

Alterações bioquímicas no sangue armazenado e os efeitos da leucorredução pré-armazenamento





Dr. Bruno Deltreggia Benites

Médico Hematologista e Hemoterapeuta [CRM 129482 SP]

- Médico Hematologista e Hemoterapeuta Formado pela Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP);
- Doutorado em Clínica Médica pela Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP);
- Especialista em gestão de Hemocentros pela ENSP/Fiocruz;
- Médico assistente no Ambulatório de Hemoglobinopatias do Hemocentro UNICAMP;
- Participante em ensaios clínicos em Doenças Falciformes e Medicina Transfusional do Hemocentro UNICAMP.

Evidências mais recentes têm aos poucos elucidado o impacto do tempo de armazenamento dos Concentrados De Hemácias (CH) sobre alterações na fisiologia dos eritrócitos, e que resultaram no termo “lesão de armazenamento”¹. **Tempos prolongados de armazenamento têm sido associados a importantes desregulações em diversas vias metabólicas, incluindo alterações em pH e nos níveis de 2,3-Bifosfoglicerato (2,3-BPG), assim como na deformabilidade das hemácias².**

Apesar de ainda inconclusivo e alvo de intenso debate, a preocupação com este tema é que essas alterações observadas *in vitro* possam resultar em desfechos negativos aos pacientes recebendo esses CHs mais “antigos”. Estudos observacionais têm divergido quanto a essa questão, com alguns trabalhos apontando para possíveis associações entre tempo de armazenamento prolongado e maior predisposição a infecções, falência de múltiplos órgãos e mesmo mortalidade^{3,4}, enquanto outros não provaram uma maior lise dessas hemácias na circulação após transfusão ou relação com eventos adversos^{5,6}. A falta de padronização dos tempos de armazenamento comparados nos estudos torna a análise dos resultados ainda mais complexa, fazendo com que recomendações quanto ao uso dessas bolsas com maior tempo de estocagem ainda variem consideravelmente entre as instituições. Algo que se deve ter em mente na análise

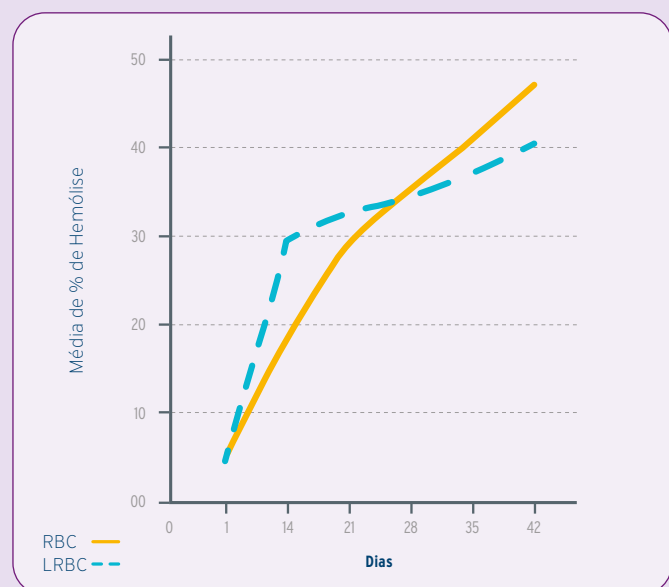
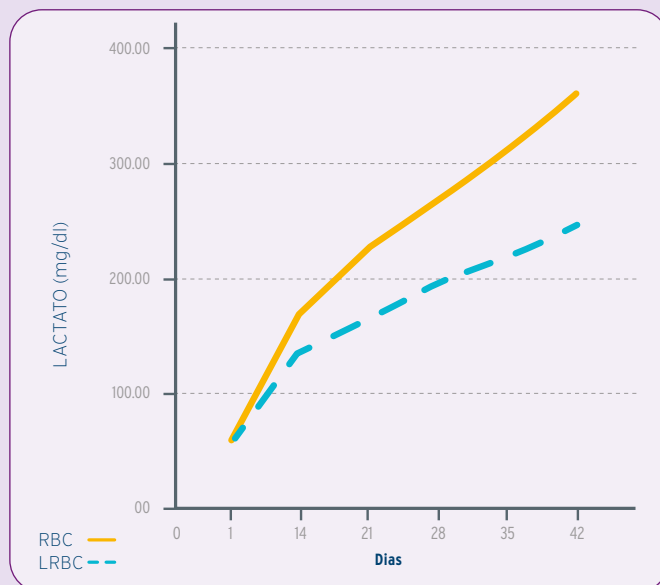
desses resultados é a heterogeneidade clínica dos pacientes estudados, o que pode ter mascarado um impacto mais deletério em grupos de pacientes mais vulneráveis como, por exemplo, portadores de condições associadas a inflamação, como as doenças falciformes ou pacientes em choque séptico. Além de aguardar por estudos específicos nessas condições, é preciso pensar também que **o tempo de armazenamento pode não ser o fator mais importante na determinação de repercussões negativas nesses casos, e que outras variáveis do produto devem ser também consideradas.**

Nesse sentido, alguns trabalhos têm objetivado avaliar o papel protetivo da leucorredução pré-armazenamento sobre alterações bioquímicas e hematológicas durante o armazenamento das hemácias, em comparação com concentrados de hemácias não filtrados. Em uma dessas avaliações, o grupo de Ghezelbash e colaboradores selecionou 10 unidades de concentrados de hemácias que foram divididas em 2 alíquotas - uma sendo filtrada pré-armazenamento e a outra armazenada sem ter sido filtrada. Amostras dessas alíquotas foram retiradas após 1, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de armazenamento e diversos parâmetros bioquímicos foram analisados, incluindo verificação das taxas de hemólise e das concentrações de lactato, Lactato Desidrogenase (LDH) e atividade da enzima Glicose-6-Fosfato Desidrogenase (G6PD)⁷.

Os autores observaram aumentos nos níveis de LDH em ambos os grupos de bolsas testadas, mas esse aumento foi consideravelmente maior no caso das bolsas não filtradas, e essa diferença manteve-se de forma expressiva em todas as testagens ao longo do período de armazenamento, como pode ser observado na Tabela 1. Padrão semelhante foi observado em relação ao acúmulo de lactato nas bolsas, sendo consideravelmente maior nas bolsas não filtradas a partir do 14º dia de armazenamento (Figura 1).

FIGURA 1

Alterações médias de lactato em RBC não filtrada em comparação com LR-RBC durante o armazenamento.⁷



Resultados semelhantes foram observados também em relação às taxas de hemólise verificadas nas bolsas, consideravelmente maior nas bolsas não leucorreduzidas na avaliação dos dias 35 e 42 pós-armazenamento (Figura 2).

FIGURA 2

Taxa de hemólise em RBC não filtrada em comparação com LR-RBC durante o armazenamento.⁷

Além da observação direta das taxas de hemólise, os autores verificaram também a atividade da enzima G6PD como um indicador de vulnerabilidade a danos oxidativos nessas hemácias e, conseqüentemente, maior propensão também a hemólise. De fato, a atividade de G6PD diminui ao longo do armazenamento nos dois grupos, mas essa queda foi menos pronunciada no caso das bolsas leucorreduzidas, além de ser ainda mais intensificada nos períodos finais de armazenamento das bolsas não filtradas (Figura 3).

FIGURA 3

Atividade da enzima G6PD em RBC não filtrada em comparação com LR-RBC durante o armazenamento.⁷

Alterações em RBC Leucorreduzido Armazenado

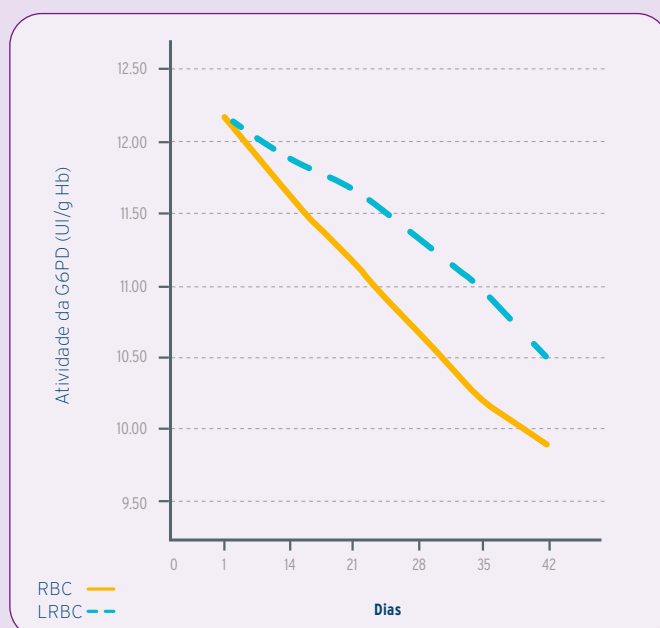


TABELA 1

Avaliação de parâmetros bioquímicos (média mais ou menos DP) em RBC e LR-RBC não filtradas durante o armazenamento.⁷

		Dia 1	Dia 14	Dia 21	Dia 28	Dia 35	Dia 42
LDH (IU/L)	RBC não filtrado	126,10 ± 6,46	1265,80 ± 34,89***	1497,5 ± 43,16***	1671,40 ± 50,72***	1836,0 ± 63,66***	2105,20 ± 78,62***
	LR-RBC	126,10 ± 6,46	287,00 ± 7,31***	324,00 ± 6,40***	357,20 ± 6,56***	387,30 ± 6,02***	414,00 ± 6,28***
Lactato (mg/dl)	RBC não filtrado	35,86 ± 1,58	146,00 ± 3,81**	204,91 ± 5,32**	246,69 ± 5,77***	290,43 ± 5,10***	339,40 ± 18,8***
	LR-RBC	35,92 ± 1,60	114,70 ± 4,33**	142,97 ± 5,37**	174,14 ± 4,97***	196,82 ± 4,48***	224,03 ± 6,04***
Taxa de hemólise (%)	RBC não filtrado	0,0506 ± 0,004	0,2941 ± 0,005**	0,3575 ± 0,015	0,4096 ± 0,012*	0,54 ± 0,015*	0,63 ± 0,018**
	LR-RBC	0,0478 ± 0,004	0,3270 ± 0,013**	0,3414 ± 0,015	0,3745 ± 0,015*	0,461 ± 0,014*	0,516 ± 0,011**
G6PD (U/g Hb)	RBC não filtrado	12,16 ± 0,09	11,61 ± 0,11*	11,16 ± 0,12*	10,66 ± 0,16**	10,19 ± 0,10***	9,88 ± 0,085***
	LR-RBC	12,16 ± 0,09	11,87 ± 0,11*	11,67 ± 0,086*	11,32 ± 0,10**	10,96 ± 0,10***	10,48 ± 0,11***

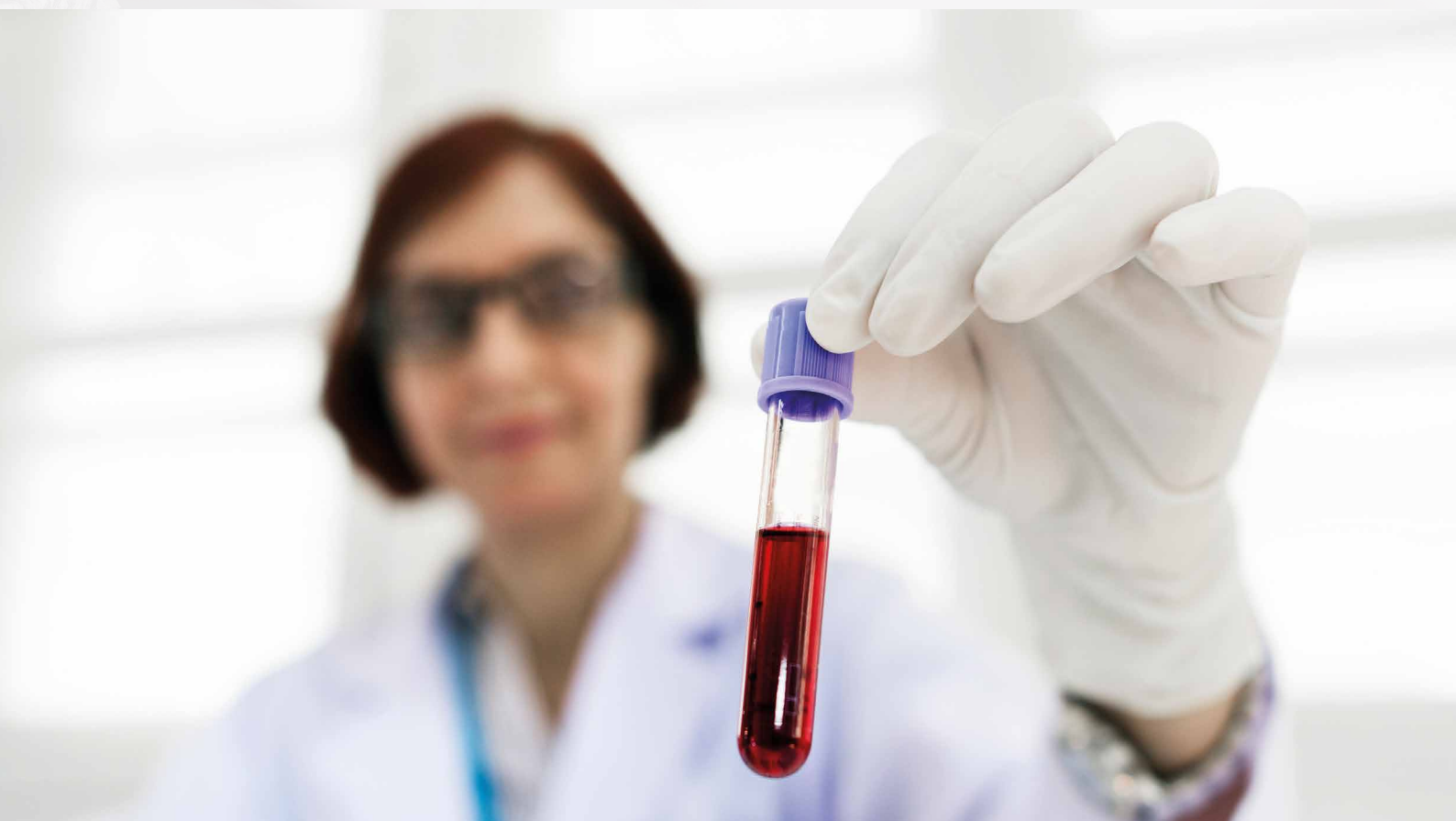
Os resultados são apresentados como média ± SEM, diferenças significativas entre dois grupos são indicadas por *p< 0,05, **p< 0,01 e ***p< 0,001.

Avaliação prévia realizada por Nogueira e colaboradores já havia atestado um possível papel benéfico da leucorredução na prevenção de lesões de armazenamento das hemácias. Avaliando 10 unidades de concentrados de hemácias leucodepletados, os autores não observaram alterações significativas nas contagens de eritrócitos ao longo do armazenamento, atestando para a manutenção da integridade dessas células⁸. Neste estudo os autores também puderam observar a acumulação de lactato nas bolsas, assim como um declínio progressivo nos níveis de G6PD, mas em magnitude inferior ao que havia sido descrito anteriormente em estudos com bolsas não filtradas^{9,10}. Além disso, comprovaram não haver mudanças significativas nos níveis de hemoglobina ligada à membrana, um importante preditor da remoção de eritrócitos da circulação e implicado na ocorrência de lesões de armazenamento.

Esses resultados apontam claramente para maior dano oxidativo e destruição de hemácias ao longo do armazenamento de concentrados de hemácias, ao mesmo tempo que demonstram que esses efeitos podem ser mitigados ou amenizados quando são utilizados filtros de leucorredução

pré-armazenamento. De fato, avaliações mais modernas usando tecnologias “omics” têm uniformemente mostrado os efeitos benéficos da leucorredução de diferentes hemocomponentes em atenuar a gravidade da lesão de armazenamento¹¹. O racional biológico para esse impacto reside provavelmente na **eliminação da influência dos leucócitos na geração de Espécies Reativas de Oxigênio (ROS) e na ativação de proteases e outras substâncias inflamatórias ao longo do armazenamento, levando a lesões bioquímicas e moleculares nas hemácias**⁸.

Ainda faltam ensaios clínicos randomizados avaliando o real impacto da lesão de armazenamento sobre os desfechos clínicos de pacientes sob diferentes condições e patologias, assim como do efeito da leucorredução sobre a atenuação dessas potenciais complicações. Entretanto, **já é evidente que a eliminação dos leucócitos logo ao início do período de armazenamento é capaz de reduzir consideravelmente as alterações estruturais das hemácias que levam a sua senescência precoce e hemólise, sendo um primeiro indicador *in vitro* de que a leucorredução possa ter um impacto real sobre a eficiência e segurança transfusional *in vivo*.**



Referências

1. Koch CG, Duncan AI, Figueroa P, Dai L, Sessler DI, Frank SM, et al. Real Age: Red Blood Cell Aging During Storage. *Ann Thorac Surg*. 2019 Mar;107(3):973-80.
2. D'Alessandro A, Kriebardis AG, Rinalducci S, Antonelou MH, Hansen KC, Papassideri IS, et al. An update on red blood cell storage lesions, as gleaned through biochemistry and omics technologies. *Transfusion*. 2015 Jan;55(1):205-19.
3. Koch CG, Li L, Sessler DI, Figueroa P, Hoeltge GA, Mihaljevic T, et al. Duration of Red-Cell Storage and Complications after Cardiac Surgery. *N Engl J Med* [Internet]. 2008 Mar 20;358(12):1229-39. Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa070403>
4. Goel R, Johnson DJ, Scott A V, Tobian AAR, Ness PM, Nagababu E, et al. Red blood cells stored 35 days or more are associated with adverse outcomes in high-risk patients. *Transfusion* [Internet]. 2016 Jul;56(7):1690-8. Available from: <https://doi.org/10.1111/trf.13559>
5. Lacroix J, Hébert PC, Fergusson DA, Tinmouth A, Cook DJ, Marshall JC, et al. Age of Transfused Blood in Critically Ill Adults. *N Engl J Med* [Internet]. 2015 Mar 17;372(15):1410-8. Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1500704>
6. Prudent M, Tissot J-D, Lion N. In vitro assays and clinical trials in red blood cell aging: Lost in translation. *Transfus Apher Sci* [Internet]. 2015;52(3):270-6. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1473050215000701>
7. Ghezelbash B, Azarkeivan A, Pourfathollah AA, Deyhim M, Hajati E, Goodarzi A. Comparative evaluation of biochemical and hematological parameters of pre-storage leukoreduction during RBC storage. *Int J Hematol Stem Cell Res*. 2018;12(1):35-42.
8. Nogueira D, Rocha S, Abreu E, Costa E, Santos-Silva A. Biochemical and cellular changes in leukocyte-depleted red blood cells stored for transfusion. *Transfus Med Hemotherapy*. 2015;42(1):46-51.
9. D'Amici GM, Rinalducci S, Zolla L. Proteomic analysis of RBC membrane protein degradation during blood storage. *J Proteome Res*. 2007 Aug;6(8):3242-55.
10. Bosman GJCM, Lasonder E, Luten M, Roerdinkholder-Stoelwinder B, Novotný VMJ, Bos H, et al. The proteome of red cell membranes and vesicles during storage in blood bank conditions. *Transfusion*. 2008 May;48(5):827-35.
11. D'Alessandro A. Leucoreduction of blood components: clinical and molecular evidence. Vol. 14, *Blood transfusion = Trasfusione del sangue*. 2016. p. 212-3.