

FACULTAD DE QUIMICA  
CON ESTUDIOS INCORPORADOS A LA  
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**CONTROL DE CALIDAD DE CONCENTRADOS  
PLAQUETARIOS EN CONDICIONES ESTATICAS  
Y A UNA TEMPERATURA DE 4°C**

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO  
P R E S E N T A  
**MA. GUADALUPE ROJAS MONTIEL**

MEXICO, D. F.

1994

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



## **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).

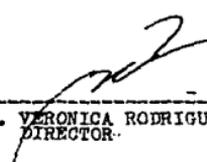
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición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



VO. BO. SANTIAGO SALAZAR  
ASESOR EN ESTADISTICA



VO. BO. VERONICA RODRIGUEZ L.  
ASESOR



VO. BO. VERONICA RODRIGUEZ L.  
DIRECTOR

**AGRADECIMIENTO AL:**

HOSPITAL REGIONAL 20 DE NOVIEMBRE DEL ISSSTE, Departamento del Banco de sangre, del área de pruebas especiales, donde se realizó esta tesis bajo la tutoría del DR. MIGUEL ANGEL ARGÁEZ MANZANILLA, Asesoría de la Q.F.B. MARTHA E. CARRILLO V.

## A G R A D E C I M I E N T O S

Agradezco sinceramente a cada una de las personas que me ayudarán para la realización de este trabajo, con su tutoría, asesoría, colaboración y gran apoyo.

Q.F.B. ROSARIO SÁNCHEZ LÓPEZ Laboratorio de pruebas especiales del Hospital Regional 20 de Noviembre del ISSSTE.

Q.F.B. ROSA MARÍA CEREZO GONZÁLEZ Catedrática de la Universidad Femenina de México.

Q.F.B. SANTIAGO SALAZAR Catedrático de la Universidad Femenina de México.

M en C. VERONICA RODRÍGUEZ LÓPEZ Directora de la Carrera de Q.F.B. de la Universidad Femenina de México.

Lic. ARTURO ARTEAGA PALOMARES

Lic. YOLANDA ROJAS MONTIEL

Así como al gran número de técnicos que laborán en el Hospital 20 de Noviembre.

## DEDICATORIAS

A MIS PADRES Sr. DANIEL ROJAS MANRIQUEZ +  
Y Sra. GUADALUPE MONTIEL REYES, ya que con  
su ejemplo, apoyo, firmeza, inteligencia y  
sacrificios me supieron ayudar y orientar  
para lograr una meta más de mi vida,  
por ésto y más...

¡ GRACIAS !

A MIS HERMANOS, BENJAMIN+ RODOLFO, ANGEL,  
ALICIA, ERNESTO Y YOLANDA, por su apoyo  
incondicional en la realización de uno  
de mis objetivos.

## Í N D I C E

I.-	INTRODUCCIÓN	I
1.1.	OBJETIVOS E HIPÓTESIS	1
II.-	GENERALIDADES	2
II.1.-	Historia	2
II.2.-	Estructura y función de los órganos hematopoyéticos	7
II.3.-	Hemostasia primaria	16
3.1.-	Vasos sanguíneos	17
3.2.-	Estructura plaquetaria	19
3.3.-	Función plaquetaria	26
3.4.-	Producción plaquetaria	26
3.5.-	Formación del tapón hemostático primario	33
3.6.-	Adherencia	36
3.7.-	Activación	37
3.8.-	Agregación primaria	39
3.9.-	Secreción	40
3.10.-	Agregación secundaria	40
II.4.-	Hemostasia secundaria	42
4.1.-	Factores de la coagulación	44
4.2.-	Cascada de la coagulación	46

II.5.-	Recuento de plaquetas	61
5.1.-	Conservación de plaquetas	61
III.-	MATERIALES Y MÉTODO	73
IV .-	RESULTADOS	103
V .-	DISCUSIÓN	121
VI .-	CONCLUSIONES	129
VII.-	BIBLIOGRAFÍA	131

## I.- INTRODUCCIÓN

Quando un vaso sanguíneo se rompe hay varias fuerzas que actúan espontáneamente para detener el flujo sanguíneo del vaso dañado, este proceso es llamado Hemostasia siendo los factores involucrados los vasos sanguíneos, las plaquetas y los factores plasmáticos de la coagulación. (34)

La hemostasia es un proceso en que se forma una barrera para impedir la pérdida de sangre, y que se limita al sitio de la lesión. El componente mayor del sistema hemostático son las plaquetas, éstas son fragmentos del megacariocito. (1)

Uno de los papeles principales de las plaquetas es la vigilancia pasiva del revestimiento endotelial de los vasos por fisuras o roturas preservando la integridad de los vasos evitando que la sangre escape. (17)

Es así, que debido a la importancia de las plaquetas como componente de la sangre o cualquier otro componente, deben ser manejadas con cuidado y finalmente el procedimiento mismo debe ser llevado a cabo en una forma correcta.

1 Los megacariocitos se originan en la médula ósea, estos son células hematopoyéticas de mayor tamaño. Proceden de la célula madre hematopoyética multipotencial, probablemente de forma directa a partir de una célula progenitora diferenciada.

La sangre ha sido transfundida con éxito durante más de 60 años. en este tiempo la práctica transfusional ha cambiado radicalmente debido a mejoras en los métodos de extracción y de conservación de la sangre.

El concepto de Control de Calidad es frecuentemente usado en el Área de Banco de sangre. Sin embargo, es un hecho que son muy pocos los que lo llevan a cabo de una manera sistemática.

El Control de Calidad nos permite conocer, las condiciones necesarias tales como: Veracidad, Exactitud, Precisión y Confiabilidad. Sin embargo, la información a nivel mundial que manejan los laboratorios de Banco de sangre establecen que no hay valores absolutos para las sustancias que se utilizan en éste, ya que los datos serán tan fidedignos como juiciosos y experimentado sea el técnico.

El mantenimiento de un nivel satisfactorio de ejecución ha sido meta primaria en el departamento del Banco de sangre del Hospital Regional 20 de Noviembre del ISSSTE.

El Control de Calidad tiene una variedad de facetas talos como:

-Los componentes individuales del procedimiento deben ser excelentes hasta donde sea posible, estos incluyen estándares activos, instrumentos y personal.

-Las muestras en sí mismas; sangre o cualquier otro componente deben ser manejadas con cuidado y finalmente el procedimiento mismo debe ser llevado a cabo en una forma correcta.

En el banco de sangre del Hospital Regional 20 de Noviembre del ISSSTE, el concentrado plaquetario reviste de gran importancia tanto para el área de cirugía cardiovascular, así como para hematología y otras, ya que los concentrados plaquetarios deberán <sup>10</sup> contener un mínimo de plaquetas de  $5.5 \times 10^{10}$  según la normatividad establecida. (1,17,35)

En este sentido, se expresa la necesidad de realizar un análisis experimental de los concentrados plaquetarios actualmente elaborados en esta institución, principalmente en base a su manejo y almacenamiento.

Las condiciones de almacenamiento actuales son:

- a) Estáticas
- b) Temperatura de 4°C
- c) Tiempo de almacenamiento de 72 horas

Según normas establecidas mundialmente en los bancos de sangre estas unidades biológicas, deberán almacenarse de la siguiente manera:

- Movimiento giratorio constante y lento
- Temperatura de 4-6°C con un almacenamiento de 24 horas
- Temperatura de 22 °C con un almacenamiento de 72 horas
- pH mayor de 6

Asimismo, dada la importante demanda por parte de los servicios hospitalarios, de la carencia de equipo para mejorar las condiciones de almacenamiento, como de la incertidumbre con respecto al rendimiento real del concentrado plaquetario elaborado en el Hospital 20 de Noviembre del ISSSTE, surge como consecuencia de todo lo anterior, el planteamiento del problema y la necesidad de realizar una investigación para conocer por medio de un análisis experimental, las condiciones reales de EFICACIA en los concentrados plaquetarios elaborados en el área de fraccionamiento del banco de sangre.

#### **-OBJETIVO GENERAL**

-----

Determinar y analizar si son eficaces hasta las 72 horas los rendimientos reales de los concentrados plaquetarios en condiciones estáticas, y a temperatura de 4°C.

#### **-OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

-----

- Determinar el rendimiento real de los concentrados plaquetarios al Inicio, 24, 48 y 72 horas de procesado.
- Determinar el pH de los concentrados plaquetarios.
- Determinar el volumen de los concentrados plaquetarios elaborados en el área de fraccionamiento del banco de sangre.

#### **-HIPÓTESIS**

-----

Si los concentrados plaquetarios en condiciones estáticas y a una temperatura de 4°C son eficaces hasta las 72 horas, entonces la técnica y el manejo de los Concentrados Plaquetarios establecida por el banco de sangre del Hospital Regional 20 de Noviembre del ISSSTE, modifica las normas internacionales que al respecto, rigen a los Bancos de Sangre.

## II. GENERALIDADES.

### II.1 Comentarios sobre la historia temprana de la hemostasia (29)

Los griegos llevaron a cabo las primeras tentativas racionales para controlar la pérdida de sangre perfeccionaron el uso de las ligaduras. Sin embargo la medicina árabe utilizó el cauterio y el aceite hirviendo. Tuvieron que transcurrir varios siglos antes de que los médicos abandonaran las prácticas árabes.

-Salicetti (1210-1277) descartó el cauterio.

-Lanfranchi y Henri de Mondeville (1260-1320) recomendaron compresión digital y ligaduras de los vasos para el control de la hemorragia.

Sin embargo los métodos árabes de hemostasia siguieron en boga durante dos siglos más.

-Leonardo y Vasilio condujeron a un notable progreso en la práctica de la cirugía y el control de la hemorragia.

-Ambrosio Paré (1510 -1590) reintroduce el uso de la ligadura.

-Wilhelm Fabry de Hilden ( 1560-1590 ) improvisó el primer torniquete por medio de una ligadura apretada con un vástago de madera. Durante el período temprano no existían conocimientos relativos de la hemostasia.

-Albucasis (1013-1108) médico árabe registró observaciones relativas a los sujetos con "tendencias hemorrágicas".

-John Conrad Otto (1803) realiza la primera descripción definitiva de una familia de "individuos de este tipo". comprobó también la transmisión genética ligada al sexo "Constituye circunstancias notables que tan solo los varones se hallan expuestas a esta extraña afección... y aunque las hembras se hallan exentas a padecer la enfermedad son las que la transmiten a sus hijos varones...."

El término "hemofilia" se atribuye a Schönlein, aunque su origen es algo obscuro.

#### -Mecanismo de la Coagulación-

En el siglo XVII, el único conocimiento relativo a la coagulación era la aceptación del hecho de que la sangre se coagula cuando sale de los vasos.

-En 1731, Jean Louis Petit descubrió la formación de coágulos en las arterias lesionadas y concluyó que la hemorragia se detenía por la coagulación de la sangre.

-William Hewson (1739-1774) publicó un tratado que tituló "estudio experimental de las propiedades de la sangre" en el que identificó a la coagulación en forma terminante como una propiedad del plasma en la que existía una sustancia insoluble, que en la actualidad conocemos con el nombre de fibrina. Los experimentos de Hewson llamarón muy poco la atención así hasta que Buchanan en 1836, demostró que la adición de leucocitos o suero a los líquidos serosos provocan formación de fibrina.

-Alexander Schmidt (1831-1894) propagó los estudios de Buchanan y obtuvo dos precipitados de proteína a partir del plasma a los que denominó " fibrinógeno y paraglobulina " más tarde trató coágulos sanguíneos y suero con alcohol y obtuvo un residuo. Este coagulante fue llamado "fermento de fibrina" o trombina".

A partir de entonces siguieron muchos descubrimientos importantes en rápida sucesión, descubriendo un factor esencial existente en el suero, el llamado factor X. Biggs y Douglas recurrieron a la prueba de generación de tromboplastina, logrando diferenciar la carencia de factor VIII(hemofilia A) de la de factor IX (hemofilia B). Se identificaron otros factores implicados en las etapas tempranas de la coagulación, el factor IX, antihemofílico B, o antecedentes tromboplástico del plasma, descubierto por Rosenthal y colaboradores en 1953, el factor XII, identificado por Ratnoff y Colopy en 1955. Robins, Laki y Lorand descubrieron finalmente el factor XIII(factor estabilizante de la fibrina).

#### P L A Q U E T A S

En 1735, formuló Werlhof la primera descripción clínica de la purpura hemorrágica. Sin embargo, la referencia más temprana a las plaquetas fue publicada en 1824 cuando Dene hizo notar la presencia de pequeños glóbulos en la sangre que él pensó derivaban de la linfa. Más tarde, Shultse observó estos pequeños elementos formes y sugirió que eran residuos de leucocitos destruidos.

Persistió durante varias décadas la confusión respecto a la naturaleza y origen de estos elementos formes.

-Osler en 1874 usó el término "organismo" para describir estas células sin que llegará a decidir si se trataba de constituyentes normales o anormales de la sangre.

-Hayem en 1878 llevó a cabo la primera enumeración exacta de estas pequeñas partículas que por considerarlas precursoras de los hematíes denominó "hematoblastos. Por primera vez en forma clara terminante respecto a la existencia y función de las plaquetas.

-En 1881 Bizzozero publicó sus observaciones clásicas referentes a las plaquetas, que continúan vigentes en la actualidad y que describen todas las acciones fundamentales de las mismas en la hemostasia. Estableció la existencia de "plattchen", ("plaquetas"), como elementos distintivos de la sangre circulante y descubrió que los trombos blancos considerados en un principio compuestos de leucocitos se hallaban en realidad formados por "plaquetas" que se acumulaban en la pared de un vaso lesionado y experimentaban cambios de aspecto y se fusionaban en un proceso que él denominó "metamorfosis viscosa". Además sugirió por vez primera que la coagulación de la sangre tan sólo tenía lugar después de un control hemostático inicial logrado por las "plaquetas". Sin embargo, el trabajo de Bizzozero no fue acogido, en términos generales, con gran entusiasmo. Aunque él describió con exactitud los puntos principales relativos a la función de las plaquetas, muchos de sus contemporáneos no los aceptaron e incluso dudaron de la existencia de las mismas.

-Wooldridge rechazó el trabajo de Bizzozero por considerar que las plaquetas eran proteínas precipitadas. Aunque el trabajo confirmatorio de Eberth y Schimmelbusch y de Laker, contribuyó a establecer la existencia de las plaquetas, hubieron de transcurrir muchos años antes de que los científicos emprendieran de nuevo el estudio de la función de las plaquetas donde Bizzozero lo había dejado. Las primeras sugerencias en el sentido de que eran precursores de los glóbulos rojos o fragmentos de leucocitos, fueron seguidas de hipótesis igualmente erróneas de que derivan de eritrocitos fragmentados o de células mononucleares.

La "Célula gigante de la médula ósea descrita por Bizzozero en 1869 fué llamada megacariocito por Howel en 1890. En 1906, demostró Wright que las plaquetas derivan de la fragmentación del citoplasma del megacariocito, terminando así el debate relativo al origen de las mismas.

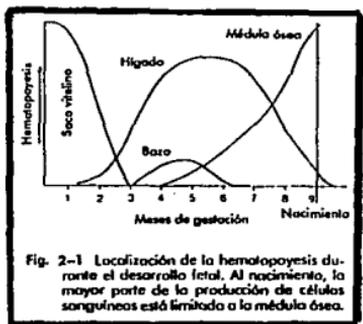
En 1912, Duke puso de manifiesto el papel de las plaquetas en la hemorragia y determinó por vez primera el "tiempo de hemorragia".

Los estudios morfológicos tempranos de Bizzozero y Eberth y los de Schimmelbusch a finales del siglo XIX nos brindaron casi toda la información relativa a la función de las plaquetas susceptibles de obtenerse con el microscopio de luz, y para el logro de nuevos conocimientos fue preciso esperar el advenimiento del microscopio electrónico.

## II.2.- Estructura y función de los órganos hematopoyéticos

Hematopoyésis (poesis- formación) es el término usado para describir la formación y desarrollo de las células sanguíneas. Proliferación, diferenciación y maduración celular tienen lugar en el tejido hematopoyético, que es en su mayor parte la médula ósea.

La hematopoyésis comienza desde el decimonoveno día después de la fertilización en el saco vitelino del embrión humano. Al tercer mes de vida aproximadamente, el hígado fetal se convierte en el sitio principal de producción de células sanguíneas, abandonando su papel en la hematopoyésis el saco vitelino. Para este momento la hematopoyésis comienza también en menor grado en bazo, riñón, timo y ganglios linfáticos. La producción de sangre en hígado, bazo, riñón y timo se suspende o disminuye conforme la médula ósea se vuelve activa, así para el sexto mes de la gestación ya es el sitio primario de la hematopoyésis, después del nacimiento y durante toda la vida. (Fig. 1)



Aunque en el saco vitelino pueden estar presentes los precursores de leucocitos y plaquetas, la mayor parte de la actividad hematopoyética está confinada a la eritropoyésis (formación de eritrocitos).(16) La formación de leucocitos y plaquetas (mielopoyésis y megacariopoyésis) comienza con el hígado, pero no se considera significativa hasta la aparición de la hematopoyésis en la médula ósea.

#### **-tejido hematopoyético-**

El tejido hematopoyético incluye a los tejidos y órganos que intervienen en la proliferación, maduración y destrucción de las células sanguíneas. Estos órganos y tejidos comprenden al sistema fagocítico mononuclear, bazo, ganglios linfáticos, timo, hígado y médula ósea.

a)-El sistema fagocítico mononuclear- (anteriormente Sistema Reticulo Endotelial SRE ), es un conjunto de monocitos y macrófagos, distribuidos en el espacio intravascular y extravascular cuyas principales funciones son fagocíticas e inmunológicas. Comprenden:

- 1.- Monocitos circulantes
- 2.- Macrófagos fijos de médula ósea, hígado bazo y ganglios Linfáticos.
- 3.- Macrófagos libres del bazo, ganglios linfáticos pulmones cavidades serosas y otros tejidos.

Las células de este sistema se ocupan de fagocitar material particulado proteína desnaturalizadas y remover células decadentes o dañadas. Sus funciones en la inmunidad incluyen el procesamiento del antígeno para presentarlo a los linfocitos y la secreción de mitógenos para acelerar la activación y transformación linfocítica.

#### b) -Bazo-

Este órgano se ubica en el cuadrante superior izquierdo del abdomen bajo el diafragma y a la izquierda del estómago.(16) Las funciones de este órgano se comprendera mejor después de una breve descripción de la arquitectura esplénica y de la circulación sanguínea.

#### - Arquitectura Esplénica-

El bazo circundado por una cápsula de tejido conjuntivo contiene la colección mayor de linfocitos y fagocitos mononucleares del cuerpo. Estas células estan concentradas en diferentes areas del bazo y contribuyen a la formación de los tres tipos siguientes de pulpa: (Tejido dentro de la pulpa)

-Pulpa blanca

-Pulpa roja

-Zona marginal

La pulpa blanca (en su mayor parte linfoide) está compuesta de nódulos linfáticos y la vaina linfática periarterial. Dentro de los nódulos hay centros germinales constituidos por una mezcla de linfocitos B, células reticulares y macrófagos fagocíticos.

La vaina periarterial está llena de linfocitos T y macrófagos. Es en la pulpa blanca donde comienza la respuesta inmunitaria. La pulpa blanca está circundada por una zona marginal reticular que contiene vasos sanguíneos. Esta zona se observa en los puntos de unión de la pulpa roja y la blanca. La pulpa roja contiene espacios vasculares, senos y cordones. (16)

#### -Circulación sanguínea esplénica-

El bazo tiene un suministro rico de sangre. Recibe el 5% del gasto cardíaco total. La sangre entra al bazo a través de la arteria esplénica, que se ramifica en forma profusa en las trabéculas. Los vasos pueden terminar en la pulpa blanca, pulpa roja o zona marginal. La sangre que entra al bazo puede tener un tránsito rápido (circulación cerrada) o lento (circulación abierta). El tránsito rápido sigue una vía relativamente sin obstrucción, donde la sangre entra a los senos de la pulpa roja desde las arterias y pasa en forma directa al sistema recolector venoso. Por lo contrario, la sangre que entra a la vía de tránsito lento se mueve arrastrándose por un circuito tortuoso de cordones revestidos de macrófagos antes de ganar el acceso a los senos.

#### - Funciones esplénicas-

La sangre que se vacía en la pulpa blanca y la zona marginal toma la vía de tránsito lento. Esta vía es muy importante para la función del vaso que incluye eliminación selectiva, defensa inmunitaria y almacenaje. La filtración y destrucción por el bazo de los eritrocitos seniles o dañados se denomina eliminación selectiva. Los eritrocitos normales retornan a la circulación.

El bazo es una línea de defensa importante en las infecciones transportadas por la sangre debido a su riqueza en linfocitos células fagocíticas y también en su circulación única. Los antígenos que circulan en la sangre son forzados a un contacto estrecho con fagocitos y linfocitos. lo que permite que sean reconocidos como extraños , para desencadenar la fagocitosis y la producción de anticuerpos.

Al secuestrar más o menos un tercio de la masa plaquetaria el bazo actúa como reservorio de plaquetas. La esplenomegalia masiva puede causar el almacenamiento de 80 a 90% de las plaquetas, produciendo trombocitopenia periférica. La extirpacion de este órgano conduce a trombocitosis transitoria, regresando la cuenta plaquetaria a lo normal en alrededor de diez días . Aunque el bazo no es esencial para la vida la esplenectomía produce anomalidades eritrocitarias características.(16)

#### c) -Médula ósea-

La médula ósea se encuentra dispersa a través del cuerpo. Se ubica en el canal medular de los huesos largos y en los huesos planos, especialmente en el cráneo. Es responsable de la producción de los elementos formes de la sangre. Se distinguen dos compartimientos en la médula: el vascular y el hematopoyético. El compartimiento vascular de la médula ósea incluye: la arteria nutriente, la arteria central longitudinal, la arteria capilar, los senos venosos, la vena central longitudinal y la vena nutriente.

Los senos venosos constituyen el elemento más importante dentro del compartimiento vascular, y su actividad es clave para las funciones de la médula, ya que a través de ellas las células pasan del compartimiento hematopoyético al compartimiento vascular. El compartimiento hematopoyético está ubicado entre los senos vasculares y limitado por allos, es la fuente de eritrocitos, plaquetas, granulocitos, monocitos y linfocitos, todos derivan de una célula pluripotencial responsable de la generación de las células precursoras específicas para cada población celular. De todas estas series o sistemas celulares sólo los linfocitos, monocitos y granulocitos actúan como células efectoras en la respuesta inmunológica, en tanto que las células de las series eritroide y megacariocítica a menudo son blanco de la respuesta inmunológica.(21)

Los megacariocitos se localizan sobre las aberturas endoteliales en las paredes sinusoidales y liberan plaquetas directamente a la luz del seno. Los megacariocitos, a causa de su gran tamaño, no se deslizan a la circulación y, de hecho, pueden evitar el escape de elementos celulares menores a los senos. (16)

#### d)- Hígado-

El hígado es el órgano más grande del cuerpo pesa en el adulto alrededor de 1.5 kg. se localiza bajo el diafragma en la parte superior del abdomen. Su sistema circulatorio es único, ya que tiene un suministro doble de sangre a través de la arteria hepática y la vena porta.

La sangre de esta última proviene de las vías digestivas, el páncreas y el bazo.. El hígado está constituido por un gran número de unidades funcionales llamadas lóbulos hepáticos.

Cada lóbulo consiste de una vena central(rama de la vena hepática ) circundada por placas irregulares interconectadas de células hepáticas (hepatocitos ), que se distribuyen hacia el exterior. Espacios caniculares entre hepatocitos adyacentes forman los canales biliares. Estos conductos recogen la bilis y la transportan a los conductos hepáticos. En la periferia de los lóbulos , se encuentran la áreas portales (por lo general de 3 a 6 por cada lóbulo ).Cada área consiste en tres conductos diminutos: Una vénula (rama de la vena porta), una arteriola (rama de arteria hepática) y un conducto biliar, también puede haber vasos linfáticos.

Las ramas de la vena porta y la arteria hepática drenan en los sinusoides. Estos conductos, a su vez, vacían en la vena central.

El interior de los sinusoides está revestido por dos tipos de células; epiteliales y de Kupffer. Pequeños espacios entre las células epiteliales y las de Kupffer hacen el revestimiento discontinuo y permiten al plasma un acceso directo a los hepatocitos. Sin embargo, el revestimiento rechaza a lo eritrocitos .El segundo tipo de células en el revestimiento sinusoidal,la célula de Kupffer , por lo general tienen una forma de estrella debido a la existencia de proyecciones citoplásmicas y está adherida a las células epiteliales.

Estas células tienen las características morfológicas típicas de los macrófagos y manifiestan fagocitosis activa. El hígado no es un filtro discriminatorio como el bazo. Las células de Kupffer fagocitan grandes cantidades de material presente en la sangre, incluyendo derivados del fibrinógeno, productos de degradación de la fibrina, proteínas activadas de la coagulación, plaquetas y leucocitos dañados y eritrocitos decadentes o lesionados; además de su función de filtro para las células sanguíneas, el hígado depura diversos fármacos y sustancias por oxidación, metilación y conjugación, así como otras funciones.

En el feto, el hígado es el sitio principal de la hematopoyesis desde el tercer mes de gestación hasta poco antes del nacimiento. Esta función hematopoyética es retenida después de nacer. Por lo tanto, si la médula oséa pierde su capacidad para formar células sanguíneas debido a invasión por células malignas o tejido fibroso, el hígado puede reasumir su producción. (16)

#### e) -Timo-

Es un órgano linfopoyético que está desarrollado al nacimiento y continúa creciendo hasta la pubertad. Sin embargo, más adelante comienza atrofiarse hasta que en la vejez apenas se reconoce. Es un órgano bilobulado separado en corteza y médula. La corteza muy llena con linfocitos pequeños y algunos macrófagos. La médula contiene menos células, las cuales son linfocitos mezclados con células epiteliales medulares.

El propósito primario del timo es servir como un compartimiento para la maduración del linfocito T. El timo se ocupa de suministrar linfocitos T a las áreas correspondientes de los ganglios linfáticos, el bazo y otros tejidos linfoides periféricos. (16)

**f)- Ganglios linfáticos-**

Los ganglios linfáticos esta ubicados estratégicamente en el organismo para facilitar el contacto con elementos extraños; tanto los que se generan dentro del individuo.

Cuando una substancia extraña logra atravesar las barreras constituidas por la piel o mucosas, entra a la sangre a través de la linfa, la cual conduce a un ganglio linfático, en la que estan representadas proporcionalmente las células que intervienen en la respuesta inmunológica (Linfocitos y macrófagos principalmente).

(21)

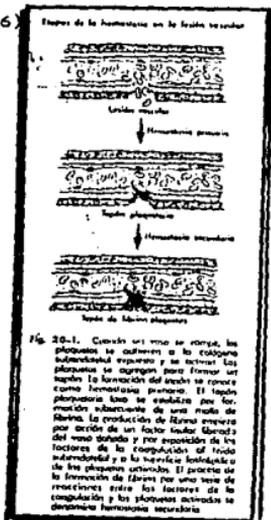
### II.3.- Hemostasia Primaria.

La hemostasia es el efecto combinado de varios mecanismos que interfieren en la prevención de a hemorragia espontánea y en la detección de la salida de sangre de los vasos dañados. (19)

En otras palabras es el proceso en que se forma una barrera para impedir la pérdida de sangre, y que se limita al sitio de la lesión, se conoce como hemostasia. La masa que forma la barrera es el tapón hemostático o coágulo sanguíneo. (16) (Fig 2)

Asimismo puede producirse un traumatismo en la superficie interna de los vasos , sin lesión seccionante. En este caso, la formación del coágulo ocurre en la superficie dañada, lo que causa un estado anormal llamado trombosis.(16)

Fig.(2) Etapas de la Hemostasia



Autores contemporáneos establecen el mecanismo de la hemostasia en tres componentes:

- A. Vasos sanguíneos.
- B. Plaquetas
- C. Proteínas plasmáticas solubles.

Exactamente los tres componentes deben funcionar correctamente para que la hemostasia sea normal. Un defecto en cualquiera de estas funciones puede bastar para interferir con una hemostasia normal. (19). Sin embargo, el mecanismo de la hemostasia debe ser considerado como un todo, es decir, como un proceso producido por un juego equilibrado de sus componentes.(19) Por lo anterior puede plantearse la hemostasia con una simple definición; la hemostasia es el cese del flujo de sangre de un vaso dañado.(38)

Los vasos sanguíneos y las plaquetas, primera línea de defensa contra la hemorragia en vasos rotos, interactúan para formar un tapón plaquetario temporal.(Ver.fig.2) la creación de este tapón se conoce como hemostasia primaria.

### II.3.1 Vasos Sanguíneos

#### a) Funciones de los vasos sanguíneos

El endotelio vascular tiene varias funciones. Actúa como barrera entre la sangre y los tejidos subyacentes sin embargo, hay diversos tipos de aberturas llamadas poros o vesículas en las superficies planas de las células endoteliales, que permiten el transporte de moléculas nutrientes de plasma.(7)

Las células endoteliales intervienen también en el procesamiento de antígenos transportados por la sangre para la inmunidad celular. La lesión de las células endoteliales vasculares exponen a los componentes de la coagulación disueltos en el plasma a las fibras de colágena y la membrana basal, provocando la activación de la cascada de coagulación con la formación de un coágulo sanguíneo.(16)

Las células endoteliales sintetizan varias moléculas algunas de las cuales promueve la formación del coágulo y otras lo inhiben. Una de estas últimas es una molécula de prostaglandina, PGI<sub>2</sub>, llamada también prostaciclina, que impide la activación de las plaquetas y causa dilatación de los vasos sanguíneos. Una de las proteínas plasmáticas de la coagulación, el factor de Von Willebrand, se sintetiza aquí.(16)

Después de la lesión, los vasos dañados inician el mecanismo hemostático, constriñendo o estrechando la luz. Por lo tanto el flujo de sangre al exterior se reduce. La vasoconstricción ocurre de inmediato y dura un corto periodo de tiempo. El mecanismo no se conoce por entero, aunque se sabe que varias substancias favorecen la reacción. Entre ellas están la Serotonina y Tromboxano A<sub>2</sub>, sintetizadas durante la activación plaquetaria.(16) Estas substancias pueden prolongar la vasoconstricción. PGI<sub>2</sub>, producida por las células endoteliales constriñe esos efectos y causa vasodilatación. Así existe entre estas substancias un mecanismo de equilibrio.(16)

Cuando se produce la lesión endotelial, las plaquetas y las proteínas plasmáticas de la coagulación se exponen a tejidos subendoteliales que interactúan y conducen a la formación del tapón hemostático.(16)

#### Plaquetas

##### II.3.2 Estructura Plaquetaria

Las plaquetas constituyen el segundo componente mayor del sistema hemostático. La explicación sobre el origen de la plaqueta, que generalmente se acepta, es la propuesta por Wright, quien sugiere que son reacciones desprendidas del citoplasma de los megacariocitos, células que se encuentran en la médula ósea.

El megacariocito proyecta sus prolongaciones citoplasmáticas hacia los capilares, éstos se desprenden y aparecen en la circulación como plaquetas. El volumen aproximado de las plaquetas es de 5 a 7  $\mu$  cúbicas.

Esta estructura discoidal de las plaquetas es muy labil; el cambio de su forma es la primera respuesta que da la plaqueta a cualquier estímulo; especialmente, con el frío se observa la formación de pseudopodos, cuyo tamaño puede ser de 3 a 5 veces el diámetro de la plaqueta.(24)

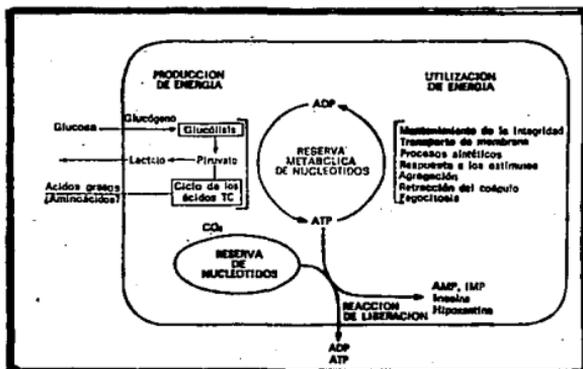
Las plaquetas contienen gran cantidad de proteínas de la cual el 30% son trombostenina (proteína contráctil presente en la membrana) y fibrinógeno; además, existe una proteína albuminoide, éstas dos últimas muy similares a las plasmáticas.

Los lípidos plaquetarios constituyen el 17% de estos, la cuarta parte son neutros (principalmente colesterol no esterificado), y el resto son varios fosfatídicos (lecitina, fosfatidiletanol amina, fosfatidil inositol fosfatidil serina). Las plaquetas sintetizan activamente ácidos grasos. (24)

Los adenil-nucleótidos, fosfatos de guanosina, citidina y uridina que se encuentran en las plaquetas son proveídos por el megacariocito, se piensa que hay cantidades suficientes para la preservación fisiológica de la plaqueta durante su vida, ya que *in vivo* no hay síntesis de éstos compuestos.

En la plaqueta existen enzimas para la vía glucolítica, el ciclo de Krebs, síntesis de glicógeno y su catabolismo.

(fig.3) Mecanismo de energías



Las plaquetas, como fragmento citoplásmico del megacariocito, no poseen núcleos; además de que no presentan retículos endoplásmicos lisos y aparato de golgi.

La plaqueta humana está limitada por una membrana bien definida que, como el resto de las células orgánicas, es considerada como un conglomerado de macromoléculas protéicas y lípidos en constante movimiento. Muestra, además un alto grado de deformabilidad. Inmediatamente por fuera de la plaqueta, se observa una cubierta de tipo esponjoso, o bien un grupo de filamentos radicados que la recubren totalmente. Esta capa es de 500 A°, cuando es homogénea y parece estar compuesta de carbohidratos.(16)

La membrana plaquetaria es la única que posee grandes cantidades de glicosil-transferasa, enzima que se encuentra prácticamente ausente en la sangre y células endoteliales, y se le ha atribuido la función de receptor para la colágena. Muchas fracciones protéicas de la membrana han sido aislados, pero su función se desconoce. La abertura esponjosa de las plaquetas son canales membranosos que se extienden hasta la profundidad de la célula.

Para comprender los mecanismos por los que las células participan en la formación del tapón hemostático es necesario conocer su estructura.

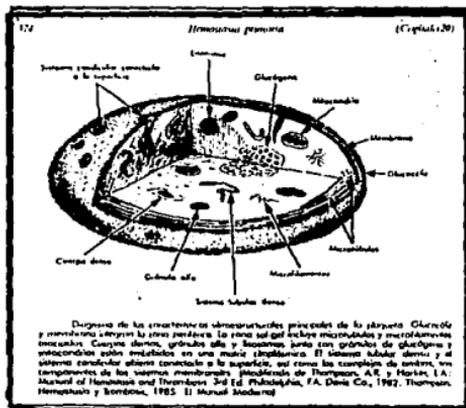
La plaqueta se considera formada por cuatro capas: (16,35)(fig 4)

- a) Zona periférica
- b) Zona sol-gel
- c) Zona del organelo.
- d) Sistema de membranas

- a) Zona periférica
  - Cubierta exterior (glucocáliz)
  - Membrana celular
  - Filamentos de la submembrana

- b) Zona sol-gel
  - Microtúbulos
  - Microfilamentos

- c) Zona de organelos
  - Mitocondrias
  - Glucógeno
  - Cuerpos densos
  - Gránulos alfa
  - Gránulos lisosómicos.



- d) Sistema de membranas
  - Sistema canicular abierto
  - Sistema tubular denso

**a) Zona periférica**

La cubierta exterior se conoce como glucocáliz y la componen varias glucoproteínas. Se incluyen los factores de la coagulación, V, VIII y fibrinógeno. Algunas de estas proteínas sirven también como receptores para sustancias que median la activación plaquetaria, incluyendo la adherencia y agregación.

La membrana celular o citoplásmica es una estructura trilaminar típica con una bicapa fosfolipídica con proteínas integrales que sirven como receptores para los factores estimulantes que modulan la función plaquetaria.

El ácido araquidónico, un ácido graso, que es componente principal de la porción fosfolipídica de la membrana, es precursor de estimuladores muy potentes que causan agregación plaquetaria y vasoconstricción.

**b) Zona sol-gel**

Consiste en microtúbulos y microfilamentos cuyas funciones principales son proporcionar un citoesqueleto y un sistema contráctil. Los microtúbulos tienen importancia en la conservación de la forma discoidal de la plaqueta y en la contracción de la plaqueta activada. Los microfilamentos y fibras se forman de actina y miosina, que son proteínas contráctiles.

**c) Zona de organelos.**

Dentro del citoplasma hay tres tipos de organelos que son predominantes y típicos de las plaquetas; gránulos alfa, cuerpos densos de mitocondrias y gránulos lisosómicos.

Una plaqueta humana contiene de 20 a 200 gránulos alfa cuyo tamaño es de 200 a 300  $\mu$ , distribuidos regularmente en el citoplasma y delimitado por una membrana de 20  $\mu$  de grueso. Contiene enzimas hidrolíticas ( hidrolasas ácidas ) por lo que son consideradas como los lisosomas plaquetarios.

Los gránulos alfa son los más numerosos de los tres tipos de gránulos y contiene dos grupos principales de proteínas. Uno de los grupos consiste de proteínas semejantes a las plasmáticas de la coagulación; el otro la forman proteínas específicas de las plaquetas (16)

Los cuerpos densos, se encuentran presentes de dos a diez unidades por plaqueta. Estos gránulos tienen un diámetro de 100 a 250  $m\mu$  y están rodeados de membranas. Existen muchas evidencias de que estos gránulos son los sitios donde se almacena aminas (el 10% de las serotoninas corporal, dopamina y noradrenalina).(24)

Estos cuerpos contiene ADP, ATP y otros nucleotidos y también compuestos fosfatados, iones de calcio y serotonina. El ADP de los cuerpos densos se conoce como la reserva metabólica del ADP para distinguirla del ADP metabólico que se encuentra en el citoplasma. El depósito metabólico proporciona energía para el metabolismo plaquetario normal, mientras que la reserva almacenada no metabólica es importante para las reacciones de la agregación plaquetaria.(16)

Los gránulos lisosómicos contienen enzimas hidrolíticas y son semejantes a los lisosomas de otras células. Se encuentran de 10 a 60 mitocondrias por plaqueta y son fácilmente reconocidos por tener una doble membrana; son muy pequeñas comparadas con otras células, la elevada producción de ATP encontrada en las plaquetas indican su importancia ya que en las plaquetas contienen todas las enzimas necesarias para que los ciclos glucolíticos de los ácidos tricarboxílicos, así como para la síntesis y degradación del glucógeno.

Alrededor del 50% de la energía (ATP) plaquetaria deriva de la vía glucolítica y el otro 50% se obtiene del ciclo de los ácidos tricarboxílicos. (Ver fig.3)

#### d) Sistema membranoso

El sistema canicular abierto es la membrana que rodea los canales zigzageantes que se extienden de la superficie plaquetaria al interior. Esta membrana es un remanente del sistema membranal del megacariocito. Un segundo tipo de membrana llamado sistema tubular denso se origina en el retículo endoplásmico rugoso del megacariocito y sirve como sitios de almacenaje de iones calcio.

Tanto el sistema canicular abierto como el sistema tubular denso se fusionan en varias áreas del citoplasma plaquetario para formar complejos membranales, que al parecer, sirven como reguladores importantes de la concentración intracelular del calcio. El nivel de  $Ca^{2+}$  dentro del citoplasma de la plaqueta, regular su metabolismo y activación.

### II.3.3. Función Plaquetaria

Las plaquetas intervienen en varios aspectos de la hemostasia. Uno de los papeles principales puede ser la vigilancia pasiva del revestimiento endotelial de los vasos por fisuras roturas. Se ha demostrado que las plaquetas preservan la continuidad o integridad de los vasos, rellenando los pequeños agujeros que se forman, cuando las células endoteliales se separan.(16) Se adhieren a las fibras de colágeno expuestas del subendotelio y evitan que la sangre escape.

Una reducción en el número de plaquetas conduce a derrame de sangre a los tejidos a través de estas fisuras. En el caso de una lesión, en la que hay rotura real del revestimiento endotelial, las plaquetas reaccionan formando un agregado que se conoce como tapón plaquetario hemostático primario y detienen el sangrado.(Ver Fig.2) Los fosfolípidos de la membrana de estas plaquetas agregadas, llevan a cabo una reacción de superficie que activa al fibrinógeno para la formación de fibrina. Sirve ésta para estabilizar el tapón plaquetario inicial y la masa entera final se llama tapón hemostático secundario. Esta función de la plaqueta es promover la reparación tisular después de una lesión.

### II.3.4 Producción Plaquetaria

Las plaquetas, formadas en la médula ósea, derivan de la misma célula precursora(CFU-B) que las series eritroides y mieloides.

Bajo influencia hormonal, se han identificado por lo menos dos etapas en la maduración de la célula precursora: la célula precursora megacariocítica restringida (CFU-Meg) y la célula precursora megacariocítica inmadura. (16)

Las células sanguíneas maduras tienen una vida limitada y, con excepción de los linfocitos, no pueden autorrenovarse. Reemplazar las células hematopoyéticas periféricas decadentes es función de elementos más primitivos en la médula ósea llamados células madres. Estas últimas, se caracterizan por su propiedad de diferenciarse en distintas líneas celulares con funciones especializadas y por su capacidad para regenerarse de modo que se conserve el comportamiento de células madres.

Se proponen dos teorías acerca de estas células madres:

a) La primera propone una célula precursora común, la célula madre pluripotencial que, bajo la influencia de factores humorales desconocidos, puede dar origen a cada una de las líneas celulares de la sangre. La célula pluripotencial sería capaz de autorrenovación, proliferación y diferenciación en todas las líneas celulares hematopoyéticas.

b) Por lo contrario, la teoría polifilética propone que existen células madres monopotenciales capaces de diferenciarse en uno y sólo un tipo de célula sanguínea. Los datos clínicos y experimentales que ahora existen se inclinan con firmeza hacia la teoría monofilética.

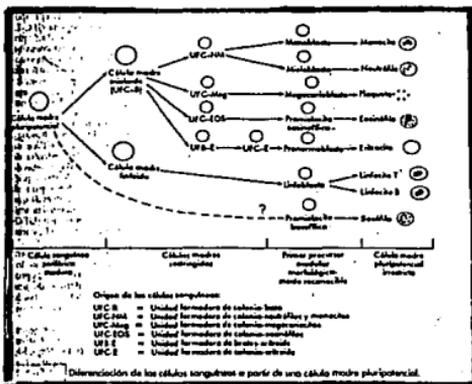
Basandose en estos resultados, las células hematopoyéticas pueden clasificarse en tres compartimientos celulares dependiendo de su grado de madurez. En orden creciente de maduración estos compartimiento son:

- 1.- Células multipotenciales primitivas capaces de autorrenovación y diferenciación en todas las líneas celulares sanguíneas.
- 2.- Células progenitoras restringidas destinadas a desarrollar líneas celulares definidas.
- 3.- células maduras con funciones especializadas y que han perdido su capacidad para proliferar.

Till y McCulloch en 1961,(7)demostrarón el potehcial de células madres únicas para repoblar el bazo de ratones radiados en forma masiva en todas las líneas celulares sanguíneas. Los ratones fueron radiados hasta la destrucción completa de todas las células hematopoyéticas. De inmediato se le transfundió por vía intravenosa células de médula ósea normal de ratones donadores, demostrando en las etapas iniciales de la recuperación, el bazo y la médula ósea de los animales transfundidos nódulos macroscópicos de células hematopoyéticas en proliferación. La célula que formó la colonia se denominó unidad formadora de colonia -bazo (CFU-B).

La mayor parte de los estudios indican que aunque CFU-B da origen a monocitos, neutrofilos, magacariocito y eritrocitos, no forman linfocitos.(Fig.5)

Fig (5) Diferenciación de las células sanguíneas a partir de una célula madre pluripotencial. (16)



Como observamos dentro de la diferenciación de las células sanguíneas a partir de una célula madre pluripotencial se encuentra el objetivo de este trabajo que son las plaquetas. Un proceso regulador mantiene la concentración adecuada de plaquetas. La producción puede aumentar o disminuir en respuesta a un estímulo, que puede ser la masa plaquetaria y/o la masa megacariocítica. Cuando este estímulo disminuye o aumenta, hay el aumento o disminución inverso correspondiente en la concentración del factor regulador. Se han descrito dos factores reguladores, aunque se sabe poco de sus funciones, naturaleza química o mecanismo de acción. (16)

a) El factor estimulante de colonia megacariocítica (CSF-Meg) que influye en el número de megacariocitos. Lo más probable es que CSF-Meg actúe a nivel de la célula precursora, induciendo proliferación y diferenciación de la célula tronco pluripotencial.

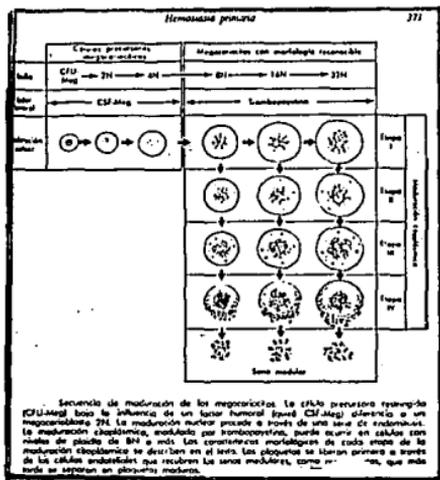
b) El segundo factor (posiblemente una serie de factores) se le llama con frecuencia trombopoyetina; ésta influye, de manera primitiva, en el tamaño final del megacariocito, por lo tanto, en el número de plaquetas producidas. (16)

En la estimulación de receptores de la célula precursora por CSF-Meg desencadena la formación de un megacarioblasto. Esta célula blasto experimenta una secuencia de maduración. Además, el proceso de maduración nuclear es único, ya que consiste en una serie de endomitosis. Con cada una de éstas, el contenido de DNA de la célula se duplica, pero la división celular no tiene lugar. Así las células formadas tienen un contenido de DNA a ploidía de  $4N$  a  $32N$  o, en potencia, aún mayor. La etapa  $8N$  es la primera reconocible en un frotis de médula ósea y en la clase de ploidía más común.

Cuatro etapas del desarrollo del megacariocito se han descrito de acuerdo con su aspecto morfológico. (fig.6) Las características diferenciales son la morfología nuclear, el aspecto del citoplasma y el tamaño relativo de la célula.

La maduración citoplasmática puede empezar en la etapa  $8N$  o en una mayor, pero la etapa en que la maduración ocurre, varía de una célula a otra.

Fig.6 Secuencia de maduración del megacariocito.(16)



Al parecer, los megacariocitos con ploidía baja, producen plaquetas más densas y de funcionamiento más activo. Se ha postulado que el incremento en la ploidía del núcleo conduce a la formación del citoplasma abundante y, por lo tanto, de un número mayor de plaquetas.

Los megacariocitos de la etapa I (megacarioblasto) tiene citoplasma basófilo escaso. En el microscopio de luz no se aprecian gránulos. El núcleo por lo general es redondo y es posible ver nucléolos. Tiene un diámetro aproximado de 6 a 24  $\mu$ .

En las células de la etapa II (Promegacariocito) el citoplasma contiene gránulos azurófilos visibles. El núcleo contiene lobulillos pero los nucléolos se distinguen. Los promegacariocitos tienen un diámetro de 14 a 30  $\mu$ . En esta etapa empieza a desarrollarse un sistema de membranas llamado sistema membranoso de demarcación (DMS), de este modo se separan áreas pequeñas de citoplasma que, finalmente, se convertirán cada una en una plaqueta.

Los megacariocitos de la etapa III (megacariocitos granulares) se caracterizan por su mayor tamaño (16 a 56  $\mu$ ), el número creciente de gránulos y las membranas de demarcación. El núcleo es multilobular y los nucléolos han desaparecido.

Los megacariocitos de la etapa IV el núcleo es compacto pero lobulado, son megacariocitos maduros y su diámetro es aproximadamente de 20 a 50  $\mu$ .

Los megacariocitos maduros, situados a menos de 1  $\mu$ m, de su seno en la médula ósea, derraman plaquetas directamente al seno. Al parecer, las plaquetas se desprenden de los megacariocitos en grupos grandes llamados proplaquetas. Cada megacariocito produce de siete a ocho proplaquetas, que se expulsan a través de las células endoteliales medulares a los senos. Se piensa que las proplaquetas se desgajan en plaquetas, pero el proceso no se ha observado todavía. (16).

El núcleo del megacariocito permanece en la médula ósea y se piensa que degenera y se elimina por el sistema de macrófagos. Se requiere más o menos cinco días para que un megacarioblasto madure a plaqueta.

Las dos terceras partes de las plaquetas liberadas a la sangre circula en el torrente sanguíneo. La tercera parte restante la secuestra el bazo y se conserva en equilibrio con las plaquetas circulantes. La supervivencia promedio de las plaquetas de la sangre periférica es de nueve días y medio.

#### II.3.5 Formación del Tapón Hemostático

Se logra el cese de la hemorragia después de lesión de un vaso sanguíneo por una serie de acontecimientos. La detección primaria de la hemorragia depende de una respuesta vascular no definida y de la capacidad de las plaquetas para acumularse a nivel de la lesión vascular.

La formación de agregados de plaquetas produce un tapón hemostático temporal que explica la supresión del flujo sanguíneo. Después de la aglomeración de las plaquetas, se activa el mecanismo de la coagulación de la sangre mediante el cual la protombina se convierte en trombina, a continuación la trombina convierte el fibrinógeno en fibrina (coagulación de la sangre) lo cual produce también aglomeración ulterior de las plaquetas. La masa de plaquetas y fibrina constituye el tapón hemostático firme del cual depende la detención permanente de la hemorragia.

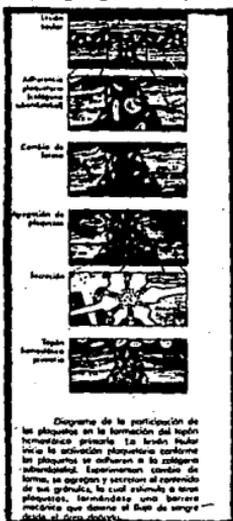
Las plaquetas circulan en la sangre ordinariamente como discos redondos que no se adhieren entre sí, ni al endotelio normal. Sus propiedades biológicas específicas radican en los cambios que tienen lugar cuando se rompe el endotelio. En estas condiciones las plaquetas se adhieren a una gran variedad de sustancias subendoteliales, entre las cuales destacan colágena, microfibrillas y membrana basal. No son conocidos los mecanismos involucrados en la adhesividad de las plaquetas a la colágena, pero al parecer este proceso se inicia con cambios ulteriores de las plaquetas, que les permite unirse entre sí dando lugar a la formación de agregados de plaquetas. (Ver fig.7)

En las plaquetas existen grandes cantidades de ADP y cuando son estimuladas por la colágena, una parte de este ADP endógeno, localizado en gránulos de almacenamiento altamente específicos ricos en electrones es expulsado de las plaquetas hacia el líquido extracelular. Este ADP liberado, por un mecanismo todavía desconocido, da origen a la formación del agregado de plaquetas.

El proceso por virtud del cual las plaquetas liberan difosfato de adenosina y otras sustancias localizadas en sus gránulos mientras conservan sustancias existentes en el citoplasma ha recibido el nombre de reacción de liberación.

Además de su papel en la detención primaria de la hemorragia, las plaquetas son también indispensables para la coagulación de la sangre.

El factor de plaqueta que, junto con los factores de la coagulación del plasma, es necesario para la coagulación ha recibido el nombre de "factor 3 de plaqueta" (PF-3). En la actualidad no se ha dilucidado si PF-3 es un factor específico, por ejemplo, una lipoproteína o lípido específico, o si se trata de una propiedad de la membrana de la plaqueta que actúa como una superficie en la cual quizá ocurren ciertas etapas del proceso de la coagulación. Como el factor 3 de plaqueta interviene en la coagulación de la sangre, pero no en la detección primaria de la hemorragia, no hay motivo para que una deficiencia de la actividad de dicho factor prolongue el tiempo de hemorragia. En la formación del tapón hemostático, el proceso se desarrolla bajo una secuencia específica: adherencia, activación, agregación primaria, secreción y agregación secundaria. Fig (7)



### II.3.6 Adherencia

La adherencia de las plaquetas es el primer paso en la formación del tapón hemostático primario. Las primeras plaquetas que escapan por la lesión se adhieren a las fibras de colágena del interior de la pared vascular. La atracción del colágeno por las plaquetas no se comprenden del todo. Gran parte de lo que se sabe acerca de esta fase, procede de estudios en pacientes con dos enfermedades en que las plaquetas no se adhieren en forma apropiada; la enfermedad de Bernard-Soulier y la de von Willebrand.

La enfermedad de Bernard-Soulier se caracteriza por la carencia de glucoproteína Ib en la membrana plaquetaria, en la enfermedad de von Willebrand carece de una proteína plasmática conocida como factor de von Willebrand (vWf). El factor (vWf) forma complejo con otra proteína plasmática, el factor VIII. Se presume que la glucoproteína Ib y el factor von Willebrand facilitan la adhesión de la plaqueta a la colágena vascular. Se cree que la glucoproteína Ib es el receptor de superficie para el factor vWf, dicho factor reacciona a su vez con la pared vascular y une la plaqueta a la colágena expuesta. Por tanto, vWf se describe como un puente que conecta plaqueta y colágena. (16) Segundos después de la adherencia normal de las plaquetas con la colágena, las primeras se adhieren libremente entre sí en el punto del ataque vascular. Esta agregación se cree que ocurre a causa de la interacción plaqueta-ADP-plaqueta. El ADP puede proceder de la liberación de las plaquetas tras la reacción colágena-plaqueta. (38)

La adherencia de plaquetas a las fibras de colágena desencadena cambios morfológicos y funcionales en la plaqueta conocidos como activación.

Las características de la plaqueta activa son:

- 1.- Cambio de forma
- 2.- Síntesis de receptores de superficie
- 3.- Cambios en la orientación de los fosfolípidos de la membrana.

### II.3.7 Activación

La primera característica de la activación plaquetaria es el cambio de la forma discoide a esférica en proyecciones en su superficie. Dentro de las proyecciones o pseudópodos, se forman microfilamentos de actina. Estos pseudópodos ayudan a aumentar la posibilidad de contacto entre plaquetas, permitiendo que se adhieran entre sí. Asimismo, como parte del cambio de forma, la capa de microtúbulos se contrae, reuniendo a gránulos y organelos en el centro de la esfera. Se desconoce el mecanismo de la contracción.

El cambio de forma es necesario para todas las subsecuentes reacciones en la cadena de la respuesta plaquetaria. Todos los agentes que inducen esta respuesta, causan de manera inicial un cambio morfológico, que es reversible en ausencia de un estímulo lo bastante poderoso para continuar el proceso. Las plaquetas que se adhieren a la colágena se dispersan por toda la superficie, llenando los espacios entre pseudópodos al cabo de un tiempo. De este modo, las plaquetas se ensamblan con un efecto de "rompecabezas".

La segunda característica de la activación plaquetaria comprende cambios en la cubierta superficial y la membrana plasmática, de modo que las glucoproteínas actúan como receptores para diversos estímulos conocidos como inductores o agonistas.

Además de la glucoproteína Ib que es receptor para vwf, en la membrana plaquetaria se han identificado receptores para trombina, colágena, difosfato de adenosina (ADP) y adrenalina. Cuando estas sustancias se adhieren a sus receptores plaquetarios, los mensajes se transmiten a través de la membrana al interior de la plaqueta.

La concentración citoplásmica de los iones calcio aumentan por desplazamiento de sus sitios de almacenaje en el sistema tubular denso. Este incremento de calcio inhibe a la enzima adenilatociclasa y, se reduce al AMP cíclico plaquetario. Con esta reducción aumenta la movilización del calcio. Este efecto provoca una serie de seis respuestas exigiendo cada una de ellas potencia creciente de estimulación y, por lo tanto, de concentración de calcio.

- 1.- Cambios de forma
- 2.- Separación del ácido araquidónico de los fosfolípidos  
membranales.
- 3.- Secreción de gránulos densos.
- 4.- Agregación plaquetaria.
- 5.- Secreción de gránulos alfa.
- 6.- Secreción de las enzimas hidrolasas ácidas.

Los estimulantes pueden ser débiles o potentes, dependiendo de la respuesta que son capaces de inducir. ADP y adrenalina son estimulantes débiles, puesto que sólo pueden inducir las dos primeras respuestas plaquetarias, cambio de forma y agregación.

Por otra parte la colágena y trombina son estimulantes potentes, y pueden desencadenar la seis respuestas plaquetarias.

Es probable que la colágena estimule la mayor parte de los procesos iniciales en la activación. Una vez activada, la respuesta plaquetaria se autopepetúa, ya que las sustancias liberadas estimulan una respuesta más poderosa e incorporan nuevas plaquetas que a su vez se activan.

La tercer característica de la plaqueta activada comprende a los fosfolípidos de la membrana que, en condiciones normales se concentran en la mitad interior de la bicapa lipídica. En estos cambios permiten que las proteínas de la coagulación se unan a la superficie plaquetaria.

### II:3.8 Agregación Primaria

Cuando el calcio citosólico alcanza la concentración adecuada, las plaquetas nuevas que entran al área lesionada, empiezan a adherirse a las ya existentes. La unión de plaquetas entre sí se conoce como agregación plaquetaria.

Al parecer esta agregación se efectúa en dos etapas denominadas: primaria y secundaria.

La agregación primaria es el conglomerado plaquetario laxo que se forma al principio sin secreción plaquetaria de ADP no metabólico de los gránulos densos y de Tromboxano A<sub>2</sub>. (27)

### II.3.9 Secreción (Liberación)

Después de adherencia, cambio de forma y agregación primaria, las plaquetas principian a descargar sustancias al medio circundante a través del sistema canicular abierto (OCS).

El proceso se conoce como reacción de secreción o liberación. Requiere de energía para expulsar el contenido de los gránulos profundos por el OCS. La liberación requiere un estímulo más potente y una concentración citoplásmica más elevada de calcio que la agregación primaria. Los productos liberados son: ácido araquidónico de la membrana y el contenido de los gránulos. Los productos se enumeran en orden creciente de estímulos necesarios para su liberación Tromboxano A<sub>2</sub>, contenido de gránulo alfa, contenido de gránulos densos y, por último contenido de lisosomas.

### II.3.10 Agregación Secundaria

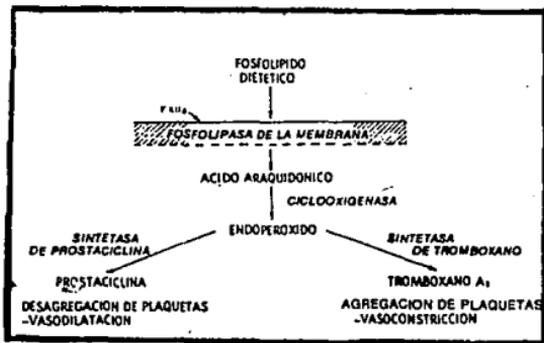
La agregación secundaria, irreversible, ocurre después de secreción plaquetaria. ADP, adrenalina, colágena y trombina pueden causar agregación. (Ver fig.7)

Se cree que la interacción del ADP con sus receptores en la membrana plaquetaria moviliza al fibrinógeno a sus sitios de fijación. Se desconoce la forma en que las plaquetas se unen entre sí, más se ha propuesto que se pueden mediar por "puentes" de fibrinógeno entre plaquetas adyacentes. (20)

Después de la adherencia de plaquetas a la colágena fibrilar. se produce un retardo inicial y luego la reacción de liberación y la agregación irreversible ocurren en forma simultánea.(16)

Colágena y trombina tienen capacidad para inducir la síntesis de tromboxano A<sub>2</sub>. La estimulación plaquetaria activa a una enzima fosfolípasa de la membrana. Esta enzima separa el ácido graso insaturado (ácido araquidónico), constituyente principal de los fosfolípidos de la membrana. Por acción de dos enzimas adicionales, ciclooxigenasa y tromboxano sintetasa, el ácido araquidónico se convierte a tromboxano A<sub>2</sub>.(10) Esta sustancia estimula agregación y secreción adicionales. Asimismo, potencia de vasoconstricción.

(Fig. 8) Vías bioquímicas de la síntesis de tromboxano A<sub>2</sub> en la plaqueta.



Las sustancias liberadas de los gránulos plaquetarios tienen varias funciones; amplifican la formación del tapón plaquetario al atraer nuevas plaquetas que se adhieren, secretan y agregan, formando por último un tapón mecánico que sella la lesión e impide la fuga ulterior de sangre.

El tapón es la causa del cese del sangrado. El tiempo de sangrado depende de la profundidad del corte y del tamaño del vaso.

#### Bioquímica de la Plaqueta

##### II.4.- Hemostasia Secundaria

La hemostasia secundaria ocurre cuando las proteínas plasmáticas solubles llamadas factores de la coagulación, interactúan en una serie de reacciones enzimáticas, para convertir el fibrinógeno soluble en fibrina insoluble. Las reacciones se producen en una cascada donde los factores de coagulación inertes circulantes (zimógenos) sirve primero como substrato y luego que se activa, como enzima. (16)

La lesión vascular suele iniciar la activación de estos procoagulantes. Esta acción culmina con la formación de un coágulo soluble de fibrina. (35)

El substrato final en la cascada es el fibrinógeno y cuando actúa sobre él la enzima final, trombina, el fibrinógeno se convierte en fibrina. (35)

Cuando los zimógenos se exponen al subendotelio de los vasos, la superficie fosfolipídica de las plaquetas activa la hemostasia primaria así como la activación del zimógeno.

Todas las reacciones enzimáticas, excepto la última (formación de fibrina a partir de fibrinógeno), requieren una superficie fosfolipídica, proporcionada por las membranas de las plaquetas activadas y de los vasos lesionados. Esta superficie es importante porque limita el sitio de reacciones y la formación de fibrina al lugar de la lesión.

La fibrina forma una malla en el tapón hemostático primario, barrera física estable a la fuga de sangre, llamada coágulo, es temporal y cumple su propósito sólo hasta que la pared endotelial se repara.

La hemostasia primaria así como la hemostasia secundaria son necesarias para la formación normal del coágulo. Las deficiencias en la hemostasia primaria producen por lo común hemorragias localizadas bajo la piel, llamadas petequias y sangrado de mucosas, en tanto que los defectos de hemostasia secundaria causan equimosis (derrames grandes) y hemorragias muy graves, y profundas en articulaciones y cavidades corporales.

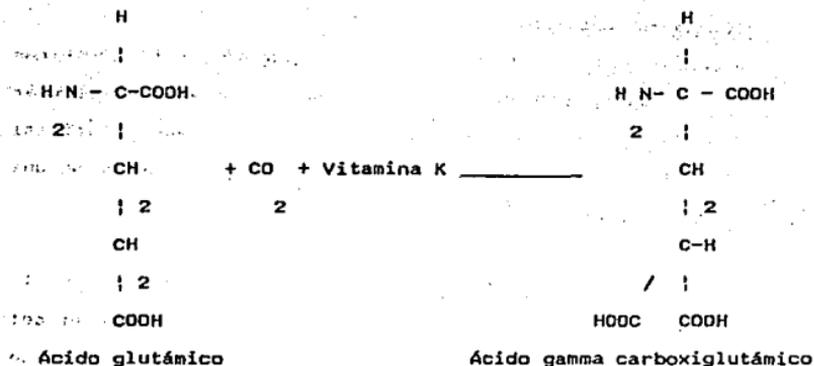
La formación de fibrina es un proceso controlado y equilibrado. A cada paso enzimático en la cascada se le limita por inhibidores o reguladores naturales; una gran cantidad de trombina, que es la última enzima formada en la cascada, destruye a los cofactores de la coagulación en pasos limitantes de la velocidad de su propia producción. Una vez que el coágulo de fibrina ha cumplido con su propósito de obturar la lesión y el vaso principia a reconstruirse, la fibrina se digiere por plasmina, enzima del sistema fibrinolítico. La plasmina que circula normalmente como una proteína inerte, se atrapa en el coágulo durante su formación.

#### II.4.1 Factores de la coagulación

Los factores de la coagulación pueden dividirse en tres grupos según sus funciones bioquímicas: Grupo de la protrombina, Grupo del fibrinógeno y Grupo de contacto.

##### a) Grupo de la protrombina

Incluye los factores II, VII, XI y X. Los estudios indican que la vitamina K se necesita para la adherencia de un grupo COOH adicional al carbono gamma de residuos de ácido glutámico (carboxilación gamma) en el extremo N terminal de la cadena polipeptídica. Fig(9)



*Fig(9) Gammacarboxilación del ácido glutámico dependiente de vitamina K. Los factores de la coagulación en el grupo de la protrombina deben experimentar esta carboxilación de sus residuos de ácido glutámico, para volverse funcionales. El calcio se une a los grupos carboxilos de la proteína y a la superficie fosfolipídica de la plaqueta.(16)*

Así en ausencia de la vitamina K, los factores se sintetizan en el hígado y pueden encontrarse en el plasma, más son totalmente afuncionales debido a que carecen de los grupos COOH necesarios para la fijación.

**b) Grupo del fibrinógeno**

Este grupo incluye los factores I,V,VIII y XIII. Se les nombra también grupo de factores consumibles porque se utilizan durante la formación de fibrina, y por lo tanto no existen en el suero.

### c) Grupo de Contacto

Comprende a los factores XI y XII y también a las proteínas plasmáticas, precalicreína y a cininógenos de peso molecular elevado(HMWK). Estos factores se ocupan de la activación inicial de la cascada de la coagulación, y requieren el contacto de una superficie con carga negativa para su acción.(16)

La función de los factores de contacto no dependen de la vitamina K. El factor XI es inestable a 56 °C, la actividad del factor permanece inalterada en el suero. El factor XII (factor de Hegeman) no se consume en el coágulo,es termoestable.

La precalicreína(factor de Fletcher) es una proteína plasmática, es resistente a la temperatura de 56°C durante 30 minutos y estable en frío ó liofilizada.

El cininógeno de alto peso molecular es una proteína del plasma (35)

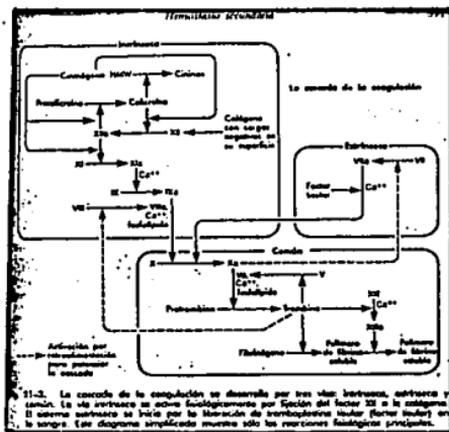
#### II.4.2.- Cascada de la Coagulación

La coagulación sanguínea se debe a la interacción enzimática de procoagulantes (proteínas del sistema de coagulación), fosfolípidos e iones. Las proteínas plasmáticas implicadas en el proceso de coagulación circulan en una forma inerte en la sangre. La lesión vascular suele iniciar la activación de estos procoagulantes(fibrinógeno, protrombina, trombina).(35)

La cascada de la coagulación puede dividirse en tres vías que se entrelazan: (5)

- 1.- Vía Intrínseca
- 2.- Vía Extrínseca
- 3.- Vía común

Fig.(10) Cascada de la coagulación.



### 1.- Vía intrínseca de la coagulación

La activación del factor X, que es el primero de las vías común, se puede activar a partir de dos vías separadas: las vías intrínseca o extrínseca, hasta la formación de trombina y fibrina.

Todos los componentes de esta vía circulan en el torrente sanguíneo, se cree que la activación intrínseca sea la principal en la formación fisiológica de fibrina.

La activación del factor X por esta vía es más lenta que por la vía extrínseca. (16)

Los factores de contacto XI, XII, precalicreína, son zimógenos mientras que el cininógeno de peso molecular elevado (HMWK) sirve como cofactor para la activación de los otros tres. (16)

La vía intrínseca se inicia con la exposición de los factores de contacto a las estructuras vasculares subendoteliales (colágena, membrana basal). Los primeros factores absorbidos al vaso dañado son el XII y la precalicreína. Son dos proteínas que se activan en forma recíproca:

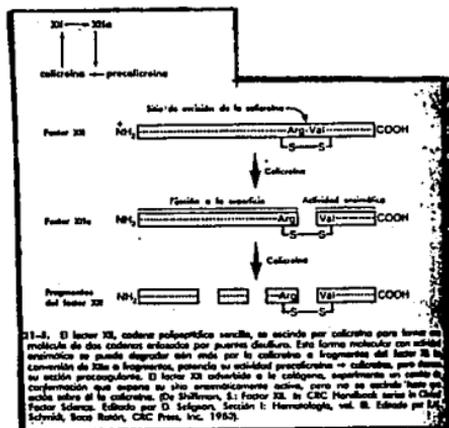
La unión del factor XII con la superficie subendotelial expuesta, depende de la interacción de grupos con carga positiva en el factor XII y grupos con carga negativa en el subendotelio.

Esta fijación ocasiona un cambio de conformación (pero no escisión) de la molécula XII, que expone de manera parcial su sitio de actividad enzimática. Luego, el factor XII unido a la superficie, divide por un proceso proteolítico a la precalicreína para formar a la calicreína. La calicreína junto con el cininógeno (HMWK) como cofactor, actúa en forma proteolítica, y divide al factor XII unido a la superficie, para liberar el factor XIIa. Fig. (11)

el factor XIIIa se puede escindir por calicreína plasmina y tripsina para producir fragmentos XII más pequeños. Estos fragmentos incrementan la activación de la precalicreína a calicreína, pero decrecen la actividad procoagulante del factor XII. Además de activar precalicreína a calicreína el factor XIIIa tiene por lo menos otras dos funciones enzimáticas:

- Convierte el factor XI a su forma activa XIa, en presencia del cofactor HNK.
- Activa al sistema fibrinolítico por su interacción con el proactivador del plasminógeno ( que genera plasmina del plasminogeno).

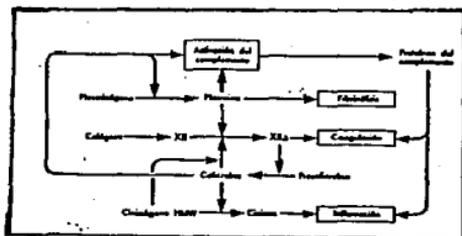
Fig.(11) El factor XII



Por lo tanto, los productos generados por el factor XIIa son: caliceína, factor XIa y plasmina. Al parecer el factor XIIa activa también al factor VII, que es el primer componente de la vía extrínseca, enlazando así a los sistemas de las dos vías.

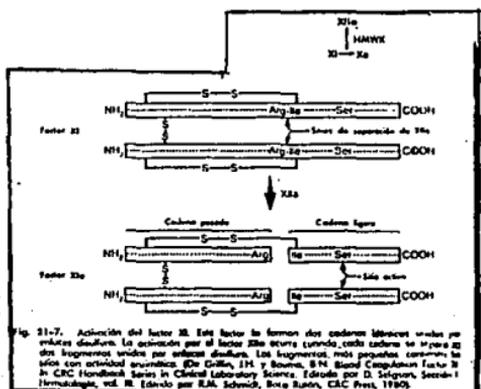
La caliceína se puede liberar de sitio de fijación en la superficie, y activar otros dos sistemas biológicos, el sistema de cininas y el sistema del complemento. La caliceína divide a HMWK en fragmentos más pequeños llamadas cininas. Activa al plasminógeno a plasmina, enzima proteolítica que degrada fibrina; la plasmina a su vez, puede activar al primer componente de la cascada del complemento. Fig.(12) La cinina liberada produce contracción de los músculos lisos, incrementa la permeabilidad vascular, aumenta la secreción de las glándulas mucosas y el dolor.

Fig.(12) Papel de los factores de contacto en los sistemas fisiológicos.



El factor XI se compone de dos cadenas polipeptídicas idénticas, unidas por puentes de disulfuro, la activación por el factor XIIa en presencia del cofactor HMWK, ocurre cuando cada cadena se separa en dos fragmentos unidos por enlaces disulfuro. Los fragmentos más pequeños contienen los sitios con actividad enzimática.

Fig(13) Activación de factor XI.

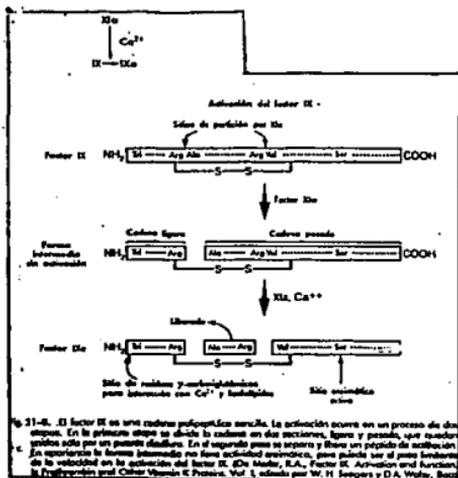


El sustrato para el factor XIa es el factor X.

El factor IX es una cadena polipeptídica sencilla. La activación ocurre en un proceso de dos etapas. En la primera etapa se divide la cadena en dos secciones, ligera y pesada, que quedan unidas sólo por un puente disulfuro. En el segundo paso se separa y libera un péptido de activación.

En apariencia la forma intermedia no tiene actividad enzimática, pero puede ser el paso limitante de la velocidad en la activación del factor IX. Fig (14)

Fig.(14) Activación del factor IX



En la reacción se necesita Ca<sup>++</sup> para la unión del factor IX a la superficie fosfolipídica de la plaqueta, pero ésta no afecta a la actividad del factor XIa.

El complejo de la vía extrínseca - VIIa, factor tisular, Ca<sup>++</sup> puede también activar al factor IX, es otro enlace entre los sistemas intrínseco y extrínseco.

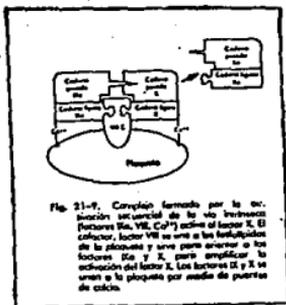
Aunque la activación de los factores de contacto tienen lugar en la superficie subendotelial del vaso, la activación del factor IX y las reacciones en cascada subsiguientes, se llevan a cabo en la superficie fosfolipídica de las plaquetas en el tapón hemostático primario.

IXa, VIII, PF3, Ca<sup>++</sup>

X-----Xa

Después de la activación, el factor IXa forma complejo con el cofactor, el factor VIII y Ca<sup>++</sup> en la superficie fosfolipídica de la plaqueta para activar al factor X. (El fosfolípido plaquetario, derivado de su membrana, se refiere al factor plaquetario 3 (PF3).

Fig.(15) Complejo Secuencial



Se ha dicho que el factor VIII se compone dos dos subunidades (VIII:C y VIII:vWF) las cuales se encuentran en concentraciones muy semejantes, cada porción tiene funciones y propiedades distintas.

La fracción coagulante se conoce también como factor antihemofílico y sirve como cofactor en la activación del factor X. Su función precisa no se comprende, pero se sabe que se usa en la superficie plaquetaria fosfolipídica y, al parecer, gobierna al substrato (factor X) y la enzima (XI<sup>a</sup>).

Se ha propuesto que la Trombina activa al factor VIII por escisión proteolítica, incrementando su actividad de cofactor. No obstante cantidades mayores de trombina destruyen el factor VI.

## 2.- La vía extrínseca de la coagulación.

El factor X se puede activar por una vía alterna, la extrínseca. La activación extrínseca comprende al factor VII proteínico plasmático y un cofactor, la tromboplastina tisular (factor III), llamada también factor tisular.

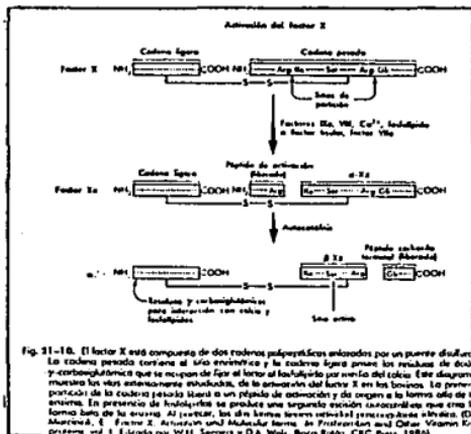
La activación por esta vía requiere un factor que en un principio se pensó sólo existía fuera de la sangre periférica (factor tisular). Sin embargo, se sabe ahora que los monocitos sanguíneos contienen tromboplastina. No se conoce si la tromboplastina derivada de los monocitos, participa en la coagulación.

El factor VIIa y el factor tisular forman un complejo que se une a la superficie fosfolipídica por medio de puentes de  $Ca^{++}$ . El complejo sirve para activar el factor X unido a la superficie. La activación extrínseca sirve también para activar el factor IX, evitando así la necesidad de la activación por contacto.

El factor VII a VIIa sugiere que el factor Xa es el activador fisiológico principal, aunque la trombina y el factor XIIa y IXa pueden, pueden potenciar también, de manera significativa la actividad del factor VII.

La activación del factor X por el factor VIIa requiere la presencia del factor tisular, una lipoproteína tisular integral de las membranas.

Fig.(16) Activación del factor X



El factor tisular no requiere activación sino que tiene la capacidad como cofactor. El factor tisular deriva de la tromboplastina de los tejidos y contiene protefina y fosfolípido. Este factor no circula normalmente en la sangre, excepto en los monocitos. Se libera y hace accesible por la formación del complejo del factor VII, cuando el vaso se lesiona. El factor VII se distribuye en forma extensa en numerosos tejidos, más abunda en especial en cerebro, pulmones y placenta.

### 3.- La vía común de la coagulación.

Incluye tres reacciones que representan cada una un paso limitante de la velocidad clave en la cascada.

#### 1.-La activación del factor X por los productos de las vías intrínseca y extrínseca.

Intrínseca: IXa, VIII, PF3, Ca++

↓

X-----Xa

↓

Extrínseca: VIIa, Factor tisular. Ca++

#### 2. Conversión de protrombina a trombina por el factor activado:

Xa, V, PF3, Ca++

↓

ProtrombinaII-----Trombina

#### 3. Degradación del fibrinógeno a Fibrina por la trombina.

Trombina

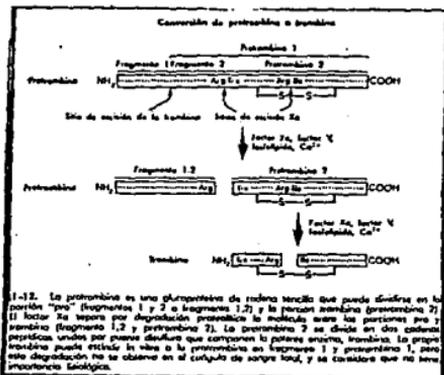
↓

Fibrinógeno-----Fibrina

El factor X es una glucoproteína de dos cadenas unidas por enlaces disulfuro. Se puede activar a través de dos vías: por el complejo derivado de la vía intrínseca factor IXa, factor VIII, fosfolípido y  $Ca^{++}$ , o por el complejo derivado de la vía extrínseca factor VIIa, factor tisular y  $Ca^{++}$ . La activación del factor X tiene lugar si ésta unido sólo a una superficie fosfolípídica por medio de puentes de calcio. El factor Xa forma un complejo con el factor V como cofactor, fosfolípido y  $Ca^{++}$ , para activación óptima de la protrombina. Este es el primer complejo de activación de la vía común.

El factor V es una glucoproteína de cadena única. Los gránulos plaquetarios contienen alrededor del 25 % del factor V total encontrado en la sangre. Puesto que el factor Va se requiere para la formación inicial de trombina, cantidades pequeñas del zimógeno del factor V se podrían activar por otro proactivador que no sea trombina, o es posible que el zimógeno V posea cierta actividad.

Fig. (17) Conversión de protrombina a trombina



Luego, la trombina degrada a su sustrato, fibrinógeno a la forma fibrina. El coágulo de fibrina insoluble se forma del fibrinógeno en tres pasos distintos:

1. Separación hidrolítica de enlaces arginina-glicina con liberación de los fibrinópeptidos A y B de las cadenas alfa y beta por la trombina, para formar el monómero de fibrina.
2. Producción espontánea de polímeros de fibrina a partir de los monómeros.
3. Estabilización de los polímeros por el factor XIIIa.

La trombina desprende por acción proteolítica a los fibrinópeptidos A y B de las cadenas alfa y beta del fibrinógeno. Esta molécula acortada por la trombina, se conoce como monómero de fibrina. Con la acción de la trombina, las cargas negativas alrededor del dominio central que hacen normalmente que moléculas individuales de fibrinógeno se repelen, se eliminan.

La reacción final en la formación del coágulo de fibrina es la estabilización del polímero de fibrina, catalizada por el factor XIII. Este factor se activa por la degradación de la trombina.

El factor XIIIa pertenece al grupo del fibrinógeno dependiente de calcio. El factor XIII se encuentra distribuido de manera uniforme entre el plasma y plaquetas.

En el plasma se compone de dos cadenas polipeptídicas diferentes, A y B, que se unen por enlaces no covalentes en una estructura tetramérica, A B En las plaquetas existen sólo las

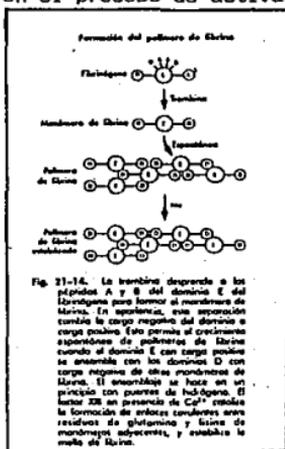
2 2.  
cadenas A en una forma dimérica, A

2

Existen pruebas de que el factor XIII plasmático se sintetiza en el hígado. (18) El factor XIII plaquetario lo hace por el megacariocito y se localiza en la fracción soluble no granular del citoplasma de la plaqueta.

El factor XIII se le atrapa en el coágulo de fibrina durante su formación o lo proporcionan las plaquetas. El cinógeno se activa por trombina y calcio, por partición proteolítica de las cadenas A. Las cadenas B se disocian en el proceso de activación.

Fig. (18) Formación de la fibrina.



### **Amplificación de la cascada**

La activación en secuencia de los factores de la coagulación en un sistema de cascada, junto con la activación por retroalimentación de algunos de los productos activados, como calicreína (factor XII activante) y trombina (Cofactor V y VIII activantes) y también la potenciación de la actividad enzimática por cofactores, conduce a una amplificación notable de las reacciones de la coagulación.

El proceso de amplificación necesita que la coagulación se confine al sitio de la lesión y regule por la formación de un coágulo de fibrina del tamaño justo para controlar el sangrado. Sin alguna forma de regulación, la coagulación podría diseminarse a todo el cuerpo.

### **Control fisiológico de la hemostasia**

El proceso dinámico de la generación de fibrina por los factores de la coagulación activantes, se limita normalmente al sitio del daño vascular. Aún con estimulación intensa de la coagulación, como ocurre en traumatismo masivo, la circulación sanguínea continúa en los no afectados. Los mecanismos fisiológicos encargados del control de la coagulación son: Circulación sanguínea, depuración hepática, inhibición por retroalimentación, inhibidores bioquímicos, disolución fibrinolítica de la fibrina.

## **II.5.- Recuento de plaquetas (13)**

Las plaquetas son los elementos formes más pequeños de la sangre, de 2 a 4  $\mu$  de diámetro en extensiones teñidas y de 4 a 7 fl de volumen. Actúan en la hemostasia y en el mantenimiento de la integridad vascular, además de participar en el proceso de la coagulación sanguínea.

Las plaquetas son difíciles de contar debido a que son pequeñas y deben distinguirse de los restos y desperdicios celulares.

Otra fuente de dificultad reside en su tendencia a adherirse al cristal, a cualquier cuerpo extraño y en particular unas a otras. A menudo es posible reconocer una reducción considerable en el número de plaquetas mediante una cuidadosa inspección de las extensiones teñidas. Con la sangre capilar, las extensiones deben ser uniformes y llevarse a cabo con gran rapidez.

### **II.5.1.- Conservación de plaquetas**

En la medida en que se han conocido mejor la estructura de la plaqueta y las condiciones que inducen a cambios en su morfología, viabilidad y función, se han desarrollado procedimientos de conservación y se han ido definiendo los parámetros que interfieren en el mantenimiento de las características vitales de las plaquetas durante su depósito.

En la conservación hay dos aspectos que deberán tomarse en cuenta:

-Sobrevida después de ser transfundida.

-La actividad hemostática, medida por su capacidad para acortar el tiempo de sangría en el paciente trombocitopénico.

Entre las variables que fueron demostradas que podrían afectar estas propiedades se encuentran:

1.- Temperatura de conservación.

2.- Técnica de concentración.

3.- pH, el número de plaquetas en el concentrado y el volumen de plasma residual.

4.- La necesidad de agitación.

5.- Centrifugación

6.- Anticagulantes utilizados para su conservación

1.- Temperatura de conservación.

1969 se demostró que la viabilidad de la plaqueta transfundida era mayor cuando éstas se conservaban a 22°C (PRP), con el desarrollo de técnicas para concentrarlas y la producción de bolsas de plástico de cloruro de polivinilo, los estudios demostraron que las plaquetas podrían ser conservadas satisfactoriamente a 22°C.

Dos trabajos compararon la supervivencia y el funcionamiento de las plaquetas conservadas de 1 a 6 °C y 20 a 24 °C estableciéndose definitivamente que:

- a) Los concentrados plaquetarios conservados a 22°C por 72 horas aumentaban el número de plaquetas y corregían el tiempo de sangría entre 1 - 1 1/2 horas después de su transfusión.
- b) Las plaquetas conservadas a 4°C por 72 horas no exhibían las propiedades anteriores pero conservadas solamente por 24 horas, sí eran efectivas.

Estudios han demostrado que el deterioro de las plaquetas conservadas a 4°C es probablemente el resultado de cambios en la morfología, que de su forma nativa discoidea se vuelven esféricas. Este cambio en la morfología han sido asociadas con la pérdida de los microtúbulos plaquetarios, alteración que conduce a una disminución de la sobrevivencia *in vivo*.

## 2.-Técnicas de conservación

La evaluación del método usado en la preparación de las plaquetas se mide por la cantidad de elementos presentes en el concentrado plaquetario y el mínimo daño que se les ha causado, inevitablemente en la técnica de recolección. Pero, es importante que cualquiera sea el método adoptado por el banco de sangre, es obligatorio asegurarse de que por lo menos el 75% de los

10

concentrados preparados contengan  $5,5 \times 10^{10}$  plaquetas, o más, al final del periodo de conservación. (13)

### 3.- pH

La viabilidad de la plaqueta transfundida al término de su periodo de conservación, depende de gran parte del mantenimiento de su pH en o superior a 6.0. Se ha comprobado que con un pH de 6.0 las plaquetas adoptan la forma esférica, mostrando una marcada reducción de su sobrevivencia.

El mantenimiento del pH depende de ciertas variables que están relacionadas entre sí con:

- El plástico usado de la bolsa para la conservación de la plaqueta
- El número de plaquetas
- El volumen de plasma residual
- El anticoagulante usado en la recolección.

Las plaquetas conservadas a 22°C son metabólicamente activas y tienden a producir ácido láctico como producto final de la glicólisis anaeróbica. Si el plástico empleado en la fabricación de la bolsa es permeable y permite la difusión del oxígeno del medio ambiente, la presión de oxígeno dentro del concentrado estará elevada, la glicólisis anaeróbica será deprimida y la producción de ácido láctico (responsable de la disminución del pH) detenida, igualmente, si el plástico permite la salida del CO<sub>2</sub> generando durante el depósito, la caída del pH podría ser retardada. De igual forma, el tamaño de las etiquetas y la ventilación de la unidad de plaquetas influirán en el intercambio de gases y por ende en el pH del concentrado y la viabilidad plaquetaria.

Las bolsas usadas han de ser de cloruro de polivinilo con capacidad de 300 ml. Los concentrados plaquetarios han observado una caída del pH de 7.2 hasta 5.5 al final de las 72 horas de depósito, razón por la cual, no se recomienda el uso de las plaquetas conservadas más allá de este lapso.

En varios estudios se ha determinado que si el número de plaquetas en el concentrado es mayor  $1.6 \times 10^6$  microlitros de plasma, la oxigenación es inadecuada y el pH cae marcadamente por debajo de 6.0 a las 72 horas, aun cuando su volumen de plasma sea de 50 ml. (13) También se ha señalado que el pH puede variar por la presencia de:

- Subpoblación de plaquetas que tienen la tendencia a producir mayor cantidad de ácido láctico.
- Por la actividad metabólica de los globulos blancos que contaminan el concentrado plaquetario.
- Por los diferentes grados de activación de las plaquetas durante el proceso de preparación y depósito.

#### 4.- Necesidad de agitación.

Los concentrados plaquetarios conservados a temperatura ambiente requiere ser agitados continuamente para prevenir deterioro plaquetario. Este requerimiento está basado en una serie de estudios en los cuales las plaquetas fueron conservadas con y sin agitación, evaluando su sobrevivencia, función hemostática y alteraciones morfológicas.

Se ha señalado que la agitación favorece el intercambio gaseoso y ello contribuye a mantener un pH adecuado, preservándose en esta forma la función y sobrevivencia de la plaqueta. La agitación puede afectar las propiedades de las plaquetas, de las tres formas de agitación:

- Horizontal
- Vertical
- Elíptica

Algunos autores han obtenido mejores resultados con los dos primeros, mientras que con la rotación elíptica se han encontrado niveles elevados de dehidrogenasa láctica y B-tromboglobulina, estos parámetros son indicadores de daño celular pues ambas sustancias se encuentran en el citoplasma. También se encontró que el pH en la rotación elíptica fué muy alcalino (pH 7.6) posiblemente debido a que este tipo de agitación permite una mayor salida de CO<sub>2</sub>.

2

En un estudio reciente se demostró que no había necesidad de agitar las plaquetas si se empleaba bolsas plásticas de 2000 ml para preparar el concentrado plaquetario dejando un volumen de 50 ml los concentrados fueron dejados en reposo, sobre una superficie plana, se observó que la morfología plaquetaria y el pH se mantuvieron en condiciones adecuadas y el análisis de los resultados permitió a los autores concluir en que no era necesaria la agitación para el adecuado transporte de gases sí:

- a) El concentrado plaquetario era distribuido de manera uniforme en el interior de la bolsa, formando una delgada capa.
- b) Qué el plástico empleado en la fabricación de la bolsa permitiera un fácil intercambio de gases.

En resumen, de acuerdo a las experiencias publicadas, el modo de agitación es importante, pero se requiere de más investigación al respecto para definir mejor la forma de agitación para conocer como influye en la conservación de las plaquetas.(13)

#### 5.- Centrifugación

Una centrifuga es una máquina que utiliza la fuerza centrífuga para separar fases de diferentes gradientes. La centrifuga tiene múltiples aplicaciones específicas en el laboratorio clínico. Uno de los usos más frecuentes de importancia primordial consisten en la elaboración de la sangre para obtener fracciones de plasma o de sus componentes en el suero.

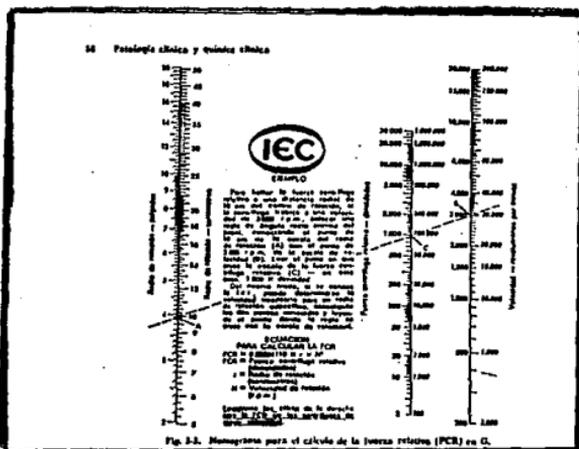
Las condiciones para la centrifugación debe especificar el tiempo y la fuerza centrífuga. Al seleccionar una centrifuga, debe fijarse en la fuerza centrífuga más elevada posible y no dejarse desorientar por una velocidad de rotación alta.

Cuando se conoce el radio(r), el cálculo de la fuerza centrífuga relativa (G) puede hacerse utilizando un nomograma (Fig.19) o la siguiente fórmula:

$$FCR = 1,118 \times 10^{-5} \times r \times (\text{rpm})^2$$

en la cual:

- FCR es la fuerza centrífuga relativa en unidades G, es decir, múltiplos de la fuerza de gravedad,
- $1,118 \times 10^{-5}$  es una constante
- r es el radio expresado en centímetro entre el eje de rotación el centro del tubo de centrifuga
- rpm es la velocidad en revoluciones / min.



#### a) Equipo

Existe una amplia variedad de centrifugas y accesorios para satisfacer las demandas específicas del laboratorio clínico. Las centrifugas generales de laboratorio de sobremesa desarrollan fuerzas de hasta 3.000 G, según el tipo de rotor utilizado. Los rotores angulares son de alta velocidad y van provistos de orificios practicados en ellos que mantienen los tubos a un ángulo fijo. Los rotores horizontales permiten que los tubos vasculen pasando de una posición vertical a una horizontal durante el proceso de centrifugación. Generalmente cuanto menor es el número de huecos, mayor es el volumen o capacidad de cada orificio. Las centrifugas refrigeradas son no pòrtatiles, muy duras y capaces de generar fuerzas de hasta 50,000 G si se utilizan rotores angulares. Estas centrifugas se usan en el banco de sangre y en los laboratorios de radioinmunoensayo.

#### b) Calibración de la centrifuga

Para cada procedimiento que exige una operación de centrifugación debe existir una especificación escrita en el manual de procedimientos. Es importante definir qué tipo de centrifuga hay que utilizar, a qué temperatura, qué fuerza G se necesitan y la duración del tiempo de centrifugación. Para calcular las fuerzas G hay que conocer:

- El valor de rpm
- El valor del radio del cabezal

Por todo esto es preciso que una centrifuga esté calibrada. Hamlin (1974) realizó una excelente revisión de la función, verificación y ajustes que hay que realizar en la centrifuga.

Para ello, ésta debe disponer de un tacómetro incorporado o de un medidor en su reóstato. Si no es así, sólo puede calibrarse a velocidad máxima y es muy importante calibrar el instrumento cada vez en condiciones tan iguales como sea posible. Para ello utilícese el mismo rotor cargado con el mismo número de tubos vacíos. Cualquier variación significativa indicará efectos de deterioro, tales como el desgaste de las escobillas, problemas incipientes de cojines o un tacómetro defectuoso. La centrifuga debe estar nivelada, lo cuál se hace con nivel de gota.

Una vez calibrada la centrifuga el tiempo entre la captación y la preparación de las plaquetas debe ser el más corto posible (aproximadamente 5 horas). Las unidades de sangre normales

11

contienen aproximadamente  $1.1 \times 10^{11}$  plaquetas (basado en un conteo de plaquetas de 250,000  $\mu$ l y un volumen de sangre de 450 ml estas plaquetas tienen una gravedad específica de 1.03-1.04. (21,22)

El control de calidad de la preparación de plaquetas estará dentro de los límites con un número mínimo de globulos rojos. (21)

## 6.- Anticuaugulantes utilizados para su conservación

Los cuatro anticuaugulantes más usados son: una mezcla de oxalato amónico y potásico, citrato trisódico, sales disódicas o dipotásicas de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) y heparina.

Los tres primeros impiden la coagulación sustrayendo calcio del plasma sanguíneo por precipitación o fijación en forma no ionizada. La heparina actúa formando un complejo con antitrombina III plasmática, que neutraliza la trombina y otras fases de la activación de los factores de la coagulación. Las mezclas de oxalato amónico resultan inadecuada para el recuento plaquetario porque permite la formación de agregados plaquetarios.

El EDTA se emplea en una concentración de 1 a 2 mg/ml de sangre y es tal vez el anticuaugulante más usado para el recuento de células sanguíneas. Es equiparable al oxalato para el estudio del hematócrito y para estudios morfológicos lo supera, ya que impide la formación de artefactos incluso después de un reposo prolongado.

Se consiguen extensiones aceptables aun cuando han pasado 2 ó 3 horas y hasta 24 horas si la sangre es refrigerada. Evita la formación de agregados plaquetarios y es el mejor anticuaugulante para el recuento de plaquetas.

La heparina, a razón de 0,1 a 0,2 mg/ml de sangre, no afecta el tamaño corpuscular ni el hematócrito. Es el mejor anticoagulante para prevenir la hemólisis. No resulta satisfactoria para recuentos de leucocitos o cuando han de prepararse extensiones de sangre, porque en este segundo caso produce un fondo azul en las preparaciones teñidas,

## 2.1.- Causas de error

Aun con el mejor anticoagulante, EDTA, se producen cambios que pueden inducir a error, si no se adoptan las medidas de precaución adecuadas.

Las extensiones de sangre deben prepararse inmediatamente, si en el plazo de 2 a 3 horas no pueden llevarse a cabo otras determinaciones, la sangre debe refrigerarse a 4°C. Si la sangre se mantiene a temperatura ambiente, a veces entre las 6 y 24 horas la hinchazón de los eritrocitos eleva el hematócrito y el volumen corpuscular medio (VCM) y disminuye la concentración corpuscular media de la hemoglobina y la velocidad de sedimentación de los eritrocitos.

Sin embargo durante 24 horas, el recuento leucocitario, el recuento eritrocítico, la hemoglobina, hematócrito y el índice eritrocitario no se modifican, si la sangre se ha almacenado a 4°C y se ha mantenido incoagulable con EDTA, en estas condiciones, esto también es válido para el recuento reticulocitario y de plaquetas.

### III.- MATERIAL Y METODO

#### III.1 MATERIAL

- Vasos de precipitado de 5,10 ml
- Pipeta "Thomas" para globulos rojos (dil. 1:200)
- Pipetas volumetricas de 5 ml
- Pipeta Pasteur
- Embudo de pata larga
- Frascos ambar
- Tubos de ensayo de 12 x75 mm
- Cámara de Neubauer
- Cubrecámara de No. 1
- Cámara húmeda
- Gasas
- Ligadura con boquilla
- Gradilla
- Papel parafilm
- Papel filtro

#### a) Equipo

- Microscópio con objetivos 10x y 40x
- Agitador de pipetas electrónico
- Peachímetro
- Balanza granataria
- Refrigerador a 4°C

**b) Reactivos**

**Método de Brecher y Cronkite (Directo)**

- Oxalato de Amonio 1%
- Guardar a 4°C en frasco ambar. (Filtrarlo con frecuencia)

**- Método de Rees-Ecker (directo)**

- |                            |        |
|----------------------------|--------|
| - Citrato de sodio 2H O    | 3.8 g  |
| 2                          |        |
| - Formol (40% p/v)         | 0.2 ml |
| - Azul de cresil brillante | 0.1 g  |
| - Agua destilada c.s.p.    | 100 ml |

Filtrar antes de usar

- Solución amortiguadora "buffer" pH 4
- Solución amortiguadora "Buffer" pH 7

### III.2 METODOS

La separación aséptica de los componentes celulares de la sangre y del plasma ha sido facilitada por la introducción de sistemas cerrados de plástico en las técnicas de extracción, las cuales permiten la separación de componentes en un sistema cerrado, evitando así las posibles contaminaciones bacterianas.

Los hematíes y las plaquetas se aíslan de la sangre total mediante centrifugación suave. El plasma residual puede utilizarse directamente o bien ser fraccionado nuevamente para obtener otros componentes tales como plasma rico en plaquetas (PRP). A partir del plasma rico en plaquetas (PRP), se obtienen el concentrado plaquetario (CP) mediante una segunda centrifugación, dejando el sedimento de plaquetas en suspensión, en un volumen de 30 a 50 ml de plasma.

#### a) Método de preparación del concentrado plaquetario.

-Se inicia el método de separación para obtener el concentrado plaquetario (CP) con un máximo de 5 horas de haber sido donado.

-En una balanza granataria de dos platillos se procede a nivelar las unidades de sangre total.

-Se centrifuga en la máquina de centrifugado CRU-5000 IEC, durante 10 minutos a 2000 rpm a temperatura de 22°C

-Transferir el plasma sobrenadante a una de las bolsas satélite [esto es (PRP)], quedando otra bolsa satélite. Estas bolsas se separan de la bolsa madre (conteniendo ésta los hematíes).

-Una vez obtenido el (PRP) se colocan las bolsas en los vasos de la centrífuga, previamente nivelados, y se centrifugan a 3100 rpm durante 7 minutos a temperatura de 22°C.

-Con la ayuda del extractor de plasma, pasar el sobrenadante a la segunda bolsa satélite dejando en la primera el concentrado plaquetario con un volumen de 30 a 50 ml de plasma.

-Se sellan las entradas para evitar contaminaciones bacterianas.

-Se identifican las unidades biológicas con el número del donador nombre, grupo (ABO) y Rh, fecha de extracción y las iniciales del técnico que fraccionó.

-Se conservan:

- a) En refrigeración a 4°C
- b) Estáticos
- c) Con un tiempo de vida hasta las 72 horas

El estudio del recuento de plaquetas se da inicio inmediatamente, homogenizando las unidades biológicas y llevando a cabo :

**1) Equipo del recuento de plaquetas**

Se emplea una cámara de recuento de fondo plano, (Cámara de Neubauer) un cubrecámara del No. 1. Condensador de fase de "larga distancia" con un objetivo de fase de 40x y un ocular de 10 x. un "contraste en medio oscuro".

**2) Solución Diluyente (1)**

Solución de Oxalato de Amonio al 1% en agua destilada y el Método de Rees-Ecker se almacenarán en frascos ambar en el refrigerador. La cantidad necesaria para cada día se filtrará antes de su utilización, y la parte no empleada al final del día se desechará.

**b) Método de recuento de plaquetas**

1.- Se recomienda el concentrado plaquetario (CP) con EDTA como anticuagulante. Antes de la dilución, puede mezclarse por completo

2.- Pesar el concentrado plaquetario en la balanza grañataria

3.- En un tubo de ensayo colocar de 5 a 10 ml aproximadamente del diluyente filtrado de (Oxalato de Amonio con 2 ó 3 gotas del reactivo de Rees-Ecker, hasta una coloración azul media)

4.- La punta de la pipeta se coloca debajo de la superficie del (CP) que entonces se aspira rápidamente hasta la marca de 0,5 de la pipeta para eritrocitos. No deben existir burbujas de aire en la columna. Si se ha extraído demasiado (CP) debe limpiarse la pipeta y se repetirá la maniobra, ya que, aunque se retire, puede permanecer suficiente cantidad de plaquetas adheridas en el interior de la pipeta para inducir un error notable. En esta parte del método es importante el mayor cuidado de la técnica, a causa de que cualquier error se aumenta por la dilución siguiente.

5.- El (CP) adherido a la punta se secará rápidamente, la punta se sumerge en el líquido diluyente y éste se aspira hasta la marca de 101, mientras se imprime un movimiento de rotación a la pipeta. Es mejor sostener la pipeta casi horizontal con objeto de evitar la aspiración de burbujas de aire en la ampolla. En esta fase, la muestra de (CP) se ha diluido de 1 a 200.

6.- Los extremos de la pipeta se sellan con plastifilm, y se agita (agitador eléctrico) la pipeta por 3 a 5 minutos aproximadamente, la bolita situada en el bulbo de la pipeta debe moverse libremente. La agitación se efectuará en un ángulo de 90° respecto al eje longitudinal de la pipeta.

7.- Se ajusta el cubreobjeto sobre la cámara de Neubauer.

# ESTA TESIS NO DEBE SALIR DE LA BIBLIOTECA

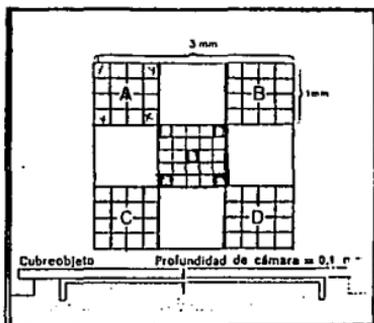
8.- Se expulsan soplando las 10 primeras gotas de la pipeta para eliminar el líquido sin células. La pipeta se sostiene en un ángulo de unos 35°, mientras la punta se sitúa en el ángulo entre el borde del cubrecámara y uno de los extremos salientes de la pieza base. El líquido se extenderá por debajo del cubrecámara por atracción capilar. Se deja que el líquido penetre de forma controlada. Debe tenerse cuidado de que sólo penetre la cantidad suficiente del líquido para llenar la cámara existente de bajo del cubrecámara.

Las características de una cámara de recuento llenada en forma adecuada, son que el líquido llene por completo el espacio situado debajo de la cubrecámara, que ninguna porción del líquido se haya deslizado al foso y que no existan burbujas. Si no se cumple alguna de estas condiciones, el recuento puede carecer de garantía y la cámara debe limpiarse, secarse y recargarse.

9.- Se dejará que las células que se encuentran en la cámara de Neubauer reposen durante 20 minutos aproximadamente en una cámara húmeda (la cuál contiene gasas ó papel filtro humedecido en la parte interna de la misma) a temperatura ambiente. Se examinará ambas cámaras con un objetivo de bajo aumento para comprobar que las células se hayan distribuido uniformemente.

10.-Se procede al recuento de las plaquetas. Con el microscopio de contraste de fases con el objetivo 40x, esto se utiliza hasta la localización del primer cuadro con sus 16 cuadros pequeños, para dar inicio al recuento.

11.-Contando 5 cuadros,cada uno con 16 cuadros pequeños, se toma la regla siguiente: para evitar confusiones, en los recuentos celulares que bordean los límites:(35) (Fig.20)



Las plaquetas como los ( eritrocitos) que se ponen en contacto con cualquiera de las líneas de la izquierda y los límites superiores de los cuadros pequeños deben contarse como si estuvieran dentro de los cuadros, pero los que hacen contacto con alguna de las líneas situadas sobre los bordes derechos y del fondo de los cuadros pequeños no deben contarse. De esta forma se evita contar la misma célula dos veces. Las células se cuentan en cada uno de los cuadros pequeños, primero de izquierda aderecha, empezando por la parte superior de cuatro cuadros pequeños y luego de derecha a izquierda para la próxima hilera y así sucesivamente. El número de células para cada uno de los cinco grupos de 16 cuadros se registra por separado y se suman los resultados.

c) **Medición del volumen**

Con la fórmula:  $V = m/d$

en donde: V es el volumen

m es la masa

d es la densidad

Esta medición se realiza antes de iniciar con el método de Recuento de plaquetas. Una vez que se obtuvo el valor del peso del concentrado plaquetario (CP) total (es decir la diferencia de los pesos de las bolsas satélite), y que sustituyendo en la fórmula de volumen éste dato será: m

d es la densidad del concentrado plaquetario y esta considerado por los bancos de sangre como un valor constante.

d) **Medición del pH**

Al iniciar con el método de recuento de plaquetas se toma una alícuota 2 ml aproximadamente en un vaso de precipitado.

El pHímetro automático se encenderá, se procede a calibrarlo. el electródo se sumerge en agua destilada, se extrae y se seca cuidadosamente con una gasa, para enseguida sumergirlo inicialmente en el buffer con un pH 4 se espera que la lectura nos indique dicho pH, inmediatamente después se extrae, y se sumerge nuevamente en agua destilada procediendo de igual manera, pero ahora sumergiendolo en un buffer con un pH 7.

Una vez calibrado el aparato, se lava cuidadosamente el electródo se seca perfectamente bien con una gasa y se procede a la lectura del concentrado plaquetario. Este dato se registra.

e) Cálculos

1.- Se inician los cálculos proporcionado el peso del valor (constante) de la bolsa satélite vacía.

-----  
Peso de la bolsa satélite (vacía) es de 24.42 gramos  
-----

2.- Para obtener el valor del concentrado plaquetario tenemos:

Peso de la bolsa vacía - Peso de la bolsa llena = Peso del  
(CP) total

3.- Cálculo para el Rendimiento Real de los concentrados plaquetarios: Se obtiene el número de células para cada uno de los cinco grupos de los 16 cuadrados, se registran por separa y se suman los resultados.

$a+b+c+d+e = \text{suma de plaquetas}$

4.- La suma de plaquetas en un quinto de este volumen tenemos:  
(suma de plaquetas) ( 5 cuadros) = Suma total de plaquetas

5.-La disolución en la pipeta de Thomas es de 1 a 200 microlitros. En la cámara de Neubauer la disolución está bajo un volumen de 1/10 microlitros. en base a esto, se obtiene lo siguiente:

$$1/5 \times 1/10 \times 1/200 \text{ microlitros} = 1/10,000 \text{ microlitros}$$

esto significa que:

Suma total de plaquetas x 10,000 microlitos = Plaquetas x microlitro  
totales

lo cuál por convención se expresan en mililitros (ml) tenemos que:  
 1 ml = 1000 microlitro

(Plaquetas/microlitro)(1000 microlitro/1 mililitro) = Plaquetas/ml  
totales

Con la anterior información se establece lo siguiente:

FORMULA GENERAL PARA OBTENER EL RENDIMIENTO DE LOS CONCENTRADOS  
 PLAQUETARIOS

Plaquetas x ml	x	Peso del (CP)	
totales		total(g)	Rendimiento Real del Con-
			centrado plaquetario
1.03 (gravedad específica de la plaqueta)			(g/ml)

La población en estudio es:

-50 Concentrados plaquetarios, los cuales son elaborados en el área de Banco de Sangre del Hospital Regional 20 de Noviembre del ISSSTE. Las unidades biológicas son tomadas al azar, únicamente del turno Matutino.

Por estipulación previa al estudio, ésta Institución estableció un periodo no mayor de 6 meses al trabajo de investigación. Asimismo, y de acuerdo con los resultados obtenidos los rendimientos reales de los concentrados plaquetarios elaborados en dicha Institución, se comportarán de la siguiente manera:

a) Al inicio, los rendimientos reales de los (CP) se encuentran en un porcentaje de 90%, es decir, de los 50 (CP) en estudio 45<sup>10</sup> están dentro de los límites de aceptación (un mínimo de  $5.5 \times 10^{11}$  y con un máximo de  $1.1 \times 10^{11}$  ).

b) A las 24 horas los rendimientos reales de los (CP) se encuentran en un porcentaje de 68%, es decir, de los 50 (CP) en estudio 34 están dentro de los límites.

c) Así los de 48 horas sus rendimientos reales de los (CP) se encuentran en un 58 %, de los 50 (CP) en estudio 29 están dentro de los límites

d) Y por último los de 72 horas su rendimiento real de (CP) fué de un porcentaje de 48 %, es decir de los 50(CP) en estudio 21 unidades biológicas estan dentro de los límites.

En cuanto a su comportamiento de la medición de Volumen se encontró un promedio de: 56.78 ml, siendo la norma establecida del (CP) un volumen de 30 a 50 ml aproximadamente.

El valor obtenido en relación a la Medición de pH este obtuvo los siguientes resultados:

- a) pH inicial con un valor promedio de 7.53
- b) pH a las 24 horas con un valor promedio de 5.55
- c) pH a las 48 horas con un valor promedio de 7.33
- d) pH a las 72 horas con un valor promedio de 7.30

Promedio General = 6.9325

de pH

Con la normatividad de pH establecida de los (CP) mayor o igual a 6.

CUADRO No. 1

Relación de datos para obtener el valor CONSTANTE del peso de la bolsa vacía.

1.-	24.44	a
2.-	24.42	
3.-	24.43	
4.-	24.44	
5.-	24.43	-
6.-	24.40	X= 24.420 valor constante
7.-	24.40	
8.-	24.44	
9.-	24.44	
10.-	24.40	
	-----	
	24.420	

Relación de pesos del concentrado plaquetario total expresado en gramos.

Donador	Peso de la bolsa llena	Peso de la bolsa vacía	Peso total (CP)
1	91.99 g	24.42 g	67.57 g
2	80.55	24.42	56.43
3	89.03		64.61
4	94.14		69.72
5	76.34		51.92
6	98.44		74.02
7	112.60		88.20
8	102.89		78.47
9	102.95		78.53
10	104.34		84.94
11	98.97		75.57
12	110.47		86.07
13	100.67		76.27
14	94.99		70.59
15	100.11		75.69
16	99.99		75.57
17	114.31		89.91
18	93.11		68.71
19	78.66		54.26
20	79.52		55.1
21	78.95		54.5
22	74.55		50.13
23	77.81		53.39
24	86.19		61.77
25	70.43		46.01

Relación de pesos del concentrado plaquetario total expresado en gramos.

Donador	Peso de la bolsa llena	Peso de la bolsa vacía	Peso total (CP)
26	71.56	24.42 g	47.14
27	76.39		51.97
28	77.81		53.39
29	75.02		51.40
30	80.65		56.23
31	64.46		40.06
32	51.97		27.55
33	67.87		43.45
34	71.0		46.58
35	56.23		31.81
36	79.23		54.81
37	94.28		69.86
38	79.23		54.81
39	71.85		47.43
40	77.81		53.39
41	67.30		42.88
42	79.66		55.24
43	75.68		51.26
44	66.03		41.61
45	72.27		47.85
46	76.82		52.40
47	85.91		61.49
48	68.58		44.16
49	67.74		43.31
50	71.14		46.72

Rendimiento real de los concentrados plaquetarios al Inicio

Donador	Suma total de plaquetas	Rendimiento de Inicial
1	1050	1.37x10 <sup>11</sup>
2	1425	1.56x10 <sup>11</sup>
3	565	7.33x10 <sup>10</sup>
4	630	8.79x10 <sup>10</sup>
5	515	5.19x10 <sup>10</sup>
6	410	5.89x10 <sup>10</sup>
7	370	6.33x10 <sup>10</sup>
8	545	8.30x10 <sup>10</sup>
9	940	1.43x10 <sup>11</sup>
10	735	1.21x10 <sup>11</sup>
11	475	6.97x10 <sup>10</sup>
12	850	1.42x10 <sup>11</sup>
13	930	1.37x10 <sup>11</sup>
14	925	1.26x10 <sup>11</sup>
15	690	1.01x10 <sup>11</sup>
16	925	1.35x10 <sup>11</sup>
17	860	1.50x10 <sup>11</sup>

Rendimiento real de los concentrados plaquetarios al Inicio

Donador	Suma total de plaquetas	Rendimiento Inicial
		10
18	460	6.14x10
		10
19	750	7.90x10
		10
20	780	8.34x10
		10
21	605	6.40x10
		10
22	575	5.59x10
		10
23	300	3.11x10
		10
24	600	7.19x10
		10
25	840	7.50x10
		10
26	595	5.44x10
		10
27	635	6.40x10
		10
28	760	7.86x10
		11
29	1005	1.00x10
		10
30	730	7.97x10
		10
31	565	4.39x10
		10
32	1070	5.72x10
		10
33	260	2.19x10
		10
34	545	4.92x10

Rendimiento real de los concentrados plaquetarios al Inicio

Donador	Suma total de plaquetas	Rendimiento Inicial
35	820	5.72x10 <sup>10</sup>
36	680	7.23x10 <sup>10</sup>
37	325	3.40x10 <sup>10</sup>
38	475	5.05x10 <sup>10</sup>
39	700	6.44x10 <sup>10</sup>
40	865	8.96x10 <sup>10</sup>
41	620	5.10x10 <sup>10</sup>
42	390	4.18x10 <sup>10</sup>
43	300	2.98x10 <sup>10</sup>
44	755	6.10x10 <sup>10</sup>
45	690	6.41x10 <sup>10</sup>
46	865	8.80x10 <sup>10</sup>
47	950	1.13x10 <sup>11</sup>
48	695	5.95x10 <sup>10</sup>
49	790	6.64x10 <sup>10</sup>
50	730	6.62x10 <sup>10</sup>

CUADRO No. 4

rendimiento real de los concentrados plaquetarios a las 24 horas.

Donador	Suma Total de plaquetas	Rendimiento a las 24 horas
1	1025	1.34x10 <sup>11</sup>
2	1395	1.52x10 <sup>11</sup>
3	450	5.62x10 <sup>10</sup>
4	630	8.52x10 <sup>10</sup>
5	495	4.99x10 <sup>10</sup>
6	405	5.82x10 <sup>10</sup>
7	355	6.07x10 <sup>10</sup>
8	525	7.99x10 <sup>10</sup>
9	880	1.34x10 <sup>11</sup>
10	625	1.03x10 <sup>11</sup>
11	460	6.74x10 <sup>10</sup>
12	825	1.37x10 <sup>11</sup>
13	835	1.23x10 <sup>11</sup>
14	810	1.11x10 <sup>11</sup>
15	590	8.67x10 <sup>10</sup>
16	810	1.18x10 <sup>11</sup>
17	785	1.30x10 <sup>11</sup>

CUADRO No. 4.1.

Rendimiento real de los concentrados plaquetarios a las 24 horas.

Donador	Suma total de plaquetas	Rendimiento a las 24 horas
		10
18	455	6.07x10
		10
19	720	7.58x10
		10
20	645	6.90x10
		10
21	450	4.76x10
		10
22	510	4.96x10
		10
23	250	2.59x10
		10
24	585	7.01x10
		10
25	800	7.14x10
		10
26	380	3.47x10
		10
27	355	3.58x10
		10
28	740	7.67x10
		10
29	520	5.18x10
		10
30	430	4.69x10
		10
31	420	3.26x10
		10
32	1015	5.42x10
		10
33	195	1.50x10
		10
34	480	4.34x10

Rendimiento real de los concentrados plaquetarios a las 24 horas.

Donador	Suma total de plaquetas	Rendimiento a las 24 horas
35	665	4.10x10 <sup>10</sup>
36	495	5.26x10 <sup>10</sup>
37	280	3.79x10 <sup>10</sup>
38	380	4.04x10 <sup>10</sup>
39	439	4.00x10 <sup>10</sup>
40	710	7.36x10 <sup>10</sup>
41	565	4.70x10 <sup>10</sup>
42	260	2.78x10 <sup>10</sup>
43	270	2.68x10 <sup>10</sup>
44	725	5.85x10 <sup>10</sup>
45	490	4.55x10 <sup>10</sup>
46	655	6.66x10 <sup>10</sup>
47	805	9.60x10 <sup>10</sup>
48	680	5.83x10 <sup>10</sup>
49	740	6.22x10 <sup>10</sup>
50	665	6.03x10 <sup>10</sup>

Rendimiento real de los concentrados plaquetarios a las 48 horas.

Donador	Suma total de plaquetas	Rendimiento a las 48 horas
1	1110	1.29x10 <sup>11</sup>
2	1270	1.39x10 <sup>11</sup>
3	410	5.14x10 <sup>10</sup>
4	500	6.76x10 <sup>10</sup>
5	460	4.63x10 <sup>10</sup>
6	385	5.53x10 <sup>10</sup>
7	350	5.99x10 <sup>10</sup>
8	510	7.77x10 <sup>10</sup>
9	730	1.11x10 <sup>11</sup>
10	620	1.02x10 <sup>11</sup>
11	445	6.52x10 <sup>10</sup>
12	795	1.32x10 <sup>11</sup>
13	605	8.95x10 <sup>10</sup>
14	685	9.38x10 <sup>10</sup>
15	535	7.86x10 <sup>10</sup>
16	760	1.11x10 <sup>11</sup>
17	500	8.72x10 <sup>10</sup>

CUADRO No. 5.1

Rendimiento real de los concentrados plaquetarios a las 48 horas.

Donador	Suma total de plaquetas	Rendimiento a las 48 horas
		10
18	410	5.47x10
		10
19	390	4.10x10
		10
20	545	5.83x10
		10
21	405	4.29x10
		10
22	500	4.86x10
		10
23	230	2.38x10
		10
24	530	6.35x10
		10
25	640	5.71x10
		10
26	365	3.34x10
		10
27	295	2.97x10
		10
28	585	6.06x10
		10
29	385	3.89x10
		10
30	415	4.53x10
		10
31	370	2.87x10
		10
32	815	4.35x10
		10
33	135	1.13x10
		10
34	360	3.25x10

CUADRO No. 5.2.

Rendimiento real de los concentrados plaquetarios a las 48 horas.

Donador	Suma total de plaquetas	Rendimiento a las 48 horas
		10
35	495	3.05x10
		10
36	440	4.68x10
		10
37	265	3.59x10
		10
38	340	3.60x10
		10
39	255	2.34x10
		10
40	665	6.86x10
		10
41	445	3.70x10
		10
42	250	2.68x10
		10
43	265	2.63x10
		10
44	700	5.65x10
		10
45	335	3.11x10
		10
46	470	4.78x10
		10
47	780	9.30x10
		10
48	666	5.71x10
		10
49	695	5.84x10
		10
50	530	4.80x10

CUADRO No. 6

Rendimiento real de los concentrados plaquetarios a las 72 horas.

Donador	Suma total de plaquetas	Rendimiento a las 72 horas
1	965	11 1.26x10
2	1242	11 1.36x10
3	365	10 4.54x10
4	465	10 6.29x10
5	445	10 4.48x10
6	360	10 5.17x10
7	240	10 4.11x10
8	415	10 6.32x10
9	680	11 1.03x10
10	610	11 1.00x10
11	425	10 6.23x10
12	445	10 7.43x10
13	505	10 7.47x10
14	510	10 6.99x10
15	435	10 6.39x10
16	495	10 7.26x10
17	500	10 8.72x10

Rendimiento real de los concentrados plaquetarios a las 72 horas.

Donador	Suma total de plaquetas	Rendimiento a las 72 horas
		10
18	395	5.27x10
		10
19	340	3.58x10
		10
20	400	4.27x10
		10
21	240	2.53x10
		10
22	400	3.89x10
		10
23	225	2.33x10
		10
24	420	5.03x10
		10
25	395	3.52x10
		10
26	240	2.19x10
		10
27	280	2.82x10
		10
28	440	4.56x10
		10
29	340	3.39x10
		10
30	315	3.43x10
		10
31	290	2.55x10
		10
32	680	3.63x10
		10
33	125	1.05x10
		10
34	265	2.39x10

CUADRO NO. 6.2.

Rendimiento real de los concentrados plaquetarios a las 72 horas.

Donador	Suma total de plaquetas	Rendimiento a las 72 horas
35	415	2.56x10 <sup>10</sup>
36	395	4.20x10 <sup>10</sup>
37	220	2.94x10 <sup>10</sup>
38	295	3.13x10 <sup>10</sup>
39	250	2.30x10 <sup>10</sup>
40	465	4.82x10 <sup>10</sup>
41	425	3.53x10 <sup>10</sup>
42	225	2.41x10 <sup>10</sup>
43	240	2.38x10 <sup>10</sup>
44	415	3.35x10 <sup>10</sup>
45	220	2.04x10 <sup>10</sup>
46	465	4.73x10 <sup>10</sup>
47	665	6.98x10 <sup>10</sup>
48	550	4.11x10 <sup>10</sup>
49	550	4.62x10 <sup>10</sup>
50	505	4.58x10 <sup>10</sup>

Resultados de la medición de pH y del Volumen de los concentrados plaquetarios.

Donador	inicio	24 horas	48 horas	72 horas	Volumen
1	7.62	7.40	7.92	7.95	65.60 ml
2	7.50	7.68	7.47	7.24	54.78
3	7.78	8.37	8.62	8.49	62.72
4	7.69	8.11	7.40	7.16	67.68
5	7.74	8.03	7.66	7.62	50.40
6	7.88	8.00	7.73	7.77	71.86
7	7.79	7.69	7.86	7.78	85.60
8	7.68	7.74	7.65	7.43	76.18
9	7.69	7.63	7.71	7.45	76.24
10	7.48	7.69	7.71	7.35	82.46
11	7.26	7.40	7.55	7.45	73.36
12	7.20	7.54	7.49	7.35	83.56
13	7.27	7.46	7.52	7.54	74.04
14	7.22	7.40	7.41	7.37	68.53
15	7.20	7.13	6.98	7.37	73.48
16	7.10	7.02	7.23	7.36	73.36
17	7.20	7.17	7.16	7.40	87.29
18	7.83	7.50	7.35	7.25	66.74
19	7.67	7.48	7.33	7.25	52.68
20	7.47	7.31	7.25	7.48	53.49
21	7.44	7.32	7.23	7.53	52.91
22	7.34	7.23	7.19	7.09	48.66
23	7.34	7.12	7.37	7.38	51.83

CUADRO NO. 7.1.

Resultados de la medición de pH y del Volumen de los Concentrados plaquetarios.

Donador	Inicio	24 horas	48 horas	72 horas	Volumen
24	7.39	6.92	7.12	7.14	59.97 ml
25	6.76	7.19	7.35	7.09	44.66
26	6.83	7.05	7.13	6.76	45.77
27	6.90	7.29	7.50	7.17	50.46
28	7.22	7.15	6.97	7.06	51.83
29	7.28	7.07	6.92	7.04	49.90
30	7.24	7.33	7.13	7.33	54.59
31	7.18	7.13	7.27	7.35	38.89
32	7.47	7.47	7.51	7.48	26.74
33	7.42	7.68	7.37	7.58	42.18
34	7.25	7.63	7.14	7.37	45.22
35	7.18	7.84	7.37	7.47	30.88
36	7.30	7.95	7.84	7.32	53.21
37	7.36	7.58	7.39	7.28	67.82
38	7.51	7.59	7.31	7.31	53.21
39	7.34	7.55	7.42	7.36	46.05
40	7.32	7.29	7.18	7.19	51.83
41	7.60	7.59	7.05	6.98	41.63
42	7.68	7.40	7.31	7.51	53.63
43	7.45	7.28	7.29	7.43	49.77
44	7.31	7.12	6.96	6.97	40.39
45	7.40	7.36	7.21	7.18	46.46
46	7.35	7.22	7.04	6.91	50.87
47	7.18	7.01	6.77	6.76	59.69
48	7.24	7.05	6.85	6.80	42.87
49	7.19	7.01	6.75	6.75	42.04
50	7.18	7.07	6.85	6.82	45.35

#### IV. RESULTADOS

En este capítulo hacemos uso de la bioestadística la cuál se hace necesaria para obtener, organizar, recopilar y presentar datos biológicos, y analizarlos con base en modelos probabilísticos, con el propósito de deducir conclusiones y tomar decisiones.

#### T A B L A S D E F R E C U E N C I A S

Valor mínimo:  $1.50 \times 10^{10}$        $1.55 \times 10^{11}$        $-1.50 \times 10^{10}$       =  $1.40 \times 10^{11}$

Valor máximo:  $1.55 \times 10^{11}$        $1.40 \times 10^{11}$  / 8      =  $1.75 \times 10^{10}$

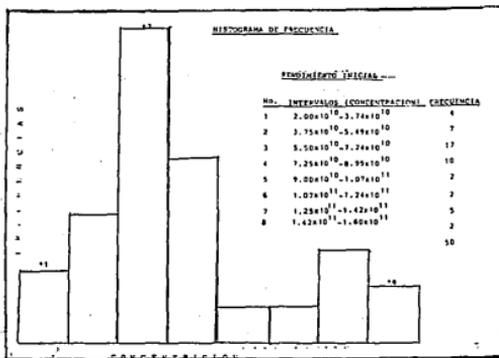
Tabla No. 1      Al Inicio      Amplitud

No.      Intervalo      Frecuencia

No.	Intervalo	Frecuencia
1)	$2.000 \times 10^{10}$ - $3.749 \times 10^{10}$	4
2)	$3.750 \times 10^{10}$ - $5.499 \times 10^{10}$	7
3)	$5.500 \times 10^{10}$ - $7.249 \times 10^{10}$	17
4)	$7.250 \times 10^{10}$ - $8.999 \times 10^{10}$	10
5)	$9.000 \times 10^{10}$ - $1.074 \times 10^{11}$	2
6)	$1.075 \times 10^{11}$ - $1.249 \times 10^{11}$	2
7)	$1.250 \times 10^{11}$ - $1.424 \times 10^{11}$	5
8)	$1.425 \times 10^{11}$ - $1.600 \times 10^{11}$	3

### Histograma No.1

(La altura de las barras corresponde a las frecuencias de cada uno de los intervalos de la tabla No. 1)



Interpretación: Las frecuencias son mayores en la parte central y, a medida que se alejan hacia ambos lados, son menores. Esto indica que los valores muy altos y muy bajos de los Concentrados Plaquetarios son poco frecuentes. (4)

Tabla No. 2

A las 24 horas

No.	Intervalo	Frecuencia
	10	10
1)	1.500x10 - 3.249x10	4
	10	10
2)	3.250x10 - 4.999x10	14
	10	10
3)	5.000x10 - 6.749x10	13
	10	10
4)	6.750x10 - 8.499x10	7
	10	11
5)	8.500x10 - 1.024x10	3
	11	11
6)	1.025x10 - 1.199x10	3
	11	11
7)	1.200x10 - 1.374x10	5
	11	11
8)	1.375x10 - 1.550x10	1

Histograma No. 2

(La altura de las barras corresponden a las frecuencias de cada uno de los intervalos de la tabla 2)

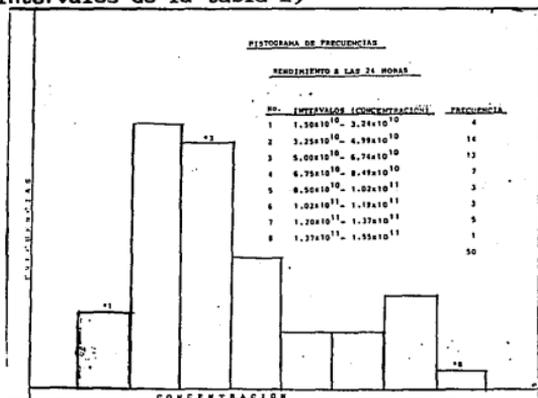


Tabla No. 3

A las 48 horas

No.	Intervalo	Frecuencia
	10	10
1)	$1.100 \times 10^{-10}$ - $2.711 \times 10^{-10}$	5
	10	10
2)	$2.712 \times 10^{-10}$ - $4.323 \times 10^{-10}$	12
	10	10
3)	$4.324 \times 10^{-10}$ - $5.935 \times 10^{-10}$	15
	10	10
4)	$5.936 \times 10^{-10}$ - $7.547 \times 10^{-10}$	6
	10	10
5)	$7.548 \times 10^{-10}$ - $9.167 \times 10^{-10}$	4
	10	11
6)	$9.168 \times 10^{-10}$ - $1.077 \times 10^{-9}$	3
	11	11
7)	$1.078 \times 10^{-9}$ - $1.238 \times 10^{-9}$	2
	11	11
8)	$1.239 \times 10^{-9}$ - $1.400 \times 10^{-9}$	3

Histograma No.3 (La altura de las barras corresponden a las frecuencias de cada uno de los intervalos de la tabla 3)

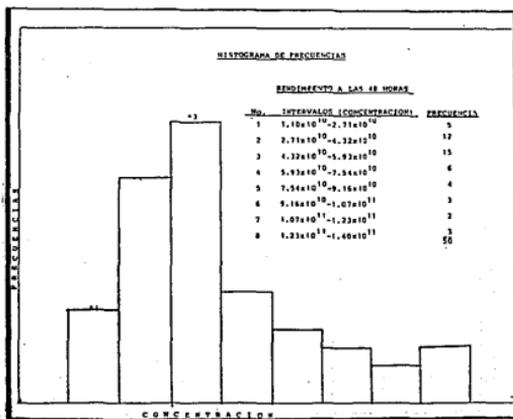
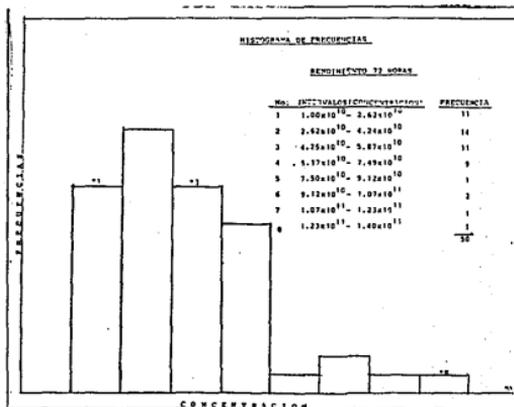


Tabla No. 4

A las 72 horas

No.	Intervalo	Frecuencia
	10	10
1)	$1.000 \times 10^{-10}$ - $2.624 \times 10^{-10}$	11
	10	10
2)	$2.625 \times 10^{-10}$ - $4.249 \times 10^{-10}$	14
	10	10
3)	$4.250 \times 10^{-10}$ - $5.874 \times 10^{-10}$	11
	10	10
4)	$5.875 \times 10^{-10}$ - $7.499 \times 10^{-10}$	9
	10	10
5)	$7.500 \times 10^{-10}$ - $9.124 \times 10^{-10}$	1
	10	11
6)	$9.125 \times 10^{-10}$ - $1.074 \times 10^{-9}$	2
	11	11
7)	$1.075 \times 10^{-9}$ - $1.236 \times 10^{-9}$	1
	11	11
8)	$1.237 \times 10^{-9}$ - $1.400 \times 10^{-9}$	1

Histograma No. 4 (La altura de las barras corresponden a las frecuencias de cada uno de los intervalos de la tabla 4)



### Medidas de tendencia central

Son valores de la variable que nos indican alrededor de qué valor se agrupan el mayor número de casos en estudio.(4)

Promedio: Es la suma de todos los datos dividida por el número de datos.  $\bar{x} = x/n$

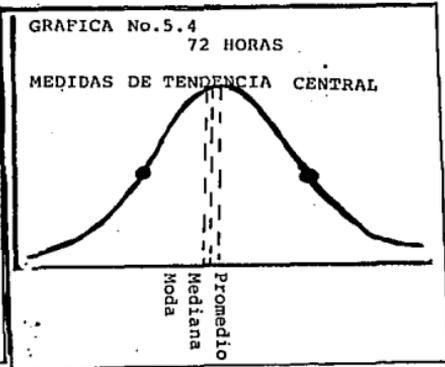
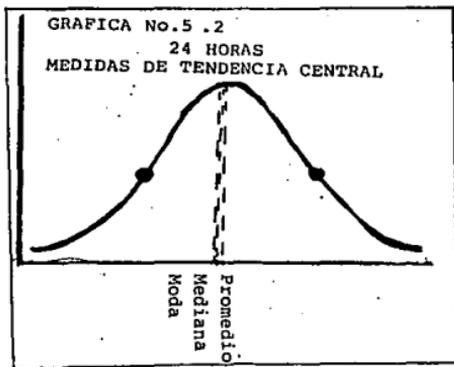
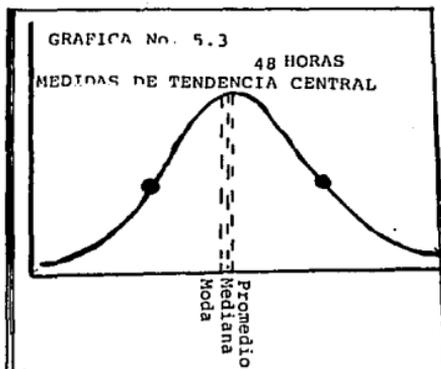
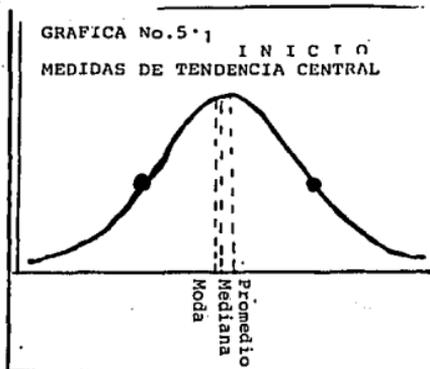
Mediana : Es el valor del dato central cuando todos están ordenados creciente o decrecientemente.

Moda : Es el valor que más se repite.

Tabla No. 5	Inicio	24 horas	48 horas	72 horas
	10	10	10	10
Promedio	7.83x10	6.76x10	5.86x10	4.92x10
	10	10	10	10
Mediana	6.80x10	6.05x10	5.30x10	4.23x10
	10	10	10	10
Moda	6.62x10	6.07x10	5.71x10	4.11x10

**Interpretación:** Cuando una distribución es normal (Gausiana) coinciden los valores de su promedio, mediana y su moda. Con base en la comparación de estos resultados, se podrá afirmar que la variable tiende a distribuirse normalmente.

Gráficas No. 5 Medidas de tendencia central.



### Medidas de Dispersión

La dispersión o variación de los datos intenta dar una idea de cuán esparcidos se encuentran éstos.(4)

Fórmulas: Estadístico (Muestra)

Promedio :  $\bar{x} = x/n$

Varianza :  $s^2 = \frac{n(\sum x^2) - (\sum x)^2}{n(n-1)}$

Desviación tipo:  $s = \sqrt{s^2}$

Coefficiente de Variación  $CV = s/\bar{x} (100)$

Tabla No 6 (Resultados de Rendimiento inicial, 24, 48 y 72 horas respectivamente.)

#### Estadístico (Muestra)

		10
	$\bar{x} =$	7.83x10
		21
<b>I N I C I O</b>	$s^2 =$	1.08114x10
		10
	$s =$	3.28807x10
	$CV =$	41.99%

Estadístico (Muestra)

		10
	$\bar{X} =$	6.76x10
24 HORAS	$s^2 =$	8.73297x10 <sup>20</sup>
	$s =$	2.95516x10 <sup>10</sup>
	CV=	43.71%

Estadístico (Muestra)

		10
	$\bar{X} =$	5.86x10
48 HORAS	$s^2 =$	9.03643x10 <sup>20</sup>
	$s =$	3.00606x10 <sup>10</sup>
	CV=	51.23%

Estadístico (Muestra)

		10
	$\bar{X} =$	4.93x10
72 HORAS	$s^2 =$	6.49254x10 <sup>20</sup>
	$s =$	2.54804x10 <sup>10</sup>
	CV=	51.77%

**Interpretación:** Una curva normal queda determinada conociendo el valor donde se encuentra su máximo (promedio) y sus puntos de inflexión (donde cambia de sentido su curvatura)( $x \pm 1s$ ).

Por lo tanto, al calcular el promedio y la desviación tipo se podrá establecer la curva de distribución de frecuencia completa.

Tabla No.7

Puntos de inflexión de la curva. ( $x-t_s$ ) INICIO

Intervalo	Área bajo la curva	Puntos de inflexión	
$x-t_s$	68.27% *	$1.111 \times 10^{11}$	$4.542 \times 10^{10}$
$x-2s$	95.45%	$1.440 \times 10^{11}$	$1.254 \times 10^{10}$
$x-3s$	99.73%	$1.769 \times 10^{11}$	$2.034 \times 10^{10}$

Gráfica No.7 Puntos de Inflexión al INICIO

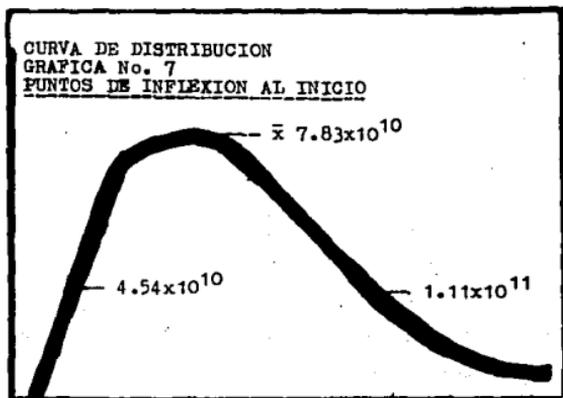


Tabla No.8

Puntos de inflexión de la curva( $x \pm 1s$ ) 24 HORAS

Intervalo	Area bajo la curva	Puntos de inflexión	
$x \pm 1s$	68.27% *	$9.715 \times 10^{10}$	$- 3.805 \times 10^{10}$
$x \pm 2s$	95.45%	$1.267 \times 10^{10}$	$- 8.500 \times 10^{10}$
$x \pm 3s$	99.73%	$1.562 \times 10^{10}$	$- 2.105 \times 10^{10}$

Gráfica No. 8 Puntos de inflexión a las 24 HORAS

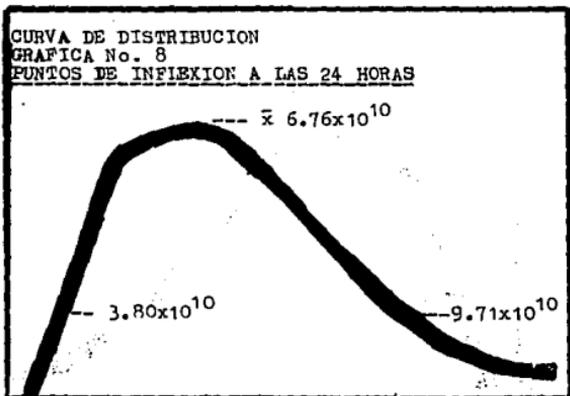


Tabla No.9

Puntos de inflexión de la curva(xt-1s) 48 HORAS

Intervalo	Area bajo la curva	Puntos de inflexión	
x+1s	68.27% *	$8.866 \times 10^{10}$	$- 2.854 \times 10^{10}$
x+2s	95.45%	$1.187 \times 10^{10}$	$- 1.520 \times 10^{10}$
x+3s	99.73%	$1.487 \times 10^{10}$	$- 3.158 \times 10^{10}$

Gráfica No. 9 Puntos de Inflexión a las 48 HORAS

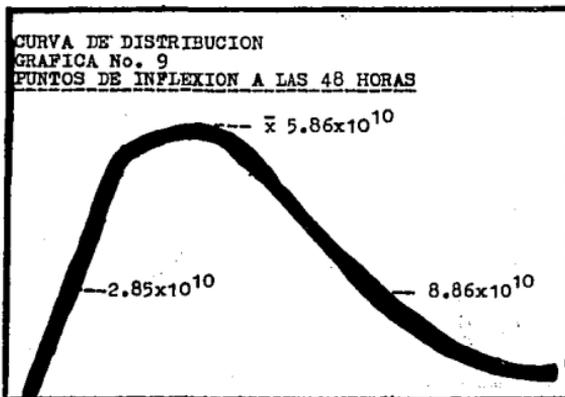


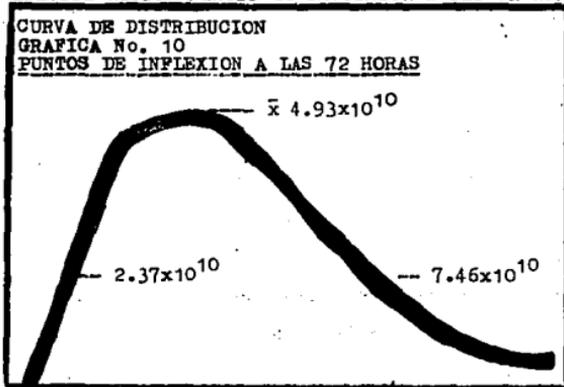
Tabla No.10

Puntos de inflexión de la curva( $x \pm 1s$ ) 72 HORAS

Intervalo	Area bajo la curva	Puntos de inflexión	
$x \pm 1s$	68.27% *	$7.469 \times 10^{10}$	$- 2.373 \times 10^{10}$
$x \pm 2s$	95.45%	$1.001 \times 10^{10}$	$- 1.750 \times 10^{10}$
$x \pm 3s$	99.73%	$1.256 \times 10^{10}$	$- 2.723 \times 10^{10}$

\* El area comprendida entre los puntos de inflexión es 68.27% del área total bajo la curva.

Interpretación: La suma de las superficies de todas las barras representa a todos los datos de la población es decir: el área bajo la curva de distribución Normal representa al 100% de la población. Gráfica No.10 Puntos de inflexión a las 72 HORAS



### Prueba de hipótesis sobre promedios

Consiste en un análisis comparativo entre los promedios de dos muestras con el propósito de decidir si se rechaza o no una hipótesis. Es así que se hace uso de la prueba de t.

HIPOTESIS NULA:  $\bar{x}_1 = \bar{x}_2$

H<sub>0</sub>: Los concentrados plaquetarios en condiciones estáticas y a temperatura de 4 y 22°C son eficaces hasta las 72 horas

HIPOTESIS ALTERNATIVA:  $\bar{x}_1 \neq \bar{x}_2$

H<sub>i</sub>: Los concentrados plaquetarios en condiciones estáticas y a temperatura de 4°C son eficaces hasta las 48 horas

Los límites que permitirán decidir si se rechaza o no la H<sub>0</sub>, son:

(Grados de libertad)	( Nivel de Significancia)
g.l. = $n_1 + n_2 - 2$	$\sigma / 2 = 0.05 / 2$
g.l. = 10 + 50 - 2	= 0.025
g.l. = 58	

Valor de Tablas

2.000

Se somete a prueba: se rechaza H<sub>0</sub>  
se acepta H<sub>i</sub>

C O N T R O L E S (Concentrados plaquetarios a temperatura ambiente, (22°C), estáticos.)

No.	Inicio	24 horas	48 horas	72 horas
	10	10	10	10
1	7.24x10	7.15x10	6.80x10	6.36x10
	11	10	10	10
2	1.32x10	8.19x10	7.12x10	5.85x10
	10	10	10	10
3	6.32x10	6.25x10	5.12x10	5.41x10
	11	10	10	10
4	1.25x10	6.50x10	6.22x10	5.62x10
	10	10	10	10
5	7.32x10	9.12x10	7.01x10	5.04x10
	10	10	10	10
6	8.55x10	1.36x10	5.02x10	1.72x10
	11	10	10	10
7	1.26x10	6.80x10	6.54x10	3.14x10
	10	10	10	10
8	6.95x10	6.85x10	6.53x10	4.09x10
	10	10	10	10
9	6.50x10	6.43x10	6.02x10	5.43x10
	10	10	10	10
10	9.40x10	7.12x10	4.05x10	5.30x10
	10	10	10	10
$\bar{x}$	9.058x10	7.801x10	6.043x10	4.796x10

Resultado comparativo de la t-student de CONTROLES del Inicio,  
con respecto a las 24, 48 y 72 horas

INICIO	24 HORAS	48 HORAS	72 HORAS
10	10	10	10
$\bar{x}_1 = 9.058 \times 10$	$\bar{x}_2 = 7.801 \times 10$	$\bar{x}_3 = 6.043 \times 10$	$\bar{x}_4 = 4.796 \times 10$
20	20	22	20
$s^2 = 7.414 \times 10$	$s^2 = 4.921 \times 10$	$s^2 = 4.921 \times 10$	$s^2 = 2.003 \times 10$
$n = 10$	$n = 10$	$n = 10$	$n = 10$
	$n = n$	$\bar{x} - \bar{x}$	
	1 2	1 2	

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{s^2_1 + s^2_2}{n_1 + n_2}}}$$

$$s^2 + s^2$$

$$\frac{n_1 + n_2}{1 \quad 2}$$

INICIO	24 HORAS	
10	10	
$\bar{x}_1 = 9.058 \times 10$	$\bar{x}_2 = 7.801 \times 10$	
20	20	
$s^2 = 7.414 \times 10$	$s^2 = 4.921 \times 10$	$t = -1.1324$
$n = 10$	$n = 10$	-----

INICIO	48 HORAS	
10	10	
$\bar{x}_1 = 9.058 \times 10$	$\bar{x}_3 = 6.043 \times 10$	
20	22	
$s^2 = 7.414 \times 10$	$s^2 = 4.921 \times 10$	$t = -0.4267$
$n = 10$	$n = 10$	-----

INICIO		72 HORAS	
	10		10
x1= 9.058x10		x4= 4.796x10	
	20		20
s <sup>2</sup> = 7.414x10		s <sup>2</sup> = 2.003x10	t= -4.3923
n = 10		n = 10	-----

Resultados comparativos de la t-student de el GRUPO TRATATADO  
al Inicio con respecto a las 24, 48 y 72 horas.

INICIO	24 HORAS	48 HORAS	72 HORAS
	10		10
x1=7.83x10	x2= 6.76x10	x3= 5.86x10	x4= 4.921x10
	20		20
s <sup>2</sup> =1.081x10	s <sup>2</sup> = 8.732x10	s <sup>2</sup> = 9.036x10	s <sup>2</sup> = 6.492x10
n = 50	n = 50	n = 50	n= 50

n =n	x -x
1 2	2 1

t= -----

s<sup>2</sup> + s<sup>2</sup>

--- ---

n	n
1	2

INICIO		24 HORAS	
	10		10
x1= 7.83x10		x2= 6.76x10	
	20		20
s <sup>2</sup> = 1.081x10		s <sup>2</sup> = 8.732x10	t= -1.711
n = 50		n = 50	-----

INICIO		48 HORAS	
	10		10
$\bar{x}_1 = 7.83 \times 10$		$\bar{x}_3 = 5.86 \times 10$	
	21		20
$s^2 = 1.081 \times 10$		$s^2 = 9.036 \times 10$	$t = -3.126$
$n = 50$		$n = 50$	-----

INICIO		72 HORAS	
	10		10
$\bar{x}_1 = 7.83 \times 10$		$\bar{x}_4 = 4.921 \times 10$	
	21		20
$s^2 = 1.081 \times 10$		$s^2 = 6.492 \times 10$	$t = -4.947$
$n = 50$		$n = 50$	-----

Para el estudio de pH se encontró los siguientes promedios:

$$\bar{x} = x/n$$

INICIO	24 HORAS	48 HORAS	72 HORAS	Promedio general
$\bar{x} = 7.53$	$\bar{x} = 5.55$	$\bar{x} = 7.33$	$\bar{x} = 7.30$	$\bar{x} = 6.9325$
				-----

Para el estudio de volumen se encontró el siguiente resultado:

Valor promedio : 56.78 mililitros.

-----

## V.- DISCUSIÓN

A fin de analizar los resultados experimentales, se utilizaron modelos probabilísticos enmarcados en el área de la Bioestadística. Tales como: Promedios, Mediana, Moda, Histogramas de frecuencia, Varianza, Desviación tipo, coeficiente de Variación, Puntos de inflexión y Prueba de Hipótesis sobre promedios utilizando en ésta la prueba de t-student.

Es importante mencionar que además de la variable biológica y el error de medición, los resultados experimentales pueden verse afectados por la manipulación INCONSCIENTE del ejecutante, así como de los colaboradores del área del banco de sangre, a través de todo el proceso, durante la selección de la muestra, y aún en el análisis estadístico.

Las observaciones que merecen los resultados son las siguientes:

### I.- Histograma de Frecuencias de los Rendimientos de Concentrados Plaquetarios al INICIO ( Ver tabla e histograma No. 1)

I.a.- En el histograma de Frecuencias de los rendimientos INICIALES de los concentrados plaquetarios son poco frecuentes los valores altos de concentración ( $1.42 \times 10^{11}$  -  $1.60 \times 10^{11}$ ) encontrándose solamente 3 eventos del total de la población de 50.

I.b.- Se considera el valor mínimo promedio de concentración  
10 10  
plaquetaria( $5.50 \times 10$  -  $7.24 \times 10$  ) y en el que se encontró la  
mayor frecuencia, 17 eventos del total de la población.

I.c.- En cuanto a los valores bajos de concentración  
10 10  
( $2.00 \times 10$  -  $3.74 \times 10$  ) se encuentra una frecuencia de 4 eventos  
del total de la población.

Es así que apartir del mínimo promedio los subsiguientes  
intervalos de concentración son ricos en plaquetas y en los cuales  
se encuentra el mayor número de eventos(39).

II.- Histograma de Frecuencias de los Rendimientos de  
concentración plaquetaria a las 24 HORAS (Ver tabla y  
gráfica No. 2)

II.a.- El valor más alto de concentración plaquetaria  
11 11  
( $1.37 \times 10$  -  $1.55 \times 10$  ) baja, con una frecuencia de 1, es decir, 2  
eventos menos con respecto al Inicio.

II.b.- El valor mínimo promedio de concentración plaquetaria  
10 10  
( $5.00 \times 10$  -  $6.74 \times 10$  ) baja, con una frecuencia de 13, es decir 4  
eventos menos que al Inicio



IV.- Histograma de frecuencias de los rendimientos de concentración plaquetaria a las 72 horas ( Ver tabla e Histograma No. 4)

11

IV.a.- El valor alto de concentración plaquetaria( $1.23 \times 10$

11

$1.40 \times 10$  ) se encuentra en una frecuencia de 1 evento, es decir 2 eventos menos con respecto a las 48 horas.

IV.b.- El valor mínimo promedio de concentración plaquetaria

10

10

( $4.25 \times 10$  -  $5.87 \times 10$  ) se presenta con una frecuencia de 11, es decir 3 eventos menos.

IV.c.- En este intervalo, se ve claramente que el valor bajo

10

10

de concentración plaquetaria( $1.00 \times 10$  -  $2.62 \times 10$  ) incremento en el número de frecuencias, es decir 11 eventos más.

Es importante este histograma de frecuencia, en el que se observa que a partir de el mínimo promedio, el número de eventos 25, ricos en plaquetas, presentan una baja significativa de los rendimientos en los concentrados plaquetarios.

V.- Promedios Mediana y Moda, Coeficiente de Variación y Puntos de inflexión.

En relación al análisis del Promedio, Mediana y Moda en los rendimientos de concentración plaquetaria al Inicio, 24, 48 y 72 horas (ver tabla No.5), observamos que dichos resultados no coinciden en sus valores, lo que permite afirmar que la variable (concentrados plaquetarios), tiende a comportarse normalmente como una curva de distribución de Gauss.

En el trabajo experimental del rendimiento de concentración plaquetaria el Coeficiente de Variación al Inicio es de 41.99%, a las 24 horas de 43.71%, a las 48 horas de 43.71% y a las 72 horas de 51.23%. Obteniendo así un Coeficiente de Variación mayor al 30% \* por lo que la distribución de la variable tiende a lo normal.

\*(Se dice que cuando el Coeficiente de Variación es cercano al 30%, su distribución Gausiana es normal.)

Al analizar los puntos de inflexión (punto donde cambia el sentido de la curvatura), del área bajo la curva de 68.275 del total de la población, al Inicio, 24, 48 y 72 horas respectivamente estos nos muestran que las curvas en cuestión, son sesgadas y asimétricas, presentando todas ellas, una desviación hacia la derecha, que permite por lo tanto afirmar que nuestra variable tiende al agrupamiento. (Ver Tabla y gráficas No. 7)

## VI.- Prueba de Hipótesis sobre promedios.

Se analiza la variable con respecto a la prueba de hipótesis sobre promedios haciendo uso de la prueba estadística de la t student, la cuál consiste en un análisis comparativo entre los promedios de dos muestras con el propósito de decidir si se rechaza o no la Hipótesis Nula ( Ho.)

La hipótesis Nula (Ho). expresa que no existe diferencia al comparar un trabajo experimental, ó bien, que el grupo tratado tendra la misma respuesta que el grupo no tratado.

$$H_0: \begin{matrix} X & = & X & \text{ó} & X & - & X & = & 0 \\ & & 1 & 2 & & & 2 & 1 & \end{matrix}$$

Para éste trabajo se establece como:

**\*H<sub>0</sub>:** Los Concentrados plaquetarios en condiciones estáticas y a temperatura de 4 y 22°C son eficaces hasta las 72 horas.

**\*H<sub>1</sub>:** Los Concentrados plaquetarios en condiciones estáticas y a temperatura de 4°C son eficaces hasta las 48 horas.

Una vez calculados los grados de libertad (g.l.) y el nivel de significancia, se encontró un valor de tablas, de 2.000 (Ver pág.120) y cuyo valor me permitió rechazar la H<sub>0</sub>, (Si el valor calculado sobrepasa al valor de tablas se rechaza la H<sub>0</sub> y por consiguiente se acepta la H<sub>1</sub>). a través de:

Los resultados de los promedios del Grupo Control (rendimientos de concentrados plaquetarios en condiciones estáticas y a una temperatura de 22°C) me permiten realizar un análisis comparativo de la t-student de rendimientos de concentración plaquetaria del grupo control del Inicio y con respecto a las 24, 48 y 72 horas.

t-student al inicio = -1.1324 y

t-student a las 72 horas = -4.392

Observándose una variación significativa (sin importar el signo), en los resultados. Al realizar en análisis comparativo vemos que: t-student de tablas es: 2.000

t-student calculada es: -4.392 siendo ésta mayor.

Me permite afirmar que se rechaza la  $H_0$  con un nivel de significancia de 0.05 y por lo tanto, con una probabilidad de error menor al 5%.

En los resultados de los promedios del Grupo Tratado (rendimientos de concentración plaquetaria en condiciones estáticas y a 4°C) se realizó un análisis comparativo de la t-student de los rendimientos de concentración plaquetaria del grupo tratado al Inicio, y con respecto a las 24, 48 y 72 horas.

t-student del inicio = -1.711

t-student a las 72 horas = -4.947

Existiendo también una variación significativa, lo cual brevemente me permite rechazar la  $H_0$ , y aceptar la  $H_1$ .

Dada la inquietud del cuerpo médico y químico de ésta Institución, se hizo necesario conocer a grosso modo y -fuera del contexto del trabajo-, respecto a los promedios de pH y Volumen, de los concentrados plaquetarios con respecto a estas variables. Encontrándose:

Promedio General pH = 6.9325

Qué de acuerdo a la norma establecida de conservación de plaquetas\* es de pH mayor a 6, sin mencionar cuales son los límites.

En relación al Volumen se encontró un promedio de 56.78 mililitros en los concentrados plaquetarios en estudio, según establece la norma deberá ser 30 a 50 ml \*\*

\*Op.cit.Linares G, Jesús. Inmunohematología y transfusión, principios y procedimientos. pág. 325

\*\*ibidem

## VI.- CONCLUSIÓN

El presente trabajo intenta, proporcionar información sobre el Rendimiento real de los concentrados plaquetarios elaborados en el Hospital Regional 20 de Noviembre del ISSSTE. con el propósito de concluir el estado actual de éstos, y poder tomar decisiones con respecto a su Viabilidad biológica, para el mayor aprovechamiento de los concentrados plaquetarios en beneficio del derechohabiente.

Por tal motivo y de acuerdo a los resultados obtenidos se concluye que:

1.- Los Concentrados Plaquetarios elaborados en el hospital Regional 20 de noviembre del ISSSTE, en condiciones estáticas y a 4°C son Eficaces hasta las 48 horas.

Por lo tanto se hizo necesario modificar el tiempo de vida que se les da a estas unidades.

2.- Con respecto al estudio realizado al pH, y debido a que no se establece en bibliografía el límite superior del rango del control de la variable, esta investigación queda abierta, a estudios posteriores que analicen dicha variable, y comprueben su afectación en la conservación de la plaqueta.

3.- En el estudio de la variable Volumen, se comprueba que existe un excedente con respecto a los mililitros establecidos, y cuya importancia en la viabilidad de la plaqueta, hace indispensable conocer, que tanto afecta a ésta. Manifiestandose el establecimiento de mejores técnicas de medición de dicha variable.

Es por lo tanto, importante remarcar la función que desempeñan los Concentrados Plaquetarios, en un centro hospitalario, haciendose necesario continuar éste estudio. pués existen otras variables (agitación manipulación, selección de la muestra etc.) que puedan afectar la viabilidad del concentrado plaquetario. y cuyos estudios conduzcan a la mejor conservación de las unidades biológicas con el único objetivo de beneficiar al paciente.

## VII. BIBLIOGRAFÍA

- 1.- **Barrantes Boulanger, Alberto**  
Hemostasia y Trombosis técnicas de estudio e interpretación 1a.  
ed., Seguro Social de Costa Rica, Costa Rica, 1980, p 23-24.
- 2.- **Benditt BP, Lagunoff D**  
The mast cell:1st structure and function Progr.Allergy 8:195, 1964
- 3.- **Correa Ramírez, Miquel Angel**  
Métodos Estadísticos de control de calidad en el laboratorio de la  
clínica, México, D.F. 1979, p. 1-16 (tesis).
- 4.- **E. López y Martínez**  
Aplicación de la Bioestadística, parte I y II, p. 37-77
- 5.- **Ferreras V, Rozman C.**  
Medicina Interna, Marin ,S.A., editores, 1978 , tomo II p. 293-298.
- 6.- **Gerwitz, A.M.**  
Human megakaryocytopoiesis. Semin. Hematol., 23:27, 1986.
- 7.- **Gingrich, R.D., ando Hoak, J.C**  
Platelets-Endothelial cell interactions seminary. 1979 Hematol.,  
16: 208.
- 8.- **Greendyke and Banzhaf**  
Introduction to blood banking, Technical and Administrative Control  
in the Blood Banks, ed., Medical examination publishing 2a.ed.  
p. 207-211

- 9.- **Haward f. Taswell, M.D., Alice M. Smith Mt (ASCP)SBB, Maxime A Sweatt Mt(ASCP)SBB, and Kenneth J.Pfaft B.S.**  
**Quality Control in the blood bank, A new Approach, October 1974. Pathol.**  

---

**Vol 62, p. 491-495**
- 10.- **Holmsen, H.**  
**Platelets secretion in hemostasis and trombosis, Basic Principles and**  

---

**Clinical Practice. Edited by R. W. Colman and E. W. Salzman,**  
**Philadelphia, J. B. Lippincott, 1982.**
- 11.- **Kelton G, John, Heddle M, Nancy**  
**Transfusión sanguínea bases teóricas y aplicación clínica 1a. ed.,**  

---

**Doyma editores, Madrid, p. 3-10, 91-102, 111-125**
- 12.- **Lenahan G, Jane**  
**Hemostasis Department of pathology ball memoral Hospital 18th.,**  

---

**edition, Muncie, Indiana 1986, p. 48-60.**
- 13.- **Linares G, Jesús**  
**Inmunoematología y Transfusión, principios y procedimientos, ed.**  

---

**part., 1986, Cap. 18-19. p.324-369**
- 14.- **Lynch, J, Mathew**  
**Métodos de laboratorio, 2a. edición, Interamericana S. A. de C.V.**  

---

**México, D.F. 1985, p. 89-92, 864-873.**
- 15.- **Martínez Sánchez, Ma. Guadalupe**  
**Cinética plaquetaria México D.F. 1991, p. 5-17 (tesis).**  

---

16.- Mckensie B. Shirlyn

Hematología clínica, Editorial El Manual Moderno S. A. de C.V.

México, D.F., Cap.,20-21-22.

17.- Mollison P.L

Transfusión de sangre en medicina clínica, editorial reverté S.A.,

1987, p. 193-203.

18.- Nachmias,V.T.

Semin. Hematol. Platelet and megakaryocyte shape change.20:261,1983.

19.- Nilsson I, Marie

Enfermedades hemorrágicas y Trombóticas 1a.ed., Toray S.A. editores,

Barcelona, 1978, p. 1-59.

20.- Nurdén,A.T. and Caen,J.B

Specific roles for platelet surface glycoproteins in platelets

function. Nature, 255:720, 1975.

21.- Platelets

American Association of Blood Banks, First printing technical

Scientific workshops committee, Arlington Virginia, U.S.A., 1988,

p. 3-85.

22.- Platelet Preparation And Storage

American Association of Blood Banks, current concepts in

transfusion therapy, Arlington Virginia,U.S.A.,1985, p. 14.

- 23.- Prophylactic Platelet Transfusion  
Transfusion, Volume 32 Number 4 U.S.A, May 1992, p. 295-297.
- 
- 24.- Ramírez González, Ma. Dolores  
Captación de aminas por plaquetas como modelo experimental para  
estudiar al enfermo hipertenso. México D.F., 1976 p.18-27 (tesis)
- 
- 25.- Rangel C. Antonio, Muñoz G. José P.  
Inmunología Básica, 2a., ed., Mérida Venezuela 1991, p. 15.27
- 
- 26.- Rifkind, R., Bank, A., Marks, P. A., and Nossel, H. L.  
Fundamentals of hematology. Chicago, yearbook Medical Publishers,  
1976.
- 
- 27.- Shattil, S. J., and Bennett, J. S.  
Platelets and their membranes in hemostasis: Physiology and  
Pathophysiology. Ann. Intern. Med., 94:108, 1980
- 
- 28.- Stewart Sell  
Inmunología Inmunopatología e Inmunidad 2a.ed., Harla, Harper & Row  
Latinoamericana, 1975, p. 21-28
- 
- 29.- Tavassoli, M., and Yoffey, J. M.  
Structure and function. New York, Alan R. Liss, 1983.
- 
- 30.- The Medical Clinics of North America  
Simposio sobre Trastornos hemorrágicos 1a. ed., Interamericana S.A.  
de C.V., Philadelphia U.S.A., Enero 1972, p. 9-35, 81-95.

31.- The Medical Clinics of North America

Simposio sobre signos clínicos de enfermedades de la sangre 1a. ed.,

---

Interamericana S.A. de C.V., Philadelphia U. S. A., Marzo 1973,  
p. 515-529.

32.- The Medical Clinics of North America

Simposio sobre trastornos hematológicos 1a. ed., Interamericana S.A.

---

de C.V., Philadelphia U.S.A., volumen 4 1980, p. 733-747

33.- The Medical Clinics of North America

Simposio sobre trastornos hematológicos 1a. ed., Interamericana S.A.

---

de C.V., Philadelphia U.S.A., Noviembre 1966, p. 1559-1567.

34.- The Medical Clinics of North America

Simposio sobre adelantos en hematología 1a. ed., Interamericana S.A.

---

de C.V., Philadelphia U.S.A., Septiembre 1976, p. 855-856 881-905.

35.- Tood-Sanford-Davisohn

Diagnóstico y Tratamiento Clínicos por el laboratorio 8a. ed., Salvat,

---

Barcelona 1988, volumen I p.925-938.

36.- Transfusion

The effect of prestorage white cell reduction of the function

---

and viability of stored platelets concentrates. Volume 32 Number 4

---

1992 p. 334-339.

37.- Vermylen, J.

Normal mechanisms of platelet function. Clin. Haematol., 12:107 1983.

---

38.- Weed, M.D. Robert I

Hematología para internistas, Hemostasia Normal y Evaluación del

paciente que sangra. 1a. ed., Toray S.A., Barcelona 1973, p. 187-211

39.- Weiss, L.

The Blood Cell and hematopoietic Tissues. New York, Mc Graw -Hill 1977

40.- Williams, N., and Levine, R.F.

The origin, development and regulation of megakaryocytes. Br. J.

Haematol., 12:107 1983.

41.- Wintrobe, M.M.

Clinical Hematology. 8th ed. Philadelphia, Lea and Febiger, 1981.