



Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE QUIMICA

VALORACION CICLICA DE LA CUENTA DE
PLAQUETAS EN PERSONAS NORMALES.



T E S I S

Que para obtener el título de:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P r e s e n t a :

BLANCA ESTELA PEREZ BRAMBILA



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

TESIS 1979

U.T.
SCHA 275
PRBC
T



JURADO ASIGNADO SEGUN EL TEMA :

PRESIDENTE : PROFR. DEA CORONADO PERDOMO.
VOCAL : PROFR. ESTHER GUTIERREZ HIDALGO.
SECRETARIO : PROFR. JOSE LUIS DOMINGUEZ TORIX.
1er SUPLENTE : PROFR. PERLA ALTAMIRANO BUSTAMANTE.
2o. SUPLENTE : PROFR. RAUL NIETO CAMACHO.

Sitio donde se desarrolló el tema :

LABORATORIO DE INVESTIGACION DE HEMATOLOGIA DEL HOSPITAL
INFANTIL DE MEXICO.

SUSTENTANTE : BIANCA ESTELA PEREZ BRAMBILA.
ASESOR : **PROFR.** JOSE LUIS DOMINGUEZ TORIX.
ASESOR TECNICO : DR. SAMUEL DORANTES MEZA.

A MIS PADRES :
CON TODO MI CARÑO Y AGRADECIMIENTO.

A EVA Y SALVADOR :
POR SU AFECTO Y APOYO.

A ULISES , A JUAN :
CON AFECTO.

A MIS HERMANOS.

A MIS SOBRINOS.

A T I

SIN CUYA AYUDA CONCIENTE,
DESINTERESADA
NO HUBIERA SIDO POSIBLE
LA REALIZACION DE ESTE
TRABAJO.

CON PROFUNDO AGRADECIMIENTO.

DESEO EXPRESAR MI AGRADECIMIENTO AL
DR. SAMUEL DORANTES MEZA BAJO CUYA
DIRECCION SE REALIZO EL PRESENTE TRABAJO.

AGRADEZCO A CRISTINA LOPEZ AVILES
SU COLABORACION EN EL DESARROLLO DE
ESTE TRABAJO.

AL PERSONAL DEL LABORATORIO DE HEMATOLOGIA.

DESEO EXPRESAR MI AGRADECIMIENTO AL
PROFR. FRANCISCO SANCHEZ VILLAREAL
POR SU VALIOSA ASESORIA EN LA PARTE
ESTADISTICA.

AL HONORABLE JURADO

A LA FACULTAD DE QUIMICA

A LA SRA. BERTHA AGUILAR DE GANCINO.

A MIS MAESTROS.

A MIS AMTOS.

I N D I C E

INTRODUCCION.

ANTECEDENTES.

MATERIALES Y METODOS.

RESULTADOS.

ANALISIS ESTADISTICO

DISCUSION

CONCLUSIONES

BIJLIOGRAFIA.

I N T R O D U C C I O N

En la práctica de la medicina pueden observarse hemorragias por lesión de los vasos y/o por una alteración de la hemostasis; se le denominó así al conjunto de mecanismos capaces de contener la extravasación sanguínea provocada por la lesión de un vaso. Está constituido por distintos componentes :

- a).- Componente vascular.
- b).- Componente celular plaquetario.
- c).- Mecanismo de la coagulación.
- d).- Mecanismo Inhibidor- activador.
- e).- Mecanismo fibrinolítico.
- f).- Mecanismo hemodinámico.

Cuando se altera o se modifica alguno de estos componentes o mecanismos se pueden producir enfermedades hemorrágicas.

Uno de los componentes más importantes de la hemostasis, es el componente plaquetario. Conforme se sabe más de la cinética plaquetaria, se les reconoce mayor importancia. Estas intervienen tanto por su presencia al obturar literalmente cualquier orificio, como por las sustancias que excretan, sin las cuales no se podría realizar las distintas etapas del mecanismo hemostático; por estas razones resulta de especial interés el conocimiento de todo lo relacionado con ellas.

Los trombocitos o plaquetas, son constituyentes anucleados de la sangre, miden de 2 a 4 de diametro, que se producen

por la fragmentación del citoplasma de células gigantes multinucleadas llamadas megacariocitos cuya proporción es menos del 1% de todas las células nucleadas de la médula osea (1).

Las plaquetas están formadas por la mayor parte de los componentes celulares, excepto el DNA (1); tienen su metabolismo muy activo, por su tamaño y peso mayores, las plaquetas jóvenes se diferencian de las más viejas en que su metabolismo es más activo que el de éstas últimas, por lo que es factible que las plaquetas jóvenes formen trombos hemostáticos con mayor efectividad que las viejas (1).

Las proteínas son el constituyente más importante de las plaquetas. Representan el 52 % del peso seco, por lo menos el 15 % están formadas por una proteína contráctil con actividad ATP-asa la trombostenina, que es similar en muchos aspectos a la actomiosina muscular. El 13.5 % lo forma el fibrinógeno, albúmina 2 %, el factor XIII que constituye el 30 al 50 % del factor XIII total; otras proteínas plasmáticas que se encuentran en la membrana plaquetaria son : Inmunoglobulinas, factor plaquetario 4 o factor antiheparínico. Una proporción de fosfatasa ácida proviene de las plaquetas y se desprende durante su degranulación irreversible. El aminoácido Serotonina, que es un poderoso constríctor de la musculatura lisa. Se ha encontrado que las plaquetas grandes y pesadas contienen 2.1 más veces la cantidad de aminoácidos correspondientes a las plaquetas pequeñas y ligeras. El factor plaquetario 3 es probablemente una lipoproteína que forma parte de la membrana plaquetaria, y que se transforma para las enzimas de la coagulación y cofactores del plasma como con--

secuencia de la agregación plaquetaria o de un trauma de las mismas. El componente activo es un fosfolípido(). Contienen : ATP, ADP, AMP, el AMP cíclico y la enzima hormonal responsable la adenil ciclasa. Son capaces de mantener el gradiente catiónico entre ellas y el plasma circundante. Tienen una elevada concentración de ácido ascórbico. La membrana celular plaquetaria tiene una superficie cargada negativamente que se desprende por acción de neuramidasa y se cree es debida al ácido siálico , N-acetilneuramínico.

La plaqueta permanece dentro del sistema vascular y no se encuentra en los líquidos extracelulares; aproximadamente el 80% de los trombocitos permanecen en la circulación y el 20 % se encuentra en el bazo (3); en el individuo sano es posible que algunos trombocitos mueran por envejecimiento después de 7 a 14 días de vida (2), mientras que otros trombocitos (y posiblemente una mayor proporción) se consumen en las reparaciones de pequeñas lesiones vasculares cotidianas.

Las plaquetas envejecidas y las alteradas son eliminadas probablemente por las células retículo-endoteliales del bazo y del hígado, y en ciertos casos por las del hígado principalmente. La médula osea no contiene reservas de plaquetas (1).

La función plaquetaria es causar la suspensión de la hemorragia formando un tapón hemostático dentro del vaso sanguíneo lesionado y suministrar actividad coagulante. Son los único elementos cuya función fisiológica más importante está asociada a la degranulación irreversible y muerte consiguiente.

Respecto de su número, diferentes autores han informado promedios que varían de 248 000 a 350 000 en sangre venosa y 242 000 a 409 000 en sangre capilar (4). Cifras por debajo de la mínima aceptada constituye plaquetopenia o trombocitopenia, y cifras mayores que el máximo número, trombocitosis.

Con fines prácticos se acepta una cifra mínima de 150 000 y una máxima de 500 000 por mm^3 para ambos sexos. Diversos investigadores han informado cifras menores durante las primeras semanas de vida. Aunque en general estas cifras permiten clasificar la mayoría de las cuentas de plaquetas de una persona en baja normal o elevada, debe hacerse notar que se trata de una sobresimplificación, ya que se ha demostrado en varones normales una oscilación de los valores dentro de estos límites (5); y en las mujeres (durante la vida sexual activa) cifras significativas más bajas inmediatamente antes del periodo menstrual o durante su primer día (6).

A N T E C E D E N T E S

En el Hospital Infantil de México, se descubrió una enfermedad en un niño, no informada previamente que se caracteriza por la presencia de Púrpura trombocitopénica cíclica; se investigó a la familia y se encontró oscilación de la cuenta de plaquetas en el padre, con trombocitopenia moderada periódica y oscilación de las cuentas de plaquetas en 3 de sus 8 hermanos, que variaban desde valores normales a cifras consideradas como trombocitosis.

En la revisión de la literatura no se encontraron antecedentes (15,16,17,19), por lo que se le asignó el nombre de : " Enfermedad de García " utilizando el apellido familiar del enfermo (7).

En la investigación inicial del padecimiento se compararon las variaciones cíclicas de las plaquetas en el padre y en los hermanos con la variación obtenida en 7 adultos normales del sexo masculino (20). En éstos solamente se encontró variación dentro de los límites de referencia.

En la revisión de la literatura se encontraron resultados comparables (5).

Sin embargo, el número de personas normales estudiadas desde el punto de vista de variación de la cuenta de plaquetas a lo largo de varias semanas, es muy pequeño, por lo que se decidió ampliar la muestra en el siguiente estudio, a fin de averiguar, si en individuos con cuenta normal de plaquetas es posible

observar la variación cíclica amplia que se encontró en la Fam-
García, y definir la amplitud de la variación en las cuentas de
plaquetas, observables en personas normales en el curso de 4 se-
manas.

M A T E R I A L E S Y M E T O D O S

Se practicó el estudio en :

12 mujeres, 10 hombres y 14 niños, cuyas edades oscilaron entre 20 a 40 años, 20 a 31 años y 6 a 12 años respectivamente. A todos se les hizo historia clínica y se incluyeron aquellas con una condición nutricional adecuada así como el peso y la talla, es decir clínicamente sanos.

La aparición de fiebre o ingestión de medicamentos determinaba la exclusión del estudio de la persona afectada.

Se instruyó a los integrantes del grupo de las posible variaciones que la cuenta de plaquetas podría tener con el ejercicio o con la ingestión de alimentos, por lo que era muy importante que siguieran durante las 4 semanas de prueba, una vida sin modificaciones importantes, en la actividad, y que la muestra se debería tomar a la misma hora, en ayunas y en estado de reposo.

EQUIPO UTILIZADO:

Microscopio zeiss con adaptador de iluminación para contraste de fase (condensador de fases para visión distante), con anillo 43X y objetivo de fase 43X y ocular 10X correspondientes.

-Pipetas de Thoma cuenta glóbulos rojos.

-Cámara modificada cuenta glóbulos de fondo plano (Hemocitometer Bright Line).

-Silicona.

-Cajas de petri.

-Solución de NaOH al 10 % en agua destilada.

- Solución de Oxalato de amonio al 1.1% en agua destilada.
- Agua destilada.

M E T O D O U T I L I Z A D O :

Todas las determinaciones se hicieron por el método de Brecher y Cronkite (8,9).

Todo el material que se utilizó fué siliconizado cada 8 días; las pipetas se sumergían en NaOH al 10 %, se dejaban toda la noche y al día siguiente eran lavadas con agua destilada.

A cada persona de las estudiadas se le asignó una misma pipeta para todo el estudio.

TECNICA:

1.- Se preparó una solución de oxalato de amonio al 1.1% en agua destilada, que se filtraba y era centrifugada para eliminar partículas en suspensión. El frasco de depósito se guardaba en el congelador, se sacaba la cantidad necesaria en tubos y el sobrante de ese día se desechaba.

2.- Se procuró realizar la toma de las muestras a la misma hora generalmente entre 6 y 9 de la mañana; con la persona en decúbito en su cama, la sangre se obtenía por punción capilar en el lóbulo de la oreja, en el pulpejo de un dedo; la primera gota se desechó y se llenó la pipeta hasta la marca 0.5 o 1.0 y se diluía con la solución de oxalato de amonio, hasta la marca 101 con lo que se tenía una dilución 1:100 o 1:200, según el caso, se agitaba por espacio de 30 segs y se tapaba por ambos lados con papel parafilm.

3.- En el laboratorio, se ponían a girar las pipetas en un rotor mecánico por espacio de 15 minutos como mínimo, e inmediatamente se cargaba la cámara modificada de Neubauer; se cubría ésta con la tapadera de una caja de petri dejando debajo de ésta 2 trozos de algodón humedecido para prevenir la evaporación, se dejaba reposar por espacio de 15 minutos.

4.- Las cuentas de plaquetas se hacían en la cámara de recuento doble, en ésta la plataforma central está dividida en 2 mitades por un surco transversal. Cada una de las mitades tiene una cuadrícula de Neubauer perfeccionada, que consiste en un cuadrado que mide $3 \times 3 = 9 \text{ mm}^2$, dividida a su vez en nueve cuadrados secundarios, cada uno de $1 \text{ mm} \times 1 \text{ mm} = 1 \text{ mm}^2$, el milímetro cuadrado central está dividido en 25 cuadros terciarios midiendo cada uno $0.2 \text{ mm} \times 0.2 \text{ mm} = 0.04 \text{ mm}^2$. El número total de los cuadros más pequeños es de 400. Cuando se coloca el cubrehematímetro queda un espacio de exactamente 0.1 mm de grosor entre el cubrehematímetro y la plataforma rayada; por tanto, cada milímetro cuadrado de la plataforma constituye la base de un espacio que contiene exactamente 0.1 mm^3 . Las cuentas de plaquetas se hacían en los 50 cuadros de ambos lados de la cámara (10).

5.- Las plaquetas eran contadas utilizando un filtro verde y se observarón redondas, ovaladas o ligeramente alargadas. Se utilizarón dos cámaras para hacer las cuentas.

6.- Cálculos :

$$\frac{\text{Núm. de células contadas} \times \text{dilución}}{0.004 \times \text{núm. de cuadrados contados}} = \frac{\text{Núm. de plaquetas}}{\text{mm}^3} \text{ por de sangre.}$$

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La estadística es indispensable en el método científico, interviene en el diseño experimental; aún en los experimentos mejor planeados no sería posible controlar todos los factores ni sacar conclusiones basadas en las observaciones de los datos obtenidos sin su concurso; para que estas conclusiones sean de uso práctico es preciso indicar el grado de probabilidad indicando así la confianza que el investigador deberá tener en sus conclusiones.

La mayor parte de los enunciados que resultan de investigaciones científicas son inferencias. La inferencia estadística se interesa en dos tipos de problemas : La estimación de parámetros de la población y las pruebas de hipótesis.

Un problema común de la inferencia estadística es determinar en términos de probabilidad, si las diferencias observadas entre dos o más muestras significan que las poblaciones muestreadas son diferentes por sí mismas. En el desarrollo de los métodos estadísticos modernos, las primeras técnicas de inferencia que aparecieron, fueron las que hicieron un buen número de suposiciones, acerca de la naturaleza de la población, de la que se obtuvieron las puntuaciones.

Los procedimientos de la inferencia estadística introducen orden en cualquier inferencia a partir de los testimonios proporcionados por las muestras. La lógica de los procedimientos propone alguna de las condiciones en que los testimonios deben reunirse y las pruebas estadísticas determinan qué tan grandes

deben ser las diferencias observadas para confiar en que representarán diferencias reales en él o los grupos observados (11).

En el presente trabajo se decidió utilizar el método estadístico para tratar de confirmar las diferentes hipótesis que se plantearon al tenerse el conocimiento de una enfermedad de la cual no existía ningún antecedente en la literatura, por lo que se decidió hacer investigaciones en 3 grupos diferentes.

ANALISIS ESTADISTICO DE LOS RESULTADOS.

La hipótesis que se planteo fué :

Averiguar si las variaciones cíclicas de las cuentas de plaquetas observadas en la familia estudiada, tambien se observaban en personas sanas.

Se integraron los 3 grupos antes mencionados.

Para considerar anormal una cifra en alguna de las personas estudiadas necesitaba caer por abajo de un valor mínimo. Por lo tanto se decidió calcular el Promedio = \bar{X} , y la desviación estandar = D.E., para cada uno de los integrantes de los 3 grupos y tambien para cada uno de los grupos en particular; cuando se obtuvo el promedio y la D.E. para el grupo, se aplicó el criterio de restar y sumar : $\bar{X} \pm 2$ D.E., obtenidas para ese grupo a cada elemento de éste; se observó cuales individuos caían fuera o dentro de esta clasificación. Este criterio nos permitió abarcar un 95 % de la población estudiada.

R E S U L T A D O S

MUJERES.- Para las 144 cuentas realizadas en las 12 mujeres se obtuvo un promedio $\bar{x} = 202\ 470$ plaquetas por mm^3 , y una D.E. = 24 880 plaquetas por mm^3 ; en 11 mujeres se registrarón cuentas inferiores a la cifra que se obtuvo al restar el promedio del grupo menos dos veces la D.E. también del grupo; es interesante hacer notar que en 8, las cuentas más bajas correspondieron al periodo del ciclo menstrual. En 5 hubo cuentas superiores al $\bar{x} + 2$ D.E., pero no superiores a 500 000 (cuadro 1, fig.1).

HOMBRES.- Para las 120 cuentas realizadas en los 10 hombres se obtuvo un promedio=226 000 plaquetas por mm^3 , y una D.E. = 55 630; en uno se registró una cifra inferior al restar : $\bar{x} - 2$ D.E.; en cambio, en 3 hubo cifras superiores al sumar : $\bar{x} + 2$ D.E., pero inferiores a 500 000 (cuadro 1, fig. 2).

NIÑOS.- Para las 168 cuentas realizadas en 14 niños, se obtuvo un promedio $\bar{x} = 254\ 770$ plaquetas por mm^3 , y una D.E. igual a 62 337 plaquetas por mm^3 para el grupo. En 5 niños se encontró en una ocasión (solo en una dos veces), una cifra inferior a 130 000 pero superior a 100 000 y 3n 5 niños cifras superiores a $\bar{x} + 2$ D.E. y en uno de ellos, solo una cuenta de 500 000 (cuadro 1, fig. 3).

Se decidió probar estadísticamente las siguientes hipótesis :

I.- Son significativamente diferentes entre sí los 3 grupos estudiados ?, es decir 11 de 12 mujeres, 1 de 10 hombres y 5 de 14 niños, tomando en cuenta para su clasificación los valores obtenidos de restar a cada elemento el promedio menos dos veces la D.E., que se obtuvo para cada uno de los respectivos grupos.

II.- El valor mas bajo encontrado en un periodo de 4 semanas en el niño Ismael García, es estadísticamente comparable a el valor más bajo obtenido por cada uno de los niños del grupo estudiado, y de haber diferencia, ¿ ésta es significativa ?.

III.- En el grupo de mujeres, las cuentas obtenidas en los días en que se presentó el ciclo menstrual, son significativamente diferentes de las días fuera del ciclo ?.

IV.- Las medias o promedios encontrados para cada uno de los 3 grupos son estadísticamente diferentes ?.

Para la pregunta número I se decidió aplicar la prueba de

PRUEBA DE χ^2 PARA DOS MUESTRAS INDEPENDIENTES.

El criterio de χ^2 , juega un importante papel en el análisis consistente en frecuencias agrupadas en diversos grupos independientes; la hipótesis que usualmente se pone a prueba, supone, que los dos grupos difieren o se comportan con respecto a alguna característica y, por lo tanto con respecto a la frecuencia relativa con que los diferentes miembros de los grupos son encontrados en las diferentes categorías de interés.

Para probar ésta hipótesis, contamos el número de casos en cada grupo en cada categoría, y comparamos la proporción de casos en las diferentes categorías de un grupo, con las del otro grupo.

Las frecuencias observadas se colocan en un arreglo matricial llamado Tabla de Contingencia, y se comparan con las frecuencias que de acuerdo a la probabilidad cabría esperar; estas últimas se denominan : Frecuencias esperadas. Ahora bien, si las frecuencias observadas están estrechamente de acuerdo con las frecuencias esperadas, las diferencias entre éstas serán por supuesto pequeñas, y consecuentemente el valor de χ^2 será pequeño. Con el valor pequeño de χ^2 no podemos rechazar la hipótesis de nulidad, que supone independientes entre sí a los dos conjuntos con respecto a las características consideradas. Sin embargo, si hay una o varias diferencias grandes, el valor de χ^2 también será grande. Cuanto más grande es χ^2 , tanto más probable es que los dos grupos difieran con respecto a las clasificaciones (11).

Cuando se aplican a datos discretos los resultados para distribuciones continuas, deben hacerse ciertas correcciones puesto que hay una tendencia a subestimar la probabilidad, lo que significa, que se incrementará, la cantidad de rechazos de la -- hipótesis nula. Entonces debemos corregir la χ^2 hacia abajo. Yates (12), ha demostrado que cuando se utiliza la χ^2 "corregida" la aproximación χ^2 mejora; este ajuste se emplea solamente cuando hay un grado de libertad (gl), (el tamaño de gl refleja el número de observaciones susceptibles de variar después de que ciertas restricciones se han hecho en los datos. Estas restricciones no son arbitrarias sino inherentes a la organización de los datos), esto es en tablas de 2×2 . En muestras grandes se obtienen prácticamente los mismos resultados que la χ^2 no corregida; La corrección es necesaria porque se usa una distribución continua (Chi^2), para aproximar una distribución discreta.

TABLAS DE CONTINGENCIA DE 2×2 .

Cuando "n" artículos seleccionados al azar se clasifican de acuerdo con dos criterios diferentes los resultados pueden tabularse como se indica a continuación, donde: O_{ij} representa el número de artículos pertenecientes a la celda (ij) de la tabla (r)(c). tales datos pueden usarse para probar la hipótesis de que las dos clasificaciones, representadas por renglones y columnas son estadísticamente independientes. Si esta hipótesis es rechazada las dos clasificaciones no son independientes y decimos: hay una -interacción- entre los dos criterios de la clasificación.

Si la tabla de contingencia consta de dos renglones y dos-

columnas, hablamos de una tabla de contingencia de 2×2 .

METODO :

La hipótesis de nulidad (H_0), pueden probarse por medio de de :

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^r \sum_{j=1}^k \frac{(|O_{ij} - E_{ij}| - 0.5)^2}{E_{ij}}$$

donde :

O_{ij} = Es el número observado de casos clasificados, en la fila i de la columna j .

E_{ij} = Es el número de casos esperados conforme a H_0 que clasificarón en la fila i de la columna j .

$$\sum_{i=1}^r \sum_{j=1}^k (a) \quad N = \sum_{i=1}^r \sum_{j=1}^k O_{ij} \quad (b)$$

Indica sumar todas las filas (r) y todas las hileras (k) en todas las celdillas, (a); (b) es el total de frecuencias. Para encontrar la frecuencia esperada para cada celdilla (E_{ij}), se multiplican la 2 totales marginadas comunes, para una celdilla particular y se divide este producto por el número de casos totales que es = N .

El valor de χ^2 dado por la ecuación (1), tiene :

$$gl = (r-1)(k-1)$$

Si : $\chi^2_{\text{tablas}} \not\approx \chi^2_{(1-\alpha)(r-1)(c-1)}$

la hipótesis de independencia sería rechazada.

PROCEDIMIENTO :

I.- Comparación del grupo de 12 mujeres contra el grupo de 10 hombres. El criterio de selección para la formación de las tablas de contingencia fué : Restar a cada uno de los elementos de cada grupo, el promedio menos dos veces la D.E., obtenidas para cada uno de los respectivos grupos.

a).- Hipótesis de nulidad = H_0 .- Es una hipótesis de diferencias nulas. Se formula por lo común con la intención expresa de ser rechazada; si se rechaza, puede aceptarse entonces la hipótesis alterna H_1 . Nuestro procedimiento es rechazar H_0 para aceptar H_1 , si una prueba estadística produce un valor cuya probabilidad asociada de ocurrencia bajo H_0 es igual o menor que alguna pequeña probabilidad simbolizada por α . Esta pequeña probabilidad se llama nivel de significación.

H_0 : El nivel de plaquetas es independiente del sexo en adultos.

H_1 : El nivel de plaquetas es dependiente del sexo.

b).- Prueba estadística :

χ^2 corregida.

c).- Nivel de significación :

$\alpha = 0.05 \%$ $N = 22$.

d).- Distribución muestral :

La prueba de χ^2 tiene una distribución muestral a la que se aproxima la distribución de Chi^2 con $gl=1$, en valores calculados en tablas, se dan los valores críticos de Chi^2 .

e).- Región de rechazo :

La región consiste en todos los valores tan grandes de χ^2 , que la probabilidad asociada con su ocurrencia es igual o menor que $\alpha = 0.05 \%$ ya que H_1 predice la dirección de la diferencia entre los dos grupos la región de rechazo es de una cola.

f).- Operaciones :

TABLA DE FRECUENCIAS OBSERVADAS Y ESPERADAS.

T R A T A M I E N T O S			
CLASES	1	2	TOTAL
			CLASES
1	11.00	1.00	12.00
	6.55	5.45	
2	1.00	9.00	10.00
	5.45	4.55	
TOTAL TRATS.	12.00	10.00	22.00

$$\chi^2_{\text{corregida}} = 11.563$$

$$\chi^2_{\text{tablas}} = 3.84$$

g).- Resultados :

H_0 : Se rechaza.

H_1 : Se acepta. El nivel de plaquetas si depende del sexo en adultos.

II.- Comparación del grupo de 12 mujeres contra el grupo de 14 niños. Se usó el mismo criterio de selección que en el caso I.

a).- Hipótesis de nulidad :

H_0 : El nivel de plaquetas es independiente de la edad.

H_1 : El nivel de plaquetas si depende de la edad.

b).- Prueba estadística :

χ^2 corregida.

c).- Nivel de significación :

$\alpha = 0.05 \%$ $N = 26$.

d).- Distribución muestral :

Mismo caso que I.

e).- Región de rechazo :

Mismo caso que I.

f).- Operaciones :

TABLA DE FRECUENCIAS OBSERVADAS Y ESPERADAS.

T R A T A M I E N T O S			
	1	2	TOTAL
CLASES			CLASES
1	5.00	11.00	16.00
	8.62	7.38	
2	9.00	1.00	10.00
	5.38	4.62	
TOTAL TRATS.	14.00	12.00	26.00

$$\chi^2_{\text{corregida}} = 6.3462$$

$$\chi^2_{\text{tablas}} = 3.84$$

g).- Resultados :

H_0 : Se rechaza.

H_1 : Se acepta. El nivel de plaquetas si depende de la edad.

III.- Comparación del grupo de 10 hombres, contra el grupo de 14 niños. Se usó el mismo criterio de selección que en el caso I.

a).- Hipótesis de nulidad :

H_0 : El nivel de plaquetas es independiente de la edad.

H_1 : El nivel de plaquetas si depende de la edad.

b).- Prueba estadística :

χ^2 corregida.

c).- Nivel de significación :

$$\alpha = 0.05 \% \quad N = 24.$$

d).- Distribución muestral :

Mismo caso que I y II.

e).- Región de rechazo :

Mismo caso que I y II.

f).- Operaciones :

TABLA DE FRECUENCIAS OBSERVADAS Y ESPERADAS.

T R A T A M I E N T O S			
	1	2	TOTAL
CLASES			CLASES
1	5.00	1.00	6.00
	3.50	2.50	
2	9.00	9.00	18.00
	10.50	7.50	
TOTAL TRATS.	14.00	10.00	24.00

$$\chi^2_{\text{corregida}} = 0.9143$$

$$\chi^2_{\text{tablas}} = 3.84$$

g).- Resultados :

H_0 : No se rechaza. El nivel de plaquetas, es independiente de la edad.

H_1 : No se acepta.

II.- Para probar la segunda hipótesis, se decidió emplear una prueba de "F" para valores extremos :

PRUEBA DE "F" PARA VALORES EXTREMOS : (OUTLIER).

Esta es una prueba de rechazo. Cuando recopilamos datos, se puede presentar ocasionalmente una situación en que una de las observaciones parece diferir del resto, en una cantidad fuera de lo común, y nos puede interesar rechazarla de nuestro experimento. para ello querríamos probar si esta desviación es significativo o si se puede considerar debida al azar. (12)

En esta prueba, se compara el valor mas bajo de Ismael García que se registró durante un mes y que se efectuó en las mismas condiciones en que se practicó en los niños de este estudio, CONTRA, el valor mas bajo de cada uno de los niños, efectuado tambien durante un mes.

PROCEDIMIENTO:

a).- Hipótesis de nulidad :

H₀ : La cuenta mas baja encontrada en un periodo de 4 semanas en Ismael García, se encuentra normalmente en la población normal o en este caso, es posible encontrarlo en alguno de los niños aquí estudiados.

H₁ : Esta observación no proviene de una población normal; es decir, no es posible encontrarla en el grupo de niños por nosotros estudiados.

b).- Prueba estadística :

Prueba de "F" para valores extremos, o prueba de Outlier'.

c).- Nivel de significación :

$$\alpha = 0.05 \% \quad n_1=14 \quad n_2=1$$

d).- Operaciones :

$$F = t^2 = \frac{(\bar{X}_1 - \bar{X})^2 (n_1 n_2) (n_1 + n_2 - 1)}{(n_1 S_1^2 + n_2 S_2^2) (n_1 + n_2)}$$

$$F = t^2 = \frac{(176.43 - 30.0) (14 - 1) (14 + 1 - 1)}{[14 (1/14 (59851.43) + 0 (14 + 1)]}$$

$$F = t^2 = 4.68$$

Los grados de libertad (gl) son :

$$l; \quad 14 - 1 = 13 \quad \alpha = 0.05 \%$$

Valores en tablas :

$$F_{1,13} - 0.05 \% = 4.67$$

e).- Resultados :

H_0 : Se rechaza. El valor de la cuenta mas baja del niño Ismael García, cae dentro de la zona de rechazo del 5 %.

H_1 : Se acepta. Esta observación no proviene de la misma población.

III.- En el grupo de mujeres, las cuentas obtenidas en los días en que se presentó el ciclo menstrual, son significativamente diferentes de los días sin ciclo?

En este caso, por las características de la pregunta se decidió utilizar la siguiente prueba:

PRUEBA DE "T" PARA DOS MUESTRAS RELACIONADAS.

Con frecuencia se tiene problemas en que los sujetos observados deben considerarse su propio control como sucede en los diseños "antes y después". La prueba paramétrica correspondiente a este problema es una "T" de Student aplicada a las diferencias entre las observaciones (13).

La prueba supone que las diferencias " d_i ", se distribuyen normalmente y que son independientes unas de otras.

Sean dos grupos relacionados :

Antes = $X = X_1 \dots X_n$.

Después = $Y = Y_1 \dots Y_n$.

X_1

Y_1

X_2

Y_2

X_3

Y_3

.

.

.

.

X_n

Y_n

Las diferencias se definen :

$$d_i = X_i - Y_i.$$

para $i = 1, 2, 3, \dots, n$.

Se pretende probar la hipótesis :

$$H_0: \mu_x = \mu_y \quad \text{contra} \quad H_1: \mu_x \neq \mu_y$$

Si definimos :

la hipótesis anterior es equivalente a probar :

$$\mu_D = \mu_x - \mu_y$$

Sea \bar{D} la media de las diferencias de las dos muestras :

$$D = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_i - y_i) \quad (1)$$

$$= \frac{1}{n} \sum (x_i - y_i) \quad (2)$$

$$= \frac{1}{n} \sum x_i - \frac{1}{n} \sum y_i \quad (3)$$

$$D = \bar{x} - \bar{y} \quad (4)$$

que es la diferencia de las dos medias muestrales.

Con los supuestos mencionados al principio se tiene que la estadística :

$$T = \frac{\bar{D}}{S_{\bar{D}}} \rightsquigarrow t_{(n-1)}$$

se distribuye "t" de Student con n-1 grados de libertad y

se define :

$$S_{\bar{D}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (d_i - \bar{D})^2}{n(n-1)}} \quad \therefore T = \frac{\bar{D}}{S_{\bar{D}}}$$

$$t_{\text{tablas}}(11, 0.05\%) \geq t_{\text{calculada}}$$

PROCEDIMIENTO :

a).- Hipótesis de nulidad :

H_0 : En mujeres no hay diferencia estadística en cuanto a las cuentas observadas en los días de ciclo menstrual, cuando son comparadas con los días en que no hay ciclo.

H_1 : Las cuentas encontradas, en los días de ciclo menstrual, son diferentes a los días de no ciclo.

b).- Prueba estadística :

Prueba de "T", para dos muestras relacionadas.

c).- Nivel de significación :

$\alpha = 0.05\%$ $n_1 = 12$, $n_2 = 12$.

d).- Región de rechazo :

Como H_1 predice la dirección de la diferencia entre los dos grupos, la región de rechazo es de una cola.

e).- Operaciones :

Se hizo la clasificación de "antes y despues", calculando el promedio de los días de ciclo menstrual y de los días de no ciclo; se le dió el criterio de antes a los días de ciclo, y el de despues al de los días en que no hubo ciclo.

ANTES = X	DESPUES = Y	X - Y
153.33	204.00	-50.67
172.00	197.0	-25.00
241.333	209.555	+31.778
157.333	183.555	-26.222
165.000	209.555	-44.555
137.00	177.777	-40.777
205.666	194.222	+11.444
239.666	283.333	-43.667
149.50	221.40	-71.900
160.00	202.60	-42.600
212.00	207.666	+ 4.334
132.666	227.667	-95.001
$\bar{X} = 177.124$	$\bar{Y} = 209.86$	$X-Y = -32.7363$

donde :

\bar{X} = Promedio de los días de ciclo menstrual.

\bar{Y} = Promedio de los días de no ciclo .

$$T_{\text{calculada}} = 3.2082$$

$$T_{\text{tablas}} = 1.796$$

f).- Resultados :

H_0 : Se rechaza.

H_1 : Se acepta. Sí existe diferencia significativa en la cuenta de plaquetas cuando en las mujeres se presenta el ciclo menstrual, en comparación con los días cuando éste no se presenta.

IV.- Las medias o promedios obtenidas para cada grupo :
¿ son significativamente diferentes entre sí?, es decir, representan diferencia-estadística?. Para esta pregunta se decidió utilizar el análisis de varianza.

ANÁLISIS DE VARIANZA

El análisis de varianza fué elaborado por R.A. Fisher, y se utilizó principalmente en investigaciones agrícolas, pero posteriormente, ha encontrado aplicación en casi todas las disciplinas científicas. (12)

La aplicación mas sencilla de los métodos del análisis de varianza es el problema de contrastar la hipótesis sobre las Medias : $\mu_1 = \mu_2 \dots \mu_a$ de a poblaciones que se plantea como un problema de clasificación única. El modelo a aplicar es el siguiente :

Análisis de Varianza para el modelo con un criterio de clasificación.- En el presente estudio se va a efectuar de la siguiente manera :

Se tienen 3 grupos : A cada elemento de estos 3 grupos se le ha medido el promedio o la media, y tambien, se ha hecho lo mismo a cada grupo, y se desea investigar: Si existe diferencia en la media (μ_i) entre los 3 grupos.

Se realizó suponiendo :

- a).- Las cuentas hechas a las personas se distribuyen normalmente con media μ_i y la varianza σ^2 .
- b).- La varianza de las poblaciones son iguales.

c).- El problema en términos estadísticos consiste en probar la hipótesis :

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3.$$

Contra la hipótesis alternativa :

$$H_1: \mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3.$$

Es decir, hay alguna diferencia entre las 3 medias .

MODELO :

Si designamos X_{ij} , la medición hecha en la j -ésima persona del i -ésimo grupo, y si suponemos que estas medidas se distribuyen normalmente con media μ_i y varianza σ^2 , las desviaciones de X_{ij} a μ_i se deben a fluctuaciones debidas al azar. Estas desviaciones se expresan por :

$$E_{ij} = X_{ij} - \mu_i$$

que son los errores debidos al azar. Las E_{ij} se distribuyen normalmente con media cero y varianza σ^2 . La relación anterior se puede escribir :

$$X_{ij} = \mu_i + E_{ij}$$

y si además tenemos :

$$d_i = \mu_i - \mu$$

lo que nos dá :

$$\mu_i = \mu + d_i$$

Esto nos conduce al modelo :

$$X_{ij} = \mu + d_i + E_{ij}$$

donde : $i = 1, 2, 3, \dots, a$



Si tenemos N_i cuentas en los a grupos, la media muestral del tratamiento i -ésimo la representamos por :

$$\bar{X}_{i\cdot} = \frac{1}{a} \sum_{i=1}^a \bar{X}_i$$

la variación total respecto a la media total la expresamos por :

$$\sum_i^a \sum_j^{n_i} (X_{ij} - \bar{X}_{\cdot\cdot})^2$$

la cual se puede descomponer en variación entre grupos y variación dentro de grupos :

$$\sum_{i=1}^a \sum_j^{n_i} (X_{ij} - \bar{X})^2 = \sum \sum (X_{ij} - \bar{X}_{i\cdot})^2 + \sum n_i (\bar{X}_{i\cdot} - \bar{X})^2$$

expresado en términos de Análisis de Regresión : La suma de desviaciones al cuadrado "entre" corresponde a las desviaciones "explicadas", y la suma de desviaciones al cuadrado "dentro" a las "no explicadas".

El cociente de los cuadrados medios sigue una distribución "F" con $a - 1$ y $n - a$ grados de libertad (gl).

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculada
Entre	$S_A = \sum_i n_i (\bar{X}_{i\cdot} - \bar{X})^2$	$a - 1$	$S'_A = \frac{S_A}{a - 1}$	$\frac{S'_A}{S'_E}$
Dentro	$S_E = \sum_i \sum_j (X_{ij} - \bar{X}_{i\cdot})^2$	$n - a$	$S'_E = \frac{S_E}{n - a}$	
Total	$S_T = \sum \sum (X_{ij} - \bar{X})^2$	$n - 1$	$S'_T = \frac{S_T}{n - 1}$	

La hipótesis H_0 , se rechaza, si la "F" calculada es mayor o igual que la "F" obtenida en tablas.

PROCEDIMIENTO :

a).- Hipótesis de nulidad :

H_0 : Las medias de los tres grupos son todas iguales.

H_1 : Existe diferencia entre las 3 medias.

b).- Prueba estadística :

El estadístico usado es "F", la razón del cuadrado medio de las medias entre grupos, al cuadrado medio dentro de los grupos.

c).- Nivel de significación :

$\alpha = 0.05\%$ $n = 36$.

d).- La región crítica o de rechazo :

H_0 , se rechaza, si la "F" calculada, es mayor o igual a la "F" de tablas que corresponda.

e).- Operaciones :

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA.

Fuente de variación	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculada
Entre	17876.826	2	8938.413	3.187
Dentro	92555.039	33	2804.698	
Total	110431.867	35	3155.196	

$$F_{\text{calculada}} = 3.187$$

$$F_{\text{tablas}} =$$

f).- Resultados :

H_0 : Se rechaza. Las medias entre los grupos no son iguales.

H_1 : Se acepta al 5 %. Las medias entre los grupos son diferentes.

Los cálculos efectuados en las siguientes pruebas :

Prueba de χ^2 .

Prueba de "T" para dos muestras relacionadas.

Análisis de Varianza:

Se hicieron en la computadora de la División de Investigación de la Facultad de Medicina de la UNAM., en la Computadora:

PPD11 / 40.

D I S C U S I O N

Aunque no fúé fácil, lograr que las personas se sometieran a una serie de punciones y restricciones o que los padres aceptaran la punción periódica de sus hijos, se logró su colaboración que permitió obtener los valores presentados en este trabajo.

Se logró también tomar la muestra en cada persona, a la misma hora y en las mismas condiciones fisiológicas con el fin de excluir tanto una posible variación de las cuentas en el curso del día como de la influencia en la cuenta de la ingestión de alimentos y de la digestión, o de actividad física.

A pesar del número relativamente corto de personas estudiadas se apreció diferencia pequeña pero significativa en los promedios correspondientes a los hombre, las mujeres y los niños. Como estas diferencias son pequeñas tiene poca trascendencia en la práctica médica, en cambio el dato evidentemente mas importante obtenido en este estudio es que las mujeres pueden tener una cifra significativamente inferior a la variación considerada como normal para su edad o sexo, inmediatamente antes o durante el primer día del ciclo menstrual, lo que confirma el trabajo de la Dra. Genell (6); trabajo al que se le ha concedido menos trascendencia de la que amerita, dado que permite considerar normal una caída moderada de plaquetas inmediatamente antes o durante la primera etapa del ciclo menstrual. (18)

Lo que claramente queda fuera del alcance del trabajo elaborado, es sí esta caída menstrual fisiológica de plaquetas tiene

alguna repercusión en el mecanismo en la hemostásis de la mujer.

Finalmente puede concluirse que las variaciones en la familia García exceden claramente a las informadas en el trabajo de Morley (5).

C O N C L U S I O N E S

- 1.- Hay una pequeña diferencia entre los promedios de las cuentas obtenidas en un grupo de niños, en un grupo de hombres y en grupo de mujeres.
- 2.- Se observó una caída menstrual fisiológica significativa, que confirma y precisa el resultado obtenido previamente por Genell.
- 3.- Las variaciones informadas, en la Fam. García exceden claramente las encontradas en las personas normales estudiadas en este trabajo.

CUADRO # 1

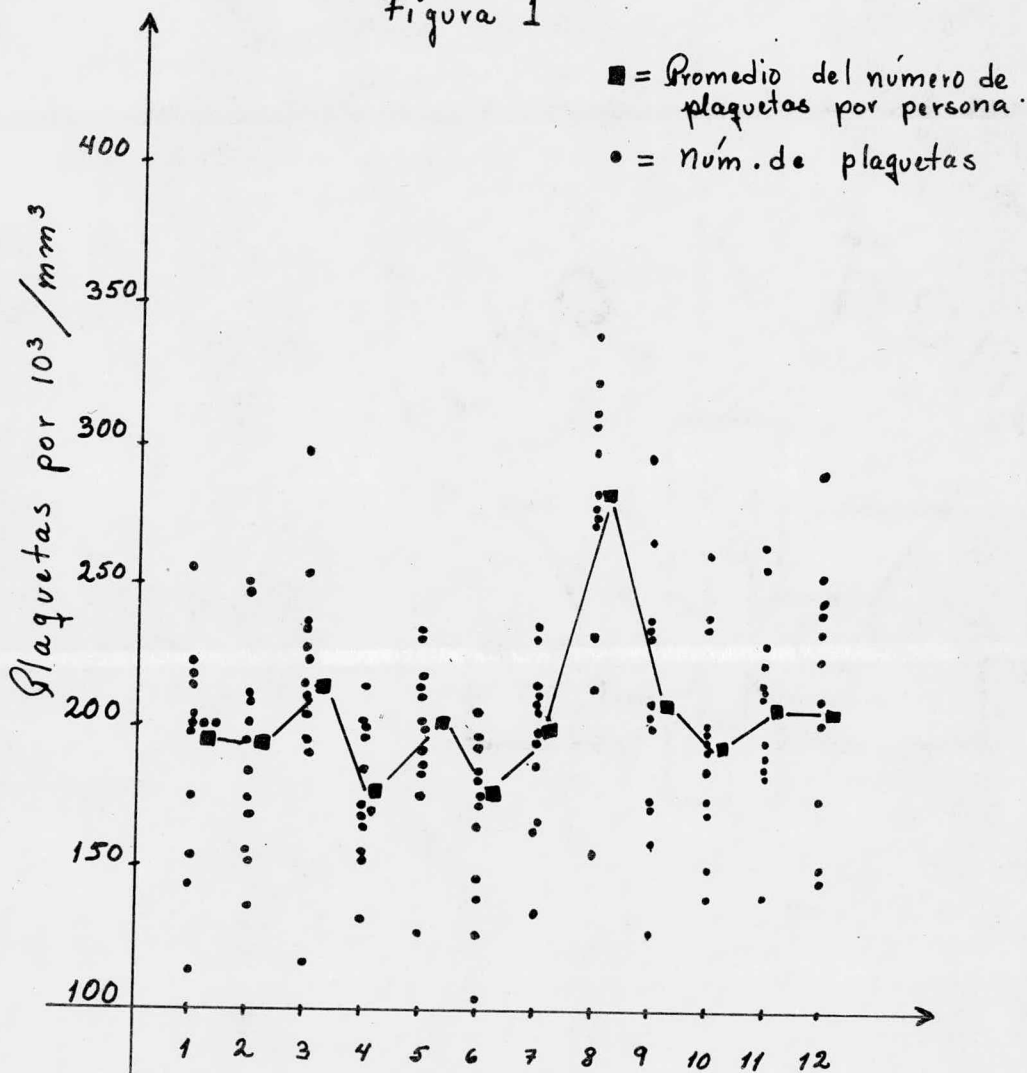
**CALCULO DEL PROMEDIO DE LAS CUENTAS DE PLAQUETAS
Y DE LA DESVIACION ESTANDAR PARA CADA UNO DE LOS
3 GRUPOS A PARTIR DE SUS PROMEDIOS INDIVIDUALES.**

Número de Hombres Mujeres Niños	Promedios de las 10^3 cuentas de plaquetas por mm^3		
	Hombres	Mujeres	Niños
1	275.83	191.33	189.25
2	231.08	190.75	201.75
3	330.66	217.5	193.17
4	290.5	177.0	182.91
5	201.0	198.41	321.0
6	180.33	167.58	175.25
7	170.66	197.08	231.16
8	151.16	272.41	247.25
9	185.33	209.41	365.25
10	243.25	195.5	319.08
11		208.75	306.16
12		203.91	268.0
13			349.16
14			307.41
\bar{X}	226.00	202.47	254.77
D.E.	55.63	24.88	62.337

\bar{X} = Promedio obtenido para cada grupo.

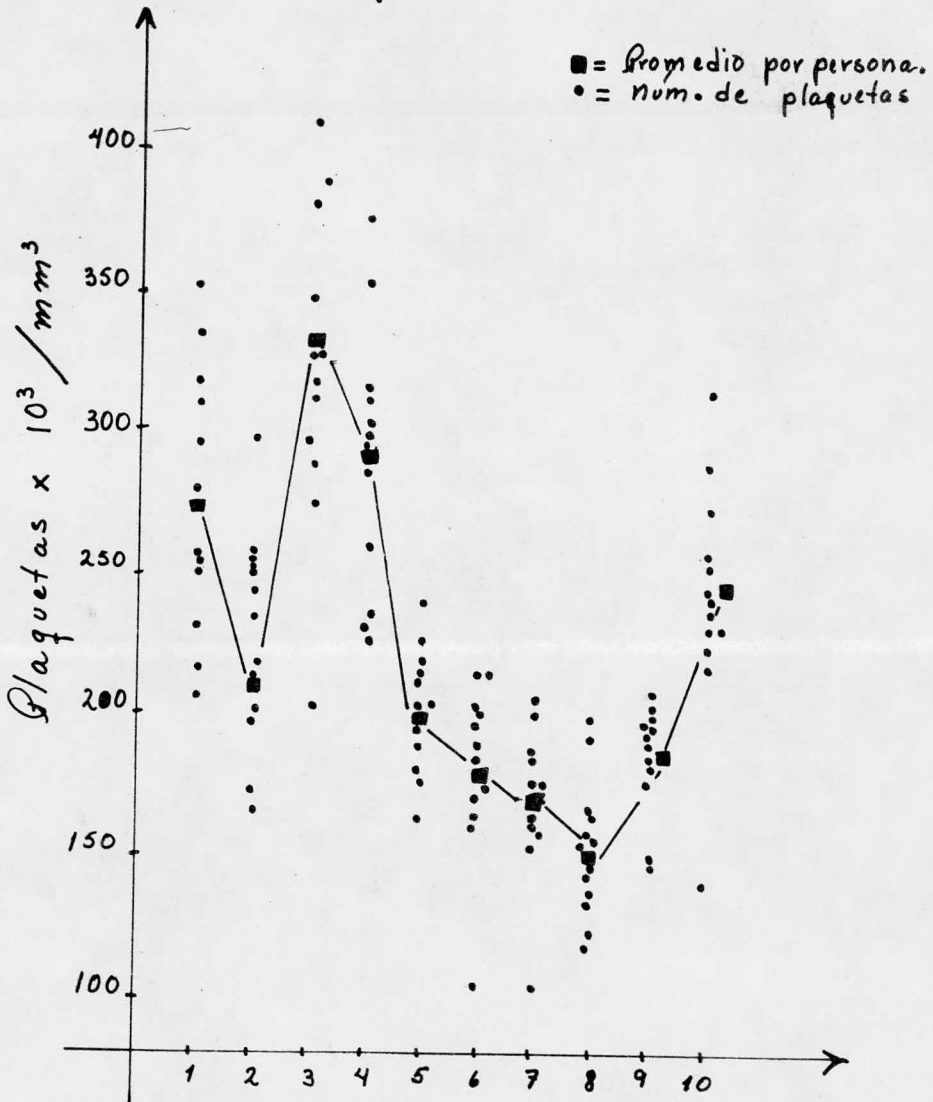
D.E. = Desviación Estandar obtenida para cada grupo.

Figura 1



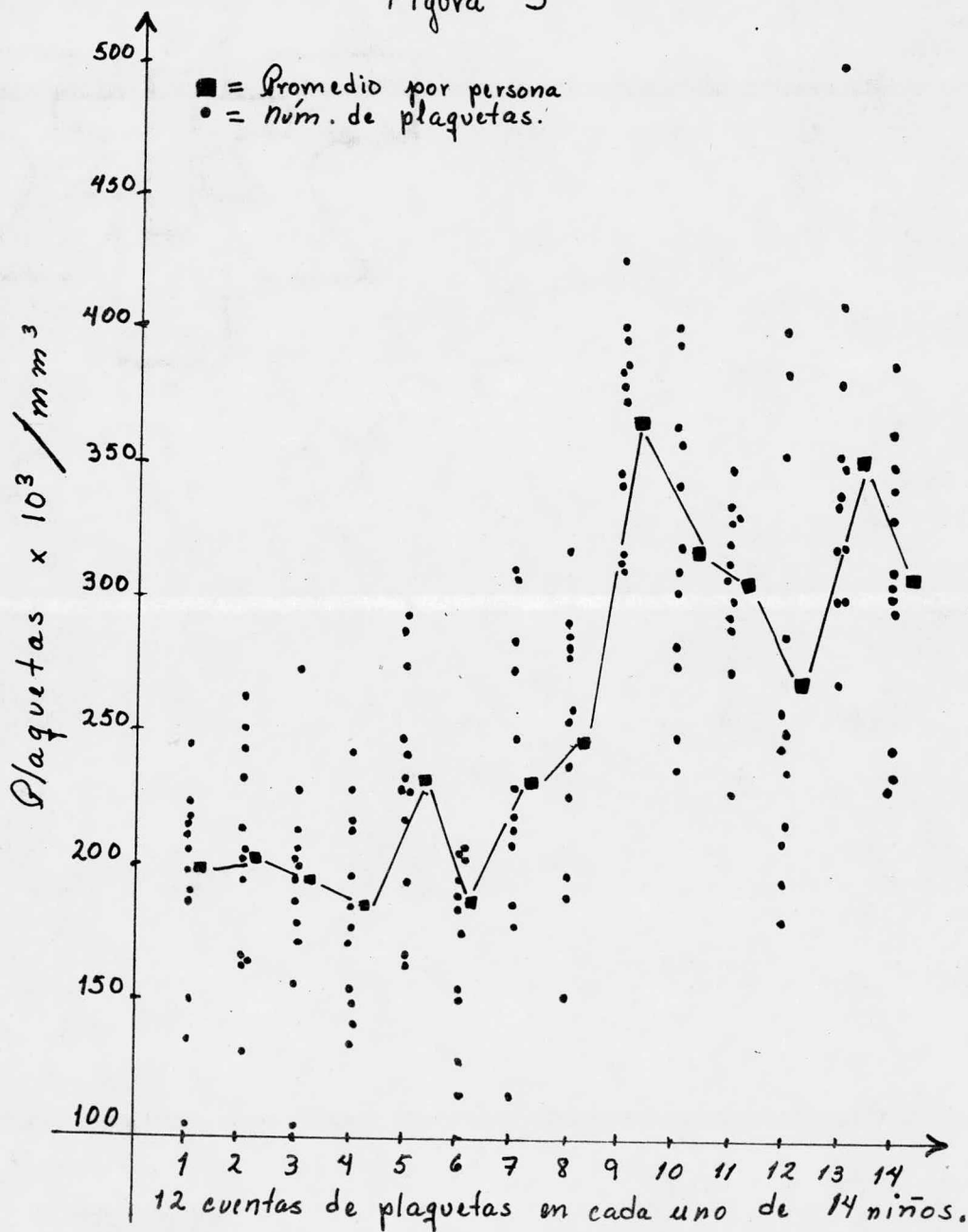
12 Cuentas de plaquetas en cada una de las 12 mujeres.

Figura 2



12 cuentas de plaquetas en
cada uno de los 10 hombres.

Figura 3



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

- 1.- William J. Williams, Ernest Beutler.
Hematología.
Cap. 123-7, tomo II
Versión española de la primera ed.
Salvat editores (1975).
- 2.- Tocantins L.M. (1938). The mammalian blood platelets in --
health and disease. Medicine (Baltimore). 17, 175-187.
- 3.- S. I. Rapaport.
Introducción a la Hematología.
Cap. 25
Salvat editores (1974).
- 4.- Altman R.L. Blood and other body fluids. Federation of ame-
rican societies for experimental biology. Wash 133, 1961.
- 5.- Morley A. (1969) A platelet cycle in normal individuals .
Aust. Ann. Med. 18, 127-29.
- 6.- Genell S. (1936) A study of variatios in the number of blood
platelets during the menstrual cycle. J. Obstet. Gynaecol.
Emp. 43, 1124-34.
- 7.- Eduardo Aranda, Samuel Dorantes M. García'Disease. Cyclic
Thrombocytopenic púrpura in a child abnormal platelet counts
in his family. Scand. J. Haematól. (1977), 18, 39-46.
- 8.- Brecher G. and Cronkite E.P.(1950) Morphology and enumeration
of human blood platelets. J. Appl. Physiol. 3, 365-77.
- 9.- Brecher G. and Cronkite E.P. Morphology and enumeration of
human blood platelets. Am. J. Clin. Pathol. 23 : 15, 1939.
- 10.- Todd-Sanford.
Diagnostico clínico por el laboratorio.
Salvat editores
págs : 139-42, 153-56.
1974.

- 11.- Sidney-Siegel.
Estadística no paramétrica.
págs : 64-66, 130-36
Ed. Trillas
Mec. 1975.
- 12.- Taro Yamane.
Estadística
Tercera Ed.
Cap 21, págs : 399; 420-35.
1974.
- 13.- Bernard Ostle
Estadística aplicada.
págs 119
Ed. Limusa
1973.
- 14.- Dixon y Massey
Introducción al análisis estadístico
Cap. 10 págs 136-48.
Seg. edición
McGraw-Hill 1970.
- 15.- Bernard J. Caen J. (1962) Púrpura thrombopenique et megacaryocitopenie cycliques mensuel *Nouv. Rev. Fran. Hemat.* : 2 , 378-86.
- 16.- Cacciola E., Lombard T, Cicliano R, Musso, (1973). Le plas-trinopenie idiopatiche recidivanti. *Contributo clincoematológico. Haematolo. (pavia)* 58, 203-09.
- 17.- Engström K., Lundkvist A., and Söderström N., (1966). Periodic Thrombocytopenia or tidal platelet dysgenesis in a man. *Scand. J. Haematol* 3, 290-4.
- 18.- Pepper H., Liebowitz D., and Lindsay S. (1956). Cyclical Thrombocytopenia púrpura relate to the menstrual cycle. *Arch. Pathol.*, 61, 1-5.
- 19.- Wasatjerna C. (1967) Cyclic Thrombocytopenia of acute type. *Scand. J. Haematol.* 4, 380-84.
- 20.- Dorantes S. : Comunicación personal.



TESIS "CLASICAS"

PASEO DE LAS FACULTADES 32-D
FRACC. COPILCO UNIVERSIDAD
CIUDAD UNIVERSITARIA 20