



## USING UMBILICAL CORD BLOOD AS A SOURCE OF PAEDIATRIC PACKED RED BLOOD CELLS: PROCESSING AND QUALITY CONTROL

### GÖBEK KORDON KANININ PEDIATRİK ERİTROSİT SÜSPANSİYONU OLARAK KULLANILMASI: İŞLEME VE KALİTE KONTROLÜ

**ALINTI:** DOI: 10.1111/vox.13475

**YAZARLAR:** Mariane Aparecida Risso, Elenice Deffune, Angela Cristina Maiheiros Luzo

**ÖZETLEYEN:** Dr. Betül Günaydın

#### GİRİŞ

Göbek kordonu kanının (UCB), eritrosit süspansiyonu (RBC) kaynağı olarak kullanımı, son birkaç yılda kordon kanı bankaları (CBB'ler) tarafından araştırılmıştır. Bu bankalar, nakilde kullanılan UCB sayısının azalması sebebiyle, CBB hizmetlerinin sürdürülebilirliğini korumak için bu ürünün yeni uygulamalarını araştırmaktadırlar.

Umbilikal RBC'ler (U-RBC'ler), esas olarak düşük ve aşırı düşük doğum ağırlıklı yenidoğan (LBW ve ELBW) transfüzyonu için faydalı olabilir. U-RBC kullanımı, fizyolojik özellikleri yenidoğanın fizyolojisine daha yakın olduğundan, transfüzyonla ilişkili komorbiditelerin gelişme olasılığının daha düşük olmasıyla ilişkilendirilmiştir. Ayrıca, transfüzyon amacıyla UCB kullanımı, yetişkin transfüzyonu talebini karşılamak için yetişkin bağışçı sayısının yetersiz olduğu az gelişmiş ülkelerde uygulanan transfüzyon tıbbi için umut verici bir alternatif olabilir. Yapılan çalışmalar, herhangi bir reaksiyon olmaksızın hemoglobin seviyelerinde artışla sonuçlandığını göstermiştir.

UCB işleme koşullarının yanı sıra bunların CBB'ler tarafından depolanması ve klinik öncesi validasyonu, ürünün CBB'lerin hemoterapi hizmetlerindeki uygulanabilirliği hakkında yapılmış yeterli sayıda çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışmanın amacı UCB'den U-RBC elde etmekte kullanılan otomatik ve manuel olmak üzere iki işlem tekniğini değerlendirmektir. Ayrıca U-RBC kalite kontrol sonuçlarını A-RBC

fraksiyonlu üniteler için gözlemlenenlerle karşılaştırılmış ve saklama süresi boyunca U-RBC ve A-RBC artık plazmasındaki büyüme faktörü (GF) ile sitokin konsantrasyonları analiz edilmiştir.

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışmada 24 UCB ünitesi kullanılmıştır. UCB torbaları işlenmeden önce lökositlerden arındırılmıştır. Daha sonra, katkı solüsyonunda manuel işleme (protokol 1/n = 12) veya otomatik işleme (protokol 2/n = 12) ile U-RBC'ye dönüştürülmüştür. Protokol 1'e (P1) göre, 12 UCB torbası 860 g'de 7 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. İşleme prosedürü bittikten sonra, her bir torba 150 mL'lik bir pediatrik transfer torbasına (Fresenius Kabi) alınmış, bu torba da manuel bir ekstraktörle fraksiyonlara ayrılmıştır. Protokol 2'ye (P2) göre, 12 UCB torbası Biosafe SEPAX 2 ekipmanında işlenmiştir. Her iki protokolde de kullanılan U-RBC'ler steril bir bağlantıyla pediatrik torba sistemine bağlanmıştır, bu nedenle analiz süresi boyunca ana torba sisteminin açılması gerekmemiştir. Torbalar buzdolabında,  $4\pm 2^{\circ}\text{C}$  kontrollü sıcaklıkta, en fazla 14 gün boyunca saklanmıştır.

Kontrol grubu, bir in-line filtrede (Fresenius Kabi) toplanan A-RBC ve lökosit filtrasyon sistemine sahip katkı solüsyonu eklenmiş bir kan torbası toplama sisteminden (SAG-M) oluşmaktadır. Fraksiyonlama işlemi, A-RBC içeriğinin 150 mL'lik transfer torbalarında pediatrik ünitelere bölünmesine dayanan kapalı bir sistemde gerçekleştirilmiştir. U-RBC ve A-RBC üniteleri 14 günlük saklama süresi boyunca kontrol edilmiş, ayrıca D1 (işleme günü), D7 ve D14'te analiz edilmiştir.

Tüm ürünlerde hematolojik (hemoglobin, hematokrit, hemoliz) parametreler ve biyokimyasal (pH, sodyum, potasyum indeksi, glukoz, laktat) parametreler ölçülmüştür. Son depolama gününde (D14) tüm ünitelerde aerobik/anaerobik mikroorganizmaların ve mantarların mikrobiyolojik kontrolü yapılmıştır. U-RBC artık plazması D0, D7 ve D14 günlerinde toplanmıştır. Analizler beş U-RBC P1, beş U-RBC P2 ve iki A-RBC alikotuna uygulanmıştır. U-RBC P1, U-RBC-P2 ve A-RBC'deki GF ve sitokin konsantrasyonları, tekli ve çoklu immünoassaylerle ölçülmüştür.

## SONUÇ VE TARTIŞMA

24 UCB vericisinin ortalama doğum ağırlığı 3.219 g ve ortalama gebelik yaşı 39 haftadır. Toplanan ortalama UCB hacmi 99 mL'ye ulaşmıştır. İşlem öncesi hematolojik taramaya göre, toplam ortalama hemoglobin seviyesi 11 dg/mL ve hematokrit seviyesi ünite başına %38'dir. İşleme prosedürü bittikten sonra, P1 için kaydedilen ortalama U-RBC hacmi 45 mL ve P2 için 39 mL iken, P1 için kaydedilen ortalama hematokrit seviyesi %57 ve P2 için %59 idi. İşlemden geçirildikten sonra protokoller arasında bu endekslerde önemli bir fark gözlenmemiştir. Ortalama A-RBC hacmi 44 mL'ye ulaşmıştır. Ünite başına hemoglobin indeksi RBC ünitelerinin hacmine göre hesaplanmıştır. Böylece, P1 ortalama 7,6 g hemoglobin/ünite kaydederken, P2 ortalama 7g hemoglobin/ünite kaydetmiştir. U-RBC genel ortalama olarak 7,3g hemoglobin/ünite iken, A-RBC genel ortalama olarak 8,8g hemoglobin/ünitedir. Saklama süresi boyunca RBC hemoglobin indeksi her iki protokolün U-RBC'si için anlamlı ölçüde farklıydı ( $p < 0.0001$  vs. A-RBC).

Biyokimyasal analizler, U-RBC için kullanılan her iki protokolda de depolama süresi boyunca incelenen parametrelerde önemli değişiklikler olduğunu göstermiştir. Böylece, pH, sodyum ve glukoz (her biri için  $p < 0.0001$ ) seviyeleri depolama süresi boyunca anlamlı bir düşüş kaydederken, potasyum ve laktat (her biri için  $p < 0.0001$ ) seviyeleri bu süre boyunca anlamlı bir artış kaydetmiştir. İşleme ve saklama aşamaları bittikten sonra, P2'ye göre işlenen iki U-RBC ünitesi D14 kan kültürleri pozitif sinyal vermiştir. Bu kültürlerde Propionibacterium spp. ve Staphylococcus lugdunensis üremiştir. Her iki U-RBC işleme protokolü (P1 ve P2) arasında GF ve sitokin konsantrasyonları açısından önemli bir fark bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ).

Hem P1 hem de P2'de %53'ün üzerinde hematokrit seviyeleri kaydedilmiştir; daha önce onaylanmış olan iki protokol arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bu bulgu, fraksiyonlamanın otomatik yöntemlere dayalı olarak da gerçekleştirilebileceğini kanıtlamaktadır. Bu nedenle, o sırada mevcut kaynaklara bağlı olarak, U-RBC ünitelerinin hem otomatik hem de manuel yöntemlere dayalı olarak işlenmesi mümkün görünmektedir. İncelenen protokoller arasında nihai U-RBC hacimlerinde önemli bir fark gözlenmemiştir. Nihai hacmi daha düşük tespit eden diğer çalışmalar RBC lökofiltrasyonunu, işleme prosedürü bittikten sonra gerçekleştirirken, bu çalışmada işlemden önce tam kan lökofiltrasyonu



uygulanmıştır. Bu yöntem, daha yüksek U-RBC hacimleri elde etmek için geçerli bir seçenek gibi görünmektedir. U-RBC'de kaydedilen pH ve potasyum seviyeleri A-RBC ünitelerinden daha düşüktür. Özellikle prematüre yenidoğanlarda pediatrik transfüzyon sonrası oluşabilen hiperkaleminin kötü prognoza yol açma ihtimalinden ötürü, transfüzyonda A-RBC yerine U-RBC ünitelerinin kullanımı daha faydalı olabilir.

Mikrobiyolojik kontrole tabi tutulan iki U-RBC ünitesi, kordon kanında sıklıkla bulunan mikroorganizmalar açısından pozitif çıkmıştır. Diğer çalışmalarda da U-RBC'lerin mikrobiyolojik parametreleri değerlendirilmiş ve %0 ila %13,7 arasında değişen farklı kontaminasyon değerleri kaydedilmiştir. Bu varyasyon, UCB toplama uygulamalarıyla ilişkili olabilecek kontaminasyon seviyeleri için standartların eksikliğini kanıtlamıştır. Toplama prosedürünün iyileştirilmesi daha iyi sonuçlar alınmasını sağlayabilir ve kontaminasyon riskini azaltabilir.

Bu çalışmada ölçülen GF ve sitokin konsantrasyonları, insülin hariç, U-RBC kalıntı plazmasında daha yüksektir. Bu bulgu, yetişkin kan örneklerinde UCB için gözlemlenenlerden daha yüksek IGF-1 ve TGF-beta seviyelerini tanımlayan önceki çalışmalarda gözlemlenenlerle uyumlu değildir. Ancak bu yazarlar ölçümleri serum örneklerinde gerçekleştirirken, bu çalışmada RBC artık plazma örnekleri kullanılmıştır. Yapılan çalışmalar prematüre yenidoğanlarda yüksek düzeyde pro-enflamatuar sitokinlerin prematüriteye bağlı retinopati riskinde artışla ilişkili olduğu, GF'lerin, anjiyojenik proteinlerin görülme sıklığının ise bu riski modüle ettiği sonucuna varmışlardır. GF, IL ve sitokin konsantrasyonları ile doğumdaki gebelik yaşı arasındaki ilişki, bu GF'lerin prematüre transfüzyonu üzerindeki etkisini açıklamak için kilit bir nokta olabilir.

Spesifik U-RBC kalite parametreleri, bu birimlerin özelliklerine ve uygulamalarına göre belirlenebilir. Yenidoğanlarda kullanılmak üzere hazırlanan fraksiyone A-RBC ünitelerinin kalitesini değerlendirmeye odaklanan çalışmalar, spesifik kalite kontrol parametrelerinin tanımlanmasına yardımcı olacak şekilde geliştirilmelidir. LBW ve ELBW yenidoğanlarda U-RBC kullanımının avantajlarını araştırmak için randomize klinik çalışmalar yapılmalıdır. Sonuç olarak, bu çalışmanın sonuçları, kordon kanının CBB rutinlerinde ve transfüzyon hizmetlerinde kolayca uygulanabilecek manuel veya otomatik protokollere dayalı olarak kaliteli U-RBC ünitelerinde işlenebileceğini göstermiştir.