



COLD STORAGE ALTERS THE IMMUNE CHARACTERISTICS OF PLATELETS AND POTENTIATES BACTERIAL-INDUCED AGGREGATION

SOĞUK DEPOLAMA TROMBOSİTLERİN İMMÜN ÖZELLİKLERİNDE DEĞİŞİKLİK YAPMAKTA VE BAKTERİYEL KAYNAKLI AGREGASYONUN GÜCÜNÜ ARTIRMAKTADIR

ALINTI:<https://doi.org/10.1111/vox.13293>

YAZARLAR: Ben Winskel-Wood, Matthew P. Padula, Denese C. Marks, Lacey Johnson

ÖZETLEYEN: Dr. Ayla YAVUZ, Dr. Nazime ÇEBİ

GİRİŞ

Alternatif bir trombosit saklama yöntemi olarak soğuk depolama yeniden gündeme gelmiştir. Trombositlerin soğukta saklanması, klinik değerlendirme aşamasında olup ABD'de sınırlı klinik kullanım için onay almıştır. Çoğu çalışma, soğukta saklanan trombositlerin hemostatik işlevselliğine odaklanmıştır, fakat immün fonksiyonlarındaki değişiklikleri inceleyen bilgiler sınırlıdır. Uygun raf ömrünü ve klinik endikasyonları belirlemek için 4CPLT (NCT02495506), CHIPS (NCT04834414) ve CriSP-TBI (NCT04726410) çalışmaları da dahil olmak üzere birçok klinik çalışma devam etmektedir. Ek olarak, ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) soğukta saklanan trombositleri sınırlı kullanım için onaylanmıştır. Pandemi kaynaklı kısıtlamalar nedeniyle bazı kan merkezlerinde kademeli soğuk hava deposunda saklama uygulaması denenmiştir. Genel olarak soğuk depolama, trombositlerin in vitro hemostatik fonksiyonunu daha iyi korur ve klasik oda sıcaklığında depolamaya kıyasla bakteriyel çoğalma riskini azaltır.

Trombositler klasik olarak hemostatik hücreler olarak kabul edilmekle birlikte, aynı zamanda immün yanıtın anahtar araçlarıdır. Trombosit hücre zarı, lökosit aktivasyonunu sağlayan ve trombosit-lökosit kümelerinin oluşumunu kolaylaştıran bir dizi ko-stimülatör (CD40, CD40L, HCAM, B7-2, MHC-I, siglec-7) ve adezyon (P-selektin, ICAM-2, DC-SIGN, CLEC2, integrin $\alpha 2\beta 3$) barındırır. Ayrıca, hemostatik veya immünolojik agonistler degranülasyonu ve biyolojik yanıt düzenleyicileri aktive ederek uyandırabilir (BRM'ler-biological response modifiers). BRM'ler iltihaplanmayı ve lökosit aktivasyonunu kolaylaştırır (CD40L, endocan, IL-1 β , IL-13, IL-27,

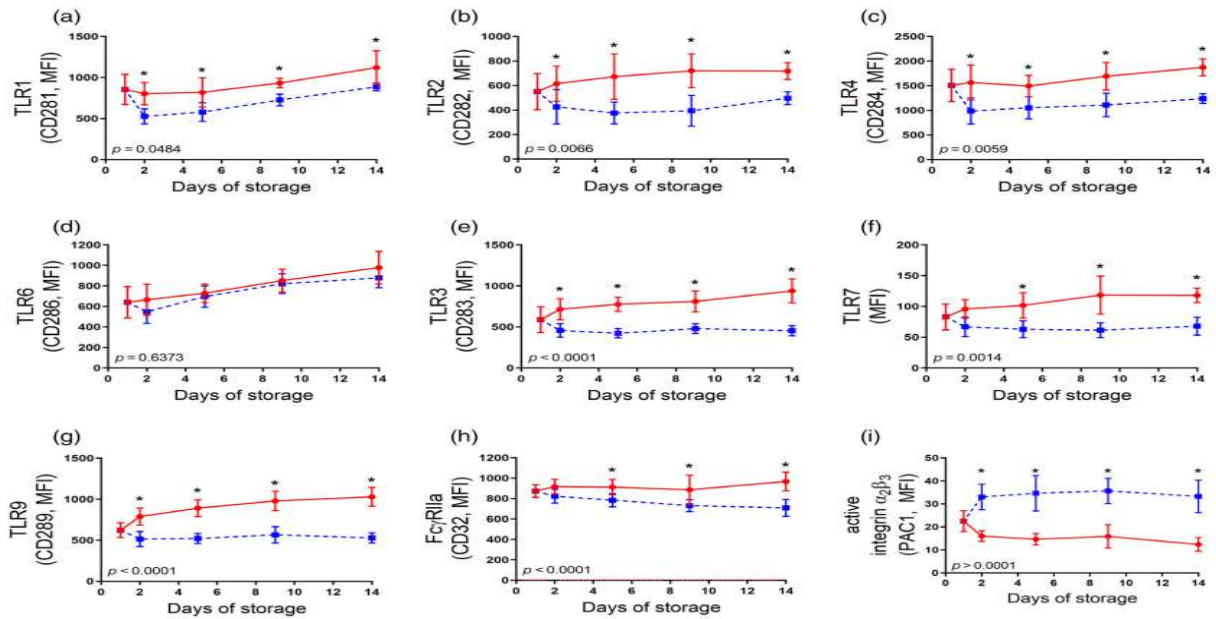
HMGB1, OX40L ve RANTES) ve anti-patojenik aktivite (PF4, C3a, C4a ve C5a) gibi çok sayıda etkileri olabilir. Özellikle, trombosit bileşenlerinde BRM'lerin birikmesi transfüzyonu takiben artan yan etkilerle ilişkilendirilmiştir. Trombosit yüzey reseptörleri ayrıca infiltre edici patojenlerin saptanmasına ve yok edilmesine aracılık eder. TollLike reseptörler (TLR'ler; TLR1, TLR2, TLR4 ve TLR6) ve adezyon molekülleri (P-selektin), patojenleri in vivo olarak tanıma ve bağlama yeteneğine sahiptir. Bu çalışma, patojen etkileşimi ile ilişkili fonksiyonlara odaklanarak trombositlerin bağışıklık özellikleri üzerinde soğukta depolamanın etkisini incelemeyi amaçlamıştır.

MATERYAL-METOD

Gönüllü kan bağışçılarında alınan tam kanların buffy-coatlarından elde edilen trombosit süspansiyonları (dört adet) havuzlanmış, bir ünite trombosit süspansiyonu elde edilmiştir. Her biri eşit iki trombosit süspansiyonuna ayrılmıştır. Bileşenlerden biri oda sıcaklığında (20-24°C'de çalkalanmış) diğeri soğuk ortamda (2-6°C'de çalkalanmadan) muhafaza edilmiştir. Genel olarak soğukta saklama, incelenen çoğu immünomodülatör faktörün salınımını önemli ölçüde değiştirmemiştir. Herhangi bir zamanda trombositlerde CD40L, endocan, IL-1 β , IL-13, IL-27, HMGB1 ve OX40L oda ısısında saklananlara kıyasla önemli ölçüde değişmemiştir. Ancak RANTES ve PF4 konsantrasyonu, soğukta saklanan bileşenlerle karşılaştırıldığında 9. günden itibaren oda sıcaklığında saklanan trombositlerde sırasıyla iki ve üç kat arttığı saptanmıştır.

C3a konsantrasyonu, oda sıcaklığında saklanan bileşenlerde kademeli olarak artarak 9. ve 14. günlerde soğukta saklanan trombositlerden iki kat daha yüksek hale geldiği görülmüştür. Tersine, oda sıcaklığında saklanan ve soğukta saklanan trombositler arasında C4a ve C5a süpernatant konsantrasyonunda anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Soğuk depolama, oda sıcaklığında depolanan bileşenlerle karşılaştırıldığında 2. günden itibaren hücre zarı üzerindeki P-selektinin miktarı önemli ölçüde artmıştır. Buna karşılık, B7-2, HCAM, ICAM-2 ve CD40'ın miktarı, oda sıcaklığında saklananlara kıyasla soğukta saklanan trombositlerin hücre zarında 2. günde azalmıştır. DC-SIGN miktarı, soğukta saklanan trombositlerin hücre zarındaki miktarı düşmüştür ancak azalma istatistiksel olarak anlamlı değildir. Buna karşılık, her iki saklama koşullarında MHC-I, CD40L, siglec-7 veya CLEC2'nin membran miktarı açısından fark yoktur. Genel olarak soğuk depolama, immünolojik trombosit reseptörlerinin miktarını farklı şekilde

değiştirmiştir. Oda sıcaklığında depolanan trombositlerin hücre zarında TLR ve FcγRIIIa artışı gözlenmiştir. Her iki depolamada farklılık TLR6'dadır. Özellikle, integrin α2β3'ün aktif konformasyonunun miktarı, oda sıcaklığında depolanan bileşenlerle karşılaştırıldığında soğuk depolama ile önemli ölçüde artmıştır. Soğuk depolama, trombositlerin hücre zarındaki patojen reseptörlerinin miktarı azalttığından, yaygın bakteri suşlarının (*E.coli* ve *S.aureus*) varlığında trombositlerin bir araya gelme yeteneğini etkileyip etkilemediğini belirlemek için agregometri kullanılmıştır. ADP'ye yanıt olarak trombosit agregasyonu her iki tedavi kolunda da azalmış, ancak 7. ve 14. günlerde soğukta saklanan trombositlerde daha iyi korunmuştur. *E.coli*, oda sıcaklığında depolanan trombositlerde nispeten düşük bir agregasyon düzeyine neden olmuş ve depolama boyunca sabit kalmıştır. Buna karşılık, 7. ve 14. günlerde soğukta saklanan trombositlerde *E.coli*'ye karşı iki kat daha yüksek agregasyon yanıtı gözlenmiştir. Benzer şekilde, *S.aureus*, oda sıcaklığında depolanan trombositlerde agregasyonu indüklemiş ve 14 günlük depolamadan sonra biraz artmıştır. Özellikle, soğukta saklanan trombositler, 7. günde *S.aureus*'a önemli ölçüde daha yüksek bir agregasyon yanıtı sergilemiştir ve oda sıcaklığında depolanan bileşenlerle karşılaştırıldığında 14. günde yanıt daha da artmıştır. İntegrinin aktif bölgesinin RGDS ile inhibisyonu, oda sıcaklığında depolanan trombositlerde *E.coli* kaynaklı trombosit agregasyonunu önemli ölçüde etkilememiştir.



SONUÇ- TARTIŞMA

Soğuk depolama trombositlerin hemostatik fenotipini ve fonksiyonunu değiştirir. Bu çalışmada, soğuk depolamanın aynı zamanda trombositlerin bağışıklık özelliklerini de değiştirdiği bulunmuştur. Spesifik olarak, soğuk depolama, bir dizi BRM'nin süpernatana salınmasını azaltmış ve immünolojik işlevle ilişkili yüzey reseptörler miktarını değiştirmiştir. Soğuk depolama aynı zamanda *E.coli* ve *S.aureus* tarafından indüklenen agregasyon tepkilerini $\alpha 2\beta 2$ 'ye bağımlı bir şekilde güçlendirmiştir. Önceki çalışmalar, soğukta saklamanın, trombosit hücre zarının morfolojisindeki değişikliklerle ilgili olduğuna inanılan spesifik hemostatik reseptörlerin (GPIb, GPVI, GPIIb ve GPIX) miktarının azalmasına neden olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada, benzer bir mekanizma yoluyla oluşan bir dizi TLR ve lökosit ile ilişkili reseptör miktarında soğukla ilişkili bir azalma görülmüştür. Halen araştırılmakta olmasına rağmen, soğuk depolamanın metabolik parametreleri daha iyi koruduğu ve potansiyel olarak dahili sinyal iletim yollarını hazırladığı öne sürülmektedir. Soğukta saklanan trombositler, *E.coli* ve *S.aureus*'a yanıt olarak artan agregasyon ile ilişkili olan integrin $\alpha 2\beta 3$ 'ün (daha yüksek PAC-1 bağlanması) aktivasyonunu arttırmıştır. Ayrıca, RGDS'nin eklenmesi, bakteri kaynaklı agregasyonun soğuğa bağlı olarak güçlenmesini engellemiştir. Bu nedenle, integrin $\alpha 2\beta 3$ 'ün aktive edilmiş konformasyonu, bakteriyel kaynaklı agregasyonda gözlemlenen artıştan sorumlu olabilir. RGDS inhibisyonu, *E.coli* ve *S.aureus*'un neden olduğu agregasyonu azaltmış ancak ortadan kaldırmamıştır. Hem oda sıcaklığında hem de soğukta depolanmış trombositlerin hücre zarında saklama süresi boyunca P-selektin miktarında artma olduğu görülmüştür.

Bu çalışma, soğuk depolamanın trombositlerin bağışıklık işleviyle ilişkili bir dizi özellik üzerindeki etkilerine genel bir bakış sunmuştur. Bu in-vitro değişikliklerin, soğukta saklanan trombositlerin transfüzyonunu takiben klinik sonuçlar üzerindeki etkisi, soğukta saklanan trombositlerin uygulanması ilerledikçe önemli olacaktır.