ANEMIA O TRANSFUSIÓN: UN DILEMA CLÍNICO EN EL PACIENTE CON TRAUMATISMO CRANEOENCEFÁLICO

Dra. M. Antonia Poca Pastor
Institut de Recerca Hospital Universitari Vall d'Hebron - VHIR
Dr. Àngel Sandoval Álvarez
Institut de Ciències Fotòniques - ICFO

1. Resumen

Aproximadamente un 95% de los enfermos ingresados en una unidad de cuidados intensivos (UCI) presentan valores bajos de hemoglobina durante los 3 primeros días del ingreso, y alrededor de un 45% reciben más de 5 unidades de hematíes. Varios estudios recientes han descrito importantes efectos adversos secundarios a la transfusión de hematíes en los pacientes con un traumatismo craneoencefálico (TCE), hecho que puede producirse por el almacenamiento de la sangre y por una disminución de la capacidad de transporte del oxígeno de los hematíes viejos.

Objetivo principal. El objetivo fundamental de este estudio fue analizar el efecto del almacenamiento de la sangre y la respuesta encefálica y sistémica de los enfermos con un TCE moderado o grave que recibían transfusiones.

Métodos. Estudio longitudinal del cambio de las propiedades de los glóbulos rojos almacenados en el banco de sangre mediante el análisis de varios marcadores y de las repercusiones de la transfusión en los enfermos anémicos. También se realizó un estudio prospectivo mediante métodos no invasivos (sistema híbrido de difusión óptica por espectroscopia infrarroja) para obtener información indirecta sobre la presión intracraneal, la autorregulación cerebral y la hemodinámica cerebral en un grupo de pacientes afectos de un TCE moderado y grave que requirieron transfusiones de hematíes.

Resultados. El estudio realizado ha permitido conocer el efecto del almacenamiento y pérdida de propiedades de la sangre que administramos en los pacientes anémicos. Los resultados que describiremos han permitido profundizar en cómo afecta el almacenamiento de las bolsas de sangre a la calidad de los hematíes y los cambios bioquímicos que tienen lugar en el plasma, conocidos como *lesiones por almacenamiento*, responsables de los efectos clínicos adversos que tienen lugar después de una transfusión sanguínea. Todo esto supondrá una optimización en las medidas terapéuticas que aplicamos a todos los enfermos neurocríticos.

2. Resultados

Los resultados más relevantes de los estudios realizados dentro de este proyecto han sido:

La lisis de los eritrocitos libera hemoglobina libre en el plasma. El estudio realizado en un total de 24 bolsas de sangre leucodeplecionadas desde el día 3 hasta el día 42 posextracción —definido en nuestro país como la fecha de caducidad—, mostró un incremento progresivo del grado de hemólisis. En concreto, la media del porcentaje de hemólisis del día 3 de almacenamiento de la sangre fue de 0,00062%, mientras que en el caso del día 42 fue de 0,00431%, un incremento del 33% de los hematíes hemolizados. La hemólisis de los eritrocitos puede ocurrir durante el procesamiento, la manipulación, el transporte y el almacenamiento de las bolsas de sangre, pero también depende de las características de los donantes de sangre. La transfusión de una bolsa de sangre con un alto grado de hemólisis implica una menor disponibilidad de hematíes funcionales, lo que disminuye la capacidad de transporte de oxígeno a los tejidos del paciente receptor. Además, dada la toxicidad de la hemoglobina libre, para neutralizarla se reduce la biodisponibilidad del vasodilatador endógeno más importante, el óxido nítrico, y así disminuye la perfusión de los órganos y el riesgo potencial de su lesión. Por tanto, la hemólisis es un indicador relevante de calidad en el almacenamiento de hematíes, porque se puede medir con precisión y porque técnicamente resulta muy fácil identificar simplemente las bolsas de sangre en mal estado para desecharlas y eliminarlas del inventario activo.

Los niveles de potasio extracelular [K+]e se incrementan de forma progresiva. Los niveles de [K+]e detectados muestran al 3.er día posextracción valores ligeramente superiores a los fisiológicos, o justo en el límite, teniendo en cuenta que en nuestro centro el rango fisiológico de una persona sana es de 3,5-5,1 mmol/L. Sin embargo, la concentración extracelular de este ion se incrementa de forma progresiva desde el día 3 hasta el día 42 posextracción, de modo que muestra un incremento lineal en todas las bolsas de sangre y llega a alcanzar valores hasta 10 veces superiores a los iniciales. Uno de los posibles riesgos de transfundir varias bolsas de sangre con altos niveles de [K+]e a un mismo paciente es que se favorezca la aparición de una arritmia por hipercalemia inducida o incluso un paro cardíaco, en el caso de que estos iones no se hayan diluido en el volumen total de sangre y alcancen

niveles plasmáticos tóxicos. De acuerdo con nuestros resultados, en caso de transfusiones masivas se recomienda monitorizar los niveles de potasio de los pacientes que ya padecen de hipercalemia o de insuficiencia renal y que presentan problemas para eliminar el exceso de potasio. Para evitar problemas con estos pacientes, se recomendaría la transfusión de bolsas de sangre con 0-3 días de almacenamiento o el uso de filtros de adsorción de potasio.

Cuantificación del consumo de glucosa y formación de piruvato y lactato por parte de los hematíes almacenados. A diferencia de otros tipos celulares, el metabolismo de los eritrocitos se ve limitado por la ausencia de mitocondrias, de manera que la única forma de obtener energía es mediante el uso de la **glucosa** en la glucólisis, seguida por la fermentación láctica. Otra característica de los eritrocitos es que tampoco tienen depósitos de glucógeno, por lo que dependen únicamente de la glucosa extracelular, la cual se incorpora al hematíe mediante difusión facilitada sin gasto de energía y se metaboliza hasta formar lactato. En nuestros estudios, observamos que justo al inicio del estudio —el día 3 posextracción— la media de la concentración extracelular de glucosa [Glu]e detectada en las muestras fue de 431,7 mg/dL, un valor muy elevado teniendo en cuenta que en nuestro centro los valores normales en controles sanos son de 75 a 110 mg/dL. Estos valores superiores se deben a que la solución conservante que se añade a la sangre de las bolsas, llamada SAGM, contiene glucosa con la finalidad de aportar un extra de nutrientes que asegure la viabilidad de los hematíes durante los 42 días de almacenamiento. Sin embargo, a medida que se incrementan los días de almacenamiento, los niveles de glucosa disminuyen progresivamente de forma lineal, lo que indica que los hematíes están utilizando la glucosa del medio para obtener energía. El día que marca el límite de caducidad de las bolsas (día 42), se detectó una concentración media de 118,3 mg/dL, lo que indica que el consumo de la glucosa a lo largo del estudio fue de más del 70% de los niveles iniciales. Estos datos demuestran la relevancia de la suplementación con glucosa mediante la solución conservante, ya que los hematíes no habrían sobrevivido durante 42 días solo con los niveles de glucosa del donante.

En la glucólisis, el substrato es la glucosa y el producto final son dos moléculas de **piruvato**. En nuestros estudios observamos una tendencia al ascenso progresivo de los niveles del piruvato. Posteriormente, se observó un descenso de los niveles de piruvato entre los días 10 y 17 del estudio, que se correspondió con un aumento de los

niveles de **lactato**, por lo que podemos interpretar que los niveles de piruvato bajan por la activación de la última etapa de la vía glicolítica y el paso de piruvato a lactato producido por la LDH. La transfusión de sangre con altos niveles de lactato supone un riesgo teórico de facilitar el desarrollo de hiperlactatemia y acidosis láctica que se incrementa con el número de concentrados administrados, la duración de la transfusión y, tal como hemos demostrado, con el tiempo de almacenamiento de los eritrocitos administrados.

La sangre almacenada se acidifica. Esta acidificación progresiva de la sangre sería el resultado del aumento de los niveles del lactato (acidosis láctica) debido al metabolismo glicolítico de la glucosa. En un sistema biológico normal, el lactato generado es metabolizado por el hígado y los riñones y no tendría mucho efecto sobre el pH del sistema. Sin embargo, en las bolsas, la sangre no solo está expuesta a una acumulación inevitable de lactato, sino que el anticoagulante añadido (CPD: citrato-fosfato-dextrosa) es ácido (pH de 5,6 a 37 °C) y reduce aún más el pH de la sangre. La acidificación de la sangre almacenada afecta significativamente la calidad de los glóbulos rojos almacenados y la supervivencia celular después de la transfusión, especialmente en aquellos pacientes que necesiten recibir numerosas unidades de sangre.

Los niveles del 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG) disminuyen de forma rápida y progresiva. Uno de los objetivos más relevantes de las transfusiones sanguíneas es asegurar el transporte de oxígeno a nivel tisular de los pacientes y su correcta cesión al tejido. La liberación del oxígeno de la hemoglobina está condicionada por la curva de disociación de la hemoglobina. Uno de los moduladores de esta curva son los niveles de 2,3-DPG, un metabolito presente en grandes concentraciones en los eritrocitos que, cuando se une a la desoxihemoglobina, facilita la liberación del O_2 del eritrocito hacía los tejidos. La depleción del 2,3-DPG desvía la curva de disociación hacia la izquierda y hace que la hemoglobina tenga una gran afinidad por el oxígeno y se libere con dificultad al tejido. Los resultados obtenidos muestran que los niveles del 2,3-DPG del tercer día posextracción de la sangre resultaron inferiores respecto a los valores fisiológicos descritos, de 10,5 a 16,2 μmol/g de hemoglobina. Los niveles del 2,3-DPG disminuyeron rápidamente en las primeras dos semanas posextracción de la sangre, y a partir del día 17 de almacenamiento los niveles resultaron tan bajos que llegaron a ser indetectables para la técnica. La conclusión de nuestro estudio es que a partir del

día 17 de almacenamiento los hematíes almacenados están deplecionados de 2,3-DPG. La disminución de los niveles del 2,3-DPG provoca que los eritrocitos almacenados, al ser transfundidos, tengan una menor capacidad de liberar oxígeno a los tejidos del paciente.

Ascenso inicial y descenso posterior y progresivo de nucleótidos energéticos. La energía almacenada en forma de ATP es esencial para mantener en funcionamiento varios procesos, como la glicólisis, el equilibrio de electrolitos a través de la bomba de Na+/K+ y la regulación de la interacción entre la red de espectrina y la membrana del hematíe. La energía derivada de estos nucleótidos es también necesaria para mantener la forma y flexibilidad de los hematíes y para el transporte de fosfolípidos que evitan la eliminación prematura del eritrocito por los macrófagos de la circulación del receptor de la transfusión. El descenso que observamos en los niveles de ATP a lo largo de los experimentos mostró que no se trata de una disminución lineal, sino que se pueden distinguir 3 etapas: 1) un incremento inicial, que sugiere una fase en la que predomina la síntesis de ATP, seguido por 2) una etapa de meseta, en la que la síntesis y el consumo de ATP están equilibrados, y 3) un descenso final, iniciado a las tres semanas, de características lineales, que indica un mayor consumo de ATP. La presencia de unos niveles bajos de ATP compromete la supervivencia de los eritrocitos almacenados. En relación con la presencia de otros nucleótidos energéticos como el ADP y el AMP, también se observó la misma tendencia al descenso después de un ascenso inicial, lo que sugiere que durante los primeros 10 días la sangre almacenada en las bolsas produce una síntesis de estos compuestos.

Cambios morfológicos de los eritrocitos y fragilidad en su membrana celular que los hace no funcionales. La morfología de los eritrocitos es crítica para su función, ya que su alteración debilita el transporte de oxígeno, disminuye su deformabilidad, empeora las propiedades reológicas de la sangre y disminuye la calidad de los hematíes. Los resultados, analizados mediante microscopía electrónica de barrido, muestran que la forma más frecuente de los hematíes al 3.er día posextracción de la sangre es la de discocito normal (bicóncavo), seguida en menor medida por el equinocito (célula hinchada con espículas cortas y regulares) y el esferocito (forma esférica). Estas dos últimas son fenotipos anormales. A medida que se incrementan los días de almacenamiento, la frecuencia de los discocitos va disminuyendo, mientras que las formas eritrocitarias anómalas se hacen más evidentes. En el día 42 de análisis, los

equinocitos, los acantocitos (con proyecciones protoplasmáticas de diferentes formas y tamaños), los crenocitos (células más pequeñas, arrugadas y con espículas) y los esferocitos representan en conjunto casi la mitad de la morfología de los hematíes. Esto significa que el último día de análisis solo la mitad de los eritrocitos tendría un fenotipo normal y que, en el caso de una transfusión de una bolsa de sangre del día 42 de almacenamiento, solo la mitad de las células serían funcionales para el paciente. Además, debido a las lesiones por almacenamiento, la membrana de los eritrocitos sufre un deterioro, tanto morfológico como funcional, que influye y facilita su hemólisis.

Cambios hemodinámicos y de la presión intracraneal (PIC) detectados mediante sistemas de monitorización no invasivos. Los sistemas ópticos no invasivos (*hybrid diffuse optical monitor with time resolved spectroscopy*) utilizados en este proyecto han permitido una puesta a punto del sistema, reducir las dimensiones de los dispositivos y mejorar los algoritmos utilizados. Todo ello ha permitido determinar de forma indirecta y no invasiva los cambios en la PIC, estudiar la autorregulación cerebral y observar los cambios hemodinámicos en el cerebro producidos al trasfundir concentrados de hematíes a los pacientes estudiados.

3. Relevancia y posibles implicaciones futuras

La anemia es un acontecimiento adverso común en los pacientes ingresados en la unidad de cuidados intensivos (UCI). Según datos recientes, el 37% de los pacientes de la UCI reciben al menos una transfusión de sangre durante su estancia en esta unidad, y los pacientes transfundidos reciben una mediana de cinco unidades de concentrados de glóbulos rojos (RBC). El 46% de los pacientes con un TCE presentan anemia durante la primera semana después de su ingreso y el 76% son transfundidos. La anemia puede afectar la oxigenación cerebral en pacientes neurocríticos y la hipoxia anémica fue ya descrita por Siggaar-Andersen en 1995. El riesgo/beneficio de la transfusión cuando la hemoglobina es inferior a 9 g/dL es un tema de debate no resuelto. Es evidente que la transfusión de sangre puede aumentar el aporte cerebral de oxígeno y reducir el riesgo de hipoxia tisular. Sin embargo, algunos trabajos publicados han señalado que la transfusión de sangre se asocia en algunos casos a

peores resultados en pacientes con un TCE y algunas revisiones sistemáticas no ven beneficio en la trasfusión.

La transfusión sanguínea en el paciente neurocrítico es un tratamiento frecuente que permite optimizar la oxigenación cerebral en casos de anemia. Los concentrados de hematíes con reducción plasmática y leucodeplecionados se almacenan en los bancos de sangre durante un máximo de 42 días después de la extracción de los voluntarios. La prolongación de la vida útil de los eritrocitos es posible gracias a la aplicación combinada de métodos de preparación y aditivos de almacenamiento adecuados como la solución salina-adenina-glucosa-manitol (SAGM) y el almacenamiento en bolsas de polivinilo a baja temperatura. A pesar de estas medidas, los eritrocitos almacenados se ven sometidos a cambios metabólicos, estructurales, bioquímicos y moleculares denominados colectivamente como *lesiones por almacenamiento*. Se sabe que las lesiones por almacenamiento se caracterizan por depleción de ATP, pérdida de 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG), glutatión (GSH) y agotamiento del NADH/NADPH. También se ha demostrado que los hematíes almacenados sufren cambios morfológicos reversibles y/o irreversibles que los hacen más frágiles.

En la actualidad, las prácticas de transfusión en el contexto de un TCE moderado o grave son muy variables, dependiendo de la especialidad del médico tratante y del tipo de paciente. La anemia permisiva es una estrategia reciente con gran impacto clínico. En nuestra opinión, el debate sobre el riesgo/beneficio de la transfusión no se ha enfocado de forma adecuada y está en gran parte sesgado por la reducción de costes en los sistemas sanitarios.

Desde el punto de vista fisiológico y fisiopatológico, la anemia fue descrita por Miller ya en el año 1978 como una agresión secundaria evitable. Las discrepancias entre la fisiología y la fisiopatología y la falta de resultados positivos en estudios aleatorizados es consecuencia del diseño y los sesgos. Nuestros resultados demuestran que no es lo mismo una transfusión con sangre de menos de 7 días de almacenamiento que con 22 días posextracción, ya que, en resumen, las bolsas de sangre que acumulan más días de almacenamiento presentan una morfología predominantemente anómala que influye en el nivel de hemólisis y fragilidad osmótica, y también presentan un pH más ácido que la sangre fisiológica que afecta el funcionamiento de múltiples enzimas del metabolismo del eritrocito, de modo que se pone en peligro su viabilidad. Los

resultados de los estudios realizados en este proyecto permitirán conocer mejor la fisiopatología de las transfusiones hemáticas y realizar recomendaciones sobre cómo pueden optimizarse. Todo ello repercutirá en un manejo más adecuado del paciente neurocrítico.

4. Bibliografía científica generada

Fischer JB, Ghouse A, Tagliabue S, Maruccia F, Rey-Pérez A, Báguena M, Cano P, Zucca R, Weigel UM, Sahuquillo J, Poca MA, Durduran T. *Non-invasive estimation of intracranial pressure by diffuse optics. A proof-of-concept study*. J Neurotrauma. 2020 Dec 1;37(23):2569-2579. doi: 10.1089/neu.2019.6965.

Maruccia F, Gomáriz L, Rosas K, Durduran T, Paredes-Carmona F, Sahuquillo J, Poca MA. *Neurodevelopmental profile in children with benign external hydrocephalus syndrome. A pilot cohort study*. Child's Nervous System. 2021 Sep;37(9):2799-2806. doi: 10.1007/s00381-021-05201-z.

Fischer JB, Kobayashi Frisk L, Scholkmann F, Delgado-Mederos R, Mayos M, Durduran T. *Cerebral and systemic physiological effects of wearing face masks in young adults*. P. Natl. Acad. Sci. USA 118, e2109111118 (2021).

Gregori-Pla C, Mesquita RC, Favilla CG, Busch DR, Blanco I, Zirak P, Frisk LK, Avtzi S, Maruccia F, Giacalone G, Cotta G, Camps-Renom P, Mullen MT, Martí-Fàbregas J, Prats-Sánchez L, Martínez-Domeño A, Kasner SE, Greenberg JH, Zhou C, Edlow BL, Putt ME, Detre JA, Yodh AG, Durduran T, Delgado-Mederos R. *Blood flow response to orthostatic challenge identifies signatures of the failure of static cerebral autoregulation in patients with cerebrovascular disease*. BMC Neurol. 21, 154 (2021).

Maruccia F, Tagliabue S, Fischer J, Pérez-Hoyos S, Rosas K, Sahuquillo J, Poca MA, Durduran T. *Continuous non-invasive optical monitoring for detecting intracranial pressure (ICP) alterations in children affected by benign external hydrocephalus*. Neurophotonics. (Artículo en proceso de revisión).

Capítulo de libro internacional

Poca MA, Sánchez Ortiz D, Baena J, Sahuquillo J. "Brain microdialysis monitoring" (Microdialysis chapter, Chapter 7). En: Rabelo N *et al* (ed.). *Neurocritical Care for Neurosurgeons: Principles and Applications*. Editorial: Springer.

Trabajo de fin de máster (TFM)

"Morphological and biochemical changes of erythrocytes in stored blood units". Marta Casas Bonet (mrtcssbnt@gmail.com). Máster Universitario Euromediterráneo en Neurociencias y Biotecnología. Universitat de València. Junio de 2019.

Tesis doctorales defendidas o a punto de su defensa que se han realizado también con la ayuda de este proyecto:

Jonas Fischer, "Transcranial Diffuse Optical Measurements of Pulsatility Derived Parameters for Neuromonitoring Applications", octubre de 2021.

Federica Maruccia, "Lights and shadows of the benign external hydrocephalus syndrome. Investigating its neurological sequelae through the psychomotor assessment and non-invasive optical monitoring of a cohort of infants". Defensa de la tesis prevista para 2022 (UAB).

Susanna Tagliabue, "Comprehensive monitoring of the injured brain by hybrid diffuse optics: towards brain-oriented theranostics". Fecha de defensa: 29 de abril de 2022.

Relación de otros artículos en desarrollo que se publicarán a lo largo de 2022 y 2023:

***Changes in the phenotype of long-stored red blood cell (RBC). The neglected side of storage lesion*.** Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism.

***Structural and biochemical changes in stored red blood cells and their clinical relevance in the management of anemia in the neurocritical patient*.** Journal of Neurotrauma.