

Criopreservação de plaquetas

Francéli da Silva Asnar

Introdução:

1- Plaquetas:

As plaquetas são elementos sangüíneos provenientes do citoplasma dos megacariócitos, formados no sistema hematopoiético da medula óssea. Cada megacariócito pode formar de 2 a 3 mil plaquetas. As plaquetas circulantes constituem dois terços do número total, sendo que um terço é sequestrada pelo baço. A plaqueta tem vida média de 7 a 10 dias, sendo retiradas da circulação pelo sistema fagocitário (mononuclear) principalmente do baço¹.

Embora pequenas, as plaquetas são células do sangue responsáveis por elaborados processos bioquímicos envolvidos na hemostasia, trombose e coagulação. Morfologicamente, as plaquetas são fragmentos citoplasmáticos são anucleados e de tamanho variado, de 2,9 a 4,3 μm e espessura entre 0,6 a 1,2 μm , podendo variar de um indivíduo para outro. Apresenta-se como uma célula arredondada ou ovóide, citoplasma azul-claro com grânulos vermelho-púrpura homogeneamente distribuídos. Sua membrana plasmática é rica em fosfolipídios e glicoproteínas, sendo estas últimas, tanto receptoras para diversos fatores, como o de Von Willebrand e o fibrinogênio, assim como responsáveis pelas funções de adesão, agregação e ativação plaquetárias².

As plaquetas são metabolicamente ativas e requerem um suprimento constante de ATP³, o qual é necessário para manter a integridade celular, fixando 5-hidroxitriptamina, para impedir a aderência de uma plaqueta à outra, sendo também essencial para a retração de coagulo⁴.

A glicose é a fonte principal de energia sendo metabolizada anaeróbica ou aerobicamente³ e preferencialmente consumida através do ciclo glicolítico, mas a oxidação fosforilativa, cujo consumo de glicose é de apenas 20%, fornece a maior quantidade de ADP plaquetário. Todas as funções plaquetárias são altamente dependentes de uma contínua síntese de ADP⁴.

2- Concentrados de plaquetas:

Os concentrados de plaquetas são obtidos de unidades individuais de sangue total. A unidade de sangue é submetida a dois passos de centrifugação. O primeiro é chamado de rotação suave, que produz o plasma rico em plaquetas e o concentrado de hemácias. O plasma rico em plaquetas é retirado da bolsa por expressão e submetido a uma segunda centrifugação chamada rotação energética, concentrando as plaquetas numa pequena quantidade de plasma (35-60 ml)⁵.

Cada bolsa deve conter pelo menos $5,5 \times 10^{10}$ plaquetas, o que é suficiente para manter um pH maior que 6,2 durante o período de estocagem⁶.

Hoje os concentrados de plaquetas são os únicos meios efetivos de corrigir a trombocitopenia, no entanto, a resposta terapêutica varia de acordo com a população de pacientes e as consequências indefinidas das condições de armazenamento⁷.

3- Condições de armazenamento:

Os concentrados de plaquetas são armazenados em banco de sangue e têm validade de até cinco dias, se preparados em sistema fechado, mantidos à temperatura de 20 a 24°C, sob agitação constante^{6,7}.

No entanto, por melhores que sejam estas condições, há alterações no metabolismo e na função das plaquetas. O pH inicial, a temperatura de armazenamento, a contagem de plaquetas total, o volume de plasma, a duração do armazenamento, a agitação durante o armazenamento e o acúmulo de ácido láctico são fatores controversos conhecidos que influenciam seu metabolismo e função⁷.

A perda da viabilidade das plaquetas foi correlacionada com a “lesão de armazenamento”, que é associada a várias alterações bioquímicas. A viabilidade indica a capacidade das plaquetas de circularem depois da infusão sem remoção prematura ou destruição. A função é definida como a capacidade das plaquetas viáveis de responder à lesão vascular promovendo hemostasia⁷.

Tal viabilidade está comprometida quando há ausência de swirling, ou seja, mudança da forma discóide para a forma esférica¹¹. A técnica do swirling permite analisar visualmente a birrefringência da luz em plaquetas discóides¹².

Melhorias da viabilidade das plaquetas foram relatadas em estudos após conservação por congelamento com 5% de dimetilsulfóxido (DMSO)^{8,9} e thromboSol (TS)⁹.

Metodologia:

Este é um artigo de revisão, o qual reúne informações de estudos realizados, obtidos através de artigos científicos disponíveis.

Congelamento das plaquetas (criopreservação):

De acordo com Landi *et al*, criopreservação de plaquetas é um trabalho intenso e o processo é caro e exige vários passos para adicionar e remover os crioprotetores. Além disso, a manipulação necessária e associada com ativação de plaquetas e perda de função. Essas razões parecem contribuir para as limitações em seu amplo uso.

Nos testes realizados por Valeri *et al* foi adicionado DMSO 6% às plaquetas e foram congeladas com a -80°C . A taxa de congelamento não foi controlada, mas estava determinada a cerca de $2-3^{\circ}\text{C}/\text{min}$

Resultados:

Valeri *et al* comprovou que a recuperação da radioatividade das plaquetas congeladas foi menor que de plaquetas frescas (46% e 65% respectivamente), enquanto que o tempo de vida foi o mesmo (8,5 dias).

O estudo morfológico mostrou melhores resultados nos concentrados de plaquetas frescas, no qual uma média de 90% das células se apresentavam em forma discoide e média de 8% na forma esferoide enquanto as plaquetas congeladas foram 50 – 60% forma discoide e 20 – 30% forma esferoide.

O estudo bacteriológico foi satisfatório, não apresentando crescimento em nenhum meio de cultura.

Quanto ao crioprotetor utilizado, sua maior foi removida por processo de centrifugação e diluição e quando submetidos à transfusão, não produziram efeitos colaterais imediatos.

Conclusão:

Armazenar concentrado de plaquetas por períodos estendidos, usando a criopreservação, pode ser uma ótima solução para a gestão dos bancos de sangue e os problemas associados à armazenagem, haja vista que atualmente os concentrados de plaquetas têm apenas cinco dias de validade e a realidade enfrentada é que a necessidade é maior que a demanda.

Mas infelizmente a criopreservação de plaquetas não é um método simples e eficaz. Funcionalmente os estudos não demonstraram resultados satisfatórios, fazendo-se necessário pesquisas e estudos mais aprofundados para manter ou melhorar a viabilidade (características morfológicas), tempo de vida, pH, número (quantidade) e diversas outras características fundamentais às plaquetas.

REFERÊNCIAS:

1. VERRASTO, T.; LORENZI, T. F.; WENDEL, S. N. **Hematologia e Hemoterapia – Fundamentos de Morfologia, Fisiologia, Patologia e Clínica**. São Paulo: Atheneu, 1998.
2. ZAGO, M. A.; FALCÃO, R. P.; PASQUINI, R. **Hematologia: Fundamentos e Prática**. São Paulo: Atheneu, 2004.
3. LEAVELL, B. S.; THORUP, O. A. JR. **Hematologia Clínica**. 4ª edição. Rio de Janeiro: Interamericana, 1979
4. OLIVEIRA, H. P. **Hematologia Clínica**. 3ª edição. Rio de Janeiro: Atheneu, 1990.
5. SWEENEY, J. D.; RIZK, Y. **Clinical Transfusion Medicine**. USA: Landes Bioscience, 1999.
6. TRIULZI, D.J. **Terapêutica Transfusional – Manual para médicos**. USA: AABB, 2002.
7. HARMENING, D. M. **Técnicas Modernas em Bancos de Sangue e Transfusão**. 4ª edição. Rio de Janeiro: Revinter, 2006.
8. VALERI, C. R.; FEINGOLD H.; MARCHIONNI L. D. A simple method for freezing human platelets using 6% dimethylsulfoxide and storegae at -80°C - **Blood**. Vol.43, Chelsea, 1974
9. LANDI, E. P.; ROVERI, E. G.; OZELO, M. C.; BIZZACCHI, J. M. A.; ORIGA, A. F.; REIS, A. R. C.; SOUZA, C. A.; MARQUES JR, J. F. C. **Transfusion and Apheresis Science** 30 (2004) 205–212.
10. BERTOLINI, F.; MURPHY, S. A multicenter inspection of the swirling phenomenon in platelet concentrates prepared in routine practice. Biomedical Excellence for Safer Transfusion (BEST) Working Party of the International Society of Blood Transfusion. **Transfusion**, v. 36, 1996.
11. CIOFFI, J.G.M.; NEVES, M.S.A. Processamento, Armazenamento e Distribuição do Sangue Coletado. In: BORDIN, J.O.; LANGHI JÚNIOR, D.M.; COVAS, D.T. **Hemoterapia Fundamentos e Prática**. São Paulo: Atheneu, 2007.