



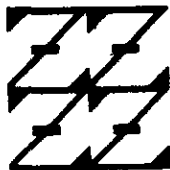
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

DETERMINACION DE GLUCOSA, POTASIO Y HEMOGLOBINA LIBRE EN PAQUETE GLOBULAR FRACCIONADO POR EL SISTEMA OPTIPRESS (AUTOMATED BLOOD COMPONENT EXTRACTOR OPERATOR'S MANUAL)

T E S I S
PARA OBTENER EL TITULO DE:
LICENCIADO EN QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
PRESENTA:
VERONICA BLANCO BORJAS

UNAM FES ZARAGOZA



LO NUMERO 52 DE NUESTRA BOLETIN

ASESOR: Q.F.B. ELISA QUINTANAR GARCIA Q.F.B. PATRICIA VIDAL MILLAN

MEXICO, D. F.

1999.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

27 7948



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.

Trabajo realizado en:
En el laboratorio de Banco Central de Sangre del Centro Médico Nacional Siglo XXI
Instituto Mexicano del Seguro Social

SINODALES

PRESIDENTE: M. en C. María José Marques Dos Santos

VOCAL: Q.F.B. Elisa Quintanar García

SECRETARIO: Q.F.B. Patricia Vidal Millán

SUPLENTE: Q.F.B. Hugo Leynez Celiseo

SUPLENTE: Q.F.B. Ma. del Pilar Cedillo Martínez

AGRADECIMIENTOS

A mi madre, el haber tenido la valentía para caminar a mi lado, a pesar de que el camino fuera difícil, por su amor y apoyo incondicional.

A Angel por su amor, medida y paciencia. Por enseñarme a vivir y a cumplir mis sueños, sin importar que tan difíciles sean, y sobre todo por amarme en la justa medida.

A a Liza por haber estado a mi lado en los momentos más difíciles y haber tenido siempre una palabra de apoyo, por haber creído en mí, y quererme tanto como yo la quiero.

A mi tía Vicky por su cariño y apoyo, por enseñarme el camino del arte y la ciencia y por esos paseos mágicos y maravillosos.

A mi tío Jesús por su cariño, sus palabras de aliento, y por brindarme una maravillosa imagen paternal.

A Elisita por haberme brindado la oportunidad de trabajar a su lado, pero sobre todo el haberme brindado su amistad y el extraordinario placer de conocerla.

A mis queridos hermanos Lulú y Raúl por su confianza y apoyo.

A mis suegros por su apoyo y buenos deseos.

A Miriam por su cariño y confianza, por los maravillosos momentos juntos, deseando que este trabajo sea una pequeña inspiración para que siempre entregues lo mejor de ti.

A la Química Angeles Ochoa y a la Técnica Carmen Soriano por su paciencia y cariño ¡ Gracias!.

A la Dra. Malva Mejía por su orientación y paciencia.

A la M. en C. María José Marques por ampliar mis conocimientos con respecto a la estadística y por su ayuda incondicional.

A la Q.F.B. Patricia Vidal por su energía y entusiasmo al asesorarme en el presente trabajo.

A mis amigos que siempre anhelaron junto conmigo este momento. Gracias Sergio.

A mis asesores por su valioso tiempo y comentarios oportunos.

A todas las personas que bondadosamente colaboraron en la realización de mi trabajo. ¡Mil Gracias!.

CONTENIDO

1. Resumen	1
2. Introducción	2
3. Marco Teórico	4
Importancia de la sangre	4
Eritrocito, como principal compuesto de la sangre	5
3.1.1 Función	5
3.1.2 Estructura	6
3.1.3 Metabolismo	10
3.2 Transfusiones	11
3.3 Los eritrocitos, no siempre son buenos para todos	12
3.3.1 Reacciones postransfusionales	12
3.3.2 Reacciones transfusionales febriles no hemolíticas	13
3.3.3 La enfermedad del injerto contra hospedero (EICH)	15
3.4 Desleucocitación	16
3.4.1 Centrifugación invertida	16
3.4.2 Lavado por inmersión con solución salina	17
3.4.3 Dilución salina	17
3.4.4 Filtración	17
3.4.5 Congelación y Descongelación	17
3.5 Almacenamiento parte esencial	18

3.6 Aditivos	19
3.6.1 Citrato	19
3.6.2 Fosfato	19
3.6.3 Adenina - a (CPDA-1)	20
3.6.4 Dihidroxiacetona (DHA)	20
3.6.5 Oxalato	21
3.6.6 ADSOL	21
3.7 ¿ Qué sucede en el almacenamiento de los eritrocitos?	22
3.8 Factores que no hay que perder de vista	25
3.9 Sistemas automatizados	30
4. Planteamiento del problema	32
5. Hipótesis del trabajo	33
6. Objetivos	33
7. Material y Métodos	34
7.1 Variables	36
7.2 Material	36
7.3 Equipo	37
7.4 Diagrama de flujo	39
7.5 Métodos	40
7.5.1 Microhematocrito	41

7.5.2 Hemoglobina	42
7.5.3 Hemoglobina libre	43
7.5.4 Glucosa	44
7.5.5 Potasio	45
7.5.6 Cuenta de Leucocitos	46
7.6 Diseño estadístico	47
8. Resultados	48
9. Discusión de resultados	57
10. Conclusiones	61
11. Referencias Bibliográficas	63

RESUMEN

A través de los años, científicos e investigadores se han interesado en la estructura del eritrocito así como de su metabolismo y funciones. Es un tema de importancia en Banco de Sangre la conservación de los hematíes así como mantener su viabilidad (entiéndase viabilidad como disminución de su capacidad de sobrevivir en la circulación del receptor transfundido), transfundir un paquete globular ya sea hemolizado, envejecido, congelado o contaminado provocaría un daño irreparable en los pacientes. En el caso de que la sangre presentara una alta concentración de leucocitos el paciente es sensibilizado a Anticuerpos leucocitarios, en el caso de pacientes ya sensibilizados por transfusiones previas o por embarazos, pueden presentarse reacciones no hemolíticas de tipo febril, es por esto que se han realizado innumerables estudios, cada uno aportando nuevos conceptos sobre el tema de desleucocitación. Con base en la necesidad de evaluar paquetes pobres en leucocitos con amplia vigencia se diseñó el siguiente estudio: En esta investigación se analizaron 107 muestras en períodos establecidos de tiempo (24 hrs., 3,5,7,21,28,42 días) con un nuevo aditivo conocido como ADSOL colocado en las bolsas de recuperación del paquete globular (bajas en leucocitos), este aditivo establece la garantía de proveer al eritrocito de fuentes de energía necesaria y adecuada para mantener su estructura, metabolismo y funciones óptimas por un período de almacenamiento de 42 días. La valoración de Hemoglobina Libre, Potasio y Glucosa es importante para realizar el sondeo de valoración de los eritrocitos. Con respecto a hemólisis presentada durante el lapso de conservación se valorará la hemoglobina libre, así como la utilización de la glucosa en el proceso de glucólisis. Al realizar el análisis estadístico de los resultados se observó que tanto los parámetros de hemoglobina libre (% de Hemólisis) y Potasio se elevaron considerablemente después del día 21, así mismo se observó que la glucosa no disminuye como se esperaba, lo que sugiere que el eritrocito no está empleando los componentes del aditivo para realizar sus funciones y mantener su estructura intacta después de los 21 días.

INTRODUCCIÓN

Así como hace algunas décadas despertó interés en la comunidad científica la función, el metabolismo y la estructura del eritrocito, la conservación de su viabilidad durante el almacenamiento es hasta la fecha un quehacer prioritario. Paralelamente el proceso de la transfusión sanguínea y las reacciones adversas que se pueden provocar por incompatibilidad de sus componentes: eritrocitos, plaquetas, leucocitos y plasma han sido estudiados. Por otra parte la sangre es un recurso limitado en casi todo el mundo, sobre todo en países como el nuestro que no percibe la necesidad de donar sangre. Esto aunado a su creciente demanda provoca la necesidad de conservarla el mayor tiempo posible en buen estado para ser transfundida sobre todo en emergencias, y así poder almacenar por tiempos prolongados sangres de grupo sanguíneo poco frecuente en nuestra población mestiza como los Rh 0 (D) negativo. En este rubro lo que se requiere es un anticoagulante que mantenga la viabilidad prolongada de los componentes de la sangre, sobre todo eritrocitos y plaquetas. También se requiere un procedimiento eficaz para retirar el mayor número de leucocitos que permita reducir o eliminar el riesgo de transmisión de agentes infecciosos alojados en los leucocitos.

La mayoría de los anticoagulantes permiten el almacenamiento de la sangre por lapsos de 21 a 45 días. Al término de este lapso el 70% de los eritrocitos transfundidos tienen una sobrevivencia normal.¹⁵

Es por esta razón que se han buscado alternativas tanto de materiales como de aditivos que permitan un producto de alta calidad. Datos proporcionados por la Secretaría de Salud informa que la mortalidad por transfusión sanguínea han disminuído considerablemente en los últimos años (aproximadamente hasta un 87.35%). Las evaluaciones bioquímicas son importantes desde este punto de vista para obtener productos de calidad. La realización de determinaciones de hemoglobina libre, potasio, pH, glucosa, etc.^{3,6} son parámetros adecuados para el seguimiento de los paquetes eritrocitarios o concentrados eritrocitarios.

El estudio realizado proporcionará las herramientas necesarias para la evaluación de nuevos aditivos y materiales que permitan obtener productos confiables.

MARCO TEÓRICO

IMPORTANCIA DE LA SANGRE

La sangre a través de los tiempos ha tenido un significado místico. No es nada sorprendente comprobar que la sangre ocupa un lugar importante en la mitología y en las creencias de las culturas llamadas " tradicionales ". Los pueblos han captado desde tiempos antiguos sus lazos con la vida, animal y humana. Una noción tan central e inasequible exige elaboraciones intelectuales, tanto en forma de mitos como de " teorías indígenas " - por ejemplo la idea bíblica de que la sangre es la sede del alma, o la antigua medicina grecolatina, dominante en occidente hasta el siglo XVIII- ;que se basa en una fisiología bastante simple, el equilibrio de cuatro humores -sangre, flema, bilis y atrabilis- corresponde a la buena salud; la primacía de uno o de otro, sin sobrepasar los límites naturales, define los diferentes temperamentos: sanguíneo, bilioso, etc. Cualquier desequilibrio más acusado es sinónimo de enfermedad y conviene hacer que el organismo vuelva a la normalidad por medio de modificaciones del régimen alimentario, de purgas o de sangrías. A este marco general se añade la teoría de la transformación de los humores, particularmente rica en el caso de la sangre: de ella proceden la leche de las nodrizas y el esperma. Esto basta para comprender su importancia central en los procesos vitales, la sangre mantiene así mismo una relación paradójica con la vida: es el principio oculto, apenas entrevisto en su estado normal en la coloración de la carne, esta *encarnación* tan difícil de reproducir en pintura. Para convertirse en el objeto de una experiencia sensible directa, la sangre tiene que circular, sólo se descubre por el traumatismo o la patología signo de vida que huye, ya, quizá signo de muerte.³⁴ En suma, la sangre con el paso de los años y avances científicos ha perdido este sentido místico. En este trabajo se desea hacer notar la importancia que tienen todos los descubrimientos para su mejoramiento y conservación.

ERITROCITO, COMO PRINCIPAL COMPUESTO DE LA SANGRE

3.1.1 Función

Las funciones principales de los eritrocitos son relativamente simples y consisten en transportar y ceder oxígeno a los tejidos y ayudar a la eliminación de bióxido de carbono y protones formados por el metabolismo celular, regula el transporte de los aniones (Na^+/K^+) y de agua hacia el interior y exterior de la célula. La forma bicóncava incrementa la proporción superficie-a-volumen del eritrocito, facilitando el intercambio de gases.¹⁶ Después que los eritrocitos reciben el oxígeno a través de los capilares pulmonares, es transportado a los tejidos donde el oxígeno es utilizado en los procesos metabólicos. Los productos finales incluyen ácidos inorgánicos y orgánicos. Los ácidos son neutralizados en gran medida por bases de la sangre y líquidos tisulares, principalmente bicarbonato de sodio, formándose sales y dióxido de carbono. La mayoría de las sales son excretadas por el riñón y casi todo el dióxido de carbono por los pulmones. Si se analiza el contenido de oxígeno de la sangre arterial, se encuentra que es de 18 a 20% Volúmenes de este gas, corregido a 0°C y 760 mm Hg. Si se separa el plasma de la sangre total y se analiza su contenido de oxígeno, éste es de aproximadamente 0.3 vol%, es decir, 100 ml de sangre transportan de 18 a 20 ml de oxígeno. La capacidad de transportar oxígeno de la sangre total es por ende más de 60 veces mayor que la del plasma, debido a la presencia de la hemoglobina en los eritrocitos. Si la sangre no contuviera eritrocitos y éstos a su vez hemoglobina, según Barcroft, deberíamos tener más de 150 kg de plasma en nuestro sistema sanguíneo.¹⁷ El dióxido de carbono tiende a fluir desde los tejidos hacia la sangre venosa y de la sangre venosa a los pulmones hacia los alvéolos pulmonares. De 50 a 60 volúmenes de dióxido de carbono por 100 ml de sangre, sólo 2 a 3 ml, aproximadamente el 5%, están en solución y ejercen una presión. Esto se escribe en forma hidratada H_2CO_3 si más del 99% del dióxido de carbono disuelto estuviera en solución simple en un medio acuoso, el pH de la sangre sería de aproximadamente 4.0, muy desplazado hacia el lado ácido, y significaría la muerte para los tejidos. Más del 90% de dióxido de carbono se encuentra en forma de bicarbonato, parte en los glóbulos rojos y parte en el plasma y líquidos orgánicos.¹⁷

3.1.2 Estructura

La forma en reposo normal del eritrocitos es un disco bicóncavo. Los eritrocitos humanos normales tienen un diámetro de 7.5 a 8.3 μm y poseen un volumen aproximado de 83 μm^3 y una superficie de 145 μm^2 aproximadamente. La forma del eritrocito es la resultante de múltiples fuerzas y depende del ambiente de la célula, su estado metabólico y su edad. En el seno de la circulación el eritrocito discurre por vasos sanguíneos de diámetros distintos y diferentes velocidades de corriente, lo que da lugar a multiplicidad de transiciones dinámicas de la forma. El eritrocito transcurre la mayor parte de su vida dentro de los canales capilares de la micro circulación. Durante su lapso de vida de 100 a 120 días recorre una distancia aproximada de 280 km. En los capilares la deformabilidad de la célula constituye la determinante reológica primaria de la viscosidad y flujo sanguíneos. A pequeñas velocidades de flujo se observa agregación de los hematíes en los capilares, en los cuales dichas células adoptan diversas formas irregulares, elipsoides y hemisféricas. Se desplazan en agregados de dos a dos células, y se disponen en pilas como monedas en las regiones de remanso o de circulación muy lenta.⁹

En su concepción básica, la membrana celular del hematíe no difiere de las demás membranas biológicas. Está formada por dos capas monomoleculares de fosfolípidos, las mitades de ácido fosfórico de los fosfolípidos están localizados en la superficie externa e interna y las cadenas de ácidos grasos hidrófobos están dirigidas hacia dentro, en los cuales figuran numerosas proteínas. Algunas proteínas membranosas, sobre todo la glucoforina, parece que recorren toda su extensión.¹⁶ No presenta organelos intracelulares, como mitocondrias, lisosomas o aparato de golgi, de igual manera no presenta núcleo, sin embargo tiene una proteína intracelular llamada hemoglobina la cual ocupa el 95% de la totalidad interior del eritrocito. La proteína más representada en las membranas del hematíe es el transportador de los aniones, que permiten el paso de los iones cloruro y bicarbonato a través de la membrana. Esta proteína se le conoce como "banda 3" por su posición electroforética: se encuentra en tercera posición cuando se someten las proteínas del conjunto membrana + esqueleto a un campo eléctrico que provoca su desplazamiento.

La banda 3 es una proteína de gran tamaño (90 kilodalton) que serpentea a través de la membrana cruzándola más de diez veces. Posee un gran dominio lo que constituye el principal punto de fijación del esqueleto a la membrana. Otro importante grupo de proteínas membranales a las que está fijo el esqueleto son las llamadas sialoglicoproteínas α , β , γ y δ . Carecen de función de transporte pero exponen en la parte exterior de los hematíes elementos moleculares, o antígenos, que definen ciertos grupos sanguíneos.^{33,17}

El esqueleto eritrocitario tiene un grosor de diez nanómetros a lo largo de la cara interna de la membrana. En este exiguo espacio se aglomeran todas las proteínas del esqueleto que merecen, por lo tanto, el calificativo de "periféricas". Las proteínas del eritrocito son conocidas tanto por su peso molecular como por su posición en la separación por electroforesis. Cuatro de ellas pertenecen al esqueleto: son las bandas 1, 2, 4.1 y 5. Las bandas 1 y 2 designan respectivamente las llamadas cadenas α y β de una proteína del esqueleto denominada espectrina, la espectrina es un dímero $\alpha\beta$. La banda 4.1, o la proteína 4.1, no tiene ningún nombre especial. La banda 5 es la actina eritrocitaria.^{33,17}

Las cadenas α y β de la espectrina son muy largas (240 y 220 kDa; doscientos mil ejemplares por célula); cada una de ellas está formada por una sucesión de más de 2 000 aminoácidos. Cada dímero $\alpha\beta$ forma una fibra orientada de cien nanómetros de longitud en la cual se define una "cabeza" y una "cola". La cabeza contiene el comienzo de la cadena α (posición N-terminal) y el final de la cadena β (posición C-terminal). Así pues, la fibra de espectrina está formada por dos cadenas antiparalelas. La actina eritrocitaria no forma largas fibras. Sólo se asocian unos pocos monómeros porque una proteína anexa inhibe una auténtica polimerización. Se trata de la proteína 4.9 de la que cabe suponer, a modo de hipótesis que encapucha los "muñones" de actina para evitar la aparición de microfilamentos, inútiles en el eritrocito maduro. Por contra los "muñones" constituyen una pieza maestra del esqueleto membranal.^{33,17}

La espectrina, la actina y la proteína 4.1 acaban construyendo una estrecha red que cubre cerca del 60% de la superficie interior de la membrana del glóbulo rojo.

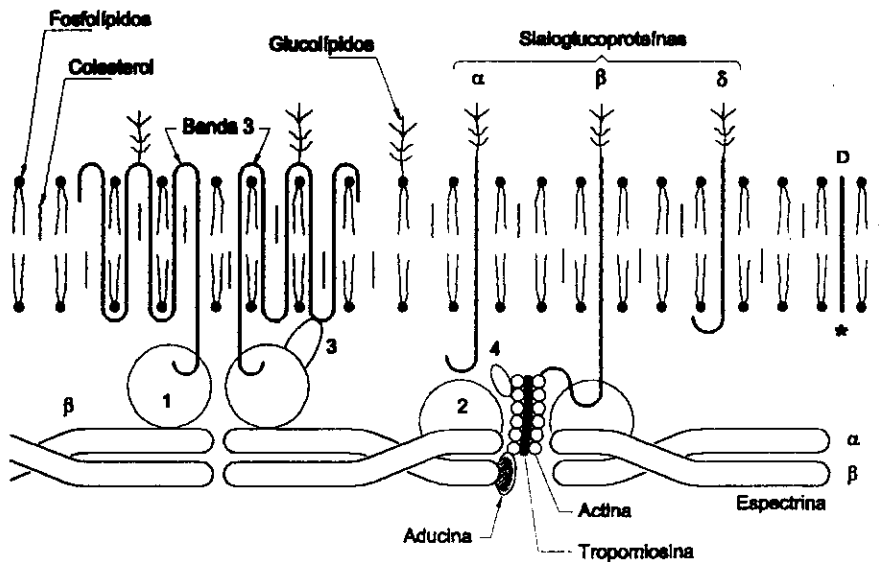
En el 90% de los casos el patrón básico es un hexágono. El resto está formado por pentágonos y heptágonos. En todos los casos hay un complejo de unión en cada vértice del polígono y en su centro. Las aristas y los radios están formados por un tetrámero de espectrina. Pero también son posibles otras figuras más complicadas. Puede ocurrir que dos complejos funcionales queden unidos por dos tetrámeros paralelos. También puede haber tetrámeros de espectrina en forma de Y que unan tres complejos de unión a partir de un punto de autoasociación. Además, los dos brazos de la Y pueden cerrarse en torno al mismo complejo de unión.^{33,17}

La confección de la malla elemental y, por ende, la singular morfología de los hematíes, depende de una buena articulación entre la espectrina, la actina y la proteína 4.1 y, por lo tanto, de un correcto funcionamiento de las interacciones horizontales. Como se puede observar, las propiedades mecánicas de aquellos emana de las propiedades individuales de las proteínas del esqueleto.^{33,16}

Las interacciones horizontales entre las tres proteínas, la espectrina, la actina y la proteína 4.1, llevan a la formación del esqueleto que da su forma a las hematíes. Pero además el esqueleto está fijado a la membrana celular por interacciones verticales. Éstas son dos. La primera pone en juego la espectrina del esqueleto, el fragmento citoplasmático de la banda 3 membranales y una tercera proteína, la ankyrina. Esta última es la proteína globular representada esencialmente por la banda 2.1 de la electroforesis de las proteínas del esqueleto. La ankyrina se une también, y más intensamente todavía, al fragmento citoplasmático de la banda 3; esta banda ofrece un punto de fijación muy firme. La proteína 4.2, cuyo papel fue ignorado durante mucho tiempo, parece modular el contacto ankyrina-fragmento citoplasmático de la banda 3.^{33,16,40}

Para estudiar la membrana eritrocitaria se han empleado diversos enfoques bioquímicos. Incluyen análisis de proteínas membranales y, el uso de enzimas específicas (proteinasas, glucosidasas y otras) para determinar la ubicación de proteínas y glucoproteínas en la membrana y varias técnicas para estudiar tanto la composición lipídica como la disposición de lípidos individuales.¹⁶

Cuando las membranas se analizan por diversos métodos se identifican \approx diez proteínas mayores y se ha demostrado que varias son glucoproteínas. Todas estas proteínas se han aislado, muchas se han identificado y se ha obtenido abundante información sobre sus funciones. También se conoce muchas de sus secuencias de aminoácidos. Además se ha determinado que éstas son proteínas membranales integrales o periféricas; éstas están situadas en la superficie exterior, en la superficie citosólica y se expanden a través del grosor de la membrana.¹⁶ Así mismo los lípidos de la membrana eritrocitaria incluyen colesterol (aproximadamente el 25% de los lípidos totales), fosfatidil colina (22%), fosfatidil etanolamina (20%), esfingomiélinea (20%), fosfatidil serina (10%) y pequeñas cantidades de fosfatidil inositol (1%) y ácido fosfatídico (2%).^{17,9}



1. Anquirina.

2. Banda de β -SGP. (Banda límite aplicada a identificaciones con electroforesis SDS-PAGE) y la actina.

3. Una proteína.

* Proteínas indicadoras de Rh D son agregadas al citoesqueleto, pero el sitio de agregación aún no está establecido.

3.1.3 Metabolismo

Los eritrocitos, igual que otras células vivientes, requieren energía para mantener sus procesos vitales, estas células emplean a la glucosa como principal sustancia oxidada para satisfacer dicho requerimiento. Los eritrocitos nucleados obtienen su energía principalmente por oxidación de la glucosa en el ciclo del ácido cítrico. Los eritrocitos anucleados, en cambio, metabolizan la glucosa principalmente por glucólisis anaerobia o por la vía del fosfogluconato.¹⁷ Como ya se mencionó la glucosa es la principal fuente de energía del eritrocito, ya que su membrana contiene transportadores de glucosa de elevada afinidad. Su forma de producción de Trifosfato de Adenosina (ATP) es la glucólisis, que genera lactato. Debido a que no hay mitocondrias en el eritrocito, no se produce ATP por fosforilación oxidativa. La producción de 2,3-bisfosfoglicerato, por reacciones que se relacionan en forma estrecha con la glucólisis, es importante en la regulación de la capacidad de la hemoglobina para transportar oxígeno. En el eritrocito opera la vía del fosfato pentosa (que metaboliza 5 a 10 % del suministro total de glucosa) y produce fosfato de dinucleótido de adenina nicotinamida reducido (NADPH), un tipo de anemia hemolítica es causada por deficiencia de la actividad de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa. El glutatión reducido (GSH) es importante en el metabolismo del eritrocito, en parte por contrarrestar la acción de peróxidos con potencial tóxico; el eritrocito puede sintetizar GSH y requiere NADPH para regresar el glutatión oxidado (G-S-S-G) al estado reducido. El hierro de la hemoglobina debe conservarse en estado ferroso⁹; el ion férrico es reducido al estado ferroso por acción del sistema de la metahemoglobina reductasa dependiente del nucleótido de difosfopiridina reducido (NADH) que incluye la citocromo b₅ reductasa y el citocromo b₅. En el eritrocito no hay síntesis de glucógeno, ácidos grasos, proteína ni ácidos nucleicos, pero algunos lípidos (por ejemplo colesterol) de la membrana eritrocitaria pueden intercambiarse con los lípidos plasmáticos correspondientes. El eritrocito contiene ciertas enzimas del metabolismo de nucleótidos (por ejemplo, adenosina desaminasa, pirimidina nucleotidasa y adenilato cinasa; las deficiencias de estas enzimas causan algunas anemias hemolíticas. Cuando el eritrocito alcanza el fin de la duración de vida la globina es degradada a aminoácidos (que son utilizados de nuevo en el cuerpo), el hierro se libera del hem y también se utiliza de nuevo y el componente tetrapirrólico del hem se convierte en bilirrubina que se excreta en gran parte al intestino por medio de la bilis.^{16,1}

La velocidad de entrada de la glucosa a los eritrocitos es bastante más elevada que la que podría justificarse por difusión simple. En realidad es un ejemplo de difusión facilitada. En el proceso interviene una proteína específica llamada transportador de glucosa o permeasa de glucosa. La entrada de glucosa al eritrocito es de suma importancia debido a que es el energético principal de estas células. De varios tejidos se han aislado cinco transportadores de glucosa relacionados pero diferentes; al contrario del transportador de glucosa del eritrocito, algunos de ellos dependen de la insulina.^{16,9,1}

Durante la circulación, el eritrocito continuamente esta requiriendo procesos energéticos para realizar sus funciones. La glucosa 6-fosfatodeshidrogenasa reduce nicotinamida adenina en un dinucleótido (NADH) y regenera y mantiene al ion de la hemoglobina reducido, en forma divalente. Es necesario Adenosin trifosfato para la bomba de $\text{Na}^+\text{-K}^+$, por medio de la ATPasa se mantiene la acción de la bomba, manteniendo el potasio intracelular elevado y bajo las concentraciones de sodio en plasma.^{1,17}

3.2 TRANSFUSIONES

Cuando se produce una hemorragia a causa de un accidente o de una operación quirúrgica y se presentan datos de hipoxia tisular, el medio más eficaz de compensar la pérdida de sangre es la transfusión sanguínea. Sin embargo, este acto terapéutico, tan extendido tanto en medicina como en cirugía desde la segunda guerra mundial, no está exento de riesgos, en particular de riesgos infecciosos tales como las hepatitis, el SIDA y otras enfermedades de origen viral todavía poco o nada conocidas. La amplitud de estos riesgos, las dificultades crecientes de aprovisionamiento, y el costo cada vez más elevado por la búsqueda de la seguridad, han impulsado a los investigadores³⁵ a crear nuevos sistemas tanto de almacenamiento como en mejorar la calidad de cada uno de los productos que son transfundidos.

Ya en 1902, Hédon administraba transfusiones de hemáties lavados. Castellanos (1937) parece ser el primero que utilizó suspensiones concentradas de hematíes en vez de sangre total para transfundir a sujetos humanos.

La utilización de estas suspensiones resulta lógica siempre que se necesite introducir hemáties en la circulación de un paciente con el menor trastorno posible del volumen sanguíneo. Sin embargo, la utilización a gran escala de hemáties concentrados estuvo determinada inicialmente por otras condiciones.¹⁵ A partir de los años 70, quedó establecido el fraccionamiento de los componentes sanguíneos como una rutina en los Bancos de Sangre, pero es en la última década cuando se ha comprendido el papel que juegan los leucocitos como "contaminantes" de otros productos sanguíneos. Actualmente debido al avance progresivo que la hemoterapia ha experimentado, la obtención de hemoderivados con una baja cantidad de leucocitos empieza a constituir una práctica habitual al existir condiciones automatizadas, mucho más estandarizadas y eficaces, para realizar esta separación en comparación con los procedimientos tradicionales, realizados en forma manual.³⁹

3.3 LOS ERITROCITOS, NO SIEMPRE SON BUENOS PARA TODOS

3.3.1 Reacciones Postransfusionales

En la segunda guerra mundial se obtuvieron grandes cantidades de plasma y las primeras pruebas clínicas efectuadas con los hemáties residuales se realizaron principalmente con la esperanza de no desperdiciarlos. Una ventaja importante de utilizar hemáties pobres en leucocitos en vez de sangre total es la reducción de la incidencia de Reacciones transfusionales febriles no hemolíticas, Reacciones alérgicas, Reacciones anafilácticas.¹⁵

Al retirar la capa leucoplaquetaria de los hemáties se persiguen dos objetivos: por un lado evitar la formación de microagregados, que interfieren en la conservación y dificultan la infusión y por otro lado disminuir la aloinmunización y retirar el vehículo de enfermedades virales.³⁹ Se ha visto que la depleción de leucocitos conseguida tras la separación de la capa leucoplaquetaria es suficiente para evitar la aloinmunización, que se consigue cuando se obtienen cifras residuales de leucocitos inferiores a 5×10^6 , mientras que cantidades 200 veces mayores ya invitan la formación de microagregados y la incidencia de reacciones febriles no hemolíticas³⁹, que son las que nos compete en este

proyecto. Cerca del 3% de todas las transfusiones dan lugar a reacciones febriles no hemolíticas o alérgicas.²⁰

3.3.2 Reacciones trasfusionales febriles no hemolíticas.

La reacción transfusional no hemolítica (RTFNH) se identifica cuando la temperatura del paciente se eleva más de 1°C durante una transfusión de sangre o de uno de sus componentes, puede ser acompañada de escalofríos. Se cree que esta ocurre cuando el receptor posee anticuerpos que reaccionan con los leucocitos transfundidos, lo que condiciona la liberación de pirógenos. Estas reacciones se producen con más frecuencia en pacientes que han recibido transfusiones en repetidas ocasiones o en las mujeres multíparas.²⁰

Las reacciones adversas pueden estar condicionadas por la incompatibilidad de los eritrocitos, leucocitos, las plaquetas o las proteínas plasmáticas. La interacción antígeno-anticuerpo puede activar el complemento, provocando la liberación de sustancias vasoactivas. Además la destrucción de los leucocitos transfundidos puede dar lugar a fiebre, probablemente por la liberación de pirógenos de los granulocitos.¹⁵ Se ha observado en el plasma la presencia de aloanticuerpos o antígenos, como los de antígenos HLA¹⁵ de los neutrófilos, este es el sistema de antígenos de membrana celular más complicado del hombre. Está constituido por más de diez *loci* con un número variable de alelos, cada uno de ellos se hereda en forma autosómica codominante. A la combinación de una serie de alelos en un cromosoma se llama **Haplotipo** en el sistema HLA⁴. Hay dos tipos generales de antígenos HLA, clase I (antígenos HLA - A, B y C) y clase II (HLA - DR). La clase I y en particular los antígenos HLA - A y B son importantes en la terapia transfusional.¹¹ Cabe mencionar que la frecuencia más alta de los alelos *A2* y *B35* son para la población mestiza mexicana⁴. La patogenicidad de los anticuerpos leucocitarios fue rotundamente demostrada en un experimento efectuado por Brittingham y Chaplin. Se transfundieron a un paciente 50 ml de sangre que contenía una leucoaglutinina con un título de 256. Transcurridos 45 minutos, el receptor presentó escalofríos, intensa hipotensión con cianosis y un ritmo respiratorio de 60/min; su cifra de leucocitos descendió de 9×10^9 /l a 2×10^9 /l; en un estudio exhaustivo de un individuo sensibilizado con Acs. anti-leucocitos hallaron que 0.4×10^9 leucocitos (la cifra presente en 50 ml de

sangre normal) no originaban reacción, mientras que ésta se producía tras inyectar 1.5×10^9 leucocitos o más. Las reacciones que producen esta última cifra son muy moderadas cuando el título de leucoaglutinina es bajo, pero pueden revestir mayor intensidad con un título más elevado.

La conclusión a la cual se llegó es que la cantidad mínima de leucocitos necesarios para producir una sensibilización oscila entre 0.5×10^6 hasta 1.0×10^6 así mismo se debe intentar eliminar como mínimo el 99.5 % de dichos leucocitos.¹⁵

Se ha observado fibrinólisis asociada a reacciones febriles graves debido a anticuerpos leucocitarios, de igual manera se han observado infiltrados pulmonares debido a agregados leucocitarios en la sangre transfundida, que obstruye la circulación pulmonar allí produce una reacción en la que interviene el complemento, que es la causa de edema pulmonar ¹¹.

Existen ciertos indicios de que tras la reacción por transfusión debido a anticuerpos leucocitarios potentes, el aumento de la concentración de hemoglobina suele ser inferior al esperado, debido probablemente a pérdidas ocultas de sangre asociadas a fibrinólisis o a la destrucción de hematíes más jóvenes transfundidos sobre los que los antígenos HLA se expresan más intensamente. De la misma forma en pacientes inmunocomprometidos estas reacciones transfusionales pueden expresarse con una simple fiebre o pueden ser tan severas como un estado de shock. En niños se puede registrar un aumento en la temperatura que en ocasiones va acompañado de inapetencia y diarrea. Aunque el niño no presenta escalofríos en las primeras etapas de la reacción febril, puede que experimente palidez y sensación de frío.¹⁵

Se comprobó que las reacciones febriles graves eran tres veces menos frecuentes cuando se utilizaban hematíes concentrados bajos en leucocitos y, retrospectivamente, cabe pensar que esta disminución se debió probablemente a la costumbre de eliminar la mayor cantidad posible de estos al preparar los hematíes concentrados.^{15,39}

Más a menudo la reacción se debe a anticuerpos citotóxicos o aglutininas que actúan directamente contra Ags de los leucocitos, pero el anticuerpo puede ser dirigido además a granulocitos y plaquetas. Los síntomas pueden presentarse desde mareos, náuseas y vómitos. Es importante la evaluación del paciente, Estudio Integral Inmunoematológico, por lo general al final de la transfusión u horas después de la transfusión.^{27,9}

Aproximadamente el 15 % de los pacientes que presentan reacciones postransfusionales son transfundidos con paquetes globulares que no han sido desleucocitados previamente, puede prevenirse con el uso de RBCs, RBCs desgligerizado, o pobres en leucocitos.²⁷

3.3.3 La reacción del injerto contra el hospedero (EICH)

Es importante mencionar la reacción EICH ya que al transfundir linfocitos T alogénicos inmunológicamente competentes presentes en productos sanguíneos corrientes, a un individuo inmunodeprimido por déficit o mal función linfocitarios, aquellos pueden prender en el tejido linfoide/hematopoyético del hospedero y reconocer el hospedero como extraño y elaborar contra ellos una respuesta inmunitaria celular, humoral o de ambos tipos, lo que origina el síndrome de EICH. Esta enfermedad ha sido asociada con transfusiones. Los individuos presentan EICH aguda, antes de 30 días después de la transfusión. Además de los síntomas clínicos se presenta pancitopenia; ésta se debe a que los linfocitos T citotóxicos del donantes reaccionan contra las células de la médula ósea del huésped. El 90 % de las EICH relacionadas con una transfusión van seguidas de la muerte del paciente, debido primordialmente a infecciones, pero también a complicaciones hemorrágicas secundarias a la pancitopenia.²⁰

Teóricamente es posible prevenir esta enfermedad, al reducir la cantidad de leucocitos de la sangre transfundida, 1×10^6 o inactivarlos con radiación ionizante.²⁰

Se dispone de algunos datos recientes en el sentido de que los receptores de sangre que no se hallan inmunodeprimidos pueden presentar la EICH postransfusional si reciben

preparados celulares sanguíneos donados por parientes de primer grado (padres, hijos o hermanos). Por consiguiente la Asociación Americana de Bancos de Sangre ha recomendado que se irradien estos preparados al menos con 1.500 rads, para inactivar los leucocitos del donante. Se han publicado trabajos donde se describe el uso de "sangre fresca" de parientes de primer grado en intervenciones a corazón abierto, que dieron lugar a EICH postransfusional. Al parecer en la mayoría de estos casos sucedieron cuando los haplotipos HLA del donador son homocigotos reconociendo al haplotipo distinto del receptor heterocigoto.^{20,27}

3.4 Desleucocitación

En el pasado, la terapia de transfusión dependía en gran medida del uso de sangre total. A partir de los años 70, quedó establecido el fraccionamiento de los componentes sanguíneos como una rutina en los Bancos de Sangre, pero es en la última década cuando se ha comprendido el papel que juegan los leucocitos como "contaminantes" de otros productos sanguíneos. Actualmente debido al avance progresivo que la hemoterapia ha experimentado, la obtención de hemoderivados sin leucocitos empieza a constituir una práctica habitual al existir condiciones automatizadas, estandarizadas y eficaces, para realizar esta separación en comparación con los procedimientos tradicionales, realizados en forma manual.³⁹

La desleucocitación se realiza a través de varios métodos como son: centrifugación invertida (sedimentación diferencial), dilución salina, lavado con solución salina, filtración y por congelación y descongelación (reconstitución de células rojas congeladas).

3.4.1 Centrifugación Invertida Se centrifuga la bolsa de sangre invertida y los hematíes se obtienen de la parte inferior del recipiente. De esta forma se separa hasta el 90% de los leucocitos, a costa de perder también el 20% de los hematíes.²⁸

En una segunda versión, se retiran los leucocitos aspirando la capa leucocitaria de la sangre centrifugada; esto es menos efectivo, ya que, queda todavía un 20% de leucocitos en el 80% restante de hematíes.

3.4.2. Lavado por inmersión con solución salina La siguiente variación consiste en sedimentar los hematíes utilizando dextrano de alto peso molecular (aproximadamente 150,000). Tras dos sedimentaciones en un recipiente de 1100 ml de capacidad utilizando una mezcla de salina - dextrano, se eliminaron el 97.5% de los leucocitos originales en un período de aproximadamente 70 minutos.¹⁵

3.4.3. Dilución Salina Se introduce de 250 a 350 ml de solución salina al 0.90% al paquete de hematíes, se mezcla cuidadosamente para evitar hemólisis por manipulación, y se centrifuga por inversión a 4°C durante 15 min a 3500 rpm. Al término se hace pasar los hematíes a otra bolsa, dejando en la primera capa leucocitaria. Con este método se logra eliminar un 96.9% de leucocitos en un período de 40 min.²⁸

3.4.4. Filtración Es la utilización de un filtro de fibras de diferente composición. Con esta técnica se eliminan eficazmente granulocitos. El método permite eliminar del 98% al 99.9% de los leucocitos y el 90-95% de las plaquetas. En los años siguientes se ha ido perfeccionando este método hasta los filtros Pall de 40µm, disponibles en el mercado, en éste la sangre contenía el 50% del número inicial total de linfocitos y sólo el 5% de la cifra inicial de granulocitos.¹⁵ De igual manera se utilizan en la actualidad filtros de poliéster los cuales disminuyen la cantidad de leucocitos hasta el orden de 10⁵.

3.4.5. Congelación y Descongelación Las suspensiones de leucocitos que han sido congeladas en glicerol, y descongeladas y lavadas abundantemente, éstos no son capaces de producir reacciones febriles.¹⁵

El consejo de Europa, cifra el contenido de leucocitos en los productos sin capa leucocitaria en $<0.05 \times 10^6$.⁴¹

3.5 ALMACENAMIENTO, PARTE ESENCIAL

La evolución de los materiales en los cuales se almacenan y se utilizan los diferentes componentes de sangre total, no se han hecho esperar, así como ya se ha mencionado las bolsas de plástico, de igual manera anticoagulantes y aditivos han avanzado al unísono de estos nuevos y prácticos empaques, lo que permite fraccionar la sangre cuando menos en 4 partes: Paquete eritrocitario, Concentrado plaquetario, Plasma y Crioprecipitado.

En el momento de la donación hay soluciones dentro de las bolsas de sangre llamadas anticoagulantes-preservativas, se colocan para evitar la coagulación y para aportar nutrientes, así seguir con su metabolismo y estabilizar a las células durante todo el almacenamiento.²⁷ La duración del almacenamiento de la sangre viene determinada por una recuperación del 70% de los glóbulos rojos en la circulación del receptor a las 24 horas.¹³ El principal fin del procedimiento de colección, almacenamiento y empaque de los componentes de la sangre es: 1) mantener la viabilidad y función de los constituyentes de cada uno de los componentes; 2) prevenir cambios físicos y químicos perjudiciales para los constituyentes; y 3) evitar la proliferación bacteriana. Sistemas cerrados como el de las células rojas depende de un delicado balance bioquímico, por lo que algunos compuestos deben cuidarse mucho más, como es el caso de la glucosa el ion hidrógeno (pH) y adenosin-trifosfato (ATP). Estas células se almacenan a una temperatura entre 1-6 °C ya que la refrigeración minimiza la proliferación de bacterias.²⁷ Las bacterias capaces de desarrollarse a bajas temperaturas son: *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Thiobacillus* etc.

CONTENIDO DE SOLUCIONES PRESERVADORAS-ANTICOAGULANTES (g/L)

	ACD-A	CPD	CP2D	CPDA-1
Citrato de Trisodio	22.00	26.30	26.30	26.30
Acido Cítrico	8.00	3.27	3.27	3.27
Dextrosa	24.50	25.50	51.10	31.90
Fosfato de Sodio Monobásico		2.22	2.22	2.22
Adenina				0.275

Tabla A

3.6 ADITIVOS

3.6.1 Citrato

El citrato es incluido en la primera colección de sangre ya que sus características como efectivo anticoagulante le permite tener una función doble, se encuentra presente en ACD y CPD.¹⁸ El citrato fue el primer anticoagulante utilizado en 1914. Se une al calcio e impide, por tanto, que se active la cascada de coagulación^{6,13}. En 1916 se añadió dextrosa al citrato para proporcionar una fuente energética a los eritrocitos, sin embargo, debido al pH alcalino la estructura de la membrana se ve afectada ya que hay un pequeño incremento en el pH interno de la célula. Se presume que incluso el citrato como aditivo da mejores resultados en la preservación de 2,3-DPG.^{6,18} A principios de la década de los 40 se disminuye el pH de esta mezcla de citrato y dextrosa mediante la adición de ácido cítrico (Loutit y Mollison 1943). Esta nueva solución de ácido-citrato-dextrosa (ACD), con un pH más bajo, podía esterilizarse al calor sin sufrir caramelización y se convirtió en el anticoagulante sanguíneo estándar.^{6,1,13,18}

3.6.2 Fosfato

El fosfato es un ión que manifiesta la creciente influencia que ejerce en los niveles de ATP y 2,3-DPG en el almacenamiento de las células y es un componente clásico en la solución de CPD y de BAGPM la solución aditiva original. Este ión estimula la glicólisis y aligera mínimamente la inhibición de la hexoquinasa para la glucosa 6 fosfato. Así mismo da la característica del efecto de un buffer, con la estimulación de la glicólisis el efecto que ejerce es de contrapeso ya que al crecer la producción de ácido láctico impide que haya un aumento en el pH de la célula. El fosfato es incorporado a la variedad de soluciones aditivas combinada algunas veces con iones citratos y amonios.¹⁸ Durante los años 50 se creó el citrato-fosfato-dextrosa CPD (Gibson 1957). Para ello se añadió un amortiguador de fosfato inorgánico al ACD, con el cual aumentaba la producción de trifosfato de adenosina (ATP) y también por tanto, la viabilidad de los eritrocitos.

El CPD requiere menos ácido cítrico que el ACD. Así pues, el pH es más elevado, de modo que el 2,3-DPG se conserva mejor durante el período de almacenamiento de los eritrocitos, sin que se agote en un plazo de 2 semanas.^{6,18,1,13} El Citrato fosfato dextrosa preserva a los eritrocitos por un lapso de 21 días a 1-6 °C.

3.6.3 Adenina-a (CPDA-1)

Se observó que la adenina mejoraba la supervivencia de los eritrocitos donantes conservados con anticoagulante (Simon, 1962). Durante los años 70 los fabricantes de bolsas de sangre añadieron adenina al CPD, y surgió así el CPDA-1 con ello, la vida máxima de la sangre conservada, que era de 21 días⁶ aprobado por la FDA²⁷ con ACD y CPD, pasó a ser de 35 días en la conservación a 1-6°C.²⁷ La adenina proporciona un sustrato a los eritrocitos que les permite aumentar la síntesis de ATP y, por tanto, su viabilidad.^{6,13,1,18}

Así mismo la iosina es metabolizada rápidamente por las células rojas. Al adicionarla a las soluciones, ayuda en mucho a mantener y preservar los niveles de 2,3-DPG. En la presencia de adenina, iosina también se mantiene el ATP. La iosina presenta grandes propiedades usadas en los bancos de sangre ya que es colocada en células lavadas. Es posible incluso que la iosina se utilice en la preservación de sangre ya que el producto de este metabolismo, hipoxantina, es rápidamente convertido en ácido úrico en el cuerpo.¹⁸

3.6.4 Dihidroxiacetona (DHA)

Es una solución pura y estable, al ser combinada con CPD o ACD puede sufrir una polimerización. DHA es un promisorio aditivo, pero nunca debe ser utilizado de forma comercial como preservador. Así mismo a simple vista parecería una azúcar no tóxica, pero su metabolismo es más lento que el de la iosina, y además requiere presencia de ATP para su utilización, DHA no es utilizada como solución de rejuvenecimiento

3.6.5 Oxalato

En 1972 se observa que el ascorbato mantiene los niveles de 2,3-DPG en las células rojas almacenadas. Así mismo el ascorbato de fósforo tiene el mismo efecto. El mecanismo del efecto remanente del ascorbato fue desconocido por algunos años pero va aclarándose. El ascorbato puro no afecta al 2,3-DPG. Es más bien el oxalato contaminante comercial y universal por llamarlo de alguna manera del ascorbato por lo que es responsable de que se mantenga mejor el 2,3-DPG. El efecto del oxalato parece ser causado por una larga inhibición del piruvato quinasa, todo esto es posible por la inhibición del lactato deshidrogenasa. El Glioxalato, también tiene un efecto en los niveles de 2,3-DPG, pero al parecer este fenómeno se atribuye a la rápida conversión del lactato deshidrogenasa a oxalato. ¹⁸

3.6.6 ADSOL

Una nueva generación de conservadores en solución (Adsol, Nutricel) diluye los glóbulos rojos concentrados con un aditivo que aumenta la vida de almacenamiento. En los años 80 se ha incrementado aún más la vida de la sangre conservada, hasta 42 días, con la introducción comercial de aditivos para los eritrocitos (Roberts, 1986). Primeramente se recolecta la sangre con CPD doble dextrosa (CPD2)²⁹. A continuación se extrae el plasma y se añade el aditivo a los eritrocitos a partir de una bolsa unida integralmente a la primera. La solución aditiva se compone de suero salino, adenina y una elevada concentración de dextrosa.¹³; el manitol un agente estabilizador de la membrana eritrocitaria, forma parte también de este sistema aditivo (ADSOL).^{6,13,27} Debe recordarse que el paquete globular contenido en esta bolsa se diluye por lo cual el hematocrito cambiará con respecto a lo común, el valor de hematocrito será de 0.60 (60%).^{27,38,23}

El empleo de sustancias aditivas como es el ADSOL, favorece la viabilidad de las células del paquete globular por un tiempo prolongado, por la composición que presenta (Adenina, Glucosa, Manitol, Cloruro de Sodio)³⁷.

CONTENIDO DE SOLUCIONES ADITIVAS (mM)

	AS-1 (Adsol®)	AS-3 (Nutricel®)	AS-5 (Optisol®)
Dextrosa	111.00	55.50	45.40
Adenina	2.00	2.22	2.22
Fosfato de Sodio Monobásico	0.00	23.00	0.00
Manitol	41.20	0.00	45.40
Cloruro de Sodio	154.00	70.00	150.00

Tabla B

Sin embargo es importante evaluar la concentración de glucosa en plasma porque hay pacientes en los cuales puede no ser deseable administrar cantidades altas de suero, la concentración de K^+ y hemoglobina libre, están íntimamente relacionados con la hemólisis y ésta a su vez, a la pérdida de viabilidad. De tal modo que este seguimiento sea un parámetro de confianza que permita asegurar que la sangre almacenada mantiene una calidad óptima para su posterior empleo.

3.7 ¿QUÉ SUCEDE EN EL ALMACENAMIENTO DE LOS ERITROCITOS?

Desde el punto de vista práctico, la alteración más importante que se produce en los eritrocitos durante el almacenamiento es su pérdida progresiva de viabilidad, es decir la disminución de su capacidad de supervivencia en la circulación del receptor tras la transfusión. Cuando se transfunde sangre conservada durante períodos de tiempo relativamente cortos algunos de los hematíes desaparecen de la circulación durante las primeras horas tras la transfusión y el resto sobrevive normalmente. Al aumentar los períodos de conservación aumenta también la proporción de hematíes que desaparecen en las primeras 24 horas y en algunos casos todos los hematíes pueden llegar a sufrir una rápida eliminación. La tasa de pérdida de viabilidad varía notoriamente según la solución conservadora utilizada.^{15,18}

La depleción de ATP produce deformidad en los eritrocitos como resultado de la pérdida de lípidos en la membrana, la depleción metabólica conduce a la defosforilación de la espectrina y la pérdida de deformabilidad celular. Aunque existe una estrecha asociación entre el contenido de ATP de los hematíes conservados y su viabilidad, este compuesto no es de modo alguno el único determinante de la viabilidad eritrocitaria, ya que se encuentran inmiscuidos otros factores como son el 2,3- Difosfoglicerato (DPG) que desciende desde el 100% a menos del 10%.^{15,6}

El 2,3- difosfoglicerato tiene una función fundamental en la liberación de O_2 de la hemoglobina en los hematíes. El DPG y la hemoglobina resultan prácticamente equimolares en los hematíes del hombre. El DPG disminuye notablemente la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno a las concentraciones en que se suele hallar los hematíes;¹(la sangre empobrecida en 2,3- DGP aumenta su afinidad por el oxígeno, siendo por ello, menos eficiente en la liberación del mismo, no hay que perder de vista que después de 24 horas de ser transfundida se regenera su 2,3 -DPG)^{20,6}. Un mol de DPG se combina con otro de deoxi-Hb para formar un complejo que tiene una baja afinidad por el oxígeno. Si el DPG es desplazado, resulta más fácil para la molécula de Hb sufrir la transición alostérica hacia el estado tenso (oxi) , con una mayor afinidad por el oxígeno.

El ATP tiene un efecto similar al DPG, pero la concentración de ATP es de 4 a 5 veces inferior.¹ Valtis y Kennedy (1954) fueron los primeros en advertir el desplazamiento de la curva a la izquierda de disociación de la hemoglobina de la sangre conservada en un medio citratado (esto es cuando disminuye la concentración de 2,3-DGP), lo cual indica que la sangre una vez transfundida, sería incapaz al menos de modo transitorio, de ceder oxígeno a los tejidos a un volumen equivalente al de la sangre normal.⁶

La depleción completa del 2,3 DPG eritrocitario puede ser bien tolerada por un paciente con anemia crónica, ya que el organismo realiza mecanismos de compensación, lo suficientemente eficientes que condicionan niveles elevados de 2-3 DPG en pacientes anémicos.

La limitación de la reserva cardíaca y la insuficiencia coronaria pueden constituir situaciones críticas en las que el nivel de 2,3 DPG eritrocitario adquiere una gran importancia. La fragilidad osmótica y la lisis son también factores a contemplar.

Durante el almacenamiento en ACD, ACD-adenina, CPD, CPD-adenina y ADSOL el ATP y el 2,3- DGP se mantienen nivelados mientras que el potasio de las células rojas disminuye. El pH de la suspensión disminuye aproximadamente de 7.2 a 6.7 como el lactato y el piruvato se elevan al mismo nivel. *Cuadro 1*

CAMBIOS BIOQUÍMICOS DE SANGRE
ALMACENADA EN CPD Y CPDA-1

VARIABLES	CPD		CPDA-1			
	SANGRE TOTAL		SANGRE TOTAL	CÉLULAS ROJAS	SANGRE TOTAL	CÉLULAS ROJAS
DÍAS DE ALMACENAMIENTO	0	21	0	0	35	35
% DE VIABILIDAD CELULAR (24 HRS. POST-TRANSFUSIÓN)	100	80	100	100	79	71
P H (MEDIDO A 37 ° C)	7.20	6.84	7.60	7.55	6.98	6.71
A T P (% DE VALOR INICIAL)	100	86	100	100	56 (±16)	45 (±12)
2,3 - D P G (% DE VALOR INICIAL)	100	44	100	100	< 10	< 10
K ⁺ EN PLASMA (mmol/L)	3.90	21	4.20	5.10	27.30	78.50
Na ⁺ EN PLASMA (mmol/L)	168	156	169	169	155	111
HEMOGLOBINA EN PLASMA (mg/L)	17	191	82	78	461	658

CUADRO No. 1

La concentración de amonio aumenta y se incrementa a su vez el sodio al mismo nivel. Las vesículas de las membranas acumulan hemoglobina y éstas se encuentran abiertas hacia una hemólisis de células rojas. El volumen de las células rojas permanecen constante hasta el final del almacenamiento. El 70% de las células rojas en almacenamiento mantienen su viabilidad al ser reintegradas a la circulación siendo solo el 30% de estas células las que su viabilidad es reducida o nulificada.^{6,7}

3.8 FACTORES QUE NO HAY QUE PERDER DE VISTA

3.8.1 Potasio

Como se sabe el potasio es el segundo catión más abundante del organismo (98%, se encuentra en el espacio intracelular en donde alcanza una concentración de aproximadamente 150 a 160 mEq/L),¹³ contribuyendo con 50mEq/kg de peso corporal en el adulto varón joven. El organismo de un varón promedio de 70 kg contiene cerca de 3500 mEq de potasio.¹¹

Como el catión intracelular más abundante, el potasio es crítico para numerosas funciones metabólicas de las células, tal como la acción óptima de numerosas enzimas, para crecimiento y división, para conservar el volumen celular normal.

Casi el 50% de la carga de potasio administrada por vía oral o intravenosa se excreta por los riñones. Para evitar la acumulación de potasio en el líquido extracelular durante el período requerido (6 a 8 horas) para eliminación renal, el potasio se almacena de manera temporal en células musculares, hepáticas, eritrocitos y hueso. Esta combinación de almacenamiento intracelular es enorme (3500 mEq) comparado con la reserva extracelular (60 mEq) o la cantidad de potasio ingerido en la dieta (80 mEq/d).¹¹

Puede presentarse una carga masiva de potasio (hiperpotasemia) como resultado de la administración exógena por vía oral o intravenosa; o por movilización de reservas endógenas, por ejemplo, después de una rápida lisis celular durante el tratamiento de tumores con masa celular masiva, tal como el linfoma de Burkitt o leucemia aguda. También puede haber liberación de grandes reservas de potasio endógeno durante traumatismos extensos, rhabdomiólisis, degradación de un gran hematoma o de una acumulación de sangre proveniente de hemorragia gastrointestinal, hemólisis aguda o de un estado hipercatabólico marcado.

En estos trastornos la concentración de potasio es elevada. No obstante, la excreción de potasio por riñón es insuficiente para sobrellevar la carga de potasio, en especial por que el Índice de Filtración Glomerular se encuentra deprimido en estos trastornos debido a hipovolemia o necrosis tubular aguda. Así mismo en padecimientos como Insuficiencia renal aguda, Insuficiencia renal crónica, pacientes que presenten insuficiencia de actividad de aldosterona, e Hiperosmolaridad sin olvidar desde luego pacientes con problemas cardíacos, ya que una manifestación clínica de la hiperpotasemia es en la conducción cardíaca y la producción de arritmias. Cuando aumenta el potasio en suero, las manifestaciones electrocardiográficas muestran ondas T en pico → prolongación del intervalo PR con bradicardia → desaparición de las ondas T (auriculoventricular) → ensanchamiento del complejo QRS → hasta un patrón completo de onda visual que puede llevar a fibrilación ventricular y asístole.¹²

Las arritmias secundarias a hiperpotasemia se exacerban por hiponantremia concomitante, hipocalcemia y acidosis. Así mismo este aumento de potasio tiende a disminuir la resistencia vascular periférica y reducir de manera modesta la presión sanguínea.¹² La hiperpotasemia disminuye el índice de concentración de potasio intracelular extracelular que determina el potencial de reposo de membrana en células nerviosas y musculares.

Esta reducción en el potencial eléctrico le acerca al valor de umbral de despolarización que inicia el potencial de acción, de tal forma que la conducción nerviosa y la contracción muscular se inicia con más facilidad.

La secuela clínica incluye parestesias y debilidad y finalmente parálisis. Cuando se presenta parálisis de los músculos respiratorios puede ponerse en peligro la vida.¹²

Por lo antes citado la sangre al no ser almacenada correctamente o con los aditivos óptimos provoca la salida progresiva de K^+ de los glóbulos rojos así mismo de hemoglobina cuando la membrana de este se encuentra dañada. Una sangre con alto contenido de potasio puede resultar peligroso por su alto contenido plasmático, si se administra a recién nacidos (volúmenes de sangre >10 ml/kg) **Cuadro 2**, adultos politransfundidos, pacientes que ya tienen un potasio plasmático alto o cuyos riñones no funcionen adecuadamente.

VALORES NORMALES DE POTASIO SÉRICO	
RECIÉN NACIDO PRETÉRMINO	4.5-7.2 mmol/L
RECIÉN NACIDO A TÉRMINO	5.0-7.7 mmol/L
2 DÍAS - 2 SEMANAS	4.0-6.4 mmol/L
2 SEMANAS - 3 MESES	4.0-6.2 mmol/L
3 MESES - 1 AÑO	3.7-5.6 mmol/L
1 - 16 AÑOS	3.6-5.2 mmol/L

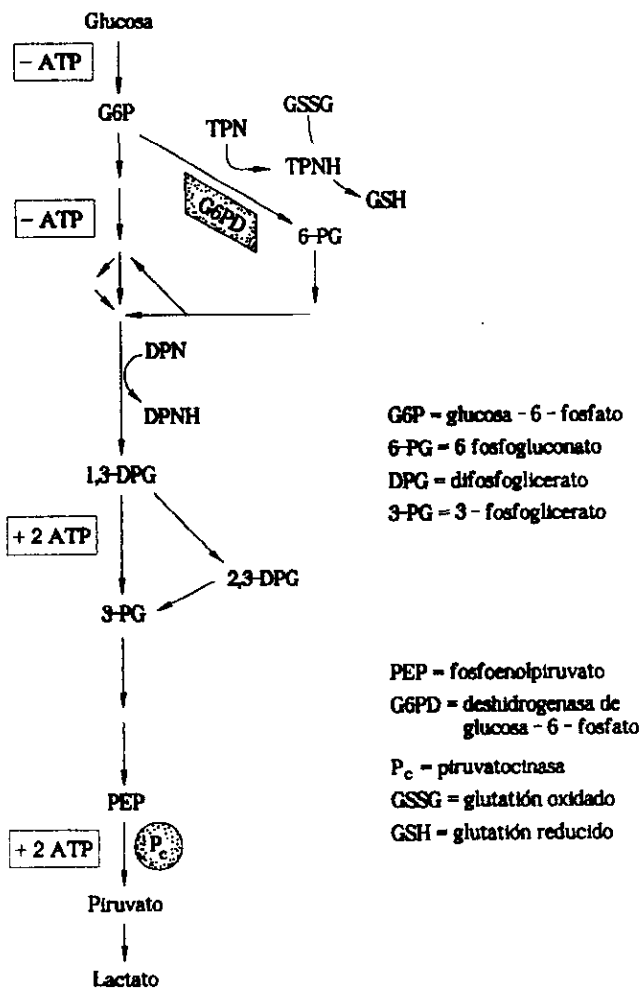
CUADRO No. 2

Una sola unidad de esta sangre puede elevar el potasio plasmático de un recién nacido, llegando a producir trastornos cardíacos graves.^{10,7}

3.8.2 Glucosa

Hay un requerimiento mínimo de glucosa de todos los tejidos. En algunos casos por ejemplo, el cerebro, el requerimiento es substancial; en tanto que en otros, por ejemplo, eritrocitos, es casi total. La glucólisis es la vía principal para la utilización de la glucosa y se lleva a cabo en el citosol de todas las células.¹⁶ Es una vía única, dado que puede utilizarse oxígeno si está disponible o funcionar en su ausencia total de éste. El eritrocito maduro no contiene mitocondrias y la única vía metabólica es la glucólisis a fin de obtener energía necesaria para sobrevivir en la circulación durante 120 días.

La vía glucolítica principal consta de una serie de reacciones anaerobias (vía de Embden-Meyerhof) por las cuales una molécula de glucosa se convierte en dos moléculas de piruvato o lactato.^{15,16}



Esto procura energía en forma de trifosfato de adenosina (ATP) y genera el dipiridín-nucleótido reducido (DPHN o NADH). El ATP proporciona la energía precisa para el funcionamiento de la bomba de cationes que mantiene la normalidad de las concentraciones intracelulares de cationes, también la energía necesaria para conservar intacta la membrana eritrocitaria. El DPNH es preciso para reducir la metahemoglobina.

Después de la absorción, la concentración de glucosa sanguínea en el ser humano y muchos mamíferos se encuentra dentro de los límites 4.5 a 5.5 mmol/L. Cuando se ingiere una comida rica en carbohidratos puede elevarse a 6.5 a 7.2. Durante ayuno, los valores bajan 3.3 o 3.9. Una disminución repentina de glucosa sanguínea causaría convulsiones, sopor, confusión, y/o coma, como ocurre en sobredosis de insulina, debido a la dependencia inmediata del cerebro del suministro de glucosa. No obstante, si se permite una adaptación progresiva es posible tolerar concentraciones sanguíneas mucho menores de glucosa. La conservación de valores estables de glucosa en sangre es uno de los mecanismos homeostáticos regulado con mayor precisión y en ello toman parte el hígado, tejidos extrahepáticos y varias hormonas. Al parecer, las células hepáticas son totalmente permeables a la glucosa, en tanto que las células de los tejidos extrahepáticos son algo impermeables. Debido a esto, el paso a través de la membrana celular es limitante de la velocidad de absorción de glucosa en tejidos extrahepáticos y la glucosa se fosforila con rapidez por acción de una hexocinasa al entrar en la célula. En concentraciones normales de glucosa (4.5 a 5.5 mmol/L) el hígado se comporta como un productor neto de glucosa. Sin embargo cuando la glucosa se eleva, la excreción hepática de glucosa cesa, de modo que a valores altos hay una absorción total de glucosa, el riñón también ejerce un efecto regulador. La glucosa se filtra de manera continua en los glomérulos pero, de ordinario, retorna en su totalidad a la sangre por el sistema de reabsorción de los túbulos renales. La reabsorción de glucosa contra su gradiente de concentración se enlaza con el suministro de ATP en las células tubulares. La capacidad del sistema tubular para reabsorber glucosa se limita a una velocidad de alrededor de 350 mg/min. Cuando la concentración sanguínea de glucosa aumenta, el filtrado glomerular puede contener más glucosa de la que logra reabsorber, el exceso pasa a la orina para generar glucosuria. En personas normales, se produce glucosuria cuando la concentración de glucosa en sangre venosa excede de 9.5 a 10 mmol/L (1728 mg/L a 1818 mg/L). Esto se conoce como umbral renal para glucosa.¹⁶

3.9 SISTEMAS AUTOMATIZADOS

El fraccionamiento se lleva a cabo manualmente siendo en la actualidad necesario la implementación de sistemas automáticos. Los intentos realizados para fraccionar de manera automática, se deben a la necesidad de obtener concentrados de mayor calidad en poco tiempo. El sistema de fraccionamiento automatizado consta de una bolsa principal con una nueva configuración que tiene una salida superior y otra inferior. Contiene 63 ml de solución CPD (citrato-fosfato-dextrosa), con un diseño diferente con vía de salida por la parte superior y por la parte inferior con sus respectivas bolsas satélites. La salida inferior conduce a una bolsa de plástico con solución de ADSOL en la que se recibirá el concentrado eritrocitario. La salida superior se conecta a una bolsa de transferencia vacía para plasma (configuración triple) o a dos bolsas de transferencia vacías para capa leucoplaquetaria o lo que se conoce como Buffy coat, para una posterior preparación del concentrado de plaquetas (configuración cuádruple). El OPTIPRESS es un extractor por impulso neumático que opera con placas de presión paralelas. Un emisor de luz infrarroja y una foto celda que controla el flujo de salida mediante dos pinzas automáticas, para controlar el flujo. La fotocelda monitoriza la posición del buffy-coat activando las pinzas inferior y superior. La bolsa principal que contiene la sangre total centrifugada se cuelga detrás de la placa de presión y al pulsar el botón de operación comienza la extracción. ¹⁴ Al finalizar la extracción se activa un circuito electrónico.

El desplazamiento transversal de la placa expulsa el plasma a través de la salida superior y los eritrocitos a través de la salida inferior. La extracción termina cuando el controlador de volumen cierra las dos pinzas asegurando la obtención de un volumen constante de la capa celular.¹⁴

El sistema óptico está compuesto por un transmisor de luz infrarrojo y un receptor (fotocelda) de luz (490 nm), cuando hay plasma en frente de la fotocelda el rayo de luz se transmitirá a través del plasma a la parte frontal y se reflejará de regreso al detector, con lo cual se generará una señal para mantener la pinza abierta; mientras que cuando hay

eritrocitos frente al detector el rayo de luz se dispersará y generará una señal para cerrar la pinza. Al quedar en la bolsa primaria un volumen predeterminado se cierra un circuito electrónico y se cierra ambas pinzas, terminando el proceso.

Teniendo las siguientes ventajas en comparación al sistema manual:

- Mayor calidad del paquete globular, con una leucoreducción simultánea (93% en promedio) al proceso, manteniendo el sistema cerrado y sin la necesidad de lavar el paquete globular.

- Mayor recuperación de eritrocitos (90% en promedio).

- Mayor vigencia del paquete globular por el aditivo ADSOL.

- Mayor recuperación de volumen de plasma

- Mínima concentración de proteínas.

- Mejor cosecha de plaquetas.

4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La conservación de los hematíes así como mantener su viabilidad (entiéndase viabilidad como disminución de su capacidad de supervivencia en la circulación del receptor transfundido) ha sido un tema de importancia en Banco de Sangre, ya que al ser transfundido un paquete globular ejemplo: hemolizado, envejecido, congelado o contaminado provocaría en los pacientes daños que pueden ser irreversibles. En el caso de que esta sangre llevará exceso de leucocitos se presentarían reacciones febriles, es por esto que innumerables estudios se han realizado a lo largo de los años, cada uno aportando nuevos conceptos para mejorar la calidad de los productos que se manejan en estas instancias, así mismo para garantizar al paciente un producto confiable y de una buena calidad. No hay que perder de vista el rubro económico ya que al mejorar la calidad y cantidad de los productos que se manejan, se disminuye el costo del producto, esta reflexión se hace, debido a que el paciente depende de una buena atención, la transfusión sanguínea es inminentemente sustitutiva por lo que cada paciente necesita un determinado producto y no necesariamente sangre total, si se transfundiera un paquete globular envejecido la viabilidad de los eritrocitos sería nula, lo que llevaría al paciente a tener que consumir otra unidad y esto aumentaría no sólo el peligro potencial para el enfermo sino para la institución. Es por esto que deben implementarse sistemas automatizados o semiautomatizados para la obtención de productos sanguíneos bajo control, así mismo aditivos que garanticen un tiempo de almacenamiento mayor con un mejor porcentaje de viabilidad. Así, en el presente estudio nos hacemos la siguiente pregunta ¿El aditivo ADSOL (adenina, dextrosa, manitol y cloruro de sodio), permite almacenar por 42 días a los hematíes (bajos en leucocitos) manteniendo una viabilidad optima? En este sentido se evaluarán el potasio, glucosa y hemoglobina libre para observar la hemolisis que presenten los paquetes durante este lapso de tiempo, así como la utilización de la glucosa en el proceso de glucólisis del eritrocito.

5. HIPÓTESIS DEL TRABAJO

La cantidad presente de K^+ , hemoglobina libre y glucosa en sangre obtenida con el anticoagulante CPD - Adsol a los 42 días de almacenamiento y ACD a los 21 días de almacenamiento son manejables en la mayoría de los pacientes transfundidos.

6. OBJETIVOS

- ◆ Obtener paquetes desleucocitados por el sistema optipress.

- ◆ Evaluar glucosa, potasio y hemoglobina libre en paquetes desleucocitados, almacenados por 42 días en ADSOL, a diferentes períodos de tiempo.

- ◆ Establecer valores de referencia para la utilización de paquetes globulares con base en el tiempo de almacenamiento y valores de potasio y hemoglobina libre (para el Banco Central de Sangre de CMNSXXI).

- ◆ Establecer una metodología para evaluar en casos posteriores aditivos y sistemas semejantes.

- ◆ Disminuir por el sistema optipress reacciones transfusionales, por causa de presencia de leucocitos en paquetes globulares.

- ◆ Aumentar la cantidad de sangres fraccionadas así como eliminar el paso de lavado de paquetes globulares.

- ◆ Aumentar la reserva de productos en BCS.

- ◆ Obtener productos de alta calidad así como un almacenamiento óptimo.

7. MATERIAL Y MÉTODO

Se llevó a cabo un estudio epidemiológico observacional, transversal y comparativo conforme a un número de 107 muestras, las cuales integraron 2 grupos el primero de 44 muestras con ACD (bolsas utilizadas actualmente) y el segundo con 63 muestras conteniendo ADSOL (bolsas evaluadas), rigiendo a los siguientes criterios de inclusión y exclusión.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

REQUISITOS PREVIOS A LA DONACIÓN

Con base en la Norma Oficial NOM - 003 - SSA2 - 1993

DURANTE LA DONACIÓN

- Únicamente varones
- La sangría debe ser de 8 minutos o menor

DESPUÉS DE LA DONACIÓN

- El peso de la bolsa con sangre deberá estar dentro de los lineamientos marcados por Control de Calidad.

- El tubo conector de la bolsa tendrá un solo segmento para el estudio de plaquetas.

CRITERIOS DE NO INCLUSIÓN

DURANTE LA DONACIÓN

- Mujeres serán excluidas de este estudio.
- La sangría de más de 8 minutos no será utilizada.
- La sangre no se utilizará si el donante presenta síntomas de desvanecimiento o convulsión.

DESPUÉS DE LA DONACIÓN

- La bolsa será rechazada de no cumplir con el peso establecido por Control de Calidad.
- La bolsa no será utilizada si presenta más de un segmento en el tubo conector.
- Solamente se utilizarán los paquetes eritrocitarios que presenten un hematocrito comprendido entre 57 y 67%.

7.1 VARIABLES

Variables Independientes

- Fraccionamiento con el método Opti-press y solución aditiva Adsol.
- Fraccionamiento habitual.

Variable Dependiente

Determinación de Hemoglobina Libre (% de hemolisis) a las 24 horas, 3,5,7,21,28,42 días.

- Determinación de Glucosa a las 24 horas, 3,5,7,21,28,42 días.
- Determinación de Potasio a las 24 horas, 3,5,7,21,28,42 días.
- Cuenta de Leucocitos.

7.2 Material

- Unidad Bolsang® Optipac® Cuádruple Opti® System Fenwal® Baxter.
- Tubos Vacutainer (tapón rojo).
- Capilares sin heparina.

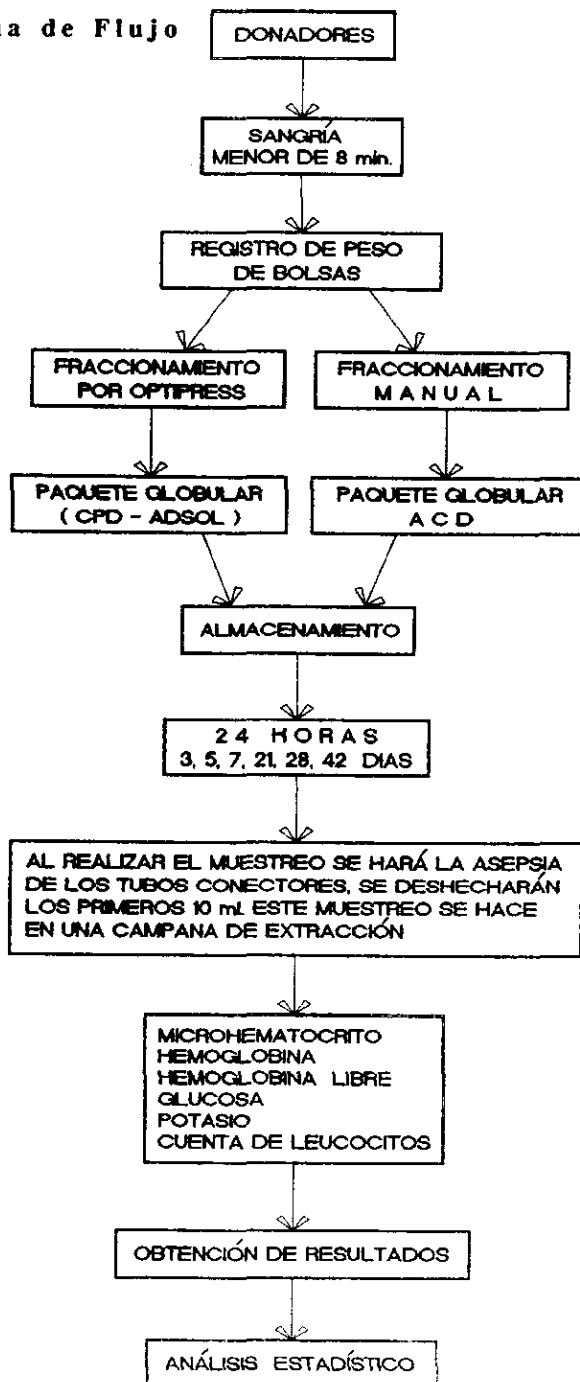
- Pipeta semiautomática de 250 μ l.
- Pipeta semiautomática de 100 μ l.
- Pipeta semiautomática de 25 μ l.
- Pipeta semiautomática de 20 μ l.
- Pipeta semiautomática de 10 μ l.
- Pipeta volumétrica de 5 ml.
- Pipeta graduada de 5 y 10 ml.
- Probeta de 250, 100, y 50 ml.
- Tubos de ensayo 13 x 100 mm.
- Tubos de ensayo de 7 x 15 mm.
- Cámaras de Neubauer.
- Cubrehemocitómetro.
- Puntas para pipeta semiautomática de 100 μ l, 250 μ l.
- Perilla de seguridad.
- Guantes y Cubre boca.
- Gasas, pinzas, tijeras, contenedores de desecho biológico.

7.3 Equipo

- Optipress (Automated Blood Component Extractor Operator's Manual).
- Centrifuga Sorvall © RC 3B / Plus DUPONT.
- Centrifuga (de tubos).
- Microcentrifuga Solvat Mod. H - 07.

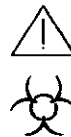
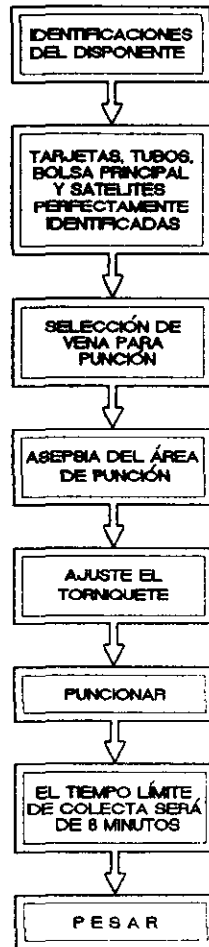
- Flamómetro 343 IL.
- Espectofotómetro Coleman Junior II Mod. 6 | 35 (325-825).
- Espectofotómetro PM2 DL Zeiss (290-850).
- Hematrón (Sellador de tubo colector).
- Terumo (Sellador Estéril).
- Campana estéril.

7.4 Diagrama de Flujo



7.5 Métodos

Obtención de sangre total de donadores con base en criterios de inclusión y exclusión.



Al fin de la sangría se realiza el pesado de la bolsa y se procede a su fraccionamiento en el Optipress. Al paquete globular completo (anticoagulante CPD - Adsol y ACD) obtenidas, se realizará el muestreo y la cuantificación de los siguientes parámetros en los días establecidos:

- Hemoglobina Libre.
- Glucosa.
- Potasio.
- Microhematocrito.
- Hemoglobina.
- Cuenta de Leucocitos.

TÉCNICAS

7.5.1 *Microhematocrito*

Fundamento

Separación de paquete eritrocitario del plasma a una velocidad regulada para obtener el paquete eritrocitario sin cambio alguno.

Técnica

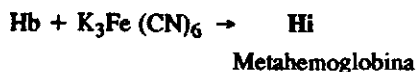
PASO	ACCIÓN	COMENTARIO
1.01	HOMOGENICE LA SANGRE	CON MOVIMIENTOS CIRCULARES
1.02	LLENE HASTA 3/4 PARTES DE SANGRE CAPILAR	
1.03	SELLAR A LA FLAMA UNO DE LOS DOS EXTREMOS DEL CAPILAR	CUIDADO DE NO QUEMAR LA SANGRE PARA PREVENIR HEMOLISIS
1.04	CENTRIFUGUE EL CAPILAR	POR DUPLICADO
1.05	LEER Y REPORTAR	POR CIENTO DE HEMATOCRITO



7.5.2 Hemoglobina

Fundamento

La sangre se hemoliza por un agente tensoactivo que es agregado. Se emplea una solución de ferrocianuro y cianuro de potasio. El ferrocianuro convierte el hierro ferroso de la hemoglobina en férrico para formar metahemoglobina, que se combina con el cianuro potásico para formar cianometahemoglobina.



Técnica

PASO	ACCIÓN	COMENTARIO
2.01	COLOQUE 5 ml. DE REACTIVO DILUYENTE DE DRABKIN	EVÍTESE EXPONER A LA LUZ
2.02	LLENE LA PIPETA DE SAHLI CON 0.02 ml. DE SANGRE O PG	
2.03	LIMPIE EL EXTERIOR DE LA PIPETA	
2.04	DESCARGUE EL CONTENIDO DE LA PIPETA Y SIMULTÁNEAMENTE LIMPIELA	LA LIMPIEZA SE REALIZA ASPIRANDO Y EXPELIENDO CUIDADOSAMENTE CON LÍQUIDO LIMPIO
2.05	MEZCLE Y DEJE REPOSAR 10 MINUTOS	
2.06	LEER A 540 nm EN ESPECTOFOTOMETRO	REPORTAR mg / dl



7.5.3 Hemoglobina Libre

Fundamento

Todas las proteínas que contienen el grupo HEM poseen una acción catalítica tipo peroxidasa; en la prueba se aprovecha esta propiedad como catalizador de la acción de la bencidina por peróxido de hidrógeno, desarrollándose finalmente un color rojo - violáceo. La intensidad del color puede ser comparada con soluciones de hemoglobina de concentración conocida con ayuda de un fotocolorímetro.

Técnica

PASO	ACCIÓN	COMENTARIO
3.01	COLOQUE 500 μ / DE BENCIDINA *	NO ASPIRARSE O MANEJARLO EN CAMPANA DE EXTRACCIÓN
3.02	COLOQUE 25 μ / DE LA MUESTRA	AGITAR FUERTEMENTE
3.03	COLOQUE 250 μ / DE PEROXIDO DE HIDRÓGENO AL 1%	LA SOLUCIÓN SE TORNARÁ VERDOSA
3.04	DEJE REPOSAR UNA HORA A TEMPERATURA AMBIENTE	
3.05	COLOQUE 5 ml DE ÁCIDO ACÉTICO AL 20%	AGITAR INVIRTIENDO
3.06	LEER A 550 nm. EN ESPECTOFOTOMETRO	REPORTAR mg / dl DE HEMOGLOBINA LIBRE

NOTA: TODO EL MATERIAL A UTILIZAR SERÁ LIBRE DE HIERRO. EL CONTROL TESTIGO - BLANCO, ESTÁNDAR SECUNDARIO Y MUESTRA NORMAL SE TRATARÁN DE LA MISMA FORMA QUE LA MUESTRA

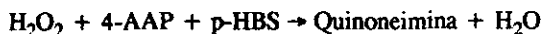
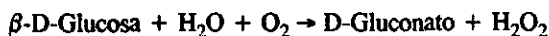
* LA PROLONGADA INHALACIÓN TIENE EFECTOS CANCERIGENOS



7.5.4 Glucosa

Fundamento

La glucosa es oxidada a D-Gluconato por la glucosa oxidasa (GOD) con formación de una cantidad equimolar de peróxido de hidrógeno. En presencia de peroxidasa (HPOD), la 4-Aminoantipirina (4-AAP) y el p-Hidroxibencensulfonato (p-HBS) son oxidados por el peróxido de hidrógeno para formar un compuesto de quinoneimina de color rojo. La intensidad de color en la reacción es proporcional a la cantidad de glucosa en la muestra.



Técnica

PASO	ACCIÓN	COMENTARIO
4.01	COLOQUE 2 ml DE REACTIVO "A" EN UN TUBO DE VIDRIO	
4.02	COLOQUE 20 μ l DE LA MUESTRA	AGITAR SUAVEMENTE
4.03	DEJE REPOSAR 20 MIN. A TEMPERATURA AMBIENTE	
4.04	LEER A 510 nm, EN ESPECTOFOTOMETRO	REPORTAR mg / l DE GLUCOSA



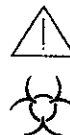
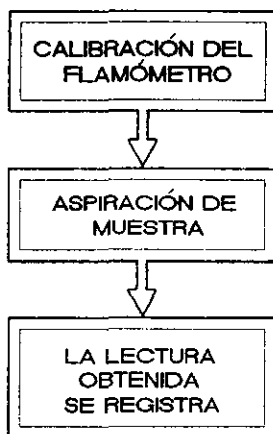
NOTA: EL CONTROL TESTIGO - BLANCO, ESTÁNDAR 1, ESTÁNDAR 2, CONTROL NORMAL Y CONTROL ANORMAL SE TRATARÁN DE LA MISMA FORMA QUE LA MUESTRA

7.5.5 Potasio

Fundamento

Los metales alcalinos, cuando son expuestos a temperaturas muy altas, absorben energía la cual emiten en forma de luz, así mismo entran de un estado basal a uno excitado. Cuando estos átomos se enfrían, regresan a su estado basal emitiendo la energía que absorbieron con una longitud de onda específica para cada elemento, para litio, sodio y potasio, las transiciones intensas serían $2p \rightarrow 2s$ (671nm), $3p \rightarrow 3s$ (589 nm) y $4p \rightarrow 4s$ (767 nm), respectivamente. La luz emitida durante estas transiciones se mide mediante fotometría de flama.

Técnica

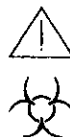
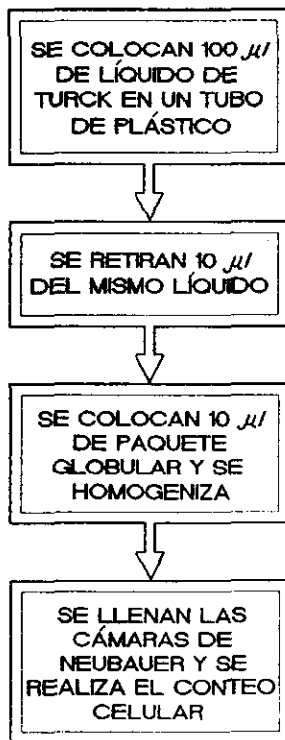


7.5.6 Cuenta de Leucocitos (Técnica en tubo)

Fundamento

Los leucocitos como células nucleadas permanecen intactas ante una solución hipotónica ácida, la cual hemoliza los hematíes y tiñe tenuemente a los leucocitos para su mejor observación.

Técnica



7.6 DISEÑO ESTADÍSTICO

En este estudio se aplicó un método no paramétrico, basándose en las dos poblaciones obtenidas y después de realizar una prueba de bondad y ajuste para establecer la normalidad que presentaban los datos. Se aplicó la prueba de Mann - Whitney también conocida como " prueba U ". Esta prueba se basa en los rangos de las observaciones, utiliza más información en comparación a otras pruebas (prueba de la mediana). Las suposiciones que fundamentan la prueba de Mann - Whitney son las siguientes:^{44,45,46}

1) Las dos muestras, de tamaño n y m respectivamente, que se utilizan para el análisis han sido extraídas independientemente y en forma aleatoria de sus poblaciones respectivamente.

2) La escala de medición es por lo menos ordinal.

Este tipo de prueba o análisis se realiza a muestras que no se comportan en forma normal, como es en la mayoría de los experimentos biológicos. Para calcular la estadística de prueba se procede a combinar las dos muestras y las observaciones se ordenan de menor a mayor teniendo presente a cuál muestra pertenece cada observación. A las observaciones de igual valor numérico se les asigna un rango igual a la media de las posiciones en las que se encuentran "empataadas".

El criterio para rechazar la hipótesis nula, H_0 de igualdad de poblaciones es:

H_0 se rechaza si p es menor que 0.05

Para establecer los intervalos de referencia se utilizaron intervalos de la mediana, debido a que la distribución de las variables no cumple con el criterio de Normalidad.^{47,48}

Se emplearon diagramas de cajas ya que son un dispositivo visual muy útil para comunicar información contenida en un conjunto de datos.

8. RESULTADOS

Los resultados obtenidos en el estudio realizado muestran (Cuadro 1A) que las bolsas de paquete eritrocitario en ADSOL a los 21, 28 y 42 días de almacenamiento y las bolsas en ACD a los 21 días de almacenamiento presentan diferencias estadísticamente significativas entre sí tanto en los valores de potasio, hemoglobina libre y glucosa.

Tiempo / Variable	Valores	Hgb (g/dl)	Valores	Hgb † Tot (mg/dl)	Valores	Glucosa (mg/dl)	Valores	Potasio (mEq/L)	Valores	Porcentaje de Hemólisis
Basal ACD / Basal ADSOL	◇24.58 + 20.89	DES	◇55.62 + 42.04	DES	◇236.88 +359.07	DES	◇7.05 + 5.16	DES	◇4.55 + 4.23	NDES
21 días ACD / 21 días ADSOL	◇23.85 + 20.78	DES	◇230.80 + 138.16	DES	◇100.27 +346.11	DES	◇31.84 + 27.96	DES	◇20.44 + 14.68	NDES
21 días ACD / 28 días ADSOL	◇23.85 + 21.39	DES	◇230.80 +174.42	DES	◇100.27 +333.96	DES	◇31.84 + 36.26	DES	◇20.44 + 18.34	NDES
21 días ACD / 42 días ADSOL	◇23.85 + 21.16	DES	◇230.80 +259.50	DES	◇100.27 + 330.12	DES	◇31.84 + 42.02	DES	◇20.44 + 27.55	DES

Cuadro No. 1A

Hemoglobina = Hgb

Hemoglobina libre total = Hgb † Tot.

◇ Valores de ACD

+ Valores de ADSOL

DES = Diferencia Estadísticamente Significativa.

NDES = No existe Diferencia Estadísticamente Significativa.

Se observó que los valores de estas variables presentan diferencias estadísticamente significativas en tiempos intermedios 3, 5 y 7 días (gráficas 1-5). La variable de Porcentaje de Hemólisis presenta diferencia estadísticamente significativa solamente en el día 42.

En las gráficas de cajas (6, 7, 8, y 9) se presentan una serie de valores extremos los cuales serán analizados más adelante.

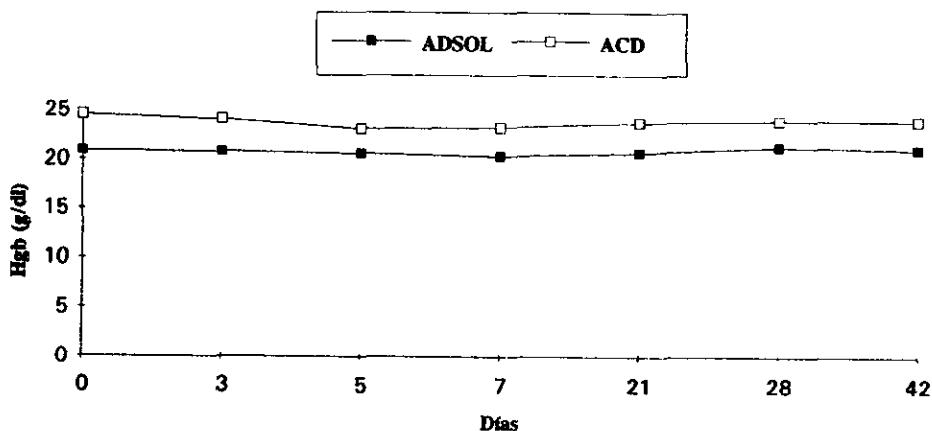
En el cuadro No. 2A se observan los intervalos de referencia obtenidos para las 63 muestras de ADSOL (paquetes eritrocitarios) a los diferentes tiempos, establecidos al inicio del experimento, así como para las diferentes variables utilizadas (hemoglobina g/dl, hemoglobina libre, potasio, glucosa y porcentaje de hemólisis).

Intervalos de Referencia para las 63 muestras de ADSOL

Variables/Tiempo	Basal	3°	5°	7°	21°	28°	42°
Hemoglobina (mg/dl)	20.26 21.25 ^a	20.59 21.32 ^a	20.14 20.79 ^a	19.57 20.36 ^a	19.92 20.99 ^a	19.43 20.50 ^a	19.92 21.01 ^a
Hemoglobina Libre Total (mg/bolsa)	31.20 48.15 ^a	53.91 69.50 ^a	66.61 76.74 ^a	69.97 20.36 ^a	118.08 142.92	137.49 171.76 ^a	168.30 497.24 ^a
Potasio (meq/l)	4.21 5.38 ^a	9.88 11.40 ^a	12.29 14.30 ^a	15.36 17.83 ^a	25.62 29.57 ^a	35.47 40.70 ^a	42.01 47.38 ^a
Glucosa (mg/dl)	354.36 364.59 ^a	351.10 363.45 ^a	354.39 364.56 ^a	363.10 372.87 ^a	335.35 351.48 ^a	322.83 347.06 ^a	322.07 338.90 ^a
Hemólisis (porcentaje)	3.46 4.82 ^a	5.44 7.62 ^a	7.31 9.01 ^a	8.03 10.57 ^a	13.55 15.88 ^a	14.63 18.70 ^a	16.91 50.59 ^a

Cuadro No. 2A

Comparación de medias de hemoglobina (g/dl) entre ACD y ADSOL



Gráfica 1

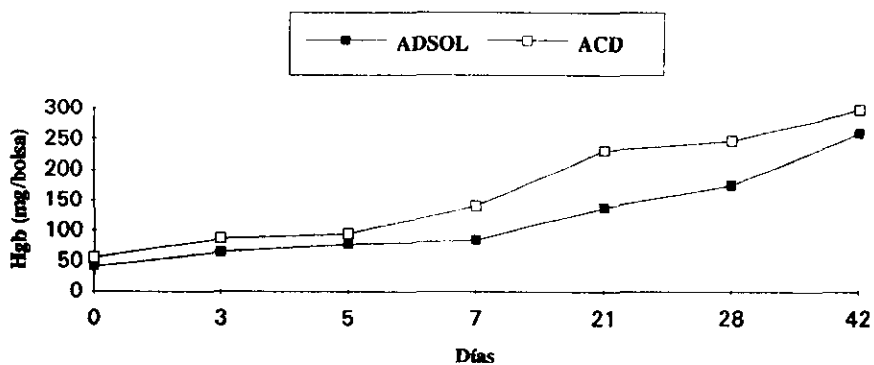
Comparación de medias entre las 44 muestras de ACD y las 63 muestras de ADSOL, a diferentes tiempos. En esta gráfica se observa que las medias de hemoglobina con Adsol se encuentran por debajo de los valores obtenidos para ACD, esto debido a la misma dilución que provoca el aditivo.

Medias de Hemoglobina (g/dl)

Días	Medias ADSOL	Medias ACD
0	20.89	24.58
3	20.84	24.14
5	20.66	23.18
7	20.41	23.31
21	20.78	23.85
28	21.39	24.03
42	21.16	24.03

Tabla No. 1

**Comparación de medias de Hemoglobina libre total (mg/bolsa)
entre ACD y ADSOL**



Gráfica 2

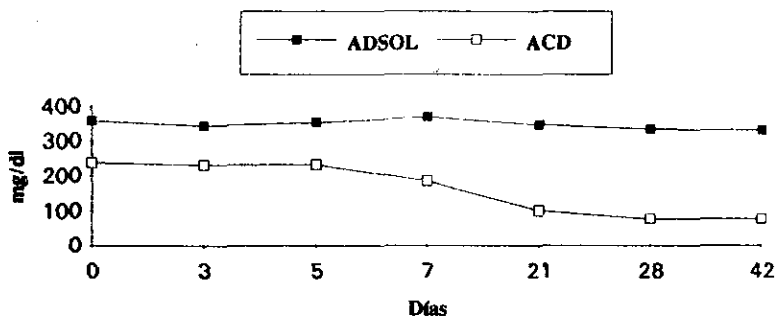
Comparación de medias entre las 44 muestras de ACD y las 63 muestras de ADSOL, a diferentes tiempos. En esta gráfica se observa que las medias de la hemoglobina libre con Adsol se encuentra por debajo de los valores obtenidos para las muestras de ACD, lo que nos permite establecer que el aditivo evaluado está funcionando, hasta cierto tiempo, día 28.

Medias de Hemoglobina libre total (mg/bolsa)

Días	Medias ADSOL	Medias ACD
0	42.04	55.62
3	64.62	87.37
5	77.39	95.36
7	85.34	140.38
21	138.16	230.81
28	174.42	247.01
42	259.51	298.41

Tabla No. 2

Comparación de medias de Glucosa (mg/dl) entre ACD y ADSOL



Gráfica 3

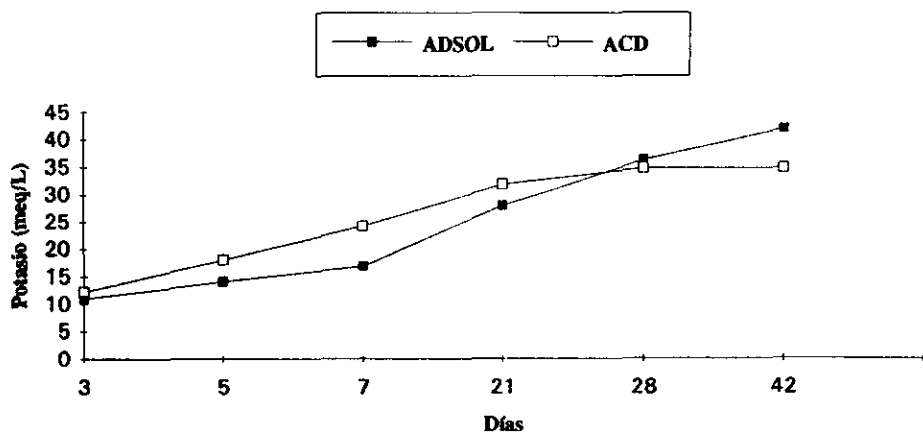
Comparación de medias entre las 44 muestras de ACD y las 63 muestras de ADSOL, a diferentes tiempos. En esta gráfica se observa que las medias de glucosa para las muestras de Adsol son valores muy altos en comparación con las medias de ACD, este comportamiento se debe a la cantidad de glucosa que presenta el aditivo por sí mismo, sin embargo no se observa la disminución en las muestras de Adsol como se esperaba.

Medias de Glucosa (mg/dl)

Días	Medias ADSOL	Medias ACD
0	359.07	236.88
3	344.44	231.13
5	353.79	232.81
7	369.29	185.83
21	346.11	100.27
28	333.96	77.45
42	330.12	77.45

Tabla No. 3

Comparación de medias de Potasio (meq/L) entre ACD y ADSOL



Gráfica 4

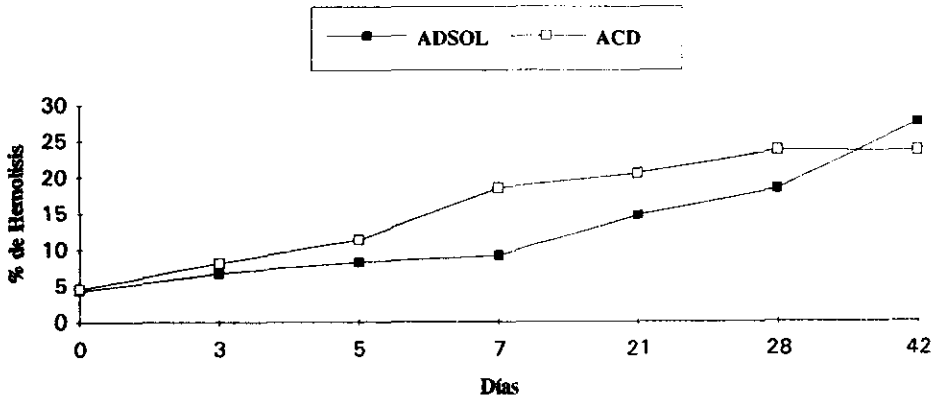
Comparación de medias entre las 44 muestras de ACD y las 63 muestras de ADSOL, a diferentes tiempos. En esta gráfica las medias de Adsol muestran que el valor de potasio se mantiene por debajo en comparación a las muestras de ACD hasta el día 21.

Medias de Potasio (meq/L).

Días	Medias ADSOL	Medias ACD
0	5.16	7.05
3	10.92	12.26
5	14.11	18.06
7	16.97	24.27
21	27.96	31.84
28	36.26	34.74
42	42.02	34.74

Tabla No. 4

Comparación de medias de Porciento de Hemólisis entre ACD y ADSOL



Gráfica 5

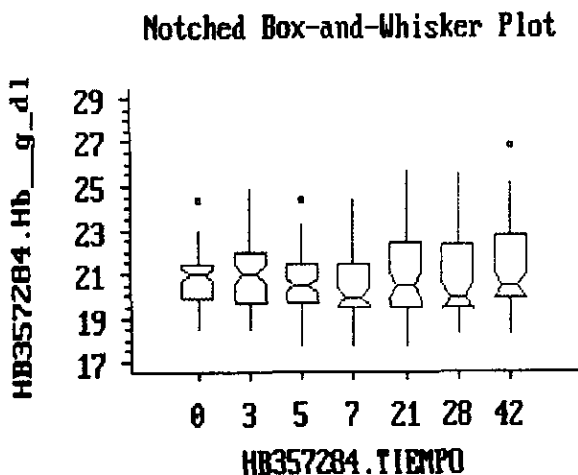
Comparación de medias entre las 44 muestras de ACD y las 63 muestras de ADSOL, a diferentes tiempos. El porciento de hemólisis para las muestras de Adsol es menor en comparación a las muestras de ACD hasta el día 28, ya que observamos un salto en dirección contraria en el día 42

Medias de porciento de Hemólisis

Días	Medias ADSOL	Medias ACD
0	4.23	4.55
3	6.73	8.15
5	8.17	11.31
7	9.11	18.43
21	14.68	20.44
28	18.34	23.65
42	27.55	23.59

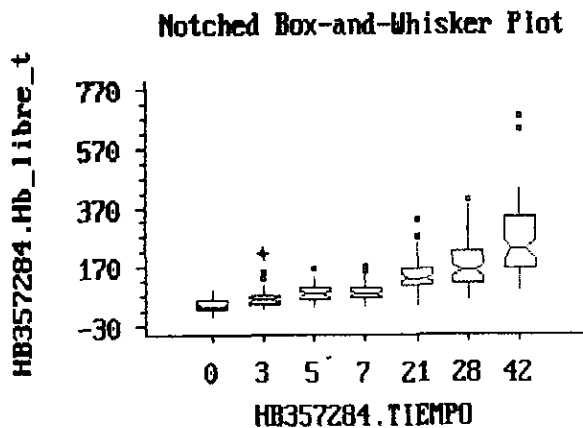
Tabla No. 5

Gráfica No. 6 Diagrama de caja múltiple para las 63 muestras de Hemoglobina (g/dl) con ADSOL a diferentes tiempos.



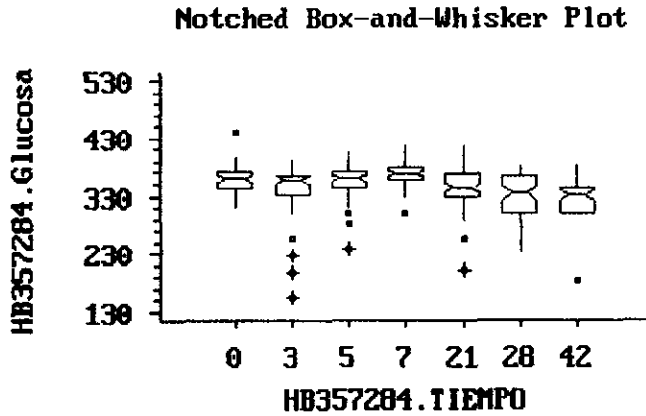
En esta gráfica se observa que existe una tendencia en los valores hasta el día 5°, pero a partir del día 7° los valores se agrupan en la escala menor de la gráfica (18-20), existiendo muy pocos casos de valores altos.

Gráfica No. 7 Diagrama de caja múltiple para las 63 muestras de Hemoglobina libre Total (mg/bolsa) con ADSOL a diferentes tiempos.



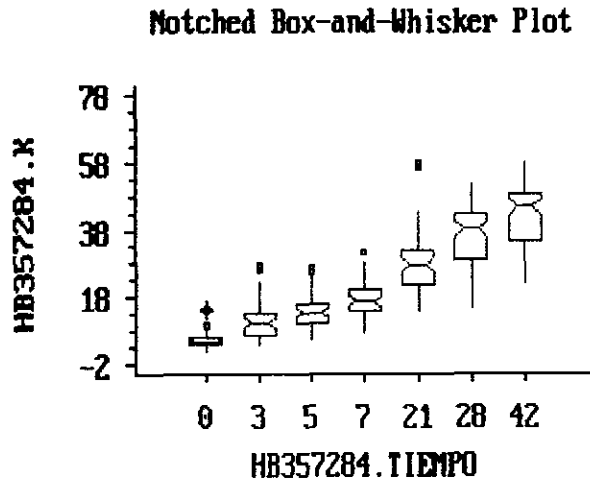
En esta gráfica la tendencia de la hemoglobina libre es a incrementarse como van transcurriendo los días, presentándose casos de datos extraordinarios en valores aun más altos que el grosor de los resultados.

Gráfica No. 8 Diagrama de caja múltiple para las 63 muestras de Glucosa (mg/dl) con ADSOL a diferentes tiempos.



En esta gráfica se observa que existe una gran cantidad de valores extraordinarios que probablemente se presentaron por errores inherentes al método. A pesar de estos valores extremos el grosor de la población se encuentra entre 355.00 y 367.5 mg/dl.

Gráfica No. 9 Diagrama de caja múltiple para las 63 muestras de Potasio (meq/L) con ADSOL a diferentes tiempos.



En esta gráfica la tendencia del Potasio es incrementarse rápidamente con el tiempo, presentándose valores extremos al principio de las evaluaciones (0, 3, 5 días) esto debido a que las primeras determinaciones se realizaron en equipos diferentes.

9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

De acuerdo a los resultados es posible observar que existe una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre las dos muestras, para las variables analizadas, excepto por ciento de hemólisis en el tiempo 0, 21, y 28 días.

Para poder observar con claridad cada una de nuestras variables y su comportamiento en el experimento se discutirán por separado.

Hemoglobina Libre Total

Se observa en la **gráfica 2** que la cantidad de hemoglobina libre total (mg/bolsa), utilizando como aditivo el ADSOL se encuentra por debajo de los valores reportados en la bibliografía hasta el 21 día (138.16 mg/bolsa) éste valor es el esperado ya que 21 días presenta aproximadamente la mitad de la vigencia para ADSOL, el valor obtenido para el día 28 es de 174.42 mg/bolsa (**tabla 2**) . El valor obtenido para el día 42 es de 259.50 mg/bolsa el cual se encuentra fuera de los valores recomendados (228.80 mg/bolsa) para la realización de una transfusión con niveles de hemólisis aceptable. Este comportamiento se basa en la concepción de que el aditivo en este caso ADSOL no está cumpliendo la función preestablecida que es mantener la viabilidad de los eritrocitos²⁷ para conservarse por períodos prolongados como son 42 días.¹³ El eritrocito al verse desprovisto de una protección efectiva que debe darle la membrana celular, empieza a sufrir cambios, deformaciones y rupturas. La depleción de ATP produce deformidad en los eritrocitos como resultado de la pérdida de lípidos en la membrana, la depleción metabólica conduce a la desfosforilación de la espectrina y la pérdida de deformabilidad celular^{15,6}. La depleción de ATP no es el único factor inmiscuido en este fenómeno ya que el 2,3-Difosfoglicerato (DPG) puede descender desde el 100% a menos del 10 % durante el almacenamiento^{15,6}. Es por esto que debe trabajarse la sangre y todos sus componentes de una manera adecuada ya que la generación de hemoglobina libre puede producir intoxicación en ciertos pacientes como : pacientes con función hepática deficiente o problemas renales. La hemoglobina puede dañar al riñón en dos formas principalmente:

primera, cuando se excreta en grandes concentraciones, puede causar la obstrucción física de los túbulos y/o puede lesionar los túbulos al ser reabsorbida en altas concentraciones.¹⁵

Al realizar el análisis y los gráficos correspondientes a la hemoglobina libre total se observaron datos extraordinarios, estos se observan en la **gráfica 7**, este tipo de datos son inherentes en cualquier estudio. Un mal muestro, la agitación mecánica prolongada, mediciones inexactas, lecturas ambiguas, o una incorrecta homogenización pueden ser los factores desencadenantes de estos datos.

Glucosa

En el cuadro 1 se observa que las 2 muestras trabajadas presentan una diferencia estadísticamente significativa, este fenómeno se puede observar de manera detallada en la **gráfica 3** en la que se ve que los valores estimados para ADSOL se encuentran por arriba de los valores que se manejan para ACD (**tabla 3**), esto se debe a la alta concentración de glucosa que presenta el ADSOL por si solo, ya que cada 100 ml de este aditivo contienen 2.2 g de Dextrosa (monohidratada) USP y 379.07 mg/dl de glucosa. El fenómeno que se está observando es el esperado ya que la principal fuente de energía de los eritrocitos durante el almacenamiento es la dextrosa que contiene el aditivo. La disminución de la dextrosa en las muestras de ADSOL no es tan importante como la que se observa en las de ACD. La cantidad de glucosa permite que los eritrocitos sean rodeados de estas moléculas proveyéndoles de energía. Una concentración alta de glucosa provocaría que el eritrocito no tenga la necesidad de buscar una fuente de energía, por lo que su metabolismo se encuentra en reposo, esto aunado a la baja temperatura de almacenamiento la cual minimiza el metabolismo del eritrocito. En las bolsas de ACD la cantidad de glucosa es mínima, por lo que los eritrocitos se ven en la necesidad de encontrar una fuente de energía provocando que su metabolismo sea más activo, al analizar la gráfica 3 se observa que el decremento de la glucosa en estas muestras es considerable. Para descartar la posibilidad de que la glucosa hubiese sido consumido por bacterias se realizó la siembra de las muestras en agar tripticasa al 2% siendo los resultados negativos. La sangre en ADSOL presenta una gran cantidad de glucosa lo que es importante de analizar, ya que la sangre fraccionada por este sistema no podrá ser transfundida a pacientes con padecimientos como Diabetes sin la supervisión estricta del

médico y sólo bajo su criterio y vigilancia se podrá realizar el procedimiento, ya que bajo una descarga tal de glucosa se podrá inducir a un estado transitorio de hiperinsulinismo. Cabe mencionar que los pacientes diabéticos suelen presentar problemas de nefropatía diabética, ésta se presenta por causa de bacterias que colonizan la uretra y da paso a una insuficiencia renal. Los diabéticos compensan bien su problema de concentración de glucosa ya que la sangre al presentar concentraciones altas de ésta, ya no es absorbida en el riñón puesto que este presenta su umbral renal máximo, que es aproximadamente de 9.5mmol/L a 10.0 mmol/L, por consiguiente lo que resta de la glucosa pasa directamente a la orina.

Otro sector importante que nos interesa estudiar es el caso de los recién nacidos normoglicémicos. En estos es improbable que la glucosa cause algún problema, dosis con exceso de dextrosa 6 mg/kg/min (0.3 mmol/kg/min) (360 mg/kg/hr) muy probablemente cause hiperinsulinismo el cual después de un par de horas desaparece. Este problema se minimiza utilizando transfusiones no mayores de 10 ml por kilogramo de peso.

Al realizar el análisis y los gráficos correspondientes a la glucosa se observaron datos extraordinarios, estos se observan en la **gráfica 8**, este tipo de datos son inherentes en cualquier estudio. Un mal muestro, la agitación mecánica prolongada, mediciones inexactas, lecturas ambiguas, o una incorrecta homogenización pueden ser los factores desencadenantes de estos datos.

Potasio

La hiperpotasemia fue una de las complicaciones citadas por Miller y col. en 1952 con sangre preservada en ACD³⁶ en nuestros tiempos perdura la preocupación por las complicaciones que presenta realizar una transfusión con sangre que tenga grandes concentraciones de potasio.

En este estudio se realizó la evaluación del potasio a diferentes intervalos, presentando los siguientes resultados, en la **gráfica 4** se observa que el potasio en las

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

bolsas con Adsol se mantienen por debajo de los valores de las bolsas con ACD. El día 28 ambas presentan una cantidad similar de potasio que se encuentra alrededor de los 35 mEq/L, observándose un aumento en el día 42 que sobrepasa a las bolsas de ACD (tabla 4).

La distribución de potasio entre los espacios interno y externo de las células es importante debido a que determina el potencial eléctrico de la membrana celular y por tanto afecta la excitación y contracción de las células neuromusculares. La concentración de potasio dentro de las células es muy elevada, cerca de 120 a 150 mEq/L, mientras que fuera de las células es de casi solo 4 mEq/L, los hematíes presentan en su interior un potasio de 100 mEq/L (de concentrado globular).¹¹ Las alteraciones por hiperpotasemia incluyen parestesias, debilidad muscular, arritmias cardíacas y en el peor de los casos alteraciones del electrocardiograma.

La hiperpotasemia puede ser causada por varios factores, sin embargo el que en estos momentos nos atañe es a causa de una transfusión de sangre con altos niveles de potasio, que en pacientes con insuficiencia renal aguda y neonatos puede ser fatal. Se ha reportado la muerte de neonatos en cirugía cardíaca a consecuencia de transfusiones realizadas con paquetes eritrocitarios conteniendo altos niveles de potasio en plasma (60 mmol/L), este efecto es atribuido al impacto en el potencial de la membrana. En el corazón se han observado modestos niveles de K^+ , en el 60 % de los casos de arritmias cardíacas en neonatos con un peso menor de 1500 g han sido asociadas a niveles altos de potasio (más de 7.5 mmol/L).²⁴ Por esta razón neonatos para intervención quirúrgica, exanguinotransfusión (ET), oxigenación de membrana extracorporeal (ECMO) etc. seguirán transfundiéndose con sangre de menos de 5 días de almacenamiento.^{43,42}

Aunque es bien conocido el valor de la exanguinotransfusión (ET) en el tratamiento de la hiperbilirrubinemia neonatal, este es un procedimiento técnico en el cual puede haber riesgos y complicaciones, se detectan alteraciones bioquímicas en recién nacidos sometidos a ET relacionadas con el uso de diferentes soluciones preservadoras así como el tiempo de almacenamiento de la sangre por lo que es importante mantener los niveles de potasio en 6.0 mEq/L como máximo³⁶.

Al realizar el análisis y los gráficos correspondientes al potasio se observaron datos extraordinarios, estos se observan en la *gráfica 9 y 10*, este tipo de datos son inherentes en cualquier estudio. Un mal muestreo, la agitación mecánica prolongada, mediciones inexactas, lecturas ambiguas, o una incorrecta homogenización pueden ser los factores desencadenantes de estos datos.

Los valores de referencia obtenidos fueron calculados por medianas ya que bajo el criterio de la U de Mann-Whitney se decidió globalizarlo. Se utilizó profundidad de mediana, dispersión de cuartos e intervalo de confianza de la mediana.^{46,47}

10. CONCLUSIONES

El presente trabajo me permitió concluir que las bolsas de paquete eritrocitario fraccionadas con el sistema opti-press conteniendo como aditivo ADSOL manejadas con donadores mexicanos, procedimientos mexicanos para la determinación de las variables previamente establecidas (hemoglobina libre, glucosa y potasio) y condiciones de equipo mexicano, no garantizan la conservación de los eritrocitos hasta 42 días ya que el aumento de la hemoglobina libre en este lapso (259.5 mg/bolsa) está por encima de la de 21 días de ACD (230.80 mg/bolsa) lo que no se esperaba, ya que bajo el criterio de garantía de las bolsas, este valor debería ser igual o por debajo del valor de las bolsas actualmente usadas en un lapso de 21 días. Refiriéndonos al valor concerniente al potasio esta sangre podrá ser usada hasta el día 28 de almacenamiento. En pacientes neonatos y aquellos con problemas de insuficiencia renal, se seguirá utilizando sangre de menos de 5 días de extracción o bien sangre lavada.

Este sistema, así como las bolsas no deben ser descartados por no cumplir con la garantía referente al tiempo, ya que presta un importante servicio como es el minimizar el tiempo de fraccionamiento, de igual manera se está garantizando un producto de alta calidad en un menor tiempo. Cabe señalar que este sistema nos provee de paquetes eritrocitarios bajos en leucocitos, por lo tanto el tiempo requerido para su lavado será suprimido, dando oportunidad al personal de desempeñar otras actividades, así mismo los paquetes al no presentar leucocitos favorecen al paciente para no

Al realizar el análisis y los gráficos correspondientes al potasio se observaron datos extraordinarios, estos se observan en la *gráfica 9 y 10*, este tipo de datos son inherentes en cualquier estudio. Un mal muestreo, la agitación mecánica prolongada, mediciones inexactas, lecturas ambiguas, o una incorrecta homogenización pueden ser los factores desencadenantes de estos datos.

Los valores de referencia obtenidos fueron calculados por medianas ya que bajo el criterio de la U de Mann-Whitney se decidió globalizarlo. Se utilizó profundidad de mediana, dispersión de cuartos e intervalo de confianza de la mediana.^{46,47}

10. CONCLUSIONES

El presente trabajo me permitió concluir que las bolsas de paquete eritrocitario fraccionadas con el sistema opti-press conteniendo como aditivo ADSOL manejadas con donadores mexicanos, procedimientos mexicanos para la determinación de las variables previamente establecidas (hemoglobina libre, glucosa y potasio) y condiciones de equipo mexicano, no garantizan la conservación de los eritrocitos hasta 42 días ya que el aumento de la hemoglobina libre en este lapso (259.5 mg/bolsa) está por encima de la de 21 días de ACD (230.80 mg/bolsa) lo que no se esperaba, ya que bajo el criterio de garantía de las bolsas, este valor debería ser igual o por debajo del valor de las bolsas actualmente usadas en un lapso de 21 días. Refiriéndonos al valor concerniente al potasio esta sangre podrá ser usada hasta el día 28 de almacenamiento. En pacientes neonatos y aquellos con problemas de insuficiencia renal, se seguirá utilizando sangre de menos de 5 días de extracción o bien sangre lavada.

Este sistema, así como las bolsas no deben ser descartados por no cumplir con la garantía referente al tiempo, ya que presta un importante servicio como es el de minimizar el tiempo de fraccionamiento, de igual manera se está garantizando un producto de alta calidad en un menor tiempo. Cabe señalar que este sistema nos provee de paquetes eritrocitarios bajos en leucocitos, por lo tanto el tiempo requerido para su lavado será suprimido, dando oportunidad al personal de desempeñar otras actividades, así mismo los paquetes al no presentar leucocitos favorecen al paciente para no

desencadenar reacciones febriles después de la transfusión, o reacciones no hemolíticas. Los paquetes eritrocitarios libres de leucocitos se ha observado que no hemolizan tan rápidamente.³⁹

Es por todo lo señalado que se recomienda utilizar las bolsas opti-pac bajo la consigna de que el almacenamiento será solamente de 28 días y no de 42 días.

Los valores de referencia obtenidos en este trabajo son importantes ya que fueron obtenidos de pacientes mexicanos con técnicas y equipos mexicanos, lo que permitirá al paciente tener la seguridad que se le está ofreciendo un producto especialmente para él. Así mismo estos datos permitirán a control de calidad de Banco de Sangre realizar un seguimiento de sus productos almacenados de una manera confiable. Además permitirá la evaluación de nuevos productos (bolsas, aditivos, etc.) de una manera más sencilla.

REFERENCIAS

- 1 Anderson K C, Ness P M. Scientific basis of transfusion medicine implication for clinical practice. U S A: 1994: 188-197.
- 2 Anderson S C. *Química clínica*. México: Interamericana Mc Graw-Hill, 1995: 87-89, 145-146, 405.
- 3 Cogan M G. *Líquidos y Electrolitos*. México D.F.: Manual moderno S.A.,1993: 145-168, 187-198.
- 4 Guízar Vázquez J J. *Genética clínica*. 2ª ed. México D.F.: Manual moderno S.A. de C. V., 1994: 190-206.
- 5 Harrison's. *Principales of internal medicina*. 10ª ed. México D.F.: McGraw-Hill, 1984: 226-231, 282-287, 1862-1869, 1912-1917.
- 6 Henry J B. *Diagnóstico y tratamiento clínico por el laboratorio*. 9ª ed. México D.F.:Ediciones científicas y técnicas S.A.,1994: 37, 966-972, 1432.
- 7 Ióvine E. *El laboratorio en la clínica*. 3ª ed. Buenos Aires: Panamericana, 1993: 104-107, 208-212, 268-275, 521.
- 8 Janett Leonard. *Métodos y diagnósticos del laboratorio clínico*. 8ª ed. Argentina: Médica panamericana, 1983: 200-210.
- 9 Kaplan A. *Clinical Chemistry Interpretation y techniques*. 3ª ed. U S A, Lea & Febiger Philadelphia, 1988: 8-17, 244-259.
- 10 Kaplan L A. *Química clínica*. Argentina, Buenos Aires: Panamericana S.A., 1990: 442-445, 1268-1272.
- 11 Kelton. *Transfusión sanguínea*. Doyma, 1984: 21-58.

- 12 Kokko J P. Líquidos y electrólitos. Buenos aires, Argentina: Médica panamericana S.A., 1988: 802-803.
- 13 Mazza J J. Manual de Hematología Clínica. Barcelona, España: Salvat editores S.A., 1990: 77-81, 366-367.
- 14 Miale J B. Hematología Medicina de Laboratorio. 6ª ed. España: Revesté, S.A, 1985: 418-423.
- 15 Mollison P L, Engel C P. Blood transfusion in clinical medicine. 9ª ed. U S A: Blackwell Scientific Publications, 1993:16-35, 456-568.
- 16 Murray Robert K. Bioquímica de Harper. 13ª ed. México, D.F.: El manual moderno, S.A. de C.V., 1994: 203-212, 223-245, 824-833.
- 17 Orten J M , Neuhaus O W. Bioquímica humana. 10ª ed. Buenos Aires: Médica panamericana, 1993: 477-517.
- 18 Rossi E C. Principales of transfusion medicine. 2ª ed. U S A: Williams y Wilkins, 1996: 51-58, 607-612.
- 19 Skoog D A. Química clínica. 4ª ed. España: MacGraw - Hill, 1990: 489-494.
- 20 Tood - Sanford - Davidsohn. Diagnóstico y tratamiento clínico por el laboratorio. 8ª ed. México D.F.: Salvat editores S.A., 1991:vol 2: 210-214.
- 21 Chambers Linda A. Evaluation of a filter-syringe set for preparation of packed cell aliquots for neonatal transfusion. A.J.C.P.1995;104:253-257.
- 22 Cook S. Gunter J. Wissel M. Effective use of a strategy using assigned red cell units to limit donor exposure for neonatal patiens. Transfusion. 1993; 33: 379-383.
- 23 Greenwalt T J. Dumaswala U J. Dhingra N. Allen C M. Silberstein E B. Studies in red blood cell preservation. Vox Sang. 1993; 65: 87-94.

- 24** Hall T L. Barnes A. Miller J R. Bethencourt D M. Nestor L. Neonatal mortality following transfusion of red cells with high plasma potassium levels. *Transfusion*. 1993; 33: 606-609.
- 25** Olivieri O. Franceschi L. Gironcoli M. Girelli D. Corrocher R. Potassium loss and cellular dehydration of stored erythrocytes following incubation in autologous plasma: role of the KCl cotransport system. *Vox Sang*. 1993; 65: 95-102.
- 26** Reesink H W. Quality assurance of blood components prepared in the blood transfusion center blood bank. *Vox Sang*. 1994; 67: 99-111.
- 27** American Association of Blood Banks. Technical Manual. 11^a ed. Arlington, Virginia: 1993: 51-55, 236-250.
- 28** Procedimientos técnicos de control de calidad de la sangre y sus componentes. Instituto Mexicano del Seguro Social Banco Central de Sangre del Centro Médico Nacional Siglo XXI. M^a de los Gozos Mendoza Pissi: 34-36, 37-42.
- 29** Optipress™ Automated blood component extractor operator's manual. Baxter healthcare corporation. U S A:1992.
- 30** Sistemas de calidad en banco de sangre. Lydia Blanco. Madrid.1996.
- 31** Plaut D. Silberman J. Terrés A. Control de calidad. 1995: Baxter.
- 32** NOM - 003 - SSA2 - 1993.
- 33** Delaunay J. Boivin P. El esqueleto del glóbulo rojo. *Mundo Científico*. 1994; 10 (106): 977-984.
- 34** Albert J P. Las mitologías de la sangre. *Mundo Científico*. 1994; 13 (140): 952-961.
- 35** Pagnier J. Poyart C. La sangre artificial. *Mundo Científico*.1994; 13 (138): 766-770.

- 36** Jurfest-Ceccon M E. De Albuquerque Diniz E M. De Araujo-Ramos J L. Costa-Vaz F A. Efectos Bioquímicos y hematemétricos de la exanguinotransfusión en el recién nacido con isoimmunización. *Bol Med Hosp Infant Mex.* 1993; 50 (3): 167-176.
- 37** Sowemimo-Coker S.O. Goodrich R.P. Zerz C.R. Tanaka K.R. Refrigerated storage of lyophilized and rehydrated, lyophilized human red cells. *Transfusion.* 1993; 33 (4): 322-329.
- 38** Dumaswala U. J. Rugg N. Greenwalt T.J. Studies in red blood cell preservation: The role of glutamine in red cell preservation. *Vox Sang.* 1994; 67: 255-259.
- 39** Algora M. Torres P. Rodríguez M A. y col. Fraccionamiento sanguíneo basado en la extracción de la capa leucocitaria. *Sangre.* 1995; 40 (2): 91-96
- 40** Peters Dorf R.G. Adams R.D. Principles of internal Medicina. 10ª ed. U.S.A.: McGraw - Hill S.A. de C.V., 1984: 226-231, 282-287, 1862-1917.
- 41** Guide to the preparation use and quality assurance of Blood components. 4ª ed. Europa: Council of Europe Publishing Editions., Junio 1998.
- 42** Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana. Federación Internacional de química clínica. Panel de expertos en teoría de los valores de referencia, y el comité internacional para la estandarización en hematología. *Bioquimia.* Octubre, Noviembre, Diciembre 1982; 28 (4), 297-303.
- 43** Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana. Federación Internacional de química clínica. Panel de expertos en teoría de los valores de referencia, y el comité internacional para la estandarización en hematología. *Bioquimia.* Julio, Agosto, Septiembre 1982; 27 (4), 443-451, 485-492.
- 44** Hamilton C. Lawrence. *Modern Data Analysis a first course in applied statistics.* Belmont, California U.S.A.: Brooks/Cole Publishing Company., 1990. 115-125.
- 45** Wayne W. Daniel. *Bioestadística base para el análisis de las ciencias de la salud.* 5ª ed. México D.F.: Limusa S.A. de C.V. 1995: 718-722.

46 Marques de Cantú, M. J. Probabilidad y Estadística para Ciencias Químicas Biológicas. México D.F.: Mc Graw Hill. 1991: 503-506

47 Chambers, J. M., Cleveland W. S., Kleiner B., and Tukey P.A. Graphical Methods for Data Analysis. Wadsworth & Brooks/cole Pub. Company, Pacific Grove. 1983: 1-46; 26-29; 129- 190.

48 Vellaman, P.F. y Hoaglin D.C., Application, Basic and Computing of Exploratory Data Analysis. Duxbury Prers. 1981: 41- 63.