



Ontwikkeling rondom trombocyten bewaarvloeistof

Dirk de Korte en Pieter van der Meer
Sanquin Bloed Bank, Unit Productie
Afdeling Product en Proces Ontwikkeling

Trombocyten bewaarmedium

Een gebalanceerde electrolyten oplossing die bewaren van trombocyten mogelijk maakt

Ontwikkeld om:

- Plasma te winnen
- Betere kwaliteit trombocyten te krijgen dan in plasma (voorkomen platelet storage lesion)



Trombocyten bewaarmedium

Extra beschreven voordelen

- Buffer capaciteit
- Gestandaardiseerde samenstelling
- Steriel
- Mogelijkheid om bewaaromgeving te controleren/manipuleren
- Minder eiwit: minder allergische reacties
- Lagere ABO titer
- (Reductie van antistof gemedieerde TRALI)
- Mogelijkheid om pathogeen reductie toe te passen

Nomenclature

International Council for Commonality in Blood Banking Automation

	PAS-A	PAS-B	PAS-C	PAS-D	PAS-E	PAS-F	PAS-G
				Trade name			
	"PAS"	PAS-2 PAS-II T-Sol SSP	PAS-3 PAS-III InterSol	Composol	PAS-IIIM SSP+	Plasma- Lyte A Isoplate	M-Sol
Citrate	X	X	X	X	X		X
Phosphate	X		X		X		X
Acetate		X	X	X	X	X	X
Magnesium				X	X	X	X
Potassium	X			X	X	X	X
Gluconate				X		X	
Glucose							X

Trombocyten bewaren

Platelet storage lesion (PSL)

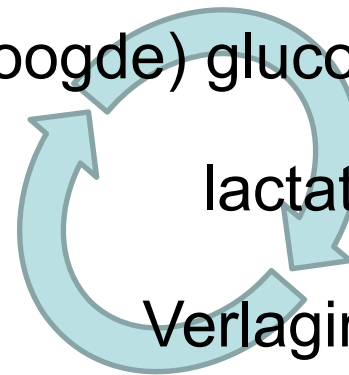


activatie

(verhoogde) glucose consumptie

lactate productie

Verlaging pH



Platelet storage lesion

- Talloze veranderingen tijdens bewaren
 - Toename van activatie en metabolisme
 - Toename van 'eat me' signalen
 - Moeilijker te activeren
 - Verminderde adhesie
 - Signaling pathways anders/minder
 - ...
- Als gevolg
 - Minder functioneel
 - Lagere opbrengst, kortere overleving

Trombocyten bewaarmedium

Nederland:

- **PAS II** wegens klinische studie toegestaan
 - 5 dagen bewaren (plasma 7 dagen)
- **PAS III** (controle arm in HOVON studie)
 - In vitro mindere kwaliteit dan plasma
 - CCI lager, maar klinisch gelijkwaardig
 - 7 dagen bewaren
- **Echter:**
 - Splitsproducten 5 dagen
 - Productie uit overnacht bewaarde buffy coats voldoet niet aan eis dat glucose nog aanwezig is einde bewaartijd
 - Minder robuust tijdens afwijkingen (temp, schudden)

Trombocyten bewaarmedium

Mogelijkheden om trombocyten kwaliteit tijdens bewaren te verbeteren

- Wat moet er in zitten?
- Citraat: voorkomen stolling (laag plasma)
- Acetaat: brandstof
- Kalium/magnesium: activatie remming
- Glucose?

Trombocyten metabolisme

Trombocyten zijn extreem metabool actief:

- Zuurstof consumptie: $3 \mu\text{mol}/10^{10}$ cellen/uur
- Zes keer sneller dan spier in ruste; 30% van hersencellen

Trombocyten metabolisme

Glucose consumptie

- Via oxidatie: $0.05 \pm 0.01 \mu\text{mol}/10^{11}$ plaatjes/uur (netto opbrengst 30 ATP)
- Via lactaat: $3.13 \pm 0.44 \mu\text{mol}/10^{11}$ plaatjes/uur (netto opbrengst 2 ATP)

In de praktijk: merendeel anaerobe glycolyse (per glucose ongeveer 2 lactaat)

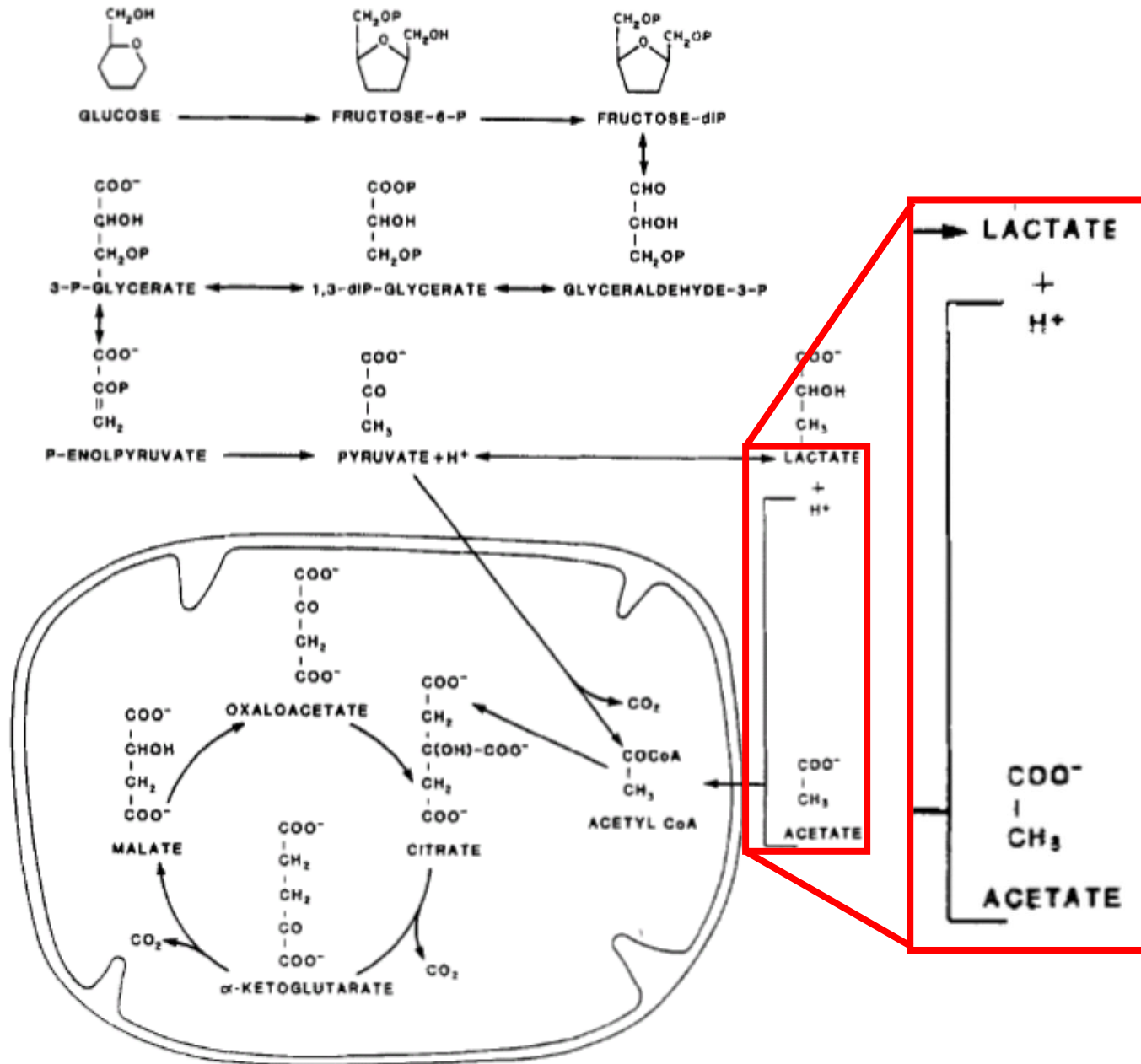
Bewaarmedium en acetaat

Eerste studies (jaren '80) met infusie vloeistoffen waarin acetaat aanwezig was (Rock et al. Plasmalyte)

Lactaat productie

- Geen acetaat: 0.024 ± 0.005 mmol/dag/ 10^{11} plaatjes
- 23 mM acetaat: 0.013 ± 0.003 mmol/dag/ 10^{11} plaatjes

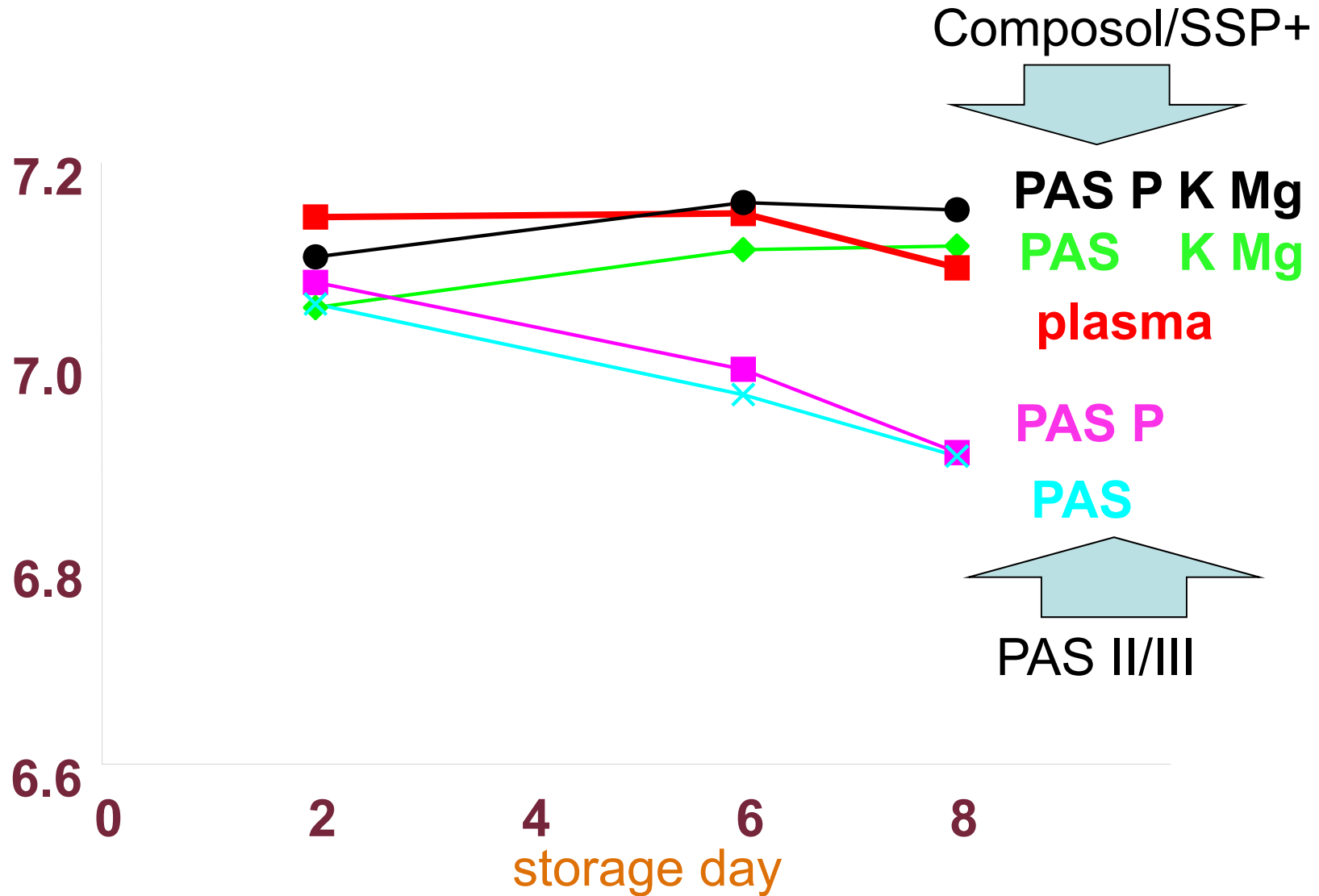
Acetaat gaat in citroenzuurcyclus én geeft buffer
Studies met rijk medium



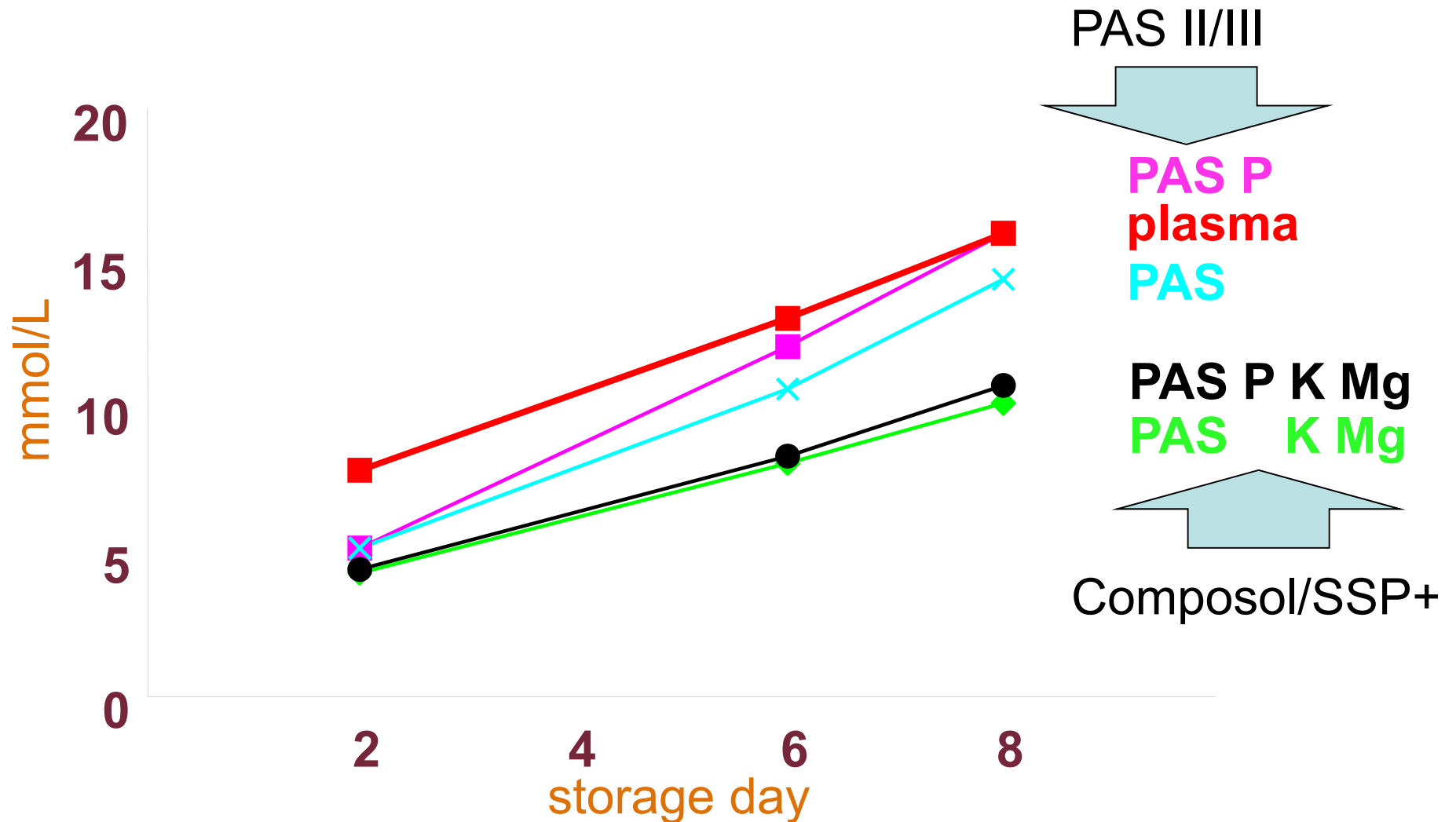
Vergelijking bewaarmedia

- Pool en splits buffy coats (5 sets van 5)
- plasma of bewaarmedium (4 in totaal)
- Centrifugeren
- Bewaren in identieke bewaarcontainer gedurende 8 dagen
- *In vitro* analyse

pH_{37°C}



Lactaat

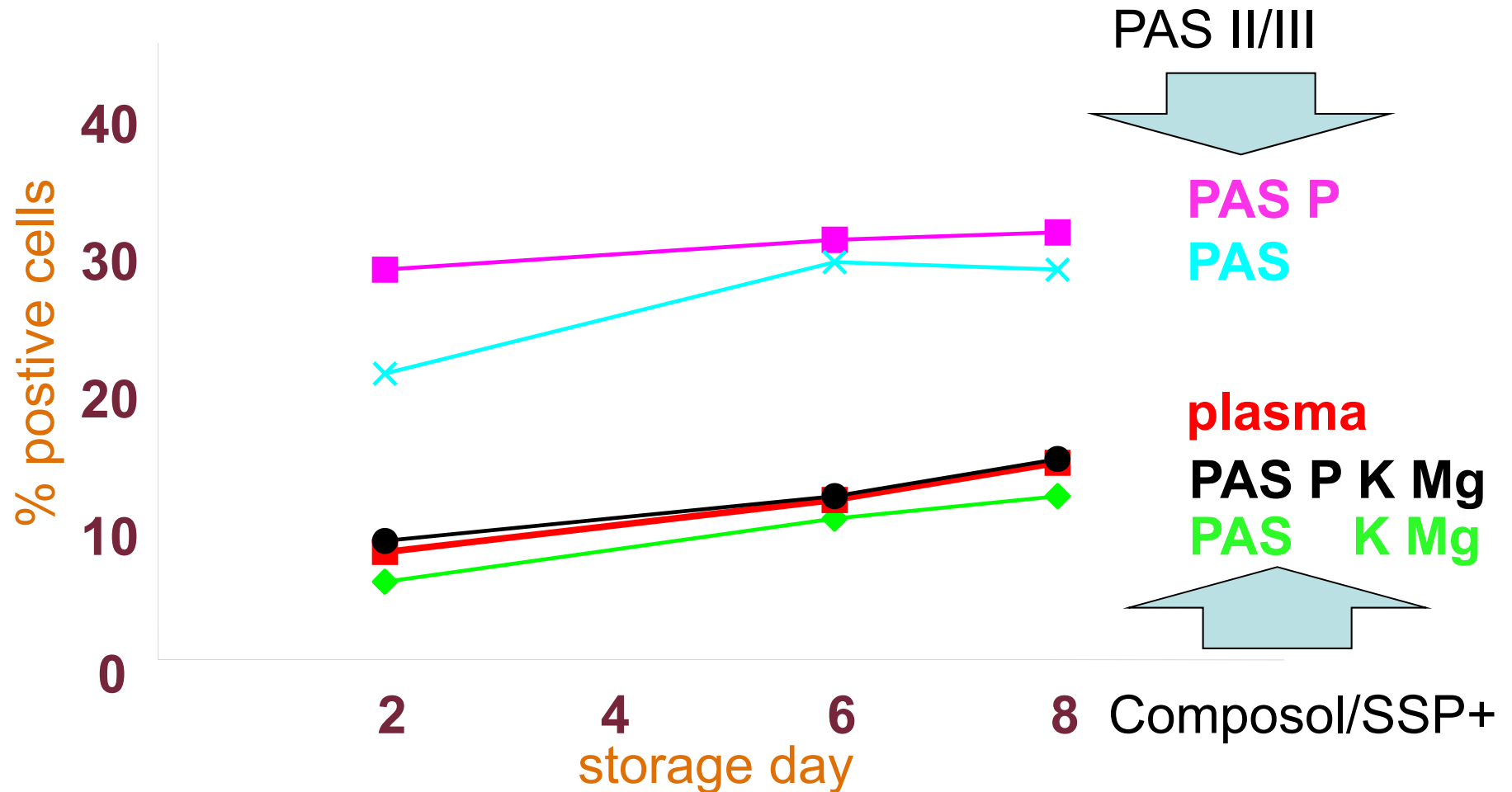


Lactaat productie

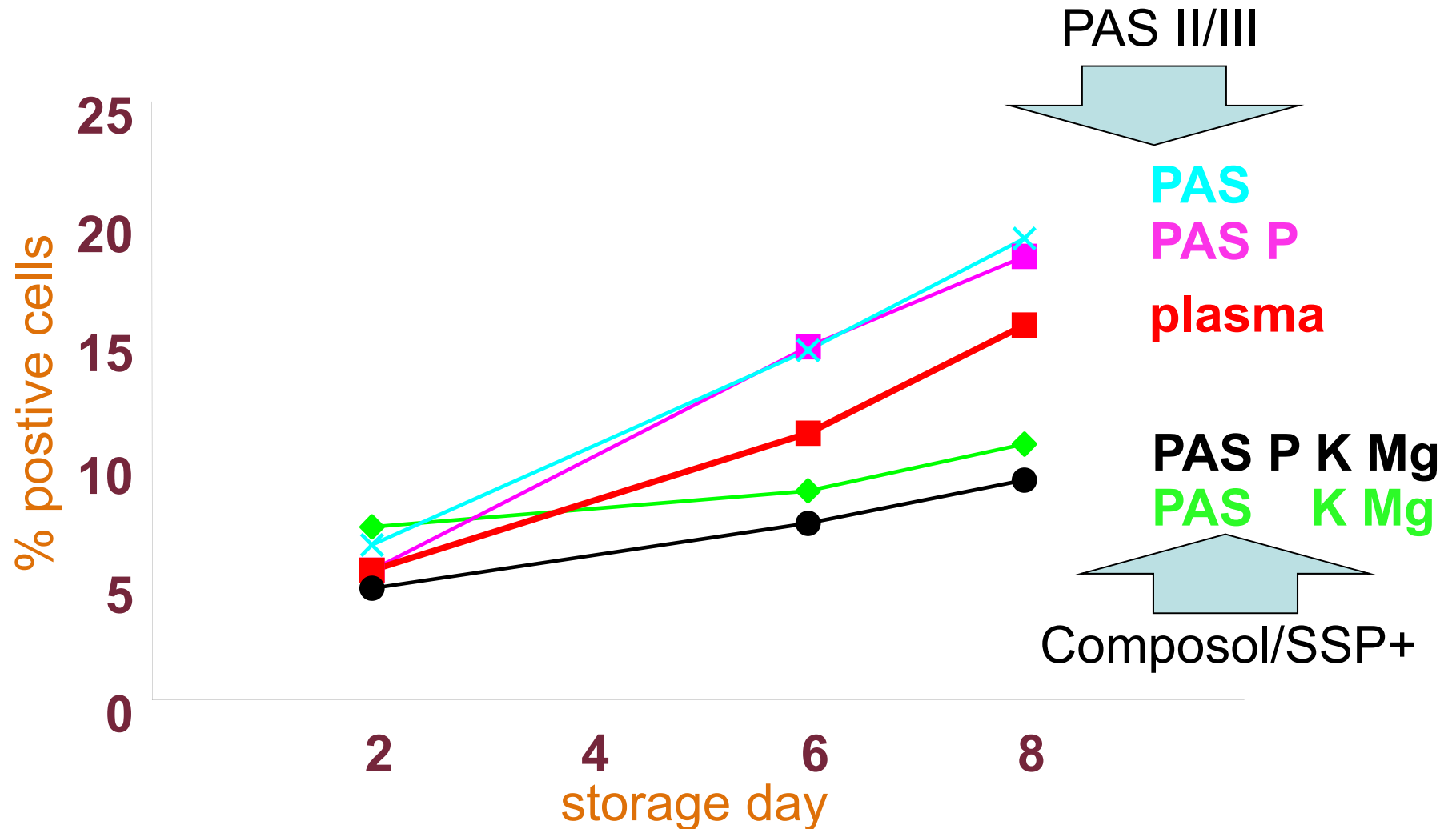
plasma	0.13±0.04	
PAS	0.14±0.02	PAS-II
PAS P	0.17±0.03	PAS-III
PAS P K Mg	0.11±0.03	SSP+
PAS K Mg	0.10±0.02	Composol

Ondanks acetaat in PAS II/III toch geen verlaagde lactaat; kalium & magnesium nodig voor verlaging gebruik

CD62P positief (activatie)



Annexin A5 (apoptose)



Bewaarmedium en storage lesion

PAS III vs PAS II: geringe verbetering, minder robuust dan nieuwere bewaarmedia

Met SSP+ of Composol is de *in vitro* kwaliteit van de trombocyten niet slechter dan in plasma

Combinatie van acetaat en kalium/magnesium vermindert glucose consumptie en beperkt de storage lesion

Nieuwste ontwikkeling

Toevoeging glucose om <5% plasma mogelijk te maken. Lastig te realiseren, nodig?

Recent onderzoek op ons lab toont aan dat zelfs in 100% bewaarmedium geen glucose nodig is.

Huidig onderzoek gericht op klinische evaluatie in Nederland van Composol en SSP+

CCI data; Radiolabeling

Vergelijking Plasma, Intersol (PAS III) en SSP+

	aferese TC	BC pool TC
Plasma:	29,4 ± 3,8	
Intersol:	23,8 ± 3,3	
SSP+:	28,4 ± 3,2	28,6 ± 3,9

Studies met Intersol en Isoplate (\approx Composol)
Opbrengst 80 resp 87 % van verse controle na 5
dagen; Plasma historisch 88%.