



Vol. 1, Núm. 1, Jul.-Sep. 2008
p 5

Editorial

Carta del Presidente de la Asociación Mexicana de Medicina Transfusional

Es una gran satisfacción y orgullo para nosotros, que varios de ustedes hayan colaborado con su esfuerzo en la enseñanza e investigación de la medicina transfusional por lo que nos es muy grato invitarlos a participar en la Revista Mexicana de Medicina Transfusional Órgano Oficial de la Asociación Mexicana de Medicina Transfusional A.C. con la publicación de sus trabajos, los cuales ten-

drán la difusión y el reconocimiento merecido a sus esfuerzos.

Agradezco enormemente la colaboración de todos los que han hecho posible con su participación, la edición de esta publicación.

Daniel Romero López
Presidente de la Asociación Mexicana de Medicina Transfusional, A.C.

www.medigraphic.com



Editorial

Condiciones generales

Margarita Judith Salvatella Flores

Con el objetivo de cumplir con la normatividad, el Comité Editorial de esta revista se reserva el derecho de admisión de los artículos enviados y sometidos a revisión, por lo que podrán o no ser publicados.

Sólo se aceptarán aquellos trabajos que completen los datos requeridos de acuerdo a las normas de publicación establecidas y de la Asociación Mexicana de Medicina Transfusional A.C. Es responsabilidad del autor el contenido del material publicado.

Todos los artículos deberán contar con la transferencia de derechos para ser incluidos en esta

revista, y todos aquellos avalados oficialmente en los Congresos de la Asociación podrán ser incluidos para su publicación, los cuales, al momento de ser registrados durante los mismos, cederán automáticamente la transferencia de derechos para su publicación y no podrán ser editados en ningún otro foro o revista, o cualquier medio de publicación.

Queda bajo responsabilidad de los autores el plagio o duplicado en su publicación.

Sin más por el momento, les envío un afectuoso saludo, y los invitamos muy cordialmente a participar.

www.medigraphic.com

* Pediatra Neonatóloga. Hospital Infantil de México «Federico Gómez».



Editorial

Antecedentes históricos de la Medicina Transfusional

Margarita Judith Salvatella Flores*

Resumen

Consideramos pertinente hacer una semblanza sobre el desarrollo de la Medicina Transfusional a lo largo de la historia, como apertura de esta revista, líder en la República Mexicana, órgano oficial de publicación de la Asociación Mexicana de Medicina Transfusional. Bienvenidos.

Abstract

It is most relevant to do a review along the times about of transfusional medicine because this magazine is the most important document for edition of AMMTAC. This magazine is the most important document of the Mexican Transfusional Medicine Association. By the way is relevant to do a little introduction about Transfusional Medicine along the history. Wellcome.

A manera de introducción, consideramos pertinente hacer una semblanza sobre el desarrollo de la Medicina Transfusional a lo largo de la historia.

Relevancia de la transfusión

Recordemos que en la sangre se transporta el sustrato elemental para la vida, el oxígeno, por lo que a este elemento vital, se le han atribuido cualidades mágicas y religiosas. En México, según narraciones de cronistas hispanicos, el valor que los aztecas daban a la sangre en sus sacrificios era el dar una ofrenda a los dioses, lo cual podemos constatar hoy en día con los hallazgos de sacrificios encontrados en varios templos prehispánicos del territorio mexicano.

Conocer de dónde venimos es sumamente importante para saber hacia donde vamos; por ello me permito brindarles a ustedes esta recopilación de varios autores sobre la evolución de la Medicina Transfusional, para comprender sus alcances y perspectivas futuras.

Antecedentes históricos

Si bien la conciencia ritual del significado tan valioso de la sangre en otras culturas data desde tiempos muy remotos, la concientización como transfusión tiene sus orígenes a partir del siglo XV con el Papa Inocencio VIII, a quien se le transfundió sangre. Este hecho fue muy importante para impulsar las transfu-

* Pediatra Neonatóloga. Hospital Infantil de México «Federico Gómez».

siones. La intención de transfundir sangre para determinado fin fue un hecho, más la confirmación de como se transfundió la misma jamás se pudo conocer. Lo cierto es que hubo una concientización de la necesidad de donar sangre de un individuo a otro para preservar la vida. Así empezó la donación de sangre y todo lo que esto conlleva.

La administración intravenosa de medicamentos se hizo por vez primera en 1656 con Christopher Wren.

Los franceses, durante el siglo XVII, en tiempos de Luis XIV, lo practicaban.

Jean Baptiste Dennis se atrevió a transfundir, en humanos, sangre de cordero, pero en algunos casos fracasó y entonces fue demandado, hasta que los tribunales decidieron, después de tantas demandas, la prohibición de estas prácticas, atrasando el avance de la Medicina Transfusional durante varios siglos.

Sin embargo, años más tarde, en 1835, James Blundell obtuvo logros al transfundir en pacientes del área ginecológica sangre de paciente a paciente.

Descubrimiento del sistema ABO y Rh

Karl Landsteiner, en el siglo XX, demostró que había partículas antigénicas en la membrana del eritrocito, lo cual lo llevó a investigar la existencia de anticuerpos «naturales» en el suero con especificidad contraria a estos antígenos, desarrollándose así el conocimiento del Sistema ABO, de donde parten las bases que ahora tenemos para la investigación de este sistema de antígeno-anticuerpo. Los estudios de Landsteiner no pararon con el descubrimiento del funcionamiento del sistema ABO, sino también del sistema Rh, revolucionando con esto la inmunopatología.

Estudios posteriores establecieron que la administración de anti-Rh en forma de globulina

inmune prevenía la isoimmunización Rh y eliminaba la enfermedad hemolítica del recién nacido (EHRN). En la actualidad, el control de la EHRN es una medida de salud pública que asegura los programas apropiados de inmunización para personas susceptibles en muchos países del mundo.

Primeros bancos de sangre

En 1930 empiezan a funcionar los primeros bancos de sangre, tanto en Europa como en Norteamérica. La primera y segunda guerras mundiales incrementaron la necesidad de nuevas investigaciones sobre la transfusión sanguínea para los heridos, al mismo tiempo que el mundo se revoluciona y surgen nuevas tecnologías.

Crioprecipitados

En 1965, Judith Pool informó que si el plasma fresco congelado se descongelaba en el refrigerador, el crioprecipitado que se formaba contenía más concentración del factor VIII de la coagulación, que el plasma fresco original. Esto hizo posible administrar a los hemofílicos grandes dosis del factor VIII en un concentrado y abrió una gran posibilidad terapéutica para estos pacientes.

Hemovigilancia

Actualmente se tiene mucha vigilancia en los bancos de sangre sobre el control de donadores ya conocidos. Esto se realiza por personal especializado, con amplia experiencia en el control de calidad. Se han impuesto mecanismos de protección para evitar la transmisión de sífilis, hepatitis, paludismo y otras infecciones transmisibles. La clínica, la aplicación de pruebas serológicas, los descubrimientos en inmunohematología, los diversos estudios de tamizaje, la aplicación de ra-

yos gamma, los estudios inmunológicos de injerto contra huésped así como múltiples innovaciones y descubrimientos biotecnológicos han facilitado enormemente la seguridad en los bancos de sangre.

Los bancos de sangre en la actualidad

Desde 1960, los bancos de sangre y la Medicina Transfusional se han desarrollado rápidamente. La colección y el almacenamiento de la sangre son ahora procesos complejos que operan de manera muy parecida a la manufactura o producción de cualquier tipo de fármaco.

La Medicina Transfusional es, por tanto, una disciplina compleja con tecnología médica muy avanzada, que involucra a un sinnúmero de especialidades no sólo médicas, sino también de otros campos del conocimiento, las cuales tienen repercusiones en el mundo de la

ciencia y la tecnología, con sus respectivas implicaciones éticas, a la par de sus sistemas administrativos, por lo que podemos inferir la importancia del desarrollo con calidad que ha tenido la Medicina Transfusional.

Referencias

1. Franklin JA. Introduction. In: Murphy MF, Pamphilon DH, eds. Practical transfusion medicine. Londres: Blackwell Science; 2001: 3-12.
2. Goodnough LT, Brecher ME, Kanter MH, AuBuchon JP. Transfusion medicine: Second of two parts. Blood conservation. N Engl J Med 1999; 340: 525-33.
3. Schreiber GB, Bush MP, Kleinman SH, Korelitz JJ. The risk of transfusion-transmitted virus infection. N Engl J Med 1996; 334: 1685-90.
4. Goodnough LT, Brecher ME, Kanter MH, AuBuchon JP. Transfusion medicine: First of two.
5. Brown P. B lymphocytes and neuroinvasion. Nature 1997; 390: 662.

Correspondencia:

Dra. Margarita Judith Salvatella Flores

Tel. 044 55 32 66 94 69

doctorasalvatella@yahoo.com.mx

www.medigraphic.com



Trabajo original

Óxido nítrico y meta-hemoglobina en bolsas para transfusión sanguínea

Sergio García-Méndez,* José Gutiérrez-Salinas,** Leticia Cruz-Tovar**

Resumen

Introducción: La transfusión de paquete eritrocitario no carece de riesgos para el receptor ya que éste puede contraer una infección o alguna otra alteración en su salud ya que los eritrocitos almacenados presentan un metabolismo activo capaz de producir metabolitos dañinos para el receptor. **Objetivo:** Determinar la concentración de óxido nítrico y meta-hemoglobina en paquetes globulares que se almacenan en un banco de sangre. **Material y métodos:** Es un estudio observacional y experimental en donde se seleccionaron paquetes globulares del banco de sangre de nuestra institución a los cuales se les determinó la concentración de óxido nítrico y meta-hemoglobina por 30 días consecutivos. Se analizaron los resultados usando la prueba t de Student en el programa estadístico GraphPad Prism V-4. **Resultados:** Los resultados muestran que la concentración de óxido nítrico y meta-hemoglobina se incrementan a lo largo de los treinta días de almacenamiento. En los primeros cinco días, la concentración de óxido nítrico se incrementa en un 96.28% y la meta-hemoglobina en un 159.09%. Dicho incremento se hace más evidente conforme pasa

Abstract

Introduction: The transfusion of erythrocytes can represent a risk for the patient that receives it since can acquire an infection or some alteration to your health because the storage erythrocyte presents an active metabolism. The metabolism can produce harmful substances for the human being. **Objective:** Our objective was to determine in globular package the concentration of nitric oxide and meta-hemoglobin along the time of stored. **Material and methods:** This is an observational and experimental study. Globular packages were selected of the blood bank in our institution. The concentration of nitric oxide and metahemoglobin was determined along 30 days. Results was analyzed with Student «t» test using GraphPad Prism V-4 program. **Results:** Our results show that an increase in nitric oxide and meta-hemoglobin is developed along the time of storage. In the first five days of stored, nitric oxide increased up to 96.28% and meta-hemoglobin increased up to 159.09%. These latter increment in both substances are maintains along the time and is maximum at 30 days of stored. **Conclusions:** The increment in the concentration of nitric oxide and meta-hemoglobin in the globu-

Lista de abreviaciones

ON: óxido nítrico
rpm: revoluciones por minuto
meta-Hb: meta-hemoglobina

www.medigraphic.com

* Jefe del Banco de Sangre, Centro Médico Nacional «20 de Noviembre», ISSSTE.

** Laboratorio de Bioquímica y Medicina Experimental, División de Investigación Biomédica, Centro Médico Nacional «20 de Noviembre», ISSSTE.

el tiempo, llegando a su punto máximo a los 30 días.

Conclusiones: El incremento en la concentración de óxido nítrico y meta-hemoglobina en los paquetes globulares a lo largo del tiempo puede ser un factor que provoque reacciones adversas en el paciente que recibe una transfusión sanguínea.

Palabras clave: Banco de sangre, meta-hemoglobina, nitratos en sangre, óxido nítrico, paquete globular, transfusión sanguínea.

lar packages along the time can be a factor to produced adverse reactions in the patient that receives a transfusion of blood.

Key words: Erythrocytes, blood bank, blood nitrates, meta-hemoglobin, nitric oxide, globular package, blood transfusions.

Introducción

Se ha descrito que la transfusión de paquetes globulares a un sujeto que padece de una enfermedad determinada puede provocar diversos tipos de alteraciones en su organismo. Así se sabe que, posterior a la transfusión de paquetes globulares, el sujeto receptor suele padecer reacciones a corto, mediano y largo plazo que comprometen seriamente su estado de salud.¹⁻³

Dentro de las reacciones a corto plazo se encuentran las inmunológicas, infecciones severas (por ejemplo neumonía y septicemia), reacciones hemolíticas, manifestaciones de intoxicación o reacción adversa a los componentes químicos incluidos en las bolsas para preservación de eritrocitos, sobrecarga circulatoria, hipercalcemia, hipercalemia, sobrecarga de sodio, entre otras.²⁻⁶

De esta forma, la transfusión de un paquete globular es un riesgo potencial para el sujeto que lo recibe, ya que puede contener elementos tóxicos y/o dañinos por venir directamente del donante (virus de la hepatitis, HIV, etc.) o ser originados durante el proceso de almacenamiento de los eritrocitos.²⁻⁷ En este último caso, ha sido reportado que existen diversas sustancias que presentan los paquetes de eritrocitos destinados para transfusión tales como diversos tipos de proteínas leucocitarias, fac-

tores de crecimiento, metabolitos derivados de la acción de los radicales libres (malondialdehído y lipoperóxidos en general); fragmentos de hemoglobina; presencia de compuestos derivados de los plásticos que rodean a las bolsas que contienen a los eritrocitos, entre otras muchas cosas más.⁷⁻¹⁴

Por otro lado, se sabe que el óxido nítrico (ON) que se produce en los epitelios de los vasos sanguíneos puede reaccionar químicamente con la hemoglobina de los eritrocitos circulantes, lo que los hace una fuente rica en este metabolito.¹⁵⁻¹⁷ El ON es un metabolito producido en el organismo por la enzima óxido nítrico sintetasa a partir del aminoácido arginina y ejerce un efecto regulatorio en diversos procesos intra y extracelulares tanto fisiológicos como fisiopatológicos. Así, el ON participa de manera importante en la regulación del tono vascular, el impulso nervioso, la activación de plaquetas en la coagulación o durante una septicemia; también en la activación de leucocitos en procesos infecciosos, alteraciones en enfermedades coronarias, diabetes mellitus, hipertensión sistémica, hipertensión pulmonar, prematuridad, entre otras.¹⁸⁻²¹

Tal y como mencionamos en líneas anteriores, el ON que se produce en los epitelios vasculares es capaz de reaccionar químicamente con la hemoglobina de los eritrocitos circulantes ya que posee la capacidad de atrave-

sar las membranas celulares y de esta forma reaccionar con la oxi-hemoglobina formando meta-hemoglobina (meta-Hb) y nitratos totales.²²⁻²⁴ La meta-Hb presenta una menor afinidad por el oxígeno, lo que conduce a una menor oxigenación de los tejidos mientras que los nitratos formados pueden nuevamente, mediante reacciones espontáneas de óxido-reducción con el hierro de la hemoglobina, formar otros compuestos nitrosados que reaccionan con las biomoléculas de la célula y las dañan.²²⁻²⁵

Estas reacciones ocurren en forma espontánea en la circulación sanguínea en donde el eritrocito mantiene un estricto control entre la formación de nitratos totales, la meta-Hb y el ON que existe en el medio que lo circunda.²²⁻²⁵ Sin embargo, ha sido descrito que en condiciones *in vitro* o de éxtasis sanguínea (como la que ocurre en una trombosis local), este aparente equilibrio se rompe y los eritrocitos pueden acumular meta-Hb y NOx, lo que provoca serias alteraciones locales y/o generales al organismo.¹⁹⁻²⁸

Por lo expuesto con anterioridad, el objetivo del presente trabajo es determinar las concentraciones de ON y meta-Hb en paquetes globulares almacenados en el banco de sangre hasta por treinta días.

Material y métodos

Obtención de paquetes globulares. Los paquetes globulares fueron obtenidos frescos del banco de sangre de nuestra institución y provenían de sujetos masculinos (18-45 años de edad) aparentemente sanos que acudieron como donadores voluntarios. A los sujetos se les llevó a cabo una historia clínica completa junto con una exploración física minuciosa para determinar su estado de salud. La sangre completa fue obtenida por venopunción de acuerdo con la rutina estableci-

da en el banco de sangre y recolectada en un sistema de bolsas de plástico cuádruples (Baxter-Fenwal; Unidad Bolsag con CPD/ADSOL, Opti-System PL-146). Una vez obtenida, la sangre fue centrifugada a 2,000 rpm por 12 minutos para separar los diversos componentes sanguíneos usando el sistema Opti-press (Baxter-Fenwal) el cual separa el plasma y el «buffy coat» de los eritrocitos. Una vez obtenidos los paquetes globulares, fueron colocados en un refrigerador de banco de sangre y mantenidos en refrigeración a 3-7 °C y dejándose bajo las condiciones normales de almacenamiento durante el tiempo que duró el estudio. Todos los procedimientos fueron realizados de acuerdo a normas y procedimientos establecidos para el manejo de muestras sanguíneas en el banco de sangre y aprobados por nuestra institución.

Obtención de muestras. Una vez obtenido el paquete globular, la bolsa que lo contiene fue puncionada bajo condiciones de esterilidad por una de sus salidas para obtener 10 mL de muestra de eritrocitos. Una vez tomada la muestra, la salida de la bolsa fue sellada para mantener la esterilidad del sistema y el paquete globular se regresó al refrigerador. La toma de muestras de eritrocitos de los paquetes globulares el mismo día de su extracción fue considerada como el tiempo cero y posteriormente se tomaron muestras a los 5, 10, 20 y 30 días de almacenamiento. Todos los procedimientos fueron hechos de acuerdo con las normas y procedimientos oficiales del banco de sangre de nuestra institución, así como los procedimientos y normas que rigen el manejo de productos sanguíneos en humanos.

Lavado de eritrocitos. Los eritrocitos obtenidos de cada muestra fueron procesados el mismo día de acuerdo a los procedimientos generales descritos por Gutiérrez y cols²⁹ y que consisten brevemente en lo siguiente: Los

eritrocitos fueron colocados en un tubo de ensaye y centrifugados 10 minutos a 1,500 rpm en centrífuga clínica. El sobrenadante fue recuperado y reservado para su posterior uso. A los eritrocitos resultantes se les agregaron tres volúmenes de solución salina isotónica fría (NaCl 0.9%) para ser lavados tres veces por centrifugación tal y como fue descrito con anterioridad y por tres veces consecutivas. Una vez obtenidos los eritrocitos, se reservaron para llevar a cabo determinaciones subsiguientes.

Determinación de óxido nítrico. La determinación de óxido nítrico fue realizada en el sobrenadante de los eritrocitos obtenido según la descripción de líneas anteriores. La cantidad de ON presente en las muestras de sobrenadante de eritrocitos se llevó a cabo de acuerdo con la técnica reportada por Cortas y Wakid,³⁰ la cual determina la cantidad total de nitratos como reflejo de la concentración de ON presente en las muestras. En síntesis, la técnica consiste en lo siguiente: Un volumen de sobrenadante de eritrocitos se pasa a través de un filtro de 0.22 mm (Millex-GV, PVDF-durapore, Millipore Co, Bedford MA USA). Al filtrado resultante se le agregan cuatro volúmenes de sulfato de zinc (75 mM) e hidróxido de sodio (55 mM). La mezcla es centrifugada a 5,000 rpm por 10 minutos. A un volumen de sobrenadante resultante se le agrega un volumen de cadmio activado en amortiguador de glicina (0.2 M de glicina ajustado su pH a 9.7 con una solución 2 M de NaOH) y cuatro volúmenes de agua bidestilada, dejándose en agitación constante por 90 minutos. A dos volúmenes de sobrenadante resultantes de la incubación anterior se le agregan 2.5 volúmenes de agua bidestilada y un volumen de sulfanilamida (3% p/v en HCl 0.4N) y de N-naphtiletildiamina (0.1% p/v en agua bidestilada). La mezcla se agita brevemente y se deja incubar 30 minutos al término de los cuales, es leída a 540 nm en un espectrofotómetro tipo Jenway 6300 (Cielovista, Cal. USA).

La concentración de óxido nítrico se reporta como nitratos totales de acuerdo con una curva patrón hecha con concentraciones variables de KNO₃ en el rango μ M.³⁰

Determinación de meta-hemoglobina. El porcentaje de meta-hemoglobina (meta-Hb) en las muestras de eritrocitos fue determinado usando el método reportado por Kohn y cols.³¹ usando el hemolizado acuoso de un volumen de eritrocitos. Brevemente, la meta-Hb se determinó como sigue: A un volumen de eritrocitos se le agregaron tres volúmenes de agua bidestilada y se incubaron a 4 °C por 15 minutos. Posteriormente, se colocaron 100 μ L de hemolizado en una cubeta (1 mL de capacidad) de cuarzo y se determinó la absorbancia a 630 nm en un espectrofotómetro (Jenway 6300, Cielovista, Cal. USA). Una vez hecha esta primera lectura, se le agregó al hemolizado 50 mL de una solución de cianuro de sodio (5.3% p/v) en ácido acético (5.6% v/v) y se agitó brevemente para hacer una segunda lectura a 630 nm. La absorbancia de la muestra sin cianuro, menos la absorbancia de la muestra con cianuro, es una medida de la presencia de meta-Hb.³¹

Análisis estadístico. Los resultados se expresan como promedios de 12 muestras (paquetes globulares) independientes, realizando al menos tres determinaciones de metabolitos por muestra por punción. Los resultados fueron analizados usando el programa estadístico GraphPad Prism V-4.00 (GraphPad Software, San Diego, Cal., USA) usando la prueba t de Student y tomando un valor de $p < 0.05$ como estadísticamente significativo.

Resultados

La determinación de ON se realiza tomando en cuenta la cantidad total de nitratos presentes en la muestra que se analiza y, de esta forma, se infiere la cantidad total de ON que se

ha formado en la muestra.³⁰ El *cuadro I* muestra el porcentaje de incremento en la cantidad de ON a lo largo del tiempo en muestras de eritrocitos obtenidas de los paquetes globulares almacenados bajo condiciones normales en el banco de sangre y hasta por 30 días.

La cantidad inicial (tiempo cero) de ON (determinado como nitratos totales) fue en promedio de $32.3 \pm 5 \mu\text{M}$, lo que concuerda con la concentración de nitratos totales reportado previamente y presentes en la circulación sanguínea.²²⁻²⁵ Tomando dicho valor como el 100% de nitratos totales presentes en los eritrocitos de los paquetes globulares, se puede observar que se presenta un incremento estadísticamente significativo en la cantidad de óxido nítrico a los 10, 20 y 30 días de almacenamiento, tal como se muestra en el *cuadro I*. Dicho incremento es del 96.28% ($63.4 \mu\text{M}$) con respecto al tiempo cero en los primeros cinco días de almacenamiento y llega a ser del orden del 693.8% ($256.4 \pm 9.8 \mu\text{M}$) a los 30 días de almacenamiento.

Por otro lado, el *cuadro II* muestra el porcentaje de met-Hb en los eritrocitos provenientes de los paquetes globulares almacenados hasta por treinta días. Tal como sucede con el

ON, el porcentaje de met-Hb presente en los eritrocitos muestra un incremento estadísticamente significativo a lo largo del tiempo de almacenamiento. En el *cuadro II* se puede observar que existe un incremento de meta-Hb de 2.59 veces con respecto al tiempo cero (0.57% vs 0.22%; $p < 0.01$) a los cinco días de almacenamiento. Dicho incremento en la concentración de met-Hb en los eritrocitos llega a ser de 10.59 veces sobre el tiempo cero (2.33% vs 0.22%; $p < 0.001$) a los 30 días de almacenamiento del paquete globular.

Discusión

Uno de los productos biológicos más frecuentemente usados en el ámbito clínico como coadyuvante en el tratamiento de diversas patologías que aquejan al ser humano es el paquete globular, el cual se compone de eritrocitos que han sido obtenidos mediante donación voluntaria de sujetos aparentemente sanos. Sin embargo, a pesar de su aparente utilidad, la transfusión de paquetes globulares puede representar un riesgo para la salud del individuo que lo recibe.^{1-5,32}

Cuadro I. Porcentaje de incremento a lo largo del tiempo en la concentración de óxido nítrico (determinado como nitratos totales) en eritrocitos provenientes de paquetes globulares almacenados hasta por treinta días. El porcentaje está expresado como promedio de 12 paquetes globulares.

Tiempo (días)	Óxido nítrico (% incremento)	P*
0	100.00	—
5	96.28	0.01
10	188.73	0.001
20	383.96	0.001
30	693.80	0.001

* vs tiempo cero.

Cuadro II. Concentración de meta-hemoglobina expresada como porcentaje en los eritrocitos provenientes de paquetes globulares almacenados hasta por treinta días. Los resultados están expresados como promedio de 12 paquetes globulares.

Tiempo (días)	% meta-Hb	Incremento*	P**
0	0.22	—	—
5	0.57	2.59	0.01
10	0.87	3.96	0.001
20	1.44	6.54	0.001
30	2.33	10.59	0.001

* veces sobre el valor a tiempo cero.

** vs tiempo cero.

meta-Hb: meta-hemoglobina.

D.E.: desviación estándar.

Ha sido demostrado que, una vez que ha sido obtenido y almacenado bajo estrictas normas de seguridad, un paquete globular puede presentar una gran cantidad de compuestos que potencialmente representan un riesgo para la salud del sujeto que lo recibe. Dentro de ellos se encuentran virus, factores de crecimiento, derivados leucocitarios, así como productos del metabolismo del eritrocito que, al no encontrar salida, se van acumulando dentro de la bolsa que los contiene y que son el reflejo de la actividad metabólica que presenta el eritrocito aun a bajas temperaturas.^{6-14,32-34} Como ejemplo de lo anterior, se ha descrito que a lo largo del tiempo de almacenamiento, el paquete globular puede contener lipoperóxidos, fragmentos de hemoglobina, fragmentos de membranas de eritrocitos, acumulación de calcio, sodio y potasio, disminución del pH del paquete globular, acumulación de ácido láctico, entre otras más.^{6-14,31-38}

Dichas sustancias pueden ser el reflejo del metabolismo normal del eritrocito durante el tiempo que permanece almacenado o el resultado del deterioro normal que sufre el eritrocito a lo largo del tiempo. En cualesquiera de los dos casos anteriores, el resultado neto es la acumulación de elementos potencialmente tóxicos para quien los recibe cuando se le instala una transfusión de paquetes eritrocitarios, ya que, a diferencia de los virus, este tipo de sustancias no son detectadas rutinariamente en el banco de sangre.

Una de estas sustancias es el óxido nítrico (ON) que se encuentra en los eritrocitos de la circulación sanguínea y que acompaña a los eritrocitos de un paquete globular. Lo anterior está sustentado en el hecho de que nuestros resultados demostraron que, a tiempo cero, los eritrocitos de los paquetes globulares presentan una concentración de ON semejante a la encontrada en la circulación sanguínea. Una vez que el ON se encuentra en el eritroci-

to, éste puede reaccionar con la hemoglobina formando meta-Hb y nitratos totales, tal como ha sido descrito para experimentos hechos *in vitro*.^{15-17,22-28}

En condiciones normales, el porcentaje de meta-Hb presente en los eritrocitos no es superior al 0.3% mientras que la concentración de nitratos fluctúa alrededor de 25-45 μM en el plasma fresco humano.^{15-17,22-28,35} De acuerdo con nuestros resultados, conforme pasa el tiempo de almacenamiento de los paquetes globulares, ambos metabolitos se acumulan gradualmente, llegando a presentar cantidades muy superiores a las que se encuentran en la circulación sanguínea (*Cuadros I y II*).

El origen exacto de la gradual acumulación de ON y meta-Hb en los paquetes globulares a lo largo del tiempo debe ser investigado; sin embargo, podemos suponer que dichos metabolitos se pueden formar gracias a un proceso de reacción espontánea llevado a cabo por radicales libres, ya sea derivados del oxígeno y/o el nitrógeno, tal como sucede en otro tipo de sistemas.^{23,35-40}

Como mencionamos con anterioridad, se ha comprobado en experimentos hechos *in vitro* que el ON presente en el medio puede reaccionar espontáneamente con la hemoglobina del eritrocito y formar meta-Hb y nitratos. Una vez que se han formado nitratos como producto de esta reacción, se llevan a cabo reacciones de óxido-reducción espontáneas llevadas a cabo entre estos nitratos y el hierro contenido en la hemoglobina de los eritrocitos, lo que genera como subproducto más ON en el medio.^{15-17,22-28,35-39} De esta forma, podemos hipotetizar que estas reacciones de óxido-reducción espontáneas descritas con anterioridad pueden ser una fuente de generación de ON en la bolsa que contiene al paquete globular, lo que hace que este metabolito reaccione nuevamente con la hemoglobina y que, con el tiempo, tenga una acumulación

progresiva de meta-Hb y nitratos como hemos observado.

Puesto que la concentración de hemoglobina en un paquete de eritrocitos es prácticamente infinita, se establece un círculo de oxidación-reducción en donde el resultado final es la acumulación progresiva de met-Hb y ON. La acumulación de estos dos metabolitos en el paquete globular puede ser altamente riesgosa para el paciente que lo recibe ya que tanto la met-Hb como los nitratos pueden provocar hipoxia (en el primer caso) o alteraciones generales (en el segundo caso) relacionadas con los procesos fisiológicos normales del individuo.^{33-35,39,40}

Conclusiones

Como medida terapéutica, la transfusión sanguínea ha probado tener excelentes resultados ya que ofrece un soporte fisiológico como medida de oxigenación de los tejidos en diversas patologías agudas o crónicas que aquejan al ser humano. Sin embargo, la transfusión de eritrocitos no carece de riesgo para el receptor ya que, durante el tiempo de almacenamiento, un paquete globular puede generar una serie de compuestos químicos muy reactivos que potencialmente afectan los procesos fisiológicos del organismo.

Los eritrocitos obtenidos de donantes sanos y almacenados bajo condiciones óptimas en un banco de sangre tienden a presentar diversos cambios a nivel metabólico y estructural, por lo que su prolongado almacenamiento puede representar un riesgo para la salud del sujeto que lo recibe. Es por eso que los paquetes globulares destinados a la transfusión en humanos deben ser dispuestos lo más fresco posible para que, de esa forma, se evite la entrada de sustancias dañinas tales como la met-Hb y los nitratos que pueden comprometer aún más su estado de salud.

Referencias

1. Rodríguez MH. TRALI: daño pulmonar agudo por transfusión. *Rev Med IMSS* 2004; 42 (6): 501-6.
2. García-Escamilla RM, Méndez-López TIA. Reacciones adversas por transfusión sanguínea en pacientes cardiopatas. *Rev Mex Patol Clin* 2006; 53 (3): 139-45.
3. Barba EJR. Transfusión de sangre y sus componentes: riesgos, beneficios e indicaciones. *Rev Mex Patol Clin* 2004; 51 (2): 97-118.
4. Nielsen HJ. Detrimental effects of perioperative blood transfusion. *Bri J Surg* 1995; 82: 582-7.
5. Gupta SC, Shaw A. Evaluation of single unit red cell transfusions given to adults during surgery. *Asian J Transf Sci* 2007; 1: 12-5.
6. Szpisjak D, Edgell DS, Bissonnette B. Potassium as a surrogate marker of debris in cell-salvaged blood. *Anesth Analg* 2000; 91: 40-3.
7. Cint C, Johansen JS, Swko F, Price PA, Nielsen HJ. Accumulation of the neutrophil-derived protein YKL-40 during storage of various blood components. *Inflamm Res* 2001; 50: 107-11.
8. Nielsen HJ, Werther K, Mynster T, Brünner N. Soluble vascular endothelial growth factor in various blood transfusion components. *Transfusion* 1999; 39: 1078-83.
9. Weisbach V, Wanke J, Zingsem R, Zimmermann R, Eckstein R. Cytokine generation in whole blood, leukocyte-depleted and temporarily warmed red blood cells concentrates. *Vox Sanguinis* 1999; 76: 100-6.
10. Nishiyama T, Hanaoka K. Free hemoglobin concentration in patients receiving massive blood transfusion during emergency surgery for trauma. *Can J Anesth* 2000; 47: 881-5.
11. Sezdi M, Bayik Y, Ulgen Y. Storage effects on the coagulation parameters of erythrocyte suspensions. *Physiol Meas* 2006; 27: 623-35.
12. Bratosin D, Leszczynski S, Sartiaux C, Fontaine O. Improved storage of erythrocytes by prior leukodepletion: flow cytometric evaluation of stored erythrocytes. *Cytometry* 2001; 46 (6): 351-6.
13. Korgum DK, Bilmen S, Yesilkaya A. Alterations in the erythrocyte antioxidant system of blood stored in blood bags. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 2001; 109: 357-63.
14. Estep TN, Pedersen RA, Miller TJ, Stupar KR. Characterization of erythrocyte quality during the refrigerated storage of whole blood containing di-(2-ethylhexyl) phthalate. *Blood* 1984; 64: 1270-6.
15. May JM, Zhi-Chao Q, Xia L, Cobb CE. Nitric uptake and metabolism and oxidant stress in human erythrocytes. *Am J Physiol Cell Physiol* 2000; 279: C1946-C1954.
16. Recchia FA, Voger TR, Hintze TH. NO metabolites accumulate in erythrocytes in proportion to carbon dioxide and bicarbonate concentration. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000; 279: H852-H856.
17. Nagababu E, Ramasamy S, Abernethy DR, Rifkind JM. Active nitric oxide produced in the red cell under hypoxic conditions by deoxyhemoglobin-mediated nitrite reduction. *J Biol Chem* 2003; 278: 46349-56.
18. Ignarro LJ. Nitric oxide as a unique signaling molecule in the vascular system: a historical overview. *J Physiol Pharmacol* 2002; 53 (4): 503-14.
19. Stankevicius E, Kévelaitis E, Vainorius E, Simonsen U. Role of nitric oxide and other endothelium-derived factors. *Medicine* 2003; 39 (4): 333-41.

20. Bred DS, Snyder SH. Nitric oxide: a physiologic messenger molecule. *Ann Rev Biochem* 1994; 63: 175-95.
21. Tuteja N, Chandra M, Tujeda R, Misra MK. Nitric oxide as a unique bioactive signaling messenger in physiology and pathophysiology. *J Biomed Biotech* 2004; 4: 227-37.
22. Denicola A, Souza JM, Radi R. Diffusion of peroxynitrite across erythrocyte membranes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 3566-71.
23. Kim-Shapiro DB, Schechter AN, Gladwin MT. Unraveling the reactions of nitric oxide, nitrite and hemoglobin in physiology and therapeutics. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26: 697-705.
24. Rodkey FL. A mechanism for the conversion off oxyhemoglobin to methemoglobin by nitrite. *Clin Chem* 1976; 22 (12): 1986-1990.
25. Pawloski JR, Hess DT, Stamler JS. Export by red blood cells of nitric oxide bioactivity. *Nature* 2001; 409: 622-6.
26. Noble DR, Williams DLH. Nitrosation products from S-nitrosothiols via preliminary nitric oxide formation. *J Chem Soc Pekin Trans* 2002; 2: 1834-8.
27. Gow AJ, Stamler JS. Reaction between nitric oxide and haemoglobin under physiological conditions. *Nature* 1998; 391: 169-73.
28. Gow AJ, Luchsinger BP, Pawloski JR, Singel DJ, Stamler JS. The oxyhemoglobin reaction of nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 9027-32.
29. Gutiérrez-Salinas J, Zentella de Piña M, Piña E. Acute ethanol intake produces lipid peroxidation in rat red blood cells membranes. *Biochem Mol Biol Int* 1993; 29: 263-70.
30. Cortas NK, Wakid NW. Determination of inorganic nitrate in serum and urine by kinetic cadmium-reduction method. *Clin Chem* 1990; 38: 1440-3.
31. Kohn MC, Melnick RL, Ye F, Portier CJ. Pharmacokinetic of sodium nitrite-induced methemoglobinemia in the rat. *Drug Metabolism and Disposition* 2002; 30: 676-83.
32. Hardy JF, Bélisle S. Erythrocyte transfusion: friend or foe? *Can J Anesth* 2001; 48 (6): 1-7.
33. Waltemath C. The effect of pH and blood gas correction on DPG and plasma potassium content of stored blood. *Canad Anaesth Soc J* 1975; 22: 164-70.
34. Meyerstein N, Mazor D, Dvilansky. Erythrocyte agglomeration and survival studies in citrate-phosphate-dextrose (CPD) units. *J Ann Hematol* 1979; 39 (3): 211-6.
35. Han TH, Hyduke DR, Vaughn MW, Fukuto JM, Lisao JC. Nitric oxide reactions with red blood cells and hemoglobin under heterogeneous conditions. *ProProc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 7763-8.
36. Gutiérrez-Salinas J. Función de los complementos antioxidantes durante el ejercicio. *Med Int Mex* 2007; 23: 217-22.
37. Gutiérrez-Salinas J. ¿Qué sabe usted acerca de...radicales libres? *Rev Mex Cien Farm* 2006; 37: 69-73.
38. Gutiérrez-Salinas J, Morales-González JA. Producción de radicales libres derivados del oxígeno y el daño al hepatocito. *Med Int Mex* 2004; 20: 287-95.
39. Deepa DKV, Manoj KV, Arun P, Santhosh A. Increase lipid peroxidation of erythrocytes in blood stored in polyvinyl chloride blood storage bags plasticized with di-(2-ethyl hexyl) phthalate and effect of antioxidants. *Vox Sang* 1998; 75 (3): 198-204.
40. Gladwin MT, Schechter AN. NO contest: Nitrite versus S-nitroso-hemoglobin. *Circ Res* 2004; 94: 851-5.

Correspondencia:

Dr. José Gutiérrez Salinas

Laboratorio de Bioquímica y Medicina Experimental,
División de Investigación Biomédica,
Centro Médico Nacional «20 de Noviembre», ISSSTE,
San Lorenzo Núm. 502, 2º piso, Col. Del Valle,
03100, México D.F.
Tel.: 5200-5003, ext. 14603
Fax: 5559-3256.
E-mail: quauhtlicutli@yahoo.com



Trabajo original

Subtipos de HLA-B27 en familias de pacientes mestizos mexicanos con espondilitis anquilosante

Julio César Martínez Álvarez,* Ana P. Navarrete Reyes,** Araceli Arrazola García,*** América Suárez Cruz,*** Abraham Zonana-Nacach, Adolfo Camargo Coronel, Beatriz García Robles,** Rebeca Rivera López,**** Raúl Ambríz Fernández,***** F. Javier Jiménez-Balderas*****

Resumen

El objetivo de este estudio fue el identificar los subtipos HLA-B27 que se expresan en pacientes de familias con espondilitis anquilosante (EA). En este estudio se concluyó que los pacientes mestizos mexicanos con EA presentan frecuentemente el subtipo HLA-B*270502 que es heredado de línea paterna a los hijos varones.

Palabras clave: Espondilitis anquilosante, mestizo mexicano, HLA-B27.

Abstract

*The object of this study was identify the HLA-B27 subtypes were expressed in the patients of families with Ankylosing Spondylitis (AS). The study concluded, that the mexican mestizos patients with AS, frequently have subtype HLA-B*270502 that heredity by the fathers line to the male sons.*

Key words: Ankylosing spondylitis, mexican mestizos, HLA-B27.

www.medigraphic.com

* Responsable de Laboratorio de Histocompatibilidad y HLA del Banco Central de Sangre.

** Residente en Entrenamiento.

*** Laboratorio de Histocompatibilidad y HLA Banco Central de Sangre.

**** Jefa del Laboratorio del Banco Central de Sangre.

***** Director del Banco Central de Sangre del Centro Médico Nacional SXXI. Instituto Mexicano del Seguro Social.

***** Reumatólogo Departamento de Reumatología Centro Médico Nacional SXXI, Instituto Mexicano del Seguro Social.

Introducción

La espondilitis anquilosante (EA) es una enfermedad reumática inflamatoria de las articulaciones de la columna vertebral, que ocasionan fusión ascendente y progresiva de los cuerpos vertebrales. Carece del factor reumatoide en el suero y está asociada genéticamente al antígeno de histocompatibilidad B27 (HLA-B*27).

Esta enfermedad, pertenece al grupo de las espondiloartropatías seronegativas. Su etiología es desconocida y afecta más frecuentemente al hombre que a la mujer (3-10:1).¹ El HLA B*27 se encuentra expresado en la superficie de las células nucleadas, siendo su función la de presentar los antígenos (péptidos bacterianos, virales o tumorales) a los receptores antigénicos de los linfocitos T citotóxicos, activándolos, desencadenando la muerte de la célula anormal.²

Se considera que del 1 al 2% de la población general es HLA-B*27 positiva, siendo menos frecuente en las poblaciones negra y japonesa (< 1%), mientras que en canadienses y noruegos se presenta entre el 4 al 7%. En México se estima que en la población general el 4% es HLA B27+, y existe prevalencia de la EA en 1.7%, con alta frecuencia de inicio juvenil en pacientes HLA-B*27+.³

El HLA-B*27 comprende al menos 26 subtipos o alelos de HLA-B*27 desde el HLA-B*2701 hasta el HLA-B*2726. Cada subtipo difiere uno de otro por las sustituciones de uno o más aminoácidos en los dominios alfa 1 y alfa 2. El subtipo B*2705, está además subdividido en B*270502 al B*270507 y se diferencian por la sustitución de un nucleótido.⁴

De todos los subtipos de HLA-B*27 estudiados, el subtipo HLA-B*2705 es el más frecuentemente asociado con la EA y espondiloartropatías seronegativas en todo el mundo, exceptuando la población de África Occiden-

tal. Este subtipo está claramente asociado con la EA, sin embargo también es el más ampliamente encontrado en individuos sanos; 4 a 10% de individuos noreuropeos con HLA-B*27 positivo y hasta 55% de la población semita (árabes y judíos) HLA-B*27 positivos.⁵

Estas diferencias, es posible que se deban, a que existan rangos jerárquicos entre algunos alelos de HLA-B27 en términos de predisposición a la enfermedad y varía su porcentaje de frecuencia de una espondiloartropatía a otra; de una raza a otra; o de una región geográfica a otra.⁴

Estudios de casos y controles han establecido que los subtipos B*2705, B*2702, B*2704 y B*2707 están asociados con la EA,⁶ habiéndose reportado que el B*2708 es segregado en la EA en un estudio de familia, pero esto no se ha mostrado en otros casos.⁷ Un estudio de familias de origen chino/indonesio llevado a cabo en Indonesia, presentaron el subtipo B*2704, pero no el B*2706 el cual fue segregado.⁸ De lo anteriormente expuesto, se deduce que la prevalencia de subtipos de HLA-B, está sujeta a factores étnicos y raciales, pero por su tendencia a la agregación familiar sugiere que la predisposición a padecer la enfermedad es transmitida de padres a hijos a través de alguno de estos alelos. Sin embargo, si se considera que la carga genética del HLA-B*27 representa sólo el 16% de la predisposición a padecer la enfermedad, le corresponde al resto del MHC (Complejo Principal de Histocompatibilidad) el aportar al menos 50% de lo restante de tal predisposición.^{9,10} No se ha determinado hasta la fecha, cuál de los alelos del B*27 se asocia al desarrollo de la EA en la población mestiza-mexicana.

El objetivo del presente estudio es el determinar la frecuencia con que los alelos de HLA-B27 en pacientes con EA son heredados, la vía (paterna o materna) de herencia del subtipo,

en pacientes mestizos-mexicanos de un Hospital de tercer nivel de la Ciudad de México.

Material y métodos

Se efectuó un estudio observacional, transversal, retrospectivo y analítico en un grupo piloto de 15 familias quienes tuvieran uno o más hijos con EA que cumpliera con los Criterios Modificados de Nueva York,¹¹ siendo el protocolo aprobado por el Comité de Evaluación (IMSS PTR 023/2006).

Fueron elegibles para el estudio todos los pacientes con EA de cualquier género que contasen con ambos padres vivos y disponibles para toma de muestras de sangre periférica, entrevista y exploración física. Después de que firmaron la carta de consentimiento informado, tanto a los padres como a los pacientes se les tomó una muestra de sangre venosa del pliegue del codo, en un tubo con anticoagulante EDTA o ACD. Las muestras para la determinación de subtipos del HLA-B27 fueron procesadas dentro de las siguientes 24 horas.

Se obtuvieron las frecuencias alélicas del locus HLA-B27 y subtipos alélicos mediante métodos moleculares de baja y mediana resolución, inicialmente por Reacción en Cadena de Polimerasa, utilizando Sondas de Oligonucleótidos de Secuencia Específica (PCR-SSOP) y Reacción en Cadena de Polimerasa, utilizando Indicadores de Secuencia Específica (PCR-SSP Invitrogen®) para determinar los subtipos en alta resolución.¹² Se empleó la estadística descriptiva con medidas de tendencia central y dispersión, dependiendo del tipo de variable con el programa estadístico SPSS versión 14.0.

Resultados

Se estudiaron 15 familias, una de ellas tuvo 2 hijos con EA, en total 16 pacientes con EA, 13

hombres (81.25%) y 6 mujeres (18.75%), con edad media de 24.89 ± 7.64 años (rango 17 - 48 años). Ninguno de los progenitores tuvo datos clínicos de EA u otra espondiloartropatía.

Dieciséis de los hijos con EA (73.7%) fueron HLA-B*27 positivos, con edad media de 26.5 ± 7.5 (rango 18 - 48 años). La edad de inicio de la EA fue de 18.71 ± 6.74 años.

En 9 casos el HLA-B*27 fue heredada por vía paterna (56.25%) y en 6 por vía materna (43.75%). Quince de estos 16 pacientes HLA-B*27+ (93.75%) presentaron el subtipo B*270502 y sólo uno del género masculino de 18 años, había heredado por vía paterna el HLA-B*2702 (6.25%) (Cuadro I).

Discusión

Nuestro estudio fue realizado en familias mestizas mexicanas, las que comparten en gran proporción genes del amerindio y del blanco español. Estudios de genética familiar en población Europea indican que el HLA-B*27 contribuye con alrededor del 16% del riesgo genético total para la enfermedad, el resto del MHC (Complejo Principal de Histocompatibilidad) parece aportar al menos 50% de tal predisposición.^{9,10}

Hasta donde sabemos, estudios de herencia de subtipos en familias con EA efectuados en población chino-tailandesa demuestran que el subtipo de HLA B*27 más frecuentemente heredado es el HLA-B*2704, y en estas familias al igual que observamos en nuestro estudio no hubo padres enfermos con EA.⁸

En nuestro estudio encontramos al subtipo HLA-B*2705 como el más frecuentemente heredado, este subtipo es virtualmente el único observado en la población nativa de Siberia y Norteamérica y conforma el 90% de los individuos HLA-B*27 positivos del norte de Europa, lo que sugiere que el HLA-B*2705, puede ser el alelo ancestral del cual todos los otros HLA B27 han evolucionado.⁴

Los subtipos de HLA B27 más frecuentemente encontrados en población mestiza mexicana son el B*2705 y el B*2702; los que se consideran heredados de la población caucásica española, ya que no han sido reportados en poblaciones amerindias autóctonas.¹³

Una tipificación de subtipos de HLA-B*27 mostró que la población mestiza mexicana comparte alelos españoles caucásicos B*2705 y B*2702, los cuales están ausentes en la zona central¹³ y del sur de América.¹⁴

Se ha encontrado también, vinculación de arreglos del B27/Cw en mestizos, los cuales son similares a los reportados en españoles con tres diferentes haplotipos positivamente asociados con EA en ambas poblaciones: B*2705/Cw*0102, B*2705/Cw*02022 y B*2702/Cw*02022, sugiriendo que el B*27 en mexicanos puede ser debido a una mezcla caucasoide reciente con genes españoles.¹⁵

La frecuencia y proporción (92.9% B*2705 y 7.1% B*2702) con que encontramos estos subtipos del HLA B*27 en los enfermos con EA de

nuestras familias es similar a la reportada en estudios de población abierta mestiza mexicana 93.8% B*2705 y 4.7% B*2702 respectivamente.¹⁵

La vía de herencia del B*27 fue predominante por vía paterna y fue transmitida con más frecuencia (58.4%) al hijo varón, en forma parecida a como ha sido informado que ocurre en europeos, donde el porcentaje de hijos enfermos con EA depende del sexo del padre afectado.¹⁶ En nuestros casos no tuvimos padres afectados con EA pero sí la vía de herencia paterna del HLA*B27.

Por otra parte, el encontrar el B*2705 padres sanos portadores del HLA-B*27 y los hijos enfermos (*Cuadro I*), sugiere en algunos individuos el tener el gen no equivale a tener la enfermedad, como ha sido informado.⁸ Este hallazgo se puede explicar porque aunque aparentemente padres e hijos tienen el mismo subtipo de B27, en el HLA*B2705 molecularmente hablando se ha descrito la existencia de alteraciones bioquímicas que ocurren en la porción externa de la bolsa B, o bien una

Cuadro I. Datos demográficos de las familias e hijos con EA HLA B*27 positivo, vía de herencia y subtipo de HLA-B27 heredado.

Núm	Género paciente	Edad paciente	Edad inicio de la EA	Subtipo paterno	Subtipo materno	Subtipo paciente
1	M	25	20	B*270502	NEG	B*270502
2	M	18	15	B*2702	NEG	B*2702
3	M	22	18	B*270502	NEG	B*270502
4	M	24	22	B*270502	NEG	B*270502
5	F	27	27	B*270502	NEG	B*270502
6	M	32	16	NEG	B*270502	B*270502
7*	M	48	15	NEG	B*270502	B*270502
8*	M	47	17	NEG	B*270502	B*270502
9	M	22	20	NEG	B*270502	B*270502
10*	M	27	12	B*270502	NEG	B*270502
11*	M	22	14	B*270502	NEG	B*270502
12	M	20	12	B*350101	B*270502	B*270502
13*	M	22	18	B*270502	NEG	B*270502
14*	M	27	17	B*270502	NEG	B*270502
15	F	34	ND	B*5104	B*270502	B*270502
16	F	23	ND	ND	B*270502	B*270502

*Hermanos

disrupción de la red de puentes de hidrógeno que estabilizan la unión de Arg en la bolsa B, alteración que no deteriora la unión de péptidos portadores del R2 como lo hace una sustitución no conservadora en la posición 45; estas alteraciones moleculares del péptido, así como otras etiquetas metabólicas de secuencias de aminoácidos revelan similitudes, pero también diferencias sustanciales entre el conjunto de péptidos de varios subtipos de HLA- B*27.⁴

La baja frecuencia del B*2702 en nuestra población posiblemente esté asociada con las características étnicas propias del mestizaje con blanco español, ya que el subtipo HLA-B*2702 es más frecuente reportado en poblaciones de origen árabe, judío y noreuropeo.^{5,17}

Conclusiones

En los pacientes con EA HLA B*27+ de un hospital de tercer nivel en la ciudad de México, el subtipo más frecuentemente encontrado es el B*2705, se presenta en pacientes del sexo masculino, el cual es heredado preferentemente por vía paterna.

Referencias

1. Khan MA et al. Ankylosing spondylitis: Clinical features. *Rheumatology*, 1st edition, London: Mosby-Volfe, 1994, 325.
2. Shamji MF, Bafaquh M, Tsai E. The pathogenesis of ankylosing spondylitis. *Neurosurg Focus*. 2008; 24(1): E3.
3. Feltkamp TEW, Khan MA, De Castro JAL. The pathogenic role of HLA-B*27. *Immunol Today* 1996; 7: 1-5.
4. Ramos M, López de Castro JA. HLA-B27 and the pathogenesis of spondyloarthritis. *Tissue Antigens*. 2002; 60(3): 191-205. Review.
5. González-Roces S, Brautbar C, Peña M, Domínguez O, Coto E, Álvarez V, Segal R, López-Larrea C. Molecular analysis of HLA-B27 haplotypes in caucasoids. Frequencies of B27-Cw in Jewish and Spanish populations. *Hum Immunol*. 1994; 41(2): 127-34.
6. González-Roces S, Álvarez MV, González S, Dieye A, Makni H, Woodfield DG, Housan L, Konenkov V, Abbadi MC, Grunet N, Coto E, López-Larrea C. HLA-B27 polymorphism and worldwide susceptibility to ankylosing spondylitis. *Tissue Antigens*. 1997; 49(2): 116-23.
7. Armas JB, Gonzalez S, Martinez-Borra J, Laranjeira F, Ribeiro E, Correia J, Ferreira ML, Toste M, López-Vazquez A, López-Larrea C. Susceptibility to ankylosing spondylitis is independent of the Bw4 and Bw6 epitopes of HLA-B27 alleles. *Tissue Antigens* 1999; 53(3): 237-43.
8. Sudarsono D, Hadi S, Mardjuali A, Nasution AR, Dekker-Saeyns AJ, Breur-Vriesendorp BS, Lardy NM, Feltkamp TE. Evidence that HLA-B*2706 is not protective against spondyloarthropathy. *J Rheumatol* 1999; 26(7): 1534-6.
9. Khan MA, Ball EJ. Genetic aspects of ankylosing spondylitis. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2002; 16(4): 675-90.
10. Thorsby E, Lie BA. HLA associated genetic predisposition to autoimmune diseases: Genes involved and possible mechanisms. *Transpl Immunol*. 2005; 14(3-4): 175-82.
11. Van der Linden S, Valkenburg HA, Cats A. Evaluation of diagnostic criteria for ankylosing spondylitis. A proposal for modification of the New York criteria. *Arthritis Rheum* 1984; 27(4): 361-8.
12. Olerup OI, Zetterquist, H. HLA DR typing by PCR amplification with sequence specific primer (PCR-SSP) in 2 hours: An alternative to serological DR typing in clinical practice including donor-recipient matching in cadaveric transplantations. *Tissue Antigens* V. 1992; 39: 225-235.
13. Acuña-Alonza V, Silva-Ramírez B, Castillo-Vázquez M, Granados-Arriola J. Variación del HLA-B en poblaciones mexicanas. *Bioquímica* 2006; 31(2): 49-5)
14. Rivera-Pirela S, Hernández R, Manzur H, Montiel M, Márquez G, Villalobos C, Cipriano A Ma, Alcalá de Monzón M. Caracterización molecular de los antígenos HLA-CLASE I de la población Barí del estado Zulia. *CIENCIA* 2004; 12(4): 258-268.
15. López-Larrea C, González-Roces S, Peña M, Domínguez O, Coto E, Álvarez V, Moreno M, Hernández O, Burgos-Vargas R, Gorodezky C. Characterization of B27 haplotypes by oligotyping and genomic sequencing in the mexican mestizo population with ankylosing spondylitis: juvenile and adult onset. *Hum Immunol* 1995; 43(3): 174-80.
16. Calin A, Brophy S, Blake D. Impact of sex on inheritance of ankylosing spondylitis: a cohort study. *Lancet* 1999; 354(9191): 1687-90.
17. Gorodezky C. Genetic difference between Europeans and Indians: tissue and blood types. *Allergy Proc* 1992; 13(5): 243-50.

Correspondencia:

EBC. Julio César Martínez Álvarez

Laboratorio de Histocompatibilidad y HLA.

Banco Central de Sangre, CMN SXXI, IMSS.

Av. Cuauhtémoc Núm. 330 Col. Doctores, México D.F.

Tel. 5 627 69 00 Ext. 21727

E-mail: juliocesar_ma@yahoo.com.mx



Trabajo de revisión

Aféresis terapéutica en pediatría. Recambio plasmático terapéutico. Citaféresis

Medina-Macías ML,* Béjar-Ramírez YL,* Lordméndez-Jácome D*

Resumen

La aféresis terapéutica se ha intentado para situaciones en las cuales se presenta un anticuerpo patógeno o un complejo antígeno anticuerpo; es el caso de recambio plasmático terapéutico (RPT), o elementos celulares anormales en el caso de citaféresis. La mayoría de los esquemas de tratamiento incluyen recambios diarios de grandes volúmenes y por largos periodos. Esta intensidad de recambios no es necesaria para la remoción efectiva de sustancias patológicas. La eficiencia del RPT no siempre es predecible, a pesar de que la remoción del componente nocivo sea efectiva. Los efectos de la citaféresis terapéutica son un poco más predecibles, aunque tienden a ser de corta duración a menos que se les proporcione un tratamiento simultáneo.

Palabras clave: Recambio plasmático terapéutico (RPT), plasmaféresis, citaféresis.

Abstract

The therapeutic aphaeresis has been tried for many situations in which a pathogenic antibody or an antigen complex antibody; in the case of Therapeutic Plasma Exchange (TPE), or abnormal cellular elements in the case of cytapheeresis. Most of the treatment schemes they consist of daily spare parts of great volumes and by long periods. This intensity of spare parts is not necessary for the effective removal of pathological substances. The efficiency of the TPE not always is predictable although the removal of the injurious component is effective. The effects of the therapeutic cytapheeresis are a little more predictable, although they tend to be of short duration unless a simultaneous treatment is provided to them.

Key words: Therapeutic plasma exchange (TPE), plasmapheresis, cytapheeresis.

Introducción

Durante los últimos 30 años el interés por la aféresis terapéutica ha ido aumentando progresivamente y esto se debe fundamentalmente a los resultados satisfactorios de su aplica-

ción en distintas patologías y por supuesto, también a los avances tecnológicos en las máquinas de aféresis para realizar procedimientos con equipos más específicos para las diferentes patologías que además son seguros, rápidos y efectivos.¹

* Pediatra. Médico Especialista. Instituto Nacional de Pediatría.

El uso de la aféresis terapéutica en niños se ha limitado por dos razones.

- 1) La primera es la falta de indicaciones aceptadas universalmente y el programa de tratamiento. La aféresis no se ha considerado como una modalidad terapéutica de primera línea en pacientes pediátricos, incluso en enfermedades en las cuales su eficacia en adultos ha sido probada en estudios controlados o ensayos clínicos. La fisiopatología de una enfermedad en particular y la respuesta fisiológica pueden ser diferentes en niños.
- 2) La segunda razón es la dificultad técnica. Los equipos de aféresis fueron diseñados para adultos y no es posible para los operadores realizar procedimientos seguros en niños pequeños sin modificar el procedimiento. Además de la dificultad para obtener un acceso vascular adecuado.

Aspectos fisiológicos

Volumen intravascular. El factor más importante para que un procedimiento de aféresis sea seguro en un niño es mantener un volumen intravascular constante. El déficit de volumen o la sobrecarga de volumen durante el procedimiento pueden causar cambios hemodinámicos indeseables, especialmente en niños con problemas cardíacos, renales o hepáticos, y en pacientes con anemia o deshidratación. Los procedimientos de aféresis, en términos generales, requieren una pérdida temporal de sangre total en el sistema de aféresis, la cual inicialmente es una reducción súbita en el volumen del líquido intravascular y en la masa eritrocitaria circulante, sin muchos cambios en el espacio intersticial o en el compartimiento del líquido intracelular. Los efectos hemodinámicos de la pérdida súbita de sangre dependen primariamente

de la disminución de volumen, y del tamaño y condiciones clínicas del paciente. Cuando hay pérdida de volumen sanguíneo, la fracción de sangre perdida es mayor en un niño que en un adulto, y los efectos en el sistema circulatorio son mayores en un niño que en un adulto. Con una pérdida del 15% del volumen total de sangre (VST) en pacientes hemodinámicamente estables, normalmente no hay cambios en el rendimiento cardíaco ni en el consumo de oxígeno. Cuando la pérdida es mayor del 15%, los signos y síntomas de hipovolemia se empiezan a desarrollar para ajustar el rendimiento cardíaco y el tono vascular.

Volumen de glóbulos rojos. Mantener el volumen de glóbulos rojos (VGR) adecuado para proporcionar oxígeno a los tejidos es muy importante para la seguridad del procedimiento. Al inicio de la aféresis hay una pérdida temporal de la masa eritrocitaria, hasta que la sangre es reinfundida al paciente. Por ejemplo, un paciente de 10 kg de peso y un hematócrito de 30% podría disminuir precipitadamente a un hematócrito de 19%. En esta situación es necesario purgar el circuito o la línea de retorno con glóbulos rojos. Se debe considerar que una unidad de concentrado eritrocitario podría utilizarse para purgar el circuito en dos o más ocasiones utilizando un conector estéril para fraccionar el producto y así disminuir el número de donadores y productos sanguíneos al paciente.

El purgar el circuito con glóbulos rojos se recomienda en dos situaciones:

- 1) Cuando la disminución del volumen de glóbulos rojos sea mayor del 30% del volumen original de eritrocitos.
- 2) Cuando cualquier grado de reducción en el volumen de eritrocitos circulante sea perjudicial para el paciente ya sea por inestabilidad hemodinámica, en pacientes con

anemia o en pacientes con riesgo de isquemia orgánica.

Los niños con peso menor de 20 kg o menores de 5 ó 6 años requieren de este procedimiento

Acceso vascular

Un adecuado acceso vascular es un prerrequisito para todos los procedimientos de aféresis terapéutica. Los procedimientos de aféresis de flujo continuo requieren de dos accesos vasculares con agujas de calibre 18 o mayor para la línea de extracción y de calibre 22 para la línea de retorno. Las venas antecubitales pueden ser una opción para niños mayores y adolescentes. En el caso de lactantes y preescolares es necesario colocar un catéter venoso central de doble vía, los que deben ser rígidos ya que la velocidad de extracción es rápida durante el procedimiento de aféresis terapéutica. Los catéteres de hemodiálisis de doble lumen que se recomiendan son Med Comp, VasCath, Mahurkar, PermCath. En ocasiones, el catéter Hickman puede utilizarse como línea de retorno. El *cuadro I* muestra de acuerdo al peso del paciente el calibre del catéter mínimo necesario para realizar el procedimiento de aféresis terapéutica. Se pueden asociar complicaciones inherentes al catéter incluyendo infección o trombosis por lo que se debe valorar el riesgo-beneficio de la aféresis terapéutica.

Efectos adversos

Los procedimientos de aféresis terapéutica con frecuencia se realizan a pacientes críticamente enfermos y son relativamente seguros. Pero el personal del área de aféresis debe estar capacitado para reconocer los signos tempranos de las reacciones adver-

sas y manejar adecuadamente estas complicaciones.

Los efectos adversos ocurren en aproximadamente el 5% de los procedimientos de aféresis terapéutica, y se presentan más comúnmente en el primer procedimiento que en los procedimientos consecutivos, y más frecuentemente en los recambios de algún componente sanguíneo que en la recolección de células hematopoyéticas de sangre periférica. En orden descendente de frecuencia, los efectos adversos que pueden presentarse son reacciones transfusionales (1.6%); reacciones relacionadas con el citrato como náusea y/o vómito (1.2%); reacciones vasovagales como hipotensión (1%), náusea y/o vómito (0.5%), palidez y/o diaforesis (0.5%); taquicardia (0.4%); dificultad respiratoria (0.3%); relacionadas con el citrato tetania o convulsiones (0.2%); escalofríos o rigidez (0.2%). No se han reportado muertes por aféresis terapéutica; sólo 3 muertes fueron atribuidas a la enfermedad primaria.

La distracción de los pacientes puede ser muy útil para el manejo de estas complicaciones como la conversación, los videos, juegos, para desviar la atención de los niños y disminuir al mínimo su ansiedad.

Recambio plasmático terapéutico (RPT)

El término plasmaféresis (palabra proveniente del griego *apheresis*),² fue utilizado por pri-

Cuadro I. Guía para el tamaño del catéter.

Peso del paciente (kg)	Catéter venoso central de doble lumen
< 10	7 Fr
10-20	8 Fr
20-50	9-10.0 Fr
> 50	9-13.5 Fr

mera vez por Abel J.J. en 1914, al describir sus experimentos en animales para la obtención de antisueros. En la Segunda Guerra Mundial se utilizó para obtener plasma de donantes voluntarios, y es en la década de los 50 cuando se empleó por primera vez con fines terapéuticos para aliviar los síntomas de hiperviscosidad, plasmaféresis terapéutica o recambio plasmático terapéutico (RPT), utilizándose en el tratamiento del mieloma y de la macroglobulinemia de Waldenström. Posteriormente, en la década de los 70, el RPT se ha utilizado en una amplia variedad de enfermedades de naturaleza muy diversa (hematológicas, neurológicas, renales, pulmonares, etc.).

Actualmente, el recambio plasmático terapéutico ha tomado un rol importante en el tratamiento de algunas enfermedades, especialmente aquellas con patogénesis autoinmune. Además, el recambio plasmático debe practicarse como parte de un manejo multidisciplinario.

Definición

El RPT es la extracción de un volumen variable de plasma del paciente y su sustitución por una solución de reposición, ya sea plasma fresco o cualquier otra solución que mantenga el volumen y la presión oncótica del paciente. Su valor terapéutico estriba en eliminar determinadas sustancias patógenas o en aportar masivamente algún componente plasmático deficitario.³

Indicaciones

Desde la década de los 80 una serie de Organizaciones Oficiales ha tratado de establecer las indicaciones para realizar aféresis terapéutica, para lo cual han surgido diferentes publicaciones al respecto.

La última clasificación es del 2003 y fue realizada en conjunto por la Asociación Americana de Bancos de Sangre (AABB) y la Sociedad Americana de Aféresis (ASFA) en la cual se establecen las «Guías para el uso de la aféresis terapéutica» y se clasifican en cuatro categorías dependiendo de la eficacia demostrada en los procedimientos de aféresis terapéutica.⁴ Estas categorías son:

- *Categoría I:* Ampliamente demostrada y aceptada su eficacia. No implica un tratamiento mandatorio pero juega un papel muy importante o coadyuvante en el tratamiento. Existen suficientes ensayos clínicos controlados o significativas experiencias publicadas apoyando el uso de la plasmaféresis.
- *Categoría II:* La aféresis terapéutica es generalmente aceptada; sin embargo, es considerada como tratamiento de apoyo, en lugar de actuar como tratamiento de primera línea.
- *Categoría III:* Aún la experiencia es insuficiente para establecer su eficacia y la relación riesgo/beneficio no está todavía claramente demostrada. La aféresis terapéutica puede ser usada en estas condiciones en pacientes individuales en los que otros tratamientos convencionales han fracasado.
- *Categoría IV:* Los estudios disponibles y contrastados han demostrado carecer de eficacia terapéutica. La aféresis terapéutica en estas enfermedades no es eficaz y deberá realizarse bajo un protocolo de investigación.

Elección de la técnica

Actualmente existen diferentes procedimientos de aféresis cuyo objetivo es eliminar aquellas moléculas o inmunocomplejos que condicionan o perpetúan una enfermedad. Para la elec-

ción de la técnica debe considerarse lo siguiente:

- Tener una alta selectividad sobre la sustancia a extraer.
- Alta capacidad de extracción.
- Ser sencilla su aplicación.
- Mínimo o ningún efecto secundario.
- Tener evidencia clínica y bioquímica de su eficacia.

Fundamentalmente, al proponer uno u otro procedimiento se deberá tener en cuenta siempre las IV categorías que se encuentran en el cuadro II.

Cuando el plasma es removido, debe realizarse un reemplazo de volumen con una solución con adecuada actividad coloide (ej. Albúmina al 4-5%) y composiciones electrolíticas adecuadas; los niveles plasmáticos de otras proteínas también se reducen por la plasmaféresis, pero raramente se presentan efectos clínicamente significativos en la mayoría de los pacientes. En pacientes con deficiencias de factores de coagulación o inmunodeficiencias con frecuencia se requiere de plasma fresco congelado. Los pacientes con trombocitopenia pueden requerir transfusión de plaquetas al término del procedimiento. El uso de grandes volúmenes de productos sanguíneos frescos tiene como resultado una infusión sustancial de citrato de sodio y un riesgo significativo de hepatitis post transfusión.

Complicaciones

El recambio plasmático es un procedimiento relativamente seguro, pero bajo supervisión estricta por médicos y enfermeras experimentados.

Las potenciales complicaciones del recambio plasmático incluyen: desequilibrio hídrico, reacciones a los fluidos de reemplazo, re-

acciones vasovagales, reacciones febriles, hipotermia, embolismo (aire o microagregados), hipocalcemia, anemia, trombocitopenia, alteraciones hemostáticas, hipocalcemia, hepatitis, hipogammaglobulinemia, y alteraciones farmacocinéticas de medicamentos.⁵

Citaféresis

Plaquetaféresis terapéutica

La trombocitosis primaria ocurre en pacientes con síndromes mielodisplásicos tales como la trombocitosis esencial, policitemia rubra vera, leucemia mielógena crónica, y mielofibrosis. Secundariamente, o como una reacción, la trombocitosis implica una respuesta a algún evento clínico como la esplenectomía, hemorragia aguda, deficiencia de hierro, recuperación medular posterior a la mielosupresión, procesos malignos, a algunas enfermedades inflamatorias autoinmunes crónicas.

La plaquetaféresis terapéutica sirve con un solo propósito: remover las plaquetas del espacio intravascular y con esto mejorar el estado clínico del paciente.⁶

Leucoféresis terapéutica

Inicialmente se tenían algunos usos para la leucaféresis terapéutica en leucemias agudas y crónicas, especialmente para hiperleucocitosis.

Las indicaciones para la leucaféresis terapéutica son pocas, en el manejo de las leucemias. En general su uso está confinado a pacientes con evidencia clínica de hiperviscosidad y/o leucostasis o hiperleucocitosis con riesgo de presentar lisis tumoral. Estos pacientes deben monitorizarse, administrar altas dosis de corticosteroides, con previa hiperhidratación, durante y después del procedimiento. La hiperleucocitosis puede ser

Cuadro II. Indicaciones de la aféresis terapéutica, sus procedimientos y categorías de la Sociedad Americana de Aféresis (ASFA).

Enfermedades renales y metabólicas	Procedimiento	Categoría
Anti-membrana basal	PF	I
Glomerulonefritis rápidamente progresiva	PF	II
Síndrome urémico hemolítico	PF	III
Trasplante renal		
• Rechazo	PF	IV
• Presensibilización	PF	III
• Recurrencia de la glomerulonefritis focal	PF	III
Falla hepática aguda	PF	III
Hipercolesterolemia familiar	Absorción selectiva PF	I
	II	
Envenenamiento PF	III	
Enfermedad por almacenaje de ácido pitánico	PF	III
Enfermedades autoinmunes y reumáticas		
Crioglobulinemia	PF	II
PTI	IADS	II
Fenómeno de Raynaud	PF	III
Vasculitis	PF	III
Anemia hemolítica autoinmune	PF	III
	AIDS	II
Artritis reumatoide	Linfoplasmaféresis	II
	PF	IV
Esclerodermia/esclerosis sistémica progresiva	PF	III
Lupus eritematoso sistémico	PF	III
Enfermedades hematológicas		
Trasplante de médula ósea incompatible ABO	PF	II
Eritrocitosis/policitemia vera	Sangría	I
Leucocitos y trombocitosis	Citaféresis	I
PTT	PF	I
Púrpura postransfusional	PF	I
Drepanocitosis	I	
Eritrocitaféresis		
Síndrome de hiperviscosidad/mieloma	PF	II
Mieloma/falla renal aguda	PF	II
Inhibidores de los factores de la coagulación	PF	II
Anemia aplásica/aplasia pura de células rojas	PF	III
Linfoma cutáneo de células T	Fotoaféresis	I
	Leucocitaféresis	II
Enfermedad hemolítica del recién nacido	PF	III
Aloinmunización plaquetaria	PF	III
	IADS	III
Malaria/babesiosis	Eritrocitaféresis	III
Enfermedades neurológicas		
Polirradiculoneuropatía desmielinizante inflamatoria crónica	PF	I
Polirradiculoneuropatía desmielinizante inflamatoria aguda	PF	I
Síndrome miasténico de Lambert-Eaton	PF	
Esclerosis múltiple intermitente	PF	
Progresiva	PF	
Miastenia gravis	PF	I
Enfermedad desmielinizante inflamatoria del SNC	PF	II
Síndrome neurológico paraneoplásico	PF	III
	IADS	III

Cuadro II. (Continuación)

Enfermedades renales y metabólicas	Procedimiento	Categoría
Anti-membrana basal	PF	I
Polineuropatía desmielinizante con IgG/IgA	PF	I
	IADS	III
Corea de Sidenham	PF	II
Polineuropatía con IgM ($\pm$ Waldenström)	PF	II
	IADS	III
Crioglobulinemia con polineuropatía	PF	II
Mieloma múltiple con polineuropatía	PF	III
Síndrome de POEMS	PF	III
Amiloidosis sistémica	PF	IV
Polimiositis o dermatomiositis	PF	III
	Leucocitoaféresis	IV
Encefalitis de Rasmussen	PF	III
PANDAS	PF	II
Síndrome de Stiff-Man	PF	III

una emergencia médica no sólo por graves complicaciones sino porque se asocia con alteraciones metabólicas.

La citaféresis debe de iniciarse con precaución ya que puede agravarse el síndrome de leucostasis al activar con un circuito extracorpóreo las células mieloides y las plaquetas.⁷

Eritrocitaféresis

La eritrocitaféresis y/o recambio de eritrocitos se utiliza para remover el exceso de eritrocitos o aquellos que estén defectuosos en pacientes con enfermedades hematológicas, infecciosas o alteraciones metabólicas. La reducción de eritrocitos ha sido empleada para mejorar los síntomas atribuidos al incremento de la masa eritrocitaria en la policitemia vera o policitemia secundaria a cardiopatías congénitas cianógenas, y para reducir (almacenamiento) de hierro en la hemocromatosis.

La eritrocitaféresis en ocasiones es preferible a una simple flebotomía para los pacientes hemodinámicamente inestables porque los

eritrocitos pueden removerse rápidamente mientras simultáneamente se regresa el plasma autólogo con solución salina o con un coloide para mantener el volumen intravascular constante.

La aplicación más común de la eritrocitaféresis es en las enfermedades con defectos intrínsecos y extrínsecos de los eritrocitos para reemplazarlos con eritrocitos normales. Los defectos intrínsecos incluyen alteraciones de la hemoglobina, de la membrana eritrocitaria, o de las enzimas eritrocitarias. La indicación más común para el recambio de eritrocitos es el tratamiento de las complicaciones agudas o crónicas de la enfermedad de células falciformes. El recambio eritrocitario preoperatorio también ha tenido utilidad en pacientes con hemoglobina con afinidad anormalmente alta por el oxígeno como la hemoglobina de Rainier o Bryn Mawr, para prevenir la hipoxia tisular, complicaciones tromboembólicas y el incremento de la hemólisis durante la anestesia y reduciéndose la acumulación de hierro en un 44%. Así mismo, la eritrocitaféresis puede salvar la

vida de los pacientes con deficiencia de glucosa 6 fosfato deshidrogenasa ya que estos pacientes cursan con metahemoglobinemia refractaria.

La eritrocitaféresis también tiene importancia en el manejo de paludismo fulminante producido por falciparum malaria y en la babesiosis⁸ y en transfusiones incompatibles.

También se ha utilizado en la policitemia, hemocromatosis, en la cual se depletan los eritrocitos o el hierro con reposición de líquidos tales como la solución salina, soluciones coloides, o albúmina al 5%.⁹

Referencias

1. Isbister JP. Therapeutic Apheresis. Indian J Pediatr 2001; 68 (1): 61-7.
2. Gorlin JB. Therapeutic plasma exchange and cytapheresis in pediatric patients. Transfusion Science 1999; 21: 21-39.
3. Castellá CM. Recambio plasmático terapéutico: Sangre 1999; 44 (1): 76-9.
4. Smith JW, Weinstein R, Hillyer KL. Therapeutic apheresis: a summary of current indication categories endorsed by the AABB and the American Society for Apheresis: Transfusion 2003; 43: 820-2.
5. Reimann PM, Mason PD. Review articles. Plasmapheresis: technique and complications. Intensive Care Med 1990; 16: 3-10.
6. Hester J. Therapeutic cell depletion. In: McLeod BC, Price TH, Weinstein R, editors, Apheresis: Principles and Practice, 2nd Edition Bethesda, MD, 2003: 283-94.
7. McLeod B. Introduction to the third special issue: Clinical applications of therapeutic apheresis. J Clin Apheresis 2000; 15: 1-5.
8. Everson D, Perry E, Kloster B, Hurley R, Stroncek D. Therapeutic apheresis for babesiosis. J Clin Apheresis 1998; 13: 32-6.
9. Kim H. Therapeutic pediatric apheresis. J Clin Apheresis 2000; 15: 129-57.

Correspondencia:

Dr. Medina-Macías ML
Rancho Seco Núm. 123
Fraccionamiento Santa Cecilia 04930
México, D.F.
Tel/Fax 56 71 11 94
Fetca@prodigy.net.mx

www.medigraphic.com

Trabajo de revisión

Alternativas de la transfusión

Héctor Rodríguez Moyado*

Resumen

La identificación de las enfermedades virales transmitidas por la transfusión, el temor a ser contaminado por éstos y las dificultades específicas en algunos pacientes para contar oportunamente con sangre compatible, ha impulsado el empleo de recursos alternativos para sustituir o limitar el empleo de sangre. En el paciente crítico, se requiere corrección en breve tiempo, de la hipovolemia o de las alteraciones clínicas que pueden significar un riesgo por hemorragia o por hipoxia grave. Recursos como el empleo de las soluciones cristaloideas y coloidales, pueden emplearse con éxito, como medidas iniciales de reanimación en el paciente hipovolémico; la transfusión de paquetes de glóbulos rojos alogénicos, es necesaria según la evolución del paciente. Hay otros recursos alternativos en transfusión, como la autodonación de la sangre, la cual no ha significado más del 5% de las transfusiones. La hemodilución preoperatoria, el rescate de la sangre y el uso de fármacos pro-coagulantes, se han empleado para reducir la necesidad de transfusión alogénica trans-operatoria. Por varios años, se ha investigado la obtención de transportadores de O_2 que sustituyan a los glóbulos rojos, como los compuestos de flouro-carbono y las soluciones de hemoglobina humana y de origen bovino, sin que a la fecha se cuente con alguno que opere. En cambio, se cuenta ya con productos pro-coagulantes de tecnología recombinante de ácidos nucleicos como el factor VIII y el factor VII activado.

Palabras clave: Transfusión, alternativas, expansores del plasma, sangre artificial, hemodilución preoperatoria, rescate de la sangre, eritropoyetina, procoagulantes.

Abstract

Identification of virus transfusion transmitted (as HIV) and fear of been contaminated, sometimes alloimmunization and other clinical situations interfering with the selection of compatible blood, has been factors to the development of transfusion alternatives. In critical patients, hypovolemia, clinical troubles, can raise hypoxic severe anemia or bleeding tendency. Alternative procedures as crystalloid and colloid solutions can be helpfull as emergency resuscitation measures in hypovolemic patients. Allogenic red cell transfusion, is always mandatory according with clinical conditions. Other transfusion alternatives as autologous blood transfusion, has never represented more than 5% of transfused blood. Preoperative hemodilution, postoperative salvage blood, procoagulant drugs and erythropoietin are other alternatives used in order to reduce allogenic blood transfusion. blood substitutes (oxigen carriers) as fluorocarbons and hemoglobin solutions (human or bovine) are still in experimental fase. Human recombinant erythropoietin is an effective alternative in renal insufficiency anemia, avoiding allogenic transfusion. Finally there are factor VIII and VIIa recombinants nucleic acid products, usefull in hemophilia.

Key words: Transfusion, alternatives, plasma expanders, artificial blood, preoperative hemodilution, blood salvage, erythropoietin, procoagulants.

* Hematólogo Certificado por el Consejo Mexicano de Hematología.
Miembro Honorario de la Asociación Mexicana de Medicina Transfusional, A.C.

Alternativas de la transfusión

El progreso en identificar las necesidades clínicas de la sangre y las dificultades que algunas veces se presentan para contar oportunamente con la sangre compatible así como el temor a la contaminación de enfermedades transmisibles y otros aspectos relacionados con el rechazo a recibir la transfusión por algunos enfermos, ha impulsado la aplicación de diversos recursos para satisfacer las necesidades creadas por estos planteamientos.

La transfusión rápida y oportuna en pacientes críticos, que sufrían de hemorragia aguda cuantiosa e hipovolemia,¹ definió la necesidad de la transfusión de líquidos como las soluciones cristaloides y las macromoleculares para restituir de inicio el volumen sanguíneo perdido (medida de reanimación inmediata).

La restauración temprana del volumen sanguíneo, la reversión de la acidosis y el control de los trastornos metabólicos, pueden normalizar la presión arterial (PA) y el volumen cardíaco de eyección. El retraso en la iniciación del tratamiento puede ser fatal.²

Las características de las soluciones cristaloides favorecen la restitución inmediata del volumen sanguíneo sin embargo, al difundirse al espacio extravascular, obligan al empleo de líquidos que tengan permanencia más prolongada en el espacio intravascular, como las soluciones coloidales de albúmina humana o los compuestos macromoleculares. La reacción natural del organismo ante la pérdida cuantiosa de volumen sanguíneo es el retener los líquidos intra y extravascular, por ello la administración parenteral de soluciones cristaloides debe limitarse³ y continuar con soluciones coloidales como las de albúmina o los compuestos macromoleculares (dextrana, almidón hidroxietilado y gelatina). En los pacientes de edad avanzada, con función limitada cardíaca o renal, se debe evitar la infusión

masiva de solución salina fisiológica, así como la infusión rápida de albúmina al 25% debido a que pueden propiciar la descompensación cardíaca.³

Las soluciones macromoleculares que han sido empleadas son: Gelatina, la dextrana y el almidón hidroxietilado; la de Gelatina se emplea en soluciones de 3 a 6%, la Dextrana en soluciones con polímeros de 70,000 de peso molecular y las soluciones de almidón de peso molecular entre 200 y 450.⁴ Estas características favorecen su retención en el espacio intravascular y su papel como expansores del volumen plasmático se prolonga por más de 6 horas (*Cuadro I*).

Un recurso que se ha utilizado en pacientes que ingresan a salas de emergencia por traumatismo severo y en los casos de militares heridos de guerra es el empleo de solución salina hipertónica (solución de NaCl al 7%), cuya finalidad es aumentar rápidamente el volumen circulante a partir del espacio intracelular. Se afirma que produce mejoría del volumen cardíaco de eyección, de la presión arterial, del equilibrio ácido básico y del flujo urinario durante pocas horas. Además actúa disminuyendo la presión intracraneal en pacientes con trauma encefálico.²

Las soluciones macromoleculares pueden afectar el mecanismo de coagulación al prolongar las pruebas de tiempo de protrombina y tiempo de tromboplastina parcial activada; la dextrana se ha reportado que interfiere en las pruebas de compatibilidad pre-transfusional de la sangre; el almidón se deposita en los tejidos, aunque no se ha reportado efecto nocivo, no es recomendable su uso prolongado, en tanto permanece en circulación por tiempo prolongado.⁴

La expansión del volumen plasmático guarda relación con el peso molecular de la dextrana. El dextrán 40 (PM 40 kDa) se emplea en soluciones al 10%, otras al 6%. La infusión

de un volumen equivalente al 22% del volumen plasmático produce aumento inmediato equivalente al 35%.² El dextrán 40 está contraindicado como expansor del volumen plasmático en el tratamiento del choque porque puede obstruir los túbulos renales (Fest. G mencionado en (2)). Las soluciones de dextrana pueden producir reacciones alérgicas (22 en 100,000).²

Las soluciones de albúmina mantienen su utilidad como sustitutos en técnicas de hemaféresis y de hemodilución.

Otros recursos alternativos de la transfusión son las soluciones de hemoglobina y las emulsiones de perfluoro carbono, que se han ensayado desde los decenios 80's y 90's del siglo XX. A pesar de ello, no hay actualmente productos aprobados para su empleo clínico en EUA o Europa. Las soluciones de perfluoro carbono aún se experimentan y ya se han empleado en estudios de fase III con resultados aparentemente buenos que necesitan de estudios de mayor número de pacientes.²

Otros recursos alternativos de la transfusión son:

- Autodonación de la sangre
- La hemodilución pre-operatoria
- El rescate de la sangre del lecho quirúrgico o la recolectada en el post-operatorio
- El uso de fármacos pro-coagulantes durante la cirugía
- El estímulo pre-operatorio de la eritropoyesis con eritropoyetina recombinante

- El empleo de sangre artificial
- Empleo de concentrados pro-coagulantes del plasma: FIX y FVIIa
- Utilización de cemento hemostático

La autodonación de la sangre

Se activó en razón de evitar los riesgos de contaminación de enfermedades transmisibles y el de incompatibilidad; este procedimiento se ha impulsado en varias partes del mundo.⁵⁻⁸ Requiere de una metodología administrativa rigurosa para evitar el desvío de la sangre de un paciente específico (autodonador) para ser empleada en otro. Recientemente se ha valorado su operación y se ha demostrado que el costo del proceso de administración es mayor que para el de la sangre alogénica y que no en todos los casos se requiere la sangre auto-donada.⁶ Los riesgos que este tipo de transfusión están en relación con la condición clínica del paciente, esto significa que puede ingresar al quirófano con cierto grado de anemia que en algunos casos puede ser motivo de transfusión no sólo de la sangre autóloga sino de sangre alogénica.⁶ Hay otros riesgos inherentes, como por ejemplo, la transfusión innecesaria de la sangre auto-donada que puede producir un fenómeno de sobrecarga del volumen sanguíneo.⁶ Su empleo, ha permanecido bajo en relación con el de la sangre alogénica (*Cuadro II*).

Cuadro I. Características de algunas soluciones macromoleculares empleadas como sustitutos de la sangre en situaciones de urgencia.²

Líquido	Ubicación	Osmolaridad (mOSM/L)	pH	Sodio meq/L	Potasio meq/L
Oxipoligelatin (4%)	Intravascular	200	7.4	155	0
Dextrán 70 (6%)	Intravascular	310	3-7	154	0
Almidón H (6%)	Intravascular	310	5.5	154	0
Albúmina (5%)	Intravascular	309	6.4-7.4	130-160	< 1
Albúmina (25%)	Intravascular	312	6.4-7.4	130-160	< 1

La hemodilución preoperatoria

Ha sido considerada como un procedimiento útil que abate la necesidad de transfusión alogénica y los riesgos que ésta implica. El procedimiento tiene también posibilidad de efectos nocivos, se ha reportado un caso en el que el paciente mayor de 60 años, durante la extracción pre-operatoria de la sangre, ha tenido alteraciones electrocardiográficas de isquemia.⁵ La extracción de la sangre debe ser cuidadosamente vigilada y en el caso de encontrar taquicardia, que no mejora mediante interrupción del procedimiento en un lapso de 5 minutos debe interrumpirse.⁵ La hemodilución pre-operatoria ha sido propuesta como alternativa en los pacientes Testigos de Jehová que rechazan la transfusión alogénica.⁹

El rescate de la sangre del lecho quirúrgico o la recolectada en el postoperatorio

Este procedimiento dirigido también a evitar la transfusión alogénica, es muy empleado en países desarrollados.^{10,11} En algunos trabajos se informa que se puede reducir la transfusión alogénica hasta en un 19%.¹⁰ Se ha criticado el procedimiento de rescate, en tanto el volumen obtenido puede ser escaso (200 mL) equivalente a menos de una unidad de PGR, por lo tanto de utilidad limitada.¹¹ Los efectos nocivos secundarios pueden ser graves como consecuencia de contaminantes liberados en

el lecho quirúrgico.¹² Actualmente su uso prevalece en el post-operatorio y, aunque se han empleado equipos que sólo filtran la sangre rescatada con buenos resultados,¹⁰ hay autores que recomiendan emplear sólo equipos que filtran y lavan los GR rescatados.¹²

El uso de fármacos procoagulantes durante la cirugía

La aprotinina, el ácido épsilon aminocaproico (EACA) y el ácido tranexámico han sido los fármacos más utilizados. Con ellos se ha logrado reducir las necesidades de transfusión alogénica en el trans-operatorio hasta en un 30%. La aprotinina es una proteasa que actúa sobre los factores de coagulación, el EACA y el ácido tranexámico inhiben la acción del plasminógeno; el segundo es 10 veces más activo. Se han reportado en algunos trabajos accidentes por infarto del miocardio y en algunos casos insuficiencia renal, no hay evidencia de que esto sea una complicación atribuible a estos agentes.^{13,14}

El estímulo preoperatorio de la eritropoyesis con eritropoyetina recombinante

Han sido sintetizados varios compuestos, la alfa y la beta eritropoyetina, ambos productos han sido ensayados en pacientes con eritropoyesis insuficiente, con resultados exitosos como en los pacientes con insuficiencia renal crónica. El producto se ha usado en niños prematuros, en pacientes con

Cuadro II. Evaluación de la recolección de unidades de sangre alogénica (SA) y autóloga preoperatoria (AP). En Sevilla, España (1994-2004).⁸

Donación	1994	1997	2001	2004
SA	1,254,790	1,389,260	1,503,870	1,608,100
AP	15,123	27,949	22,451	24,390
Relación % AP:SA	1.2	2.01	1.52	1.52

cáncer, en el pre-operatorio de algunos tipos de cirugía ortopédica, en pacientes con cáncer y en pacientes en recuperación de trasplante de células progenitoras hematopoyéticas.^{15,16} La FDA ha dado un aviso de alerta porque en varios de estos pacientes disminuye su sobre-vivencia y pueden tener fenómenos de trombosis venosa.¹⁷

La necesidad de transfusión alogénica perioperatoria, obliga a prevenir su empleo y para ello se ha utilizado el estímulo de la eritropoyesis en el pre-operatorio en pacientes con niveles < 13 g Hb/dL con buenos resultados,¹⁸ esto requiere confirmación y denota la necesidad de un diagnóstico de la etiología de la anemia en el pre-operatorio.

El empleo de sangre artificial

La observación de que los compuestos fluorados son capaces de transportar oxígeno inició el planteamiento de usar productos sustitutos de la hemoglobina en el transporte del oxígeno; esto también ha originado la búsqueda del producto ideal y en los últimos años se ha estado ensayando hemoglobina de origen animal con resultados mínimos o transitorios, insuficientes para sustituir la eficiencia que la sangre tiene.¹⁹

De las soluciones de hemoglobina se ha reportado un estudio de fase III en 720 pacientes traumatizados con el producto PolyHeme. (Northfield Laboratories, Inc., Evanston, IL, EUA), según sus productores con resultados no inferiores a la transfusión.¹⁹

Empleo de concentrados procoagulantes del plasma

Actitud extrema actual es el empleo del factor VIIa activado en casos de cirugía con alto riesgo de sangrado abundante. Aún hay poca experiencia en esta actitud, aunque es conveniente mencionar que se ha reportado el ries-

go de trombosis después de su aplicación en soldados heridos en la guerra en Irak.²⁰

Cemento hemostático

Se obtiene del crio-precipitado por descongelación del plasma fresco; es útil incluso en cirugía mayor.²¹

La conducta clínica fomentada actualmente es la de abatir el empleo de la transfusión alogénica en razón de que se ha reportado mayor morbilidad y mortalidad en pacientes sometidos a cirugía cardiovascular y ortopédica y en pacientes atendidos en las unidades de cuidados intensivos, cuando son transfundidos con paquetes de glóbulos rojos.²²

Conclusiones

El concepto de alternativas de la transfusión es amplio y complejo y se está aplicando actualmente en base a los procedimientos y recursos mencionados, esto es:

- Soluciones cristaloides y macromoleculares como medida inicial de reanimación de pacientes con hipovolemia por sangrado.
- Empleo de la hemodilución preoperatoria para abatir el uso de sangre alogénica y para tener el beneficio de la hemodilución que favorece la oxigenación tisular y abate el riesgo de trombosis postoperatoria.
- Aplicación del rescate celular en el post-operatorio, que reduce la proporción de necesidad de sangre alogénica.
- Empleo de fármacos procoagulantes para evitar el exceso de sangrado transoperatorio.
- Empleo de eritropoyetina en pacientes con insuficiencia renal crónica, siguiendo las medidas de alerta de la FDA (que incluyen la no indicación en pacientes con cáncer).
- En el caso del empleo del FVIIa como medida última para cohibir la hemorragia cuantiosa debe tomarse en cuenta el riesgo de trombosis mortal.

Referencias

1. Moulton JNY, Hardy X. Central venous pressure and its effects on blood loss during liver resection.
2. Harvey GK, Anstee DJ. Mollison 's blood transfusion in clinical medicine. Eleventh Edition Blackwell Publishing 2005 UK.
3. James M. Volume expanders: Crystalloids vs Plasma colloids vs Synthetic colloids. ISBT Science Series (2006) 1, 52-58. XXIXth Congress of the ISBT, September 2006 Cape Town, South Africa.
4. Strauss PG. All Formulations of Hydroxyethyl Starch are not the same. Letters to the editor. Transfusion 2007; 47: 1329-1330.
5. Segal JB, Guallar E, Powe NR. Autologous blood transfusion in the United States: clinical and non clinical determinants of use. Transfusion 2001; 41: 1539-1547.
6. Brecher ME. The rise and fall of preoperative autologous blood donation. Transfusion 2001; 41: 1459-1462.
7. Cresswell SC, Wells AW, Whitehead and Seara B. Preoperative autologous deposit – why does it go wrong? XXI Annual Scientific Meeting British Blood Transfusion Society. Manchester UK. 2-5 October 2003. Transfusion Medicine 2003; 13: 45- P73.
8. García-Erce JA, Muñoz-Gómez M, Cuenca-Esprérez J, Leal-Navas SR, Giralto-Raichs M. Autologous blood donation in Spain (1994-2004). Abstracts of the XVIIth Regional Congress of the ISBT, Europe. June 23-27, 2007. Madrid Spain. Vox Sanguinis 2007; 93, Suppl 1: 226 (P 453).
9. Shander A, Ryhwaní TS. Acute normovolemic hemodilution. Transfusion 2004; 44: December Suppl 26S.
10. Munen AFCM, Knoors NT, van Os J, Vesburg AD, Pilot P. Re-transfusion of filtered shed blood in primary total hip and knee arthroplasty a prospective randomized clinical trial. Transfusion 2007; 47: 397-384.
11. Waters JH, Dyga RM. Postoperative blood salvage outside the controlled world of the blood bank. Transfusion 2007; 47: 362-365.
12. Hansen E, Pawlik M. Reasons against the retransfusion of unwashed wound blood. Transfusion 2004; 44: 45S-53S.
13. Levy JH. Hemostatic agents. Transfusion 2004; 44: 58S-62S.
14. Ickx BE, van der Linden PJ, Melot C, Wijns W, de Pauw L, Vandestat J, Hut F, Pradier O. Comparison of the effects of aprotinin and tranexamic acid on blood loss and red blood cell transfusion requirements during the late stages of liver transplantation. Transfusion 2006; 46: 595-605.
15. Laird J. Erythropoietin: can we afford to use it? can we afford not to? Transfusion Medicine 2006; 16: 204-205.
16. Fox SP, Pacey EP, Das-Gupta EP, Russell NH, Byrne JL. Low dose erythropoietin is effective in reducing transfusion requirements following allogeneic HSCT. Transfusion Medicine 2005; 15: 475-480.
17. FDA Information for Healthcare Professionals. Erythropoiesis Stimulant Agents (ESA). FDA Alert (11/16/2006), Updated 2/16/2007 and 3/09/2007.
18. García-Erce JA, Cuenca J, Muñoz M, Izuel M, Martínez AA, Herrera A et al. Perioperative stimulation of erythropoiesis with intravenous iron and erythropoietin reduces transfusion requirements in patients with hip fracture. A prospective observational study. Vox Sanguinis 2005; 88: 235-243.
19. Winslow RM. Current status of oxygen carriers (blood substitutes) Vox Sanguinis 2006; 91: 102-110.
20. O'Connel KA, Wood JJ, Wise RP et al. Thromboembolic adverse events after use of recombinant human coagulation factor VIIa. JAMA 2006; 295: 293-298.
21. Kinoshita Y, Udagawa H, Tsutiami K, Useno M, Nakamura T, Isaka T et al. Bacteriological study of autologous cryoprecipitate derived fibrin glue as operative sealant. Transfusion Medicine 2004; 15: 429-433.
22. Hébert PC, Wells G, Blajchman MA, Marshall J, Martín C, Pagliarello G et al. A multicenter randomized, controlled clinical trial of transfusion requirement in critical care. New Engl J Med 1999; 340: 409-417.

Correspondencia:
Dr. Héctor Rodríguez Moyado
 Irlanda Núm. 86
 Col. Parque San Andrés
 Coyoacán, 04040
 México, D.F.
 Tel.: 5544 5709
 E-mail: elisahec@prodigy.net.mx



Ensayo

Virus de inmunodeficiencia humana y control de calidad en serología

Elizabeth Guzmán Vázquez*

Introducción: Se ha observado que a consecuencia de las transfusiones sanguíneas, se pueden transmitir diferentes enfermedades, lo cual en la actualidad, y a pesar de las medidas establecidas, sigue representando un problema de salud pública. Entre tales enfermedades resaltan el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), el virus de la hepatitis B (VHB), el virus de la hepatitis C (VHC) y otros. Por esta razón, antes de transfundir los hemocomponentes sanguíneos se deben someter a un estudio previo de pruebas serológicas como lo indica la Norma Oficial Mexicana que rige a los bancos de sangre del país (NOM-003). Una vez siendo negativos estos estudios se puede hacer uso de los diferentes hemocomponentes.¹⁻³ En 1981, el Instituto Pasteur de Francia y el Centro de Control de Enfermedades (CDC) de Atlanta se dedican a investigar quién es el agente causal de la enfermedad. En 1983 fue declarado el SIDA como una enfermedad causada por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH).⁴

Estructura del virión: Es la partícula infectante del VIH, difiere en su estructura de los retrovirus previamente conocidos, mide unos 120 nm de diámetro y es aproximadamente esférico. Su genoma se basa físicamente en

dos copias de ARN monocatenario positivo (su secuencia es como la del ARN mensajero correspondiente) cubiertas por proteínas que forman la nucleocápside y encerradas de una cápside troncocónica, ésta rodeada a su vez por una envoltura de bicapa lipídica tomada de la membrana plasmática de la célula huésped, pero conteniendo proteínas propias. Dentro de la envoltura hay también enzimas propias del virus, incluidas una transcriptasa inversa, una integrasa (dentro de la cápside) y una proteasa. La primera es necesaria para la retrotranscripción, la síntesis de ADN tomando el ARN vírico como molde y la segunda para que el ADN fabricado se integre en el genoma humano convirtiéndose en provirus.

Genoma: El genoma del VIH-1, está integrado en el ADN del huésped, el *provirus*, mide 9.8 kpb (9,800 pares de *nucleótidos*). Ambos extremos aparecen flanqueados por secuencias repetitivas (LTR, por *long terminal repeats*), contiene 9 genes. Tres de ellos codifican para proteínas estructurales comunes a todos los retrovirus (los genes *gag*, *pol* y *env*), siendo los seis restantes genes no estructurales, que codifican para dos proteínas reguladoras (genes *tat* y *rev*) y cuatro para proteínas accesorias (genes *vpu*, *vpr*, *vif* y *nef*). El genoma del

* Coordinador del Sistema en Calidad, Banco de Sangre del Instituto Nacional de Cancerología, México, D.F.

VIH-2 es algo más largo (10.3 kpb) y le falta el gen *vpu*, presentando en su lugar otro llamado *vpx*.^{5,6}

Transmisión: Hasta el momento, sólo se han demostrado y documentado tres formas:

- **Sexual** (Acto sexual sin protección).
- **Parenteral** (por sangre, tatuaje, agujas contaminadas, etc.).
- **Vertical** (de madre a hijo).

Ciclo de replicación del VIH

Las células que el VIH invade son esencialmente los linfocitos T CD4+, pero también en menor medida los monocitos/macrófagos, las células dendríticas, las células de Langerhans y las células de microglia del cerebro. La replicación viral tiene pues lugar en tejidos diversos (de ganglios linfáticos, intestino, cerebro, timo). Los órganos linfoides, sobre todo los ganglios linfáticos, constituyen la principal sede de su replicación. El virus está presente en numerosos líquidos del organismo, en particular la sangre y las secreciones genitales.⁶

La búsqueda de anticuerpos (Ac) en muestras de suero es el método más comúnmente empleado para el diagnóstico de laboratorio de la infección por VIH. Las pruebas están basadas en distintos principios técnicos que han ido evolucionando con el tiempo, la experiencia adquirida y las recomendaciones nacionales e internacionales. A pesar de los avances logrados en el desarrollo de estas pruebas, se siguen produciendo casos de falsos positivos y, con menor frecuencia, falsos negativos. La importancia de estos errores es obvia, pudiendo provocar situaciones que generan ansiedad en los pacientes y desconcierto en los profesionales encargados de dicho diagnóstico.

Los laboratorios que realicen el diagnóstico de los Ac anti-VIH en suero deben observar

normas de bioseguridad. Todas las muestras deberán considerarse como potencialmente infecciosas. Esto supone trabajar con guantes en todos los procesos, pipeteado mecánico, utilización de contenedores de seguridad biológica para los desechos, así como la observación de aquellas normas y precauciones consideradas como buenas prácticas de laboratorio.

Los sueros se deben recoger en la forma habitual y evitar mantenerlos más de 24 horas (h) a temperatura ambiente. Para minimizar las contaminaciones microbianas que podrían alterar las muestras, se recomienda usar tubos estériles y no conservarlos a +4°C más allá de 72 h, sobre todo si las muestras van a ser utilizadas para detectar antígeno (Ag) p24 u otros componentes estructurales. Es importante considerar que la fase pre-examen es fundamental y que casi el 50% de errores en resultados finales se deben a esta fase; además hay que recordar que se requiere del consentimiento informado de la persona para realizar la prueba de diagnóstico de VIH. Estas condiciones son el primer paso para evitar errores en la ejecución de la fase examen, en la cual se debe considerar la validación de la técnica, así como el uso de controles internos y externos para tener parámetros de validación de la misma, así como en la fase post-examen la validación de los resultados obtenidos para concluir con la emisión y entrega de resultados.

¿Cuál es el rol del banco de sangre en la realización de las pruebas de detección de Ac anti-VIH?

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha definido cuáles son los objetivos de las pruebas de tamizaje (detección de Ac):

- Seguridad biológica (tamizaje de donadores de sangre, órganos, etc.)
- Diagnóstico de la infección
- Vigilancia seroepidemiológica
- Investigación

De acuerdo al giro que se tenga del laboratorio será la elección de la prueba diagnóstica a utilizar, entendiéndose por prueba diagnóstica la que se emplea de forma individualizada en el suero de una persona bajo los principios clínicos del consentimiento informado, sirviendo para detectar o descartar la infección por este virus. Cuando el uso es para seguridad biológica se denominan pruebas de detección de Ac. anti-VIH. Indistintamente, la prueba de detección de Ac es la primera de tamiz utilizada para el VIH.

Características de las pruebas: La sensibilidad y especificidad son los parámetros más importantes para valorar una prueba, y en la clínica es muy importante el valor predictivo positivo (VPP) y el valor predictivo negativo (VPN). En la actualidad, estas pruebas han alcanzado una sensibilidad del 99%, considerando no tener el 100% por la seroconversión que ocurre en un lapso de 2 a 4 semanas en la mayoría de los casos y hasta varios meses en algunos, considerando el periodo de ventana, además de recordar que pueden haber individuos infectados que son seronegativos debido a causas orgánicas o defectos inmunes (falso negativo). Cuando aumentamos la sensibilidad en la mayoría de las pruebas estamos sacrificando la disminución de la especificidad (aumentando los falsos positivos).⁷

La evolución misma en la investigación nos lleva a evolucionar también en las técnicas teniendo en el mercado pruebas con la sensibilidad y especificidad casi del 99%, además

de ofrecer la detección de anticuerpos frente a tipos y subtipos del VIH que escapaban a los equipos de diagnóstico habituales.

Técnica	Antígeno
EIA 1ª generación	Lisado viral VIH-1
EIA 2ª generación	Péptidos recombinantes/sintéticos de VIH-1 y VIH-2
EIA/ELFA 3ª generación	Péptidos recombinantes/sintéticos de VIH-1 y VIH-2 y antígeno VIH-1 del grupo O (outlayer o marginal)
EIA/ELFA 4ª generación	Péptidos recombinantes/sintéticos de VIH-1 y VIH-2 y VIH-1 «O», y anticuerpos para detectar el antígeno p24

El principio técnico de estas pruebas en su gran mayoría son las distintas modalidades del enzoinmunoanálisis (EIA), sufriendo variaciones tecnológicas, siendo una de ellas la utilización de sustratos fluorescentes, quienes han dado lugar a las pruebas denominadas ELFA (enzyme-linked fluorescent assay), y lo último ha sido la detección simultánea del Ag p24 y de Acs acortando el periodo de ventana.⁶⁻⁸

La historia de la infección por VIH hace necesaria la confirmación de los resultados positivos obtenidos en las pruebas de detección de Ac, siendo inexcusable en el caso de utilidad como prueba diagnóstica. Existen diferentes pruebas confirmatorias entre las que se pueden mencionar las de inmunoelectrotransferencia o western blot (WB), inmunofluorescencia indirecta (IFI e inmunoblot con Ag recombinantes (LIA), siendo la más utilizada el WB, considerada el estándar de confirmación de la presencia de Ac anti-VIH.

El WB contiene los antígenos del propio VIH, algunas de sus proteínas precursoras y antígenos de origen celular. Existen sistemas que incorporan en un extremo diferenciado de la tira un péptido sintético específico del VIH-2 (gp36), que facilita la sospecha de la infección por el VIH-2 en aquellos WB indeterminados para el VIH-1. Las tiras de nitrocelulosa pueden contener proteínas de la célula huésped en la que se ha cultivado el virus. Frecuentemente se observan bandas de reactividad contra di-

chas proteínas, de ahí la necesidad de adiestramiento en la lectura e interpretación de las bandas de origen viral. Es muy conveniente adoptar una disciplina metodológica en la lectura e interpretación de bandas, que deberá ser uniforme y sistematizada para cada laboratorio. Así se debe considerar la identificación y valoración específica de las bandas virales de reactividad, la anotación individual de cada muestra, los criterios establecidos de positividad y la emisión del resultado e informe.⁹

Causas de falsos positivos en las pruebas de detección de Ac ANTI-VIH

Relacionados a suero	Relacionados a auto-Ac	Relacionados a otras causas
Congelaciones y descongelaciones repetidas de suero	Personas con anticuerpos anti-HLA-DR4, DQw3	Síndrome de Stevens-Johnson
Aspecto lipídico o turbio del suero	Enfermedades reumatoides	Suero postvacunados (gripe hepatitis B)
Contaminación microbiana	Lupus eritematoso, poliomasitis	Administración de inmunoglobulinas
Errores de extracción o identificación	Multitransfundidos, trasplante renal	Enfermedad hepática alcohólica grave
Conservación inadecuada	Múltiparas	Infecciones agudas por virus DNA

Causas de falsos negativos

Periodo ventana que precede a la aparición de anticuerpos.	Transplante de médula ósea.
Tratamiento de inmunosupresores prolongado.	Disfunciones de los linfocitos B.
Plasmaféresis, exanguinotransfusión.	Infecciones por tipos de VIH no detectables.
Respuestas anómalas ante la infección	Errores de identificación.
Falla técnica o en el reactivo diagnóstico.	Neoplasias.

Este tipo de causas genera alarma cuando el objetivo en la determinación de Ac anti-VIH es la seguridad biológica (bancos de sangre, donaciones de órganos), motivo por el cual en algunos países ya se están adoptando las técnicas de EIA/ELFA de 4ª generación, con el fin de reducir el periodo de ventana. Además pueden presentarse situaciones clínicas que obliguen al seguimiento serológico del paciente durante algún tiempo y/o a la utilización de otros marcadores serológicos de la infección por el VIH (antígeno p24, anticuerpos anti-p24), si no se dispone de técnicas sensibles de biología molecular (PCR). A pesar de la sensibilidad de estas pruebas, el diagnóstico definitivo deberá confirmarse en suero una vez se produzca la seroconversión; por eso es altamente recomendable la adopción de pruebas de 4ª generación.¹⁰

Referencias

1. Smith DM, Dodal RY. Transfusion transmitted infections. American Society of Clinical Pathology. Chicago USA 1991: 53-65.
2. Ennio CR, Tobi IS, Moss SG. Principles of transfusion Medicine. 2nd edition. Williams & Wilkins, USA Baltimore 1991.
3. Norma Oficial Mexicana NOM-003-SSA2-1993. Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos. Secretaría de Salud. Diario Oficial. Julio 1994.
4. Gallo RC, Montagnier L. AIDS in 1988. Journal Scientific American 1988; 259: 24-32.
5. ABBOTT Científica, S.A. Retrovirus División Diagnósticos. 1993 1-95.
6. Clinical virology manual, Steven Specter, Third Edition, ASM PRESS. 2000. Cap. 9, 37.
7. Anónimo. World Health Organization. Global Programme on AIDS. Recommendations for the selection and use of HIV antibody test. Weekly Epidemiol Record 1992; 67: 145-52.
8. Hammer S, Crumpacker C, D'Aquila R, Jackson B, Lathey J, Livnat D, Reichelderfer P. Use of virological assays for detection of human immunodeficiency virus in clinical trials: recommendations of AIDS Clinical Trials Group Virology Committee. J Clin Microb 1993; 31: 2557-64.
9. Anónimo. World Health Organization. AIDS. Proposed WHO criteria for interpreting results from western blot assays for HIV-1, HIV-2 and HTLV-I/HTLV-II. Weekly Epidemiol Record 1990; 65: 281-3.
10. Kenny DF, Garsia RJ, Gatenby PA, Basten A. Identification of biological false positives in anti-HIV antibody tests. AIDS 1987; 1: 63-4.

Correspondencia:

QFB Elizabeth Guzmán Vázquez
Instituto Nacional de Cancerología
Av. San Fernando #22
Col. Sección16 Tlalpan CP. 14080
Tel: 56 28 04 00 Ext.344
E-mail: lisguzvaz@yahoo.com.mx



Carta de la editora para los socios de la AMMTAC

Nos complace tener el honor de poder darles la bienvenida al lanzamiento de esta revista y por ello comentarles que para nosotros es primordial el transmitir conocimientos con calidad, por lo que deben someterse a un estudio editorial y científico de revisión, a fin de depurarlos adecuadamente para su publicación. De esta forma, ustedes lograrán consumir sus esfuerzos académicos.

Puesto que la revisión de los artículos lleva tiempo, ya que se tienen que cubrir varias fases antes de la edición final, y en virtud del gran número de artículos para publicar, los convocamos a que envíen lo antes posible sus trabajos, con el fin de que sean sometidos a revisión.

Todo trabajo deberá cumplir con los siguientes requisitos:

1. Podrán ser materiales presentados en congresos de la AMMTAC, siempre y cuando hayan sido aceptados unánimemente, previa evaluación en el congreso donde participaron. No se aceptarán trabajos libres no evaluados.
2. Se excluirán resúmenes de conferencias magistrales. Sólo se aceptarán resúmenes de trabajos originales de estudios prospectivos, retrospectivos o de revisión y artículos médicos, tecnológicos, o educativos concernientes a la Medicina Transfusional.
Los casos clínicos deberán llevar: introducción, presentación del caso y discusión.
3. Los artículos de investigación prospectiva o retrospectiva deberán mencionar si fueron financiados por alguna casa comercial. En tal caso se mencionará como Editor Asociado.

El Comité Editorial de esta revista se reserva el derecho de admisión de los artículos enviados y sometidos a revisión, por lo que podrán o no ser publicados.
4. Sólo se aceptarán aquellos trabajos que completen los datos de responsabilidad de contenido del autor, así como la transferencia de derechos para ser incluidos en esta revista.

5. La transferencia de derechos debe entregarse directamente a la editora Dra. Margarita Judith Salvatella Flores, y comunicar la solicitud de publicación expresamente al E-mail: doctorasalvatella@yahoo.com.mx Se solicitan tres originales del formato de transferencia de derechos, sólo será válido el acuse entregado a la editora.

Sin más por el momento, les envío un afectuoso saludo. Quedo de ustedes.

Atentamente:

Dra. Margarita Judith Salvatella Flores

www.medigraphic.com