

20j' 59



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**"INVESTIGACION DE LA CAPACIDAD RESTITUTIVA  
DE LAS PLAQUETAS EN PACIENTES CON PURPURA  
TROMBOCITOPENICA"**

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
**QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO**  
P R E S E N T A :  
**CONSUELO HERNANDEZ GOMEZ**

**1 9 8 7**



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## I N D I C E .

	Página
INTRODUCCION .....	1
GENERALIDADES DE LAS PLAQUETAS .....	3
GENERALIDADES SOBRE LOS PRODUCTOS RICOS EN PLAQUETAS.....	8
OBJETIVOS .....	15
MATERIAL .....	16
METODO .....	17
RESULTADOS .....	21
DISCUSION .....	50
CONCLUSIONES .....	55
BIBLIOGRAFIA .....	56

\*\*\*\*\*  
\*\*\*\*\*  
\*\*\*\*\*  
\*\*\*\*\*

## **INTRODUCCION .**

La transfusión de plaquetas es un recurso terapéutico que ha demostrado su eficacia en el control de los cuadros hemorrágicos que suelen presentarse en los pacientes trombocitopénicos. Duke en 1910, fue el primero en utilizar sangre total para detener el sangrado con resultados satisfactorios - en la mayoría de los casos que estudió (1). En la década de los 60s se obtuvo la fracción plaquetaria en forma de plasma rico en plaquetas (PRP) y concentrado plaquetario (CP). La administración de estos productos logró una disminución importante en la muerte por sangrado en pacientes con trombocitopenia secundaria a leucemia. En la actualidad los avances -- tecnológicos y un mejor control de calidad han facilitado -- que el banco de sangre garantice un suficiente abastecimiento de productos ricos en plaquetas, sin embargo, esta fácil-disponibilidad con frecuencia determina que estos productos sean utilizados sin indicación precisa, superando la relación riesgo-beneficio que lleva implícita la transfusión de cualquier componente del tejido sanguíneo.

De lo anterior surgió la inquietud de conocer los procedimientos de preparación de los productos ricos en plaquetas y valorar el rendimiento terapéutico en los pacientes portadores de diversas patologías que cursan con trombocitopenia.

Este trabajo de tesis se realizó en el banco de sangre del Hospital General de México, S.S.A., donde se practicaron recuentos de plaquetas a los donadores, en la sangre total re -

ción extraída, así como en los productos destinados a los pacientes. Dichas determinaciones se hicieron de acuerdo a la metodología implantada en el Laboratorio de Hematología de este Hospital. Además se evaluó por medio de recuentos de plaquetas el rendimiento terapéutico de los pacientes internos en los Servicios de Hematología, Medicina Interna, Urgencias, Terapia Médica Intensiva y Gineco Obstetricia.

Los resultados de este trabajo pretenden contribuir de una manera modesta a despertar el interés para efectuar un control de calidad de estos productos con la finalidad de brindar un mayor beneficio a los pacientes tratados con plaquetas en forma de P.R.P. y C.P.

### GENERALIDADES.

Las plaquetas son los elementos formés más pequeños ( de 2 a 4 micras de diámetro y 0.5 micras de espesor ) distingui -- bles en la sangre, en un número que va de 150 000 a 450 000/ mm<sup>3</sup>. ( +0 ) su función consiste en formar un tapón primario - en la pared del vaso dañado y promover la activación de los - factores plasmáticos de la coagulación.

Tienen su origen en la médula ósea a partir de la serie megacariocítica, la cual, sigue una secuencia de maduración hasta megacariocito maduro caracterizándose éste, por su gran tamaño de 90 a 130 micras de diámetro y además del rompimiento de su citoplasma se liberan las plaquetas. (39) Dicho proceso tiene lugar en los sinusoides medulares, sangre periférica y en menor grado en el sistema vascular pulmonar. Un megacariocito requiere de aproximadamente cinco días para completar su maduración, produce de 3 000 a 4 000 plaquetas, dos terceras partes de éstas se encuentran en circulación, solo una tercera parte permanece en el bazo (13).

Las plaquetas tienen una vida media de 9 a 12 días, son -- eliminadas en el sistema reticuloendotelial donde son fagocitadas por los macrófagos (39). Los estudios acerca de un factor estimulante de la producción de plaquetas, así como de su regulación se encuentran en desarrollo; experiencias anteriores han sugerido la existencia de este factor que recibe el - nombre de Trombopoyetina (40).

Las plaquetas adquieren forma de discos al encontrarse en-

en estado pasivo, pero, al activarse, aparecen como esferas espiculadas o en forma ligeramente alargadas. La capa que rodea a la plaqueta recibe el nombre de glucocálix, está constituida por glicoproteínas. Después de esta capa se localiza la membrana plaquetaria de naturaleza lipoprotéica. En el interior de la plaqueta se localizan estructuras tales como: microtúbulos, microfibrillas, los organelos, así como un complejo sistema membranoso disperso a través del citoplasma plaquetario (10,13).

Las plaquetas están compuestas en mayor proporción por proteínas entre las que se encuentran: algunos factores de la coagulación, el factor plaquetario 4 y la tromboplastina. En la plaqueta también se encuentran carbohidratos, lípidos, RNA así como algunos iones. Como representantes de los carbohidratos están la galactosamina, el glucógeno y el ácido sílico. Los lípidos se encuentran en forma de fosfolípidos, grasas neutras y lipoproteínas. Los principales iones son: el calcio, magnesio, zinc, fósforo y sulfatos. Además la plaqueta contiene pequeñas cantidades de ácido fólico y vitamina B<sub>12</sub> (39).

La vía de Embden Meyerhof, gluconeogénesis y el ciclo de Krebs son las rutas metabólicas de las que se sirve la plaqueta para obtener energía en forma de ATP (30). Los ácidos grasos se sintetizan a partir de la Malonil Co A; las prostaglandinas así como sus derivados se producen a partir de ácido araquidónico (39).

Función plaquetaria. - El mecanismo de acción de la plaqueta hasta llegar a formar el trombo blanco, se divide en tres etapas que se describen brevemente a continuación.

**Adhesión.**- Este fenómeno es la etapa inicial, tiene lugar al ponerse en contacto la plaqueta con las fibras de colágeno expuesta al romperse la continuidad de la pared vascular. De los cinco tipos de colágeno descritos es el llamado tipo III el que tiene gran capacidad de inducción a la adhesividad. En cuanto a la plaqueta se ha descubierto que la glucocálcina presente en el glucocéliz es responsable de la adhesión. También se sabe -- que la acción del factor de Willebrand es imprescindible para que se lleve a cabo la adhesión. Durante esta etapa la plaqueta muestra cambios estructurales modificando su forma discoide por la esfera espiculada para facilitar la unión entre las plaquetas. Simultáneamente tienen lugar varios fenómenos, todos ellos determinantes de la siguiente etapa conocida como agregación plaquetaria y estos son: a) contracción y relajación; b) síntesis de prostaglandinas y c) reacción de liberación (10).

a) La contracción se produce en respuesta al contacto de la membrana plaquetaria con la colágena a expensas del sistema de microfibrillas y microtubulos. Estos últimos forman una banda alrededor de los organelos. Durante la relajación la plaqueta se distiende dando lugar a la salida del contenido granular -- (10,37).

b) Síntesis de prostaglandinas. En los últimos años con el descubrimiento de las prostaglandinas fue posible conocer un poco más del mecanismo de agregación plaquetaria debido a que existen dos derivados prostanoides: el tromboxano A<sub>2</sub> sintetizado en la plaqueta y la prostaciclina sintetizada en la pared vascular, estos compuestos establecen un equilibrio en la eta-

pa de agregación plaquetaria debido a que el tromboxano A<sub>2</sub> es un fuerte inductor de la agregación además de producir vasoconstricción, en cambio la prostaciclina tiene acción de antiagregante y produce vasodilatación.

c) Reacción de Liberación.- El fenómeno de relajación provoca que las sustancias contenidas en los gránulos y organelos sean expulsados de la plaqueta. Entre los productos importantes que son liberados están el ATP ( adenosin-trifosfato ) serotonina, beta - tromboglobulina y enzimas hidrolíticas que estimulan la producción de la agregación (10).

Agregación.- Todos los cambios producidos en las plaquetas por el estímulo de su membrana, favorecen la unión de unas plaquetas con otras para formar agregados. Sin embargo, aparte de las sustancias mencionadas con anterioridad como inductores de agregación se debe encontrar en el medio  $Ca^{+2}$  iónico extracelular y fibrinógeno. Otra condición necesaria para que se lleve a cabo la agregación es la presencia en la parte exterior de la membrana de las glucoproteínas II B y III formando un complejo que contribuye a la agregación.

Consolidación.- Para reforzar el agregado de plaquetas, éstas liberan fosfolípidos conocido como factor plaquetario 3 junto con el factor plasmático XII de contacto se desencadena la secuencia de reacciones necesarias para la transformación de trombina a fibrina. Las redes de fibrina envuelven al acúmulo de plaquetas formando un tapón firme capaz de controlar la hemorragia.

Como se ha visto las plaquetas contribuyen de manera eficiente en la etapa primaria de la hemostasis, sin embargo, su función es deficiente al presentarse alteraciones ya sea en el número de plaquetas circulantes o bien en la estructura de éstas. El primer tipo de alteraciones es más frecuente y se conoce con el nombre de trombocitopenia o trombopenia.

La trombocitopenia puede tener como causa las siguientes: una destrucción aumentada de plaquetas. Secuestro esplénico de las plaquetas y una producción deficiente de plaquetas en la médula ósea. La gravedad de la trombocitopenia depende de la causa, el tiempo de evolución y las cifras de plaquetas que tenga el paciente. De acuerdo a estos datos se elige un programa de terapia que involucra la transfusión de plaquetas en caso necesario.

Aunque menos frecuentes las alteraciones en la estructura plaquetaria suelen encontrarse como causa de sangrado que por lo general no implica un alto riesgo. Como ejemplos de estas alteraciones está: el Síndrome de Bernard Soulier y la Trombastenia De Glanzmann.

## GENERALIDADES SOBRE LOS PRODUCTOS RICOS EN PLAQUETAS.

### Recolección de sangre:

Las consideraciones especiales que deben tomarse en cuenta para la extracción de sangre total destinada a la obtención de plaquetas en forma de plasma rico en plaquetas (PRP) o concentrado plaquetario (CP) son las siguientes: la venopunción debe efectuarse con un mínimo de daño tisular, el tiempo de extracción no debe ser mayor a doce minutos; estas dos primeras condiciones tienen la finalidad de evitar la activación de las plaquetas y por último es importante indicar al donante se abstenga de ingerir aspirina ya que este fármaco afecta la funcionabilidad de las plaquetas (28).

La captación de sangre se efectúa en bolsas de plástico estériles de sistema múltiple, cerrado y contienen un volumen determinado de solución de ácido cítrico, citrato trisódico dextrosa (ACD) o bien citrato trisódico, fosfato sódico monobásico y dextrosa (CPD), esta solución funciona como anticoagulante-preservador.

### Método de obtención:

Las unidades de sangre total recién extraída deberán ser sometidas a centrifugación para lograr la separación del componente plaquetario. La centrifugación puede efectuarse en una etapa si, se desea obtener el plasma rico en plaquetas (PRP) o bien someter a éste a una nueva centrifugación dando como producto el concentrado plaquetario (CP). El proceso de centrifugación debe efectuarse a temperatura ambiente (28,35,39). Es importante calibrar las varia-

bles de tiempo y velocidad para cada tipo de centrifugación dadas sus características de modelo, tipo de cabezal y radio de rotación, - Slichter y Harker así como investigadores posteriores encontraron un rango de velocidad desde 1000xg hasta 4140xg para esta primera etapa y el tiempo puede ser desde 9 minutos hasta 2.7 minutos.

En seguida de la centrifugación se procede a la extracción del sobrenadante que es el plasma rico en plaquetas (PRP), este se -- transfiere a una de las bolsas satélite. Una unidad de PRP tiene un volumen de 150 a 250 mls. (20). La segunda etapa de centrifugación se efectúa a una velocidad ligeramente mayor a la de la primera etapa, ésta se encuentra dentro del rango que va de 3000xg - durante 20 minutos a 4500xg durante 5 minutos. Al igual que en la primera etapa el tiempo y la velocidad de centrifugación se deben seleccionar tomando en cuenta las características de la centrifugación y las que de un rendimiento óptimo (35).

Posteriormente se extrae el plasma pobre en plaquetas y se -- transfiere a una segunda bolsa satélite. El paquete plaquetario - se resuspende con algo del plasma remanente, el volumen de este - producto es variable, se considera que este debe ser suficiente - para mantener el pH de 6, el volumen mínimo puede ser de 30 mls. aunque se prefiere un volumen de 50 a 70 mls. La resuspensión de las plaquetas puede llevarse a cabo de dos formas que son las siguientes:

- 1.- Manteniendo la bolsa en reposo a temperatura ambiente durante una hora después de la cual las plaquetas son removidas de manera cuidadosa permitiendo que se forme una suspensión uniforme.
- 2.- La bolsa se mantiene en agitación constante a una velocidad

de rotación lenta para lograr una resuspensión de plaquetas uniforme, este procedimiento puede llevarse hasta 2 horas (35).

#### Método de Aféresis.

Las plaquetas también se obtienen por el Método de Aféresis para lo cual se hace uso de máquinas separadoras de células, éstas pueden ser de flujo continuo o intermitente. Las ventajas de utilizar este método son entre otras, un mayor rendimiento de plaquetas por unidad, el manejo de un donante único y la disminución del riesgo de transmisión de infecciones e inmunización (13,28).

#### Presentación de los productos ricos en plaquetas.

El PRP tiene aspecto opalescente y un volumen de 150 a 250 ml. está contenido en bolsas de 300 ml. de capacidad. En la bolsa se especifica el tipo de producto, el grupo sanguíneo y Rh así como los datos del donador y la fecha en que fue fraccionada el C.P. tiene apariencia más opalescente, un volumen mucho menor de 30 a 50 ml. aproximadamente. También se especifica el tipo de producto, el grupo, Rh, datos del donante y fecha en que fue fraccionada.

#### Almacenaje de los productos ricos en plaquetas:

Las plaquetas obtenidas debidamente etiquetadas se pueden almacenar a una temperatura de 2°C o bien a temperatura ambiente de 20°C a 24°C. Es preferible almacenarlas a temperatura ambiente, pues, su viabilidad se conserva hasta 72 horas en cambio a 2°C solamente se mantiene por espacio de 6 horas. Mediante el uso de agentes crioprotectores como el Dimetilsulfóxido, se logra conser-

var las plaquetas bajo congelación (19,35).

### Control de calidad.

Mensualmente se deben muestrear cuatro unidades de productos ricos en plaquetas elegidas al azar a las cuales se les efectuará las siguientes determinaciones:

- 1.- Recuento de plaquetas al tiempo del fraccionamiento y otros a las 72 horas.
- 2.- Determinación de pH al tiempo del fraccionamiento y a las 72 horas.
- 3.- Medición del volumen al tiempo del fraccionamiento y a las 72 horas.

Además de estas determinaciones para completar el control de calidad se recomienda efectuar recuentos de plaquetas en los receptores de estos productos. Los recuentos deben efectuarse antes y después de la transfusión con el fin de comprobar si se obtuvo un incremento postransfusional, este recuento se debe relacionar con la desaparición o prevención de la hemorragia. La medición del acortamiento del tiempo de sangrado es otra forma de conocer el rendimiento terapéutico de la transfusión de plaquetas (13).

### Indicaciones para la transfusión de plaquetas.

Para emplear racionalmente las plaquetas, se deben valorar : el estado clínico del paciente, la causa de la trombocitopenia y el número de plaquetas en el paciente (22). Este último parámetro puede determinar el momento de utilizar el recurso. En la práctica se ha observado, que pacientes leucémicos con cifras por debajo de 20 000

/mm<sup>3</sup> en enfermos con hipoplasias medulares y trombocitopenias inferiores a 5 000/mm<sup>3</sup> pueden desarrollar sangrado espontáneo.

En el cuadro No. 1 se muestra la indicación de la transfusión de plaquetas dependiente de la causa de la trombocitopenia ( 35 ).

C U A D R O No. 1

<u>CAUSA</u>	<u>TERAPIA</u>
TROMBOCITOPENIA AMEGACARIOCITICA (LEUCEMIA, APLASIA MEDULAR )	LAS PLAQUETAS SON DE UTILIDAD
TROMBOCITOPENIA INMUNE ( P T I )	LA ADMINISTRACION DE PLAQUETAS NO ES DE UTILIDAD DEBIDO A QUE SON DESTRUIDAS RAPIDAMENTE.
TROMBOCITOPENIA DILUCIONAL (TRANS FUSION MASIVA DE- SANGRE)	LAS PLAQUETAS PUEDEN SER DE - UTILIDAD DESPUES DE LA ADMI - NISTRACION DE CANTIDADES MASI VAS DE SANGRE.
COAGULACION INTRAVAS_ CULAR DISEMINADA (CID)	LAS PLAQUETAS OFRECEN MEJOR - BENEFICIO SI SE COMBINAN CON- PLASMA FRESCO.
ANORMALIDADES DE LA FUNCION PLAQUETARIA	LAS PLAQUETAS ASEGURAN UNA CO_ RRECTA HEMOSTASIA EN CASO DE - CIRUGIA MAYOR Y EN EXTRACCIO - NES DENTALES.

Generalmente se administra una unidad de concentrado plaquetario por cada 10 kg. de peso, este producto ofrece mayores ventajas sobre el PRP debido a que se maneja un volumen menor y se reduce el tiempo de administración.

Una unidad de PRP ( 250 ml. aproximadamente ) suele ser suficiente a menos que el paciente presente fiebre, sepsis o coagulación intravascular diseminada en estas situaciones se requiere de más de una unidad de PRP. La utilización de este producto se recomienda cuando el volumen no represente problemas para el paciente. En el caso de CID se prefiere ya que además de plaquetas contiene factores de la coagulación.

#### Compatibilidad de las plaquetas.

Además de los antígenos del sistema ABO las plaquetas poseen antígenos específicos de plaquetas y algunos del sistema HLA. Estos últimos representan un problema frecuente de inmunización, dando como resultado pacientes refractarios a la transfusión de plaquetas produciendo un acortamiento de la vida de las plaquetas transfundidas, lo anterior se comprueba haciendo un recuento a la hora postransfusional y no presente el incremento esperado en ausencia de fiebre, sangrado o CID. La selección de donantes HLA compatibles ha logrado solucionar en parte este problema sin embargo, dada la naturaleza polimorfa del sistema HLA se dificulta la selección de los donantes HLA compatibles.

**OBJETIVOS.**

- Confirmar el número de plaquetas en los productos ricos en estos elementos.
  
- Conocer la influencia de algunas variables durante la etapa de recolección y fraccionamiento de la sangre total hasta llegar a obtener concentrados plaquetarios.
  
- Comprobar el beneficio clínico de la terapia transfusional de plaquetas, calculando el incremento postransfusional y verificando el control de los episodios hemorrágicos.

## MATERIAL Y METODO

### Material:

- Microscopio Zeiss con sistema de iluminación para contraste de fase.
- Pipetas de Thoma para cuenta de glóbulos rojos.
- Cajas de petri.
- Cámaras de Neubauer.
- Agitador mecánico.

### REACTIVOS:

- Solución de Oxalato de Amonio al 1%.
- Mezcla Metanol - agua.
- Mezcla crónica.

### MATERIAL BIOLÓGICO:

- Sangre venosa (3 ml.) proveniente de donadores de sangre del Hospital General de México, S.S.A.
- Aliquotas de las bolsas de sangre total ( 2 ml. )
- Aliquotas de las unidades de PRP ( 2 ml. )
- Aliquotas de las unidades de CP ( 2 ml. )
- Sangre venosa de pacientes con trombocitopenia, secundaria a las siguientes patologías: Leucemia Aguda Mieloblástica (LAM), Leucemia Aguda Linfoblástica (LAL, Anemia Aplásica (A.A.); y eventualmente en caso de coagulación intravascular diseminada (CID), Púrpura Trombocitopénica Ideopática (PTI) y Síndrome Mieloproliferativo.

## M E T O D O .

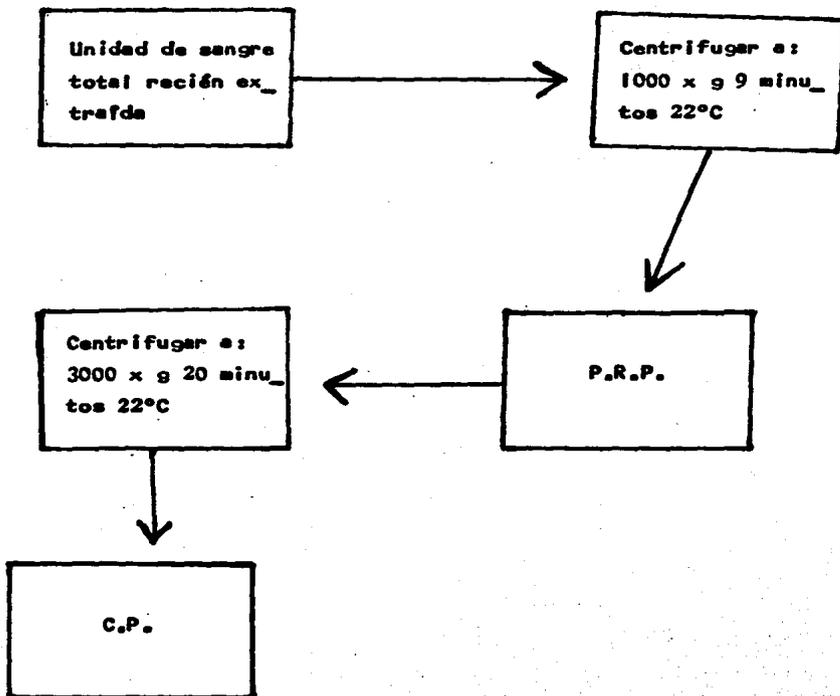
Primeramente se efectuaron recuentos de plaquetas en 30 muestras de donadores familiares ( sangre venosa ) del Hospital General de México, S.S.A., así como alícuotas ( 3 ml. ) de sangre tomada de las unidades donadas por estos sujetos. Las muestras fueron depositadas en tubos con anticoagulantes EDTA ( ácido etilendiaminotetra-cético ).

Por otra parte, se trabajaron 30 unidades de sangre total las cuales se fraccionaron hasta CP., se pilotearon sangre total PRP y CP., en cada una de estas 30 unidades. Las muestras se depositaron en tubos con EDTA.

El método que se siguió fue el descrito por Harker-Slichter (23, 24). El proceso de centrifugación se efectuó en una centrífuga - marca BECKMAN, Modelo J-6M. La toma de alícuotas de las bolsas, se manipularon en una campana de flujo laminar para evitar la contaminación de las unidades. Esta fase del trabajo se realizó en el Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea específicamente en el área de fraccionamiento.

Las unidades de sangre total PRP y CP fueron pesadas para conocer el número de plaquetas por unidad y calcular el porcentaje de rendimiento.

En la parte final de este trabajo se efectuaron recuentos de plaquetas a 44 pacientes que recibieron transfusión de plaquetas. Los recuentos fueron a 3 tiempos ( Basal, 1 hora y 24 horas posteriores a la transfusión ).

METODO DE SLICHTER - HARKER.

La toma de muestra se hizo con jeringas desechables de 3 ml., salvo en los casos extremos la muestra fue capilar a los tres tiempos -- (muestras de CID) .

Las muestras se colectaron en tubos con anticoagulantes (EDTA). Se efectuó el recuento de plaquetas en las unidades transfundidas. Se transfundieron de 4 a 6 unidades de concentrado plaquetario. Las manifestaciones hemorrágicas se valoran a la hora y 24 horas posteriores a la transfusión.

Los recuentos de plaquetas se hicieron por la técnica de Brechner - en el caso de los productos ricos en plaquetas las muestras se diluyeron 1:10 con su plasma pobre en plaquetas (PPP) debido a la cantidad tan grande de plaquetas. Las muestras diluidas se trabajaron de la misma manera cargando hasta la marca 1 llevándose hasta 101 con Oxalato de Amonio.

## TECNICA.

Todos los recuentos de plaquetas se efectuaron siguiendo la técnica de BRECHNER (11).

Con una pipeta para cuenta de glóbulos rojos se toma sangre homogeneizada con EDTA (ácido etilendiaminotetracético) que funciona como anticoagulante y antiagregante. La muestra de sangre puede tomarse directamente por punción capilar, llenando las pipetas hasta la marca 1.

Se lleva con Oxalato de Amonio hasta la marca 101. Agitar la pipeta durante 3 minutos en el agitador mecánico. Desahar las 7 primeras gotas y llenar la cámara, dejarla reposar durante 10 minutos, cubriéndole con una caja patri que contiene papel humedecido en agua, para evitar la evaporación de la muestra.

La valoración debe hacerse contando toda la cuadrícula central.

### Cálculos:

Número de plaquetas  $\times$  1000 = número de plaquetas/ $\text{mm}^3$ .

### valores de referencia:

De 150 000 a 450 000 plaquetas/ $\text{mm}^3$ .

## RESULTADOS .

El muestreo de las 30 unidades de sangre total llevadas hasta concentrado plaquetario dió como resultado los siguientes valores:

Sangre total	$1.59 \times 10^{11}$	plaquetas/unidad.
P.R.P.	$1.30 \times 10^{11}$	plaquetas/unidad.
C.P.	$1.03 \times 10^{11}$	plaquetas/unidad.

Los porcentajes de rendimiento fueron los siguientes:

P.R.P.	87% $\pm$ 7.32
C.P.	65% $\pm$ 11.59

Las tablas número 1, 2 y 3 muestran los datos necesarios para calcular el rendimiento de plaquetas para PRP Y CP.

Los recuentos efectuados en los 44 pacientes se presentan en las tablas número 4 a la 13 con sus gráficas correspondientes.

En la última gráfica se esquematiza el porcentaje de disminución de las manifestaciones hemorrágicas ( petequias, equimosis, epistaxis, gingivorragias y otras ) en los pacientes de los grupos de A.A.; LAL; LAN; PTI y Síndrome Mieloproliferativo en estudio.

SANGRE TOTAL				PLASMA RICO EN PLAQUETAS				CONCENTRADO PLAQUETARIO							
No. de muestra	lito.	Peso Bruto	Volumen neto	Pits. x 10 <sup>3</sup> por mm <sup>3</sup>	Pits. x 10 <sup>11</sup> por bolsa	Peso Bruto	Volumen neto	Pits. x 10 <sup>3</sup> por mm <sup>3</sup>	Pits. x 10 <sup>11</sup> por bolsa	% Rend. Pits.	Peso Bruto	Volumen neto	Pits. x 10 <sup>3</sup> por mm <sup>3</sup>	Pits. x 10 <sup>11</sup> por bolsa	% Rend. Pits.
1	52	750	541	492	2.6	240	202	1110	2.2	84	100	73	2890	2.1	80
2	44	760	557	362	2	290	231	830	1.9	95	110	83	1900	1.5	75
3	50	765	560	315	1.8	315	255	590	1.4	82	116	80	1370	1.2	67
4	47	720	517	364	1.3	200	144	1225	1.7	94	110	83	1245	1	56
5	52	745	511	228	1.3	210	153	830	1.2	92	80	53	2034	1	76
6	50	765	630	233	1.7	220	163	915	1.4	82	105	72	1625	1.2	70
7	50	739	535	153	0.8	260	202	370	0.7	91	100	73	730	0.5	65
8	47	730	526	368	1.9	335	172	840	1.4	73	95	68	1680	1.1	58
9	50	735	526	299	1.5	235	178	680	1.2	80	90	73	1040	0.7	50
10	50	715	507	191	0.9	265	110	660	0.7	75	95	38	980	0.6	69

SANGRE TOTAL			PLASMA RICO EN PLAQUETAS					CONCENTRADO PLAQUETARIO.							
No. de muestra	lito.	Peso neto	Volumen neto	Pits. x 10 <sup>3</sup> por mm <sup>3</sup>	Pits. x 10 <sup>11</sup> por bolsa	Peso neto	Volumen neto	Pits. x 10 <sup>3</sup> por mm <sup>3</sup>	Pits. x 10 <sup>11</sup> por bolsa	% Rend. pits.	Peso neto	Volumen neto	Pits. x 10 <sup>3</sup> por mm <sup>3</sup>	Pits. x 10 <sup>11</sup> por bolsa	% Rend. pits.
11	50	705	503	337	1.6	285	226	540	1.5	94	100	73	1700	1.2	75
12	49	760	590	355	1.9	300	248	645	1.6	84	115	90	1330	1.2	63
13	50	720	550	382	2.1	245	193	1000	2.1	95	85	50	2400	1.2	58
14	47	775	568	334	1.9	204	147	1080	1.6	84	70	47	2550	1.2	63
15	51	778	608	361	2.2	300	248	809	2	91	110	85	1650	1.4	71
16	49	730	550	254	1.4	280	128	936	1.2	86	79	52	1920	1	80
17	47	720	517	364	1.8	200	144	1225	1.7	94	110	83	1245	1	56
18	42	743	534	389	2	304	245	870	1.6	80	94	67	1800	1.2	60
19	50	745	575	310	1.8	230	178	985	1.7	94	80	55	2000	1.1	61
20	50	760	590	170	1	234	182	384	0.7	79	84	57	1075	0.5	57

T A B L A No. 3

No. de muestra	lito.	SANGRE TOTAL				PLASMA RICO EN PLAQUETAS				CONCENTRADO PLAQUETARIO.					
		Peso bruto	Volumen neto	Pits. x 10 <sup>3</sup> por mm <sup>3</sup>	pits x 10 <sup>11</sup> por bolsa	Peso bruto	Volumen neto	Pits. x 10 <sup>3</sup> por mm <sup>3</sup>	Pits. x 10 <sup>11</sup> por bolsa	% de rend. Pits.	Peso bruto	Volumen neto	Pits. x 10 <sup>3</sup> por mm <sup>3</sup>	Pits. x 10 <sup>11</sup> por bolsa	% Rend. Pits.
21	50	775	569	228	1.2	274	215	516	1.1	92	85	58	1385	0.8	67
22	50	735	532	247	1.3	266	208	592	1.2	92	70	47	1930	0.9	69
23	50	815	607	268	1.6	204	149	1050	1.5	93	90	70	1660	1.1	68
24	54	747	542	231	1.2	300	240	482	1.1	91	115	87	830	0.7	60
25	50	770	550	287	1.5	365	287	508	1.4	93	60	34	2760	0.9	62
26	51	770	550	294	1.6	280	221	602	1.3	81	140	112	1100	1.2	75
27	50	745	555	324	1.7	235	178	790	1.4	70	105	78	1223	0.9	56
28	47	730	560	232	1.2	205	153	523	0.8	74	70	45	1555	0.7	59
29	51	740	570	140	0.8	200	148	470	0.7	92	60	34	1320	0.5	68
30	47	760	590	275	1.6	235	183	810	1.5	93	87	62	1610	1.0	68

T A B L A No. 4

## RECUENTO DE PLAQUETAS: BASAL Y POSTRANSFUSIONAL

( plaquetas  $\times 10^3 / \text{mm}^3$  )

## LEUCEMIA MIELOBLÁSTICA.

No. de muestra	Basal	1 hora	24 horas .
1	72	86	90
9	53	93	54
12	23	19	82
15	7	70	42
20	29	35	39
25	80	90	64
26	10	12	11
29	7	11	15
34	16	19	25
36	43	48	60
41	22	32	40

T A B L A No. 5

Recuento de plaquetas: Basal y postransfusional.  
( plaquetas  $\times 10^3 / \text{mm}^3$  )

## ANEMIA APLASTICA.

No. de muestra	Basal	1-hora*	24 horas.
2	40	47	41
4	19	38	36
6	33	36	36
7	9	22	15
16	16	23	17
19	7	20	18
32	14	20	15
33	60	77	87
45	49	109	50
49	8	18	32
50	15	39	75

T A B L A No. 6

Recuento de plaquetas: Basal y postransfusional.  
( plaquetas  $\times 10^3 / \text{mm}^3$  )

## LEUCEMIA LINFOBLASTICA.-

No. de muestra	Basal	1 hora.	24 horas.
22	18	20	25
31	12	35	35
37	6	29	22
38	8	13	13
42	19	28	22
43	2	5	9
44	4	10	15

T A B L A No. 7

Recuento de plaquetas: Basal y postransfusional.  
( plaquetas  $\times 10^3 / \text{mm}^3$  )

COAGULACION INTRAVASCULAR DISEMINADA .-

No. de muestra	Basal	1 hora.	24 horas.
14	21	54	58
17	53	105	67

T A B L A No. 8

Recuento de plaquetas: Basal y postransfusional.  
( plaquetas  $\times 10^3 / \text{mm}^3$  )

PURPURA TROMBOCITOPENICA IDIOPATICA .-

No. de muestra	Basal	1 hora.	24 horas.
21	20	32	70
27	32	46	42
45	10	15	13
47	8	13	15

T A B L A No. 9

Recuento de plaquetas: Basal y postransfusional.  
( plaquetas  $\times 10^3 / \text{mm}^3$  )

SINDROME MIELOPROLIFERATIVO EN ESTUDIO .-

No. de muestra	Basal	1 hora.	24 horas.
10	29	41	35
28	42	44	45
35	58	66	61
48	52	53	60

T A B L A No. 10

Recuento de plaquetas : Basal y postransfusional  
( plaquetas  $\times 10^3 / \text{mm}^3$  )

LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO.

No. de muestra	Basal	1 hora.	24 horas.
38	10	62	33

T A B L A No. 11

Recuento de plaquetas: Basal y postransfusional.  
( plaquetas  $\times 10^3 / \text{mm}^3$  )

## LEUCEMIA PROMIELOCITICA.-

No. de muestra	Basal	1 hora.	24 horas.
39	6	16	14

T A B L A No. 12

Recuento de plaquetas: Basal y postransfusional.  
( plaquetas  $\times 10^3 / \text{mm}^3$  ).

## LINFOMA DIFUSO.

No. de muestra	Basal	1 hora.	24 horas.
40	41	38	41

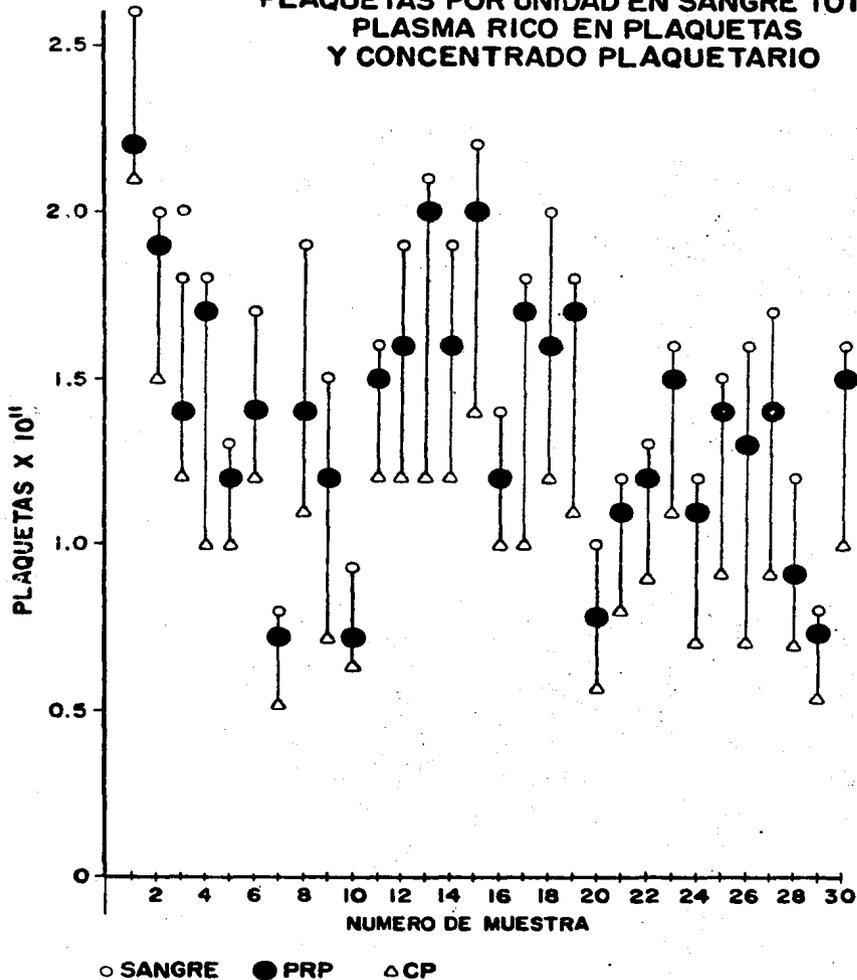
T A B L A No. 13

Recuento de plaquetas: Basal y postransfusional.  
( plaquetas  $\times 10^3 / \text{mm}^3$  )

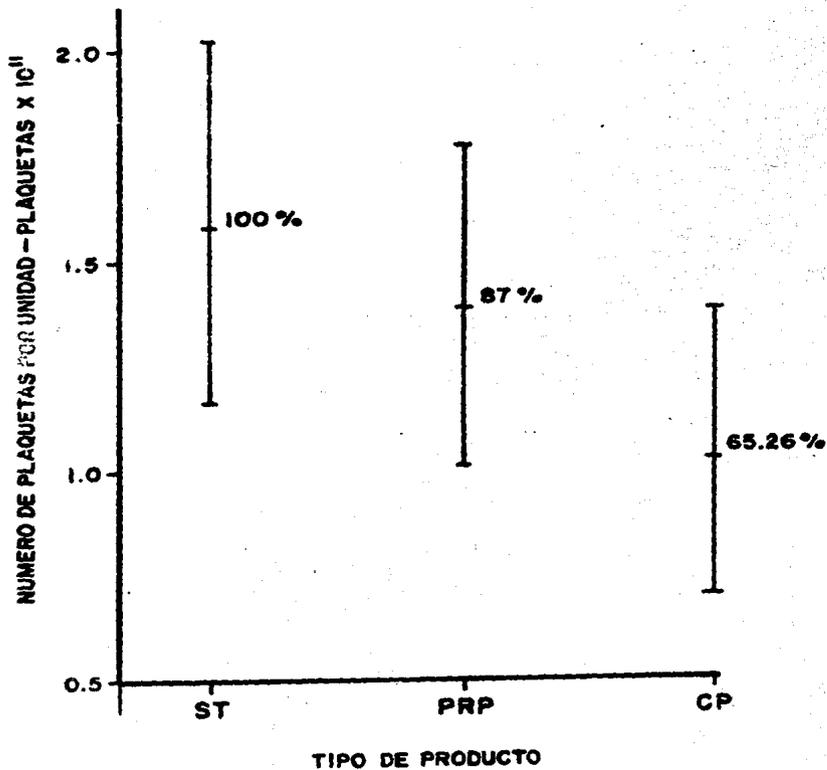
HIPERESPLENISMO.

No. de muestra	Basal	1 hora.	24 horas.
37	70	75	104

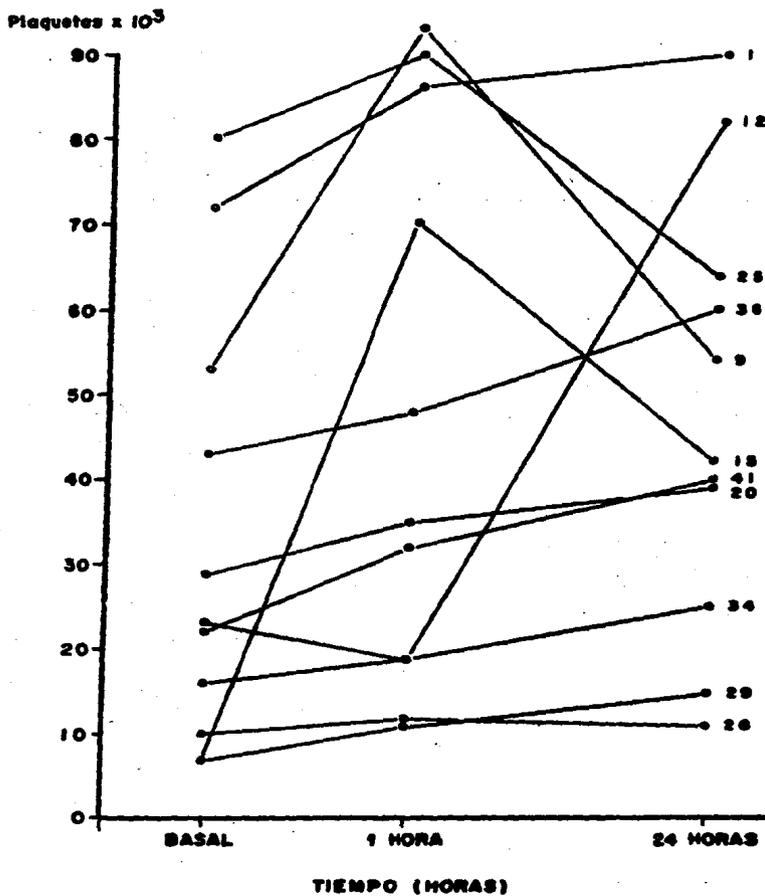
**PLAQUETAS POR UNIDAD EN SANGRE TOTAL  
PLASMA RICO EN PLAQUETAS  
Y CONCENTRADO PLAQUETARIO**



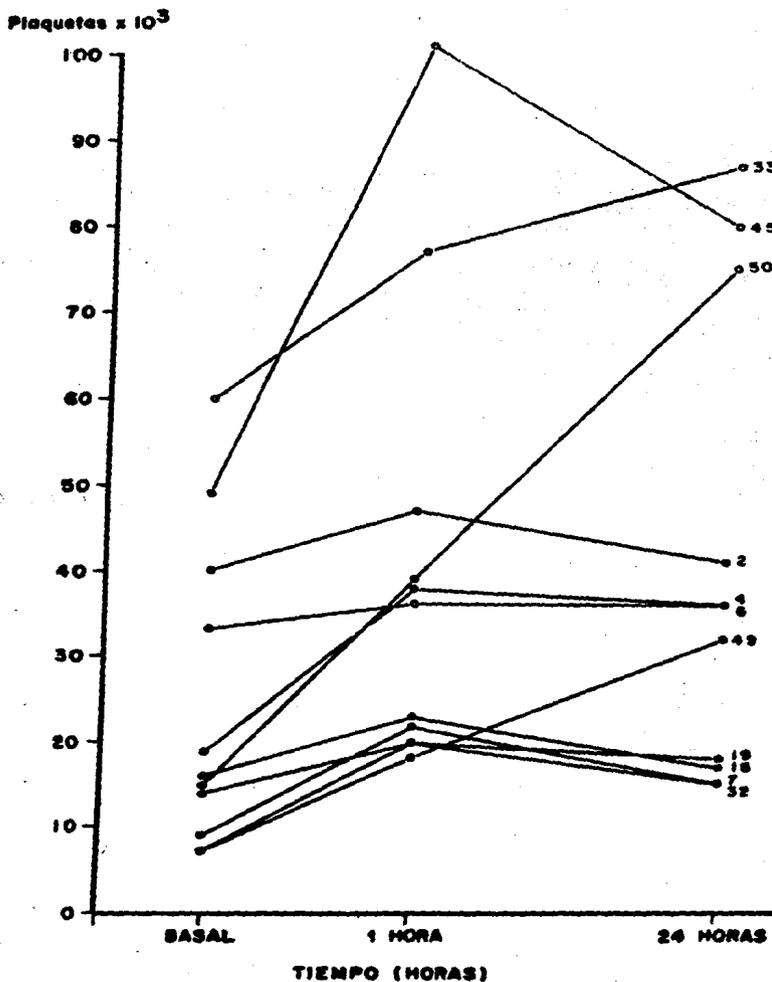
### PORCENTAJE DE RENDIMIENTO EN P.R.P. Y C.P.



### INCREMENTO DE PLAQUETAS EN CASO DE TROMBOCITOPENIA SECUNDARIA A LEUCEMIA MIELOBLASTICA

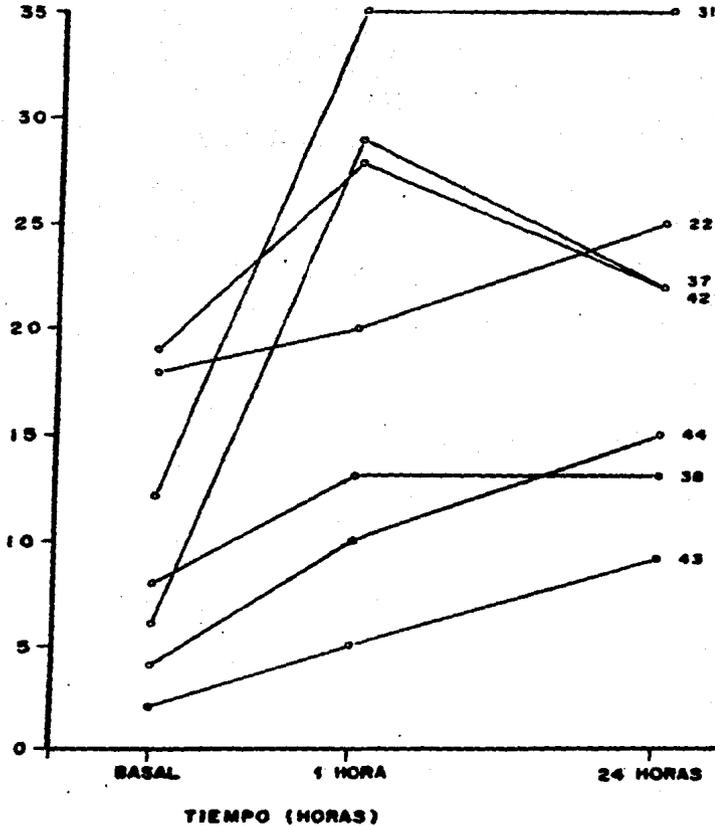


## INCREMENTO DE PLAQUETAS EN CASO DE TROMBOCITOPENIA SECUNDARIA A ANEMIA APLASTICA

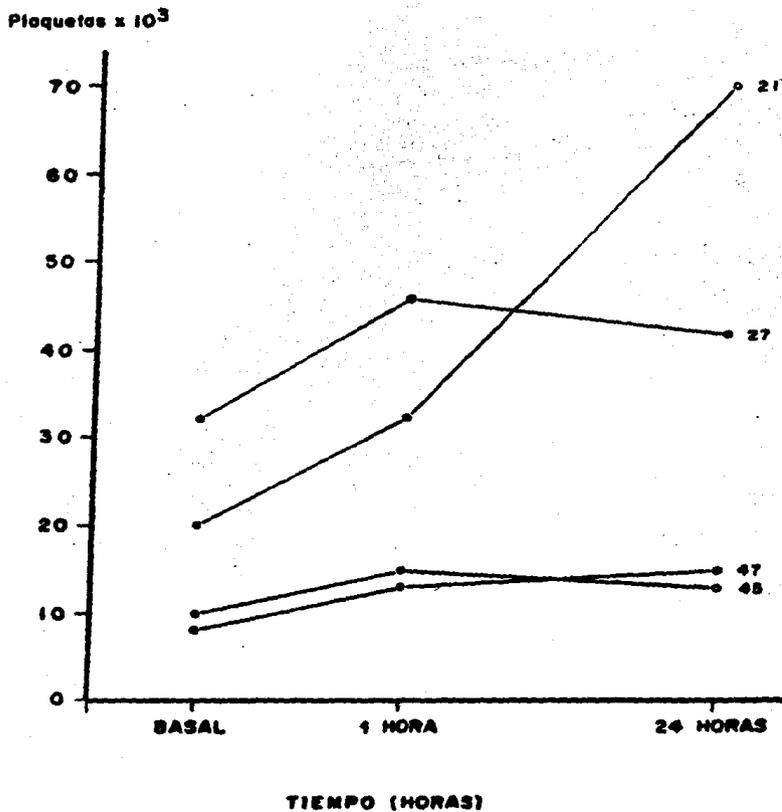


### INCREMENTO DE PLAQUETAS EN CASO DE TROMBOCITOPENIA SECUNDARIA A LEUCEMIA LINFOBLASTICA

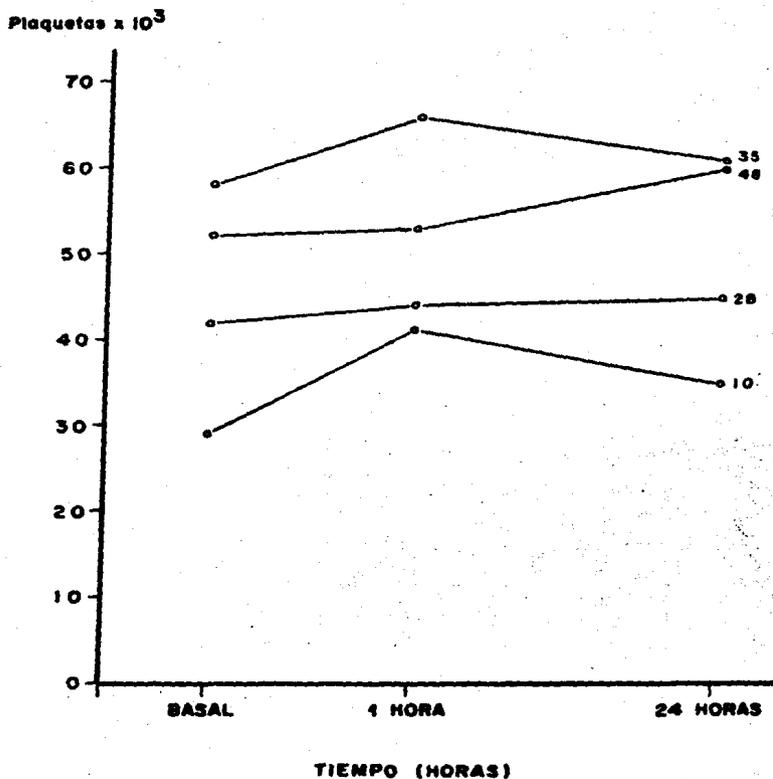
Plaquetas x  $10^3$



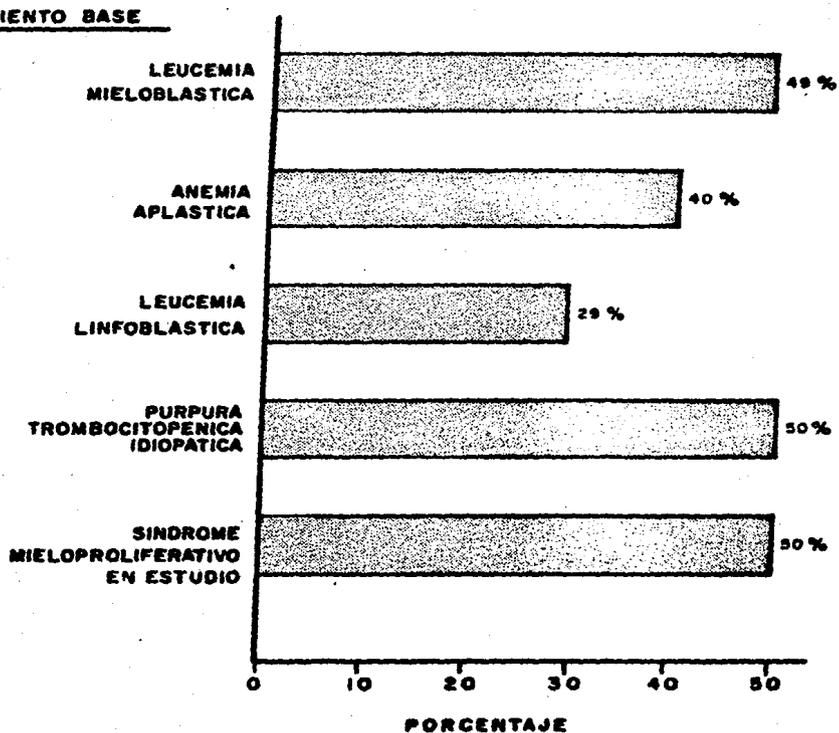
### INCREMENTO DE PLAQUETAS POSTTRANSFUSIONAL EN TROMBOCITOPENIA SECUNDARIA A PTI



**INCREMENTO DE PLAQUETAS POSTTRANSFUSIONAL  
EN TROMBOCITOPENIA SECUNDARIA  
A SINDROME MIELOPROLIFERATIVO  
EN ESTUDIO**



## PORCENTAJE DE DISMINUCION DE MANIFESTACIONES HEMORRAGICAS



### Análisis estadístico.

Se utilizó el análisis de varianza (ANOVA) para estimar y probar las hipótesis planteadas respecto a las medias poblacionales  $M_1$ -  $M_2$ -  $M_3$  de poblaciones (26).

Dentro del ANOVA se eligió el diseño de bloques completos azarizados mismo que se aplicó a los cinco grupos de trombocitopenia secundaria a Leucemia Mieloblástica, Anemia Aplásica, Leucemia -- Linfoblástica, PTI y Síndrome Mieloproliferativo.

El estadístico usado "F" es, la razón del cuadrado medio de la media entre grupos, al cuadrado medio dentro de los grupos. En el planteamiento de las hipótesis se debe involucrar la llamada hipótesis de nulidad ( $H_0$ ) que es un recurso estadístico que permite la aceptación o el rechazo de la hipótesis alternativa ( $H_1$ ) que es la aseveración operacional del investigador (31).

### Hipótesis planteadas.

- 1.- Los recuentos plaquetarios basales de cada uno de los grupos.  
 $H_0$  = No existe diferencia entre los recuentos basales de los cinco grupos.
- 2.- La comparación de los recuentos postransfusionales y basal -- para cada uno de los grupos.  
 $H_0$  = No existe diferencia entre los tres recuentos.  
 $H_1$  = Existe diferencia entre los tres recuentos.

T A B L A No. 14

Recuento Basal de los cinco grupos.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculada
Entre grupos	5533.7262	4	1383.4316	4.7573
Dentro	9305.5708	32	290.7990	
Total	14839.297	36		

**RESULTADOS:**

F de tablas = 2.14

F calculada = 4.7573

**Interpretación:**

Si la F calculada es mayor o igual a la F de tablas la  $H_0$  se rechaza.

Por lo tanto para los recuentos basales se rechaza la  $H_0$  a un nivel de significancia  $\alpha$  de 0.10

T A B L A No. 15

LEUCEMIA MIELOBLASTICA.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculada
Entre grupos	1486.6060	2	743.3030	2.97
Dentro	18631.2121	10	1863.1212	
Total	11043.867	32		

RESULTADO:

F de tablas = 2.59

F calculada = 2.97

Le  $H_0$  se rechaza a un  $\alpha = 0.10$

T A B L A No. 16

ANEMIA APLASICA.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculada
Entre grupos	1565.8484	2	782.9393	3.38
Dentro	13373.6364	10	1337.3636	
Total	195772.9697	32		

RESULTADO:

F de tablas = 2.59

F calculada = 3.38

La Ho se rechaza a un  $\alpha$  = 0.10

T A B L A No. 17  
LEUCEMIA LINFOBLASTICA.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculada
Entre grupos	486.95	2	243.4761	9.13
Dentro	1152	6	192	
Total	1952.66	20		

**RESULTADO:**

F de tablas = 2.81

F calculada = 9.13

La  $H_0$  se rechaza a un  $\alpha = 0.10$

T A B L A No. 18

PURPURA TROMBOCITOPENICA IDIOPATICA.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculada
Entre grupos	612.6667	2	386.333	2,05899
Dentro	2353.33	3	784.444	
Total	3858.66	11		

**RESULTADOS**

F de tablas = 3.46

F calculada = 2.05

Lo No se acepta a un

 $\alpha = 0.10$

T A B L A No. 19

SÍNDROME MIELOPROLIFERATIVO EN ESTUDIO.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculada
Entre grupo.	138.166	2	69.0833	1.06
Dentro	718.666	3	238.5555	
Total	1241.666	11		

RESULTADO:

F de tablas = 3.46

F calculada = 1.06

La Ho se acepta a un

 $\alpha$ 

= de 0.10

## D I S C U S I O N .

La hemorragia que se presenta en pacientes trombocitopénicos puede ser controlada mediante la transfusión de plaquetas provenientes de una unidad de sangre total recién extraída o con un mínimo de 6 horas de haber sido captada y sin refrigeración; plasma rico en plaquetas o bien en forma de concentrado de plaquetas (11), por lo que es importante practicar un control de calidad en los productos ricos en plaquetas, dicho control de calidad consta de determinaciones cuantitativas como el número de plaquetas/unidad de PRP y CP y cualitativas como determinación de la agregación plaquetaria, además de la medición del pH. En este trabajo no se realizaron pruebas de funcionalidad ni medición de pH debido a problemas técnicos, dejando la oportunidad para continuarse en trabajos posteriores.

Los productos ricos en plaquetas se procesan desde la década de los 60s (8) con rendimientos bajos aproximadamente un 40% del total de las plaquetas presentes en la unidad de sangre total. En los 70s Herker/Slichter obtuvieron el 86% para el concentrado plaquetario y un 95% para el PRP, el grupo de Kehn encontraron también mediante combinación de diferentes velocidades y tiempos un rendimiento de 95% a 3 500g durante 5 minutos (18).

De acuerdo a los valores establecidos por la asociación americana de bancos de sangre los productos ricos en plaquetas deben reunir los siguientes requisitos: número de plaquetas en sangre total para PRP y 60% para el concentrado pla-

quetario (17).

Durante el tiempo que se trabajó en el fraccionamiento de la sangre total destinada a PRP y CP se constató que otro de los aspectos de importancia en el proceso de estos productos es la etapa de resuspensión del paquete plaquetario en el plasma pobre en plaquetas (PPP) la resuspensión debe realizarse manteniendo en agitación constante las unidades de CP por un mínimo de 2 horas hasta lograr una suspensión de plaquetas homogénea.

Los centros hospitalarios que cuentan con banco de sangre -- deben procurar que los servicios encargados del manejo de pacientes hematológicos, los cuales presentan con mayor frecuencia sangrado por trombocitopenia, mantenga una relación estrecha, con el propósito de aprovechar al máximo los productos ricos en plaquetas. Los médicos tratantes deben programar el número de unidades, el tipo de productos y el grupo sanguíneo que se requiere. Una estadística de la demanda de PRP y CP, el padecimiento base del receptor y la cantidad de unidades puede ayudar a una mejor organización para la utilización de productos ricos en plaquetas.

Por otra parte, es notable la preferencia por el uso del concentrado plaquetario en lugar de PRP, incluso en la literatura consultada se encuentra más información acerca de este producto. La razón es que el concentrado plaquetario contiene una buena cantidad de plaquetas en un volumen pequeño aproximadamente de 25 a 60 ml. (29) facilitando así su manejo. Sin embargo, en algunos casos donde se presenta trombocitopenia y deficiencia en los factores de la coagulación se prefiere la administración de PRP (13,35).

El rendimiento clínico de la terapia transfusional con plaquetas se reconoce cuando las manifestaciones hemorrágicas disminuyen o incluso desaparecen, además se espera un incremento posterior a la administración de plaquetas (13).

Freireich y Cronkite efectuaron estudios sobre dicho rendimiento clínico en pacientes con leucemia y anemia aplásica -- (6).

Djerassi trabajó con niños cuyo diagnóstico era leucemia y encontró un porcentaje del 60% de recuperación de las plaquetas transfundidas, notó que el máximo nivel de plaquetas se -- producía a las 3 horas posteriores a la transfusión y a las 24 horas regresaban a los niveles basales (8).

Harker-Slichter y Cronkite midieron la vida media de las -- plaquetas en los receptores usando para tal fin plaquetas marcadas radioactivamente con Cr 51. Ellos observaron porcentajes de recuperación altos y tiempos de supervivencia de 3 a 5 días. En el caso de PTI la vida media de las plaquetas transfundidas se ve acortada a horas.

Aster encontró un incremento de  $9\ 000\ \text{plaquetas}/\text{mm}^3/\text{m}^2$  de -- superficie corporal en cambio Rodríguez Moyado y colaboradores reportan incrementos diferentes de acuerdo al producto que se esté administrando. Es decir, que si se trata de PRP el incremento es de  $15\ 000\ \text{plaquetas}/\text{mm}^3/\text{m}^2$  y si es CP se tiene un incremento de  $7\ 000\ \text{plaquetas}/\text{mm}^3/\text{m}^2$ .

En este trabajo la mayoría de los casos siguieron un comportamiento similar. El grupo de pacientes con anemia aplásica -- tuvieron una elevación promedio de plaquetas mayor a la de los

demás grupos en la determinación de plaquetas a la hora postransfusional. Se comprobó que el incremento en los casos de PTI es nulo debido a la destrucción activa de plaquetas por los anticuerpos contra éstas.

Se debe hacer notar que la mayoría de los pacientes incluidos en los grupos de LAM, LL y AA se encontraban bajo quimioterapia o recibiendo alguna droga, presentaban fiebre y/o infección dando como resultado un incremento pobre o incluso nulo. En los casos de CID y muestra (40) que presentó sangrado severo, lógicamente no se encontró incremento de plaquetas. La isoimmunización contra plaquetas transfundidas se puede reconocer en pacientes que se han vuelto refractarios a la terapia con este componente sanguíneo. Este problema ha tratado de resolverse mediante la utilización de plaquetas HLA compatibles, sin embargo, no es una solución definitiva y además presenta inconvenientes tales como la dificultad en la selección de donadores HLA compatibles y la complejidad de las técnicas que no siempre están al alcance de todos los hospitales.

La toma de muestra en los receptores ofreció dificultades en algunos grupos ( CID, LLA, LAM ) debido a las condiciones de los pacientes ( multipuncionados bajo terapia intensiva, etc ). Sin embargo, se completó un número suficiente para el análisis estadístico de algunas patologías.

No hay que olvidar que el motivo de la transfusión de plaquetas fueron las crisis hemorrágicas o el riesgo de que éstas se presenten con cifras cercanas a  $20\,000$  plaquetas/mm<sup>3</sup>, con la aplicación de plaquetas en forma de CP o PRP se logran porcenta-

jes significativos de disminución de las manifestaciones hamo +  
rrágicas.

## CONCLUSIONES.

Los productos ricos en plaquetas tienen una cantidad terapéuticamente útil y superan las cifras establecidas por la Asociación Americana de Bancos de Sangre (  $5.5 \times 10^{10}$  plaquetas por unidad de PRP y CP. )

Las variables de velocidad, tiempo y temperatura de centrifugación de sangre total así como la resuspensión del paquete plaquetario son determinantes de un buen rendimiento de plaquetas.

Los incrementos postransfusionales que se presentan en este trabajo son similares a los de otras publicaciones ( 6, 8, 12, 31 ).

La administración de plaquetas mostró una mejor respuesta en los grupos de LAM, AA y CAL.

Las manifestaciones hemorrágicas disminuyeron o incluso desaparecieron aún cuando no se incrementó el número de plaquetas en el receptor.

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

\*\*\*\*\*

- 1.- Becker Gary. Aster R. Platelet transfusion therapy.  
(1972) Medical Clinics of North America. Vol. 56 No. 1  
January page 81-93.
- 2.- Biological Handbook. Blood and other fluids.  
(1961) Federation of American Sciences for experimental  
biology Washington pag. 349.
- 3.- Cabrera J.R. MC. Regidor. Trombocitopatías y enfermedad  
de Von Willebrand.  
(1985) Vol. III Serie Hematología. pag. 588.
- 4.- Coronado Rafael. Preparación y uso de los componentes -  
sanguíneos.  
Manual Técnico. Laboratorio Travenol. pag. 9-11.
- 5.- Conrand Marcel E. Blood transfusion uses abuses and - -  
practice.  
(1981) Seminars in Hematology. Vol. 18 No. 2 april - -  
pag. 81-85.
- 6.- Cronkite E.P. and D.P. Jackson. Use of platelet transfusion  
in hemorrhage disease.  
(1959) Progress in Hematology Vol. 2 pag. 239 New York and  
Stratton.
- 7.- Dacie J.V/ S.M. Lewis. Practical hematology.  
(1979) Churchill Livingstone fifth edition page 323-378.
- 8.- Djerassi I. Sidney Farbér. Control and prevention of - -  
hemorrhage platelet transfusion.  
(1965) Cancer Research Vol. 25 oct. page 1499-1503.
- 9.- Duquesnoy Anderson. ABO compatibility platelet transfusion  
of alloimmunized thrombocytopenic patients.  
(1979) Blood Vol. 54 No. 3 sept. page 595-598.

- 10.- Escribe P. Maluendo Carrillo. Fisiología de la Hemostasia.  
(1982) Tratado de Medicina Práctica. Serie de Hematología. No. 7 pags.
- 11.- Gerzo Federico, Palomares M.B. Enfermedades hemorrágicas. Diagnóstico y tratamiento.  
(1983) Ed. Fco. Méndez Cervantes. Pags. 213-215.
- 12.- Grumet Carl F.A. Yankee Roland. Long term platelet support of platelet with aplastic anemia.  
(1970) Annals of Internal Medicine Vol 73 No. 1 pags. July.
- 13.- Harker L.A. T.S. Zimmerman. Transtornos plaquetarios.  
(1985) Serie Clínicas Hematológicas. Vol. 11 No. 1. Editorial Salvat.
- 14.- Harker L.A. Slichter. The bleeding time as a screening test for evaluation of platelet function.  
(1972) New England Journal of Medicine. Vol. 28. pag. 155-159.
- 15.- Hollmuth M. Boppel. Agregación plaquetaria y drogas antiagregantes plaquetarios.  
(1984) Investigación Médica Internacional. Vol. 11 No. 3, pags. 166-167.
- 16.- Higby, D.J. Cohen E. Holland. The prophylactic treatment of thrombocytopenic leukemic patients with platelet a double blind study.  
(1974) Vol. 14 No. 5 sept. oct. pags. 440-446.
- 17.- Howard F. Teswell. Quality control in the blood bank.  
(1980) American Association of blood banks. pag. 70.
- 18.- Kirk Othmar. Blood fractionation.  
(1979) Enciclopedia of Chemical Technology. Vol. 14 Willey Interscience pags. 25-31.

- 19.- Kilikson H.S. Holmo Murphy. Platelet metabolism during storage of platelet concentrates at 22°C.  
(1984) Bood Vol. 64. No. 2 pag. 406-414.
- 20.- Lara Rosa y López C. Estudio Analítico de los trastornos hemorrágicos.  
(1982) Tribuna Médica. septiembre, No: 1
- 21.- Medina Aguilar Rolando. Inmunohematología aplicada al banco de sangre.  
(1979) Sociedad Médica de Hematología. pag. 82-86;165/68.
- 22.- Marino J.L. N. Gómez. Púrpuras trombocitopénicas.  
(1985) Tratado de Medicina Práctica. Vol. 9 Serie Hematología III. Pags. 568-570.
- 23.- Miller William. Judith A. Harman. Platelet serology and transfusion.  
(1983) Human Pathology. Vol. 14 No. 3 marzo.
- 24.- Murphy S. Davis J.L. Walsh P.N. Template bleeding time - and clinical homorrage in mieloproliferative disease.  
(1978) Archives of Internal Medicine. Vol. 138 pag.1251-55
- 25.- Neame Peter B. Jack Hirsh. Increased platelet destruction.  
(1982) Seminars in Thrombosis and Hemostasis Vol. 8 No.2.
- 26.- Oatis Bernard. Estadística Aplicada.  
(1979) Editorial Limusa México. Pag. 275-278; 282-289; - 295-311; 399-400 y 572-574.
- 27.- Plat R. Williams. Color Atlas and text book of hematology.  
Lippincott Company (1979) pag. 157-158.
- 28.- Platelet Physiology and transfusion.  
(1979) American Association of blood banks. pag. 1-22; 24-27; 44-49 y 60-80.
- 29.- Rodríguez Moyado Héctor. J.A. Uribe. Importancia del empleo de componentes de la sangre para un mejor rendimiento clínico de la terapéutica transfusional.  
(1977) Trabajo Monográfico.

- 30.- Schiffer-Slichter. Platelet transfusion from single donors.  
(1981) New England Journal of Medicine. Vol. 307 No.4  
Pag. 245-248.
- 31.- Sidney Siegel. Estadística no paramétrica.  
(1980) Editorial Trillas, México. Pags. 25-27.
- 32.- Slichter S.J. Harker L.A. Preparation and storage of concentrates. I factor influencing the harvest of - viable platelet from whole blood.  
(1976) British Journal of Hematology 34. Pags. 395-402.
- 33.- Slichter S.J. Harker L.A. Preparation and storage of platelet II storage variables influencing platelet - viability and fuction.  
(1976) British Journal of Hematology. Vol. 34 pags.403-19.
- 34.- Storb R.S. Weiden. Transfusion problems associated with transplantation.  
(1981) Seminars in Hematology. Vol. 18 pags. 163-176.
- 35.- Technical Manual. Preparations of blood components.  
(1979) capitulo 3, pags. 48-52. American Association of blood banks.
- 36.- Tood Sandford. Diagnostico clinico por el Laboratorio.  
(1979) Editorial Salvat pag. 227-229 y 426-27.
- 37.- Wayne James Daniels. Bioestadística.  
(1979) Editorial Limusa, capitulo 7.
- 38.- White James G. and John Sauk. Microtubule coils in spread blood platelets.  
(1984) Blood Vol. 64 No. 2 august pag. 470-478.
- 39.- William J. William. Hematology.  
(1983) 3th Edition Mc Graw Hill Book Company.  
Page. 112-27; 1137-41 y 1176-82.
- 40.- Wintrobe. Clinical Hematology.  
Edition Philadelphia (1981) pag. 354-57, 369.