

TABLA DE CONTENIDO

| | |
|---|----|
| 1. INTRODUCCIÓN | 15 |
| 1.1 GENERALIDADES DE LAS PLAQUETAS | 16 |
| 1.1.1 PROCESO DE HEMOSTASIA FISIOLÓGICA | 17 |
| 1.1.2 TRANSFUSIÓN DE CONCENTRADOS PLAQUETARIOS | 20 |
| 1.1.3 PREPARACIÓN DEL CONCENTRADO DE PLAQUETAS | 20 |
| 1.1.4 VENTAJAS SEGÚN EL TIPO DE CONCENTRADO DE PLAQUETAS | 23 |
| 1.1.5 CONSERVACIÓN DE CONCENTRADOS PLAQUETARIOS | 25 |
| 1.1.6 REQUERIMIENTOS BIOQUÍMICOS DE LAS PLAQUETAS | 26 |
| 1.2 LESIÓN POR ALMACENAMIENTO DE PLAQUETAS | 27 |
| 1.2.1 CARACTERIZACIÓN DE PRODUCTOS ALMACENADOS | 28 |
| 1.2.2 ESTRÉS OXIDATIVO Y PLAQUETAS | 32 |
| 1.2.3 NUEVA TECNOLOGÍA PARA REDUCIR LA LESIÓN POR ALMACENAMIENTO | 37 |
| 1.2.4 PRODUCCIÓN DE CONCENTRADOS PLAQUETARIOS EN CHILE | 38 |
| 2. HIPÓTESIS | 41 |
| 3. OBJETIVOS | 42 |
| 4. MATERIALES Y MÉTODOS | 43 |
| 4.1 MATERIALES | 43 |
| 4.2 REACTIVOS | 43 |
| 4.3 EQUIPOS | 45 |
| 4.4 INSUMOS | 45 |
| 4.5 MÉTODOS | 46 |

| | |
|--|----|
| 4.5.1 DONANTES | 46 |
| 4.6 CONCENTRADOS DE PLAQUETAS | 46 |
| 4.6.1 PLAQUETAS MANUALES O ESTÁNDAR | 46 |
| 4.6.2 PLAQUETAS POR AFÉRESIS | 47 |
| 4.6.3 TÉCNICA DE LAVADO DE PLAQUETAS | 48 |
| 4.7 EVALUACIÓN DE LA LIPOPEROXIDACIÓN DE LA MEMBRANA PLAQUETARIA MEDIANTE LA TÉCNICA DE ÁCIDO TIOBARBITÚRICO (TBARS) | 50 |
| 4.8 DETERMINACIÓN DE GLUTATIÓN REDUCIDO (GSH) | 49 |
| 4.9 DETERMINACIÓN DE NITRATOS Y NITRITOS | 50 |
| 4.10 CONTROL POSITIVO PARA ESTRÉS OXIDATIVO | 51 |
| 4.11 CITOMETRÍA DE FLUJO | 51 |
| 5. RESULTADOS | 56 |
| 5.1 LIPOPEROXIDACIÓN DE LA MEMBRANA PLAQUETARIA | 56 |
| 5.1.1 EVALUACIÓN DE LA LIPOPEROXIDACIÓN SEGÚN EL MÉTODO DE OBTENCIÓN DE PLAQUETAS | 59 |
| 5.2 NIVELES DE GLUTATIÓN REDUCIDO EN LOS CONCENTRADOS PLAQUETARIOS | 61 |
| 5.2.1 NIVELES DE GLUTATIÓN REDUCIDO SEGÚN EL MÉTODO DE OBTENCIÓN DE LAS PLAQUETAS | 64 |
| 5.3 NIVELES DE NITRATOS Y NITRITOS EN LOS CONCENTRADOS PLAQUETARIOS | 66 |
| 5.3.1 NIVELES DE NITRATOS Y NITRITOS SEGÚN EL MÉTODO DE OBTENCIÓN DE LOS CONCENTRADOS PLAQUETARIOS | 68 |
| 5.4 ACTIVACIÓN EN LOS CONCENTRADOS PLAQUETARIOS | 70 |

| | |
|--|-----|
| 5.4.1 DOT PLOT DE LA EXPRESIÓN DE P-SELECTINA DE LOS CONCENTRADOS PLAQUETARIOS EN DISTINTOS DÍAS DE CONSERVACIÓN | 71 |
| 5.4.2 P-SELECTINA EN LOS CONCENTRADOS PLAQUETARIOS CONSERVADOS | 72 |
| 5.4.3 ACTIVACIÓN EN LOS CONCENTRADOS PLAQUETARIOS SEGÚN EL MÉTODO DE OBTENCIÓN DE LAS PLAQUETAS | 74 |
| 5.5 RESPUESTA A TROMBINA EN LOS CONCENTRADOS PLAQUETARIOS ALMACENADOS | 75 |
| 5.5.1 RESPUESTA A TROMBINA SEGÚN EL MÉTODO DE OBTENCIÓN DE LOS CONCENTRADOS PLAQUETARIOS | 78 |
| 5.6 EXPRESIÓN DE PS EN LOS CONCENTRADOS PLAQUETARIOS ALMACENADOS | 79 |
| 5.6.1 EXPRESIÓN DE PS SEGÚN EL MÉTODOS DE OBTENCIÓN DE LOS CONCENTRADOS PLAQUETARIOS | 82 |
| 6. DISCUSIÓN | 83 |
| 7. CONCLUSIONES | 94 |
| 8. BIBLIOGRAFÍA | 95 |
| 9. ANEXOS | 105 |
| 9.1 CONSENTIMIENTO INFORMADO | 105 |
| 9.2 CARTA DE APROBACIÓN COMITÉ ÉTICA UNIVERSIDAD DE TALCA | 109 |
| 9.3 CARTA DE APROBACIÓN COMITÉ DE ÉTICA CLÍNICA SANTA MARÍA | 111 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|--|----|
| TABLA 1. CARACTERÍSTICAS PARA CADA TIPO DE PROCEDIMIENTO DE OBTENCIÓN DE CONCENTRADOS DE PLAQUETAS (CP) | 24 |
| TABLA 2. CAMBIOS <i>IN VIVO</i> E <i>IN VITRO</i> DURANTE LA LESIÓN DE ALMACENAMIENTO DE PLAQUETAS | 31 |
| TABLA 3. SOLUCIONES ADITIVAS PARA PLAQUETAS (PAS) | 38 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| FIGURA 1. ESQUEMA GENERAL DE LA ESTRUCTURA DE LA PLAQUETA | 17 |
| FIGURA 2. ESQUEMA DE LAS ETAPAS QUE REALIZA LA PLAQUETA EN LA HEMOSTASIA | 19 |
| FIGURA 3. MÉTODO PARA OBTENER CONCENTRADOS ESTANDAR DE PLAQUETAS | 21 |
| FIGURA 4. OBTENCIÓN DE CONCENTRADOS DE PLAQUETAS MEDIANTE AFÉRESIS | 23 |
| FIGURA 5. VIAS METABÓLICAS DE LA PLAQUETA | 26 |
| FIGURA 6. ESQUEMA GENERAL DE LA LESIÓN DE ALMACENAMIENTO EN PLAQUETAS | 28 |
| FIGURA 7. SÍNTESIS DE ÓXIDO NÍTRICO | 34 |
| FIGURA 8A. EVALUACIÓN DE LA LIPOPEROXIDACIÓN MEDIANTE TBARS EN CONCENTRADOS PLAQUETARIOS PAP | 56 |
| FIGURA 8B. EVALUACIÓN DE LA LIPOPEROXIDACIÓN MEDIANTE TBARS EN CONCENTRADOS PLAQUETARIOS PAS | 57 |
| FIGURA 8C. EVALUACIÓN DE LA LIPOPEROXIDACIÓN MEDIANTE TBARS EN CONCENTRADOS PLAQUETARIOS PST | 58 |
| FIGURA 9. EVALUACIÓN DE LA LIPOPEROXIDACIÓN MEDIANTE TBARS EN PLAQUETAS ALMACENADAS CONSERVADAS A DISTINTOS TIEMPOS SEGÚN EL MÉTODOS DE OBTENCIÓN | 59 |

| | |
|--|----|
| FIGURA 10. CONTROLES DEL ENSAYO DE TBARS EN PLAQUETAS ALMACENADAS | 60 |
| FIGURA 11A. NIVELES DE GSH EN LOS CONCENTRADOS PLAQUETARIOS PAP | 61 |
| FIGURA 11B. NIVELES DE GSH EN LOS CONCENTRADOS PLAQUETARIOS PAS | 62 |
| FIGURA 11C. NIVELES DE GSH EN LOS CONCENTRADOS PLAQUETARIOS PST | 63 |
| FIGURA 12. NIVELES DE GSH EN LOS CONCENTRADOS PLAQUETARIOS ALMACENADOS A DISTINTOS TIEMPOS SEGÚN EL MÉTODO DE OBTENCIÓN | 64 |
| FIGURA 13. CONTROL DEL ENSAYO DE GSH EN PLAQUETAS | 65 |
| FIGURA 14A. NIVELES DE NITRATOS Y NITRITOS EN CONCENTRADOS ALMACENADOS PAP | 66 |
| FIGURA 14B. NIVELES DE NITRITOS Y NITRATOS EN LOS CONCENTRADOS PLAQUETARIOS PAS | 67 |
| FIGURA 14C. NIVELES DE NITRITOS Y NITRATOS EN LOS CONCENTRADOS PLAQUETARIOS PST | 68 |
| FIGURA 15. NIVELES DE NITRATOS Y NITRITOS EN CONCENTRADOS ALMACENADOS SEGÚN EL MÉTODO DE OBTENCIÓN | 69 |
| FIGURA 16. CONTROL DE LA DETERMINACIÓN DE NITRATOS Y NITRITOS EN CONCENTRADOS PLAQUETARIOS ALMACENADOS | 70 |

| | |
|---|----|
| FIGURA 17. ESTANDARIZACIÓN DE LA MEDICIÓN DE P-SELECTINA EN CONCENTRADOS PLAQUETARIOS ALMACENADOS | 71 |
| FIGURA 18. PRESENCIA DE P-SELECTINA EN LOS CONCENTRADOS PLAQUETARIOS ALMACENADOS EN DISTINTOS DÍAS DE CONSERVACIÓN | 72 |
| FIGURA 19A. PRESENCIA DE P-SELECTINA EN LOS CONCENTRADOS PLAQUETARIOS ALMACENADOS PAP | 72 |
| FIGURA 19B. PRESENCIA DE P-SELECTINA EN LOS CONCENTRADOS PLAQUETARIOS ALMACENADOS PAS | 73 |
| FIGURA 19C. PRESENCIA DE P-SELECTINA EN LOS CONCENTRADOS PLAQUETARIOS ALMACENADOS PST | 73 |
| FIGURA 20. PRESENCIA DE P-SELECTINA EN CONCENTRADOS PLAQUETARIOS EN DISTINTOS SEGÚN EL MÉTODO DE OBTENCIÓN | 74 |
| FIGURA 21. RESPUESTA A LA ESTIMULACIÓN CON TROMBINA EN CONCENTRADOS PLAQUETARIOS ALMACENADOS | 75 |
| FIGURA 22A. PORCENTAJE DE PLAQUETAS FUNCIONALES EN RESPUESTA A LA ESTIMULACIÓN CON TROMBINA EN CONCENTRADOS PLAQUETARIOS PAP | 76 |
| FIGURA 22B. PORCENTAJE DE PLAQUETAS FUNCIONALES EN RESPUESTA A LA ESTIMULACIÓN CON TROMBINA EN CONCENTRADOS PLAQUETARIOS PAS | 77 |
| FIGURA 22C. PORCENTAJE DE PLAQUETAS FUNCIONALES EN RESPUESTA A LA ESTIMULACIÓN CON TROMBINA EN CONCENTRADOS PLAQUETARIOS PST | 77 |

| | |
|---|----|
| FIGURA 23. PORCENTAJE DE PLAQUETAS FUNCIONALES EN RESPUESTA A LA ESTIMULACIÓN CON TROMBINA SEGÚN EL MÉTODO DE OBTENCIÓN DE CONCENTRADOS PLAQUETARIOS | 78 |
| FIGURA 24. EXPRESIÓN DE PS EN CONCENTRADOS PLAQUETARIOS EN DISTINTOS TIEMPOS DE CONSERVACIÓN | 79 |
| FIGURA 25A. PRESENCIA DE FOSFATIDILSERINA (PS) EN CONCENTRADOS PLAQUETARIOS PAP | 80 |
| FIGURA 25B. PRESENCIA DE FOSFATIDILSERINA (PS) EN CONCENTRADOS PLAQUETARIOS PAS | 81 |
| FIGURA 25C. PRESENCIA DE FOSFATIDILSERINA (PS) EN CONCENTRADOS PLAQUETARIOS PST | 81 |
| FIGURA 26. PRESENCIA DE FOSFATIDILSERINA (PS) EN CONCENTRADOS PLAQUETARIOS ALMACENADOS SEGÚN EL MÉTODO DE OBTENCIÓN | 82 |