



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
THE AMERICAN BRITISH COWDRAY
HOSPITAL MEDICAL CENTER I.A.P.
DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA CLÍNICA

“CAMBIOS EN LA BIOMETRÍA HEMÁTICA Y MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO DURANTE LA ERITROFÉRESIS”

TESIS DE POSGRADO

PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN:
PATOLOGÍA CLÍNICA

PRESENTA:

DRA. SINDY KARINA IBETH DOMÍNGUEZ MORALES

ASESORES:

DR. LUIS CARLOS MORENO LÓPEZ
DR. JUAN MANUEL GALLARDO MONTOYA



MEXICO, D.F. NOVIEMBRE DE 2013



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

DR. JOSE HALABE CHEREM

Jefe de la División de Enseñanza e Investigación
Centro Medico ABC

DR. LUIS CARLOS MORENO LÓPEZ

Jefe de la división de laboratorios, profesor titular
y asesor de tesis. Centro Médico ABC

DR. JUAN MANUEL GALLARDO MONTOYA

Asesor de tesis
Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Nefrológicas.
Centro Médico Nacional "Siglo XXI", IMSS

Esta tesis se llevó a cabo en el Banco de Sangre campus observatorio del Centro Médico ABC y en la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Nefrológicas del Centro Médico Nacional “Siglo XXI” Instituto Mexicano del Seguro Social

Esta tesis fue parcialmente financiada por el donativo otorgado por CONACYT (Sectorial en Salud 2009, No. 115403) a JMG.

AGRADECIMIENTOS

A mis maestros pasados y presentes del Centro Medico ABC por que sin ellos no hubiera tomado este camino y conocido mi especialidad.

A todo el personal del laboratorio Clínico y al Banco de sangre, por su apoyo, paciencia y enseñanza diaria.

Al Dr. Juan Manuel Gallardo Montoya por su ayuda, enseñanza y apoyo en el desarrollo de este trabajo.

A mis compañeros residentes por sacarme una sonrisa en los días difíciles, sus consejos y buenos deseos.

DEDICATORIA

A mis padres, por haberme procurado, confiar siempre en mí y darme el mejor ejemplo de trabajo.

A mi esposo Eduardo, por todos estos años que ha caminado a mi lado, por su amor incondicional e infinita paciencia.

A todos mis amigos que siempre tuvieron una palabra de aliento o un consejo que me lleno de alegría.

CONTENIDO

| | Página |
|--------------------------------------|--------|
| Siglas, abreviaturas y símbolos | 6 |
| Introducción | 9 |
| Marco Teórico | 10 |
| Justificación | 23 |
| Planteamiento del Problema | 23 |
| Objetivos | 23 |
| Hipótesis | 24 |
| Métodos | 24 |
| - Tipo de estudio | 24 |
| - Universo y muestra de estudio | 24 |
| - Criterios de inclusión | 24 |
| - Criterios de exclusión | 24 |
| - Análisis hematológico y bioquímico | 25 |
| - Análisis estadístico | 29 |
| - Variables | 29 |
| Resultados | 30 |
| Discusión | 38 |
| Conclusiones | 39 |
| Referencias | 40 |
| Anexos | 43 |
| - Consentimiento informado | 43 |
| - Hoja de recolección de información | 44 |

SIGLAS, ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

| | |
|-------------------------------|---|
| % | Por ciento |
| µL | Microlitro |
| AABB | Asociación Americana de Bancos se Sangre |
| ADP | Adenosin disfosfato |
| ASFA | Sociedad Americana de Aféresis |
| ATP | Adenosin trifosfato |
| Bas | Basófilo |
| CAT | Catalasa |
| cm | Centímetros |
| CMABC | Centro Médico ABC ó American British Cowdray Medical Center |
| D.E. | Desviación estándar |
| EDTA | Ácido Etilendiaminotetraacético |
| Eos | Eosinófilos |
| ERO | Especies reactivas de oxigeno |
| ET-1 | Endotelina 1 |
| g | Gramos |
| g/dL | Gramos sobre decilitro |
| g/L | Gramos sobre litro |
| H ₂ O BD | Agua bidestilada |
| H ₂ O ₂ | Peróxido de Hidrogeno |
| Hb | Hemoglobina |
| HLA | Antígeno leucocitario humano |
| Hto | Hematocrito |
| IMC | Índice de masa corporal |
| iNOS | Óxido nítrico sintasa inducible |
| Kg | Kilogramo |
| Kg/m ² | Kilogramos sobre metro cuadrado |
| Lat/min | Latidos por minuto |
| Leu | Leucocitos |
| Lin | Linfocitos |
| MDA | Malondialdehído |
| mL | Mililitros |
| mL | Mililitros |
| mL/min | Mililitros sobre minuto |
| mm/Hg | Milímetros de mercurio |
| Mon | Monocitos |
| MPO | Mieloperoxidasa |
| nm | Nanómetros |
| Nox | Óxido Nítrico |
| O ₂ | Oxígeno |
| O ₂ ⁻ | Radical superóxido |

| | |
|---------------|---------------------------------|
| OH | Radical hidroxilo |
| Plaq | Plaquetas |
| Res/min | Respiración por minuto |
| RL | Radicales libres |
| rpm | Revoluciones por minuto |
| Seg | Segmentados |
| SOD | Superóxido dismutasa |
| TBA | Ácido tiobarbitúrico |
| TNF- α | Factor de necrosis tumoral alfa |
| U/L | Unidades sobre litro |
| VST | Volumen sanguíneo total |

INTRODUCCIÓN

La palabra aféresis es un término derivado del griego “*aphairesis*” que significa “separar” o “remover” y en el banco de sangre es el proceso mediante el cual un individuo dona sólo un componente de la sangre (plaquetas, eritrocitos, leucocitos o plasma) mediante un equipo automatizado. Dependiendo del componente extraído es como se le nombra, cuando se obtiene plasma en plasmaféresis, plaquetoféresis cuando son plaquetas, eritroféresis en eritrocitos y citaféresis o leucaféresis cuando es algún componente de la fórmula blanca.

En el procedimiento de eritroféresis al ser retornados al donante el plasma y los leucocitos se pueden obtener unidades con menos de $3,1 \times 10^6$ de leucocitos, dicho esto se obtienen concentrados eritrocitarios por aféresis leucodepletados, convirtiéndose en un hemocomponente seguro para el paciente o receptor. Aunque los equipos automatizados para aféresis son cada vez más refinados, la atención de la calidad de los componentes obtenidos es mayor que la seguridad del donador, los estudios reportados sobre los cambios que pudieran presentar los donadores de eritroféresis son pocos, por ello el investigar y generar conocimiento en nuestra población se ha vuelto una necesidad.

Los radicales libres, estrés oxidativo y antioxidantes se han convertido en términos comunes cuando se habla de los mecanismos involucrados en el origen de casi cualquier enfermedad. El estudio del metabolismo de los radicales libres cada día ocupa mayor importancia en los mecanismos causales de varias enfermedades humanas aparentemente no relacionadas. En general, el interés en el estudio de los radicales libres surge del reconocimiento de algunas reacciones químicas que sustentan la vida en un medio aeróbico, además del conocimiento de la peculiar estructura molecular del oxígeno, que es fundamental en el metabolismo aeróbico.

MARCO TEORICO

Historia y generalidades de la aféresis

En épocas pasadas en los bancos de sangre, la sangre total era colectada en botellas de vidrio lo cual daba muy poca oportunidad para su manipulación extrayendo únicamente plasma (aunque no de buena calidad). Con el surgimiento de los contenedores de plástico para la recolección de sangre total fue posible la obtención de otros componentes a partir de ella. Esta habilidad para poder separarla ayudo a remplazar algún déficit específico en los pacientes naciendo una nueva era en la terapéutica de situaciones clínicas severas. (1) Por ejemplo en los pacientes con enfermedades hematológicas malignas el uso de quimioterapéuticos en dosis muy elevadas suprimía la actividad de la medula ósea provocando una disminución de las tres líneas celulares (pancitopenia).

En quienes la trombocitopenia era importante, estudios demostraron que existían una relación directa entre el número de plaquetas y el riesgo de hemorragia. Y se observó que el incremento de plaquetas en el paciente después de una transfusión era directamente proporcional al número de plaquetas transfundidas. (1)

A pesar de que se podían separar plaquetas de una unidad de sangre total el numero era muy bajo (1×10^{11}) teniendo que hacer pools de donadores para hacer una unidad más viable para trasfusión (6×10^{10}) con el riesgo de sensibilizar al paciente que recibía esta unidad aumentado el riesgo de alguna reacción transfusional (principalmente a los antígenos leucocitarios humanos (HLA)). (1) Con ello se buscó desarrollar nuevas técnicas que permitieran la obtención de una sola línea celular (en una buena cantidad) de un único donador, es así, como nació el procedimiento de aféresis.

La palabra aféresis es un término derivado del griego "*aphairesis*" que significa "separar" o "remover" y en el banco de sangre es el proceso mediante el cual un individuo dona sólo un componente de la sangre (plaquetas, eritrocitos, leucocitos o plasma) mediante un equipo automatizado. Dependiendo del componente extraído es como se le nombra, cuando se obtiene plasma en plasmaféresis, plaquetoféresis cuando son plaquetas, eritroféresis en eritrocitos y citaféresis o leucaféresis cuando es algún componente de la formula blanca. (2)

En 1951 se crea el primer dispositivo para realizar la separación de los diferentes componentes de la sangre y el tiempo ha permitido que el sistema de aféresis tome un lugar e indicación más precisos. Existen diferentes fabricantes de maquina utilizadas en aféresis; al principio se empleaban máquinas de flujo intermitente llamadas así porque la recolección de sangre era en forma de ciclos esto quiere decir que mientras se procesaba una cantidad de sangre, al término del ciclo se reinfundía al paciente los elementos que no estaban programados para su extracción. Esto confería ciertas desventajas ya que el manejo inadecuado del volumen sanguíneo del donador lo descompensaba durante el proceso, por ello fue creado el sistema de aféresis de flujo continuo. (3) Esta última se refiere que

la maquina extrae un pequeño volumen de sangre y al mismo tiempo que va separando el componente que se programó, inicia el ciclo de retorno de flujo al donador. Cada máquina opera de acuerdo a las especificaciones del fabricante.(4)

Existen dos tipos de aféresis la sustitutiva y la terapéutica, la primera se refiere a aquel procedimiento en el cual se obtiene un producto celular ya sea plaquetas, eritrocitos, granulocitos, linfocitos y plasma, de una donante sano para apoyo de un paciente y la segunda se refiere a la separación o recambio de un elemento celular en un enfermo. (5)

Las aféresis pueden clasificarse en aféresis manual y mecánica. La aféresis manual es un método sencillo y barato, sólo requiere de un sistema de bolsas múltiples y una centrifuga refrigerada. La desventaja es que consume mucho tiempo y es incómodo para el donante y conlleva siempre el riesgo potencial de infección y errores en el retorno del componente no deseado como en el caso de los eritrocitos durante una plasmaféresis o plaquetoféresis. La aféresis mecánica es más costosa y algo compleja pero con el entrenamiento adecuado se convierte en algo sencillo y seguro. (2) Otro punto a favor de este tipo de aféresis es que con el empleo de centrifugas para separación automática de componentes de la sangre, el donador al estar conectado con el sistema extracción durante todo el proceso, no corre el riesgo de recibir un componente equivocado, accidente que ha ocurrido con el sistema manual. (4)

Lineamientos en la donación de sangre según la NOM-253-SSA1-2012 Para disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos

Dicha Norma regula las actividades relativas a la disposición de sangre y componentes sanguíneos con fines transfusionales con el objetivo de incrementar la autosuficiencia de los productos sanguíneos y de garantizar la máxima reducción de los riesgos asociados. La sangre y componentes sanguíneos para uso terapéutico deberán reunir los requisitos de calidad necesarios a fin de que resulten inocuos o no patogénicos, funcionales y, en su caso, viables. Para ello, la evaluación del donante, la obtención, la extracción, los análisis, conservación, preparación, suministro, transportación, recepción, utilización y, en su caso, destino final se efectuará observando los lineamientos que establecen esta Norma y demás disposiciones aplicables. (5)

Antes de la extracción se deberá comprobar que el donante cumpla con los parámetros de laboratorio mínimos:

- Hemoglobina (Hb) >140 g/L o
- Hematócrito (Hto) >42%,
- Plaquetas > 1500,000/ μ L

Para los donantes de eritroféresis de bolsa doble, residentes o procedentes de lugares que se encuentren a una altitud mayor a 1,000 metros sobre el nivel del mar, el valor de hemoglobina deberá aumentarse 1 g/dL por cada 1,000 metros adicionales sobre el nivel del mar.

El intervalo mínimo entre una extracción doble de concentrado de eritrocitos u otras extracciones debe ser de seis meses.

Para el procedimiento de eritroferesis se deberá acatar lo siguiente:

- a) La cantidad de glóbulos rojos extraídos no excederá del volumen teórico que haga que el nivel de hemoglobina del donante caiga por debajo de 110 g/L, y
- b) La pérdida anual de eritrocitos no deberá exceder el equivalente a la masa eritrocítica contenida en cuatro unidades de sangre para donantes masculinos y tres unidades de sangre para donantes femeninos.
- c) El volumen sanguíneo del donante deberá ser mayor de 5 litros. Generalmente este requisito se cumple cuando el donante pesa 70 kg o más.
- d) El Concentrado de eritrocitos leucodepletado en solución aditiva deberá tener: Hematócrito 50 – 70% con Leucocitos residuales $<1.0 \times 10^6$

Importancia de una valoración completa en los donadores de sangre

A parte de la valoración médica y los estudios de laboratorio que se piden por norma tal parece que no deberían ser los únicos a evaluar. Como sabemos los donadores potenciales son tamizados excluyendo a los que tienen anemia, para lo cual la hemoglobina (Hb) y/o hematócrito (Hto) son los determinantes.

Los niveles de reserva de hierro pueden estar depletados en donadores con Hb por encima del valor arbitrario definido como límite para anemia. La deficiencia temprana de hierro (depleción de hierro) usualmente no se acompaña de anomalías de la sangre y es el último estado de la deficiencia de hierro y es evidente que la determinación de Hb como medida única es inadecuada para identificar donadores de sangre con deficiencia de hierro sin anemia (6)

El primer cambio bioquímico en la deficiencia de hierro es la caída de la ferritina sérica que ocurre antes que el hierro este disminuido y haya cambios morfológicos los glóbulos rojos. Existen estudios en donde se ha encontrado una alta frecuencia de donantes de sangre aceptados con deficiencia de hierro lo que sugiere la necesidad de utilizar pruebas de laboratorio más exactas y que la determinación de Hb como única prueba de selección, no es suficiente para identificar y excluir a individuos con intención de donar que tengan deficiencia de hierro sin anemia y los ajustes hacia niveles más altos de los criterios de aceptación de Hb tampoco contribuye a mejorar la situación.(7) Los que si se sugiere es realizar la medición de ferritina sérica al menos en donadores regulares y sobre todo en aquellos que donan glóbulos rojos por aféresis ya que el intervalo entre donaciones podría no ser el adecuado. (8)

¿Qué género dona más?

La mayoría de los donadores que asisten en gran proporción son hombres y en menor proporción las mujeres lo cual siempre se ha observado en la mayoría de los bancos de sangre.

La concentración de hemoglobina que manejan los hombres es superior y esto puede deberse a factores que afectan directamente a este parámetro, como la cantidad de masa muscular que es mayor en hombres lo que requiere un nivel más alto de oxigenación y por ende de Hb a diferencia de las mujeres que presentan más tejido adiposo además, esta variación también puede deberse al periodo menstrual que se ve reflejado también en concentraciones bajas de hemoglobina comparada con la de los hombres. (9)

Si la hemoglobina es elevada se observa de igual manera en el hematócrito de sujetos sanos, así mismo el hematócrito es más elevado en los hombres. Las hormonas juegan un papel importante en la estimulación de la eritropoyetina, sin embargo, se ha observado que los estrógenos tienen un papel supresor sobre la producción de eritrocitos por lo que afecta directamente al hematócrito. (10)

Donación de glóbulos rojos por aféresis (eritroferesis)

La eritroferesis consiste en la obtención de un componente o dos leucodepletado de glóbulos rojos por aféresis de un donador único utilizando un separador de células automatizado. Este método fue inicialmente usado como terapéutica en pacientes con anemia de células falciformes y después fue desplazado su uso en donadores sanos. (11)

Cada unidad obtenida deberá tener un mínimo de 40 g de hemoglobina. (12) La selección del donador será en base a la norma oficial que esté vigente para el banco de sangre en este caso es la NOM-253-SSA1-2012 "Para disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos".

Para la donación de sangre o de cada uno de sus componentes, se toma en cuenta la talla del individuo y la cantidad del producto que se desea obtener. La metodología implica la selección y vigilancia, durante todo el proceso. (4) Según la literatura existe una disminución de hemoglobina posdonación de 1.8 g/dL de hemoglobina. (13)

La separación y recolección de componentes sanguíneos con equipos separadores celulares, requiere de permisos regulatorios apropiados, servicio de mantenimiento de las máquinas y de personal capacitado para su manejo. (14) Debe haber un médico con experiencia en aféresis para encargarse de la asistencia médica en caso de reacciones adversas. El volumen extracorpóreo sanguíneo no debe exceder del 13% del volumen total estimado del donador.

Anticoagulante utilizado en la aféresis y efectos secundarios

Se utiliza citrato como anticoagulante causando hipocalcemia transitoria que es bien tolerada en la mayoría de los casos y es una de las reacciones adversas más frecuentes. La elevación en la sangre de citrato puede causar parestesias, arritmias cardíacas, fasciculaciones musculares o tetania. (1)(15) Dicho lo anterior

los síntomas de la hipocalcemia se incrementan con la concentración del citrato utilizado, el porcentaje de infusión y la duración del procedimiento.

En el procedimiento de plaquetoféresis el tiempo aproximado de donación es de 2 a 3 horas por lo que la administración de citrato si ocasiona síntomas de hipocalcemia. (1)

La disminución del calcio ionizado puede incrementar la excitabilidad de la membrana de células nerviosas, permitiendo la despolarización espontánea la cual se manifiesta con datos de hipocalcemia como: parestesias periféricas y periorales, calambres abdominales y raramente arritmias cardíacas. (14) (16)

Manejo de la hipocalcemia

Si se presentan síntomas de hipocalcemia, se debe disminuir el porcentaje de infusión de citrato, si a pesar de esto persiste la sintomatología se debe detener el procedimiento hasta que mejoren los síntomas. Dependiendo del cuadro clínico se debe considerar la infusión de calcio intravenoso 10 mL de cloruro de calcio al 10% o una alternativa potencialmente segura es el gluconato de calcio al 10% que solo una tercera parte es activa. El calcio activa factores de coagulación, por lo que nunca deben utilizarse las venas conectadas al procedimiento de aféresis. (14)

Reacciones adversas por la donación de sangre

La donación de sangre es reconocida como un método sumamente seguro. Sin embargo algunos efectos secundarios por la donación como la reacciones vasovágales durante o después de la donación aumentan potencialmente la aparición de alguna lesión por dicho procedimiento. De manera general las reacciones adversas a la donación ocurren en 2 a 5 % de los donadores de sangre. (17)

El predominio de las reacciones vasovágales varía por país, y por muchos otros factores como la edad, el género, historial de donación (primera vez o donador repetitivo), Índice de Masa Corporal (IMC), volumen sanguíneo total de los donadores (VST), y el tipo de donación (donación de sangre total autóloga o alogénica, plasmaféresis, plaquetoféresis, donación de multicomponentes como la donación de glóbulos rojos por aféresis). Afortunadamente, la mayor parte de acontecimientos adversos son leves pero ocasionalmente las reacciones vasovágales severas ocurren. (18)

En los procedimientos por aféresis la aparición de síncope puede aparecer al momento de la extracción del primer volumen de sangre a separar. En algunos casos aparecen náusea y vómitos controlados con algún medicamento como maleato de clorfenamina. Los escalofríos son frecuentes y se puede atribuir al enfriamiento extracorpóreo de la sangre. (15) Todos estos síntomas pueden ser producto de una respuesta vasovagal que puede ir desde algo leve, moderado o severo que va desde: palidez, debilidad, mareo, náusea y/o vómito, hipotensión,

hiperventilación, respiración irregular, bradicardia, pérdida de la conciencia, convulsiones, incontinencia y tetania. (19)

Incidentes locales en los donadores

Hematoma. Es el más frecuente y dificulta de manera transitoria los movimientos del brazo que fue puncionado. Se tratara con una limpieza cuidadosa de la zona, vendaje y algún analgésico local. (20)

Punción accidental de la arteria. Su sospecha es inmediata ya que al ser puncionada la arteria, se observa como fluye rápidamente la sangre de un color rojo vivo en forma espasmódica. Se debe extraer rápidamente la aguja, aplicar vendaje compresivo, alzar el brazo del donante y mantenerlo en observación la siguiente media hora. (20)

Lesión de un nervio. Es un incidente lamentable y excepcional, a menudo es una ramificación del musculocutáneo. El donador experimenta comezón, irradiación y leve déficit muscular. En caso de persistir este déficit se recomienda referirlo al neurólogo. (20)

Cambios hematológicos en el procedimiento de aféresis

Como es de esperarse después de la aféresis hay una disminución significativa de los glóbulos rojos. Algunos estudios en donadores de plaquetoféresis reportan una activación de las plaquetas varios días después de dicha donación. (21)

En un estudio donde se donó plaquetas y un concentrado de glóbulos rojos por aféresis por procedimiento, se realizó la medición de diferentes analitos donde los cambios fueron evidentes en la posdonación; glóbulos rojos, hemoglobina, hematócrito, plaquetas, leucocitos, hierro, transferrina, saturación de transferrina, ferritina. (21)

En el procedimiento de eritroferesis la disminución de glóbulos rojos conlleva la disminución de hemoglobina sobre todo cuando se dona doble unidad, esta disminución oscila en $3 \text{ g/dL} \pm 1 \text{ g/dL}$ de Hemoglobina (22)

Ventajas de la eritroferesis

Los leucocitos residuales presentes en los productos obtenidos por fraccionamiento convencional conllevan la aparición de diversos efectos secundarios en el receptor, como reacciones febriles no hemolíticas, aloinmunización a antígenos del sistema HLA o la trasmisión de diversos agentes infecciosos. En el caso de los concentrados eritrocitarios para considerarla leucorreducida, los estándares de la Asociación Americana de Bancos de Sangre (AABB) indican que deben contener menos de 5×10^6 leucocitos. En el procedimiento de eritroferesis al ser retornados al donante el plasma y los leucocitos se pueden obtener unidades con menos de $3,1 \times 10^6$ de leucocitos, dicho esto se obtienen concentrados eritrocitarios por aféresis leucodepletados. (13)

Además de lo mencionado al disponer de separadores celulares automatizados estos incluyen medidas de seguridad para los donadores (23)

| SEGURIDAD EN LOS SEPARADORES CELULARES AUTOMATIZADOS |
|---|
| 1. Equipos desechables |
| 2. Equipos cerrados y estériles |
| 3. Adecuados a cada separador |
| 4. Pequeños volúmenes extracorpóreos |
| 5. Maquinas con velocidades de flujo de extracción y retorno modificables |
| 6. Control en la concentración de anticoagulante |
| 7. Alarmas integradas |
| 8. Trampas de aire |

Cuadro 1. Características de un equipo seguro

Procedimiento de eritroferesis

Antes que nada, todos los procedimientos de recolección de componentes sanguíneos por aféresis deberán ser realizados por personal capacitado en el manejo de los separadores celulares, en los cuidados del donador y con la experiencia suficiente para identificar y solucionar eventualidades técnicas durante el procedimiento. (23)

De manera general la sangre total es removida de un brazo del donadora través de una aguja estéril hacia el equipo automatizado adicionándole citrato como anticoagulante, los glóbulos rojos una vez separados por centrifugación se colectan y el resto de los componentes sanguíneos como leucocitos, plaquetas y plasma son regresados por la maquina al mismo brazo de donador al terminar la separación. Por dicho procedimiento de separación la cantidad de leucocitos disminuye de manera importante además de que los equipos automatizados tienen un filtro para reducir los leucocitos en la unidad obtenida por lo que idealmente se debe etiquetar como unidad leucodepletada. (12)

El volumen absoluto programado para cada unidad será de 90 a 210 mL con una desviación estándar del 6%. La habilidad para coleccionar un volumen específico de glóbulos rojos es una ventaja significativa sobre la obtención de sangre total por métodos tradicionales (24) cabe señalar que el volumen obtenido siempre dependerá del volumen sanguíneo y del hematócrito del donador.

En términos más técnicos la sangre total es extraída del donador a una velocidad que va de los 20-100 mL/min y homogenizada en una proporción de 1:15 de sangre con anticoagulante. La sangre anticoagulada es bombeada a la centrifuga del equipo donde girara a una velocidad de 7000 rpm para separar el plasma de los de los eritrocitos. El plasma es transferido a una bolsa fuera de la centrifuga mientras los glóbulos rojos se transfieren a otra bolsa. (24) Una vez que se termina de procesar el primer volumen inicia la fase de retorno y al terminar inicia nuevamente la fase de extracción a la misma velocidad. Una vez que se obtiene el

volumen absoluto programado la máquina deja de sacar sangre y los eritrocitos son transferidos a las bolsas finales con la solución aditiva, el procedimiento dura aproximadamente 24 +/- 3.5 minutos (22)

Utilidad clínica del proceso de aféresis

He comentado sobre el proceso de aféresis y eritroferesis en el donador por tratarse del tema central de mi trabajo, sin embargo, es importante mencionar el uso terapéutico que se le ha dado a este procedimiento para tener un panorama más completo y todo lo que conlleva la aféresis. Los procedimientos que se ocupan con mayor frecuencia en el paciente son la plasmáfesis (remoción de plasma sin reposición de líquido), recambio plasmático terapéutico (remoción de plasma con reposición de plasma fresco descongelado o solución fisiológica con albumina), recolección de células progenitoras en donación autóloga y eritroferesis.

Las bases de la aféresis terapéutica fueron descritas por primera vez por Abel y colaboradores en 1914 en la Universidad de Johns Hopkins. Ellos utilizaron el tratamiento de plasmáfesis para aliviar los síntomas urémicos en perros a los que experimentalmente se les había inducido insuficiencia renal mediante nefrectomía bilateral. Su rudimentario proceso consistía en extraer una unidad de sangre, retirando el plasma y devolviendo los glóbulos rojos.(25)

Actualmente la Sociedad Americana de Aféresis (ASFA) y la Asociación Americana de Bancos de Sangre (AABB) han desarrollado guías de tratamiento para la aféresis terapéutica, que son modificadas periódicamente de acuerdo con la medicina basada en evidencia. Se han clasificado en cuatro categorías con base en la respuesta clínica y los estudios de laboratorio del paciente: Categoría I tratamiento aceptado, categoría II tratamiento con suficientes evidencias de ser eficaz en combinación con otros tratamientos, categoría III evidencias controvertidas de su eficacia, categoría IV se desconoce su eficacia y se requiere de estudios controlados. Para realizar un procedimiento de aféresis terapéutica es necesario tomar en cuenta: a) La historia clínica del paciente; b) Carta de consentimiento informado; c) Acceso vascular; d) Evaluar los líquidos de reemplazo y considerar que existen reacciones adversas secundarias a la vía de acceso, al procedimiento y al anticoagulante. (26)

| Autor | Procedimiento y utilidad |
|----------------------------------|--|
| Pérez E, et al. (2004) (27) | Plasmáfesis en Síndrome de Guillain Barre |
| Gutiérrez J, et al. (2012) (28) | Plasmáfesis en Pancreatitis aguda inducida por hipertrigliceridemia. |
| León A, et al. (2011) (29) | Plasmáfesis en Glomerulonefritis rápidamente progresiva |
| Lora CG, Navarro JR. (2001) (30) | Plasmáfesis en Síndrome Miasténico de Eaton-lambert |
| Daza J, Roncallo A. (2007) | Plasmáfesis en Neuromielitis óptica |

| | |
|---------------------------------|---|
| (31) | |
| Conte A, et al. (2008) (32) | Plasmaféresis en Síndrome de anticuerpos antifosfolípidos con desarrollo de Síndrome catastrófico |
| Martínez A, et al. (2003) (33) | Plasmaféresis en síndrome HELLP persistente |
| Euler H, et al. (1992) (34) | Plasmaféresis en nefritis por Lupus eritematoso sistémico |
| Dau P. (1992) (35) | Recambio plasmático terapéutico en polimiositis y dermatomiositis |
| Mellwig K, et al. (2012) (36) | Plasmaféresis como terapia para disminución de LDL-C en pacientes con hipercolesterolemia severa |
| Mariani R, et al. (2005) (37) | Eritrocitaféresis en pacientes con hemocromatosis y daño orgánico severo |
| Gutiérrez C, et al. (1988) (38) | Eritroferesis en Policitemia neonatal |
| Medina M. (2005) (39) | Recambio plasmático terapéutico en diferentes patologías: Síndrome de Goodpasture, Síndrome de hiperviscosidad, Esclerosis múltiple, etc. |
| Black V, et al. (1985) (40) | Exanguineotransfusión parcial de plasma en neonatos con síndrome de hiperviscosidad. |

Cuadro 2. Ejemplos de la utilidad clínica que se le ha dado a la aféresis en sus diferentes variantes

EL ESTRÉS OXIDATIVO EN LA PATOLOGÍA HUMANA

Historia

A partir de que en 1954 la doctora argentina Rebeca Gerschman sugiriera por primera vez que los radicales libres eran agentes tóxicos y generadores de enfermedades (41) este campo de investigación estuvo confinado a la física, la química y la biología. Solo en los últimos años ha sido incorporado este tema al pensamiento clínico y son cada vez más los médicos que le prestan atención.

El oxígeno es esencial para la vida, pero posee una paradoja en los organismos aerobios. Este elemento desempeña una función importante como aceptor terminal de electrones durante la respiración celular, y constituye lo que se conoce como el "soporte de la vida"; pero también constituye el punto de partida para un tipo de daño celular conocido como "estrés oxidativo". (42)

Contexto de oxidación

Radicales libres, estrés oxidativo y antioxidantes se han convertido en términos comunes cuando se habla de los mecanismos involucrados en el origen de casi cualquier enfermedad. La vida en este planeta evolucionó primero en una atmósfera reductora. No fue sino hasta que las algas fotosintéticas aparecieron cuando el oxígeno empezó a ser introducido en la atmósfera en cantidades crecientes. Este cambio, de un ambiente reductor a uno oxidante, indudablemente

produjo serias presiones evolutivas. Resulta sorprendente que al examinar las vías metabólicas modernas encontramos que muy pocas enzimas realmente se ocupan del oxígeno molecular, a pesar de que el esquema bioenergético es completamente dependiente de la transferencia de electrones a este aceptor. De hecho, aproximadamente 98 % del oxígeno que el humano metaboliza es manejado por una sola enzima, la citocromo oxidasa mitocondrial, la cual transfiere cuatro electrones al oxígeno en una reacción conjunta para producir dos moléculas de agua como producto. Bajo condiciones biológicas normales y dadas sus características de radical libre, el oxígeno puede tomar electrones de otras moléculas por autooxidaciones no enzimáticas. El producto de la reducción del oxígeno por la entrada de un electrón es el radical superóxido O_2^- . Si se transfieren dos electrones, entonces el producto es el ion peróxido (O^{2-}) que no es radical libre y que en presencia de dos protones forma peróxido de hidrógeno (H_2O_2). (43)

El desbalance en la producción de especies reactivas del oxígeno (ERO) y la defensa antioxidante provoca el "estrés oxidativo" que lleva a una variedad de cambios fisiológicos y bioquímicos, los cuales provocan el deterioro y muerte celular. El incremento en el estrés oxidativo es un desbalance entre la producción y la remoción de las especies reactivas de oxígeno (ERO), que conduce a un aumento en la concentración de radicales libres de oxígeno (RL) y en consecuencia al aumento en el daño celular. (44)

Todos los seres vivos que utilizan el oxígeno para obtener energía, liberan EROs. Esta situación es incompatible con la vida, a menos que existan en las células mecanismos de defensa que las neutralicen. A estas defensas se les denomina antioxidantes y se considera como tal a cualquier sustancia que en concentraciones normales posea una afinidad mayor que cualquier otra molécula para interaccionar con un radical libre. El antioxidante, al colisionar con un RL le cede un electrón, que se oxida a su vez y se transforma en un RL débil no tóxico (la vitamina E). No todos actúan de esta forma, en el caso de las enzimas catalizan o aceleran reacciones químicas que utilizan substratos que a su vez reaccionan con los RL. (45)(46)(47) Existe una primera línea de defensa antioxidante constituida por enzimas y scavengers o eliminadores de radicales.

Especies reactivas del oxígeno (ERO)

La mayor parte del oxígeno celular es reducido a través de reacciones enzimáticas, pero del 2-5 % escapa a esta reducción bivalente y elige la monovalente, y de ello resulta la formación de radicales libres de oxígeno (RL), que no son más que átomos o moléculas que poseen un número impar de electrones en su órbita más externa, y que también se generan cuando ocurre una adición a un doble enlace. Son muy inestables y pueden reaccionar con otras moléculas, entregando o recibiendo un electrón. Últimamente prefiere llamársele ERO, para agrupar a algunos compuestos que como el peróxido de hidrógeno, no constituyen un verdadero radical. Estas ERO son moléculas altamente reactivas que atacan constantemente al cuerpo humano mediante reacciones bioquímicas de REDOX, que ocurren como parte normal del metabolismo celular o por la exposición a factores ambientales y se forman de la manera siguiente: La

reducción univalente del O_2 produce el radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$) cuya fuente más importante es la NADPH oxidasa durante el estallido respiratorio. La reacción univalente subsecuente, genera el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) a través de la enzima superóxido dismutasa (SOD), que no es un RL, pero tiene una alta capacidad oxidante por vía de la reacción de Fenton, y forma el radical hidroxilo ($^{\cdot}OH$) que es varios miles de veces más reactivo que el $O_2^{\cdot-}$ y deriva fácilmente a la formación de nuevos radicales libres. Las especies reactivas explicadas hasta ahora no son las únicas, existen otras como el peroxil (ROO^{\cdot}) y el alcoxil (RO^{\cdot}), resultantes de la acción del $^{\cdot}OH$, que constituyen la fase inicial de la peroxidación lipídica. También existe el oxígeno singlete (1O_2), el óxido nítrico (NO^{\cdot}), el anión peroxinitrito ($OONO^-$) y el ion hipoclorito (OCl^-) formado a partir del H_2O_2 por la enzima mieloperoxidasa (MPO). (48)

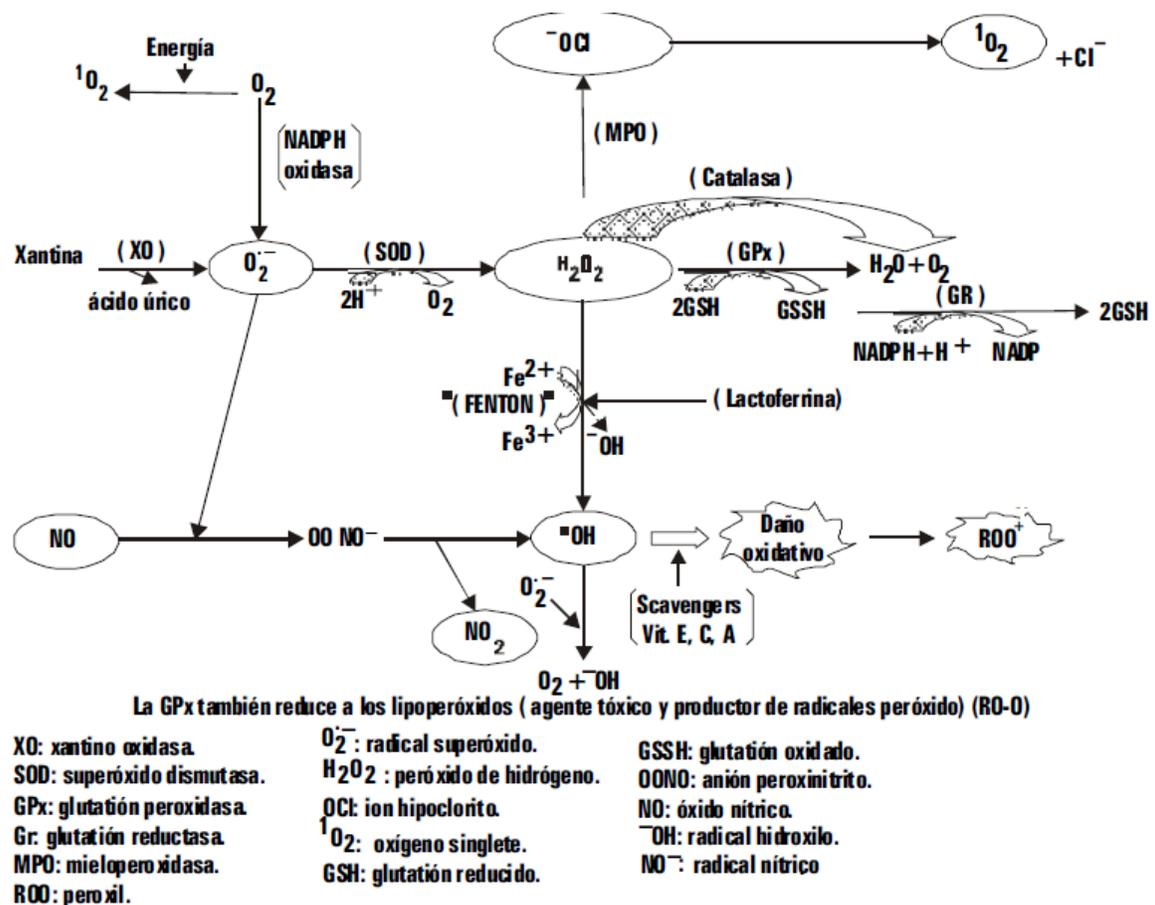


Figura 1. Representación metabólica de las especies reactivas del oxígeno

Sistema oxidante y antioxidante

Las sustancias oxidantes en los organismos vivos pueden provenir de una gran variedad de fuentes tanto endógenas como exógenas. Las fuentes exógenas incluyen la contaminación ambiental, los gases naturales deletéreos como el

oxígeno hiperbárico, los efectos de la radiación ionizante y no ionizante, químicos, toxinas, bacterias patógenas y virus. Las fuentes endógenas incluyen reacciones y enzimas que pueden producir de forma directa o indirecta ERO y ERN, tales como la reacción de Fenton, la xantina oxidasa, la sintetasa del óxido nítrico y los neutrófilos. (49)

El sistema de defensa antioxidante de las células vivas, constituye un mecanismo adaptativo de gran relevancia y puede ser clasificado en dos grupos principales: el de enzimas que incluyen la superóxido dismutasa, catalasa, peroxidasa y algunas enzimas de soporte, y el grupo de los antioxidantes de bajo peso molecular (ABPM), con un gran número de componentes capaces de disminuir la oxidación por medio de la interacción directa o indirecta con los ERO entre los cuales tenemos la Vitamina E (Vit E), la Vitamina C (Vit C), el glutatión (GSH) y el Ácido úrico (AU). (50)

Fisiopatología de estrés oxidativo

Los radicales libres participan en diversas funciones biológicas, por ejemplo activan las proteínas que modulan la proliferación celular y la morfogénesis; aunado a lo anterior se sabe que las especies reactivas de oxígeno (ERO) son capaces de modular las proteínas cinasa C, que influyen en el crecimiento celular, activación de citocinas y en la angiogénesis, procesos que cuando se intensifican dan origen a diferentes patologías relacionadas con el lecho vascular como son la aterogénesis e hipertensión. Esto se debe a que los radicales de oxígeno actúan aumentando la expresión de endotelina-1 (ET-1), óxido nítrico sintasa inducible (iNOS) y del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF). (51)

La instauración del proceso de estrés oxidativo ocurre por la existencia de un desequilibrio entre los sistemas oxidativos y los mecanismos antioxidantes, a favor de los primeros, llevando a la generación de grandes cantidades de radicales libres o detrimento de la velocidad de neutralización de éstos. Este proceso conduce a la oxidación de biomoléculas con la consiguiente pérdida de sus funciones biológicas; así como al descontrol homeostático junto al potencial daño oxidativo contra las células y tejidos. (52)

Como ejemplo de patologías que están relacionadas con la disfunción endotelial y estrés oxidativo se encuentra el síndrome metabólico pre-diabético, esta es una patología que se caracteriza por presentar niveles elevados del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) teniendo como consecuencia el incremento de especies reactivas de oxígeno. (53)

Con relación a la hipertensión se ha encontrado que ésta se eleva por la acción de radicales libres, debido a que inhiben la producción del óxido nítrico en el endotelio.

La cronicidad del estrés oxidativo conlleva importantes implicaciones en el desarrollo de las enfermedades crónicas no transmisibles, tales como la obesidad, la aterogénesis, la diabetes, los trastornos neurodegenerativos y el cáncer. (52)

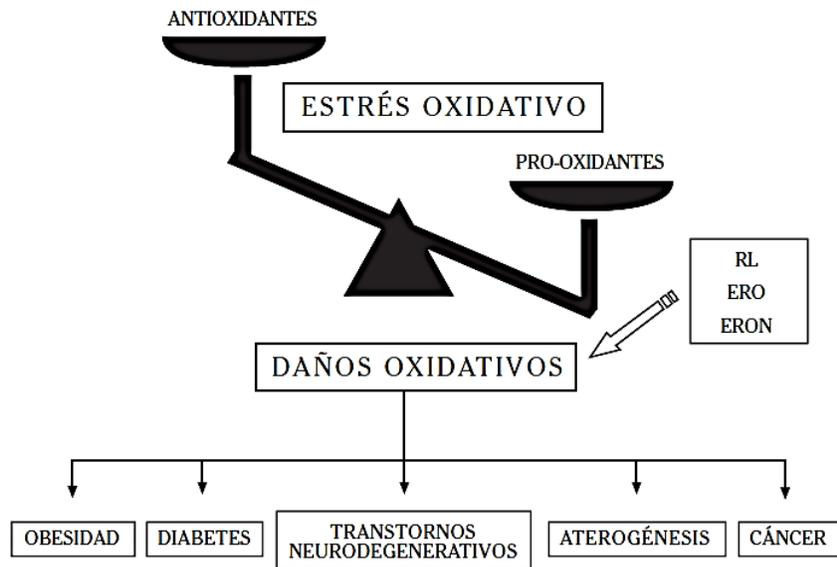


Figura 2. El aumento de los sistemas pro-oxidante desencadena el estrés oxidativo con una producción exacerbada de radicales libres (RL) y especies reactivas de oxígeno (ERO) o de óxido de nitrógeno (ERON). (Barbosa KBF et al. 2008)

Cuantificar la actividad antioxidante.

Para la evaluación del estrés oxidativo se pueden emplear métodos indirectos, basados en la capacidad alterada del organismo para modular la concentración incrementada de RL o ERO. Un enfoque para dicha evaluación compara la actividad de un antioxidante de referencia con la actividad antioxidante encontrada en plasma u orina, con esta metodología se evalúan como un todo. Las enzimas antioxidantes que se evalúan con frecuencia son: superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y peroxidasa de glutatión. Además otros metabolitos también pueden ser medidos como proteínas: albúmina, ceruloplasmina y ferritina, y de moléculas con capacidad antioxidante tales como ácido ascórbico, α -tocoferol, β -caroteno, glutatión reducido, ácido úrico y bilirrubina. Un enfoque alternativo analiza por separado la actividad de las enzimas mencionadas y la concentración de glutatión. (51)

La evaluación del daño oxidativo está adquiriendo gran relevancia e importancia en el área médica, dado que se puede usar no lo en la evaluación del riesgo de padecer alguna patología sino también para el seguimiento de enfermedades crónico degenerativas.

El estrés oxidativo puede ser evaluado a través de la determinación de la peroxidación lipídica y de la capacidad antioxidante. La primera implica, la valoración plasmática de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico como el malondialdehído (MDA), la medición de alcanos exhalados (etano, propano y metano) y la oxidación del plasma (oxidación de la lipoproteína de baja densidad).

La segunda está relacionada con la determinación de las enzimas y moléculas antioxidantes entre las cuales podemos mencionar al ácido úrico. (50)(54)

JUSTIFICACION

La valoración adecuada de los donadores de sangre es indispensable para obtener hemocomponentes seguros para los pacientes, sin embargo, se le toma poca importancia a los efectos que pudieran presentar los donadores por dicho procedimiento. En la literatura se encuentra poca información sobre todo en la población mexicana de los cambios hematológicos que existen posdonación y menos aún en la expresión de marcadores de estrés oxidativo, por ello fue importante este trabajo y darle el interés que se merece a los cambios que se pudieran presentar posdonación.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Debido a que los procesos de obtención de sangre de donadores voluntarios son relativamente seguros, damos por sentado que el donar sangre no causa ningún tipo de alteración fisiológica en los donadores aparentemente sanos, sin embargo la pérdida aguda de un volumen regulado de sangre (400 mL) pudiera ocasionar algunos cambios fisiológicos leves. Es nuestro interés estudiar, los cambios inmediatos posteriores a la donación de sangre. Para ello nos hemos propuesto estudiar una muestra pequeña de sujetos aparentemente sanos y repostar en esta tesis los cambios que se manifiesten en la biometría hemática y algunos de los marcadores de estrés oxidativo.

OBJETIVOS

Objetivo general

Comparar los cambios en la biometría hemática y marcadores de estrés oxidativo en el donador aparentemente sano previo y posterior al procedimiento de eritroferesis.

Objetivos particulares

Comparar los cambios en la biometría hemática previo y posterior al procedimiento de eritroferesis.

Comparar los cambios en algunos de los marcadores de estrés oxidativo (óxido nítrico, malondialdehído y glutatión total) previo y posterior al procedimiento de eritroferesis.

Evaluar la concentración de hemoglobina, hematócrito y de la fórmula blanca en los concentrados eritrocitarios obtenidos por eritroferesis.

HIPOTESIS

La eritroferesis induce cambios hematológicos y en los marcadores de estrés oxidativo.

PACIENTES Y MÉTODOS

Tipo de estudio

Este estudio es piloto, prospectivo, observacional, descriptivo y transversal.

Población

La población donadora consistió de 30 sujetos adultos, hombres, mayores de edad aparentemente sanos que cumplieran los requisitos conforme a la Norma Oficial Mexicana para donación de eritroferesis y que tuvieran ayuno mínimo de 8 horas, los cuales aceptaron participar de manera voluntaria en este estudio. Todos los donadores fueron captados en un periodo de 31 días naturales. Todos los voluntarios aceptaron por escrito participar en este estudio. El protocolo fue evaluado por la División de Educación e Investigación del Centro Médico ABC, donde se revisaron y aprobaron tanto los procedimientos éticos como técnicos.

Todos los donadores se sometieron a una evaluación médica general antes de la obtención de la sangre y cumplieron con los requisitos solicitados en la NOM-253-SSA-002 de la secretaria de Salud de la República Mexicana, que regula las actividades relativas a la disposición de sangre y componentes sanguíneos con fines terapéuticos. En resumen, los donadores de sangre en México deben ser: mayores de edad y no tener más de 65 años, peso mayor a 50 kg, que estén libres de enfermedades infecciosas, sin consumo de antibióticos, que no se les haya practicado ninguna intervención odontológica en la última semana y que no padezca de enfermedades crónico degenerativas, entre muchas otras. En la misma norma se establece que para la donación de doble paquete eritrocitario o dobles rojos obtenidos por aféresis, los donadores deberán tener un peso mayor a 70 kg y que en la posdonación, el sujeto tenga más de 11 g/dL de hemoglobina. (5)

Además de lo indicado en la NOM para donadores en México, se llevó a cabo un interrogatorio médico para descartar consumo reciente de multivitamínicos, hierro, medicamentos, tabaco, alcohol, historia de sangrados gastrointestinales o genitourinarios, historia familiar o personal de anemia, alteraciones en la coagulación o sangrado, hemoglobinopatías, insuficiencia cardiaca, hepática, renal o venosa, enfermedades crónico degenerativas como artritis, hipertensión arterial diabetes mellitus y cáncer. (5)

Criterios de inclusión

Individuos que cumplan los criterios de donación y que a su vez sean candidatos para eritroferesis, según la Norma Oficial Mexicana NOM-253-SSA1-2012, Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos.

Donadores aptos, con un mínimo de 8 horas de ayuno.

Criterios de exclusión

Individuos que no cumplan la Norma Oficial Mexicana NOM-253-SSA1-2012.

Donadores de eritroferesis con menos de 8 horas de ayuno.

Análisis hematológico y bioquímico

El estudio se realizó en dos lugares; la primera parte en el Banco de Sangre del Centro Médico ABC (CMABC) campus Observatorio, institución de tercer nivel de atención, el cual es un hospital de enseñanza y de asistencia privada. En el Banco de sangre del CMABC, ubicado en el sótano del edificio central el cual cuenta con el personal capacitado en el área a nivel técnico, químico y médico. En dicho sitio se realizó el procedimiento de eritroféresis utilizando un equipo automatizado. Las mediciones hematológicas (hemoglobina, hematocrito, leucocitos y plaquetas) se realizaron en un equipo automatizado antes y después de la eritroféresis.

La segunda parte se llevó a cabo en la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Nefrológicas del Centro Médico Nacional "Siglo XXI" del IMSS. Ahí se determinaron los marcadores de oxidación (Malondialdehído, óxido nítrico) y un antioxidante (glutación total).

Procedimiento y equipo para eritroferesis

El instrumento es un sistema de aféresis automatizado (ALYX Sistema de Recolección de componentes, Fenwal, Inc. Lake Zurich, IL, USA) que cuenta con una centrífuga para separar una muestra de sangre de un donante en sus componentes. Durante un procedimiento de extracción, un sistema de bombeo neumático controla el flujo del fluido a través de un kit desechable estéril de un solo uso. El instrumento extrae y procesa la muestra de sangre de un donante en ciclos. Cada ciclo consta de las dos fases siguientes:

- Fase de extracción: La sangre se dirige hacia la centrífuga y al recipiente del proceso mientras que los componentes sanguíneos que desee se separan por la fuerza centrífuga.
- Fase de retorno: La sangre acumulada en el recipiente del proceso durante la fase de extracción anterior se envía a la centrífuga para que se separe mientras que los componentes sanguíneos restantes que no se recogen se devuelven al donante.

Cuando se devuelven los componentes sanguíneos, se devuelve solución fisiológica (cloruro sódico) al 0,9% al donante para compensar la pérdida de volumen. (55)

El procedimiento se llevó a cabo en condiciones de asepsia y antisepsia y siguiendo las instrucciones del fabricante. Todos los pacientes donaron un volumen total de 400 mL (en dos paquetes globulares de 200 mL cada uno).

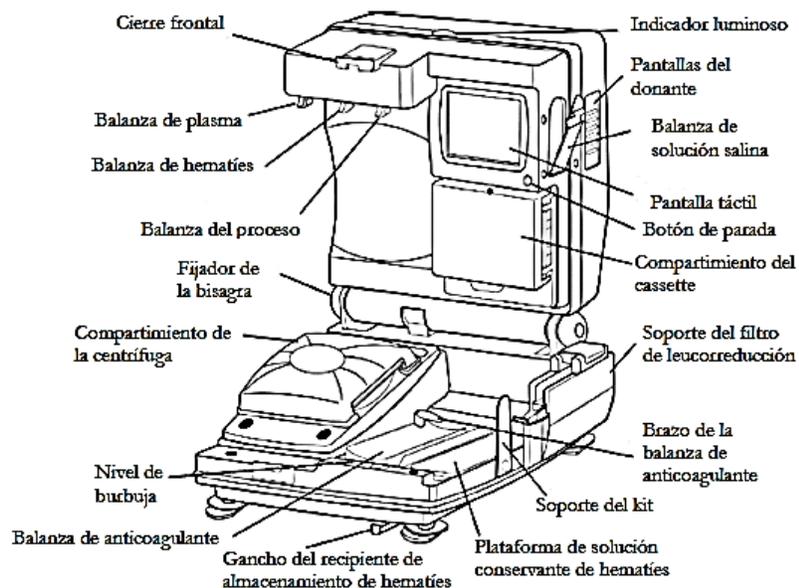


Figura 3. Vista del equipo de eritroferesis

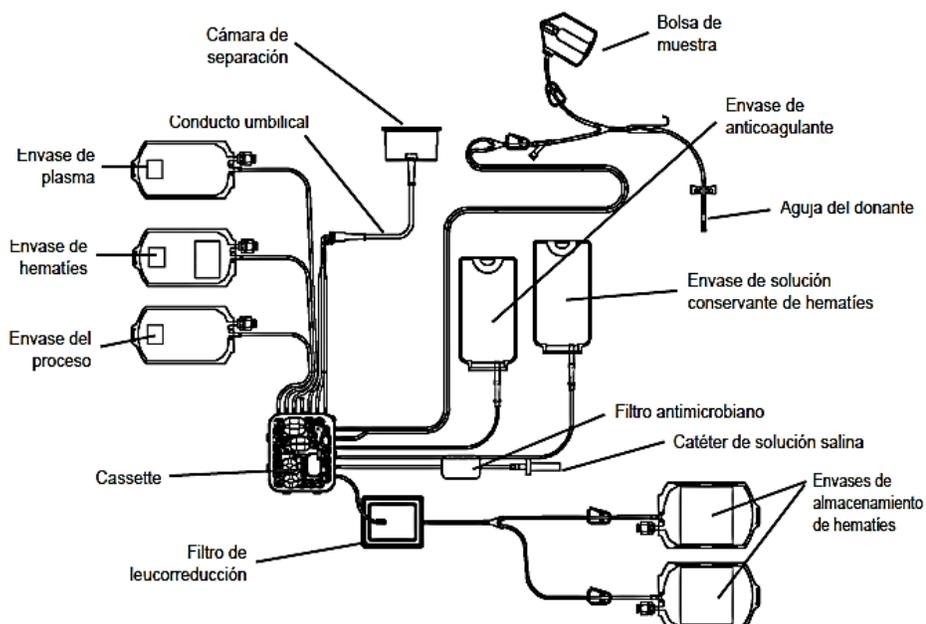


Figura 4. Kit cerrado para la extracción de dos unidades de hematíes

Equipo para análisis de biometría hemática.

Todas las muestras sanguíneas fueron tomadas antes de iniciar la eritroféresis (de una vena del antebrazo) y posterior al procedimiento y colectadas en tubos morados con EDTA (Ácido Etilendiaminotetraacético). Dichas muestras se utilizaron para realizar la biometría hemática completa y los parámetros que se evaluaron fueron los siguientes: hemoglobina, hematocrito, plaquetas, leucocitos, segmentados, linfocitos, monocitos, eosinófilos y basófilos

Para dicha determinación se utilizó un analizador de hematología automático y multiparamétrico (Cell-Dyn Ruby, Abbott laboratorios, Abbott Park, IL, USA), diseñado para utilizarse en el diagnóstico *in vitro* en los laboratorios clínicos. El instrumento utiliza la tecnología MAPSS (Multi-Angle Polarized Scatter Separation), que significa separación mediante esparcimiento lumínico polarizado en múltiples ángulos y la citometría de flujo láser.

Fundamentos

Hemoglobina

El canal de Hemoglobina (Hb) se utiliza para la determinación colorimétrica de la hemoglobina. Durante la aspiración de la muestra, se separa una alícuota de 12 µl en la válvula de segmentación para el análisis Hb. La jeringa del diluyente/reactivo envolvente dispensa 1,7 ml a través de la válvula de segmentación y transfiere la alícuota de hemoglobina a la cámara de mezcla para el análisis de la hemoglobina. La jeringa del reactivo hemolizante Hb dispensa 0,9 ml de reactivo hemolizante en la cámara de mezcla. La dilución se mezcla dando como resultado una dilución 1:218. El reactivo hemolizante Hb hemoliza los eritrocitos diluidos y convierte la hemoglobina liberada mediante un proceso químico sin cianuro. Una vez finalizado el proceso de lisis, un diodo emisor de luz de baja potencia incluido en la celda de flujo de hemoglobina y conectado a la cámara de mezcla, mide la absorbancia que es proporcional a la concentración de hemoglobina. Se realizan cinco lecturas separadas de hemoglobina con la muestra. Se elimina el valor mínimo y máximo y se promedian las tres lecturas restantes para obtener el valor final de hemoglobina en la muestra. La fuente luminosa es un diodo emisor de luz con una longitud de onda de 555 nm. Un detector fotométrico mide la luz transmitida. El resultado de hemoglobina se expresa en gramos de hemoglobina por decilitro de sangre.

Hematocrito

El hematocrito (Hto) es la proporción entre los eritrocitos y el plasma y se expresa como el porcentaje del volumen de sangre. El hematocrito se calcula a partir del recuento de eritrocitos y del volumen corpuscular medio mediante la ecuación:

$$\text{Hto} = (\text{RBC} \times \text{MCV})/10$$

Conteo celular

El sistema CELL-DYN Ruby utiliza las técnicas de citometría de flujo para analizar las poblaciones de eritrocitos, plaquetas y leucocitos. (56)

La citometría de flujo se puede definir como un proceso, en el cual las células u otras partículas biológicas se alinean en una fila única por medio de una corriente de líquidos para atravesar un rayo de luz. Uno o varios sensores determinan, en función de la pérdida o del esparcimiento lumínico, las características físicas o químicas de las células o partículas. (57)

Un canal óptico se usa para determinar el recuento de los leucocitos. Durante la aspiración de la muestra, se separa una alícuota de 20 μl en una válvula para el análisis de los leucocitos. Una vez determinado el recuento de leucocitos, el número absoluto de células en cada subpoblación se calcula multiplicando el recuento de los leucocitos por su porcentaje. La pantalla muestra el número absoluto y porcentual de cada población con un número de hasta tres decimales. El recuento de plaquetas se expresa como millares por microlitro ($10^3/\mu\text{L}$).

Análisis bioquímico relacionado con el estrés oxidativo

Para la medición de los marcadores bioquímicos y de estrés oxidativo se utilizó plasma de los donadores antes y después de la eritroferesis.

Determinación de óxido nítrico (NOx)

La medición de NOx se realizó mediante la determinación de la cantidad total de nitritos (NO^{2-}), que son los productos estables del metabolismo de NOx. Se utilizó el reactivo de Griess (solución acuosa de sulfonilamida al 1% y naftilenetilendiamina al 0.1% en H_3PO_4 al 2.5% (JT Baker)), el cual forma un cromóforo estable con NO^{2-} y que se absorbe a 546 nm. (58) La curva de calibración se hizo con diferentes concentraciones de nitrito de sodio disuelto en agua bidestilada (H_2O BD).

Determinación de la peroxidación lipídica (malondialdehído)

El malondialdehído (MDA) es el producto final de la peroxidación de los ácidos grasos y un marcador de la actividad de los radicales libres. Para la medición de la concentración de peroxidación lipídica se utilizó en método del ácido tiobarbitúrico (TBA) descrito por Wade y van Rij. (59) Aunque el TBA no sólo se limita a la medición del MDA, es el método más empleado para determinar la oxidación lipídica y por lo tanto el estrés oxidativo.

En resumen a 50 μL de plasma de donador se le añadieron 40 μL Dodesil-sulfato de sodio (Sodium-dodesil-sulfate, SDS) 300 μL de ácido tricloroacético al 20%, 200 μL de TBA al 0.4% ,140 μL de H_2O BD se homogenizo en un vortex y se incubo a 90°C durante 60 minutos. La reacción de color se midió

espectrofotométricamente a 532 nm. En la curva de calibración se utilizó tetrametoxipropano como estándar. La concentración de MDA se calculó como $\mu\text{mol/L}$.

Determinación de glutatión total (tioles)

Es una reacción cuantificable que mide el número de cisteínas presentes en una muestra, por el método de Ellman (60) (el cual es el DTNB (ácido 5,5'-ditiobis-2-dinitrobenzoico que interacciona con el grupo tiol para dar ácido tionitrobenzoico en una reacción equimolar para cada residuo de cisteína. Para la lectura primero se leyó a 412 nm con todos los reactivos sin las muestras problema: 15 μL de DTNB, 30 μL Tris EDTA, 200 μL H₂O BD una vez hecho esto se agregó 5 μL de plasma y se leyó nuevamente. Para la curva de calibración se utilizó cisteína como estándar. Al tener ambas lecturas se calculó la concentración de cada una y la diferencia para cada una de las muestras problemas se consideró como el resultado final. Los resultados obtenidos de la lectura en absorbancia fueron expresados en $\mu\text{mol/L}$.

Análisis estadístico

Todos los resultados se expresaran como la media \pm error estándar (ES). Las diferencias estadísticas entre los grupos se obtendrán mediante el análisis de t de student pareada, se utilizó el 95 % como índice de confianza y se consideró el valor de $p \leq 0.05$ como significativo. Todos los cálculos estadísticos se realizarán utilizando el programa de computo Prism V.4.0 (GraphPad Software, Inc., San Diego, USA). La cuenta residual de células blancas se analizó después de su transformación logarítmica. Los resultados se almacenaron en una base de datos Excel para su análisis.

Variables

Independiente

Variable independiente. Equipo automatizado para recolección de doubles rojos o eritroferesis.

Dependientes

Pruebas laboratorio: Biometría Hemática, analitos de estrés oxidativo.

ASPECTOS ÉTICOS

A todos los candidatos aptos para donación de hemocomponentes se les dio la Carta de Consentimiento Informado para Autorizar la Extracción y Donación de sangre. Dicho documento se otorga de manera rutinaria a los donadores, siguiendo las indicaciones de la Secretaria de Salud. Dicho esto, todo aquel

candidato para realizar el procedimiento de eritroferesis ya contaba con el consentimiento firmado, así que, no fue necesario dar otro, ya que nuestro estudio no ameritaba un riesgo extra al donador.

RESULTADOS

Se estudiaron 30 pacientes (100 % hombres). Con edad promedio de 35.27 +- años (rango de 19 a 55 años). Todos ellos provenientes de áreas urbanas. Sus características socio-demográficas se muestran en el cuadro xx

| No. de sujetos | 30 |
|-----------------------------|------------------------------------|
| Edad (años) | 35.27 ± 8.91 (rango 19-55) |
| Sexo | Masculino |
| Estatura (cm) | 175.3 ± 7.39 (164-190) |
| Peso (kg) | 86.73 ± 9.73 (71-108) |
| I.M.C. | 28.28 ± 2.69 (23.25-33.03) |
| Diámetro cintura (cm) | 100.61 ± 6.83 (90-115) |
| Diámetro cadera (cm) | 101.71 ± 8.2 (85-117) |
| Relación C/C | 0.99 ± 0.05 (0.94-1.16) |
| % Grasa corporal | 25.59 ± 3.88 (17.55-34.98) |
| Peso Magro | 6435.16 ± 629.91 (5353.31-8027.79) |
| Presión arterial sistólica | 121.83 ± 11.33 (100-140) |
| Presión arterial diastólica | 78.83 ± 7.39 (70-90) |
| Presión arterial media | 100.33 ± 8.8 (85-115) |
| % Fumadores | 30% |
| % Bebedores sociales | 56.6% |

Cuadro 3. Características sociodemográficas de los donadores. I.M.C.: Índice de masa corporal; C/C: cintura cadera.

Como se aprecia en el cuadro 3 todos los pacientes se encontraban aparentemente en buen estado de salud y en condiciones aptas para la donación.

Todos los procesos de eritroféresis se realizaron siguiendo los procedimientos habituales utilizados en el banco de sangre y siguiendo las indicaciones del fabricante del equipo utilizando. En resumen, se empleó un sistema de aféresis cerrado, con anticoagulación basado en el uso de ácido citrato dextrosa (ACD) en proporción de 1:12 (61) El punto final de cada procedimiento se estableció automáticamente por el mismo equipo de eritroferesis cuando se hubieran obtenido 200 mL de eritrocitos por unidad (dos unidades por donador).

En cuanto a las variables del proceso de eritroferesis, los datos que fueron obtenidos del equipo de aféresis durante el proceso de la obtención de dobles rojos, fueron de: promedio de duración 25 minutos, volumen de anticoagulante 120 mL (ácido citrato y dextrosa), volumen de solución salina isotónica de 466 mL. El

volumen se sangre procesada promedio 954 mL. Las características del proceso se muestran en el siguiente cuadro (cuadro 4).

| | DURACION (minutos) | VOL. ANTICOAG (mL) | VOL. SALINA (mL) | VOL. SANGRE PROCESADA (mL) |
|-----------------|-------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|---|
| Promedio | 24.77 | 120.13 | 466.00 | 953.53 |
| D.E. | 4.56 | 6.72 | 41.88 | 107.21 |
| Max | 41 | 134 | 522 | 1069 |
| Min | 20 | 106 | 377 | 460 |
| N = | 30 | 30 | 30 | 30 |

Cuadro 4. Control del proceso de eritroferesis D.E. Desviación Estándar; Max. Valor máximo; Min. Valor mínimo; N. numero de sujetos.

Mediciones de la biometría hemática

Los cambios hematológicos previos y posteriores al procedimiento de eritroferesis se muestran en los siguientes cuadros.

| | PREDONACIÓN | | | | | | | | |
|-----------------|----------------------|--------------------|----------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|------------------------------|
| | Hb (g/dL) | Hto (%) | LEU (x10(3)/μL) | SEG (%) | LIF (%) | MON (%) | EOS (%) | BAS (%) | PLQTS (x10(9)/uL) |
| Promedio | 17.84 | 52.55 | 6.72 | 56.45 | 32.33 | 7.59 | 2.48 | 1.17 | 287.30 |
| D.E. | 0.89 | 2.72 | 1.72 | 6.66 | 6.69 | 1.62 | 1.69 | 0.36 | 58.54 |
| Max | 20.5 | 58.5 | 10.2 | 74.6 | 45.9 | 11.7 | 7.5 | 1.91 | 403 |
| Min | 16.1 | 47.4 | 4.33 | 45.9 | 17.7 | 4.04 | 0.07 | 0.43 | 186 |
| N = | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 |

Cuadro 5. Resultados en la biometría hemática predonación. D.E. Desviación Estándar; Max. Valor máximo; Min. Valor mínimo; N. numero de sujetos.

| | POSTDONACIÓN | | | | | | | | |
|-----------------|-----------------------|--------------------|-----------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|------------------------------|
| | Hb (mg/dL) | Hto (%) | LEU (x10(3)/mm3) | SEG (%) | LIF (%) | MON (%) | EOS (%) | BAS (%) | PLQTS (x10(9)/uL) |
| Promedio | 14.76 | 42.99 | 5.82 | 57.67 | 31.31 | 11.20 | 2.37 | 1.17 | 259.07 |
| D.E. | 1.07 | 2.67 | 1.59 | 6.98 | 6.37 | 14.94 | 1.65 | 0.37 | 56.85 |
| Max | 17.5 | 50.2 | 9.76 | 73.7 | 45.6 | 88.7 | 6.55 | 1.79 | 407 |
| Min | 13.3 | 37.5 | 3.54 | 45 | 17.7 | 5.3 | 0 | 0.21 | 169 |
| N = | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 |

Cuadro 6. Resultados en la biometría hemática posdonación. D.E. Desviación Estándar; Max. Valor máximo; Min. Valor mínimo; N. numero de sujetos.

En la hemoglobina, se aprecia una disminución significativamente estadística ($p < 0.0001$) cuando se comparan los valores previos con los posteriores a la eritroferesis. El valor diferencial de ambos mostro una caída de 3.08 mg/dL. (Figura 5)

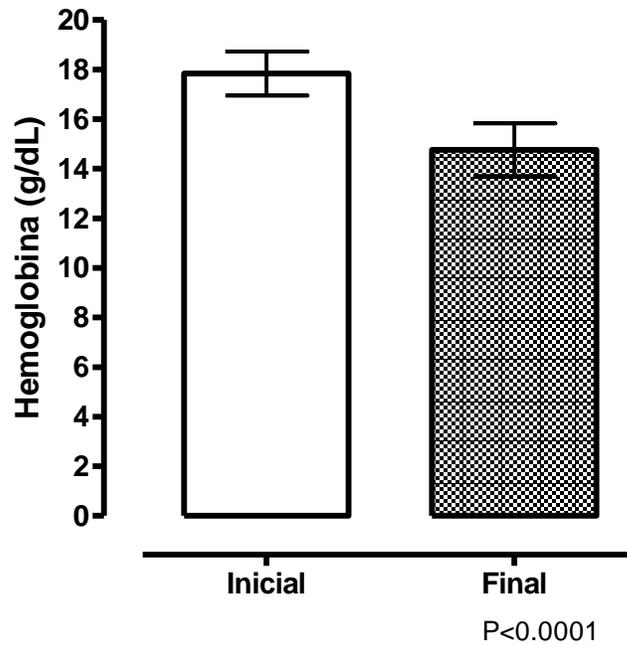


Figura 5. Cambios en la concentración de hemoglobina pre y post eritroferesis.

El porcentaje de hematocrito mostro una disminución en sus valores cuando se comparan el inicial con respecto al final. (Figura 6)

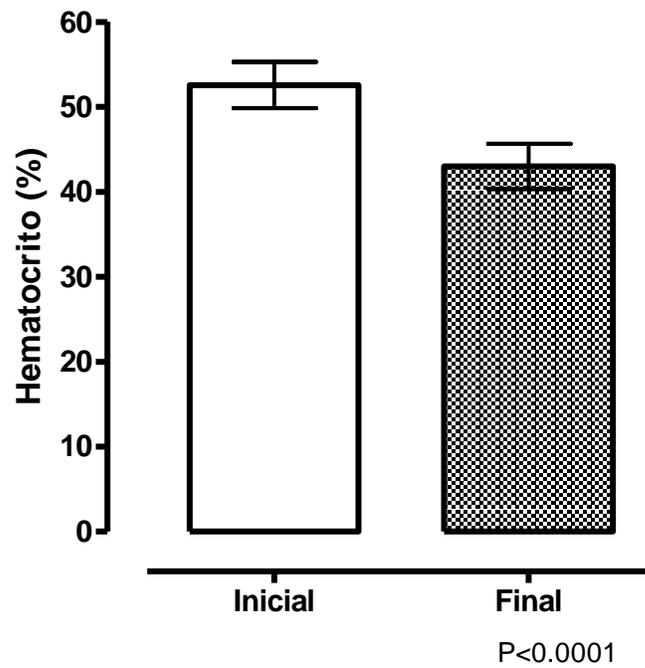


Figura 6. Cambios en la concentración de hematócrito pre y post eritroféresis. Con respecto a los leucocitos se aprecia que su cuenta disminuye notablemente en la post donación con una $p < 0.0001$ estadísticamente significativa.

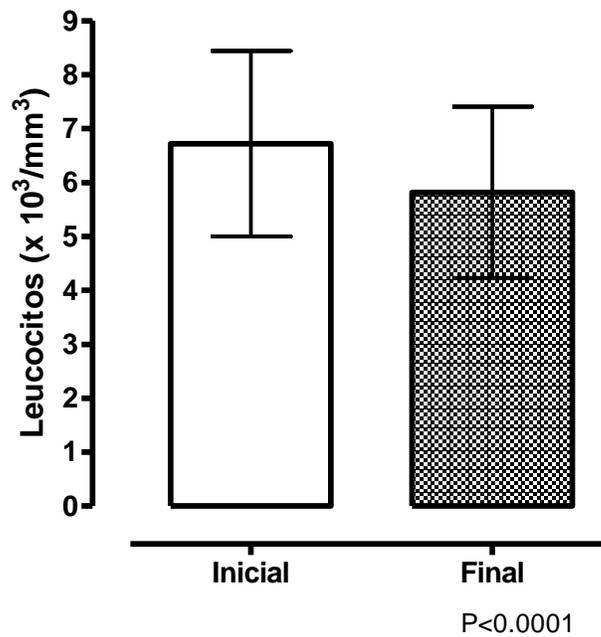


Figura 7. Cambios en la concentración de leucocitos pre y post eritroféresis.

En la cuenta diferencial de los leucocitos en el sentido contrario, encontramos que los segmentados se incrementaron ($p=0.037$).

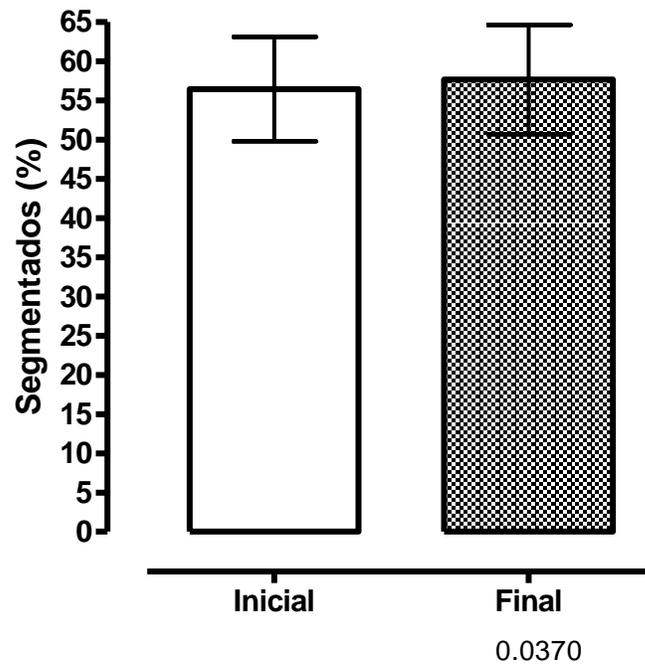


Figura 8. Cambios en la concentración de segmentados pre y post eritroféresis

Con respecto a los linfocitos su comportamiento fue parecido a los segmentados aunque menos evidente ($p=0.0267$).

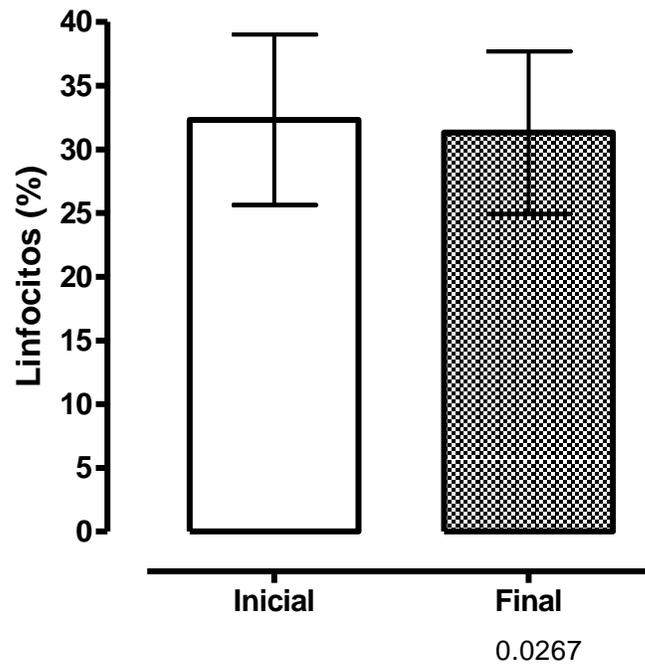


Figura 9. Cambios en la concentración de linfocitos pre y post eritroféresis

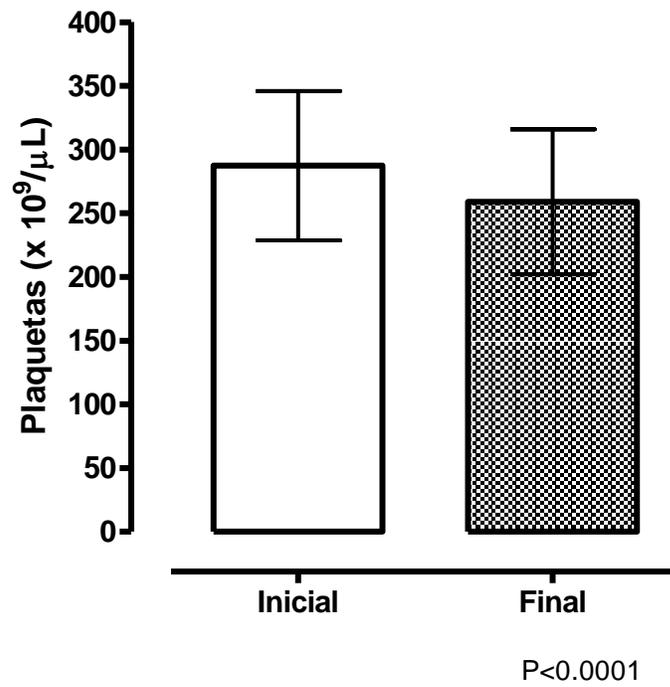


Figura 10. Cambios en la concentración de plaquetas pre y post eritroféresis

En las siguientes figuras se observa las células de la fórmula blanca que no presentaron cambios tras el procedimiento de eritroféresis.

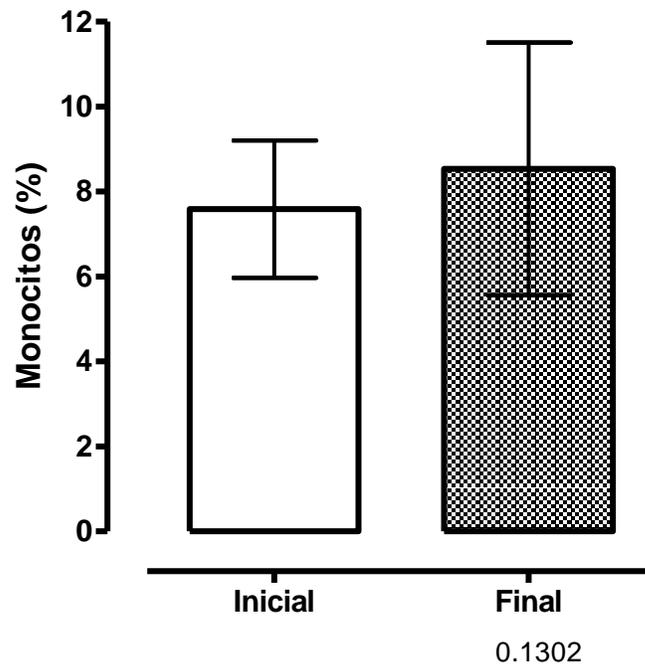


Figura 11. Cambios en la concentración de monocitos pre y post eritroféresis

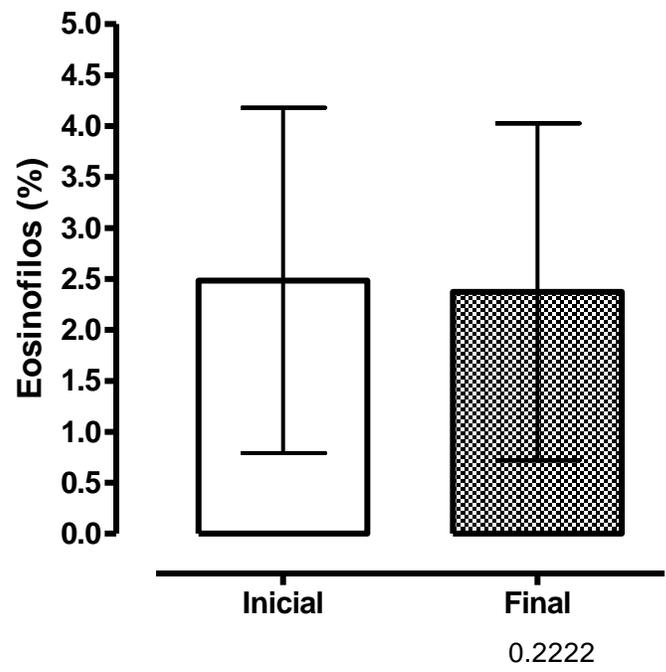


Figura 12. Cambios en la concentración de eosinófilos pre y post eritroféresis

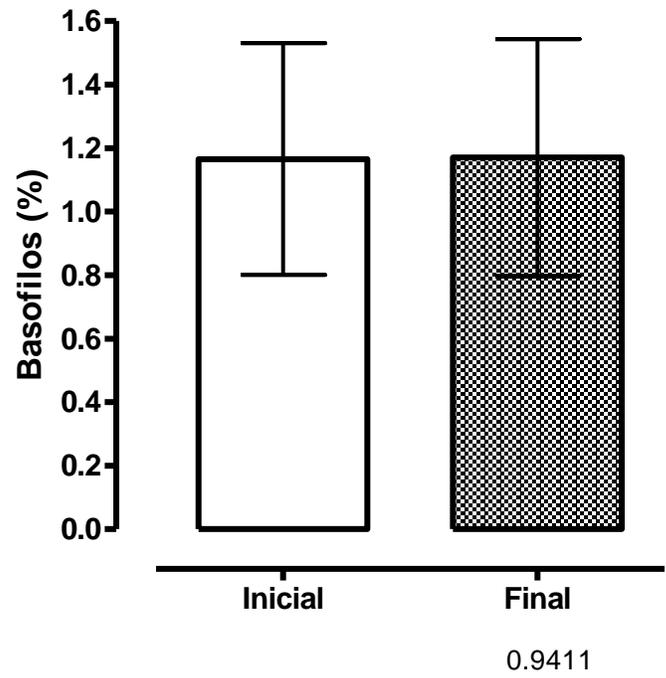


Figura 13. Cambios en la concentración de basófilos pre y post eritroféresis

Mediciones bioquímicas

El NOx se aprecia que disminuyo aunque estadísticamente no es significativo, es evidente el cambio en la post eritroferesis al observar la figura obtenida.

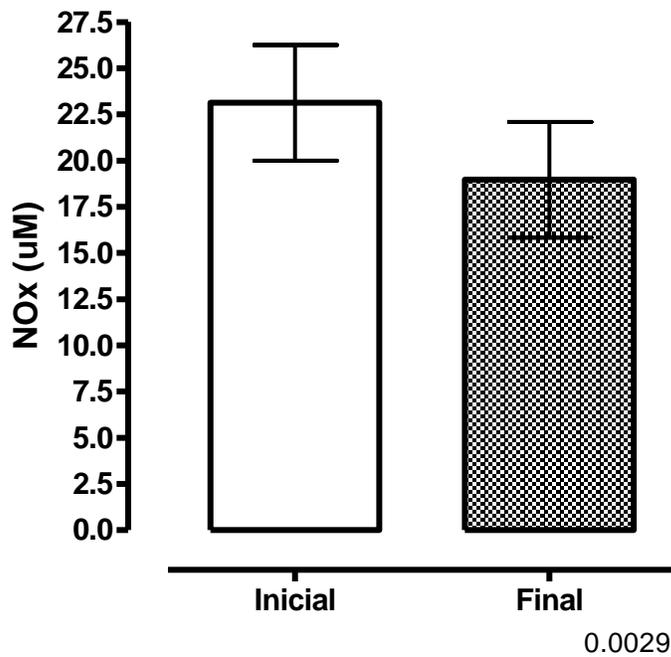


Figura 14. Cambios en la concentración NOx pre y post eritroféresis

Con respecto al MDA se aprecia que aumenta notablemente en los donadores después del procedimiento de eritroféresis.

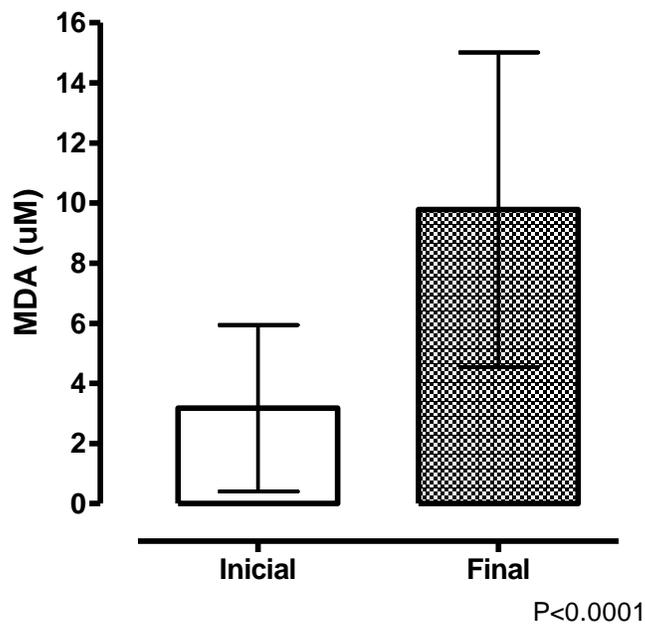


Figura 15. Cambios en la concentración MDA pre y post eritroféresis

En el glutatión total se evidencia un aumento importante después del procedimiento.

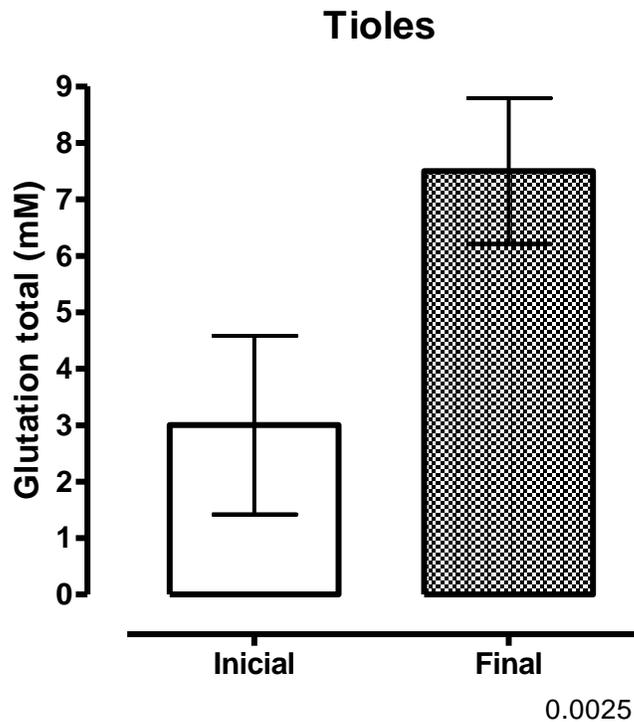


Figura 16. Cambios en la concentración Glutación total (tioles) pre y post eritroféresis

Las variables hematológicas del paquete globular se muestran en el cuadro XX, que en general tuvieron un promedio de 19 g/dL para hemoglobina, 60% de hematocrito, una cuenta 9.6×10^9 por mL de plaquetas, y con 31% de segmentados, 41% de linfocitos, 0.7% de monocitos y 24% de eosinófilos. Los basófilos prácticamente fueron del 0%.

Cuadro 7. Mediciones hematológicas en la unidad eritrocitaria (paquete globular)

| | Hb (g/dL) | Hto (%) | Plaq ($\times 10^9$ / μ L) | Leu (%) | Seg (%) | Lin (%) | Mon (%) | Eos (%) | Bas (%) |
|-----------------|-----------|---------|---------------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| Promedio | 19.34 | 60.21 | 9.654 | 0.004 | 31.06 | 41.15 | 0.667 | 23.78 | 0 |
| D.E. | 0.68 | 1.981 | 6.045 | 0.003 | 28.93 | 30.33 | 3.651 | 27.04 | 0 |
| Max | 20.6 | 63.4 | 26.2 | 0.013 | 100 | 100 | 20 | 100 | 0 |
| Mim | 18.1 | 55.7 | 1.4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| N = | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 |

DISCUSIÓN

Durante los últimas dos décadas, los procedimientos para la obtención de sangre y sus fracciones ha mejorado notablemente tanto en la productividad como en la calidad de los productos obtenidos y aunque la eritroféresis se realiza en todo el

mundo, poca atención se ha puesto en los donadores debido a que nos concentramos en la rutina de la calidad y la transfusión.

Los glóbulos rojos son el componente sanguíneo que más se utiliza en las transfusiones y a veces ciertos grupos sanguíneos no tienen bastante suministro. Las donaciones de dobles glóbulos rojos de donantes de grupo O y con Rh (D) negativos tienen un papel muy importante. (62) En el banco de sangre la obtención de dobles rojos o eritroferesis es un procedimiento poco promocionado a pesar de las ventajas que trae al aumentar la reserva del banco de sangre.

Por otro lado el donador de sangre es una parte esencial en la obtención de sangre y hemocomponentes, por ello debemos estar seguros que el donar sangre es un procedimiento inocuo y esto solo se podrá saber si se estudia de manera completa al donador y realizando diseños de investigación en cuanto a los cambios hematológicos y bioquímicos pre y post donación. Es insuficiente la información encontrada en la literatura acerca de los cambios hematológicos en los donadores sometidos a procedimientos automatizados como el de la eritroferesis y menos aún de los cambios bioquímicos que pudieran tener como en algunos marcadores de estrés oxidativo.

En este trabajo encontramos que la hemoglobina se reduce tras el procedimiento de eritroferesis esto se debe a que a los donadores se les retira de un 10-15 porcentaje de sangre y ha sido reportado muy ampliamente desde los 50s, sin embargo cabe notar que cuando realizamos una búsqueda bibliográfica no encontramos suficiente información respecto a los procedimientos de eritroferesis, tal vez porque en la comunidad médica dedicada, el banco de sangre ha dado por sentado que esos cambios son constantes tanto en la donación normal como en cualquiera otro procedimiento relacionado con la aféresis incluida la eritroferesis. En este trabajo demostramos que los pacientes que son sometidos a la eritroferesis las variables hematológicas cambian importantemente.

De manera similar esos cambios posteriores a la eritroferesis se manifiestan también en otros marcadores de la biometría hemática, así ocurrió con el porcentaje de glóbulos rojos, es decir una caída en el hematócrito con respecto al valor inicial.

A pesar de que se dan por hecho esos cambios, poco se sabe acerca de la diferencial de células blancas,

La evaluación de los productos obtenidos por eritroferesis es importante ya que así mejoramos la calidad en la atención a nuestros pacientes. Una adecuada leucodepleción es esencial y además la medición de marcadores de estrés oxidativo.

CONCLUSION

La evaluación de los parámetros en los donadores no ha demostrado la importancia que debemos darle a los cambios que posteriormente se presentan. Este trabajo da la pauta para continuar la investigación en nuestra población.

REFERENCIAS

1. McLeod BC, Price TH, Drew MJ. Introduction to Apheresis Donation Including History and General Principles. In: AABB. Apheresis: Principles and Practice. 2nd ed. Bethesda, Maryland 1997; 27-44
2. Romero T, Hernández D, Sojo A, Jiménez A, Ospino C, Dávila Z, Arias M. Manual de técnicas y procedimientos en bancos de sangre. Editorial Prado. Tercera edición. México. 2010; 221-224
3. Bonifaz R. Aspectos clínicos en medicina transfusional. Capítulo 9. Aplicaciones terapéuticas de la aféresis. Editores intersistemas 2004; 61-67
4. Rodríguez H, Quintanar E, Mejía M. El banco de sangre y la medicina transfusional. Proceso de la donación de sangre. Metodología para la separación de los componentes de la sangre. Editorial medica panamericana. 2004; 14-17
5. NOM-253-SSA1-2012 Para disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos
6. Brock JH, Halliday JW, Pippard MJ, Powell LW. Iron metabolismo in health and disease. London. WB Saunders; 1994; 449-476
7. Cortés A, Jiménez ML, Fajardo A, Valencia G, Marín MC, Sandoval N. deficiencia de hierro en donantes de sangre. Colomb Med 2005; 36: 34-39

8. Infanti L, Rüesch M, Sigle J, Job S, Pittori C, Scherrer J, Buser A. Follow up of hemoglobin and ferritin in repeat donors: Comparing apheresis double red cell unit donation versus single unit whole blood donation
9. Rodríguez MA, Marcos D, Inchaustesgui JL, Hernández B, Lee FC, Hernández E, Martínez L. Análisis de los indicadores hematológicos en donadores que acuden al banco de sangre del hospital general de Tapachula (Chiapas, México). Hig Sanid Ambient 2012; 12 (1): 846-852
10. Beutler E. Manual de hematología. McGraw Hill 1997; 80-85
11. McLeod BC, Price TH, Drew MJ. Apheresis: Principles and Practice. Chapter 12: Donation of Red Cells and Plasma Components by Apheresis. AABB. Bethesda, Maryland 1997; 211-221
12. Council of Europe Publishing. Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components. Chapter 18: Red cells, apheresis. 13th edition. January 2007; 141-143
13. Domingo JM, Blanco C, Rabasa P, Chueca P, Medarde A. Eritroferesis de donante único: estudio de 50 procedimientos y evaluación de su eficacia leucorreductora. Anales Sis San Navarra 2000; 23 (1): 131-133
14. Radillo A. Medicina transfusional. Capítulo 12. Extracción de sangre, complicaciones y manejo. Segunda edición. Editorial Prado. México. 2006, 228-237
15. Mollison. Transfusión de sangre en medicina. La obtención de la sangre. 7 edit. España 1987; 33-37
16. McLeod BC, Price TH, Drew MJ. Apheresis: Principles and Practice. Chapter 4: Physiology of Apheresis. AABB. Bethesda, Maryland 1997: 67-83
17. Popovsky MA, Whitaker B, Arnold NL. Severe outcomes of allogeneic and autologous blood donation frequency and characterization. Transfusion 1995; 35: 734-737
18. Gonzalez TT, Sabino EC, Schlumpf KS, Wrigth DJ, Leao S, Sampaio D, Takecian PL, Carneiro-Proietti AB, Murphy E, Bush M, Custer B. Vasovagal reaction in whole blood donors at 3 REDS-II blood center in Brazil
19. Crocco I, Franchini M, Garozzo G, Gandini AR, Gandini G, Bonomo P, Aprili G. Adverse reactions in blood and apheresis donors: experience from two Italian transfusion centres. Blood Transfusion 2009; 7: 35-38
20. Genetet B, Mannoni P. La transfusión. Donacion de sangre. Ediciones Toray. Primera Edición. Barcelona, España. Julio 1980; 24-27
21. Macher S, Sipurzynski-Brudrab S, Rosskopf K, Semmelrock M, Prüller F, Griesbacher A, Lanzer G, Schallmoser K. Influence of multicomponent apheresis on donors' haematological and coagulation parameters, iron storage and platelet function. Vox Sanguinis 2012; 103: 194-200
22. Rugg N, Greenwalt TJ, Rios J, Gormas JF, Meyer K. Safety of donating two units of red blood cells on the Alyx component collection system. Hoxworth Blood Center. Yale University School of Medicine
23. Lordméndez-Jácome D. Donación de componente sanguíneos por aféresis. Rev Med Inst Mex Seguro Soc 2005; 43 (Supl 1): 43-46

24. Moog R. Collection of red blood cell units by apheresis. *Transfusion and Apheresis Science* 48 (2013) 141-143
25. Abel J, Roundtree L, Turnes B. Plasma removal with return of corpuscles. *J Pharmacol Exp Ther* 1983; 5: 625-641
26. Bravo A, Lord-Méndez D, Medina M, Béjar Y, Sánchez S. Aféresis terapéutica. *Rev Med Ins Seguro Soc* 2006; 44 (Supl 2): 77-80
27. Pérez M, Roura J, Caveda O, Arévalo C, Basulto M. Plasmaféresis en el síndrome de Guillain Barre. *Archivo Médico de Camagüey* 2004; 8 (5)
28. Gutiérrez J, Muñoz E, Arango C, Vásquez E, Montoya J, Villa J. Pancreatitis aguda inducida por hipertrigliceridemia y tratamiento con plasmaféresis. *Iatreia* 2012; 25 (4): 391-397
29. León A, Huertas J, Hurtado J. Glomerulonefritis aguda con énfasis en compromiso rápidamente progresivo. *Colomb Med* 2011; 42 (4): 536-548
30. Lora C, Navarro J. Síndrome Miasténico de Eaton-lambert. *Rev Colomb Anest.* 2001; 29 (1)
31. Daza J, Roncallo A. Neuromielitis óptica: Estado de arte. *Salud Uninorte. Barranquilla Col* 2007; 23 (2): 204-219
32. Conte A, Cadoudal N, Siguret V. Síndrome de anticuerpos antifosfolípidos. *Acta Bioquím Cín Latinoam* 2008; 42 (2): 271-278
33. Martínez A, Cano ME, Palacios A, Mateo P. Manejo anestésico del Síndrome de Hellp. *Rev Colomb Anest* 2003; 31 (1)
34. Euler H, Schoroeder J. plasmaféresis para Lupus con nefritis. *New England J Med* 1992; 327 (14) 1028
35. Dau Peter. Recambio plasmático en polimiositis y dermatomiositis. *New England J Med* 1992; 327 (14)
36. Mellwig K, Pulawski E, Horstkotte. Lipid apheresis: oxidative stress, rheology, and vasodilatation. *Clin Res Cardiol Suppl* 2012; 7: 45-49
37. Mariani R, Peluchi S, Perseghin P, Corengia C, Piperno A. Erythrocytapheresis plus erythropoietin: an alternative therapy for selected patients with hemochromatosis and severe organ damage. *Hematology journal* 2005; 90 (5): 717
38. Gutierrez C, Serra J, Hering E, Vaisman S. Policitemia neonatal y eritroferesis. *Rev Chil Pediatr* 1988; 59 (1): 16-20
39. Medina M. Aféresis terapéutica, recambio plasmático terapéutico, citaféresis. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc* 2005; 43 (supl 1): 47-52
40. Black V., Lubchenco L., Luckey D., Koops B., Guinness G-, Powell D., Tomlinson A. Development and neurological sequelae of neonatal hyperviscosity syndrome. *Pediatrics* 1982; 69: 426-431.
41. Gershman R. Oxigen poisoning and x-irradiation: a mechanism in common. *Science* 1954; 119: 623-6
42. Pérez PL, Pérez J. Métodos para medir el daño oxidativo. *Rev Cubana Med Milit* 29 (3): 192-198
43. Hernández-Saavedra D, McCord JM. Evolución y radicales libres. Importancia de estrés oxidativo en la patología humana. *Rev Med Ins Mex Seguro Soc* 2007; 45 (5): 477-484

44. Gallardo JM. Evaluación del sistema antioxidante en el semen normal. *Rev Invest Clin* 2007; 59 (1): 42-47
45. Delatre J, Bonnefont-Rousselot D. Oxidative stress, free radicals and aging. *Biotech Lab Int* 1998; 3(2): 21-23
46. Block G. A role for antioxidants in reducing cancer risk. *Nutr Res* 1992; SO: 207-213
47. Jacob RA. The integrated autoxidant system. *Nutr Res* 1995; 15:755-766
48. Pérez PL, Pérez J. Métodos para medir el daño oxidativo. *Rev Cubana Med Milit* 29 (3): 192-198
49. Souki A, Cano C, Mengual E, García D, Torres D, Almarza J, Urdaneta Y, León L, Chávez Z, Molero E, Medina M, Amell A. Marcadores biológicos de estrés oxidativo. *Archivos venezolanos de farmacología y terapéutica* 2007; 26 (2): 92-97
50. Théron P, Bonnefont-Rousselot D, Davit-Spraulc A, Conti M, Alain Legrand A. Biomarkers of oxidative stress: an analytical approach. *Curr Opin Clin Nutr Meta Care* 2000; 3: 373-384
51. Ceballos G, Ramirez I, Calzada C, Olivares C. Disfunción endotelial y estrés oxidativo. *Revista de Endocrinología y Nutricion* 2006; 14 (4): 233-236
52. Barbosa KBF, Bressan J, Zulet MA, Matinez JA. Influencia de la dieta sobre marcadores plasmáticos de estrés oxidativo en humanos. *An Sist Sanit Navar* 2008; 31 (3): 259-280
53. Picchi A, Gao X, Belmadani S, Potter BJ, Focardi M, Chilian WM, Zhang C. Tumor necrosis factor- α induces endothelial dysfunction in the prediabetic metabolic syndrome. *Circ Res* 2006; 99(1): 69-77
54. Sies H. Oxidative stress: oxidant and antioxidant. *Exp Physiol* 1997; 82:291-5.
55. Fenwal blood technologies. Manual del operador Alyx component collection system. 2009
56. American Society for Clinical Pathology (ASCP). *Clinical applications of flow cytometry*. ASCP National Meeting: Spring; 1990.
57. Shapiro HM, Practical Flow Cytometry. John Wiley and Sons. Inc. 1nd ed. 1984
58. Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper PL, Wishnok JS, Tannenbaum SR. Analysis of nitrite, nitrate and [15N] nitrate in biological fluids. *Anal Biochem* 1982; 126: 131-138.
59. Wade CR, van Rij AM. Plasma thiobarbituric acid reactivity: Reaction conditions and the role of iron, antioxidants and lipid peroxy radical on the quantitation of plasm lipid peroxides. *Life Sci* 1988; 43: 1085-1093
60. Ellman GI, Tissue sulfhydryl groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1959; 82 (1), 70-77
61. Chaudhary R, Sekhar DS, Agarwal P, Shanker SJ. Quality systems in automated plateletpheresis in hospital-based blood transfusion service in north India. *J Clin Apher* 2005; 20: 81-85
62. American Red Cross. Types Donations. En: www.redcrossblood.org/donating-blood/types-donation

ANEXOS

Anexo 1. Consentimiento informado



Methodist International
Hospital Network

**The American British Cowdray
Medical Center, I.A.P.
Banco de Sangre**
Carlos Graef Fernández No. 154,
Santa Fe Cuajimalpa
Delegación Cuajimalpa 15300 México,
D.F.
Licencia Sanitaria 12-TS-09-004-0001
Teléfono: 1103 16 22

México, D F. a (**día / mes / año**) ____ / ____ / ____ **Hora:** ____ : ____ hrs.

El que suscribe la presente, de manera libre y en plena conciencia, solicito y autorizo al personal del Banco de Sangre de **The American British Cowdray Medical Center, I.A.P.** (el "Banco de Sangre"), para que me practique el procedimiento de extracción de sangre o de hemocomponentes, con fines de donación y que en términos generales, tiene el beneficio principal de que el Banco de Sangre cuente con reservas de sangre y/o hemocomponentes que puedan servir de apoyo terapéutico a los pacientes que requieran transfusiones de sangre o hemocomponentes y con quienes mi sangre sea compatible. **Estoy consciente de que los riesgos más comunes** del procedimiento de extracción de sangre o de hemocomponentes, a pesar de la correcta realización del procedimiento, pueden consistir en desmayos, punción venosa fallida, equimosis (moretón) o hematoma en el sitio de punción y rara vez crisis convulsivas, de los cuales tengo pleno conocimiento y entiendo, manifestando que me ha sido explicado que en todo momento tendré que seguir las indicaciones del personal del Banco de Sangre, inclusive en cuanto a la toma de medicamentos que ayuden al proceso de recuperación de mi sangre o hemocomponentes, con pleno conocimiento previo de las contraindicaciones y efectos secundarios de los mismos, así como también recomendaciones para después de la donación. Igualmente autorizo que se me practique cuanto examen o procedimientos diagnósticos sean necesarios para el análisis de mi sangre, sobre todo para verificar su viabilidad, incluyendo aquellos estudios que sean necesarios para diagnosticar enfermedades de transmisión sexual y otro tipo de enfermedades que se encuentren dentro de los criterios de exclusión para la donación.

Asimismo, en caso de que mi sangre o hemocomponentes sean diagnosticados por el Banco de Sangre como viables para fines de donación, de manera libre y en plena conciencia, otorgo el consentimiento de donación para que mi sangre o hemocomponentes puedan ser usadas para el o los pacientes que lo requieran.

Se me ha explicado detalladamente, en palabras comprensibles para mí, la naturaleza y beneficios esperados del procedimiento de extracción de sangre y de la donación que por este conducto autorizo, los posibles riesgos, así como las molestias que puedo sentir. Asimismo, manifiesto que el personal del Banco de Sangre ha contestado a mi satisfacción todas las preguntas que libremente he formulado al respecto. En específico, se me ha proporcionado la siguiente información:

- **Método de colecta:** Sangre total por extracción venosa o de hemocomponentes (plaquetas, eritrocitos y/o plasma) o por aféresis

(Separador automatizado)

- **Volumen Extraído:** El Volumen de sangre total o hemocomponentes donado será de 450 mL \pm 10%, es decir máximo 495 mL.

- **Procedimientos alternativos:** No existen otras alternativas de donación alogénica de sangre o hemocomponentes

Se me ha explicado que durante el procedimiento de extracción que por este conducto autorizo, pueden surgir condiciones no previstas que hagan necesaria la realización de procedimientos médicos y/o quirúrgicos distintos al aquí autorizado, por consiguiente ante cualquier complicación o efecto adverso durante dicho

Datos demográficos

| | | | | | | | | | | | | |
|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|---|--|
| <p>Sexo <input type="checkbox"/> 1). Hombre <input type="checkbox"/> 2). Mujer</p> <p>Edad (años cumplidos) _____</p> <p>Fecha de Nacimiento (día / mes / año) <table border="1" style="display: inline-table; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 20px; height: 20px;"></td> </tr> </table> </p> <p>Nacionalidad <input type="checkbox"/> 1). Mexicana <input type="checkbox"/> 2). Otra</p> | | | | | | | | | | | <p>Lugar de Residencia _____</p> <p><input type="checkbox"/> 1). Urbana <input type="checkbox"/> 2). Rural</p> <p>Lugar de Nacimiento _____</p> <p><input type="checkbox"/> 1). Urbana <input type="checkbox"/> 2). Rural</p> | <p>Ocupación <input type="checkbox"/> 1). Agricultor Obrero <input type="checkbox"/> 2). Empleado <input type="checkbox"/> 3). Negocio propio <input type="checkbox"/> 4). Hogar <input type="checkbox"/> 5). Estudiante <input type="checkbox"/> 6). Jubilado Pens <input type="checkbox"/> 7). Desempleado</p> <p>Estado civil <input type="checkbox"/> 1). Soltero <input type="checkbox"/> 2). Casado <input type="checkbox"/> 3). Viudo <input type="checkbox"/> 4). Divorciado <input type="checkbox"/> 5). Unión libre</p> |
| | | | | | | | | | | | | |

Socioeconómicos

| | | |
|--|---|--|
| <p>Escolaridad <input type="checkbox"/> 1). Ninguna <input type="checkbox"/> 2). Primaria <input type="checkbox"/> 3). Secundaria <input type="checkbox"/> 4). Preparatoria <input type="checkbox"/> 5). Técnica <input type="checkbox"/> 6). Profesional <input type="checkbox"/> 7). Posgraduado</p> | <p>Ingreso Mensual Familiar <input type="checkbox"/> 1). Menor de 1000 <input type="checkbox"/> 2). de 1001 a 5000 <input type="checkbox"/> 3). de 5001 a 10000 <input type="checkbox"/> 4). de 10001 a 15000 <input type="checkbox"/> 5). mayor de 15001</p> | <p>Actividad física <input type="checkbox"/> 1). Ninguna Sedentario <input type="checkbox"/> 2). Muy baja <input type="checkbox"/> 3). Baja media <input type="checkbox"/> 4). media <input type="checkbox"/> 5). Media alta <input type="checkbox"/> 6). alta</p> |
|--|---|--|

Antecedentes heredofamiliares

| | |
|--|---|
| <p>Sus padres han padecido de <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 1). Enfermedades cardiacas <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 2). Hipertensión arterial <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 3). Diabetes mellitus <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 4). Enfermedades pulmonares <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 5). Enfermedades renales <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 6). Tumores o cáncer <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 7). Enfermedades Mentales <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 8). Enfermedades nerviosas</p> | <p>Sus hermanas (os) han padecido de <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 1). Enfermedades cardiacas <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 2). Hipertensión arterial <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 3). Diabetes mellitus <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 4). Enfermedades pulmonares <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 5). Enfermedades renales <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 6). Tumores o cáncer <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 7). Enfermedades Mentales <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 8). Enfermedades nerviosas</p> |
|--|---|

Medicamentos en el último mes (Dosis y frecuencia)

| | |
|--|--|
| | |
|--|--|

Antecedentes personales

| | | |
|--|--|--|
| <p>Patologías</p> <p>[] Si [] No 1). Insufic. Renal</p> <p>[] Si [] No 2). Insufic. Cardi</p> <p>[] Si [] No 3). A Vasc. Ence</p> <p>[] Si [] No 4). Cardio Isqué</p> <p>[] Si [] No 5). Enf. Pulmon</p> <p>[] Si [] No 6). Tumor o Ca.</p> <p>[] Si [] No 7). Enf. Mentales</p> <p>[] Si [] No 8). Enf. Sist. Nerv</p> <p>[] Si [] No 9). Alt Osteo-Mus</p> <p>[] Si [] No 10). Alt. Visuales</p> <p>[] Si [] No 11). Alt. Auditivas</p> <p>[] Si [] No 12). Cirugías</p> <p>Trasfusiones</p> <p>[] 1). Si [] 2). No</p> <p>[] 3). No sabe</p> <p>Fecha de la última: ____/____/____ día mes año</p> | <p>GinecoObstetricos</p> <p>FUM ____/____/____ día mes año</p> <p>Embarazos [] 1). Si [] 2). No</p> <p>No. Embarazos <input type="text"/> <input type="text"/></p> <p># de hijos nacidos vivos <input type="text"/> <input type="text"/></p> <p># de hijos nacidos muertos <input type="text"/> <input type="text"/></p> <p>[] Si [] No 2). Abortos</p> <p>[] Si [] No 3). Cesáreas</p> <p>[] Si [] No 4). Pre-eclampsia</p> <p>Post-menopáusica [] 1). Si [] 2). No</p> <p>Toma anticonceptivos orales [] 1). Si [] 2). No</p> | <p>Tabaquismo</p> <p>[] 1). Si [] 2). No</p> <p>[] 3). Pasivo</p> <p>[] 4). Dejó de fumar ____/____/____ día mes año</p> <p>Edad de inicio <input type="text"/> <input type="text"/></p> <p>Años fumando <input type="text"/> <input type="text"/></p> <p>Cigarros / día <input type="text"/> <input type="text"/></p> <p>Alcohol [] 1). Si [] 2). No</p> <p>No. de copas o cervezas / semana <input type="text"/> <input type="text"/></p> |
|--|--|--|

| | | |
|---|---|---|
| <p>Diabetes mellitus</p> <p>[] 1) Si [] 2) No.</p> <p>[] 3) No sabe</p> <p>Tx de DM</p> <p>[] 1) Si, sin tratamiento</p> <p>[] 2) Si, con tratamiento oral y sin insulina</p> <p>[] 3) Si, con tratamiento con insulina</p> <p>Tiempo de evolución desde el Dx por un médico <input type="text"/> <input type="text"/> (años):</p> | <p>HTA</p> <p>[] 1) Si [] 2) No.</p> <p>[] 3) No sabe</p> <p>[] 1) HAS sin control</p> <p>[] 2) HAS controlada</p> <p>Tiempo de evolución desde el Dx por un médico <input type="text"/> <input type="text"/> (años):</p> | <p>Hipercolesterolemia</p> <p>[] 1) Si [] 2) No.</p> <p>[] 3) No sabe</p> <p>[] 1) Si, sin tratamiento</p> <p>[] 2) Si, con tratamiento</p> <p>Tiempo de evolución desde el Dx por un médico <input type="text"/> <input type="text"/> (años)</p> <p>Síntomas y signos encontrados:</p> <p>[] Si [] No 1). Cefalea</p> <p>[] Si [] No 2). Palpitaciones</p> <p>[] Si [] No 3). Visión borrosa</p> <p>[] Si [] No 4). Disnea</p> |
|---|---|---|

| | | |
|--|--|---|
| | | [] Si [] No 5). Dolor Precord [] Si [] No 6). Sin síntomas |
|--|--|---|

Exploración física

| Signos vitales | Mediciones corporales |
|---|--|
| Temperatura axilar (°C) <input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/> | Estatura (cm) <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> |
| Frecuencia cardiaca (lat/min) <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> | Peso (kg) <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> |
| Frecuencia respiratoria (Resp/min) <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> | IMC (kg/m ²) <input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/> |
| P. Arterial Sistólica (mmHg) <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> | Diámetro del cuello (cm) <input type="text"/> <input type="text"/> |
| P. Arterial Diastólica (mmHg) <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> | Diámetro de la cintura (cm) <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> |
| P. Arterial Media (mmHg) <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> | Diámetro de la cadera (cm) <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> |
| | Relación Cint/Cad <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/> |
| | Porcentaje de grasa <input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/> |
| | Peso magro <input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/> |
| | Peso magro seco <input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/> |