

Plaquetas refrigeradas y su uso clínico

Indrikovs Alexander José*

Las plaquetas participan en la inmunomodulación, mantenimiento y reparación de estructuras vasculares, y, su función más conocida, la formación de coágulos. Las transfusiones de plaquetas, usadas para el tratamiento de pacientes con trombocitopenia, disfunción plaquetaria y/o hemorragia, son intervenciones médicas que pueden salvar vidas. La capacidad de almacenar plaquetas para transfusiones mientras se conserva su función hemostática es fundamental para los bancos de sangre y la medicina transfusional. Investigaciones extensas han sido realizadas para tratar de entender cómo almacenar las plaquetas antes de la transfusión. Mucho se ha aprendido sobre los materiales de las bolsas de almacenamiento, soluciones sintéticas, y sobre cómo la temperatura impacta la viabilidad y función plaquetaria. Las plaquetas están disponibles como concentrados derivados de sangre completa, concentrados preparados de la capa leucocitaria, y como unidades de aféresis.

Cuando fueron inicialmente introducidas para uso clínico, las transfusiones de plaquetas eran predominantemente utilizadas profilácticamente en pacientes hematológicos con trombocitopenia hipoproliferativa. Estos pacientes se benefician de una sobrevivencia y circulación prolongada de las plaquetas postransfusión, lo cual disminuye la frecuencia transfusional. Posibles beneficios de la

reducción de transfusiones profilácticas incluyen la disminución de exposición a donantes, disminución del riesgo de reacciones transfusionales adversas, y menor utilización de plaquetas.

El rol de los concentrados de plaquetas en la reducción de muerte por hemorragia en pacientes con cáncer fue reconocido inicialmente en 1961. A finales de los 60 y principios de los 70, las plaquetas (PLT) eran rutinariamente almacenadas en refrigeración (PLT-R; 2-6 °C), pero esa práctica cambió rápidamente. En 1969, Scott Murphy y Frank Gardner demostraron la posibilidad de almacenar plaquetas a temperatura ambiente (PLT-TA; 20-24 °C), revolucionando la terapia con transfusión de plaquetas compararon las PLT-TA con las plaquetas almacenadas en frío y evaluaron la viabilidad plaquetaria, definida como la recuperación y sobrevivencia de plaquetas radio-etiquetadas.¹ En este estudio, la refrigeración llevó a una rápida eliminación postransfusión de las plaquetas en la circulación ($t_{1/2} = 1-2$ días), lo cual era marcadamente reducido comparado con las PLT-TA ($t_{1/2} = 7-9$ días). En una era en que la mayoría de las transfusiones de plaquetas eran administradas a pacientes con trombocitopenia hipoproliferativa y riesgo de sangramiento espontáneo, la maximización del tiempo de circulación de las plaquetas era considerada como una prioridad. En un esfuerzo para reducir

* Profesor y Director de Medicina Transfusional, Donald and Barbara Zucker School of Medicine at Hofstra/Northwell, New York, USA.



la frecuencia de las transfusiones profilácticas, el enfoque estrecho en el tiempo de circulación de las plaquetas *in vivo* eclipsó otros aspectos de la función plaquetaria y resultó en el abandono de las PLT-R.

Esta decisión no estuvo libre de controversias. Las ventajas y desventajas de mantener dos inventarios de PLT, uno mantenido a temperatura ambiente, con más tiempo de circulación para uso profiláctico, y otro con plaquetas refrigeradas más hemostáticas para el tratamiento de la hemorragia aguda, fueron vigorosamente discutidas. Como la trombocitopenia hipoproliferativa superaba por mucho a otras indicaciones para la transfusión de PLT, y la división de inventarios planteaba problemas logísticos para los hemocentros y los servicios de transfusión, los proveedores de componentes sanguíneos adoptaron el almacenamiento de plaquetas a temperatura ambiente y las mismas se convirtieron en norma. Centradas en el uso de PLT en terapia del cáncer, las agencias reguladoras adoptaron el «tiempo de circulación» de las PLT *in vivo* como la medida primaria de la función plaquetaria, en vez de otros parámetros como la adherencia y agregación plaquetaria y la contribución de las plaquetas a la resistencia del coágulo. Lamentablemente, el cambio a PLT-TA vino a costa de un mayor riesgo de contaminación (proliferación) bacteriana y a la disminución de la función hemostática en comparación con el almacenamiento en frío.

Hoy día, en la mayoría de los países, las plaquetas son almacenadas a temperatura ambiente con agitación por 5-7 días. Este método de almacenamiento crea retos logísticos de importancia; 1) la agitación constante requiere el uso de equipos de gran costo y tamaño, y 2) el riesgo de contaminación bacteriana demanda de sistemas de vigilancia extensos. Por la corta vida de almacenamiento de las PLT-TA, el descarte de unidades caducadas genera un gasto significativo para los hemocentros y los hospitales. La seguridad y disponibilidad de concentrados de plaquetas almacenadas a temperatura ambiente están limitadas por el desarrollo de lo que conocemos como «lesión de almacenamiento de las plaquetas» (LAP) y por el riesgo de contaminación bacteriana. La lesión de

almacenamiento de las plaquetas se caracteriza por una marcada disminución de la viabilidad y función plaquetaria. La LAP consiste en una serie de cambios bioquímicos, estructurales y funcionales que empiezan a ocurrir desde temprano en el proceso de manufactura. Durante la preparación de concentrados de plaquetas, la exposición a superficies artificiales y a altas fuerzas de centrifugación inician la LAP, causando activación y fragmentación de las plaquetas y liberación de sustancias bioquímicas. Durante el almacenamiento a temperatura ambiente, la aumentada glicólisis y reducida función mitocondrial conducen al agotamiento de la glucosa, la acumulación de lactato y la acidificación del producto. La deteriorada generación de trifosfato de adenosina reduce la capacidad de las plaquetas para ejercer procesos energéticamente demandantes como la respuesta al estrés hipotónico y la activación/agregación. Las alteraciones de las proteínas en la superficie plaquetaria (por ejemplo: receptores de la trombina, glicoproteínas) causadas por el almacenamiento a temperatura ambiente disminuyen la agregación plaquetaria. Durante el almacenamiento, hay también acumulación de proteínas inmunoactivas que pudieran participar en reacciones transfusionales no-hemolíticas y TRALI.²

Alternativamente, las plaquetas almacenadas en frío (PLT-R) son más fáciles de preparar y almacenar. En el año 2015, la FDA aprobó las PLT-R (por aféresis) para la resucitación de pacientes con sangramiento agudo. Estas plaquetas por aféresis pueden ser almacenadas a 1-6 °C sin agitación durante un máximo de tres días (21 Código de la CFR 640.24 y 21 CFR 640.25). Más recientemente, la FDA ha aprobado solicitudes para un procedimiento alternativo que permite 14 días de almacenamiento (21 CFR 640.120). En comparación con las PLT-TA, las PLT-R disminuyen los riesgos de contaminación bacteriana y mejoran la hemostasia. Sin embargo, las PLT-R tienen su propio conjunto de desafíos. Los cambios morfológicos y moleculares que ocurren debido a la exposición al frío mejoran la capacidad de las plaquetas para participar en el proceso hemostático; pero al costo de una eliminación rápida de la circulación. Las PLT-R se activan y son removidas de la circulación a través de varios mecanismos.

El rápido aclaramiento de las PLT-R se atribuye a cambios fisiológicos que ocurren cuando las plaquetas se exponen a temperatura fría.³ El almacenamiento en frío a corto plazo (< 48 h) induce una agrupación de la glicoproteína de superficie plaquetaria GPIb, que se ha demostrado es mediadora de la fagocitosis por los macrófagos.⁴ Los hepatocitos en el hígado eliminan las PLT-R almacenadas por más tiempo (> 48 h) a través de la interacción del receptor de Ashwell-Morell con las moléculas de B-GlcNAc expuestas en la superficie de las PLT-R.⁵ Se han realizado esfuerzos para disminuir la activación plaquetaria durante el almacenamiento en frío y así prevenir la rápida eliminación de las PLT-R. Sin embargo, estos esfuerzos no han tenido mayor éxito.⁶ Son necesarias más investigaciones para definir las lesiones específicas al almacenamiento, de manera que los mecanismos responsables de la activación por el frío y de la reducción de supervivencia plaquetaria puedan ser abordados.²

Las plaquetas normalmente circulan con una forma discoidea, y cambian de morfología al ser activadas por estímulos endógenos. La reestructuración de las membranas plaquetarias es un proceso importante que permite que las plaquetas aumenten su área de superficie. Una superficie mayor aumenta la probabilidad de que un receptor plaquetario interactúe con su ligando, lo cual hace que las plaquetas sean más eficientes durante el proceso hemostático. A pesar de que las remodelaciones citoesqueléticas son típicamente conducidas por la interacción de receptores plaquetarios y eventos señalizadores, estudios han demostrado que, por sí sola, la temperatura puede modular cambios morfológicos en las plaquetas. Las plaquetas almacenadas en frío experimentan cambios morfológicos significativos en comparación con las plaquetas frescas. La activación de las plaquetas por el frío causa influxo de calcio que conlleva a polimerización de la actina y, por último, a pérdida de la morfología discoidea de las plaquetas. Este aumento del calcio intracelular también facilita la liberación del contenido de los lisosomas y gránulos alfa, amplificando de esta manera la activación de las plaquetas. Tras la exposición *ex vivo* a 0 °C durante 10 minutos, la mayoría de las plaquetas pierden su forma discoidea y se vuelven

esféricas. Bajo el microscopio electrónico, las plaquetas expuestas al frío son esféricas con muchas «protuberancias» y a menudo poseen pseudópodos delgados que se extienden hacia afuera, aumentando de esta manera la superficie celular para facilitar la hemostasia.

Mientras la transfusión profiláctica de plaquetas sigue predominando, muchos hemocentros están reportando mayores porcentajes de otras indicaciones terapéuticas, posiblemente debido a la disminución del umbral de transfusión de plaquetas en la década de 1990 y, por ende, a un menor número de transfusiones profilácticas, y a una mayor utilización de plaquetas por otros servicios debido al incremento del uso de los inhibidores de las plaquetas y a la adopción de los protocolos de transfusión masiva para el tratamiento de pacientes con hemorragia aguda. Un análisis reciente mostró que casi 50% de las plaquetas transfundidas son dadas a pacientes no-hematomatológicos (por ejemplo: trauma, cirugía, UCI, y pacientes de medicina general) quienes frecuentemente solo requieren apoyo hemostático de corta duración.⁷

La prevención de la hemorragia en pacientes con trombocitopenia hipoproliferativa requiere circulación de las plaquetas por más tiempo (supervivencia), mientras que el control de la hemorragia requiere que las plaquetas inicien y propaguen la formación del coágulo (activación). En el tratamiento de la hemorragia aguda, las plaquetas deben circular y funcionar sólo el tiempo suficiente para la reparación quirúrgica. En este escenario clínico, la función hemostática es de mayor importancia que el tiempo en circulación. La transfusión de plaquetas (PLT) se asocia con mejores resultados clínicos en pacientes de trauma y otros pacientes con sangrado agudo, y las plaquetas refrigeradas han sido reportadas como capaces de reducir la pérdida de sangre por hemorragia aguda. Los cambios morfológicos y moleculares que ocurren por la exposición al frío aumentan la habilidad de las plaquetas para participar en el proceso hemostático.⁸

En términos generales, las PLT-R no se utilizan en la mayoría de las prácticas clínicas debido a la preocupación por una vida media circulatoria reducida. Si bien es probable que una vida media circulatoria reducida no sea óptima en pacientes

con trombocitopenia hipoproliferativa, publicaciones recientes sugieren que las plaquetas frías podrían tener propiedades hemostáticas superiores que las plaquetas a TA en pacientes con hemorragia aguda.^{9,10} El uso de PLT-R se ha expandido en aplicaciones militares y de trauma. En las últimas tres décadas ha habido renovado interés, particularmente en el campo militar, en proveer plaquetas almacenadas en frío o congeladas a los pacientes sangrantes para quienes el acceso a plaquetas a TA es limitado. Sin embargo, en general, la disponibilidad de estos productos en la mayoría de las instituciones médicas es limitada y, cuando están disponibles, su uso suele reservarse para las personas con traumatismos agudos.¹¹

Es entendido que las PLT-R no son un producto ideal para la transfusión profiláctica de plaquetas debido al aumento del aclaramiento plaquetario y a la disminución de la supervivencia después de la transfusión. Idealmente, las PLT-R deben reservarse para el tratamiento de la hemorragia activa, donde la hemostasia inmediata es más importante que la supervivencia prolongada de las plaquetas. El almacenamiento en frío tiene además la ventaja de prolongar el tiempo de almacenamiento, disminuir el descarte de plaquetas por caducidad y disminuir la proliferación bacteriana y reacciones

transfusionales sépticas. Las PLT-R con una vida útil de hasta 14 días pueden ser muy ventajosas para la transfusión en entornos remotos y rurales.

Referencias

1. Murphy S, Gardner FH. Platelet preservation. Effect of storage temperature on maintenance of platelet viability-deleterious effect of refrigerated storage. *N Engl J Med.* 1969; 280 (20): 1094-1098.
2. Ng MSY, Tung JP, Fraser JF. Platelet Storage Lesions: What More Do We Know Now? *Transfus Med Rev.* 2018; S0887-7963(17)30189-X.
3. Zhao H, Devine DV. The missing pieces to the cold-stored platelet puzzle. *Int J Mol Sci.* 2022; 23: 1100. doi: 10.3390/ijms23031100.
4. Badlou BA, Spierenburg G, Ulrichs H, Deckmyn H, Smid WM, Akkerman JW. Role of glycoprotein Ibalpha in phagocytosis of platelets by macrophages. *Transfusion.* 2006; 46 (12): 2090-2099.
5. Rumjantseva V, Rumjantseva V, Grewal PK, Wandall HH, Josefsson EC, Sørensen AL, Larson G, et al. Dual roles for hepatic lectin receptors in the clearance of chilled platelets. *Nature Medicine.* 2009; 15: 1273-1280.
6. Wandall HH, Hoffmeister KM, Sørensen AL, Rumjantseva V, Clausen H, Hartwig JH et al. Galactosylation does not prevent the rapid clearance of long-term, 4°C-stored platelets. *Blood* 2008; 111: 3249-3256.
7. Whitaker BI, Henry RA, Hinkins S. The 2011 national blood collection and utilization survey report. Bethesda (MD): AABB; 2011.
8. Getz TM. *Transfusion and apheresis.* Science. 2019; 58: 12-15.
9. Huish S, Green L, Kempster C, Smethurst P, Wiltshire M, Prajapati C et al. A comparison of platelet function in cold-stored whole blood and platelet concentrates. *Transfusion.* 2021; 61: 3224-3235.
10. Nair PM, Pandya SG, Dallo SF, Reddoch KM, Montgomery RK, Pidcoke HF et al. Platelets stored at 4°C contribute to superior clot properties compared to current standard-of-care through fibrin-crosslinking. *Br J Haematol.* 2017; 178 (1): 119-129.
11. van der Meer PF, Klei TR, de Korte D. Quality of platelets in stored whole blood. *Transfus Med Rev.* 2020; 34 (4): 234-241.