

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS

**FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y
BIOQUÍMICAS**

CARRERA DE BIOQUÍMICA



**ESTUDIO DE LA RESISTENCIA OSMÓTICA DE
ERITROCITOSIS SECUNDARIA**

Tesis de grado presentada para la obtención del Grado de Licenciatura

POR: FABIÁN MERCADO ALIAGA

LA PAZ – BOLIVIA

Mayo, 2021

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS

**FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y
BIOQUÍMICAS**

CARRERA DE BIOQUÍMICA



**ESTUDIO DE LA RESISTENCIA OSMÓTICA DE
ERITROCITOSIS SECUNDARIA**

Tesis de grado presentada para la obtención del Grado de Licenciatura

POR: FABIÁN MERCADO ALIAGA

TUTOR: Dr. RICARDO AMARU LUCANA, MD. PD.

LA PAZ – BOLIVIA

Mayo, 2021

DEDICATORIA

A Dios por darme fuerzas para alcanzar mis metas como persona y profesional.

A mis padres y hermano por ser el pilar fundamental de mi vida y apoyarme en cada decisión y proyecto que tomé.

AGRADECIMIENTOS

Son muchas personas que han contribuido al proceso y conclusión de este trabajo, En primer lugar quiero agradecer a mi familia en especial a mis padres María y Juan y mi hermano Marcelo por acompañarme en mi camino y enseñarme a crecer cada día como persona y profesional.

Agradezco también a mi asesor de tesis el Dr. Ricardo Amaru Lucana por haberme permitido ser parte de este proyecto y por el apoyo personal para concluir esta investigación.

A mis compañeros de la Unidad de Biología Celular de la Facultad de Medicina Dr. Teddy Quispe, Dr. Josué Mamani, Dr. Edwin Quisbert, Dr. Marcelo Miranda, Dra. Gina Torres, Dra. Silvia Mancilla, Dra. Hortencia Miguez, Dra. Rosario Peñaloza, Dra. Julieta Luna, Lic. Fernando Romero, Lic. Daniela Patón, por el constante apoyo y orientaciones indispensables en el desarrollo de este trabajo.

A la Universidad Mayor de San Andrés, la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas por acogerme para poder desarrollarme como profesional, a los docentes Dr. Bernardo Torrico Arzady, Dr. Luis Fernando Sosa Tordoya por haberme brindado la oportunidad de guiarme con su capacidad y conocimiento científico y en especial a la Dra. Aneth Vásquez por inculcarme sus conocimientos y experiencias para mi formación.

CONTENIDO

CONTENIDO	i
ÍNDICE DE TABLAS	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	v
ÍNDICE DE GRAFICOS	vi
1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN	3
3. MARCO HISTÓRICO	4
3.1. ORIGEN DEL HOMBRE AMERICANO	4
3.2. ORIGEN DEL HOMBRE ALTIPLÁNICO	6
3.3. EL HOMBRE NATIVO DE GRAN ALTITUD	7
4. MARCO TEÓRICO	10
4.1. CONTEXTO GEOGRÁFICO	10
4.1.1. GEOGRAFÍA DE BOLIVIA	10
4.1.2. CONDICIONES GEOGRÁFICAS DE BOLIVIA	10
4.1.3. CONDICIONES GEOGRÁFICAS DE LA CIUDAD DE LA PAZ	11
4.2. CONDICIONES AMBIENTALES EN LA ALTURA	13
4.2.1. EL MEDIO AMBIENTE	13
4.2.2. LA PRESIÓN BAROMÉTRICA EN LA ALTURA	14
4.3. MECANISMOS QUE EMPLEA EL ORGANISMO EN LA ALTURA	14
4.3.1. ACOMODACIÓN	14
4.3.2. ACLIMATACIÓN	15
4.3.3. ADAPTACIÓN	15
4.3.3.1.1. HORMONAS Y ADAPTACIÓN A LA ALTURA	17
4.3.3.1.2. ERITROPOYETINA	18
4.3.3.1.3. TESTOSTERONA	19
4.3.3.1.4. CAPACIDAD VENTILATORIA EN HABITANTES DE ALTURA	20
4.4. ERITROCITO	25
4.4.1. DESCUBRIMIENTO DE LOS ERITROCITOS	25
4.4.2. ETAPAS DE FORMACIÓN DEL ERITROCITO	25
4.4.3. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DEL ERITROCITO	27
4.4.4. FUNCIÓN DEL ERITROCITO	28
4.4.5. METABOLISMO DEL ERITROCITO	30
4.4.5.1. VÍA EMBDEN MEYERHOF	30
4.4.5.2. CICLO DE LA HEXOSA MONOFOSFATO	31
4.4.5.3. VÍA DE LA METAHEMOGLOBINA REDUCTAS	32
4.4.5.4. VÍA DE RAPOPORT LUEBERING	32
4.5. MEMBRANA ERITROCITARIA	33
4.5.1. CARACTERÍSTICAS DE LA MEMBRANA ERITROCITARIA	33
4.5.2. COMPOSICIÓN DE LA MEMBRANA ERITROCITARIA	34
4.5.2.1. COMPOSICIÓN LIPÍDICA	35

4.5.2.2. COMPOSICIÓN PROTEICA.....	37
4.6. ERITROCITOSIS.....	40
4.6.1. DEFINICIÓN.....	40
4.6.2. PREVALENCIA.....	40
4.6.3. INCIDENCIA.....	41
4.6.4. CLASIFICACIÓN DE LA ERITROCITOSIS.....	41
4.6.4.1. ERITROCITOSIS PATOLÓGICA DE ALTURA.....	42
4.6.4.2. ERITROCITOSIS PRIMARIA.....	42
4.6.4.2.1. ERITROCITOSIS PRIMARIA ADQUIRIDA.....	43
4.6.4.2.2. ERITROCITOSIS PRIMARIA CONGÉNITA.....	44
4.6.4.3. ERITROCITOSIS SECUNDARIA.....	44
4.6.4.3.1. ERITROCITOSIS SECUNDARIA ADQUIRIDA.....	45
4.6.4.3.2. ERITROCITOSIS SECUNDARIA CONGENITA.....	46
4.7. ASPECTOS GENERALES DE DONACIÓN DE SANGRE.....	46
4.7.1. CLASIFICACIÓN DE DONANTES DE SANGRE.....	46
4.7.1.1. DONANTES DE REPOSICIÓN.....	47
4.7.1.2. DONANTES REMUNERADOS.....	47
4.7.1.3. DONANTES ALTRUISTAS.....	48
4.7.2. CARACTERÍSTICAS BÁSICAS DE SANGRE APTAS PARA DONACIÓN.....	49
4.7.2.1. NIVEL DE HEMOGLOBINA/HEMATOCRITO.....	49
4.7.2.2. ERITROCITOSIS PRIMARIA EN DONACIÓN.....	50
4.7.2.3. FLEBOTOMÍA EN PACIENTES CON ERITROCITOSIS.....	51
4.7.2.4. FRAGILIDAD OSMÓTICA DE LOS ERITROCITOS.....	52
4.7.2.4.1. OSMOLARIDAD Y TONICIDAD.....	53
4.7.2.4.2. LESIÓN DE ALMACENAMIENTO.....	55
5. ANTECEDENTES.....	56
6. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	58
7. JUSTIFICACIÓN.....	58
8. HIPÓTESIS.....	59
9. OBJETIVOS.....	59
9.1. OBJETIVO GENERAL.....	59
9.2. OBJETIVO ESPECIFICO.....	59
10. DISEÑO METODOLÓGICO.....	60
10.1. TIPO DE ESTUDIO.....	60
10.2. POBLACIÓN DE ESTUDIO.....	60
10.3. DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA.....	61
10.3.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN.....	61
10.3.2. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.....	62
10.3.3. RECURSO HUMANO E INSTITUCIONAL.....	62
10.4. PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS.....	62
10.4.1. OBTENCIÓN DE LA MUESTRA.....	62
10.4.2. PREPARACIÓN DE REACTIVOS.....	63
10.4.2.1. PREPARACIÓN DE SOLUCIÓN MADRE.....	63

10.4.2.2.	PRUEBA DE FRAGILIDAD OSMÓTICA ERITROCITARIA	64
10.4.3.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	64
11.	RESULTADOS	65
11.1.	DATOS INICIALES DE GÉNERO Y EDAD EN GRUPO CONTROL NORMAL Y GRUPO CON ERITROCITOSIS SECUNDARIA	65
11.2.	ERITROCITOSIS SECUNDARIA SEGÚN GÉNERO Y EDAD	66
11.3.	CURVA DE CALIBRACIÓN PARA EL TEST DE FRAGILIDAD OSMÓTICA	67
11.4.	VALORES HEMATIMETRICOS DE GRUPO CONTROL NORMAL Y GRUPO CON ES	69
11.5.	FRAGILIDAD OSMÓTICA ERITROCITARIA EN GRUPO CONTROL NORMAL Y GRUPO CON ES A LOS 0, 7, 14 Y 21 DÍAS	71
11.6.	FRAGILIDAD CORPUSCULAR MEDIA EN GRUPO CONTROL NORMAL Y GRUPO CON ES	79
11.7.	COMPARACIÓN DE LA FRAGILIDAD OSMÓTICA ERITROCITARIA ENTRE LOS 0 Y 21 DÍAS ENTRE GRUPO CONTROL NORMAL Y GRUPO CON ES	81
12.	DISCUSIÓN	82
12.1.	DATOS INICIALES DE GÉNERO Y EDAD EN GRUPO CONTROL NORMAL Y GRUPO CON ES	82
12.2.	VALORES HEMATIMETRICOS INICIALES	84
12.3.	TEST DE FRAGILIDAD OSMÓTICA DE ERITROCITOS	85
12.4.	TRANSFUSIÓN SANGUÍNEA EN PACIENTES CON ERITROCITOSIS	88
13.	CONCLUSIÓN	90
14.	RECOMENDACIONES	91
15.	BIBLIOGRAFÍA	92
ANEXOS		

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Bolivia: Distribución poblacional en Zona Andina (Altura), valles y Trópico	11
Tabla 2. Principales centros urbanos de gran altura.....	11
Tabla 3. Patrones de adaptación de poblaciones a gran altitud.....	17
Tabla 4. Comparación de valores gasométricos La Paz vs Nivel del mar.....	24
Tabla 5. Valores mínimos de hemoglobina y hematocrito de un donante de sangre en Bolivia.....	50
Tabla 6. Valores de Osmolaridad y Tonicidad de acuerdo a concentraciones salinas hipotónicas	54
Tabla 7. Género y edad de grupo control normal y grupo con ES.....	65
Tabla 8. Absorbancias a concentraciones decrecientes de NaCl.....	68
Tabla 9. Valores hematimétricos iniciales	70
Tabla 10. Porcentaje de hemolisis a concentraciones decrecientes de NaCl en grupo control normal y grupo con ES al día 0.....	72
Tabla 11. Porcentaje de hemolisis a concentraciones decrecientes de NaCl en grupo control normal y grupo con ES al día 7	74
Tabla 12. Porcentaje de hemolisis a concentraciones decrecientes de NaCl en grupo control normal y grupo con ES al día 14.....	76
Tabla 13. Porcentaje de hemolisis a concentraciones decrecientes de NaCl en grupo control normal y grupo con ES al día 21.....	78
Tabla 14. Concentración de NaCl en función a la fragilidad corpuscular media.....	80

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Las Migraciones por el Estrecho de Behring y por la Polinesia	4
Figura 2. Países Situados a más de 2500 m.s.n.m.....	8
Figura 3. Perfil topográfico de la ciudad de La Paz	12
Figura 4. Relación Directa entre Niveles de Testosterona Sérica y Hematocrito ..	20
Figura 5. Aclimatación Ventilatoria	22
Figura 6. Sucesión de Acontecimientos Durante la Aclimatación	23
Figura 7. Estadios de Maduración del Eritrocito	26
Figura 8. Morfología del Eritrocito	27
Figura 9. Estructura de la Hemoglobina.....	29
Figura 10. Lípidos de la Membrana Eritrocitaria	36
Figura 11. Proteínas de la Membrana Eritrocitaria	38
Figura 12. Producción de EPO en Eritrocitosis Secundaria.....	45
Figura 13. Curva de calibracion	69
Figura 14. Valores hematimétricos de grupo control normal y grupo con ES.....	70
Figura 15. Curva de Fragilidad Osmótica Eritrocitaria de grupo control normal y grupo con ES al día 0.....	73
Figura 16. Curva de Fragilidad Osmótica Eritrocitaria del grupo control normal y grupo con ES al día 7.....	75
Figura 17. Curva de Fragilidad Osmótica Eritrocitaria del grupo control normal y grupo con ES al día 14.....	77
Figura 18. Curva de Fragilidad Osmótica Eritrocitaria del grupo control normal y grupo con ES al día 21.....	79
Figura 19. Concentración de NaCl en función de la Fragilidad Corpuscular Media a los 0, 7 ,14 y 21 días.....	80

Figura 20. Curva de Fragilidad Osmótica Eritrocitaria de grupo control normal a los 0 y 21 días	81
Figura 21. Curva de Fragilidad Osmótica Eritrocitaria de grupo con ES a los 0 y 21 días	82

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Grafico 1. Porcentaje de grupo con ES según género	66
Grafico 2. Porcentaje de pacientes con ES según edad	67

1. RESUMEN

Las condiciones de vida en la altura han permitido que los habitantes de estas regiones generen una serie de adaptaciones con el fin de compensar la hipoxia ambiental producida por una disminución de la presión barométrica. Muchos habitantes que residen en las ciudades de La Paz y El Alto desarrollaron alguna de las principales Eritrocitosis Patológicas (EPA: Eritrocitosis Patológica de Altura, ES: Eritrocitosis Secundaria, PV: Policitemia Vera) relacionadas con un aumento de la masa eritrocitaria en la sangre circulante por encima de los parámetro establecidos en cada región, este incremento se ve reflejado a su vez en los valores de Hemoglobina y Hematocrito, lo que ha supuesto en la actualidad un problema para los bancos de sangre al considerar a donantes con un Hto > 60% como donadores no aptos para transfusión por presentar una fragilidad eritrocitaria aumentada.

Las unidades de Glóbulos rojos se obtuvieron de individuos Controles Normales (CN) y pacientes con diagnóstico de Eritrocitosis Secundaria (ES). Se realizó la prueba de Fragilidad Osmótica Eritrocitaria, al comparar los resultados entre ambos grupos de estudio se evidencia que los eritrocitos de pacientes con ES son más resistentes respecto a los CN que muestran una mayor fragilidad osmótica a concentraciones decrecientes de NaCl, la Fragilidad Corpuscular media obtenidos a los días 0, 7 y 21 días mostraron un incremento de la fragilidad osmótica en eritrocitos de CN con una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,001$) y no así para el día 14 en la que no se observó una diferencia significativa ($p = 0,659$) entre los grupos de estudio.

Los hallazgos de este trabajo resaltan la importancia de poder controlar la mayor parte de factores que puedan predecir cambios biofísicos y químicos que logren afectar la calidad de los glóbulos rojos durante el almacenamiento, incrementando la fragilidad osmótica de los eritrocitos.

1. ABSTRACT

Living conditions in the heights have allowed the inhabitants of these regions to generate a series of adaptations in order to compensate for the environmental hypoxia produced by a decrease in barometric pressure, however many developed some of the main Pathological Erythrocytosis (EPA: Altitude Pathological Erythrocytosis, ES: Secondary Erythrocytosis, PV: Polycythemia Vera) related to an increase in Hemoglobin and Hematocrit values, this has currently been a problem for blood banks when considering donors with a Hct > 60% as donors not suitable for transfusion due to their increased red cell fragility.

The Red Blood Cell units were obtained from healthy individuals with Normal Controls (NC) and patients with Secondary Erythrocytosis (SE). The Erythrocyte Osmotic Fragility test was carried out, when comparing the results between both study groups it was observed that at 0, 7 and 21 days, the interpolation of the data of the NaCl concentration according to the mean corpuscular fragility, shows a statistically significant difference ($p < 0.001$) and by day 14 no significant difference ($p = 0.659$) was observed between the study groups.

The findings of this work highlight the importance of being able to control most of the factors that can predict biophysical and chemical changes that can affect the quality of red blood cells during storage, increasing the osmotic fragility of erythrocytes.

2. INTRODUCCIÓN

La eritrocitosis es una enfermedad de la sangre caracterizada por el incremento de los glóbulos rojos en el torrente sanguíneo, asociado a valores elevados de hematocrito y hemoglobina.

En Bolivia, alrededor de 3.000.000 habitantes residen en las ciudades de La Paz y El Alto, de las cuales se considera que existen más de 150.000 personas con eritrocitosis patológicas. Dentro de las Eritrocitosis de importancia clínica en habitantes que residen en lugares de gran altura se menciona a la Eritrocitosis patológica de altura (EPA), Eritrocitosis primaria o Policitemia Vera (PV) y Eritrocitosis Secundaria (ES), siendo la eritrocitosis Secundaria la más recurrente en consultas externas en un 90% de todas las eritrocitosis.

En los últimos años se han realizado grandes esfuerzos en todo el país para crear condiciones que favorezcan la donación voluntaria de sangre, debido a que sus componentes son de vital importancia para satisfacer distintas necesidades médicas destinadas a salvar vidas.

Sin embargo en la actualidad se produce un rechazo a donantes con un hematocrito mayor al 60% porque podrían presentar un aumento en la fragilidad osmótica de los eritrocitos, debido a este factor no son considerados para la obtención de sus hemocomponentes excluyendo paquetes globulares que podrían reponer pérdidas de sangre de cualquier índole.

La presente investigación busca medir el grado de hemolisis producida en eritrocitos de paquetes globulares de pacientes sin patología y pacientes con diagnóstico de Eritrocitosis Secundaria mediante la prueba de Fragilidad Osmótica Eritrocitaria (FOE) con el fin de estudiar las características biológicas de los eritrocitos y evaluar si existen diferencias significativas entre ambos grupos de estudio.

3. MARCO HISTÓRICO

3.1 ORIGEN DEL HOMBRE AMERICANO

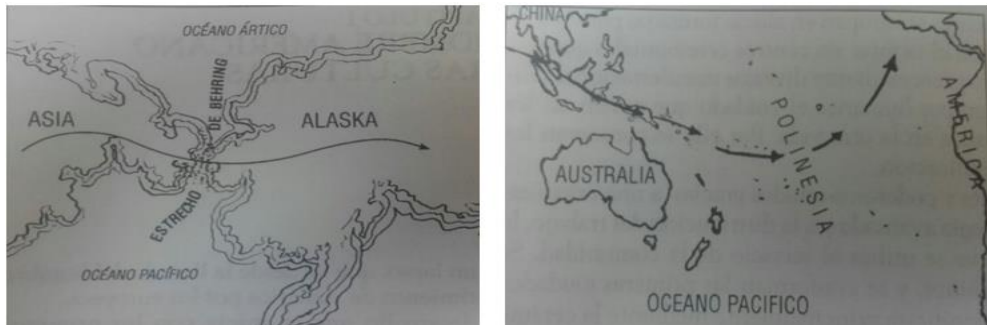
El periodo prehispánico abarca desde la llegada del hombre a nuestro continente, hasta el descubrimiento de América por los europeos, algunos estudios recientes indican que el hombre no es originario de América sino que proviene del viejo mundo.

A medida que se han profundizado los estudios arqueológicos en diversas partes del continente mayor ha sido el periodo que se atribuye al hombre de América.

La antigüedad del hombre en América se estima en más de 40.000 años, siendo así que los primeros seres humanos en llegar al continente americano lo hicieron dentro de este periodo, si bien existen dos teorías acerca de su llegada, la primera nos indica que la migración se produjo a través del océano pacífico de donde procedían los navegantes que partiendo de la polinesia llegaron a las costas de América y la segunda que tiene mayor aceptación, se basa en el cruce a través del estrecho de Behring provenientes desde Asia. (Mesa et al.,2001) ver **Figura 1**.

Figura 1

Las Migraciones por el Estrecho de Behring y por la Polinesia



Fuente: Mesa *et al.*, 2001

Esta última teoría nos indica que todas las formas antecesoras del hombre se encuentran particularmente en África y Asia, por lo que los primeros hombres cazadores y recolectores pudieron pasar por tierra hacia América gracias a la última glaciación en la cual se produjo una disminución considerable de las temperaturas, provocando la creación de grandes bloques de hielo, restando agua al mar. Estos bloques de hielo que se fueron distribuyendo por todo el mundo era tal, que el nivel del mar llegó a bajar 120 metros de media, este descenso ocasionó que muchas tierras hoy en día sumergidas se encontraran por encima de la superficie del mar, creando puentes naturales de tierra, hoy separadas por cantidades de mar y océano como fue el estrecho de Behring que en aquel periodo llegó a medir mil kilómetros de ancho, permaneciendo así por varios miles de años. (Fernández & Velasco, 2010)

Estudios geológicos y paleoecológicos efectuados en la costa noroeste de Norteamérica muestra que el puente de Beringia que unía Asia y América, quedó libre de hielos a partir de los 16.000 años (a excepción de unos 400 Km) erigiéndose un corredor marítimo que posibilitaría el movimiento de las poblaciones humanas, la teoría está fundamentada por una serie de estudios genéticos, que indican que las poblaciones pudieron derivar de grupos procedentes de Kamchatka, Chukotka (en Rusia y Asia) y Alaska (en Estados Unidos de América) hace 15.000 – 20.000 años, lo que permitió difundirse a las primeras civilizaciones a lo largo de todo el continente. (Fernández & Velasco, 2010)

Se piensa que incursiones de estos pueblos particularmente asiáticos de raza mongólica se asentaron en estas regiones hasta que las aguas volvieron a elevarse, esto después de que se encontraron algunos materiales de cacería, vestigios de animales extinguidos así como huellas expandidas desde Alaska hasta el extremo sur de Chile.

En Bolivia los estudios demuestran que todas las altas cumbres e incluso parte del altiplano estuvieron cubiertas de hielo en aquella época y un mayor territorio de ese

altiplano estaba compuesto por dos enormes lagos, quedando hoy en día parte de aquellos lagos, el Poopó y el Titicaca. (Ibarra & Querejazu., 2012)

3.2 ORIGEN DEL HOMBRE ALTIPLÁNICO

Los habitantes andinos, aymaras y quechuas que emigraron del Asia a través del estrecho de Bering en los tiempos glaciales fueron estableciéndose en diferentes regiones de latino América con el transcurrir del tiempo, si bien no existen suficientes elementos para afirmar cual fue el periodo al cual se produjo la llegada del hombre al altiplano boliviano, se estima que su arribo fue de 10.000 a 15.000 años atrás por los hallazgos encontrados de vestigios de cultura como son la cerámica o la perfección del trabajo en piedra que tenían los habitantes de aquella época, siendo también que la distribución de su trabajo les permitió desarrollar un arte que se manifiesta principalmente mediante la cerámica y la textilería. (Mesa et al.,2001)

La existencia de distintas razas en la América indígena nos da a entender que ellas llegaron a nuestro continente en épocas muy distintas, si bien algunos de ellos tienen rasgos sumamente toscos, propias de las formas del homo sapiens más antigua del viejo mundo, algunas presentan rasgos muy finos propias de las formas humanas más desarrolladas como el de los incas, quienes se asentaron en la región del collasuyo nombre que en aymara significa “los que viven en los cerros” y que estos heredaron muchas de las formas culturales del pasado, es así que de una manera muy natural, los hombres de aquel periodo han buscado los sitios más propicios como valles o llanuras para vivir y prosperar, pero lo sorprendente de los collas que habitaron aquellas regiones fue que hubieran edificado sus culturas en pleno altiplano a 4.000 metros de altura sobre el nivel del mar, en un lugar sometida al frío que baja de las cordilleras nevadas, teniendo en cuenta que cuanto menor es la altitud mayor es la temperatura, de lo que se piensa que también marco el carácter austero y duro del habitante andino, hecho prácticamente para cualquier adversidad. (Baptista.,1982).

3.3 EL HOMBRE NATIVO DE GRAN ALTITUD

La tierra, desde su formación ha estado marcada por acontecimientos importantes, como la formación de la montaña Himalaya (Tíbet) entre 245 a 65 millones de años y la formación de la cordillera de los Andes entre 138 a 65 millones de años.

Las poblaciones nativas del Tíbet y Los Andes colonizaron dichas formaciones desde hace 44.000 y 14.000 años atrás respectivamente, estableciéndose en estas regiones en tiempos distintos, obteniendo una mejor adaptación las poblaciones tibetanas respecto a las poblaciones andinas. (Amaru et al. 2016; Beall, 2007)

Más de 40 millones de personas, un 12% de la población mundial viven en lugares por encima de los 3.000 metros, de los cuales 25 millones de hombres habitan en la cordillera de los Andes. (Amaru et al. 2016)

La cordillera andina constituye un verdadero reto para el hombre que habita transitoria o permanentemente en ciudades con altura, en un inicio los habitantes de grandes alturas vivían de la agricultura o del pastoreo, cultivando frutos de estación corta como patatas, granos y otro tanto era dedicada a la minería, todo ello con el fin de expandirse y desarrollar su vida en un nuevo ambiente.

En la actualidad el desarrollo y crecimiento de la población que habitan regiones con altura es mucho más amplio, teniendo en cuenta que muchas familias jóvenes suelen habitar áreas de rápido crecimiento, como el caso de personas que viven en la ciudad de La Paz y El Alto de los cuales un 46% tienen una edad de 19 años, es así que los habitantes no solo se expandieron en sus vías de comunicación sino también en lo concerniente al aspecto económico, social, cultural y fundamentalmente a la vida misma. (Uscamayta, 2007; Niemeyer, Andrade & Huicho, 2009)

Las condiciones de vida en la altura tienden a ser duras, el ambiente de altura se caracteriza por una disminución de la presión barométrica a medida que se sube a

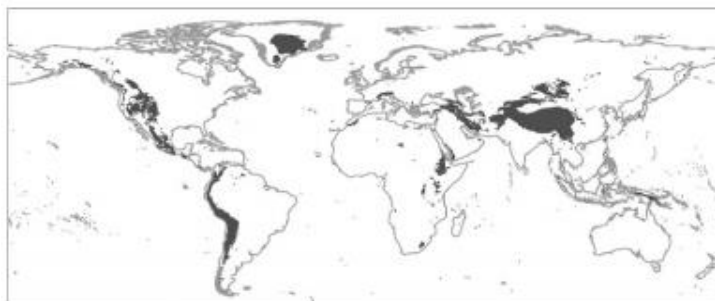
grandes alturas, es por ello que resulta asombroso como los primeros hombres que llegaron al altiplano Boliviano hayan podido habitar un ambiente tan hostil, conllevando una serie de adaptaciones que deben producirse en el organismo. (Corral, 1974)

Las zonas de gran altura en el mundo donde existen poblaciones importantes de residencia permanente, son las áreas de la cordillera de los Andes principalmente en Perú, Bolivia, Chile y Colombia donde se encuentran las más importantes ciudades de altura del mundo como La Paz Bolivia (3.600 m), Quito Ecuador (2.850 m), Bogotá Colombia (2.612 m), Cuzco Perú (3.700 m) y México (2.241 m).

En Asia Afganistán, India, Bután, Nepal y China, se encuentran cuatro altiplanos de gran altura, el de Qinghai- Tíbet China con una elevación promedio de 4.900 m es el altiplano más grande y más alto del mundo considerado el techo del mundo, es uno de los más poblados del planeta con aproximadamente 10 millones de habitantes. Todas las personas que habitan estos contextos están expuestas a un ambiente biofísico diferente de otros lugares del mundo. (Aparicio, 2008 ; Caycho, 2014) ver **Figura 2**.

Figura 2

Países Situados a más de 2500 msnm



Nota. Las Áreas sombreadas representan los países con mayor altitud en el mundo.

((Caycho, 2014) Niemeyer, Andrade & Huicho, 2009).

Hasta hace unos 60 años, los tibetanos eran los únicos habitantes del Himalaya. Sin embargo, luego de la incorporación del Tíbet a la República Popular China, diferentes etnias empezaron a asentarse en lugares de gran altura, hoy en día existen alrededor de 96 etnias diferentes que se hallan asentados alrededor de 2.500 – 3.500 metros de las cuales once de estas etnias parecen haberse adaptado a altitudes aún mayores 4.000 – 5.500 metros, Balti, Hunza, Ladaki, Tibetanos, Bothia, Lopa y Sherpa en la cordillera del Himalaya y los Aymaras, Quechuas, Chipayas, Urus en la cordillera de los Andes. (Gonzales & Tapia, 2007; Garrido, 1997)

Son los nativos Aymaras y Quechuas de los Andes los más numerosos residentes permanentes de gran altura del continente americano, es por esta razón que muchos de los más importantes estudios científicos sobre Biología y Medicina de la Altura se han efectuado en la región Andina de sud América. (Aparicio, 2008)

Mientras que el conocimiento en cuanto al origen y la historia de los tibetanos aun es controversial especialmente en el aspecto de descendencia de los tibetanos, sin embargo existen estudios que permiten aclarar la permanencia que tuvieron estas poblaciones en la meseta tibetana que se estima que fue hace unos 30.000 años, se piensa también que el pueblo tibetano y chino Han comparten un antepasado común en cuanto a sus raíces, puesto que estudios genéticos estimaron un tiempo de divergencia entre ambos pueblos de 2,750 años.

Se considera que estos grupos étnicos han estado viviendo permanentemente a la altura por mayor tiempo que ningún otro, por lo que puede atribuirse a una adaptación genética aceptable. (Lu et al., 2016)

4. MARCO TEÓRICO

4.1 CONTEXTO GEOGRÁFICO

4.1.1 GEOGRAFÍA DE BOLIVIA

La república de Bolivia situada en el corazón geográfico de sud América, localizada en el centro occidental del continente, contiene una gran variedad de ecosistemas con diferentes zonas climáticas que van desde las grandes alturas andinas, hasta las selvas tropicales, caracterizada por ser un país de grandes montañas, con su columna vertebral la Cordillera de los Andes en el occidente con valles y extensas llanuras tropicales en el oriente, es un país sin acceso a la costa marítima, más conocida por sus grandes alturas, tiene la mayor población nativa de sud América con una tradición cultural dominada por culturas incas, actualmente desaparecidas como Tiwanaku y la civilización Inca. (Aparicio, 2008)

4.1.2 CONDICIONES GEOGRÁFICAS DE BOLIVIA

El contexto geográfico del territorio Andino es una poderosa influencia, sobre el clima, la utilización de los suelos y las condiciones de vida de los habitantes. El territorio de Bolivia con una extensión de superficie de 1.098.581 Km², contiene varios ecosistemas con una variación altitudinal que va de los 180 m a los 6.500 m sobre el nivel del mar. (Aparicio, 2008) ver **Tablas 1,2.**

Tabla 1*Bolivia: Distribución poblacional en Zona Andina (Altura), valles y trópico*

Región (Superficie)	Altura	Temperatura media	Población
Andina 16%	2.800 a + 4.000 m	4 a 18 °C	42%
Valles 19%	1.000 a 2.800 m	5 a 25° C	29%
Trópico 65%	menos de 1.000 m	26° C	29%

Fuente: Aparicio, 2008

Tabla 2*Principales centros urbanos de gran altura*

Ciudad	Altura (m)	Población	Temperatura media
Potosí	4.070	887.000	6°C
Oruro	3.709	538.000	8°C
La Paz	3.600	2.883.000	8 - 9°C
El Alto	4.000	922.598	6°C

Fuente: Aparicio, 2008

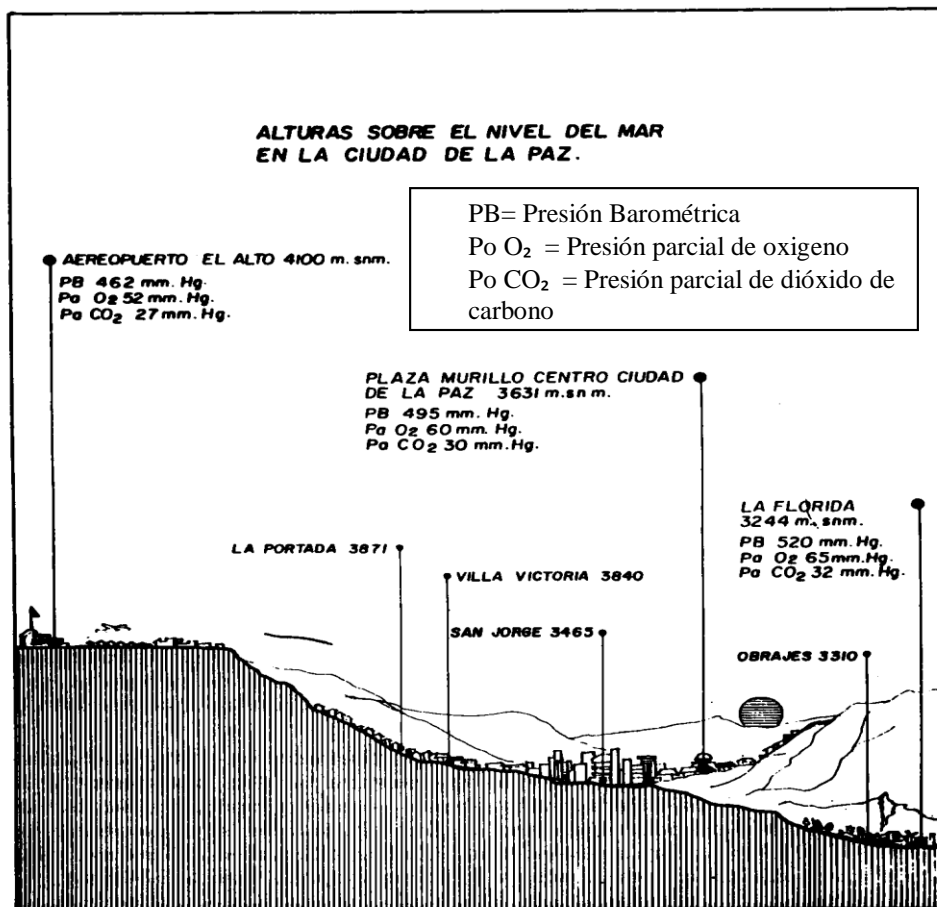
4.1.3 CONDICIONES GEOGRÁFICAS DE LA CIUDAD DE LA PAZ

La Paz es la capital política, sede de gobierno, con una población de 2.883.000 habitantes (INE, 2018) que se desplazan entre el altiplano y un valle alto, su topografía que de hecho es muy particular, está caracterizada por importantes variaciones de altura que oscilan los 3.233 m – 4.100 m y como consecuencia también de la presión barométrica, sometiendo a sus habitantes a condiciones de hipoxia en muchos casos

intermitente, que sin lugar a dudas tiene consecuencias biológicas ciertamente importantes dentro de un verdadero “laboratorio natural” cuyo habitat tiene influencias sobre las costumbres y salud de las personas expuestas. (Vargas & Villena,1993) ver **Figura 3.**

Figura 3

Perfil Topográfico de la Ciudad de La Paz



Nota. Representación del gradiente de altura y los diferentes parametro a partir de los cambios de presion.(Vargas, 2001)

4.2 CONDICIONES AMBIENTALES EN LA ALTURA

4.2.1 EL MEDIO AMBIENTE

Un medio ambiente en lugares de altitud hace referencia al entorno vital o a las circunstancias que permiten a un individuo desarrollar la vida, el ambiente de altura es un complejo ecológico multifactorial, en las cuales se destacan la sequedad del aire, que se caracteriza por presentar problemas en las vías respiratorias superiores, teniendo su importancia en manifestaciones clínicas compatibles con la sequedad de las mucosas rinofaríngeas. El frío es otro aspecto característico de las zonas altiplánicas, proveniente de los cerros nevados que rodean la región, desempeña un papel importante en la hipoxia al producir broncoconstricción e incluso una secreción reducida y a estos factores se suman otros como los cambios de alimentación y las costumbres, los cuales de una u otra manera intervienen en el contexto de aclimatación.

Sin embargo el elemento más influyente es la presión barométrica, que se ve disminuida en lugares de altitud y esta a su vez produce una disminución de la presión parcial de oxígeno en el aire a respirar, por lo que interviene en el contexto de la aclimatación de los habitantes de altura. (Aparicio, 2008; Hinojosa, 2011)

El organismo humano está por naturaleza, adaptado para respirar el oxígeno atmosférico de todos los gases presentes en la atmosfera, el más importante para el desarrollo de la vida es el oxígeno, debido a que no existen reservas de este gas en el organismo se hace indispensable adquirirlo mediante la respiración. (Corral, 1974)

La proporción de gases se mantiene constante en todas las capas de la atmosfera, independientemente de la altura a la que nos encontremos, por lo tanto la proporción de oxígeno se mantiene constante a (21%), sin embargo el descenso de la presión atmosférica conlleva una disminución de la presión parcial de oxígeno a razón de 8 mm por cada 100 m de elevación. (Aparicio, 2008; Hinojosa, 2011)

4.2.2 LA PRESIÓN BAROMÉTRICA EN LA ALTURA

Cuando se habla de la presión barométrica, se hace alusión a la fuerza por unidad de superficie que ejerce el aire de la atmósfera sobre la tierra, a nivel del organismo esta presión permite a los gases pasar a través de los tejidos, para que las células del organismo lleven a cabo sus actividades metabólicas e intervenga en procesos que contribuyan al desarrollo de la vida, el que vive en la altura respira un aire y oxígeno que tiene poca fuerza para ingresar a los pulmones, de allí a la sangre y a las diferentes células del organismo, lo que genera mecanismos de adaptación a la altura. (Navia et al., 2001)

La presión barométrica a una determinada altitud dependerá de la columna de aire en ese punto, tanto la presión atmosférica como la densidad del aire disminuyen a medida que se aumenta de altura, debido a que existen menos moléculas de aire ejerciendo presión hacia abajo constituyéndose así en un fenómeno natural. (Vargas & Villena, 1993)

Una disminución de la presión de oxígeno da lugar a lo que se conoce como hipoxia (oxígeno con menor presión), lo que permite a su vez que el número de moléculas de oxígeno y demás gases de aire por unidad de volumen se encuentran reducidas, entonces el aire inspirado hacia la sangre pulmonar provoca una serie de reacciones inmediatas para paliar este déficit. (Corral, 1974)

4.3 MECANISMOS QUE EMPLEA EL ORGANISMO EN LA ALTURA

4.3.1 ACOMODACIÓN

La acomodación es un término que se utiliza para describir la respuesta inmediata del organismo a un ascenso rápido y pasivo a la altura, es considerada la fase

inicial a la exposición de la altura, se produce por lo general en montañistas así como en viajeros.

La exposición aguda a la altura desencadena en el organismo reacciones esencialmente ventilatorias y circulatorias beneficiosas que permiten el incremento de la disponibilidad de oxígeno celular por minuto. (Aparicio, 2008)

4.3.2 ACLIMATACIÓN

La aclimatación es un cambio reversible no hereditario en la anatomía y fisiología de un organismo, que permite sobrevivir en un ambiente extraño. En un ambiente de hipoxia probablemente los cambios más importantes serán respuestas principalmente respiratorias, cardiovasculares y hematológicas, considerando que la cantidad de oxígeno que transporta la sangre depende de la ventilación pulmonar, el débito cardíaco y la concentración de hemoglobina. (Aparicio, 2008)

La aclimatación generalmente representa a aquellos individuos que temporalmente están expuestos a la altura, estos periodos pueden ser variables por horas o días, logrando una aclimatación aguda o podrían ser periodos más extendidos como semanas a meses adquiriendo una aclimatación crónica. (Gonzales, 2011)

Una adecuada aclimatación dependerá de algunos factores influyentes como el sexo, la edad, estado físico y si existen hábitos al tabaquismo o alcohol que pueden incidir de alguna manera en la aclimatación de un individuo en regiones de altura. (Aparicio, 2008)

4.3.3 ADAPTACIÓN

La adaptación se refiere a las características de estructura, función o comportamiento que permiten a un organismo vivir y reproducirse en un determinado ambiente, por lo que se lo considera un proceso de aclimatación natural donde también

intervienen variaciones genéticas permitiendo a los individuos nacer crecer y reproducirse en la altura en forma normal. (Gonzales, 2011)

Los estudios de las últimas décadas han demostrado que las poblaciones nativas que se sitúan en lugares de altura por miles de años se adaptan a la baja presión de oxígeno a través de varios mecanismos, el periodo más corto de residencia en la altura ha sido probablemente el de los españoles en los Andes de sud América por cerca de 400 años, otro grupo es el de los Europeos que se establecieron en las zonas altas de sud América y montañas rocosas de norte América durante los últimos 100 años, sin embargo son los nativos andinos de altura los residentes permanente de estas regiones por más de 10.000 años de antigüedad. (Aparicio, 2008)

De los varios tipos de mecanismos de adaptación que el hombre andino adquirió en lugares de altitud destacan los valores de hemoglobina y hematocrito, durante años se ha establecido que el aumento en los niveles de estos parámetros representaba un modelo de adaptación, sin embargo este modelo se ha puesto en discusión en los últimos veinte años, debido a que se demostró que en algunas poblaciones residentes a grandes alturas, como sucede con los tibetanos del Himalaya y los etíopes, evidencian valores de hematocrito y hemoglobina menores que los andinos que viven a similar altitud, lo que sugiere que una mayor antigüedad de estas poblaciones ha favorecido a una mayor adaptación a la altura. (Gonzales & Tapia, 2007)

La concentración de hemoglobina y la saturación de oxígeno en conjunto determinan el contenido de oxígeno arterial, de acuerdo a un estudio realizado por Beall (2006) de tres patrones diferentes de adaptación, el patrón andino se caracteriza por presentar una alta concentración de hemoglobina y una baja saturación de oxígeno en comparación al patrón tibetano que se caracteriza esencialmente por presentar una concentración de hemoglobina similar a los del nivel del mar y una baja saturación de oxígeno como se describe en la **Tabla 3**. (Beall, 2006)

Tabla 3*Patrones de adaptación de poblaciones a gran altitud*

	Sat O ₂ %	Conc. de hemoglobina (mg/dL) Hombres adultos	Contenido de O ₂ arterial ml O ₂ /100 ml sangre (calculada)	Hipoxemia Arterial	Eritrocitosis (incremento de Glóbulos Rojos)
Nivel del mar	97	15,3	21,1	Ausente	Ausente
Etiopia 3530 m	95	15,6	21,1	Ausente	Ausente
Tíbet, 4000 m	89	15,8	19,2	Presente	Ausente
Bolivia, 4000 m	92	19,1	24,4	Presente	Presente

Fuente: Beall, 2006

Nota. Se puede observar que las poblaciones con mayor antigüedad en la altura (tibetanos y etíopes) tendrían menor posibilidad de hacer eritrocitosis que las poblaciones de menor antigüedad (Andinos).

Los hombres andinos a diferencia de los habitantes del Himalaya, tienen una capacidad limitada para la adaptación a la altura, es por ello que los valores de hematocrito y de hemoglobina son menores en nativos del Himalaya, que en los andinos que viven a una misma altitud, lo que sugiere diferencias genéticas. (Gonzales & Tapia, 2007)

4.3.3.1.1 HORMONAS Y ADAPTACIÓN A LA ALTURA

El efecto de la exposición a la altura sobre diferentes variables hematológicas, en el último tiempo ha recobrado mucho interés especialmente en el aspecto de fisiología de la altura.

Las hormonas cumplen una función importante en los procesos de adaptación a cambios ambientales por lo que no es raro pensar que también cumplan una función en el proceso de adaptación a la altura, lo que indicaría que las hormonas sexuales actuarían de forma diferencial entre hombres y mujeres, al menos dos hormonas tienen las propiedades de inducir la producción de eritrocitos, la eritropoyetina (EPO) y la testosterona. (Gonzales, 2011)

4.3.3.1.2 ERITROPOYETINA

La eritropoyetina es una citosina hematopoyética de linaje específico relacionada con el control de eritropoyesis que radica en la proliferación, diferenciación y supervivencia de la línea eritroide, se halla constituida por 166 aminoácidos, es secretada por los riñones en un 90%, el resto es secretada por el hígado, aunque el hígado adulto parece necesitar un estímulo hipóxico más fuerte que el riñón para producción de EPO. (Ciesla, 2014; McKenzie, 2000)

Los efectos fisiológicos de los gases como se indicó anteriormente dependen de la presión parcial, lo que permite establecer una relación entre hipoxia tisular y la producción de eritrocitos, postulándose un factor humoral que es la eritropoyetina, encargada de regular la producción de eritrocitos. (Peñuela & Gómez, 2010)

Esta hormona viaja por circulación para unirse a un receptor del pronormoblasto (célula madre del glóbulo rojo) presente en medula ósea, de esa manera da lugar a 16 glóbulos rojos maduros, en una hipoxia tisular el riñón se encarga de actuar como sensor de oxígeno para secretar más eritropoyetina con el fin de regenerar más eritrocitos. (Gonzales, 2011; Merlo, 2009)

En aquellos individuos que son sometidos a incrementos importantes de altitud, se observa una elevación de la concentración de hemoglobina como consecuencia de un posible aumento de la eritropoyetina, que producirá como efecto una elevada producción

de glóbulos rojos, con una concomitante disminución del volumen plasmático. (Trompetero et al., 2015)

4.3.3.1.3 TESTOSTERONA

La testosterona es una hormona androgénica propia del género masculino se sintetiza principalmente en un 95% en los testículos a partir de colesterol y el resto en las glándulas suprarrenales, mientras que en mujeres se encuentra en menor cantidad sintetizándose en células tecaes de ovario y en la placenta. (Gonzales, 2011)

La testosterona al igual que la eritropoyetina juega un papel fundamental tanto en la adaptación y aclimatación a ciudades de altura, la testosterona ha demostrado que estimula la eritropoyesis, cuya elevación en la pubertad explica en cierta parte a la diferencia en las concentraciones de hemoglobina de acuerdo con el sexo y la edad. (McKenzie, 2000)

La administración de testosterona estimula y regula la producción de glóbulos rojos en varones en forma dependiente de la dosis especialmente en personas de la tercera edad y es responsable del aumento de la hemoglobina y hematocrito en varones, sin un aumento asociado a los niveles de eritropoyetina.

La testosterona no solo tiene un efecto estimulador de la eritropoyesis sino también inhibe la ventilación, la exposición de varones adultos mayores a dosis altas de testosterona se asocia con un menor tiempo total de sueño, mayores episodios hipóxicos y aumento en el índice de trastornos respiratorios. (Gonzales, 2011)

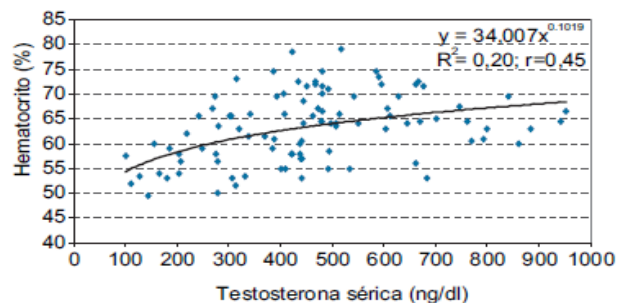
En un estudio comparativo en Bolivia a 3600 m, varones de zonas urbanas presentaron niveles más altos de testosterona y de hemoglobina que los Aymaras de zonas rurales con mayor antigüedad generacional en la zona altitudinal, esto sugiere que valores de testosterona en el rango normal alto puede comprometer el proceso de

adaptación a la altura, por lo que esta población residente en los Andes pueda no haber completado su proceso de adaptación. (Beall *et al.*, 1992)

Por lo tanto, la hipótesis que se origina es que la testosterona podría estar relacionada con la eritrocitosis excesiva, ya que se ha demostrado que los varones con tal patología tienen mayores niveles séricos de testosterona que aquellos viviendo en la misma altitud pero sin eritrocitosis excesiva. (Gonzales, 2011) Ver **Figura 4**.

Figura 4

Relación Directa entre Niveles de Testosterona Sérica y Hematocrito



Nota. Se puede apreciar que un mayor valor en los niveles de testosterona representa un incremento en los valores del hematocrito. (Gonzales, 2011)

4.3.3.1.4 CAPACIDAD VENTILATORIA EN HABITANTES DE ALTURA

El estudio de cómo logra el ser humano habitar en distintas condiciones de altura ha interesado siempre a los científicos, fue por ello que se han venido realizando estudios en poblaciones de regiones de altura debido a que constituyen magníficos sujetos de experimentación para el análisis de respuesta fisiológica en situaciones ambientales de grandes alturas. (Corral, 1974)

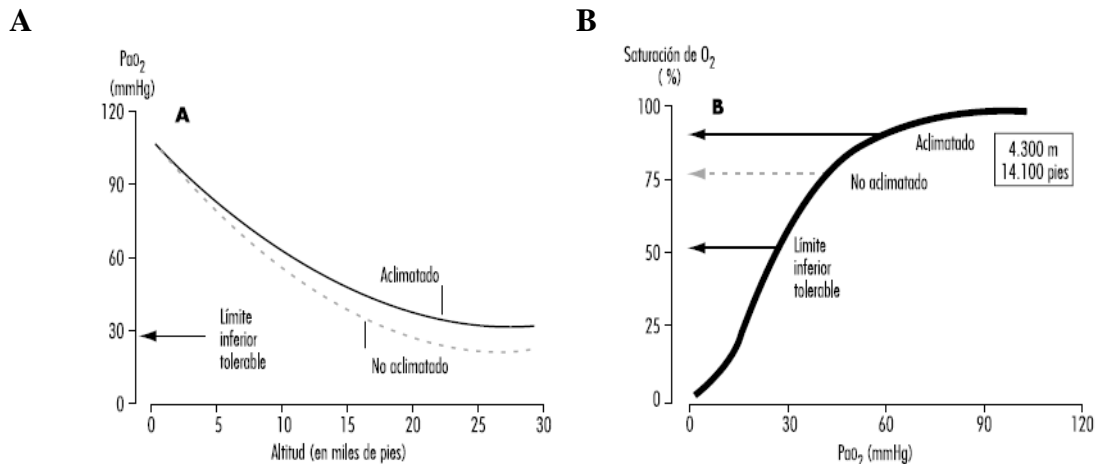
Es importante comprender ciertos procesos respiratorios que permiten al hombre de altura diferir del hombre que reside a nivel del mar, el aparato respiratorio en su primera reacción frente a la altura producirá un aumento del débito respiratorio con el fin de conseguir que llegue a los pulmones la misma cantidad de oxígeno que a nivel del mar, es así que el volumen respiratorio aumenta proporcionalmente a la depresión atmosférica. (Uscamayta, 2007)

Un factor decisivo en el rendimiento a gran altitud es el mantenimiento del aporte de oxígeno a los tejidos, el aire obtenido de la atmosfera penetra los pulmones en cada movimiento respiratorio, en la altura la densidad de aire se ve disminuida, es por ello que el ser humano y otros animales tienen defensas contra los estados de baja concentración de oxígeno. Entre ellas, destaca el aumento de la frecuencia respiratoria (ventilación), que comienza cuando la presión parcial de oxígeno en la sangre arterial disminuye (hipoxemia) y que se encuentra a todas las altitudes superiores al nivel del mar, siendo nuestro mecanismo de defensa más eficaz contra los bajos niveles de oxígeno en el medio ambiente. (Dummer et al., 2012)

El proceso por el que aumenta la respiración a grandes altitudes se llama aclimatación ventilatoria. Su importancia queda clara en la **Figura 5**, donde se aprecia una mayor concentración de oxígeno en la sangre arterial de las personas aclimatadas que en las no aclimatadas. (Dummer et al., 2012)

Figura 5

Aclimatación Ventilatoria



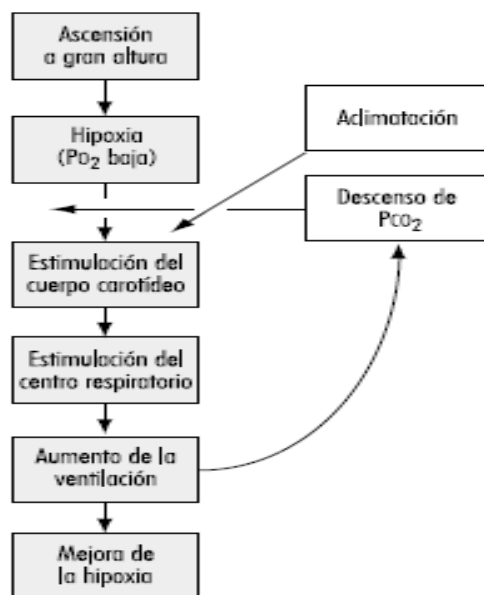
Nota. Panel A. La presión arterial de oxígeno (pO_2) desciende al aumentar la altitud, pero sus valores son mayores en los sujetos aclimatados que en los no aclimatados, cuando la pO_2 desciende por debajo de 60 mmHg, la capacidad de la hemoglobina para transportar oxígeno (O_2 por % de saturación) se reduce de forma brusca. Panel B. en términos de transporte de oxígeno sanguíneo, la aclimatación se hace cada vez más importante a medida que aumenta la altitud. (Dummer et al., 2012)

El estímulo del aumento de la ventilación a grandes altitudes, es regulado por un órgano llamado cuerpo carotídeo del tamaño aproximado de una cabeza de alfiler y situado en dos ramas minúsculas de las arterias carótidas, a la altura del ángulo de la mandíbula, este tiene la capacidad de sensar la pO_2 , pCO_2 y pH sanguínea dando como resultado un incremento en la ventilación alveolar. (Monge & Rodríguez, 2017)

Cuando la presión de oxígeno en la sangre arterial disminuye, estas células similares a las neuronas (las células quimiorreceptoras) del cuerpo carotídeo registran el descenso y aumentan el ritmo de transmisión que los lleva directamente al centro de control respiratorio. Cuando dicho centro recibe un número mayor de impulsos, se activa y estimula el aumento de la frecuencia y profundidad de la respiración, actuando sobre el diafragma y los músculos de la pared torácica. El resultado es un aumento del aire ventilado por los pulmones, como se indica en la **Figura 6**, lo que trae consigo un ascenso de la presión de oxígeno. (Dummer et al., 2012)

Figura 6

Sucesión de Acontecimientos Durante la Aclimatación



Fuente. Dummer et al., 2012

Cuando el aire penetra en el alveolo, la pO_2 inspirada desciende hasta un nuevo nivel (denominado pO_2 alveolar), a causa de dos factores: la mayor presión parcial del vapor de agua producida por la humidificación del aire inspirado y la mayor presión

parcial del dióxido de carbono pCO_2 debida a su excreción. Desde el alveolo, el oxígeno se difunde hacia la sangre a través de la membrana alveolo capilar, la mayor parte del oxígeno presente en la sangre se halla unido a la hemoglobina (oxihemoglobina), por lo que el contenido de oxígeno de la sangre depende directamente de la concentración de hemoglobina y del porcentaje de saturación con oxígeno (saturación de la oxihemoglobina). (Dummer et al., 2012)

En un estudio de gasometría arterial realizado por el equipo del Dr. Amaru (Amaru et al., 2016) a pacientes con eritrocitosis patológicas (EPA, ES y PV)* y controles normales en las ciudades de La Paz y el Alto, se observó que los valores de pH en los cuatro grupos estudiados son normales; la pCO_2 esta elevada tanto en la ES como en la EPA pero más elevada en la ES; la pO_2 esta disminuida en ES y EPA, pero se ve más disminuida en ES y la saturación de O_2 esta disminuida en ES y EPA. (Amaru et al., 2016) ver **Tabla 4**.

Tabla 4

Comparación de valores gasométricos La Paz vs Nivel del mar

Variables	CN	EPA	ES	PV
pH (SD)	7.39 (+0.01)	7.41 (+0.02)	7.39 (+0.02)	7.42 (+0.02)
Pa O₂ (mm Hg)(SD)	60.2 (+0.4)	49.9 (+4.3)	43.4(+1.6)	48.3(+3.4)
Pa CO₂ (mm Hg)(SD)	30 (+0.1)	34.1 (+3.3)	37.8 (+3.5)	27.5 (+3.8)
Saturación de O₂ % (SD)	93,2 (1.6)	86.1 (+3.8)	78.3(+2.7)	91 (+2.6)

*CN (Controles Normales), **EPA** (Eritrocitosis Patológica de Altura), **ES** (Eritrocitosis Secundaria),

PV (Policitemia Vera) (Amaru et al. 2016).

En regiones bajas este aspecto no tiene mayor trascendencia por qué no ocasiona cambios significativos de la presión parcial de oxígeno y no modifica la saturación arterial que es de aproximadamente 96-98%. A pesar de las afecciones que se presentan

en las regiones situadas en altitud, los habitantes del altiplano han prosperado normalmente en su medio ambiente. (Hurtado, 1973)

4.4 ERITROCITO

4.4.1 DESCUBRIMIENTO DE LOS ERITROCITOS

El eritrocito conocido también como célula sanguínea roja, fue uno de los primeros elementos microscópicos reconocidos y descritos después del descubrimiento del microscopio.

En un inicio a los eritrocitos se los consideraba como células inertes sin función alguna, ya por los años de 1817 François Mangandie diluyó sangre en agua y tras ver al microscopio y no encontrar corpúsculo asumió de una manera errónea que los eritrocitos observados por otros eran probablemente burbujas de aire, posteriormente se supo que los eritrocitos que se suspenden en agua tienden a hemolizar, Mangandie aceptó su error y proporcionó una descripción morfológica más detallada del eritrocito.

El eritrocito con el tiempo adquirió mucha importancia por las funciones que desempeñaba, siendo así uno de los elementos formes más estudiados debido a que son el componente más abundante de la sangre. (Mckenzie, 2000)

4.4.2 ETAPAS DE FORMACIÓN DEL ERITROCITO

La producción de los glóbulos rojos es un proceso dinámico, originada de una célula madre la UFC-GEMM (Unidad Formadora de Colonias de Granulocitos, Eritrocitos, Monocitos y Megacariocitos) y se diferencia primero a BFU-E (unidad formadora de brotes eritroides) y más tarde a CFU – E (unidad formadora de colonias eritroides) que puede producir colonias individuales de hasta 100 células y por tanto, su tamaño es mucho menor que las BFU-E; todo el proceso está influenciada por señales

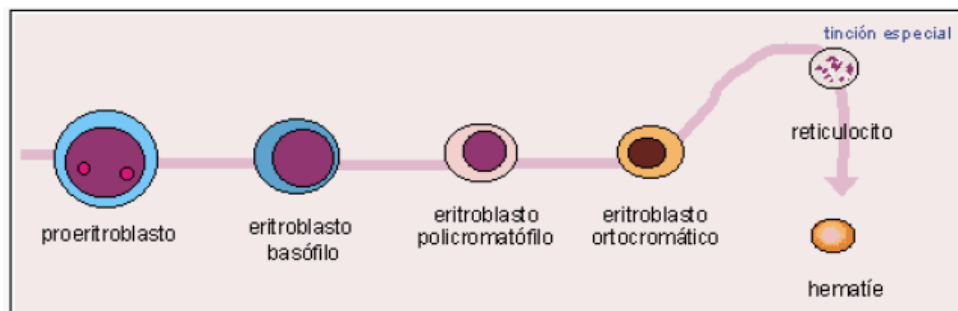
químicas como las citoquinas que permiten la diferenciación y maduración de la célula a una ruta definida. (Sanz S, 1988)

La eritropoyesis es un proceso ordenado, mediante el cual la concentración periférica de eritrocitos se mantiene en una cantidad constante. El principal sitio de la eritropoyesis en el adulto es la médula ósea roja ubicada en el esternón y la cresta iliaca; en los niños la eritropoyesis toma lugar en los huesos largos y el esternón. (McKenzie, 2000)

Existen seis etapas en la maduración en el glóbulo rojo: pronormoblasto, normoblasto basófilo, normoblasto policromatófilo, normoblasto ortocromático, reticulocito y glóbulo rojo maduro. Los cambios morfológicos que se experimentan durante su maduración se caracterizan por una notable disminución del tamaño nuclear de los eritroblastos, con condensación progresiva de la cromatina y desaparición de los nucléolos, en tanto que el citoplasma evoluciona perdiendo la intensa basófilia propia de los estadios más jóvenes y adquiere la acidofilia típica que le proporciona la hemoglobina en los estadios más maduros. (Merlo, 2009) Ver **Figura 7**.

Figura 7

Estadios de Maduración del Eritrocito



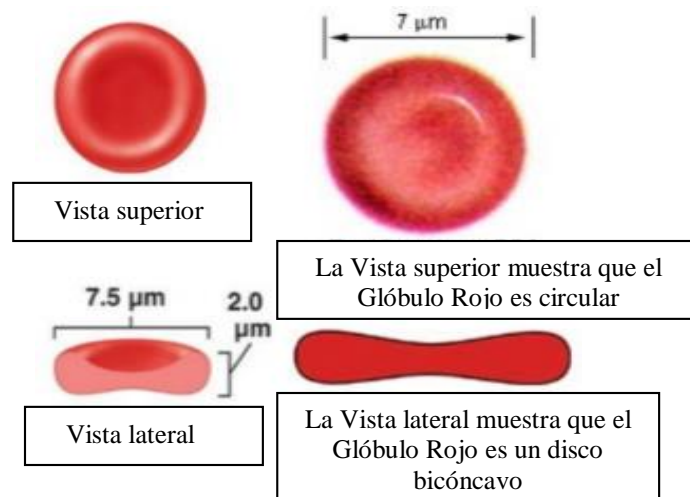
Fuente. Merlo, 2009

4.4.3 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DEL ERITROCITO

Un glóbulo rojo normal es aquel que tiene una forma de disco bicóncavo liso de 6 – 8 μm de diámetro, con un promedio aproximado de 7,5 μm , 2 μm de espesor en el borde más ancho y de 1 μm en el centro, presenta un volumen corpuscular medio (VCM) de 80 a 100 fL y con un contenido de hemoglobina corpuscular medio (CHCM) de 32 a 36%, esta forma le confiere una gran superficie en relación con su volumen, lo que ofrece dos ventajas funcionales, por un lado se favorece en el intercambio de gases a través de la membrana y por otro lado le proporciona una gran deformabilidad, por lo que puede variar mucho su forma cuando atraviesa los estrechos capilares, de esta manera la membrana no se somete a grandes tensiones y en consecuencia se evita la ruptura celular. (Velasco, 2017; Ciesla, 2014; More, 2019). Ver **Figura 8**.

Figura 8

Morfología del Eritrocito



Fuente. More, 2019

El eritrocito podría ser una esfera, ya que es la forma que adoptaría, una bolsa llena de un líquido que estuviese sometida a presiones iguales por todos lados, sin embargo, es un disco bicóncavo. Esta configuración favorece a la relación superficie /volumen para el intercambio gaseoso y así puedan difundirse rápidamente hacia y desde el interior de la célula, quizá no sea la forma ideal, pero es más efectiva que la esférica. (More, 2019)

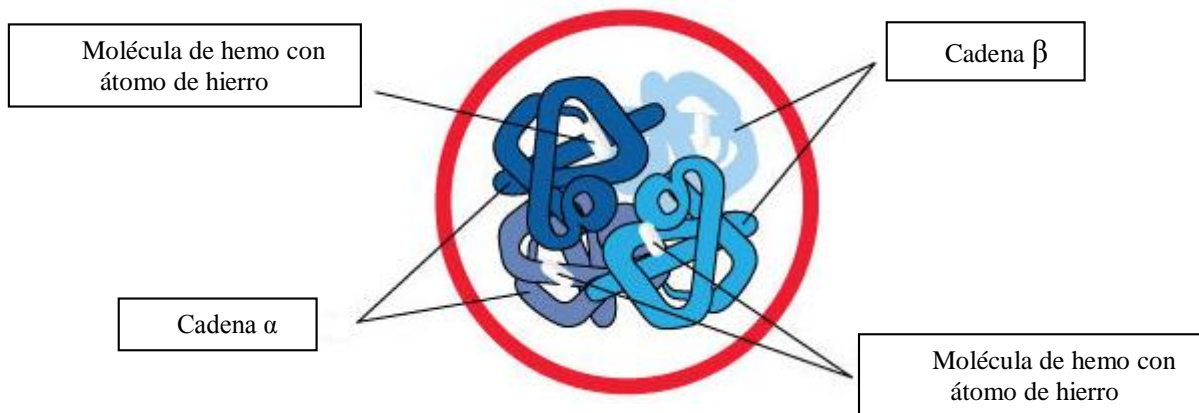
4.4.4 FUNCIÓN DEL ERITROCITO

El glóbulo rojo maduro está diseñado para proteger y transportar la hemoglobina, permitiendo el intercambio gaseoso de oxígeno y dióxido de carbono en el organismo, para tal tarea el eritrocito por medio de la hemoglobina transporta oxígeno desde los pulmones, los cuales se difunden posteriormente a las células y el dióxido de carbono lo hace de manera inversa.

La hemoglobina es una proteína constituida por una proteína la globina en un 95% con estructura cuaternaria, es decir, está constituida por cuatro cadenas polipeptídicas dos α (alfa) y dos β (beta), las cadenas polipeptídicas α contienen 141 aminoácidos y las cadenas β 146 aminoácidos en la (hemoglobina adulta- HbA) ver **Figura 9**. A su vez estas cadenas son codificadas por genes diferentes que proporcionan dos cadenas α y dos δ (delta) (forma minoritaria de hemoglobina adulta- HbA2- normal 2%); dos α y dos γ (gama) en el caso de la (hemoglobina fetal- HbF). (Pañuela, 2005)

Figura 9

Estructura de la Hemoglobina



Fuente. The University of Waikato, 2009.

Las cuatro cadenas polipeptídicas de la Hb contienen cada una un grupo prostético hem en una proporción del 4,5%, es el componente primordial de los glóbulos rojos el cual tiene como desafío mantener una oxigenación tisular adecuada mediante una afinidad por el oxígeno, aunque el transporte de oxígeno en grandes alturas es complejo y no se basa únicamente en la saturación arterial de oxígeno. (Castillo, 2014)

El hem es una molécula de porfirina que contiene un átomo de hierro en su centro que le proporciona el color rojo a los hematíes, el tipo de porfirina de la Hb contiene dos grupos ácidos propiónicos, dos vinilos y cuatro metilos como cadenas laterales unidas a los anillos pirrólicos de la estructura de la porfirina. El átomo de hierro se encuentra en estado de oxidación ferroso (+2) y puede formar cinco o seis enlaces de coordinación dependiendo de la unión del O₂ a la Hb (oxiHb, desoxiHb). (Pañuela, 2005)

El eritrocito viaja más de 300 millas a través de la circulación periférica sometiéndose unas 500.000 veces a turbulencias cardiacas y a las corrientes rápidas del sistema circulatorio, teniendo que pasar muchas veces por espacios intercelulares de un

diámetro diez veces inferior al suyo. El eritrocito posee esta característica gracias a la elevada capacidad para deformarse, propiedad que pierde progresivamente al envejecer hasta que es eliminado de la circulación por los macrófagos tanto del bazo como de la medula ósea. (Sans-Sabrafen, et al. 2006)

4.4.5 METABOLISMO DEL ERITROCITO

Debido a que el eritrocito maduro es una estructura sin núcleo, no tiene arquitectura nuclear o mitocondrial para metabolizar ácidos grasos o aminoácidos.

Consecuentemente deriva toda su energía de la descomposición de la glucosa, dentro de este marco el eritrocito debe mantener su forma y la hemoglobina en el estado reducido Fe+2 y movilizar los electrolitos a través de la membrana, para ello utiliza una variedad de procesos metabólicos dependientes de energía que son esenciales para la viabilidad y funcionamiento de la célula, estas vías se refieren a la vía Embden-Meyerhof, ciclo de la hexosa – monofosfato, vía de la hemoglobina reductasa y ciclo de rapoport-luebering. (Mckenzie, 2000 ; Ciesla, 2014)

4.4.5.1 VÍA EMBDEN MEYERHOF

La ruta de Embden –Meyerhof proporciona el 90 a 95% del ATP celular debido a que el metabolismo eritrocitario es esencialmente anaerobio, los eritrocitos normales no tienen depósitos de glucógeno, dependen por completo de la glucosa ambiental para la glucolisis, la glucosa penetra a la célula mediante difusión facilitada un proceso que no consume energía.

Las funciones del ATP son multifactoriales e incluyen el mantenimiento de la forma, flexibilidad e integridad de la membrana, regulación de la bombas intracelulares y extracelulares, mantener la función de la hemoglobina y la síntesis de los lípidos de

membrana, esta ruta también genera NAD⁺ desde NADH una estructura importante en la formación del 2,3 – bifosfoglicerato, un elemento clave para cargar y descargar el oxígeno.

Se advierte un aumento en la fragilidad osmótica en la célula con membranas anormalmente permeables con disminución en la producción de ATP o ambos procesos. Una vez consumida la glucosa el combustible para la bomba de cationes ya no está disponible. Por tanto las células no logran mantener sus concentraciones normales de cationes intracelulares, lo que provoca la muerte celular. (Mckenzie, 2000; Ciesla, 2014)

4.4.5.2 CICLO DE LA HEXOSA MONOFOSFATO

También se la conoce como vía de las pentosas fosfato, en condiciones normales aproximadamente 5% de la glucosa celular ingresa a la vía oxidativa de las hexosas monofosfato HMF para proporcionar el ATP necesario para su metabolismo. Esta vía produce adenín dinucleotidofosfato de nicotinamida (NADPH) y glutatión.

El glutatión (GSH) es necesario para mantener grupos sulfhidrilo en su estado reducido, lo que mantiene la integridad de la hemoglobina y del citoesqueleto. Existe un proceso de reducción que oxida al glutatión (GSSG) el cual a su vez es reducido nuevamente a GSH mediante valores adecuados de NADPH.

La falla para mantener el poder reductivo a través de valores GSH o NADPH produce oxidación de los grupos -SH de la hemoglobina seguido por una desnaturalización y precipitación de la hemoglobina en forma de cuerpos de Heinz que se conocen como "células mordidas" en sangre periférica, esta precipitación se puede ocasionar por un déficit enzimático que origina una hemoglobina inestable que se desnaturaliza fácilmente. (Mckenzie, 2000; Ciesla, 2014; Gargani, 2013)

4.4.5.3 VÍA DE LA METAHEMOGLOBINA REDUCTASA

Se trata de una vía alterna a la vía Embden Meyerhof esencial para mantener el hierro hem en el estado ferroso reducido (Fe^{+2}) para que el oxígeno pueda ser entregado a los tejidos.

La metahemoglobina reductasa, es dependiente de la reducción de NAD a NADPH producido por la vía Embden Meyerhof que protege al hierro hem de la oxidación, si no hay NADPH, la metahemoglobina se acumula en el eritrocito.

Sin este sistema 2% de la metahemoglobina formada todos los días al cabo del tiempo se eleva de 20 a 40% limitando gravemente la capacidad transportadora de oxígeno, debido a que la metahemoglobina no se puede combinar con el oxígeno en la sangre.

Medicamentos oxidantes pueden interferir con la metahemoglobina reductasa y producir valores aún más elevados de metahemoglobina la cual puede provocar cianosis. (Mckenzie, 2000; Ciesla, 2014; Gargani, 2013)

4.4.5.4 VÍA DE RAPOPORT LUEBERING

Solo el 15 a 25% de la glucosa que pasa a través de la vía glucolítica entra en esta vía, el ciclo de rapoport luebering es parte de la vía Embden Meyerhof, esta vía evita la formación de 3- fosfoglicerato y ATP a partir del 1,3-difosfoglicerato (1,3-DPG), en lugar de esto 1,3-DPG forma 2,3 difosfoglicerato catalizado por una mutasa y DPG sintetasa. Por tanto, el eritrocito sacrifica uno de sus dos pasos en la producción de ATP para formar 2,3 DPG, el DPG se une con fuerza a la desoxihemoglobina, manteniendo a la hemoglobina en estado desoxigenado facilitándose la liberación de oxígeno.

El incremento en la concentración de BPG facilita la liberación de oxígeno a los tejidos mediante la disminución en la afinidad de la hemoglobina para el oxígeno. De esta manera el eritrocito cuenta con un mecanismo interno para la regulación del aporte de oxígeno a los tejidos. (Mckenzie, 2000 ; Gargani, 2013)

4.5 MEMBRANA ERITROCITARIA

4.5.1 CARACTERÍSTICAS DE LA MEMBRANA ERITROCITARIA

La fácil accesibilidad al eritrocito humano ha permitido que se convierta en la membrana biológica con más profundidad en estudios, por lo que los eritrocitos son células sobre las que está disponible una información más detallada concerniente a la estructura y la función normal de su membrana y sobre la patología molecular de las alteraciones debidas principalmente a una anomalía en la membrana o en la estructura del citoesqueleto. (Mckenzie, 2000; Kaushansky et al, 2015)

Algunos estudios realizado por Gorter & Gren en 1925 sobre membranas biológicas determinaron el valor del área ocupada por los lípidos extraídos a partir de la membrana plasmática de eritrocitos en el cual se encontró que el valor correspondía al doble de la superficie calculada para un número conocido de estas células, asumiendo una forma discoidal para ellas, lo cual le permitió acertar que la membrana de los eritrocitos está constituida por una bicapa de lípidos con espesor de 5 – 6 nm que fue reafirmada en la teoría unitaria de Robert, la cual establecía que las membranas biológicas están constituidas por una bicapa lipídica. (Meza et al., 2010)

Para que un eritrocito desarrolle sus funciones esenciales manteniendo una vida útil y exitosa necesita de una membrana intacta normal, la membrana del eritrocito mantiene una tensura (liso sin arrugas) exterior que permite a los eritrocitos no adherirse a las células endoteliales o agregarse ocluyendo la microcirculación, así mismo la

membrana captura a los reductores que se necesitan para prevenir la corrosión por el oxígeno.

La membrana del hematíe y su esqueleto proporcionan la flexibilidad, la duración y la fuerza de tensión del eritrocito para soportar grandes deformaciones que le permiten a la célula cambiar de forma geométrica al pasar por los estrechos capilares del bazo, permaneciendo el área de su superficie constante. Así mismo cualquier alteración en la deformabilidad del eritrocito permite ser destruida por los macrófagos. (Mckenzie, 2000; Kaushansky et al, 2015)

Las interacciones horizontales de las proteínas del citoesqueleto entre sí como las interacciones verticales entre ellas y las proteínas integrales de la membrana son esenciales para la integridad y estabilidad de la membrana y para la capacidad de deformación de la célula. Por lo tanto, cualquier alteración cualitativa o cuantitativa de las proteínas de membrana se traduce en una menor capacidad de deformación del eritrocito y una relación superficie/volumen alterada, Así la morfología eritrocitaria puede variar según se produzca ganancia o pérdida de superficie o de volumen. (Kaushansky et al, 2015)

4.5.2 COMPOSICIÓN DE LA MEMBRANA ERITROCITARIA

La membrana del eritrocito constituye solo el 1% del peso total del eritrocito; no obstante desempeña un papel crucial en el mantenimiento de la integridad del eritrocito, es un complejo proteico bifosfolipídico, compuesto por tres elementos estructurales principales: 52% de proteína 40 % lípidos y 8% de carbohidratos, esta estructura química así como su composición controlan las funciones de transporte y flexibilidad de la membrana y determina las propiedades antigénicas, cualquier defecto en la estructura o alteración en la composición química logra alterar alguna o todas las funciones provocando la muerte prematura de la célula. (Tortora & Derrickson, 2006)

4.5.2.1 COMPOSICIÓN LIPÍDICA

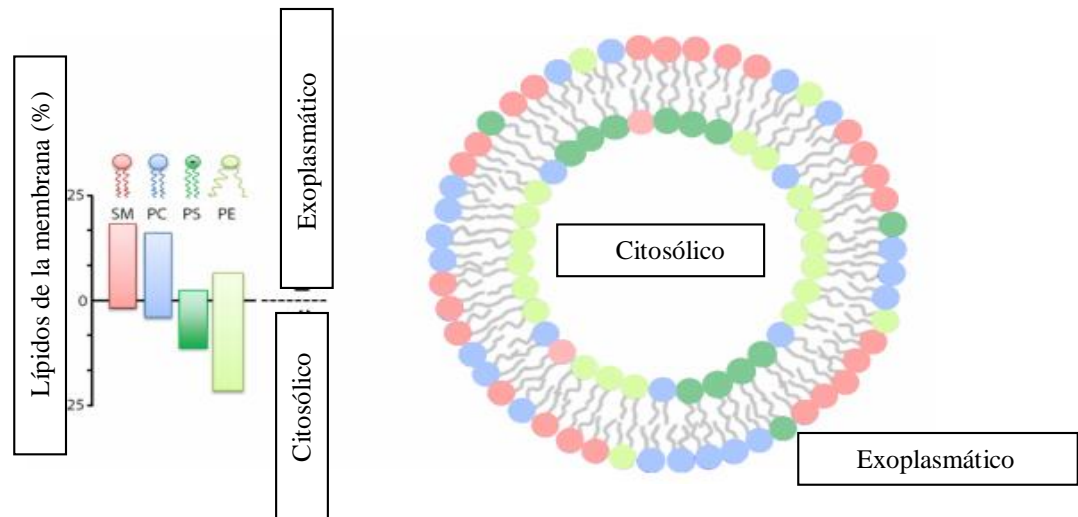
Los lípidos comprenden del 50% al 60% de la masa de la membrana del hematíe, aproximadamente 95% del contenido lipídico de la membrana está constituido de fosfolípido, el restante lo constituyen los glucolípidos y el colesterol. (Kaushansky et al, 2015)

La bicapa lipídica en la que están incluidas las proteínas, junto con el esqueleto de la membrana subyacente proporcionan una membrana fuerte y flexible para que el glóbulo rojo realice sus tareas en la circulación, la composición molecular de los lípidos de la membrana se mantiene bien durante la vida del glóbulo rojo, sin embargo cualquier alteración conducirá a una disfunción de la membrana y pérdida de viabilidad celular, a pesar de su baja abundancia, estas moléculas tienen funciones fisiológicas distintas e importantes. (Kuypers, 2008)

Las membranas plasmáticas incluyen en la monocapa externa a los fosfolípidos esfingomielina, (SM) y fosfatidilcolina (PC) mientras que la mono capa interna se encuentra formada por la fosfatidiletanolamina (PE), la fosfatidilserina (PS) y fosfatidilinositol (PI), en tanto que el colesterol (Col) se encuentra en ambas capas de la membrana pero aparentemente en eritrocitos humanos el 50% a 60% reside en la monocapa interna. (Marquardt, Geier & Pabst, 2015) ver **Figura 10**.

Figura 10

Lípidos de la Membrana Eritrocitaria



Nota. Distribución de fosfolípidos en glóbulos rojos humanos de acuerdo a proporción. (Marquardt, Geier & Pabst, 2015)

La fosfatidilserina es uno de los elementos críticos para la función de la membrana celular, interviene en interacciones electrostáticas no específicas de la cara interna de la membrana, su presencia en la cara externa permite el paso de mensajes moleculares desde el exterior al interior de la célula y actúa como señal de comunicación entre diferentes células, entre otras funciones este fosfolípido es importante para regular las acciones de las proteínas de la membrana. (Berdonces, 1999)

La esfingomielina es un tipo de esfingolípido importante componente estructural de la membrana, abunda en la cara externa de la membrana interviniendo en la señalización celular y regulan la dinámica de las membranas biológicas. (Sánchez & Díaz, 2006)

La fosfatidiletanolamina es el componente básico de la cara interna de la membrana, actúa durante el ensamblaje de las proteínas de la membrana guiando su plegamiento y facilitando su transición desde el entorno del citoplasma a la membrana plasmática.

La fosfatidilcolina es el fosfolípido más abundante en las membranas de las células encontrándose en la cara externa de la membrana, también forma parte de las lipoproteínas plasmáticas actuando como molécula de señalización, mientras que la fosfatidilinositol es un fosfolípido ácido que en su forma es un ejemplo de anclaje lipídico. (Mckenzie, 2000; Kaushansky et al, 2015)

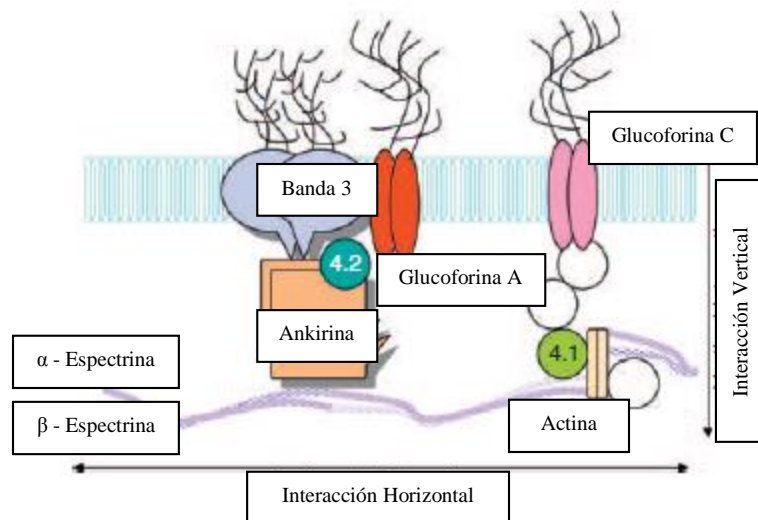
4.5.2.2 COMPOSICIÓN PROTEÍCA

La membrana eritrocitaria a parte de constituir una bicapa lipídica contiene numerosas proteínas que atraviesan la membrana una o más veces, dentro de estas proteínas encontramos proteínas periféricas, integrales y proteínas de unión que vinculan la membrana plasmática con la red de filamentos proteicos que dan la forma característica de discos bicóncavos al glóbulo rojo, una proteína esquelética compleja comprende la Espectrina α y β , anquirina, proteína 4.1, proteína 4.2 (palidina) y actina.

Las proteínas del esqueleto de membrana interactúan con la membrana integral banda 3 y glicoforina C para proporcionar integridad, deformabilidad y estabilidad de los eritrocitos, no es raro encontrar que los defectos en este citoesqueleto eritrocitario están relacionados con formas celulares defectuosas, estabilidad anormal y anemia hemolítica. (Garrote et al, 2012; Herrera & Estrada. 2002) ver **Figura 11**.

Figura 11

Proteínas de la Membrana Eritrocitaria



Fuente. Garrote et al, 2012

La banda 3 representa el 25 % del total de las proteínas integrales, está constituida por 2 dominios estructurales: un primer dominio es el citoplasmático, que es el encargado de la unión con las proteínas del citoesqueleto. La unión con la anquirina es uno de los mecanismos críticos para anclar el citoesqueleto a la membrana plasmática, este dominio es muy pequeño y se desconoce su función pero se cree que el interdominio que se une a este punto de fijación puede ser un determinante crucial de la flexibilidad o rigidez del hematíe. (Cabrera, 2008; Garrote et al, 2012)

Un segundo dominio es el transmembranoso que constituye el llamado canal aniónico, juega un papel importante en el transporte eficiente de gases respiratorios en la sangre, mantiene el contacto con el medio extra e intracelular, proporcionando los canales responsables del transporte e intercambio de aniones bicarbonato (HCO_3^-) y cloruros (Cl^-) en el hematíe de iones, este proceso apoya el transporte de CO_2 y la liberación de O_2 en los tejidos por lo que tienen que ver con el volumen y la

osmolaridad celular. Además los anticuerpos que se producen naturalmente en la banda 3 modificados por oxidación pueden ser responsables también de la eliminación de eritrocitos envejecidos. (Herrera & Estrada, 2002; Daniels, 2007; Kaushansky, et al 2015)

La Espectrina es la proteína más abundante y larga de las que conforman el esqueleto de la membrana. Está formada por subunidades α y β , que aunque tienen semejanzas, son estructuralmente diferentes. Estos tetrámeros compuestos de las repeticiones múltiples, suministran un filamento fuerte y elástico que interviene de manera decisiva en la forma y resistencia de la membrana.

Además, la Espectrina regula la movilidad lateral de las proteínas de membrana, garantiza el soporte estructural para la bicapa lipídica y se une a la actina y a la proteína 4.1 mediante secuencias repetitivas. (Garrote et al, 2012)

Las glicoforinas son las glicoproteínas más abundantes del eritrocito son un grupo de proteínas integrales caracterizadas por su elevado contenido en ácido siálico, tienen una característica similar a la banda 3.

Las glicoforinas A, B, C y D son las más importantes y constituyen los sustratos antigénicos de los diferentes grupos sanguíneos. Las glicoforinas A y B contribuyen con más del 90% de ácido siálico de la membrana eritrocitaria que es el compuesto que confiere la carga negativa a la superficie de los eritrocitos, lo cual modula las interacciones entre eritrocito y eritrocito y eritrocito- endotelio, gracias a ello no se adhiere a las células del endotelio vascular. (Cabrera, 2008)

La glicoforina C contribuye a la estabilidad de la membrana gracias a su interacción con proteínas periféricas, además de participar en el intercambio iónico transmembranoso. La glicoforina D tiene gran importancia funcional ya que se une a la proteína 4.1 constituyendo un importante punto de anclaje del esqueleto de la membrana a la bicapa lipídica. (Herrera & Estrada, 2002; Sans-Sabrafen, 2006)

La ankirina garantiza la unión al esqueleto de membrana mediante su relación con la espectrina y su contribución a la integridad de la membrana es decisiva, ya que constituye un importante punto de anclaje a la doble capa lipídica a través de la banda 3. Las interrupciones de alguna de estas vías de unión provocan inestabilidad en la membrana. (Garrote et al, 2012; Herrera & Estrada, 2002)

La proteína 4.2 une diferentes proteínas: la banda 3, la proteína 4.1 y la ankirina. Su principal función es estabilizar la asociación del complejo espectrina-actina-ankirina con la banda 3.2. También protege el esqueleto de la membrana del envejecimiento prematuro mediante la unión del calcio y otros cofactores que normalmente activan las transglutaminasas en el hematíe. (Garrote et al, 2012)

La actina es una proteína organizada en forma de protofilamentos helicoidales estabilizados por interacciones con la Sp, proteína 4.1 y la tropomiosina. (Herrera & Estrada, 2002)

4.6 ERITROCITOSIS

4.6.1 DEFINICIÓN

La eritrocitosis se caracteriza en términos absolutos por un aumento de la masa eritrocitaria en la sangre circulante por encima de los parámetros normales establecidos en cada región y se encuentra asociado a un incremento de la Hemoglobina y Hematocrito. (Amaru et al, 2013)

4.6.2 PREVALENCIA

En Bolivia, alrededor de 2.000.000 habitantes residen en las ciudades de La Paz y El Alto, de las cuales se considera que existen más de 150.000 personas con Eritrocitosis Patológicas. (Amaru & Vera, 2016)

La prevalencia de esta enfermedad difiere de acuerdo a la región, el tiempo de residencia y la altura de radicatoria, evidenciándose de esta forma un prevalencia del 1.2% en Tibetanos Nativos, 5.6 % en los Chinos Han, 7% en nativos de la ciudad de La Paz, Bolivia (3.600 – 4.000 msnm) y 15.6 % en los habitantes de la cordillera de Los Andes. (Amaru et al, 2013)

4.6.3 INCIDENCIA

La incidencia de las Eritrocitosis Patológicas en la región andina varía de acuerdo a la población, ocupación y lugar de residencia, por ejemplo en las ciudades de La Paz y El Alto (3.600 y 4.000 msnm) se considera una incidencia del 10% de la población. (Amaru & Vera, 2016)

4.6.4 CLASIFICACIÓN DE LAS ERITROCITOSIS

Las eritrocitosis de importancia clínica en habitantes de grandes alturas se clasifican en: Eritrocitosis Patológica de Altura (EPA), Eritrocitosis Primaria o Policitemia Vera (PV) y Eritrocitosis Secundaria (ES).

De acuerdo a estudios realizados por Amaru et al, de todas las eritrocitosis patológicas observadas en la consulta externa, el 9% corresponden a EPA, 1% a PV y 90% a ES, probablemente estas 3 eritrocitosis comprenden el 99% de todas las Eritrocitosis Patológicas adquiriendo una gran importancia clínica por ser propias de los habitantes en grandes alturas, cada una de las diferentes Eritrocitosis Patológicas (EPA, ES, PV) tienen una etiopatogenia específica. (Amaru et al, 2013)

4.6.4.1 ERITROCITOSIS PATOLÓGICA DE ALTURA

La EPA es el resultado de una adaptación genética inadecuada por la exposición indefinida a alturas superiores a 2.500 msnm como se sitúan las zonas andinas, donde los progenitores hematopoyéticos de la médula ósea presentan una hipersensibilidad a la eritropoyetina, seguida de una eritropoyesis incrementada. (Amaru & Vera, 2016)

De acuerdo a estudios realizados la EPA constituye el 9% de las eritrocitosis en consulta médica, cuyos pacientes presentarían valores de Hb: 20,2 g/dl (Hto: 62,1%). La Eritrocitosis Patológica de Altura (EPA) es la manifestación hematológica de Enfermedad Crónica de Montaña, presente en sujetos que viven en alturas superiores a 2.500 msnm. (Amaru et al, 2013)

4.6.4.2 ERITROCITOSIS PRIMARIA

La eritrocitosis primaria o Policitemia Vera, está caracterizada por un aumento patológico de la masa eritrocitaria que es inversamente proporcional a la eritropoyetina sérica, la cual se encuentra disminuida o normal, constituye el 1% de las eritrocitosis en consulta médica, estudios por Amaru et al. evidenciaron valores de Hb: 20,3 g/dl (Hto: 63,4%) para una eritrocitosis primaria, siendo considerada una verdadera enfermedad oncohematológica, existen dos tipos de eritrocitosis primarias congénita y adquirida. (Amaru et al, 2013)

4.6.4.2.1 ERITROCITOSIS PRIMARIA ADQUIRIDA

La eritrocitosis primaria adquirida es caracterizada por un aumento de los eritrocitos debido a una proliferación neoplásica (tumoral) de una estirpe celular, derivados de un solo clon y probablemente de una única stem cell. (Merlo, 2009)

Las complicaciones de esta enfermedad se deben sobre todo a la hiperproducción de hematíes, estos se incrementan independientemente del control normal de la eritropoyetina sérica, de la cual no se evidencia alteración en su concentración, encontrándose dentro de los valores normales, es por ello que se cree que el defecto básico en esta enfermedad es un cambio de la constitución genética de esta célula, la cual se debe a una mutación del gen JAK2, por esta razón el número de eritrocitos aumenta enormemente sin control, desencadenando un aumento de la viscosidad sanguínea en el paciente, provocando un esfuerzo cardíaco y aumento en la tensión arterial, que conllevan a fenómenos de trombosis periférica. (Pueyo & Bello, 2011; Amaru, 2013)

La elevación de las plaquetas y los leucocitos junto a la eritrocitosis, orientan hacia el diagnóstico de policitemia vera, lo que sugiere que esta proliferación anormal no está limitada a la línea eritroide y muchos pacientes acaban presentando neoplasias mieloproliferativas.

La edad media de los pacientes con diagnóstico de Policitemia Vera es de 60 años, aunque puede ocurrir en personas de todas las edades, también se pudo evidenciar que la PV se produce con un ligero predominio en los hombres, la mediana de supervivencia en los pacientes sintomáticos sin tratamiento después del diagnóstico es de 6 a 18 meses, con tratamiento la supervivencia media es de más de 10 años. (Tinajero, 2014)

4.6.4.2.2 ERITROCITOSIS PRIMARIA CONGÉNITA

Esta patología está presente desde que el individuo nace y se puede desarrollar en la niñez o adultez de la persona, en la eritrocitosis primaria congénita no se evidencia la mutación del gen JAK2, se debe en si a cambios en la línea germinal del DNA como las mutaciones en el gen del receptor de la eritropoyetina (EPO-R) y mutaciones hereditarias recesivas del gen VHL en la policitemia de Chuvash. (Amaru, 2013)

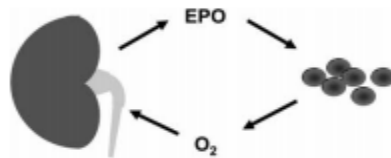
4.6.4.3 ERITROCITOSIS SECUNDARIA

En una eritrocitosis secundaria, la producción de EPO es la encargada de impulsar la producción de glóbulos rojos. Hay muchas causas de eritrocitosis secundaria algunas producidas por razones de escasez de oxígeno, como vivir a gran altitud o fumar mucho y otras producidas por defectos genéticos raros que intervienen en las rutas de proteínas que detectan los niveles de oxígeno conduciendo a una mayor producción de EPO. (Maney & Son, 2014).

El sitio principal de producción de EPO son las células intersticiales peritubulares y células mesangiales del riñón en el adulto y el hígado es el órgano eritropoyético secundario que la produce en el feto. (Peñuela & Gómez, 2010) Ver **Figura 12.**

Figura 12

Producción de EPO en Eritrocitosis Secundaria



Nota. Los niveles de oxígeno (O₂) son detectados por el riñón que en respuesta a la falta de O₂ secreta eritropoyetina (EPO) en la circulación. Esta hormona impulsa la producción de glóbulos rojos. (Maney & Son, 2014)

Constituye el 90% de todas las eritrocitosis en consulta médica, los diagnósticos evidencian valores de Hb:22,9 g/dl (Ht:70,7%), la Eritrocitosis Secundaria representa la consecuencia de patologías asociadas al aumento de la eritropoyetina sérica como las patologías cardiopulmonares, Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC), obesidad, síndrome metabólico, Síndrome de Apnea Obstructiva del Sueño y cardiopatías, la eritrocitosis secundaria también se subclasifican en adquiridas, como en las patologías cardiopulmonares; y congénitas, como en las cardiopatías congénitas. (Amaru et al, 2013)

4.6.4.3.1 ERITROCITOSIS SECUNDARIA ADQUIRIDA

Entre las causas para el desarrollo de una Eritrocitosis Secundaria adquirida destacan las producidas por procesos que cursan con hipoxia central, como en personas que viven a grandes alturas (> 2500 m de altitud), en quienes la hipoxia funciona como un estímulo para la producción de eritropoyetina con el consiguiente aumento de la masa eritrocitaria que supera la respuesta fisiológica normal y produce síntomas, cuadro

denominado mal de montaña crónico (MMC) o enfermedad de Monge. (Torrez et al., 2013)

4.6.4.3.2 ERITROCITOSIS SECUNDARIA CONGENITA

Entre las formas congénitas de la Eritrocitosis Secundaria se observan en las mutaciones del receptor de eritropoyetina, que resultan en un efecto aumentado de la eritropoyetina o mutaciones en el gen von Hippel - Lindau, que resulta en una alteración de la detección del oxígeno intracelular. Otra causa rara es la deficiencia de ácido 2,3-difosfoglicerico (2,3-DPG), que conduce a una desviación a la izquierda de la curva de disociación de oxígeno, aumento de la afinidad por el oxígeno y policitemia. (Cario, 2005)

4.7 ASPECTOS GENERALES DE DONACIÓN DE SANGRE

4.7.1 CLASIFICACIÓN DE DONANTES DE SANGRE

El donante de sangre es aquel que hace posible una transfusión sanguínea, es constituido como el primer eslabón que determina la eficiencia de este proceso, sujeto a controversias debido a los efectos adversos que pueden estar asociados con él, pero hasta ahora es de vital importancia porque aún no ha podido ser remplazado por ningún otro tipo de terapia. (García, Saenz & Cruz, 2003)

A pesar de que la mayoría de los reglamentos nacionales citan y reconocen la importancia de la donación voluntaria de sangre, en América Latina hay tres tipos de donantes de sangre, donantes de reposición, donantes remunerados y donantes altruistas.

4.7.1.1 DONANTES DE REPOSICIÓN

Este tipo de donantes constituyen el porcentaje más elevado del total de donantes por lo general tienden a ser familiares o amigos que donan sangre al no existir donantes voluntarios.

Sin embargo existen algunas desventajas a este respecto, como que los familiares fuera del estrés por el que cursan y por ello deben preocuparse en conseguir donadores de sangre, por otro lado el familiar se puede sentir obligado a donar sangre y debido a que se encuentra vigilado puede omitir datos que sean positivos para enfermedades infecciosas, además en algunas ocasiones la familia exige que la sangre donada sea la misma que se transfunda al paciente, condicionando problemas administrativos y posibles errores de tipificación razón por la cual la Organización Mundial de la Salud prohíbe esta práctica. (Vargas, 2014)

4.7.1.2 DONANTES REMUNERADOS

Son aquellos que reciben retribución puede ser monetario de otra índole como pago por la sangre, esta sangre no es idónea pues debido a que las personas que realizan esta práctica generalmente pertenecen a niveles socioeconómicos muy bajos, existe una gran probabilidad de que sean personas con niveles de desnutrición o incluso de enfermedades infecciosas o algún tipo de patología, además por ser donadores habituales puede que realizan esta práctica con mucha más frecuencia de la aconsejada violando los periodos de tiempo recomendados entre una y otra donación, causando daño tanto al receptor como al donador y por ultimo esta práctica impide que personas de bajos recursos tengan acceso a este servicio. (Hernández et al, 2000; Vargas, 2014).

4.7.1.3 DONANTES ALTRUISTAS

Son personas cuya única intención es salvar la vida de alguien, sin ninguna retribución y por consiguiente cumple con las siguientes ventajas:

- Al no estar obligados, suelen cumplir con los criterios de donación de sangre segura.
- Están dispuestos a donar sangre con regularidad lo que permite el abastecimiento adecuado de los bancos de sangre.
- En general no padecen infecciones transmisibles.
- Suelen responder a llamadas de donantes durante las emergencias. (Vargas, 2014).

El donante de sangre debe ser ante todo un individuo que voluntariamente y de forma altruista está en disposición de brindar su sangre o algunos de sus componentes para ser empleados en enfermos que lo necesitan una reposición, se ha demostrado que una alta población de donantes voluntarios está asociada con una baja tasa de transmisión de los agentes infecciosos que suelen vincularse con la transfusión. (Hernández et al, 2000)

Es en ese marco de la Organización Panamericana de la Salud expresa que debe ser una tarea de todos los países la promoción de sangre segura a partir de donaciones voluntarias altruistas y frecuentes y que este sea un indicador de desarrollo humano. (Vargas, 2014).

4.7.2 CARACTERÍSTICAS BÁSICAS DE SANGRE APTAS PARA DONACIÓN

4.7.2.1 NIVEL DE HEMOGLOBINA / HEMATOCRITO

Es recomendable hacer un hemograma de una muestra de sangre venosa, en aquellos donantes que no pasan la prueba de cribado para obtener una información más completa del estado del donante. En cada donación de sangre total o de componente sanguíneo debe determinarse la hemoglobina y/o el hematocrito del donante. (Madoz & Arrieta, 2006)

Los niveles de Hemoglobina y Hematocrito pueden presentar una variación de acuerdo a diferentes factores como género, edad, lugar de residencia, ingestión y absorción de alimentos, reservas de hierro así como pérdidas de sangre en el individuo.

En los donantes de sangre la concentración de hemoglobina o del hematocrito debe ser suficiente para permitir que el volumen extraído no induzca alguna alteración en el donante y para garantizar que la unidad de glóbulos rojos preparada para la transfusión tenga una adecuada cantidad de hemoglobina transportadora de oxígeno. (OPS, 2009)

Los niveles referidos han sido escogidos en primer lugar, como una medida de seguridad para evitar que personas con anemia ferropénica o de otra etiología donen sangre y en segundo lugar, para garantizar que la unidad de hematíes tenga una cantidad de hemoglobina adecuada para transfusión, es importante mencionar que la anemia generalmente está referida como una deficiencia en la hemoglobina. (Madoz & Arrieta, 2006)

El género y las condiciones físicas del donante, así como la altitud sobre el nivel del mar del lugar de residencia del donante, deben ser considerados cuando se evalúan los niveles de hemoglobina o hematocrito aceptables para la donación, siendo así que los

niveles mínimos aceptables para un donante de sangre en nuestro país se describen en la **Tabla 5** (Escobar et al, 2007).

Tabla 5

Valores mínimos de hemoglobina y hematocrito de un donante de sangre en Bolivia

REGIÓN	m.s.n.m	Hto	Hb
Trópico	Hasta 500	36%	12.0 g/dL
Valle	2.600	43%	14.0 g/dL
Altiplano	a 3.600	46%	15.0 g/dL

Fuente: Escobar et al, 2007

4.7.2.2 ERITROCITOSIS PRIMARIA EN DONACIÓN

Los Criterios Diagnósticos de la Organización Mundial de la Salud incluyen:

- 1) niveles de hemoglobina mayores que 16,5 g/dL para las mujeres y 18,5 g/dL para los hombres; o 15 g/dL en mujeres y 17 g/dL en hombres si se asocia a una elevación sostenida de por lo menos 2 g/dL sobre el nivel basal de hemoglobina, cuyo incremento no pueda ser atribuido a la corrección de deficiencia de hierro.
- 2) La presencia de una mutación en el gen Janus Kinase 2. Los pacientes con policitemia vera sufren complicaciones trombóticas y hemorrágicas – sangrado oral, gastrointestinal, y hemoptisis son signos comunes.

La elevación de la masa de glóbulos rojos incrementa la capacidad de transporte de oxígeno y la viscosidad de la sangre.

El manejo clínico de pacientes con policitemia vera incluye la prevención de trombosis mediante el uso de bajas dosis de aspirina y las flebotomías frecuentes para

mantener el hematocrito por debajo de 42% en mujeres y 45% en hombres, frecuentemente, los pacientes con policitemia ofrecen su sangre para ser transfundida.

Por lo tanto recomendación de la OPS: Los individuos con policitemia vera no deben ser aceptados como donantes debido a que su exceso de células sanguíneas es manifestación de una enfermedad mieloproliferativa. (OPS, 2009)

4.7.2.3 FLEBOTOMÍA EN PACIENTES CON ERITROCITOSIS

El proceso de flebotomía es un procedimiento que se realiza en pacientes con elevada concentración de glóbulos rojos como en el caso de los pacientes que presentan eritrocitosis, la sangre extraída no es utilizada por el homocentro, esta se desecha mediante tratamiento químico terminado el proceso. (Tinajero, 2014)

La donación de pacientes eritrocíticos es muy controversial al presentar ventajas y desventajas en su proceso, en algunos casos la sangría al mismo tiempo que reduce la masa eritrocitaria modifica la volemia y origina en consecuencia y sin que inicialmente varíe el índice de hematocrito notables cambios en las condiciones cardiovasculares del enfermo, estos cambios en general inofensivos en los individuos jóvenes, pueden ser peligrosos en individuos de la tercera edad, en especial si padecen algún tipo de cardiopatía.

Dentro de los criterios más utilizados está el índice de hematocrito, aunque no existe unanimidad absoluta, la mayoría de los autores no duda en indicar la flebotomía (sangría) cuando este índice supera un 60 %, algunos la recomiendan incluso, sobre todo para las mujeres, a partir de un 55 %, no es posible tampoco precisar con exactitud cuál es, en cada caso, el índice de hematocrito óptimo y por tanto, cuál debe ser el volumen apropiado de sangre a extraer y en correspondencia, cuál el índice de hematocrito a alcanzar. (Alvarez & Sala, 1989)

Pese a ello algunos autores indican que se deben extraer 350 a 500 ml una o dos veces por semana hasta lograr llegar al hematocrito ideal no mayor al 45% en el hombre y del 42% en la mujer, los mismos deben ser controlados periódicamente, está demostrado que con estas cifras de hematocrito la incidencia de fenómenos trombóticos se reduce significativamente, pero no se logra eliminar totalmente. (Tinajero, 2014)

La repetición de las flebotomías suele producir una ferropenia, los hematíes microcíticos tienen una viscosidad intrínseca mayor y son menos deformables que los normales. Por este motivo, en los enfermos con una eritrocitosis secundaria hipóxica, la deficiencia iatrógena de hierro agrava la hiperviscosidad sanguínea y empeora, para un mismo índice de hematocrito y la oxigenación de los tejidos. (Alvarez & Sala, 1989)

4.7.2.4 FRAGILIDAD OSMÓTICA DE LOS ERITROCITOS

La fragilidad osmótica de los eritrocitos es uno de los métodos de investigación más antiguos cuyo principio se basa en la medición de la relación superficie/volumen mediante el grado o proporción de hemólisis que ocurre cuando una muestra de los glóbulos rojos se somete a estrés osmótico produciendo cambios estructurales característicos en la membrana de los eritrocitos. (Charles et al, 2018)

Las dos principales funciones de la membrana son el mantenimiento de la integridad estructural y el control de la permeabilidad catiónica, Por lo tanto, cualquier alteración cualitativa o cuantitativa de las proteínas de membrana se traduce en una menor capacidad de deformación del eritrocito y una relación superficie/volumen alterada, estos cambios producidos en la membrana harán que los glóbulos rojos sean frágiles y aumenten la fragilidad osmótica y los cambios en el desequilibrio electrolítico, por lo que la morfología eritrocitaria puede variar según se produzca ganancia o pérdida de superficie o de volumen. (Donato et al, 2015 & Charles et al, 2018)

El glóbulo rojo normal tiene forma de disco bicóncavo “pelota desinflada”, esto permite que la célula aumente su volumen hasta un 70% antes de que la membrana se estire; una vez superado este límite ocurre la lisis. (Lazarte et al. 2012) En estas condiciones de forma bicóncava la membrana no se encuentra tensionada, es altamente deformable y mantiene un estado de mínima energía, que proporciona una relación superficie/volumen máxima, sin embargo una disminución de la relación superficie/volumen da lugar a que la membrana sea menos deformable y se vuelva más esférica siendo más susceptible a la lisis. (Donato et al, 2015; Herrera & Estrada 2012)

Cuando la célula enfrenta un ambiente hipotónico se genera un movimiento neto de agua libre hacia su interior. Según el grado de hipotonicidad y la capacidad de la membrana para mantener su integridad, la célula se hincha y estalla permitiendo, en el caso de los eritrocitos, la salida de hemoglobina. (Alonso et al. 2015)

La fragilidad osmótica en los eritrocitos puede verse influenciada por dos tipos de factores, los factores intrínsecos como la edad, el sexo, la raza, especie, fenotipo, género, factores genéticos, y diferencias en la composición de la membrana eritrocitaria, como los factores extrínsecos en el que se incluyen el tipo de fuerza iónica, el pH de incubación o solución isotónica, el tipo de anticoagulante y tiempo de almacenamiento de la sangre, así como la temperatura o agentes químicos que se utilicen. (Igbokwe, 2018)

4.7.2.4.1 OSMOLARIDAD Y TONICIDAD

El desplazamiento del agua entre los espacios intra y extracelular, está determinada por la diferencia de concentración de solutos suficientemente activos a cada lado de las membranas celulares. La osmolaridad es el número de partículas por unidad de volumen de una solución. Esta se relaciona directamente con la concentración molar

de todos los solutos y con el número de partículas en las que se disocian en dicha disolución. Viene medida en miliosmoles por litro de agua (mOsm/L)

Las principales determinantes de la osmolaridad plasmática son el sodio, la glucosa y la urea. Cuando la osmolaridad de un compartimiento disminuye, el agua se desplaza al compartimiento de mayor osmolaridad, con el fin de igualar las diferencias de osmolaridad, ver **Anexo 8-9**. (Berne & Levy, 2009)

La tonicidad es un término fisiológico para describir cómo afecta una solución al volumen celular. Es una medida de la osmolaridad del agua a través de una membrana semipermeable, y viene determinada por la concentración de solutos no difusibles (no penetran libremente al interior de la célula) que son capaces de producir un gradiente osmótico responsable del movimiento de agua entre el LIC y LEC, y por lo tanto, del cambio de tamaño celular, para su determinación ver **Anexo 10** (Dvorkin, Cardinali & Lermoli, 2003).

Tabla 6

Valores de la Osmolaridad y tonicidad de acuerdo a concentraciones salinas hipotónicas.

Conc (%)	mOsmol/L	Tonicidad
0.9	308	1,06
0.7	239	0,82
0.6	205	0,71
0.5	171	0,59
0.47	161	0,56
0.45	154	0,53
0.37	126	0,43
0.3	102	0,35
0.2	68	0,23
0	0	0

Fuente: Elaboración propia

4.7.2.4.2 LESIÓN DE ALMACENAMIENTO

En la actualidad, los procedimientos de almacenamiento de bolsas de sangre en bancos de sangre requieren algunas condiciones para garantizar el tiempo máximo de almacenamiento para un suministro de sangre saludable y seguro. Sin embargo, las consecuencias patológicas pueden afectar la sangre almacenada, a lo que se denominan lesiones de almacenamiento. (Charles et al, 2018)

Las soluciones de aditivos aprobadas por la FDA están compuestas de solución salina soluciones que contienen tampones de citrato y fosfato, así como glucosa y adenina para complementar el metabolismo de los eritrocitos. Estas técnicas aumentarían la vida útil de los eritrocitos hasta 42 días, lo que aumenta significativamente la eficiencia de la sangre. (Chang et al, 2016)

Una bolsa de sangre puede ser usada para la transfusión con un mínimo del 70% de supervivencia de los eritrocitos 24 horas después de ser transfundidos, estudios con CPDA-1 (Citrato – Fosfato – Dextrosa - Adenina) una solución anticoagulante que contiene más glucosa que el CPD (Citrato – Fosfato – Dextrosa), demostraron una supervivencia de aproximadamente 80% de los eritrocitos en periodos prolongados de tiempo. Sin embargo una vez realizada la flebotomía al donador, en la sangre recolectada se inicia una serie de cambios que alteran sus propiedades fisiológicas por lo que se establece que a fin de que el eritrocito pueda sobrevivir a todo esto la membrana del eritrocito debe poseer un alto grado de adaptabilidad con el fin de resistir estas demandas. (Escamilla, 2010)

La forma de los glóbulos rojos influye principalmente en la resistencia de los glóbulos rojos a la hemólisis, en el caso de los glóbulos rojos viejos almacenados durante 42 días, pierden la morfología normal de la forma discoide y progresan a

esferocitos, con una disminución de la relación superficie/volumen, lo que da lugar a una alta fragilidad osmótica con un aumento respectivo de la hemólisis.

Los cambios bioquímicos como la reducción de la concentración de ATP y el aumento de calcio pueden contribuir a aumentar la rigidez de los glóbulos rojo, también es probable que se la energía afecte el equilibrio de potasio pudiendo encontrarse niveles extracelulares elevados de este elemento, entonces estas células tendrán una viabilidad disminuida porque son inflexibles al no poder pasar a través de los pequeños vasos sanguíneos. (Charles et al, 2018; Chang et al, 2016)

5 ANTECEDENTES

El estudio de fragilidad osmótica de los eritrocitos permite evaluar las propiedades de las membranas citoplasmáticas y el efecto en el volumen intracelular, esta prueba es muy útil para el diagnóstico diferencial de anemias hemolíticas hereditarias caracterizadas por la destrucción acelerada de los eritrocitos. Sin embargo existen pocos estudios que evalúan la fragilidad de los eritrocitos en habitantes que desarrollan alguna de las Eritrocitosis Patológicas de Altura. (Alonso et al. 2015)

Un estudio realizado por el Instituto Boliviano de Biología de la Altura (IBBA) evaluó la fragilidad osmótica eritrocitaria de pacientes procedentes y residentes en la altura, en el estudio determinó que la lisis de los eritrocitos sometidos a presión osmótica decreciente de NaCl presenta una mínima variación con respecto a los resultados observados de sujetos que radican a nivel del mar. (Alanes, 2004)

En el estudio realizado por Balcázar et al, sobre fragilidad osmótica en habitantes de la ciudad de La Paz, se reportó que de 178 muestras analizadas los resultados de lisis de los eritrocitos sometidos a presión osmótica decreciente de NaCl los sujetos mostraron 3.91g% de lisis inicial y 2.85% de lisis final, con una mínima variación con

los resultados observados a nivel del mar que son de 4g% y 3g%. Tampoco se observó diferencia entre grupos etarios. (Balcazar et al, 1990).

La terapia transfusional en grandes alturas, es aún un campo en pleno desarrollo debido a los pocos estudios publicados sobre transfusión sanguínea de hemoderivados, en especial respecto de la transfusión de paquetes globulares de habitantes de altura con alto hematocrito que resulta de la adaptación o aclimatación al ambiente atmosférico de las grandes alturas caracterizado por la disminución de la presión barométrica, este aspecto ha permitido el desarrollo de mecanismos fisiológicos de adaptación hematológica y cardiopulmonar. (Dumer et al, 2012)

Actualmente los Bancos de Sangre de Bolivia, consideran a habitantes de altura (3600 a 4 100 msnm) con un Hto > 60% como donadores no aptos. Sin embargo, la literatura médica contiene pocas investigaciones sobre estudios de pacientes con hematocrito elevado como potenciales donadores de sangre para las transfusiones. La guía para estándares de trabajo para servicios de sangre del Ministerio de Salud y Deportes y el Programa Nacional de Sangre, estipula que los valores mínimos aceptables de Hb y/o Hto para un donante de sangre son de 12.0 g/dl – Hto 36% hasta 500 msnm (región del Trópico), 14.0 g/dl – Hto 43% a 2.600 msnm (región del Valle), y 15.0 g/dl – Hto 46% a 3600 msnm (región Altiplánica).

El rechazo a donantes con un Hto \geq 60%, supone un porcentaje de pérdida de donantes voluntarios. En el estudio de Escobar et al, 8% de donadores fueron excluidos por tener un Hto \geq 60%, esto supuso la eliminación de 286 personas de un total de 3477 durante el periodo de un año. (Escobar et al, 2007)

6 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En el Departamento de La Paz, la mayoría de las donaciones son por reposición y un número menor son realizadas por donantes voluntarios, lo que dificulta el acceso de hemoderivados y hemocomponentes a la población de paciente con requerimiento periódico de transfusiones, como son los pacientes oncológicos, esta inaccesibilidad conlleva muchas veces el fallecimiento del paciente. Actualmente la normativa de rechazo de donantes con hematocrito $> 60\%$ se produce por posible incremento de la fragilidad osmótica de los eritrocitos, lo que condiciona el rechazo de aproximadamente 8% de habitantes que desean realizar una donación voluntaria o por reposición.

Por ello, surge la necesidad de estudiar las características biológicas de los eritrocitos y/o plaquetas de habitantes de altura con hematocrito alto (Hto 60% -65%) y considerar su incorporación como donantes voluntarios, para la obtención de hemoderivados y de esta manera abastecer con una cantidad mayor de paquetes globulares para corregir las pérdidas de sangre que se da por diversos factores.

7 JUSTIFICACIÓN

Las transfusiones de sangre y sus componentes constituyen el tratamiento más utilizado para corregir las pérdidas de sangre agudas y crónicas, en todos los casos, la unidad de sangre donada por una persona el donante, es la que hace posible la transfusión sanguínea, por lo que se considera al donante como el primer eslabón que determina la eficiencia de este proceso. Sin embargo la posible fragilidad osmótica que se produce en los eritrocitos post transfusión de donantes con Eritrocitosis Secundaria, ha dado lugar al rechazo de este grupo de pacientes en los Bancos de Sangre de Bolivia, siendo considerados como donantes no aptos para una transfusión

sanguínea por presentar presentan un hematocrito $> 60\%$ que conllevaría a una fragilidad eritrocitaria incrementada..

De todas las Eritrocitosis Patológicas observadas en consulta externa el 90% corresponde a Eritrocitosis Secundaria, en la actualidad la literatura médica contiene pocas investigaciones que relacionen la fragilidad osmótica eritrocitaria con un hematocrito elevado, como es el caso de pacientes con Eritrocitosis Secundaria, es por tal motivo que el presente proyecto de investigación surge con la finalidad de poder ampliar el rango máximo de hematocrito 60-65% para la donación voluntaria de sangre y de esta forma incorporar a este grupo de pacientes como potenciales donadores de sangre para una transfusión.

8 HIPÓTESIS

La resistencia osmótica de eritrocitos obtenidos de paquete globular de pacientes con Eritrocitosis Secundaria es similar a los eritrocitos de paquetes globulares de donadores normales.

9 OBJETIVOS

9.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la resistencia osmótica de eritrocitos obtenidos por flebotomía terapéutica de pacientes con Eritrocitosis Secundaria y de pacientes Control.

9.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Establecer que Género y edad es más recurrente a desarrollar Eritrocitosis Secundaria en nuestro grupo de estudio.
- Estandarizar la prueba de fragilidad osmótica mediante el uso de eritrocitos de unidades de paquete globular.

- Realizar la curva de Concentración vs lisis para determinar el desplazamiento producido por los eritrocitos en los periodos de 0, 7, 14 y 21 días.
- Comparar en periodos de tiempo la fragilidad osmótica de eritrocitos de pacientes con Eritrocitosis Secundaria y pacientes control en base a la resistencia osmótica que presenten.
- Determinar que pacientes con Eritrocitosis Secundaria con nivel de Hto $\geq 50\%$ y $\leq 65\%$ con flebotomías pueden ser considerados como donantes normales.

10 DISEÑO METODOLÓGICO

10.1 TIPO DE ESTUDIO

Es un estudio experimental comparativo de pacientes con diagnóstico de Eritrocitosis Secundaria y pacientes Controles Normales.

10.2 POBLACIÓN DE ESTUDIO

El estudio de fragilidad osmótica eritrocitaria incluyó 40 sujetos, de los cuales 20 fueron diagnosticados por laboratorio con Eritrocitosis Secundaria y 20 fueron pacientes sanos que no presentan variaciones hematológicas, los participantes fueron de ambos sexos con radicaria en las ciudades de La Paz y El Alto a 3.600 y 4.000 m.s.n.m respectivamente.

El estudio se realizó durante el periodo de Junio 2016 a Agosto de 2018. Se obtuvo un consentimiento informado de cada uno de los participantes donde se garantizó el anonimato y confidencialidad. **Anexo 1-2-3**

El estudio estuvo en función al número de pacientes que fueron considerados por el Instituto Boliviano de Oncohematología como aptos para una donación sanguínea de acuerdo a criterios de exclusión y a la disponibilidad de paquetes globulares, exclusivamente de los pacientes controles normales cuyo paquete globular es indispensable para una transfusión sanguínea inmediata, por tal motivo no se requirió el cálculo de tamaño muestral, siendo así designada de acuerdo a la disponibilidad de paquetes globulares que llegaron a laboratorio.

10.3 DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA

10.3.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Se incluyó dentro del estudio de fragilidad osmótica a aquellos pacientes que presenten las siguientes características:

PACIENTES CONTROL:

- Mayores de 18 años, menores de 65 años.
- Sexo Masculino y Femenino.
- Hematocrito menor a 60% en Varones y menor a 55% en Mujeres.
- Hemoglobina menor a 19 g/dl en Varones y menor a 17 g/dL en Mujeres.

PACIENTES CON DIAGNOSTICO DE ERITROCITOSIS SECUNDARIA:

- Pacientes diagnosticados con Eritrocitosis Secundaria.
- Mayores de 18 años, menores de 65 años.
- Sexo Masculino y Femenino.
- Hematocrito 60% - 65% en ambos sexos.
- Hemoglobina mayor a 19 g/dl y menor a 20 g/dL en ambos sexos.
- Pacientes con EPO normal o alta.
- Pacientes con alguna afección pulmonar o cardíaca.

10.3.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

Se excluyó del estudio de fragilidad osmótica a aquellos pacientes que cumplen con los criterios de exclusión del Instituto Boliviano de Oncohematología, con excepción de los pacientes con diagnóstico de Eritrocitosis Secundaria.

Así mismo se excluyó a aquellos pacientes que no accedieron a ser parte del estudio mediante aprobación del consentimiento informado.

10.3.3 RECURSO HUMANO E INSTITUCIONAL

Se dispuso de la colaboración del personal del laboratorio de la Unidad de Biología Celular, Facultad de Medicina, quienes proporcionaron el material de laboratorio, reactivos y equipos necesarios para el desarrollo de la investigación, también se tuvo el apoyo del Instituto Boliviano de Oncohematología quienes permitieron el acceso a pacientes y sus respectivos registros clínicos.

10.4 PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS

10.4.1 OBTENCIÓN DE LA MUESTRA

El estudio se desarrolló en aquellos pacientes que cumplieron con los criterios establecidos por el Instituto Boliviano de Oncohematología y que firmaron el consentimiento informado como parte de la investigación.

Se obtuvieron los datos y se elaboró una Historia Clínica de todos los pacientes que fueron participes del estudio y se les realizó un hemograma utilizando un contador electrónico Coulter para obtener los índices hematimétricos iniciales con la que ingresaron los pacientes.

A partir de los datos obtenidos se clasifico a los pacientes de acuerdo a alguna patología o condición normal que puedan presentar, en ambos grupos de pacientes se procedió a obtener un volumen de 400 – 450 ml de sangre venosa en bolsas colectoras con contenido de anticoagulante CPDA-1, los mismos fueron sometidos a centrifugación a 2.400 rpm por 20 minutos en una centrifugadora exclusiva para paquetes globulares con el fin de separar en sus componentes iniciales. **Anexo 4**

Una vez obtenida las dos fases, se retiró el plasma sanguíneo y la fina capa leucoplaquetaria con la ayuda de un pres-back, conservando en la bolsa colectora solo el concentrado de eritrocitos, se igualó el valor de hematocrito de las muestras de estudio, la cual fue depositada en 4 tubos eppendorf a una cantidad de 1ml y fue almacenada a 4°C para el test de Fragilidad Osmótica Eritrocitaria comprendido entre los días 0, 7, 14, 21 desde la recolección de la muestra.

10.4.2 PREPARACIÓN DE REACTIVOS

10.4.2.1 PREPARACIÓN DE SOLUCIÓN MADRE

La solución madre es un tampón de cloruro de sodio, osmóticamente equivalente a 100g/l (1.71mol/l) NaCl, se prepara de la siguiente manera: disolver 90g de NaCl; 13.65g de Na₂HPO₄ o 17.115g de Na₂HPO₄·2H₂O y 2.34g de NaH₂PO₄·2H₂O en agua destilada y ajustar el volumen final a 1 litro, a pH de 7.4.

Esta solución puede ser conservada por meses a 4°C en una botella bien cerrada. Los cristales de sal pueden formarse durante el almacenamiento, y deben ser redisueltos meticulosamente antes de su uso.

En la preparación de las soluciones hipotónicas, es conveniente realizar primero la solución al 10g/L (1%) desde la solución madre mediante dilución con agua destilada. Posteriormente preparar las diluciones equivalentes a 9.0, 7.0, 6.0, 5.0, 4.75, 4.5, 3.75,

3.0, 2.0 g/l y uno que contendrá agua destilada, las cuales fueron ajustadas a un pH de 7.4. (Papart *et al*, 1946) **Anexo 5**

10.4.2.2 PRUEBA DE FRAGILIDAD OSMÓTICA ERITROCITARIA

A 5ml de cada solución preparada a diferentes concentraciones salinas se deposita 35uL de la suspensión de eritrocitos, la muestra se homogeniza suavemente en un rotor hasta que quede distribuida en toda la solución y se deja reposar durante 30 minutos, luego se centrifugan a 2800 rpm por un periodo de 5 minutos.

Se lee la absorbancia del sobrenadante a una longitud de onda de 540 nm, se toma como control negativo el tubo de solución buffer fosfato salino con concentración de NaCl (0,9%) equivalente a (308 mOsmol/L) dado que reproduce las condiciones fisiológica normales de la osmolaridad del plasma sanguíneo que es de (290 mOsmol/L +/- 10) y se toma como control positivo al tubo con NaCl (0%) agua destilada que provoca la hemolisis máxima. **Anexo 6-7**

10.4.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El procesamiento estadístico de los datos se realizó mediante el análisis de varianza (ANOVA). Los valores mostrados representan el valor medio de Veinte determinaciones, la comparación múltiple de medias se realizó empleando el paquete SPSS 11. El valor de p menor a 0,05 ($p < 0,05$), fue considerado significativo.

11 RESULTADOS

11.1 DATOS INICIALES DE GÉNERO Y EDAD EN GRUPO CONTROL NORMAL Y GRUPO CON ERITROCITOSIS SECUNDARIA

Para la evaluación del test de fragilidad osmótica en eritrocitos de paquetes globulares, se incluyó a 20 personas como grupo control normal y 20 pacientes con diagnóstico de ES, de ambos sexos, 16 del género masculino, 4 del género femenino para el grupo control normal y 17 del género masculino, 3 del género femenino para el grupo con ES.

De la misma manera, se evaluó la edad de los sujetos que formaron parte del estudio, los cuales se hallaron comprendidos entre 23 y 35 años de edad, con una media de 29 años en el grupo control normal, mientras que las edades comprendidas en pacientes con ES fue de 30 a 65 años de edad con una media de 57 años, ver **Tabla 7**.

Tabla 7

Género y edad de grupo control normal y grupo con ES

	CN	ES
	(n=20)	(n=20)
Sexo Masculino/Femenino	16/4	17/3
Edad, años (media y rangos)	28,6 (23-35)	57,1 (30-65)

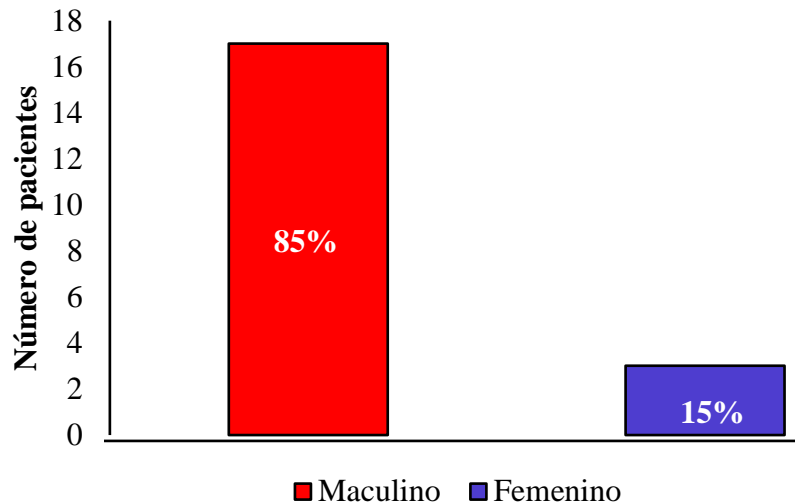
CN: Controles normales, **ES:** Eritrocitosis Secundaria

11.2 ERITROCITOSIS SECUNDARIA SEGÚN GÉNERO Y EDAD

De los pacientes con ES que asistieron al Instituto Boliviano de Oncohematología y fueron partícipes del estudio, se evidenció que el género masculino representa un mayor porcentaje (85%) en comparación al género femenino (15%), ver **Grafica 1.**

Grafica 1.

Porcentaje de grupo con ES según género



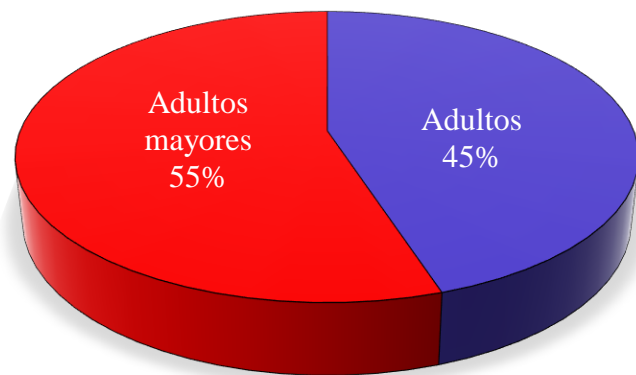
Nota. Las barras representan el número de pacientes con ES. (Elaboración propia)

La edad de pacientes con ES se clasificó de acuerdo a dos grupos etarios; un primer grupo fue el de pacientes adultos que reportaron las edades entre 30 y 59 años, un segundo grupo de adultos mayores que reportaron edades entre 60 a 65 años. La clasificación de edades fue realizada según clasificación de la OMS.

Los resultados reportaron que el porcentaje de pacientes adultos fue de un 45%, mientras que los pacientes adultos mayores representan un 55%, ver **Grafica 2**.

Grafica 2

Porcentaje de pacientes con ES según edad



■ Adultos (30 - 59 años) ■ Adultos mayores (60 - 65 años)

Nota. Distribución de edades en pacientes con ES. (Elaboración propia)

11.3 CURVA DE CALIBRACIÓN PARA EL TEST DE FRAGILIDAD OSMÓTICA

La curva de calibración se realizó siguiendo los valores de absorbancia de acuerdo a diluciones sucesivas a diferentes concentraciones, los datos experimentales obtenidos del análisis muestran un aumento en el nivel de absorbancia de la cianmetahemoglobina que es medida a 540 nm siendo la intensidad del color obtenida, directamente proporcional a la concentración de hemoglobina, la misma denota que a

medida que la solución decrece hacia una solución más hipotónica, la hemolisis se ve incrementada en los valores estudiados.

La muestra de análisis para el estudio fue modificada con respecto a otras investigaciones realizadas por Papart et al. en la cual para un análisis de fragilidad osmótica en los eritrocitos se introduce 50 ul de sangre entera, dato que en nuestro estudio no permite obtener una lectura adecuada por el grado de concentración de hemoglobina liberada al usar un concentrado de eritrocitos y no sangre entera y para una detección de un 100 % de hemolisis de acuerdo a pruebas realizadas la muestra utilizada en el estudio fue de 35 uL.

La **Tabla 8** muestra las absorbancias a concentraciones decrecientes de cloruro de sodio obtenidas de un paciente del grupo con ES, para elaborar la curva de fragilidad osmótica eritrocitaria.

Tabla 8

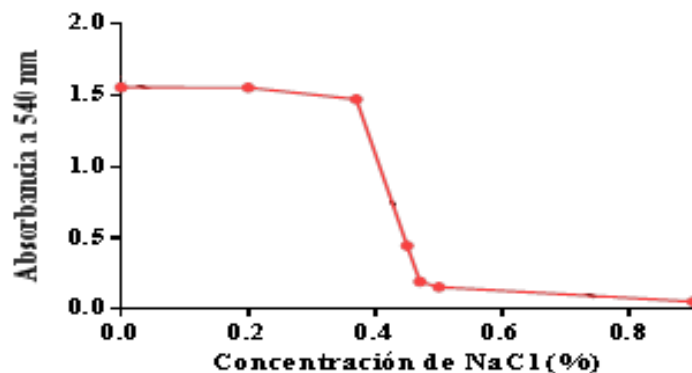
Absorbancias a concentraciones decrecientes de NaCl

Concentración (%)	mOsmol/L	Absorbancia a 540 nm
0,9	308	0,054
0,5	171	0,156
0,47	161	0,194
0,45	154	0,446
0,37	126	1,473
0,2	68	1,554
0	0	1,556

La curva de calibración representa la relación entre concentración y absorbancia, la misma evidencia un valor R² de 0,8614. Ver **Figura 13**.

Figura 13

Curva de calibración



Nota. Curva de absorbancias a diferentes concentraciones de NaCl (línea roja) respecto a la línea de tendencia (línea negra). (Elaboración propia)

11.4 VALORES HEMATIMÉTRICOS DE GRUPO CONTROL NORMAL Y GRUPO CON ES

Se tomaron los datos iniciales de los valores de hematocrito (Hto), hemoglobina (Hb) y volumen corpuscular medio (VCM) en el grupo control normal y en el grupo con ES, ver **Tabla 9**.

En el grupo control normal los valores de Hto reportaron una media de 48,43% con una Desviación Estándar Media DEM de $\pm 4,14$; mientras que en el grupo con ES los valores reportaron una media de 61,40% con una DEM de $\pm 3,28$ estadísticamente significativa ($p < 0,001$), ver **Figura 14A**

La concentración de Hb en el grupo control normal, reportó una media de 15,53g/dL con DEM de $\pm 1,33$; en el grupo con ES la media obtenida fue de 19,68g/dL con DEM de $\pm 1,05$ diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,001$), ver **Figura 14B**

Los valores iniciales de VCM reportaron en el grupo control normal una media de 84 μm^3 (DEM \pm 5,82), mientras que el grupo con ES reportó una media de 81,53 μm^3 (DEM \pm 7,97) siendo la diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,001$), ver **Figura 14C**.

Tabla 9

Valores hematimétricos iniciales

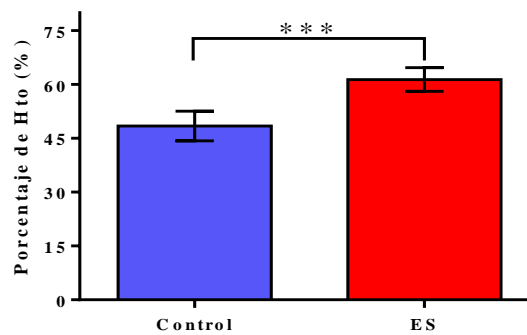
	CN (n=20)	ES (n=20)	Valor (p)
Hto % (\pm DEM)	48,43 (4,14)	61,40 (3,28)	< 0,001
Hb g/dL (\pm DEM)	15,53 (1,33)	19,68 (1,05)	< 0,001
VCM μm^3 (\pm DEM)	84,00 (5,82)	81,53 (7,97)	= 0,340

CN: Controles normales, ES: Eritrocitosis Secundaria

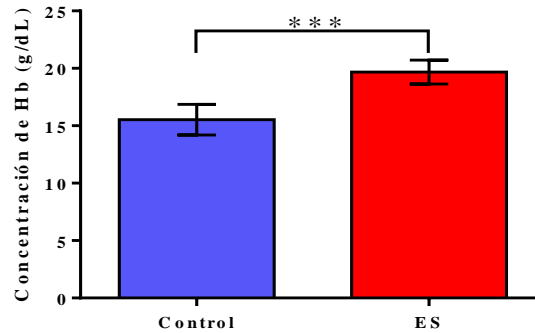
Figura 14

Valores hematimétricos de grupo control normal y grupo con ES

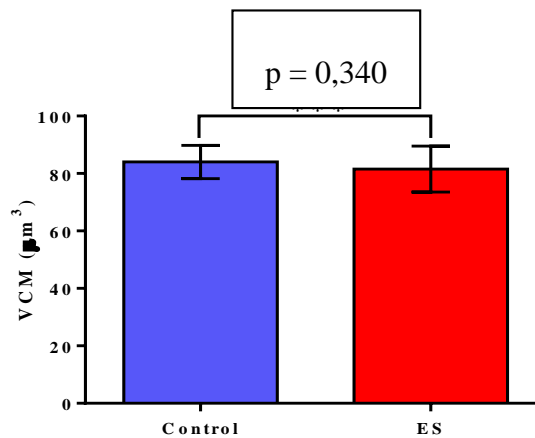
A



B



C



Nota. Comparación entre grupo control normal y grupo con ES de los valores: (A) Hto, (B) Hb y (C) VCM. Las barras representan el promedio \pm DEM de 20 determinaciones (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ y *** $p < 0,001$). (Elaboración propia)

11.5 FRAGILIDAD OSMÓTICA ERITROCITARIA EN GRUPO CONTROL NORMAL Y GRUPO CON ES A LOS 0, 7, 14 Y 21 DÍAS

El porcentaje de hemolisis al día 0, a una concentración de 0,47% (161mOsmol/L) de NaCl, fue de 43,01% en el grupo control normal, por otro lado, el grupo con ES presentó una hemolisis de 30,03% a la misma concentración. A una concentración de 0,45% (154 mOsmol/L) de NaCl, los porcentajes de hemolisis fueron

de 63,50% y 49,61% para el grupo control normal y grupo con ES respectivamente, ver **Tabla 10**.

Tabla 10

Porcentaje de hemolisis a concentraciones decrecientes de NaCl en grupo control normal y grupo con ES al día 0.

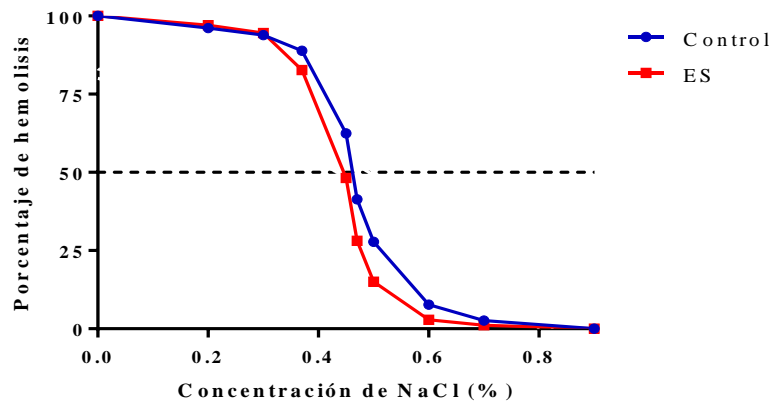
		CN		ES		
Número de Pacientes		(n=20)		(n=20)		
Concentración (%)	mOsmol/L	Hemolisis (%)	± DEM	Hemolisis (%)	± DEM	Valor (p)
0.9	308	2,82	0,014	2,70	0,023	0,848
0.7	239	5,37	0,037	3,78	0,023	0,228
0.6	205	10,31	0,097	5,47	0,035	0,064
0.5	171	29,83	0,238	17,34	0,147	0,008
0.47	161	43,01	0,221	30,03	0,184	0,013
0.45	154	63,54	0,235	49,61	0,215	0,014
0.37	126	89,22	0,196	83,20	0,141	0,280
0.3	102	94,07	0,193	94,66	0,115	0,327
0.2	68	96,25	0,175	97,14	0,110	0,164
0	0	100	0,166	100	0,123	0,252

CN: Controles normales, ES: Eritrocitosis Secundaria

La curva de fragilidad osmótica eritrocitaria en el grupo con ES al día 0, se encuentra al lado izquierdo de la curva del grupo CN, es decir que la fragilidad osmótica eritrocitaria es menor en el grupo con ES ver **Figura 15**.

Figura 15

Curva de fragilidad osmótica eritrocitaria de grupo control normal y grupo con ES al día 0.



Nota. La curva representa el porcentaje de hemólisis eritrocitaria a diferentes concentraciones de NaCl en el grupo control normal y grupo con ES al día 0. La línea punteada indica la fragilidad corpuscular media producida en ambos grupos de estudio. (Elaboración propia)

Los resultados al día 7, a una concentración de NaCl de 0,47% (161 mOsmol/L) presentaron un porcentaje de hemólisis del 53,50% en el grupo control normal y de 34,17% en el grupo con ES. El porcentaje de hemólisis a una concentración de NaCl de 0,45% (154 mOsmol/L) fue de 69,55% en el grupo control y de 47,78% en el grupo con ES, ver **Tabla 10**.

Tabla 11

Porcentaje de hemolisis a concentraciones decrecientes de NaCl en grupo control normal y grupo con ES al día 7.

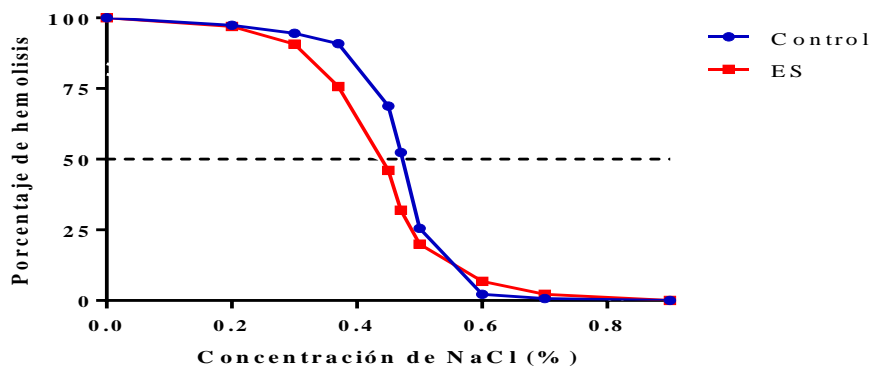
Número de Pacientes		CN (n=20)		ES (n=20)		Valor (p)
Concentración (%)	mOsmol/L	Hemolisis (%)	± DEM	Hemolisis (%)	± DEM	
0.9	308	2,35	0,014	3,27	0,019	0,007
0.7	239	3,05	0,022	5,37	0,065	0,038
0.6	205	4,49	0,046	9,86	0,103	0,008
0.5	171	27,27	0,235	22,61	0,207	0,585
0.47	161	53,50	0,341	34,17	0,263	0,010
0.45	154	69,55	0,335	47,78	0,372	0,018
0.37	126	91,08	0,130	76,53	0,347	0,036
0.3	102	94,67	0,136	91,00	0,169	0,318
0.2	68	97,44	0,132	97,04	0,131	0,849
0	0	100	0,135	100	0,142	0,981

CN: Controles normales, ES: Eritrocitosis Secundaria

Al día 7, la **Figura 16** muestra que la curva de fragilidad osmótica eritrocitaria del grupo con ES tuvo un desplazamiento hacia la izquierda respecto al grupo control normal, observando que el grupo con ES muestra una menor fragilidad osmótica.

Figura 16

Curva de fragilidad osmótica eritrocitaria del grupo control normal y grupo con ES al día 7.



Nota. La curva representa el porcentaje de hemólisis eritrocitaria a diferentes concentraciones de NaCl en el grupo control normal y grupo con ES al día 7. La línea punteada indica la fragilidad corpuscular media producida en ambos grupos de estudio. Se observa una curva desplazada hacia la izquierda debido a que la población eritrocitaria de pacientes con ES posee una mayor resistencia osmótica. (Elaboración propia)

Al día 14, el porcentaje de hemólisis del grupo control normal fue de 53,91%, mientras que en el grupo con ES fue de 48,47%, esto a una concentración de 0,47% (161 mOsmol/L) de NaCl. A una concentración menor de NaCl (0,45%) (154 mOsmol/L) el porcentaje de hemólisis reportado en el grupo control y grupo con ES fue de 67,27% y 61,32% respectivamente, ver **Tabla 12**.

Tabla 12

Porcentaje de hemolisis a concentraciones decrecientes de NaCl en grupo control normal y grupo con ES al día 14.

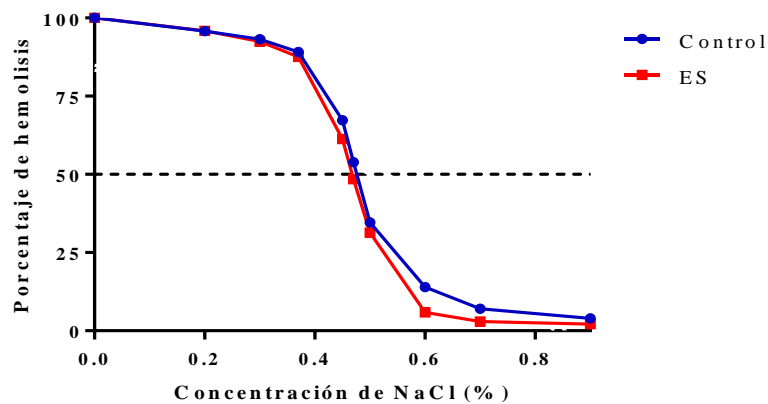
		CN		ES		
Número de Pacientes		(n=20)		(n=20)		
Concentración (%)	mOsmol/L	Hemolisis (%)	± DEM	Hemolisis (%)	± DEM	Valor (p)
0.9	308	4,00	0,029	2,16	0,018	0,108
0.7	239	7,03	0,054	2,96	0,019	0,015
0.6	205	13,97	0,112	5,85	0,035	0,008
0.5	171	34,66	0,196	31,40	0,227	0,067
0.47	161	53,91	0,289	48,47	0,217	0,068
0.45	154	67,27	0,320	61,32	0,231	0,014
0.37	126	89,13	0,118	87,57	0,158	0,428
0.3	102	93,22	0,118	92,42	0,126	0,554
0.2	68	95,78	0,122	95,83	0,129	0,712
0	0	100	0,108	100	0,144	0,787

CN: Controles normales, ES: Eritrocitosis Secundaria

La curva de fragilidad osmótica eritrocitaria en el grupo con ES al día 14, se encontró ligeramente desplazada a la izquierda, lo que representa una mayor resistencia osmótica de los eritrocitos respecto de los eritrocitos del grupo control normal. ver **Figura 17.**

Figura 17

Curva de fragilidad osmótica eritrocitaria del grupo control normal y grupo con ES al día 14



Nota. La curva representa el porcentaje de hemólisis eritrocitaria a diferentes concentraciones de NaCl en grupo control normal y grupo con ES al día 14. La línea punteada indica la fragilidad corpuscular media producida en ambos grupos de estudio.

(Elaboración propia)

El porcentaje de hemólisis al día 21, a concentraciones de NaCl de 0,47% (161 mOsmol/L) fue de 65,12% en el grupo control normal y de 45,70% en el grupo con ES, en tanto que a una concentración de 0,45% (154 mOsmol/L) el porcentaje de hemólisis fue de 79,69% en el grupo control normal y de 57,02% en el grupo con ES, ver **Tabla 13**.

Tabla 13

Porcentaje de hemolisis a concentraciones decrecientes de NaCl en grupo control normal y grupo con ES al día 21.

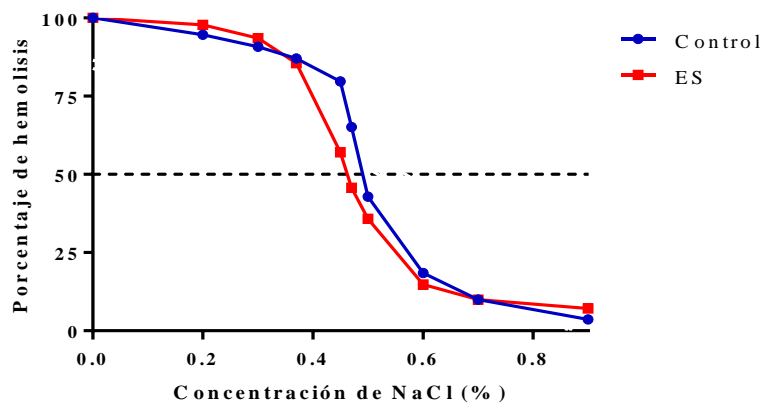
		CN		ES		
Número de Pacientes		(n=20)		(n=20)		
Concentración (%)	mOsmol/L	Hemolisis (%)	± DEM	Hemolisis (%)	± DEM	Valor (p)
0.9	308	3,64	0,018	7,14	0,174	0,305
0.7	239	9,93	0,075	9,98	0,184	0,720
0.6	205	18,47	0,105	14,83	0,179	0,495
0.5	171	42,84	0,216	35,83	0,173	0,157
0.47	161	65,12	0,190	45,70	0,156	0,005
0.45	154	79,69	0,127	57,02	0,204	0,001
0.37	126	87,02	0,134	85,50	0,202	0,674
0.3	102	90,80	0,124	93,52	0,150	0,820
0.2	68	94,62	0,115	97,79	0,149	0,799
0	0	100	0,104	100	0,137	0,592

CN: Controles normales, ES: Eritrocitosis Secundaria

En la **Figura 18** se observa que el grupo con ES muestra un desplazamiento de la curva hacia la izquierda en comparación al grupo CN, observando en el grupo con ES menor fragilidad osmótica eritrocitaria a concentraciones cercanas a la isotónica.

Figura 18

Curva de fragilidad osmótica eritrocitaria del grupo control normal y grupo con ES al día 21



Nota. La curva representa el porcentaje de hemolisis eritrocitaria a diferentes concentraciones de NaCl en el grupo control normal y grupo con ES al día 21. La línea punteada indica la fragilidad corpuscular media producida en ambos grupos de estudio. (Elaboración propia)

11.6 FRAGILIDAD CORPUSCULAR MEDIA EN GRUPO CONTROL NORMAL Y GRUPO CON ES

A los 0, 7 y 21 días, la interpolación de la concentración de NaCl en función a la fragilidad corpuscular media, mostró un mayor porcentaje en el grupo control normal en comparación al grupo con ES, presentando una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,001$) en ambos grupos. Al día 14 no se observó diferencia significativa ($p = 0,659$), ver **Tabla 14, Figura 19**.

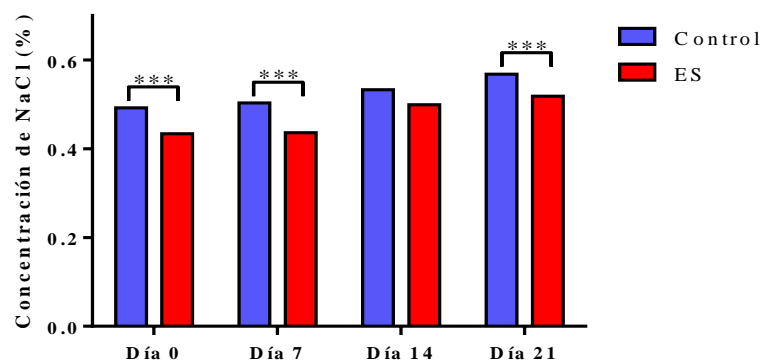
Tabla 14*Concentración de NaCl en función a la fragilidad corpuscular media (FCM)*

Día	Concentración de NaCl (%) interpolado para la FCM en grupo CN	Concentración de NaCl (%) interpolado para la FCM en grupo con ES	±DEM	Valor (p)
0	0,49	0,43	0,042	< 0,001
7	0,50	0,44	0,042	< 0,001
14	0,53	0,50	0,021	= 0,659
21	0,57	0,52	0,035	< 0,001

Concentración de NaCl para la obtención de la fragilidad corpuscular media en 20 determinaciones, un valor ($p < 0,005$) fue considerado significativo.

Figura 19

Concentración de NaCl en función de la fragilidad corpuscular media a los 0, 7, 14 y 21 días



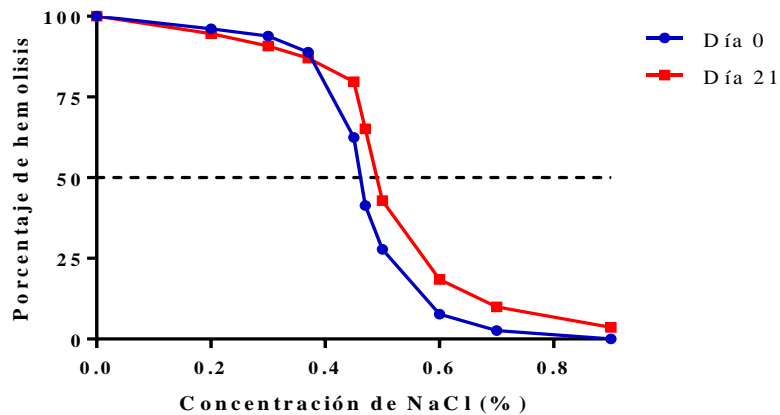
Nota. Las barras representan la interpolación de las concentraciones de NaCl en función a la fragilidad corpuscular media de 20 determinaciones a los 0, 7, 14 y 21 días (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ y *** $p < 0,001$). (Elaboración propia).

11.7 COMPARACIÓN DE LA FRAGILIDAD OSMÓTICA ERITROCITARIA ENTRE LOS 0 Y 21 DÍAS EN GRUPO CONTROL NORMAL Y GRUPO CON ES

La curva de fragilidad osmótica eritrocitaria al día 21 en el grupo control normal, muestra un desplazamiento hacia la derecha en comparación al día 0, es decir que existe una mayor fragilidad eritrocitaria al día 21 respecto del día 0, ver **Tabla 14** y **Figura 20**.

Figura 20

Curva de fragilidad osmótica eritrocitaria de grupo control normal a los 0 y 21 días

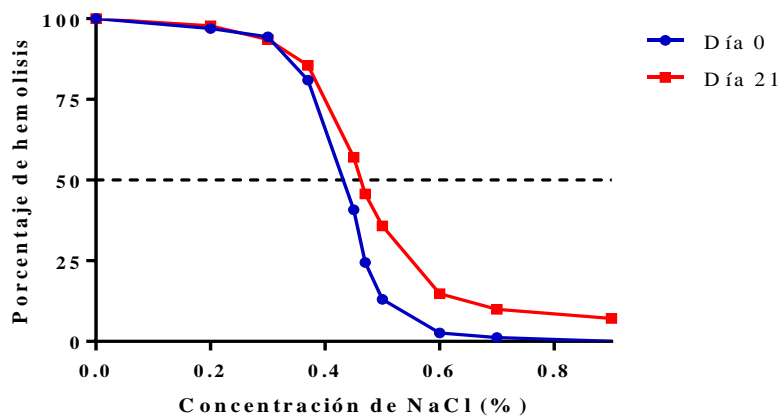


Nota. La curva representa el porcentaje de hemólisis eritrocitaria a concentraciones diferentes de NaCl en el grupo control normal a los 0 y 21 días. La línea punteada indica la fragilidad corpuscular media. (Elaboración propia)

Al día 21 la curva de fragilidad osmótica eritrocitaria en el grupo con ES tuvo un desplazamiento hacia la derecha respecto del día 0, es decir que se observa una mayor fragilidad eritrocitaria al día 21 en comparación del día 0, ver **Tabla 14** y **Figura 21**.

Figura 21

Curva de fragilidad osmótica eritrocitaria de grupo con ES a los 0 y 21 días



Nota. La curva representa el porcentaje de hemólisis eritrocitaria a diferentes concentraciones de NaCl en el grupo con ES a los 0 y 21 días. La línea punteada indica la fragilidad corpuscular media. (Elaboración propia)

12 DISCUSIÓN

12.1 DATOS INICIALES DE GÉNERO Y EDAD EN GRUPO CONTROL NORMAL Y GRUPO CON ES

Según Amaru et al. en Bolivia aproximadamente residen 3.000.000 habitantes en las ciudades de La Paz y El Alto, consideradas ciudades de altura por situarse en regiones comprendidas entre los 3.600 a 4.100 m sobre el nivel del mar, de los que se consideran que más de 150.000 habitantes presentan Eritrocitosis Patológica de altura. (Amaru et al, 2013)

De acuerdo a investigaciones realizadas por Amaru et al, las eritrocitosis de importancia clínica en habitantes de grandes alturas corresponden en un 90% a Eritrocitosis Secundaria, 9% Eritrocitosis Patológica de Altura y 1% Policitemia Vera, lo que permite evidenciar que la Eritrocitosis Secundaria es más recurrente en habitantes de regiones de altitud respecto de las otras eritrocitosis. (Amaru et al, 2013)

Los valores iniciales reportados de pacientes con diagnóstico de Eritrocitosis Secundaria previos al estudio de fragilidad osmótica eritrocitaria, muestran que el género masculino es más recurrente a esta enfermedad con un 85% respecto del género femenino que represento un 15%, esta diferencia de valores podría deberse a que el género masculino presenta una mayor concentración de testosterona en su organismo respecto al género femenino, la testosterona estimulara la síntesis de eritropoyetina (EPO), hormona que a su vez estimula la producción de glóbulos rojos, por lo tanto la testosterona así como la eritropoyetina juegan un papel importante en la adaptación y aclimatación en ciudades de altitud, encontrándose incrementadas en situaciones de hipoxia. (Tortora Case, 1998; McKenzie, 1991; Gustavo F, 2011).

Los datos de edad de pacientes con Eritrocitosis Secundaria reportados en un inicio, muestran a adultos mayores comprendidos entre las edades de 60 - 65 años con una mayor incidencia a esta enfermedad (55%) respecto a pacientes adultos de 30 a 59 años que presentan un (45%), algunos estudios evidenciaron que el valor de hematocrito y hemoglobina se incrementan respecto a la edad, por la relación que tendría con la testosterona que al parecer, actúa en forma dependiente de su concentración en especial en varones de la tercera edad, sin embargo esta relación puede verse influenciada por otros factores como peso, superficie corporal y factores del medio ambiente o patológicos que intervengan de manera directa o indirecta en esta afección. (Tinajero, 2014; Gustavo F, 2011)

12.2 VALORES HEMATIMETRICOS INICIALES

Las muestras de sangre de pacientes con ES y pacientes control, fueron diagnosticadas en base a estudios realizados por Amaru et al., los valores normales de hemoglobina establecidos para habitantes adultos de las ciudades de La Paz y El Alto es de 14 a 17 g/dl para las mujeres y de 15 a 18 g/dl para los varones. Se consideró como eritrocitosis patológica a los niveles de hemoglobina mayores a 18 g/dl en las mujeres y 19 g/ dl en los varones; estos puntos de corte fueron determinados considerando la presencia de síndrome de hiperviscosidad sanguínea en más del 80% de los pacientes. (Amaru et al 2013)

En el presente estudio se observa que los valores de hemoglobina y hematocrito en pacientes con Eritrocitosis Secundaria se encuentran elevados 19,68 g/dl (Ht: 61,40%) respecto de los pacientes control 15,53 g/dl (48,43 %) siendo la diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,001$), en los pacientes estudiados ($n=20$), lo cual evidencia que pacientes con Eritrocitosis Secundaria muestran una manifestación hematológica caracterizada por el aumento del número de eritrocitos debido a la marcada elevación de cifras de eritropoyetina en respuesta a la hipoxia. (Amaru et al 2013; Villanueva et al. 2013)

Los valores de volumen corpuscular medio (VCM) de pacientes con Eritrocitosis Secundaria no presentan una diferencia estadísticamente significativa $p=0,340$ respecto de los valores hallados en los pacientes control. Sin embargo se ha podido evidenciar en un estudio realizado por Aguilar et al. que tras realizar flebotomías como tratamiento a pacientes con diagnóstico de las Eritrocitosis Patológicas, en sesiones superiores hacían que el hierro del organismo disminuya a niveles que produce una disminución del VCM de los eritrocitos y de la ferritina sérica, este hecho hace que los pacientes con Eritrocitosis Patológica presenten una eritropoyesis más acelerada seguida de una disminución de las reservas de hierro (ferritina), por tal motivo es posible que los

eritrocitos microcíticos producen mayor viscosidad sanguínea y presentan una alteración de la membrana celular eritrocitaria. (Aguilar et al. 2014)

12.3 TEST DE FRAGILIDAD OSMÓTICA DE ERITROCITOS

El test de fragilidad osmótica se basó en el estudio de Papart et al. quien desarrolló un test para evaluar la resistencia de la membrana de eritrocitos humanos durante el almacenamiento a concentraciones salinas decrecientes. Los valores mostrados en nuestro estudio representan el valor medio de veinte determinaciones entre los grupos control normal (CN) y pacientes con Eritrocitosis Secundaria (ES) en la que se consideraron significativas las diferencias a $p < 0,05$.

Los valores evidencian que los eritrocitos de pacientes con ES son más resistentes respecto a los CN que muestran una mayor fragilidad osmótica a concentraciones decrecientes de NaCl, la Fragilidad Corpuscular media obtenidos a los días 0, 7 y 21 días mostraron un incremento de la fragilidad osmótica en eritrocitos de CN con una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,001$) y no así para el día 14 en la que no se observó una diferencia significativa ($p = 0,659$) entre los grupos de estudio.

Se observó también que los valores encontrados en ambos grupos de estudio demuestran que los eritrocitos llegan a ser más lábiles a cambios osmóticos cuando son almacenados, mostrando una fragilidad de los eritrocitos incrementada durante el día 21 en comparación del día 0, como se evidencia en la figura 19 y figura 20.

En un estudio realizado por Chaudhary y Katharia muestran que 30 unidades de glóbulos rojos almacenados a 4 °C durante los días 0, 14 y 28 se asocian con cambios metabólicos y bioquímicos, denominados colectivamente "lesiones de almacenamiento", la peroxidación lipídica de la membrana de los glóbulos rojos que conduce a la lisis contribuyo a estas lesiones de almacenamiento, de igual forma se observó un daño oxidativo que permite que los glóbulos rojos sean más susceptibles al estrés, lo que se

evidencio como un aumento de la fragilidad osmótica durante el almacenamiento y la consiguiente liberación de hemoglobina (Hb), potasio (K⁺) y enzimas intracelulares como el lactato deshidrogenasa (LDH) en el plasma sobrenadante. (Chaudhary & Katharia)

Según Alshalani et al., almacenamientos prolongados se han asociado a rigidez celular, cambios morfológicos y degradación de factores dependientes de la deformabilidad, uno de los factores que se menciona es la edad del donante que podría influir en la proporción de hematíes jóvenes y viejos que se encuentren en la circulación sanguínea, puesto que la edad media de los glóbulos rojos en el momento de donación es $50,7 \pm 7,2$ días, aproximadamente la mitad de vida útil que tienen los eritrocitos y que personas mayores de ambos sexos poseían glóbulos rojos más viejos que jóvenes respecto de personas con menor edad, según Kameneva esto puede relacionarse con la capacidad decreciente de la médula ósea para generar nuevos glóbulos rojos a través de eritropoyesis cuando una persona envejece. (Alshalani et al. 2018; Kameneva, 1999)

La lesión en la membrana está dada por una pérdida del área de la célula, pero se desconoce si esto se debe a una pérdida física (fragmentación) o a una contracción de la superficie de la membrana, los glóbulos rojos esferocíticos pierden membrana más rápidamente que los normales cuando se deprime su metabolismo. (Herrera & Estrada, 2002)

Algunos autores atribuyen una fragilidad osmótica incrementada a defectos cualitativos o cuantitativos de algunas proteínas de la membrana eritrocitaria (espectrina, ankirina, proteína 4.2, banda 3) que llevan a la formación de hematíes de forma esférica que tienden a ser osmóticamente más frágiles por la pérdida de la estabilidad mecánica y elasticidad de la membrana. (Donato et al, 2015; Lazarte *et al.* 2012)

Según Charles et al. esta anomalía puede deberse a la presencia de una sustancia osmóticamente activa dentro del glóbulo rojo que hace que el interior sea hiperosmolar con respecto a la solución salina isotónica. La principal sustancia responsable para este

estado hiperosmolar es probablemente lactato, los glóbulos rojos producen grandes cantidades de lactato durante almacenamiento, alcanzándose una concentración superior a 40 mM al final de los 42 días de almacenamiento. Otras sustancias que se transportan lentamente desde los glóbulos rojos, como el fosfato y la glucosa, también pueden desempeñar un papel en el establecimiento del estado hiperosmolar reversible que existe en los eritrocitos almacenados. (Charles et al, 2018; Beutler, Kuhl, & West 1982)

Otra de las consecuencias de estas alteraciones de la membrana es que se vuelve más permeable al sodio y al potasio que las células normales. Este excesivo flujo de Na^+ hacia el interior del eritrocito activa la ATPasa y por ende, la bomba de Na^+/K^+ . Por lo tanto, aumenta el consumo de ATP y como consecuencia se produce un aumento de la glicólisis para suplir la demanda de ATP. (Donato et al, 2015)

Según Papart et al., un factor que afectan notablemente la resistencia osmótica normal, es el pH de las soluciones de cloruro de sodio que muestran un cambio de pH por 0,1 de una unidad de pH que es equivalente a la alteración de la concentración de sal en un 0,01 por ciento, por lo que es indispensable el uso de soluciones tamponadas que permitan mantener un valor de pH de 7.4. (Papart et al, 1946)

Es evidente que la hemólisis producida en paquetes globulares esta sujeta a muchos factores como la centrifugación, temperatura, pH, manipulación por lo que estos deben ser controlados durante el estudio, una determinación que nos permite corroborar algunos valores durante el test de fragilidad osmótica en eritrocitos es el planteado por Sowemin- Coker, quien en su estudio para evaluar la producción de hemólisis en bolsas colectoras de sangre entera almacenados, sugiere varios posibles eventos que afectan la supervivencia de los eritrocitos, para lo que emplea un método basado en la determinación de hemoglobina libre en plasma, con ello pudo corroborar que la hemoglobina liberada por eritrocitos lisados se encontraba incrementada al someterse a periodos de tiempo prolongados, obteniendo valores de 17,4 mg/dL en el segundo día y 193 mg/dL durante el día cuarenta. (Sowemimo-Coker, 2002)

12.4 TRANSFUSIÓN SANGUÍNEA EN PACIENTES CON ERITROCITOSIS

Estos estudios permiten evidenciar la amplia investigación que existe en donadores con algún tipo de anemia pero no así en donadores con eritrocitosis, al ser una patología muy poco común en ciudades de baja altura, sin embargo la mayoría de casos reportados de pacientes con Eritrocitosis Primaria o Secundaria en regiones bajas son atribuibles a individuos fumadores que evidencian una insuficiencia respiratoria lo que probablemente cause una hemoglobina elevada con incremento de los eritrocitos, permitiendo la exclusión también de este grupo en transfusiones sanguíneas. (Magnussen et al, 2013; Zanella et. al. 1987)

Siempre existió mucha controversia de donaciones de sangre por parte de individuos policitemicos, por lo que los bancos de sangre lo consideran inusual por falta de evidencia científica que apoye esta donación. Sin embargo algunos autores indican que la sangre policitemica es más valiosa en cuanto a su masa eritrocitaria, siendo una fuente ideal de glóbulos rojos que podría suministrar un cincuenta por ciento más de hemoglobina que la sangre de un donante normal, además que no existe evidencia de transmisión o enfermedad neoplásica de un humano a otro por transfusión de sangre. (Hyman & Carlsen, 1970)

Sumada al descarte de paquetes globulares de pacientes eritrociticos, el desarrollo de tabúes y mitos sobre donaciones de sangre ha influido negativamente a las prácticas de donación. (Garcia et al, 2003). Un aspecto muy controvertido en el proceso de transfusiones sanguíneas es aquel en el que se indica que la donación de sangre consecutiva por periodos prolongados de tiempo permite a uno adquirir anemia por deficiencia de hierro, lo que daría lugar ser también excluidos en una donación de sangre, sin embargo estudios en diferentes individuos permitió evidenciar que no existe tal desarrollo, que un individuo puede donar sangre cada 56 días perdiendo entre 200 a 250 mg de hierro en cada donación, no obstante estudios demostraron que la

concentración sérica de ferritina disminuye constantemente a partir de las cinco donaciones de sangre y luego se estabiliza a una concentración media de aproximadamente 20 ng por ml. (Mast et al, 2008)

Según estudios de Ben David el uso de sangre proveniente de pacientes con eritrocitosis no representa ningún mal, debido a que no se observó ningún efecto adverso del uso de pacientes con policitemia, y podría ser más beneficioso por el alto suministro de glóbulos rojos que se daría a un paciente por transfusión, sin embargo no hay informes disponibles sobre su valor terapéutico. (Ben-David & Gavendo, 1973)

El estudio de Hyman et al., menciona acerca de la transfusión de sangre de pacientes con policitemia, en las cuales se obtuvo resultados clínicos alentadores con el uso de sangre de este tipo de pacientes que presentan un hematocrito elevado, con un aumento de hasta 4 g/dL en los receptores posterior a la transfusión, sin diferencias significativas en la presencia de reacciones adversas respecto al grupo de pacientes que recibieron sangre de donantes normales. (Hyman & Carlsen, 1970)

Sin embargo, el estudio de Ben David et Gavendo sobre el estudio de fragilidad osmótica en unidades de sangre con Ácido Cítrico Dextrosa (ACD) provenientes de donantes con Eritrocitosis Secundaria y Policitemia Vera, concluye que estos pacientes presentan una población más heterogénea de células rojas, según estos autores la fragilidad de los glóbulos rojos es similar a los donantes normales durante el primer día, presentando mayor fragilidad durante la segunda y tercera semana de almacenamiento, pero los mismos autores consideran que no es posible correlacionar esta mayor fragilidad con la supervivencia de los eritrocitos posteriores a su transfusión, debido a otras variables como ser el tipo de almacenaje, la manipulación de la bolsa de transfusión que causan un cierto grado de daño mecánico a la sangre, lo que podría explicar valores más altos de fragilidad para este grupo de controles. (Ben-David & Gavendo, 1973)

Algunos autores como Rawlinson & Flanagan sugieren que muchos de estos pacientes policitemicos podrían ser medicados y seguir un tratamiento por ejemplo con antibióticos o anticoagulantes -que podrían ser potencialmente dañino para las personas receptores de su sangre, por lo que no sería aconsejable realizar una transfusión de este tipo de pacientes y confiar únicamente en el generosidad de donantes voluntarios sanos. (Rawlinson & Flanagan, 1992)

13 CONCLUSIÓN

Se estandarizó el test de fragilidad osmótica permitiendo establecer los alcances y limitaciones de nuestro estudio, los datos obtenidos de las lecturas de absorbancia en relación con el porcentaje de hemolisis producida en cada soluciones salina, nos permitió elaborar una curva con desplazamiento a la izquierda en la que se pudo identificar la hemolisis mínima detectada en la solución de concentración 0,9% (isotónica) y la hemolisis máxima detectada a la de concentración 0% (agua destilada).

Concluimos que los valores obtenidos del test de fragilidad osmótica eritrocitaria del grupo control normal (CN) versus el grupo de pacientes con Eritrocitosis Secundaria (ES) en los periodos 0, 7 y 21 días de almacenamiento demuestran que los glóbulos rojos de pacientes con ES tienen una mayor resistencia osmótica con respecto de los individuos (CN) con un grado de significancia $p < 0,01$, en tanto que al día 14 no existe una diferencia significativa entre los datos con una significancia de $p = 0,659$. Además se evidencia una mayor fragilidad osmótica en ambos grupos durante periodos prolongados de almacenamiento.

La prueba de fragilidad osmótica eritrocitaria al ser una técnica sensible y específica, está sujeta a proporcionar valores de hemoglobina incrementados si no se controla los diferentes factores biofísicos y químicos como manipulación del operador, agitación, temperatura y pH que pueden afectar directamente al eritrocito, para ello es

importante identificar y evaluar las causas con el fin de disminuir resultados que nos dejen algún tipo de duda.

14 RECOMENDACIONES

Actualmente no se evidencia muchos estudios respecto a la fragilidad osmótica en los eritrocitos de pacientes diagnosticados con Eritrocitosis Patológica, los datos obtenidos pueden ayudar a establecer estudios posteriores que puedan definir de forma más clara la incorporación o no de pacientes con este tipo de patología como donantes normales, sin embargo se requiere aumentar la población y analizar otros estudios funcionales de los eritrocitos procedentes de pacientes con Eritrocitosis Secundaria.

15 BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar, M., Velarde, J., Huarachi, N., Mamani, J. & Amaru, R. (2014). Eritrocitosis microcítica post flebotomía. *Eritrocitosis patológica de altura*, 1: 69-74.
- Alanes, A. M., Cáceres, A. M., Cáceres, J. A. & Cáceres, J. L. (2004). Fragilidad osmótica en sujetos con eritrocitosis de la altura, sujetos control y ratas Sprague Dawley. *Rev. Ciencia y Medicina*, 5: 33-34.
- Alonso, Y., Alonso, M., Falcón, J., Lucambio, L. & Castro, M. (2015). Caracterización de la fragilidad osmótica de eritrocitos humanos en la anemia drepanocítica. *Rev. Cubana Quim*, 27(2), 110 – 118.
- Alshalani, A., Owell, A. & Acker, J. (2018). Impact of blood manufacturing and donor characteristics on membrane water permeability and *in vitro* quality parameters during hypothermic storage of red blood cells. *Cryobiology*, 80: 30-37.
- Álvarez, J. & Sala, W. (1989). Poliglobulias Secundarias Hipóxicas. *Archivo de bronconeumología*, 25(7), 282 -294.
- Amaru, R., Torres, G., Quispe, T., Mamani, J., Peñaloza, R., Míguez, H., Amaru, A., & Cuevas, H. (2016). Eritrocitosis patológica de Altura: Eritrocitosis patológicas en habitantes a grandes alturas (1a Ed.). *La Paz*.
- Amaru, R., Torres, G., Quispe, T., Mamani, J., Peñaloza, R., Míguez, H., Amaru, A., & Cuevas, H. (2016). Eritrocitosis patológica de Altura: Caracterización Biológica de la Eritrocitosis Patológica de Altura. (1a Ed.). *La Paz*.
- Amaru, R., Mamani, J., Amaru, A., Aguilar, M., & Cuevas, H. (2013). *Caracterización Clínica de la Eritrocitosis Patológica de Altura*. *Rev. Eritrocitosis Patológica de Altura*. (1a Ed.). La Paz.

- Aparicio, O. (2008). *Texto de Medicina de la Altura: Fisiología – Fisiopatología – Clínica y tratamiento de la patología de la Altura* (1a Ed.). La Paz: GMC Artes Gráficas.
- Balcázar, M., Rodríguez, A., Alvestegui, S. & Quintela, A. (1990). Fragilidad Osmótica. *Dpto. Hematología .Instituto Boliviano de Biología de Altura*, 107 -110.
- Baptista, M. (1982). *Historia gráfica de Bolivia* (2a Ed.). La Paz: Alenkar Ltda.
- Beall, C., Worthman, C., Stallings, J., Strohl, K., Brittenham, G.&Barragan, M. (1992). Salivary testosteroneconcentration of Aymara men native to 3600 m. *Ann. Hum.Biol*, 19(1), 67-78.
- Beall, C. (2006). Andean, Tibetan, and Ethiopian patterns of adaptation to high – altitude hypoxia. *The Society for Integrative and Comparative Biology*, 46(1), 18 – 24.
- Ben, D. & Gavendo, S. (1973). Osmotic Fragility Changes of ACD Blood Units from Polycythemic Donors. *Osmotic Fragility of Polycythemia*, 13(5), 320 – 323.
- Berdonces, J. (1999). Fosfatidilserina. *NaturaMedicatrix*, 55; 28-30.
- Berne, R. & Levy, M. (2009). *Fisiología*, (6a Ed.). Elsevier.
- Beutler, E., Kuhl, W.& West, C. (1982).The Osmotic Fragility of Erythrocytes After Prolonged Liquid Storage and After Reinfusion. *Blood*, 59(6), 1141-1147.
- Cabrera, V. (2008).*Estudio de proteínas de la membrana del glóbulo rojo en pacientes pediátricos con esferocitosis hereditaria de la fundación hospital de la misericordia*. (Tesis Especialidad). Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Medicina. Colombia.
- Cario, H. (2005). Childhood polycythemias/erythrocytoses: classification, diagnosis, clinical presentation, and treatment. *Ann Hematol*, 84;137-145.

- Castillo, T. (2014). ``Cambios hematológicos en relación con la altura en los miembros del club de andinismo, los halcones de la ciudad de Riobamba en el periodo Julio a Noviembre 2013``. (Tesis Licenciatura). Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencias de la Salud. Ecuador.
- Chaudhary, R. & Katharia, R. (2012). Oxidative injury as contributory factor for red cells storage lesion during twenty eight days of storage. *Blood Transfusion*, 10(1), 59-62.
- Chang, A., Hoehn, R., Jernigan, P., Cox, D., Schreiber, M. & Pritts, T. (2016). Previous cryopreservation alters the natural history of the red blood cell storage lesion. *Shock*, 46(1), 89-95.
- Charles, T., Bungudu, U., Osaro, E. & Tosan, E. (2018). Effect of Storage on Osmotic Fragility in CPDA-1 Stored Blood in Sokoto, Northwestern Nigeria. *AdvHemaOnc Res*, 1(1), 1-6.
- Ciesla, B. (2014). *Hematología en la práctica* (2a Ed.). Philadelphia: F. A: Davis Company.
- Corral, L. (1974). Estado actual de la biopatología de altura. *Ap. Med. Dep.*, 11(42), 93 – 115.
- Daniels, G. (2007). Functions of red cell surface proteins. *Vox Sanguinis*, 93:331-340.
- Donato, H., Crisp, R., Rapetti, M., García, E. & Attie, M. (2015). Esferocitosis hereditaria. Revisión. Parte I. Historia, demografía, etiopatogenia y diagnóstico. *Arch Argent Pediatr*, 113(1), 69 – 80.
- Dummer, W., Reeves, J., Weil, J., Berger, K., Rom, W., & West, J. (2012). Presión barométrica, reducción. *Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el trabajo*, 1 -16.

- Dvorkin, M., Cardinali, P., & Lermoli, R. (2003). Bases fisiológicas de la práctica médica, (14a Ed.). Buenos Aires: Editorial Medica Panamericana.
- Escamilla, G. (2010). Lesiones de almacenamiento. *Rev Mex Med Tran*, 3(1), S48-S54.
- Escobar, M., Camacho, C. & Vásquez M. (2007). Incidencia de donadores altruistas del Banco de Sangre de la ciudad del Alto Junio 2004 – Junio 2005. *Rev Sociedad Boliviana de Cirugía*, 13(1), 20 – 25.
- Fernández, A. & Velasco, A. (2010). Los primeros humanos en América. *Estrat Critic*, 1(2011), 379 – 387.
- García, M. & Estrada, M. (2002). Esferocitosis Hereditaria: Aspectos Clínicos, Bioquímicos y moleculares. *Rev Cubana HematolInmunolHemoter*, 18(1), 7 – 24.
- Gargani, Y. (2013). *Lo esencial en hematología e inmunología* (4a Ed.). Barcelona: Elsevier.
- Garrido, E. (1997). *Altitud y riesgo neurológico alpinistas europeos versus Sherpas del Himalaya*. (Tesis doctoral). Universidad de Barcelona. Departamento de ciencias fisiológicas y nutrición. España.
- Garrote, H., Gómez, M., Jaime J., Pavón, V. & Martínez, G. (2012). Esferocitosis hereditaria: de la biogénesis a la patogénesis. *Rev Cubana de Hematología*, 28(4), 310-326.
- Gonzales, G. (2011). Hemoglobina y testosterona: importancia en la aclimatación y adaptación a la altura. *Rev Perú MedExp Salud pública*, 28(1), 92 -100.
- Gonzales, G. & Tapia, V. (2007). Hemoglobina, Hematocrito y adaptación a la altura su relación con los cambios hormonales y el periodo de residencia multigeneracional, *RevMed*, 15(1), 80 – 93.

- Hernández, P., Bencomo, A., Alfonso, M. & Castañeda, P. (2000). La ética y la ciencia en la donación de sangre voluntaria. *UNIV DIAG*, 1(2), 24 -30.
- Herrera, M., & Estrada, M. (2002). Esferocitosis Hereditaria: Aspectos clínicos, Bioquímicos y Moleculares. *Rev Cubana HematolInmunolHemoter*, 18(1), 7 – 24.
- Hinojosa, W. (2011).Biología de Altura: Gasometría arterial y adaptación en la altura. *RevMed – Cient `` Luz Vida``*, 2(1), 39 – 45.
- Hyman, G.& Carlsen, F. (1970). Polycythemic Donors – Are they useful and safe?. *Transfusion*, 10(1), 10 – 13.
- Ibarra, D.& Querejazu, R. (2012). *30.000 años de prehistoria en Bolivia*. La Paz: Los amigos dellibro.
- Igbokwe, N. (2018). A review of the factors that influence erythrocyte osmotic fragility.*Sokotojournalof Veterinary Sciences*,16(4), 1 – 23.
- INE. (2018). *Estimaciones y proyecciones de población según departamento*. Santa Cruz: Instituto Nacional de Estadística.
- Kameneva, W. (1999). Gender difference in rheologic properties of blood and risk of cardiovascular diseases.*Clinical Hemorheology & Microcirculation*, 21 (1999) 357.
- Kaushansky, K., Lichtman, M., Prchal, J., Levi, M., Press, O., Burns, L.&Caligiuri, M. (2015). *Williams Hematology* (9a Ed.). New York:McGraw-Hill Education.
- Kuypers, F. (2008). Red Cell Membrane Lipids in Hemoglobinopathies.*Current Molecular Medicine*, 8, 633-638.

- Lazarte, S., Leri, N., Jiménez, C., Haro, A. C., Burgos, M. & Isse, B. (2012). Resistencia osmótica eritrocitaria en el diagnóstico de anemias hereditarias en Tucumán Argentina. *Acta BioquimClinLatinoam*, 46(4), 645 – 653.
- Lu, D., Lou, H., Yuan, K., Wang, X., Wang, Y., Zhang, C., & Xu, S., (2016). Ancestral Origins and Genetic History of Tibetan Highlanders. *The American journal of Human Genetic*, 1(99), 580 – 594.
- Madoze, P. & Arrieta, R. (2006). *Promoción de la sangre II: Criterios básicos para la selección de donantes de sangre y componentes*. Madrid: Ministerio de sanidad y consumo.edicion.
- Magnussen, K., Hasselbalch, C., Ullum, H. & Bjerrum, W. (2013). Characterization of blood donors with high haemoglobin concentration. *Vox sanguinis*, 104: 110-114.
- Maney, w. & Son, L. (2014). Secondary erythrocytosis. *Hematology*, 19(3), 183 – 184.
- Mast, A., Foster, T., Pinder, H., Beczkiewicz, C., Bellisissimo, D., Murphy, A., & Witcher, D. (2008). Behavioral, biochemical, and genetic analysis of iron metabolism in high – intensity blood donors. *Blood donors and blood collection*, 48(2), 2197 – 2204.
- Marquart, D., Geir, B. & Pabst, G. (2015). Asymmetric Lipid Membranes: Towards More Realistic Model Systems. *Open accessmembranes*, 5, 180-196.
- Mckenzie, S., (2000). *Hematología Clínica (2a Ed.)*. México: El manual moderno.
- Merlo, V. (2009). *Determinación de eritropoyetina en pacientes con eritrocitosis primaria y secundaria mediante el método de quimioluminiscencia*. (Tesina licenciatura). UMSA. Facultad de ciencias farmacéuticas y Bioquímicas. Bolivia.

- Mesa, C., Mesa, J.& Gisbert, T. (2001). *Historia de Bolivia* (4a Ed.). La Paz: Gisbert y Cía. S.A.
- Meza, U., Romero, A., Lincon, Y.& Sánchez, S. (2010). La membrana plasmática: Modelos, Balsas y Señalización. *REB*, 29(4), 125 -134.
- Monge, M. &Rodríguez, D. (2017). Cuerpo carotideo: Un enfoque Anatómica y Fisiológico. *Medicina legal de Costa Rica*, 34(1), 1-8.
- More.(2 Noviembre 2019). Wikipedia. Recuperado el 3 Noviembre de 2019, de Wikipedia: https://thefactfactor.com/facts/pure_science/biology/human-biology/erythrocytes/4557/
- Navia, M., Hebel, E., Ríos, E., Lanás, F., Muñoz, S., Artieda, P. (2001). Factores de riesgo asociados a eritrocitosis de altura en la ciudad de La Paz. Bolivia. *Cuadernos del hospital de clínicas*, 47(1), 63 – 71.
- Neymer, S., Andrade Mollinedo, P.& Huicho, L. (2009). Child health and living at high altitude. *Archives of Disease in Childhood*, 94, 806–811.
- OPS. (2009). *Elegibilidad para la Donación de Sangre: Recomendaciones para la Educación y la Selección de Donantes Potenciales de Sangre*. Washington, D. C.
- Parpart, A., Lorenz, P., Parpart, E., Gregg, J. & Chase, A. (1946). The osmotic resistance (fragility) of human red cells. *J. cell & Comp. Physiol*, 636 – 640.
- Peñuela, O. (2005). Hemoglobina: Una molécula modelo para el investigador. *Colomb. Med.* 36(3), 215-225.
- Peñuela, O. & Gómez, L. (2010). Eritropoyetina: Más allá de la proliferación y maduración eritroide. *rev.fac. med*, 18(1), 67-76.
- Pueyo, G. & Bello, J. (2011). Policitemia Vera. *Actualizaciones*, 18(1), 8 – 12.

- Rawlinson, M. & Flanagan, P. (1992). Patients with secondary polycythaemia as blood donors. *BMJ*, 304 - 499.
- Sánchez, A. & Díaz, I. (2006). Papel de los esfingolipidos en la señalización celular. *Dianas*, 1(1); 1-10.
- Sans-Sabrafen, J., Besses, R. & Vives, J. (2006). *Hematología clínica* (5a Ed.). Barcelona: Elsevier.
- Sowemimo, C. (2002). Red blood hemolysis during processing. *Transfusion Medicine Reviews*, 16(1), 46-60.
- Tinajero, L. (2014). *Determinación de la incidencia de la flebotomía terapéutica en pacientes con Policitemia Vera diagnosticados por Hematocrito y Hemoglobina en el banco de sangre Riobamba 2012*. (Tesis Maestría). Universidad de Guayaquil. Facultad de Ciencias Químicas. Ecuador.
- Trompetero, A., Cristancho, E., Benavidez, W., Mancera, E., & Ramos, D. (2015). Efectos de la exposición a la altura sobre los indicadores de la eritropoyesis y el metabolismo del hierro. *Rev. Fac. Med.* 63(4), 717-25.
- Torrez, L., Ramírez, J., Vélez, M. & Flores, M. (2013). Corea y Eritrocitosis de altura: reporte de caso. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*, 30(4), 705-8.
- Uscamayta, F. (2007). Eritrocitosis de altura patológico. *Revista científica de estudiantes de medicina UMSA*, 5(59), 50-56.
- Vargas, E. & Villena, M. (1993). Factores predominantes en la etiopatogenia de la enfermedad de Monge (EPA) en La Paz Bolivia (3.600 – 4.000 M). *Etiopatogenia*, 263-281.

Villanueva, M., Vicario, J., Fonceca, CH., Caballero, J., Zabala, S., Sánchez, M. & Gonzales, N. (2013). Eritrocitosis secundaria a la producción inapropiada de eritropoyetina por un carcinoma de células renales. *Semergen*, 39(5), 282-28.

Zanella, A., Silvani, C., Banfi, P., Bellone, G. & Sirchia, G. (1987). Screening and evaluation of blood donors with upper – limit hematocrit levels. *Transfusion*, 27: 485-487.



Anexo 1

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo,.....con CI.....
.....concedo autorización para que se utilice la cantidad necesaria de sangre y hemocomponentes en el "ESTUDIO DE LA RESISTENCIA OSMOTICA DE ERITROCITOSIS SECUNDARIA". Certifico que he sido informado sobre este proyecto de investigación y entiendo lo que es y cuáles son sus riesgos, también he sido informado que me darán a conocer los resultados de la muestra sanguínea donada y que mis datos serán manejados de manera confidencial.

Informo de igual manera que he tenido la oportunidad de negarme a ser parte del estudio, por ello eximo de toda responsabilidad a esta institución y a sus miembros ante cualquier tipo de reclamo o demanda que yo, mis herederos, ejecutores o administradores tengan o puedan tener en contra de cualquiera de ellos en lo que se refiere a esta donación y cualquier consecuencia como resultado directo o indirecto de ella.

Por tal motivo otorgo mi consentimiento para formar parte del proyecto de investigación.

IDENTIFICACIÓN DEL DONANTE

Nombre y Apellido:

CI:..... Edad:..... Sexo: M () F ()

Dirección:.....

Teléfono:..... Fecha:.....

Firma:.....



Anexo 2

INFORME DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN DEL ESTUDIO DE RESISTENCIA OSMÓTICA DE ERITROCITOSIS SECUNDARIA

En qué consiste:

En el Departamento de La Paz, la mayoría de las donaciones de sangre son por reposición y un número menor son realizadas por donantes voluntarios, lo que dificulta el acceso a paquetes globulares como requerimiento para su uso en transfusiones sanguíneas, esta inaccesibilidad conlleva muchas veces al fallecimiento de muchos pacientes.

Uno de los factores más habituales de rechazo en donantes es el incremento de hematocrito $>60\%$ característico en personas diagnosticadas con Eritrocitosis Patológica que presentan un incremento de eritrocitos en sangre circulante, a ello se suma la posible fragilidad eritrocitaria que puede surgir post transfusión.

Por tal motivo surge la necesidad de realizar un estudio que permita considerar la incorporación de donantes voluntarios diagnosticados con eritrocitosis Secundaria para abastecer con una mayor cantidad de paquetes globulares y así corregir las pérdidas de sangre que se da por diversos factores.

La presente investigación busca medir el grado de hemolisis producida en eritrocitos de paquetes globulares de pacientes control normales y pacientes con diagnóstico de Eritrocitosis Secundaria mediante la prueba de Fragilidad Osmótica Eritrocitaria (FOE) con el fin de estudiar las características biológicas de los eritrocitos y evaluar si existen diferencias significativas entre ambos grupos de estudio.

Privacidad de la información y protección de los intereses del paciente

Los datos personales serán asignados mediante un sistema de codificación. Asimismo, se podrán ejecutar los derechos de acceso, rectificación y oposición al tratamiento de datos de carácter personal, y de revocación del consentimiento.

El donante tiene derecho a disponer de la información sobre el uso concreto que se ha dado a su muestra, en qué proyecto de investigación se ha usado y quién es el investigador principal. La decisión de permitir utilizar la muestra para fines de investigación es totalmente voluntaria por su parte. En el momento que usted crea pertinente puede retirar su consentimiento de continuar con el estudio. Su decisión, sea cual fuere, no comportará penalización alguna, ni afectará en ningún modo a los cuidados médicos y a la asistencia que pueda necesitar en el futuro.

Riesgos típicos:

Toma de muestra: La donación de sangre apenas tiene efectos secundarios; lo más frecuente es la aparición de pequeños hematomas en la zona de punción que desaparecerán transcurridos 1 o 2 días.

Beneficios esperados:

No percibirá ninguna compensación económica o de otro tipo por las muestras donadas. Las muestras no serán vendidas o distribuidas a terceros con fines comerciales.



Anexo 3

ENTREVISTA PERSONAL DE DONACIÓN

Nombre: Fecha de Extracción:

Apellido: Código Colecta: Tipo de donación:

Fecha de Nacimiento: Peso: Hb: Hto: VCM: .. TA:

Dirección: Pulso: Tipo de bolsa: ..

Código Postal: Marca:

Ciudad: Reacciones post-extracciones: Si No

Teléfono: Tipo:

Celular: Correo:

Marque con una X

Condiciones básicas para la donación:	SI	NO
¿Es mayor de 18 años y pesa más de 50 Kg?	---	---
¿Tiene buena salud?	---	---
Si es mujer, ¿está embarazada o lo ha estado en las últimas 8 semanas?	---	---

Condiciones básicas para la donación:	SI	NO
¿Fue rechazado alguna vez?	---	---
Tuvo alguna reacción post-donación	---	---
Lugar y fecha de la última donación:	---	---

Precaución en las últimas 12 horas	SI	NO
¿Debe realizar alguna actividad laboral o deportiva de riesgo (trabajo en altura, escalada, etc) o conducir un vehículo de transporte público?	---	---
Medicación	SI	NO
¿Está tomando o ha tomado en los últimos días algún medicamento?	---	---
¿Ha tomado alguna vez Etreinato o alguna otra droga para psoriasis?	---	---
¿Está tomando medicación para la próstata?	---	---
¿Tomó aspirina o analgésicos en los últimos 3 días?	---	---
En las últimas 2 Semanas	SI	NO
¿Ha presentado fiebre, acompañada de dolor de cabeza y malestar general?	---	---
¿Ha visitado al dentista?	---	---
En el último Mes	SI	NO
¿Ha recibido alguna vacuna?	---	---
¿Ha estado en contacto con alguna persona que padeciera una enfermedad?	---	---
En los últimos 6 Meses	SI	NO
¿Ha asistido a la consulta de algún médico o ha estado hospitalizado?	---	---
¿Ha sido sometido a algún tipo de cirugía y/o endoscopia?	---	---
En los últimos 12 Meses	SI	NO
¿Se realizó tatuajes colocación de piercing o acupuntura?	---	---

¿Tuvo algunas de las relaciones y/o prácticas sexuales “de riesgo incrementado” descritas en el formulario de autoexclusión?	---	---
¿Estuvo en contacto con sangre o fluidos corporales a través de piel o mucosas lesionadas?	---	---
¿Recibió sangre, componentes o algún trasplante? ¿Convive o ha convivido, con alguien que padeciera hepatitis o ictericia?	---	---
En alguna ocasión, en el transcurso de su vida	SI	NO
¿Ha padecido alguna enfermedad grave que exigió control médico periódico?	---	---
¿Ha padecido hepatitis, ictericia o problemas de hígado?	---	---
¿Ha sufrido alguna enfermedad grave de pulmón, cerebro, riñón, tiroides, aparato digestivo o en otras localizaciones?	---	---
¿Ha padecido problemas de corazón o de la presión sanguínea?	---	---
¿Padece diabetes tratada con insulina de origen animal?	---	---
¿Ha padecido algún tipo de cáncer?	---	---
¿Ha tenido hemorragias o alguna afección de la sangre como anemia o leucemia?	---	---
¿Se inyectó o se inyecta drogas intravenosas ilegales o aspiró cocaína regularmente?	---	---
¿Ha recibido hormona de crecimiento de origen humano (antes de 1987)?	---	---
¿Ha recibido tejido procedente de otra persona (duramadre, córnea, otros...)?	---	---
¿Usted o algún familiar ¿sufre o ha sufrido la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob?	SI	NO
¿Tuvo paludismo en los últimos 3 años o estuvo en el	---	---

último año en áreas endémicas de la enfermedad?

--- ---

¿Le han dicho que tiene análisis positivos para VIH/SIDA,
Hepatitis B o C, virus HTLV I-II, Chagas, brucelosis
o sífilis?

--- ---

Anexo 4

Obtención de sangre venosa en bolsas colectoras con anticoagulante CPDA-1 y separación a paquete globular.



Fuente propia

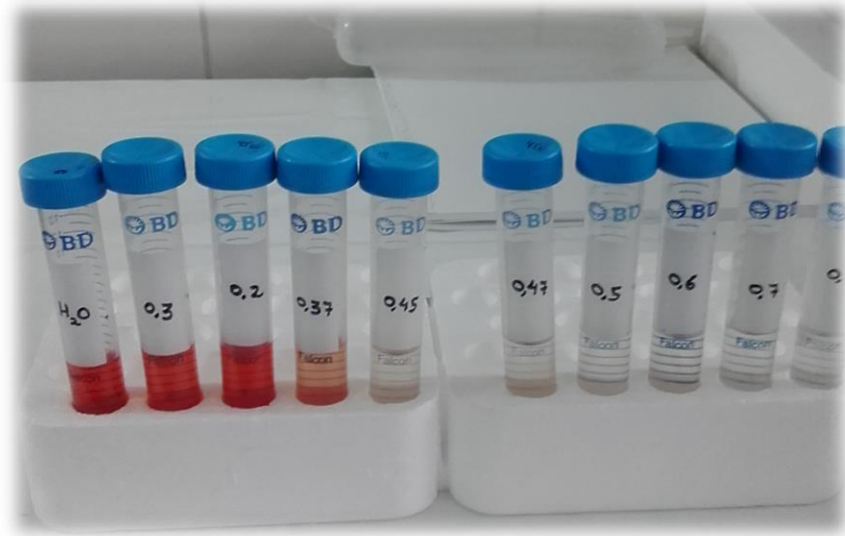
Anexo 5

Solución madre al (1%) para el test de Fragilidad Osmótica Eritrocitaria.



Anexo 6

Diluciones salinas de NaCl a diferente concentración y presencia visual de hemólisis.



Fuente propia

Anexo 7

Fórmula para el cálculo del porcentaje de Hemólisis. (Alonso et al., 2015)

$$\%Hemólisis = \frac{Abs_{x\%}}{Abs_{0\%}} * 100$$

donde

$Abs_{x\%}$: representa el valor de absorbancia a 540 nm de las muestras a diferentes concentraciones de NaCl.

$Abs_{0\%}$: representa el valor de absorbancia a 540 nm de la muestras a 0 % de NaCl.

Anexo 8

Cálculo para determinación de mili osmolaridad

Ej. Para una concentración de NaCl (0,9%)

$$C = \frac{PM * M}{1000}$$

C: Concentración de NaCl
PM: Peso Molecular de NaCl
1000: Constante

$$M = \frac{C * 1000}{PM} = \frac{(9 * 10^{-3}) * 1000}{(58,5)} = 0,154 \text{ mol/L}$$



$$(0,308 \text{ Osmol/L}) * (1\text{mili}/0,001) = 308 \text{ mOsmol/L}$$

$$\boxed{\text{NaCl (0,9\%)} = 308 \text{ mOsmol/L}}$$

Anexo 9

Cálculo de la osmolaridad plasmática en Condiciones normales

$$\text{Osmolalidad plasmática} = 2([\text{Na}^+] \text{ plasmática}) + \frac{[\text{glucosa}]}{18} + \frac{[\text{urea}]}{2,8}$$

$$\text{Osmolalidad plasmática} = 2(140 \text{ mEq/L}) + \frac{[90 \text{ mg/dL}]}{18} + \frac{[40 \text{ mg/dL}]}{2,8}$$

$$\text{Osmolalidad plasmática} = 299,35 \text{ mOsmol/L} \pm 10$$

$$\boxed{\text{Osmolalidad plasmática} = 290 \text{ mOsmol/L}}$$

Anexo 10

Cálculo de la Tonicidad

Ej. Para una concentración de NaCl (0,9%)

$$\text{Tonicidad} = \frac{\text{Osmolaridad de la Solución}}{\text{Osmolaridad del plasma sanguíneo}}$$

$$\text{Tonicidad} = \frac{308 \text{ mOsmol/L}}{290 \text{ mOsmol/L}}$$

$$\boxed{\text{Tonicidad} = 1,06}$$