

## **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

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

## ÍNDICE DE FIGURAS

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

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

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

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