

UNIVERSIDAD MOTOLINIA

Incorporada a la U. N. A. M.
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

ESTANDARIZACION DE UN METODO PARA EL ESTUDIO DE LA ADHESIVIDAD DE PLAQUETAS "IN VIVO" (MODIFICACION DEL METODO DE BORCHGREVINK)

T E S I S

Que para obtener el Título de:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

p r e s e n t a

MA. ANTONIETA TIBURCIO GALLARDO

México, D. F.

1965



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.

A MIS PADRES

A quienes debo todo lo que soy

Con todo cariño a mis hermanos

Tomás Eduardo

Elena del Carmen

y Jorge Antonio

12124

A LA memoria de mis abuelitos.

A Saúl.

A mis Maestros.

A los Miembros del Jurado.

Al Dr. Nicolás Arias Elenes.

Con agradecimiento por su acertada y
valiosa dirección en la elaboración
de esta tesis.

Al personal del Servicio de Hematología
del Hospital de Pediatría del Centro --
Médico Nacional del I.M.S.S. por su ge-
nerosa ayuda.

Al personal del Servicio de Hematología
del Hospital Infantil de México, por su
compañerismo y desinteresada ayuda.

A las Autoridades del Instituto Mexicano
del Seguro Social, por haberme proporcio-
nado todas las facilidades para el desa-
rrollo de esta tesis.

ESTA TESIS SE REALIZO EN EL LABORATORIO DE
HEMATOLOGIA ESPECIAL DEL HOSPITAL DE PEDIATRIA
DEL CENTRO MEDICO NACIONAL I. M. S. S.

I N D I C E

Introducción.....	1
Función de las plaquetas.....	5
Factores de la coagulación de las plaquetas...	9
Adhesividad de las plaquetas.....	12
Objeto del trabajo.....	14
Material y método en general, en particular -- primer intento.....	16
Material y método en general, en particular -- segundo intento.....	19
Discusión.....	34
Resumen.....	47
Bibliografía.....	48

" INTRODUCCION "

En el año de 1860 Zimmermann, en 1865 Max Schultze y en 1874 Osler, observaron unos corpúsculos que se encontraban constantemente en la sangre, que no eran leucocitos ni eritrocitos y aparentemente no les concedieron importancia alguna. Otros autores como Hayem en 1878, --- creía que tales corpúsculos se transformaban en eritrocitos. Pero en 1882 Bizzozero descubrió que estos corpúsculos, a los que llamó plaquetas, tenía una importante función en la hemostasis (1).

Las plaquetas son cuerpos pequeños redondos u ovales, en campo oscuro muestran un contorno nítido, poseen granos inmóviles en el centro. Al observarse con microscopio electrónico se les han encontrado pequeñas mitocondrias, granulaciones gruesas y áreas claras, material de Golgy y retículo endoplasma.

Cuando se tiñen por el método de Romanowsky, se observan granulos azurófilos en un citoplasma azul claro hialino; los gránulos pueden estar agrupados en el centro, lo cual les da la apariencia de un núcleo; este "núcleo" nunca ha podido ser demostrado, por no tomar las coloraciones nucleares. Cuando se hace una tinción con azul de cresil brillante, se observa bastante bien la diferencia entre hialómero y granulómero.

Las plaquetas tienen un diámetro de 2 a 4 micras y un promedio de 7 a 8 micras cúbicas en volumen. En ocasiones se encuentran plaquetas más grandes, generalmente cuando la regeneración sanguínea es activa. En estos casos, se han encontrado plaquetas de 25 a 50 micras de longitud y en formas muy variadas. Las plaquetas pequeñas tienen pro--

pliedad aglutinante superior que las plaquetas de tamaño grande, por lo cual las plaquetas pequeñas son funcionalmente más activas.

Durante mucho tiempo, las plaquetas fueron consideradas con poca actividad metabólica intrínseca. Pero ahora se ha visto que es metabólicamente muy activa: Las plaquetas tienen aproximadamente un 60 % de proteínas, 15 % de lípidos, 8.5 % de hidratos de carbono, además (iones) de Ca, Mg, Cu, Fe y Mn.

Origen de las plaquetas.- Acerca del origen de las plaquetas, ha habido en años atrás, numerosas opiniones en donde se ha creído:

- 1.- Que derivan del plasma mismo.
- 2.- De la capa endotelial de los vasos.
- 3.- De los eritrocitos o de su núcleo.
- 4.- De los leucocitos, del núcleo de los leucocitos degenerados o de los granulos de eosinófilos.
- 5.- De los gránulos (linfáticos) de la célula reticulo endotelial.
- 6.- Del bazo.
- 7.- De los megacariocitos de la médula ósea.

Esta última teoría es la aceptada (25). No existe evidencia alguna en apoyo de las seis primeras.

En 1906 J.H. Wright (1) sacó en conclusión que las plaquetas --- eran porciones desprendidas del citoplasma de los megacariocitos. Estas células se encuentran situadas de tal manera en la médula ósea en relación a los vasos sanguíneos, que pequeñas proyecciones o pseudopódos moderadamente grandes son fácilmente liberados y transportados a la circulación. En ese mismo año, Wright modificó la mezcla de azul de --

metileno y eosina, con la cual tiñó cortes finos de médula roja de gatos y perros jóvenes y observó que los megacariocitos frecuentemente extendían pseudópodos citoplásmicos que penetraban en los sinusoides de la médula y también que los pseudópodos citoplásmicos se teñían al igual que las plaquetas; los gránulos rojos de los pseudópodos se parecían a las cromatómeras granulosas de las plaquetas y la substancia de los pseudópodos se teñía igual que la hialómera de las plaquetas. También señaló que solamente los animales que tienen plaquetas en la sangre poseen megacariocitos. Además, algunos observadores han visto que en ciertos estados patológicos existe relación entre el número de plaquetas en la sangre y el número de megacariocitos en la médula.

Gracias al microscopio electrónico se ha podido probar que las plaquetas son porciones separadas del citoplasma de los megacariocitos y se ha visto que cada una está rodeada de una membrana celular. Al estudiar el citoplasma de megacariocitos con microscopio electrónico, se ha mostrado cómo cada fragmento de citoplasma puede rodearse totalmente de membrana celular, en tanto el citoplasma del cual dichos fragmentos se separaron puede quedar revestido de membrana celular.

En 1955 Yamada describió la forma en la que el citoplasma de los megacariocitos se divide en pequeñas porciones por el gran desarrollo de estructuras membranosas de superficie lisa dentro de su citoplasma. Se cree que en los megacariocitos las vesículas de este tipo son muy amplias y quedan comprimidas dentro del citoplasma, estas vesículas se aplastan tanto que dan la apariencia de ser membranas dobles e incluso únicas. Estas membranas se desarrollan tanto que delinear pequeñas zonas del citoplasma, de las cuales más tarde cada una de éstas dará ori-

gen a una plaqueta. Tales porciones de citoplasma junto a la superficie celular en su parte externa, quedan cubiertas por una membrana celular y en todas las demás por membranas dobles. Al separarse las dos capas de la membrana doble, la porción superficial del citoplasma se libera transformándose en plaqueta. Una capa se convertiría en la cubierta para la plaqueta y la otra pasaría a ser membrana celular del megacariocito por quedar unida a él. Esta es la forma en que probablemente se producen -- las plaquetas.

En muchas ocasiones, los megacariocitos presentan vesículas en su superficie y se puede pensar que éstas son eliminadas para producir plaquetas. Pero no suelen contener gránulos específicos, por lo que parece que esto no sucede así. Se supone que las plaquetas nacen de las porciones de citoplasma que al desarrollar en su interior vesículas membranosas aplanadas de superficie lisa se separan en compartimientos (2).

" FUNCIONES DE LAS PLAQUETAS "

Las plaquetas ejercen un efecto complejo y fundamental en cada -- fase del proceso hemostático y control de sangrado consecutivo o lesión-- de vasos. Sus cuerpos viscosos taponan mecánicamente la herida en el -- vaso al liberar agentes químicos en el sitio de la lesión vascular. Tam-- bién causan vasoconstricción y toman parte del proceso de coagulación. Actualmente, se cree que sólo las plaquetas con funcionamiento normal -- pueden causar retracción del coágulo porque representan puntos de ancla-- je para las mallas de fibrina. Fonio ha sugerido que la retracción del-- coágulo se debe a un constituyente específico que él ha aislado del hia-- lómero de las plaquetas, con lo que se recuerda el concepto de Glanzmann que postuló la existencia de una retracto enzima (3).

Desde el punto de vista estructural, bioquímicamente las plaque-- tas son grandes unidades funcionales. Una lista de agentes químicos en-- zimáticos y de coagulación encontrados en las plaquetas, es el siguiente:

A.T.P. (Adenosin Trifosfato)

ADENINA (base purínica)

HIPOXANTINA

GLUCOPROTEINAS

ACIDO CONDROITIN SULFURICO que contiene ácido mucopolisacá-- rido.

MUCOPOLISACARIDO libre de ácido urónico

HISTAMINA

CALCIO

LIPIDOS

R.N.A. (ácido ribonucleíco)

PROTEINAS

CARBOHIDRATOS (4.97 % peso seco)

AMINOCACIDOS (en orden de concentración)

MUY ALTO	ALTO	MEDIANO	BAJO
TAUREINICO	FENILALANINA	GLUTATION	TETRAMETIL CISTEINA
ACIDO ASPARTICO	ARGININA	ACIDO GLUTA MERIC	TIROSINA
	ALANINA	TRIONINA	TRIPTOFANO
	LEUCINA	VALINA	ACIDO CIS- TEICO
	CISTEINA		SERINA
	ISOLEUCINA		GLICINA
	METIONINA		

FOSFATO ACIDO

CITOCROMOS

ACIDO LACTICO

PIGMENTOS CAROTENOIDES (luteína, licopenia y β -caroteno)

SEROTONINA

ADRENALINA

ENZIMAS PRESENTES EN PLAQUETAS HUMANAS:

I.- ESTEARASAS

Acetil colinesterasa

Aliesterasa

Fosfomonoesterasa

Triacetina tributirina esterasa

II.- FOSFATASAS

Glicerofosfatacida

Nitrofenilfosfatacida

Fosfatacida

Adenil fosfatasa

A.T.P. (adenosín trifosfato)

Monofosfatasa

Nucleotidasa

III.- DEHIDROGENASAS

Lactil dehidrogenasa

6 fosfato dehidrogenasa

6 fosfogluconico dehidrogenasa

IV.- OXIDASAS

Citocromo (C) oxidasa

D.P.N.H. oxidasa

V.- TRANSAMINASAS

Glutámica oxaloacética

Glutámica pirúvica

Aspartica ketoglutámica

Alanina ketoglutámica

VI.- PROTEASAS

Alanin glicinasa

Triptasa

VII CARBOHIDRASAS

Amilasa

Hialuronidasa

Lisozima

VIII.- AMINOACIDO DESCARBOXILASAS

L. histidina descarboxilasa

IX.- SULFATASAS

Arilsulfatasa

X.- GRUPO MISCELANEO

5 amino nucleotidasa

Catalasa

β -glucorinidasa

Varias enzimas glicolíticas

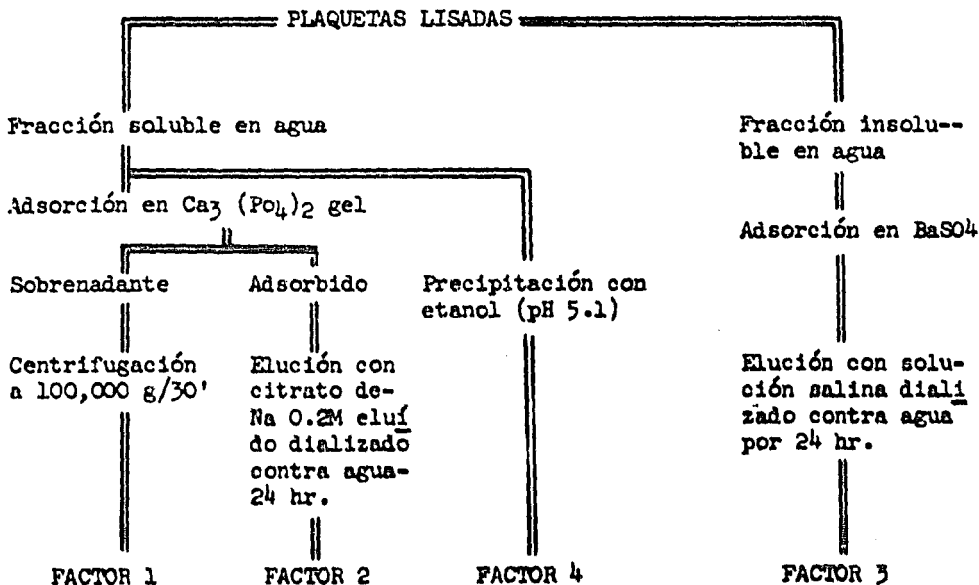
Histaminasa

Tirosinasa

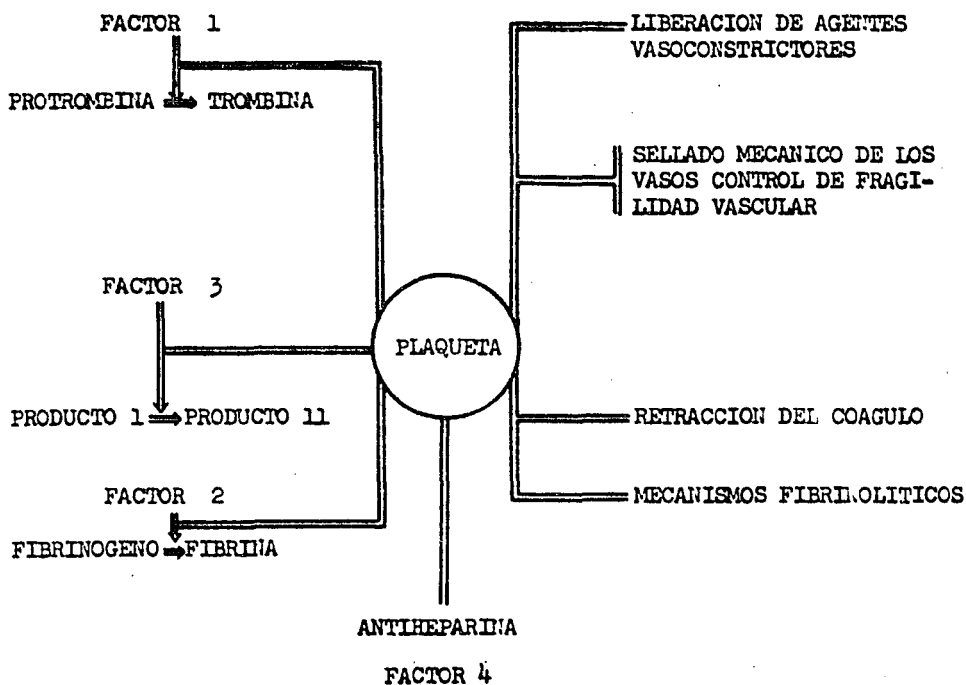
" FACTORES DE LA COAGULACION EN PLAQUETAS "

- FACTOR 1 Globulina aceleradora de las plaquetas, citrina.
- FACTOR 2 Aceleradora de la trombina.
- FACTOR 3 Factor plaquetario de la tromboplastina, células componentes de tromboplastina.
- FACTOR 4 Factor antiheparina
- COTROMBOPLASTIN factor estable ?

Existe una confusión sobre las substancias o constituyentes que pueden aislarse de las plaquetas. Se ha intentado resolver este problema y se ha mostrado que agentes como la serotonina no pueden ser eluidos de las plaquetas sin destrucción de estos cuerpos. Los agentes de coagulación, ya sean intrínsecos o adsorbidos a las plaquetas, reafirman el papel importante de estos cuerpos en la regulación de toda la fase del proceso hemostático.



La existencia de los constituyentes de las plaquetas se comprueba no sólo por la evidencia de su papel fisiológica, sino también por su -- purificación parcial en el laboratorio a partir de plaquetas humanas li-- sadas. Los resultados del fraccionamiento plaquetario y las observacio-- nes clínicas, en caso de defecto plaquetario cualitativo, indican de --- cualquier forma que tales procesos con tiempo de sangrado, fragilidad -- vascular, retracción del coagulo, formación de tromboplastina completa e incompleta y aceleración de formación de trombina y fibrina, son regula-- dos total y parcialmente por factores plaquetarios individuales.



Existe una controversia considerable sobre la naturaleza del lípido responsable para la actividad del factor 3 plaquetario. Las fracciones I y V de Folch del tejido cerebral, han mostrado semejanza con la actividad del factor 3 plaquetario. Las plaquetas contienen un exceso de fosfolípidos, 20 veces mayor que para las necesidades de la coagulación.

Para la actividad completa del factor 3 plaquetario, es necesaria la presencia de lecitina. Parece que las plaquetas se hacen activas en el proceso hemostático después de su contacto con agentes coagulantes -- del plasma, que es cuando tiene lugar la metamorfosis viscosa. Esto no ocurre normalmente cuando los factores P.T.A. (antecedente de la tromboplastina plasmática) ó Hageman son deficientes y es retardado en pacientes con deficiencia de G.A.H. (globulina anti-hemofílica) y P.T.C. (componente de la tromboplastina plasmática (3)).

" ADHESIVIDAD DE LAS PLAQUETAS "

La adhesividad de las plaquetas a las fibras colágenas tiene lugar en unos cuantos segundos, debido probablemente a fuerzas electrostáticas no específicas de superficie. Se ha sugerido que la adhesión también tiene lugar entre plaquetas y partículas orgánicas (levaduras, microbios, etc.) e inorgánicas (sulfato de bario, cuarzo, etc.). Esta reacción es continuada por la agregación de las plaquetas, que tal vez es causada por presencia de A.D.P. (adenosin difosfato). Hovig ha mostrado gran interés al darse cuenta que en una suspensión de partículas de colágena lavadas y de plaquetas, la adhesividad puede sobrevenir igualmente. Esta en sí no es aún comprendida. Las plaquetas no se adhieren al endotelio intacto, a los eritrocitos o superficies siliconadas. La reacción necesita calcio y magnesio; es inhibida por antimaláricos, cocaína y antibistamínicos (4).

Para el estudio de la adhesividad se han empleado varias técnicas, a saber:

"TECNICA DE ADHESIVIDAD IN VITRO"

Salzman et al. (5) describen un método para el estudio de la adhesividad plaquetaria "in vitro", que consiste en esencia en hacer pasar la sangre obtenida de una punción venosa limpia, por un tubo de plástico y siliconado lleno de perlititas de vidrio (no siliconadas) antes de ponerse en contacto con el anticoagulante depositado en un tubo al vacío. Con este método estudian la adhesividad de plaquetas en pacientes con defectos congénitos de la coagulación (hemofilias) y otros hemorragíparos como tromboastenia, meteplasia mielóide, Ehlers-Danlos y síndromes de

Von Willebrand. Cuando la sangre se pone en contacto primero con el --- anticoagulante y después se pasa por las perlas de vidrio, las plaquetas no se adhieren. Muestras seriadas de sangre, según estas pasan por el - filtro de perlitas, demuestra que la fracción de las plaquetas que pasan aumenta con el tiempo, fenómeno que parece ser dependiente del calcio, - pero que no es inhibido por heparina o por defectos de coagulación.

"TECNICA DE ADHESIVIDAD IN VIVO" (6)

En este método se determina:

1.- Microhematocrito con sangre capilar y tubos capilares hepari-
nizados, centrifugando a 8,000 r.p.m. durante 9'. El resultado se lee -
en la escala International microcapilar.

2.- Se hace una cuenta de plaquetas en sangre venosa por el méto-
do de Brecher, Schneirderman y Kronkite (23). Se punciona la vena con -
una aguja siliconada y se desechan los 2 ó 3 primeros ml. de sangre. --
Después se deposita la sangre en un tubo siliconado sin anticoagulante.
Enseguida se hace una dilución 1/100 con oxalato de amonio al 1% en la -
pipeta de Thoma y se agita; se carga una camarita de Biercker y se deja-
reposar 30' en una caja de Petri en ambiente húmedo y se hace la cuenta-
en contraste de fase. Para cada muestra se usan 2 pipetas y 2 cámaras.

3.- También se hace cuenta de plaquetas de la sangre de una inci-
sión en el antebrazo. Se pone un brazalete a 40 mm de mercurio. Se ha-
cen una ó dos incisiones de 10 mm de longitud por 1 mm de profundidad --
con una hoja Gillette, que se hace pasar a través de una ranura de una -
placa metálica en la hoja del bisturí sujeta por una pinza que permita -
que la punta pase la placa; se dejan pasar de 40" a 45" más ó menos an--

tes que la primera gota sea suficientemente grande para poder tomar la muestra con la pipeta de Thoma. Luego se hacen por lo menos 2 cuentas de las 3 ó 4 gotas, dentro de 3' - 5'; la media se toma como el número de plaquetas de la muestra capilar. La cuenta de plaquetas se hace exactamente igual que la de sangre venosa.

El número de plaquetas adheridas es la diferencia entre la cuenta de plaquetas de sangre venosa y la media de cuentas de plaquetas de sangre capilar.

El microhematocrito se hace con el objeto de saber si hay dilución de elementos de la sangre por la presencia de líquidos tisulares.

OBJETO DEL TRABAJO

El objeto de este trabajo fue el de simplificar el método de Borchgrevink (6).

En el método de Borchgrevink se hace una punción venosa y una ó dos incisiones en el antebrazo con una longitud de 10 mm y una profundidad de 1 mm. En la modificación solamente se hace una punción venosa y una punción capilar en la yema del dedo. Esto se hizo con el objeto de no traumatizar al paciente, además de que algunas personas, al practicarles una incisión de este tamaño quedan con cicatrices queloides.

En esta modificación se utilizó sangre venosa, sangre capilar primera gota y sangre capilar segunda gota y se encontró que el número de plaquetas de la primera gota no es diferente al de sangre venosa; y la segunda gota aparece disminuida por las plaquetas que se adhieren a los bordes de la punción, excepto en los casos donde no hay adhesividad.

Por otro lado, este método se simplificó al grado de poderse ---
efectuar en cualquier laboratorio clínico. Y sólo se hacen tres cuen--
tas de plaquetas por duplicado.

" MATERIAL Y METODOS EN GENERAL, "

En particular: Primer intento.

MATERIAL Y METODOS:

Se tomaron un total de 26 personas, de las cuales a 20 no se les pudo demostrar anormalidad de plaquetas por: tiempo de sangrado, torniquete, retracción del coágulo y cuenta de plaquetas. Los 6 restantes -- eran pacientes que estaban recibiendo anticoagulantes, como puede verse en la Tabla siguiente:

NUM	MUESTRAS DE SANGRE		Nº DE PLAQUE- TAS ADHERIDAS	% DE ADHE- SIVIDAD.
	Venosa	Capilar		
1	413,000	400,000	13,000	3.1
2	439,000	405,000	34,000	7
3	444,500	413,000	31,500	7
4	281,500	259,000	21,500	7.6
5	208,000	195,000	15,000	7.7
6	358,000	322,500	35,500	9
7	267,000	241,500	25,500	9.1
8	305,000	276,000	29,000	9.8
9	286,500	226,500	47,000	15
10	220,500	187,500	33,000	15
11	332,500	279,000	53,500	16
12	401,000	350,000	71,000	17.7
13	346,500	273,500	73,000	21
14	513,500	382,500	131,000	25
15	379,500	273,500	96,000	25
16	381,000	282,500	98,500	25.9
17	477,500	342,500	135,000	28
18	418,000	300,000	118,000	39.3
19	541,000	312,000	229,000	42.3
20	463,500	359,000	104,500	44.3

PACIENTES QUE RECIBIERON ANTICOAGULANTE

NUM	MUESTRAS DE SANGRE		Nº DE PLAQUETAS ADHERIDAS	% DE ADHESIVIDAD.
	Venosa	Capilar		
1	597,500	512,500	63,000	13.7
2	215,000	172,000	43,000	20
3	563,000	430,000	133,000	22.6
4	275,000	213,000	62,000	22.6
5	324,000	241,000	83,000	25.6
6	276,500	147,500	129,000	47

Adhesividad de plaquetas. Como material biológico, se utilizó -- sangre venosa y capilar. Todo el material que se usó fue siliconado con "Siliclad" según las instrucciones del fabricante. Se guardó en el refrigerador a 4°C. Con jeringa siliconada y fría, se hizo una punción venosa limpia en alguna de las venas del pliegue del codo y se obtuvo 1 ml de sangre que se depositó de inmediato en un tubo de ensaye siliconado y frío, de donde se cargó hasta la marca 1 una pipeta para glóbulos rojos, certificada y se llenó hasta la marca 101 con oxalato de amonio al 1%, -- frío. Se aplicó el manguillo del baumanómetro a 40 mm. de mercurio al brazo y se hizo la incisión con la hoja "hematet"* en la cara anterior del antebrazo en una zona avascular. Se esperó que espontáneamente saliera la sangre de la herida, de donde se cargó una pipeta de glóbulos rojos, certificada, exactamente de la misma manera que con la sangre venosa. Las pipetas se agitaron en un agitador automático de pipetas durante 15', al cabo de los cuales, después de descartar las primeras gotas y con líquido del bulbo de la pipeta, se cargó una cámara para contraste de fase, en ambos lados, se dejó que se sedimentaran las plaque--

* marca registrada.

tas durante 15', en ambiente húmedo, para ser contadas directamente al microscopio en contraste de fase. Los resultados de los 2 lados de la cámara se promediaron, siempre y cuando la diferencia en las 2 cuentas no excediera al 10%. El número de plaquetas obtenidas en sangre venosa se consideró como 100% y el número de plaquetas adheridas igual a la diferencia entre la cuenta de plaquetas obtenidas de sangre venosa y plaquetas obtenidas de sangre capilar. Ejemplo:

Plaquetas de sangre venosa.....	250,000
Plaquetas de sangre capilar.....	200,000
Plaquetas adheridas.....	50,000
% de plaquetas adheridas.....	20

RESULTADOS:

Con el método aquí descrito, se encontró en sangre venosa un promedio de plaquetas de 368,820 por mm. cúbico con una media de 300,000 -- por mm. cúbico y una mediana de 365,000 por mm. cúbico y la desviación estandar de 123,000 por mm. cúbico. Al hacer el cálculo de plaquetas adheridas, se encontró que el promedio aritmético fue de 83,000 ó sea el 22.5 % del promedio de plaquetas en sangre venosa y la desviación estandar de las plaquetas adheridas fue de 55,000 lo cual es equivalente al 14.9 % del promedio de las plaquetas venosas.

Se trató de encontrar una relación entre el número de plaquetas con el porcentaje de plaquetas adheridas y no fue posible hacerlo. En los casos que estaban recibiendo anticoagulantes, no se encontró diferencia en el número de plaquetas adheridas en comparación con los casos sin anticoagulantes, hecho ya previamente reportado (5, 6).

" MATERIAL Y METODOS EN GENERAL, "

En particular: Segundo intento

MATERIAL Y METODOS:

Se tomaron un total de 30 personas normales que fueron elegidas al azar, sin ninguna historia clínica de sangrado y 39 enfermos con problemas de coagulación. De éstos fueron: 15 púrpuras, 6 pseudohemofilias, 3 epistaxis, 2 linfosarcomas, 2 desnutridos, 4 renales, 1 leucemia, 1 anemia refractaria, 1 tromboastenia, 3 hemofilias y 1 agammaglobulinemia.

CASOS NORMALES

NUM.	MUESTRAS DE SANGRE			Nº de plaquetas - adheridas	% de Adhesividad.
	Venosa	1a.gota Capilar	2a.gota Capilar		
1	170,000	167,000	131,000	39,000	23
2	230,000	235,000	178,000	52,000	23
3	400,000	390,000	310,000	90,000	23
4	295,000	297,000	225,000	70,000	24
5	278,000	272,000	212,000	66,000	24
6	259,000	263,000	198,000	51,000	25
7	200,000	199,000	150,000	50,000	25
8	227,000	229,000	171,000	56,000	25
9	233,000	225,000	175,000	58,000	25
10	246,000	236,000	185,000	61,000	25
11	250,000	249,000	189,000	61,000	25
12	318,000	315,000	243,000	75,000	25
13	252,000	260,000	194,000	58,000	26
14	277,000	263,000	206,000	71,000	26
15	267,000	259,000	200,000	67,000	26
16	271,000	266,000	198,000	73,000	27
17	246,000	247,000	180,000	66,000	27
18	255,000	260,000	190,000	65,000	27
19	232,000	222,000	170,000	62,000	27
20	205,000	195,000	150,000	55,000	27
21	185,000	181,000	134,000	51,000	28
22	317,000	317,000	230,000	67,000	28
23	266,000	264,000	185,000	81,000	29
24	315,000	317,000	225,000	90,000	29

CASOS NORMALES

NUM	MUESTRAS DE SANGRE			Nº de plaquetas adheridas	% de Adhesividad.
	Venosa	1a.gota Capilar	2a.gota Capilar		
25	236,000	229,000	166,000	70,000	30
26	305,000	300,000	214,000	91,000	30
27	304,000	293,000	214,000	90,000	30
28	141,000	144,000	94,000	47,000	34
29	213,000	211,000	133,000	90,000	38
30	275,000	270,000	170,000	105,000	39

FURF RAS PRIMARIAS

NUM	MUESTRAS DE SANGRE			Nº de plaquetas adheridas	% de Adhesividad
	Venosa	1a.gota Capilar	2a.gota Capilar		
1	274,000	300,000	200,000	74,000	28
2		365,000	246,000	119,000	30
3	25,000	26,000	18,000	7,000	31
4	58,000	61,000	42,000	16,000	32
5	40,500	41,000	28,000	12,000	32
6	90,000	84,000	57,000	33,000	37
7	64,000	63,000	39,000	25,000	40
8	75,000	75,000	43,000	32,000	43
9	X	3,500	2,000	1,500	43
10	X	9,000	5,000	4,000	45
11	25,000	23,000	13,000	12,000	48
12	2,000	2,000	1,000	1,000	50
13	30,000	28,000	15,000	15,000	50
14	224,000	228,000	113,000	111,000	50
15	47,000	47,000	23,000	24,000	52

FURFURAS SECUNDARIAS

NUM	MUESTRAS DE SANGRE			Nº de plaquetas adheridas	% de Adhesividad
	Venosa	1a.gota Capilar	2a.gota Capilar		
<u>LEUCOSARCOMAS</u>					
1	10,000	8,000	5,500	4,500	45
2	7,000	7,000	5,500	2,000	29
<u>LEUCEMIA</u>					
1	50,000	45,000	35,000	15,000	30
<u>ANEMIA REFRACTARIA</u>					
1	4,000	4,000	3,000		23

PSEUDOLEUCOFILIA

NUM	MUESTRAS DE SANGRE			Nº de plaquetas adheridas	% de Adhesividad.
	Venosa	1a.gota Capilar	2a.gota Capilar		
1	220,000	213,000	220,000	-	-
2	265,000	262,000	265,000	-	-
3	570,000	577,000	574,000	-	-
4	411,000	412,000	403,000	8,000	2
5	477,000	500,000	454,000	23,000	5
6	439,000	450,000	409,000	30,000	7

EPISTAXIS

NUM	MUESTRAS DE SANGRE			Nº de plaquetas adheridas	% de Adhesividad.
	Venosa	1a.gota Capilar	2a.gota Capilar		
1	300,000	293,000	283,000	15,000	5
2	400,000	386,000	374,000	26,000	7
3		364,000	278,000	66,000	24

TROMBOASTENIA

NUM	MUESTRAS DE SANGRE			Nº de plaquetas adheridas	% de Adhesividad.
	Venosa	1a.gota Capilar	2a.gota Capilar		
1		315,000	316,000	-	-

AGAMMAGLOBULINEMIA

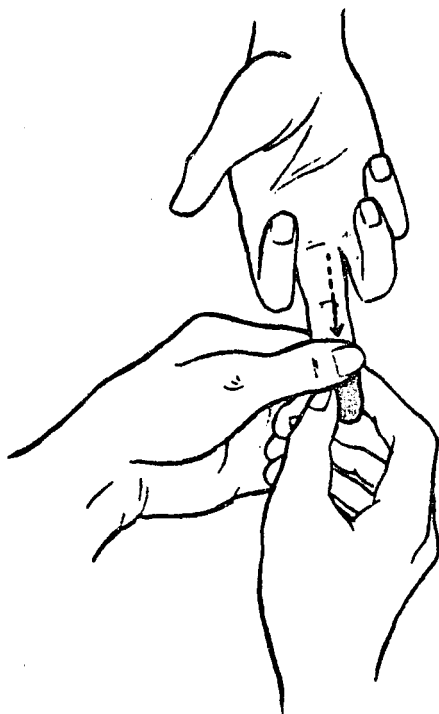
NUM	MUESTRAS DE SANGRE			Nº de plaquetas adheridas	% de Adhesividad.
	Venosa	1a.gota Capilar	2a.gota Capilar		
1	390,000	393,000	290,000	100,000	26

Los casos de desnutridos, renales y hemofílicos se presentan en el cuadro # 3.

Como material biológico se utilizó sangre venosa y sangre capilar. Todo el material que se usó fue siliconado con "Siliclad"* según las instrucciones del fabricante. Se guardó en el refrigerador a 4°C. Con jeringa siliconada y fría, se hizo una punción venosa en alguna de las venas del pliegue del codo y se obtuvo 1 ml. de sangre que se depositó de inmediato en un tubo de ensaye siliconado y frío, de donde se cargó hasta la marca 1 una pipeta para glóbulos rojos, certificada y se llenó hasta la marca 101 con oxalato de amonio al 1%, frío.

Se pinchó la yema de un dedo exprimido (esquema # 1) con una lanceta Sera Sharp* de 5 mm. de longitud, triangular, con base de 2 mm.

* Marca registrada.



Esquema N.º. 1.

La primera gota se tomó en una pipeta de la marca descrita anteriormente. Después se limpió con una gasa la sangre que quedaba de la primera gota y se exprimió el dedo para provocar la salida de la segunda gota, la cual se tomó en la misma forma que las anteriores. Las tres pipetas se agitaron en agitador automático de pipetas durante 3'30" al cabo de los cuales, después de descartar las 13 primeras gotas y con las dos siguientes, se cargó una cámara Neubauer, por ambos lados; se dejó que se sedimentaran las plaquetas por 10', en ambiente húmedo, frío, para ser contadas directamente en microscopio con contraste de fase. Los resultados de los dos lados de la cámara se promediaron siempre. El número de plaquetas obtenidas de la sangre venosa se consideró como el ---

100 % y la diferencia de ésta, con el número de plaquetas de la segunda-gota capilar, como el número de plaquetas adheridas. Ejemplo:

Punción venosa.....	315,000	plaquetas x mm ³		
Punción capilar, 1a. gota.....	317,000	"	"	
Punción capilar, 2a. gota.....	225,000	"	"	
Plaquetas adheridas.....	90,000	"	"	
Adhesividad.....	29 %			

315,000 - 100

225,000 - X X es igual a 71, al restarse de 100

quedan 29 que es el por ciento

de adhesividad.

RESULTADOS	MUESTRAS DE SANGRE			Nº de -- plaquetas adheridas	% de Adne- sivi- dad.
	Venosa	1a.gota Capilar	2a.gota Capilar		
PROMEDIO	255,716	252,600	187,350	67,600	28
MEDIA	250,000	275,000	178,000	62,500	30.5
MEDIANA	265,000	280,000	200,000	70,000	23
MODA	250,000	275,000	178,000	63,000	30.8
DESVIACION ESTANDAR	50,544	49,755	39,844	6,960	4.31
ERROR ES-- TANDAR	9,385	8,754	7,011	1,224	0.75

Como puede verse en la gráfica (1), existe una relación estrecha - entre el número de plaquetas en sangre venosa y el número de plaquetas -

adheridas, siendo esta relación aproximadamente de 4 a 1 directamente -- proporcional. Nosotros consideramos como cifras normales de adhesividad plaquetaria de 23 al 30 % por esta técnica.

En los casos anormales (púrpuras trombocitopenicas idiopáticas, - leucemia, anemia refractaria y linfosarcoma tratado), se encontró que -- aumentaba el porciento de plaquetas adheridas, pero que conservaba una - relación estrecha directamente proporcional con el número de plaquetas - de sangre venosa (gráfica 2).

Encontramos disminución en el porciento de adhesividad en los ca- sos de desnutrición, renales, tromboastenia, pseudohemofilia y hemofilia. Tres fueron los casos de hemofilia que tuvimos oportunidad de estudiar, - 2 por deficiencia de Factor VIII (globulina antihemofílica) y uno por de- fecto de Factor IX (componente de la tromboplastina plasmática).

En los casos de pseudohemofilia, en tres de ellos se hizo aplica- ción de plasma fresco y en uno plasma con cinco días de haber sido cose- chado, cuyos resultados se ven en las gráficas (3,4,5 y 6).

En el único caso de tromboastenia que nos tocó estudiar, se encon- tró ausencia de adhesividad de plaquetas, misma que prácticamente no fue corregida con la aplicación de plasma fresco, en contraposición con lo - observado en los casos de pseudohemofilia.

El diagnóstico de tromboastenia se basó en los siguientes estu- dios:

Cuenta de plaquetas.

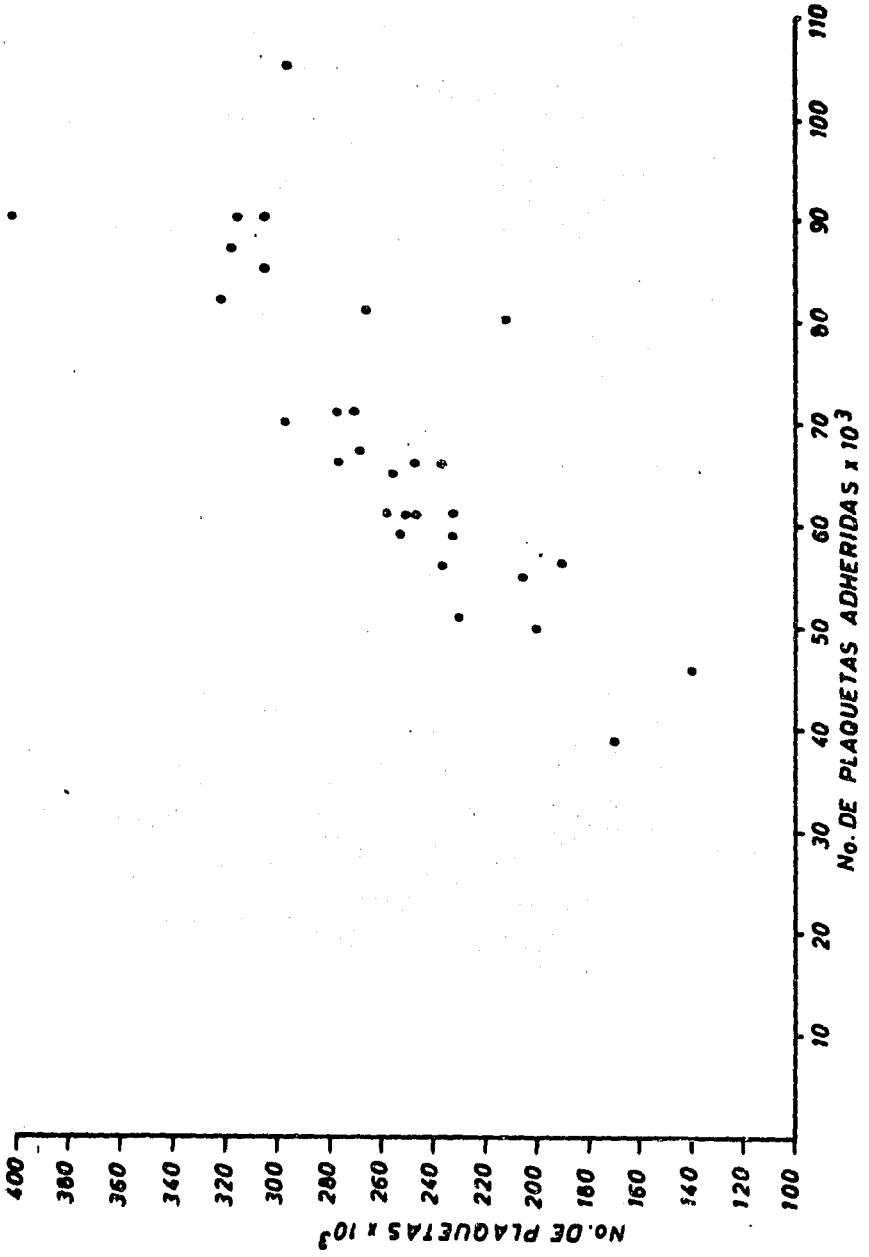
Retraacción del coágulo.

Metamorfosis viscosa (26).

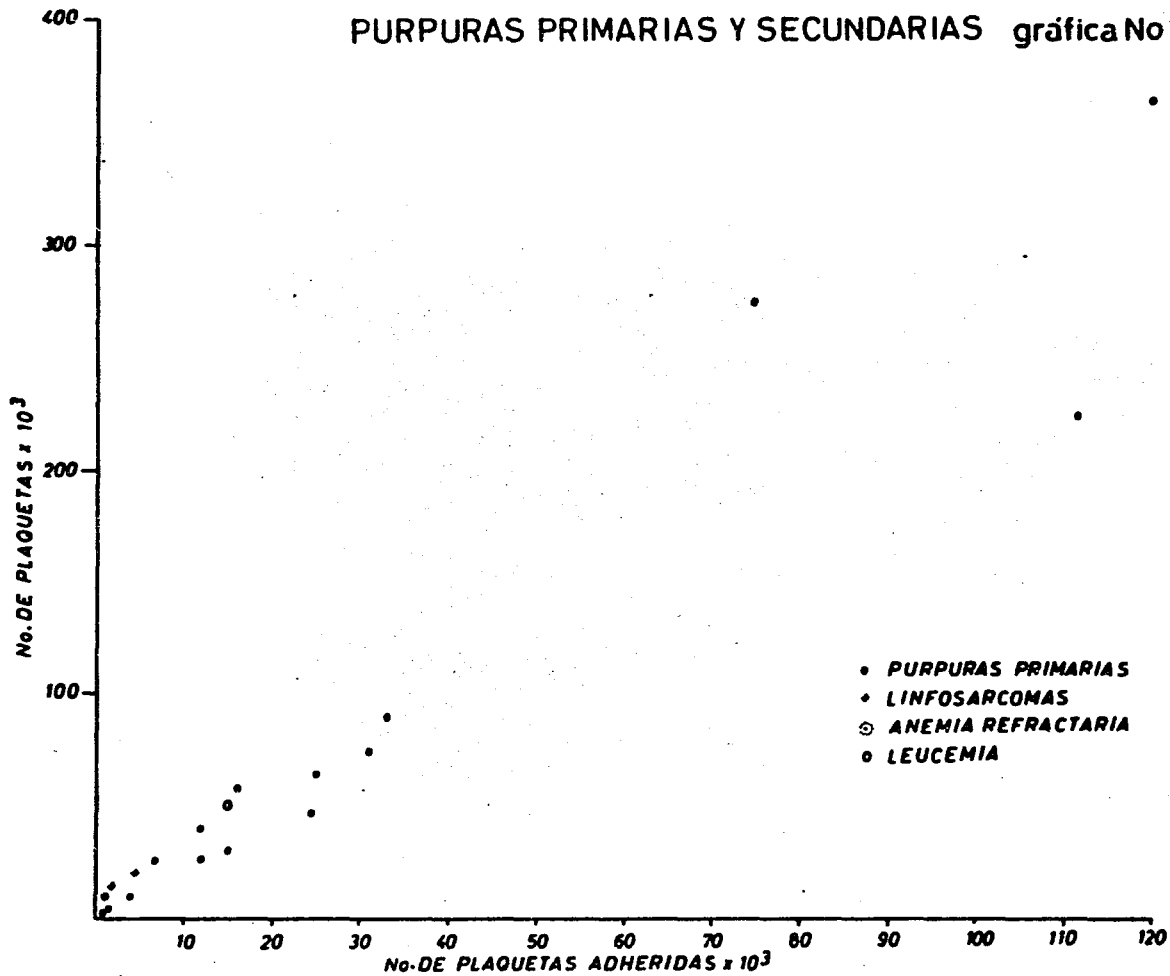
Adhesividad de plaquetas.

CASOS NORMALES

gráfica No 1



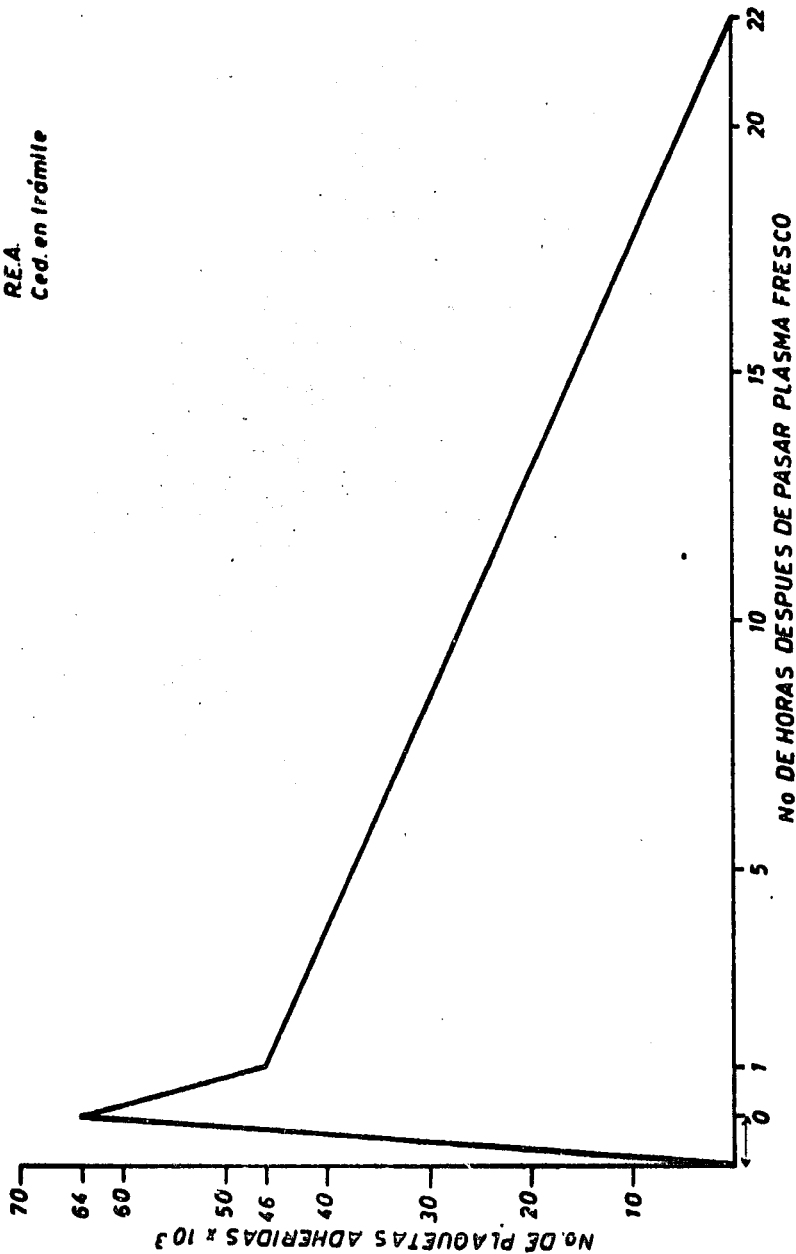
PURPURAS PRIMARIAS Y SECUNDARIAS gráfica No2



PSEUDOHEMOFILIA

gráfica No.3

RE.A.
Ced. en trámite

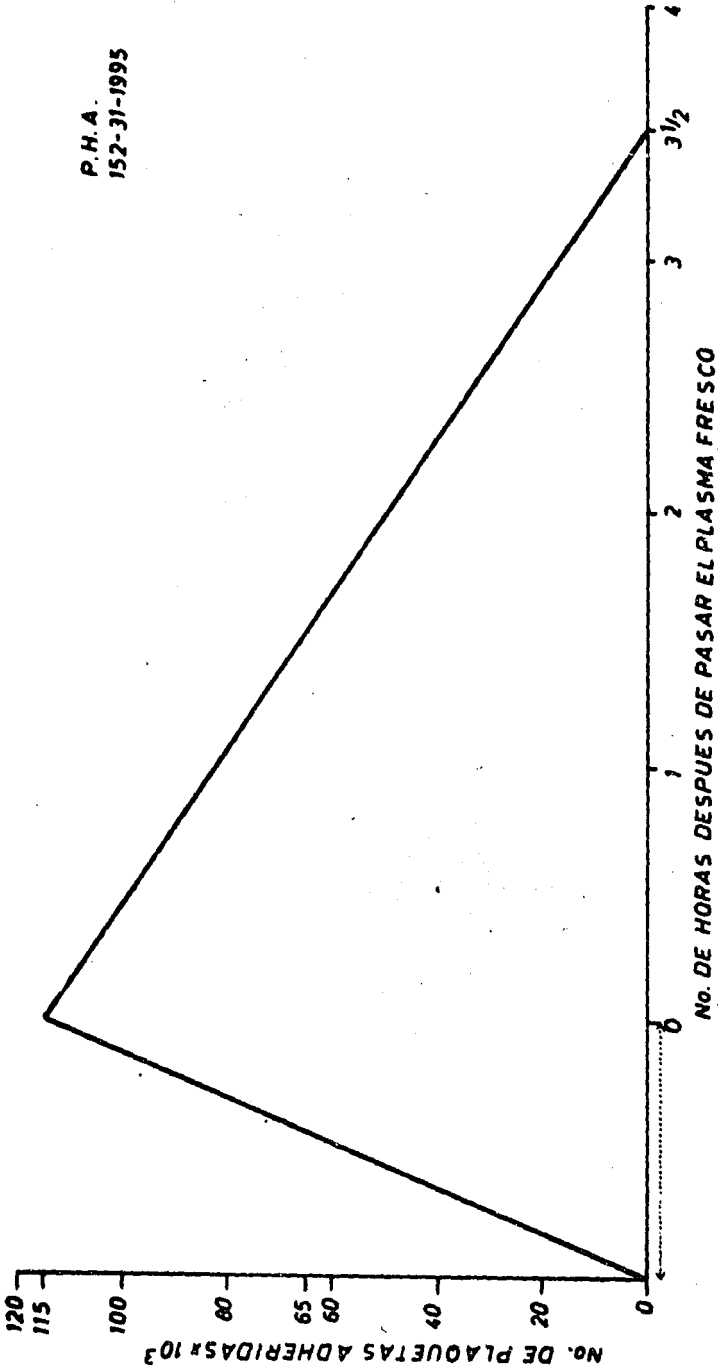


←-----→ Tiempo de aplicación del plasma.

PSEUDOHEMOFILIA

gráfica No.4

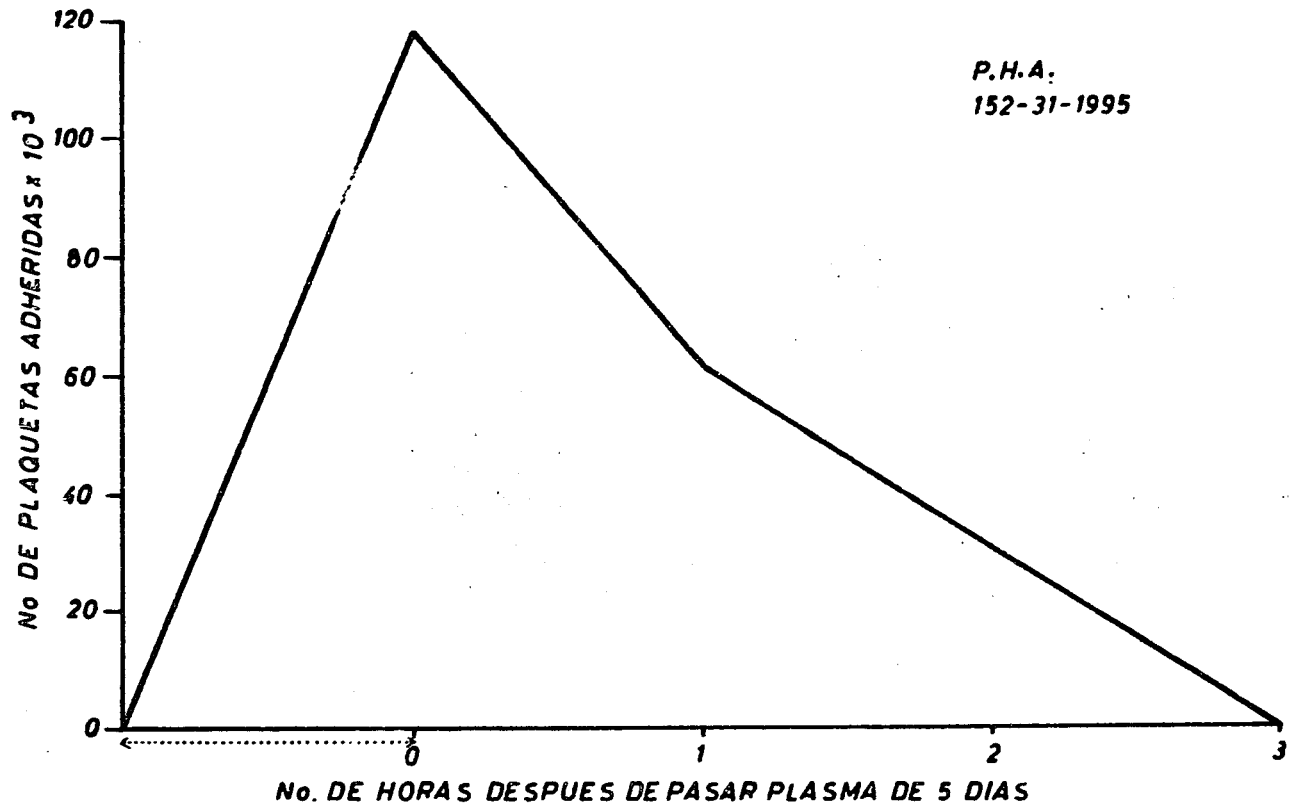
P. H. A.
152-31-1995



←.....→ Tiempo de aplicación del plasma.

PSEUDOHEMOFILIA

gráfica No 5



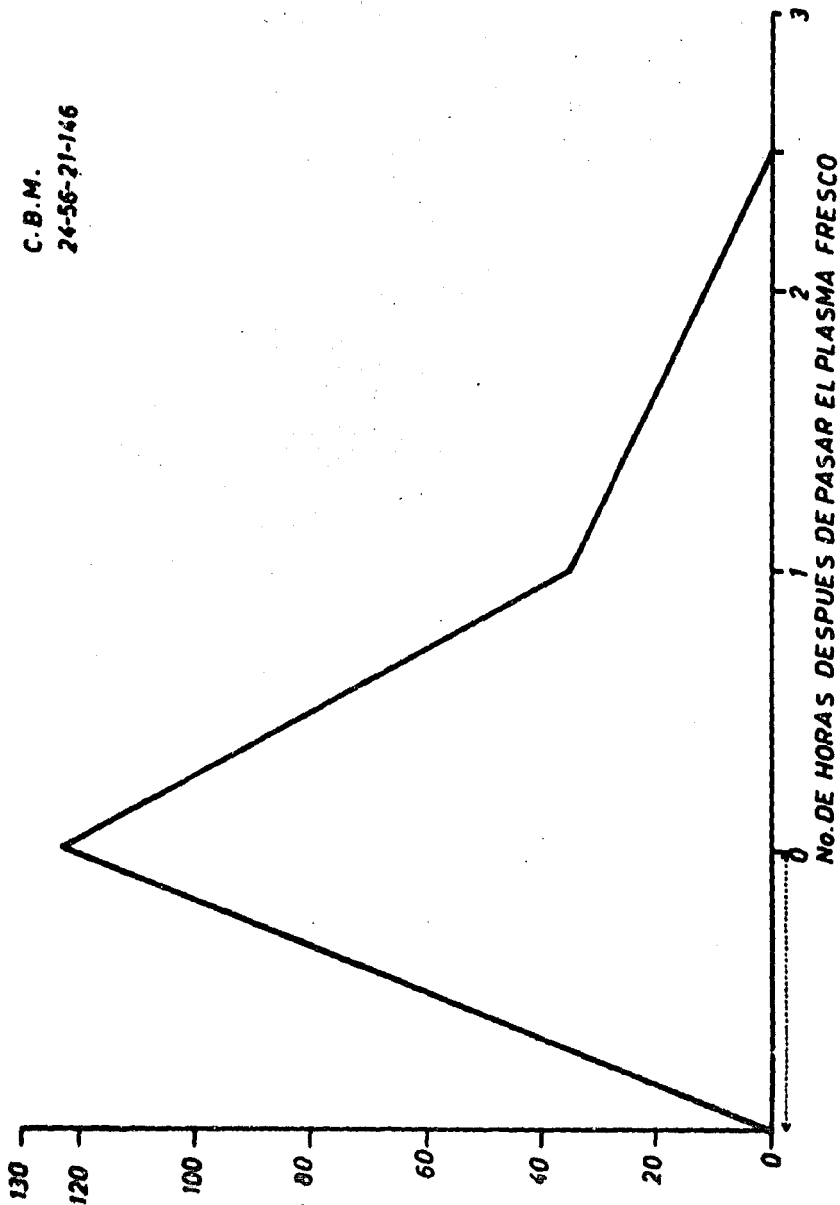
P.H.A.
152-31-1995

←.....→ Tiempo de aplicación del plasma

PSEUDOHEMOFILIA

gráfica

No. DE PLAQUETAS ADHERIDAS $\times 10^3$



←.....→ tiempo de aplicación del plasma

C.B.M.
24-56-21-146

Tiempo de sangrado. (Duke).

Los resultados se presentan en la siguiente tabla:

C U A D R O 1

TROMBOASTENIA ADQUIRIDA

R.G.H.
145-29-206

	17/VI/65	19/VI/65	21/VI/65*	24/VI/65
PLAQUETAS X 10	363	515	418	402
ADHESIVIDAD %		0	5	0
RETRACCION DEL COAGULO EN 5'	26	22	5	10
METAMORFOSIS		ANORMAL		
FEBRILIDAD	+	+	+	
EQUIMOSIS	+	+	+	
* DESPUES DE PASAR PLASMA FRESCO				

Se tuvo la oportunidad de estudiar 2 pacientes con diagnóstico de púrpura trombocitopénica idiopática en el período pre y post-esplenectomía, uno con microesferocitosis familiar. Uno de ellos se estudió solamente en el período post-esplenectomía inmediato, encontrándose normalización en la cifra de plaquetas, aumento porcentual de la adhesividad a cifras superiores de lo normal; el segundo paciente se estudió con mayor frecuencia y se encontró un aumento inicial de la adhesividad por encima de cifras normales, mismo que no guardó paralelo con el aumento de la cifra de las plaquetas y que regresó a cifras normales en el momento de la elevación máxima de las plaquetas en el 9o. día de la post-es-

plenectomía. En la siguiente tabla se anotan los resultados obtenidos:

T A B L A 1

PURPURA TROMBOCITOPENICA

R.C.G.
144-63-266

	Nº DE PLAQUETAS x 10 ³	Nº DE PLAQUETAS ADHESIVAS x 10 ³	ADHESIVIDAD EN %
PRE-ESPLENECTOMIA	40.5	11.5	32
1er. DIA POST-ESPLENECTOMIA	320	118	33
2o. " "	387	157	41
4o. " "	530	135	26
5o. " "	758	181	24
6o. " "	760	192	26
7o. " "	758	195	26
8o. " "	918	138	27
9o. " "	979	284	29
10o. " "	808	195	26

Uno de los pacientes que se estudió fue un caso de agammaglobulinemia, probablemente de la variedad congénita, encontrándose que la adhesividad, así como el número de plaquetas, eran normales.

DISCUSION:

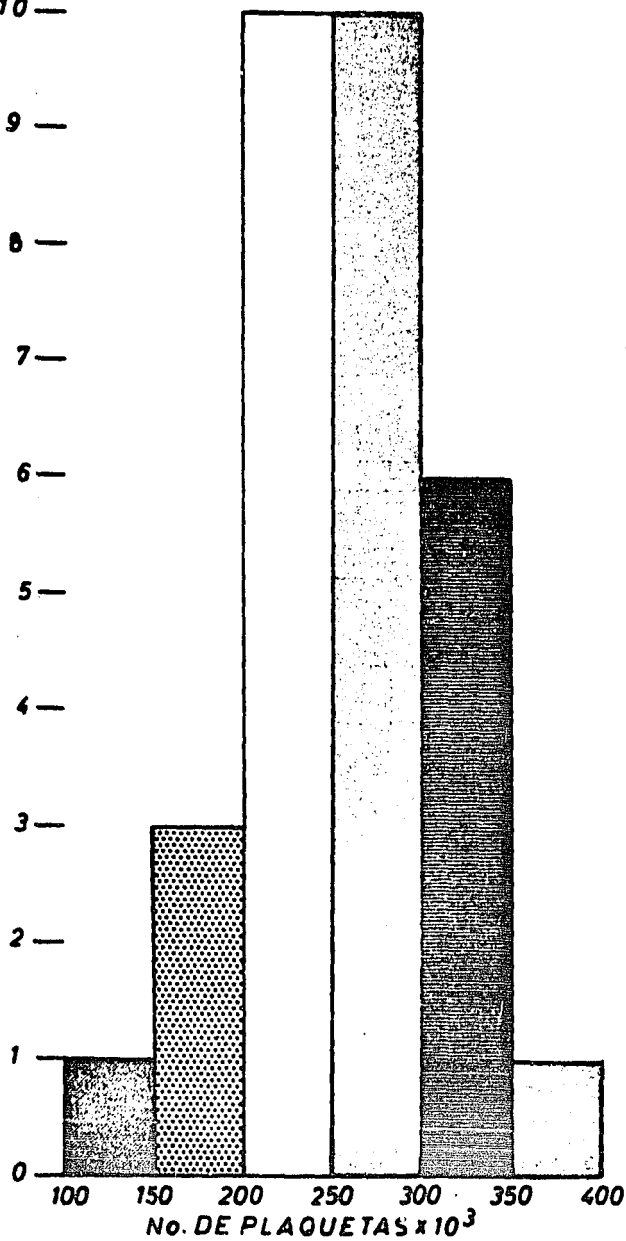
El número de casos que constituyen la muestra de normales, es representativa del universo como lo muestra su distribución, misma que reproduce la curva normal de errores (gráfica 7). Al contar plaquetas en sangre venosa y al comparar los valores de éstas con los valores de plaquetas en primera gota capilar, no se encuentra diferencia estadística. Salzman (5) en sus estudios "in vitro" encuentra que a los pocos segundos de haber obtenido una muestra y de haberla pasado por una columna de perlas de vidrio, el número de plaquetas en la sangre es prácticamente igual al de la sangre venosa. En cambio, cuando comparamos el número de plaquetas en la segunda gota, con el número de plaquetas en la primera gota ó el número de plaquetas en sangre venosa, se encuentra una diferencia que es significativa estadísticamente, pero que guardan una relación estrecha entre sí, con un factor de proporcionalidad de 1:4. Lo anterior se puede ver claramente en la gráfica 1. La distribución de nuestros valores normales en por ciento de adhesividad (gráfica 8) se hacen dentro de límites bastante estrechos cuando a la media se le suma y se le resta el valor de una desviación estandar (26.2 a 34.8 %). Cuando se mide el número de plaquetas adheridas por otros métodos "in vivo" (6), se encuentra una dispersión mayor del fenómeno, ya que la variación va desde 30 % a 44 % y cuando se emplean métodos "in vitro", la dispersión del fenómeno es aún mayor (5 y 14).

Borchgrevink al hacer heridas en el pulpejo del dedo y contar el número de plaquetas capilares, obtiene valores distintos a los nuestros en primera gota y esto podría estar condicionado por diferencias en el tiempo de la toma de la muestra, ya que no especifica si corresponde a -

CASOS NORMALES

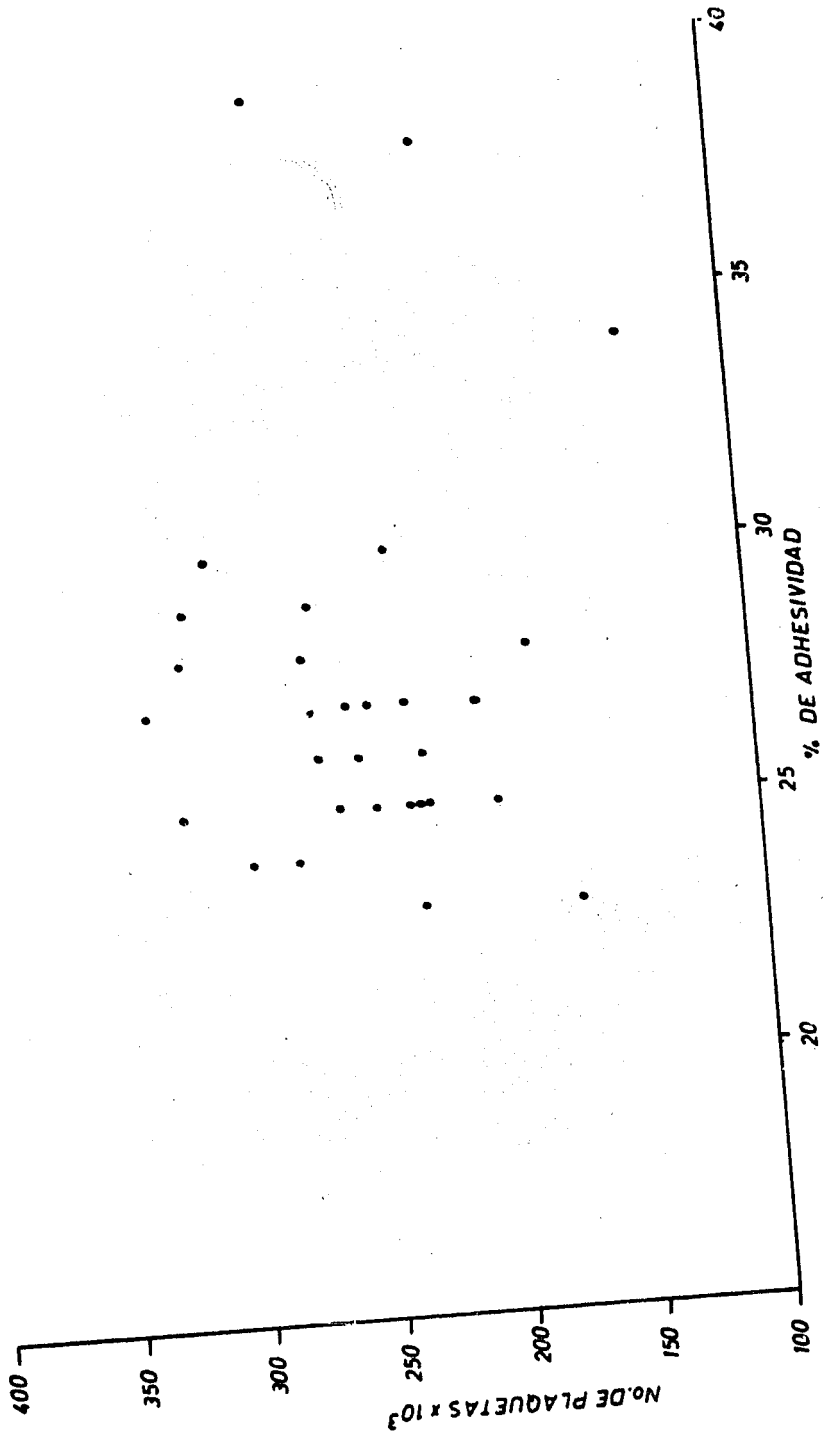
gráfica No.7

No de casos 10 —



gráfica No.8

CASOS NORMALES



la primera gota o a subsecuentes y de hecho, si comparamos sus resultados al hacer presión con los nuestros en segunda gota, son bastante similares.

Una vez que encontramos nuestra zona de normalidad y se demostró la reproducibilidad del método, se decidió estudiar algunos pacientes -- con defecto de la adhesividad plaquetaria y dentro de ellos se escogieron casos de pseudohemofilia para ver la conducta de factor al ser transfundidos, en los que se encontró ausencia de adhesividad en 3 casos y -- valores por debajo de lo normal en 3 casos (2, 5 y 7 %). Es la opinión -- prevalente en el Servicio de Hematología del Hospital de Pediatría del -- Centro Médico Nacional del Instituto Mexicano del Seguro Social, que la -- adhesividad anormal de las plaquetas es la alteración más constante en -- estos pacientes y por tanto su importancia diagnóstica es indiscutible; -- siendo de la misma opinión autores tales como Cornu y Jean Bernard (6). -- En los casos en que no hubo adhesividad de plaquetas, se estudió el efecto protector de plasma fresco, encontrándose que el número de plaquetas -- que se adherían, se normalizaba inmediatamente después de la transfusión, -- para regresar a valores previos en un tiempo menor de tres horas (gráficas 3 y 4). En el último de ellos, al estudiar el efecto protector del -- plasma fresco congelado, se encontró (cuadro 2) que las cifras de tiempo -- de sangrado se normalizaban a la segunda hora, lo que está de acuerdo con -- otros autores (9) y se puede ver que el tiempo de sangrado no guarda -- paralelismo con la adhesividad plaquetaria, lo que sugiere fuertemente que -- el factor encargado de corregir la adhesividad en pseudohemofilia es -- distinto al factor regulador del tiempo de sangrado en esta enfermedad.

CUADRO 2PSEUDOHEMOFILIA

C.B.M.
24-56-21-146

	ANTES DE - PASAR PLAS MA FRESCO.	DESPUES DE PASAR PLASMA FRESCO			
		Terminan do de pa sar	1 Hr.	2 Hr.	2-½ Hr.
ADHESIVIDAD %	0	44	15	5	0
TIEMPO DE SANG GRADO	13'30"	9'	4'	6'15"	6'
TROMBOPLASTINA PARCIAL (Prueba Macro Thrombofax)		86"	-	91"	96"

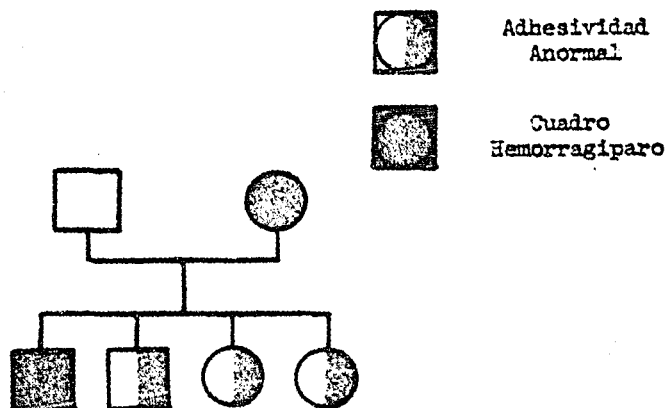
En sus estudios, Larrieu (9) reporta que la aplicación de plasma-fresco normal a un paciente con pseudohemofilia no corrige la adhesividad plaquetaria, pero el autor antes mencionado, estudia a su paciente a intervalos (antes de la transfusión, 3 y 24 horas después de ésta), que no le permitieron observar el fenómeno, ya que éste se encuentra dentro de las primeras tres horas después de la aplicación del plasma. Con lo anterior, creemos que se establece la sobrevida biológica del factor encargado de la adhesividad de plaquetas. Hellem et al (13) al mezclar ADP y plasma pobre en plaquetas y al agregar posteriormente plasma rico en plaquetas, demostró que el porcentaje de adhesividad disminuía rápidamente - para hacerse cero aproximadamente a los 30', lo que afirma que el factor "Anti-Willebrand" (AW) es distinto al ADP y que probablemente el ADP actúa sólo como cofactor en el fenómeno de la adhesividad. Las plaquetas,

normalmente, tienen ATP en concentraciones elevadas y éste se transforma cuando las plaquetas se agregan a plasma que se está coagulando o cuando éstas entran en metamorfosis viscosa (15). El ATP al transformarse produce ADP, el que ha sido demostrado aumenta la adhesividad plaquetaria. Cuando la trombina se forma en la zona periplaquetaria, hay liberación masiva de ADP y una progresión rápida del fenómeno de agregación (4). Mientras que el ATP actúa como inhibidor (16). La agregación plaquetaria por el ADP se consigue también con: colágena, ácidos grasos de cadena larga y es reversible cuando se utilizan sustancias del tipo de éter metílico de benzoilarginina (17).

Ha sido demostrado (18) que para que el ADP pueda producir agregación plaquetaria, es necesario que las plaquetas sean viables, de tal manera que plaquetas guardadas en plasma citratado a 20°C por 24 horas, no efectúan el fenómeno al agregarse el ADP a concentraciones adecuadas. En nuestros casos, al estudiar la acción del plasma que se conservó a 4°C, se encontró que plasma hasta de 5 días de haber sido cosechado es capaz de normalizar temporalmente la adhesividad, con lo que se piensa justificadamente que este factor sobrevive a 4°C por períodos más largos que otros factores con efecto biológico, sugiriendo que se trata de un factor bastante estable a la temperatura antes mencionada. Con nuestros hallazgos y de acuerdo a lo publicado en la literatura (10), consideramos que la pseudohemofilia es un defecto plasmático; mientras que en otras trombotopatías, tromboastenia en particular, el defecto es plaquetario puro.

En uno de los pacientes que tiene ausencia de adhesividad plaquetaria, fué posible estudiar a su familia, encontrándose (esquema 2) que el gene se transmite como un carácter autosómico dominante de expresivi-

dad variable, lo que está de acuerdo con Strauss (24). La sensibilidad del método es tal, que nos ha permitido encontrar individuos portadores de la enfermedad sin que presenten cuadro hemorrágico, lo que consideramos es de vital importancia para el estudio genético de la pseudohemofilia y poder entender las particularidades en su presentación como enfermedad.



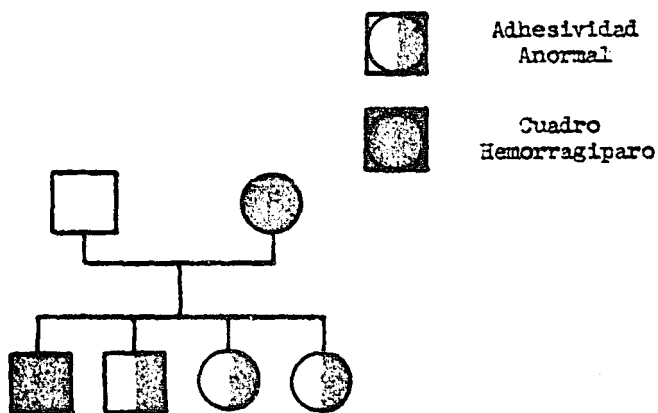
ESQUENA # 2

PEDIGREE DE UNA FAMILIA CON PSEUDHEMOFILIA

FUENTE:

Archivo del Laboratorio
de Hematología Especial,
Hospital de Pediatría,
C. M. N. I. M. S. S.

dad variable, lo que está de acuerdo con Strauss (24). La sensibilidad del método es tal, que nos ha permitido encontrar individuos portadores de la enfermedad sin que presenten cuadro hemorragiparo, lo que consideramos es de vital importancia para el estudio genético de la pseudohemofilia y poder entender las particularidades en su presentación como enfermedad.



ESQUEMA # 2

PEDIGREE DE UNA FAMILIA CON PSEUDHEMOFILIA

FUENTE:

Archivo del Laboratorio
de Hematología Especial,
Hospital de Pediatría,
C. M. N. I. M. S. S.

Además de los casos de pseudohemofilia, se estudiaron otros pa-
cientes con anomalía de la adhesividad, entre los cuales tuvimos la o-
portunidad de estudiar un caso de tromboastenia adquirida, que aparen-
temente estaba relacionada a infección faríngea por estreptococo beta --
hemolítico. Este cuadro ha sido estudiado cuidadosamente y se ha esta-
blecido que básicamente hay dos defectos, a saber: grupo # 1 en los que
se encuentra disminuido el ATP de la gliceraldehido fosfato dehidrogena-
sa y de la piruvato quinasa y el grupo # 2 los que tienen disminución --
del ión Mg y de adenosín trifosfatasa (10). Nuestro paciente presentó -
cuadro hemorrágico moderado y al practicar pruebas de tendencia hemo-
rrágica (cuadro 1) se encontró retracción del coágulo anormal en pre-
sencia de plaquetas dentro de cifras normales, por lo que de inmediato -
se completó el estudio de funcionamiento plaquetario; mismo que nos re-
portó anomalía en la adhesividad plaquetaria, así como la metamorfo-
sis viscosa prolongada. El tiempo de sangrado fue normal, no nos llamó-
mucho la atención en vista de que en la actualidad se considera a este -
estudio como una prueba limitada para estudiar la tendencia hemorrágica
(10). Se estableció el diagnóstico de tromboastenia, al quedar reunidos
los criterios suficientes (10). Al estudiar, en este paciente, la pro-
tección que le ofrecía el plasma fresco, se encontró que la adhesividad
no se modificó, en tanto que la retracción del coágulo se normalizó. -
Marchal (11) con sus estudios de tromboelastografía demostró que el plas-
ma normal en pacientes con tromboastenia, no es capaz de normalizar el -
trazo, lo que es similar o equivale a nuestros resultados de falta de --
protección al transfundirle a estos pacientes plasma fresco. Lo ante-
rior viene a comprobar lo que ya ha sido reportado (4 y 6), que la adhe-

sividad de plaquetas no se modifica con plasma fresco. Zucker (14) encontró que las plaquetas de pacientes tromboasténicos se comportaban de una manera normal desde el punto de vista electroforético y Caen (12) no pudo encontrar modificación definitiva de la adhesividad con el empleo de corticoesteroides en pacientes tromboasténicos como lo observó en individuos normales. En estudios experimentales en mesenterio de ratas, Y. Tangun (19) encontró que en el plasma rico en plaquetas de pacientes con tromboastenia, éstas no se adherían a los bordes de la herida ni a las fibras de colágena. Con nuestros hallazgos pensamos que el factor encargado de regular la adhesividad plaquetaria es distinto al factor encargado de la retracción del coágulo. Así mismo, se estudió un paciente con agammaglobulinemia, el cual tiene adhesividad normal, lo que nos indica que el factor encargado de la adhesividad plaquetaria no se desplaza, desde el punto de vista electroforético, en la zona de las gammaglobulinas.

En los casos de trombocitopenia, ya sea idiopática o secundaria, se encontró relación estrecha entre el número de plaquetas y el número de plaquetas adheridas (gráfica 2), siendo el factor de proporcionalidad muy cercano a 1:1; este hallazgo difiere al reportado en trombocitopenias por Hellem (22), según creemos básicamente porque la inmensa mayoría de nuestros casos estaban en tratamiento con corticoesteroides y es probable que el factor de proporcionalidad debe aplicarse solamente a los casos de trombocitopenia tratados con esta droga. Por otra parte cabe suponer, tal como lo afirma Marchal (11), que en ocasiones la hiperfunción plaquetaria compensa el déficit numérico, hecho substanciado por los estudios de relación entre el número de plaquetas y duración del ---

tiempo de sangrado y por los estudios de Hellem (22) que encontró una -- relación estrecha entre el tiempo de sangrado y la adhesividad plaqueta- ría.

Se estudiaron una serie de pequeñas muestras de diferentes padeci mientos, no con la pretensión de reunir cifras que pudieran ser analiza das estadísticamente, sino con el único fin de ver la bondad de nues tra prueba y describir o confirmar fenómenos que hubieran sido previamen te reportados. Dentro de estos grupos se estudiaron 3 pacientes con ne fropatía crónica, encontrando que todos ellos tenían adhesividad porcen tual baja. En la literatura Josso (20) supone que en presencia de tiem po de sangrado prolongado puede haber una anormalidad plaquetaria y ---- Strauss (24) lo comprueba.

En 1964 Dorantes y colaboradores (21), reportaron que en los ca-- s s de desnutrición severa, se encontraba a: rmalidad plaquetaria tanto- funcional como numérica; al estudiar este problema en 3 casos, reprodu-- jimos sus resultados en lo que respecta a trombocitopenia (2 de 3 casos) y en los 3 pacientes hubo adhesividad anormalmente baja (cuadro 3). El tipo de desnutrición estudiada fue: un caso de desnutrición de tercer -- grado húmeda, un caso de desnutrición de tercer gra. seca y un caso de desnutrición de segundo grado.

	MUESTRAS DE SANGRE			Plaquetas Adheridas	% de -- Plaquetas Adheridas
	Venosa	1a.gota Capilar	2a.gota Capilar		
DESNUTRIDOS	---	75,500	62,000	13,500	18
	390,000	393,000	290,000	100,000	26
	---	102,000	83,000	19,000	19
RENALES	447,000	450,000	368,000	79,000	18
	300,000	305,000	250,000	50,000	19
	648,000	670,000	550,000	134,000	20
HEMOFILICOS	158,000	155,000	137,000	21,000	14
	---	308,000	244,000	64,000	15
	363,000	365,000	290,000	73,000	21

Durante el proceso de elaboración de este trabajo, se presentaron en el Servicio de Hematología del Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional, tres casos de pacientes con epistaxis de repetición, sin -- que fuera posible demostrar en ellos alguna anomalía medida a través de las pruebas clásicas de tendencia hemorrágica, por lo que se decidió, sobre la marcha, estudiar su adhesividad plaquetaria, encontrándose que dos de ellos tenían valores por debajo de lo normal, lo anterior vino a resolver prácticamente el problema clínico y planteó el problema de nomenclatura diagnóstica, sin poder decidir hasta el momento si son casos de pseudohemofilia o representan una entidad clínica aparte.

Se estudiaron tres pacientes hemofílicos, dos de ellos con deficiencia de Factor VIII (globulina antihemofílica) y uno con deficiencia

de Factor IX (componente plasmático de la tromboplastina); en ellos se encontró adhesividad baja, tal como puede verse en el Cuadro 3, que es diferente a lo reportado por otros autores (19, 6, 5) en estudios experimentales "in vivo" e "in vitro".

El estudio de pacientes con trombocitopenia, pseudohemofilia y trombocitopenia, nos brindó la oportunidad de estudiar el comportamiento de la adhesividad en situaciones muy variadas, pero ninguna de las anteriores se acompañó de trombocitemia hasta que un paciente se esplenectomizó por encontrarle microesferocitosis familiar; en él hallamos aumento de la adhesividad con cifra de plaquetas aún dentro de cifras normales, lo que nos hizo estudiar a otro paciente, esplenectomizado por púrpura trombocitopénica crónica idiopática, a espacios reducidos y por 10 días, los resultados se presentaron en la Tabla 1 y como se puede ver, inicialmente la adhesividad fué ascendente lo mismo que la cuenta de plaquetas, para que al tercer día el porciento de plaquetas adheridas se normalizó y el número de plaquetas en sangre venosa continuó ascendiendo hasta el noveno día.

CONCLUSIONES:

1.- El método es sencillo y tiene el factor de error igual al de la cuenta de plaquetas. Creemos que aún no es el método ideal para estudiar este fenómeno; pero si pensamos que es un medio fácil, al alcance de todos los laboratorios, para el estudio de esta función plaquetaria.

2.- En normales:

- a) El número de plaquetas encontradas en sangre venosa periférica es igual al número de plaquetas de sangre

capilar primera gota.

- b) El número de plaquetas en sangre capilar primera gota es diferente al número de plaquetas en sangre capilar segunda gota.
- c) Una de cada 4 plaquetas en sangre venosa se pierde por que tal vez se adhiere a los bordes de una herida.
- d) El número de plaquetas adheridas se encontró proporcional al número de plaquetas en sangre venosa.
- e) El porciento normal de plaquetas adheridas se encontró en aproximadamente el 30 %.

3.- El método para medir adhesividad de plaquetas detecta portadores de pseudohemofilia.

4.- La acción biológica del factor o factores que regulan la adhesividad es menor a 4 horas, según nuestras condiciones de trabajo.

5.- El factor o factores que regulan adhesividad, sobrevive a 4°C más de 5 días.

RESUMEN:

En la introducción se revisan las funciones plaquetarias, publicadas en la literatura, así como la composición química de las plaquetas. De las funciones plaquetarias, se pone especial empeño en la adhesividad, de la que se revisó la literatura publicada hasta la fecha, principalmente en lo que respecta a técnicas "in vitro" e "in vivo". Se reporta una técnica para cuantificar la adhesividad plaquetaria, siendo esta técnica más sencilla que las publicadas hasta el momento, de gran reproducibilidad y que permite el estudio de diferentes grupos de pacientes con anormalidades plaquetarias.

BIBLIOGRAFIA:

- 1.- Wintrobe.: Clinical Hematology. Fifth edition Lea & Febiger -----
Chapter. 5:276-278,
- 2.- Raz, A.W.: Histología. Tercera edición. Editorial Interamericana--
na, S. A. 325-328.
- 3.- Stefanini, M., Dameshek, W.: The Hemorrhagic Disorders. Second ---
edition Chapter. 1:14-23,
- 4.- Ovren, P.: Physiopatologie du Temps de Saignement. Nouvelle Revue -
Francaise d'Hématologie. 3:280-289,1963.
- 5.- Salzman, E.: Measurement of Platelet Adhesiveness. A Simple in --
Vitro Technique Demonstrating an Abnormality in Von Willebrand's ---
Disease. J. Lab. Clin. & Med. 62:274,1963.
- 6.- Borchgrevingk, P.: A Method for Measuring Platelet Adhesiveness in -
Vivo. Acta Med. Scandinauica. 168:3,1960.
- 7.- Zucker, H.J., Levine, R.U.: Microelectrophoresis of Washed and ---
Unwashed Human Blood Platelets, with Additional Studies of Plate---
lets from Patients with Von Willebrand's Disease and Thrombasthenia.
Thrombosis et Diathesis Haemorrhagica. 10:1-8,1963.
- 8.- Cornu, F., et Bernard, J.: L'Allongement du Temps de Saignement --
dans la Maladie de Willebrand. Nouvelle Revue Francaise d'Hémato--
logie. 3:321-327,1963.
- 9.- Larrien, M.J., et Cornu, F.: Action du Sang, du Plasma et des ----
Dérivés du Sang sur l'Allongement du Temps de Saignement (Dans la -
Maladie de Willebrand). Nouvelle Revue Francaise d'Hématologie.
3:366-370,1963.
- 10.- Dixon, J.: Le Temps de Saignement Dans les Atteintes Fonctionnelles
des Plaquettes (Thrombopathies Sans Thrombopénies). Nouvelle Revue-
Francaise d'Hématologie. 3:315-321,1963
- 11.- Marchal, G., Samama, M., Daussat, J., et Frost, R.J.: La Place du-
Temps de Saignement dans l'Exploration Actuelle des Thrombopénies.
Nouvelle Revue Francaise d'Hématologie. 3:304-314,1963.
- 12.- Caen, J., et Parquet-Gernez, A.: Corticothérapie dans les Alloge--
ments du Temps de Saignement. Nouvelle Revue Francaise d'Hématolo-
gie. 3:355-361,1963.
- 13.- Hellem, A.J., Olegard, A.E., Stalhogg, B.A.: Investigation on Ad-
enosine Diphosphate (ADP) Induced Platelet Adhesiveness in Vitro.
Part 1. The ADP-Platelet Reaction in Various Experimental Condi---
tions. Thrombosis et Diathesis Haemorrhagica. 10:61-70,1963.

- 14.- Maschouf, Ch., Robinson, R.W., Le Beau, R.J.: Evaluation of Nialamide on the Coagulation of Blood. *Blood*. 24:289-296,1964.
- 15.- Born.: Aggregation of Blood Platelets by Adenosine Diphosphate and its Reversal. *Nature*. 194:927-929,1962.
- 16.- O'Brien.: The Mechanism and Prevention of Platelet Adhesion and -- Aggregation Considered in Relation to Arterial Thrombosis. *Blood*. 24:309-314,1964.
- 17.- Salzman, Ch.: Inhibition of ADP-Induced Platelet Aggregation by -- Substituted Aminoacids. *Nature*. 204:698-700,1964.
- 18.- Skalhegg, B.A., Hellem, A.J., Olegard, A.E.: Investigation on ---- Adenosine Diphosphate (ADP) Induced Platelet Adhesiveness in Vitro. *Thrombosis et Diathesis Haemorrhagica*. 1:305-316,1964.
- 19.- Tangun, Y., Caen, J.: Adhésion et Agrégation Plaquettaire Au tissu Conjonctif du Mésentère du Rat (Dans les Maladies Hémorragiques -- Constitutionnelles). *Nouvelle Revue Française d'Hématologie*. 5:79-93,1965.
- 20.- Josso.: L'Atteinte du Temps de Assignement en Pathologie Renale. - *Nouvelle Revue Française d'Hématologie*. 3:334-337,1963.
- 21.- Dorantes, S., Barron, I., Arias, N., Vázquez, J., Soto, R.: Pathogenesis of Purpura in the Child with Severe Malnutrition. *The J. - of Ped.* 65:438-455,1964.
- 22.- Hellem, A.J.: The adhesiveness of Human Blood Platelets in Vitro. Oslo University Press. 1960, 117.
- 23.- Brecher, G., Schneiderman, M., Cronkite, E.P.: *Amer. J. Clin. Path.* 23:14,1955.
- 24.- Strauss, H.S., Bloom, G.E.: Von Willebrand's Disease: Use of a - Platelet-Adhesiveness Test in Diagnosis and Family Investigation. *The New England J. of Med.* 273:171-181,1965.
- 25.- Bessis, M.: Recent, Significant Contributions of Dynamic Cytology - to Hematology. *Progress in Hematology*. 11:1,1959.
- 26.- Sharp, A.A.: Viscous Metamorphosis of Blood Platelets. *Brit. J. --- Haemat.* 4, 20 and 177, 1950.