

TESIS SIN PAGINACION

11237

63
2eje.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO E INVESTIGACION

INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRIA

SECRETARIA DE SALUD

**CONCENTRACION DE FIBRONECTINA
EN LAS UNIDADES SANGUINEAS**

TRABAJO DE INVESTIGACION QUE PRESENTA

DR. PEDRO GUTIERREZ CASTRELLON

PARA OBTENER EL TITULO DE ESPECIALISTA EN

PEDIATRIA MEDICA

México, D.F. 1994.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



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 está 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.

HOJA DE APROBACION



[Signature]
DR. HECTOR FERNANDEZ VARELA
DIRECTOR GENERAL

[Signature]
DR. RIGOBERTO MARTINEZ GENAVIDES
SUBDIRECTOR GENERAL DE ENSEÑANZA

[Signature]
DR. LUIS HESHIKI NAKAMAKARI
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE
ENSEÑANZA DE PRE Y POSGRADO

[Signature]
DR. HECTOR FERNANDEZ VARELA
PROFESOR TITULAR DEL CURSO

[Signature]
DRA. IRENE MAULEN RAQVAN
ASESOR DEL TRABAJO DE INVESTIGACION

FIBRONECTINA EN PRODUCTOS SANGUINEOS

RESUMEN

Objetivo: Determinar la concentración de fibronectina (FBN) en diferentes unidades sanguíneas disponibles en el banco de sangre del Instituto Nacional de Pediatría.

Metodología: Se determinó la concentración de fibronectina en 14 unidades de sangre fresca, 14 unidades de plasma congelado y 15 unidades de crioprecipitado, obtenidos y disponibles en el Banco de Sangre del Instituto Nacional de Pediatría, mediante nefelometría.

Resultados: La concentración de FBN en sangre fresca fue ($\bar{x} \pm D.S.$) 483 ± 230 mcg/L, en plasma congelado 111 ± 74 mcg/L y en crioprecipitados 2107 ± 682 mcg/L con una diferencia estadísticamente significativa ($p < .001$). Adicionalmente se observó que la concentración de FBN en las unidades sanguíneas almacenadas se reduce significativamente conforme se incrementa el tiempo de almacenaje.

Conclusiones: La unidad sanguínea apropiada para proporcionar cantidades suficientes de fibronectina es el crioprecipitado recién obtenido ya que es el que contiene las concentraciones más elevadas de esta glucoproteína.

Palabras clave: Fibronectina, productos sanguíneos, respuesta inmune.

ABSTRACT

Objective: Determine plasma fibronectin (FBN) concentration in three different blood products available in the Instituto Nacional de Pediatría blood transfusion service.

Methods: By nephelometry, plasma FBN concentration was measured in fourteen fresh whole blood packages, in fourteen frozen plasma packages, and fifteen cryoprecipitates, available in the blood transfusion service.

Results: Plasma FBN concentration was significantly different in the three blood units ($\bar{x} \pm S.D.$): In SF was 483 ± 230 mcg/L, in PC 111 ± 74 mcg/L, and 2107 ± 682 mcg/L in CP ($p < 0.001$). Additionally we observed that FBN concentration decreased in PC and CP in relation with the storage time.

Conclusions: The appropriated blood unit to infuse a sufficient amount of FBN is cryoprecipitates, specially when it has a very short storage time.

ANTECEDENTES

La causa predominante de mortalidad tardía en los pacientes en la unidad de cuidados intensivos (UCI) es la falla orgánica asociada a sepsis (1, 2).

El daño multiorgánico y la subsecuente insuficiencia orgánica observadas en estos pacientes parecen ser iniciadas por la liberación, entre otros, de los potencialmente tóxicos radicales libres del oxígeno, de las proteasas celulares, de la producción de complejos inmunológicos o de diversos productos de la cascada de la coagulación, los que una vez presentes en el espacio vascular pueden producir embolización microvascular, isquemia tisular, lesión celular y finalmente falla orgánica.

Bajo circunstancias normales, el torrente sanguíneo es depurado de este tipo de microresiduos por las células del sistema reticuloendotelial (SRE), el cual se encuentra compuesto por los macrófago hepáticos y esplénicos principalmente, así como por los pulmonares y los existentes en medula ósea (3-5). Sin embargo se ha observado que en pacientes con trauma severo, sepsis, estado de choque y cirugías mayores puede ocurrir una disfunción de este sistema de depuración (3, 6, 7).

Recientemente se ha demostrado, sin embargo, que esta propiedad de depuración no es exclusiva de los elementos celular del SRE, sino que es debida adicionalmente a la presencia de ciertas sustancias circulantes con propiedades opsonicas, las cuales discriminan entre los tejidos normales y dañados, así como entre los propios y no propios. Entre ellas se encuentran principalmente la inmunoglobulina G (IgG), un producto de la degradación del tercer componente del complemento (C3b) y la fibronectina (FBN) (8-11).

En años recientes se ha puesto especial atención sobre el papel como uno de los principales inmunomoduladores que tiene esta sustancia, una beta 2 glucoproteína presente en forma insoluble sobre las superficies celulares y en

el tejido conectivo y en forma soluble en el plasma y otros líquidos corporales como el líquido cefalorraquídeo, sinovial, amniótico, seminal y saliva (12). Esta glucoproteína tiene una vida media de 24 a 72 horas y es sintetizada por una variedad de células como fibroblastos, macrófagos, células endoteliales y hepatocitos, siendo estos últimos la principal fuente de producción (13). Posee un peso molecular de 440,000 daltons y esta compuesta de dos dímeros casi idénticos unidos por dos puentes disulfuro (14), cada uno de los cuales posee un 5% de hidratos de carbono y se encuentra constituido por 2,300 aminoácidos ordenados en secuencias homologas de repetición denominadas secuencias I, II y III (15). Cada dímero se divide a su vez en dos subunidades casi idénticas cada uno de los cuales se encuentra integrada por dominios funcionales (16) (Figura No. 1). El dominio 1 y el 8 son dominios que unen fibrina, el 2 y 9 fijan colágena, la que a su vez une complemento (C1q), el 6 participa en la adhesión celular y la función del 3 y 5 son desconocidas. Adicionalmente, se une a los componentes de la membrana basal y actúa como agente de opsonización ante algunas particular virales, *Candida albicans*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Escherichia coli*, *Treponema Pallidum*, *Trypanosoma cruzi* y *Leishmania* (17-29).

Desde el punto de vista funcional participa en las uniones intercelulares, se adhiere a las membranas basales, facilita la estabilización del coágulo, aumenta la actividad plaquetaria, facilitando el depósito de colágena y fibrina en los tejidos lesionados, facilita la fagocitosis, migración de fibroblastos, proliferación celular, unión de las linfocinas a los macrófagos y en la quimiotaxis. Adicionalmente facilita la neovascularización al estimular la migración de las células endoteliales y sirve como guía para el movimiento de células epidérmicas en el tejido de granulación, siendo además importante en la embriogénesis y en la regeneración nerviosa (30-42).

Las concentraciones plasmáticas de esta proteína, según los reportes existentes en la literatura, varían con la edad y mientras no se observan diferencias en las concentraciones de FBN entre recién nacidos pretermino y de termino, se observa un incremento lineal durante los primeros 6 meses de la vida, alcanzándose el 65% de los niveles del adulto, no observándose incrementos posteriores hasta la edad adulta cuando se reportan concentraciones en el hombre de 410 ± 82 mcg/ml y de 347 ± 64 mcg/ml en la mujer (12,41,43).

Se han reportado niveles plasmáticos de FBN inferiores a lo normal en pacientes con disfunción hepática, coagulación intravascular diseminada, sepsis, quemaduras y trauma (44-46). Recientemente se han identificado también niveles bajos de esta glucoproteína en recién nacidos y en pacientes pediátricos desnutridos y/o con sepsis, lo que sugiere que los niveles bajos de FBN pudieran incrementar la susceptibilidad a infecciones bacterianas y sepsis (23,47-49).

Por lo anterior se han efectuado múltiples intentos para llevar los niveles de FBN en estos pacientes a valores normales. Hasta la fecha la mayoría de los estudios han sido efectuados mediante la administración de crioprecipitado (CP) y solo unos pocos mediante de administración de soluciones de FBN purificada o de algunos otros hemoderivados como el plasma fresco congelado (47,50-56).

En relación con la administración de CP si bien este tipo de hemoderivados son fácilmente disponibles, hay que considerar que no solo contiene dicha proteína sino que también se encuentra adicionado de factor VIII, von Willebrand, alfa-2-macroglobulina y fibrinógeno por lo que el beneficio de dicha infusión no puede ser totalmente atribuible a la FBN per se, aunado a

que recientemente se ha demostrado una disminución tiempo-dependiente en la capacidad opsonica de esta sustancia (57).

El presente estudio se planteó con la finalidad de conocer las concentraciones de FBN en las diversas fracciones sanguíneas disponibles en el Banco de sangre del Instituto Nacional de Pediatría y como fase inicial de un estudio prospectivo de la eficacia en la utilización de esta glucoproteína en pacientes sépticos e hipofibrinectinémicos.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

MATERIAL Y METODOS.

Se determinó la concentración de FBN en 14 unidades de 500 ml de sangre fresca (SF) contenida en bolsas con 70 ml. de citrato fosfato dextrosa adenina (CPDA) como anticoagulante y de menos de 6 horas de extracción; en 14 unidades de plasma fresco congelado (PFC) a temperaturas de -70 C y en 15 unidades de crioprecipitado (CP) almacenadas por un lapso no mayor a las 72 hrs.

El PFC fue preparado de las unidades de sangre fresca recién obtenidas mediante la separación de los elementos formes por centrifugación y congelamiento posterior.

El CP se preparo mediante precipitación por enfriamiento del plasma, manteniéndose por espacio de 24 hrs a una temperatura de 4 a 6 C, se separó el plasma por centrifugación y se almacenó finalmente el CP en congelación a temperaturas de -20 a -40 C.

Después de realizar la toma de las muestras para el ensayo, se almacenaron en tubos de plástico conteniendo 0.2 ml de citrato sódico-alfa1 antitripsina al 3.8% como inhibidor de proteasa y para evitar la degradación de la fibronectina. Se centrifugó, se separó el plasma y se mantuvo a temperatura de -60 C hasta el momento del análisis. Todas las muestras fueron procesadas al mismo tiempo, con técnica nefelométrica (Fibronectina Boehringer Mannheim, GmbH West Germany). El ensayo se inició con la incubación en baño maria a 37 C durante 15 minutos. En las cubetas de ensayo se colocó 1 ml de mezcla de amortiguador anticuerpo con 0.01 ml de la muestra o del control. La primer lectura se efectuó 60 segundos después de haber realizado esta operación y la segunda después de incubar las cubetas con las mezclas por 10 minutos. Las diferencias entre estas lecturas se extrapolaron en la curva de calibración para obtener la concentración de FBN.

La lectura se realizó en un nefelómetro láser Behring. Se anotó en cada unidad sanguínea el tiempo de almacenamiento con el propósito de efectuar una curva de distribución de la concentración de FBN.

El análisis estadístico se efectuó en una computadora personal con disco duro y mediante el programa EPIINFO de la Organización Mundial de la Salud. Se efectuó cálculo de media (\bar{x}) y desviación estandar (DS) para cada grupo (SF, PFC y CP) y comparación entre los grupos mediante análisis de varianza.

RESULTADOS.

La concentración de FBN ($\bar{x} \pm D.S.$) mas elevadas se encontraron en el CP con 2107 ± 684 mcg/l y las menores en el PC con 111 ± 74 mcg/l (Fig. 1), observándose diferencias estadísticamente significativas en las 3 unidades sanguíneas estudiadas ($p < .0001$)

La curva de distribución de FBN en CP y PC mostró reducción significativa de la concentración de esta glucoproteína con el incremento en el tiempo de almacenamiento ($p < 0.001$) (fig. 2).

DISCUSION.

Este estudio es el primero en reportar la concentración de FBN en las unidades sanguíneas en México. Se demuestra que el crioprecipitado es la fracción sanguínea que contiene de manera estadísticamente significativa la concentración mas elevada de esta glucoproteína en comparación con la sangre fresca y el plasma fresco congelado.

Las concentraciones de FBN en las muestras de CP informados por Perttola (45) en 10 unidades fue ($\bar{x} + D.S.$) 3249 + 502 mcg/ml con 9 a 10 meses de almacenamiento en congelación y de 224 + 78 mcg/ml en el PC con 35.9 + 13.8 días de almacenamiento. Nuestras unidades de CP y PC tuvieron menos FBN y si bien el tiempo de almacenamiento en congelación fue menor de 72 hrs, probablemente esta diferencia se encuentre en relación a que el proceso de separación del plasma fresco y el método de obtención de los crioprecipitados difiere con el descrito por Perttola, además de que el tiempo requerido antes de su congelación es 24 hrs mas prolongado. La curva de distribución mostró que la concentración de FBN se reduce de manera rápida con el almacenamiento. En CP con 48 hrs de almacenamiento existió sólo un 47% de la concentración encontrada en los CP de menos de 12 hrs. En el PC, la concentración de FBN a las 48 hrs de almacenamiento fue el 27% de la concentración encontrada en el PC de menos de 12 hrs de almacenamiento. Estos resultados son consistentes con otros reportes (46) en donde se concluye que la actividad biológica opsónica de la FBN en el crioprecipitado decae con el almacenamiento; por lo que es recomendable, en caso necesario, utilizar crioprecipitados de menos de un mes de preparación. Esto tiene importancia clínica cuando se utiliza crioprecipitado como fuente de FBN, debiéndose especificar el tiempo de almacenamiento de las unidades sanguíneas, ya que de no realizarlo se puede dar lugar a resultados clínicos muy divergentes o contradictorios.

FIG. 1. FIBRONECTINA EN UNIDADES SANGUINEAS

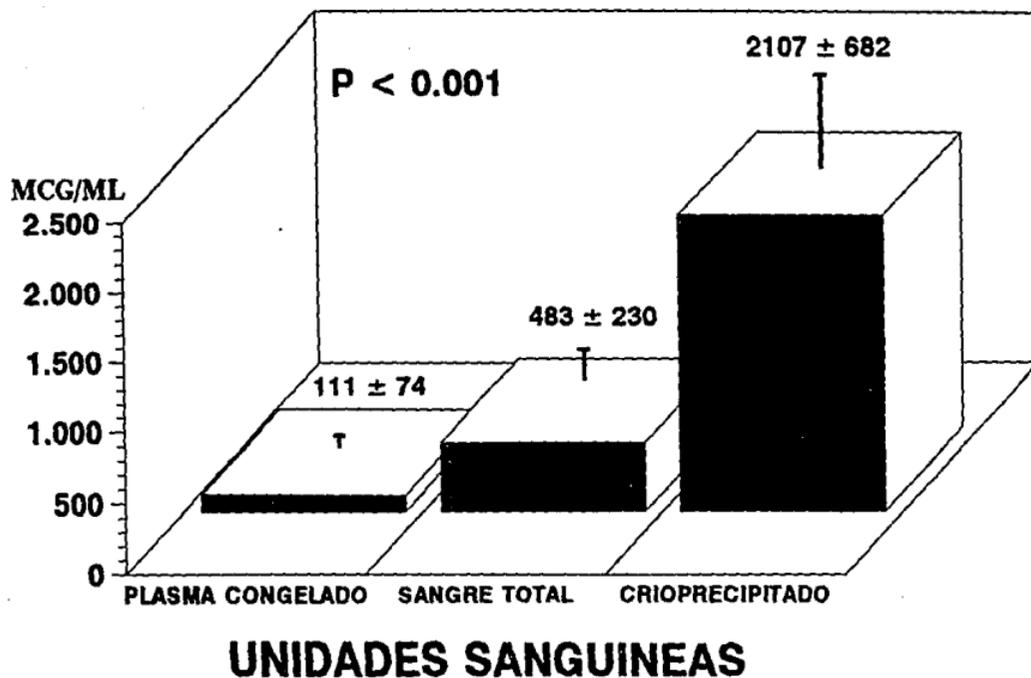
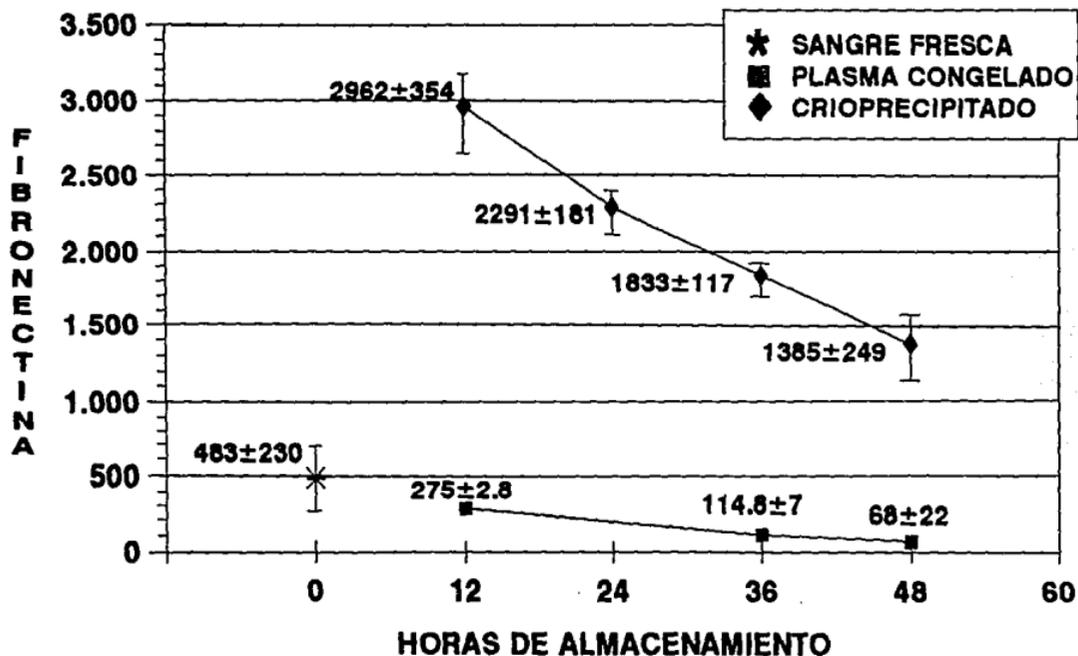


FIG. 2. CURVA DE DISTRIBUCION DE FIBRONECTINA EN UNIDADES SANGUINEAS (MCG/ML)



BIBLIOGRAFIA

- 1.- Powell SF, Doran JE. Current status of fibronectin in transfusion medicine: Focus on clinical studies. *Vox Sang* 1991;60:193-202.
- 2.- DeCamp MM, Demling RH. Post-traumatic multisystem organ failure. *JAMA* 1988;260:530.
- 3.- Saba TM. Physiology and physiopathology of the reticuloendothelial system. *Arch Intern Med* 1970;126:1031.
- 4.- Biozi BM, Stiffel C. The physiology of the reticuloendothelial cells of the liver and spleen. *Progress in liver Dis* 1965;10:1-160.
- 5.- Blumenstock FA. Isolation and purification from rat serum of an alpha-2-opsonic glycoprotein. *J Biol Chem* 1977;253:7156.
- 6.- Altura BM, Hershey SG. Reticuloendothelial phagocytic function in trauma and adaptation to experimental shock. *Am J Physiol* 1968;215:1414.
- 7.- Saba TM. Mechanism mediating reticuloendothelial depression after surgery. *Proc Soc Exp Biol Med* 1970;133:1132.
- 8.- Scovill WA, Saba TM, Kaplan JE, Bernard H, Powers SR. Deficits in reticuloendothelial humoral control mechanisms in patients after trauma. *J Trauma* 1976;16:898.
- 9.- Kaplan JE, Snedeker PW. Serologic modification of reticuloendothelial capacity and altered resistance to traumatic shock. *Circ Shock* 1976;2:203.
- 10.- Saba TM. Physiologic role for cold insoluble globulin in systemic host defense: Implications of its characterization as the opsonic alpha-2-SB-glycoprotein. *Ann NY Acad Sci* 1978;312:43.
- 11.- Doran JE, Lundsgaard-Hansen P, Rubli E. Plasma fibronectin: Relevance for anesthesiology and intensive care. *Intensive Care Med* 1986;12:340.
- 12.- McCafferty MH, Lepow M, Saba MT et al. Normal fibronectin levels as a function of age in the pediatric population. *Pediatr Res* 1983; 17:482-485.
- 13.- Dyke PM, Forsyth DK. Decrease plasma fibronectin concentrations in preterm infants with septicaemia. *Arch Dis Child* 1993; 68:557-560.
- 14.- Mosher DF. Physiology of fibronectin *Annu Rev Med* 1984; 35:390-420.

- 15.- Hynes R. Molecular biology of fibronectin. *Annu Rev Med*1984; 35:561-75.
- 16.- Proctor RA. Fibronectin: A brief overview of its structure, function, and physiology. *Rev Inf Dis* 1987; 9 (supl 4):S 317-21.
- 17.- Ingham KC, Landwehr R, Engel J. Interaction of fibronectin with C1q and collagen: Effects of ionic strength and denaturation of the collagenous component. *Eur J Biochem* 1985;148:219-24.
- 18.- Sorvillo J, Gigli I, Pearlstein E. Fibronectin binding to complement subcomponent C1q: Localization of their respective binding sites. *J Biochem* 1985;226:207-15.
- 19.- Burns GF, Cosgrove L, Triglia T, Beall JA, Lopez AF et al. The IIb-IIIa glycoprotein complex that mediates platelet aggregation is directly implicated in leukocyte adhesion. *Cell* 1986;45:269-80.
- 20.- Yamada KM, Akiyama SK, Hasegawa E et al. Recent advances in research on fibronectin and other cell attachment proteins. *J Cell Biochem* 1985;28:79-97.
- 21.- Julkunen I, Hautanen A, Keski-Oja J. Interaction of viral envelope glycoprotein with fibronectin. *Infect Immun* 1983;40:876-81.
- 22.- Skerl KG, Calderone RA, Segal E et al. In vitro binding of *Candida albicans* yeast cells to human fibronectin. *Can J Microbiol* 1984;30:221-7.
- 23.- Proctor RA. The staphylococcal fibronectin receptor: Evidence for its importance in invasive infections. *Rev Infect Dis* 1987;9(Suppl):S335-40.
- 24.- Simpson WA, Courtney HS, Ofek I. Interactions of fibronectin with *Streptococcus*: The role of fibronectin as a receptor for *Streptococcus pyogenes*. *Rev Infect Dis* 1987;9(Suppl 4):S351-9.
- 25.- Baughn RE. Role of fibronectin in the pathogenesis of syphilis. *Rev Infect Dis* 1987;9(Suppl 4):S372-85.
- 26.- Ouaisi MA, Cornette. *Trypanosoma cruzi*: Modulation of parasite-cell interaction by plasma fibronectin. *Eur J Immunol* 1985;15:1096-1101.
- 27.- Wyler DJ. Fibronectin in parasitic diseases. *Rev Infect Dis* 1987;9:(Suppl 4):S391-9.
- 28.- Wyler DJ, Sypek JP, McDonald JA. In vitro parasite-monocyte interactions in human leishmaniasis: Possible role of fibronectin in parasite attachment. *Infect Immun* 1985;49:305-11.

- 29.- Sorvillo JM. C1q, a subunit of the first component of complement, enhances binding of plasma fibronectin to bacteria. *Infect Immun* 1985;49:664-9.
- 30.- Mosher DF. Fibronectin. *Prog Hemost Thromb* 1980;5:111-51.
- 31.- Akiyama SK, Yamada KM, Hayashi M. The structure of fibronectin and its role in cellular adhesion. *J Supramol Struct and Cell Biochem* 1981;16:345-58.
- 32.- Grinnel F. Fibronectin and wound healing. *J Cell Biol* 1984;26:107-16.
- 33.- Rouslathi E, Engvall E, Hayman EG. Fibronectin: Current concepts of its structure and functions. *Coll Relat Res* 1981;1:95-128.
- 34.- Godfrey HP, Purohit A. Reversible binding of a guinea-pig lymphokine to gelatin and fibrinogen: Possible relationship of macrophage agglutination factor and fibronectin. *Immunology* 1982;46:515-26.
- 35.- Bevilacqua MP, Amrani D, Mosesson MW et al. Receptors for cold-insoluble globulin (Plasma fibronectin) on human monocytes. *J Exp Med* 1981;153:42-60.
- 36.- Jarstrand C, Ahlgren T, Berghem L. Fibronectin increases the motility, phagocytosis and NBT-reduction granulocytes. *J Clin Lab Immun* 1985;47:629-37.
- 37.- Marino JA, Pensky J, Culp LA et al. Fibronectin mediates chemotactic factor-stimulated neutrophil substrate adhesion. *J Lab Clin Med* 1985;105:725-30.
- 38.- Hakansson L, Venge P. The combined action of hyaluronic acid and fibronectin stimulates neutrophil migration. *J Immunol* 1985;135:2735-9.
- 39.- Proctor RA, Tector JA, Vann JM et al. Role of fibronectin in human monocyte and macrophage bactericidal activity. *Infect Immun* 1985;47:629-37.
- 40.- Baughn RE, McNeeley MC, Jorizzo JL et al. Characterization of the antigenic determinants and host components in immune complexes from patients with secondary syphilis. *J Immunol* 1986;136:1406-14.
- 41.- Carson S, Lavietes BB, Diamond HS. Factors influencing the incorporation of fibronectin into synovial fluid cryoprotein. *J Lab Clin Med* 1983;102:722-31.
- 42.- Akiyama SK, Yamada KM. Fibronectin in disease. *Rev Infect Dis* 1987;9(Suppl 4):S360-71.
- 43.- Valletta EA, Bonazzi L, Zuanazzi R et al. Plasma fibronectin concentrations in healthy newborns and in children. *Eur J Pediatr* 1988;147:68-70.

- 44.- Gonzalez-Calvin J, Scully MF, Sanger Y et al. Fibronectin in fulminant hepatic failure. *Br Med J* 1982;285:1231-2.
- 45.- Matsuda M, Yamanaka T, Matsuda AT. Distribution of fibronectin in plasma and in liver disease. *Clin Chim Acta* 1982;118:191-9.
- 46.- Stathakis NE, Fountas A, Tsianos E. Plasma fibronectin in normal subjects and in various disease states. *J Clin Pathol* 1981;34:504-8.
- 47.- Sanberg LB, Owens AJ, VanReken DE, et al.: Improvement in plasma protein concentrations with fibronectin treatment in severe malnutrition. *Am J Clin Nutr* 1990;52:651-656.
- 48.- Polin RA. Role of fibronectin in diseases of newborn infants and children. *Rev Infect Dis* 1990;12:(Suppl 4):428-38.
- 49.- Gerdes JS, Yoder MC, Douglas SD, et al. Decreased plasma fibronectin in neonatal sepsis. *Pediatrics* 1983;72: 877-881.
- 50.- Mansberger AR, Doran JA, Treat R, et al.: The influence of Fibronectin Administration on the Incidence of Sepsis and Septic Mortality in Severely Injured Patients. *Ann Surg*.1989;210:297-305.
- 51.- Saba TM, Blumenstock FA, Scovill WA, Bernard H.: Cryoprecipitate Reversal of Oponic a 2 Surface Binding Glycoprotein Deficiency in Septic Surgical and Trauma Patients. *Science* 1978;201:622-624.
- 52.- O'Connell MT, Becker DM, Steele BW, et al: Plasma fibronectin in medical ICU patients. *Crit Care Med* 1984;12:479-482.
- 53.- Lundsgaard-Hansen P, Doran JE, Rubli E, et al: Purified Fibronectin Administration to Patients with Severe Abdominal Infections. *Ann Surg* 1985; 202:745-758.
- 54.- Grossman JE. Plasma fibronectin and fibronectin therapy in sepsis and critical illness. *Rev Infect Dis*. 1987;9(Suppl 4):S428- S430.
- 55.- Hesselvik F, Brodin B, Carsson C, et al: Cryoprecipitate infusion fails to improve organ function in septic shock. *Crit Care Med* 1987;15: 475- 483.
- 56.- Perttala J, Salo M, Peltola O. Plasma fibronectin concentrations in blood products. *Int Care Med* 1990;16:41-43.
- 57.- Blumenstock FA, Valeri CR, Saba TM et al. Progressive loss of fibronectin mediated opsonic activity in plasma cryoprecipitate with storage. *Vox Sang* 1988;54:129-137.