



SANGRE ARTIFICIAL

Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla





TRABAJO FIN DE GRADO
CURSO ACADÉMICO (2020-2021)

GRADO EN FARMACIA
UNIVERSIDAD DE SEVILLA-FACULTAD DE FARMACIA

SANGRE ARTIFICIAL

TRABAJO BIBLIOGRÁFICO

Autor: Blanca Márquez Rodríguez

Lugar y fecha de presentación: Facultad de Farmacia 20/07/2021

Tutor: Dr. D. Jaime Oviedo López

Departamento de Química-Física

RESUMEN:

Abastecer los centros de transfusiones hoy en día resulta un reto para la ciencia, por este motivo y por otras numerosas razones, cómo evitar la transmisión de infecciones, las reacciones adversas de una transfusión, facilitar el transporte, o prolongar el tiempo de almacenamiento de un producto útil que permita cumplir la función de transporte de oxígeno que tiene la sangre homóloga humana, se lleva a cabo el desarrollo de sustitutos sanguíneos artificiales que cumplan y satisfagan los requerimientos de oxígeno que necesita un organismo de la misma forma que lo hace esta. Para entender la función de estos sustitutos artificiales se lleva a cabo una extensa revisión bibliográfica que abarca la composición, función y uso de la sangre, así como los objetivos que pretenden alcanzar los investigadores en esta búsqueda de sangre artificial. Además, se pretende hacer un repaso de los sustitutos sanguíneos desarrollados hasta día de hoy. No obstante, este producto no está concluido, es un producto en desarrollo, que al igual que presenta beneficios, presenta también considerables limitaciones, tales como la falta de perfeccionamiento de la técnica, el coste de la investigación o algunos efectos secundarios graves. Estas limitaciones son las responsables de que hasta el momento no haya ningún sustituto sanguíneo comercializado, sin embargo, hay presente unos últimos estudios que parecen prometedores. Por otra parte, como curiosidad, me parece interesante conocer también el uso fraudulento que presenta algunos de estos sustitutos en el deporte, sirviendo como dopaje en competiciones, a la vez que también me parece interesante conocer la influencia de la COVID-19 a nivel de donaciones y el impacto que ha presentado esta en el desarrollo de algunas investigaciones científicas.

PALABRAS CLAVE:

Sangre, Transfusión, Hemoglobina, Perfluorocarbonato, Eritrocito.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	pág. 6
1.1. Historia.....	pág. 6
1.2. Composición y función de la sangre.....	pág. 8
1.2.1. Plasma sanguíneo.....	pág. 8
a) Componentes específicos.....	pág. 8
b) Funciones del plasma.....	pág. 9
1.2.2. Células sanguíneas.....	pág. 9
a) Componentes y su función específica.....	pág. 9
1.3. Células madre y producción de células sanguíneas.....	pág. 11
1.3.1. Mielopoyesis.....	pág. 12
1.3.2. Linfopoyesis.....	pág. 13
1.4. Exámenes hematológicos.....	pág. 14
1.4.1. Trastornos de la sangre y cómo tratarlos.....	pág. 14
1.5. Grupos sanguíneos. Prueba de anticuerpos.....	pág. 15
1.6. Control de calidad y seguridad de las transfusiones.....	pág. 16
1.6.1. Niveles de seguridad.....	pág. 16
1.6.2. Medidas de seguridad aplicadas a la sangre donada.....	pág. 17
1.6.3. Equipo y procedimiento para realizar una transfusión segura.....	pág. 17
1.7. Reacciones adversas de las transfusiones.....	pág. 18
1.8. Coste de una transfusión sanguínea.....	pág. 18
2. OBJETIVOS.....	pág. 19
2.1. Desarrollo y objetivos.....	pág. 19
2.2. Expectativas y beneficios.....	pág. 20
3. METODOLOGÍA.....	pág. 20
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	pág. 21
4.1. Tipos de sustitutos sanguíneos.....	pág. 21
4.1.1. Transportadores de oxígeno basados en Perfluorocarbonatos.....	pág. 21
a) PFC de primera generación.....	pág. 22

b) PFC de segunda generación.....	pág. 22
c) PFC de tercera generación.....	pág. 23
4.1.2. Transportadores de oxígeno basados en Hemoglobina.....	pág. 23
a) HBOC de primera generación.....	pág. 24
b) HBOC de segunda generación.....	pág. 24
c) HBOC de tercera generación.....	pág. 25
d) Hemoglobina PEGilada.....	pág. 26
e) Hemoglobina encapsulada.....	pág. 27
4.1.3. Superexpansores plasmáticos.....	pág. 27
4.2. Limitaciones.....	pág. 28
4.2.1. Dificultades e inconvenientes de los sustitutos sanguíneos.....	pág. 28
4.2.2. Coste y Farmacoeconomía.....	pág. 30
4.3. Obtención de hematíes a partir del cultivo de células madre embrionarias.....	pág. 30
4.3.1. Método.....	pág. 30
4.3.2. Limitaciones.....	pág. 31
4.4. Estudio ErythroMer.....	pág. 31
4.5. Dopaje sanguíneo.....	pág. 32
4.6. Influencia COVID-19.....	pág. 33
4.6.1. Influencia en las donaciones.....	pág. 33
4.6.2. Influencia en la investigación.....	pág. 33
5. CONCLUSIÓN.....	pág. 33
6. BIBLIOGRAFÍA.....	pág. 34

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Historia

Según la Real Academia Española, la sangre es un líquido generalmente de color rojo que circula por las arterias, venas y capilares, bombeado por el corazón de los animales vertebrados. El objetivo de la sangre es nutrir los tejidos y retirar los productos de desecho de las células del organismo. Por tanto, la sangre es el componente del sistema circulatorio que se encarga de transportar los nutrientes necesarios para los tejidos del organismo.

Al principio de los siglos, la sangre se consideraba un elemento vital al que se atribuía cualidades mágicas, es por ello, que diversas culturas realizaban sacrificios y ofrendas de sangre a los dioses. Otras creencias defendían que la extracción a través de sangrías permitía al sanador sacar los humores malignos de las enfermedades, en cambio, fue William Harvey en 1628 quién generó una revolución terapéutica, exponiendo que se podía obtener los mismos propósitos curativos si se transfundía la sangre en vez de extraerla.

Una transfusión es un procedimiento médico en el que un paciente recibe sangre donada por medio de un catéter intravenoso. Este procedimiento puede salvar vidas, ya que ayuda a reemplazar la sangre perdida a causa de cirugía o lesión. También, puede ser útil cuando una enfermedad impide que el cuerpo produzca de forma adecuada sangre o algunos de los componentes sanguíneos (MayoClinic, 2021).

En 1665 Richard Lower logró realizar la primera transfusión sanguínea, pero en este caso lo realizó entre dos perros, intensificándose estos experimentos con animales de la misma y distinta especie, esto animó a intentar la transfusión de animal a humano. Sin embargo, debido a varios fracasos se prohibieron estas prácticas retrasando el avance de la Medicina Transfusional durante varios siglos (Flores, 2016).

No fue hasta inicios de los años 1800 cuando se desarrolló la transfusión de humano a humano. En 1818, en Londres, James Blundell tenía el objetivo de restituir la sangre perdida en el postparto con sangre humana, con el único objetivo de reemplazarla, sus transfusiones fueron exitosas debido a la mejora de las técnicas e instrumental, y por su insistencia en el exclusivo uso de sangre humana. No obstante, el verdadero resurgimiento de la transfusión se produce en el siglo XIX, debido a los avances de la fisiología sanguínea en siglos anteriores (Marrón-Peña, 2017).

En la segunda mitad del siglo XIX, gracias al médico austriaco Karl Landsteiner en 1901, se descubrió que la sangre humana dependiendo de cada persona tenía en su composición tres tipos distintos de hematíes, los grupos A, B y O. Este hecho pasó desapercibido hasta 1907, en que Hektoen señala la importancia de este descubrimiento en la génesis de las reacciones transfusionales. Posteriormente, en 1940 Landsteiner, Wiener, Levine y Stetson descubren el factor Rh (de Torres Fabios, 2008). Estas dos connotaciones son de importancia a la hora de realizar una transfusión sanguínea, debido a que supone una importante dificultad de incompatibilidad, este es uno de los motivos que impulsa el desarrollo de sangre artificial.

Se suele denominar sangre artificial a los transportadores de oxígeno producidos por síntesis química o por modificación de la hemoglobina natural (Pereira, 2002). Los sustitutos de la sangre no son realmente un sustituto completo como su nombre implica, estos están diseñados simplemente para apoyar una sola función terapéutica, la del transporte de oxígeno a los tejidos, por esta razón, estos sustitutos se denominan “agentes terapéuticos con oxígeno” (Chen et al., 2009).

La sangre artificial podría ser la solución a la excesiva demanda de sangre que encontramos hoy día, al igual que serviría como rápido acceso a millones de personas que necesiten una transfusión, siendo una manera muy efectiva de salvar miles de vidas (Lemos-Rodríguez, 2020).

La búsqueda de una alternativa adecuada para la sangre humana comenzó en el siglo XVII, cuando Christopher Wren sugirió el uso de la cerveza, el vino y el opio como sustitutos de la sangre (Squires, 2002). Previamente se probó con sustancias como orina, resinas vegetales, sangre de oveja, leche y soluciones salinas, todas ellas sin éxito. Pese a todo, las bases del desarrollo de la sangre artificial comenzaron a establecerse a principios del siglo XX, cuando se entendió que el transporte de oxígeno de los glóbulos rojos era el objetivo de las transfusiones y cuando se reconoció la necesidad de una transfusión específica. En cambio, los primeros experimentos en animales, a los cuales se les transfundió productos no modificados no dieron buenos resultados, en los que se apreciaban insuficiencia renal, coagulopatía, antigenicidad, liberación de histamina y vasoconstricción. Posteriormente, esta toxicidad se relacionó con la presencia de estroma de glóbulos rojos en el producto (Farrar et Grocott, 2003).

1.2. Composición y función de la sangre

Al analizar la sangre, es posible comprobar que una parte de ella se mantiene en estado líquido, a lo que denominamos plasma, y otra parte se compone por células en suspensión, entre las que encontramos las plaquetas, leucocitos y hematíes como podemos ver en la **Figura 1**.

En la totalidad del peso corporal humano, a la sangre le corresponde un 7%, esto equivale a cinco litros de volumen corporal, de los cuales, casi tres corresponden al plasma y los dos restantes a los elementos formes.

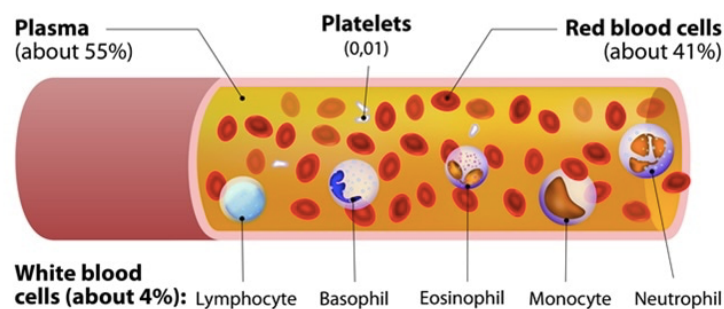


Figura 1: Los elementos de la sangre, sección del corte del vaso sanguíneo (Thomas, 2018).

1.2.1. Plasma Sanguíneo

El plasma es un líquido salado, arenoso, viscoso y de color amarillento translúcido. Contiene una mezcla compleja de agua, sales inorgánicas, compuestos orgánicos y más de mil proteínas, cada una de las cuales puede ser activada, degradada o eliminada (Benjamin et McLaughlin, 2012). El plasma es diseñado para llevar alimentos, hormonas y proteínas a diversas partes del organismo. También se encarga de llevar los residuos del metabolismo de diversas células a los órganos responsables de desintoxicar y excretar estos productos de desecho. Además, el plasma es el vehículo para el transporte de los elementos formes.

a) Componentes específicos

El plasma se compone principalmente por albúmina, globulinas, factores de coagulación, proteínas del complemento, aminoácidos, nutrientes y electrolitos. La albúmina y los electrolitos mantienen el pH y la presión osmótica característica (Lozano, 2005). Las globulinas a su vez se dividen en alfa, beta y gamma globulinas, cuya función es el metabolismo energético de las grasas, el transporte de ellas y proteger al organismo mediante la inmunidad humoral

respectivamente (Thomas, 2018). Los factores de coagulación participan en la hemostasia secundaria, son las proteínas encargadas de formar el coágulo sanguíneo (Martinuzzo, 2017). Por último, los aminoácidos y nutrientes son componentes que viajan por el plasma, pero no cumplen ninguna función específica en él (Silverthorn, 2014).

b) Funciones del plasma

El Centro Nacional de Información Biotecnológica declara las funciones del plasma. Una de sus funciones es regular la temperatura corporal, ya que el plasma absorbe o desprende calor. También regula el pH, y lo mantiene ligeramente alcalino gracias a la acción secuestrante de hidrógeno que presentan los iones que transporta. Por último, las proteínas que contiene ayudan a mantener la presión osmótica y sirven de transporte para permitir la llegada de pequeñas moléculas al órgano o tejido que las utilice.

1.2.2. *Células sanguíneas*

Los elementos formes componen el 45% de la sangre. Su composición está principalmente formada por glóbulos rojos, plaquetas y glóbulos blancos (Silverthorn, 2014).

a) Componentes y su función específica

- Glóbulos rojos o eritrocitos: son células especializadas que circulan por el organismo gracias al torrente sanguíneo, cuya función reside en entregar oxígeno a los tejidos y regresar el dióxido de carbono, un producto de desecho, desde los tejidos a los pulmones. Estas células son pequeñas y bicóncavas, podemos apreciar su estructura en la **Figura 2**, en cambio, no presentan mitocondrias ni núcleo cuando son maduras. Su forma característica permite aumentar su relación superficie-volumen, mejorando el intercambio de gases. El déficit de núcleo permite poseer espacio adicional para la *hemoglobina*, proteína clave para el transporte de oxígeno, al igual que la falta de mitocondrias evita que estas células utilicen el oxígeno que transportan, para maximizar la cantidad que llega a los tejidos del cuerpo. En la **Figura 2** observamos también la hemoglobina que contienen en su interior un eritrocito. El transporte de oxígeno se debe fundamentalmente a la hemoglobina, por otra parte, en el transporte del dióxido de carbono interviene una enzima que es la *anhidrasa carbónica*, esta convierte el dióxido de carbono en bicarbonato, pudiendo este último ser disuelto en el plasma y devuelto a los

pulmones, donde se convierte nuevamente a dióxido de carbono y se libera (Silverthorn, 2014). Los glóbulos rojos, también llamados hematíes, presentan una vida media de 120 días, una vez sobrepasado su vida útil se descomponen en el hígado y el bazo. A su vez, se van creando nuevos eritrocitos en la médula ósea (Centro Nacional de Información Biotecnológica, 2021).

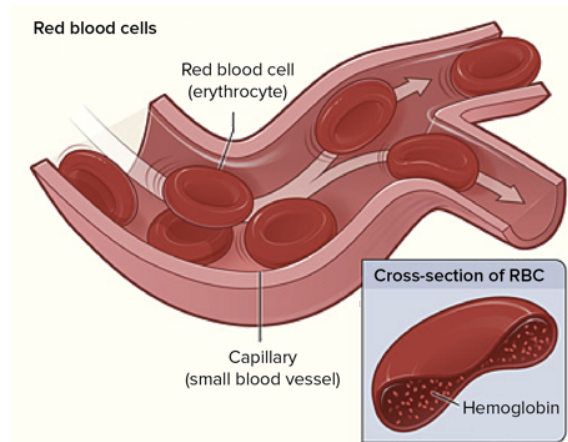


Figura 2: Sección del corte de vaso sanguíneo donde se puede ver los eritrocitos y sección del corte de un eritrocito donde se puede ver la hemoglobina (Khan Academy, 2021).

- Glóbulos blancos o leucocitos: son células con núcleo y todos los orgánulos citoplasmáticos que posee una célula normal, de ahí a que sean más grandes que los eritrocitos. Constituyen menos del 1% de las células en la sangre. Presenta menor proporción en sangre que los eritrocitos, sin embargo, podemos encontrar mayor cantidad de leucocitos fuera de los vasos sanguíneos. Su función es participar en la respuesta inmunitaria, produciendo una defensa rápida y potente frente a microorganismos infecciosos. Los leucocitos se caracterizan porque presentan un movimiento ameboso, pueden salir de los vasos sanguíneos a través de las uniones entre las células endoteliales, es decir, realizar *diapédesis*, se mueven por quimotaxis y muestran capacidad fagocítica. Podemos diferenciar cinco tipos principales de leucocitos, clasificándolos en granulocitos (basófilos, neutrófilos y eosinófilos) o agranulocitos (monocitos y linfocitos) debido a su apariencia al microscopio. En la **Figura 3** encontramos los diferentes tipos de leucocitos. Estas células son las que confieren inmunidad al organismo, pudiendo diferenciarse inmunidad innata o inespecífica, que se produce por la activación de macrófagos y neutrófilos que activan los linfocitos T, e inmunidad adquirida o específica, en la que los linfocitos B de memoria y T son los responsables (Silverthorn, 2014).



Figura 3: Principales tipos de leucocitos, diferenciando granulocitos y agranulocitos (Khan Academy, 2021).

- Plaquetas o trombocitos. Son fragmentos de células sin núcleo cuya función principal es intervenir en la hemostasia, evitando la hemorragia. Los trombocitos se producen cuando los megacariocitos se rompen en pedazos. En la **Figura 4** observamos la rotura de un megacariocito dando lugar a plaquetas. Participan en la hemostasia primaria, formando un tapón plaquetario (**Figura 5**) cuando se daña el revestimiento de un vaso sanguíneo (Silverthorn, 2014)

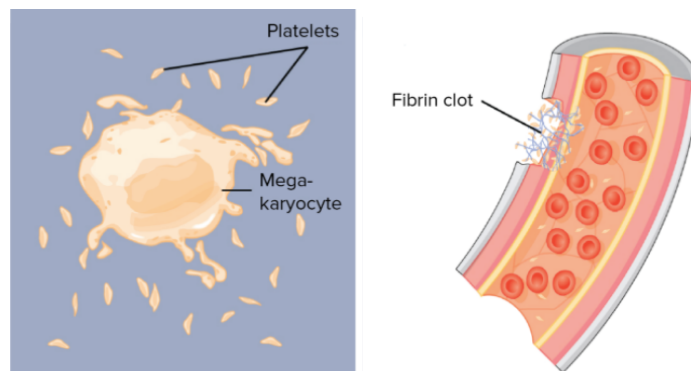


Figura 4 y 5: Formación de plaquetas a partir de un megacariocito y formación del tapón plaquetario (Khan Academy, 2021).

1.3. Células madre y producción de células sanguíneas

Los eritrocitos, leucocitos y megacariocitos descienden de un precursor común, una célula madre hematopoyética, responsable de la renovación constante de las células sanguíneas (Weissman et al., 2001). Las diversas células sanguíneas sufren varias etapas desde células madre hasta llegar a las correspondientes células sanguíneas maduras. Posteriormente, cuando las células están listas, se liberan al torrente sanguíneo, donde viajan, mientras que una pequeña cantidad de células madre indiferenciadas se mantiene en la médula ósea produciendo de forma continua e indefinida células maduras e inmaduras del linaje mieloide y linfoide (Lapidot y Petit, 2002).

La célula madre hematopoyética puede generar dos progenitores celulares diferentes, progenitor mieloide y progenitor linfoide (**Figura 6**), que dan a su vez linajes celulares diferentes de células sanguíneas especializadas (Gasparoni et al., 2000). Como observamos en la **Figura 6**, las células madre mieloides dan lugar a glóbulos rojos, plaquetas, basófilos, neutrófilos, eosinófilos y monocitos, mientras que las células madre linfoides generan linfocitos y células Natural-Killer.

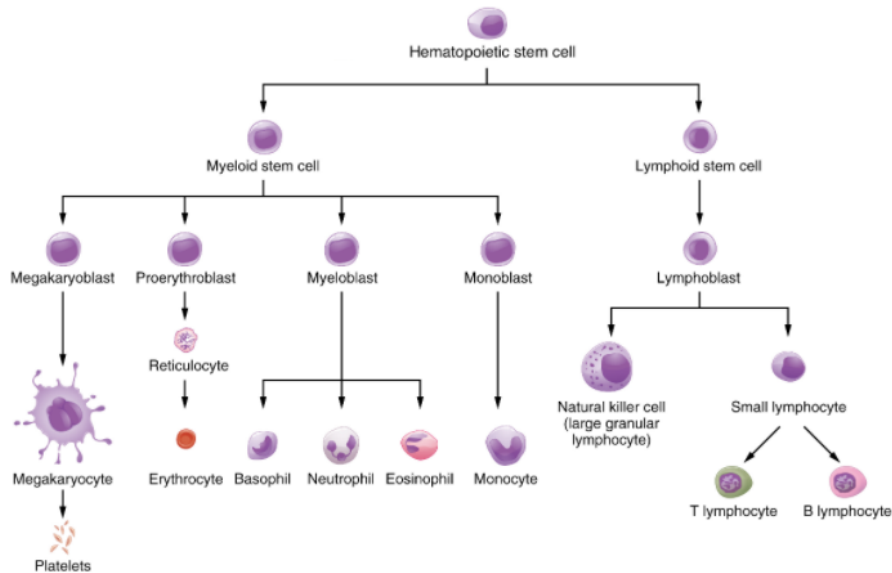


Figura 6: Sistema hematopoyético de la médula ósea (Khan Academy, 2021).

Este proceso de producción y regeneración de células sanguíneas recibe el nombre de *hematopoyesis*, que, a su vez, dependiendo del producto final, recibirá un nombre específico. Las células mieloides son producidas mediante el proceso conocido como *Mielopoyesis*, en cambio, las linfoides son producidas mediante la *Linfopoyesis* (Mayani et al., 2007).

1.3.1. Mielopoyesis

La mielopoyesis se da dentro de la médula ósea, donde las células madre hematopoyéticas originan a progenitores mieloides comunes (PMC). Estos PMC son células de gran capacidad proliferativa con la incapacidad de auto-renovarse. Los PMC a su vez, pueden diferenciarse en progenitores más específicos, dando lugar a progenitores granulo-monocíticos (PGM) y progenitores eritroides-megacariocíticos (PEM) (Rosenbauer et Tenen, 2007) tal y como se ilustra en la **Figura 7**.

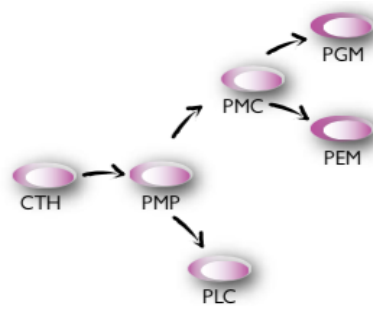


Figura 7: Diferenciación de las células madre hematopoyéticas en progenitores específicos (Mayani et al., 2007).

Estos progenitores específicos son la causa de que en la mielopoyesis se den procesos generativos diferentes. Los precursores eritroide-megacariocíticos generan eritrocitos y trombocitos, además de este precursor, para estimular y regular la eritropoyesis y trombopoyesis es necesario de las hormonas eritropoyetina y trombopoyetina respectivamente (de los Ríos-Morales et al., 2020). Si bien, son los precursores granulo-monocíticos los encargados de la granulopoyesis y monopoyesis.

1.3.2. Linfopoyesis

Es el proceso de producción de las células del linaje linfoide, tales como linfocitos B, linfocitos T, células NK y algunas categorías de células dendríticas (Mayani et al., 2007). Los linfocitos parten de una célula precursora del linaje linfocítico denominada progenitor linfoide común, o también conocido como precursor linfoide (**Figura 8**).

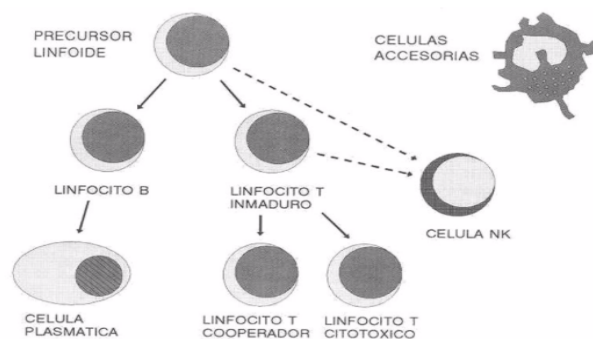


Figura 8: Proceso de diferenciación del precursor linfoide. Imagen disponible en: <https://esquema.net/linfopoyesis/>.

La diferenciación del linaje linfoide progresa en la médula ósea. Los linfocitos B se producen y maduran en la médula ósea, pero se activan en órganos linfoides secundarios, mientras que los

linfocitos T se originan en la médula ósea, tiene su maduración en el timo y se activan en los órganos linfoides secundario. En cambio, las células NK son generadas por el timo y de allí salen a la sangre periférica (Hussen et al., 2018).

1.4. Exámenes hematológicos

Los exámenes hematológicos se realizan en laboratorios mediante el *recuento sanguíneo*, esta sigue siendo una prueba esencial, ya que proporciona un componente importante para el diagnóstico y tratamiento del paciente (Lewis et al., 2008).

Un recuento sanguíneo completo (RSC) es un procedimiento mediante el cual se mide el tamaño, cantidad y madurez de las diferentes células sanguíneas en un volumen específico de sangre. Este procedimiento puede ser empleado para determinar anomalías en la producción o destrucción de las células sanguíneas. Según Stanford Children's Health en su artículo de Descripción general de la sangre y sus componentes, la variación de valores tomados como referencia pueden indicar una infección o enfermedad.

Para establecer los valores de referencia, es necesario realizar mediciones de un número relativamente pequeño de sujetos, representativos de una población determinada. Por tanto, cada laboratorio debe establecer un banco de datos de valores de referencia, adaptada a la población en la que se encuentra (Lewis et al., 2008).

1.4.1. Trastornos de la sangre y como tratarlos

Los trastornos de la sangre afectan a una o varias partes de esta, e impiden que cumpla su función. Estos trastornos pueden ser agudos o crónicos, y muchos son hereditarios. Aún así, podemos encontrar muchas otras causas como puede ser debida a otras enfermedades, efectos secundarios a medicamentos o falta de nutrientes en la dieta (MedlinePlus, 2021).

Los trastornos de la sangre se deben principalmente al decaimiento o incremento de las células sanguíneas. La reducción de glóbulos rojos y hemoglobina puede provocar anemia, dando lugar a síntomas de cansancio, debilidad y dificultad respiratoria. Sin embargo, un aumento de estos puede provocar síndrome de hiperviscosidad, produciendo un espesamiento de la sangre que causa cefalea, dificultad respiratoria y plétora (tez rojiza). Por otra parte, encontramos trastornos que implican la disminución de glóbulos blancos o proteínas del sistema inmunitario, causando fiebre recurrente e infecciones, o por el contrario, de igual forma, un aumento de estas puede causar síndrome de hiperviscosidad. Otro trastorno común es la disminución de

plaquetas o factores de coagulación, provocando hemorragias anómalas y hematomas, o el aumento de estos, llevando a una coagulación de sangre excesiva e inapropiada pudiendo ocasionar una trombosis (Kuter, 2019). Algunos de estos trastornos tienen tratamiento mediante transfusiones sanguíneas, sangrías o trasplante de médula ósea, sustituyendo la deficiente por una que cumpla su función.

1.5. Grupos sanguíneos. Pruebas de anticuerpos.

Las transfusiones de sangre seguras dependen de la cuidadosa determinación de los grupos sanguíneos, y de que tanto el donante como el receptor posean el mismo grupo. Encontramos cuatro grupos principales en función de la presencia o ausencia de los antígenos A y B en la superficie de los glóbulos rojos (**Figura 9**).



Figura 9: Tipos de grupos sanguíneos y sus características (Red Corss Blood, 2021).

Además, encontramos un tercer antígeno denominado factor Rh, que puede estar presente (Rh+) o ausente (Rh-) en la superficie de los glóbulos rojos. La ausencia del factor Rh puede causar incompatibilidad sanguínea, generando reacciones hemolíticas, tanto a la hora de recibir una transfusión como a la hora de la gestación ya que al no ser compatible la sangre de la madre con la del bebé, puede rechazar el feto por problemas inmunológicos (MedlinePlus, 2021).

Por ello, para realizar una transfusión exitosa, en primer lugar, se realiza un examen a una muestra de sangre para determinar el grupo sanguíneo, este examen se denomina tipificación ABO. Consiste en mezclar la muestra de sangre con anticuerpos contra sangre tipo A y B, posteriormente se revisa la muestra, y si los glóbulos sanguíneos se unen a los anticuerpos significa que la sangre reaccionó con ellos, ya que las personas con sangre tipo A tienen anticuerpos anti-B y las personas con sangre tipo B tienen anticuerpos anti-A, mientras que el

tipo de sangre O contiene ambos tipos de anticuerpos. Para la determinación de Rh se usa un método similar al anterior (Rodrigues et Ribeiro, 2021).

1.6. Control de Calidad y Seguridad de las transfusiones sanguíneas.

La sangre antes de ser administrada a la persona que la requiera debe pasar unos controles rutinarios. Estos controles son regulados por el organismo competente de la región donde se encuentre el centro de transfusión, en Estados Unidos se encarga de regularlo la Administración de Medicamentos y Alimentos (FDA), a nivel europeo la Agencia Europea del Medicamento (EMA), y en España la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS). Dichos controles garantizan la seguridad de la sangre donada, con el fin de proteger la salud del donador y del receptor. La labor de estos organismos incluye aprobar los permisos para los hemoderivados, autorizar los dispositivos utilizados para las recolectas de sangre y pruebas de detección de enfermedades infecciosas, establecer y velar el cumplimiento de las normas de calidad, inspeccionar los centros de transfusión cada dos años como mínimo o más frecuentemente si los centros presentan problemas, crear un seguimiento a las denuncias de errores y efectos adversos relacionados con la donación y transfusión, e implantar medidas legales o de control si se detectan problemas (FDA, 2021).

1.6.1. Niveles de seguridad

La función de los organismos reguladores en torno a la seguridad de las transfusiones se centra en reducir al mínimo el riesgo de transmisión de enfermedades infecciosas, procurando mantener al mismo tiempo un adecuado suministro de sangre. La seguridad depende de cinco niveles de protección. El primer nivel consiste en la evaluación del donante, se les informa a través de contenidos educativos y se les pide que se autoexcluyan si presentan factores de riesgo que pudieran afectar a la seguridad de la sangre donada, posteriormente se les interroga sobre su historial médico y se descartan los donantes que no satisfagan los requisitos. En el segundo nivel encontramos las listas de exclusión de donantes, que deben mantener actualizada los centros de transfusión. En el tercer nivel, se realiza un análisis de la sangre donada, con el fin de inquirir infecciones transmisibles a nivel de transfusiones como en el caso de Hepatitis B o C, VIH, Trypanosoma cruzi, entre otros. Posteriormente, el cuarto nivel se basa en la puesta en cuarentena de la sangre donada hasta ser analizada y verificada de que esté libre de patógenos. En último lugar, el quinto nivel se encarga de investigar los problemas, corregir las deficiencias y notificar al organismo competente cuando los productos distribuidos presenten divergencias.

1.6.2. Medidas de seguridad aplicadas en la sangre donada

Además de tener un buen control de la sangre que ha sido donada, debe haber una buena supervisión al manipular y almacenar dicha sangre, por ello, se establecen unas medidas básicas de seguridad que han de tenerse en cuenta. En primer lugar, los glóbulos rojos tienden a aglutinarse, por eso, la sangre se homogeniza moviéndola suavemente, pero sin llegar a agitarla debido a que corre riesgo de hemolizarse, a su vez, la sangre es sensible al calor, por eso se impide su calentamiento. En segundo lugar, cuando exista obstrucción del equipo de transfusión se purga con solución salina, pero no con solución dextrosa ya que puede causar hemólisis. Otra medida básica a tener en cuenta es que no se deben administrar medicamentos simultáneamente con productos sanguíneos por la misma vía, al igual que se puede considerar el adaptar un filtro al equipo de transfusión para impedir el paso de posibles partículas o pequeños coágulos. Por otro lado, es importante administrar los productos sanguíneos en infusión rápida sin que duren más de cuatro horas de infusión o no más de una hora en caso de que se transfunda plasma. Por último, se vigila al paciente durante toda la transfusión e incluso hasta dos horas después de que termine y una vez que acabe la transfusión, se conecta el catéter a la solución base (Pisa, 2021).

1.6.3. Equipo y procedimiento para realizar una transfusión segura

Para realizar una transfusión sanguínea se requiere fundamentalmente de un equipo estéril, para que la sangre transfundida no sea contaminada. Este equipo debe contar con un filtro, un equipo para punción venosa, que, a su vez, estará formado por un catéter, ligadura y torundas con solución antisépticas (**Figura 10**). El personal sanitario que instale el catéter en el donador o receptor tiene la obligación de protegerse con guantes para prevenir de infecciones. El procedimiento a seguir es regulado por los organismos competentes para controlar que la sangre administrada al paciente sea segura. Una vez identificada y obtenida la sangre que necesita el paciente se verifica el registro y etiqueta para comprobar que cumple con las características para ser administrada, se procede al lavado de manos y acomodación de guantes, posteriormente se prepara el equipo de administración, teniendo en cuenta que para transfundir plasma o paquete globular se utiliza equipo con filtro, mientras que si se transfunden trombocitos se emplea equipo sin filtro. Una vez preparado se purga el sistema con solución salina y se procede a la punción venosa, a continuación, se conecta el equipo al catéter previamente colocado y se infunden 10-15 gotas por minuto durante los primeros 15 minutos de inicio de la infusión. Es importante monitorear los signos vitales del paciente cada minuto durante la primera hora y luego cada 30 minutos hasta finalizar la transfusión. Finalmente, se

procede al lavado del catéter del paciente con solución fisiológica y a la retirada del equipo procediendo al depósito de materiales punzocortantes en desechos biológicos (Pisa, 2021).



Figura 10: Equipo de transfusión (Pisa, 2021).

1.7. Reacciones adversas de las transfusiones

La mayoría de las transfusiones son exitosas, en cambio, a veces pueden producirse efectos secundarios leves como fiebre y reacciones alérgicas, y pocas veces puede dar lugar a efectos adversos graves, en las que encontramos sobrecarga de líquidos, lesión pulmonar y hemólisis, o mortales en el caso de enfermedad del injerto contra el huésped, infecciones, mala coagulación de la sangre, hipocalcemia e hipopotasemia (Yailén-Fernández et al., 2004).

1.8. Coste de una transfusión sanguínea.

La donación de sangre es un acto voluntario y altruista en nuestro país y en muchos otros países. Las donaciones de sangre contribuyen a salvar vidas y a mejorar la salud. La sangre donada se utiliza para realizar transfusiones periódicas en personas afectadas por enfermedades y para la elaboración de diversos productos utilizados para fabricar medicamentos, que reciben la denominación de hemoderivados (Cuidateplus, 2021).

No obstante, la sangre tiene un precio, este será el coste de los procesos tecnológicos y logísticos que hay que aplicar para garantizar su seguridad, almacenamiento y distribución (Sanchez-Alvarez et al., 2000).

La sangre donada no se puede conservar durante un tiempo ilimitado, esta es la causa de la necesidad constante de donaciones. El problema es que en ocasiones encontramos dificultad a la hora de acumular sangre donada (OMS, 2021). Por estos y más motivos, uno de los objetivos de investigación en la ciencia moderna es la obtención de derivados de sangre artificial que puedan reemplazar los inconvenientes que suponen las donaciones sanguíneas actuales.

2. OBJETIVOS

2.1. Desarrollo y objetivos

El objetivo principal de este trabajo es realizar una revisión bibliográfica acerca del tema “Sangre Artificial”. El progreso de la sangre artificial se ve impulsado cuando las reservas de sangre disminuyen, y cuando los componentes sanguíneos y el desarrollo tecnológico encarecen, por lo que la investigación se ve obligada a buscar alternativas a la transfusión de sangre homóloga. Sin embargo, los riesgos asociados a transfusiones de sangre homóloga han sido el principal argumento que se ha empleado para reducir el uso de esta y fomentar la aplicación de posibles sustitutos, aunque el riesgo de transmisiones infecciosas es mínimo (OMS, 2021), como podemos apreciar en la **Tabla 1**. Cualquier peligro potencial de transmisión de infecciones por transfusión, desencadena de inmediato la intervención de las autoridades sanitarias y la imposición de medidas preventivas (Álvarez et al., 2001).

	Por unidad transfundida
Riesgos conocidos	
- VIH	<1:500.000
- VHC	<1:100.000
- VHB	<1:70.000
Riesgos desconocidos	
- Transmisión de priones	(¿?)
Riesgos olvidados	
- Hemólisis aguda	>1:25.000

Tabla 1: Algunos riesgos de la transfusión homóloga (Pereira, 2002).

La sangre homóloga ha incrementado su coste en los últimos años, conforme se han ido implantando nuevas tecnologías destinadas a reducir el riesgo de transmisión de enfermedades infecciosas, inactivación de virus en plasma y técnicas de filtrados anterior al almacenamiento (Pereira, 2002). El objetivo de los científicos en este campo de investigación es crear tejidos biológicos de reemplazo, con la función de que estos sustitutos artificiales imiten y reproduzcan la estructura biológica y función original del tejido.

Por lo tanto, el objetivo principal de estas sustancias es proporcionar apoyo temporal al sistema circulatorio, hasta que la médula ósea consiga regenerar suficientes glóbulos rojos para enfrentarse al transporte de oxígeno (Haldar et al., 2019). Hasta ahora, se han desarrollado dos posibles sustitutos de sangre artificial, los perfluorocarbonatos (PFC) y los transportadores de oxígeno basados en hemoglobina (HBOC) (Kiu et Chan, 2020).

2.2. Expectativas y beneficios

La principal expectativa de estos sustitutos es mejorar la rápida distribución de oxígeno. Se pretende que estas moléculas permitan el transporte de oxígeno a pleno rendimiento, inmediatamente después de la transfusión, mientras que la sangre almacenada requiere 24 horas para alcanzar la capacidad completa de transporte. Otra importancia que presenta es mayor vida útil, ya que puede ser almacenada a temperatura ambiente durante periodos prolongados sin afectar a su estabilidad. También, los estudios indican que presentan compatibilidad universal, dado que se elimina todos los componentes proteicos e inmunológicos, de tal forma que se evita la necesidad de pruebas de compatibilidad basada en grupos sanguíneos. Una de las principales expectativas que promovió el estudio de estas moléculas es la prevención de transmisión de agentes infecciosos ya que estos productos pueden ser esterilizados, de tal forma que se reduce la lesión isquémica, inflamatoria y de reperfusión (Haldar et al., 2019).

3. METODOLOGÍA

La metodología empleada para la elaboración de este trabajo fin de grado se basa en la recopilación de artículos científicos, así como el análisis y selección de la información necesaria para realizar una revisión bibliográfica del tema "Sangre Artificial".

Para buscar material bibliográfico he requerido usar bases de datos, tales como PubMed, Web of Science, Medline y algunas páginas web, obteniéndose una mayor cantidad de artículos en PubMed.

Para adquirir artículos en estas bases de datos he utilizado una serie de palabras claves que permiten encontrar los artículos más afines a tu búsqueda. Las palabras utilizadas fueron: "Blood", "Transfusion", "Hemoglobin", "Perfluorocarbons", "Erythrocyte".

Además, las bases de datos contienen filtros que permiten acotar la lista de publicaciones, por lo tanto, la búsqueda definitiva se centró en revisiones bibliográficas con un margen de 10 años de antigüedad, aunque en algunas ocasiones se buscó de años anteriores a la hora de explicar aspectos históricos.

Al inicio de la búsqueda fueron recogidos cerca de 20 artículos que responden a los criterios anteriormente mencionados, pero conforme he ido avanzando en la revisión, he descartado algunos artículos que no se centraban en la importancia de la investigación, y he seleccionado

ciertos artículos que me resultaban interesantes, a los cuales hacen referencia los autores de los primeros artículos. Por el contrario, estos últimos artículos no tienen restricción por año, haciendo un total de aproximadamente 60 artículos científicos.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La importancia de una alternativa segura y eficaz a la sangre homóloga me ha llevado a realizar una revisión bibliográfica del tema “Sangre Artificial”. Aunque aún esté en desarrollo, podemos obtener información sobre varias cuestiones, tales como los tipos de sustitutos sanguíneos que se han desarrollado y sus limitaciones, al igual que otros métodos que pueden ser de utilidad para evitar una transfusión de sangre, como la obtención de hematíes a través de cultivos de células madre, o un nuevo estudio que parece prometedor denominado estudio ErythroMer. De igual modo, me parece un asunto tan considerable la importancia de la Covid, como el uso fraudulento que pueda promover estos sustitutos.

4.1. Tipos de sustitutos sanguíneos

Hasta día de hoy se han desarrollado varios tipos de sustitutos sanguíneos. Estos lo agrupamos en dos grandes grupos, diferenciados según la naturaleza de la molécula que transporte el oxígeno. Encontramos los transportadores de oxígeno basados en perfluorocarbonatos (PFC), que, a su vez, lo clasificamos en perfluorocarbonatos de primera, segunda y tercera generación, y los transportadores de oxígeno basados en hemoglobina, que al igual que el anterior se clasifican en primera, segunda, tercera generación, hemoglobina PEGilada y hemoglobina encapsulada. Por último, hallamos un grupo denominado superexpansores plasmáticos; estos no son sustitutos sanguíneos en sí, pero sí son de utilidad para retrasar una transfusión sanguínea.

4.1.1. Transportadores de oxígeno basados en perfluorocarbonatos

Como vemos en la **Figura 11**, los perfluorocarbonatos son moléculas sintéticas compuestas únicamente por carbono y flúor. La interacción entre estos átomos forma un enlace fuerte y largo, que protege la molécula de la degradación (O’Hagan, 2008). A consecuencia de su hidrofobicidad, se creó un complicado procedimiento para estabilizarlos en una emulsión para uso intravenoso. Cuando se convierte en esta emulsión, el PFC puede disolver el gas mejor que la mayoría de los líquidos. A su vez, los PFC tienen fuertes enlaces intramoleculares que los hacen estables, pero sus enlaces intermoleculares son muy débiles, por lo que se comportan

como fluidos gaseosos que disuelven fácilmente otras sustancias poco cohesivas, como el oxígeno o el dióxido de carbono, por tanto, son capaces de transportar estos gases sin unirse a ellos (Hill et Poder, 2001).

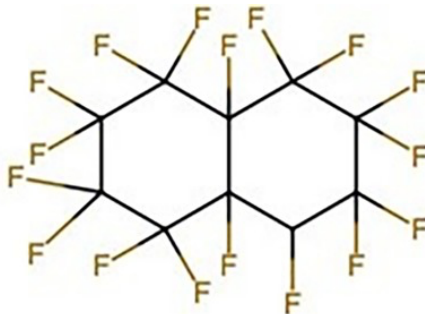


Figura 11: Estructura del portador de oxígeno a base de perfluorocarbono (Khan et al., 2020).

a) PFC de primera generación

Los PFC se han ido desarrollando por generaciones, el PFC de primera generación fue Fluosol-DA; éste estaba disponible en una solución al 20%, con la capacidad de transportar un 7,2% de O₂ a 37°C, o un 34% a un nivel de hemoglobina de 14 g/dL. El primer uso de este producto fue en Japón, en pacientes con hemorragia gastrointestinal y pérdida sanguínea relacionada con cirugías por cáncer esofágico. Los ensayos clínicos “in vivo” e “in vitro” posteriores al primer uso en Japón, examinaron el uso de Fluosol en muchos pacientes con diferentes problemas clínicos (como anemia severa, enfermedad vascular periférica y pérdida masiva de sangre por heridas quirúrgicas), estas pruebas publicadas demostraron que Fluosol es la primera emulsión de PFC ampliamente utilizada (Khan et al., 2020).

b) PFC de segunda generación

Fluosol sirvió de importancia para el desarrollo de PFC de segunda generación, denominado Oxygent™, formulado con dos ingredientes activos, bromuro de perfluorooctilo y perflubrodec. El producto final resultó estable a temperatura ambiente durante algunas semanas, y presentó una vida útil de 24 meses almacenado entre 2 y 8°C. Se realizaron más de 250 estudios preclínicos para comprender la seguridad de Oxygent en varias especies de animales antes de pasar a los estudios que demuestran la eficacia en humanos. Es de destacar, que los estudios de toxicología no han presentado efectos adversos graves tras la administración de dosis adecuadas. En Europa, un estudio multicéntrico de fase II mostró que combinado con anticoagulantes puede reducir la necesidad de transfusión de glóbulos rojos (Spahn et al., 2002).

c) PFC de tercera generación

Por último, el PFC de tercera generación conocido fue Oxycyte™, compuesto similar a Oxygent con la diferencia que está emulsionado con fosfolípidos de yema de huevo purificados. Este producto se probó en ensayos de fase II con pacientes que presentaban una lesión cerebral traumática, desafortunadamente, actualmente no hay datos disponibles públicamente para este ensayo, pero la compañía afirmó que alcanzó su objetivo original de aumentar el nivel de presión parcial de oxígeno en sangre arterial (Castro et Briceno, 2010).

Sin embargo, todos los ensayos clínicos realizados con PFC han sido suspendidos, debido a costos o falta de inscripción de voluntarios, por tanto, estos productos están a la espera de aprobación y comercialización.

4.1.2. *Transportadores de oxígeno basados en hemoglobina*

La hemoglobina natural como se aprecia en la **Figura 12** es una proteína globular con estructura cuaternaria, formada por dos subunidades α y dos subunidades β , unidas a un grupo hemo con un átomo de hierro central al que se enlaza una molécula de oxígeno. La unión de oxígeno al grupo hemo da como resultado un cambio de conformación en la molécula de hemoglobina, que, a su vez, provoca que aumente la afinidad de las otras subunidades por el oxígeno y viceversa. Por tanto, la hemoglobina libre puede ser utilizada como sustituto de la sangre, ya que mantiene su capacidad de transporte de oxígeno fuera de los glóbulos rojos, sin embargo, esta es bastante tóxica para los tejidos circundantes, dado que la hemoglobina capta el óxido nítrico endotelial y conduce a la vasoconstricción y desarrollo de radicales libres de oxígeno. Además, la molécula de hemoglobina requiere de la presencia de 2,3-bifosfoglicerato para ceder el oxígeno a los tejidos, por lo tanto, la hemoglobina libre en ausencia de este compuesto es extremadamente ineficaz, con una mínima capacidad de descargar oxígeno a los tejidos (Khan et al., 2020).

Cuando la molécula de hemoglobina se vuelve disfuncional aumenta su afinidad por el oxígeno y pierde la capacidad de cederlo a los tejidos, produciendo una oxidación que la transforma a metahemoglobina. Los derivados de hemoglobina desarrollados tienen que sufrir técnicas de mejora de estabilidad, para impedir su paso a metahemoglobina (Pereira, 2002). Según las técnicas aplicadas podemos encontrar diferentes grupos de sustitutos de hemoglobina.

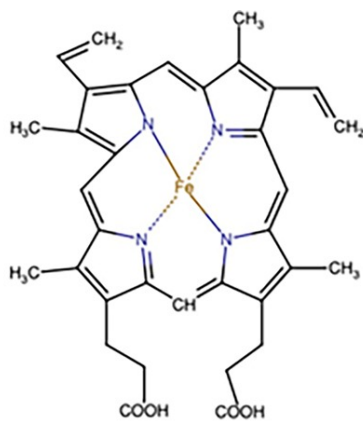


Figura 12: Estructura de la hemoglobina (Khan et al., 2020).

a) HBOC de primera generación

La primera generación de sustitutos sanguíneos fueron los productos de hemoglobina sin estroma (SFH), estos se prepararon a partir de lisis de eritrocitos empaquetados mediante ultrafiltración o cristalización. El estroma eritrocitario actúa como un antígeno, que al combinarse con los anticuerpos del receptor correspondiente puede causar coagulación intravenosa diseminada y fallo renal, por lo cual, cuando se elimina el estroma, la solución de hemoglobina se convierte en un producto relativamente no tóxico. Los SFH preparados mediante ultrafiltración se caracterizan por un menor contenido de componentes protéicos y fosfolípidos de membrana residual. Por el contrario, los SFH producidos por cristalización presentó un resultado menos favorable, dando un producto menos purificado con un contenido mayor de fosfolípidos y proteínas, que puede ocasionar agregados de proteínas durante el almacenamiento, o acciones vasoconstrictoras y depresoras de la contractilidad (Lang et al., 1990). En este producto de primera generación la concentración de metahemoglobina osciló entre el 7 y el 12% de la concentración total de hemoglobina, y se pudo comprobar que durante un periodo de almacenamiento de cuatro semanas a 4°C esta concentración permaneció invariable (Khan et al., 2020).

b) HBOC de segunda generación

Los HBOC de segunda generación fueron conjugados piridoxilados de hemoglobina-polioxi-etileno (PHPC), preparados a partir de los SFH. Estos fueron diseñados para prevenir las principales desventajas de los SFH reportadas en múltiples estudios, tales como mayor afinidad por el oxígeno, vida media circulatoria corta y nefrotoxicidad. Lo que se hace es que la hemoglobina libre de los SFH se piridoxila añadiendo vitamina B6 para ajustar la afinidad del

oxígeno de la hemoglobina y posteriormente se conjuga con α -carboximetil- ω -carboximetoxipolietileno, con la finalidad de aumentar el peso molecular y asegurar una vida media circulatoria más prolongada.

Los HBOC de segunda generación que se han desarrollado son PolyHeme[®] y Hemopure[®] (también conocido como HBOC-201). En cambio, solo Hemopure[®] ha sido aprobado por la FDA para su uso compasivo (marco legal del que dispone el médico para poder utilizar, fuera de un ensayo clínico, un medicamento en condiciones de uso distinta a las reflejadas en su ficha técnica), ya que muchos de estos productos han presentado efectos adversos en ensayos clínicos (Marvyn et al., 2016).

Un ensayo multicéntrico aleatorizado que investigó la seguridad y eficacia de Hemopure[®] en pacientes sometidos a cirugía no cardíaca, encontró que el uso de productos de HBOC puede reducir la transfusión de glóbulos rojos en el 43% de los pacientes sin diferencias importantes en la mortalidad y efectos adversos graves. Aunque mostró un exceso notable de efectos adversos leves, como hipertensión y fiebre asociados con el uso de Hemopure[®], por esta razón, este solo podrá ser usado en caso de necesidad de tratamiento de una anemia grave que amenace la vida después de agotar todas las demás opciones (Van Hemelrijck et al., 2014).

c) HBOC de tercera generación

Los HBOC de tercera generación incluyen hemoglobina polimerizada con dibromosalicil fumarato o $\alpha\alpha$ -hemoglobina. HemAssist[®] fue uno de los productos desarrollados con una hemoglobina entrecruzada con diaspirina (DCLHb), estos productos fueron más homogéneos para soportar los experimentos toxicológicos y fisiológicos, y presentaron afinidad por el oxígeno similar a la sangre. Estos se elaboraron utilizando sangre humana o bovina obsoleta, lavando los eritrocitos con solución salina estéril para eliminar rastros de plasma y posteriormente sometiéndolos a lisis hipertónica. A continuación, se filtraron y se obtuvo como resultado la hemoglobina purificada con un rendimiento global al 58%. Los estudios demuestran que este producto puede ser almacenado a -20°C durante un año (Vicent et al., 2015). En cambio, estos productos carecen de capacidad para regular el estado oxidativo causado por el hierro del grupo hemo y sus ensayos clínicos de fase III han mostrado mayor mortalidad tras su uso (Jahr et al., 2007). No obstante, más recientemente se desarrolló HemoLink[™]. Este producto ha sido probado con éxito en ensayos clínicos de fase I y fase II en pacientes sometidos a cirugía

de injerto de derivación de arteria coronaria (CABG), sin embargo, no hay datos de ensayos de fase II disponibles públicamente (Boykins et al., 2005).

d) Hemoglobina PEGilada

La pegilación consiste en la unión de un polietilenglicol (PEG) a un fármaco, en este caso, a la hemoglobina, generando un derivado muy estable que recibe el nombre genérico de pegilado (**Figura 13**). Después de varios ensayos clínicos fallidos de HBOC, fue clara la evidencia de que estos productos no son clínicamente y bioquímicamente idénticos a la hemoglobina humana. Por este motivo, resultó difícil obtener la aprobación para ensayos clínicos posteriores en humanos a gran escala. Con estos conocimientos, la comunidad científica ha cambiado su enfoque hacia el desarrollo de agentes puente de oxígeno que puedan usarse en situaciones donde no se pueda disponer de sangre para transfusión de glóbulos rojos, como resultado, se desaconsejó el término “Transportadores de oxígeno basados en hemoglobina” (HBOC) en la literatura médica y se sugirió el nuevo término de “Agente terapéutico de oxígeno” (OTA) (Mitchell et al., 2013), cuyas características esenciales son mayor afinidad por el oxígeno, mínima captación de óxido nítrico, y presentar un mayor tamaño molecular y homogeneidad química.

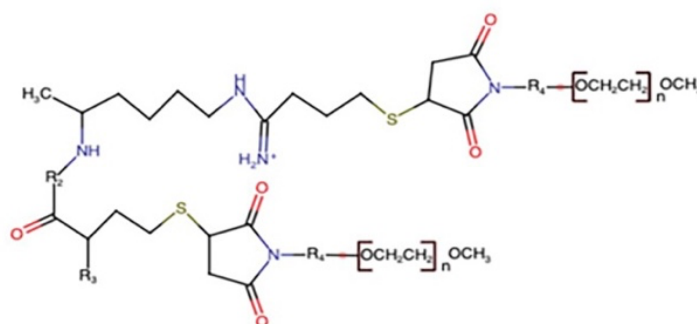


Figura 13: Agente terapéutico de oxígeno basado en hemoglobina pegilada (Khan et al., 2020).

Son dos los portadores de oxígeno de hemoglobina pegilada desarrollados hasta día de hoy, Hemospan® y Sanguinate®.

Hemospan, también conocido como MP4, es un agente basado en hemoglobina humana que se desarrolló para mediar los efectos vasoactivos e hipertensivos de moléculas de hemoglobina PEGiladas previamente desarrolladas. La eficacia clínica y la seguridad de Hemospan se evaluaron en un estudio multicéntrico. Este estudio no informó ningún acontecimiento adverso clínicamente significativo, y la frecuencia de episodios antihipertensivos fue baja, aunque se observaron aumentos transitorios de las enzimas hepáticas en pacientes sometidos a cirugía

ortopédica mayor (Moore et al., 2004). Este estudio especula que Hemospan puede ser más útil en entornos clínicos que requieran un suministro rápido de oxígeno a los tejidos isquémicos (Olofsson et al., 2011). Algunos estudios de fase II se realizaron en los Estados Unidos y los de fase III en Europa, por el contrario, no se han informado datos oficiales por el fabricante de investigación sobre la eficacia clínica y la seguridad del producto hasta el momento (U.S. National Library of Medicine, 2021).

Por otra parte, Sanguinate es un agente terapéutico de oxígeno PEGilado e hibridado con monóxido de carbono (PEG-CO₂Hb), con modos de acción útiles para minorar las limitaciones de las generaciones anteriores de HBOC. Este producto se está estudiando ampliamente en la actualidad por sus características, propiedades vasodilatadoras y no inflamatorias (Rifkind et al., 2015). PEG-CO₂Hb es una hemoglobina bovina modificada. En un modelo “in vitro”, ha mostrado que su polimerización y carboxilación tienen el potencial de liberar rápidamente monóxido de carbono y aumentar el almacenamiento de hemoglobina carboxilada en sangre total. Esto permite que el oxígeno se una al sitio del monóxido de carbono en condiciones de hipoxia y finalmente oxigene los órganos terminales (Abuchowski, 2017). La FDA ha otorgado a Sanguinate el estatus de medicamento huérfano para el tratamiento de la anemia falciforme (U.S. National Library of Medicine, 2021). Un medicamento huérfano es un producto medicinal no desarrollado ampliamente por la industria farmacéutica debido a razones financieras, ya que van destinados a un reducido grupo de pacientes (Orphanet, 2021).

e) Hemoglobina encapsulada

Por último, encontramos Liposomas de hemoglobina encapsulada, donde la hemoglobina purificada se vuelve a encapsular en una membrana lipídica estable, esto permite la manipulación de sus propiedades fisicoquímicas y la vida útil de la circulación (Alayash, 2004). La encapsulación también previene la desnaturalización de la hemoglobina y mejora la biodistribución.

4.1.3. *Superexpansores plasmáticos*

Estos productos no son sustitutos sanguíneos en sí, ya que no actúan como transportadores de oxígeno. El objetivo de estos es retrasar la transfusión de eritrocitos y restablecer la función microvascular. Estos superexpansores actúan como la reposición inicial del déficit de volumen

sanguíneo tras una pérdida de sangre, pero solo se usarán cuando no disminuya la disponibilidad de transportadores de oxígeno notablemente, con el objetivo de mantener la presión sanguínea (Salazar-Vázquez et al., 2006).

La composición de estos superexpansores es la conjugación de albúmina con polietilenglicol y alginatos. La albúmina conjugada con polietilenglicol y alginatos de alto peso molecular son eficaces al mantener los capilares funcionando en condiciones de hemodilución extrema. Esto se debe a que elevan la viscosidad del plasma compensando la pérdida de la viscosidad sanguínea (Cabral et al., 2005). La elevación de la viscosidad del plasma en presencia de disminución de viscosidad en sangre mantiene la presión en la circulación, por lo cual disminuye la pérdida de presión en los grandes vasos y se transmite la presión central a los vasos periféricos y capilares evitando así su colapso por hipotensión (Cabral et al., 2004).

En el proceso fisiológico de hemorragia y pérdida eritrocítica se disminuye la capacidad intrínseca de transporte de oxígeno y adicionalmente se produce la caída de la presión arterial con un aumento del tono vascular, por tanto, estos superexpansores son beneficiosos durante el principio de la pérdida de glóbulos rojos porque se reduce la viscosidad, provocando un cambio muy importante de las condiciones mecánicas de la circulación (Salazar-Vázquez et al., 2006).

4.2. Limitaciones

Estos sustitutos sanguíneos tienen una serie de limitaciones, que restringen el uso de estos productos.

4.2.1. Dificultades e inconvenientes de los sustitutos sanguíneos

En cuanto a los PFC, son responsables de la activación del sistema del complemento (Hong et al., 1991), mostrando citotoxicidad en células fagocíticas, como monocitos y granulocitos. Los síntomas que provocan son similares a la gripe, debido a la opsonización (proceso por el que los anticuerpos marcan a un patógeno para su ingestión y destrucción por un fagocito) y fagocitosis de la emulsión de PFC por parte del sistema inmunológico del organismo receptor. Otro efecto adverso que presentan es la reducción transitoria del recuento de plaquetas (Scott et al., 1997). Además, estos productos al no poder ser utilizados por el cuerpo humano se excretan lentamente, llegando a provocar una sobrecarga en el sistema reticuloendotelial y una supresión de su función, de la misma forma que pueden ser acumulados en los órganos (Hong et al., 1991).

Esto llevó a la FDA a eliminar el Fluosol del mercado en 1994. Los PFC de segunda generación también presentaron inconvenientes con la entrega de oxígeno, siendo esta insuficiente, llegando a necesitar inhalación de oxígeno suplementaria (Fabian, 2011). A causa de los fracasos en los ensayos clínicos iniciales, no hay ensayos actuales en curso con PFC, no obstante, algunos productos como PERftoran® (Figura 14) y Vidophor™ están siendo utilizado en México y Rusia, aunque desafortunadamente están a la espera de ensayos clínicos (Latson, 2019).



Figura 14: PERftoran®: sangre de exportación inventada por los soviéticos, exportada a países de Latinoamérica, China, India y UE. Imagen disponible en: [https://es.rbth.com/cultura/tecnologias/2014/10/17/perftoran sangre de exportacion 444 15](https://es.rbth.com/cultura/tecnologias/2014/10/17/perftoran%20sangre%20de%20exportacion%20444%2015).

En cuanto a los HBOC, al igual que los PFC encontramos dificultades e inconveniente. La hemoglobina libre presenta inconvenientes, es tóxica para los tejidos circundantes, ya que incluye la captación endotelial de óxido nítrico, produciendo vasoconstricción y desarrollo de radicales libres, conduciendo a la hipooxigenación tisular y la consiguiente hipertensión sistémica y pulmonar (Boykins et al., 2005). Esto se debe a que la hemoglobina libre difunde por la pared arteriolar aumentando la oxigenación local, y aunque a esa zona localizada no llegue hematíes, este aumento de presión parcial de oxígeno es interpretado por los receptores de la pared arteriolar como resultado de un flujo excesivo de sangre, a lo que estos responden desencadenando una vasoconstricción. Por lo que la hemoglobina ha de someterse a procesos de bioingeniería para superar estos inconvenientes y conseguir disoluciones de hemoglobina modificada útiles. Estos procesos llevan a aumentar la vida media de la hemoglobina modificada en el plasma gracias a la conjugación de los dímeros, polimerización de las moléculas entre sí y modificación de la superficie con dextrano. Con esto, se logra ocultar la molécula al sistema reticuloendotelial y proporcionar una curva de afinidad por el oxígeno parecida a la de la hemoglobina intraeritrocitaria. Una ventaja de hemoglobina modificada es que puede obtenerse a partir de sangre humana caducada, sangre bovina o mediante recombinación

genética, al igual que no requiere pruebas de compatibilidad antes de la infusión, se puede esterilizar a baja temperatura y podría tener una larga vida útil. Pese a todo, algunos de los derivados han tenido que ser abandonados tras los ensayos de fase III, debido a la presencia de toxicidad grave e inesperada (Remy et al., 1999).

4.2.2. Coste y Farmacoeconomía

En cuanto al coste, los sustitutos sanguíneos presentan beneficios e inconvenientes. Gracias a ellos, nos ahorramos los costes que suponen analizar y tratar la sangre procedente de donantes, pero debido a que aún están en desarrollo suponen costes de investigación, los cuales son más elevados. Mientras que la sangre altruista siga disponible, será más eficiente que los sustitutos sanguíneos en desarrollo, por este motivo y por la ausencia total de seguridad, se siguen haciendo transfusiones de sangre homóloga.

4.3. Obtención de hematíes a partir del cultivo de células madre embrionarias

El cultivo de células madre embrionarias humanas se estudia como una potencial fuente de obtención de eritrocitos maduros con capacidad de transporte de oxígeno a gran escala, esto se debe a que estas células se comportan como hematíes maduros. Este estudio se empezó a llevar a cabo cuando otros transportadores de oxígeno, como las emulsiones perfluorocarbonadas o la hemoglobina recombinante, resultaron ineficaces (Aguado-Romero et Llanos-Méndez, 2007).

4.3.1. Método

El método que se utiliza para obtener estos hematíes consiste en la generación y expansión de eritrocitos a partir de un cultivo de células madre embrionarias humanas, para ello, se emplean líneas celulares embrionarias y se lleva a cabo los siguientes pasos. Primero, se induce la formación y expansión de hemangioblastos (células que originan las células hematopoyéticas) y su diferenciación a células eritroides. A continuación, se realiza la identificación de los eritrocitos funcionales, y, por último, con la ayuda de la vitamina B12 y ácido fólico se obtienen los hematíes maduros, objeto de extracción (Aguado-Romero et Llanos-Méndez, 2007).

Las curvas de disociación de oxígeno de las hemoglobinas obtenidas presentan una respuesta muy similar a las que realizan los hematíes adultos normales, aunque la respuesta al 2,3-bisfosfoglicerol es algo menor. Esto nos permite comprobar que los hematíes obtenidos mediante este método tienen propiedades transportadoras de oxígeno (Lu et al., 2008).

4.3.2. Limitaciones

En primer lugar, las células obtenidas presentan poca hemoglobina formada por cadenas β , que son las que liberan el oxígeno con mayor facilidad. Por otra parte, con este método se obtienen relativamente pocas células sin determinantes antigénicos, es decir, del grupo 0 Rh negativo y que pudieran servir como donantes universales. Además, está por demostrar su eficacia y seguridad “in vivo”, y no podemos olvidar el debate moral y ético existente por el uso de células embrionarias humanas, de modo que, como cada país tiene una legislación propia respecto al uso de células madre embrionarias, no podría ser utilizada en todos los países y su alcance no sería el máximo (Ledezma, 2020).

4.4. El estudio *ErythroMer*

Es el estudio más reciente sobre sustitutos sanguíneos. ErythroMer es un derivado sanguíneo que pertenece al grupo de los OTA (Agente Terapéutico de Oxígeno). Se encuentra en etapas iniciales de desarrollo químico y está presentando éxito en ensayos con animales. Este estudio ha superado las barreras que obstaculizaron el desarrollo de otros sustitutos anteriores de la sangre. “*ErythroMer sería un sustituto de la sangre que un médico puede llevar en un paquete consigo y, literalmente, sacarlo, añadir agua e inyectar*”, declara el investigador Allan Doctor, especialista en atención crítica de la Facultad de Medicina de la Universidad de Washington, en St. Louis. El término ErythroMer hace referencia a un componente que puede sustituir la sangre, aunque solo presenta un 10% de coincidencia con los glóbulos rojos, los investigadores creen que serviría para estabilizar a un paciente de urgencias (iSanidad, 2021).

Este producto presenta un prometedor enfoque de investigación, ya que puede simular la interacción fisiológica normal de los glóbulos rojos con oxígeno y óxido nítrico. Este estudio presenta ventajas como el almacenamiento en seco, beneficioso para su portabilidad y uso (Pan et al., 2016). Aunque los ensayos clínicos de los productos anteriores terminaron en frustración, las lecciones aprendidas de estos productos provocaron un impacto significativo en la optimización de este estudio (Mackenzie et al., 2019).

Algunos productos que se mostraron favorables en las primeras etapas de desarrollo incluyen Hemo2Life^{HE}, un extracto de hemoglobina de lombriz que no se empaqueta en glóbulos rojos u otras membranas. Este presenta una actividad natural similar al *superóxido dismutasa*, pudiendo reducir la carga oxidativa causada por los HBOC. Otros productos de investigación que actualmente se encuentran en las primeras etapas de desarrollo incluyen OxyVita[®], una

hemoglobina bovina reticulada sin estroma, HbVesicles, hemoglobina encapsulada en liposomas y HemoAct, hemoglobina humana que está relacionada con las moléculas de albúmina (Gekka et al., 2018).

ErythroMer está diseñado en forma de polvo (**Figura 15 y 16**), compuesto por células artificiales que cumplen las mismas funciones que los glóbulos rojos, solo es necesario su mezcla con agua estéril para ser inyectada y es posible su almacenamiento a temperatura ambiente, lo que podría ser la solución para transportar sangre a lugares donde la donación sanguínea es poco accesible (Lemos-Rodríguez, 2020).



Figura 15 y 16: ErythroMer en polvo y reconstituido (Facultad de Medicina de la Universidad de Maryland) (Shaffer, 2020).

4.5. Dopaje sanguíneo

Los investigadores han presentado interés en como la masa de células rojas y el volumen sanguíneo afectan a la capacidad para realizar ejercicio. La sangre artificial ha sido objeto de dopaje sanguíneo para atletas. Los transportadores artificiales de oxígeno se usan en deportista para aumentar la capacidad de transporte de oxígeno, y, por tanto, aumentar su resistencia y rendimiento físico. No obstante, los PFC son tóxicos y su uso en atletas no tiene sentido, ya que requieren altos porcentajes de oxígeno inspirado, lo cual, solo se logra con una máscara de oxígeno en un ámbito hospitalario (Gaudard et al., 2003). En cambio, los transportadores de oxígeno basados en hemoglobina son menos tóxicos y transportan mejor el oxígeno, sin embargo, pueden presentar de nuevo efectos adversos nocivos y no tiene cabida en el deporte. Demasiados atletas con falsas esperanzas usan nuevos químicos para aumentar su rendimiento, aunque estos no sean seguros. Por lo que, se han llegado a desarrollar métodos para detectar el uso ilícito de estos sustitutos (Lasne et al., 2004).

4.6. Influencia COVID-19

4.6.1. Influencia en las donaciones

La Covid-19 ha provocado que en España se decrete estado de alarma por crisis sanitaria. Pese a todo, la donación de sangre sigue siendo necesaria para cubrir las necesidades asistenciales, por este motivo, se ha procurado que el acto de donación sea seguro. Los requisitos para donar sangre durante la pandemia son los mismos que en ausencia de esta, solo hay que tener en cuenta indicaciones adicionales como la necesidad de pedir cita antes de acudir al centro, restricción de donación si en los últimos 14 días se tiene presencia de fiebre o si se ha diagnosticado coronavirus, y contactar con el centro de transfusión si tras la donación antes de 14 días se presentan síntomas compatibles con SARS-CoV-2. Estos requisitos han presentado impedimento para abastecer satisfactoriamente los centros transfusionales del país (Junta de Andalucía, 2021).

4.6.2. Influencia en la investigación

La pandemia por COVID también ha afectado a la investigación, cientos de científicos han tenido que posponer y cancelar sus proyectos de investigación, debido a no ser esenciales. Por tanto, la pandemia está provocando un replanteamiento de prioridades en determinadas investigaciones y proyectos. Aún así, se está demostrando que son necesarias infraestructuras científicas, personal y un mínimo tejido empresarial para hacer frente a investigaciones necesarias como la más importante hoy día, la de cómo frenar la COVID-19. Si bien, este parón en la investigación va a tener repercusión a la hora de afrontar otras crisis en el futuro (Agencia sinc, 2021).

5. CONCLUSIÓN

Después de una extensa revisión bibliográfica, me animo a dar mi opinión acerca de las ventajas e inconvenientes que presenta la sangre artificial.

En conclusión, pienso que si llegara a ser un producto con seguridad aceptable será un excelente avance para la ciencia, debido a que es importante abastecer satisfactoriamente todos los centros de transfusiones, y con ello, eliminar el riesgo de transmisión de enfermedades infecciosas o de reacciones adversas de incompatibilidad sanguínea. A pesar de esto, un gran punto a favor sin duda es la utilidad de estos sustitutos en personas de creencias religiosas que no aceptan transfusiones de sangre, como, por ejemplo, los testigos de Jehová. Con este recurso

podrán acceder igual que cualquier otra persona a los tratamientos de enfermedades que incluyan una transfusión sanguínea.

En cambio, al igual que cualquier otra investigación requiere años de estudios, ensayos clínicos, errores y confianza, por tanto, debemos ser pacientes para conseguir desarrollar un sustituto de sangre exitoso y apoyar en todo lo posible a la comunidad científica en nuestro deber como farmacéuticos.

6. BIBLIOGRAFÍA

1. Abuchowski A. SANGUINATE (PEGylated Carboxyhemoglobin Bovine): Mechanism of Action and Clinical Update. *Artif Organs*. 2017; 41(4): 346-350
2. Agencia sinc. La ciencia parada por el coronavirus [en línea]. [Consultado en Mayo 2021]. Disponible en: <https://www.agenciasinc.es/Reportajes/La-ciencia-parada-por-el-coronavirus>
3. Aguado-Romero MJ, Llanos-Méndez A. Transportadores de oxígeno. Obtención de hematíes a partir del cultivo de células madre embrionarias humanas. Informe de evaluación de tecnologías sanitarias. Sevilla: AETSA; 2007/2-18
4. Alayash AI. Terapéutica de oxígeno: ¿Podemos domesticar la hemoglobina? *Nat. Rev. Drug Discov*. 2004; 3 (2): 152-159.
5. Álvarez M, Oyonarte S, Rodríguez PM, Hernández JM. Estimación del riesgo de transmisión de enfermedades víricas por transfusión en España. *Boletín de la SETS*. 2001; 39: 1-4.
6. Asociación de Academias de la Lengua Española. RAE: Real Academia Española [en línea]. [Consultado en Febrero 2021]. Disponible en: <https://dle.rae.es/sangre>
7. Benjamin RJ, McLaughlin LS. Plasma components: properties, differences, and uses. *Transfusion*. 2012; 52: 9-19.
8. Biblioteca Nacional de Medicina de EE.UU. NCBI: Centro Nacional de Información Biotecnológica [en línea]. [Consultado en Febrero 2021]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279392/>
9. Boykins RA, Buehler PW, Jia Y, Venable R, Alayash AI. O-*raffinose* crosslinked hemoglobin lacks site-specific chemistry in the central cavity: structural and functional consequences of beta93Cys modification. *Proteins*. 2005; 59(4): 840-855.
10. Cabrales P, Tsai AG, Intaglietta M. Hyperosmotic- hyperoncotic vs hyperosmotic-hyperviscous small volume resuscitation in hemorrhagic shock. *Shock* 2004; 22: 431-437.

11. Cabrales P, Tsai AG, Winslow RM, Intaglietta M. Extreme hemodilution with Peg-hemoglobin vs. Peg-albumin. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005; 289: H2392-H2400.
12. Castro CI, Briceno JC. Perfluorocarbon-based oxygen carriers: review of products and trials. *Artif Organs*. 2010; 34(8): 34-662
13. Chen JY, Scerbo M, Kramer G. A review of blood substitutes: examining the history, clinical trial results, and ethics of hemoglobin-based oxygen carriers. *Clinics (Sao Paulo)*. 2009; 64(8): 803-13.
14. Cuidateplus. La importancia de donar sangre [en línea]. [Consultado en Marzo 2021]. Disponible en: <https://cuidateplus.marca.com/bienestar/2018/02/25/importancia-donar-sangre-161556.html>
15. de los Ríos-Morales LA, Guevara-Arismendy NM, Vizcaíno-Carruyo JC, Toro-Montoya AI. Eritropoyetina (EPO). *Medicina & Laboratorio*. 2020;24(4):344-347.
16. de Torres Fabios PB. Historia de la donación y transfusión sanguínea [en línea]. Córdoba: 2008. [Consultado en Febrero 2021]. Disponible en: <http://www.donantescordoba.org/publicaciones/CRTSCordoba%20-%20Historia%20de%20la%20donacion.pdf>
17. Esquema.net. Linfopoyesis esquema [en línea]. [Consultado en Junio 2021]. Disponible en: <https://esquema.net/linfopoyesis/>
18. Fabian TC. Perfluorocarbons. *The Journal of Trauma*. 2011; 70 (5): S42-S44.
19. Farrar D, Grocott M. Portadores de oxígeno artificiales intravenosos. *Hosp. Medicina*. 2003; 64 (6): 352–356.
20. FDA. ¿Ha donado sangre últimamente? [en línea]. [Consultado en Marzo 2021]. Disponible en: <https://www.fda.gov/consumers/articulos-en-espanol/ha-donado-sangre-ultimamente>
21. FDA. Reglamentación de la FDA sobre la sangre y componentes de la sangre en los Estados Unidos [en línea]. [Consultado en Febrero 2021]. Disponible en: <https://www.fda.gov/media/134298/download>
22. Flores ROI. Principios de la Práctica Transfusional. En: Carrillo ER, Pérez C, AA. *Medicina Transfusional en el Perioperatorio Clínicas Mexicanas de Anestesiología*. Editorial Alfil México, 2016;28:1-12.
23. Gasparoni A, Ciardelli L, Avanzini MA, Bonfichi M, Di Mario M, Piazzini G, Martinetti L, Vanelli L, Rondini G, Chirico G. Immunophenotypic changes of fetal cord blood hematopoietic progenitor cells during gestation. *Pediatric research*. 2020, 47: 825-829
24. Gaudard A, Varlet-Marie E, Bressolle F, Audran M. Drugs for increasing oxygen transport and their potential use in doping: a review. *Sports Med* 2003; 33(3): 187-212

25. Gekka M, Abumiya T, Komatsu T, Funaki R, Kurisu K, Shimbo D et al. Novel Hemoglobin-Based Oxygen Carrier Bound With Albumin Shows Neuroprotection With Possible Antioxidant Effects. *Stroke*. 2018; 49(8): 1960-1968.
26. Haldar R, Gupta D, Chitranshi S, Singh MK, Sachan S. Artificial Blood: A Futuristic Dimension of Modern-Day Transfusion Sciences. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem*. 2019; 17(1): 11-16.
27. Hill SE, Poder J. Conceptos actuales sobre terapias de oxígeno. *Anaesth*. 2001; 48(4): 32-40.
28. Hong F., Shastri KA, Logue GL, Spaulding MB Activación del complemento mediante un sustituto de sangre artificial Fluosol: estudios in vitro e in vivo . *Transfusión*. 1991; 31 (7): 642–647
29. Hussen KA, chabaane E, Canque B. Organisation bipartite de la lymphopoïèse humaine. *Med Sci (Paris)* 2018; 34: 665-670
30. iSanidad. ErythroMer, la primera sangre artificial en polvo que absorbe el oxígeno y lo libera en los órganos [en línea]. [Consultado en Mayo 2021]. [Disponible en: https://isanidad.com/78326/erythromer-la-primera-sangre-artificial-en-polvo-que-absorve-el-oxigeno-y-la-libera-en-los-organos/](https://isanidad.com/78326/erythromer-la-primera-sangre-artificial-en-polvo-que-absorve-el-oxigeno-y-la-libera-en-los-organos/)
31. Jahr JS, Walker V, Manoochehri K. Blood substitutes as pharmacotherapies in clinical practice. *Curr Opin Anaesthesiol*. 2007; 20(4): 325-30
32. Junta de Andalucía. Donación durante la alerta por el Covid-19 [en línea]. [Consultado en Mayo 2021]. Disponible en: <https://www.juntadeandalucia.es/temas/salud/servicios/donacion-sangre.html>
33. Khan Academy. Componentes de la sangre [en línea]. [Consultado en Febrero 2021]. Disponible en: <https://www.khanacademy.org/science/biology/human-biology/circulatory-pulmonary/a/components-of-the-blood>
34. Khan F, Singh K, Firedman MT. Artificial Blood: the history and current perspectives of blood substitutes. *Discoveries*. 2020; 8(1): 1-15.
35. Kiu Y, Chan V. Artificial Blood: Current development and challenges. [en línea]. *Imperial Biosciencie Review*, 2020. [Consultado en Marzo 2021]. Disponible en: <https://imperialbiosciencereview.com/2020/11/13/artificial-blood-current-development-and-challenges/>
36. Kuter DJ. Síntomas de los trastornos de la sangre. 2019 [en línea]. [Consultado en Febrero 2021]. Disponible en: <https://www.merckmanuals.com/es-us/hogar/trastornos-de-la-sangre/s%C3%ADntomas-y-diagn%C3%B3stico-de-los-trastornos-de-la-sangre/s%C3%ADntomas-de-los-trastornos-de-la-sangre>

37. Lang ME, Korecky B, Anderson PJ, Biro GP. Stroma-free hemoglobin solutions prepared by crystallization and ultrafiltration methods: comparison of composition and coronary vasoconstrictor potency. *Adv Exp Med Biol.* 1990; 277: 225-36
38. Lapidot T, Petit I. Current understanding of stem cell mobilization: The roles of chemokines, proteolytic enzymes, adhesion molecules, cytokines, and stromal cells. *Experimental hematology.* 2002, 30: 973-981
39. Lasne F, Crepin N, Ashenden M, Audran M, de Ceaurriz J. Detection of hemoglobin-based oxygen carriers in human serum for doping analysis: screening by electrophoresis. *Clin Chem* 2004; 50(2): 410-4155
40. Latson GW. Perftoran (Vidaphor)-Introduction to Western Medicine. *Shock.* 2019; 52 (1): 65-69.
41. Ledezma Y. Uso de células madres embrionarias humanas con fin investigativo: debate moral y ético en la práctica profesional de la medicina [en línea]. IE Juan XXIII, 2020. [Consultado en Abril 2021]. Disponible en: <https://juanxxiii.e12.ve/home/wp-content/uploads/2020/07/Yahir-Ledezmapdr.pdf>
42. Lemos-Rodriguez R. Sangre artificial para transfusiones ¿en qué consiste? 2020 [en línea]. [Consultado en Marzo 2021]. Disponible en: <https://mejorconsalud.as.com/sangre-artificial-para-transfusiones-en-que-consiste/>
43. Lewis SM, Bain BJ, Bates I. *Hematología Práctica.* 10ª Edición. Madrid: Elsevier; 2008.
44. Lewis SM. Intervalos de referencia y valores normales. En: Donado Pintado PM. *Hematología Práctica.* 10ª Edición. Madrid: Elsevier; 2008. p. 11-21.
45. Lozano ML. Uso terapéutico de los derivados plasmáticos. *Hematologia (edición española)* 2005; 90: 46-53
46. Lu SJ, Feng Q, Park JS, Vida L, Lee BS, Strusbauch M, et al. Biological properties and enucleation of red blood cells from human embryonic stem cells. *Blood.* 2008; 112: 4475-84
47. Mackenzie CF, Dubé GP, Ptiman A, Zafirelis M. Users Guide to Pitfalls and Lessons Learned About HBOC-201 During Clinical Trials, Expanded Access, and Clinical Use in 1.701 Patients. *Shock.* 2019; 52 (1): 92-99
48. Marrón-Peña GM. Historia de la transfusión sanguínea. *Revista Mexicana de Anestesiología.* 2017; 40 (3): 233-238.
49. Martinuzzo M. Sistema de coagulación. *SAH Hematología* 2017; 21: 31-42.
50. Mayani H, Flores-Figueroa E, Pelayo R, Montesinos JJ, Flores-Guzmán P, Chávez-González A. Hematopoyesis. *Cancerología.* 2007; 2: 97-107.

51. MayoClinic. Transfusión de sangre [en línea]. [Consultado en Febrero 2021]. Disponible en: <https://www.mayoclinic.org/es-es/tests-procedures/blood-transfusion/about/pac-20385168>
52. MedlinePlus. Problemas de la sangre [en línea]. [Consultado en Febrero 2021]. Disponible en: <https://medlineplus.gov/spanish/blooddisorders.html>
53. MedlinePlus. Sangre [en línea]. [Consultado en Febrero 2021]. Disponible en: <https://medlineplus.gov/spanish/blood.html>
54. Mer M, Hodgson E, Wallis L, Jacobson B, Levien L, Snyman J et al . Hemogloblin glutamer-250 (bovine) in South Africa: consensus usage guidelines from clinician experts who have treated patients. *Transfusion*. 2016; 56(10): 2631-2636
55. Mitchell P, Weiskopf R, Zapol WM. NIH/FDA/DOD Interagency Working Group on Oxygen Therapeutics. Springer, Berlin, Heidelberg. 2013; 64: 141-147
56. Moore FA, Mckinley BA, Moore EE. The next generation in shock resuscitation. *Lancet*. 2004; 363 (9425): 1988-1996
57. O'Hagan D. Comprensión de la química de los organofluorados. Una introducción al vínculo C-F. *Chem Soc Rev*. 2008; 37(2): 308-319.
58. Olofsson CI, Górecki AZ, Dirksen R, Kofranek I, Majewski JA, Mazurkiewicz T, et al. Evaluation of MP4OX for prevention of perioperative hypotension in patients undergoing primary hip arthroplasty with spinal anesthesia: a randomized, double-blind, multicenter study. *Anesthesiology*. 2011; 114(5): 1048-1063.
59. Organización Mundial de la Salud. ¿Por qué es importante donar sangre? [en línea]. [Consultado en Marzo 2021]. Disponible en: <https://www.who.int/features/qa/61/es/>
60. Organización Mundial de la Salud. Disponibilidad y seguridad de la sangre a nivel mundial [en línea]. [Consultado en Marzo 2021]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/blood-safety-and-availability>
61. Orphanet. Portal de información de enfermedades raras y medicamentos huérganos [en línea]. [Consultado en Junio 2021]. Disponible en: https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Education_AboutOrphanDrugs.php?lng=ES
62. Pan D, Rogers S, Misra S, Vulugundam G, Gazdzinski L, Tsui A et al., Erythromer (EM), a Nanoscale Bio-Synthetic Artificial Red Cell: Proof of Concept and In Vivo Efficacy Results. *Blood*. 2016; 128 (22): 1027
63. Pereira A. Sangre artificial y otras medidas destinadas a reducir el uso de sangre homóloga. *Med Clin (Barc)*. 2002; 119 (1): 30-35

64. Pisa. Transfusión desangre y sus Componentes [en línea]. [Consultado en Marzo 2021]. Disponible en: https://www.pisa.com.mx/publicidad/portal/enfermeria/manual/4_1_6.htm
65. Red Corss Blood. Componentes sanguíneos [en línea]. [Consultado en Febrero 2021]. Disponible en: <https://www.redcrossblood.org/espanol/donar-sangre/acerca-de-la-sangre.html>
66. Remy B, Deby-Dupont G, Lamy M. Red blood cell substitutes: fluorocarbon emulsions and haemoglobin solutions. *Br Med Bull* 1999; 55: 277-298
67. Rifkind JM, Mohanty JG, Nagababu E. The pathophysiology of extracellular hemoglobin associated with enhanced oxidative reactions. *Front Physiol.* 2015; 5: 500
68. Rodrigues AD, Ribeiro LR. Sistemas sanguíneos, incompatibilidade e procedimentos alternativos á transfusão. *Brazilian Journal of Development.* 2021; 7(2): 13007-13027.
69. Rosenbauer F, Tenen DG. Transcription factors in myeloid development: balancing differentiation with transformation. *Nat Rev Immunol* 2007; 7: 105-17.
70. Salazar-Vázquez BY, Martini J, Cabrales P, Intaglietta M. Sangre artificial y superexpansores plasmáticos: el futuro de la transfusión. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.* 2006; 44(2): 129-131.
71. Sanchez-Alvarez S, González-Navarro P, Alvarez-Vega JC. Costos en la transfusión sanguínea. *Rev Mex antes.* 2000; 23:66-70.
72. Scott MG, Kucik DF, Goodnough LT, Monk TG Sustitutos de sangre: evolución y aplicaciones futuras. *Clin. Chem.* 1997; 43 (9): 1724-1731.
73. Shaffer L. Making and storing blood to save lives. *News Feature.* 2020; 117(14): 7542-7545
74. Silverthorn. *Fisiología Humana. Un enfoque integrado.* Ed Panamericana, 6o ed., 2014.
75. Spahn DR, Waschke KF, Standl T, Motsch J, Van-Huynegem L, Welte M, et al. Use of perflubron emulsion to decrease allogenic blood transfusion in high-blood-loss non-cardiac surgery: results of a European phase 3 study. *Anesthesiology.* 2002; 97(6): 1338-49
76. Squires JE. Sangre artificial. *Ciencias.* 2002; 295 (5557): 1002–1005
77. Stanford Children's Health. Descripción general de la sangre y sus componentes [en línea]. [Consultado en Febrero 2021]. Disponible en: <https://www.stanfordchildrens.org/es/topic/default?id=overview-of-blood-and-blood-components-90-P05425>
78. Ter-Gazarian. Perftoran: sangre de exportación [en línea]. *Russia Beyond,* 2014. [Consultado en Junio 2021]. Disponible en:

https://es.rbth.com/cultura/tecnologias/2014/10/17/perftoran_sangre_de_exportacion_44415

79. Thomas, Liji. Componentes y función del plasma de sangre [wn línea]. News-Medical, 2018. [Consultado en Febrero 2021]. Disponible en: [https://www.news-medical.net/health/Blood-Plasma-Components-and-Function-\(Spanish\).aspx](https://www.news-medical.net/health/Blood-Plasma-Components-and-Function-(Spanish).aspx)
80. U.S. National Library of Medicine. A Study of SANGUINATE for the Treatment of Vasco-occlusive Crisis (VOC) in Adult Sickle Cell Disease Patients [en línea]. [Consultado en Abril 2021]. Disponible en: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02672540>
81. U.S. National Library of Medicine. Phase III Study of Hemospan® to Prevent Hypotension in Hip Arthroplasty [en línea]. [Consultado en Marzo 2021]. Disponible en: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00421200>
82. Van Hemelrijck J, Levien LJ, Veeckman L, Pitman A, Zafireliz Z, Standl T. A safety and efficacy evaluation of hemoglobin-based oxygen carrier HBOC-201 in a randomized, multicenter red blood cell controlled trial in noncardiac sugery patients. *Anesth Analg*. 2014; 119(4): 766-76
83. Vicent JL, Privalle Ct, Singer M, Lorente JA, Boehm E, Meier-Hellmann A et al. Multicenter, randomized, placebo-controlled phase IIIstudy of pyridoxalated hemoglobin poloxyethylene in distributive shock (PHOENIX). *Crit Care Med*. 2015; 43(1): 57-64.
84. Weissman IL, Anderson DJ, Gage F. Stem and Progenitor Cells: Origins, Phenotypes, Lineage Commitments and Transdifferentiations. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2001; 17: 387-403
85. Yailén-Fernández L, Cedré-Hernández T, Zamora-Rodríguez L. Reacciones adversas postransfusionales a componentes sanguíneos. *Revista Cubana de Farmacia*. 2004; 38(2): 114-125.