

QUALITY AND STABILITY STUDIESS OF RED BLOOD CELL CONCENTRATES FROM UMBILICAL CORD BLOOD COMPARED TO THEIR ADULT COUNTERPARTS

GÖBEK KORDONU KANINDAN ELDE EDİLEN ERİTROSİT KONSANTRELERİNİN YETİŞKİN ERİTROSİT KONSANTRELERİ İLE KARŞILAŞTIRILMASI İLE İLGİLİ KALİTE VE STABİLİTE ÇALIŞMALARI

ALINTI: doi: 10.2450/BloodTransfus.761

YAZARLAR: Dinara Samarkanova, Margarita Codinach, Gemma Aran, Mar Guitart, Elena Valdivia, L Luis Martorell, Carmen Azqueta, Marta Rodriguez-Aliberas, Gloria Soria, Nuria Martinez, Eva Alonso, Elisenda Farssac, Alejandro Madrigal, Jesus Fernandez-Sojo, Paolo Rebull, Sergio Querol

ÖZETLEYEN: Dr. Ayşe BOZKURT TURHAN

GİRİŞ

Anemi, aşırı prematüre bebeklerde sık görülen bir sorundur ve eritrosit transfüzyonunu gerektirir. Prematüre retinopatisi (ROP), bronkopulmoner displazi (BPD), ve nekrotizan enterokolit (NEC) gibi bazı prematüre komplikasyonları, yetişkin eritrositlerinin (adult blood: AB) transfüzyonuyla ilişkili bulunmuştur. Bunun başlıca nedeni, yetişkin tipi hemoglobinin prematüre bebeklerin olgunlaşmamış dokularına yüksek oksijen salınımıdır. Bu nedenle göbek kordonu kanından (CB) elde edilen allojenik eritrositler daha iyi bir alternatif olabilir, çünkü prematüre hemoglobin profili ile uyumludur.

Kök hücre nakli için rutin olarak kordon kanı toplayan kamu kordon bankalarından yeterli miktarda CB eritrositi kolayca temin edilebilir. Aslında, şu anda nakil için yüksek hücresel gereksinim nedeniyle düşük hücre içerikleri nedeniyle atılan önemli miktarda CB, eritrosit konsantreleri hazırlamak için kullanılabilir.

Prematürelerin CB eritrositi ile transfüzyonu ROP, BPD ve NEC'in sıklığını veya şiddetini azaltabilir. Bu tür çalışmalar yapılmadan önce, CB eritrosit üretiminin standardize edilmesi ve özelliklerinin AB eritrositleri ile karşılaştırılması gerekir. Bu çalışmanın amacı, transplantasyon kriterlerini karşılamayan CB bağışlarından ticari kapalı sistemle hazırlanan, lökosit azaltılmış, gama ışınlanmış CB eritrositlerin kalitesini araştırmaktır.

GEREÇ-YÖNTEM

CB ve AB eritrositlerinin hematolojik ve biyokimyasal parametreleri, depolamanın 14. gününde gama ışınlaması da dahil olmak üzere karşılaştırılmıştır. Ayrıca, torba plastik içerikleri ve ağır metal konsantrasyonlarının belirlenmesi de dahil olmak üzere CB-ES güvenliği ile ilgili testler gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışmada, kordon kanı bağışlarından ticari kapalı sistem kullanılarak elde edilen lökosit azaltılmış ve gama ışınlanmış CB, eritrosit kalitesi ve özellikleri açısından üç hafta boyunca araştırılmıştır. CB eritrosit üniteleri (CB-ES), her ikisi de salin-adenin-glikoz-mannitol (SAGM) içinde saklanan AB eritrosit üniteleriyle (AB-ES) karşılaştırılmıştır. Hematolojik ve biyokimyasal özellikler olarak; pH, 2,3-DPG seviyeleri, kan gazları ve potansiyel toksik maddeler dahil olmak üzere çeşitli parametreler depolama sırasında değerlendirilmiştir.

CB, ticari olarak temin edilebilen bir kit (Solutran Hemo Bionest ABC, Meditalia Industriale, Lovero, İtalya) kullanılarak kapalı bir sistemde fraksiyonlara ayrılmıştır. ES'larındaki fthalate plastikleştiriciler, tandem kütle spektrometrisine bağlı ultra yüksek performanslı sıvı kromatografisi kullanılarak değerlendirilmiştir. Ağır metallerin konsantrasyonu, 10 ünite CB, AB ve maternal tam kan örneğinde, 6 metal paneli kullanılarak indüktif olarak eşleştirilmiş plazma kütle spektrometrisi ile ölçülmüştür: cıva (Hg), kurşun (Pb), kadmiyum (Cd), kobalt (Co), talyum (Tl) ve manganez (Mn).

Işınlama: ES ışınlaması, bir Cs137 cihazı kullanılarak 30 Gy'de gerçekleştirilmiştir. CB 14. günde ışınlamaya tabi tutulmuş ve örnekler ışınlamadan önce, ışınlamadan hemen sonra ve 24 saat sonra kararlılık çalışmaları için çıkarılmıştır.

BULGULAR

CB-ES ve AB-ES'nin üretim gününde (0. gün) önceden tanımlanmış kalite parametrelerine uygunluğu.

CB eritrositleri ve AB eritrositlerinin üretim gününde (0. gün) önceden tanımlanmış ve kabul edilebilir kalite parametrelerine sahiptir (Tablo I). Tüm eritrosit ünitelerinde enfeksiyöz hastalık belirteçleri ile aerobik ve anaerobik bakteri ve mantarlar negatif bulunmuştur.

Depolama sırasında CB-ES kalitesi

Beklendiği gibi, fetal hemoglobin yüzdesi, CB ve AB eritrositleri arasındaki temel farktır (sırasıyla %77'ye karşı %0,5). Toplamadan işleme kadar geçen süre, lökosit azaltılması sonrası kalan lökosit sayısı ve hematokrit gibi diğer kritik parametreler karşılaştırılmış ve belirlenmiş kabul aralığında bulunmuştur.

Depolama sırasında temel bulgu olarak CB eritrositlerde hemoliz önemli ölçüde artmıştır (Şekil 1A) (14. gün ile 7. gün arasında $p<0.0001$), 21. gün ile 14. gün arasında anlamlı bir fark bulunmazken 14. ($p=0.004$) ve 21. günlerde ($p=0.005$) anlamlı farklılıklar bulunmuştur. Ortalama eritrosit hacmi (MCV) depolama sırasında anlamlı olarak artmıştır ($p<0,0001$) (Şekil 1C). Ortalama eritrosit hemoglobini (MCH), eritrosit dağılım genişliği-standart sapma (RDW-SD) ve eritrosit dağılım genişliği-varyasyon katsayısı (RDW-CV) CB ve AB eritrosit hücreleri arasında anlamlı farklar göstermiştir. Depolanma sırasında CB eritrositlerinde RDW-CV genişliğinde ve pH değerleri arasında anlamlı bir değişiklik saptanmamıştır (Şekil 1E).

Depolama süresi boyunca CB ve AB eritrositlerindeki 2,3-DPG düzeyleri kabul edilebilir aralıkta iken CB eritrositlerinde 21. günde önemli bir azalma bulunmuştur. pH azalması ve 2,3-DPG seviyelerinin azalması nedeniyle oksijen salınım eğrisi etkilenmiştir. Ozmotik kırılma CB eritrositlerindeki kabul edilebilir aralıktan hafifçe değişmiştir. Depolamanın 21. gününde, CB eritrositlerinde kalıntı plastikleştiricilerle önemli ölçüde daha az kontaminasyon varken DEHP konsantrasyonu yükselmiştir.

CB eritrositlerindeki potasyum konsantrasyonu depolamanın 7. ve 14. günlerde ve 21. günde önemli ölçüde artan potasyum konsantrasyonları görülmüştür. Na^+ değerleri her iki eritrositlerde depolama süresi boyunca anlamlı ölçüde düşmüştür. Beklendiği gibi glikoz

konsantrasyonu anlamlı olarak azalmış, tersine laktat konsantrasyonu önemli ölçüde artmış fakat eritrositler arasında anlamlı fark izlenmemiştir. Bu depolama sırasında anaerobik glikolizin benzer modellerini göstermektedir.

CB-ES'nin 14. günde gerçekleştirilen gama ışınlamasından 24 saat sonra kalite parametreleri değişmiştir. CB eritrositleri daha stabildir. Hemoliz, ışınlamadan önceki 14. günde, ışınlamadan 24 saat sonra önemli ölçüde artmış ve 15. günde ünitelerin %20'si %0,8'in üzerine çıkmıştır. MCV, MHC, RDW-SD ve RDW-CV parametreleri, ışınlamadan 24 saat sonra, CB eritrositleri ile AB eritrositleri arasında önemli farklılıklar varken, MCHC'de anlamlı bir fark bulunmamıştır. 2,3-DPG için ışınlamadan 24 saat sonra önemli bir azalma gözlemlenmezken 15. günde önemli farklılıklar bulunmuştur. Işınlama ayrıca CB eritrositlerindeki pO₂ ve pCO₂'yi önemli ölçüde etkilemiştir. Potasyum, ışınlamadan 24 saat sonra CB eritrositlerinde önemli ölçüde artmıştır. CB eritrositlerindeki sodyum düzeyleri, ışınlamadan önceki 14. günde ve 24 saat sonra düşmüş (p=0,01); 15. günde CB ve AB eritrositleri arasında anlamlı bir fark izlenmemiştir. Laktat seviyelerinde CB eritrositlerinde ışınlamasından sonra önemli bir fark görülmezken glikoz konsantrasyonu düşmüştür.

Potansiyel toksik maddelerin değerlendirilmesinde: Işınlamadan 24 saat sonra pH, CB ve AB eritrositleri arasında önemli düzeyde farklıdır. Depolamanın 21. gününde, plastikleştiricileri gösteren ftalat konsantrasyonları depolama sırasında artmıştır, ancak CB eritrositlerinde ölçüde daha azdır. Ölçülen metallerin çoğu kabul edilebilir aralıklardadır.

TARTIŞMA

Mikrobiyolojik kontaminasyonu önleyen ve kordon kanı fraksiyonlamasının verimliliğini artıran ticari bir kapalı devre sistemle elde edilen kordon kanı eritrosit ünitelerinin incelendiği bu çalışmada; depolamanın başlangıcında ve depolama sırasında CB eritrositlerin MCV değeri ve HCT literatürle uyumlu olarak daha büyüktür. Bu durum muhtemelen eritrosit depolaması için kullanılan hipertonic SAGM çözeltisinden kaynaklanmıştır.

Hemoliz, depolama sırasında ilerleyici eritrosit membran hasarının önemli bir göstergesidir. Depolama süresince CB eritrositlerde hemoliz daha hızlı artmaktadır. 15. günde

(ışınlamadan 24 saat sonra) CB eritrositlerin %20'sinde, 21. günde %42'sinde hemoliz %0,8 sınırını aşmıştır. Bu bulgu, uzun süreli depolamanın klinik açıdan riskli olabileceğini göstermektedir.

Potasyum salınımı özellikle hiperkalemiye duyarlı prematüre bebeklerde önemlidir. Klinik önemine rağmen, transfüzyon amaçlı CB eritrositlerdeki maksimum potasyum konsantrasyonu henüz belirlenmemiştir. Depolama ve özellikle ışınlama sonrası belirgin şekilde yükselmiştir.

Depolama sırasında; glukoz azalmakta, laktat ve H iyonu artmakta, pH düşmektedir. Bu bulgular, eritrositlerdeki beklenen anaerobik glikoliz ve depolama lezyonları ile uyumludur. 2,3-DPG düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş saptanmamıştır.

İşılama sonrası CB eritrositlerde; hemoliz hızlanmakta, potasyum artışı belirginleşmekte, membran bütünlüğü daha fazla bozulmaktadır. Bu nedenle ışınlama sonrası mümkün olan en kısa sürede transfüzyon önerilmektedir. Toksik maddelerden ftalatlar depolama süresince artsa da daha düşük bulunmuştur. Bu durum, kullanılan üretim setlerinin bir avantajı olarak değerlendirilmektedir. Ölçülen ağır metallerin büyük çoğunluğu kabul edilebilir sınırlar içindedir.

Çalışmamızın bir sınırlaması, depolama sırasında kırmızı kan hücrelerinin yaşlanmasının önemli bir göstergesi olan ATP'nin, hemoglobinin lüminesansla etkileşimi nedeniyle lüminesans yöntemiyle doğrulanamamasıdır.

SONUÇ

Depolama sırasında lökosit azaltılmış kordon kanı eritrositlerinin kalitesi esas olarak hemoliz seviyeleri ve hücre dışı potasyum içeriği tarafından belirlenir ve depolamadan etkilenir. Bu nedenle, analiz edilen kalite kontrol parametrelerine dayanarak, SAGM ile depolanan kordon kanı eritrositlerinin raf ömrünün 14 gün olması ve ışınlamadan sonra 24 saat içerisinde transfüze edilmesi gerekmektedir.

Table I - Comparison of AB-RBC and CB-RBC characteristics at the beginning of storage

Parameter	Acceptance criteria	Results	
		Day 0	
		AB-RBC	CB-RBC
Time between collection and processing (h)	<44	44 (40-46)	40 (14-42)
Volume (mL)	AB ≥ 150 ; CB ≥ 20	264 $\pm$ 24	41 $\pm$ 19
Residual leukocytes ($\times 10^6$ /unit)	<1 $\times 10^6$ /unit	0.09 $\pm$ 0.19	0.02 $\pm$ 0.03
Hematocrit (%)	50-70 ³⁵	55.8 $\pm$ 8	55 $\pm$ 2
Adult hemoglobin (HbA2) (%)	n.d.	A2=2.5	A2=0.3
Fetal hemoglobin (HbF) (%)	n.d.	F=0.5	F=77
Hemoglobin (g/dL)	n.d.	18.5 $\pm$ 1.4	17.7 $\pm$ 0.8

n.d.: not determined