

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

FUNDACION CLINICA MEDICA SUR A.C.

UNIDAD DE TERAPIA INTENSIVA

**Cambios Morfológicos de los Eritrocitos Transfundidos en el Enfermo Grave
Secundarios al Tiempo de Almacenamiento.**

TESIS DE POSTGRADO

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

ESPECIALISTA EN MEDICINA DEL ENFERMO

ADULTO EN ESTADO CRITICO

P R E S E N T A :

Dr. José Rogelio Sánchez García

ASESOR DE TESIS

Académico Dr. Raúl Carillo Esper



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.

A Carlos Emilio.... Mi gran futuro.

A mi Esposa, Padres y hermano... sin ellos, nada.

A mis maestros.... respeto, admiración y agradecimiento.

Dr. Raúl Carrillo Esper
Titular del Curso de Medicina del enfermo Adulto en Estado Crítico
Fundación Clínica Médica Sur

Dr. Javier Lizardi Cervera
Director Académico
Fundación Clínica Médica Sur

Dr. Raúl Carrillo Esper
Tutor de Tesis

INDICE

Dedicatoria	2
Hoja de Autoridades Académicas	3
Índice	4
Introducción	5
Marco Teórico	6
Planteamiento del Problema	17
Justificación	17
Objetivo	17
Hipótesis	18
Tipo de Estudio	18
Análisis Estadístico	18
Criterios de Inclusión	18
Criterios de Exclusión	18
Criterios de Eliminación	19
Variables	19
Tamaño de la Muestra	19
Material y Métodos	20
Resultados	20
Discusión	29
Conclusiones	31
Bibliografía	32

INTRODUCCIÓN

Con el objetivo de incrementar el período de almacenamiento de los concentrados eritrocitarios , las investigaciones más recientes en materia de transfusiones, se han enfocado en determinar los campos conocidos como “lesión por almacenamiento (Storage lesión) , los cuales se han asociado con daño eritrocitario irreversible y disminución de la sobrevivencia de éstas células después de ser transfundidas. Los esfuerzos llevados a cabo en los últimos 40 años con la finalidad de mantener la integridad corpuscular y la viabilidad postransfusión ha permitido incrementar el período de almacenamiento hasta 42 días, lográndolo al agregar fosfato, adenina, y nutrientes como la glucosa a las soluciones de conservación. Estos avances han propiciado que con mayor frecuencia se utilicen concentrados eritrocitarios que presentan importantes anomalías morfológicas que se han asociado con mayor daño en la micro circulación, provocando mayor número de fallas orgánicas en los pacientes críticamente enfermos

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Existe una asociación directa entre el tiempo de almacenamiento de los concentrados eritrocitarios, sus alteraciones morfológicas, y el daño multiorgánico en los pacientes que los reciben.

Es necesario por lo tanto, que cada uno de las Instituciones, tengan un protocolo específico de conservación y toma de decisiones para la transfusión, para evitar el daño asociado a transfusiones

MARCO TEORICO

El almacenamiento de los eritrocitos en los distintos medios de conservación diseñados hasta la actualidad se asocia con cambios metabólicos, moleculares y bioquímicos los cuales son conocidos en forma genérica como “lesión por almacenamiento”.¹

Recientemente, varios estudios han demostrado que la transfusión de eritrocitos “lesionados” incrementan la morbimortalidad al modificar la respuesta inflamatoria, disminuir la deformabilidad eritrocitaria y en consecuencia provocar lesión microvascular y daño multiorgánico.²

Por esta razón, se han revisado las evidencias más recientes de la “lesión por almacenamiento” y las repercusiones clínicas de esta entidad.

Aspectos históricos del almacenamiento eritrocitario

En 1914 se realizó la primera transfusión de sangre anticoagulada, lo que eliminó la limitación clínica que representaba la transfusión vena- vena, pero fue durante la primera guerra mundial que Oswald Robertson utilizó la solución Rous-Turner, una combinación de citrato (anticoagulante) y dextrosa (fuente energética), para practicar la primera transfusión con sangre almacenada, lo que estableció los principios de la preservación y almacenamiento sanguíneo.³

Inicialmente, la sangre que era almacenada con dextrosa, debía ser transfundida en los siguientes 6 días a su extracción, ya que, posterior a este período de tiempo, solo el 70% de los eritrocitos permanecían viables y no resultaba en un beneficio para el paciente,³. La sangre almacenada con dextrosa y citrato, podía ser almacenada durante 10 a 15 días sin disminuir en forma significativa los eritrocitos viables⁴.

En respuesta al incremento de las necesidades de sangre durante la Segunda Guerra Mundial, Louitt y Mollison, introdujeron una nueva solución para preservar

eritrocitos, la ácido-citrato-dextrosa (ACD), que permitía mejorar la sobrevida de

los hematíes en conservación. El ACD simplificó el procedimiento de esterilización, disminuyó el volumen de solución conservadora y aumento el período de utilidad de los concentrados eritrocitarios a 21 días.⁵ Por otro lado, la adición de fosfato, adenosina trifosfato y 2,3 difosfoglicerato a las soluciones de conservación ha permitido incrementar el período de almacenamiento hasta 42 días⁵⁻⁸

Alteraciones eritrocitarias durante el almacenamiento

Durante el almacenamiento se presenta una secuencia predecible de cambios en la morfología y metabolismo eritrocitarios (**tabla 1**).

Tabla 1.

Alteraciones eritrocitarias durante el almacenamiento

Efectos durante el almacenamiento	Consecuencias
Disminución 2,3 difosfoglicerato	Incremento en afinidad por el oxígeno y disminución en el aporte tisular
Depleción de ATP	Cambios en la morfología eritrocitaria Incremento de la fragilidad osmótica Disminución en la deformabilidad
Microvesiculización	Disminución en la viabilidad eritrocitaria
Peroxidación lipídica	Daño celular y muerte celular
Generación de sustancias bioactivas	Reacciones febriles transfusionales Daño celular Daño pulmonar asociado a transfusión Falla orgánica múltiple

De su forma normal de disco bicóncavo, ocurre la formación de crenocitos, que son eritrocitos esféricos con espículas, las cuales son vesículas lipídicas⁹. La transformación de disco bicóncavo a esfera se asocia con pérdida del índice superficie/volumen¹⁰, incremento en la concentración media de hemoglobina corpuscular (CMHC), aumento de la fragilidad osmótica y pérdida de la deformabilidad¹¹. Existe evidencia de que los cambios en la morfología durante el almacenamiento se relaciona a la depleción de ATP dentro del eritrocito. Nakao y colaboradores reprodujeron los cambios morfológicos durante el almacenamiento al depletar a los eritrocitos de ATP, y demostraron que al restablecer los niveles de

ATP con adenosina, los eritrocitos crenados podían recuperar su forma de disco bicóncavo ¹².

Actualmente se considera que los cambios biomecánicos de la superficie de los eritrocitos y de la viscosidad citoplásmica preceden a la reducción de los niveles de ATP, por lo que no se considera a la depleción de ATP como la causa de los cambios más tempranos que caracterizan a la lesión por almacenamiento.¹³ Hay una baja correlación entre los niveles de ATP eritrocitario y la sobrevida postransfusión, excepto cuando los niveles de ATP son menores al 50% ¹⁴. Esta inconsistencia se enfatiza en estudios que han demostrado que niveles supranormales de ATP tienen un pobre impacto en la sobrevida postransfusión ¹⁵, así que mientras en estudios *in vitro*, la depleción de ATP reproduce los cambios en la morfología eritrocitaria, *in vivo*, no parece determinar los cambios inducidos por el almacenamiento y la viabilidad postransfusión.¹⁶

Aunque la depleción de ATP no explica por completo la lesión de la membrana, se ha postulado que la reducción de ATP incrementa los niveles de mediadores secundarios de daño como el calcio intracelular o la reducción en la fosforilación de otras proteínas o cinasas lipídicas las cuales mantienen la integridad de la membrana ¹⁷. El análisis de los fosfolípidos muestra un cambio en el balance fosforilación/desfosforilación en los eritrocitos durante la segunda y tercera semana de almacenamiento. El incremento en la forma defosforilada del fosfoinositol-4-fosfato, se acompaña de la aparición de crenocitos, lo que sugiere una relación entre defosforilación y cambio en la morfología.¹⁷

El calcio ha tomado importancia como mediador secundario de daño eritrocitario durante el almacenamiento. En particular, las concentraciones micromolares de calcio causan pérdida de potasio, deshidratación celular, y con ello microvacuolización y formación de crenocitos. El uso de EDTA para reducir la acumulación de calcio no ha tenido efecto en la morfología eritrocitaria, y de hecho los eritrocitos poseen una bomba dependiente de ATP de calcio-magnesio, la cual se encuentra activa a 4°C y puede retirar calcio del interior de los eritrocitos durante el almacenamiento, y solo en condiciones de depleción importante de ATP

es que esta bomba iónica no funciona y se dan acumulaciones importantes de calcio intracelular.¹⁸

Cambios biomecánicos durante el almacenamiento.

La lesión por almacenamiento se ha enfocado al ATP y el calcio, sin embargo Heradin y colaboradores observaron que la forma de los eritrocitos después de ser sometidos a “rejuvenecimiento”, correlacionan con la supervivencia postransfusión¹⁹. Después de estas observaciones se desarrollaron nuevos estudios sobre la membrana eritrocitaria y su capacidad de deformación.²⁰⁻²¹.

Las medidas biomecánicas mostraron que en los eritrocitos almacenados, la reducción en el índice superficie/volumen y el incremento de la viscosidad citoplásmica precede a la reducción del ATP. Existe una compleja interacción entre los fosfolípidos de la membrana, proteínas transmembrana, proteínas del citoesqueleto y componentes del citoplasma que influye en la forma y deformabilidad de los eritrocitos durante el almacenamiento. Estas modificaciones disminuyen la vida media postransfusión, que se manifiesta en la destrucción de los esferocitos y crenocitos cuando son destruidos en el sistema reticuloendotelial.²²

Se han desarrollado múltiples técnicas para cuantificar los cambios en la deformabilidad, incluyendo la filtración, aspiración por micropipeta y ectocitometría.²³. Cada una de estas técnicas son modificadas por las propiedades de la membrana eritrocitaria o viscosidad citoplasmática. La aspiración por micropipeta y la ectocitometría, la cual es especialmente sensible a los cambios en el índice superficie/volumen, muestra disminución de la deformabilidad que se inicia a la primera o segunda semana de almacenamiento²⁴⁻²⁵. La correlación entre la deformabilidad y la viabilidad postransfusión se sugirió desde el reporte de Card, en donde la sangre de un donador no produjo incremento significativo de los niveles de hemoglobina en el paciente transfundido observándose que la sangre del donador tenía eritrocitos con muy poca capacidad de deformarse y se postuló como la causa de la corta supervivencia eritrocitaria²⁶.

Los cambios biomecánicos de los eritrocitos pueden ser resultado de la alteración de la bicapa lipídica de la membrana, las proteínas, el citoesqueleto o la

interacción ente los tres componentes que conduce a la formación de vesículas, las cuales miden entre 80 y 200nm, las cuales pueden detectarse a las dos semanas de almacenamiento. Las vesículas formadas en los eritrocitos jóvenes y viejos no difieren cualitativamente, manteniendo el índice colesterol/fosfolípidos, y las proteínas transmembrana ²⁷⁻²⁸, exceptuando la espectrina, la cual es la proteína más abundante en el citoesqueleto, pero también la más susceptible al daño oxidativo ²⁹. La oxidación de la espectrina también se ha demostrado que ocurre durante el almacenamiento, lo que sugiere una relación entre la microvesiculización y el daño oxidativo ³⁰.

La peroxidación lipídica, es decir, el deterioro oxidativo de los ácido grasos poliinsaturados por los radicales libres de oxígeno es un mecanismo importante de daño eritrocitario y eventualmente de su muerte ³¹. Dentro del eritrocito existen mecanismos antioxidantes como son los mediados por las enzimas superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa, catalasa y reductasa de metahemoglobina. Cuando se excede el período de almacenamiento de los eritrocitos, se ha observado la aparición de cuerpos de Heinz (hemoglobina oxidada) y disminución de los niveles de glutatión, sugiriendo que éste último es importante en la protección de los eritrocitos contra el daño oxidativo.³²

La pérdida de la integridad de la membrana eritrocitaria a través de la formación de microvesicular no solo reduce directamente la superficie eritrocitaria, sino también la asimetría en la distribución de los fosfolípidos ³³.

La pérdida de los fosfolípidos de la membrana eritrocitaria, reconocida en las células seniles ³⁴ y en las almacenadas ³⁵ puede contribuir al incremento de la fragilidad osmótica ³⁶, y la formación de equinocitos y esferoequinocitos ³⁷. En estudios iniciales no se pudo correlacionar el incremento de la fragilidad osmótica y la viabilidad postransfusión. ³⁸. De cualquier manera, la preincubación de eritrocitos almacenados en una solución isosmótica para reproducir la remoción *in vivo* del lactato acumulado, mostró que la fragilidad osmótica correlaciona con la sobrevivencia de los eritrocitos ³⁹. En la sangre almacenada la mayoría de los eritrocitos tienen fragilidad osmótica normal, y solo puede identificarse una población pequeña de eritrocitos con mayor susceptibilidad a la lisis osmótica.

Esta población, es la que se piensa que es removida dentro de las primeras 24 horas de la transfusión.⁴⁰

La formación de microvesículas durante el almacenamiento de los eritrocitos es el único mecanismo provocado por la pérdida de fosfolípidos de la membrana. Estas vesículas descritas por primera vez por Rumsby tienen un diámetro de 50 a 250nm⁴¹, consisten en fosfolípidos, proteínas transmembrana y proteínas del citoesqueleto pero carecen de espectrina,⁴²⁻⁴³. Branuer y colaboradores sugirieron que a fosfatidilserina y la fosfatidiletanolamina pueden ser internalizadas desde la membrana al citosol.⁴⁴ Estudios recientes han sugerido que las mejoras en la preservación de los eritrocitos, disminuye la formación de vesículas y la pérdida de membrana durante el almacenamiento. El uso de la solución nutriente AS-1 disminuye la formación de vesículas y la pérdida de colesterol de la membrana eritrocitaria, además de la tendencia de pérdida de fosfolípidos al compararla con la solución de citrato, fosfato, dextrosa y adenina, (CPDA-1) o citrato, fosfato y dextrosa (CPD).⁴⁵ Experimentos más recientes con soluciones aditivas hipotónicas han demostrado disminución en la pérdida de lípidos y formación de microvesículas⁴⁶⁻⁴⁷. Meryman y colaboradores proponen que las soluciones hipotónicas incrementan la tensión de la superficie celular, lo que puede disminuir la formación de vesículas, pero esta hipótesis no ha sido respaldada por observaciones en el diámetro o superficie de los eritrocitos.⁴⁸

Cambios celulares y plasmáticos durante el almacenamiento.

Los eritrocitos no son almacenados o transfundidos en forma aislada ya que a pesar de que la remoción del plasma y las plaquetas de la sangre total antes del almacenamiento se hace de rutina los componentes celulares y las sustancias bioreactivas permanecen en los concentrados eritrocitarios, los cuales se acumulan durante el almacenamiento y son infundidos al paciente. Aunque estos afectan a los eritrocitos en el transcurso del almacenamiento, también tienen efectos directos en el paciente. Las citocinas y los leucocitos son los que más influyen en los efectos adversos presentados en los receptores.⁴⁹ El incremento en la hemólisis y pérdida de potasio por los eritrocitos se ha correlacionado con la cantidad de leucocitos presentes durante el almacenamiento⁵⁰ Greenwalt

demonstró que mejoraba la morfología de los eritrocitos y disminuía la hemólisis, la microvesiculización y la pérdida de potasio cuando la sangre era leucorreducida antes de su almacenamiento.⁵¹ Como resultado, se ha pensado que los radicales libres de oxígeno y enzimas asociadas a los leucocitos pueden ser las responsables de los efectos nocivos sobre los eritrocitos almacenados. La liberación de estas sustancias puede ser producto de la apoptosis de los leucocitos durante el almacenamiento. La leucorreducción antes del almacenamiento remueve la mayoría de los leucocitos y los problemas asociados a la transfusión, pero la transfusión residual de leucocitos, o de otras sustancias pueden causar consecuencias adversas.⁵²

Consecuencias clínicas de la transfusión de eritrocitos almacenados.

El objetivo a corto plazo de la transfusión de eritrocitos consiste en mejorar la disponibilidad de oxígeno en los tejidos. La transfusión de eritrocitos no está exenta de riesgo. Dos estudios recientes han asociado a la transfusión de eritrocitos como predictor independiente de muerte⁵²⁻⁵³. Cuatro estudios en pacientes graves, 3 retrospectivos⁵⁴⁻⁵⁶ y un prospectivo⁵⁷ han demostrado una mayor morbilidad y mortalidad relacionadas con la transfusión de concentrados eritrocitarios.⁵⁸

Herbert y colaboradores mostraron en su estudio, incremento en la mortalidad asociada con la transfusión de eritrocitos en pacientes asignados a transfusión a partir de 10g/dl en comparación con 7gr/dl. La mortalidad durante la hospitalización fue significativamente menor para los pacientes que recibieron en forma más restringida las transfusiones. El análisis de los subgrupos de los pacientes menos graves y de los menores de 55 años mostró una menor mortalidad después de 30 días. Estos resultados sugieren que el disparador más bajo para las transfusiones es más seguro y que la transfusión de eritrocitos puede ser dañina⁵⁹. Este estudio al igual que los dos estudios retrospectivos previos sobre transfusión eritrocitaria, identifica a la transfusión de concentrados eritrocitarios como un factor independiente predictor de muerte y disfunción multiorgánica después de trauma⁶⁰ o cirugía abdominal mayor.⁶¹

Purdy y colaboradores demostraron una correlación entre la edad de los paquetes globulares transfundidos e incremento de la mortalidad ⁶². La media de la edad de los paquetes transfundidos entre los sobrevivientes y no sobrevivientes fue de 17 a 25 días respectivamente. ⁶³La transfusión de concentrados eritrocitarios con mayor tiempo de almacenamiento se correlaciona con un incremento en la incidencia de neumonía postoperatoria ⁶⁴, aunque un estudio posterior no encontró relación entre la edad del concentrado eritrocitario y tres marcadores de morbilidad (tiempo de intubación endotraqueal, estancia postoperatoria en la UCI y hospitalización postoperatoria).⁶⁵

Otro estudio retrospectivo en donde se analizaron las transfusiones en pacientes operados de revascularización mostró mayor riesgo de neumonía de 1% por cada día de almacenamiento que tenían los concentrados eritrocitarios transfundidos ⁶⁶. Debido a que todos los paquetes transfundidos no eran leucorreducidos, probablemente esto contribuyó a una mayor incidencia de infecciones. El elevado índice de neumonía asociada con la mayor edad de los concentrados eritrocitarios incremento las posibilidades de que las infecciones postoperatorias pudieran estar relacionadas a lesión por almacenamiento de los eritrocitos ⁶⁶.

La pobre capacidad de los eritrocitos transfundidos para incrementar el aporte de oxígeno en la microcirculación, refleja un defecto intrínseco en los eritrocitos almacenados para liberar el oxígeno o de los tejidos para usarlo. Existen dos estudios que comparan los efectos de las transfusiones eritrocitarias con otras terapias diseñadas para incrementar el aporte de oxígeno. Gilbert y colaboradores asignaron a pacientes sépticos con niveles normales de lactato a 3 terapias diferentes para aumentar el aporte de oxígeno. Aunque los tres tipos de tratamiento mejoraban la disponibilidad de oxígeno solo la dobutamina incrementó su consumo en todos los pacientes. ⁶⁷. Conrad y colaboradores reanimaron con volumen a los pacientes antes de transfundirlos y fueron incapaces de demostrar incremento en el consumo de oxígeno después de la transfusión de eritrocitos ⁶⁸. Un estudio posterior, comparó la transfusión de eritrocitos con dobutamina, y se demostró que aunque la disponibilidad de oxígeno se incrementaba con ambas terapias, solo la dobutamina se acompañó de un mayor consumo de oxígeno ⁶⁹.

Estos estudios mostraron que la habilidad de los eritrocitos transfundidos para incrementar el consumo de oxígeno no era mayor que la infusión de volumen de cristaloides durante la reanimación y es inferior al efectos de la dobutamina. Por lo tanto, esa ineffectividad de los eritrocitos transfundidos para mejorar la disponibilidad de oxígeno parece ser al menos parcialmente debido a un defecto intrínseco de los eritrocitos transfundidos.⁷⁰

Mecanismos propuestos para la disminución de la eficacia de los eritrocitos transfundidos.

La poca efectividad de los eritrocitos transfundidos para mejorar la oxigenación puede estar relacionada con la depleción de 2-3 difosfoglicerato durante el almacenamiento. La depleción del 2-3 difosfoglicerato que es el mayor modificador alostérico sobre la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno, es un evento bien documentado durante el almacenamiento mayor a 7 días⁷¹. El incremento en la afinidad por el oxígeno puede limitar su habilidad para separarse de el y entregarlo a los tejidos periféricos. Aunque ocurre formación de novo del 2,3-difosfoglicerato una vez ocurrida la transfusión, la restauración de niveles normales puede tomar más de 24 horas⁷². En todos los estudios clínicos y en animales, se observaron alteraciones mínimas en la función cardiovascular después de transfundir concentrados eritrocitarios depletados de 2,3-difosfoglicerato. En pacientes anémicos en reposo Valeri y Collins demostraron que la transfusión de 3 a 5 unidades de eritrocitos almacenados no modificaba el índice cardiaco o el consumo de oxígeno a pesar de que la curva de disociación de la hemoglobina medida a través de la P50 se desplazó 31 a 28.⁷³

La reducción de la deformabilidad de los eritrocitos con el almacenamiento se ha implicado como uno de los mecanismos fisiopatológicos de los efectos deletéreos de la transfusión eritrocitaria. Simchon y colaboradores demostraron que al transfundir eritrocitos con deformabilidad alterada por glutaraldehído de sodio en ratas, se inducían alteraciones en la perfusión, incluyendo disminución del flujo hepático y esplácnico. La deformabilidad disminuida de los eritrocitos está involucrada en la fisiopatología de varias enfermedades, incluyendo diabetes⁷⁴ y sepsis⁷⁵ ya que se ve involucrada en la disfunción de la microcirculación.

En la **figura 1** se resume la fisiopatología del Síndrome por almacenamiento en base a lo publicado en la literatura.

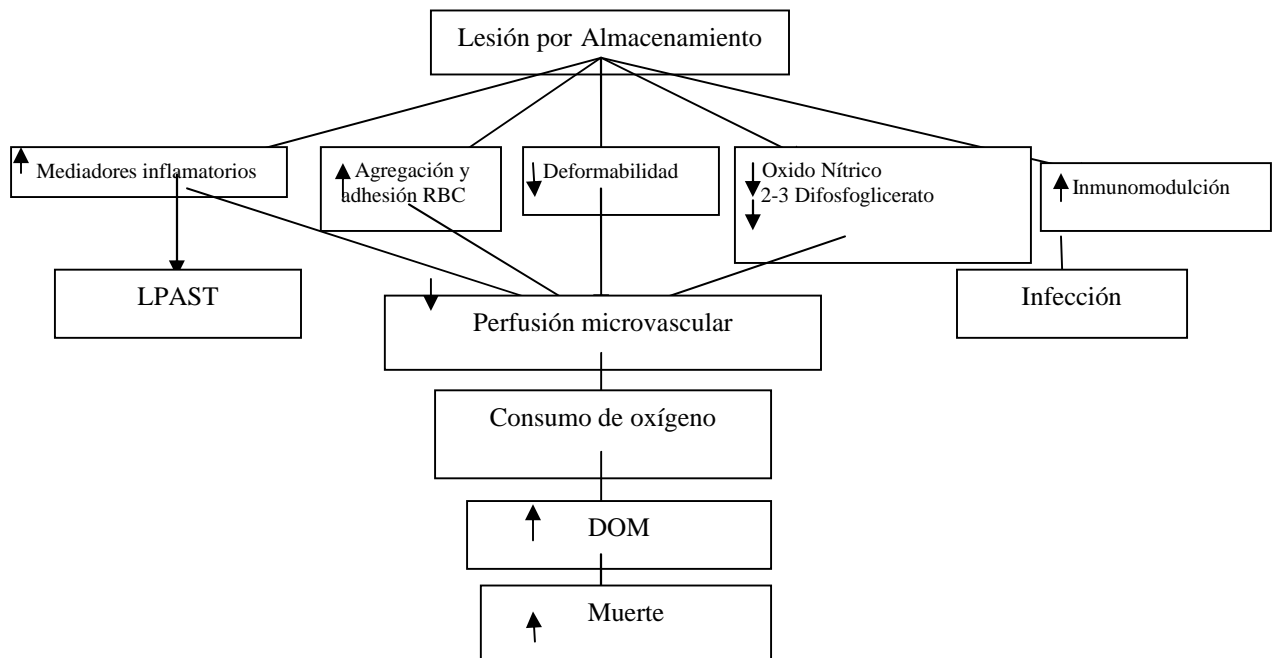


Figura 1. Efectos de la lesión por almacenamiento. **LPAST:** Lesión Pulmonar Aguda Secundaria a Transfusión. **DOM:** Disfunción Orgánica Múltiple

JUSTIFICACION

En la Fundación Clínica Médica Sur no se conoce la relación entre el tiempo de almacenamiento de los concentrados eritrocitarios y la proporción del daño celular. Conociendo la asociación directa entre el tiempo de almacenamiento de los concentrados eritrocitarios y el daño multiorgánico producido por su transfusión, los resultados de este estudio, permitirán establecer un protocolo apropiado de conservación y transfusión en nuestra Institución.

OBJETIVO

Cuantificar las alteraciones morfológicas eritrocitarias de los concentrados eritrocitarios transfundidos en la unidad de terapia Intensiva de la Fundación Clínica Médica Sur y su relación con el tiempo de almacenamiento

HIPOTESIS

Las alteraciones morfológicas en los concentrados eritrocitarios será mayor entre mayor sea el tiempo de almacenamiento.

TIPO DE ESTUDIO

Descriptivo, Longitudinal, Observacional.

ANALISIS ESTADÍSTICO

Se realizó estadística descriptiva por medio del Programa SPSS versión 15.0, con medidas de tendencia central, y se aplicó coeficiente de correlación de Pearson para establecer asociación entre las variables.

CRITERIOS DE INCLUSION

Todos los concentrados eritrocitarios transfundidos en la Unidad de Terapia Intensiva de la Fundación Clínica Médica Sur en el período comprendido entre el 1 de enero de 2008 al 30 de abril de 2008

CRITERIOS DE EXCLUSION

Aquellos concentrados eritrocitarios no transfundidos completamente o bien que fueron iniciados en otro servicio.

CRITERIOS DE ELIMINACION

Todos los concentrados eritrocitarios que iniciaron su transfusión en el servicio de Terapia Intensiva y por cualquier razón no se concluyeron en el servicio de Terapia Intensiva.

VARIABLES

Dependientes: Porcentaje de anormalidades eritrocitarias

Independiente: Tiempo de almacenamiento

TAMAÑO DE LA MUESTRA

Se analizaron 67 concentrados eritrocitarios

RECURSOS

Humanos: El investigador, Citotecnólogo del Laboratorio de Patología Clínica de la Fundación Clínica Médica Sur

Materiales: Microscopio óptico del Laboratorio de Patología Clínica de la Fundación Clínica Médica Sur, Laminillas para cada una de las muestras.

Financieros: Aportados por el Investigador

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio Prospectivo, longitudinal, observacional, en la Unidad de Terapia intensiva de la Fundación Clínica Médica Sur del día 1 de enero de 2008 al 30 de abril de 2008, que consistió en la toma de una muestra para frotis de cada uno de los concentrados eritrocitarios que en forma consecutiva se transfundieran dentro de la Unidad, realizándolo al final de la transfusión para evitar romper con las normas de la técnica esteril. Cada uno de los frotis se tiñó con tinción de Wright, y se evaluaron las alteraciones morfológicas, primeramente por el investigador y posteriormente por el citotecnólogo del laboratorio Clínico, estimando cada uno en porcentaje, la proporción de eritrocitos anormales, (entendiendo como eritrocito anormal, cualquier morfología diferente a la de un eritrocito maduro circulante) estableciendo un promedio entre ambas estimaciones, además de registrarse el tiempo de extracción y de transfusión al cual se le denominó como **“tiempo de almacenamiento”**.

RESULTADOS

El tiempo de almacenamiento y el porcentaje de anomalías de las 67 muestras se observan en la **Tabla 2**

Tabla 2. Muestras consecutivas de los Concentrados Eritrocitarios, Días de almacenamiento y porcentaje de anomalías

No. De muestra	Días de Almacenamiento	% de anomalías
1	30	80
2	12	50
3	7	10
4	8	20
5	11	20
6	7	10
7	28	80
8	1	10
9	12	20
10	11	30
11	26	60
12	9	30
13	7	30
14	11	50
15	6	20
16	13	30
17	2	10
18	23	70
19	15	30
20	3	10
21	27	80
22	3	20
23	13	40
24	9	30
25	23	70

26	4	10
27	14	30
28	6	20
29	21	70
30	12	50
31	3	10
32	11	30
33	9	30
34	15	50
35	18	40
36	15	50
37	14	70
38	17	50
39	8	20
40	16	40
41	2	10
42	19	40
43	20	80
44	9	10
45	11	50
46	7	30
47	15	50
48	5	10
49	16	50
50	11	50
51	1	10
52	14	80
53	10	30
54	13	50
55	7	30
56	12	50
57	4	20
58	28	90
59	10	40
60	20	80
61	10	80
62	17	80
63	10	60
64	10	50

65	3	20
66	9	30
67	12	50

Las muestras fueron clasificadas de acuerdo al tiempo de almacenamiento en tres grupos: de cero a diez días, de once a veinte días y de veintiuno o más días.

En el grupo de 0 a 10 días se incluyeron 30 muestras, en el de 11 a 20 días 29 muestras y en el grupo de 21 o más muestras 8 muestras distribuidas como se muestra en la **Tabla 3**.

Tabla 3. Se Muestra la frecuencia de presentación de las muestras con respecto a los días de almacenamiento.

Días de Almacenamiento	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje Válido	Porcentaje Acumulativo
1	2	3.0	3.0	3.0
2	2	3.0	3.0	6.0
3	4	6.0	6.0	11.9
4	2	3.0	3.0	14.9
5	1	1.5	1.5	16.4
6	2	3.0	3.0	19.4
7	5	7.5	7.5	26.9
8	2	3.0	3.0	29.9
9	5	7.5	7.5	37.3
10	5	7.5	7.5	44.8
11	6	9.0	9.0	53.7
12	5	7.5	7.5	61.2
13	3	4.5	4.5	65.7
14	3	4.5	4.5	70.1
15	4	6.0	6.0	76.1

16	2	3.0	3.0	79.1
17	2	3.0	3.0	82.1
18	1	1.5	1.5	83.6
19	1	1.5	1.5	85.1
20	2	3.0	3.0	88.1
21	1	1.5	1.5	89.6
23	2	3.0	3.0	92.5
26	1	1.5	1.5	94.0
27	1	1.5	1.5	95.5
28	2	3.0	3.0	98.5
30	1	1.5	1.5	100.0
Total	67	100.0	100.0	

La media de Porcentaje de anomalías en los concentrados eritrocitarios fue de 40.45%, la mediana de 40%, la moda de 50% con un mínimo de alteraciones del 10% y un máximo de 90%. **(Tabla 4).**

		PORCENTAJE DE ANORMALIDADES	DIAS DE ALMACENAMIENTO
Muestras	Validas	67	67
	Perdidas	0	0
Media		40.45	12.01
Erros Estandar		2.849	.847
Mediana		40.00	11.00
Moda		50	11
Desviación Estandar		23.318	6.929
Minimo		10	1
Maximo		90	30

Suma	2710	805
------	------	-----

Tabla 4. Medidas de Tendencia Central de las alteraciones morfológicas de los concentrados eritrocitarios analizados.

El porcentaje de anomalías presentado con mayor frecuencia fue el 50% esto en el 20.9% de los concentrados analizados, y el 90% de anomalías solo se presentó en un concentrado eritrocitario, representando el 1.5%. **(Tabla 5)**

Tabla5.-Frecuencia de presentación de los porcentajes de anomalías en los concentrados eritrocitarios analizados

Porcentaje de Anormalidades	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje Válido	Porcentaje Acumulativo
10	11	16.4	16.4	16.4
20	9	13.4	13.4	29.9
30	13	19.4	19.4	49.3
40	5	7.5	7.5	56.7
50	14	20.9	20.9	77.6
60	2	3.0	3.0	80.6
70	4	6.0	6.0	86.6
80	8	11.9	11.9	98.5
90	1	1.5	1.5	100.0
Total	67	100.0	100.0	

En cada uno de los grupos se realizó Coeficiente de Correlación de Pearson, encontrando una adecuada asociación entre el porcentaje de almacenamiento y los días de almacenamiento, **(Figura 2 y Tabla 6)**

Figura 2. Agrupación y distribución de los Datos (Relación entre días de almacenamiento y Porcentaje de anomalías)

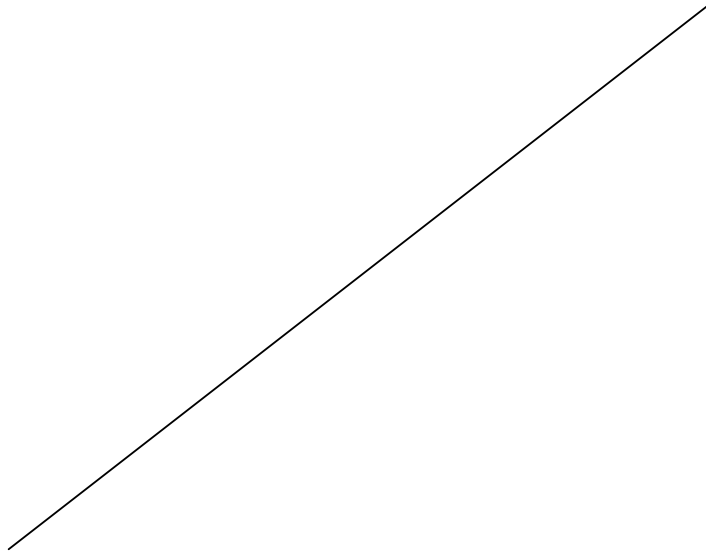


Tabla 6. Se muestra el Coeficiente de Correlación de Pearson y Pearson para 2 colas, para cada uno de los Grupos.

ALMACENAMIENTO DE 1 A 10 DIAS

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje Válido	Porcentaje Acumulativo
MENOR DE 11 DIAS	30	44.8	100.0	100.0
Pérdida	37	55.2		
Total	67	100.0		

ALMACENAMIENTO DE 11 A 20 DIAS

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje Válido	Porcentaje Acumulado
--	------------	------------	-------------------	----------------------

Valid	MENOR DE 21 DIAS	29	43.3	100.0	100.0
	Pérdida	38	56.7		
	Total	67	100.0		

ALMACENAMIENTO DE 21 Y MÁS DIAS

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje Válido	Porcentaje Acumulado
Valid	MAS DE 21 DIAS	8	11.9	100.0	100.0
	Missing System	59	88.1		
	Total	67	100.0		

$r=0.8251$ por lo que la asociación entre las variables es aceptable. **(Figura 2)**

La siguiente es la ecuación de regresión lineal con la cual se predice el comportamiento de la calidad de la sangre con respecto al tiempo de almacenamiento.

$$Y=2.7767(x)+7.0859$$

Con un error de $\pm 13.27\%$, ya que el error estándar de la estimación fue $S_{xy}=13.2735$.

El coeficiente de determinación simple es de $R=0.689$ por lo tanto es del 68.09% , por lo tanto es el porcentaje de variabilidad en y que se explica cuando se usa x para predecir y .

Con $\alpha=0.05$ a dos colas existe la probabilidad de que la pendiente es mayor de 45° .

El ángulo de inclinación de la pendiente es de $71^\circ 48''$, lo que indica la forma acelerada de daño eritrocitario con respecto al tiempo de almacenamiento.

Por lo tanto, después de siete días de almacenamiento el 26.57% de los eritrocitos transfundidos tendrá anomalías morfológicas, una tercera parte del concentrado eritrocitario, lo que implica un alto riesgo para el paciente que los recibe

Discusión

El primer hallazgo de nuestra investigación, consiste en una relación directa entre el tiempo de almacenamiento, y el porcentaje de anomalías eritrocitarias.

Actualmente existe suficiente evidencia de que el tiempo de almacenamiento de los eritrocitos transfundidos en pacientes durante el transoperatorio o durante su estancia en la terapia intensiva se asocia con un incremento en el riesgo de muerte tanto a corto como largo plazo, ya sea en forma intra o extrahospitalaria.⁷⁶

Estudios en la literatura de medicina crítica y trauma sugieren efectos clínicos deletéreos asociados con el incremento en la duración del almacenamiento de los eritrocitos transfundidos. Purdy y colaboradores observaron una correlación directa entre la duración del almacenamiento de los eritrocitos transfundidos y la mortalidad en pacientes con sepsis severa, independientemente del número de transfusiones recibidas.⁷⁷

Martin y colaboradores demostraron que la duración del almacenamiento de los eritrocitos transfundidos a pacientes anémicos se asociaba con el tiempo de estancia en la terapia intensiva.⁷⁸ Además, Zallen demostró que el promedio de duración del almacenamiento de los eritrocitos transfundidos era un factor de riesgo independiente de falla orgánica múltiple en pacientes ingresados por trauma⁷⁹.

Brown y colaboradores encontraron que las alteraciones progresivas en los eritrocitos y su deformabilidad, se correlacionaban directamente con la pérdida de función renal en pacientes en terapia intensivas no quirúrgicas⁸⁰.

La transfusión de eritrocitos rígidos y con formas anormales provocan una disminución del flujo en la microcirculación, hipoxia tisular y potencialmente, falla orgánica múltiple y muerte ⁸¹. Stadler y colaboradores demostró que las membranas alteradas de los eritrocitos almacenados sirve como superficie trombogénica para la activación plaquetaria e incrementa la actividad procoagulante lo que se asocia con falla orgánica múltiple, eventos vasculares cerebrales, embolismo pulmonar y otros eventos catastróficos.⁸²⁻⁸³.

Los resultados de nuestro estudio, son compatibles con los encontrados en la literatura mundial. Sería adecuado realizar estudios prospectivos en donde se analicen las consecuencias de la lesión por almacenamiento en las áreas críticas de la Fundación Médica Sur, y entonces, establecer una política estricta de almacenamiento y transfusión eritrocitarias para evitar agravar las patologías de nuestros pacientes.

Conclusiones

Los cambios morfológicos, bioquímicos y moleculares inducidos por el almacenamiento sobre los eritrocitos son motivo de investigación básica y clínica por sus efectos deletéreos en los pacientes transfundidos. En base a la evidencia científica se ha postulado que los eritrocitos que superan los 14 días de almacenamiento inducen daño en la microcirculación y no incrementan el consumo de oxígeno celular, favoreciendo las fallas orgánicas, lo cual se corroboró con nuestro estudio, en donde se demostró la rapidez con la cual se deforman los eritrocitos almacenados. Por esta razón es necesario desarrollar en cada hospital una política específica para la toma de decisiones en la transfusión de eritrocitos que favorezca el uso de concentrados con el menor tiempo de almacenamiento, de preferencia en los primeros siete días de extraída la sangre, sobre todo en aquellos enfermos con disfunción de la microcirculación y fallas orgánicas asociadas

BIBLIOGRAFIA

- 1.-**Wolfe LC**. The membrane and the lesions of storage in preserved red cells. *Transfusion* 1985;25:185-203.
2. **Tinmouth A, Chin-Yee I**. The clinical consequences of the red cell storage lesion. *Transfus Med Rev* 2001;15:91-107.
3. **Ho J, Sibbald WJ, Chin-Yee IH**. Effects of storage on efficacy of red cell transfusion: when is it not safe? *Crit Care Med* 2003;31:S687-S697.
4. **Corwin HL, Gettinger A, Pearl RG, et al**. The CRIT study: anemia and blood transfusion in the critically ill—current clinical practice in the United States. *Crit Care Med* 2004;32:39-52.
5. **Vincent JL, Baron JF, Reinhart K, et al**. Anemia blood transfusion critically ill patients. *JAMA* 2002;288:1499-507.
6. **Hebert PC, Wells G, Blajchman MA, et al**. A multicenter, randomized, controlled clinical trial of transfusion requirements in critical care. Transfusion Requirements in Critical Care Investigators, Canadian Critical Care Trials Group. *N Engl J Med* 1999;340:409-17.
7. Practice guidelines for blood component therapy. A report by the American Society of Anesthesiologists Task Force on Blood Component Therapy. *Anesthesiology* 1996;84:732-47.
8. **Hebert PC, Hu LQ, Biro GP**. Review of physiologic mechanisms in response to anemia. *Can Med Assoc J* 1997;156:S27-S40.
9. **Barcroft J**. The respiratory function of the blood. Part I. Lessons from high altitudes. Cambridge: Cambridge University Press; 1925.
10. **Tuman KJ**. Tissue oxygen delivery: the physiology of anemia. *Anesth Clin N Am* 1990;8:451-69.
11. **Mohandas N, Chasis JA**. Red blood cell deformability, membrane material properties and shape: regulation by transmembrane, skeletal and cytosolic proteins and lipids. *Semin Hematol* 1993;30:171-92.

12. **Mollison PL, Young JM.** In vivo survival in the human subject of transfused erythrocytes after storage in various preservative solutions. *Q J Exp Physiol* 1942;31:359-92.
13. **Hess JR, Greenwalt TG.** Storage of red blood cells: new approaches [review]. *Transfus Med Rev* 2002;16:283-95.
14. **Loutit JF, Mollison PL, Young JM.** Citric acid-sodium-citrate-glucose mixtures for blood storage. *Q J Exp Physiol* 1943;32: 183-202.
15. **Sohmer PR, Moore GL, Beutler E, et al.** In vivo viability of red blood cells stored in CPDA-2. *Transfusion* 1982;22:479- 84.
16. **Heaton A, Miripol J, Aster R, et al.** Use of Adsol preservation solution for prolonged storage of low viscosity AS-1 red blood cells. *Br J Haematol* 1984;57:467-78.
17. **Hogman CF, Akerblom O, Hedlund K, et al.** Red cell suspensions in SAGM medium: further experience of in vivo survival of red cells, clinical usefulness and plasma-saving effects. *Vox Sang* 1983;45:217-23.
18. **Simon TL, Marcus CS, Myhre BA, et al.** Effects of AS-3 nutrient-additive solution on 42 and 49 days of storage of red cells. *Transfusion* 1987;27:178-82.
19. **Chin-Yee I, Arya N, d'Almeida MS.** The red cell storage lesion and its implication for transfusion. *Transfus Sci* 1997;18: 447-58.
20. **Card RT.** Red cell membrane changes during storage. *Transfus Med Rev* 1988;2:40-7.
21. **Dern RJ, Brewer GJ, Wiorkowski JJ.** Studies on the preservation of human blood. II. The relationship of erythrocyte adenosine triphosphate levels and other in vitro Volume 46, November 2006 measures to red cell storageability. *J Lab Clin Med* 1967;69:968-78.
22. **Pietersz RN, Reesink HW, de Korte D, et al.** Storage of leukocyte-poor red cell concentrates: filtration in a closed system using a sterile connection device. *Vox Sang* 1989;57:29-36.
23. **Raat NJ, Verhoeven AJ, Mik EG, et al.** The effect of storage time of human red cells on intestinal microcirculatory oxygenation in a rat isovolemic exchange model [see comment]. *Crit Care Med* 2005;33:39-45.

24. **Valtis DJ, Kennedy AC.** Defective gas-transport function of stored red blood cells. *Lancet* 1954;1:119-25.
25. **Valeri CR, Hirsh NM.** Restoration in vivo of erythrocyte adenosine triphosphate, 2,3-diphosphoglycerate, potassium ion, and sodium ion concentrations following the transfusion of acid-citrate-dextrose-stored human red blood cells. *J Lab Clin Med* 1969;73:722-33.
26. **Rumsby MG, Trotter J, Allan D, et al.** Recovery of membrane micro-vesicles from human erythrocytes stored for transfusion: a mechanism for the erythrocyte discocyte-to-spherocyte shape transformation. *Biochem Soc Transact* 1977;5:126-8.
27. **Wagner GM, Chiu DT, Yee MC, et al.** Red cell vesiculation-a common membrane physiologic event. *J Lab Clin Med* 1986;108:315-24.
28. **Greenwalt TJ, Bryan DJ, Dumaswala UJ.** Erythrocyte membrane vesiculation and changes in membrane composition during storage in citrate-phosphate-dextrose-adenine-1. *Vox Sang* 1984;47:261-70.
29. **Brunauer LS, Moxness MS, Huestis WH.** Hydrogen peroxide oxidation induces the transfer of phospholipids from the membrane into the cytosol of human erythrocytes. *Biochemistry* 1994;33:4527-32.
30. **Wagner GM, Chiu DT, Qju JH, et al.** Spectrin oxidation correlates with membrane vesiculation in stored RBCs. *Blood* 1987;69:1777-81.
31. **Knight JA, Voorhees RP, Martin L, et al.** Lipid peroxidation in stored red cells. *Transfusion* 1992;32:354-7.
32. **Card RT, Mohandas N, Perkins HA, et al.** Deformability of stored red blood cells: relationship to degree of packing. *Transfusion* 1982;22:96-101.
33. **Berezina TL, Zaets SB, Morgan C, et al.** Influence of storage on red blood cell rheological properties. *J Surg Res* 2002;102:6-12.
34. **Laczko J, Feo CJ, Phillips W.** Discocyte-echinocyte reversibility in blood stored in CPD over a period of 56 days. *Transfusion* 1979;19:379-88.
35. **Card RT, Mohandas N, Mollison PL.** Relationship of posttransfusion viability to deformability of stored red cells. *Br J Haematol* 1983;53:237-40.

36. **Luk CS, Gray-Statchuk LA, Cepinkas G, et al.** WBC reduction reduces storage-associated RBC adhesion to human vascular endothelial cells under conditions of continuous flow in vitro. *Transfusion* 2003;43:151-6.
37. **Eichelbronner O, Sibbald WJ, Chin-Yee IH.** Intermittent flow increases endotoxin-induced adhesion of human erythrocytes to vascular endothelial cells. *Intensive Care Med* 2003;29:709-14.
38. **Chin-Yee I, Statchuk L, Milkovich S, et al.** Transfusion of red blood cells under shock conditions in the rat microvasculature. *Blood* 2004;104:2713A.
39. **Nakao M, Nakao T, Yamazoes S.** Adenosine triphosphate and maintenance of shape of human red cells. *Nature* 1960;187:945-6.
40. **Wood L, Beutler E.** The viability of human blood stored in phosphate adenine media. *Transfusion* 1967;7:401-8.
41. **Hogman CF, de Verdier CH, Ericson A, et al.** Studies on the mechanism of human red cell loss of viability during storage at +4 degrees C in vitro. III. Effects of mixing during storage. *Vox Sang* 1987;53:84-8.
42. **Hogman CF, Meryman HT.** Storage parameters affecting red blood cell survival and function after transfusion. *Transfus Med Rev* 1999;13:275-96.
43. **Swietochowska K, Piascik R, Jaroszewicz K, et al.** Human stored blood inositol phospholipids. *Acta Physiol Hung* 1991;78:283-91.
44. **Heaton A, Keegan T, Holme S.** In vivo regeneration of red cell 2,3-diphosphoglycerate following transfusion of DPGdepleted AS-1, AS-3 and CPDA-1 red cells. *Br J Haematol* 1989;71:131-6.
45. **Chaplin H Jr, Beutler E, Collins JA, et al.** Current status of red-cell preservation and availability in relation to the developing National Blood Policy. *N Engl J Med* 1974;291:68- 74.
46. **Bunn HF, May MH, Kocholaty WF, et al.** Hemoglobin function in stored blood. *J Clin Invest* 1969;48:311-21.
47. **Sugerman HJ, Davidson DT, Vibul S, et al.** The basis of defective oxygen delivery from stored blood. *Surg Gynecol Obstet* 1970;137:733-41.

48. **Valeri CR, Collins FB.** The physiologic effect of transfusing preserved red cells with low 2,3-diphosphoglycerate and high affinity for oxygen. *Vox Sang* 1971;20:397-403.
49. **Valeri CR, Rorth M, Zaroulis CG, et al.** Physiologic effects of transfusing red blood cells with high or low affinity for oxygen to passively hyperventilated, anemic baboons: systemic and cerebral oxygen extraction. *Ann Surg* 1975;181: 106-13.
50. **Epps DE, Knechtel TJ, Bacznyskj O, et al.** Tirilazad mesylate protects stored erythrocytes against osmotic fragility. *ChemPhys Lipids* 1994;74:163-74.
51. **Beutler E, Kuhl W, West C.** The osmotic fragility of erythrocytes after prolonged liquid storage and after reinfusion. *Blood* 1982;59:1141-7.
52. **Beutler E, West C.** Storage of red cell concentrates in CPDA2 for 42 and 49 days. *J Lab Clin Med* 1983;102:53-62.
53. **Greenwalt TJ, Zehner SC, Dumaswala UJ.** Studies in red blood cell preservation. 2. Comparison of vesicle formation, morphology, and membrane lipids during storage in AS-1 and CPDA-1. *Vox Sang* 1990;58:90-3.
54. **Dumaswala UJ, Dumaswala RU, Levin DS, et al.** Improved red blood cell preservation correlates with decreased loss of bands 3, 4.1, acetylcholinesterase, and lipids in microvesicles. *Blood* 1996;87:1612-6.
55. **Dumaswala UJ, Rugg N, Greenwalt TJ.** Studies in red blood cell preservation: 9. The role of glutamine in red cell preservation. *Vox Sang* 1994;67:255-9.
56. **Wolfe L, Byrne A.** A protection of red cell membrane from injury during liquid preservation of erythrocytes. *Blood* 1985;66:41A.
57. **Knight JA, Searles DA, Clayton FC.** The effect of desferrioxamine on stored erythrocytes. lipid peroxidation, deformability, and morphology. *Ann Clin Lab Sci* 1996;26:283-90.
58. **Messana I, Ferroni L, Misiti F, et al.** Blood bank conditions and RBCs: the progressive loss of metabolic modulation. *Transfusion* 2000;40:353-60.
59. **Tsai AG, Cabrales P, Intaglietta M.** Microvascular perfusion upon exchange transfusion with stored red blood cells in normovolemic anemic conditions. *Transfusion* 2004;44: 1626-34.

60. **Hurd TC, Dasmahapatra KS, Rush BF, et al.** Red blood cell deformability in human and experimental sepsis. *Arch Surg* 1988;123:217-20.
61. **Langenfeld JE, Livingston DH, Machiedo GW.** Red cell deformability is an early indicator of infection. *Surgery* 1991;110:398-404.
62. **Baker CH, Wilmoth FR, Sutton ET.** Reduced RBC versus plasma microvascular flow due to endotoxin. *Circ Shock* 1986;20:127-39.
63. **Mollitt DL, Poulos ND.** The role of pentoxifylline in endotoxin-induced alterations of red cell deformability and whole blood viscosity in the neonate. *J Pediatr Surg* 1991;26:572-4.
64. **Powell RJ, Machiedo GW, Rush BF Jr, et al.** Oxygen free radicals: effect on red cell deformability in sepsis. *Crit Care Med* 1991;19:732-5.
65. **Hersch M, Gnidec AA, Bersten AD, et al.** Histologic and ultrastructural changes in nonpulmonary organs during early hyperdynamic sepsis. *Surgery* 1990;107:397-410.
66. **De Backer D, Creteur J, Preiser JC, et al.** Microvascular blood flow is altered in patients with sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;166:98-104.
67. **Hersch M, Bersten AD, Rutledge FS, et al.** Quantitative evidence of microcirculatory compromise in skeletal muscle of normotensive hyperdynamic septic sheep. *Crit Care Med* 1989;17:S60.
68. **Marik PE, Sibbald WJ.** Effect of stored-blood transfusion on oxygen delivery in patients with sepsis. *JAMA* 1993;269:3024-9.
69. **Messmer K, Kreimeier U, Intaglietta M.** Present state of intentional hemodilution. *Eur Surg Res* 1986;18:254-63.
70. **Messmer KF.** Acceptable hematocrit levels in surgical patients [review]. *World J Surg* 1987;11:41-6.
71. **Fitzgerald R, Potter RF, Dietz G, et al.** The effect of transfusing aged red blood cells in oxygen supply dependency. *Chest* 1994;106:55S.
72. **Sielenkamper AW, Chin-Yee IH, Martin CM, et al.** Diaspirin crosslinked hemoglobin improves systemic oxygen uptake in oxygen supply-dependent septic rats. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156:1066-72.

73. **van Bommel J, de Korte D, Lind A, et al.** The effect of the transfusion of stored RBCs on intestinal microvascular oxygenation in the rat. *Transfusion* 2001;41:1515-23.
74. **d'Almeida MS, Jagger J, Duggan M, et al.** A comparison of biochemical and functional alterations of rat and human erythrocytes stored in CPDA-1 for 29 days: implications for animal models of transfusion. *Transfus Med* 2000;10:291-303.
75. **Babineau TJ, Dzik WH, Borlase BC, et al.** Reevaluation of current transfusion practices in patients in surgical intensive care units. *Am J Surg* 1992;164:22-5.
- 76.- **Kuduvalli M, Oo AY, Newall N, et al.** Effect of peri-operative red blood cell transfusion on 30-day and 1-year mortality following coronary artery bypass surgery. *Eur J Cardiothorac Surg* 2005;27:592–8.
- 77.- **Purdy FR, Tweeddale MG, Merrick PM.** Association of mortality with age of blood transfused in septic ICU patients. *Can J Anaesth* 1997;44:1256–61
- 78.- **Martin CM, Sibbald WJ, Lu X, et al.** Age of transfused red blood cells is associated with ICU length of stay. *Clin Invest Med* 1994;Suppl4:B21
- 79.- **Zallen G, Offner PJ, Moore EE, et al.** Age of transfused blood is an independent risk factor for postinjury multiple organ failure. *Am J Surg* 1999;178:570–2.
- 80.- **Brown CD, Ghali HS, Zhao Z, et al.** Association of reduced red blood cell deformability and diabetic nephropathy. *Kidney Int* 2005;67:295–300
- 81.- **Berezina TL, Zaets SB, Morgan C, et al.** Influence of storage on red blood cell rheological properties. *J Surg Res* 2002;102:6–12.
- 82.- **Mangano DT.** Aspirin and mortality from coronary bypass surgery. *N Engl J Med* 2002;347:1309–17.
- 83.- **Bernard GR, Vincent JL, Laterre PF, et al.** Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis. *N Engl J Med* 2001;344:699–709