCTURA GENERAL DE LOS SISTEMAS DE COAGULACION Y FIBRINOLITICO

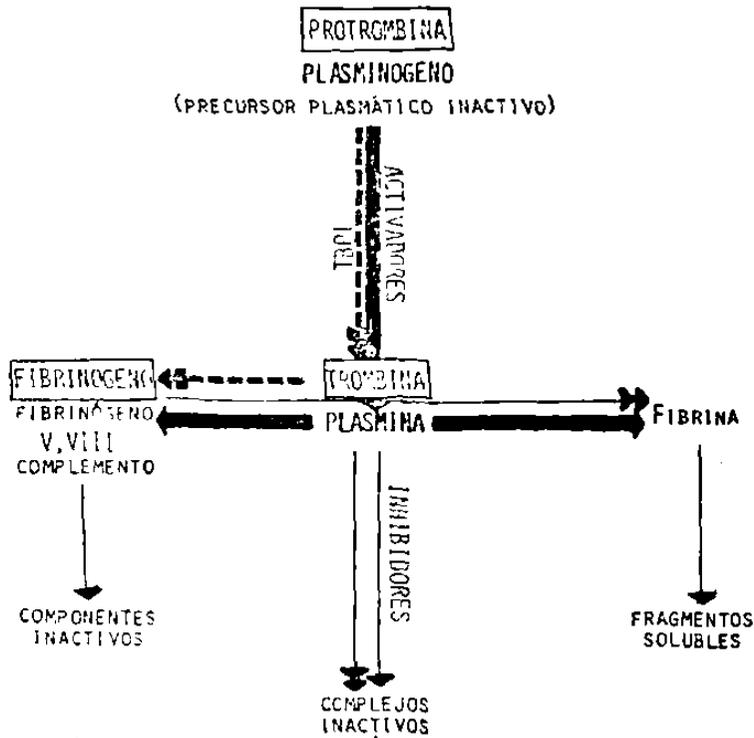


Fig. 1

ral del sistema fibrinolítico.

Los reportes cada vez mas numerosos, enfatizaron como en el caso de la coagulación, la parte bioquímica del proceso.

Aquí sería conveniente hacer un parentesis para recordar muy brevemente, la estructura de éstos dos sistemas: coagulación y fibrinolisis estrechamente emparentados y como sabemos, configurados de una manera muy similar. (Fig. 1)

En ambos se requiere de la participación de activadores, tanto derivados de los tejidos corporales, como plasmáticos.

Estos activadores, se encargan de convertir un precursor circulante en la enzima proteolítica respectiva.

En el sistema de coagulación, interactúan 13 proteínas en una secuencia de activaciones enzimáticas que se disparan intrínsecamente a partir de reacciones de contacto o extrínsecamente por la vía de una lipoproteína tisular. (Fig. 2)

El substrato final es la proteína estructural denominada fibrinógeno, de la cual se separan 4 fibrinopéptidos para producir primeramente un polímero soluble de fibrina y luego un coágulo estable.

En la contraparte de éste proceso, la fibrina (I y II) tanto la soluble como la insoluble, se convierte en el substrato fisiológico de la plasmina, (4,5,6) - la cual circula en sangre en forma de un precursor inactivo, el plasminógeno. (Fig. 3). La activación de éste, involucra el rompimiento de un enlace peptídico. (Arg-Val.) (7).

Los activadores extrínsecos del plasminógeno, como la mayoría de los factores de coagulación y la plasmina, son proteasas de serina. Se encuentran en

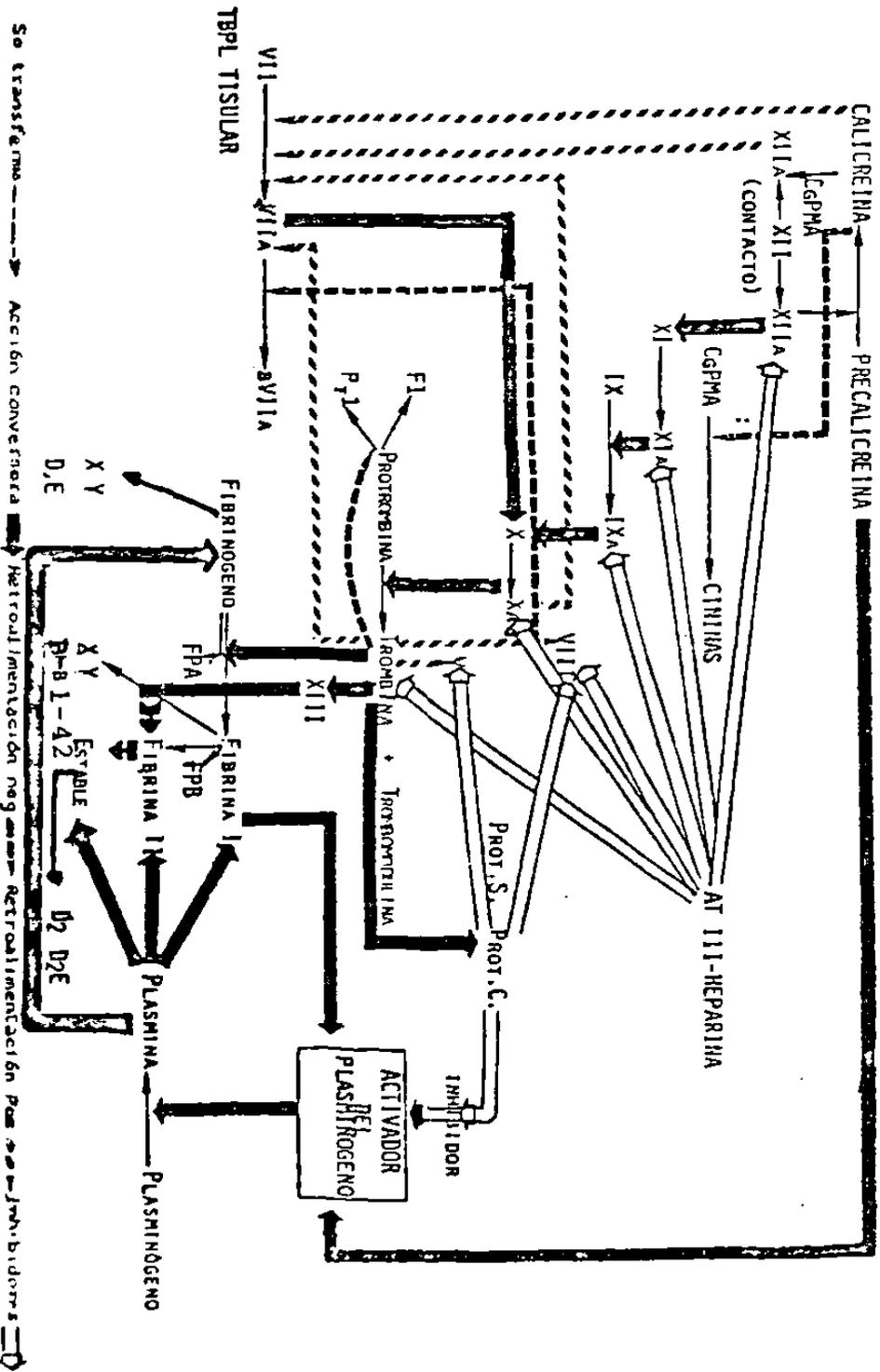


Fig. 2

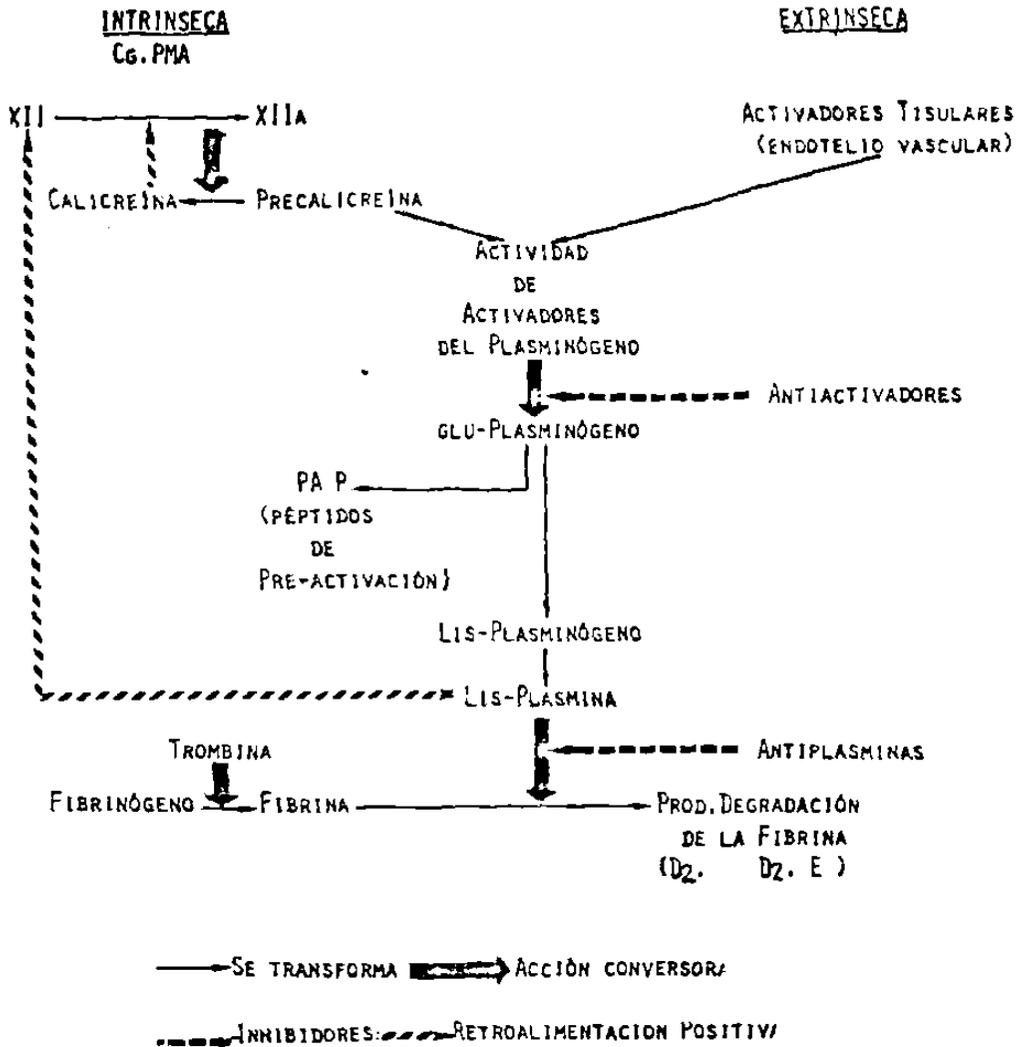


Fig. 3

casi todos los tejidos corporales, con variaciones -
considerables de concentración. También se ha repor-
tado su presencia en algunos fluidos biológicos, sien-
do la urocinasa uno de los activadores fisiológicos -
más estudiados. Sin embargo, se adjudica la máxima -

importancia a la participación fisiológica del activador del endotelio vascular.

Los activadores plasmáticos o intrínsecos corresponden a la actividad dependiente del factor XII de coagulación, que involucra a la Precalicreína (Proactivador o F. Fletcher), a la Calicreína y al Cininógeno de alto peso molecular (F. Fitzgerald) (5).

La actividad plasmática independiente del factor-XII pudiera ser importante cuantitativamente, pero - hasta ahora solo se conoce el efecto de la Calicreína y empiezan a estudiarse los efectos de C₃, C₄, - IgM y activadores derivados de leucocitos y plaquet--tas.

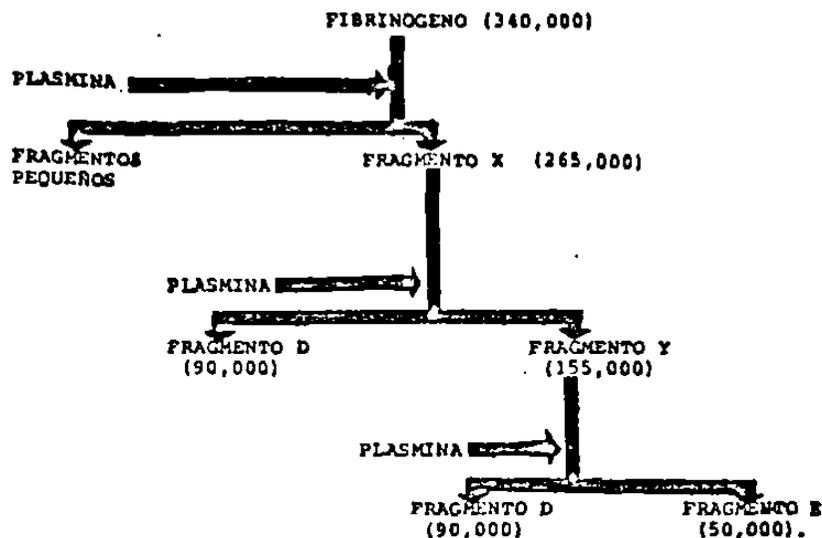
La activación del plasminógeno confiere a la plasmina una gran capacidad proteolítica y especificidad para degradar los enlaces Arg-X y Lis-X (5).

La acción de la plasmina sobre el fibrinógeno ha sido descrita como una secuencia con producción de - fragmentos progresivamente menores: $X \rightarrow D+Y$; $Y \rightarrow D$ y E.

La degradación de la fibrina es mas complicada y presenta un patrón diferente ya sea que se trate de la fibrina soluble o monómero o del polímero insoluble formado por acción del factor XIII.

Así además de los fragmentos X,Y,D y E tendríamos

SECUENCIA DE DEGRADACION DEL FIBRINOGENO/FIBRINA



La secuencia de degradación de fibrina insoluble (TXL) es mas compleja -- debido a la presencia de enlaces cruzados, inducidos por el F XIII.

Los productos de degradación difieren y es particularmente característico el dímero D (D₂). Además se encuentra el D₂E, complejo D₂E - X, (Y,D) E y el complejo (Y,D) E - X.

Fig. 4

los dímeros y oligómeros: D₂, D₂E, D₂E + X; (Y-D)E y (Y-D) E + X. (Fig. 4)

El sistema fibrinolítico incluye un dispositivo de control integrado por las antiplasminas y los antiactivadores.

Existen por lo menos cinco antiplasminas plasmáticas de las cuales la mas importante fisiológicamente es la antiplasmina.

Las plaquetas, varios tejidos corporales y secreciones también poseen sustancias con efecto inhibitorio sobre la plasmina.

Actúan como antiactivadores la Inter α globulina, AT III-Heparina, α 2 Macroglobulina, Inhibidor C₁ y sustancias presentes en región medial de arterias, en plaquetas y en diferentes tejidos. (8)

La compleja bioquímica de la fibrinólisis que apenas hemos delineado aquí y la interrelación de este sistema-que Astrup en 1978 (9) ha descrito como "uno de los mas amplios procesos fundamentales de la fisiología" -con otros importantes procesos homeostáticos, hacen que las investigaciones en el area fisiológica y fisiopatológica resulten a su vez, muy complejas.

En el campo de la fisiología se explora activamente no solo su participación en la hemostasia, sino también en la respuesta inflamatoria, la regeneración celular, la defensa contra las invasiones bacterianas (10) y en procesos tan básicos como serían los que rodean a la concepción y al envejecimiento (9).

Habiéndose establecido que la fibrinólisis posee una actividad fluctuante, un buen número de especialistas se han dedicado a establecer las características de éstas variaciones.

Las revisiones consignan variaciones en relación: ciclo circadiano; (11,12) sexo, (13) edad; (13) raza; (14) dieta y (15) peso, (16,17) entre otros -

(Ver Tabla 1).

VARIACIONES FISIOLÓGICAS DE LA FIBRINOLISIS

Ciclo Circadiano	{ <ul style="list-style-type: none"> Actividad menor entre 12 PM y 8 AM. Actividad máxima entre 4 y 8 PM. (Fearnley, G.R.; 1957) (Cepelák, V.; 1975)
Sexo - Edad	{ <ul style="list-style-type: none"> ♂ Actividad disminuye progresivamente desde los 20-25 años hasta los 50-55 años. Actividad aumenta entre los 60 - 65 años ♀ Actividad aumenta a los 25 años " disminuye a los 33 años " aumenta a los 37 años " disminuye a los 43 años " aumenta a los 47 años " disminuye a los 53 años " aumenta a los 55-56 años (Chakrabartí, R.; 1978)
Raza	{ <ul style="list-style-type: none"> Actividad fibrinolítica en orden decreciente. 1.- Negros Africanos 2.- Caucásicos e Indios 3.- Asiáticos (Marsh, N.A.; 1981)
Dieta - Peso	{ <ul style="list-style-type: none"> Lipemia-Inhíbe la fibrinólisis (Pappenhagen, 1963) Peso- Actividad directamente proporcional al peso cuando se trata de masa magra. (Goldrick, R.B. 1961) Actividad inversamente proporcional al peso cuando se trata de obesidad. (Meade, T.W.; 1979)

Tabla 1

Otro aspecto fisiológico que está siendo explorado es la interrelación de la actividad de los dos procesos antagónicos de la hemostasia: coagulación y fibrinólisis.

Diversos investigadores, a partir de Nolf (18) - han postulado la existencia de un balance funcional entre ambos mecanismos.

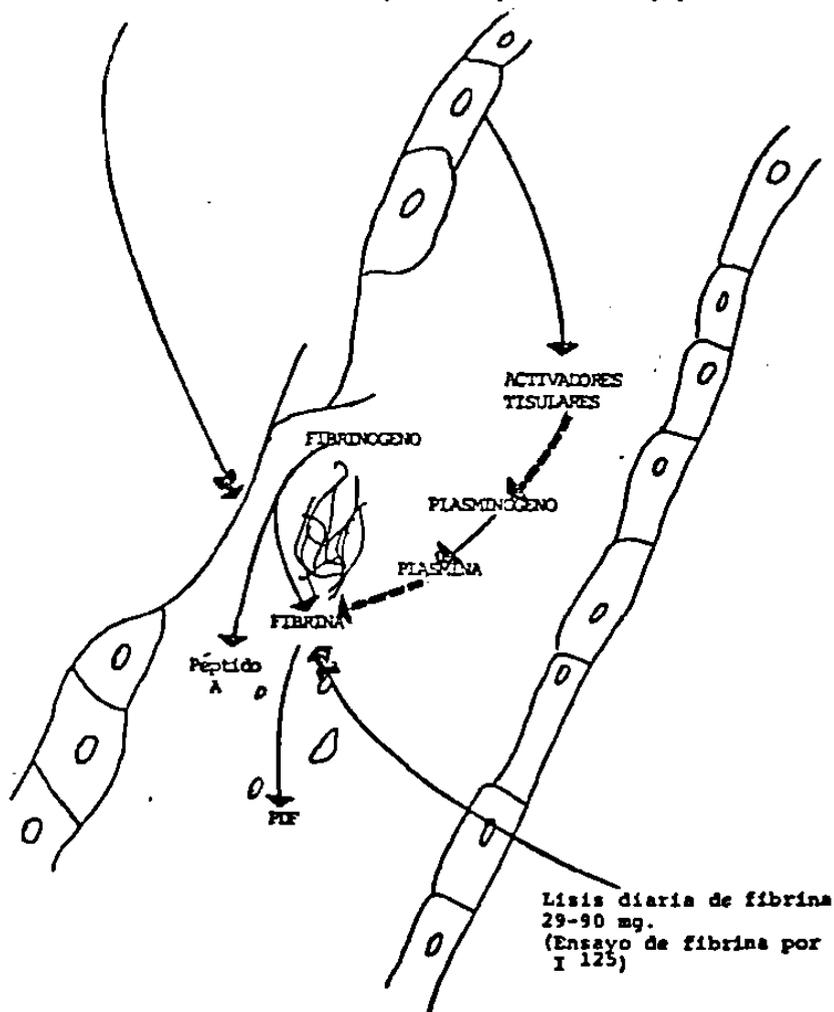
Sus razonamientos enfatizan la necesidad de una actividad equivalente de los sistemas de coagulación y fibrinolítico para preservar la homeostasia intravascular. La falla para mantener ésta relación sería el factor etiológico subyacente en los desórdenes hemorrágicos o tromboembólicos (19,20).

La teoría del Balance Funcional (18,19) ha sido retomada por investigadores como Astrup (21,9) Ross (22), Copley (23) y Fearnley (24), debido a su sustentación lógica y a pesar de la carencia de datos experimentales.

Mas recientemente, Moroz (25) utilizando técnicas de radioinmunoensayo ha aportado cifras indicadoras de un equilibrio efectivo entre ambos procesos (Fig. 5).

A partir de sus hallazgos y extendiendo sus cálculos, Moroz teoriza, por ejemplo, que una inhibición completa de la fibrinólisis reduciría el volumen vas

Depósito diario de fibrina = 35-58 mg.
 (Radioinmunoanálisis específico para fibrinopéptido A).



(Datos de:
 Moroz, L.A. 1980).

Fig. 5

cular en 1 a 7 % por año, suficiente para inducir episodios trombóticos a corto plazo.

Ante esto, parece difícil exagerar la importancia de la participación del sistema fibrinolítico en el -

mantenimiento de un sistema circulatorio funcionalmente adecuado.

Nos hemos extendido en éstos dos últimos puntos: - las fluctuaciones llamadas "fisiológicas" de la actividad fibrinolítica y el balance dinámico entre la coagulación y lisis para facilitar la comprensión de la secuencia bibliográfica que constituye el trasfondo directo de nuestra investigación.

Sin embargo, un par de observaciones más son convenientes, antes de seguir con nuestra exposición.

En primer lugar, como se ve en la tabla No.1, las "variaciones fisiológicas" presentan patrones definidos. El establecimiento de los mismos constituye una contribución valiosa para entender la fisiología del proceso.

Estos patrones de comportamiento pueden entenderse como los rangos de la constancia dinámica del medio interno, conceptualizada por Claude Bernard (50).

En segundo lugar mencionaremos- aunque no es menos importante -al reconocimiento del punto de ruptura de la constancia del sistema, esto es, los límites de la homeostasia mas allá de los cuales las variaciones se convierten en factores desencadenantes de anormalidades o patología.

Se acepta actualmente la existencia de un nexo en-

tre la fibrinólisis y el metabolismo de carbohidra--
tos (26) pero se desconoce su naturaleza. Establecer
la índole de las oscilaciones en esta interrelación,
constituye nuestro primer objetivo.

Pretendemos en segundo lugar, incursionar en la -
investigación de las alteraciones de la fibrinólisis
como resultado de los ajustes o desviaciones de la -
homeostasia de los carbohidratos.

Finalmente, a través del análisis e interpreta---
ción de los resultados obtenidos en nuestro trabajo-
experimental, esperamos poder aportar sugerencias en
relación a un tercer aspecto de este problema: El -
efecto que la relación fibrinólisis-metabolismo de -
carbohidratos puede tener en el mantenimiento de un
sistema circulatorio normal o bien en la patología -
del mismo.

Ubicados en este contexto procederemos ahora a ex
poner los antecedentes bibliográficos directos de -
nuestra investigación.

ANTECEDENTES:

Las publicaciones en torno a la relación fibrinolisis-metabolismo de carbohidratos pueden agruparse como sigue:

- 1) Medición de actividad fibrinolítica en respuesta a la prueba de tolerancia a la glucosa.
- 2) a) Determinación de actividad fibrinolítica en respuesta a la prueba de tolerancia a la insulina o
 - b) A la administración terapéutica de insulina en pacientes diabéticos.
- 3) Medición de actividad fibrinolítica basal o estimulada (oclusión venosa, ejercicio, etc.) en pacientes diabéticos.

El común denominador de las investigaciones es éste tópicamente es el haber sido realizadas, no en individuos sanos, sino en pacientes con diversos grados de evolución de diabetes mellitus-(con o sin vasculopatías) y en pacientes arterioescleróticos.

Esto dificulta la comparación y utilización de los resultados. (Tabla 2)

Así, en el primer grupo de estudios, Tsapogas (27) y Hedlin (28) han reportado aumento de actividad fibrinolítica subsecuente a la ingestión de 50 y 75 gr.

Tabla 2

ANTECEDENTES.

1.- Medición de Act. fibrinolítica en respuesta a la prueba de tolerancia a la glucosa.

Teebogas	(1962)	} Act. ↓
Hedlin	(1973)	
Tansar	(1966)	} Act. ↑ ↓

2.- a) Medición de Act. fibrinolítica en respuesta a la prueba de tolerancia a la insulina.

Hedlin	(1973)	} Act. ↓
Fearnley	(1959)	

b) Medición de Act. fibrinolítica en respuesta a la administración terapéutica de insulina en pacientes diabéticos.

Endo	(1970)	} Resp. bifásica Act. ↓
Hartorn	(1961)	

3.- Medición de Act. fibrinolítica basal o estimulada en pacientes diabéticos.

Fearnley	(1963)	} Act. ↓
Badawi	(1970)	
Almer	(1976)	} Act. ↓
Cash-McGill	(1969)	
Grignani	(1981)	} Act. ↓
Denborough	(1962)	
Moser-Hajjar	(1966)	} Act. Normal

de glucosa respectivamente. Tanser (29), en cambio, encontró que en un grupo de 24 pacientes sometidos a la prueba de tolerancia a la glucosa, 12 respondieron con aumento y 12 con disminución de la fibrinolisis.

En relación a la insulina, Hedlin (28) encontró aumento de actividad fibrinolítica como respuesta a la prueba de tolerancia a la insulina.

En el caso de la terapia con insulina, los trabajos de Fearnley (26) a partir de 1959 señalan una respuesta bifásica: disminución inicial con duración aproximadamente de 3 horas y con un aumento subsecuente. Endo (30), midiendo la fibrinólisis en pacientes diabéticos japoneses, reporta aumento de actividad posterior a la administración de insulina.

La literatura en relación a la fibrinólisis basal en pacientes diabéticos es más copiosa, pero revela una confusión semejante. La actividad fibrinolítica en diabéticos ha sido reportada como disminuída por Hathorn (31), Fearnley (32), Badawi (33) y Almer (34). Aumentada por Cash y Mc Gill (35) y Grignani (36), y normal o sin modificar por Denborough (37) y Moser y Hajjar (38).

Consideramos que la diversidad de factores que se conjuntan en cada paciente - tanto propios del pade-

cimiento en sí, como de su tratamiento-ha impedido - efectuar una valoración objetiva de la influencia del metabolismo de carbohidratos en la fibrinólisis, por lo que nos parece imperativo utilizar un modelo experimental animal que permita la estandarización de condiciones, disminuir las variables y facilitar el análisis y su interpretación.

Una vez hechas estas consideraciones nos permitimos plantear nuestra hipótesis en los siguientes términos:

HIPOTESIS:

"Existe una respuesta del mecanismo fibrinolítico a la hiperglucemia consecutiva a la administración - de glucosa y a la hipoglucemia secundaria. a la administración de insulina, que puede considerarse típica o reproducible".

Nuestro trabajo se ha dirigido a la detección de ésta respuesta en sujetos experimentales íntegros o con diabetes inducida.

Adicionalmente, se probó la respuesta a la fructosa por considerar que siendo un azúcar carente de - efecto hiperglucemiante constituiría un buen punto - de referencia en la interpretación de la respuesta - del sistema fibrinolítico a la glucosa.

CAPITULO II

MATERIAL Y METODOS:

El presente estudio experimental en un modelo animal, se llevó a cabo en varias etapas. En todos los casos se utilizaron perros machos de 10 a 20 Kg/ peso, en los cuales se midieron la actividad fibrinolítica y la glucosa sanguínea.

La investigación se programó de la siguiente manera:

Etapa No. 1 Selección y prueba del grupo testigo.

Etapa No. 2 Trabajo experimental en animales íntegros.

Etapa No. 3 Trabajo experimental en animales aloxanizados (ver apéndice: A Producción experimental de diabetes).

Etapa No. 4 Análisis e interpretación.

En cada caso, los sujetos experimentales se anestesiaron con pentobarbital sódico (Anestesal^r, Smith - Kline) a una dosis de 33 mg/Kg (39) y se prepararon con venodisección en ambas femorales para facilitar la toma de muestras y la administración de infusiones.

Dependiendo del tipo de infusión administrada se constituyeron los siguientes grupos de trabajo:

GRUPOS
TESTIGO

1.- Cloruro de Sodio al 0.9% -
(0.1 ml/Kg/min).

2.- Dosis única de prueba de glu-
cosa al 50% (0.5 gr/Kg).

3.- Infusión continua de glucosa
al 5% (0.1 ml/Kg/min).

GRUPOS
EXPERIMENTALES

4.- Dosis única de insulina mono-
componente (Actrapid^r, Novo -
Ind) 2 u/kg.

5.- Dosis única de prueba de fruc-
tosa al 50% (0.5 gr/Kg).

6.- Infusión continua de fructosa
al 5% (0.1 ml/Kg/min.).

El muestreo se inició en todos los casos con una-
toma de sangre inmediatamente anterior a la aneste-
sia y otra posterior a ésta. Posteriormente a inter-
valos de 15, 30, 60, 90 y 120 minutos se tomaron las -
muestras en lo que llamamos "período control" y a -
los mismos intervalos en el período que sigue a la -
infusión o "período de prueba".

En todos los casos se midieron la glucosa sangui-
nea, utilizando el sistema Dextrómetro-Dextrostix -
(Ames, Miles Corp.) y la actividad fibrinolítica por
la técnica de tiempo de lisis de euglobulinas de -

Von Kaula (modificada por J. Conard). En los anexos se detallan ambas técnicas. (Ver Apéndices A y B).

CAPITULO III

RESULTADOS:

Los valores del Tiempo de Lisis de Euglobulinas (TLE) en minutos (min) y glucosa sanguínea en mg/dl de cada subgrupo, se reportan agrupados en la tabla 3 como porcentaje de cambio (Δ %) en relación a la media del período control que ha sido considerada como 100%. Los valores reales se presentan por separado para cada subgrupo en la tabla (Ver Apéndice D) y curva correspondientes.

En el grupo de especímenes normales, todos los subgrupos respondieron con una prolongación del TLE que corresponde a una disminución de la actividad fibrinolítica. El subgrupo normal testigo tratado con NaCl 0.9%, mostró una prolongación del TLE de 39.81 ± 18.93 E.S. y un aumento de la glucemia de 5.67 ± 7.57 (Fig. 6).

Los especímenes tratados con infusión de dextrosa, mostraron un alargamiento del TLE de 85.21 ± 21.8 E.S. que representa una actividad significativamente menor ($0.01 > p > 0.05$) que la del grupo testigo, en tanto que la glucemia aumentó 80.14 ± 20.0 E.S. Se detectó una alta correlación entre los valores del tiempo de lisis y la glucemia ($r = 0.95$). (Fig. 7).

La administración de fructosa en infusión continúa produjo una disminución altamente significativa

($p < 0.25$) de la actividad fibrinolítica, con una -
 prolongación del TLE de 117.12 ± 25.2 E.S. y una dis-
 minución en la glucemia de 3.05 ± 5.2 E.S. No se en-
 contró correlación entre los dos parámetros. (Fig.8).

Cuando la dextrosa y la fructosa se administraron-
 en forma de una dosis de prueba única, la respuesta -
 fue una disminución no significativa de la fibrinolí-
 sis. Al probar la dextrosa en dosis única se observó
 un alargamiento del TLE de 29.97 ± 11.29 E.S. en co-
 rrelación con un aumento en la glucemia de $24.04 \pm$ -
 18.38 E.S. ($r = 0.94$) (Fig.9).

El subgrupo tratado con fructosa en dosis única -
 mostró una prolongación del TLE de 143.15 ± 81.3 -
 E.S. y una disminución en los niveles de glucosa san-
 guínea de 5.78 ± 3.76 . No se encontró correlación en
 tre los valores de actividad fibrinolítica y la gluce-
 mia. (Fig.10).

En el subgrupo que recibió insulina en dosis única
 el resultado observado fué una disminución de la acti-
 vidad fibrinolítica, con una prolongación del TLE de
 42.84 ± 16.11 E.S. y una disminución de la glucemia -
 de 62.92 ± 4.68 E.S. Los valores del tiempo de lisis
 y glucemia mostraron una correlación inversa -
 ($r = -0.85$) (Fig.11).

En el grupo de especímenes aloxanizados, el subgru

po testigo respondió a la infusión de NaCl 0.9% con una disminución de la fibrinólisis, observándose una prolongación del TLE de 17.83 ± 2.48 y un aumento en la glucemia de 8.45 ± 9.69 (Fig.12).

La infusión continua de dextrosa en los perros con diabetes aloxánica provocó un aumento significativo ($0.25 > p > 0.01$) de la actividad fibrinolítica; se observó un acortamiento del TLE de 35.84 ± 14.39 E.S. y un aumento en la glucemia de 44.09 ± 47.16 E.S. y correlación entre ambos valores ($r = -0.89$). (Fig.13).

Los especímenes diabéticos tratados con fructosa en infusión continua, respondieron con un acortamiento del TLE de 17.73 ± 35.68 E.S. ($p < 0.1$), correspondiente a un aumento de la fibrinólisis y un incremento en la glucosa sanguínea de 5.94 ± 10.6 E.S., con un coeficiente de correlación de -0.74 . (Fig.14).

Al administrar la dextrosa en dosis única, la actividad fibrinolítica se elevó, observándose un acortamiento del TLE de 5.97 ± 27.45 y un aumento en la glucemia de 15.52 ± 10.23 (Fig.15).

La dosis única de fructosa en cambio, provocó una disminución de la fibrinólisis, observándose en éste caso una prolongación del TLE de 54.981 ± 55.4 con un incremento en la glucosa sanguínea de $10.24 \pm$

13.56 (Fig.16).

No se apreciaron cambios de significancia estadística en los tratamientos de dosis única, ni correlación entre los parámetros estudiados.

El subgrupo diabético tratado con insulina mostró un incremento significativo ($p < 0.025$) en la fibrinólisis, con un acortamiento del TLE de 21.31 ± 5.58 E.S. sin correlación con la glucemia que disminuyó a 58.33 ± 11.08 E.S. (Fig.17).

El análisis de los valores basales (no estimulados) de los especímenes normales mostró un tiempo de lisis medio de 36.58 ± 2.99 min. ($n=6$). La distribución de valores basales del TLE en perros normales se anexa para propósitos de comparación con otros trabajos (Fig.18). En los perros que desarrollaron diabetes aloxánica, el valor medio del tiempo de lisis basal control, previo a la administración de aloxana, fue de 57.55 ± 6.86 min. ($n=9$) y el posterior a la instalación de la diabetes fue de 59.3 ± 10.3 , habiéndose encontrado en ambos valores una diferencia de significancia estadística, en comparación con los especímenes normales; ($p > 0.05$ y $p > 0.02$ respectivamente).

En los perros aloxanizados que no desarrollaron hiperglucemia, el tiempo de lisis medio fue de 41.94 ± 4.08 min; este valor es estadísticamente semejante-

al del grupo normal. (Tabla 4)

Al realizar el análisis de los datos se encontró - que tanto en el grupo normal como en el diabético, se presentaron dos tipos de respuesta. Se denominó respuesta I a la predominante en el grupo normal, la - cual consistió en una disminución de la actividad fibrinolítica ante las sustancias de prueba, y respuesta II a la de menor frecuencia, caracterizada por aumento o ausencia de cambio en la actividad fibrinolítica.

La respuesta I se encontró en los especímenes con valores basales normales para el tiempo de lisis, - mientras que la respuesta II correspondió a los de actividad basal "pobre". En la Tabla 5 se agrupan los datos correspondientes; anexamos también las gráficas representativas del comportamiento de cada una de las respuestas, para cada subgrupo. (Ver Fig. 19-28).

Los resultados obtenidos en el grupo de perros normales fué de 82.69% (n=43) para la respuesta I y de 17.31 (n=9) para la respuesta II. Los valores basales en el grupo normal fueron de 32.5 ± 3.52 y 56.0 ± 6.5 para las respuestas I y II respectivamente.

En los especímenes aloxanizados la respuesta I se observó en 24% (n=6) de los experimentos y la respuesta II en 76% (n=19).

Los valores basales correspondientes fueron de -
30.83 \pm 15.49 E.S. y 73.33 \pm 13.66 E.S.

La comparación estadística entre ambas respuestas,
llevada a cabo por la prueba de "t" de Student, mos-
tró una alta significancia en todos los casos - -
($p < 0.05$ $p < 0.001$). Tablas 6 y 7 .

TABLA 3

VALORES DEL TIEMPO DE LISIS DE EUGLOBULINAS Y GLUCOSA SANGUINEA (Media y Error Standard) EXPRESADOS COMO PORCENTAJE DE CAMBIO ($\Delta\%$) EN RELACION A LA MEDIA DEL PERIODO CONTROL (100%).

GRUPO	A = TIEMPO DE LISIS	B = GLUCEMIA
	Media + E.S.	Media \pm E.S.
NORMALES		
TESTIGO	↓ 39.81 \pm 18.93	↑ 5.67 \pm 7.57
DEXTROSA I.C.	↓ 85.21 \pm 21.80 (a)	↑ 80.14 \pm 20.00 (r= 0.95)
DEXTROSA D.U.	↓ 29.97 \pm 11.29	↑ 24.04 \pm 18.38 (r= 0.94)
FRUCTOSA I.C.	↓ 117.12 \pm 25.28 (b)	↓ 3.05 \pm 5.2
FRUCTOSA D.U.	↓ 143.15 \pm 81.30	↓ 5.78 \pm 3.76
INSULINA D.U.	↓ 42.84 \pm 16.11	↓ 62.92 \pm 4.68 (r= -0.85)
ALOXANIZADOS		
TESTIGO	↓ 17.83 \pm 2.48	↑ 8.45 \pm 9.69
DEXTROSA I.C.	↑ 35.83 \pm 14.39 (c)	↑ 44.09 \pm 47.16 (r= -0.89)
DEXTROSA D.U.	↑ 5.97 \pm 27.45	↑ 15.52 \pm 10.23
FRUCTOSA I.C.	↑ 17.73 \pm 35.68 (d)	↑ 5.94 \pm 10.60 (r= -0.74)
FRUCTOSA D.U.	↓ 54.98 \pm 55.40	↑ 10.24 \pm 13.56
INSULINA D.U.	↑ 21.35 \pm 5.58 (e)	↓ 58.33 \pm 11.08

"t" de Student:

a = (.01 > p > .05)

c = (.02 > p > .01) e = (p < .025)

b = (p < .025)

d = (p < .1)

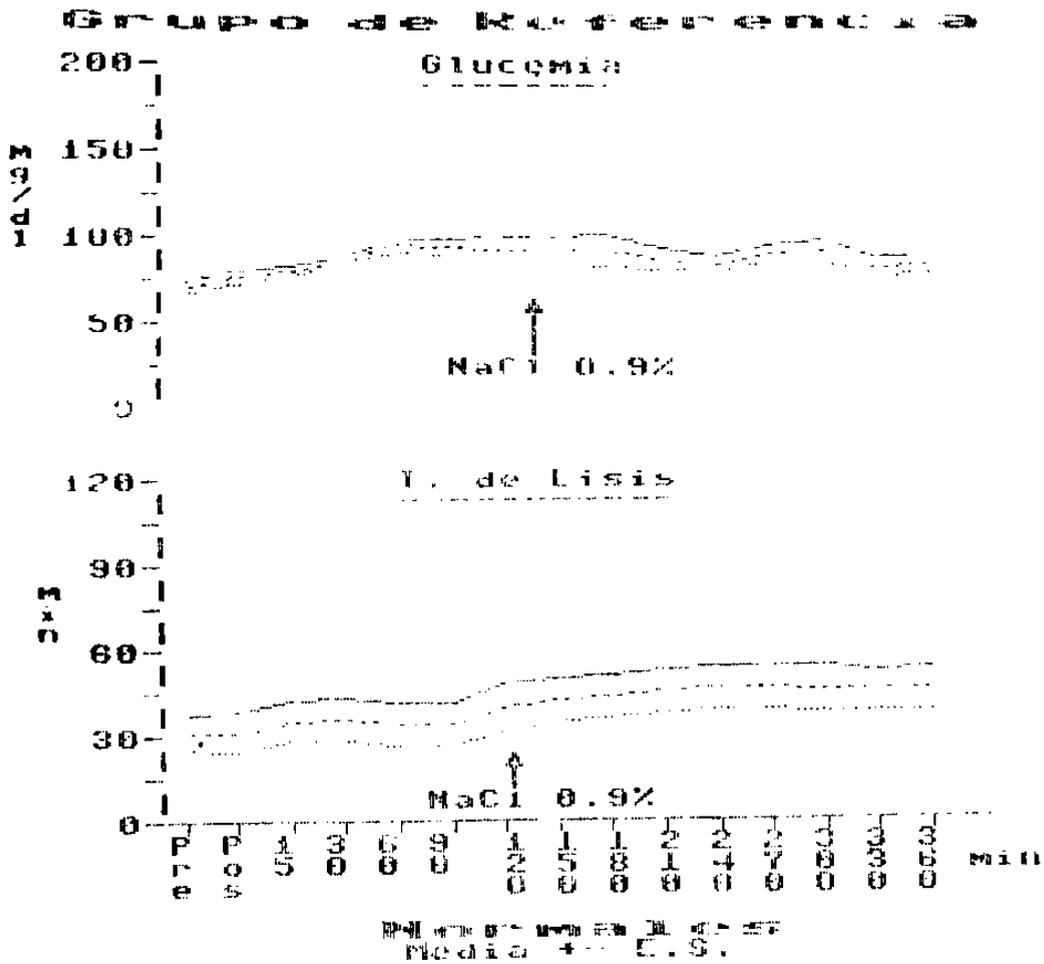


Fig. 6

Las gráficas muestran los valores de glucosa sanguínea y tiempo de lisis que se expresan en el eje de las ordenadas como mg/dl y min. respectivamente. En el eje de las abscisas están representados los tiempos (en min.) de las determinaciones para ambos parámetros. Cada punto representa la media \pm error standard de las determinaciones. Con una flecha se indica el momento del inicio de la administración de la sustancia de prueba, en éste caso NaCl 0.9%.

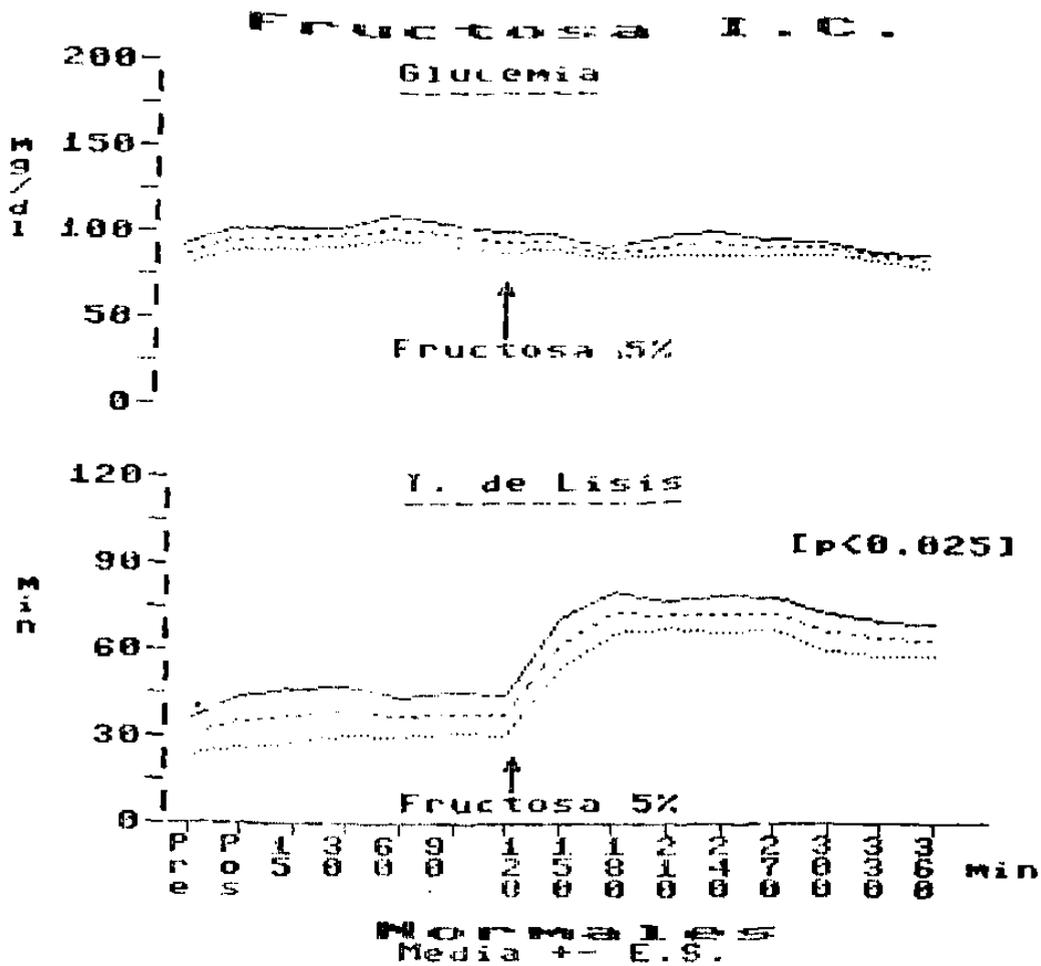


Fig. 8

Explicación de las coordenadas igual que en la Fig. 6. La flecha indica el inicio de la administración de Fructosa al 5%.

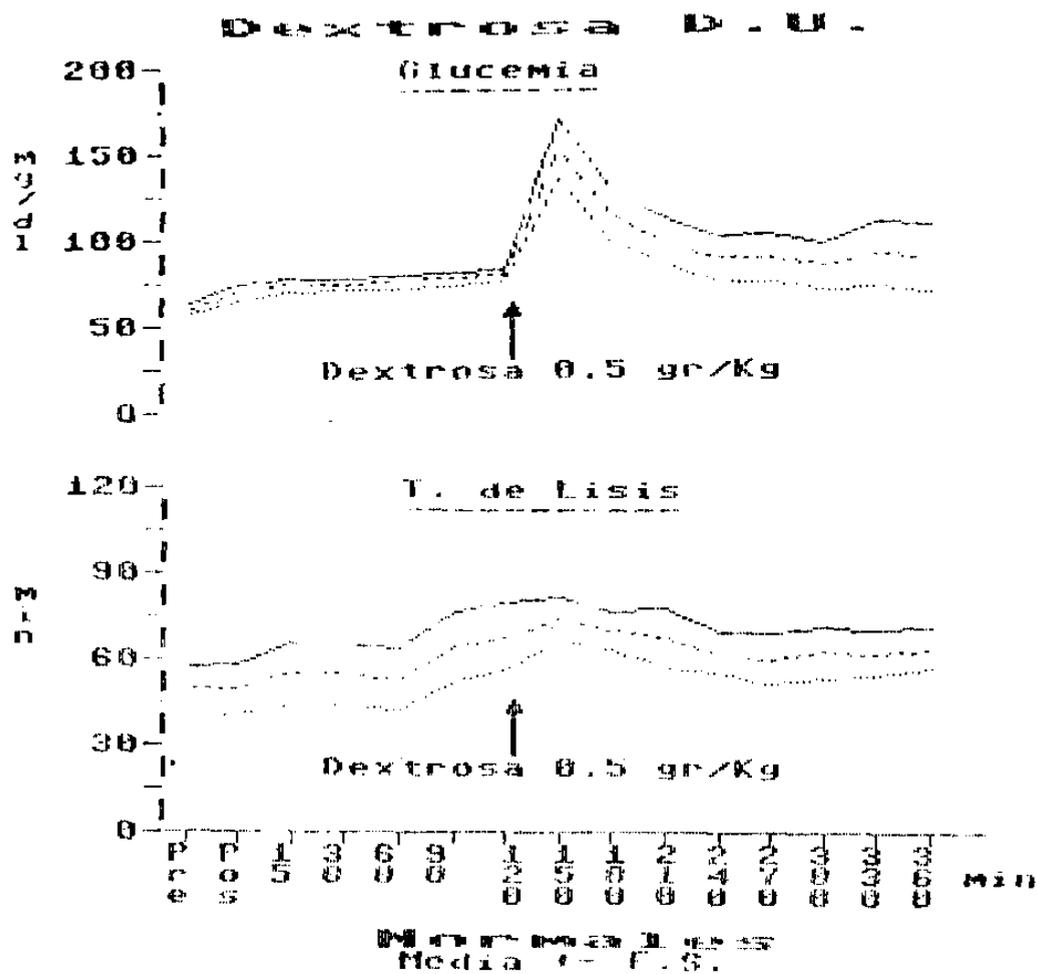


Fig. 9

Explicación de las coordenadas igual que en la Fig.6.
La flecha indica la administración de Dextrosa 0.5
gr/Kg.

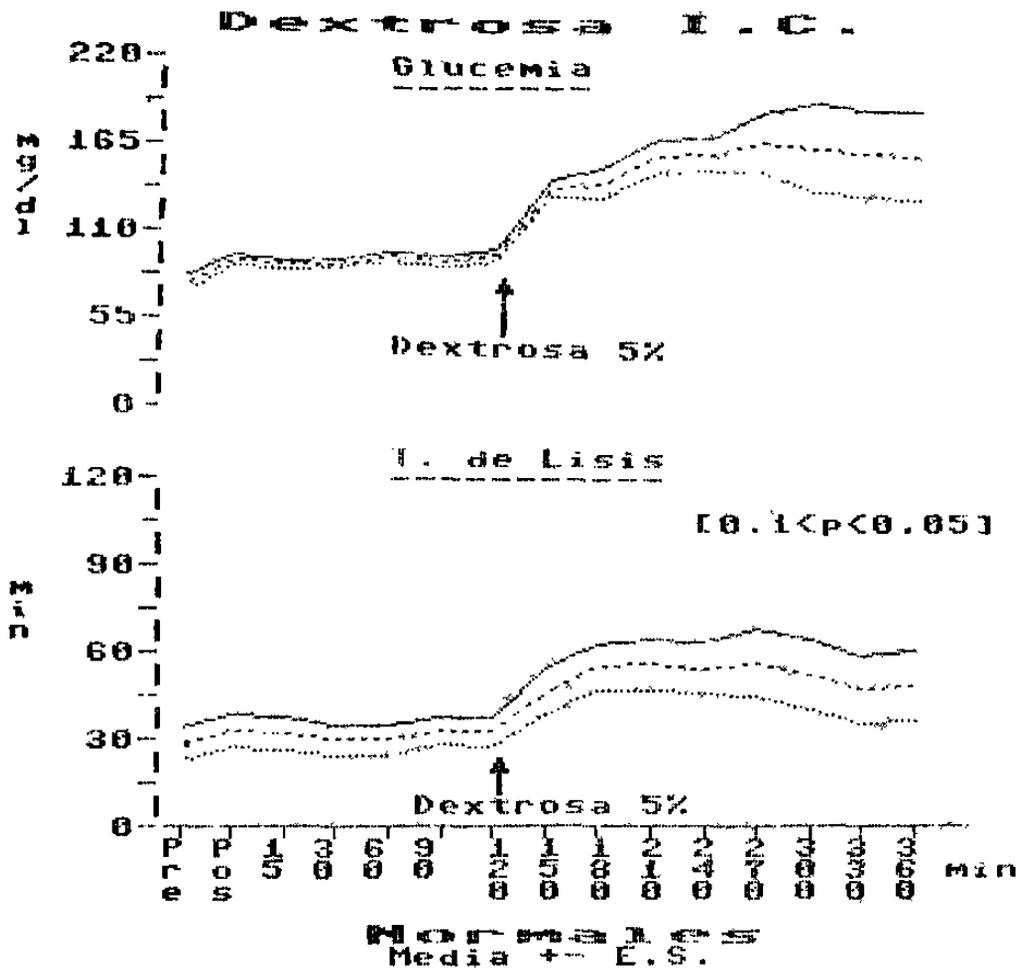


Fig. 7

Explicación de las coordenadas igual que en la Fig.6.
 La flecha indica el inicio de la administración de
 Dextrosa 5%.

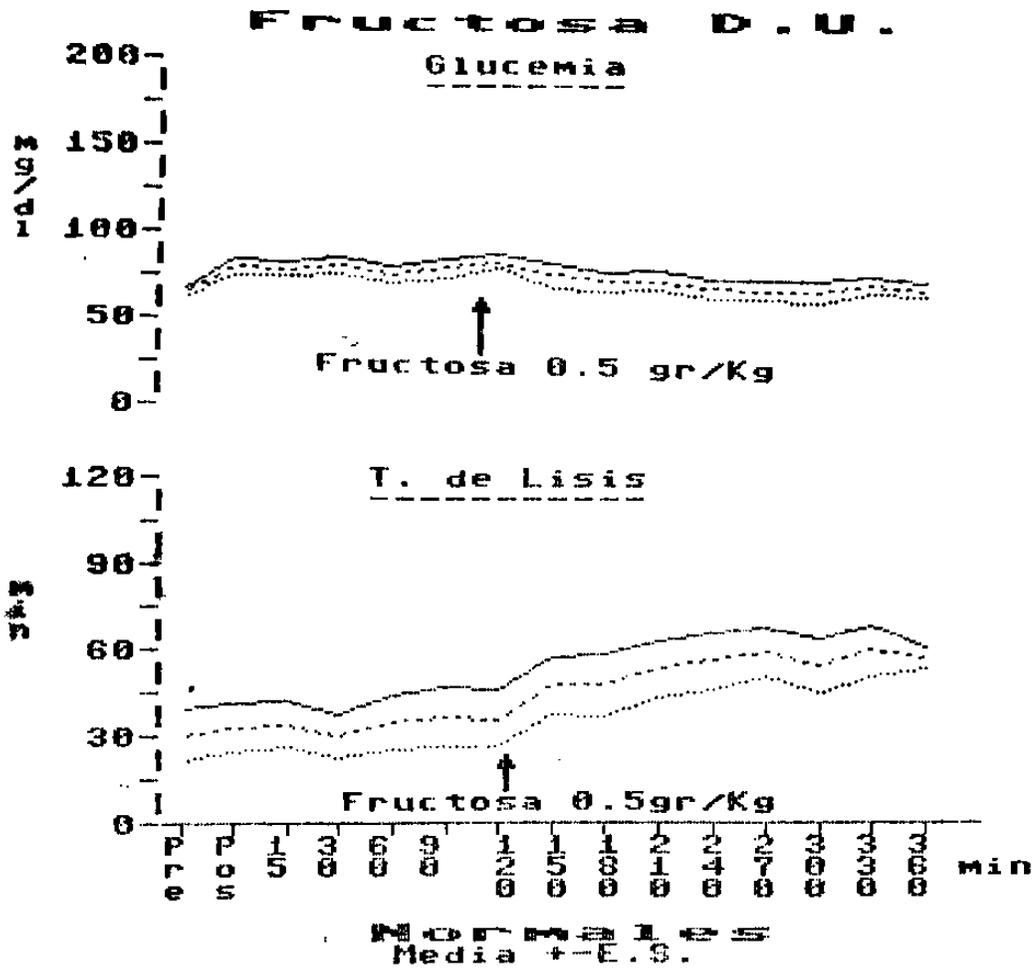


Fig. 10

Explicación de las coordenadas igual que en la Fig.6.
La flecha indica la administración de Fructosa 0.5 gr/Kg.

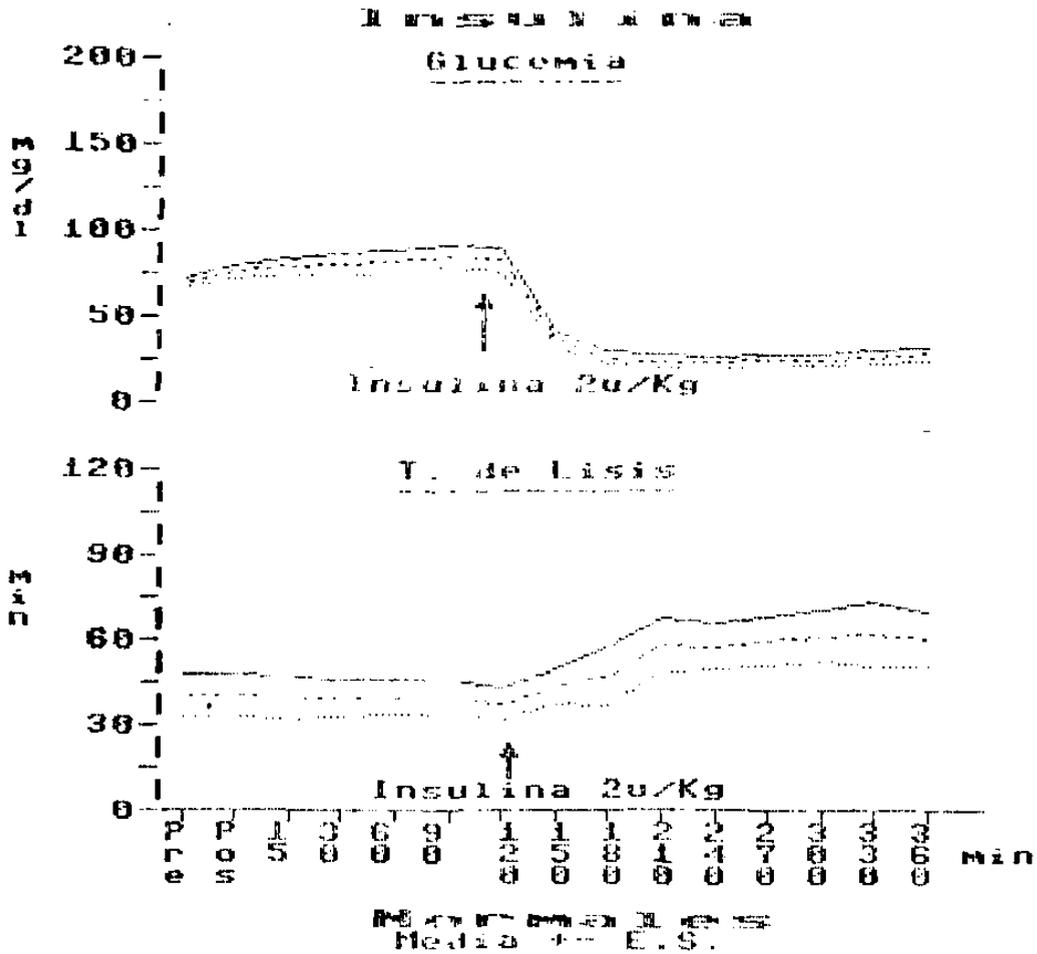


Fig. 11

Explicación de las coordenadas igual que en la Fig.6.
La flecha indica la administración de Insulina 2u/ -
Kg.

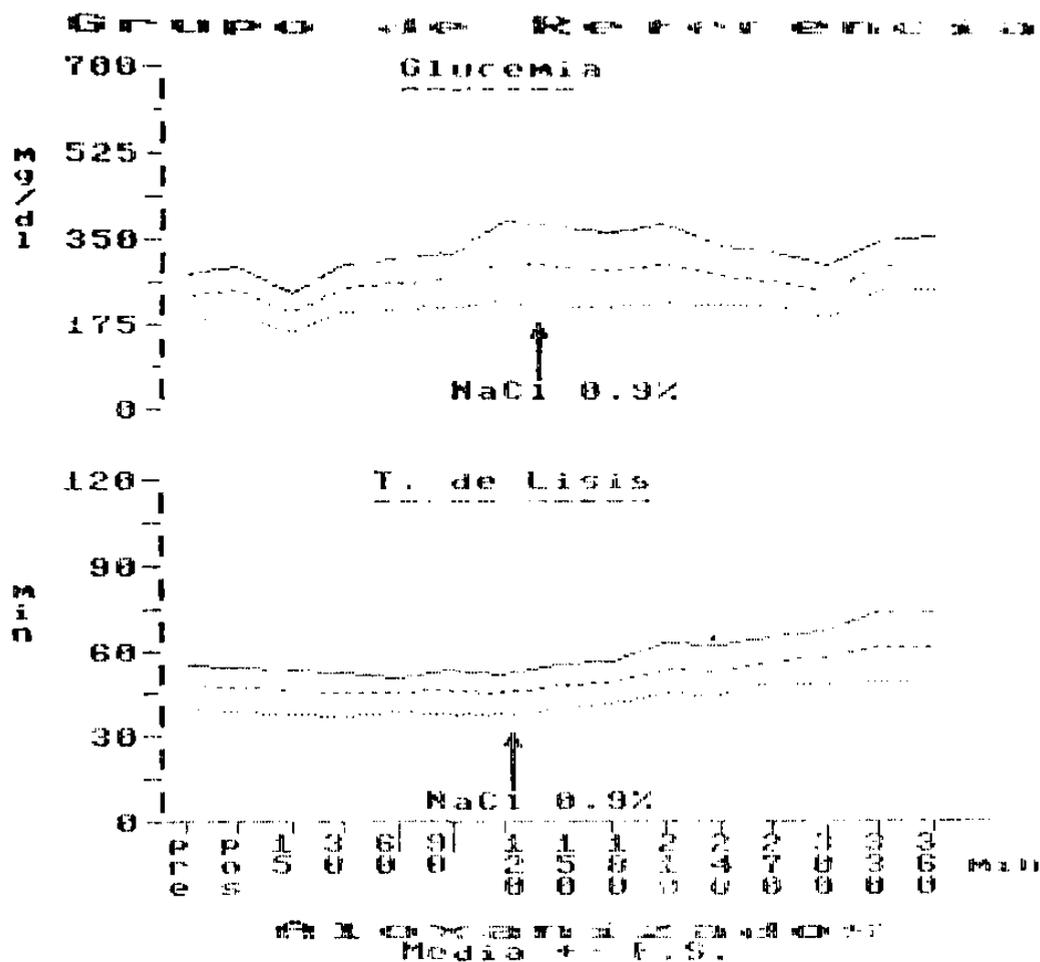


Fig. 12

Explicación de las coordenadas igual que en la Fig.6.
 La flecha indica el inicio de la administración de NaCl al 0.9%

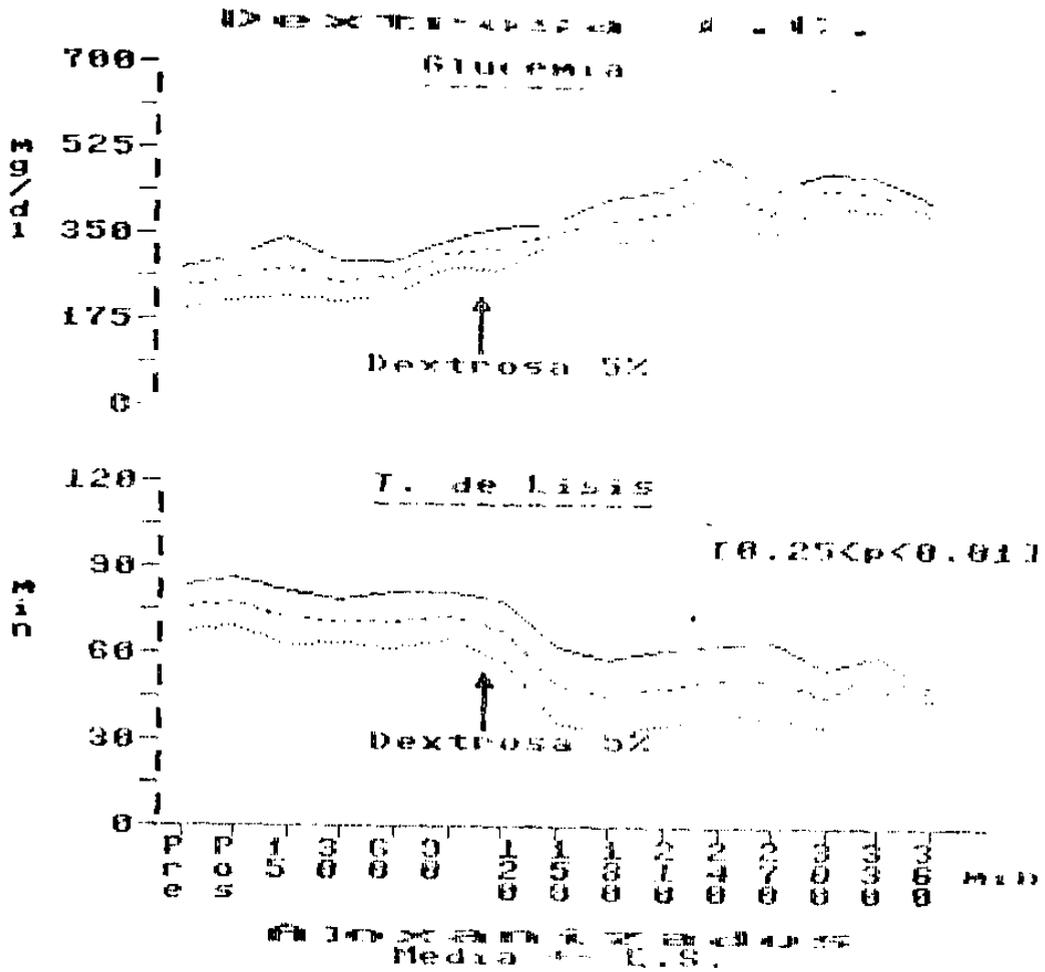


Fig. 13

Explicación de las coordenadas igual que en la Fig.6. La flecha indica el inicio de la administración de Dextrosa al 5%.

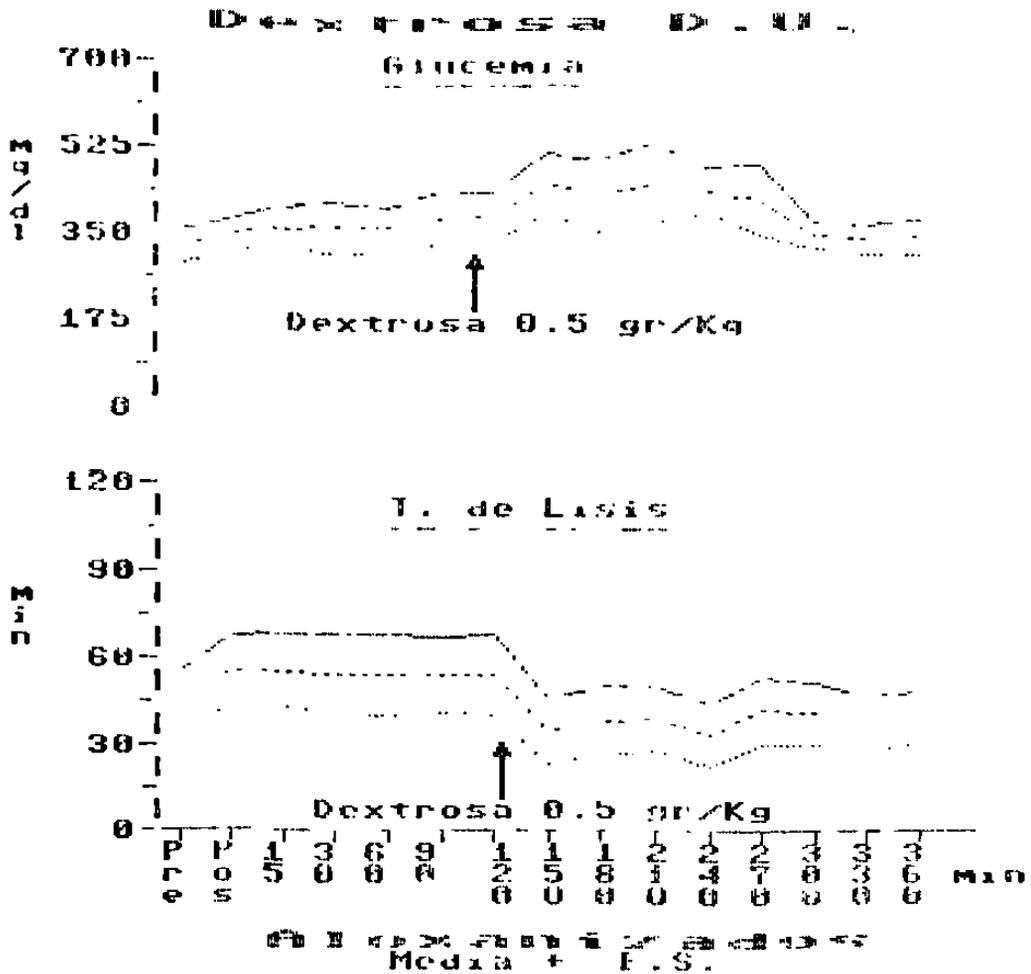


Fig. 15

Explicación de las coordenadas igual que en la Fig.6.
 La flecha indica, la administración de Dextrosa 0.5 gr/Kg.

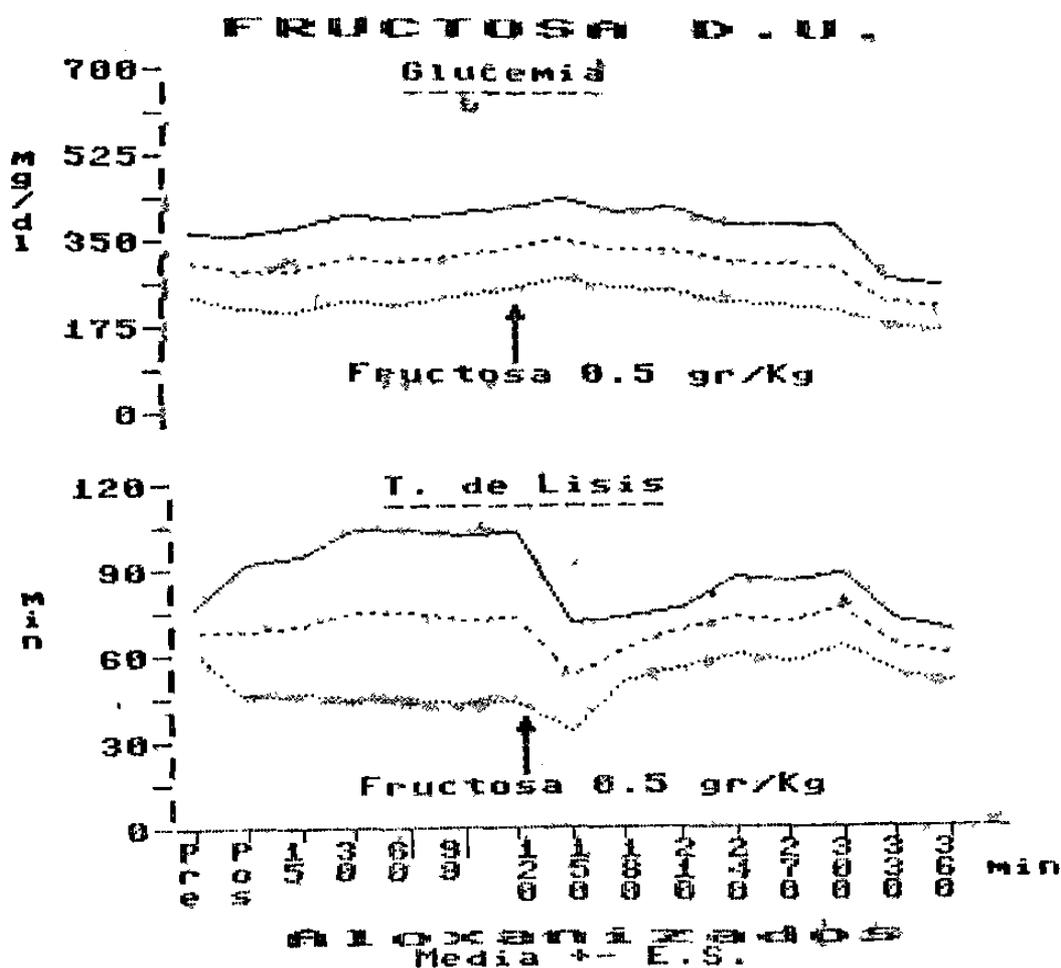


Fig. 16

Explicación de las coordenadas igual que en la Fig.6.
La flecha indica la administración de Fructosa 0.5 gr/Kg.

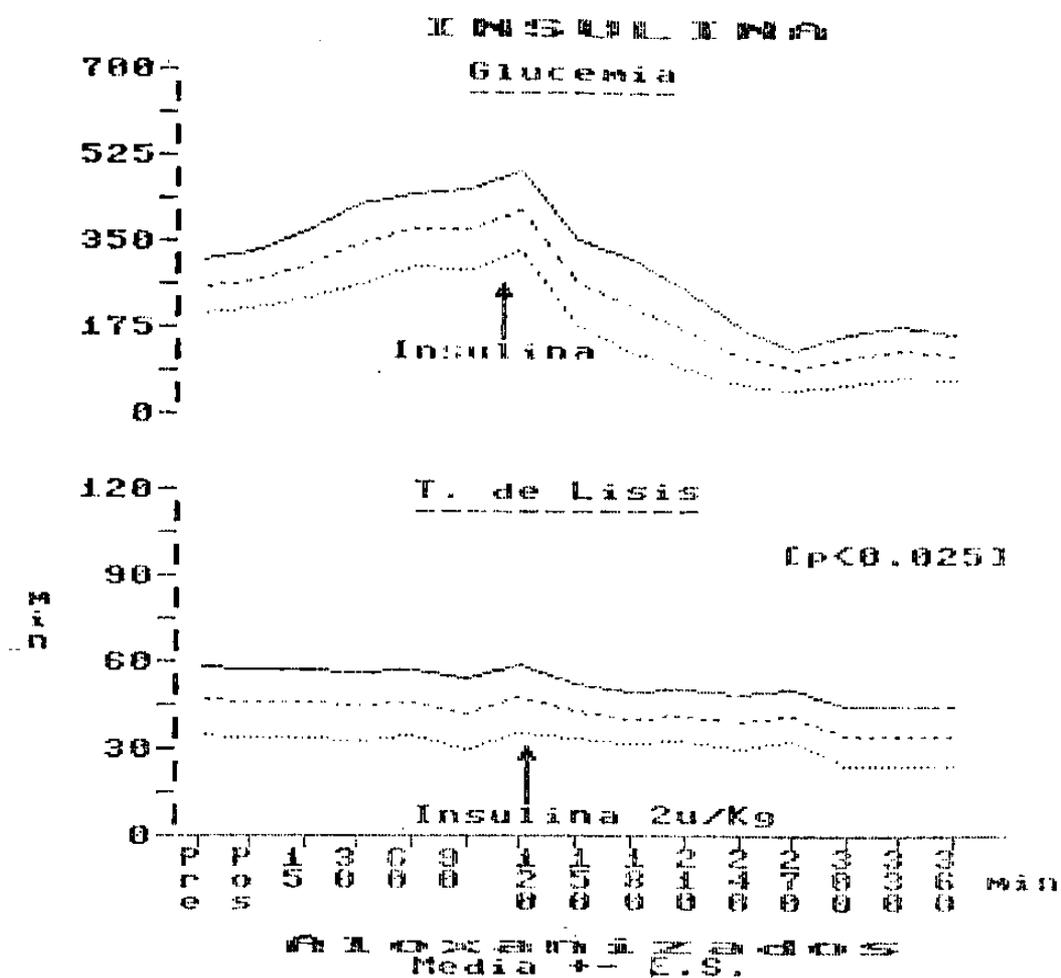


Fig. 17

Explicación de las coordenadas igual que en la Fig.6.
La flecha indica la administración de Insulina 2u/-
Kg.

DISTRIBUCION DE LOS VALORES BASALES DEL TIEMPO DE LISIS
DE EUGLOBULINAS EN PERROS NORMALES.

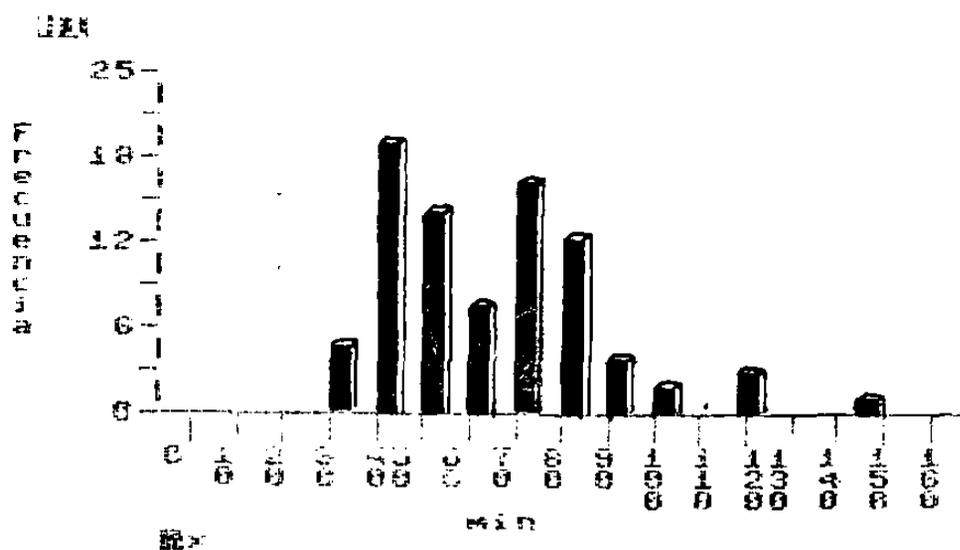


Fig. 18

T A B L A 4

COMPARACION DE VALORES INICIALES DEL TIEMPO DE LISIS DE EUGLOBULINAS

VALORES CONTROL (previos a aloxanización)	TIEMPO DE LISIS DE EUGLOBULINAS		GLUCEMIA	
	Media	E.S.	Media	E.S.
Normales	36.58	2.99	70.73	1.931
Aloxanizados. Total	46.96	3.78	80.30	2.83
" Diabéticos	57.55	6.86	75.33	3.63
" No Diabéticos	41.944	4.08	80.66	3.90

T A B L A 5

N o r m a l e s

	Respuesta 1	Respuesta 2
No.de Casos	43	9
%	82.69	17.21
Valor inicial de T.L.E. (min).	32.5 +3.52 E.S.	56.0 +6.5 E.S.

A l o x a n i z a d o s

	Respuesta 1	Respuesta 2
No.de Casos	6	19
%	24.0	76.0
Valor inicial de T.L.E. (min).	30.83 +15.94 E.S.	73.33 +13.66

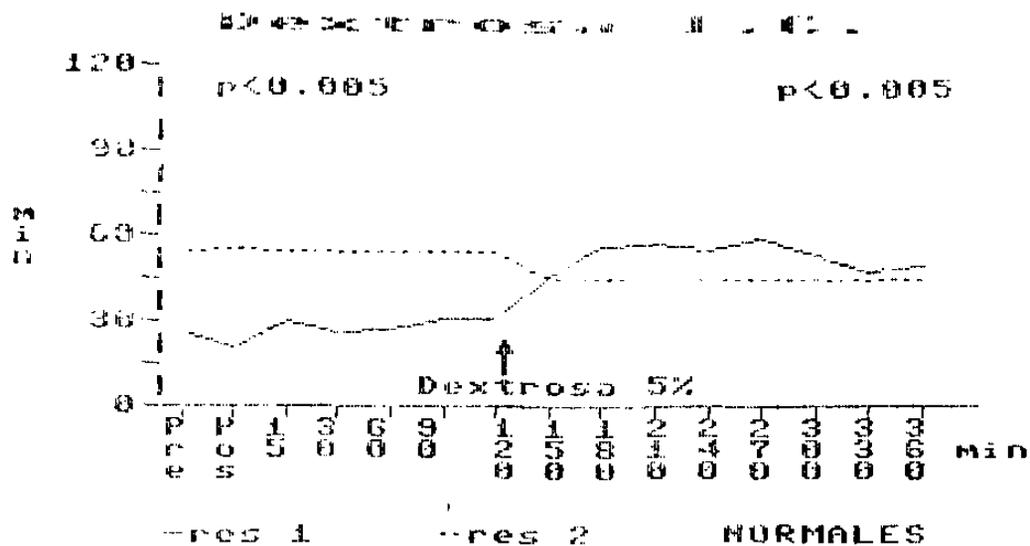


Fig. 19

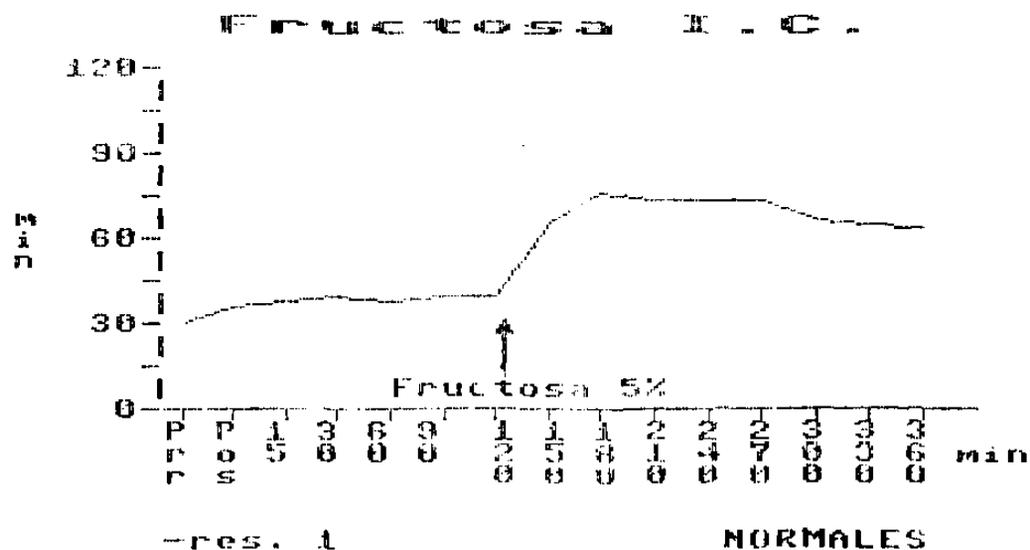


Fig. 20

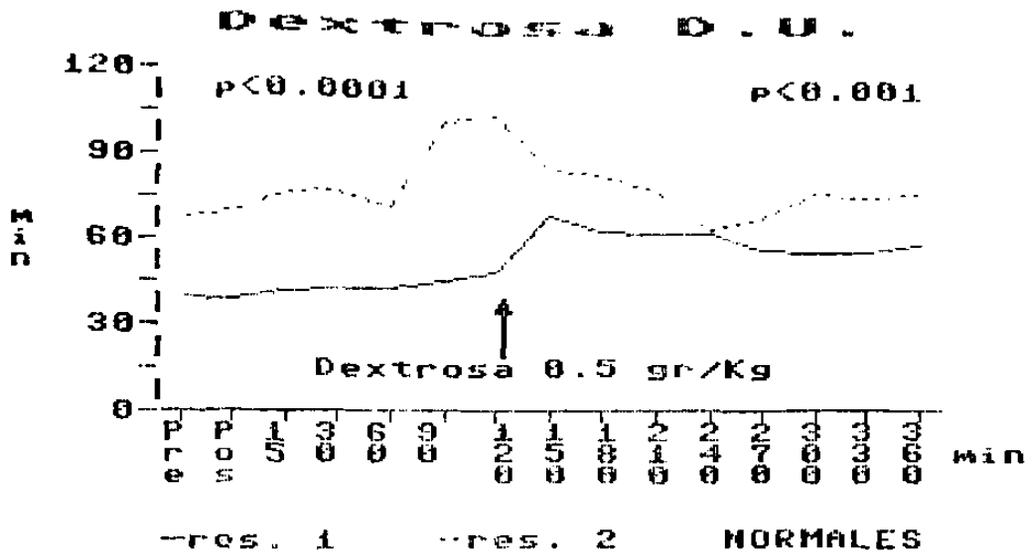


Fig. 21

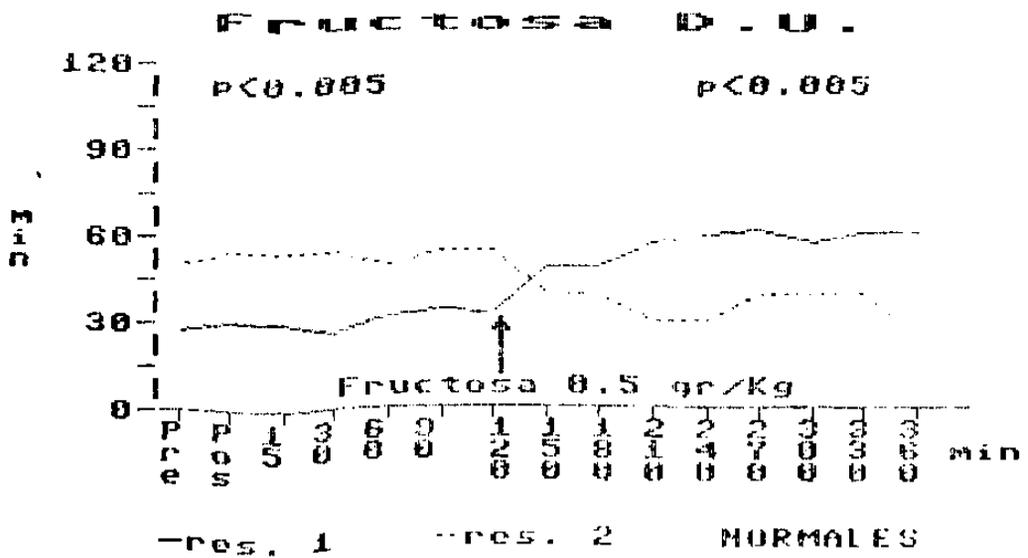


Fig. 22

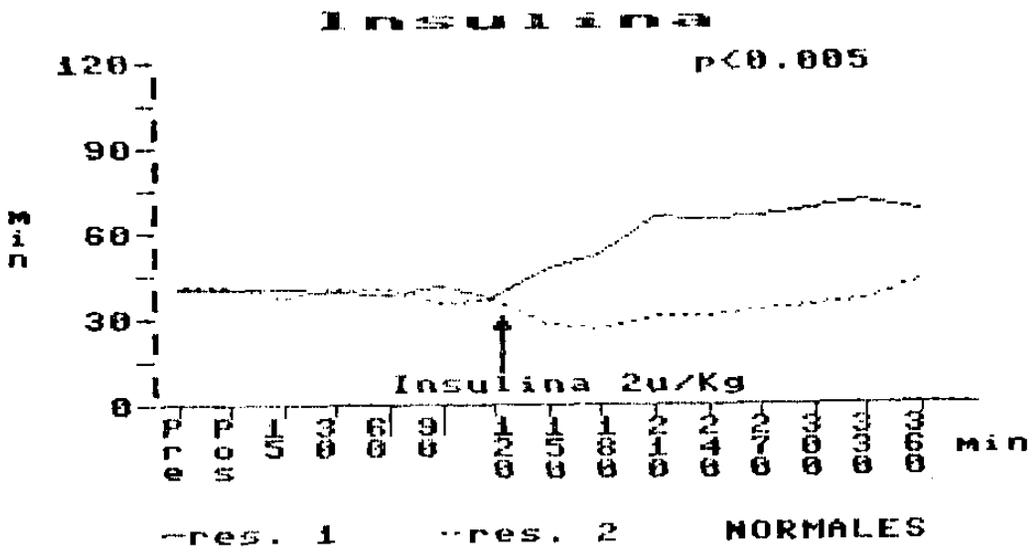


Fig. 23

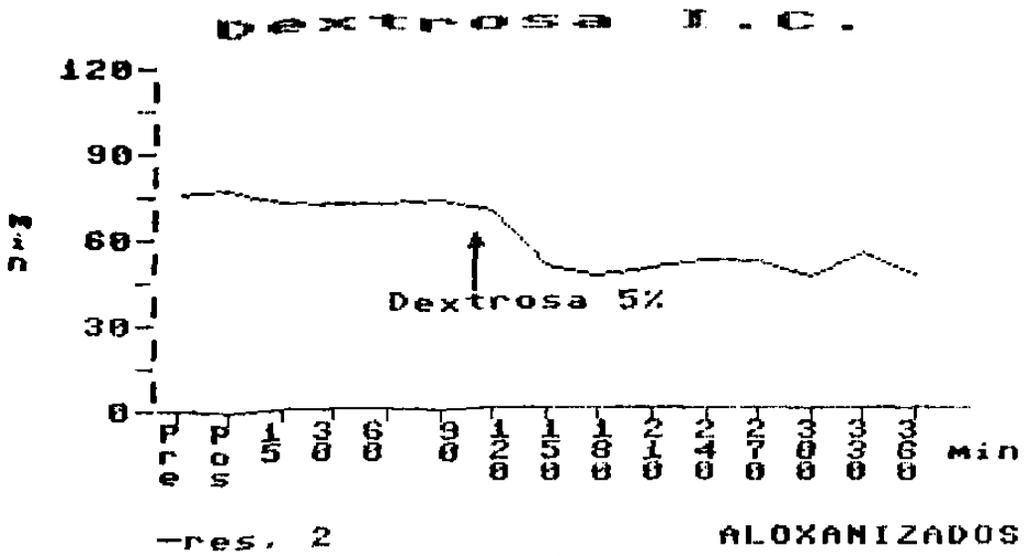


Fig. 24

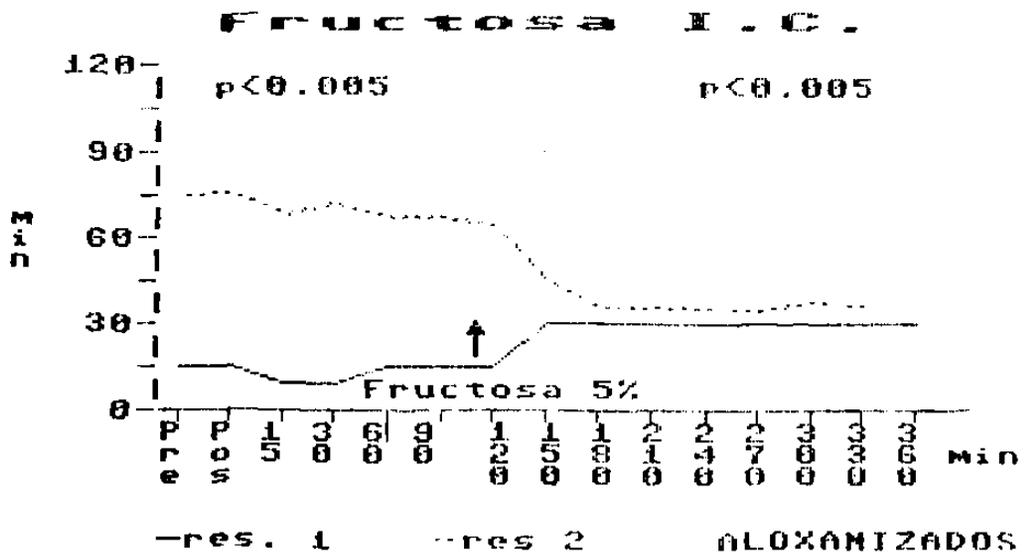


Fig. 25

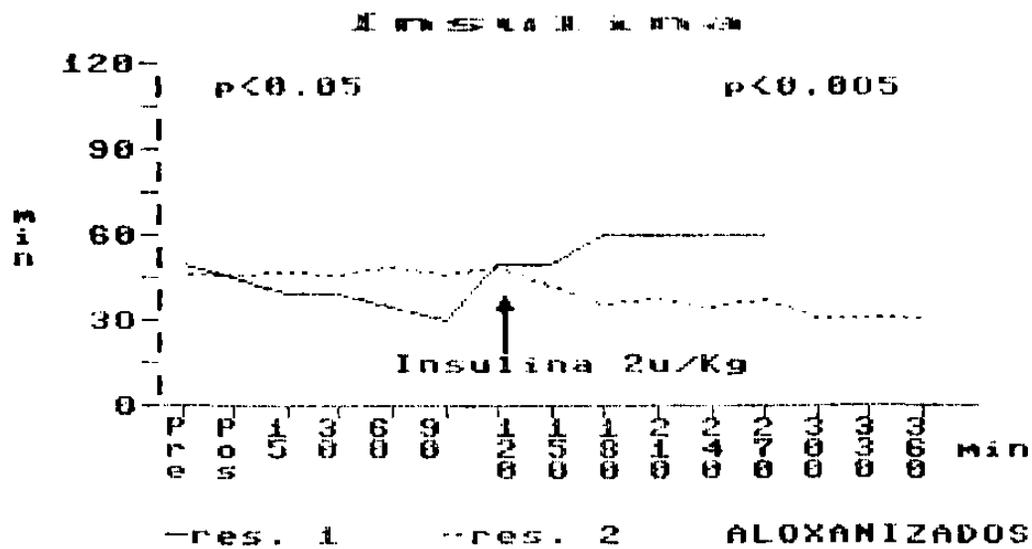


Fig. 28

TABLA 6

RESPUESTAS I Y II

GRUPOS NORMALES	RESPUESTA I		RESPUESTA II		"t" Student	P. < 0.005
	Media	No. Casos	Media	No. Casos/		
DEXTROSA INFUSION CONTINUA	p. control	27.971 (12)	55.107 (1)	17.733	P. < 0.005	
	p. exp.	53.486	45.0	4.896	P. < 0.005	
DEXTROSA DOSIS UNICA	p. control	42.751 (7)	81.071 (4)	6.107	P. < 0.001	
	p. exp.	60.444	75.469	4.764	P. < 0.001	
FRUCTOSA INFUSION CONTINUA	p. control	37.14 (7)	-	-	-	
	p. exp.	69.75	-	-	-	
FRUCTOSA DOSIS UNICA	p. control	30.707 (6)	53.571 (1)	14.888	P. < 0.005	
	p. exp.	57.496	35.625	6.976	P. < 0.005	
INSULINA DOSIS UNICA	p. control	40.021 (11)	39.567 (3)	0.450	-	
	p. exp.	63.319	33.329	8.079	P. < 0.005	

T A B L A 7

R E S P U E S T A S I Y II

GRUPOS ALOXANIZADOS	RESPUESTA I		RESPUESTA II	
	Medía	No. Casos	Medía	No. Casos
DEXTROSA INFUSION CONTINUA	p. control	-	73.42	(5)
	p. exp.	-	49.68	-
DEXTROSA DOSIS UNICA	p. control	28.92 (2)	74.02 (3)	33.393 $p < 0.005$
	p. exp.	40.0	44.35	1.005
FRUCTOSA INFUSION CONTINUA	p. control	22.33 (1)	53.91 (4)	6.019 $p < 0.005$
	p. exp.	30.0	37.47	5.786 $p < 0.005$
FRUCTOSA DOSIS UNICA	p. control	23.92 (2)	104.50 (3)	26.879 $p < 0.005$
	p. exp.	55.62	68.10	1.339
INSULINA DOSIS UNICA	p. control	41.42 (1)	47.14 (4)	1.848 $p < 0.05$
	p. exp.	58.00	35.44	0.8841 $p < 0.005$

t

DISCUSION Y CONCLUSIONES:

Al estudiar la respuesta del sistema fibrinolítico enzimático a las infusiones de dextrosa, fructosa e insulina en sujetos experimentales normales, encontramos en todos los casos una disminución de la actividad fibrinolítica. La dextrosa y la fructosa produjeron prolongaciones significativas en el tiempo de lisis, 85.21% y 143.15% respectivamente; en tanto que la insulina provocó un alargamiento de 42.84%, apenas ligeramente mayor que el encontrado en el grupo testigo: 39.81%.

Los cambios en la actividad fibrinolítica, mostraron correlación con los valores de glucemia, siendo ésta una relación directa en el caso de la dextrosa e inversa en el de la insulina. No se encontró dicha correlación en el caso de la fructosa, que indujo los cambios cuantitativamente más importantes en la fibrinolisis.

La depresión de la actividad fibrinolítica durante la hiperglucemia puede ser atribuída a la formación de productos Amadori por la Reacción de Maillard.

La glucosilación no enzimática (con formación de productos Amadori o productos finales de glucosilación avanzada, es un fenómeno ampliamente estudiado que afecta a diversas proteínas corporales (20 conoci

das hasta ahora) alterando sus propiedades funcionales (HbA_{1c}, insulina, fibrinógeno, fibrina, colágeno de la pared vascular, etc.). (40,41).

Brownlee, Vlassara y Cerami (42) reportaron en 1983 que la glucosilación no enzimática reduce la susceptibilidad de la fibrina a la degradación por plasmina in vitro, lo cual se traduciría en un alargamiento de los tiempos de lisis.

Esta resistencia a la degradación puede contribuir a la acumulación de fibrina y otras proteínas en los vasos sanguíneos y otros tejidos.

Más recientemente, éstos mismos autores (43) han planteado la tentadora hipótesis de que éstas reacciones, que culminan con la formación de enlaces cruzados - mismos que se encuentran en la estructura de las proteínas tisulares en las personas de edad avanzadas - son los responsables del endurecimiento y pérdida de elasticidad de los tejidos en la vejez (44). La diabetes ha sido frecuentemente descrita como un proceso de envejecimiento acelerado porque sus complicaciones - cataratas, rigidez muscular y arteriosclerosis son iguales a las que se observan en la vejez, con la sola diferencia de que se presentan más tempranamente.

De esta manera, la aparentemente poco reactiva -

glucosa, bien puede ser responsable de los fenómenos de deterioro presentes tanto en la senescencia como en la diabetes mellitus. Diversos experimentos in vitro, apuntan en esa dirección (43). Nuestros resultados en este grupo experimental son congruentes con dicho planteamiento.

La glucosilación no-enzimática consiste en el caso de la hemoglobina, en la formación del compuesto 1 amino 1 deoxi-fructosa y en la mayoría de las proteínas corporales, es descrita como la producción de amino-cetosas (45). Por tanto, es probable que la fructosa a través de los productos Amadori, actúe en forma semejante y sea aún mas reactiva que la glucosa lo cual nos explicaría que el grupo tratado con la cetohexosa haya mostrado una disminución de la fibrinólisis 58% mayor que el que recibió dextrosa.

Por constituir hasta un tercio de los carbohidratos en la dieta normal y su creciente uso como edulcorante sustituto en regímenes especiales y en la dieta del diabético, el potencial arteriosclerótico de la fructosa debe considerarse cuidadosamente.

La respuesta del Sistema Fibrinolítico a la glucosa y fructosa no ha sido reportada anteriormente en sujetos normales, por lo que nuestros hallazgos constituyen una contribución al establecimiento de las -

variaciones fisiológicas de la fibrinólisis.

La prueba de tolerancia a la insulina y su efecto en la actividad fibrinolítica en individuos normales rindió resultados diferentes en las dos investigaciones que nos anteceden en éste campo.

Ann Hedlin, (46) trabajando con voluntarios saludables encontró un aumento en la actividad fibrinolítica, según la prueba de lisis del coágulo en sangre diluída a los 30 minutos de la administración de la insulina (0.10-0.15 u/Kg. peso), en paralelo con una disminución de la glucemia del 30%.

Lassman y Back obtuvieron una importante disminución de la fibrinólisis para el tiempo de lisis de euglobulinas, utilizando ratas y perros tratados con insulina regular (5 u/Kg) (47).

Nuestros animales experimentales mostraron una leve tendencia a la disminución de actividad, la cual no fué significativa.

Los hallazgos de la Dra. Hedlin pueden explicarse considerando que la hipoglucemia produce liberación de catecolaminas y que éstas se encuentran elevadas 30 minutos después de que la insulina es inyectada (48).

El efecto en éste caso no es atribuible a la insulina sino a las hormonas liberadas por el estres hi-

pogluicémico. (46).

A dosis mayores como las del protocolo de Lassman y Back (47) y el nuestro, el efecto se encuentra desplazado al lado opuesto. Estos autores encontraron fibrinógeno, plasminógeno y antiplasminas estables y un aumento en la actividad del inhibidor ácido-lábil.

Este sería el responsable directo de la disminución de la fibrinólisis por insulina. En cuanto al mecanismo por el cual la hormona produce éste cambio, no puede por ahora, siquiera especularse.

Los resultados en el grupo de perros con diabetes aloxánica fueron notoriamente diferentes de los correspondientes al grupo normal. Los valores basales del tiempo de lisis de euglobulinas (no estimulado) presentaron una diferencia significativa ($p < 0.05$) entre ambos grupos. El tiempo medio de nuestros perros normales fué de 36.2 min.; éste valor resulta prácticamente igual que el obtenido por Gallimore et.al. (49). En cambio en los perros hipergluicémicos por aloxana se encontró un valor basal medio de 57.6 min. Sin embargo, el grupo diabético de referencia mostró un comportamiento con tendencia similar al normal ante la infusión de solución fisiológica, con una disminución de 17.83% en la actividad, versus 39.8% del grupo testigo normal.

La infusión continua de dextrosa, fructosa y la administración de la insulina produjeron en cambio, aumentos en la actividad fibrinolítica. El correspondiente acortamiento en el TLE en el caso de la dextrosa fué de 35.8% ($p < 0.025$), fructosa 17.7% ($p < 0.1$) e insulina 21.31% ($p < 0.025$). Los cambios en la glucemia consistieron en aumentos de 44.09% \pm 5.94% y disminución de 58.33% respectivamente, encontrándose una correlación directa fibrinólisis-glucemia tanto con la dextrosa como la fructosa.

Aquí, nos permitimos sugerir la existencia de un mecanismo compensatorio, el cual sería aparentemente dictado por las leyes de la homeostasia. Recuérdese que, de acuerdo primeramente con Claude Bernard (50) y posteriormente con Walter Cannon (51), la condición esencial y aparentemente paradójica de la homeostasia estriba en que, para que un organismo sea estable, debe estar constituido por elementos dinámicos, en otras palabras, debe ser capaz de responder a los cambios o ajustarse a ellos. En condiciones de salud así como en estados patológicos, la naturaleza, magnitud y dirección de las correcciones en el sistema de ajuste, estarán condicionadas por las características de la perturbación.

Así, en la diabetes mellitus un estado hipercoagu

lable ha sido ampliamente documentado. (52,55). Los reportes señalan consistentemente incrementos en las concentraciones de los factores I (56,57,58). V (56, 57), VIII-FVW (56), VII, X (57), IX y XII (56) y disminución de ATIII-heparina (58,59,60).

Por otra parte, se señalan cambios en los lípidos plasmáticos, membranas basales, células endoteliales, funciones plaquetarias (61,62,63) y viscosidad sanguínea (54), que se integrarían a la hipercoagulabilidad para ampliar el esquema de un estado potencialmente trombótico. Por tanto, las demandas para el mantenimiento de la hemostasia vascular, exigirían un incremento en la actividad fibrinolítica. En algunos de los parámetros antes mencionados, han sido reportadas alteraciones similares en la diabetes por aloxana (54).

Nuestros sujetos experimentales muestran una actividad basal pobre en comparación con el grupo normal, pero su respuesta al estrés hiper o hipoglucémico parece indicar un mecanismo de compensación que no existe en los sujetos con un cuadro hematológico y hemostático normal.

Los resultados encontrados por nosotros coinciden con los reportados por Hawthorn (31), Fearnley (26,-32), Badawi (33) y Almer (26), en cuanto a la acti

dad basal; con los de Tsapogas (27), y Hedlin (28) - en cuanto a la respuesta a una prueba de tolerancia a la glucosa y con los de Endo (30) en relación a la insulina. Pero consideramos que éste comportamiento, es decir, un aumento compensatorio en la actividad fibrinolítica en situaciones de estres muy probablemente corresponde solamente a las etapas iniciales del proceso.

Podría esperarse que tal mecanismo sea finalmente rebasado y la actividad fibrinolítica permanezca disminuída en el paciente con mayor evolución del padecimiento, por depleción del sistema.

Este razonamiento parece encontrar sustentación - en el comportamiento del grupo de perros con diabetes aloxánica, tratado con una carga de fructosa al 50% (0.5 gr./Kg), el cual al contrario de los otros grupos experimentales diabéticos, mostró una disminución de la actividad fibrinolítica, con una prolongación del TLE de 54.98 ± 55.4 %.

Lo anterior sugiere que la administración de una dosis masiva de la cetohexosa - con la consiguiente glucosilación protéica representa un reto que supera la capacidad compensatoria del sistema.

Una observación adicional surgió de estos estudios:

la presencia de dos tipos de respuesta, tanto en sujetos normales como en los diabéticos. La respuesta predominante, que he llamado tipo I, consiste en disminución de la actividad fibrinolítica ante las infusiones de prueba y se presenta en especímenes con actividad basal normal o alta. La menos frecuente, - que denominé respuesta II: se caracteriza por aumento en la actividad fibrinolítica, o ausencia de cambio ante las sustancias de prueba y se encontró en especímenes con actividad basal baja ("respondedores pobres"). La diferencia entre ambos grupos fué altamente significativa ($p < 0.05$ a $p' < 0.005$) en todos los casos.

Nos parece de particular interés, el hecho de que en el grupo normal, el 82.69% de los perros presentaron el comportamiento tipo I y solo el 17.31% el tipo II, mientras que en los animales diabéticos los porcentajes se invirtieron y el 24% presentaron la respuesta tipo I y el 76%, la respuesta tipo II.

Una deficiencia hemostática está por tanto, presente en ambos grupos, pero la alteración cuadruplica su frecuencia en los sujetos diabéticos. Este hallazgo coincide con el reporte de Tanser quien encontró que en un grupo de 24 pacientes, 12 presentaron actividad fibrinolítica pobre y 12 actividad normal-

(29): Los datos anteriores nos vuelven a ubicar ante los planteamientos de Brownlee, Cerami y Vlassara - (40): la glucosa y otros factores predisponentes podrían ser los inductores de la respuesta tipo II correlativa a la vejez precoz de los diabéticos y a la arteriosclerosis de los normoglucémicos.

Finalmente, es importante enfatizar el hecho de que varios autores han encontrado que algunas de las anomalías hemostáticas de la diabetes se exacerbaban en las crisis hipoglucémicas y en el coma diabético (65,66) y revierten durante la euglucemia y el control metabólico (67).

Esto nos lleva a plantear dos sugerencias: La primera de ellas es la necesidad de ahondar en la investigación del efecto que un control glucémico mas o menos estricto, puede ejercer sobre la fibrinólisis. Merece mención especial, el posible papel inhibitorio de las sulfonilureas sobre la actividad fibrinolítica y la participación de tal fenómeno en la controversial observación de una alta mortalidad por padecimientos cardiovasculares en los pacientes diabéticos tratados con éstos fármacos. (68).

La segunda sugerencia que nos permitimos hacer, - estriba en que dada la evidencia en torno a las alteraciones hemostáticas de la diabetes, se considere -

la alternativa de adoptar medidas profilácticas. La disminución de la actividad fibrinolítica plasmática ha demostrado ser un signo ominoso en relación a la enfermedad coronaria, infarto de miocardio y la supervivencia ante tales eventos. (32,71-73). La evaluación de la fibrinólisis en el control rutinario del paciente diabético podría convertirse en un parámetro útil para determinar el grado de riesgo de complicaciones tromboembólicas y en caso necesario dictar las medidas farmacológicas adecuadas al caso.

Bertrand Russel señaló en cierta ocasión que la ciencia siempre se equivoca: nunca soluciona un problema sin crear diez más.

No discutiremos la primera parte de su aseveración.

No en balde Mario Bunge ha llamado al espíritu científico: "La cosa rara", "un hombre que medita y ayuna. Tiene visiones, intenta probar que son erradas y no se enorgullece cuando no lo consigue".

En cuanto a la segunda, solo cabe mencionar que, en el caso de esta investigación, efectivamente surgieron por lo menos diez interrogantes.

A la persona que nos ha obsequiado con la paciencia suficiente para llegar hasta éste renglón, le expresamos nuestro deseo de que la próxima vez que nos leamos, sea con la solución a uno de esos diez nue--

vos planteamientos. Porque para la mayoría de los involucrados en el quehacer de la investigación, - la esencia de la misma es, precisamente, su inconclusividad.

CAPITULO V

RESUMEN.

El presente modelo experimental fué diseñado para explorar la respuesta fibrinolítica a la dextrosa, -fructosa e insulina en perros normales y en perros - con diabetes por aloxana.

En los especímenes normales, la respuesta consistió en una disminución de la actividad fibrinolítica en todos los casos, con significancia estadística en los tratamientos de dextrosa y fructosa en infusión-continua; los máximos decrementos se obtuvieron con la cetohexosa. Una alta correlación fué observada - entre la glucosa y los valores de lisis en los sub--grupos que recibieron dextrosa e insulina.

Los especímenes diabéticos respondieron con un aumento en la fibrinolisis con excepción del subgrupo- tratado con fructosa en dosis única, en el cual se - apreció disminución de la actividad fibrinolítica.- Los cambios inducidos por la dextrosa e insulina fueuron significativos, encontrándose una alta correlación glicemia-fibrinolisis en los subgrupos que reciibieron dextrosa y fructosa.

Tanto en los especímenes normales como en los diaubéticos se observaron dos comportamientos a los cuaules se denominó respuestas I y II. La respuesta I - es la predominante en el grupo normal y consiste en

una disminución de la fibrinólisis que se presenta en sujetos con valores basales normales de actividad fibrinolítica. En el grupo diabético la respuesta predominante es la llamada tipo II que consiste en un aumento de la fibrinólisis en sujetos con actividad basal "pobre". Este último comportamiento parece corresponder a un mecanismo compensatorio.

Nuestros resultados sugieren que un papel importante en la fisiopatología de los padecimientos vasculares es desempeñado por la interrelación glucemia-fibrinólisis, tanto en los sujetos diabéticos como en los normoglucémicos.

CAPITULO VI

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS:

- 1.- Dastré, A.: Fibrinolyse dans le sang. Archives - de Physiologie Normale et Patologique, 5: 661-663, 1893., citado por: Marsh, N.A.³
- 2.- Tocantins.: citado por Miale, J.B., Laboratory - Medicine Hematology, C.V. Mosby, San Luis, Missouri, 1977, p. 888.
- 3.- Marsh, N.A.: Fibrinolysis, New York, New York, - John Wiley and sons, 1981, pp. 1-17.
- 4.- Esnouf, M.P.: Biochemistry of coagulation, Recent Advances in Hematology, A.V., Hoffbrand Churchill Livingstone, 1982, pp.285-298.
- 5.- Thompson, A.R. y Harker, L.A.: Hemostasia y Trombosis, México,D.F., El Manual Moderno, 1985, pp.-33-38.
- 6.- Rosenberg, R.D. y Bauer, K.A., New insights into the hipercoagulable states., Hospital Practice,- pp. 131-147, 1986.
- 7.- Collen, D.: On the regulation and control of fibrinolysis. Thrombosis and Haemostasis, 43: - 77-89, 1980.
- 8.- Collen, D.: Inhibitors of fibrinolysis, Fibrinolysis, Boca Ratón, Florida, 1980, pp.130-144.

- 9.- Astrup, T.: Fibrinolysis: An overview, Progress in Chemical Fibrinolysis and Thrombolysis, New - York, New York, Raven Press, Vol.3, 1978, pp.1-57.
- 10.- Murano, G. y Bick, R.L.: Basic concepts of he--mostasis and thrombosis: Clinical and Laboratory Evaluation of Thrombohemorrhagic Phenomema, CRC-Press, Boca Ra^on, Florida, 1980, pp. 61-78.
- 11.- Fearnley, G.R., Balmforth, G., y Fearnley, E.: - Evidence of a diurnal fibrinolytic rhythm: with a simple method of measuring natural fibrinolysis, Clinical Sciences, 16: 645-650, 1957.
- 12.- Cepelák, V., Barcal, R., Cepeláková, H. y Mayer, O.: On Thrombolysis, New York, New York, Raven Press, 1978, pp. 571-578.
- 13.- Chakrabarti, R., Meade, T.W., North, W.R.S. y - Stirling, Y.: Fibrinolytic activity in an indus-trial population, Progress in Chemical Fibrinoly-sis, New York, New York, Raven Press, 1978, pp.-571-578.
- 14.- Marsh, N.A.: Fibrinolysis, New York, New York, - John Wiley and sons, 1981, pp.105-107.
- 15.- Pappenhagen, A.R., Koppel, J.L. y Olwin, J.H.: - Observations on the in vitro effects of chилоmi-cra low-density lipoproteins and phospholipids -

- on human plasma euglobulin lysis, *Thrombosis et Diathesis Haemorrhagica*, 9: 164-174, 1963.
- 16.- Goldrick, R.B.: Fibrinolysis, blood clotting serum lipids and body build in native of New Guinea and Australians, *Australasian Annals of Medicine*, 10: 20-28, 1961.
- 17.- Grace, C.S. y Goldrick, R.B.: Fibrinolysis and body build. Inter-relationships between blood - fibrinolysis, body composition and parameters - of lipid and carbohydrate metabolism, *Journal of Atherosclerosis Research*, 8: 705-719, 1968.
- 18.- Nolf, P.: Contribution o l'étude de la coagulation du sang, La fibrinolyse *Archives Internationales de Physiologie*, 6:306-359, 1908.
- 19.- Guest, M.M.: Circulatory effects of blood clotting fibrinolysis and related hemostatic processes, *Handbook of Physiology Circulation III*: 220-2248, 1970.
- 20.- Naimi, S., Goldstein, R., y Proger, S.: Studies of coagulation and fibrinolysis of the arterial and venous blood in normal subjects and patients with atherosclerosis, *Circulation*, XXVII: 904-918, 1963.
- 21.- Astrup, T.: The biological significance of fi--

- brinolysis, *Lancet*, ii: 565-568, 1956.
- 22.- Ross, J.: Blood coagulation as a continuous process, *Thrombosis et Diathesis Haemorrhagica*, - 1: 471-481, 1956.
- 23.- Copley, A.: Fibrinolysis and atherosclerosis, - *Lancet*, i, 102-103, 1957.
- 24.- Fearnley, G.R.: A concept of natural fibrinolysis, *Lancet*, ii, 992-994, 1961.
- 25.- Moroz, L.A.: Normal blood fibrinolytic activity, its mandatory existence and role in intravascular hemostasis, *Thrombosis Research*, 18: 585-588, 1980.
- 26.- Fearnley, G.R., Vicent, C.T., y Chakrabarti, R.: Reduction of blood fibrinolytic activity in diabetes mellitus by insulin, *Lancet*, i: 1067, 1959.
- 27.- Tsapogas, M.J., Cotton, L.T., Flute, P.T. y Murray, J.G.: The effects of chlorpropamide on intermittent claudication and fibrinolysis, *Lancet* iii, 1213-1215, 1962.
- 28.- Hedlin, A.M.: Insulin and blood fibrinolytic activity, *Thrombosis et Diathesis haemorrhagica*, 29: 293-299, 1973.
- 29.- Tanser, A.R.: Fibrinolytic response to oral -

- glucose, *Lancet*, ii, 147-148, 1966.
- 30.- Endo, K.: Blood fibrinolytic activity in diabetics before and after treatment, *The Journal of Japanese Society of International Medicine*, 59: 16, citado por: Hedlin, A.M.²⁸
- 31.- Hathorn, M.G., Gillman, T., y Campbell, G.D.: - Blood lipids, mucoproteins, and fibrinolytic activity in diabetic indians and africans in Natal, *Lancet*, iii, 1314-1318, 1961.
- 32.- Fearnley, G.R., Chakrabarti, R., y Avis, P.P.D. Blood fibrinolytic activity in diabetes mellitus and its bearing on ischaemic heart disease and obesity, *British Medical Journal*, 1: 921- - 923, 1963.
- 33.- Badawi, H., El-Sawy, M., Nomeir, A.M. y Tewfik, S.: Platelets, Coagulation and Fibrinolysis in Diabetics and Non-Diabetic Patients with quiescent coronary heart disease, *Angiology*, 121: - 511-519, 1970.
- 34.- Almer, L.O. y Pandolfi, M.: Fibrinolysis and - Diabetic Retinopathy, *Diabetes*, 25: 807-810, - 1976.
- 35.- Cash, J.D. y McGill, R.C.: Fibrinolytic response to moderate exercise in young male diabetics

- and non diabetics, *Journal of Clinical Pathology*, 22: 32-35, 1969.
- 36.- Grignani, F., Gamba, G., Geraldi, D., Pacchiarini, L., Solerte, B., Ferrari, E., y Ascari, E.: Enhanced Antithrombotic mechanisms in patients with maturity-onset diabetes mellitus without thromboembolic complications, *Thrombosis and Haemostasis*, 46: 648-651, 1981. citado por: Greaves, M., y Preston, F.E.⁵³.
- 37.- Denborough, M.A., Paterson, B.: Clearing factor, fibrinolysis and blood lipids in diabetes mellitus, *Clinical Sciences*, 23: 485-488, 1962.
- 38.- Moser, K.M. y Hajjar, G.C.: Age and disease related alterations in fibrinogen-euglobulin (fibrinolysis) behavior, *The American Journal of The Medical Sciences*, 251: 536-544, 1966.
- 39.- Jansen, J.W. y Olieberg, H.H.: The influence of several anaesthetics on the Diluted Blood Clot Lysis Test (DBCLT) of the rat, *Haemostasis, 7th. International Journal of Haemostasis and Thrombosis Research; 7th. International Congress on Fibrinolysis, Venezia, Italy, Medical and Scientific Publishers, 1984, p.63.*
- 40.- Calles-Escandón, J., Ruiz-Arquelles, G.L., -

- Padrós Semorile, M.G., Lanzatti-de Peschard, -
Cordova, M. y Lozano, O.: Fibrinogen glucosyla-
tion in human diabetes mellitus, Blood, 58: -
385-432, 1981.
- 41.- Ruiz Arguelles, G.L., Calles-Escandón, J., -
Padrós Semorile, et.al.: Hemostasia y Glucosi-
lación protéica, Sangre, 28: 164-178, 1983.
- 42.- Brownlee, M., Vlassara, H., y Cerami, A.: No--
enzymatic glucosylation reduces the suceptibi-
lity of fibrin to degradation by plasmin, Dia-
betes, 32: 680-684, 1983.
- 43.- Cerami, A., Vlassara, H. y Brownlee, M.: Glu-
cosa y envejecimiento, Investigación y Ciencia,
130: 52-59, 1987.
- 44.- Brownlee, M. y Cerami, A.: The biochemistry of
the complications of diabetes mellitus, Ann. -
Rev. Biochemistry, 50: 385-432, 1981.
- 45.- Brownlee, M.: Microvascular disease and rela--
ted abnormalities: Their relation to control -
of diabetes, Joslin's Diabetes Mellitus, Phila-
delphia, Lea & Febiger, 1986, pp.110-137.
- 46.- Hedlin, A.M.: Insulin and blood fibrinolytic -
activity, Thrombosis et Diathesis Haemorrhagica,
29: 293, 1973.

- 47.- Lassman, H.L. y Back, N.: Biochemical pharmacology of the fibrinolysis system of the rat. - II. The effect of insulin-induced hypoglycemia, The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 189: 327-332, 1974.
- 48.- Biggs, R., Mac Farlane, R.G. y Pilling, J.: - Observations on fibrinolysis. Experimental activity produced by exercise or adrenaline, - Lancet,iii, 402-405, 1947.
- 49.- Gallimore, M.J., Nulkar, M.V. y Shaw, J.T.B.C.: A comparative study of the inhibitors of fibrinolysis in human, dog and rabbit blood, Thrombosis et diathesis haemorrhagica, 14: 145-158, 1965.
- 50.- Bernard, B.: An introduction to the study of - experimental medicine, New York, New York, - Mac Millan, 1957.
- 51.- Cannon, W.B.: The wisdom of the body, New York, New York, Norton, 1939.
- 52.- Jones, R.L., Peterson, C.M.: Hematological alterations in diabetes mellitus, American Journal of Medicine, 70: 339, 1981.
- 53.- Greaves, M. y Preston, F.E.: Haemostatic abnormalities in diabetes, Diabetes and heart disea

- se, Elsevier Science Publishers, 1984, pp. -
47-80.
- 55.- Kern, T.S., Engerman, R.L.: Platelet aggregation
in experimental diabetes and experimental galac-
tosemia, *Diabetes*, 33: 846-850, 1984.
- 56.- Egeberg, O.: The blood coagulability in diabe--
tic retinopathy, *Scandinavian Journal of Clinici--*
cal Laboratory Investigation, 15: 533, 1963.
- 57.- Fuller, J.H., Keen, H., Jarret, R.U., Omer, T.,
Meade, T.W., Chakrabarti, R., North, W.R. y -
Stirling, Y.: Haemostatic variables associated -
with diabetes mellitus and its complications, -
British Medical Journal, pp. 964-966, 1979.
- 58.- Banerjee, R.N., Sahani, A.L., Kumar, V., y Arya,
M.: Antithrombin III deficiency in maturity -
onset diabetes mellitus and atherosclerosis, -
Thrombosis et Diathesis haemorrhagica, 31: 339-
345, 1974.
- 59.- Brownlee, M., Vlassara, H. y Cerami, A.: Inhibi-
tors of heparin-catalized human antithrombin -
III activity by nonenzymatic glycosylation. -
Possible role in fibrin deposition, *Diabetes*, -
33: 532-535, 1984.
- 60.- Monnier, L., Folley, G. y Mirouze, V.: Anti--

- thrombin III deficiency in diabetes mellitus: -
Influence on vascular degenerative complications,
Hormone and Metabolism Research, 10: 470-473, -
1978.
- 61.- Colwell, J.A., Haluska, P.V., Sarji, K., Levine,
J., Sagel, J. y Nair, R.: Altered platelet function
in diabetes mellitus, Diabetes, 25: 826- -
831, 1976.
- 62.- Campbell, I.W., Dawes, J., Fraser, D.M., Pepper,
D.S., Clarke, B.F., Duncan, J.P., y Cash, J.D.:
Plasma B-Thromboglobulin in diabetes mellitus,-
Diabetes, 26: 1175-1177, 1977. .
- 63.- Kwaan, H.C., Colwell, J.A., Cruz, N., Suwanella,
N. y Dobbie, J.G.: Increased platelet aggregation
in diabetes mellitus, Journal of Laboratory
Clinical Medicine, pp. 236-246, 1972.
- 64.- Almer, L.O., Nilsson, I.M.: Of fibrinolysis in
diabetes mellitus, Acta Medica Scandinavica, -
198: 101, 1975.
- 65.- Dalsgard-Nielsen, J., Madsbad, S., Hilsted, J.:
Changes in platelet function, blood coagulation,
and fibrinolysis during insulin induced hypogluce
mia in juvenile diabetics and normal subjects,
Thrombosis and Haemostasia, 47: 254, 1982.

- 66.- Gamba, G., Pacchiarini, L., Grignani, G., Longoni, P., Galetti, V.: Behavior of the fibrinolytic system in non-insulin dependent diabetic patient with thromboembolic complications, International Journal on Haemostasis and Thrombosis Research; 7th International Congress on Fibrinolysis, Venezia, Italy, Medical and Scientific Publishers, 1984.
- 67.- Geiger, M., Bratusch-Marrain, P., Binder, B.R.: Functional properties of plasminogen and the vascular plasminogen activator isolated from a diabetic patient before and after normalization of metabolic parameters, International Journal of Haemostasis and Thrombosis Research, 7th. International Congress on Fibrinolysis, Venezia, Italy, Medical and Scientific Publishers, 1984.
- 68.- University Group Diabetes Program: A study of the effects of hypoglucemic agents on vascular complications in patients with adult-onset diabetes: II.- Mortality results, Diabetes, 19: 785-830, 1970.
- 69.- Cepelák, V. y Cepeláková, H.: Fibrinolytic activity and prognosis of myocardial infarction., Progress in Fibrinolysis and Thrombolysis, -

New York, New York, Raven Press, 1975.

- 70.- Chakrabarti, R., Fearnley, G.R., Hocking, E.D., Delitheos, A. y Clarke, G.M.: Fibrinolytic activity related to age in survivors of myocardial-infarction, *Lancet* i: 573, 1966.
- 71.- Chakrabarti, R., Hocking, E.D., Fearnley, G.R., Mann, R.D., Attwell, T.N., Jackson, D.: Fibrinolytic activity and coronary artery disease, *Lancet*,iii, 987-990, 1968.
- 72.- Dunn, J.S., Sheehan, H.L., y McLetchie, N.G.B.: Necrosis of the islets of Langerhans produced - experimentally, *Lancet*, i, 484, 1943.
- 73.- Bailey, C.C.: Alloxan diabetes, Vitamins, and - Hormones, 7: 365-382, 1949.
- 74.- Okamoto, K.: Experimental production of diabetes, *Diabetes Mellitus, Theory and Practice*, - New York, New York, Mc Graw Hill, 1970, pp. 230 255.
- 75.- Mordes, J.P. y Rosino, A.A.: Animal models of - diabetes mellitus, *Joslin's Diabetes Mellitus*, - Philadelphia, Lea & Febiger, 1985, pp. 110-137.
- 76.- Meglasson, M.D., Burch, P.T., Berner, D.K., Najafi, H. y Matscinsky, F.M.: Identification of glucokinase as an alloxan-sensitive glucose -

- sensor of the pancreatic B-cell, *Diabetes*, 35: 1163-1173, 1986.
- 77.- Goldner, M.G. y Gomori, G.: *Endocrinology*, 33: 297, 1943.
- 78.- Holbrooke, S.: *Diagnosis of diabetes, Diabetes Mellitus*, New York, New York, Mc Graw-Hill, - 1970, pp.469.
- 79.- Jarret, J.T., Keen, H., Hardwick, C.: Instant-blood sugar measurement using Dextrostix and a reflectance meter, *Diabetes*, 19: 724-726, 1970.
- 80.- Kaula, K.N., Von and Schultz, R.L.: Methods - for the evaluation of human fibrinolysis, *American Journal of Clinical Pathology*, 129: 104-112, 1958.
- 81.- Marsh, N.: *Fibrinolysis*, New York, New York, - Ed. John Wiley & Sons, 1981, pp. 208-212.
- 82.- Preston, F.E.: Automated euglobulin clot-lysis time., *Progress in Chemical Fibrinolysis and Thrombolysis*, New York, New York, Raven Press, 1976, pp. 25-30.
- 83.- Kaula, K.N., Von and Kaula E.Von: Remarks on the euglobulin lysis time, *Progress in Chemical Fibrinolysis and Thrombolysis*, Vol.2 New York-New York, Raven Press, 1975.

- 84.- Conard, J.: Plasma plasminogen activator clot-
lysis. Assay Techniques, Progress in Chemical
Fibrinolysis and Thrombolysis, Vol. 2, New -
York, New York, Raven Press, 1976, pp. 15-23.
- 85.- Blix, S. (1961): Studies on the fibrinolytic -
system in the euglobulin fraction of human -
plasma. A.- Methodologic study. B.- Applica--
tion of the methods, Scandinavian Journal of -
Clinical Laboratory and Investigation, Suppl,-
12: 58, citado por: Kline, D.L. y Reddy, K.N.N.
Fibrinolysis, Boca Ratón, Florida, C.R.C. Press,
1980.
- 86.- Bonie, E.J., Thompson, J.H., Didisheim, P., -
Owen, C.A.: Mayo Clinic Laboratory Manual of -
Hemostasis, Philadelphia, W.B. Saunders, 1971 -
pp. 137-139.
- 87.- Kluft, C., Brakman, P., Veldhuyzen-Stolk, E.C.:
Screening of fibrinolytic activity in plasma -
euglobulin fractions on the fibrin plate. Pro-
gress in Chemical Fibrinolysis and Thromboly--
sis, Vol. 2, New York, New York, Raven Press,-
1976, pp. 57-65.
- 88.- Lehninger, A.L.: Las bases moleculares de la -
estructura y función celular, Barcelona, Omega,
S.A., 1978.

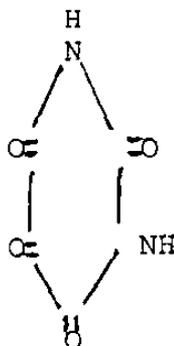
- 89.- Gómez Leal, A.: Manual de Técnicas de Patología Clínica, Monterrey, N.L., 1984.
- 90.- Marsh, N. (1981): Fibrinolysis, New York, New York, John Wiley and Sons, 1981, p. 209.
- 91.- Preston, F.E.: Automated euglobulin clot-lysis time. Progress in Chemical Fibrinolysis and Thrombolysis, New York, New York, Raven Press, 1976, pp. 25-55.

APENDICE A

PRODUCCION EXPERIMENTAL DE DIABETES.

DIABETES QUIMICA POR ALOXANA.

(2,4,5,6
Tetraoxihexa
Pirimidina).



En 1943, Dunn, et.al.(72), descubrieron que la administración de aloxana en el conejo causaba hiperglucemia temporal, seguida por hipoglucemia profunda y estado diabético permanente en los animales sobrevivientes.

Estudios posteriores explicaron que la respuesta - trifásica se debe a glucogenolisis inducida por adrenalina, seguida por liberación de insulina preformada de las células beta en proceso de necrosis y finalmente - instalación del estado insulino-privo por reducción o desaparición de las células beta de los islotes. (73)

La aloxana actúa selectivamente sobre las células - beta; los hallazgos histopatológicos muestran que inicialmente produce picnosis nuclear, degeneración después de 30 minutos y desintegración celular a las 12 -

horas de la inyección. Las células desintegradas forman una masa necrótica que es reabsorbida a las 48 horas. Posteriormente, solo se encuentran células alfa. (73).

Aunque no existe una explicación definitiva para la alta toxicidad selectiva, es probable que ésta se produzca a través del agotamiento de grupos sulfhidrilo, quelación del zinc intracelular e interferencia con varios procesos enzimáticos, como la inactivación de la ATPasa glucosensible (glucocinasa) de la membrana de las células beta. (74-76). Este modelo corresponde a una diabetes insulino dependiente (tipo I.).

La dosis diabetógena varía según la especie; en el perro se produce diabetes con una dosis de 70 mg/Kg - en solución acuosa inyectada en un tiempo máximo de 5 minutos I.V. o I.A. (77) Nuestro porcentaje de éxitos fue de 45.45 (n = 15) de un total de 33 animales aloxanizados. Los perros crónicos fueron tratados con insulina regular de acción rápida (Lilly, 1 u/Kg) S.C., cada 48 horas.

Los animales diabéticos fueron llevados a la fase experimental entre 8 y 10 días después de la instalación de hiperglucemia y mostraron una supervivencia de hasta 5 meses.

APENDICE B

SISTEMA DEXTROMETRO-DEXTROSTIX.

(Para determinación de glucosa sanguínea).

Requiere de la aplicación de una gota de sangre al extremo de una tira reactiva impregnada con una mezcla de glucosa oxidasa-peroxidasa y desarrollador de color y cubierta con una membrana semipermeable.

La tira se lava al cabo de 60 segundos y se lee inmediatamente.

El Dextrómetro es un fotómetro de refractancia que cuantifica el color desarrollado durante las reacciones químicas y lo registra en la pantalla digital del instrumento que va de 0 hasta 400 mg/dl. Cuando la glucemia excede los 400 mg/dl. se repite la determinación, realizando la lectura a los 30 segundos y do-blando el resultado directo. (78)

Los resultados obtenidos con éste sistema han proporcionado un alto coeficiente de correlación con el autoanalizador ($r = 0.98$). (79)

Las determinaciones de glucosa sanguínea en la última fase de la etapa 2 y la totalidad de la etapa 3 de éste proyecto fueron llevados a cabo por duplicado usando también el método de Ortotoluidina.

Nuestras pruebas de correlación entre ambas técnicas se anexan en la siguiente hoja. (Fig.29).

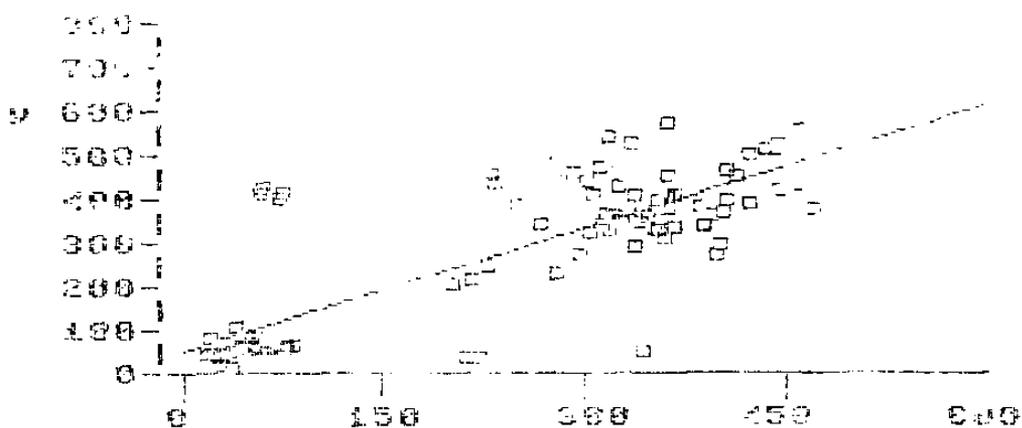


Fig. 29

Constante: 53.961

Coef. grado 1: 0.956

Coef. de determinación (r²):
0.670

Valor de F: 198.853

D.F.N. 1

D.F.D. 98

Error Standard: 102.941

Durbin-Watson: 0.825

Coef. de correlación: 0.818

APENDICE C

ANTECEDENTES:

METODO DE LISIS DE EUGLOBULINAS

El método fué sugerido inicialmente por Mc Farlane y Pilling en 1946 según cita de Von Kaulla (80) quién desarrolló y perfeccionó la técnica. La publicación inicial se basaba en la observación de que hay una disolución espontánea del coágulo proveniente de una fracción de globulinas precipitadas con ácido acético. El primer reporte de Van Kaulla se publicó en 1955. La modificación de Conard, que se utiliza aquí, en 1976 (84).

PRINCIPIO

La determinación se basa en la precipitación iso-eléctrica (81) de la fracción de euglobulinas del plasma que comprende todos los factores esenciales para la coagulación y la fibrinólisis y elimina la mayor parte de la actividad anti-plasmínica.

La adición de trombina al precipitado resulta en la formación de un coágulo cuya disolución es llevada a cabo por los agentes fibrinolíticos presentes. (Fig.30).

El contenido de plasminógeno, activadores del plasminógeno y fibrinógeno es por tanto, inversamente proporcional al tiempo de disolución.

Esta prueba es una medición sistémica del mecanismo fibrinolítico, pero en la actualidad se le conside

TIEMPO DE LISIS DE EUGLOBULINAS

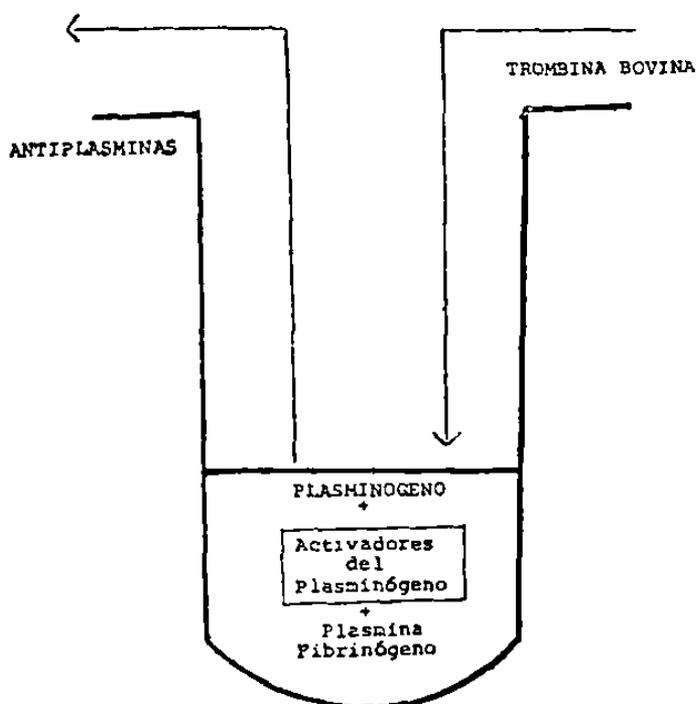


Fig. 30

La adición de trombina al precipitado resulta en la formación de un coágulo cuya disolución es - llevada a cabo por los agentes fibrinolíticos - presentes.

ra particularmente útil en la evaluación de los activadores de la lisis del coágulo (81). (Fig. 31).

"Una gran ventaja de la Prueba de Euglobulinas es - la posibilidad de descubrir ligeros aumentos de lisis" (82) lo cual no es posible con el resto de las pruebas tradicionales como Lisis del Coágulo, Lisis del Coágulo de Plasma (coagulado por trombina), Tromboelastografía, digestión de fibrina en placa, Determinación de - fibrina no digerida e incubada 24 horas, y Digestión - de substratos sintéticos.

La única prueba que tal vez funcionaría y es señalada con interrogación por Von Kaula-debido a las referencias en los reportes de diversos autores-es la Prueba de Lisis del Plasma diluido y coagulado por trombina.

Así pues, nuestra técnica cumple con el requerimiento de sensibilidad y además con el otro muy importante de rapidez en el tiempo de procesamientos y obtención de resultados, que constituye otro problema en el resto de las pruebas de medición de fibrinolisis.

El tiempo de procesamiento es aproximadamente de 30 minutos (83) y los resultados se obtienen en un máximo de 2 a 3 horas.

Por último-pero no lo menos importante-no requiere de equipo costoso (como en el caso del tromboelastograma).

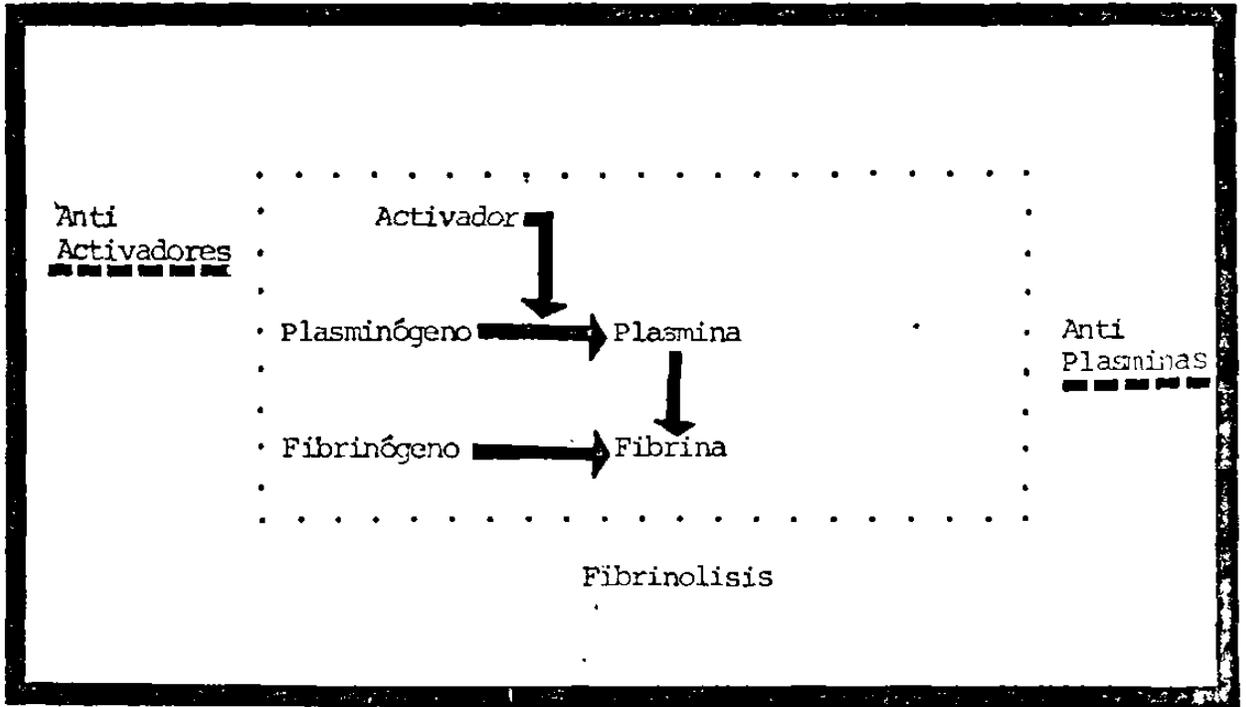


Fig. 31

El tiempo de lisis de euglobulinas es una medición sistémica de la actividad fibrinolítica en ausencia de antiplasminas y antiactivadores.

TECNICA:

- 1.- Añadir 4 ml. de sangre a un tubo con 1 ml. de citrato de sodio 3.8%.
- 2.- Centrifugar la muestra a 2500 rpm durante 4 minutos.
- 3.- Transferir 1 ml. de plasma a un tubo de 16 x 150 mm. en el que previamente se han colocado 9 ml. - de agua destilada.
- 4.- Pipetear 0.36 ml. de ácido acético 1%.
- 5.- Refrigerar a 4°C durante 10 minutos.
- 6.- Centrifugar a 2500 rpm. durante 3 minutos.
- 7.- Descartar el sobrenadante y mantener invertido el tubo durante 1 minuto. Secar el interior del tubo.
- 8.- Redisolver el precipitado de euglobulinas en 1 ml. de buffer pH 7.4
- 9.- Tomar 0.3 de euglobulinas disueltas y colocar en tubos 10 x 75 mm. (por duplicado)
- 10.- Coagular con trombina 0.05 ml. (2 u) 40 u/ml.
- 11.- Incubar a 37°C. El tubo se inspecciona cada 5 minutos durante la primera media hora y posterior--mente cada 10 minutos.

REACTIVOS:

- 1.- Solución de citrato de sodio 3.8%
- 2.- Buffer Salino - una parte de buffer de barbital acetato, pH 7.42 y 4 partes de solución salina - fisiológica.
- 3.- Trombina (Thrombostat^r, Parke Davis) 40 u/ml. - (1000 u U.S. (NIH) disueltas en 25 ml. de solución de glicerol al 50% en agua destilada.
- 4.- Acido acético 1%.

EQUIPO:

- 1.- Centrífuga
- 2.- Baño de temperatura constante
- 3.- Cronómetro
- 4.- Tubos de prueba 16 x 100 mm.
- 5.- Tubos de prueba 16 x 150 mm.
- 6.- Tubos de prueba 10 x 75 mm.
- 7.- Gradillas
- 8.- Pipetas 10 ml.
- 9.- Pipetas 5 ml.
- 10.- Pipetas 1 ml.

OBSERVACIONES:

- a) El procesamiento de las muestras debe efectuarse dentro de las 2 horas siguientes a la recolección como máximo, debido a que los activadores de la fibrinólisis son lábiles. (84)
- b) La dilución utilizada para la anticoagulación es la que señala Von Kaula para éste procedimiento. (83)
- c) Se utiliza citrato de sodio como anticoagulante - debido a que el oxalato y la heparina producen - tiempos de lisis más largos. (85)
- d) Las muestras se mantienen a la temperatura ambiente y se centrifugan igualmente a temperatura del cuarto. (83)
- e) El tiempo de centrifugado ha sido calculado para producir plasma pobre en plaquetas (las plaquetas prolongan el tiempo de lisis por su contenido de actividad antiplasmínica). (86)
- f) El plasma se diluye 1:10 en agua destilada. Esta relación asegura una adecuada fuerza iónica para la precipitación de euglobulinas. (87)
- g) La adición de 0.36 ml. de ácido acético nos produce un pH de trabajo de 5.6. (84)
- Se aconsejan pH bajos para obtener "menores cantidades de inhibidores y la mas alta actividad fibrinolítica. (87)

- h) Los procedimientos de fraccionamiento de proteínas se realizan por lo general a 0°C a temperatura de refrigerador ya que la mayor parte de las proteínas son estables a bajas temperaturas (la solubilidad de las proteínas globulares aumenta al aumentar la temperatura entre 4°y 40°C). (88)
- i) La velocidad de centrifugación para separación de fracción euglobulinas es la misma que señala el Dr. Alvaro Gómez Leal. (89)
- j) El tubo se invierte y seca para evitar que regresen al precipitado los inhibidores. Además, según el procedimiento descrito, solo el 50% del fibrinógeno precipita, de modo que si no se elimina el sobrenadante podría aumentar la concentración de fibrinógeno en las euglobulinas, alterando el resultado de la prueba. (86)
- k) El precipitado es redissuelto en el volumen inicial. (86)
- l) Utilizamos 0.3 ml.de euglobulinas trabajando por duplicado cada muestra según recomendación de Von Kaula. (80)
- m) Las euglobulinas se coagulan con dos *unidades de trombina bovina (Thrombostat U.S.P., Park Davis) - (80) *U.S. (NIH) Es la cantidad requerida para coagular un ml. de solución de fibrinógeno estan-

darizado en 15 seg. Para la práctica clínica Parke Davis recomienda usar 2 U (NIH) para coagular un ml. de plasma humano en el mismo período de tiempo.

Algunos autores usan CaCl_2 pero este vuelve a la fibrina menos susceptible a la lisis por activación de enlaces cruzados. (90)

- n) La inspección de los tubos para cronometrar el tiempo de lisis se lleva a cabo según se recomienda en el manual de la Clínica Mayo. (86)

VALORACION DE LOS RESULTADOS:

Los tiempos obtenidos en las dos determinaciones en cada ocasión se promedian y se reportan. (80)

El tiempo de lisis obtenido es inversamente proporcional a la actividad fibrinolítica.

Algunos autores convierten el tiempo de lisis obtenido en unidades. Estas unidades se obtienen arbitrariamente por multiplicación de la recíproca del tiempo de lisis de euglobulinas en minutos por 10,000 (91) Marsh en cambio divide 10^6 entre el tiempo de lisis al cuadrado lo cual convierte tiempos de entre 200 a 50 min. en 25 a 400 u, respectivamente. (90). Al final de éste apéndice se incluye una tabla en la cual se enumeran las consideraciones para interpretación de resultados del-

TLE (Tabla 8).

Tabla 8

TIEMPO DE LISIS DE EUGLOBULINAS

CONSIDERACIONES PARA INTERPRETACION
DE RESULTADOS.

- a) AUMENTO O DISMINUCION DE ACTIVADORES
- b) AUMENTO O DISMINUCION DE INHIBIDORES
(EN ESPECIAL DE C 1)
- c) CAMBIO EN SISTEMA COMPLEMENTO O COA-
GULACION QUE COMPITEN CON C 1

APENDICE D

TABLAS CORRESPONDIENTES A LOS
VALORES DE GLUCEMIA Y TIEMPO-
DE LISIS DE EUGLOBULINAS PARA
CADA UNO DE LOS SUBGRUPOS EX
PERIMENTALES.

T A B L A 9

VALORES DE GLUCEMIA Y ACTIVIDAD FIBRINOLITICA

N O R M A L E S				
GRUPO TESTIGO				
GLUCOSA			TIEMPO DE LISIS DE EUGLOBULINAS	
Tiempo	Media	E.S.	Media	
Pre-Anest.	70.22	3.96	31.67	6.29
Post. "	76.78	4.24	31.67	7.07
15'	80.44	2.63	35.56	7.24
30'	85.89	2.69	36.11	7.67
60'	95.33	4.35	34.44	7.47
90'	93.78	5.82	34.44	7.57
120'	93.44	7.81	40.00	8.16
150'	93.22	6.78	42.78	7.37
180'	92.78	8.95	43.33	7.55
210'	88.11	6.70	45.56	7.19
240'	85.44	4.28	46.67	7.31
270'	91.22	4.70	46.11	7.35
300'	92.22	6.23	45.56	7.93
330'	83.89	5.68	45.00	7.41
360'	85.33	4.60	45.56	7.33

n = 9

Peso = 15.38 Kg. \pm 1.07

T A B L A 10

VALORES DE GLUCEMIA Y ACTIVIDAD FIBRINOLITICA

N O R M A L E S				
GRUPO EXPERIMENTAL: DEXTROSA (infusión continua)				
GLUCOSA			TIEMPO DE LISIS DE EUGLOBULINAS	
Tiempo	Media	E.S.	Media	E.S.
Pre-Anest.	76.15	4.87	28.85	5.69
Post. "	93.08	3.22	33.46	5.84
15 '	92.77	3.73	32.31	5.45
30 '	92.69	3.25	30.00	5.13
60 '	98.08	3.19	30.00	4.90
90 '	95.62	3.28	33.46	4.61
120 '	99.85	3.35	33.08	4.99
150 '	143.54	5.76	46.54	8.03
180 '	147.77	8.75	55.38	8.15
210 '	166.38	9.98	56.54	8.74
240 '	176.25	10.60	55.00	8.86
270 '	178.29	18.93	57.14	11.87
300 '	173.29	28.02	52.86	12.24
330 '	170.57	27.81	47.86	11.49
360 '	169.86	28.36	49.29	12.52

n = 13

Peso = 18.23 ± 4.26

T A B L A 11

VALORES DE GLUCEMIA Y ACTIVIDAD FIBRINOLITICA

N O R M A L E S				
GRUPO EXPERIMENTAL: FRUCTOSA (infusión continua)				
GLUCOSA			TIEMPO DE LISIS DE EUGLOBULINAS	
Tiempo	Media	E.S.	Media	E.S.
Pre-Anest.	86.0	6.25	30.30	5.77
Post. "	97.86	6.66	35.71	8.00
15'	100.86	6.65	37.86	9.25
30'	102.0	5.60	40.00	8.45
60'	109.14	6.95	37.86	6.97
90'	105.57	5.76	39.29	6.95
120'	101.0	6.66	38.57	6.95
150'	100.14	4.75	63.57	9.11
180'	94.86	3.33	74.29	7.43
210'	98.43	5.75	73.57	4.97
240'	100.0	6.49	73.57	6.54
270'	97.86	4.75	73.57	5.77
300'	97.43	3.91	67.14	6.77
330'	92.57	2.97	65.00	5.98
360'	89.29	3.45	64.29	5.61

n = 7

Peso = 13.33 ± 0.88

T A B L A 12

VALORES DE GLUCEMIA Y ACTIVIDAD FIBRINOLITICA

N O R M A L E S				
GRUPO EXPERIMENTAL: DEXTROSA (Dosis Unica)				
GLUCOSA			TIEMPO DE LISIS DE EUGLOBULINAS	
Tiempo	Media	E.S.	Media	E.S.
Pre-Anest.	60.36	3.17	50.00	7.63
Post. "	71.09	4.82	50.00	8.89
15'	75.18	4.08	55.45	10.52
30'	75.73	3.22	55.45	10.71
60'	76.82	4.10	53.18	10.73
90'	78.18	3.73	65.45	12.11
120'	80.45	3.77	68.18	11.70
150'	154.00	16.78	74.55	7.61
180'	115.91	15.52	70.45	6.62
210'	99.73	13.16	67.73	10.34
240'	89.27	13.05	62.73	6.99
270'	89.36	14.21	60.91	9.29
300'	84.55	13.73	63.18	8.82
330'	91.09	19.17	62.73	8.04
360'	89.09	20.25	64.55	7.09

n = 11

Peso = 16.79 ± 1.3

T A B L A 13

VALORES DE GLUCEMIA Y ACTIVIDAD FIBRINOLITICA

N O R M A L E S				
GRUPO EXPERIMENTAL: FRUCTOSA (Dosis Unica)				
GLUCOSA			TIEMPO DE LISIS DE EUGLOBULINAS	
Tiempo	Media	E.S.	Media	E.S.
Pre-Anest.	64.29	2.63	30.71	8.89
Post. "	80.29	4.20	33.57	8.36
15'	79.29	3.83	34.29	7.98
30'	81.86	4.26	30.43	7.60
60'	77.71	5.10	35.00	9.57
90'	81.71	5.44	37.14	10.63
120'	85.29	4.03	36.43	9.92
150'	78.14	7.00	47.86	10.23
180'	75.14	5.39	47.86	10.51
210'	76.43	5.61	53.57	9.56
240'	72.29	5.34	56.43	9.56
270'	71.57	5.74	59.29	8.48
300'	71.00	5.88	55.00	9.45
330'	75.29	4.51	60.00	9.19
360'	73.00	3.96	57.86	9.99

n = 7

Peso = 16.29 ± 1.29

T A B L A 14

VALORES DE GLUCEMIA Y ACTIVIDAD FIBRINOLITICA				
N O R M A L E S				
GRUPO EXPERIMENTAL: INSULINA (Dosis Unica)				
GLUCOSA.			TIEMPO DE LISIS DE EUGLOBULINAS	
Tiempo	Media	E.S.	Media	E.S.
Pre-Anest.	69.79	3.57	41.07	7.42
Post. "	76.57	4.57	40.71	7.54
15'	80.36	4.98	40.14	7.33
30'	82.14	5.72	39.86	6.61
60'	82.86	6.38	39.79	6.32
90'	86.57	6.66	40.29	6.27
120'	84.43	6.81	38.0	5.8
150'	39.5	5.11	43.93	5.26
180'	28.07	3.49	47.07	10.19
210'	26.43	3.8	58.57	9.6
240'	25.5	3.25	57.86	8.96
270'	26.86	3.6	59.43	8.31
300'	27.79	3.45	61.79	8.73
330'	29.27	4.2	62.27	11.3
360'	31.45	4.01	60.91	9.35

n = 14

Peso = 18.18 ± 0.85

T A B L A 15

VALORES DE GLUCEMIA Y ACTIVIDAD FIBRINOLITICA

A L O X A N I Z A D O S				
GRUPO TESTIGO				
GLUCOSA			TIEMPO DE LISIS DE EUGLOBULINAS	
Tiempo	Media	E.S.	Media	E.S.
Pre-Anest.	48.0	7.53	235.6	48.68
Post. "	47.0	8.17	246.2	50.26
15'	46.0	8.14	204.2	36.96
30'	45.0	8.23	252.2	48.80
60'	45.0	6.34	262.8	51.62
90'	46.0	8.14	270.6	53.94
120'	45.0	7.26	309.4	82.73
150'	48.0	8.01	298.4	80.30
280'	49.0	7.33	293.2	78.02
210'	54.0	8.88	305.6	80.62
240'	53.0	8.91	282.8	61.52
270'	57.0	8.17	274.0	54.12
300'	57.5	9.42	247.75	111.09
330'	61.6	12.34	302.0	48.87
360'	61.6	12.34	309.0	52.92

n = 5

Peso = 17.2 ± 0.95

T A B L A 16

VALORES DE GLUCEMIA Y ACTIVIDAD FIBRINOLITICA

A L O X A N I Z A D O S				
GRUPO EXPERIMENTAL: DEXTROSA (infusión continua)				
GLUCOSA			TIEMPO DE LISIS DE EUGLOBULINAS	
Tiempo	Media	E.S.	Media	E.S.
Pre-Anest.	241.80	39.77	76.0	8.12
Post. "	261.20	43.60	78.0	8.46
15'	287.80	58.30	73.0	9.43
30'	256.20	42.81	72.0	7.52
60'	263.00	37.03	72.0	9.57
90'	312.20	27.05	74.0	7.97
120'	325.80	42.20	69.0	10.05
150'	360.00	17.46	50.0	12.94
180'	386.00	44.44	46.0	12.39
210'	395.00	50.31	49.0	13.17
240'	450.20	63.88	52.0	12.41
270'	404.60	43.75	52.0	13.10
300'	451.20	31.44	46.0	9.67
330'	444.00	34.14	55.0	5.92
360'	399.50	30.04	47.5	1.58

n = 5

Peso = 16.1 ± 1.18

T A B L A 17

VALORES DE GLUCEMIA Y ACTIVIDAD FIBRINOLITICA				
A L O X A N I Z A D O S				
GRUPO EXPERIMENTAL: FRUCTOSA (infusión continua)				
GLUCOSA			TIEMPO DE LISIS DE EUGLOBULINAS	
Tiempo	Media	E.S.	Media	E.S.
Pre-Anest.	367.40	62.18	63.0	13.29
Post. "	388.60	63.19	64.0	13.36
15'	395.60	71.67	57.0	13.00
30'	421.80	90.71	60.0	13.69
60'	411.60	95.73	57.0	10.79
90'	454.40	89.75	57.0	10.79
120'	475.40	105.35	55.0	10.37
150'	475.40	100.32	42.0	6.04
180'	497.00	116.67	35.0	4.47
210'	450.40	98.53	35.0	5.92
240'	454.60	112.27	34.6	6.18
270'	454.20	92.15	34.0	6.20
300'	448.60	98.96	36.0	6.60
330'	482.50	109.70	35.0	7.53
360'	555.00	90.61	31.67	7.85

n = 5

Peso = 18.6 ± 1.11

T A B L A 18

VALORES DE GLUCEMIA Y ACTIVIDAD FIBRINOLITICA

A L O X A N I Z A D O S				
GRUPO EXPERIMENTAL: DEXTROSA (Dosis Unica)				
GLUCOSA			TIEMPO DE LISIS DE EUGLOBULINAS	
Tiempo	Media	E.S.	Media	E.S.
Pre-Anest.	323.33	34.16	45.00	11.18
Post. "	350.00	31.80	56.00	12.08
15'	365.00	41.44	56.00	12.59
30'	368.40	51.92	55.00	14.05
60'	369.20	46.48	55.00	14.05
90'	387.40	53.17	55.00	12.85
120'	390.40	50.74	55.00	13.78
150'	460.80	63.69	35.00	11.18
180'	436.40	71.74	39.00	12.39
210'	460.60	82.33	40.00	10.95
240'	447.40	47.54	34.00	10.77
270'	430.40	71.28	42.00	11.90
300'	358.00	28.44	41.25	10.39
330'	350.75	29.91	38.75	9.01
360'	355.50	35.02	40.00	9.13

n = 5

Peso = 17.2 ± 1.53

T A B L A 19

VALORES DE GLUCEMIA Y ACTIVIDAD FIBRINOLITICA

A L O X A N I Z A D O S				
GRUPO EXPERIMENTAL: FRUCTOSA (Dosis Unica)				
GLUCOSA			TIEMPO DE LISIS DE EUGLOBULINAS	
Tiempo	Media	E.S.	Media	E.S.
Pre-Anest.	307.00	61.35	69.00	7.91
Post. "	290.80	74.88	69.00	23.58
15'	293.40	85.20	71.0	24.10
30'	321.00	87.85	75.0	29.92
60'	316.00	88.03	75.0	29.92
90'	327.80	84.52	73.0	29.52
120'	340.60	82.66	74.0	29.64
150'	364.00	80.41	53.0	18.81
180'	340.80	78.13	62.0	11.25
210'	343.00	84.60	69.0	13.27
240'	319.40	79.49	74.0	13.27
270'	314.20	82.64	72.0	13.93
300'	308.20	85.93	76.0	12.88
330'	240.33	47.25	63.33	9.3
360'	231.33	46.17	60.00	8.94

n = 5

Peso = 16.70 ± 1.32

T A B L A 20

VALORES DE GLUCEMIA Y ACTIVIDAD FIBRINOLITICA

A L O X A N I Z A D O S				
GRUPO EXPERIMENTAL: INSULINA (Dosis Unica)				
GLUCOSA			TIEMPO DE LISIS DE EUGLOBULINAS	
Tiempo	Media	E.S.	Media	E.S.
Pre-Anest.	262.00	54.33	47.0	11.68
Post. "	273.00	55.40	46.0	11.66
15'	305.20	67.77	46.0	11.34
30'	348.20	89.69	45.0	11.73
60'	377.60	74.95	46.0	11.22
90'	379.40	81.96	43.0	12.10
120'	417.20	82.40	48.0	11.58
150'	270.80	85.17	44.0	9.41
180'	223.00	96.79	41.0	9.00
210'	173.00	79.39	42.0	9.17
240'	120.00	59.38	40.0	9.62
270'	93.40	42.38	42.0	8.75
300'	116.50	52.92	35.0	10.25
330'	131.67	50.07	35.0	10.25
360'	122.67	46.69	35.0	10.25

n = 5

Peso = 16.7 ± 1.28

