



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

ESTUDIO PROSPECTIVO-RETROSPECTIVO PARA
EL DIAGNOSTICO DIFERENCIAL ENTRE
TROMBOCITOPENIA REAL Y
PSEUDOTROMBOCITOPENIA.

T E S I S

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



MEXICO, D. F.

1996

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO

Presidente Prof. González Vargas Guillermo.

Vocal Prof. Nieto Camacho Raul.

Secretario Prof. Peniche Villalpando Laura

1^{er} Suplente Prof. Nava Díaz Graciela

2^{do} Suplente Prof. Calderón Garcidueñas Eva Della

Este trabajo se realizó en el laboratorio de Hematología del Hospital de Especialidades en Centro Médico Nacional Siglo XXI.

Asesor



Q.F.B. Raul Nieto Camacho

Sustentante



Ivonne Mendoza García



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

ANEXO III

(ACEPTACIÓN DE LA PRUEBA ESCRITA)

SR. DIRECTOR DE LA FACULTAD DE QUÍMICA

Presente.

*

La prueba escrita desarrollada en la opción: (*) Tesis
 Trabajo monográfico de actualización
 Informe de la práctica profesional

cuyo título es: Estudio Prospectivo-Retrospectivo para el Diagnóstico
Diferencial entre Trombocitopenia Real y
Pseudotrombocitopenia.

presentado por: Mendoza García Ivonne
de la carrera de: Química Farmacéutico-Biológica (2489)
es de aceptarse.

Si es mancomunada, anotar con quién: _____

Atentamente,
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
CD. UNIVERSITARIA, D.F.,

1995.

EL JURADO REVISOR

[Firma]
Prof. González Vargas Guillermo

[Firma]
Prof. Nieto Camacho Raul

[Firma]
Prof. Peniche Villalpando Laura

[Firma]
Prof. Nava Díaz Graciela

[Firma]
Prof. Calderón Garcidueñas Eva Delia

Índice

1. Objetivos	5
2. Introducción	5
3. Hipótesis	6
4. Generalidades	7
4.1 Producción plaquetaria	7
4.2 Estructura de la plaqueta	7
4.3 Actividad de las plaquetas en la hemostasia	11
4.3.1 Adhesión plaquetaria	12
4.3.2 Agragación plaquetaria	14
4.3.3 Intervención de las plaquetas en la vía de la coagulación.....	15
4.4 Metabolismo de las plaquetas	17
4.4.1 Síntesis de tromboxanos y prostaglandinas a partir del ácido araquidónico. (Vía de la ciclooxigenasa).....	17
4.5 Evaluación de la actividad plaquetaria.....	21
4.6 Trastornos plaquetarios cuantitativos.....	22
4.6.1 Trastornos de la producción.....	22
4.6.2 Trastornos de la distribución.....	23
4.6.3 Trastornos por destrucción.....	23
4.6.4 Trastornos por destrucción inmunitaria.....	26
4.6.5 Trombocitopenia combinada.....	26
4.7 Trastornos hereditarios de la función plaquetaria.....	27
4.8 Trastornos debido a la administración de fármacos.....	34
4.9 Pseudotrombocitopenia.....	35
5. Material y método.....	39
6. Resultados.....	43
6.1.1 Tabla 1. (Sexo, edad, grupo sanguíneo, transfusiones y ocupación).....	43
6.1.2 Tabla 2. Manifestaciones clínicas y antecedentes hereditarios....	46
6.1.3 Tabla 3. Antecedentes clínicos.....	52
6.1.4 Tabla 4 reacciones secundarias y adversas respecto a los parámetros hematológicos, de los fármacos administrados a los pacientes.....	67

6.2 Cuenta plaquetaria en muestras de sangre tomada simultáneamente con EDTA y heparina para pacientes que cumplían con las características de pseudotrombocitopénicos	78
6.3 Observaciones de los expedientes clínicos de los pacientes en su estudio prospectivo-retrospectivo.....	79
6.4 Frecuencia de las entidades clínicas que condujeron al ingreso del paciente al hospital.....	81
6.5 Frecuencia de las entidades hereditarias asociadas con cada paciente.....	82
6.6 Incidencia de pacientes pseudotrombocitopénicos.....	82
6.7 Características de pacientes que corrigieron y que no corrigieron su cuenta plaquetaria con heparina.....	83
7. Discusión.....	86
8. Conclusiones	90
9. Abreviaturas empleadas.....	93
10. Bibliografía.....	94

A mis:

Padrinos, Tios, Padres

*Adrian y Gloria, a quienes les debo este triunfo,
el mismo que les brindo con todo mi cariño.
Además por darme, apoyo, hogar, educación y
tantas oportunidades.*

Gracias

A mis Padres:

Jesús y Socorro†

Y a mi Hermana:

Angélica

*Que aunque siempre estuvimos separados, nunca
me dejarón sola y me brindaron su apoyo y motivación
para lograrlo.*

Los quiero

A Martín.

Gracias por amarme, apoyarme, por estar conmigo siempre y por ser el motivo de muchos otros objetivos, de entre los cuales, el conseguir la mutua felicidad, en una escala de prioridades, es el más importante.

A mis amigas, amigos y profesores,
que han influido en mi formación
como persona, amiga y profesionista

Y por último a Dios
por darme la vida y la oportunidad
de vivirla como hasta ahora.

Gracias

Si sobrevives, si persistes, sueña, canta, emborrachate. El viento de las horas barre los caminos, las calles. Los árboles esperan, tu no esperes. Este es el tiempo de amar, el único.

Jalme Sabines

Estudio Prospectivo-Retrospectivo Para El Diagnóstico Diferencial Entre Trombocitopenia Real Y Pseudotrombocitopenia.

1. Objetivos:

-Dilucidar mediante este trabajo el diagnóstico diferencial entre una trombocitopenia real de una pseudotrombocitopenia

-Establecer una secuencia lógica en el estudio de los pacientes manejados o diagnosticados como trombocitopenicos con el objeto de detectar aquellos que cursan con "pseudotrombocitopenia" a fin de evitar hasta donde sea posible recursos o protocolos de tratamientos injustificados.

-Revisar bibliografía existente del tema y sustraer de esta lo más sobresaliente para darla a conocer en el medio médico y de laboratorio clínico con el objeto de evitar diagnósticos erróneos.

2. Introducción.

De un tiempo a la fecha se han detectado algunos pacientes con cifras bajas de plaquetas, que no presentan manifestaciones hemorrágicas y sin que existan antecedentes de medicación o contacto con sustancias mielotóxicas que expliquen ese hecho, algunos de estos pacientes acuden al laboratorio para la realización de exámenes preoperatorios de servicios como otorrinolaringología, oftalmología, urología. Otros son enviados de unidades periféricas a hospitales generales o de alta especialidad para interconsulta con hematología debido a su cuenta baja de plaquetas.

La revisión del frotis de sangre periférica en algunos de estos pacientes denota una franca aglutinación plaquetaria que al parecer carecía de

importancia por parte del médico solicitante. Con el advenimiento de contadores electrónicos de células (como el modelo STKS de COULTER o el CELL DYN 3000 de ABBOT), cuyos métodos se basan en un triple análisis (Impedancia eléctrica, alta frecuencia y rayo láser) permitiendo la revisión pormenorizada de cada biometría hemática (BH), que en otros tiempos o con métodos manuales era imposible de realizar. Gracias a estos sistemas se ha podido detectar ese grupo de pacientes al que se hace referencia; sin manifestaciones clínicas de sangrado o púrpura, con cuentas normales de leucocitos y elementos eritrocitarios, solo con trombocitopenia y con alerta en el histograma de la biometría hemática señalando plaquetas agregadas.

Al parecer esta agregación es un fenómeno "in vitro" producida probablemente por el anticoagulante de elección para las biometrías hemáticas, la sal disódica del ácido etilendiamino tetra acético (EDTA), ya que al emplear otro tipo de anticoagulantes como la heparina un buen porcentaje de los pacientes con cifras bajas de plaquetas corrigieron a valores normales.

Esto ha permitido que los pacientes sean etiquetados como pseudotrombocitopenicos que clínicamente no requieren ningún tratamiento adicional evitando así las latrogenias e incluso procedimientos más drásticos como la esplenectomía.

Por esto, la realización del siguiente trabajo nos ayuda a comprender que la elección del anticoagulante en la toma de muestra es de suma importancia para descartar una trombocitopenia real en este tipo de pacientes.

3. Hipótesis

La pseudotrombocitopenia puede ser causada por un anticoagulante, el cual actúa con las plaquetas provocando su agregación y por consecuencia causando una cuenta de plaquetas baja.

Si a estos pacientes se les toma simultáneamente una muestra con EDTA y otra con heparina como anticoagulantes y se procesan de manera idéntica dando como resultado una cuenta de plaquetas normal y sin agregados en el caso con heparina, entonces se establece que la pseudotrombocitopenia es dependiente de EDTA.

4. Generalidades.

4.1 Producción de plaquetas

Las plaquetas o trombocitos se producen a través de la fragmentación citoplasmática del megacariocito éste evento conocido como trombopoyesis es regulado por la trombopoyetina y otros factores de crecimiento celular además de Interleucinas. El proceso de producción se inicia con la diferenciación de la célula madre mieloide a un elemento unipotencial, el promegacarioblasto y en procesos poliploides posteriores llegará a estadio de megacariocito cuya característica es la presencia de poliploidia nuclear y agrandamiento citoplasmático, en el que existe una zona de demarcación dada por el sistema retículo endoplásmico y que condicionara el futuro diámetro de la plaqueta.

Se ha calculado que cada megacariocito es capaz de producir de 3000 a 8000 plaquetas. Este proceso se realiza en un 80% en médula ósea (M.O.) y aproximadamente un 20% a nivel pulmonar, la plaqueta liberada es un disco regular de 1 a 3 μ de diámetro y un volumen de 2 - 10 fL.

4.2 Estructura de la plaqueta.

La plaqueta esta formada por una zona membranosa, una zona hialina o Sol-Gel y una granular (fig. 1)(20).

La zona membranosa separa a la superficie plaquetaria de la zona submembranosa. Esta es una típica membrana trilaminar y es esencial para la integridad de la célula. Juega un importante papel protector, así como en la adhesión, contracción y supliendo al activador lipídico para la coagulación.

La zona submembranosa de microtubulos, constituidos por la proteína tubulina, forma el soporte estructural de la célula, que normalmente es discorde. Así mismo pueden verse microfilamentos contractiles compuestos principalmente por actina y miocina plaquetarias. Se ha demostrado por diversos métodos que el gran sistema canalicular es abierto, que existe dentro de la plaqueta, y además, esta en comunicación directa con el ambiente extracelular. Con frecuencia, con estrecha proximidad con este sistema canalicular abierto se ve un sistema tubular denso. Este sistema tubular denso aparentemente derivado del retículo endoplasmico liso, muestra positividad con la tinción de peroxidasa plaquetaria, lo que concuerda con su función del metabolismo del ácido araquidonico dentro de la plaqueta. Se cree que el sistema tubular denso también funciona como una bomba de secuestro de calcio que asegura los bajos niveles de calcio citoplasmico que posee la plaqueta en reposo (12).

Dentro del citoplasma plaquetario se reconocen diversas inclusiones. pueden identificarse mitocondrias y glucógeno junto con gránulos α y una menor cantidad de gránulos de núcleo denso, lisosomas y peroxisomas. Los gránulos contienen diversas proteínas, como el fibrinógeno plaquetario, el factor del crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), el factor de Von Willebrand (vWF) la B-tromboglobulina (BTG) y el factor 4 plaquetario neutralizante de la heparina (PF4). Los gránulos de núcleo denso están constituidos por el compartimiento no metabólico de difosfato de adenosina (ADP), trifosfato de adenosina (ATP), 5-hidroxitriptamina (5-HT) y calcio (12).

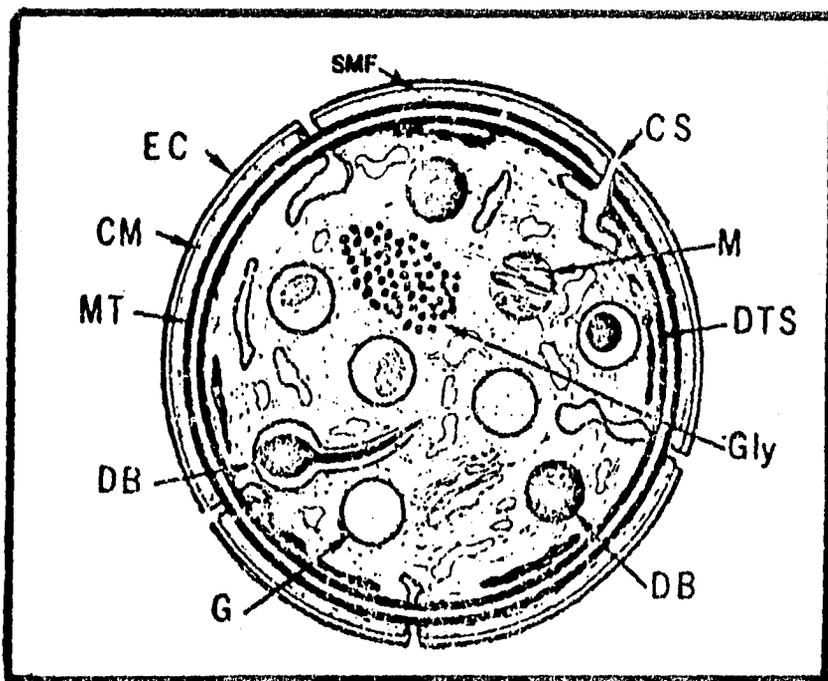


Fig. 1) Ultra estructura de la plaqueta. El diagrama resume los aspectos ultraestructurales observados en secciones finas de plaquetas discoides cortadas según el plano ecuatorial. Los componentes de la zona periférica son la cubierta externa (EC), la unidad de membrana trilaminar (CM) y el área submembranosa, la cual contiene los filamentos especializados (SMF) que forman la pared de la plaqueta y recubren los canales del sistema canalicular abierto, conectado con la superficie (CS). La matriz del interior plaquetario es la zona Sol-Gel que contiene microfilamentos de actina, filamentos estructurales y bandas circulares de microtubulos (MT) y glicógeno (Gly). Los elementos con membrana incluidos en la zona Sol-Gel son las mitocondrias (M), los gránulos (G) y los cuerpos densos (DB), que en conjunto constituyen la zona de organelos. Los sistemas de la membrana son el canalicular abierto conectado con la superficie (OCS) y el de tubulos densos (DTS), que surge de retículo sarcoplasmico a la plaqueta. La microfotografía electrónica representa una plaqueta seccionada por su plano ecuatorial, en la cual se ven la mayoría de las estructuras indicadas en el diagrama. (De White, J. S. y col.: En Bloom, A.L., y Thomas, D. P. (dirs.) *Haemostasis and Thrombosis*. Nueva York, Churchill Livingstone, 1981).

La zona Sol gel o hialina, también llamado hialoplasma esta compuesta por elementos fibrosos en el interior de la plaqueta. Una envoltura anular de 250 Å de microtubulos falsos, bajo la pared celular a lo largo de esta gran circunferencia esta el sistema fibroso más prominente del hialoplasma que constituye el segundo sistema de fibras. En estos mismos microtubulos esta un sistema fibroso compuesto de 12 a 15 subfilamentos, de 50 Å de diametro en asociación paralela. Los filamentos son más estables que los microtubulos y son físicamente indistinguibles de los microfilamentos y filamentos de la submembrana. Estos tres sistemas fibrosos difieren solamente con su estado de polimerización, agregación y localización en la célula.

La relativa plasticidad del hialoplasma en plaquetas inalteradas discoides y la rapidez con la cual la matriz puede fluir en pseudopodos durante el cambio de forma, sugiere las características de un citoplasma Sol-Gel como el que existe viviendo en células capaces de dirigir su propio movimiento. Los movimientos centrípetos orientados, la subsecuente fusión de gránulos en las plaquetas, contracción de pseudopodos, la retracción del coagulo esencial para la fusión plaquetaria normal son dependientes de los elementos fibrosos en la zona Sol-Gel. Por esta razón la zona Sol-Gel es considerada como una división morfológica separada de la plaqueta relacionada con la función contractil (20).

La superficie plaquetaria externa es rica en glucoproteinas, tanto adsorbidas en plasma como integrantes de la propia membrana plaquetaria que expresan los productos MHC de clase I, receptores para IgG (Fc RII) y receptores de baja afinidad para IgE (Fc RII; CD23). Además los megacariocitos y las plaquetas poseen receptores para el factor VIII y otras moléculas importantes para su función, como el complejo GpIIb/IIIa (CD41) y el complejo GpIb/GpIX (CD42). El complejo GpIIb/IIIa, denominado también citoadecina, es responsable de la unión con el fibrinógeno, la fibronectina y la vitronectina. Además, tanto este complejo como el GpIb/GpIX son receptores para el factor de Von Willebrand. Existe un receptor adicional para la vitronectina,

CD51. Ambos receptores y las moléculas de adhesión son importantes en la adhesión de las plaquetas (14).

Además de las glucoproteínas de la membrana plaquetaria existen otros antígenos específicos como el DU20 que fue el primer Ag plaquetario descubierto, el sistema PIA que fue independientemente descrito como Zw que se encontró en pacientes embarazadas o que recibieron múltiples transfusiones o por post-transfusión trombocitopenica. Este sistema lo componen dos antígenos PIA1 y PIA2. El sistema Ko consiste de dos alelos Ko^a y Ko^b , se encuentran en pacientes con múltiples transfusiones y en embarazadas. El sistema PI^E contiene también dos antígenos PI^{E1} y PI^{E2} descubiertos en pacientes con purpura neonatal. Por último los sistemas 1 y 2 en los que los antígenos se designan 1A y 2A. Un sistema antigénico común para granulocitos, linfocitos y plaquetas fue designado como $PIGrLy^{B1}$ idéntico al antígeno Mac que se encuentra en leucocitos y que ahora se reconoce como el sistema antigénico de transplantes humanos, HLA, llamado HLA-2 (20).

4.3 Actividades de las plaquetas en la hemostasia.

La principal función de las plaquetas es la formación de tapones mecánicos durante la respuesta hemática normal a una lesión vascular. El punto central de esta función son las reacciones de adhesividad, liberación, agregación y fusión de las plaquetas, así como su actividad procoagulante.

Las plaquetas probablemente desempeñan un papel en la respuesta inflamatoria acumulándose en sitios de lesión tisular y liberando sustancias que incrementan la permeabilidad vascular, ya que ejercen efectos quimiotácticos sobre los granulocitos.

4.3.1 Adhesión plaquetaria

Cuando la pared de los vasos sanguíneos es lesionada, las plaquetas hacen contacto y reaccionan con el colágeno alrededor de la pared del vaso lesionado. Los grupos amino sobre las moléculas del colágeno son esenciales para iniciar esta reacción con las plaquetas, los iones calcio no son necesarios. Las plaquetas se adhieren a los tejidos conectivos subendoteliales expuestos por medio del factor VIII del plasma, conocido como factor de Von Willebrand, el cual forma parte de la principal fracción de la molécula del factor VIII, factor VIII: AG (factor VIII- antígeno relacionado) (Figura 2). La adhesividad también depende de una glucoproteína localizada en la superficie de la membrana de la plaqueta y que está ausente en el raro síndrome de Bernard-Soulier (GP 1b1s). Esta adhesión provoca la liberación de ADP, serotonina, fibrinógeno, enzimas lisosómicas y factor neutralizante de la heparina. (f. 4plaq) (12)

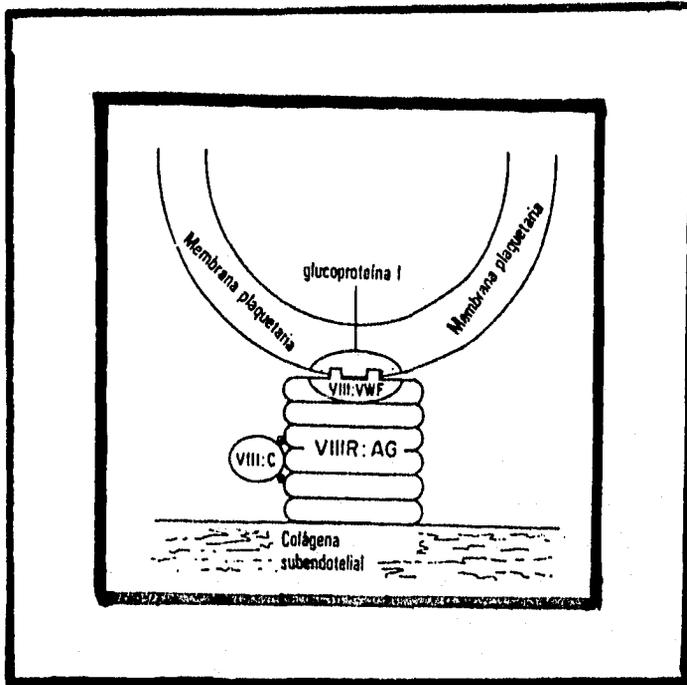


Figura 2. El papel del factor VIII: VWF y del factor VIII: AG en la adhesión de las plaquetas

4.3.2 Agregación plaquetaria

El ADP liberado y el TxA_2 causan la agregación de más plaquetas en el sitio de la lesión. El ADP provoca la distensión de las plaquetas y estimula a las membranas de las plaquetas adyacentes a adherirse entre sí mediante iones calcio los cuales permiten puentes de unión entre ellas. Esta agregación plaquetaria, aumenta la reacción de liberación descargándose mas ADP y TxA_2 lo que provoca una agregación secundaria de las plaquetas. Este proceso autoperpetuante de agregación de plaquetas provoca la formación de una masa plaquetaria lo suficientemente grande para taponar el área de la lesión.

Con el ADP la agregación puede ser reversible, y ocurre en 2 fases, o ser irreversible dependiendo de la concentración usada. Con bajas concentraciones de ADP es agregación reversible. Estas fases de la agregación envuelve el cambio de forma amebolde para formar los agregados (12,20).

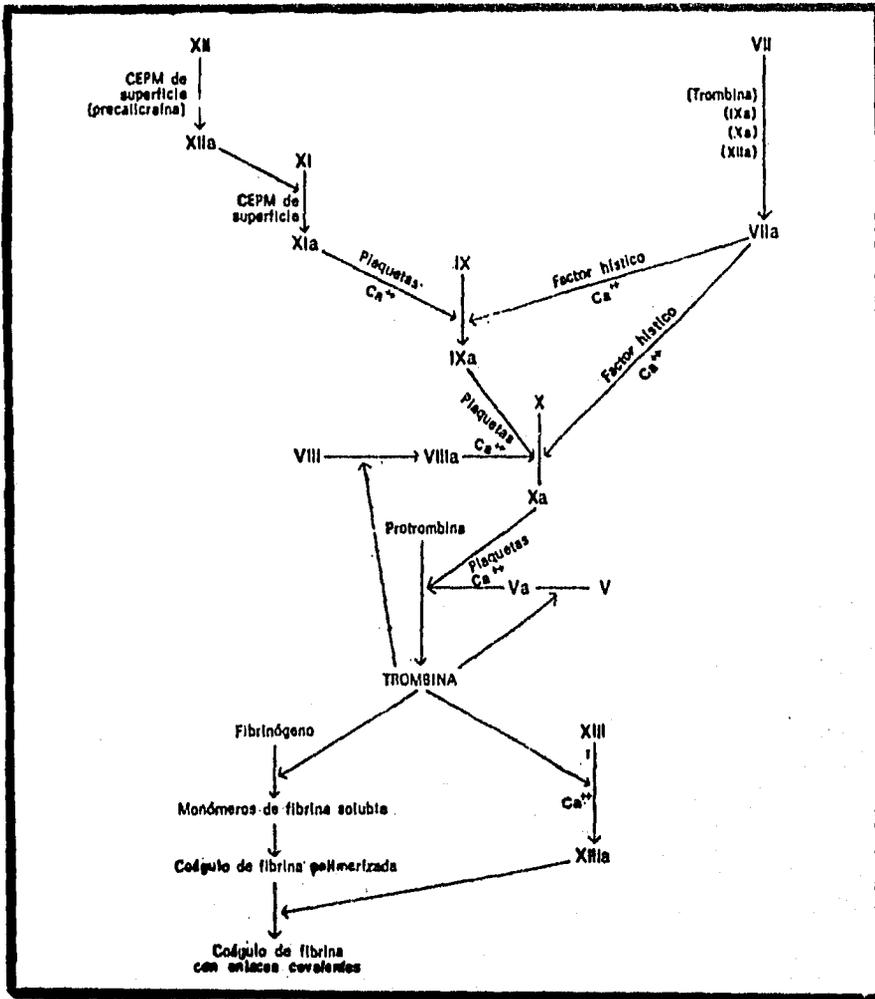
Mediante la activación del sistema de la coagulación se produce la trombina, que actúa como otro estímulo muy potente para la activación de las plaquetas. Mediante la estimulación por la trombina, el colágeno u otros agentes diversos, las plaquetas cambian de forma, pasan de ser discoides o esféricas a formas amebolde, sufren una contracción interna como consecuencia de la centralización de sus gránulos alfa y núcleo denso y finalmente liberan el contenido de dichos gránulos, y dependiendo del estímulo también se liberan el contenido de los lisosomas. Durante el proceso de activación se producen alteraciones en las glucoproteínas de la membrana, que condicionan la formación de receptores para las glucoproteínas plasmáticas, incluido el fibrinógeno y el factor de Von Willebrand. Probablemente, por los puentes que forman estas glucoproteínas en presencia de calcio, las plaquetas muestran en este momento una tendencia

a pegarse no solo a las estructuras subendoteliales, sino también entre sí, produciéndose el fenómeno de la agregación plaquetaria.

4.3.3 Intervención de las plaquetas en la vía de la coagulación.

Las plaquetas también actúan en diversos pasos de la activación de los factores de la coagulación. Se ha demostrado que las plaquetas intervienen en la activación de los "factores de contacto" XII y XI, que aportan superficies lipoproteicas muy ordenadas para la activación de los factores IX, X y protrombina y contienen factor endógeno V, el cual parece desempeñar una función clave para la formación de un receptor para el factor X activado que se sitúa sobre la superficie plaquetaria. Fig. 3 (11)

Tras la estimulación de las plaquetas se sabe que se producen diversos fenómenos y que su interrupción por la existencia de alteraciones adquiridas o congénitas tienen diversos efectos negativos dependiendo del estímulo utilizado. En particular, la movilización del ácido araquidónico de los fosfolípidos de membrana y su metabolismo a través de la vía de la ciclooxigenasa hasta la aparición del potente agente proagregante tromboxano A₂ constituyen un mecanismo intermediario actualmente bien definido, que se produce en respuesta a diversos estímulos plaquetarios.



(fig 3) Vías de la coagulación. En el esquema se indican los pasos de la vía de la coagulación donde participan las plaquetas.

4.4 Metabolismo de las plaquetas.

En la plaqueta existe un metabolismo capaz de cubrir las necesidades propias de la plaqueta, así como el de sus funciones. Para el objeto de el presente trabajo estudiaremos la síntesis de tromboxanos y prostaglandinas

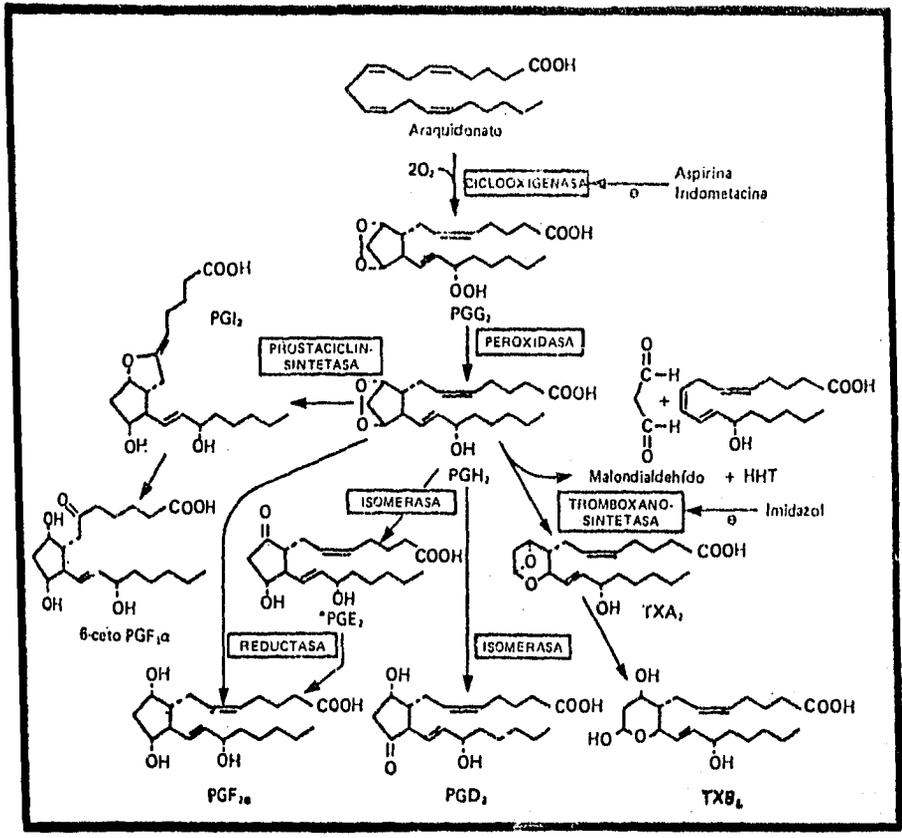
4.4.1 Síntesis de Tx y prostaglandinas a partir del ácido araquidónico. (Vía de la ciclooxigenasa)

Tanto las prostaglandinas como los tromboxanos se sintetizan a partir del ácido araquidónico.

Para que se sinteticen prostaglandinas (PG) es requisito indispensable la disponibilidad de araquidonato libre. Normalmente la mayor parte del ácido araquidónico está esterificado en la posición Sn-2 de los fosfolípidos de las membranas. La prostaglandina sintetasa (PG sintetasa) es la enzima que convierte al araquidonato en las endoperoxidas PGG_2 y PGH_2 .

Hay 2 tipos de estímulos en la liberación del ácido araquidónico, fisiológicas (específicas) y patológicas (inespecíficas), los estímulos fisiológicos liberan exclusivamente araquidonato de la posición Sn-2 de los fosfolípidos. Por el contrario, los estímulos patológicos liberan araquidonato, linoleato, oleato y otros ácidos grasos de la posición Sn-2 de los fosfolípidos. Entre los estímulos fisiológicos podemos señalar las hormonas como la angiotensina II y bradicina y la epinefrina, proteínas como la trombina y ciertos complejos antígeno-anticuerpo. Dentro de los estímulos patológicos podemos considerar el daño mecánico, la isquemia, los venenos activos sobre membranas, algunos ionóforos de calcio, y los promotores de tumores como los ésteres de forbol.

El araquidonato se libera de las plaquetas principalmente a partir de fosfatidil inositol, a través de la acción de fosfolipasas (11,12).



(Figura 4) Conversión del ácido araquidónico a prostaglandinas y tromboxanos de la serie 2. (PG, prostaglandina; TX, tromboxano; PGI, prostacilina; HETE, hidroperoxiheptadecatrieno-tetraenoato; HHT, hidroxihexadecatrienoato). Ambas actividades son atribuidas a una enzima-prostaglandin endoperoxidosintetasa. Conversiones semejantes ocurren en las series 1 y 3.

La segunda etapa de la formación de PG es la conversión del araquidonato a PGH_2 (FIGURA 4), la formación de PGH_2 comprende dos pasos catalíticos. El primero es una reacción de bisdioxigenación, en la cual la enzima ciclooxigenasa inserta 2 moléculas de oxígeno en el ácido araquidónico para dar PGG_2 . El segundo es catalizado por una hidroxiperoxidasa y provoca la reducción del grupo hidroxiperoxi en C-15 del PGG_2 para dar PGH_2 . Las actividades de ciclooxigenasa e hidroxiperoxidasa corresponden a la misma proteína, la PGH sintetasa, que es una hemoproteína.

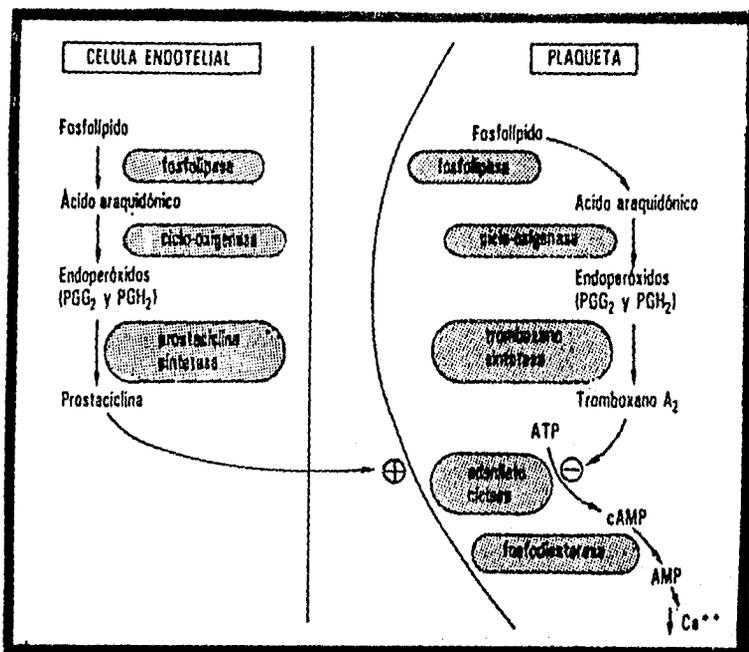
La última fase de la síntesis de PG y tromboxanos (Tx) consiste en la conversión de PGH_2 a las formas activas de las PG, PGE_2 , $\text{PGF}\alpha_2$, PGD_2 , TXA_2 , PGI_2 (fig. 5 y 4). Cada tipo de célula forma uno solo de estos derivados como producto principal. Por ejemplo, las plaquetas sintetizan casi exclusivamente TXA_2 . Las células del endotelio vascular, por el contrario, producen PGI_2 . Aparentemente cada célula que forma PGH sintetasa y una de las enzimas isomerasa o reductasa que cataliza el metabolismo de PGH_2 .

Los fármacos antiinflamatorios no esteroidales ejercen su efecto sobre el componente ciclooxigenasa de la PGH sintetasa, impidiendo la reacción de inserción del oxígeno. Estas drogas parecen compartir con el araquidonato por el centro activo de la enzima. La aspirina además, acetila el residuo de serina del centro activo o de un sitio en la enzima cercano a él. La acetilación no es reversible y la única forma de reestablecer la actividad de la PGH sintetasa es formando nueva enzima. La indometacina también inactiva irreversiblemente a la enzima como inhibidores reversibles de la ciclooxigenasa, como es el caso del Naproxén (11, 12).

La formación del TXA_2 es catalizada por la TX sintetasa, enzima que trabaja en forma semejante al citocromo P-450 en la catálisis del nuevo arreglo del grupo endoperoxido (Figura 4).

La PGI_2 es un vaso-dilatador y una sustancia antitrombogénica, o sea, que evita la agregación plaquetaria. La disminución de la producción de PGI_2 en

los vasos sanguíneos pueden acompañarse del desarrollo de placas ateroscleróticas. La PGI_2 sintetasa también es una activación es el resultado de la interacción del hidroperóxido con el grupo hemo en el sitio activo.



(Figura 5). La síntesis de prostaciclina y tromboxano. Los efectos opuestos de estos agentes son mediados por cambios en la concentración del AMP cíclico en las plaquetas vía estimulación o inhibición de la enzima adenilato ciclasa. El AMP cíclico controla la concentración de los iones de calcio libre en las plaquetas que son importantes en los procesos que causan adhesión y agregación. Los niveles del AMP cíclico son importantes en los procesos que causan adhesión y agregación. Los niveles altos del AMP cíclico provocan concentraciones bajas de iones de calcio libre y evitan la agregación y adhesión.

4.5 Evaluación de la Actividad Plaquetaria

La evaluación analítica inicial de las plaquetas comprende un recuento plaquetario, el cual puede ser instrumental con recuento electrónico de plaquetas o una evaluación de la extensión de sangre periférica. el intervalo de referencia para el recuento plaquetario es de 150 a $400 \times 10^9/l$.

Su función hemostática normal se puede explorar con un tiempo de sangrado. Los tiempos de hemorragia prolongados en estos casos casi siempre se asocian con la ingestión previa de fármacos con acción antiplaquetaria (como la aspirina), la enfermedad de Von Willebrand o ciertas alteraciones plaquetarias congénitas.

Cuando se sospecha de un defecto de la función plaquetaria, se puede tener información mediante el estudio de la agregación y secreción plaquetarias, en respuesta a una batería de agentes estimulantes. Entre los estímulos plaquetarios que actualmente se utilizan se encuentra el colágeno, la adrenalina, el ADP, la ristocetina y el ion calcio. El ácido araquidónico y el crioprecipitado también pueden servir como estímulos útiles. La trombina es difícil de emplear con el plasma rico en plaquetas debido a la interferencia que produce la formación de fibrina. Sin embargo la gama trombina parcialmente tripsinizada puede resultar útil, pues conserva la actividad estimulante de las plaquetas pero carece de gran medida de la actividad coagulante (12).

En una lesión vascular la exposición del colágeno a la acción de la trombina, provoca la liberación del contenido de los gránulos de la plaqueta que incluye ADP, serotonina, fibrinógeno, enzimas lisosomales y factor neutralizante de la heparina (factor 4 plaquetario). La colágena y la trombina activan la síntesis de las PG de la plaqueta (figura 5) provocando la formación de una sustancia lábil, TXA, la cual disminuye los niveles del AMP cíclico (AMPc) de la plaqueta e inicia la reacción de liberación. Esta sustancia no solo potencia la agregación de las plaquetas, si no que también tiene una poderosa actividad

vasoconstrictora. La reacción de liberación del contenido de los gránulos es inhibida por sustancias que aumentan el nivel del AMPc de la plaqueta. Una de estas es la PGI₂ la cual es sintetizada por células endoteliales vasculares. Esta es un inhibidor potente de la agregación de las plaquetas y probablemente evita su depósito sobre el endotelio vascular normal.

No obstante tras el bloqueo completo de esta vía por medio de potentes agentes inhibidores de la ciclooxigenasa, como el ácido acetilsalicílico, la trombina, el colágeno todavía son capaces de producir respuestas completas de agregación. Excepto en el caso de la aglutinación celular simple, como la inducida por la ristocetina, todos los agentes agregantes de las plaquetas exigen la presencia de iones calcio libres. Es posible que las funciones del calcio en la fisiología plaquetaria sean múltiples e incluyan la puesta en marcha de fenómenos contractiles, secretores y la formación o desenmascaramiento de receptores de membrana. Lógicamente, los agentes que interfieren con los flujos de calcio intraplaquetario (anestésicos locales), las proteínas ligadas del calcio (fenotiacinas) o el calcio libre extracelular (agentes quelantes) tienen efectos inhibidores en las pruebas de función plaquetaria (11, 12).

4.6 Trastornos plaquetarios cuantitativos.

Trombocitopenia.

La disminución del número de plaquetas circulantes puede deberse a múltiples causas:

4.6.1 Trastornos de la producción

1. Distribución de la megacariopoyesis

a). Trastornos congénitos (anemia de Fanconi, fármacos o infecciones intrauterinas.)

b). Hipoplasia adquirida (radiación, sustancias químicas, alcohol, insecticidas, fármacos con tiacidas, cloranfenicol o agentes quimioterápicos anticancerosos, infecciones, Les idiópático.)

- c). Afectación medular (carcinoma metastásico, mieloma, leucemia, linfoma, mielofibrosis, aplasias medulares , en los que la grasa , tejido fibroso o ambos reemplazan los tejidos medulares normales, trastornos infiltrativos de la medula en la que los blastos reemplazan los elementos medulares normales.

2. Producción plaquetaria Ineficaz.

- a). Trombocitopenia hereditaria (autosómica dominante, anomalía de Hay-Hegglin, síndrome de Wiskott-Aldrich.)
- b). Deficiencia de vitamina B12 o folato (trombocitopenia de las anemias megaloblasticas, trombocitopenia provocada por el alcohol. El consumo intenso de alcohol puede provocar una trombocitopenia importante a causa de su efecto supresor sobre la trombopoyesis, a menudo asociada con un déficit de folato, (después de que el paciente deja de beber, la cifra de plaquetas puede experimentar un rebote transitorio hacia niveles muy elevados).
- c). Otros (síndrome de DiGuglielmo, hemoglobinuria paroxística nocturna, Síndrome mielodisplásica.)

4.6.2 Trastornos de la distribución y dilución (trombocitopenias por hiperesplenismo.) Los hallazgos típicos son: esplenomegalia importante, trombocitopenia moderada y número normal o aumentado de megacariocitos en la médula ósea.

- 1. Secuestros esplénicos (trastornos congestivos, infiltrativos, inflamatorios, infecciosos, hiperplásicos, neoplásicos.) en la cirrosis con hipertensión portal y enfermedad de Gaucher.
- 2. Hipotermia.
- 3. Dilución por transfusión de sangre conservada.

4.6.3 Trastornos por destrucción

- 1. Consumo combinado
 - a). Venenos de serpientes

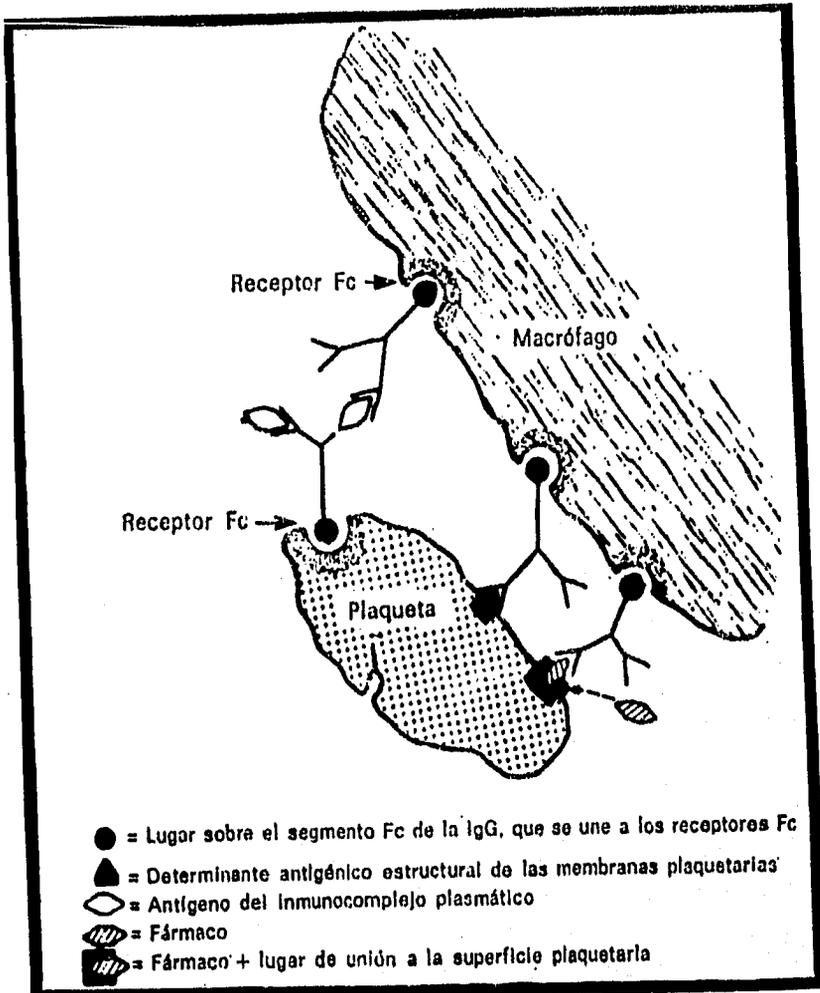
b). Lesiones histicas (quirúrgicas, traumatismos, anoxia, necrosis tóxica,)

c). Complicaciones obstétricas (aborto, placentas, retención del feto muerto, embolismo del liquido amniótico, toxemia)

d). Neoplasias (leucemia promielocítica, carcinoma, hemangloma)

e). Infecciones (bacterianas, víricas, rickettsiasis.) trombocitopenia causada por la eliminación de las plaquetas recubiertas de IgG, por el sistema mononuclear fagocítico. La IgG puede unirse a la superficie plaquetaria por tres mecanismos. En uno de ellos la IgG se une, por medio de sus lugares de combinación antigénica (segmento Fab), a los determinantes antigenicos que forman parte de la estructura normal de la superficie plaquetaria. En el segundo mecanismo, la IgG se une por su segmento Fab al determinante antigenico que se forma cuando un fármaco se fija en un lugar de unión de la membrana plaquetaria. En el último mecanismo, la IgG de los inmunocomplejos se une por un lugar de su segmento Fc a los receptores Fc de la superficie plaquetaria. La trombocitopenia es resultante del recubrimiento de las plaquetas (fig. 6).

f). Hemólisis intravascular.



(Figura 6) Ilustración de los mecanismos por medio de los cuales un anticuerpo de tipo IgG, puede unirse a la membrana superficial plaquetaria, con la consiguiente eliminación de las plaquetas recubiertas de IgG, mediante su unión a los receptores Fc de los macrófagos.

2. Consumo aislado de plaquetas.

- a). Púrpura trombocitopenica trombotica. En este trastorno las plaquetas pueden lesionarse por una sustancia agregadora plaquetaria. La trombocitopenia es consecuencia del depósito de las plaquetas lesionadas en pequeños trombos de plaquetas diseminados por múltiples órganos, así como probablemente a causa de la eliminación de las plaquetas lesionadas mediante el sistema mononuclear fagocítico.
- b). Síndrome urémico hemolítico, en el cual una infección que produce una endotoxemia que desencadena un episodio de coagulación intravascular diseminado. Por motivos desconocidos el sistema mononuclear fagocítico no es capaz de eliminar la fibrina circulante depositándose en los vasos glomerulares, dado que la actividad fibrinolítica local (que según se sabe, se halla disminuida en el embarazo) no provoca la lisis de la fibrina depositada. Por consecuencia, los depósitos persisten y dan lugar a lesiones glomerulares e insuficiencia renal, fragmentación de los hematies, hemólisis y trombocitopenia.
- c). Vasculitis (lupus eritematoso diseminado, otras colagenopatías, bacteremia.)
- d). Prótesis cardiopulmonares.

4.6.4 Destrucción Inmunitaria.

- a). Autoinmune (púrpura trombocitopenica Idiopática) Esta es desencadenada por la síntesis de un anticuerpo frente a un antígeno vírico, o a otro antígeno desconocido. El anticuerpo se une en forma de inmunocomplejos, a los receptores Fc plaquetarios, o bien lo hace, por sus lugares de unión, con el antígeno vírico que se ha depositado sobre la plaqueta. Recientemente se ha visto que anticuerpos plaquetarios de algunos pacientes con PTI, reaccionan con epítopos situados sobre glucoproteínas específicas de la membrana plaquetaria, como por ejemplo, sobre GpIIIa o GpIb.

4.6.5 Trombocitopenia combinada (12, 13, 20).

- a). Hepatopatía alcohólica.
- b). Enfermedades linfoproliferativas

c). Circulación extracorpórea.

4.7 Trastornos hereditarios de la función plaquetaria

Hay un gran número de trastornos hereditarios que afectan la función plaquetaria de los cuales se presentan algunos en la siguiente tabla .

TIPOS PRINCIPALES	PATRÓN DE AGREGACIÓN CON PLASMA RICO EN PLAQUETAS	LIBERACIÓN DE ATP Y SEROTONINA	HERENCIA	OTRAS ANOMALÍAS CARACTERÍSTICAS
trombastenia de Glanzmann	muy disminuida con todos los agentes, excepto la ristocetina	normal con la trombina, el ionoforo de calcio y la ristocetina puede estar disminuida con el colágeno el adp y la adrenalina	autosómica recesiva	retracción del coagulo disminuido; las plaquetas no forman grumos en la extensión de sangre periférica; las glucoproteínas IIb y IIIA están disminuidas o ausentes; disminución del receptor del fibrinógeno, los antígenos Zw (PL) y Zw y la alfa-actinina; el fibrinógeno plaquetario interno puede estar disminuido.

enfermedad de Bernard-Soulier	muy disminuida en la ristocetina, sin corrección por el factor de Von Willebrand; disminuida con la trombina Respuesta normal a otros agentes	disminuida en la ristocetina	autosómica	las plaquetas aparecen en la extensión de sangre periférica de mayor tamaño y con frecuencia en escasa cantidad; disminución de las glucoproteínas Ib, Is y posiblemente v; disminución de los receptores para los anticuerpos dependientes de la quinidina; disminución de la adhesividad a las perlas de vidrio o al subendotelio.
enfermedad de Von Willebrand.	aumentada con bajas concentraciones de ristocetina; la adición de crioprecipitado produce por si misma agregación; respuesta normal a otros agentes.	el crioprecipitado produce por si mismo liberación; normal con otros agentes.	autosómica	Cuentas normales de plaquetas disminución selectiva de los polímeros del factor de Von Willebrand, de mayor peso molecular en el plasma; aumento de la unión de la unión de las plaquetas del factor de Von Willebrand normal.

<p>deficiencias de los gránulos densos (síndrome de Hermansky-Pudlak, Chediak-Higashi, Wiskott-Aldrich y trombocitopenia con aplasia de radio o como anomalía aislada.</p>	<p>disminución de la agregación, particularmente de la segunda fase, con los agentes débiles; habitualmente, respuesta normal al ácido araquidónico, el ionoforo de calcio y las concentraciones elevadas de los agentes más débiles.</p>	<p>disminuida</p>	<p>autosómica (excepto en el síndrome de Wiskott-Aldrich, que está ligado al sexo)</p>	<p>disminución del contenido de los gránulos densos de ADP, ATP, 5-ht y calcio; aumento de la proporción total de ATP/ADP en las plaquetas; albinismo oculocutáneo y depósito de cuerpos ceroides en el sistema retículo endotelial en el síndrome de Hermansky-Pudlak; trombocitopenia asociada con los síndromes de Chediak-Higashi, Wiskott-Aldrich y trombocitopenia; disminución de la supervivencia de las plaquetas autólogas y aumento de la IgG asociada con las plaquetas en el síndrome de Wiskott-Aldrich</p>
--	---	-------------------	--	---

deficiencia de gránulos alfa (síndrome de las plaquetas grises)	disminuida con todos los agentes	disminuida con todos los agentes	autosómica	grandes plaquetas de color pálido en la extensión de sangre periférica, junto con trombocitopenia; disminución de los gránulos alfa a microscopía electrónica; disminución del contenido celular de fibrinógeno plaquetario, factor plaquetario 4, beta-tromboglobulina y factor de crecimiento derivado de las plaquetas.
deficiencia derivada de gránulos densos y alfa.	disminuida	disminuida		heterogeneidad de las deficiencias de gránulos

defecto del metabolismo del ácido araquidónico plaquetario (deficiencia de ciclooxigenasa plaquetaria)	disminución con los agentes débiles; sin respuesta al ácido araquidónico, pero respuesta normal a los endoperóxidos plaquetarios	disminuida con los agentes débiles; respuesta normal a los endoperóxidos plaquetarios.		la formación de productos de la lipooxigenasa a partir del 14-C-ácido araquidónico exógeno parece normal.
--	--	--	--	---

<p>trastornos aislados de la agregación, la liberación o ambas; como hallazgo concomitante en diversos trastornos que incluyen el síndrome de Epstein, la anomalía de May-Hegglin, las alteraciones hereditarias de tejido conjuntivo, la enfermedad por almacenamiento del glucogeno tipo I, la deficiencia de fructosa 1-6-difosfatasa, el síndrome de Down y algunas cardiopatías congénitas</p>	<p>variable</p>	<p>variable</p>		<p>heterogeneidad de defectos.</p>
---	-----------------	-----------------	--	------------------------------------

4.8 TRASTORNOS DEBIDO A LA ADMINISTRACIÓN DE FÁRMACOS

Existe una lista muy grande de fármacos que entre sus reacciones adversas tienen la de inhibir la función plaquetaria:

Agentes que afectan la síntesis de las prostaglandinas:
Aspirina
Corticosteroides
Otros (Indometacina, fenilbutazona, ibuprofen, fenprofén, naproxeno, sulfiniplazona, furosemida, vitamina E)
<u>Activadores de la adenilatoclasa</u>
Prostaglandinas (prostaciclina, PGE, PGD ₂)
Otros (Isoprenalina, adenosina)
<u>Inhibidores de la fosfodiesterasa</u>
Pirimidopirimidinas (dipiridamol)
Metilxantinas (cafeína, teofilina, aminofilina, papaverina)
<u>Agentes antimicrobianos</u>
Penicilinas y cefalinas (carbenicilina, penicilina G, ticarcilina, ampicilina, cefalotina)
Otros (nitrofurantoina, ristocetina, hidroxiquina)
<u>Agentes estabilizantes de la membrana</u>
Anestésicos locales (procaína, xilocaína)
Antihistamínicos (difenhidramina, prometacina)
Antidepresivos tricíclicos (imipramina, nortriptilina)
<u>Agentes bloqueantes simpáticos</u>
α - Antagonistas (fentolamina)
β - antagonistas (propranolol)
<u>Fármacos diversos</u>
Heparina
dextranos
etanol
otros (fenotiacinas, clofibrato, halofenato, reserpina, metloergida)

Por otra parte se ha demostrado la presencia de un mecanismo alérgico como la causa de muchos de las trombocitopenias provocados por fármacos. Hay indicios de anticuerpos (Ac) inducidos por fármacos en pacientes que sufren trombocitopenia en asociación con una terapia que incluyen los fármacos antes mencionados. En estas el Ac esta dirigido contra un Ag fármaco-proteína plasmática y los complejos inmunes circulantes son adsorbidos sobre la plaqueta (figura 6). Que luego es eliminada por las células del sistema fagocítico mononuclear debido a que está cubierta por inmunoglobulinas o complemento. Si la secuencia del complemento esta completamente activada, las plaquetas se destruyen directamente en la circulación (12,20).

4.9 PSEUDOTROMBOCITOPENIA

En cuanto a la pseudotrombocitopenia, se define como una trombocitopenia no real; es decir, existe la posibilidad de que "in vitro" se induce a una trombocitopenia por varias vías dañando la función y estructura plaquetaria pero "in vivo" las características de plaquetas y aun el número de estas es normal.

Las causas más frecuentes de pseudotrombocitopenia son:

- Agregación "in vitro" por EDTA.
- Satelitismo plaquetario (plaquetas adheridas a los leucocitos).
- Aglutininas frías (antiplaquetas)
- Errores preanalíticos (métodos incorrectos cuando procesan la sangre o uso de insuficiente anticoagulante).
- Algunos estados de hipercoagulación (5).

Existen varias publicaciones donde reportan una cuenta de plaquetas baja en sangre anticoagulada con EDTA, puede ser causada por aglutininas plaquetarias dependientes de EDTA en el plasma. Se encontró que estas

aglutininas son inmunoglobulinas de tipo IgG, IgM y raras veces IgA. Con una prevalencia de IgG (1, 6, 7, 18).

Es improbable que los Ac plaquetarios dependientes de EDTA reaccionan directamente contra el mismo EDTA. Ellos tal vez reaccionan cruzadamente con anticuerpos dirigidos contra una sustancia química natural relacionada con EDTA o tal vez son dirigidos contra un determinante antigénico escondido de los grupos IIb/IIIa de la membrana plaquetaria, o bien a otros antígenos crípticos que se expresan a bajas concentraciones de calcio, situación que se presenta cuando se emplea EDTA como anticoagulante en muestras sanguíneas de estas plaquetas (1).

Usando un método inmunofluorescente se encontró que el enlace Ac-plaqueta es estrictamente dependiente de EDTA. La reacción es vía receptores Fc plaquetarios y tomando lugar con la fracción Fab del Ac. (18)

Los Ac dependientes de EDTA reaccionan con plaquetas de donadores normales, independientemente de su grupo plaquetario, pero no con plaquetas de pacientes con enfermedad de Glanzmann. Hasta ahora, las glucoproteínas de membrana IIb/IIIa (GP IIb/IIIa), las cuales están ausentes en esta enfermedad, parecen estar involucradas en la reacción de Ac dependiente de EDTA. (1 y 18)

Las glucoproteínas plaquetarias IIb/IIIa, son un miembro de las familias de Integrinas y tienen un papel crucial en la hemostasia por enlazar al fibrinógeno y el factor de Von Willebrand durante la formación del tapón plaquetario. La GP IIb/IIIa es un heterodímero dependiente de Ca^{2+} . La remoción del calcio por quelación causa pérdida del receptor funcional de la gp IIb/IIIa, y a temperatura de 25°C la disolución del complejo gp IIb/IIIa dentro de sus subunidades individuales. El enlace del Ca^{2+} por EDTA también afecta a la formación del complejo gp IIb/IIIa en algunos epítipes evidentes para Ac aglutinantes plaquetarias. La disociación del complejo después de la

Incubación de plaquetas a 37°C disminuyó fuertemente la expresión de estos epítopes y previno el descubrimiento de pseudotrombocitopenia. (2, 18)

El epítipo al cual las aglutininas se enlazan parece estar relacionado con el Ac monoclonal LJCP8, el cual actúa contra el receptor citosólico para gp IIb/IIIa de plaquetas estimuladas o no estimuladas, ya que con todas las variantes del anticuerpo monoclonal LJCP8 se previno los acúmulos de plaquetas. Además del anticuerpo monoclonal LJCP8, la pseudotrombocitopenia puede ser prevenida por el péptido RGD, el cual es una secuencia de reconocimiento para las proteínas adhesivas por lo que esto sugiere que ambos eventos son consecuencia de ocupar el mismo sitio. (2)

Se ha descubierto también un Ac antiplaqueta IgM/λ contra el Ag plaquetario GP7B por técnica de inmunofluorescencia. La interacción de este Ag fue confirmada por preincubación de las plaquetas con anti-GP7B monoclonales, de las cuales inhibieron la aglutinación inducida a propósito con suero puesto en EDTA. El antígeno GP7B KD de la membrana plaquetaria es un determinante antigénico recientemente descubierto por Hayashi y asociados usando un HLP-5 Anticuerpo monoclonales (MoAb); y reportan que este Ag no interviene en ninguna función plaquetaria. M. de Caterina y Col. (7) reportan que el receptor para GP7BKD y GP II/IIIa están relacionadas. En efecto, cuando ambos receptores fueron inhibidos por Ac's el acumulo no ocurrió.

El fibrinógeno soluble no parece ser necesario para este evento porque los acúmulos de plaquetas pueden ser inducidos en sangre de pacientes afibrinogénicos por las aglutininas del paciente. De otra manera, los acúmulos plaquetarios parecen requerir un metabolismo plaquetario normal así como un inhibidor de la activación de las plaquetas tal como las prostaglandinas la y aspirina que previenen el fenómeno. La inhibición de los acúmulos de plaquetas viene siendo evidente a dosis significativamente altas que a dosis que normalmente inhiben la función plaquetaria. Esto puede explicar la

característica de la administración del ácido acetil salicílico (ASA) para modificar la pseudotrombocitopenia *in vivo*. (2)

Este fenómeno de pseudotrombocitopenia y el fenómeno de pseudoleucocitosis se observa en los aparatos Coulter 5+ PLUS, el STKR y STKS "Ortho" ELT-8 y el ELT-8/ds entre otros. La pseudoleucocitosis es un fenómeno secundario a la pseudotrombocitopenia dependiente de EDTA. La formación de cúmulos de plaquetas que permanecen intactos son contados por el aparato como leucocitos. Esto no es un problema común en hematología pero es una alarma en los aparatos láser. El fenómeno de pseudoleucocitosis y pseudotrombocitopenia son dependientes del tiempo, (entre el curso de la toma de sangre en EDTA y el análisis del instrumento). La toma de muestra con heparina es recomendable para evitar estos problemas excepto si se usa un aparato ELT (ORTHODIAGNOSTICS) ya que la heparina precliptara con el reactivo lisante usado en el aparato. (3, 4, 14)

Se analizó la pseudotrombocitopenia en diferentes anticoagulantes, (EDTA, heparina, citrato de sodio entre otros). Usando una mezcla de anticoagulantes, teofilina, citrato de sodio, ac. cítrico y adenosina y diltiazem (CTAD), se encontró que los acúmulos de plaquetas ocurrieron en una menor proporción. Además del Ag GP7B sobre la membrana plaquetaria, mencionado anteriormente, puede ser medido solamente en CTAD, esta evidencia sugiere que el Ag gp7B no fue enmascarado por el Ac relacionado con CTAD. La mezcla de anticoagulantes inhibe la activación de las plaquetas esencialmente por incremento de la cantidad de AMP cíclico. Este efecto puede ser importante para una expresión reducida de Ag de membrana plaquetaria en plaquetas colectadas en CTAD compartido con EDTA. (7,8).

También se usó ácido citrato dextrosa y los resultados fueron muy favorables pues se previene la pseudotrombocitemia pero no es siempre completa.

Algunos estudios demostraron que la heparina es el segundo anticoagulante de elección aunque la heparina ha mostrado interactuar con las plaquetas *in vitro* y ésta interacción depende principalmente de las características del peso molecular de la heparina. En el Coulter Modelo 5 Plus II aparece pseudotrombocitopenia mientras la pseudoleucocitosis es en la mayor parte evitable con heparina (8)

Se ha visto que un grupo de personas que tiene anticuerpos anti-heparina han sido sensibilizados anteriormente con heparina y la manifestación clínica más común es la trombocitopenia. A estos pacientes que necesitan una dosis de heparina para evitar un tromboembolismo entre otras enfermedades, se les puede administrar heparina de bajo peso molecular, o heparinoides para disminuir el riesgo de trombocitopenia inducida por la heparina. (ref. 10)

5. Material y Método

Pacientes.

Se estudiaron 48 pacientes que acudieron al Laboratorio de Hematología del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional (IMSS Siglo XXI) en el Distrito Federal. Estos pacientes se eligieron de acuerdo a que presentaban en sus resultados del análisis de sangre, acúmulos plaquetarios y trombocitopenia. En ausencia de otras alteraciones hematológicas.

Toma de muestra.

Una vez que a estos pacientes se les selecciono de acuerdo a los criterios citados anteriormente se les tomo una muestra de sangre anticoagulada con EDTA y una muestra de sangre anticoagulada con heparina. Para esto se uso el sistema de vaclo (Becton Dickinson Vacutainer).

Técnica de toma de muestra.

1. Se verificó que las etiquetas impresas por el computador coincidieran con las solicitudes.
2. Se identificó al paciente comprobando la identificación con las etiquetas y las solicitudes.
3. Se ha de colocar adecuadamente al paciente, según éste se encuentre sentado o en de cúbito prono, para tener acceso fácil y cómodo a la fosa antecubital.
4. Hay que preparar todo el material incluidos los tubos para la recogida de muestra, el torniquete las torundas, al agujas, y la camisa del vacutainer.
5. Se solicita al paciente que cierre el puño para que las venas resulten más palpables.
6. Se aplica el torniquete varios centímetros encima de la zona de punción. No hay que dejar nunca el torniquete más de un minuto.
7. Se selecciona una vena adecuada para la punción. Se prefieren las venas de la fosa antecubital, en particular la cubital interna. También pueden utilizarse las venas de la muñeca, el tobillo y la mano.

8. Si existiera ya un catéter intravenoso en un brazo, se utilizara el otro para la extracción de la muestra.

9. Se limpia la zona de venopunción con la torunda embebida en solución de alcohol isopropilico al 70% o yodopolidona al 1%. Se comienza en el punto de la punción y se prosigue la limpieza hacia afuera. Siguiendo un movimiento en espiral. Se deja que la zona se seque y no se toca con ningún objeto que no haya sido esterilizado previamente.

10. Se realiza la venopunción. a) Se penetra a través de la piel con la aguja formando un ángulo de aproximadamente 15°, con el brazo y con el bisel hacia arriba. Se sigue la dirección de la vena con la aguja. b) Se introduce la aguja con suavidad, pero con la suficiente rapidez para reducir las molestias del paciente. c) El tubo al vacío, en cuanto la aguja haya penetrado la vena, se dirigirá todo lo posible hacia adelante en la camisa del vacutainer. Al mismo tiempo se sujeta tenuemente la aguja en su lugar. Cuando la sangre empiece a fluir se suelta el torniquete. Una vez que se haya llenado el tubo, se retira, cogiéndolo por su extremo y tirando suavemente de él.

11. Una vez que se haya extraído toda la muestra, hay que indicar al paciente que relaje el puño.

12. Se coloca suavemente sobre el punto de la punción una torunda impregnada de alcohol. Se extrae la aguja y se ejerce presión sobre la zona.

13. Se mezclan los tubos con el anticoagulante de tal manera que no se provoque la hemólisis.

14. Se comprueba el estado del paciente se verifica, por ejemplo, si se ha mareado y si la hemorragia esta controlada.

15. Se elimina el material contaminado: agujas, algodones, etc.

16. Se marcan las etiquetas y se registra la hora en que se extrajeron las muestras.

17. Se envían los tubos de sangre para su análisis.

Método.

El número de plaquetas y otros parámetros hematológicos fueron determinados por el contador electrónico STKS (Coulter) cuyo principio está basado en un triple análisis (Impedencia eléctrica, alta frecuencia y rayo láser).

Desarrollo experimental.

En estudio prospectivo-retrospectivo se estudiaron los expedientes de pacientes con trombocitopenia y plaquetas agregadas, descartando aquellos con alguna otra alteración del resto de los elementos formes de la sangre.

Se tomó muestra de sangre con EDTA y heparina a los pacientes en los que se encontró los parámetros antes mencionados y se efectuó la biométrica hemática en el contador electrónico (COULTER STKS)

6. Resultados.

Estudio prospectivo-retrospectivo para cada paciente.

En seguida se presenta una serie de tablas en las cuales se repartan los datos mas sobresalientes de los pacientes a los que se les realizo su estudio retrospectivo en sus expedientes clínicos.

6.1.1 Tabla 1

Paciente	Sexo	Edad (años)	G. S.	Transfusiones	Ocupación
1	F	79	O+	SI	HOGAR
2	M	52	-	SI	MECÁNICO
3	F	40	O+	SI	HOGAR
4	F	25	-	-	SECRETARIA
5	F	37	O+	SI	EMPLEADA
6	F	39	-	SI	HOGAR
7	F	64	-	NO	HOGAR
8	F	40	O+	SI	HOGAR
9	F	72	-	-	HOGAR
10	F	69	A+	SI	HOGAR
11	M	42	-	-	ENFERMERO
12	M	53	O+	SI	TÉCNICO
13	M	48	-	NO	EMPLEADO
14	F	16	-	SI	HOGAR
15	F	57	AB+	SI	HOGAR
16	F	48	B+	-	HOGAR
17	M	65	O-	SI	PENSIONADO

18	F	39	Subtipo RM poco habitual	SI	HOGAR
19	M	70	A+	SI	PENSIONA DO
20	M	49	O+	SI	EMPLEAD O
21	F	52	-	-	ENFERME RA
22	F	68	-	SI	HOGAR
23	F	73	-	SI	HOGAR
24	M	69	O+	-	PENSIONA DO
25	F	63	O+	SI	HOGAR
26	F	63	-	-	HOGAR
27	M	66	-	-	VENTAS
28	M	69	-	-	OBRERO
29	F	36	-	-	HOGAR
30	F	28	A+	SI	HOGAR
31	F	69	-	SI	HOGAR
32	F	76	-	-	HOGAR
33	F	56	O+	SI	HOGAR
34	M	56	A+	SI	HOGAR
35	M	44	O+	SI	CONDUCT OR
36	F	45	O+	NO	HOGAR
37	F	66	-	SI	HOGAR
38	M	39	-	-	CONDUCT OR
39	M	28	A+	SI	EMPLEAD O

40	F	49	-	-	HOGAR
41	F	-	-	-	HOGAR
42	F	73	-	SI	MÉDICO
43	F	65	O+	SI	-
44	M	-	-	-	-
45	M	68	O+	-	-
46	F	58	O+	SI	HOGAR
47	M	-	-	-	-
48	F	47	O+	SI	HOGAR

El rango de edad encontrado fue de 37-79 años, encontramos también una persona de 16 años, otras de 27 y 28 respectivamente. Esto es lógico de pensar ya que el C.M.N. es un hospital en donde la mayoría de sus pacientes son adultos. El 36% de los pacientes fueron hombres y el 64% fueron mujeres. Dentro del grupo sanguíneo encontramos la variedad del sistema ABO predominantemente el O+.

Encontramos una persona que tiene un subtipo Rh poco habitual. El 50% de las personas que no tienen reportado su grupo sanguíneo es debido a que en su expediente no se encontró reportado y los pacientes no lo saben.

Las personas que previamente habían recibido una transfusión sanguínea fueron un 58% un 6.3% de los pacientes no recibieron transfusión anterior y a un 36% se ignora.

En cuanto a la ocupación de estos pacientes es irrelevante la relación ya que la mayoría es ama de casa y las ocupaciones son totalmente distintas. No se detectaron pacientes que refieran contacto con sustancias mielotóxicas.

6.1.2 Tabla 2

Manifestaciones Clínicas y antecedentes hereditarios.

Pacien- te	Motivo de Ingreso	Antecedentes hereditarios
1	-Trombocitopenia asintomática -Dacrioretino plastia -Catarata	-
2	-Cirrosis hepática alcohólica -Hipertensión portal	Madre con cáncer de piel
3	-Cirrosis hepática poshepatitis tipo C -Hipertensión portal -Bicitopenia por hiperesplenismo	-
4	-Rinitis mixta -Asma bronquial alérgica	-Abuelo hipertenso -Padre con diabetes mellitus
5	-Hepatitis virica tipo C con coma hepático. -Bicitopenia	-Abuela con asma bronquial -Madre con hipertensión arterial sistemática y Diabetes mellitus.
6	-Hepatitis viral -Cirrosis hepática -Diabetes mellitus II en control -Colangitis residual	-Abuelo con cirrosis hepática -Abuela con diabetes mellitus -Padre con diabetes mellitus
7	-Diabetes mellitus II descontrolada -Hepatopatía crónica -Alteraciones plaquetarias -Artralgias	-Abuela IDM -Madre con DM II y cardiopatía -Hermana con DM II
8	-Hepatitis C -Anemia aplásica severa -Leucopenia y trombocitopenia	-Madre muerta por epilepsia -Abuela muerta tuberculosis -Padre y hermana muerta CHA

	-Anemia hemolítica por transfusión	
9	-Trombocitopenia en estudio asintomática -Hipertensión arterial sistémica	-Abuelo muerto problemas cardiacos -abuela muerta problemas respiratorios -Padre leucemia mielóide -Madre muerta cardiopatía congénita
10	-Trombocitopenia en estudio asintomática -Colestitis crónica	-Madre muerta por DM y HTA -Padre con HTA
11	-Hepatopatía por virus C	-Madre muerta por diabetes mellitus II
12	-Hematuria, dolor de flanco izquierdo irradiado a testículo -Problemas cardiacos -Gingivorrea -Disminución del calibre de la uretra	-Madre con Diabetes mellitus
13	-Cirrosis hepática tipo C - HTP -Varices esofágicas	-Madre hipertensa -Hermano con cirrosis hepática alcohólica
14	-Pancreatitis aguda -Infecciones Bacterianas -Litiasis vesicular -Diabetes mellitus	- Tío con diabetes mellitus
15	-Lupus eritematoso sistémico sin manifestaciones -Trombocitopenia -Diabetes mellitus II -Exposición virus hepatitis B	-Padre muerto Diabetes mellitus y cáncer --Abuelo con diabetes mellitus -Tío con insuficiencia renal crónica

		Hija con acondroplasia -Prima con lupus eritematoso sistémico -Primo con espondilitis
16	-Trombocitopenia en estudio -Micridenoma hipofisario	-Abuelo problemas de próstata -Padre insuficiencia venosa aparente cardiopatía izquímica -Madre y tía con MTA -- Siete hermanos con MTA - Un hermano muerto PTI
17	-Lesión angiomatosa	-Padre muerto por bronconeumonía -Madre muerta insuficiencia renal -Hermano muerto cáncer rectal -Hermano muerto D. M. -Hermana muerta IAM -Hija muerta encefalitis
18	-Trombocitopenia	-
19	-PTI -Tifia pedal	-Padre muerto enfisema pulmonar -Madre muerta en su segundo parto
20	-Diabetes mellitus II -HTA -Gastroenteritis infecciosa -Insuficiencia renal -Mieloma múltiple	-
21	-Infección urinaria Crónica -Insuficiencia venosa crónica -Púrpura trombocitopenica asintomática.	-Abuela muerta con Diabetes mellitus -Abuelo muerto probable gangrena

		-Abuela problemas reumáticos -Padre muerto MTAS.
22	-Litiasis uretral -Hipertensión arterial sistémica	-Madre muerta ascitis -Hermana DM
23	-Cirrosis hepática -MTP -GTDA -Rinitis atrofia bilateral	-Padre muerto IAM -MADRE muerta IAM -Hermanos DM -Hermano muerto DM
24	-Trombocitopenia asintomática -Hiperglucemia (DM)	-
25	-Edema en piernas -Osteoporosis -DM	-Madre muerta por artritis reumatoide -Hermano muerto por hepatitis -Hermano portador de MTAS
26	-Hepatopatía debida a virus C -Colesistectomía -Bicitopenia -Trombocitopenia	-Hermano con DM -Hermana con DM -Hija con DM
27	-Síndrome postpolio. -Síndrome anémico. -Trombocitopenia	-Hermana e hijo con DM -Hermana con HTA y neurilémica. -Madre con cancer en el estómago.
28	-Trombocitopenia -Osteoartritis	-Hermano con DM -Hermana con DM -Hija con DM
29	-Espondilitis anquilosante -Colangitis esclerosante -Trombocitopenia	-Abuela con DM
30	-Leucemia linfocítica aguda	-
31	-Dermatosis -Trombocitopenia en estudio	-Padre muerto cardiopatía hipertensión

		-Madre muerta insuficiencia renal por síndrome uremico. -Hermana y hermano cardiopatías
32	-Trombocitopenia -Alteraciones hepáticas -Esplenomegalia	-Hermano muerto Cáncer gástrico
33	Trombocitopenia -DM -Colesistitis crónica litiasica	-Madre muerta EVC embolico -Hermana hipertensión y con artritis -Hermano nefropatia -Hermano portador de cardiopatía -Hijas portadoras nefropatia
34	-DH, retinoplastia -Tiña de los pies	-Madre con cirrosis hepática
35	-Catarata -Retinopatía -DH	-Hermano muerto enfermedad pancreática -Hermano con DM -Hermano con MTAS
36	-Leucemia linfocítica aguda	-Padre con cirrosis hepática -Tía con DM
37	-HTDA por varices esofágicas -HTP -Cirrosis hepática por virus C	-Madre fallecida por TBP -Dos tíos con DM no insulino dependiente
38	-Leucemia granulocítica crónica	-
39	-HIV -Cirugía maxilo facial -Onicomicoeosis blanca	-Abuelo muerto por DM -Madre muerta cáncer gástrico con MTAS
40	-Urticaria -Angioedema Onicomicoeosis	-Abuelo muerto portador de cardiopatía

	HTP	
41	-HIV	-Hermana con DM
42	-Cirrosis hepática por virus C -HTA -HTDA debida a MTP	-DM -HTA -Cáncer -Fiebre reumatoide madre muerta -Padre muerto cardlopatia no especifica
43	-Hipoplacia de medula ósea -Leucemia mielocitica aguda	-Padre muerta por neumonia -Madre muerta por cirrosis hepatica
44	-Dolor de cabeza -Fatiga	-Padre DM -Madre problemas cardiacos
45	-Anemia megaloblastica	-Hermana con DM
46	-Tromboembolctomia femoral -Colesetitis crónica liliacica. -Fibrilación auricular -PTI asintomática	-Hermana hipertansa y con artritis -Hermano nefropata -Hermano portador de cardlopatia.
47		
48	-Trombocitopenia en estudio -Glomu en triángulo carotideo derecho -Probable cirrosis billar primaria	-Abuela muerta por cancer gástrico. -Padre muerto por cancer de próstata.

6.1.3 Tabla 3

Antecedentes Clínicos y fármacos administrados a los pacientes durante sus últimas manifestaciones clínicas.

Paciente	Antecedentes Clínicos	Fármacos administrados
1	-	-Captopril -Aines -Nifedipina -Prednisona
2	-Hábito alcohólico	-Colchicina -Complejo B -Espiranolactona -Amoxicilina -Propranolol -Homeprazol
3	-Colestectemia por litiasis -Salpingoclasia -Hematemesis -Trombocitopenia por hiperesplenismo y tiempo de coagulación alargado por deficiencia de vitamina K	-Propranolol -Ranitidina -Sucralfato -Vitamina K -Domperidona -Hidroxicina -Colchicina
4	-Salpingectomía -Rinitis -Hipersensibilidad a trimetoprim-sulfametoxazol	-Ambroxol - β -miméticos -Beclometazona -Salbutamol -Becoplde -Nitrofurantoína -Ciprofloxacina -Astemizol

		-Eritromicina
5	-Colectectomia por colestitis -HTAS -Hidronefrosis -Esplenectomia -PTI manejado con esteroides	-Azatloprina -Ciprofloxacina -Ciclofosfamida -Naproxeno -Diclofonaco -Nitrofurantoina -Carbamacepina -Piroxicam -Vincristina
6	-Eumenorrea -Salpingoocasia -Colectectomia por bacteremia -Hepato-yeyuno -Hepatitis viral (cirrosis), DM	-Prednisona -Tolutamida -Insulina -Trimetoprim -Colchicina -Metronidazol -Hidroxicina -Dipirona -Ranitidina -Ampicilina -Colestiramina -Furosemida
7	-Bicitopenia, alcoholismo	-Hipoglucemientes orales -Aines -Propranolol -Insulina -Gel de aluminio y magnesia -Glibenclamida -Naproxen -Fluocinolona -Hidroxicina

		-Ranitidina
8	-Hemorragia diferente desde los 4 años -Segundo embarazo con epistaxis -Coluria y acolia	-Oximetolona -Ácido fólico -Esteroides -Prednisona -Danasol -Ranitidina -INF -Complejo B -Piridoxina -Eritropoyetina -Clproxima
9	-Alergica a sulfas -Alcoholismo -Toxemia -Úlcera duodenal -Fragilidad capilar -Síndrome purpúrico -Queratosis seborreica -PTI asociada a medicamentos -Anemia	-Antiácidos -Patllon -Cimetidina -Propranolol -Bioflavonoides -Premalin -Lutoral -Benzaran -Esteroides -Prednisona -Ácido fólico
10	-Salpingoclasia -HTAS -Colestitis -Gingivorragias	- α -metil dopa -Nifedipina -Indometacina -Cefotaxina -Dexametasona -Clprofloxacina -Ranitidina
11	-Varias heridas punzocortantes	-Interferón
12	-Cirugías por accidente	-Ranitidina

	<ul style="list-style-type: none"> -Niega síntomas de PTI -Amputación por nefrulectomía 	<ul style="list-style-type: none"> -Danazol -Cipro y Diclofenaco -Ácido fólico -Ácido acetil salicílico -Nifedipina -Metoprolol -Isosorbide
13	<ul style="list-style-type: none"> -Alergia a penicilinas -Anemia 	<ul style="list-style-type: none"> -Espirinolactona -Ranitidina -Colchicina -Vitamina K -Ácido fólico -Vitamina B₁₂
14	-	<ul style="list-style-type: none"> -Imipenon -Cilastatina -Ceftozidina -Pofloxacina -Glucosa sol. -Sol. salina -Carbencillina -Ranitidina -Noloflina -Midazolam -Insulina
15	<ul style="list-style-type: none"> -Apendicectomía -Otitis media -Pérdida gradual de la audición -PTI tratada con hidrocortisona, Recibe células de carnero mejorando PTI -DM controlado -Quiete renal simple 	

	-Herpes zoster	
16	-Prolactinoma recidivante	-Pravastatina -Bromocriptina
17	-Hipotensión -Adenocarcinoma de próstata -Orquiectomía simple bilateral -Secreción sanguinolenta transuretral -Hematoma	-Reserpina -Naproxeno -Estrógenos naturales -Metoprolol -Trimetoprim -Captopril -Nifedipina -Furocemida -Clorfeniramina
18	-Hemoglobinuria paroxística nocturna -BAAR en orina -Trombocitopenia -Crisis hemolítica severa -Gastroenteritis infecciosa -Hipoxia tisular -Crisis hemolíticas por isoanticuerpos por ser transfundida de forma masiva -Infección de vías urinarias	-Cimetidina -Danazol -Ácido fólico -Trimetoprim -Clormadinona -Esteroides -Antiespasmódico -Prednisona -Meticlopramida -Propranolol -Gel de Aluminio y Magnesio -Acetaminofen -Nitroglicerina -Heparina -Entropoyetina -Globina antiinflamatoria -Ranitidina
19	-Amigdalectomía -Alergia al naproxeno	-Bromocriptina -Miconazol

	<ul style="list-style-type: none"> -Cuadro de purpura -Uretra prostatica 100% obstructiva -Hiperprolactinemia moderada -Síndrome mielodisplásico -Síndrome purpúrico -Bicitopenia 	-Piroxicom
20	<ul style="list-style-type: none"> -DM II -HTA -Insuficiencia renal crónica -Infección de vías urinarias -Descontrol metabólico por DM 	<ul style="list-style-type: none"> -Insulina -DextraStix -Ranitidina -Itraconazol -Amitriptilina -Enalapril -Dexametazona -Prednisona -Metoclopramida -Dextropropozifeno -Alopurinol -Acetaminofen -Ciclofosfamida Vincristina -Ranitidina -Ronitel
21	<ul style="list-style-type: none"> -Alergia a hongos y derivados de leche fresca, pescado y al dizepan -Cuadro asmático -Historectomía por miomatosis uterina -Salpingooforectomía -Apendicectomía -Amigdalectomía -Artralgias 	<ul style="list-style-type: none"> -Ninhidrina -Colchicina -Naproxeno -Nifedipina -Difenidol -Amitriptilina -Clorodiacopoxido -Indometacina -Danazol

	<ul style="list-style-type: none"> -Queratoconjuntivitis -Síndrome de Crest-Telangectasia 	<ul style="list-style-type: none"> -Captopril -Ac. fólico -Penicilina -Keflex -Aines -Fenibutazona -Acetaminofen -Cefalotina -Pentoxifilina -Diclofenaco
22	<ul style="list-style-type: none"> -Enfermedades respiratorias de vías altas -Colecistectomía -Traumatismo que requiera cirugía -Esplenectomía por trombocitopenia -Alergia al naban -Gingivorrea y disminución de la agudeza visual. 	<ul style="list-style-type: none"> -Prednisona -Danzol -Dexametazona -Hidrocortisona -Enalapril -Ciprofloxacina -Diclofenaco -Atropina -Propofol -Diacapan
23	<ul style="list-style-type: none"> -Cefalea desde la adolescencia -Faringitis -Rinitis atrofia 	<ul style="list-style-type: none"> -Bloqueadores H₂ -Protectores de mucosa gástrica -Ranitidina -Propranolol -Colchicina -Visodessoxicólico -Colestiramina -Ambroxol
24	<ul style="list-style-type: none"> -Amigdalectomía -Tejido prostático residual -Hematuria secundaria 	<ul style="list-style-type: none"> -Trimetroprim -Sulfametoxazol -Diclofenaco

	-Síndrome anémico-de Bicitopenia	-Danazol -Hematinicos -Dextropropoxifeno -Prednizona
25	Anemia hemolítica autoinmune -Esplenomegalia -Cefalea -Pancitopenia -Litiasis asintomática -Gastritis -Hepatomegalia y esplenomegalia	-Prednisona -Ranitidina -Dextropropoxifeno -Dexametazona -Acetaminofen -Panidicina -Glibencilamina -Danazol -Ciclofosfamida -Espironolactona -Diclofenaco -Indometacina -Vincristina -Aclatropina -Metronidazol -Collinpectina
26	-Apendicectomía -Cauterización cervical -Amigdalectomía -Colpopermoíofía -Alergia a la penicilina -Colelititis crónica litiasica -HTAS	-Ranitón -Ranisen -Enalapril -Ebalapril -Butilhesclina
27	-Fiebre tifoidea -Presión arterial alta -Poliomielitis -Protostismo ocasional -Hernia diafural	-Polivitaminas -Fumarato ferroso

28	<ul style="list-style-type: none"> -Hepatitis viral -Anemia aplásica secundaria a fármacos -Fractura -Hemorrullectomia -Amegdalectomía 	<ul style="list-style-type: none"> -Naproxeno -Indometazina -Piroxicam -Ac. Fólico -Difenidol -Aines -Solindac -Acetaminofen -Ranitidina
29	<ul style="list-style-type: none"> -Amigdalitis -Glomerulonefritis -Colitis ulcerativa crónica -Uretritis -Hipocalemia -Cuci -Cocxoartrosis de miembro pélvico derecho -Acortamiento de miembro pélvico izquierdo -Falla ovárica prematura -Colectomia e ileostomia 	<ul style="list-style-type: none"> -Atropina -Prednisolona -Azulfidina -Diclofenaco -Prednizona -Homotropina -Prednisolona -Indometacina -Naproxen -Dlacepan -Ranitidina -Estrógenos -Clormadinoma -Estradiol -Metronidazol -Lalofak
30	<ul style="list-style-type: none"> -Bradycardia posterior a la aplica de la L-asparagina 	<ul style="list-style-type: none"> -Acetaminofen -L-asparagina -Prednisolona -Vincristina -Nistatina -Bactrim -Trimetoprim

31	<ul style="list-style-type: none"> -Alergia a la penicilina -Hipertensión -Hematuria y dolor en piernas (petequias) 	<ul style="list-style-type: none"> -Metoprolol -Clorotiazida -Piroxicam -Dexametazona -Didroxicina -Sales de potasio -Ranitidina -Cloranfenicol -βBloqueadores -Clortalidona
32	<ul style="list-style-type: none"> -Amigdalectomía -Úlcera corneal -Artritis reumatoide -Úlcera gástrica -Insuficiencia venosa periférica -Salivoadenitis -Granuloma plógeno del labio -Litiasis vesicular 	<ul style="list-style-type: none"> -Esteroides -Aine -Cimetidina -Diclofonaco -Gel de Aluminio y Magnesio -Naproxen -Acetaminofen -Penicilamina -Cloroquina -Alcohol polivinílico -Dicloxacilina -Clinoril -Proxicom -Ranitidina -Trimetoprim -Metilcelulosa
33	<ul style="list-style-type: none"> -Cuadros parenterales y faringoamigdalinas combinados con bronconeumónicos -Gastritis -HTAS 	<ul style="list-style-type: none"> -Furocemida -Captopril -Teorbide -Diclofenaco -Glucosa

	<ul style="list-style-type: none"> -Asma bronquial -Balbulotomía -DM -Embolismo en silla de montar -Trombosis venosa profunda 	<ul style="list-style-type: none"> -Nubalna -Pentoxifilina -Hartaman -Dipiridamol -Cefalotina -Digoxina -Dacepam -Succinilcolina -Prednisona -Heparina -Gel de aluminio y magnesio -Sales de potasio -Verapamil -Acenocumarina -Aldrete
34	<ul style="list-style-type: none"> -Insuficiencia renal crónica -Glomerulonefritis -HTAS -DM secundaria a daño renal -Retención de azoados -Alergico a la penicilina -Infección peritoneal -Retinopatía 	<ul style="list-style-type: none"> -Itraconazol -Miconazol -Antiácidos -Prazosin -Butiliosina -Diprona -Prednisona -Azitropina -Fifedipina -Alopurinol -Ac, fólico -Propranolol -Cefalotina -Furoemida -Cefalosprina -Canomicina

		<ul style="list-style-type: none"> -Carbamato de Ca -Polivitaminas -Gentamicina -Tobramicina -Ranitidina -Prazoem -Inulina -Metoprolol -Dextropropofeno
35	<ul style="list-style-type: none"> -DM -Lipoma 	<ul style="list-style-type: none"> -Tolbutamida
36	<ul style="list-style-type: none"> -Alergia a la daunorubicina -Rectorragia -Colitis pseudomembranosa por amibas 	<ul style="list-style-type: none"> -INF -Ac. fólico -Complejo B -Isorbide -1-6-mercaptopurina -Dipirona -Diacapa, -Ranitidina -Ciprofloxacina -Prednisona -Metocloprmla -Aloprinol -TMP-SMX -Hidrocortizona -Mitozaptrona -Daunorrubicma -Mitoxantrona -Fuconazol -Metronidazol -Dhidroemetina -Vancristina

		-Metotrexaco
37	-Múltiples cirugías -Apendisectomía -HTDA por várices esofágicas -Encefalopatía -HTP	-Ranitidina -Somatostatina -Ciprofaxacina -Ameprazol -Metoclopramida -Bloqueador bomba de H ⁺ tipo amepazol -Espironolactona
38	-Mielodepresión -Intolerancia al INF -Anemia	-Ranitidina -Alopurinol -Bicarsol -Acetaminofen -Aines -INF -6 mercaptopurina -Clorofenilamina -Basulfen -Hidroxycobalamina -Ceftazidima -Amikacina -Rifater -Blulfan
39	-Infección de vías aéreas respiratorias frecuentes -VHI -Tuberculosis pulmonar	-Pentoxifilina -Itraconazol -Ac. láctico -Colodón elástico -Rifater -Gentamicina -Ranitidina -TMT/SMZ -Amitriptilina

		<ul style="list-style-type: none"> -Psyllium plantago -Ciprofloxacina -Loperamida -Gel de Al y Mg -Tetraciclina -Zidobudina -Ac. Fólico -Metronidazol -Diyodohidroquinoleína -Ciproxina -Aciclovir -Fluconazol -Isotretinoina
40	<ul style="list-style-type: none"> -Apendicectomía -Gastritis -Cirrosis hepática secundaria a virus C -Duodenitis -Colesistectomía -Anemia secundaria -HTP -Insuficiencia hepática -Infección de vías urinarias 	<ul style="list-style-type: none"> -Ceftriaxona -Metronidazol -Esprenolactona -Ranitidina -Gel de Al y Mg -Hierro -Vit. K -Gluconato de Ca -Sucralfato -Propranolol -Itraconazol -Miconazol
41	<ul style="list-style-type: none"> -Colitis crónica -Cirugías: Apendicectomía, cesárea, extracción de quiste de mama -Candidiasis -Infección de vías respiratorias altas -Acidosis metabólica 	<ul style="list-style-type: none"> -AZT -TMP-ZMZ -Nistatina -Itraconazol -Metoclopramida -Fluconazol -Ranitidina

		<ul style="list-style-type: none"> -Ac. Fólico -Isotretinoida -Domperidina -Clprofactocina -Enzime
42	<ul style="list-style-type: none"> -Amigdalectomia -Cirugia reconstructiva para pared abdominal -Síndrome diarreico crónico -Neuritis periférica -Síndrome de Sjogren -Queratitis seca 	<ul style="list-style-type: none"> -Amitriptina -Dextropropoxifeno -Cortisona -INF -Ciproflacina -Metronidazol -Ranitidina -Calehicina -Furocemida -Propanolol -Ac. fólico -Carbamazepina -Ribotril -Domperidoma -Butilhiscina -Espironolactona
43	-Tifoldea	<ul style="list-style-type: none"> -Ac. fólico -Complejo B -Oximetolona -TMP-SMT -Nietatina -Ciprofloxacma -Donazol -Ambroxol -6-meraptoetanol -Prednisona
44	-Hipereactor	

	-Problemas digestivos	
45	-Hipertenso -Uso de antiagregantes plaquetarios de tipo ASA y dlopindamol -Soplo cardiaco -Dermatosis seborreica	
46	-Gastritis -HTAS -Asma bronquial -Valvulotomia -Trombocitopenia	-Danazol -Aceno cumarina -Argoxina -Furosemida -Captopril
47		
48	-Colesistectomia -Rinoplastia -Fibroma en glandula mamaria -Alcoholismo	*Acetaminofen -Colchicina -Ac. ursodesoxicolico -Atropina -Dlancepam -Propolo

6.1.4 Tabla 4

Reacciones Secundarias y adversas respecto a los parámetros hematológicos de los fármacos administrados a los pacientes. (25)

*Fármacos que causan trombocitopenia como reacción secundaria y adversa.

Fármaco	Nº de	Reacciones adversas y secundarias
---------	-------	-----------------------------------

	pacientes que lo tomaron	respecto a los parámetros hematológicos.
Aines *	6	Ocaclona trombocitopenia
Amoxicilina	1	Ninguna
Ambroxol	2	Ninguna
Astemisol	1	Ninguna
Azatropina	5	Depresión de la médula ósea relacionada con la dosis, reversible, expresada como leucopenia y macrocitosis, VGM y hemoglobina aumentada.
Ampicilina	1	Ninguna
Atropina	2	Ninguno
Azulfidina	1	-
Ac. acetilsalicílico*	1	Hemorragias gastrointestinales, hipoprotrombinemia, prurito, urticaria y trombocitopenia.
Alcohol polivinílico	1	-
Acenocumarina	1	Anticoagulante. Ocaclona hemorragias y lesiones hepáticas entre otras.
Aldrete	1	Ninguna
Amikacina	1	Ninguna
Ac. láctico	1	Ninguna
Ac. Fólico	14	Ninguno
Amitriptilina	5	Ninguno
Acetaminofen	9	Trastornos hematológicos, daño hepático y daño renal, metahemoglobinemia.
Aciclovir*	2	Alteración de las pruebas de función hepática y disminución de los índices hematológicos.
Antiespasmódico	1	Leucopenia

Alopurinol	4	Leucopenia, leucocitosis, eosinofilia, hepatomegalia e incrementan las transaminasas.
Betametl- cos	1	Ninguna
Becotide	1	Ninguna
Beclometa- sona	1	Ninguna
Bloqueadores beta	1	Ninguna
Bactrim * (trimetoprim sulfameto.)	11	Trombocitopenia purpura, granulocitopenia, leucopenia, Síndrome de Stevens-Johnson y de Lyell. Con frecuencia en ancianos e insuficiencia renal
Bicarsol	1	Ninguno
Bisulfan	2	Ninguno
Blofavoroides	1	Ninguno
Butilhiascina	3	Ninguna
Benzaran	1	Ninguna
Bromocrip- tina	2	Ninguna
Captopril *	4	Hipoplasia mielóide, neutropenia, trombocitopenia y pancitopenia
Colchicina	7	Ninguna
Complejo B	7	Ninguna
Ciprofloxacina*	11	Trombocitopenia, eosinofilia, leucopenia, reacciones de hipersensibilidad y gastrointestinales, en pruebas de laboratorio puede dar trombocitopenia falsa con este medicamento.
Ciclofosfami- da	3	Lesiones de la médula ósea, alteraciones del cuadro hemático reversibles.

Carbamaepi- na	2	Ninguna
Colestiramina	2	Hipoprotrombinemia, deficiencia de vitamina K, A y D. Por lo que hay tendencia hemorrágica, disminución del tiempo de protrombina, equinosis, anemia, daño renal.
Cefalotina *	3	Trombocitopenia, Neutropenia y anemia hemolítica, daño renal y gastrointestinal.
Kaolin, pectina	1	Ninguna
Clorotiazida	1	-
Cloranfenicol*	1	Anemia aplásica, anemia hipoplásica (trombocitopenia, granulocitopenia y pancitopenia).
Clortalidoma*	1	Trombocitopenia, leucopenia, hiperuremia, hiperglicemia.
Cloroquina	1	Ninguna
Clinoril*	2	Trombocitopenia, equinosis, purpura, leucopenia, agranulocitosis, neutropenia, depresión de la médula ósea, anemia aplásica, anemia hemolítica, Hiperpotasemia y problemas gastrointestinales.
Cefalosporina*	1	Trombocitopenia, trombocitosis reversible, eosinofilia, elevación de transaminasas, colitis, rash, neutropenia, leucopenia. Puede dar resultados positivos de prueba de Coombs.
Carbonato de calcio	2	Ninguna
Ceftacidima	2	Rash cutáneo. En las pruebas de

		laboratorio se ha observado, eosinofilia, Coombs positivo, elevación de enzimas hepáticas.
Colodion flexible	1	Ninguna
Ceftriaxona*	1	Trombocitopenia, eosinofilia, leucopenia, granulocitopenia, anemia hemolítica, daño hepático y gastrointestinal.
Ciproxina	2	Falla renal y gástrico.
Cefotaxima	1	Hipersensibilidad, daño gástrico, trombocitopenia, granulocitopenia, leucopenia, neutropenia, daño hepático y renal. En pruebas del laboratorio de Coombs positivo
Cilastatina*	1	Hipersensibilidad, daño gástrico, trombocitopenia, granulocitopenia, leucopenia, neutropenia, daño hepático y renal. En pruebas del laboratorio de Coombs positivo
Carbencilina	1	Reacciones alérgicas
Clorofenamina	2	Reacciones adversas cardiovasculares, hematológicas alérgicas, neurológicas, gástricas entre otras.
Clormadinona	3	Fenómenos tromboembólicos. En el laboratorio podemos encontrar aumento de la agregabilidad plaquetaria, inducida por norepinefrina, aumento de la protrombina y factores VII, VIII, IX y X.
Cimetidina	3	Ninguna
Clordlacepoxido	1	Ninguna
Domperidona	3	Ninguna
Diclofenaco*	9	Trombocitopenia, leucopenia, anemia

		hemolítica y aplásica, agranulocitosis, daño en la función hepática y renal.
Dipirona	3	-
Diacepam	4	Flebitis, trombosis venosa y leucopenia. En las pruebas de laboratorio pueden llevar a valores altos de transaminasas y fosfatasa alcalina.
Dicloxacilina	1	Trastornos gastrointestinales, alergias y aumento de TGO entre otros.
Dipiridamol	1	Ninguna
Digoxina	1	Trastornos gastrointestinales y cardiacos, alergias y renales.
Daunorubicino	1	-
Dehidroemetina	1	-Hipofunción arterial y daño gastrointestinal
Dihidohidroquinoleina	1	Daño gastrointestinal
Danazol	8	Insuficiencia cardiaca o renal
Dexametazona	5	Trastornos gastrointestinales, cutaneas, metabólicos y cardiovasculares.
Dextropropoxifeno	6	-
Difenidol	2	En pruebas de laboratorio hay alteraciones en las cuentas de neutrofilos.
Espronolactona	6	Problemas gastrointestinales, hipersensibilidad y endócrinos
Eritromicina	1	Trastornos gastrointestinales y alergias. En el laboratorio se reparten alteraciones de las pruebas de funcionamiento hepático y eosinofilia.
Estradiol	5	Ninguna
Ensure	1	Ninguna

Eritropoye- tina	2	Elevación de la presión arterial, trombosis, fibrosis en medula ósea.
Estrógenos	3	Ninguna
Enalapril *	3	Insuficiencia renal e hipersensibilidad. En las pruebas de laboratorio se observa trombocitopenia y disminución en hemoglobina, hematocrito y leucocitos. Además aumento de enzimas hepáticas.
Furocemida	5	Problemas gastrointestinales, alergias e hipotensores
Fenilbutazona	1	Reacciones alérgicas y gastrointestinales. En las pruebas de laboratorio prolonga el tiempo de protrombina en pacientes tratadas con anticoagulantes cumarínicos.
Fumarato ferroso	2	Daño hepático, diabetes, problemas cardíacos
Fuconazol	3	-
Fluocinolona	1	Alérgicas
Gentamicina	2	Causa daño renal, leucopenia, agranulocitosis
Gluconato de calcio	1	Hipotensión, arritmias cardíacas, entre otras
Gel de Al y Mg	9	Ninguna
Glibendávida*	2	Trasstronos gastrointestinales, hipersensibilidad, trombocitopenia, leucopenia, agranulocitosis, pancitopenia, anemia y anemia hemolítica, alteraciones hepáticas, hipoglucemia.
Globina anti- linfocitaria	1	-

Hidroxicina	4	Ninguna
Hipoglucemiantes (Insulina)	6	-
Homatropina	1	Daño renal y gástrico
Hartaman	1	-
Hidrocortisona	5	HTA, osteoporosis, pancreatitis, petequias, equimosis y otras
Heparina*	2	Síndrome de coagulo blanco, hemorragia y en pruebas de laboratorio puede presentarse pseudotrombocitopenia debida a heparina.
Isosorbide	3	Ninguna
Isonalacida	2	Hepatitis y trastornos gastrointestinales
Interferon*	5	Leucopenia, trombocitopenia, eritrocitopenia, prolongación del tiempo de protrombina y taquicardia. En las pruebas de laboratorio también se reportan leucopenia, trombocitopenia, eritrocitopenia, aumento del tiempo de protrombina y elevación de las transaminasas
Indometacina	5	Ninguna
Itraconazol	5	Ninguna
L-asparagina	1	Disminución del nivel del fibrinógeno de la relación AVG y de plaquetas, diatesis hemorrágica además, daño hepático y renal entre otras
Laperamida	1	Ninguna
Metronidazol	7	Leucopenia
Metilcelulosa	1	Ninguna
Mitoxantrona	2	Leucopenia, trombocitopenia y anemia y

*		mielosupresión en pacientes que fueron tratados con radioterapia.
Metotrexato*	1	Depresión de la médula osea, leucopenia, anemia, trombocitopenia, estomatitis ulcerosa, cirrosis hepática, atrofia hepática, insuficiencia renal, nefropatía
α-metildopa*	1	Prueba de Coombs positiva, anemia hemolítica, depresión de la medula osea, leucopenia, granulocitopenia, trombocitopenia. Resultados positivos de anticuerpos antinucleares, de células L:E: y de factor reumatoide. Transtornos del SNC, cardiovasculares, gastrointestinales, hepáticos, alérgicos
Metoprolol	4	Transtornos en el sistema cardiovascular, gastrointestinal y SNC
Midazolam	1	Ninguna
Miconazol	4	Alergía
Metoclopramida	5	Ninguna
Mercaptopurina*	3	Supresión de la medula osea que lleva a leucopenia y trombocitopenia. Hepatotóxica, pancreatitis.
Keflex	1	Eosinofilia, neutropenia, trastorno gastrointestinal.
Nifedipina	6	Ninguna
Nitrofurantolna*	2	Anemia, hemolítica, granulocitopenia, agranulocitosis, leucopenia, trombocitopenia, eosinofilia y anemia megaloblástica, reacciones de hipersensibilidad.
Naproxen	7	Puede provocar hemorragias

Naxen*	1	Anemia aplásica y hemolítica, necrosis epidermica, hepatitis, sangrado o perforación gastrointestinal, granulocitopenia, hematuria, glomerulonefritis, trombocitopenia, Síndrome de Stevens-Johnson y problemas cardiacos.
Nubaina	1	Ninguna
Nolbufina	1	-
Nistatina	5	Ninguna
Ninhidrina	1	-
Omeprazol	2	Ninguna
Ombroxol	1	-
Oximetazolina *	2	En las pruebas de laboratorio puede causar agregación plaquetaria.
Prednisona	17	Trastornos metabólicos, gastrointestinales y otros
Propranolol	9	Deterioro de la insuficiencia cardiaca, y estomacales.
Piroxicam	5	Gastrointestinales
Pentoxifilina*	3	Trombocitopenia, hemorragias, alergias
Propofol	1	Trombosis y flebitis
Paridicina	1	-
Polvitaminae	2	Choque anafilactico, policitemia vera
Penicilamina*	1	¿Purpura trombocitopenica?
Prazosina	2	Anormalidades en la función hepática, pancreatitis, títulos positivos a anticuerpos antinucleares, taquicardia.
Psyllum plantago	1	Ninguna
Piridoxina	1	Ninguna
Patilon	1	Ninguna

Premalin	1	Ninguna
Perfloxacina	1	-
Prequastatina	1	Ninguna
Penicilina	1	Reacciones alergicas
Ranitidina*	29	Daño al SNC, gastrointestinal, hepático, leucopenia, agranulocitosis y trombocitopenia. Hipoplasia de medula osea pancitopenia.
Rifatar*	2	Trombocitopenia y hemorragia cerebral. Transtornos hepáticos y renales y digestivos.
Rivotril	1	Alergias
Ranitec	3	-
Sucralfato	2	Gastrointestinales
Solbatamol	1	-
Sales K	2	Hipercalcemia, paro cardiaco.
Succinilcolina	1	Reacciones cardiacas
Somatostatina	2	Hipoglucemia, inhibe la insulina y glucagon
Solución de glucosa	2	Efectos cardiacos
Sol. salina	1	ninguna
Tetraciclina*	1	Exacerbación de lupus eritematoso sistémico, trombocitopenia, neutropenia, eosinofilia, anemia hemolítica y daño a la glandula tiroides.
Tobramicina*	1	Neurotoxicidad, nefrotoxicidad, anemia, granulocitopenia y trombocitopenia. Leucopenia, eosinofilia.
Tolbutamida*	2	Hipoglucemia, sangrados, trombocitopenia.
Vit. K	3	Hemolisis, ictericia, hiperbilirrubinemia.
Vincristina*	5	Leucopenia, trombocitopenia de grado

		variable, secreción inadecuada de la hormona antidiurética.
Ursodesoxicólico	1	Calcificación de los cálculos biliares.
Vancomicina	1	Neutropenia, flebitis, nefrotoxicidad.
Zidovudina*	1	Anemia, neutropenia, leucopenia, pancitopenia con hipoplasia de médula ósea y trombocitopenia aislada, trastornos hepáticos.

6.2 Cuentas plaquetarias en muestras de sangre tomadas con EDTA y heparina simultáneamente, de pacientes con las características de pseudotrombocitopenias.

Pacientes corregidos	Nº de plaquetas con EDTA ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	Nº de plaquetas con heparina ($\times 10^3/\mu\text{L}$)
9	92	162
12	70	198
16	71	226
19	96	107
21	60	160
22	107	188
25	73	171
28	110	142
29	64	170
32	71	147

44	122	141
48	100	210
31	94	240
Pacientes	que	no
		corrigieron
1	51	67
6	57	52
17	33	21
18	70	72

El total de pacientes que presentaron las características de pseudotrombocitopenia fueron 28, aquí se presentan solo los resultados de algunos de ellos, los restantes no acudieron a su cita en el laboratorio para su análisis con heparina y EDTA.

6.3 Observaciones del estudio prospectivo-retrospectivo en los expedientes de cada paciente.

1. A los pacientes estudiados se les hizo análisis de sangre por otros motivos de acuerdo a su historia clínica. En estos estudios se observó que no todos mostraban trombocitopenia y, además, la trombocitopenia, en alguna ocasión no iba acompañada de acúmulos plaquetarios en la historia clínica de un mismo paciente.

2.-A los pacientes 1, 5, 8, 9, 12, 15, 17, 18, 25, se les hizo la prueba de anticuerpos antiplaquetas de los cuales resultaron positivos tanto para anticuerpos antiplaquetas pegados a estas como libres en suero; también se encontraron anticuerpos autoantiplaquetas, antileucocitos y anticaptopril como es el caso del paciente 1. A los demás pacientes no se les hizo esta prueba en otros estaba pendiente el resultado. Al paciente 21 se le realizó la prueba resultando negativo. Al paciente 18 además se le encontró Coombs y anti D12go positivas.

3.-A los pacientes que se les realizo un estudio de médula ósea o de biopsia de hueso se encontro que los pacientes 1, 9, 17, 20, 22, 27, 31, tubieron cifras normales con lo que respecta a la cuenta de megacariocitos. A los pacientes 21, 24, 30, 36, 43, se les encontro una hipoplasia de medula ósea compatible para el diagnóstico de leucemia; y al paciente 10 el estudio fue compatible con el diagnóstico de PTI. Por último a los pacientes 32 y 33 su resultado fue compatible con destrucción periferica de plaquetas. Los demás pacientes su análisis de medula ósea o biopsia de hueso quedo pendiente o no se les realizo.

4.-El 91% de los pacientes resultaron normales en sus pruebas de coagulación. Los anormales estaban asociados con deficiencia de factores vitamina K dependientes.

5.- Con respecto a los fármacos administrados se puede observar en la tabla anterior que algunos de los fármacos no tienen ninguna reacción adversa para la funcionalidad y estructura plaquetaria, pero si causan otro tipo de daño como los que se encontro comunmente en la historia clínica de los pacientes, como daño hepático, renal, cardiovascular, entre otros. Así también se encontro que algunos fármacos causan valores falsos positivos en las técnicas de laboratorio; para valorar la función hepática renal y otras.

6.4 Frecuencia de las entidades clínicas que condujeron al ingreso de los pacientes al hospital.

Nº de paciente	Entidad Clínica
17	Trombocitopenia asintomática
3	Retinoplastia
2	Catarata
8	Cirrosis hepática
2	Hepatopatía
7	HTP
3	Bicitopenia
2	Rinitis mixta
2	Anemia aplásica
4	HTAS
4	Coledistitis
3	Litiasis
2	Tiña podal
3	STDA
2	Leucemia linfocítica aguda
2	HIV
2	Onicomicosis

Estas son las enfermedades repetidas entre los pacientes; las demás enfermedades son irrepetibles para cada uno de ellos. Algunos pacientes compartían una o más entidades clínicas, con los demás pacientes.

6.5 Frecuencia de las entidades hereditarias asociadas con cada paciente.

Nº de pacientes	Entidad Clínica
15	HTA
23	DM
2	CA de piel
6	Cirrosis hepática
11	Cardiopatía
2	Problemas respiratorios
3	Insuficiencia renal
5	Reumatismo
2	CA de prostata
2	Nefropatía
3	CA gástrico.

6.6 Incidencia de pacientes pseudotrombocitopénicos.

En el laboratorio de hematología del Centro Médico Nacional Siglo XXI se registra un promedio de 180 pacientes en un día; los 28 pacientes estudiados en este trabajo que presentan las características de pseudotrombocitopenia, se encontraron entre los pacientes registrados durante 15 días.

Cálculo:

180 pacientes X 15 días = 2700 pacientes/ 15 días

$$\begin{array}{r} 2700 \text{ --- } 100 \\ 28 \text{ --- } X = 1.03\% \end{array}$$

Esto nos dice que de cada 100 pacientes que asisten al laboratorio de hematología encontramos un paciente pseudotrombocitopénico. Esta cifra es mucho más alta a la cifra calculada por Savage y Payne, (3) de 1 de cada 1000 a 1 de cada 10,000. En el Centro Médico Nacional Siglo XXI hay una alta incidencia de personas pseudotrombocitopenicas y que probablemente estas personas han sufrido latrogenias por protocolos de tratamiento injustificados debido a la ignorancia de la existencia de este evento.

6.7 Características de pacientes que corrigieron y no corrigieron su cuenta plaquetaria con heparina.

+++ Pacientes con múltiples padecimientos anteriores.

No corrigieron								
Nº Paciente	Sexo	Edad	Transfusión	Ac antiplaquetarios	Hepatopatía	Enfermedades hereditarias asociadas	Antecedentes	Fármacos que causan trombocitopenia.
1	F	79	+	+	-	-	-	+
6	F	39	+	-	+	-	+++	+
17	M	65	+	+	-	-	Ca prostata	+
18	F	39	+	+	-	-	+++	+
Si corrigieron								
9	F	72	+	+	-	LMC	Alergia	+
12	M	53	+	+	-	-	Cirugías	+
16	F	48	-	-	-	PTI	-	-
19	M	49	+	-	-	-	Alergias	-
21	F	52	-	-	-	-	Alergia	-
22	M	68	+	-	-	-	+++/alergia	+
25	F	63	+	+	-	-	AHAI/pancitopenia	+
28	M	69	?	-	-	-	Anemia aplásica	+

29	F	36	-	-	-	-	+++	+
31	F	69	+	-	-	-	Alergia	-
32	F	76	-	-	+	Ca. gástrico	+++	-
33	M	56	+	-	-	-	+++/Trombosis s venosa	+
44	M	31	-	-	-	-	Hiperreactor	-
48	F	47	+	-	+	Ca. gástrico	+	-

7. Discusión

El motivo del estudio estuvo dado por las observaciones eventuales de los histogramas de la BH de los pacientes que acuden al Laboratorio central del CMN Siglo XXI, en las que la cifra de plaquetas esta disminuida y se presenta además una alerta de aglutinación, al examinar la laminilla de sangre periférica se confirma dicha aglutinación. Ésto motivó el estudio de la literatura y de sistematizar la observación, para lo cual se realizaron tomas de sangre perferica para cuenta de plaquetas usando heparina como anticoagulante y en menor escala citrato de sodio al 3.8%.

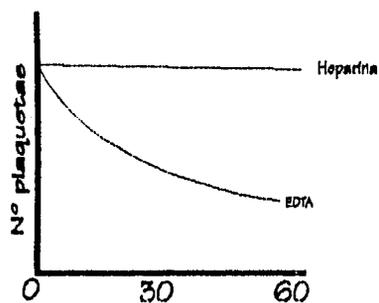
En la parte inicial del estudio se incluyeron todos aquellos pacientes que presentaban cifras bajas de plaquetas sin importar otras alteraciones hematológicas. Sin embargo los criterios de selección se fueron afinando para finalmente incluir solo aquellos casos donde hubiese pseudotrombocitopenia. Como puede apreciarse en las tablas de Resultados, los pacientes cuyas cifras de plaquetas corrigieron al emplear otro anticoagulante representando un buen porcentaje (50%) algún cuadro de tipo alérgico (28%) y un notable predominio del sexo femenino (71%) algunos de estos pacientes (50%) han recibido transfusiones sanguíneas sin mencionar en sus expedientes algún tipo de intervención quirúrgica, siendo motivo alguna de estas transfusiones la trombocitopenia. La mayoría de los pacientes con baja de plaquetas son referidos al servicio de hematología para establecer la etiología de la trombocitopenia, postergando esta algún tratamiento o intervención del servicio al cual acudió inicialmente el paciente.

Parte del protocolo de diagnóstico del paciente trombocitopenico incluye aspirado de medula osea el cual fue realizado en el 30% de los pacientes que finalmente por la corrección de plaquetas al emplear un anticoagulante diferente al EDTA fueron clasificados como pseudotrombocitopenicos y que por tanto no presentaron ningun compromiso medular. En estos pacientes se efectúa también otras determinaciones como folatos y B12 así como

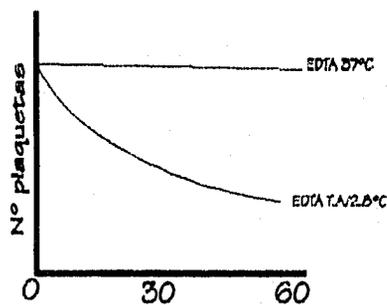
determinación de células linfáticas(LE). Ab antinucleares, siendo normales o negativos.. Una prueba adicional que resulta de utilidad es la determinación de anticuerpos anti plaquetas que resulto positivo en 3 de 4 casos estudiados y corregidos, aun vale la pena mencionar que esta determinación no es un estudio accesible por lo que no en todos los pacientes se incluyo.

A lo largo del estudio que duro aproximadamente 5 meses se fue logrando concientizar al clínico ya que en el reporte de laboratorio se incluía una nota donde se sugería efectuar una segunda determinación empleando 2 tipos de anticoagulantes en toma simultánea, en porcentajes cada vez mayores han sido referidos del servicio de hematología al laboratorio dichos pacientes para su estudio.

Otro aspecto que ha sido notado es el tiempo posterior a la toma en que se procesa la muestra ya que en determinaciones inmediatas a la venopunción las cifras son similares con ambos anticoagulantes y al conservar a temperatura ambiente y procesar a los 30 y 60 minutos se nota una caída de las plaquetas en los tubos con EDTA, no es así en los de heparina (grafica 1).



Grafica 1



Grafica 2

Efectos Similares han sido notados en tubos conservados a 28° C y a 37° C (ambos con EDTA) (grafica 2).

Así mismo durante el desarrollo de este trabajo, se efectuaron determinaciones de plaquetas en muestras de pacientes sanos con plasma proveniente de pacientes pseudotrombocitopénicos, notando una disminución franca en la cifra de plaquetas. Todo esto puede evocar un mecanismo inmunológico o la presencia de crioaglutininas o crio-fibrinógeno.

Tratando de explicar estos hechos se menciona que los iones de calcio son importantes constituyentes de las membranas biológicas, enlazan grupos multicarboxilato, como en residuos glutamato y aspartato de proteínas de membrana, o grupos multifosfato, como en fosfolípidos y trifosfato de adenosina. El acarreo de iones de calcio puede modificar la conformación de éste material. La concentración de iones calcio es también importante para algunas enzimas que afectan la estructura de membrana, por ejemplo la viabilidad de proteínas de membrana por transaminación. El comportamiento de calcio plaquetario puede ser rápidamente combinable con el medio circundante y es afectada por las concentraciones de iones calcio externo. Esto hace posible, que la relación y depleción de calcio membranaral pueda cambiar las propiedades de la superficie de la membrana plaquetaria, provocando un cambio conformacional que pudiera comportarse como "neoantígenos" siendo susceptibles de reaccionar con aglutininas IgM. Cada alteración de membrana parece ser causada por una interacción muy rápida entre agentes quelantes y membranas plaquetarias. (9)

El EDTA ha mostrado modificar las plaquetas, células rojas, y membranas bacterianas. Aunque no es claro, de cualquier manera ya sea que estos efectos sean independientes de la acción quelante del EDTA o no. En la referencia 8 se sugiere que el EDTA tiene un efecto directo sobre la membrana plaquetaria, el dato no distingue entre neoantígenos inducidos por EDTA y el posible papel del EDTA como un determinante hapténico. El EDTA

puede reaccionar con grupos positivamente cargados de constituyentes de la membrana plaquetaria, como el grupo $-NH_3^+$ de lisina o fosfolípidos, y así expresar determinantes antigénicos nuevos. Alternativamente, el EDTA puede por sí mismo ser el determinante antigénico sobre la superficie plaquetaria y la aglutinina plaquetaria dependiente de EDTA puede interactuar con esta molécula. Si este es el caso, la inhibición de la aglutinación plaquetaria dependiente de EDTA por citrato y oxalato debe indicar que estos compuestos se enlazan al mismo son fórmulas componente de membrana de la superficie plaquetaria. El efecto inhibitor de la concentración alrededor de 40 mM sugiere que la aglutinación puede prevenirse por inhibición del hápteno. (9)

También se observó el caso en que la determinación inmediata a la venopunción con EDTA como anticoagulante hay cuenta baja de plaquetas y con heparina también hubo una cuenta más baja aun que con EDTA.

De estos resultados se sugieren 3 mecanismos por los cuales se explica el fenómeno de la pseudotrombocitopenia. El primero sugiere la presencia de Ag crípticos plaquetarios que ponen de manifiesto al cambiar el ambiente natural de la plaqueta, en este caso con EDTA, (que no es un anticoagulante natural), los Ac reaccionan con los Ag plaquetarios induciendo de manera más acentuada la trombocitopenia conforme transcurre el tiempo después de la toma de muestra, debido a la capacidad de modificación de la membrana plaquetaria en la presencia de EDTA el cual capta calcio que es esencial para la conformación de algunos antígenos plaquetarios.

Un segundo mecanismo explica la presencia de inmunoglobulinas caientes las cuáles están ya pegadas a la plaqueta y que inmediatamente después de haber tomado la muestra de sangre con EDTA o heparina como anticoagulante nos encontramos con agregados plaquetarios y por consiguiente con pseudotrombocitopenia. Este mecanismo puede también explicar el evento de que en algunos pacientes la cuanta baja de plaquetas

haya sido menor con heparina que con EDTA ya que se puede pensar que el EDTA modifique la estructura de anticuerpos y por consiguiente la unión del Ac caliente sea poco eficaz y haya poca aglutinación, más sin embargo con heparina no se modifiquen estos Ac y la aglutinación sea eficiente.

El tercer mecanismo sugiere la presencia de crioaglutininas, las cuales se unen a la membrana plaquetaria a temperaturas menores a la temperatura corporal (T. ambiente o a 4°C) provocando su agregación y pseudotrombocitopenia, pero que al incubar las muestras a 37°C la agregación y por consecuencia la pseudotrombocitopenia desaparece.

La falta de un diagnóstico certero conlleva a tratamientos y recursos inadecuadamente aplicados tal es el caso de fármacos como la prednisona o factores estimulantes de hematopoyesis y es posible la aparición de iatrogenias además de retrasar el manejo médico inicial por la cual el paciente acudió a la Institución de salud. Es posible que mientras persista la "trombocitopenia" el paciente ingrese al protocolo de púrpuras trombocitopenicas inmunológicas que lo llevarán a tratamientos tan drásticos como la esplenectomía.

8. Conclusiones

El fenómeno de la pseudotrombocitopenia es un evento de laboratorio. La pseudotrombocitopenia es debida a varios factores para que se haga presente en las determinaciones del laboratorio entre estos factores podemos encontrar las características de la membrana plaquetaria; inmunoglobulinas, frías y calientes y del tipo de anticoagulante empleado, siendo de mayor a menor importancia el EDTA, heparina y citrato de sodio, así también cabe mencionar la temperatura a la que se lleva la determinación y el tiempo entre la toma de muestra y la realización de la prueba.

Con todo esto es fácil comprender los 3 mecanismos por los que se puede dar la pseudotrombocitopenia.

1º La existencia de Ag crípticos en la membrana plaquetaria que se hacen presentes cuando las concentraciones de calcio son menores a las normales, situación que ocurre con la presencia de EDTA. A estos Ag crípticos se les unen auto anticuerpos lo cual provoca su agregación.

2º La existencia de Inmunoglobulinas calientes las cuales al estar unidos a la membrana plaquetaria y al momento de interactuar con el EDTA ocasionan agregación de las plaquetas simultáneamente con la toma de muestra o venopunción.

3º La existencia de Inmunoglobulinas frías causando la agregación plaquetaria a temperaturas menores a 25°C y que puede corroborarse su existencia incubando la muestra a 37°C con desaparición de la agregación y llevando la cuenta plaquetaria a valores normales.

La secuencia lógica en el estudio de los pacientes manejados o diagnosticados como trombocitopenicos con el objeto de detectar aquellos que causan con pseudotrombocitopenia es la siguiente:

Cuando el médico se encuentra con el paciente trombocitopenico primero descartara pseudotrombocitopenia, segundo se preguntara cual es la severidad clínica y tercero cual es la causa.

En esta secuencia lógica lo primero es valorar si realmente existe trombocitopenia o pseudotrombocitopenia. Para ello se requiere un laboratorio confiable, si este aspecto esta cubierto y el paciente carece de manifestaciones clínicas, entonces se debe considerar una probable pseudotrombocitopenia que se llega a presentar como un evento "In vitro" en una de cada 100 a 1 de cada 1000 muestras de sangre colectadas con EDTA.

Nuestra labor como profesionistas de análisis clínicos no debe terminar con entregar un reporte o una cifra sino el de comprometernos con una interpretación de un hallazgo, no podemos olvidar que en medio de todo esto se encuentra un paciente a quien podemos ayudar si es que realmente queremos formar parte de un equipo multidisciplinario de salud.

9. Abreviaturas Empleadas.

Ac. Anticuerpo

Ag. Antígeno

CTAD. Mezcla de anticoagulantes (Teofilina, Citrato de sodio, Ácido cítrico, Adenosina, Dipyridamol).

Síndrome de Cucci.

CHA.

DM. Diabetes Mellitus

DM II Diabetes Mellitus II

EVC embólico

GS Grupo sanguíneo

HTA Hipertensión arterial

HTAS Hipertensión arterial sistémica

HTDA Hemorragia de tubo digestivo alto

HTP Hipertensión portal

IAM Infarto agudo al miocardio

PTI Purpura trombocitopenica Idiopatica

STDA Sangrado de tubo digestivo alto

TBP Tuberculosis pulmonar.

CMN Centro Médico Nacional.

10. Bibliografía.

1. Pegels J. G., Bruynes E. C., Engelfriet C. P., and A. E. G. Kr Von Dem Borne. Pseudothrombocytopenia: An immunologic study on platelet antibodies dependent on ethylene diamine tetra-acetate. *Blood*, 59, 1 (January) 1982.
2. A. Casonato, A. Bertomoro, E. Pontara, D. Dannhauser, A. R. Lazzaro, A. Girolami. EDTA dependent pseudothrombocytopenia caused by antibodies against the cytoadhesive receptor of platelet gpIIb-IIIa. *J. Clin. Pathol.* 47: 625-630. 1994.
3. Richard A. Savage. Pseudoleukocytosis due to EDTA-induced platelet clumping. *M.D. Am. J. Clin. Pathol.* 81: 317-332. 1984.
4. Alber Rabinovitch, M.D. PH. D. Anticoagulants, platelets, and instrument problems. *Letters. Am. J. Clin. Pathol.* 132. July 1984.
5. G. D'Angelo, D. Calvano, R. Mattaini, I. Cosini and Giadmi. Platelet aggregation in presence of anticoagulants dependent pseudothrombocytopenia. *Minerva Medica*; 84: 399-402. 1993.
6. Bennett Edelman, M. D. and Thomas Kickler, M. D. Sequential Measurement of anti-platelet antibodies in a patient who developed EDTA-dependent pseudothrombocytopenia. *Am. J. Clin Pathol*; 99: 87-89. 1993.
7. M. de Caterina, MD, G. Fratllanza, MS, E. Grimaldi, MD, V. Varriale, RT, F. Scopacasa. Evidence of a cold immunoglobulin M autoantibody against 78- KD platelet Glycoprotein in a case of EDTA-Dependent pseudothrombocytopenia. *Am. J. Clin. Pathol*; 99: 163-167. 1993.

8. Arnold, J. P. F. Lombarts, PH D. and Wim de Krreviet, PH. D Recognition and prevention of pseudothrombocytopenia and concomitant pseudoleukocytosis. *Am. J. Clin. Pathol.* 89: 634-639. 1988.

9. Oguz Onder, Arthur Weinstein, and Leon W. Hoyer Pseudothrombocytopenia caused by platelet Agglutinins that are reactive in blood anticoagulated with chelating agents. *Blood*, 56, 2 (August) 1980.

10. Michael J. Kikta, M. D. Michael P. Keller, MD, Paul W. Humphrey MD, and Donald Silver, MD. Can low molecular weight heparins and heparinoids be safely given to patients with heparin-induced thrombocytopenia syndrome?. *Columbia, Mo. Surgery.* Oct. 114(4): 705-10. 1993.

11. Juna José Hicks, Juan C. Díaz Zagoya. *Bioquímica e Inmunología. Facultad de Medicina. UNAM.* 1988.

12. A. V. Hoffbrand, J. E. Pettit. *Hematología Básica.* Editorial Noriega Limusa 1991.

13. Ronald Hoffman, MD, Edward S. Benz, Jr MD. *Hematology, Basic Principles and Practice. Second edition.* Ed. Churchill Livingstone. 1995

14. Ivan Roitt. *Inmunología.*

15. Shalev-O; Lotman-A N. Images in Clinical Medicine. Pseudothrombocytopenia. *Engl. J. Med.* Nov 11; 329(20): 1467. 1993.

16. Anton-Botella-JJ; García Ballesta-MJ, Carrillero-Marin-R. Aten-Primaria EDTA-Induced pseudothrombocytopenia in primary care (letter). *May 15; 11(8): 443-4.* 1993.

17. Ryo-R; Sugano- W; Goto-M; Takada-M; Sarg-K Platelet release reaction during EDTA-induced platelet agglutinations and inhibition of EDTA-induced platelet agglutination by anti-glycoprotein IIb/IIIa a complex monoclonal antibody. *Thromb. Res.* May 1, 74 (3): 265-72. 1994.

18. Schenella-M; Nicoli-M, Lippi-G. Instrumental reports and effect of anticoagulants in a case of neutrophil agglutination in vitro. *Haematologica.* Nov-Dec; 78 (6): 364-70. 1993.

19. Rutherford-CJ; Frenkel-EP. Thrombocytopenia, Issues in diagnosis and Therapy. *Med. Clin. North. Am.*; 78(3): 555-75.

20. William J. Williams M.D. Hematology. McGraw-Hill Book Company A Blakistan Publication 1972.

21. Lipson-PJ. What's that platelet count ?; A case for pseudothrombocytopenia in an obstetric patient (Letter); *Anesthesiology.* feb; 80(2):478. 1994.

22. Santoso-S; Kalb-R, Kroll-M, Walka-M; Kiefel; Mueller- Eckerhardt-C; Newman-PJ. A point mutation leads to an unpaired cysteine residue and a molecular weight polymorphism of a functional platelet beta 3 integrin subunit. The era alloantigen system of GP IIa. *Biol-Chem.* Mar 18; 269(11): 8439-44. 1994.

23. Taheuchi-T; Yoshioka-K, Hori-Med. Cytomegalovirus mononucleosis with mixed cryoglobulinemia present in transient pseudothrombocytopenia. *Jul;* 32(7). 598-601. 1993.

24. Agglutination of platelets by a serum factor in the presence of EDTA. *J. Clin Pathol;* 22 : 460-464. 1969.

25. Diccionario de Especialidades Farmaceuticas. Ediciones PLM, S.A de C.V.
Edición Mexicana 1993.