

PLAQUETAS HUMANAS ACTIVIDAD DE FOSFATASA ACIDA EN PLAQUETAS DE DONANTES DEL BANCO MUNICIPAL DE SANGRE DEL DISTRITO FEDERAL

Dra. I. Campo-Aasen

Resumen

Se demuestra la actividad hidrolítica de las plaquetas humanas utilizando la presencia de Fosfatasa Acida en el cromómero o sea en los gránulos densos A-G de plaquetas obtenidas del Banco Municipal de Sangre del Distrito Federal. Para ello se utiliza el método de Gomori con las modificaciones de Holt & Licks y de Etherton & Botham para microscopía electrónica. Se demuestra la presencia de Fosfatasa Acida en el cromómero de las plaquetas lo que indica que estos gránulos poseen la capacidad hidrolítica necesaria para hidrolizar los ésteres de fosfatos liberados durante la reacción histoquímica.

SUMMARY

We have demonstrated the hydrolytic activity of human platelets using the Gomori method with the modifications of Holt & Hicks and Etherton & Botham for electron microscopy. The results show good activity of acid phosphatase in the alpha-G granules of the human platelets indicating the hydrolytic capacity of the platelets to hydrolyse the esters of phosphates liberated during the histochemical reaction.

Palabras Claves: Plaquetas humanas. Actividad fosfatasa ácida.

INTRODUCCION

Este trabajo se llevó a efecto en plaquetas humanas obtenidas en el Banco Municipal de Sangre del Distrito Federal a raíz de trabajos realizados en concentrados plaquetarios a diferentes temperaturas para determinar cuál es la mejor temperatura de conservación de las plaquetas para su conservación y utilización posterior, además de haberse realizado el estudio de otros parámetros. Interesados pueden consultar la bibliografía: G. León; A. Soré; Campo-Aasen I. y O. Carmona. "Con-

servación de concentrados plaquetarios a diferentes temperaturas". Acta Cient. Venez. 41: 43-49, 1990.

Las plaquetas humanas tienen dos tipos de gránulos: los gránulos alpha-G, más numerosos, de densidad variable y, conteniendo frecuentemente un nucleóide y, los gránulos densos (dg).

Estos gránulos contienen serotonina, calcio, pirofosfato, ATP, ADP, hidrolasas ácidas, fibrinógeno y el HNA (Heparin Neutralizing Activity), el factor 4 de plaquetas (PF4) y también el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF); la Tromboglobulina (BTG).

En este estudio hemos aplicado un método histoquímico, el método de Gomori² con las modificaciones de Holt & Hicks³ y de Etherton & Botham⁴ para microscopía electróni-

ca, para la demostración de actividad hidrolítica en las plaquetas humanas

MATERIALES Y METODOS

Se extraen 5 ml de sangre venosa y se separan las plaquetas por centrifugación mezclando con EDTA 1% en 0,7 ml de suero fisiológico centrifugando a 1500 g a 20° C por 5 m. El pellet obtenido se fija en glutaraldehído 2,5% en buffer cacodilato 0,1 M, pH 7.2 y se sumerge en el medio de incubación conteniendo B-gli cerofosfato de sodio al 1.26% en buffer Tris maleato pH 5. Se ajusta a pH 5 y se agrega Nitrato de Plomo Pb(NO₃)₂ 0.2M añadiendo sucrosa e 7,5%. Se lleva a 37° C, se lava y si pasa a agua destilada con gotas de Sulfuro de Amonio por 1-2 m.; se deshidrata en alcoholes y Oxido de Propileno y se polimeriza en EPON Se hacen cortes plateados, se tiñen

* Jefe del Laboratorio de Histoquímica, Instituto de Blomedicina, Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela

se colocan en rejillas de cobre para su observación en un microscopio electrónico de transmisión Hitachi H-500.

RESULTADOS

Los resultados de la investigación se observan en las Figs.1,2,3,4 y 5.

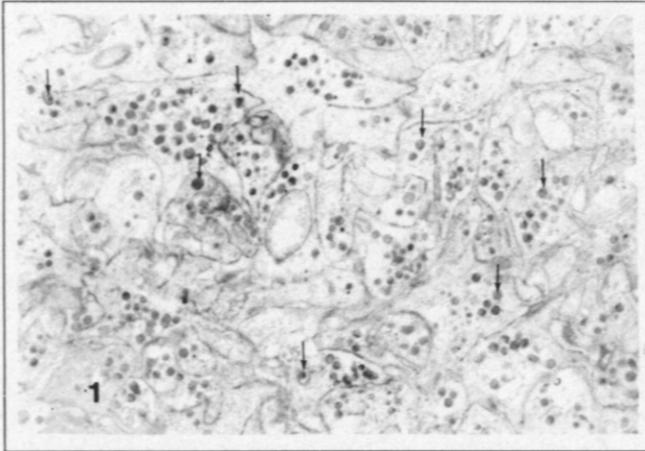


Fig. 1.- Grupo de plaquetas. a 9.000 X Se observan los gránulos alpha y los gránulos Dg. (flechas)

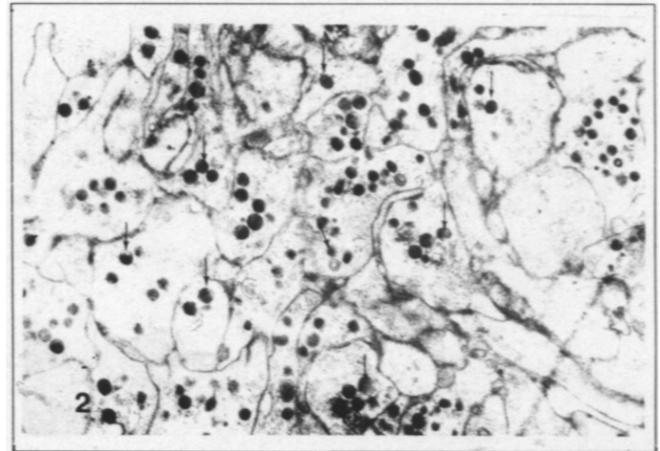


Fig. 2.- Grupo de plaquetas a 18.000 X Se observan los gránulos alpha-G y los Dg señalados por flechas.

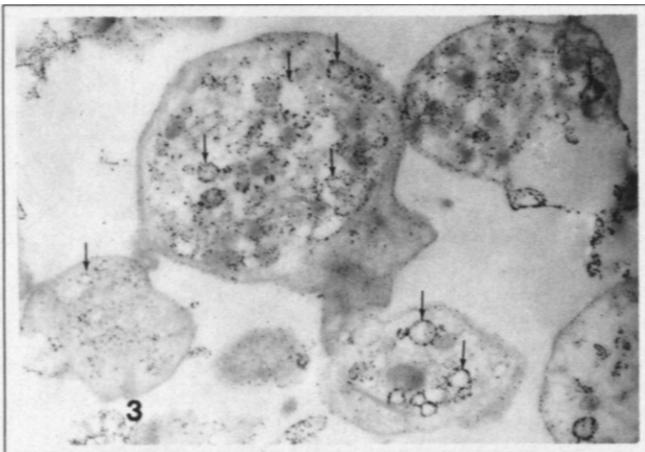


Fig. 3.- Plaquetas con actividad de Fosfatasa Acida a 14.400 X Se observa precipitado puntiforme a nivel de periferia de vesículas y de gránulos, señalados por flechas.

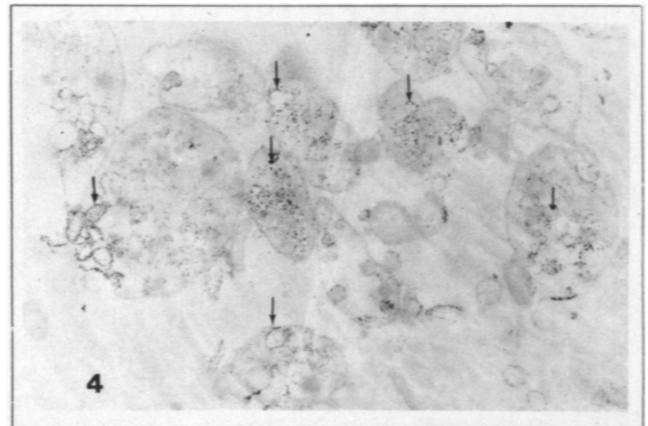


Fig. 4.- Plaquetas a 14.400 X con actividad de Fosfatasa Acida la cual se manifiesta por precipitado fino a nivel vesicular y de gránulos, ambos señalados por flechas.

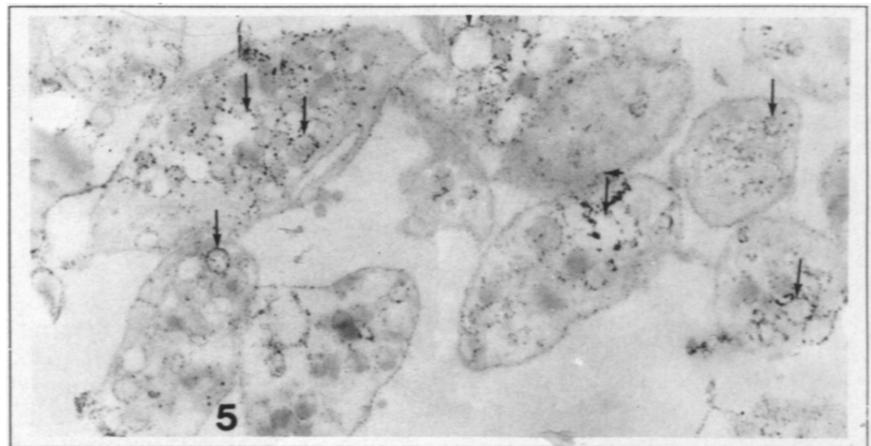


Fig. 5.- Plaquetas a 16.000 X Actividades de Fosfatasa Acida la cual se manifiesta por precipitado fino a nivel de vesículas y gránulos, señalados por flechas.

DISCUSION

La demostración de Fosfatasa Acida en el cromómero de las plaquetas de donantes de sangre indican que éstas tienen gran actividad de hidrolasas capaces de hidrolizar los ésteres de fosfatos liberados y estos precipitan con los iones de plomo y el fosfato de plomo resultante se convierte en precipitado con el sulfuro.

La Fosfatasa Acida ha sido observada en la glándula prostática⁵, en los eritrocitos⁶, en la capa granulosa de la piel de los mamíferos (observación personal) en el sistema intramembranoso de la fase levaduriforme del *Paracoccidioides brasiliensis*⁷ y en numerosos protozoarios⁸.

Nosotros señalamos ahora la presencia de Fosfatasa Acida en las

plaquetas de donantes de sangre del Banco Municipal de Sangre del Distrito Federal lo que nos lleva a continuar la demostración de otras hidrolasas y de dehidrogenasas, si esto se hace posible, con la contribución de otros bancos donantes de sangre del Distrito Federal.

Trabajo presentado a las IV Jornadas de Microscopía Electrónica Universidad de Oriente-Cumana - Estado Sucre 1990 y a la ASOVAC 1991

AGRADECIMIENTO

El autor agradece al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela (CDCH) y al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tec-

nológicas (CONICIT) por proveer los fondos necesarios para esta investigación.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Harvey J. Weiss et al. Blood 54: (6) 1296-1319, 1979.
- 2.- Gomori G. Arch. Pathol. 32: 189199, 1941.
- 3.- Holt & Hicks. J. Biophys. Biochem. Cytol. 11: 47, 1941.
- 4.- Etherton & Botham. Histochem. J. 2,507.
- 5.- De Duve & Wattiaux. Ann. Rev. Physiol 28: 435-492, 1966.
- 6.- Kutscher, W. & Wolberg, H.Z. Physiol. Chem. 236: 237, 1970.
- 7.- Campo-Aasen, I & L. Yarzabal. Mycopathologia 74: 87-88, 1981.
- 8.- King et al. Biochem. J. 39: XXIVXXV, 1945