



Lesiones de almacenamiento

Guillermo Escamilla Guerrero*

Resumen

Conforme aumenta el tiempo de almacenamiento, el efecto más importante es la pérdida progresiva de la viabilidad; esto se asocia a lesiones de almacenamiento, se pierde la forma discoide y se generan espículas formadoras de la microvesículas que se desprenden provocando la pérdida de membrana. La pérdida de óxido de nitrógeno (**NO**) impide una vasorregulación, esta actividad por parte del eritrocito se pierde en las 3 primeras horas, en tanto que la disminución del 2,3-DPG evita la liberación del oxígeno por parte del eritrocito provocando una reducción en la liberación de éste en los tejidos.

Palabras clave: Lesión, almacenamiento, peroxidación, eritrocitos.

Abstract

In agreement it increases to the time of storage the effect but important she is lost the progressive one of the viability; this is associated to «storage injuries», the discoide form is lost training and they are generated spicules of the microvesicles that follow causing the loss of membrane. The loss of does not prevent a vasorregulation, this activity on the part of the erythrocyte is lost in the 3 first hours, whereas the diminution of 2,3-DPG avoids the liberation of Oxygen on the part of the erythrocyte causing a reduction in the liberation of this in weaves.

Key words: Hurt, storage, peroxidation, echinocytes.

A pesar de un extenso uso de la sangre y sus hemocomponentes en diversas instituciones de salud, la recolección, procesamiento y almacenamiento se da sólo en función de la normatividad vigente que asegura las pruebas que permiten establecer dentro de los márgenes de confiabilidad la negatividad a ciertos marcadores infectocontagiosos, en tanto que la asignación y transfusión sólo aseguran la compatibilidad de este producto entre el receptor y el donador. A la fecha no existen estándares clínicos o regulatorios sobre la eficacia de una transfusión eficaz, aunado a ello que no se ha sujetado a un adecuado análisis del riesgo/beneficio de este

procedimiento. Conociendo que los eritrocitos pueden almacenarse hasta 42 días o plaquetas de 5 a 7 días, bajo condiciones controladas, se han establecido que múltiples cambios ejercen su efecto sobre cada uno de los componentes alterando su función biológica, estos cambios se denominan «lesiones de almacenamiento».

Una vez que es realizada la flebotomía al donador, en la sangre recolectada se inicia una serie de cambios que alteran sus propiedades fisiológicas.¹⁻⁵ Diversos estudios sobre la preservación e integridad de las células hemáticas, se ha centrado sobre los eritrocitos en tres áreas principales: (a) función y estructura

* Jefe de Laboratorio del Banco de Sangre. Instituto Nacional de Pediatría. México.

de la membrana; (b) de la hemoglobina y (c) metabolismo.

El eritrocito está conformado sólo por una membrana que rodea a una solución de proteínas y electrólitos, el 95% corresponde a la Hemoglobina y el 5% restante a enzimas generadoras de energía y de procesos oxido – reductivo. A pesar de carecer de núcleo, mitocondrias y ribosomas, que no puede sintetizar proteínas, ni llevar a cabo las reacciones oxidativas mitocondriales ni experimentar mitosis, es vital las funciones que realiza como el transportar oxígeno a tejidos y CO₂ de tejidos a zonas de desecho y proporcionar al menos el 40% del volumen sanguíneo. Conociendo además de que los eritrocitos carentes de mitocondrias, ribosomas y ácidos nucleicos, navegan 120 días. De que no tienen la capacidad de generar o reemplazar las proteínas perdidas o dañadas en este viaje. Si consideramos que el lecho capilar tiene diámetros no mayores de 7.5 μm, en tal forma que al entrar el eritrocito se «escurre» y posteriormente recupera su tamaño normal, a la par de ello la Hemoglobina en su interior genera un alto gradiente de presión oncotico. Y por si fuera poco, se calcula que cada eritrocito durante su existencia se enfrenta a estos desafíos mecánicos y metabólicos aproximadamente 100,000 veces. 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 a resistir estas demandas.^{6,7} Un elemento adicional es la asimetría y organización topológica que permite que:

- Lípidos y proteínas tengan una difusión libre en direcciones laterales a lo largo el plano de la bicapa, permitiendo que se lleven a cabo algunos eventos como la polaridad celular, la formación de seudópodos, la pinocitosis, etc.
- La asimetría es crítica para la comunicación y funciones reguladoras.
- El movimiento transverso es limitado por efectos estéricos de carga y volumen.

- El movimiento de lípidos o flip-flop se realiza mediante dos mecanismos:
 - Difusión pasiva
 - Sistema transportador ATP dependiente
- Los lípidos representan el 50-60% de la masa de la membrana.
- El recambio de lípidos se realiza mediante la acción de la enzima LCAT (lecitin colesterol acétiltransferasa) que los toma del medio ambiente y los incorpora a la membrana.
- Las proteínas embebidas en la membrana se clasifican en:
 - Sistemas mayores, embebidas e integrales (sistema Rh,, Diego, Kell)
 - Proteínas intramembranosas (cientos de pequeñas proteínas)
- El citoesqueleto es una malla hexagonal, constituye el 50-60% de las proteínas de la membrana. Se compone de: espectrina, actina, tropomiosina, aducina, proteína 4.4, dematina, proteína 4.2, etc.

La conjunción de estos elementos realiza un papel importante en conferir características de:

- a) Deformabilidad: depende de la geometría (forma bicóncava), del volumen (90 μm³); superficie mínima de una esfera (98 μm³); área de la superficie de disco bicóncavo (140 μm³), puede ser afectada por una disminución en la fosforilación de la espectrina, así como por depósitos de calcio en la membrana generando esferocitos.
- b) Viscosidad citoplasmática: depende del contenido de hemoglobina, de la deshidratación que genera el incremento exponencial de la viscosidad, y de la hidratación regulada por la polimerización de la hemoglobina así como de bombas y canales en la membrana.
- c) Permeabilidad al agua y a los aniones (Cl⁻, HCO₃⁻) y relativamente impermeable a los cationes (K⁺ y Na⁺), de estos últimos la relación intracelular de Na⁺/ K⁺ es de

1:12 y la extracelular de 25:1). El tránsito de membrana de estos cationes está normado por varias bombas ATP dependientes que se sitúan en la superficie de la membrana. Sigue lo mismo con el movimiento realizado por la Ca-ATPasa de otro catión como el Ca^{2+} que es regulada por la calmodulina. Una disminución de ATP implicará la acumulación de Ca^{2+} y Na^{1+} con la pérdida consecuente de agua y K^{1+} generando una célula rígida. La deformabilidad va asociada al complejo membrana citoesqueleto. La alteración en la permeabilidad y/o deformabilidad repercute en la vida media del eritrocito.

Rutas metabólicas^{7,8}

La principal fuente de energía es la glucosa, las rutas metabólicas principales son anaerobias ya que la función esencial del eritrocito es liberar oxígeno y no consumirlo:

1. Glucólisis anaerobia: proporciona 90% de ATP.
2. La ruta de las pentosas que genera 10% de ATP que se acopla al metabolismo oxidativo de los nucleótidos de piridina y la reducción del glutatión.
3. Vía de la metahemoglobina reductasa que mantiene a la hemoglobina en un estado funcional que es el reducido (Fe^{3+}).
4. Shunt Luebring Rapoport permite la acumulación del 2,3-DPG (2,3 difosfoglicerato).

Hemoglobina.^{7,8} Se ha determinado que la hemoglobina en el eritrocito corresponde a 95% de su peso seco total y a 33% de su peso por volumen.

Conservación de eritrocitos^{1-5,7-9}

Considerando que en circulación los eritrocitos son transportados y protegidos por el plasma que regula la temperatura, pH, concentraciones

de nutrientes y eliminación de desechos, esto permite que la vida media se extienda hasta 120 días.

Los diferentes métodos de conservación mimetizan condiciones similares y así provee un componente viable y funcional para aquellos que lo requieran. Diversas aportaciones se han realizado a partir de 1914 a la fecha modificando los anticoagulantes y aditivos para aportar una mayor sobrevida a los eritrocitos.¹⁰⁻¹² La vida media o fecha de caducidad para cada producto se define como aquella en que el producto puede ser usado para la transfusión con un mínimo del 70% de supervivencia de los eritrocitos 24 horas después de ser transfundidos. Estudio con CPDA-1 y con CPD usando ^{51}Cr demostraron la supervivencia de aproximadamente 80% de los eritrocitos transfundidos 24 hrs. después, estableciéndose el periodo de 35 y 21 días respectivamente para cada una de estas soluciones. Estudios similares se han realizado con Adsol o AS-1, Nutricel o AS-3 y Optisol o AS-5.¹³ La mayoría de las soluciones empleadas cumplen diferentes funciones: evitar la coagulación, inhibir el crecimiento de microorganismos y asegurar la viabilidad y estabilidad del producto durante el almacenamiento.

Conforme aumenta el tiempo de almacenamiento el efecto más importante es la pérdida progresiva de la viabilidad; esto se asocia a «lesiones de almacenamiento»¹⁴ definiéndose como los cambios que sufren los elementos celulares de la sangre posterior a su colección, procesamiento y almacenamiento previo a la transfusión con resultados que se manifiestan como afectación en la integridad funcional, en los mecanismos de agregación y liberación, rearrreglos en el citoesqueleto, en la exposición del fosfatidil serina, etc. Los factores principalmente involucrados son:^{15,16}

- Disminución del pH.
- Consumo de glucosa.
- Incremento de ácido láctico.

- Disminución de ATP.
- Disminución del 2,3-DPG.¹⁷
- Cambios en la concentración de Na⁺/K⁺.
- Incremento de la hemoglobina libre en plasma por falta de clarificación.
- Variación en la temperatura de conservación.
- Contaminación bacteriana.¹⁸

Una de las consecuencias críticas al incrementarse el periodo de almacenamiento es el incremento de rigidez en la membrana del eritrocito, así como la modificación de la Banda 3 generando la presencia de un neoantígeno denominado SCANT (senescent cell antigen).

Los cambios metabólicos más acentuados son:^{19,20}

- a) Lactato ↑
- b) pH ↓
- c) ATP ↓
- d) 2,3 DPG ↓
- e) Sustratos
- f) GSH ↓
- g) SON-Hb ↓

Repercutiendo en cambios biomecánicos como:

- a) Hemólisis
- b) Cambio en la morfología
- c) Incremento en la vesiculación
- d) Disminución en el área de membrana
- e) Capacidad de deformabilidad disminuida
- f) La relación área/volumen disminuida
- g) Mayor exposición de fosfatidil serina en la superficie de la membrana
- h) Cambio en el volumen
- i) Variación en los gradientes NA+ /K+

La afectación sobre mecanismos óxido reductivo se manifiestan en:

- a) La oxidación de la Hb
- b) Desnaturalización de la Hb

- c) Peroxidación de lípidos
- d) Modificación de la Banda 3 (formación de anticuerpos anti Bd 3)
- e) Liberación de substancias bioactivas
- f) Disminuye el entrecruzamiento del citoesqueleto.

Durante el almacenamiento se pierde la forma discoide y se generan espículas (equinocitos), las espículas del equinocito forman la microvesículas que se desprenden provocando la pérdida de la asimetría de lípidos que es alterada: la fosfatidil serina (PS) colocada en la cara interna es translocada a la externa. La PS tiene una actividad procoagulante que confiere a la membrana del eritrocito la capacidad trombogénica, puede fungir como señal de remoción de la circulación, este fenómeno reversible en circulación por la acción de las translocasas. La pérdida de membrana se manifiesta.

La pérdida de NO impide una vasorregulación, esta actividad por parte del eritrocito se pierde en las 3 primeras horas, en tanto que la disminución del 2,3-DPG evita la liberación del oxígeno por parte del eritrocito provocando una reducción en la liberación de éste en los tejidos.

La presencia de leucocitos, peróxidos, enzimas leucocitarias (elastasa, colagensa y catepsina G) afecta en forma sinérgica y directamente proporcional con el tiempo de almacenamiento incrementando los cambios morfológicos, la microvesiculación y por ende la hemólisis y la disminución del ion K+. A la par el incremento de apoptosis (se da por denominar eriptosis al mecanismo similar) por liberación del ligando Fas por parte de monocitos y granulocitos que se absorbe en la membrana del eritrocito provocando señales de fagocitosis y/o lisis.

Lesiones de las plaquetas^{21,22}

Otro de los elementos celulares que con elevada frecuencia se emplean son las plaquetas que

en conjunción con el endotelio vascular participan activamente en la hemostasia primaria. Se consideran como pequeñas células anucleadas, tienen una vida media de hasta 12 días, presentan una forma discoide con diámetro de 2-4 μm , los límites normales oscilan de 150-450 x 10³/ μL en función del método empleado para su cuantificación.

El principal requerimiento energético es el ATP, es producido por la combinación de la glucólisis y de la fosforilación oxidativa. En presencia de glucosa, la fosforilación oxidativa aporta 55% del ATP, en ausencia de glucosa su contribución se incrementa a casi 90%. La fosforilación oxidativa adquiere un papel crítico en ausencia de oxígeno ya que el aumento de ácido láctico se incrementa de 3-5 veces.^{11,20,21}

Conservación de las plaquetas^{23,24}

Las condiciones de preparación y almacenamiento influyen determinantemente en la retención de las propiedades de las plaquetas; por lo que hay dos aspectos de gran importancia que deben ser tomados en cuenta:

- Su sobrevida después de ser transfundidas.
- La actividad hemostática, medida por su capacidad para acortar el tiempo de sangría en el paciente trombocitopénico.

Entre las variables que se ha demostrado que podrían afectar estas propiedades se encuentran:

- Solución de anticoagulante/preservativa.
- Temperatura de almacenamiento:
- Condiciones de centrifugación
- Cantidad de leucocitos en concentrados plaquetarios.
- Contenedores y tipo de plásticos.

La reducción del pH es inversamente pro-

porcional a la concentración de ácido láctico, así como el nivel de oxígeno plasmático es inversamente proporcional a la cantidad de plaquetas por unidad de volumen. En condiciones de almacenamiento con temperaturas de 20-24°C, las principales fuentes de energía son a través de la fosforilación oxidativa y de la vía glucolítica, esta última se ve favorecida por bajas concentraciones de oxígeno; la alta producción de ácido láctico es neutralizada por la combinación con bicarbonato sódico plasmático y ácido carbónico, este último se disociará en dióxido de carbono y agua. Se ha comprobado que con un pH de 6.0 las plaquetas adoptan la forma esférica, mostrando una marcada reducción de su sobrevida.²⁵

También se ha señalado que el pH puede variar por la presencia de:

- Activación o fragmentación de leucocitos que compiten con las plaquetas por los nutrientes contenidos en el plasma, así como la liberación de enzimas, sustancias vasoactivas y citocinas.²⁶
- Por la actividad metabólica de los glóbulos blancos que contaminan el concentrado plaquetario que tienen la tendencia a producir mayor cantidad de ácido láctico.

Por diferentes grados de activación de las plaquetas durante el proceso de preparación y depósito, la viabilidad de las plaquetas transfundidas al término de su periodo de conservación, depende en gran parte del mantenimiento de un pH de 6.0 o más alto.²⁷⁻³² Con estos antecedentes se ha sugerido que las lesiones de almacenamiento son una forma de apoptosis.³³

Durante los últimos 15 años ha surgido un gran interés en el desarrollo de métodos para la conservación de plaquetas, tanto en estado líquido como congeladas. Esta situación refleja la necesidad de los bancos de sangre de man-

tener un depósito suficiente de plaquetas para cubrir las crecientes demandas clínicas.^{34,35}

A modo de conclusión

En la medida en que se ha conocido mejor la estructura de las plaquetas y las condiciones que inducen a cambios en su morfología, viabilidad y función, se han desarrollado procedimientos de conservación y se han ido definiendo los parámetros que interfieren en el mantenimiento de las características vitales de las plaquetas durante su depósito.³⁶

Las lesiones de almacenamiento no sólo afectan la morfología de las células, sino que además de ello la función biológica a la que están destinadas interrumpiendo las señales de comunicación, por ejemplo entre la retención/liberación de oxígeno por parte del eritrocito. Lo que conlleva a preguntarse ¿qué tan efectiva es una transfusión?

Referencias

1. Oyonarte GS. Procesamiento analítico de las donaciones. En: Martín Vega C, Montoro-Alberola JA, Manual de Medicina Transfusional. New York: Mosby-Doyma; 1994: 11-36.
2. Conditions for Storage, Transportation, and Expiration. Standards for Blood Banks and Transfusion Services. 17a ed. AABB; 1996: 22-5.
3. Turgeon ML. Blood collection, storage, processing, and issue. In: Turgeon ML. editores. Fundamentals of immunohematology. Theory and Technique. 2a ed. New York, EUA: 1995: 19-50.
4. Turgeon ML. Blood collection, storage, processing, and issue. In: Turgeon ML. editores. Fundamentals of immunohematology. Theory and Technique. 2a ed. New York, EUA: 1995: 19-50.
5. Brecher ME ed Quality control. Technical manual. 12a ed. AABB; 1996: 711-26.
6. Eshikhani LT. "Red Celi production". In: Principles of transfusion medicine. Baltimore: Ed. Williams & Wilkins; 1993: 13-23.
7. Telen MI, "Eritrocitos maduros". En: Lee GR. et al. Hematología clínica de Wintrrobe. 9a Ed.Vol.1 México: Editorial Interamericana. 1994: 80-109.
8. Young JA. Rudmann SV. Blood component preservation and storage. In: Rudmann SV. Textbook of Blood Banking and Transfusion Medicine. Philadelphia: Saunders Company; 1995: 228-56.
9. Beutler E. "Preservation of liquid red cells. In: Rossi E.C. Principles of transfusion medicine. Baltimore: Williams & Wilkins; 1993: 47-57.
10. Chanutin A. Effect of storage of blood in ACD-adenina-inorganic phosphate plus nucleosides on metabolic intermediates of human red cells. Transfusion 1967; 7 (6): 409-19.
11. Mollison PL. The introduction of citrate as an anticoagulant for transfusion and of glucosa as a red cell preservative. British J Haem 2000; 108: 13-18.
12. Moore GL, Peck CC, Sohmer PR, Zuck TE. Some properties of blood stored in anticoagulant CPDA-1 solution. A brief Summary. Transfusion 1981; 21 (2):135-7.
13. Luban NLC, Strauss RG, Hume HA. Commentary on the safety of red cell preservatives in extending storage media for neonatal transfusions. Transfusion 1991; 31: 229-35.
14. McCullough J. Preparation, storage, and characteristics of blood components and plasma derivates. In: McCullough editor. Transfusion Medicine. 2ed. Philadelphia ,USA. Elsevier, Churchill Livingstone. 2005: 77-111.
15. Wolfe LC. Red cell membrane storage lesions. Transfusion 1985; 25: 185-202.
16. Seghatchian J, Kraladsiri. Platelet storage lesion and apoptosis: are they related? Trans and Apheresis Science 2001; 24: 103-105.
17. Beutler E, Meul A, Wood LA. Depletion and regeneration of 2,3. Diphosphoglyceric acid in stored red blood cells. Transfusion 1969; 9 (3): 109-114.
18. Kim DM, Brecker ME, Bland LA et al. Visual identification of bacterially contaminated red cells. Transfusion 1992; 32: 221-5.
19. Knight JA, Searles DA. The effects of various antioxidants on lipid peroxidation in sotered whole blood. Ann Clin Lab Sci 1994; 24 (4): 294-301.
20. Chin-Yee I, Arya N, d'Almeida MS. The red cell storage lesion and its implication for transfusion. Transfus Sci 1997; 18 (3): 447-458.
21. Kunicki TJ. "Role of platelets in hemostasis." In: Principles of transfusion medicine. Baltimore: Williams & Wilkins. Rossi E.C. 1993: 181-93.
22. Martínez-Murillo C, Quintana-González S. Fisiología de la hemostasia primaria. En: Manual de Hemostasia y Trombosis, México: Ed. Prado, 1996: 5-22.
23. Murphy S. "Preparation and storage of platelet concentrates", In: Rossi EC. Principles of Transfusion Medicine. Williams & Wilkins; 2002: 205-15.
24. Murphy S, Heaton WA, Rebulla R. Platelet production in the old word and the new. Transfusion 1996; 36: 751-54.
25. Tock G, White J. Labow R. Storage of platelets in balanced SALT solutions: a simple storage medium. Transfusion 1991; 31: 21-5.
26. Moroff G, Holme S. Concepts about current conditions for the preparation and storage of platelets. Transf Med Rev 1991; 5: 48-59.
27. Borle AP, Orton SM, Frye MJ. Vesiculation of platelets during *in vitro* ageing. Blood 1991; 77: 887-95.
28. Moroff G, George VM. The maintenance of platelet properties upon limited discontinuation of agitation during storage. Transfusion 1990; 30: 427-30.
29. Wallvik J, Stenke L, Kerblom A. The effect of different agitation modes on platelet metabolism, tromboxan production and alpha granular release during storage. Transfusion 1990; 30: 632-43.
30. Sturk A, Buró ML, Hakvoort T, Ten Cate JW, Crawford N. The effect of storage on platelet morphology. Trans 1982; 22: 115-120.
31. Hunter S, Nixon J, Murphy S. The effect of interruption of agitation on platelet quality during storage for transfusion. Transfusion 2001; 41: 809-814.
32. Murphy S, Kahn RA, Holme S. Improved storage of platelets for transfusion in a new container. Blood 1982; 60: 194-200.

- 33.Li J, Xia Y, Bertino AM. The mechanism of apoptosis in human platelets during storage. *Transfusion* 2000; 40: 1320-1329.
- 34.Snyder EL, Hezze A, Katz AJ. Occurrence of the release reaction during preparation and storage of platelet concentrates. *Vox Sang* 1988; 41: 172-7.
- 35.Luban NLC, Strauss RG, Hume HA. Commentary on the safety of red cells preserved in extended storage media for neonatal transfusions. *Transfusion* 1991; 31 (3): 229-35.
- 36.Rinder HM, Murphy M, Michell JS. Progressive platelet activation with storage: evidence for shorted survival of activated platelets after transfusion. *Transfusion* 1991; 31: 409-14.

Correspondencia:

M en C. Guillermo Escamilla Guerrero
Correo electrónico: fetca@prodigy.net.mx