



EVALUATION OF PLATELET CONCENTRATES PREPARED FROM WHOLE BLOOD DONATIONS WITH COLLECTION TIMES BETWEEN 12 AND 15 MIN: THE BEST COLLABORATIVE STUDY

TOPLAMA SÜRELERİ 12-15 DAKİKA ARASINDA OLAN TAM KAN BAĞIŞLARINDAN HAZIRLANAN TROMBOSİT KONSANTRELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ: BEST COLLABORATIVE ÇALIŞMASI

DOI: <https://doi.org/10.1111/vox.13245>

YAZARLAR: Dirk de Korte, Ido J. Bontekoe, Aine Fitzpatrick, Denese Marks, Ben Wood, Ute Gravemann, Miloš Bohonek, Jose M. Kutner, The Biomedical Excellence for Safer Transfusion Collaborative

ÖZETLEYEN: Dr. Birol ŞAFAK

GİRİŞ

Trombosit konsantreleri (PC); tromboferez, trombositen zengin plazma (PRP) veya tam kandan (WB) buffy coat (BC) yöntemleriyle üretilir. WB'den üretildiği durumda kan alma süresiyle ilgili kısıtlamalar vardır. Avrupa Konseyi Yönergeleri, WB toplama süresi 12 dakikadan uzunsu kanın trombositlerin hazırlanmasında ve 15 dakikadan uzunsu plazmanın doğrudan transfüzyonda veya pıhtılaşma faktörlerinin hazırlanmasında kullanılmaması gerektiğini söylemektedir. Avustralya'da aynı kurallar uygulanırken ABD, Kanada ve İngiltere'de bu kurallar geçerli değildir. Bu kılavuzlardan sonra yeni santrifüjler ve yeni üretim yöntemleri geliştirilmiştir. Bu nedenle, daha uzun süreli bağışlardaki PC kalitesinin yeniden değerlendirilmesi mantıklıdır.

Mevcut toplama koşullarında, 12-15 dakika arasında süren bağışların sayısı %1-9 arasında değişmektedir. Herhangi bir zaman kısıtlaması olmadığında BC'lerden havuzlanmış PC'ler üretmek daha kolay olacağından, 15 dakikadan uzun olmayan WB bağışlarından hazırlanan BC'lerin trombosit havuzunda kullanılabileceğine dair daha fazla kanıt toplamak için BEST Collaborative aracılığıyla çok merkezli bir çalışma yapılmıştır.

GEREÇ-YÖNTEM

Havuzlanmış BC'den elde edilen PC

Beş merkez 4 veya 5 BC'lik havuzlardan oluşan, iki grup halinde (≤ 12 dakika WB toplama süreli kontrol grubu ve > 12 dakika WB toplama süreli çalışma grubu) 8 PC üretilmiştir. Toplanan WB'lar antikoagulan olarak CPD içermektedir. Buradan elde edilen BC havuzundan lökosit

azaltılmış PC elde edilmiştir. Bir merkez ise tek donasyondan elde edilen PRP' den PC üretmiştir. Tüm merkezlerde PC, çalkalanarak 22 ± 2 C'de 8 gün süreyle saklanmaktadır.

En uygunsuz vaka çalışması

BC havuzlarından PC elde eden 5 merkezden 1 tanesi bu çalışmayı yürütmüştür. CPD ile antikoagüle edilen WB bağışları santrifüjlenmiş ve gece boyunca bekletildikten sonra kırmızı hücre konsantreleri, plazma ve BC'ye ayrılmıştır. PC elde etmek için, üç uzun toplama süresi BC ve iki standart toplama süreli BC birleştirilmiştir.

PC invitro testler

Hazırlanan tüm PC'lerden 1, 2, 6 ve 8. günde trombosit, MPV, pH, glukoz, laktat, CD62P, CCL5 vb çok sayıda parametrenin ölçümü çeşitli yöntemlerle yapılmıştır (Tablo).

SONUÇLAR

Havuzlanmış BC'den elde edilen PC

- Elde edilen PC' ler 4 veya 5 BC' lik havuzdan oluşmuştur. Kontrol grubunun WB toplama süresi ortalama $7,3 \pm 1,3$ dk (n = 168) bulunmuştur. Çalışma grubuna ise 1 uzun toplama süreli (12-15 dk) WB eklendiğinden, WB toplama süresi ortalama $8,9 \pm 2.6$ dk (n = 168) bulunmuştur.
- Kontrol ve çalışma gruplarındaki PC'ler, merkezlere göre karşılaştırıldığında benzer hacim ve trombosit konsantrasyonlarına sahiptir.
- Kombine sonuçlar, 8 günlük saklama süresi boyunca iki grup arasında önemli bir farklılık göstermemiştir.
- Farklı zamanlarda sCD62P ve CCL5'in süpernatant seviyeleri için gruplar arasında hiçbir fark bulunmamıştır.
- Her numune alma gününde farklı TRAP-6 konsantrasyonları ile trombosit uyarılarak CD62P pozitif hücre yüzdesi ölçüldüğünde karşılaştırılabilir aktivasyon seviyeleri gözlemlenmiştir
- 8. Günde, pH (ortalama: 7.14 ± 0.11) tüm birimlerde gereksinimleri karşılamıştır ve tüm birimlerde swirling effect ve/veya morfoloji skoru >200 olmuştur.
- Depolama süresi boyunca glikoz tüketimi $0,06 \pm 0,02$ mmol/gün/ 10^{11} trombosit, eşzamanlı laktat üretimi ise $0,13 \pm 0,05$ mmol/gün/ 10^{11} trombosit olmuştur.

- Kombine nükleotid seviyeleri kontrol ve çalışma grubunda benzerdir (AMP dışında).

Single PRP'den elde edilen PC

Havuzlanmış BC' den türetilen PC' dekine benzer sonuçlar elde edilmiştir. Sadece 1.gündeki AMP düzeyinde küçük anlamlı bir fark vardır.

En uygunsuz vaka çalışması

En uygunsuz vaka çalışmasını yapan E merkezinin PC değerleri standart PC ile karşılaştırıldığında önemli bir fark bulunmamıştır.

TARTIŞMA

Bu çalışma, uzun toplama süresi olan bir WB' den elde edilen BC' den türetilen PC' lerin, kontrollere eşdeğer in vitro kaliteye sahip olduğunu göstermiştir. Bir pilot çalışma, bunun PRP' den türetilen PC için de geçerli olduğunu göstermektedir. Trombosit aktivasyon ölçümleri (CD62P, sCD62P ve annexin-V), hazırlanan PC'ye uzun toplama süreli BC' nin dahil edilmesinin trombosit aktivasyonunun artmasına yol açmadığını göstermektedir. Her iki grupta TRAP-6'ya verilen yanıtlar benzerdir. Bu da daha uzun flebotomi sürelerinin trombositlerin agonist stimülasyona yanıt verme kapasitesini azaltmadığını gösterir. İki grup arasındaki tek anlamlı fark, çalışma grubu için AMP' deki artıştır.

Bu çalışmanın bir sınırlaması, çalışma grubundan havuzlanmış PC' ye yalnızca bir uzun toplama süresi BC' nin dahil edilmesidir. Ancak PRP çalışmasındaki bulgularda ve 5' lik bir havuzda üç uzun BC toplama süresi ile en uygunsuz vaka çalışmasında, bir PC' de birden fazla uzun toplama süresi BC olmasının PC kalitesini düşürmediği görülmüştür.

Uzun toplama süresi WB bağışlarından elde edilen BC' lerin kullanımına karşı bir argüman, bu birimlerin kan pıhtıları içerme olasılığının daha yüksek olması olabilir. Katılımcı iki merkezden alınan veriler, gerçekten de uzun toplama süresi olan WB'lerin daha yüksek pıhtı sıklığına sahip olduğunu göstermiştir. Ancak tüm BC' ler pıhtı varlığı açısından incelenebilir.

Genel olarak, bu çalışma 12-15 dakika süren WB bağışlarından elde edilen BC' nin PC hazırlığına dahil edilebileceğine dair kanıt sağlamaktadır.

TABLE 1 In vitro quality of pooled platelet concentrates in PAS-E, prepared from whole bloods including one with long collection time (study group, S) compared with controls (C, results per site, n = 8)

	Day	Site A		Site B		Site C		Site D		Site E	
		S	C	S	C	S	C	S	C	S	C
Volume (ml)	1	387 ± 26	407 ± 8	253 ± 19	259 ± 17	309 ± 22	290 ± 30	320 ± 17	314 ± 12	369 ± 7	368 ± 8
Platelets ($\times 10^9$)	1	331 ± 46	321 ± 49	202 ± 35	222 ± 23	357 ± 47	337 ± 21	396 ± 59	416 ± 58	357 ± 40	367 ± 47
pH (37°C)	1	7.04 ± 0.01	7.04 ± 0.07	7.04 ± 0.01	6.99 ± 0.02**	6.95 ± 0.06	7.97 ± 0.04	7.20 ± 0.03	7.18 ± 0.04	7.10 ± 0.03	7.11 ± 0.01
	8	7.21 ± 0.05	7.17 ± 0.09	7.04 ± 0.07	7.04 ± 0.05	7.02 ± 0.08	7.04 ± 0.05	7.15 ± 0.13	7.11 ± 0.13	7.15 ± 0.05	7.16 ± 0.02
Glucose (mmol/L)	1	6.2 ± 0.6	6.0 ± 0.8	5.6 ± 0.9	5.6 ± 0.3	7.3 ± 0.8	7.2 ± 0.6	7.7 ± 0.4	7.6 ± 0.2	7.3 ± 0.2	7.4 ± 0.1
	8	3.5 ± 0.9	3.6 ± 1.2	1.4 ± 0.8	1.2 ± 0.6	3.7 ± 1.5	3.8 ± 0.9	2.7 ± 1.6	1.9 ± 1.6	4.0 ± 0.6	4.2 ± 0.4
Lactate (mmol/L)	1	3.8 ± 0.4	5.2 ± 1.5*	7.6 ± 1.3	9.2 ± 0.6**	5.6 ± 0.8	5.3 ± 0.8	5.3 ± 0.6	5.5 ± 0.7	3.7 ± 0.6	3.6 ± 0.5
	8	9.0 ± 1.0	9.9 ± 2.1	16.5 ± 1.9	19.0 ± 1.1*	12.1 ± 2.1	11.7 ± 1.8	18.9 ± 3.9	20.7 ± 4.6	9.4 ± 0.8	9.5 ± 1.0
CD62P (% pos.cells)	1	3.4 ± 1.2	6.5 ± 6.2	32.0 ± 9.1	30.9 ± 3.7	18.3 ± 5.8	18.0 ± 6.0	19.4 ± 7.6	22.2 ± 2.2	14.8 ± 2.0	15.5 ± 3.9
	8	19.8 ± 5.4	15.5 ± 3.7	56.8 ± 3.9	51.3 ± 3.9*	32.5 ± 3.4	37.9 ± 6.9	43.1 ± 7.5	39.8 ± 5.6	35.7 ± 4.1	34.5 ± 2.5
sCD62P (ng/ml)	1	16 ± 3	15 ± 3	46 ± 23	41 ± 8	23 ± 5	23 ± 7	31 ± 16	27 ± 9	21 ± 7	24 ± 7
	8	38 ± 8	31 ± 6	129 ± 26	144 ± 25	51 ± 18	56 ± 17	82 ± 28	80 ± 18	75 ± 18	91 ± 23
Annexin V (% pos.cells)	1	0.4 ± 0.2	0.7 ± 0.4*	ND	ND	ND	ND	2.1 ± 1.1	2.5 ± 1.1	6.5 ± 3.7	5.7 ± 3.6
	8	1.5 ± 0.5	1.5 ± 0.8	ND	ND	ND	ND	8.5 ± 6.3	6.1 ± 1.7	14.4 ± 4.9	13.8 ± 4.5
MPV (fl)	1	ND	ND	9.0 ± 0.4	9.9 ± 0.6**	9.5 ± 0.4	9.5 ± 0.4	ND	ND	9.3 ± 0.4	9.2 ± 0.3
	8	ND	ND	9.3 ± 0.5	9.6 ± 0.7	9.2 ± 0.2	9.3 ± 0.4	ND	ND	9.2 ± 0.3	9.2 ± 0.2
HSR (%)	1	73 ± 7	75 ± 6	ND	ND	87 ± 9	83 ± 8	ND	ND	63 ± 9	65 ± 10
	8	62 ± 10	65 ± 7	ND	ND	72 ± 6	71 ± 7	ND	ND	62 ± 7	57 ± 9
CCL5 (ng/ml)	1	9 ± 3	13 ± 6	24 ± 15	32 ± 6	33 ± 19	29 ± 19	30 ± 10	24 ± 7	33 ± 20	37 ± 21
	8	57 ± 13	68 ± 15	122 ± 64	118 ± 23	95 ± 23	101 ± 32	163 ± 43	164 ± 52	132 ± 33	130 ± 34
PPL activity (s)	1	50.8 ± 5.6	58.7 ± 6.3*	36.7 ± 4.0	36.6 ± 4.8	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	8	50.1 ± 6.0	49.3 ± 3.2	32.9 ± 1.9	32.9 ± 1.7	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TGA lag time (s)	1	7.5 ± 1.1	8.4 ± 1.0	5.0 ± 0.5	5.0 ± 0.5	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	8	6.8 ± 0.8	6.8 ± 0.3	5.4 ± 0.3	5.7 ± 0.5	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TGA peak thrombin (nM)	1	60.6 ± 14.0	56.5 ± 5.6	108 ± 11.6	110 ± 4.7	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	8	64.0 ± 6.1	74.7 ± 8.1*	98.9 ± 10.6	102 ± 6.8	ND	ND	ND	ND	ND	ND

Note: Data represent mean ± standard deviation and were analysed using a t-test for each site separately.

Abbreviations: CCL5, C-C motif chemokine ligand 5; HSR, hypotonic shock response; MPV, mean platelet volume; ND, not determined; PAS-E, platelet additive solution type E; PPL, procoagulant phospholipid;

TGA, thrombin generation assay.

*p < 0.05; **p < 0.01; ***p < 0.001 versus corresponding test group.