

ARCHIVO HISTÓRICO



El presente artículo corresponde a un archivo originalmente publicado en el **Boletín de la Escuela de Medicina**, actualmente incluido en el historial de **Ars Medica Revista de ciencias médicas**. El contenido del presente artículo, no necesariamente representa la actual línea editorial. Para mayor información visitar el siguiente

vínculo: <http://www.arsmedica.cl/index.php/MED/about/submissions#authorGuidelines>

Plaquetas y hemostasia primaria: fisiología, inmunología y clínica

Dr. Diego Mezzano Abedrapo
Profesor Adjunto de Medicina
Departamento de Hematología-Oncología

Dr. Jaime Pereira Garcés
Profesor Auxiliar de Medicina
Departamento de Hematología-Oncología

Dra. Teresa Quiroga Gutiérrez
Profesor Auxiliar de Medicina
Unidad Docente Asociada de Laboratorios Clínicos

BQ. Eduardo Aranda Lauriani
Centro de Investigaciones Médicas

Nuestra línea de investigación cubre aspectos de fisiología, fisiopatología, inmunología y clínica de la hemostasia primaria. Por tal se entienden los fenómenos iniciales del proceso de prevención o detención de una hemorragia, en los que la participación de las plaquetas es determinante. Desde esta perspectiva, nuestro interés comprende aspectos relacionados con:

- Fisiología del envejecimiento de las plaquetas en la circulación y utilización de marcadores de dicho proceso en el diagnóstico clínico.
- Inmunología plaquetaria: antígenos específicos de las plaquetas, su frecuencia en nuestra población y su papel en ciertas enfermedades; anticuerpos antiplaquetarios (auto, alo e isoanticuerpos), su especificidad y utilidad diagnóstica.
- Biología del Factor von Willebrand, así como el estudio clínico y epidemiológico de la Enfermedad de von Willebrand, que compromete la adhesividad de las plaquetas.
- Afectación de la hemostasia primaria y sus mecanismos fisiopatológicos en diversas enfermedades: sepsis, cirugía con circulación extracorpórea, insuficiencia renal, daño hepático crónico.

FENOMENOS ASOCIADOS CON EL ENVEJECIMIENTO DE LAS PLAQUETAS EN LA CIRCULACION

Las plaquetas de los mamíferos envejecen durante varios días en la circulación antes de ser removidas por el sistema fagocítico monocuclear. Grandes polémicas se han sucedido en las dos últimas décadas respecto al proceso de envejecimiento, el cual tiene profunda incidencia en la naturaleza misma de la función de las plaquetas en el organismo. Simplificando las dos posturas extremas, hay quienes han postulado que el envejecimiento de las plaquetas causa

un desgaste progresivo de su estructura, metabolismo y función, producto de su participación en procesos hemostáticos reversibles. Otros, en cambio, defienden la tesis que la heterogeneidad física, bioquímica y estructural de las plaquetas circulantes está determinada por el proceso de producción en la médula ósea y no por fenómenos periféricos relacionados con el envejecimiento.

La identificación inequívoca de marcadores de edad (morfológicos, estructurales, bioquímicos o funcionales) en las plaquetas circulantes permitiría:

- Conocer aspectos importantes de la biología de las plaquetas en la economía del organismo, y los fenómenos que determinan su envejecimiento en la circulación.
- Aclarar los mecanismos de remoción de las plaquetas desde la circulación.
- Facilitar el diagnóstico patológico de las trombocitopenias en clínica, al no ser necesario recurrir a procedimientos invasivos.

Al comenzar nuestros estudios, predominaba el concepto que homologaba plaquetas grandes con plaquetas densas y jóvenes (1). Según éste, las plaquetas desprendidas de los megacariocitos en la médula ósea irían perdiendo tamaño y densidad a medida que envejecen en la circulación. Disecando estas variables, inicialmente observamos sólo una leve correlación positiva entre densidad y tamaño en las plaquetas humanas circulantes (2), existiendo una gran superposición de valores entre ambos. Por otra parte, en caninos esta relación es inversa, ya que existe una leve correlación negativa entre tamaño y densidad (3). Esta diferencia entre las especies se muestra en la Figura 1.

La relación entre la edad y el volumen de las plaquetas también fue abordada en nuestro laboratorio: en estudios cinéticos en voluntarios

humanos no encontramos una modificación sustancial del tamaño de las plaquetas con su envejecimiento en la sangre (4). Estos estudios fueron confirmados en primates (5), y apoyan el concepto original de Paulus (6), quien postuló que la diversidad de tamaño de las plaquetas se origina durante el proceso megacariopoyético.

La heterogeneidad de densidad de las plaquetas está también determinada sustancialmente a nivel de la médula ósea (7). Sin embargo, al envejecer en la circulación ellas cambian de densidad en un sentido que también depende de la especie en estudio. Así, en estudios cinéticos encontramos que las plaquetas humanas aumentan de densidad con la edad (4, 8, Figura 2), estudios confirmados por otros autores (9, 10); igual cambio sufren las plaquetas de algunas especies de primates (11, 12). En cambio, observamos que en caninos la densidad de las plaquetas disminuye con su edad (13, Figura 3), al igual que en conejos y monos rhesus (1, 14-17).

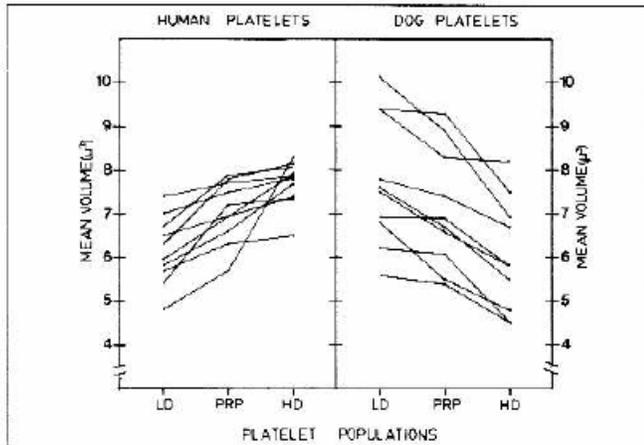


Figura 1. Relación entre densidad y volumen en plaquetas humanas y caninas. El volumen de las plaquetas humanas se correlaciona positivamente con su densidad; en las caninas, en cambio, esta relación es inversa, pues las de mayor densidad son de menor volumen. Reproducido de Mezzano D *et al.* Thromb Haemostas 1986; 56:288-292.

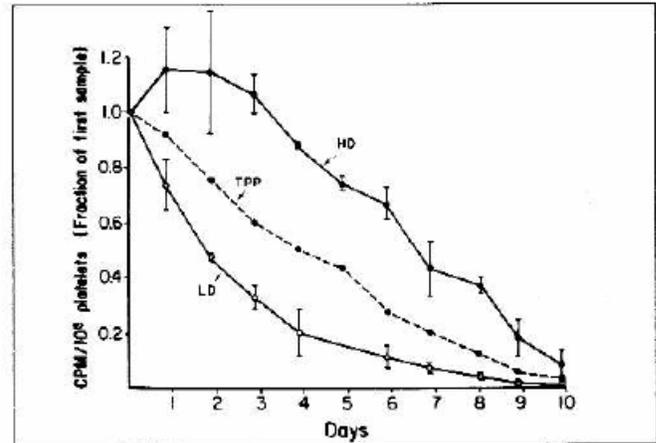


Figura 2. Aumento de densidad de las plaquetas humanas con el envejecimiento. Plaquetas obtenidas de la sangre de un voluntario sano se marcan con ^{51}Cr y se reinyectan. La radiactividad en la sangre (TPP en la figura, que representa la población total de plaquetas marcadas inyectadas), decae linealmente, denotando que las plaquetas son removidas de la circulación luego de un proceso de envejecimiento. En plaquetas de baja densidad (LD) obtenidas en gradientes de densidad, su radiactividad específica disminuye en forma rápida y exponencial. A la inversa, en plaquetas de alta densidad (HD) la radiactividad específica aumenta durante dos a tres días para luego decaer en forma lineal. Este tipo de estudio cinético refleja el aumento de densidad de las plaquetas humanas con su envejecimiento en la circulación. Reproducido de Mezzano D *et al.* Am J Hematol 1981; 11:61-76.

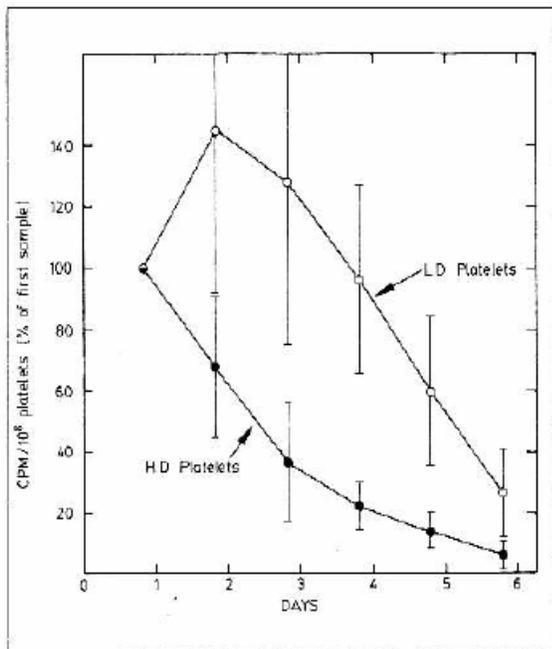


Figura 3. Disminución de densidad de las plaquetas caninas con el envejecimiento. Se mide la radiactividad específica en plaquetas de alta (HD) y baja (LD) densidad secuencialmente después de la inyección de plaquetas marcadas con ^{51}Cr en perros mestizos. Se aprecia un resultado inverso al mostrado en plaquetas humanas en la Figura 2, denotando que en perros las plaquetas disminuyen en densidad al envejecer en la circulación. Reproducido de Mezzano D *et al.* Am J. Hematol 1984; 17:373-382.

Concluimos, entonces, que el cambio de densidad de las plaquetas con la edad es dependiente de la especie estudiada, por lo que no se pueden extrapolar los resultados obtenidos en otras especies para analizar la relación entre la heterogeneidad física de las plaquetas humanas y su edad en la circulación (18); esta diferencia interespecies explica varias de las contradicciones previas en esta área.

Bajo la hipótesis de que la acumulación de serotonina, inicialmente observada en humanos en nuestro laboratorio (8), pudiera ser un rasgo común del envejecimiento de las plaquetas en mamíferos, estudiamos plaquetas caninas cuya trombopoyesis estuviera en equilibrio estacionario; en este modelo confirmamos que las subpoblaciones plaquetarias enriquecidas con plaquetas de mayor edad contenían más serotonina que subpoblaciones de menor edad (3). Estos hallazgos fueron confirmados en modelos de trombopenia canina por destrucción inmune o mecánica de las plaquetas (19) y en un modelo de trombopenia por supresión de la trombopoyesis mediada por dosis única de estrógenos (20, Figura 4).

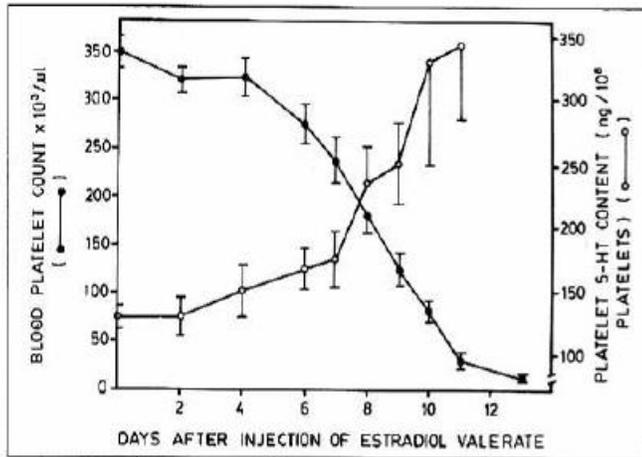


Figura 4. Efectos de la inyección de estradiol en perros. La caída del recuento plaquetario se explica por supresión de la trombopoyesis. Las plaquetas que permanecen en la circulación envejecen y, paralelamente, aumentan su concentración de serotonina (5-HT). (Reproducido de: Aranda E *et al.* *Thromb Haemostas* 1994; en prensa). Hemos realizado hallazgos similares en modelos de trombopenia canina inducida por destrucción inmune o mecánica de las plaquetas (*Thromb Haemostas* 1991; 66: 254-258). Este proceso de acumulación de la monoamina parece ser común en mamíferos, pues se observa también en plaquetas humanas que inician un proceso de envejecimiento en la circulación luego de una esplenectomía exitosa como forma de tratamiento del púrpura trombocitopénico inmunológico (*Am J Hematol* 1984; 17:11-21).

Actualmente, estamos evaluando la utilidad clínica de la medición de serotonina plaquetaria como un marcador de edad, útil en el diagnóstico patogénico de las trombocitopenias. La importancia clínica de esta investigación es clara: niveles bajos de serotonina en plaquetas de pacientes trombocitopénicos indicarían una corta edad de las plaquetas circulantes, explicándose la trombopenia por una destrucción acelerada de las plaquetas. Si, por el contrario, los niveles de serotonina en plaquetas son normales, la trombopenia se explicaría por una deficiente producción de plaquetas por la médula ósea.

Existen hoy firmes evidencias de que el fibrinógeno contenido en los gránulos alfa es captado desde el plasma por las plaquetas (21), confirmando observaciones nuestras en el sentido que plaquetas caninas de mayor edad promedio contenían más fibrinógeno que subpoblaciones más jóvenes (3). Se refuta así la creencia previa de que esta proteína de la coagulación sería sintetizada por los megacariocitos (22). De manera similar, no encontramos evidencias en plaquetas humanas y caninas de una disminución de su contenido en ácido siálico con el envejecimiento (23), como se había postulado previamente (14, 24).

Las plaquetas humanas de baja densidad, enriquecidas con plaquetas jóvenes, expresan 55% más antígenos del sistema HLA de clase I (42% más moléculas del antígeno HLA-A2) que las plaquetas de alta densidad, las que tienen en promedio mayor edad, lo que sugiere que los antígenos de este sistema pudieran perderse con el desgaste y envejecimiento de las plaquetas en la circulación (25), hipótesis confirmada por evidencias recientes (26). Por otra parte, hemos observado también que subpoblaciones plaquetarias humanas de alta densidad expresan más IgG unida a la membrana que las plaquetas de menor densidad, por lo que planteamos que esta IgG reconoce antígenos que se expresan con el envejecimiento y que pudieran ser determinantes en la remoción de las plaquetas desde la circulación (27).

ESTUDIOS SOBRE LA EXPRESION DE LOS ALOANTIGENOS PLAQUETARIOS EN NUESTRA POBLACION

Las glicoproteínas de la membrana plaquetaria expresan una serie de antígenos denominados HPA (por *human platelet antigens*), que participan en la patogenia del púrpura aloinmune neonatal (PAN), púrpura postransfusional y en la refractariedad a la transfusión de plaquetas.

La frecuencia fenotípica de aloantígenos plaquetarios específicos varía con la composición étnica de la población (28). La mayor o menor frecuencia de estos antígenos se traduce en variaciones en la incidencia de PAN, púrpura postransfusional y refractariedad a la transfusión de plaquetas. Existen diferencias importantes en la frecuencia de algunos de los antígenos de los sistemas conocidos entre la población caucásica y la población japonesa (Tabla 1). Hemos observado (29) que la frecuencia génica para HPA-1a en población de Santiago es de 0,89, intermedia entre población europeo-americana (0,83) y japonesa (0,99) o mapuche (0,99)(29a). Estos hallazgos concuerdan con la hipótesis del gradiente sociogénico formado por la mezcla entre españoles y mapuches (30). En estos estudios, todos los individuos fueron positivos para HPA-4, a lo que no corrobora la hipótesis de un mayor polimorfismo de este sistema en población hispánica en relación a la población anglosajona.

La frecuencia fenotípica del antígeno HPA-2b (Sib*) en la población chilena es de 22,5%, intermedia entre la caucásica y japonesa, país donde este antígeno es causa de una alta refractariedad a la transfusión de plaquetas. Comprobamos también la influencia de este antígeno en la determinación del polimorfismo del peso molecular de la glicoproteína Ib plaquetaria (31).

La investigación serológica en pacientes con púrpura aloinmune neonatal ha revelado que en 4 de 5 enfermos el anticuerpo estaba dirigido contra el antígeno HPA-1a (PIA1) (32). En el quinto paciente (enviado a publicación) hemos confirmado la especificidad del anticuerpo contra un antígeno de baja frecuencia, recientemente descrito (33).

El conocimiento de la frecuencia de expresión de los aloantígenos plaquetarios en nuestra población es clínicamente importante para

orientar la pesquisa de anticuerpos antiplaquetarios, especialmente en los casos de PAN y refractariedad a la transfusión de plaquetas.

TABLA 1

FRECUENCIA GENICA DE LOS ALOANTIGENOS PLAQUETARIOS ESPECIFICOS EN DIFERENTES POBLACIONES

	HPA-1a	HPA-2b	HPA-4a	Referencias
Chile	0,89	0,12	> 0,99	29,31
EE.UU. Europa	0,83	0,07	> 0,99	28
Japón	> 0,99	0,14	> 0,99	28

Ref: Pereira J *et al.* Thromb Haemostas 1993; 69:703

ENFERMEDAD DE VON WILLEBRAND

Constituye el defecto hereditario más frecuente de la hemostasia primaria y causa habitual de consulta por hemorragias mucocutáneas. Su alta frecuencia en la población y el relativo desconocimiento de ella a nivel médico han estimulado nuestro interés en el estudio de esta patología. Su rasgo distintivo es la disminución cuantitativa o cualitativa del Factor von Willebrand (FvW) plasmático.

La naturaleza reactiva de esta proteína y la gran diversidad de variantes de la afección, dificultan el diagnóstico de laboratorio en los casos leves o moderados, que son los más frecuentes. A través de aproximaciones sucesivas, hemos ido definiendo los criterios de diagnóstico que minimicen tanto el sobre como el subdiagnóstico de la afección (34-36); igualmente, hemos mejorado los procedimientos de diagnóstico de la EvW para facilitar la identificación de sus variantes (37); se ha incorporado la consideración del tipo sanguíneo ABO y la edad en la definición del rango normal del FvW plasmático (38, 39); también hemos comunicado que la concentración de FvW en adolescentes varones (13 a 18 años) es mayor que en niñas de la misma edad (40), observación de importancia para el diagnóstico (Tabla 2).

En donantes voluntarios de sangre estimamos que la prevalencia de la EvW en nuestro país es de 0,8 % (36), cifra similar a la encontrada en Italia (41).

EVALUACION DEL DEFECTO HEMOSTATICO ASOCIADO A DIVERSAS PATOLOGIAS

Estudiamos el defecto plaquetario inducido por la cirugía con circulación extracorpórea, cuantificando el consumo de plaquetas y el defecto de agregación y secreción con diferentes agonistas (42). En un estudio paralelo, propusimos que el defecto funcional transito-

rio podía ser explicado por la liberación del contenido de los gránulos densos y por la depleción del compartimiento metabólico de ATP (43). En este mismo trabajo observamos incorporación de proteínas plasmáticas por las plaquetas (fibrinógeno y albúmina), sugiriendo que su internalización podría ocurrir también en condiciones fisiológicas, lo que ha sido demostrado posteriormente por otros autores.

Estudiando el defecto hemostático en fiebre tifoidea, encontramos evidencias consistentes de una coagulación intravascular subclínica en esta afección (44, 45); la activación del sistema de la coagulación, junto a la activación secundaria de la fibrinólisis, podrían explicar el defecto plaquetario en esta enfermedad.

La trombocitopenia inmune secundaria constituye una de las complicaciones hematológicas frecuentes en el lupus eritematoso sistémico (LES). En pacientes portadores de LES con y sin trombocitopenia se demostró la existencia de anticuerpos antiplaquetarios en un 80% y 69% de los casos, respectivamente. En sólo 24% de estos pacientes se encontró actividad antiglicoproteínas de membrana, hallazgo habitual en pacientes portadores de púrpura trombocitopénica inmunológica primaria. En este mismo grupo de pacientes, un 70% presentó anticuerpos antifosfolípidos (46). Por otra parte, estudios *in vitro* demuestran que estos anticuerpos son capaces de unirse a plaquetas intactas y activadas (47). En conjunto, estos hallazgos demuestran que los anticuerpos antifosfolípidos pueden jugar un papel importante en la patogenia de la trombocitopenia en el LES.

FINANCIAMIENTO

Estos estudios han sido posibles por el aporte de proyectos DIUC 154/81, 84/82, 87/84, 96/86, 70/88 y 88/88, así como por proyectos FONDECYT 661-82, 1005-84, 1156-86, 421-88, 542-89, 857-90, 740-91, 725-91, 97-92 y 1930629.

TABLA 2

INFLUENCIA DE SEXO Y EDAD EN LOS NIVELES PLASMATICOS DE FvW:Ag y FvW: CoRis EN ESCOLARES Y DONANTES DE SANGRE
(Datos obtenidos de Mezzano *et al*: Thromb Haemostas 1993; 69:1183)

	EDAD (años)	GRUPO SANGUINEO O		GRUPOS SANGUINEOS A, B, AB	
		Hombres	Mujeres	Hombres	Mujeres
FvW:Ag (U/dL)	9-12	112 +	110 +	148 ++	136 ++
	13-18	117 *	98 *	161 **	125 **
	19-59	94 +	96 +	140 ++	133 ++
FvW:CoRis (U/dL)	9-12	90 +	87 +	122 ++	117 ++
	13-18	89 &	77 &	113 &&	97 &&
	19-59	72 +	77 +	97 ++	96 ++

Los valores corresponden al promedio geométrico.
El estudio se realizó en 503 estudiantes (9 - 18 años) y en 822 donantes voluntarios de sangre (19 - 59 años)

+ vs + : no significativo
++vs++ : no significativo
* vs * : p = 0.002
** vs ** : p = 0.0003
& vs & : p = 0.032
&& vs && : p = 0.02

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Karpatkin S. Heterogeneity of rabbit platelets. VI. Further resolution of changes in platelet density, volume and radioactivity following cohort labelling with ⁷⁵Se-seleniomethionine. *Br J Haematol* 1978; 39:459-469.
- Mezzano D, Hwang KL, Aster RH. Characteristics of total platelet populations and of platelets isolated in platelet-rich plasma. *Transfusion* 1982; 22:197-202.
- Mezzano D, Aranda E, Foradori A. Comparative study of size, total protein, fibrinogen and 5-HT content of human and canine platelet density subpopulations. *Thromb Haemostas* 1986; 56:288-292.
- Mezzano D, Hwang KL, Catalano P, Aster RH. Evidence that platelet buoyant density, but not size, correlates with platelet age in man. *Am J Hematol* 1981; 11:61-76.
- Thompson CB, Love DG, Quinn PG, Valeri CR. Platelet size does not correlate with platelet age. *Blood* 1983; 62:487-494.
- Paulus JM. Platelet size in man. *Blood* 1975; 46:321-336.
- Penington DG, Streatfield K, Roxburgh AE. Megakaryocytes and the heterogeneity of circulating platelets. *Br J Haematol* 1976; 34:639-653.
- Mezzano D, Aranda E, Rodríguez S, Foradori A, Lira P. Increase in density and accumulation of serotonin by human aging platelets. *Am J Hematol* 1984; 17:11-21.
- Boneu B, Vigoni F, Caranobe C, Sie P. Further studies on the relationship between platelet buoyant density and platelet age. *Am J Hematol* 1982; 13:239-246.
- McDonald JWD, Ali M. Recovery of cyclooxygenase activity after aspirin in populations of platelets separated on stractan density gradients. *Prostaglandins Leukot Res* 1983; 12:245-252.
- Martin JF, Penington DG. The relationship between the age and

- density of circulating ^{51}Cr labelled platelets in the subhuman primate. *Thromb Res* 1983; 30: 157-164.
12. Savage B, McFadden PR, Hanson SR, Harker LA. The relation of platelet density to platelet age: survival of low and high density ^{111}In -labelled platelets in baboons. *Blood* 1986; 68:386-393.
 13. Mezzano D, Aranda E, Foradori A, Rodríguez S, Lira P. Kinetics of platelet density subpopulations in splenectomized mongrel dogs. *Am J Hematol* 1984; 17:373-382.
 14. Rand ML, Greenberg JP, Packham MA, Mustard JF. Density subpopulations of rabbit platelets: size, protein, and sialic acid content, and specific radioactivity changes following labelling with ^{35}S -sulfate in vivo. *Blood* 1981; 57:741-746.
 15. Rand ML, Packham MA, Mustard JF. Survival of density subpopulations of rabbit platelets: use of ^{51}Cr or ^{111}In -labelled platelets to measure survival of least dense and most dense platelets concurrently. *Blood* 1983; 61:362-367.
 16. Packham MA, Guccione MA, O'Brien KM. Duration of the effect of aspirin on the synthesis of thromboxane by density subpopulations of rabbit platelets stimulated with thrombin. *Blood* 1985; 66:287-290.
 17. Corash L, Shafer B, Perlou M. Heterogeneity of blood platelet subpopulations. II. Use of a subhuman primate model to analyze the relationship between density and platelet age. *Blood* 1978; 52:726-734.
 18. Mezzano D, Aster RH. Survival of platelet density subpopulations. *Br J Haematol* 1987; 65:505 (Letter).
 19. Mezzano D, Del Pino GE, Montesinos M, García ME, Aranda E, Foradori A. Platelet 5-hydroxytryptamine increases with platelet age in dogs. *Thromb Haemostas* 1991; 66:254-258.
 20. Aranda E, Pizarro M, Pereira J, Mezzano D. Accumulation of 5-hydroxytryptamine by aging platelets in a model of suppressed thrombopoiesis in dogs. *Thromb Haemostas* 1993; 69:703 A587.
 21. Harrison P. Platelet alpha granular fibrinogen. *Platelets* 1992; 3:1-10.
 22. Belloc F, Hourdille P, Fialon P, Boisseau MR, Soria J. Fibrinogen synthesis by isolated human megakaryocytes. *Thromb Res* 1985; 38:341-351.
 23. Mezzano D, Aranda E, García ME, Pereira J, Quiroga T, Pérez M. Total sialic acid in human and canine platelets does not change with the platelet age. *Am J Hematol* 1992; 40:5-11.
 24. Steiner M, Vancura S. Asymmetrical loss of sialic acid from membrane glycoproteins during platelet aging. *Thromb Res* 1985; 40:465-471.
 25. Pereira J, Cretney C, Aster RH. Variation of class I HLA antigen expression among platelet density cohorts: a possible index of platelet age? *Blood* 1988; 71:516-519.
 26. Santoso S, Kalb R, Kiefel V, Mueller-Eckhardt C. The presence of messenger RNA for HLA class I in human platelets and its capability for protein biosynthesis. *Br J Haematol* 1993; 84:451-456.
 27. Pereira J, Aster RH. Further studies of human platelet heterogeneity. *Blood* 1986; 68:A1171.
 28. Pereira J, Rodríguez S, Pizarro I, Mezzano D. Frecuencia de expresión de los aloantígenos plaquetarios HPA-1a (P^{a}) y HPA-4a (P^{a}) en la población chilena. *Rev Méd Chile* 1992; 120:855-857.
 29. Inostroza J, Kiefel V, Mueller-Eckhardt C. Frequency of platelet-specific antigens P1(A1), Bak(a), Yuk(a), Yuk(b) and Br(a) in South American (Mapuches) Indians. *Transfusion* 1988; 28:586-587.
 30. Valenzuela A, Acuña P, Harb Z. Gradiente sociogenético en la población chilena. *Rev. Méd Chile* 1987; 115:295-299.
 31. Pereira J, Contador R, Figueroa H, Hidalgo P, Mezzano D. Phenotypic frequency and association to glycoprotein Ib molecular weight polymorphism of platelet antigen HPA-2b (Sib^{b}) in Chilean population. *Thromb Haemostas* 1993; 69:913, A1343.
 32. Pereira J, Pizarro I, Winter A, Mezzano D. Púrpura alérgica neonatal: estudio de laboratorio en 5 casos. *Rev Méd Chile* 1992; 120:899-904.
 33. Kekomäki R, Jouhikainen T, Ollikainen J, Westman P, Laes M. A new platelet alloantigen, Tu^a, on glycoprotein IIIa associated with neonatal alloimmune thrombocytopenia in two families. *Br J Haematol* 1993; 83:306-310.
 34. Mezzano D, Aranda E, Grebe G, Legües ME, Rodríguez S, Marzouka E, Ríos E. Diagnóstico de laboratorio de la Enfermedad de von Willebrand: estudio en 52 pacientes. *Rev Méd Chile* 1983; 111:1139-1144.
 35. Mezzano D, Pereira J, Quiroga T. Enfermedad de von Willebrand. *Rev Méd Chile* 1990; 118:320-329 (Editorial).
 36. Quiroga T, Mezzano D, Pereira J, Pérez M, Artigas CG. Factor von Willebrand y hemostasia primaria: definición de criterios y desarrollo de métodos de diagnóstico de la Enfermedad de von Willebrand y estimación de su prevalencia en la población. Informe Final, Proyecto FONDECYT 725/91.
 37. Quiroga T, Pérez M, Pereira J, Mezzano D. Enfermedad de von Willebrand: diagnóstico de los subtipos de la afección mediante el análisis de la composición multimérica del factor von Willebrand plasmático. *Rev Méd Chile* (enviado a publicación).
 38. Mezzano D, Skorin C, Araneda LA, Quiroga T, Tagle R, González F, Villarroel L, Pereira J. Distribución del factor von Willebrand y actividad cofactor Ristocetina en una muestra de 743 donantes de sangre. Libro de resúmenes, VII Congreso Chileno de Hematología, 1988, R-26.
 39. Tagle R, Mezzano D, González F, Pereira J, Quiroga T, Araneda LA, Godoy S, Tagle C, Villarroel L. Tipo ABO y sexo determinan concentración de factor von Willebrand en población escolar. Libro de resúmenes, VII Congreso Chileno de Hematología, 1988, R-28.
 40. Mezzano D, Quiroga T, Tagle R, Pereira J. Sex dependent differences in plasma von Willebrand factor (vWF:Ag, vWF:RiCoF) in adolescents. *Thromb Haemostas* 1993; 69:1183 A2299.
 41. Rodeghiero F, Castaman G, Dini E. Epidemiological investigation of the prevalence of von Willebrand's disease. *Blood* 1987; 69:454-459.
 42. Mezzano D, Habash J, Aranda E, Urzúa J, Lema G, Irrazábal MJ, Grebe G. Consumo de plaquetas y disfunción plaquetaria durante y después de la cirugía con circulación extracorpórea. *Blood* 1986; 67:425-434.
 43. Mezzano D, Aranda E, Urzúa J, Lema G, Habash J, Irrazábal MJ, Pereira J. Changes in platelet beta-thromboglobulin, fibrinogen, albumin, 5-hydroxytryptamine, ATP, and ADP during surgery with extracorporeal circulation in man. *Am J Hematol* 1986; 22:133-142.
 44. González F, Tagle R, Salcedo M, Laval E, Pereira J, Quiroga T, Pérez M, Rodríguez MS, Muñoz B, Mezzano D. Índices de coagulación intravascular (CID) subclínica en fiebre tifoidea (FT) no complicada. Libro de resúmenes, VIII Congreso Chileno de Hematología, 1990, R-12.
 45. Tagle R, González F, Pérez M, Muñoz B, Barja P, Rodríguez MS, Laval E, Pereira J, Mezzano D. Actividad de factores de contacto y factor VII en fiebre tifoidea (FT) no complicada. Libro de resúmenes, VIII Congreso Chileno de Hematología, 1990, R-13.
 46. Pereira J, Morales M, Jacobelli S, Quiroga T. Trombocitopenia mediada por anticuerpos: estudio de sus mecanismos patogénicos en púrpura trombocitopénica inmunológica infantil y lupus eritematoso sistémico. Informe final, Proyecto FONDECYT 91-0673, 1993.
 47. Palomo I, Pereira J. Especificidad antigénica de los anticuerpos antiplaquetarios en pacientes con lupus eritematoso sistémico. Informe de avance Tesis de Magister en Inmunología, U. de Chile. Aprobada, noviembre 1993.

