

41  
21

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

**Facultad de Estudios Superiores  
"CUAUTITLAN"**



**VALORACION DE LA CALIDAD DE LAS PLAQUETAS  
OBTENIDAS POR PLAQUETA FERESIS CON UN  
EQUIPO DE CENTRIFUGACION DE TIPO  
INTERMITENTE**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA  
P R E S E N T A :**

**MARIA REGINA DE JESUS RAMOS AGUILAR**

**Director de Tesis: Dr. José González Llaven**





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 está 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.

## INDICE DE LA TESIS

	Hójas
RESUMEN .....	1
INTRODUCCION.....	2-6
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	7
OBJETIVOS .....	8
HIPOTESIS .....	9
MATERIAL Y METODOS .....	10-25
RESULTADOS Y DISCUSION .....	26-43
CONCLUSIONES .....	44
BIBLIOGRAFIA .....	45-50

## RESUMEN

El objetivo del trabajo fue el de evaluar el rendimiento de la plaquetaféresis y su utilidad clínica en nueve pacientes con trombocitopenia secundaria, que recibieron plaquetas obtenidas por plaquetaféresis en Haemonetics B-30, a quienes se les practicó un tiempo de sangrado de Ivy pre-aféresis y un recuento plaquetario pre y post-aféresis. Al concentrado obtenido se le contaron plaquetas y se midió la agregación de las mismas con difosfato de adenosina (ADP) y colágena. Al paciente se le realizó un tiempo de sangrado de Ivy pre y una hora después de la transfusión y un recuento plaquetario pre, una hora y 24 horas post-transfusión, se determinó el rendimiento de plaquetas del procedimiento.

Resultados: El rendimiento fue de 77.9% de plaquetas obtenidas. La agregación disminuyó 24.5% con ADP y 33.4% con colágena después del procedimiento. El tiempo de sangrado de los receptores se redujo a 9.4' y la cuenta de plaquetas incrementó 286% a los 60' y 245% a las 24 horas. Las cuentas plaquetarias en los donadores registraron un descenso considerable del primer ciclo al tercero, observándose decrementos e incrementos en los siguientes ciclos del procedimiento. Estos resultados demuestran un buen rendimiento, la recuperación in vivo de las alteraciones funcionales observadas in vitro y un incremento adecuado y prolongado de las plaquetas post-transfusión.

## INTRODUCCION

La producción de plaquetas depende de un sistema multipotencial de células de la médula ósea, el cual está constituido por varias líneas celulares unipotenciales, una de ellas da origen a los megacariocitos los cuales al fragmentarse dan lugar a la formación de plaquetas. Estas miden aproximadamente de 2 a 3  $\mu$  de diámetro cuando se encuentran en su forma madura, siendo de tamaño mayor las plaquetas recién formadas; presentan forma de disco cuando se encuentran en circulación y adoptan una forma dendrítica en contacto con las estructuras subendoteliales. El número normal en circulación es de 150,000 a 400,000/mm<sup>3</sup>. Una tercera parte del total se depositan en el bazo (1,2,3).

En las plaquetas se distinguen tres grandes zonas estructurales cada una de ellas está relacionada con algún aspecto de la función plaquetaria. La zona periférica se relaciona en la adhesión, la zona del sol-gel en la contracción y la zona de organelos en la secreción (4,5).

La zona periférica incluye tres partes: a) Glicocálix, b) Membrana y c) Región de submembrana. Esta zona está provista de los receptores para estimular la activación plaquetaria y los sustratos para las reacciones de adhesión y agregación.

La zona de sol-gel está constituida por un sistema de fibras en varios estados de polimerización los cuales mantienen la forma de disco de las plaquetas y está provista de un sistema contráctil involucrado en el cambio de forma, emisión de pseudópodos, contracción y secreción de las plaquetas activadas.

En la zona de organelos se encuentran tres tipos de granulos cuyo contenido se secreta cuando las plaquetas se activan.

Los granulos  $\alpha$  contienen el factor 4 plaquetario, tromboglobulina (la concentración de estas sustancias se encuentran alteradas en pacientes con trombosis) y el factor mitogénico. Los granulos densos contienen trifosfato de adenosina (ATP), difosfato de adenosina (ADP), serotonina y  $Ca^{2+}$ . Y el tercer grupo de granulos lo constituyen los lisosomas y mitocondrias (6).

Las plaquetas son esenciales para mantener la hemostasis normal, son las primeras células que intervienen en la detención de hemorragias como respuesta a una lesión vascular formando un trombo plaquetario provisional. En este proceso se llevan a cabo dos fenómenos, estos son la adhesión y agregación; la adhesión constituye la unión de las plaquetas al subendotelio y la agregación es la unión de las plaquetas entre sí. Estas también participan en la coagulación sanguínea por medio del factor 3 plaquetario, el cual actúa como cofactor en la formación de trombina, ésta reviste el tapón de plaquetas con fibrina.

El fenómeno de agregación es inducido por el tromboxano,  $A_2$  ( $TXA_2$ ), el factor de activación plaquetaria (FAP) y el ADP en dógeno. El  $TXA_2$  se sintetiza a partir del ácido araquidónico; los productos intermediarios de esta síntesis son los endoperoxidos cíclicos ( $PGG_2$  y  $PGH_2$ ). Por esta vía se sintetizan también las prostaglandinas ( $PGE_2$  y  $PGF_2$ ) y la prostaciclina  $PGI_2$  éste último es un agente inhibidor del proceso de agregación plaquetaria (2,4,7).

Las pruebas de laboratorio para medir función plaquetaria — más comunmente empleadas son, el tiempo de sangrado de Ivy — las pruebas de agregación plaquetaria y retracción del coágulo

10. Existen además otras pruebas como la adhesividad plaquetaria y la actividad del factor 3 plaquetario.

La agregación in vitro puede ser inducida por varios agentes externos, dentro de estos se encuentran el ADP, la colágena, la epinefrina y la trombina. Las concentraciones utilizadas en éste tipo de pruebas son: a)ADP:0.2mg/l, b)colágena: 2mg/l c)epinefrina:  $1 \times 10^{-4}$  mol/l y d) trombina: 0.1-1 nM/l.

Debido a la importancia que tienen las plaquetas en el proceso de hemostasis, es necesario mantenerlas dentro de un rango de funcionalidad y cantidad adecuados pues, de lo contrario, se puede presentar un estado de trombocitopatía, trombocitopenia ó trombosis. La trombocitopenia es una complicación frecuente en las leucemias agudas e hipoplasia medular en las que por sí sólo, es causa de la muerte del 15% y 50% de los pacientes respectivamente, por éste motivo se han desarrollado varios métodos para su obtención y disponibilidad para estos pacientes. Dentro de estos se encuentran los procesos de centrifugación continua o intermitente (plaquetaféresis).

Las primeras experiencias con la manipulación extracorpórea de la sangre se experimentó en los primeros años de éste siglo por Hédon en Francia. Este realizó los primeros trabajos en perros y conejos, que continuaron otros investigadores. Sin embargo se ha visto el desarrollo de varias máquinas centrifugas a partir de la década de los cincuenta, época en que Cohn introdujo el primer separador de células sanguíneas (8).

En la actualidad se cuentan con aparatos que permiten hacer una separación selectiva de cada uno de los componentes celulares y plasmáticos de la sangre (aféresis). Este método ofrece

ce la ventaja de que la fracción plaquetaria se obtiene de un solo donador, ya que equivale a 6 ó 8 concentrados plaquetarios obtenidos por el método tradicional (centrifugación diferencial), que consiste en someter a dos velocidades y tiempos diferentes, en un primer paso se obtiene plasma rico en plaquetas y posteriormente el concentrado plaquetario; de ésta forma se disminuye la probabilidad de transmisión de enfermedades virales como la hepatitis y la isoimmunización del paciente, riesgos más comunes que se presentan después de transfundirlos periódicamente (9).

Dentro de las desventajas del método está el tiempo durante el cual se somete al donador al procedimiento (aproximadamente 1 hora 45 minutos) y los efectos secundarios que presentan algunos donadores que aunque leves son frecuentes, como paratías bucales, rigidez de lengua, esto es consecuencia de la hipocalcemia provocada por la administración del anticoagulante. Este efecto puede contrarrestarse disminuyendo la velocidad de reinfusión del paquete sanguíneo, cuando los síntomas son más severos se detiene el procedimiento y se hace ingerir leche ó alguna substancia que contenga  $Ca^{2+}$  al donador (10).

El material que se emplea en el procedimiento debe estar libre de pirógenos tanto las soluciones (anticoagulante, solución salina) como el equipo de plástico, éste último se desecha una vez concluido el proceso.

El procedimiento se fundamenta en la separación de células y plasma en base a su peso específico cuando se someten a una fuerza de centrifugación. La recuperación de un componente — permite regresarle al donador el resto de las fracciones no utilizadas.

En resumen, la separación selectiva de las plaquetas (plaque taféresis) se realiza a través de una vía de extracción (vena) del donador, la sangre de éste circula por un circuito — extracorpóreo por lo que la sangre debe ser anticoagulada. Pasa por una centrifuga donde se realiza la separación selectiva y por una vía de retorno se le regresa la sangre al donador (figura 3).

El término separación intermitente implica que la máquina se llena del volumen sanguíneo, se cierra la vía de extracción, se centrifuga y se regresa el volumen procesado (esto equivale a un ciclo) y éste proceso se repite de 6 a 9 veces para completar un volumen determinado (figura 4). Cuando la vía de extracción no se cierra el proceso de separación se dice que es continuo.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La transfusión de plaquetas preparadas con procedimientos de aféresis con equipos de centrifugación intermitente no han sido evaluados en nuestro medio y es trascendente hacerlo como una forma de realizar el control de calidad de la plaquetaféresis que por ser un procedimiento frecuente tiene más importancia. En los últimos años, la transfusión de plaquetas por aféresis se realiza en un promedio de 35 a 40% por mes en pacientes con leucemia aguda, purpura trombocitopénica secundaria a aplasia medular ó a anticuerpos en este caso es muy — trascendente identificar a los pacientes que por tener anticuerpos ó secuestro esplénico son refractarios a la transfusión de plaquetas. La identificación de tales pacientes es — trascendente para ofrecerles tratamiento efectivo en forma — oportuna. Por otra parte para el cálculo del rendimiento del procedimiento es necesario conocer si es más preciso determinarlo al inicio y al final ó en cada ciclo de centrifugación; así como comprobar la calidad de las plaquetas preparadas por estos métodos.

### OBJETIVOS

- Valorar la utilidad de las plaquetas obtenidas por — plaquetaféresis, en el control del sangrado por trombocitopenia.
- Valorar la eficiencia del método para la obtención de plaquetas en un aparato de centrifugación intermitente.

## HIPOTESIS

Los preparados de plaquetas obtenidas por centrifugación intermitente contienen un número adecuado de plaquetas y mantienen una integridad funcional aceptable, por lo que son efectivas en el tratamiento de las hemorragias por trombocitopenia.

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

Para la realización de este trabajo se seleccionaron nueve - pacientes con trombocitopenia secundaria a hipoplasia medular (cuatro) y leucemia aguda (cinco) y a sus nueve donadores. Y a otro grupo de siete donadores el cual fue evaluado para estudiar las variaciones en cuanto a número de plaquetas por ci clo al ser sometidos a la plaquetaféresis.

A los nueve pacientes y sus respectivos donadores se les regularon las siguientes pruebas:

## 1. Donadores

- 1.1. Para evaluar la función y número de las plaquetas del donador antes del procedimiento se le realizó un tiempo de sangrado de Ivy (11), y se tomó una muestra de sangre para efectuarle pruebas de agregación plaquetaria con ADP y colágena (12,13) y recuento plaquetario (14).
- 1.2. Para determinar el descenso del número de plaquetas del donador, se realizó un recuento plaquetario antes y después del procedimiento.

## 2. Bolsa de recolección (concentrado plaquetario)

- 2.1. Para evaluar la función y el número de plaquetas obtenidas mediante la plaquetaféresis se tomó una alícuota de la bolsa para llevar a cabo las pruebas de agregación -- con ADP y colágena (12,13) y recuento plaquetario (14) - éste se determinó en una dilución 1:200].

2.2. Para conocer el número de plaquetas totales se pesó el -  
concentrado plaquetario en una balanza granataria (ver -  
fórmula; página 31).

### 3. Pacientes

3.1. Para conocer los valores basales del paciente se le rea-  
lizó un tiempo de sangrado de Ivy (11) y se le tomó una  
muestra de sangre para un recuento plaquetario (14), an-  
tes de la transfusión.

3.2. La recuperación en el paciente, al ser transfundido con  
las plaquetas recolectadas a través de éste procedimien-  
to, se evaluó mediante un tiempo de sangrado de Ivy (11),  
un recuento plaquetario (14) a los 60 minutos post-trans-  
fusión, 24 horas después se realizó un recuento plaqueta-  
rio para saber si la recuperación se mantenía.

Para valorar la eficiencia del método se determinó los si-  
guientes parámetros:

- Peso de la bolsa de recolección
- Número de plaquetas/mm<sup>3</sup> en la bolsa de recolección
- Volumen sanguíneo procesado por ciclo  
(esto depende del peso en Kg y biotipo del donador)
- Número de ciclos realizados  
(esto depende del volumen sanguíneo procesado por ciclo)

(Ver fórmula página 31)

Al observar los resultados tanto en el descenso final en las

cuantías plaquetarias de los nueve donadores como el rendimiento de los procesos realizados en estos, se decidió determinar el número de plaquetas por cada ciclo efectuado de la plaquetaféresis. Por lo que se eligió un grupo de siete donadores - a los cuales se les tomó una muestra sanguínea y al final de cada ciclo. En dos de estos procedimientos se determinó el rendimiento en cada uno de los ciclos involucrados en la plaquetaféresis y se cuantificó el número de células contaminantes por ciclo en cada concentrado plaquetario, mediante las determinaciones de hematocrito, leucocitos y recuento diferencial (unicamente en estos se emplearon bolsas independientes para la recolección de plaquetas en cada uno de los ciclos).

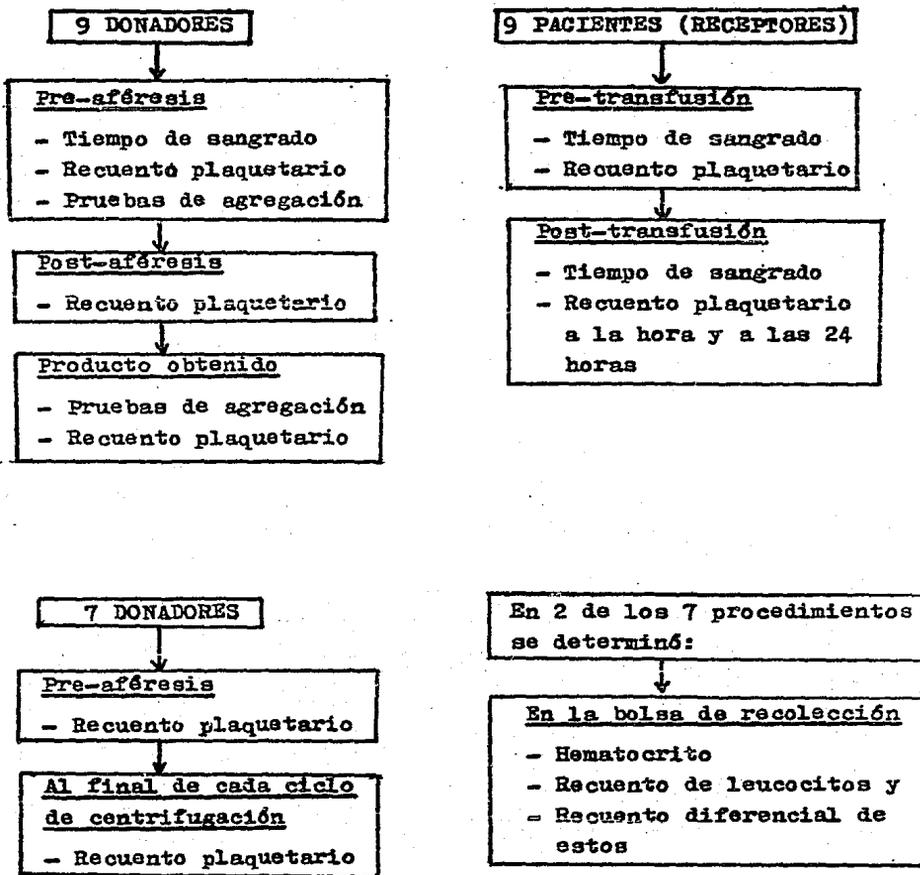


FIGURA No. 1. ESQUEMA DEL PROGRAMA DE TRABAJO REALIZADO EN ESTE ESTUDIO.

**TIEMPO DE SANGRADO DE IVY**  
**(METODO MODIFICADO DE IVY POR MIELKE Y COL) (11)**

El tiempo de sangrado es el necesario para que deja de sangrar una herida estandarizada en la piel. Es una medida de la función plaquetaria e independiente del mecanismo de la coagulación, aunque en caso de alteración grave de la coagulación el tiempo de sangrado puede estar alargado.

**MATERIAL:**

Baumanómetro

Cronómetro

Bisturí No. II

Discos de papel filtro

**TECNICA:**

En el brazo del paciente se coloca el baumanómetro a 40 mm - de Hg el cual se mantiene constante a lo largo de la prueba, - se desinfecta el antebrazo y se busca un área avascular, se efectúan dos cortes (con aproximadamente 5 cm de distancia entre los cortes) de 10 mm de largo por 0.5 mm de profundidad.

Las gotas de sangre que surgen de las incisiones se absorben a intervalos de 30 segundos con discos de papel filtro.

Valor Normal: de 2 a 7 minutos

**FUENTES DE ERROR**

- 1.- La hoja de bisturí debe ser estéril y afilada, la variación de resultados depende de las dimensiones de las incisiones.
- 2.- En caso de lesionar un vaso sanguíneo se puede presentar

tiempos de sangrados prolongados lo que no indica que exista alteración de plaquetas. En estos casos se recomienda repetir la prueba.

- 3.- Generalmente hay relación entre el número de plaquetas y el tiempo de sangrado.
- 4.- La enfermedad de Von Willebrand, la trombocitopatía adquirida ó hereditaria con cifras de plaquetas normales cursan con tiempos de sangrado prolongados.
- 5.- La indicación de que ésta ha sido bien realizada es que - la diferencia entre los dos tiempos obtenidos debe ser mínima, de acuerdo a la prolongación de ellos.

## AGREGACION PLAQUETARIA (12,13)

Se lleva a cabo en un agregómetro en el cual se hace incidir un haz de luz a través de una celdilla que contiene un plasma rico en plaquetas y al añadirle un agente agregante ADP & colágena se induce la formación de agregados plaquetarios lo que va a producir cambios en el paso de luz aumentando la transmitancia, lo cual va a ser registrado en un graficador - dandonos una curva de agregación.

### MATERIAL:

Agregómetro (ver figura página 19)  
Cámara de Neubauer  
Microscopio de contraste de fases  
Micropipetas de 50  $\mu$ l y 500  $\mu$ l  
Tubos de plástico  
Pipeta para cuenta de glóbulos rojos

### REACTIVOS:

Difosfato de adenosina (ADP)  $1 \times 10^{-4}$  mol/l  
Colágena 0.2 g/l  
Citrato de sodio al 3.8%  
Oxalato de amonio 1%

Material biológico: muestra de sangre anticoagulada con citrato de sodio en proporción 9:1.

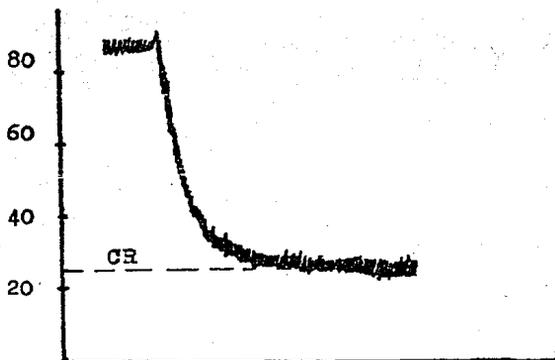
### TECNICA:

- En primer lugar se obtiene el plasma rico en plaquetas (PRP) centrifugando la muestra de sangre a 1000 rpm durante 10 minutos.
- Para preparar el plasma pobre en plaquetas (PPP) se centrifuga la muestra original de sangre a 3000 rpm durante 10 minutos.

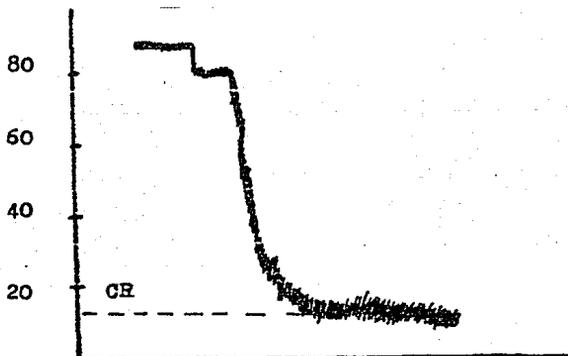
- Una vez que se obtienen cada uno de los plasmas se prepara a partir del PRP una suspensión que contenga 200,000 plaquetas/mm<sup>3</sup>.
- En la celda del agregómetro se adiciona 450  $\mu$ l de PRP con esta muestra se calibra el aparato a una transmitancia de 10%.
- En otra celdilla se coloca un agitador de plástico y se adiciona 450  $\mu$ l de PRP y se calibra a una transmitancia de 90%.
- La muestra problema (450  $\mu$ l) se deja incubar durante un minuto a 37°C en seguida se añade el agente agregante se deja actuar 5 minutos para observar la respuesta de agregación plaquetaria.

Para esta prueba se recomienda trabajar una muestra control además de la muestra problema.

Valores Normales = 70% - 100%



Curva típica de agregación plaquetaria con ADP

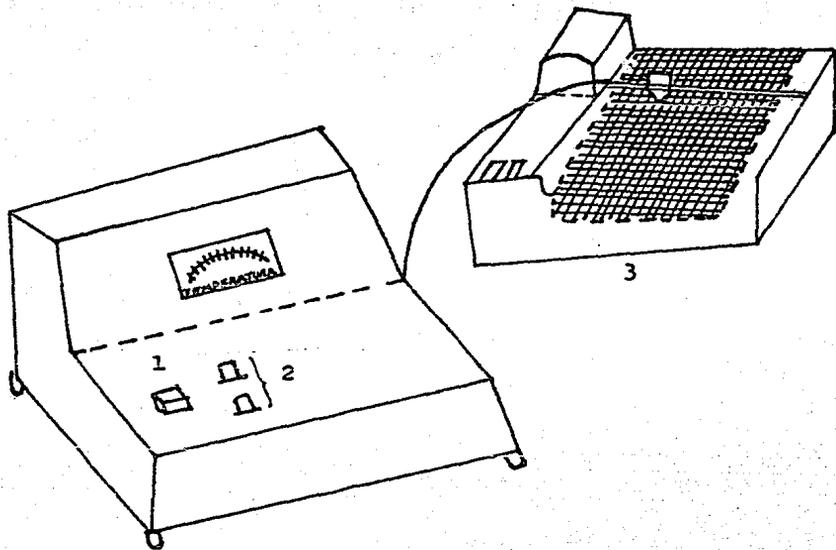


Curva típica de agregación plaquetaria con -  
colágena

Calculos: %Agregación =  $\frac{90 - CR}{90 - 10} \times 100$

Con PRP se ajusta a una transmitancia de 90%

Con PPP se ajusta a una transmitancia de 10%



- 1.- Celda
- 2.- Botones de ajuste
- 3.- Graficador

FIGURA NO. 2. ESQUEMA DEL AGREGOMETRO EMPLEADO PARA LA REALIZACION DE LAS PRUEBAS DE AGREGACION.

**CUENTA DE PLAQUETAS**  
**(BRECKER Y CRONKITE) (14)**

La sangre total se diluye con el oxalato amónico al 1%, el cual hemoliza completamente a los eritrocitos. Las plaquetas se cuentan mediante la cámara de Neubauer y en microscopio de contraste de fases en seco fuerte.

**MATERIAL:**

Microscopio de contraste de fases  
Cámara de Neubauer  
Pipeta para cuenta de glóbulos rojos  
Tubos de vidrio  
Jeringa ó lanceta desechables

**REACTIVOS:**

Oxalato de amonio al 1%

**TECNICA:**

Cargar la pipeta cuenta glóbulos rojos hasta la marca 1.0 --- completar el volumen con oxalato de amonio hasta 101 (dilución 1:100) agitar la pipeta por 10 minutos en el agitador --- mecánico\*. Desechar las 5 primeras gotas del contenido y llenar la cámara de Neubauer.

La cámara se coloca en una caja de Petri que contiene papel filtro húmedo (cámara húmeda) y se deja reposar 15 minutos de manera que las plaquetas se sedimenten y puedan contarse.

En un microscopio de contraste de fases se cuentan las plaquetas que se encuentran en la cuadrícula central de la cámara de Neubauer.

Cálculos: No. de plaquetas x factor x factor de = No. de pla-  
contadas de di- volumen quetas/mm<sup>3</sup>  
lución

Valores Normales = 150,000 - 400,000/mm<sup>3</sup>

\* con objeto de lisar los eritrocitos y los leucocitos.

**COMENTARIOS:**

Solo en casos que tengan trombocitosis se recomienda hacer -  
dilución 1:200.

## PLAQUETAFERESIS

Las plaquetas se obtienen mediante centrifugación de tipo intermitente.

### MATERIAL:

Un aparato de centrifugación intermitente (Haemonetics 30)  
Un circuito extracorpóreo  
Una campana de aféresis (ésta se introduce a la centrifuga —  
del Haemonetics)  
Bolsang transfer con capacidad de 600 ml .  
2 cateters No. 14 ó 16  
Gasas

### REACTIVOS:

Solución salina fisiológica (120 a 300 ml)  
Citrato de sodio al 3.0% (400-500 ml)

### TECNICA:

- Conectar el aparato
- Descubrir con técnica aséptica el circuito extracorpóreo e instalarlo.
- Colocar la bolsa de reinfusión en la varilla móvil con el fin de bajar ó subir de acuerdo a las necesidades.
- Las líneas van respectivamente a la bomba de llenado y vaciamiento de la campana, y la línea delgada se coloca en la bomba del anticoagulante.
- Colocar la campana dentro de la centrifuga asegurandola perfectamente y unir las líneas de llenado y de separación.
- Hacia arriba se mantiene la solución salina fisiológica con el fin de lavar las venas para que no se ocluyan y a su vez

practicar la purga del aparato.

- Purga del aparato (vía de reinfusión)

Abrir la llave de paso de la solución salina y la llave de paso de la bolsa de reinfusión.

- Tomar la presión arterial al donador antes de iniciar el procedimiento.

En el brazo donde se obtiene la sangre se coloca un baumanómetro y se lleva la presión a 60 mm Hg manteniéndola durante todo el procedimiento. Posteriormente se hace la asepsia del sitio de punción en el donador, en seguida se introduce la aguja del circuito extracorpóreo a la vena del donador. Se enciende la máquina y la centrifuga y se inicia el procedimiento a una velocidad de 40 a 100 ml/min. de sangre dependiendo de la capacidad de la campana y del acceso venoso. Se hace la separación sacando el anillo plaquetario, más minuto y medio de glóbulos rojos a una velocidad de 20 ml/min una vez obtenidas las plaquetas se regresa el volumen removido anteriormente al donador por el otro brazo.

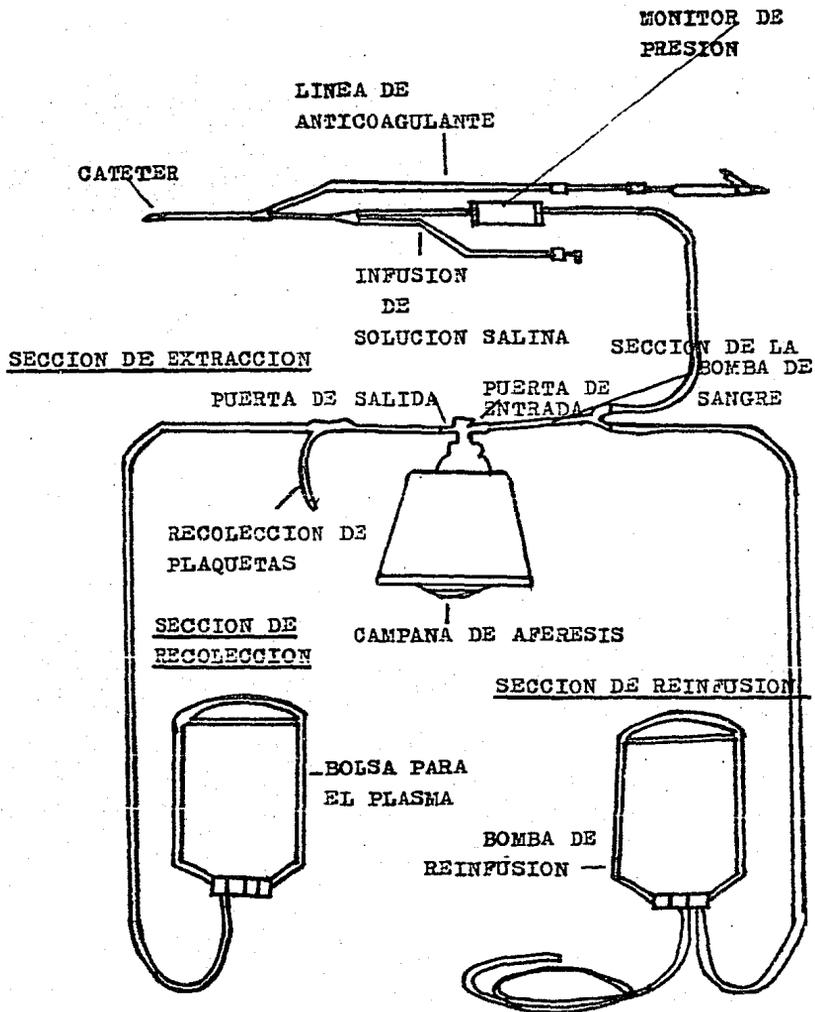


FIGURA No. 3. ESQUEMA DEL CIRCUITO EXTRACORPOREO EMPLEADO EN EL PROCESO DE PLAQUETAFERESIS.

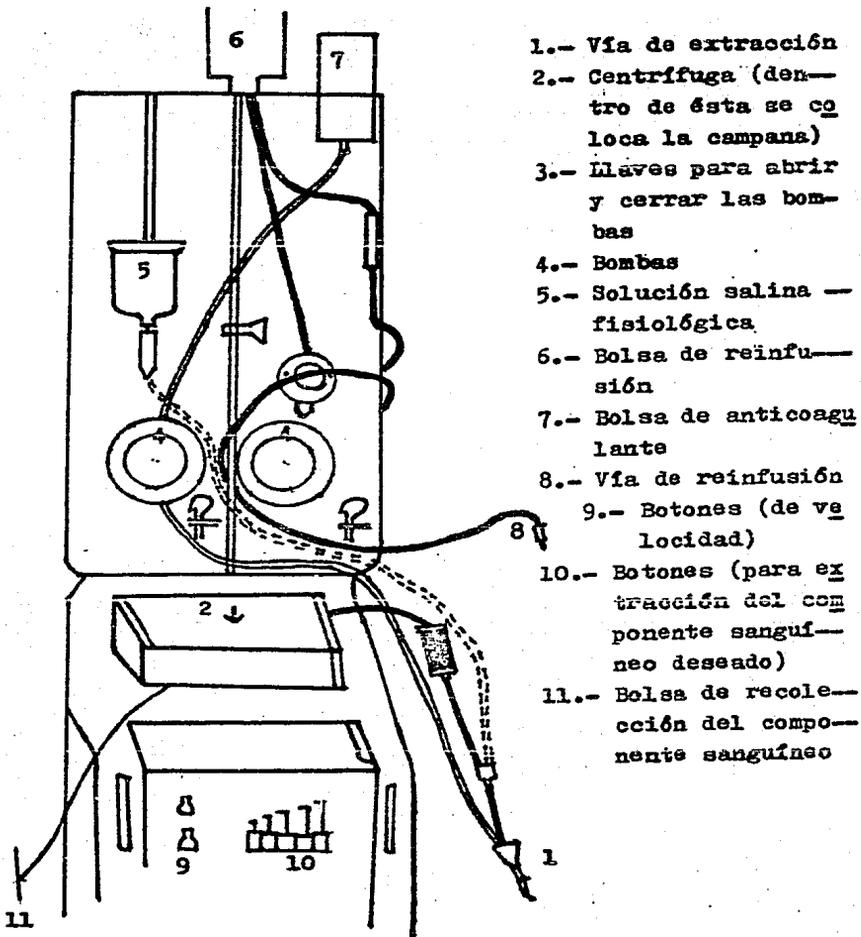


FIGURA No. 4. ESQUEMA DEL APARATO DE CENTRIFUGACION INTERMITENTE (HAEMONETICS 30).

## RESULTADOS Y DISCUSION

De acuerdo a nuestros resultados observamos que los donadores con número inicial de plaquetas bajo sufren un descenso menor que los que tienen su cuenta basal más alta (tabla No. 1), esto puede deberse a una movilización mayor del número de plaquetas en los primeros por mecanismos de compensación (20). Nuestros resultados muestran cierta similitud con los obtenidos por Huestis (17).

La cantidad de plaquetas recolectadas está relacionada al número de plaquetas basales, al volumen procesado y a la respuesta de reposición de cada donador. El promedio de los nueve donadores resultó en una cuenta de plaquetas basal de  $274 \times 10^3$ , con descenso a  $174.5 \times 10^3$  al término del procedimiento, con una cuenta de  $2110 \times 10^3/\text{mm}^3$  en la recolección y una cantidad total de  $6.38 \times 10^6$ .

Los porcentajes de rendimiento que se especifican en la tabla No. 2 presentan un rango amplio que va de 43.3 a 120.5% - debido al diferente grado de movilización plaquetaria de cada donador al tiempo que se dió al separar el anillo plaquetario durante el procedimiento, repercutiendo esto último en el peso de la bolsa de recolección y por ende en el número de plaquetas totales.

Los valores de descenso en las cuentas plaquetarias del donador por ciclo se encuentran en la tabla No. 3 y se esquematizan en la figura 5, estos muestran una caída rápida del primer al tercer ciclo, haciéndose constante en el cuarto ciclo y empieza a variar con descensos e incrementos en los siguientes ciclos, probablemente aquí se lleva a cabo la movilización de plaquetas de los sitios de reserva (22).

Debido a que la fórmula para calcular el rendimiento tomo en cuenta el recuento de plaquetas pre y post-procedimiento, se pensó que podría haber diferencia si esto se hacía por ciclo, es por esto que se determinó el rendimiento por ciclo en dos procedimientos. Los datos se enlistan en la tabla No. 4 y se esquematizan en la figura 6, encontrándose diferencias ya que el valor por ciclo es más alto que el obtenido de la forma — mencionada anteriormente y además el rango de variación es — menor.

Los datos de las células contaminantes en la bolsa de recolección se anotan en la tabla No. 5 y se observa que los valores del hematocrito (de las bolsas) varían en los diferentes ciclos esto, probablemente se debe a un efecto dilucional, ya que con el fin de recolectar todo el anillo plaquetario se deja pasar cantidades residuales (variables) de plasma. Los leucocitos se encuentran aumentados en los primeros ciclos y casi a la mitad en los finales, en la cuenta diferencial se — observa que el mayor contaminante fueron los linfocitos los — cuales se mencionan como los principales causantes de inmunización y refractariedad en pacientes que se transfunden periódicamente (9,23,24).

En cuanto a la función plaquetaria evaluada en las muestras pre y post-aféresis se observa que las primeras presentan — buena respuesta con ADP y variable con colágena (tabla No. 6) debido probablemente a la poca estabilidad de éste último — reactivo. En las muestras post-aféresis la función está disminuida en comparación con las muestras pre-aféresis con ambos agentes, como posibles causas de éste decremento se mencionan las siguientes: la concentración de citrato presente en el anticoagulante empleado el cual provoca un decremento de la con

centración de calcio en la suspensión de plaquetas, y la activación que presentan durante la circulación en el circuito — extracorpóreo (24,25).

De acuerdo a los datos que se enlistan en la tabla No. 7 en relación, previo a su transfusión 1 hora y 24 horas después — de llevada a cabo, podemos notar que in vivo la eficiencia es buena en la mayoría de los receptores pues existe recuperación en el número de plaquetas, corrige el tiempo de sangrado y se mantiene la recuperación a las 24 horas. Existen pacientes (ejemplo No. 5) que son refractarias a las plaquetas — transfundidas esto probablemente se debe al gran número de — veces que han sido transfundidos. En los pacientes 4 y 7 no — podemos hacer un análisis determinante ya que éstas personas sufrieron intervenciones quirúrgicas antes de efectuarles el recuento plaquetario y el tiempo de sangrado.

Los porcentajes de incremento del número de plaquetas en el receptor a partir de las plaquetas transfundidas se muestran en la tabla No. 8 y se esquematizan en la figura 7, en ausencia de cualquier factor que las reduzca, el incremento debió ser de 95.1%; sin embargo esto no sucede, existen diferencias entre el valor teórico y el observado para cada paciente, — observándose en algunos de ellos un incremento mínimo esto — nos sugiere que existe destrucción plaquetaria en el receptor ó un consumo de ellas (por ejemplo en casos de fiebre ó esple — nomegalia).

La tabla No. 9 compara nuestros resultados con los de otros autores, el número de plaquetas que obtuvimos ( $6.38 \times 10^{11}$ ) — es aceptable siendo uno de los más altos, así como también el porcentaje de descenso en el número de plaquetas (36.0%) en —

donadores en relación a su cuenta basal.

Hay que hacer notar que Huestis y colaboradores (17) sugieren que una concentración de citrato al 1.8% da mejores resultados con un descenso menor del número de plaquetas del donador que una concentración de 3.0%, una de las posibles causas de éste efecto se dice que es la fuerza iónica.

En la tabla No. 10 se comparan los valores de agregación plaquetaria que obtuvimos y los de otros autores (25) y observamos que la reducción de la agregación es menor en nuestro caso esto probablemente se debe a las concentraciones de los agentes empleados en cada trabajo y algunas diferencias en el tratamiento de la muestra del concentrado plaquetario.

Al evaluar la respuesta en los pacientes a los 60 minutos y 24 horas post-transfusión, si tenemos una recuperación del 40% en comparación a la recuperación teórica podemos decir que el paciente no tiene factores que propicien la destrucción plaquetaria, en cambio si encontramos que presentan falta de corrección en el tiempo de sangrado con un incremento menor de plaquetas ó sin él después de la transfusión, indica un paciente refractario por problemas de inmunización (9) ó por consumo exagerado por fiebre, pérdida, ó sangrado.

Por lo tanto sugerimos que es conveniente evaluar la recuperación en todos los pacientes que reciban por primera vez plaquetas y posteriormente repetirlo con cierta frecuencia, lo que sería benéfico para detectar de forma temprana, a aquellos pacientes que requieran una selección de plaquetas por otros procedimientos más complejos.

TABLE No. 1 CUENTA DE FLAQUETAS PRE-POST-AFERESIS EN EL DONADOR Y NUMERO DE FLAQUETAS EN BOLSA DE RECOLECCION.

DONADOR	FLAQUETAS/mm <sup>3</sup> X 10 <sup>3</sup>		CONCENTRADO FLAQUETARIO	
	PRE-AFERESIS	POST-AFERESIS	No. FLAQUETAS/mm <sup>3</sup> X 10 <sup>3</sup>	No. FLAQUETAS TOTALES X 10 <sup>11</sup>
1	210.0	152.0	1700	5.37
2	162.0	154.0	2260	5.65
3	267.5	179.0	2580	5.67
4	321.5	226.5	1432	4.29
5	302.0	181.0	1950	6.24
6	152.5	106.0	2050	6.15
7	385.0	130.0	2810	7.95
8	372.0	261.5	2400	9.36
9	297.0	181.0	1690	6.76
range	152.5 385.0	106.0 261.5	1432 2840	4.29 9.36
<b>X</b>	274.0 ± 96.64	174.55 ± 46.138	2110 ± 864.42	6.38 ± 1.4999

NUMERO DE CICLOS EFECTUADOS : 5-9

VOLUMEN X CICLO EN ml : 452-685

TABLA No. 2. VALORES DE RENDIMIENTO DE LA  
PLAQUETA FERESIS.

DONADOR	RENDIMIENTO(%)
1	81.48
2	101.00
3	77.03
4	43.30
5	71.47
6	120.50
7	87.52
8	72.05
9	68.35
$\bar{x}$	77.90 $\pm$ 21.8

$$\% \text{Rendimiento} = \frac{\text{No. de plaquetas totales}}{(\text{No. ciclos})(\text{Vol. x ciclo})(\bar{x} \text{ No. plaquetas pre} - \text{No. plaquetas post.transfusión})} \times 100$$

$$\text{No. plaquetas totales} = \text{No. plaquetas/mm}^3 \times \text{peso de la bolsa} \times 100$$

(de la bolsa)

TAHLA No. 3 NUMERO DE FLAQUETAS EN CADA UNO DE LOS CICLOS  
DE FLAQUETAFERESIS.

DONADORES								
No. de CICLOS	No. DE FLAQUETAS/mm <sup>3</sup> EN 7 DONADORES							
	1	2	3	4	5	6	7	$\bar{x}$
0	378000	341000	290000	284000	279000	177000	283000	290000 ± 62.34
1	310000	---	253000	245500	234000	146000	192000	230000 ± 56.00
2	274000	282500	194000	---	209500	132000	163000	209000 ± 59.82
3	234000	---	191000	192500	218000	148000	146000	188000 ± 35.80
4	199000	280500	132000	184000	172500	149000	171000	184000 ± 47.90
5	---	---	135000	---	---	122000	176000	144000 ± 28.18
6	189000	218000	112000	---	---	114000	209000	168000 ± 51.65
7	147000	---	110000	---	---	---	---	128000 ± 26.17
8	---	170500	---	---	---	---	---	170500

± = DESVIACION ESTANDAR

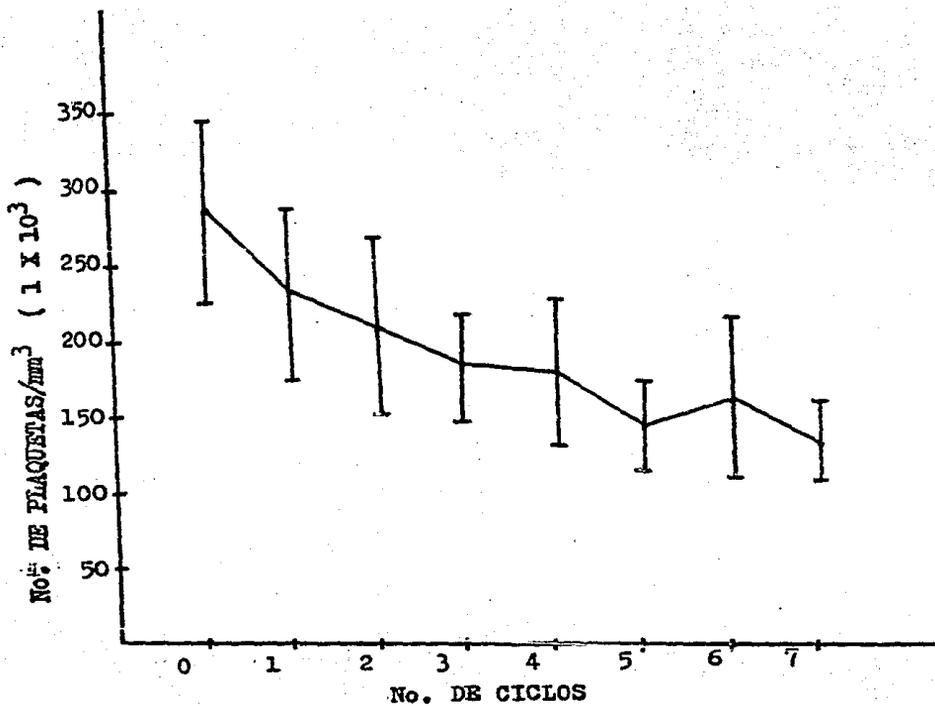


FIGURA. 5. DESCENSO DEL NUMERO DE PLAQUETAS EN DONADORES POR EFECTO DE LA PLAQUETA FERESIS.

( $\bar{x}$  DE 7 DONADORES)

**TABLA No. 4. VALORES DE RENDIMIENTO DE CADA  
CICLO DE LA PLAQUETA FERESIS.  
( $\bar{x}$  DE DOS PROCEDIMIENTOS)**

No. de CICLO	RENDIMIENTO (%)
1	47.39
2	71.39
3	67.22
4	72.27
5	54.75
6	71.62
$\bar{x}$	64.10 $\pm$ 10.5

RENDIMIENTO CALCULADO A PARTIR DEL No. PRE-AFERESIS  
Y POST- AFERESIS DE PLAQUETAS.

53.49%

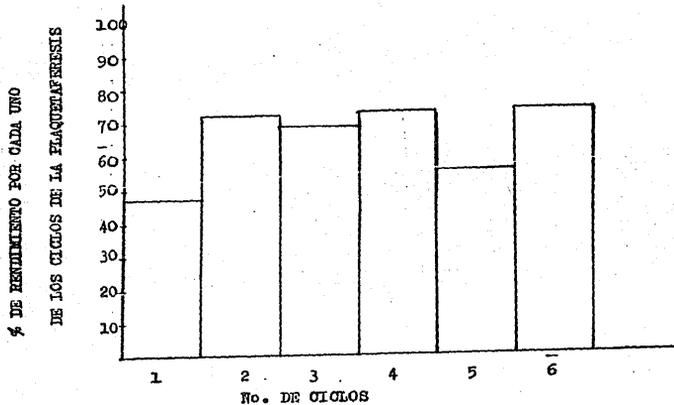


FIG. 6. PORCENTAJE DE RENDIMIENTO POR CICLO DEL PROCESO DE PLACUETAFERESIS. (X DE DOS PROCEDIMIENTOS)

TABLE No. 5 CELULAS CONTAMINANTES EN LA BOLSA DE RECOLECCION POR CICLO  
(PROMEDIO DE DOS DETERMINACIONES).

No. CICLO	HEMATOCRITO ml/100	LEUCOCITOS/mm <sup>3</sup>	CUENTA DIFERENCIAL				
			LINFOCITOS (%)	MONOCITOS (%)	EOSINOFI- LOS. (%)	BASOFI- LOS (%)	SEGMENTA- TADOS (%)
1	19.5	29700	69.5	21.0	0.5	1.0	8
2	27.7	20950	69.5	15.5	3.0	1.5	10
3	16.5	20300	69.0	16.0	0.5	0.5	14
4	27.7	16450	77.0	12.0	0.0	2.0	8
5	20.0	15650	85.5	4.0	0.5	0.5	10
6	21.5	17250	78.0	6.0	1.5	0.0	14
X	18.75 ± 5.91	20050 ± 4949.56	75.0 ± 6.629	12.4 ± 6.95	0.91 ± 1	1 ± 1	10.6 ± 2.7

± = DESVIACION ESTANDAR

TABLA No. 6. AGREGACION PLAQUETARIA EN EL DONADOR  
Y EN LA BOLSA DE RECOLECCION.

DONADOR PRE AFERESIS		BOLSA DE RECOLECCION		DONADOR PRE AFERESIS		BOLSA DE RECOLECCION	
ADP ( $1 \times 10^{-4}$ mol/l)				COLAGENA (0.2 g/l)			
n	(%)*	(%)*	(%)*	(%)*	(%)*	(%)*	(%)*
1	83.7	68.7	—	—			
2	73.0	75.0	—	—			
3	70.0	55.0	63.75	36.25			
4	67.5	61.25	66.25	58.75			
5	78.5	55.0	58.75	56.25			
6	91.25	62.5	43.75	10.0			
7	81.25	68.75	73.75	63.75			
8	77.5	31.25	62.50	52.5			
9	82.5	55.0	83.75	43.75			
$\bar{x}$	78.35 $\pm$ 7.39	59.16 $\pm$ 12.6	68.92 $\pm$ 13.3	45.89 $\pm$ 18.3			

± = DESVIACION ESTANDAR

\* PORCENTAJE DE AGREGACION PLAQUETARIA

\*\* PROMEDIO DE 7 DONADORES

TABLE No. 7 RELACION ENTRE EL NUMERO DE PLAQUETAS Y TIEMPO DE SANGRADO  
EN EL RECEPTOR (PALENTE) PRE Y POST-TRANSFUSION.

N	Dx	PRE-TRANSFUSION		1 HR. POST-TRANSFUSION		24 HRS POST-TRANSFUSION
		T.S. IVY (min)	No. PLAQUETAS/mm <sup>3</sup>	T.S. IVY (min)	No. PLAQUETAS/mm <sup>3</sup>	No. PLAQUETAS/mm <sup>3</sup>
1	LA	20	4000	7:34	75000	56000
2	AA	20	11000	11:11	65000	54500
3	LA	11	68500	4:15	149000	127000
4	AA	12	14000	11:6	12000	11000
5	AA	10	14000	9:10	28000	- - -
6	LA	20	2000	- - -	11500	- - -
7	AA	8:05	37500	- - -	- - -	24500
8	LA	20	45000	17:5	107000	84500
9	LA	15	3000	5:5	62000	24500
X		15	22111	9:4	63687	59583

AA: ANEMIA APLASTICA

LA: LEUCEMIA AGUDA

TABLA No. 8. PORCENTAJE DE INCREMENTO DE PLAQUETAS EN EL RECEPTOR EN RELACION A LA CANTIDAD TRANSFUNDIDA.

RECEPTOR (PACIENTE)	No. DE PLAQUETAS TRANSFUNDIDAS	% DE INCREMENTO TEORICO A LOS 60' POST- TRANSFUSION	% DE INCREMENTO OBSERVADO A LOS 60' POST- TRANSFUSION
1	$5.37 \times 10^{11}$	95.6	64.78
2	$5.65 \times 10^{11}$	89.64	50.84
3	$5.67 \times 10^{11}$	70.90	34.64
5	$6.24 \times 10^{11}$	131.2	8.34
6	$6.15 \times 10^{11}$	99.41	4.45
8	$9.36 \times 10^{11}$	81.14	26.29
9	$6.76 \times 10^{11}$	97.62	46.73
$\bar{x}$	$6.45 \times 10^{11} \pm 1.36$	$95.10 \pm 18.88$	$33.72 \pm 22.30$

± = DESVIACION ESTANDAR

Los datos de los pacientes 4 y 7 no aparecen en la tabla, debido a que fueron sometidos a intervenciones quirúrgicas por lo que, el número de plaquetas post-transfusión no se puede comparar con los de los otros pacientes.

Incremento teórico:

$$\frac{\text{No. de plaquetas totales/ml}}{\text{Volumen sanguíneo total/ml}} = \frac{\text{No. de plaquetas/ml de sangre del receptor.}}{\text{receptor.}}$$

Volumen sanguíneo total (V.S.T.) = peso en Kg x 70ml/Kg (1)  
del paciente 6  
65ml/Kg (2)

1.- Cuando el paciente es hombre

2.- Cuando el paciente es mujer

$$\% \text{Incremento teórico} = \frac{(A - B) (V.S.T.)}{\text{Número de plaquetas transfundidas}} \times 100$$

A = No. de plaquetas/ml de sangre del receptor.

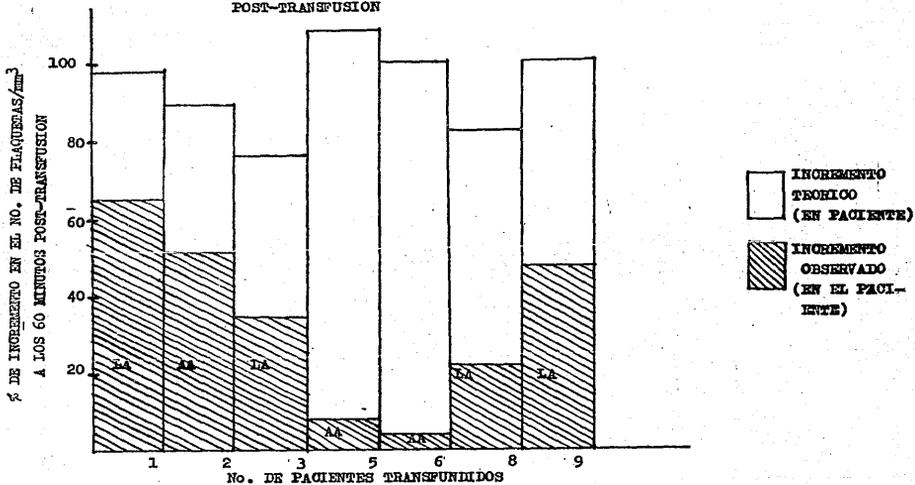
B = No. de plaquetas pre-transfusión.

$$\% \text{Incremento observado} = \frac{(C - D) (V.S.T.)}{\text{Número de plaquetas transfundidas}} \times 100$$

C = No. de plaquetas post-transfusión.

D = No. de plaquetas pre-transfusión.

FIG. 7. INCREMENTO DE YLAQUETAS A LOS 60 MINUTOS  
POST-TRANSFUSION



1A = LEUCEMIA AGUDA  
AA = ANEMIA APLASTICA

**TABLA No. 9. COMPARACION DE LOS DATOS OBTENIDOS EN EL H.E.C.H.R.\* Y OTROS AUTORES, EN LA RECOLECCION DECREMENTO DE PLAQUETAS Y RENDIMIENTO DEL PROCEDIMIENTO.**

No. DE PLAQUETAS RECOLECTADAS	DECREMENTO EN LA CUENTA PLAQUETARIA (%)	RENDIMIENTO DEL PROCEDIMIENTO (%)
6.38 x 10 <sup>11</sup> (*)	36.0	77.9
5.48 x 10 <sup>11</sup> (15)	27.56	55.6
5.7 x 10 <sup>11</sup> (16)	30.0	90.0
5.0 x 10 <sup>11</sup> (17)	25.0	---
7.6 x 10 <sup>11</sup> (17)	35.0	---
5.5 x 10 <sup>11</sup> (17)	33.0	---
5.0 x 10 <sup>11</sup> (18)	---	74.0

\* HOSPITAL DE ESPECIALIDADES DEL CENTRO MEDICO LA RAZA.

TABLA No. 10. COMPARACION DE DATOS DE LA FUNCION  
 PLAQUETARIA OBTENIDOS EN EL H.E.C.M.R.  
 Y OTROS AUTORES.

H.E.C.M.R.*			(25)	
AGENTE AGREGANTE	PRE-APERESIS (%) DE AGREGACION	POST/APERESIS (%) DE AGREGACION	PRE-APERESIS (%) DE AGREGACION	POST- APERESIS (%) DE AGREGACION
ADP	78.35 $\pm$ 7.39	59.2 $\pm$ 12.6	75.5 $\pm$ 11.6	37.1 $\pm$ 20.7
Colágena	68.9 $\pm$ 13.3	45.9 $\pm$ 18.3	80.6 $\pm$ 6.3	47.0 $\pm$ 18.3
Epinefrina	-----	-----	71.0 $\pm$ 16	12.3 $\pm$ 19.8

± = DESVIACION ESTANDAR.

\* HOSPITAL DE ESPECIALIDADES DEL CENTRO MEDICO LA RAZA.

## CONCLUSIONES

- 1.- La plaquetaféresis es un método eficiente para el tratamiento inmediato de los pacientes trombocitopénicos.
- 2.- Proporciona un número adecuado de plaquetas con buena función.
- 3.- Ofrece un buen rendimiento, eficiencia adecuada con buena respuesta in vivo, permitiendo su valoración a la hora y 24 horas. Los cálculos de rendimiento realizados en cada ciclo del procedimiento no resulta significativamente diferente del calculado por cuentas pre y post-procedimiento.
- 4.- Proporciona información útil acerca de la respuesta a la transfusión plaquetaria y permite identificar la presencia de factores que pueden limitarla.

## BIBLIOGRAFIA

- 1.- Feinendegen LE, Odartchenko N, Cottier H, Bond V.F.

Kinetics of megakaryocyte proliferation  
Proceedings of the society experimental biology and medicine.  
111:177-182 1962

- 2.- Erslev Allan J, and Gabuzda Thomas G.

Hematologia: 157-172  
Editorial Interamericana  
México D.F. (1981)

- 3.- Aster R.H.

Pooling of platelets in the spleen. Role in the pathogenesis of hypersplenic thrombocytopenia.  
J. Clin. Invest. 45:645-657 1966

- 4.- Castillo Ricardo

Estructura de las plaquetas. Funcionalismo plaquetario.  
Sangre 25:896-902 1980

- 5.- Williams William J, Ernest Beutler, Erslev Allan J, Wayne Rundles R.

Hematologia: 1017-1074  
Salvat Editores  
España (1979).

- 6.- Bloom Arthur L. and Thomas Duncan P.

Haemostasis and Thrombosis: 22-39

Churchil Livingston  
Edinburgh London Melbourne and New York (1981)

7.- Moncada S. Vane J.R.

Prostacyclin its biosynthesis, actions and clinical potential.

Phil. Trans. R. Soc. Lond.B. 294:515 1981

8.- Huestis Douglas W. y Pineda Alvaro A.

Las aplicaciones terapéuticas de la hemaféresis.  
Sangre.

27:1059-1072 1982

9.- Murphy M.F. and Waters A.H.

Annotation. Immunological aspects of platelet transfusion  
Br. J. Immunol.

60:409-416 1985

10.- Olson Peter R, Cox Carol and Jeffrey McCullough.

Laboratory and Clinical effects of the infusion of ACD -  
solution during plateletpheresis.

Vox. Sang. 33:79-87 1977

11.- Ivy, Mielke.

The standardization of certain factors in the cutaneous  
"venastasis" bleeding time technique.

J. Lab. Clin. Med. 26:1812 1940

12.- Human Blood Coagulation, Haemostasis and Thrombosis, 2nd  
ed. Rosemary Biggs, Editor, Blackwell Scientific Publi-

tions, Oxford London, 1976.

13.- Platelet Function. DA Triplett, Editor, American Society of Clinical Pathologist, 1978.

14.- Brecker, G. Cronkite E.P.

Morphology and enumeration of human blood platelets.  
J. Appl. Physiol. 3:365 1950

15.- Nusbacher J, Scher M.L.S. and MacPherson.

Plateletpheresis using the Haemonetics Model 30 cell Separator.  
Vox. Sang. 33:9-15 1977

16.- Barbolla L.

Transfusión de plaquetas. Metodología.  
Sangre. 25:903-912 1980

17.- Huestis D.W, Fletcher J.L, White R.F, and Price M.J.

Citrate Anticoagulants for Plateletpheresis.  
Transf. 17:151-155 1977

18.- Hogge D.E. and C.A. Shiffer.

Collection of platelets depleted of red and white cells with the "Surge Pump" adaptation of a blood cell separator.  
Transf. 23:177-181 1983

19.- Szymanski IO, Patti K, Kliman A.

Efficiency of the latham blood processor to perform plateletpheresis.

Transf. 13:405 1973

20.- Katz

Redistribution of platelets during discontinuous flow plateletpheresis.

Vox. Sang. 35:345 1978

21.- Philips David R.

Receptors for platelet Agonists

Plenum Publishing Corporation. 145-169 1985

22.- Heyns A.DuP, Badehorst P.N, Lotter M.G, Pieters H. and Price M.J.

Kinetics and mobilization from the spleen of indium-111-labeled platelets. During platelet apheresis.

Transf. 25:215-218 1985

23.- Schiffer CA, Slichter.

Platelet transfusions single donors.

N. Engl. J. Med. 307:245-248 1982

24.- Ogata H, Nagashima K, Iinuma N, Hosogaya S, and Akabanet

Factors Influencing Yield of plateletpheresis by discontinuous centrifugation.

Transf. 21:719-722 1981

25.- TS'AO Chung Hsin, Wirman John A, and Alasmah Ruder.

Altered in vitro functions of platelet prepared by the -  
Haemonetics blood processor.

J. Lab. Med. 80:612-624 1975

26.- Weis- Fogh U.S.

The effect of citrate, calcium, and magnesium ions on the  
potassium movement across the human platelet membrane.

Transf. 25:339-341 1985

27.- Lasky L.C, Lin A, Kahn R.A, and McCullough J.

Donor Platelet Response and Product Quality Assurance in  
Plateletpheresis.

Transf. 21:247-259 1981

28.- Maguire

Platelet function in donors undergoing intermittent flow  
centrifugation plateletpheresis or leukapheresis.

Transf. 21:118-123 1981

29.- Arkel YS, haft JI, Kreutner W, Sherwood J, Williams E.

Alteration in second phase platelet aggregation associa-  
ted with an emotionally stressful activity.

Thromb. Haemostas. 38:552-554 1977

30.- Martinez Dalmau Alejandro

Conservación de plaquetas mediante congelación y su uso -  
en la práctica clínica.

Sangre. 35:762-765 1986

31.- Toffaleti J.

Changes in protein-bound, complex-bound, and ionized cal-  
cium related to parathyroid hormone levels in healthy do-  
nors during plateletpheresis.

Transf. 23:472-475 1983

32.- Murer Erikh

The Role of Platelet Calcium

Seminars in Hematology. 22:313-323 1985

33.- Holmsen Holm.

Platelet Metabolism and Activation Seminars in Hematolo-  
gy 22:219-240 1985