



ÚVN

ÚSTŘEDNÍ VOJENSKÁ NEMOCNICE
Vojenská fakultní nemocnice Praha

Oddělení hematologie a krevní transfuze



Chlazené trombocyty (Cold stored platelets)

Miloš Bohoněk

15. 
**STŘEŠOVICKÝ
TRANSFUZNÍ
DEN** **Trombocyty**
a granulocyty -
aktuální trendy ve výrobě
a klinickém použití

Trombocyty (trombocytární přípravky)



- Běžně skladovány za míchání při pokojové teplotě po dobu 5-7 dnů, v současné době až 20 % trombocytů expiruje (dle zahr.údajů).
 - tato praxe je založena na práci ze 70. let 20. století, že za chladu skladované trombocyty (tj. 2-6°C) mají po transfuzi krátkou životnost v krevním oběhu
- Novější výzkumy ale ukázaly, že navzdory rychlejšímu vylučování z cirkulace, mohou být trombocyty uložené v chladu funkčnější a v některých situacích, jako je trauma a krvácení, výhodnější
- Skladování trombocytů v chladu zjednodušuje skladování a logistiku.



ÚVN

ÚSTŘEDNÍ VOJENSKÁ NEMOCNICE
Vojenská fakultní nemocnice Praha

Trombocyty skladované při pokojové teplotě (5 dní) – delší životnost (doba v oběhu)

ORIGINAL ARTICLE FREE PREVIEW ARCHIVE

Platelet Preservation — Effect of Storage Temperature on Maintenance of Platelet Viability — Deleterious Effect of Refrigerated Storage

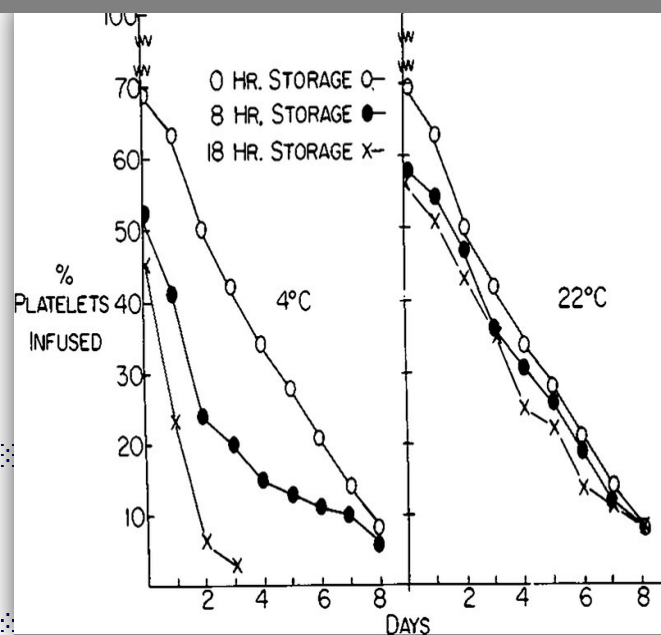
Scott Murphy, M.D., and Frank H. Gardner, M.D.

May 15, 1969

N Engl J Med 1969; 280:1094-1098

**Studie zotavení a přežití
radioaktivně značených
autologních trombocytů
u zdravých dobrovolníků**

**“The use of cold platelets should be
abandoned...for transfusion purposes”**



ÚVN

ÚSTŘEDNÍ VOJENSKÁ NEMOCNICE
Vojenská fakultní nemocnice Praha

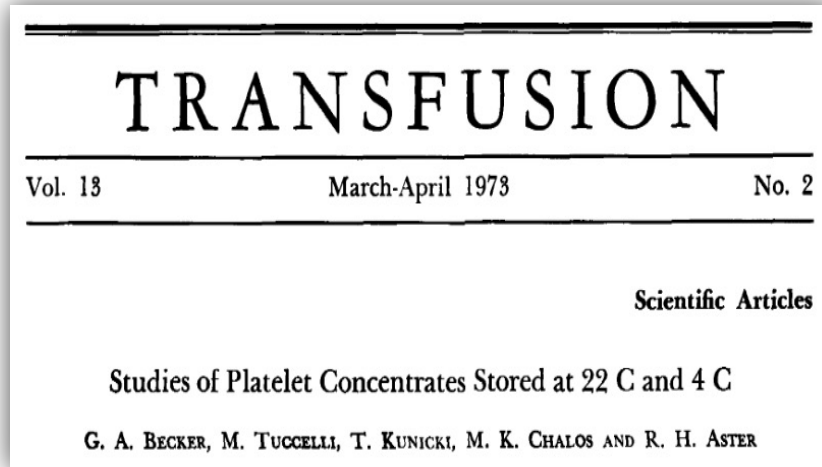
***ALE pro léčbu krvácení může být
funkční aktivita trombocytů
důležitější než zotavení a přežití v oběhu...***



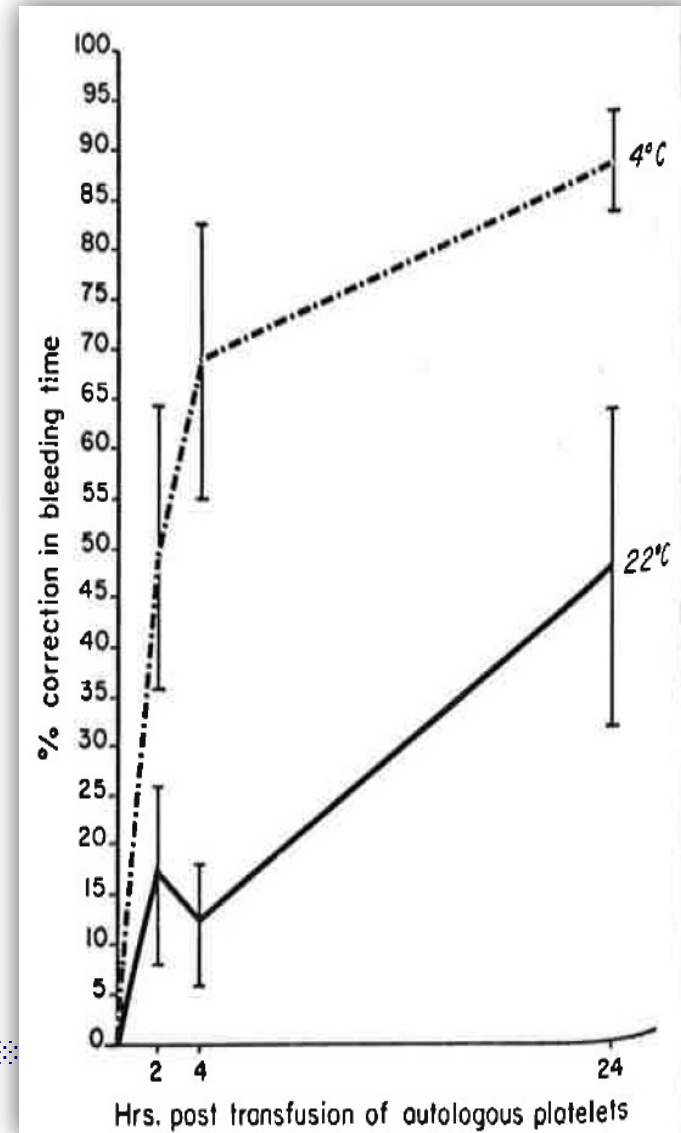
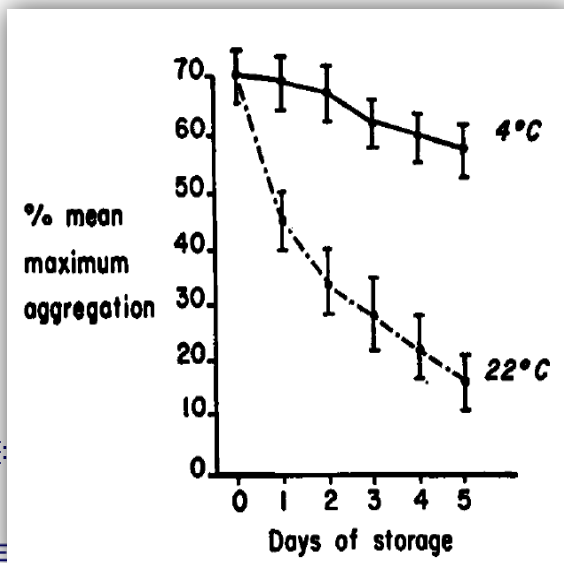
ÚVN

ÚSTŘEDNÍ VOJENSKÁ NEMOCNICE
Vojenská fakultní nemocnice Praha

Delší doba transfundovaných trombocytů v oběhu snižuje hemostatickou efektivitu...



Light Transmission Aggregometry



Becker et al. Transfusion 1973;13:61-68



ÚVN

ÚSTŘEDNÍ VOJE
Vojenská fakultní nemocnice Praha

Klinické použití trombocytů

- hematologie
- onkologie
- speciální (např. před transplantací jater, v kardiochirurgii)
- polytrauma, masivní krvácení



ÚVN

ÚSTŘEDNÍ VOJENSKÁ NEMOCNICE
Vojenská fakultní nemocnice Praha

15. 
STŘEŠOVICKÝ
TRANSFUZNÍ
DEN: Trombocyty
a granulocyty -
aktuality transfúze v krvi
a klinické použití

Hlavní indikace trombocytů = suplementace trombocytopenie = profylaxe krvácení

Skladování při 20-24°C:

Výhody

- Delší doba *in vivo* cirkulace je předpokladem pro vyšší benefit profylaktického účinku krvácení

Nevýhody

- Zvýšené riziko bakteriální kontaminace
- Teplota při skladování snižuje funkčnost → nevýhoda pro léčbu krvácení
- Krátká doba použitelnosti → omezuje logistiku a dostupnost



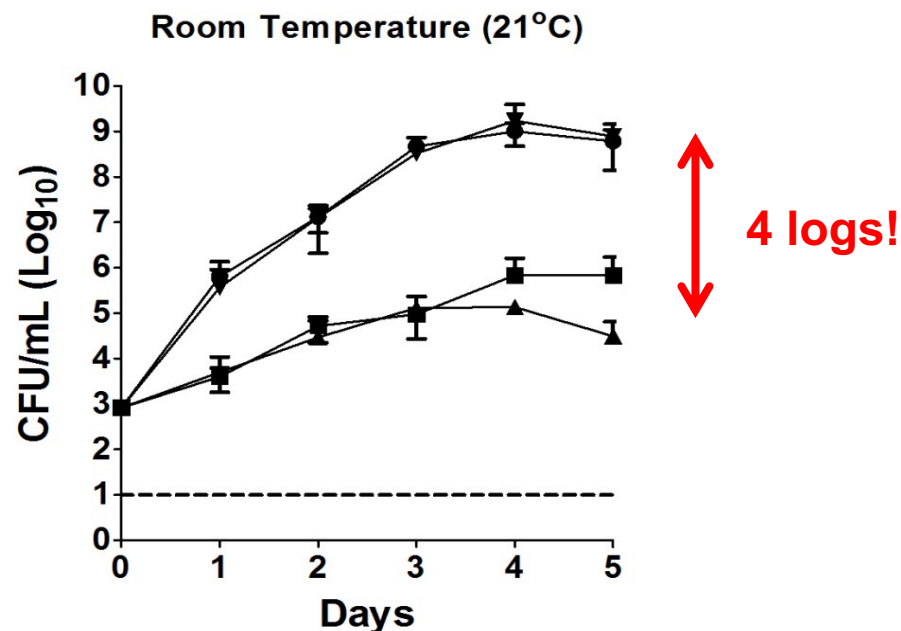
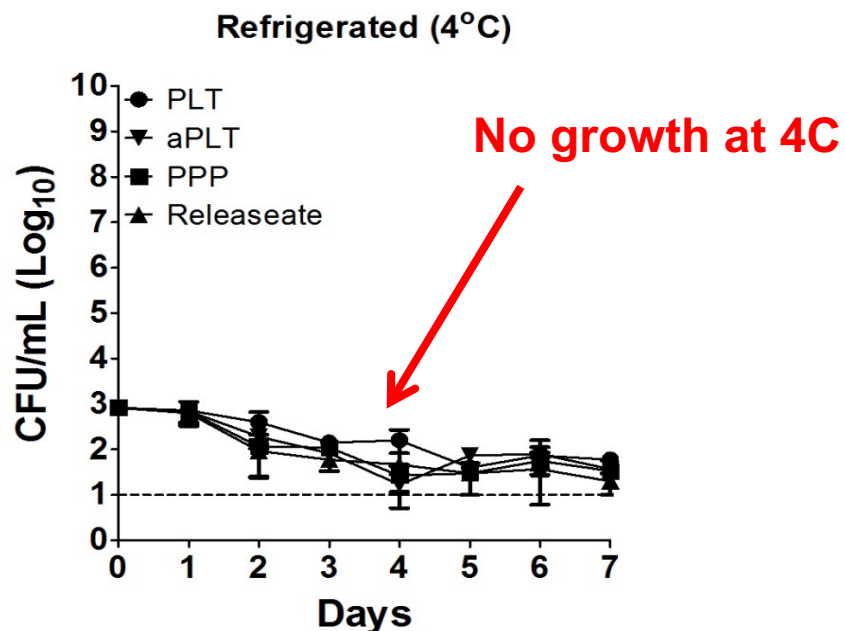
**Životnost je
dána rizikem
bakteriální
kontaminace**



ÚVN

ÚSTŘEDNÍ VOJENSKÁ NEMOCNICE
Vojenská fakultní nemocnice Praha

Chladové trombocyty – bakteriální bezpečnost



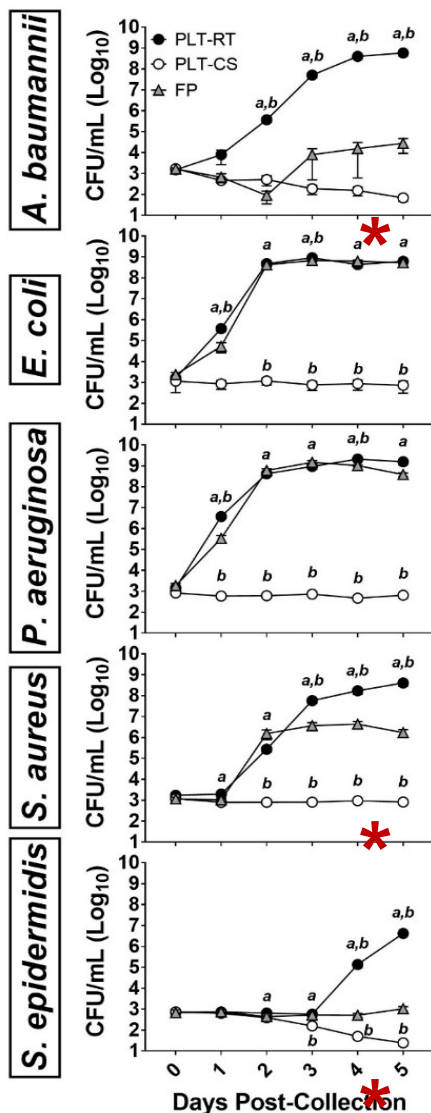
Chladnicová teplota snižuje riziko bakteriální kontaminace (růstu) & potransfuzní sepse.

Ketter *TRANSFUSION* 2019.



ÚVN

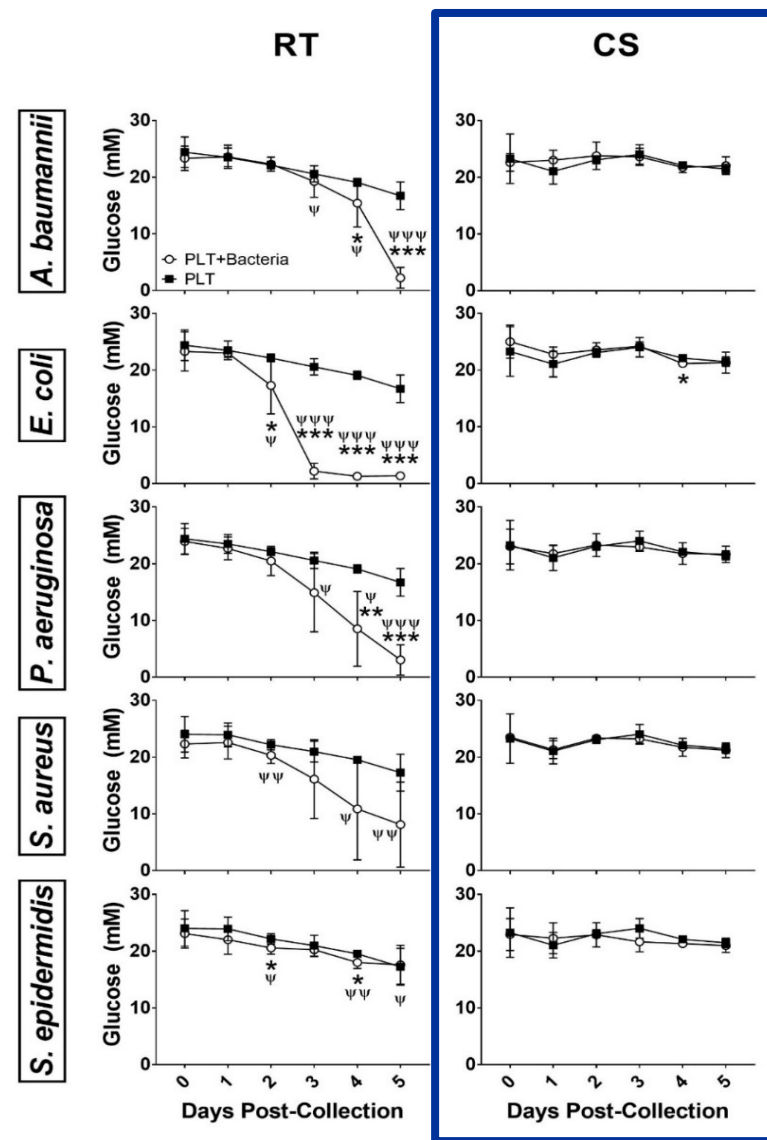
ÚSTŘEDNÍ VOJENSKÁ NEMOCNICE
Vojenská fakultní nemocnice Praha



**Trombocyty při 20-24°C
jsou zdrojem výživy a růstu
bakterií
– např. *A.baumannii*,
S.aureus, *S.epidermidis*
rostou lépe v
trombocytech než plazmě.**

**Skladování v chladu snižuje
metabolismu & růst,
snižuje utilizaci glukózy.**

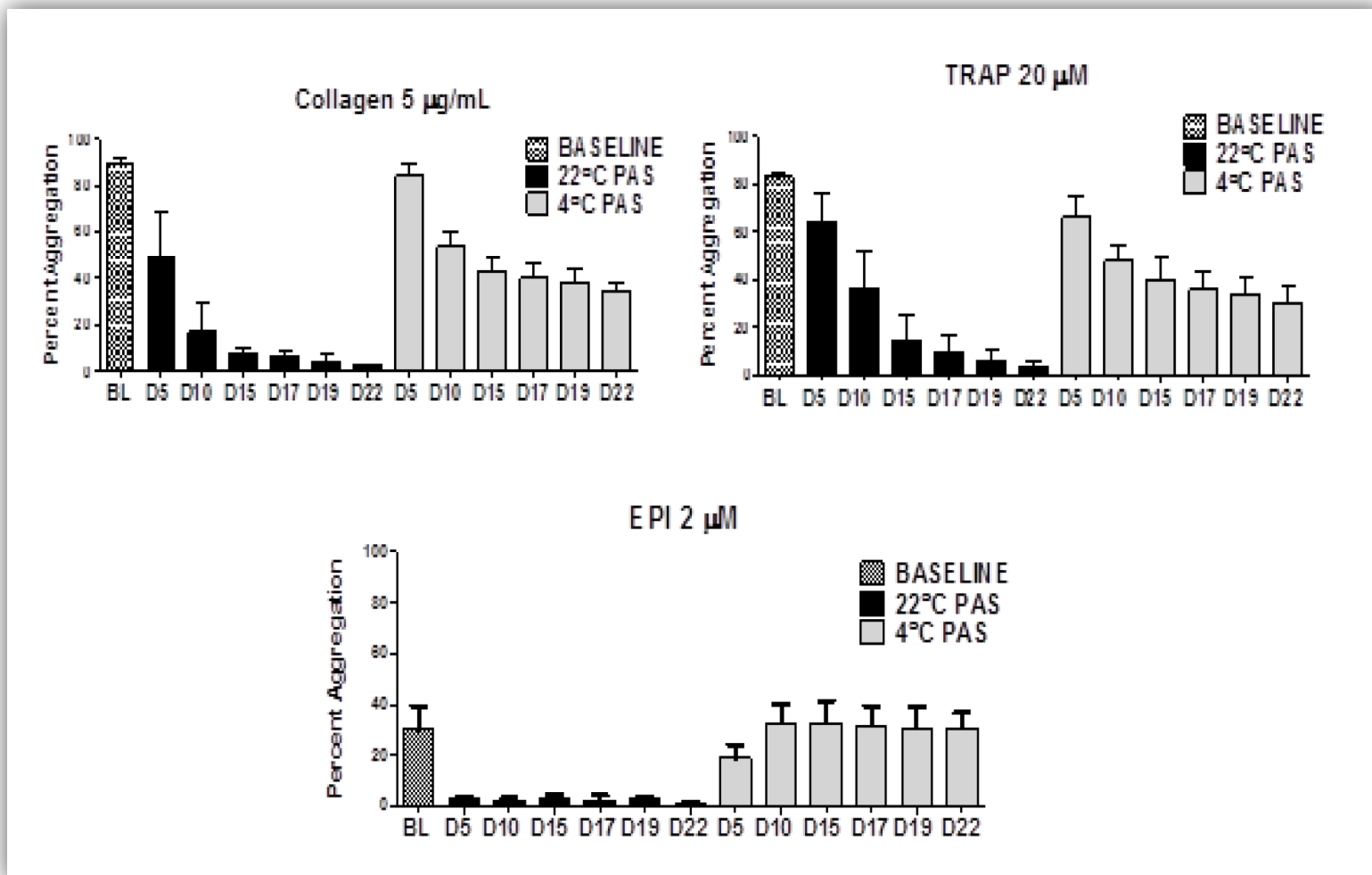
Ketter *Transfusion* 2019.



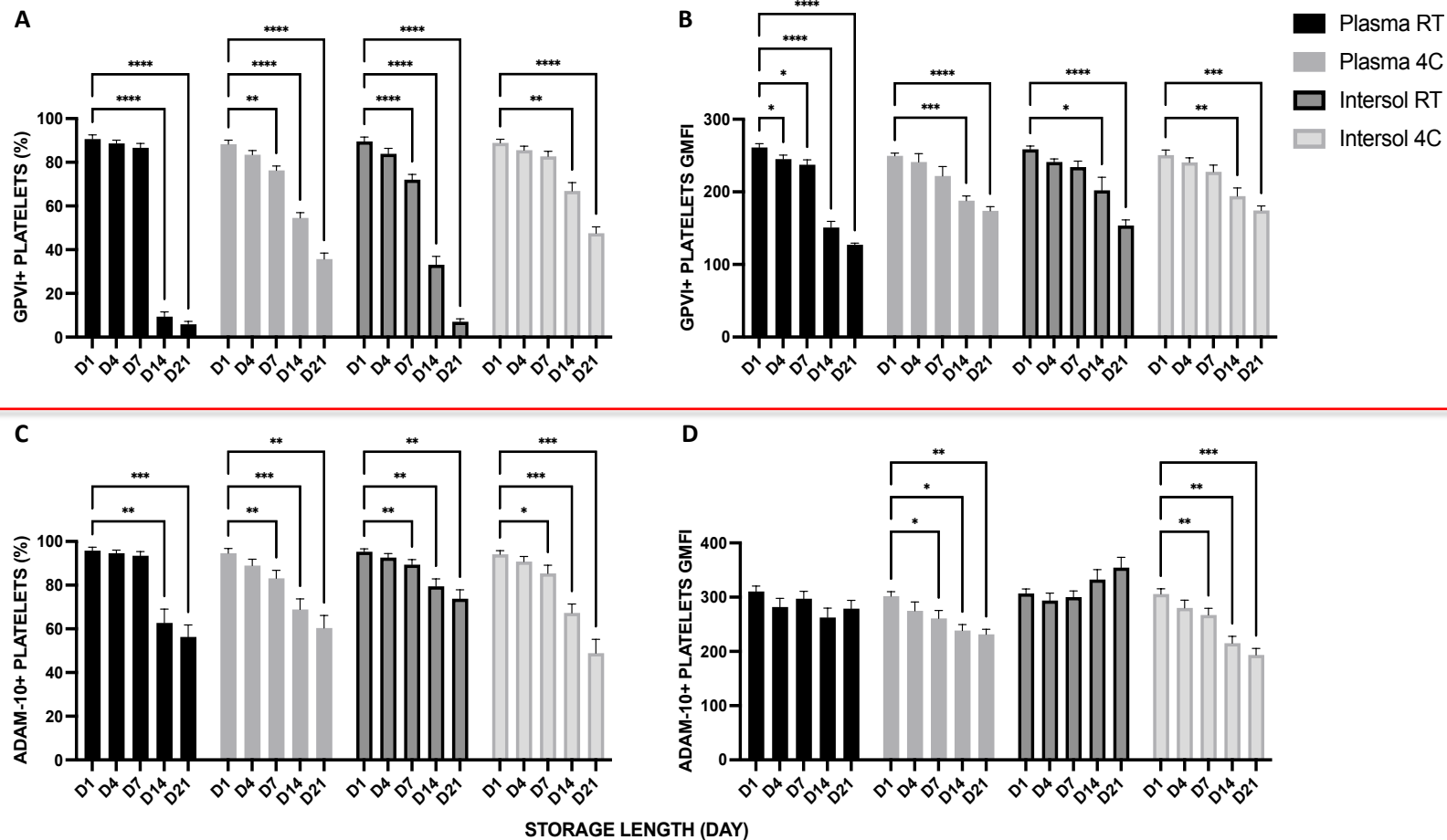
ÚVN

ÚSTŘEDNÍ VOJENSKÁ NEMOCNICE
Vojenská fakultní nemocnice Praha

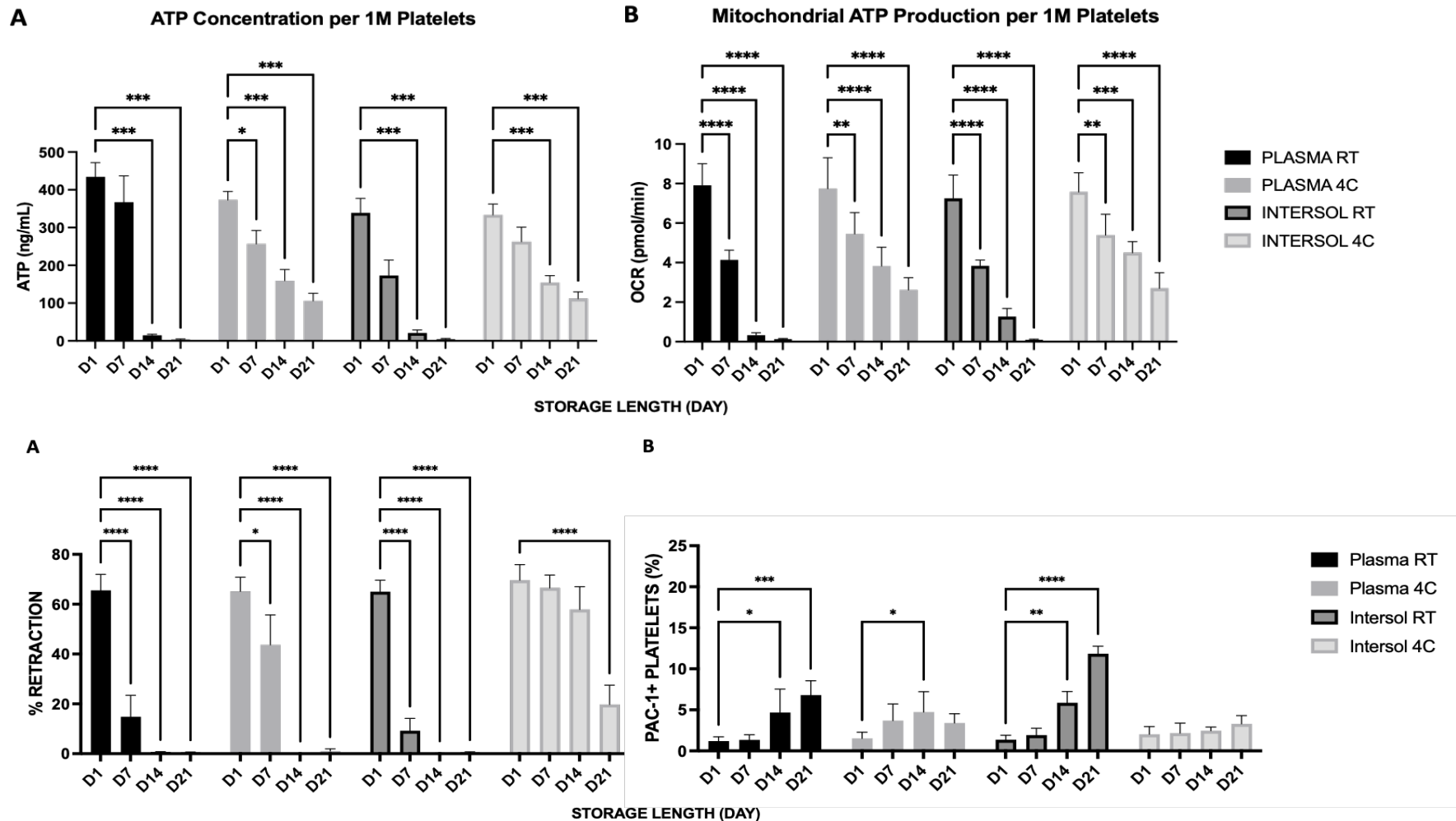
Agregace - podobná u chladových trombocytů 21 dní a trombocytů 20-24°C 5 dní



Funkce membránových glykoproteinů (GPVI) je lépe a déle zachována u chladových trombocytů



Produkce ATP & a schopnost retrakce je déle zachována u chladových trombocytů



Chladové trombocyty v PK: zachovaná hemostatická funkce až 21d při 4°C → vhodné pro transfuzi u traumat!

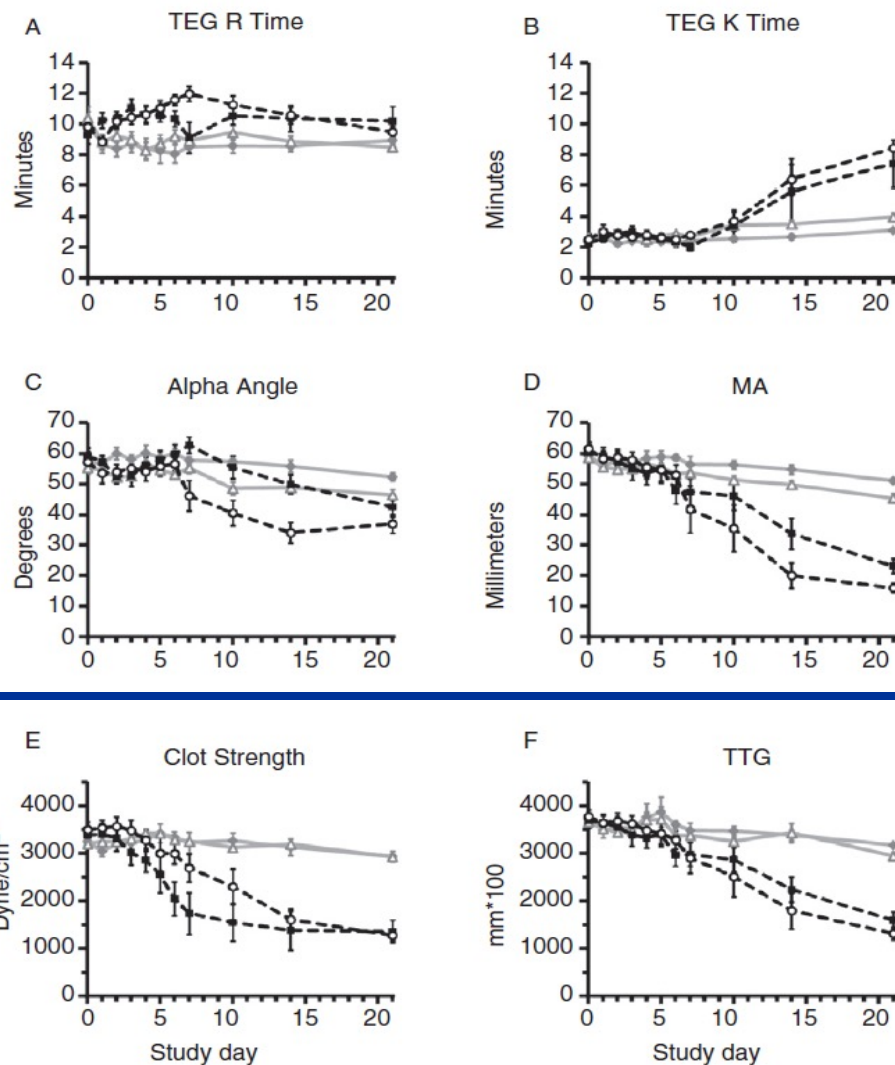
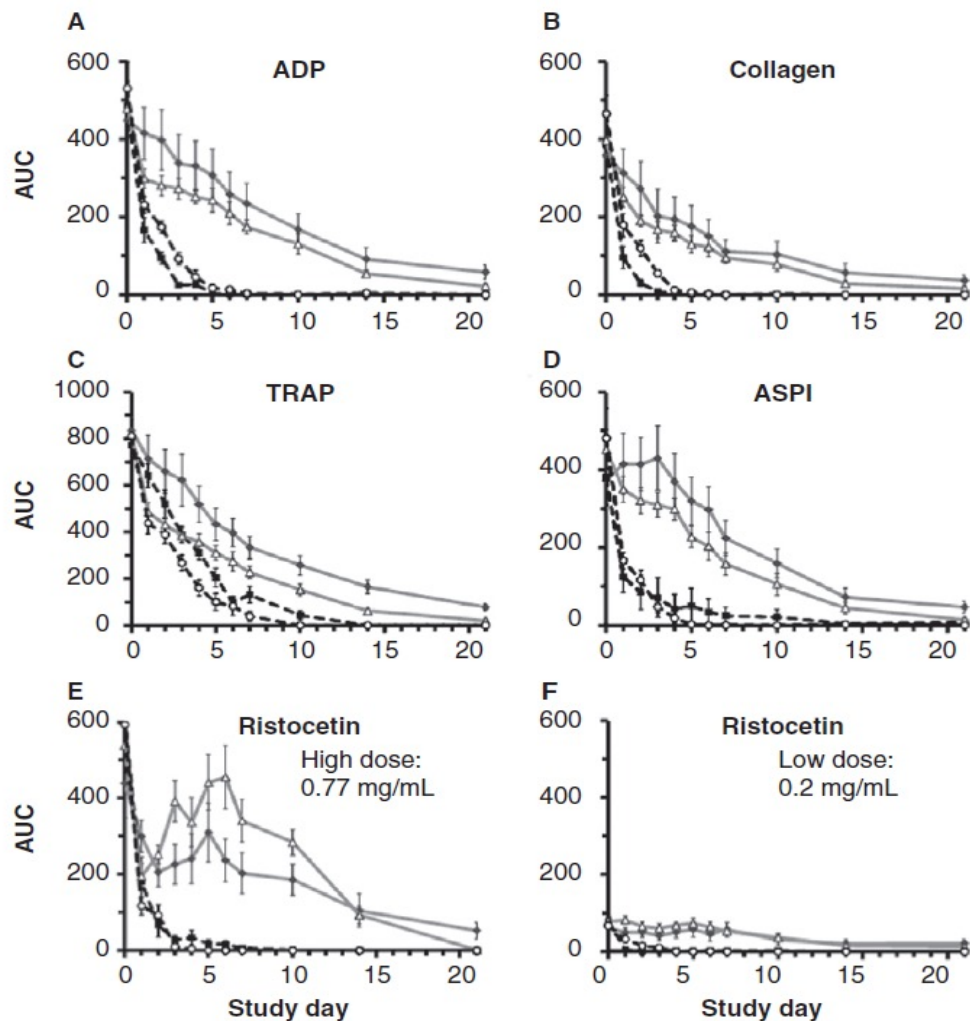


Fig. 4. Multiple electrode PLT aggregometry. A repeated measures analysis demon-



ÚSTŘEDNÍ VOJENSKÁ NEMOCNICE
Vojenská fakultní nemocnice Praha

Fig. 5. TEG. Storage at 4°C preserved TEG R time, K, α -angle, MA, clot strength, and

Pidcocke Transfusion 2013

Chlad zvyšuje destičkovou reaktivitu (zeslabená inhibiční signalizace usnadňuje agregaci)

scientific reports

OPEN The effect of short-term refrigeration on platelet responsiveness

Anna Kobsar^{1,2}, Karina Koehnlechner^{1,2}, Philipp Klingler³, Marius Niklaus³, Julia Zeller-Hahn³, Angela Koessler³, Katja Weber³, Markus Boeck³ & Juergen Koessler^{1,2}

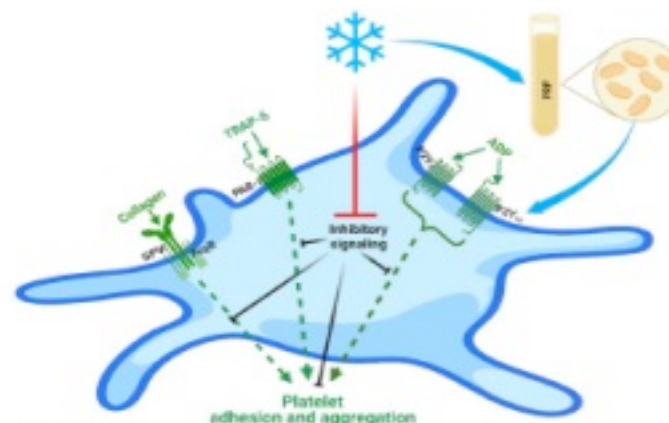
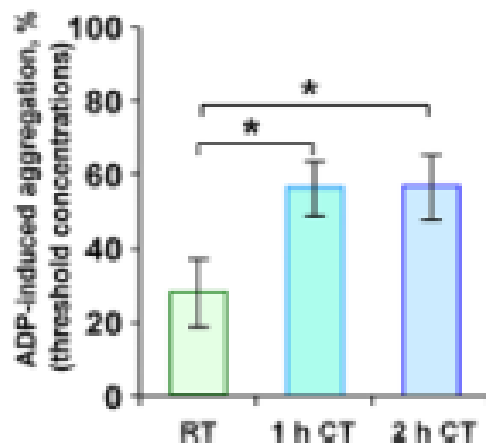
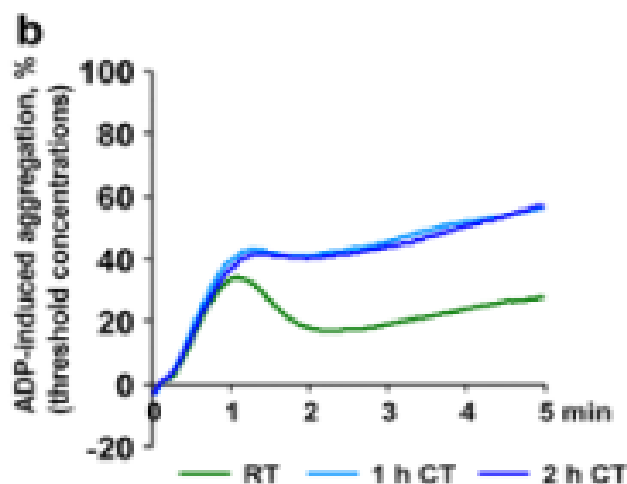
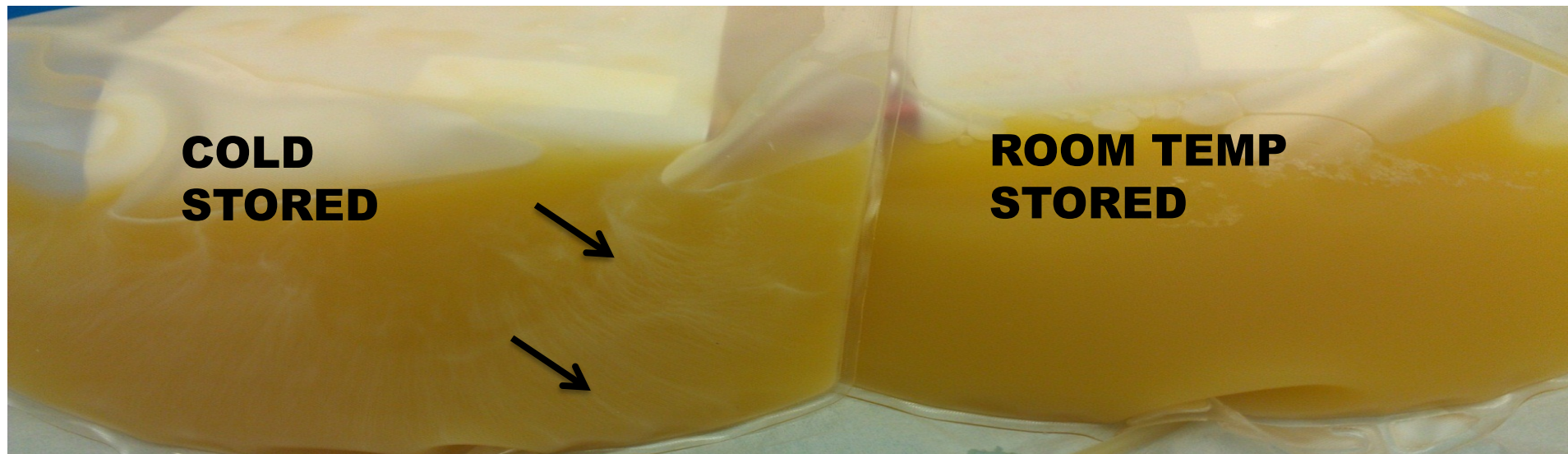


Figure 8. Mechanism of enhanced platelet reactivity by refrigeration. Attenuated inhibitory signaling facilitates ADP- and collagen-induced aggregation and platelet adhesion or aggregate formation. The figure was created with the software BioRender (URL: <https://biorender.com>, version used on 2022-06-30).



Chladové trombocyty v.s. trombocyty 20-24°C v plazmě



PLATELET COUNT per mL

4°C Baseline	4°C Day 3	4°C Day 5	22°C Baseline	22°C Day 3	22°C Day 5
1145 X 10 ³ +/- 36 SEM	827 X 10 ³ +/- 118 SEM	854 X 10 ³ +/- 30 SEM	1150 X 10 ³ +/- 26 SEM	1155 X 10 ³ +/- 28 SEM	1155 X 10 ³ +/- 28 SEM

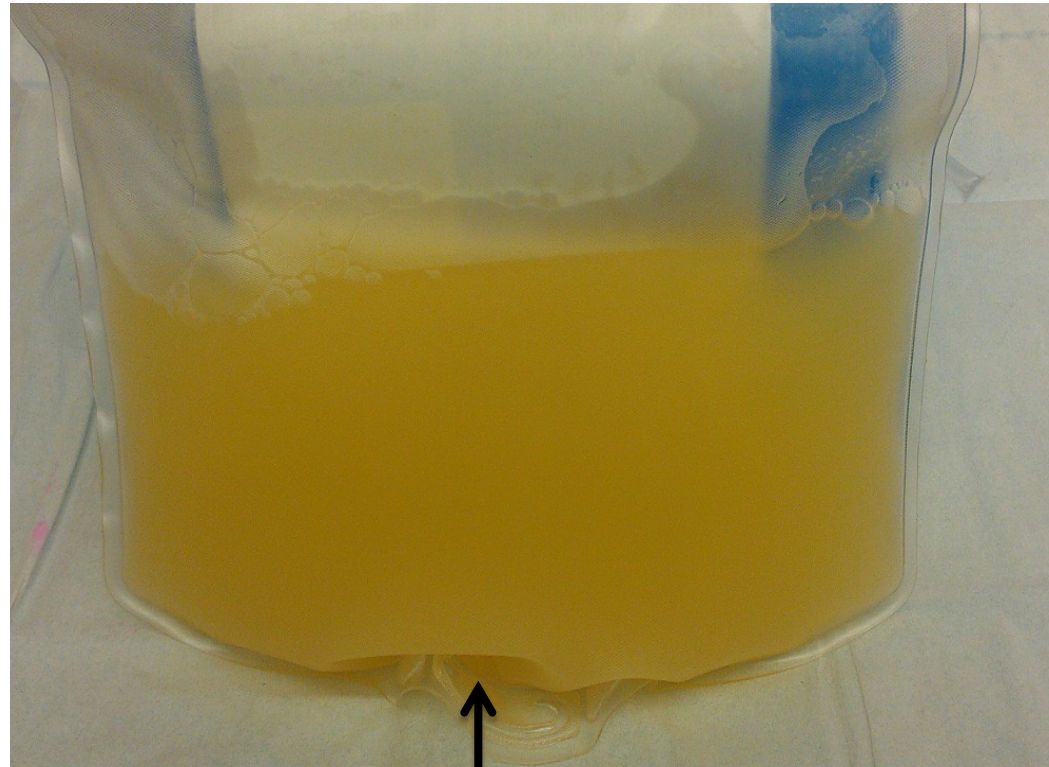


Chladové trombocyty je lépe skladovat v PAS – netvoří agregáty

Cold Stored in 100% Plasma



Cold Stored in 65% PAS



No Visible Aggregates

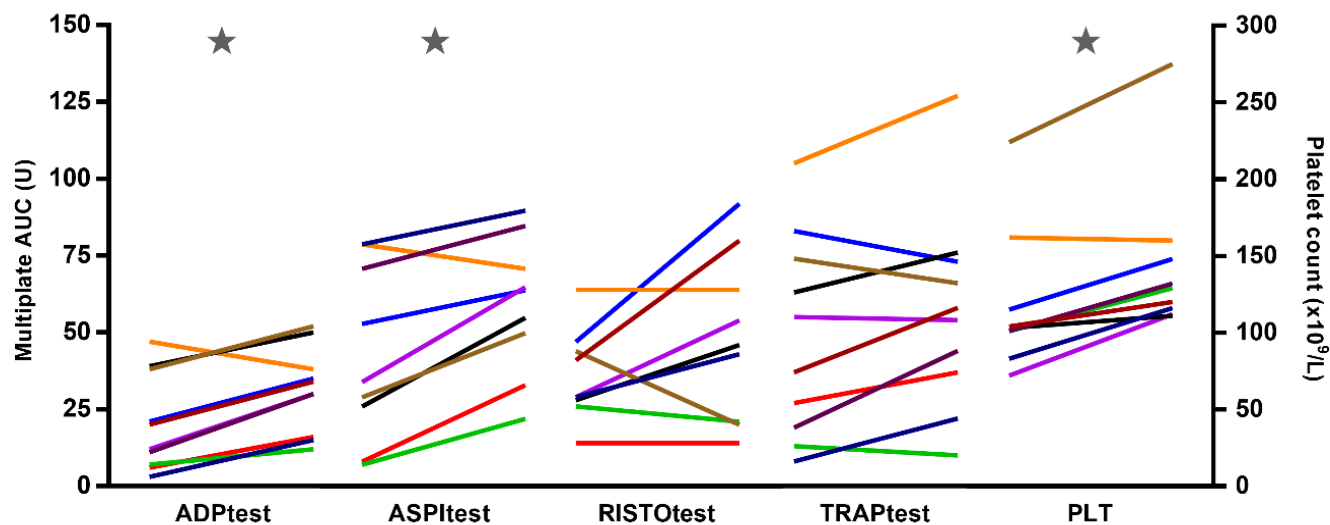


ÚVN

ÚSTŘEDNÍ VOJENSKÁ NEMOCNICE
Vojenská fakultní nemocnice Praha

14d chladové trombocyty: zlepšená agregace po transfuzi

Strandenes and Hervig. AABB 2018.



Pre- vs. Post-transfusion aggregation responses in cardiac surgery patients



ÚVN

ÚSTŘEDNÍ VOJENSKÁ NEMOCNICE
Vojenská fakultní nemocnice Praha

ANESTHESIOLOGY

A Pilot Trial of Platelets Stored Cold *versus* at Room Temperature for Complex Cardiothoracic Surgery

Geir Strandenes, M.D., Joar Sivertsen, B.Sc.,
Christopher K. Bjerkvig, M.D., Theodor K. Fosse, M.D.,
Andrew P. Cap, M.D., Ph.D., Deborah J. del Junco, Ph.D.,
Einar Klæboe Kristoffersen, M.D., Ph.D.,
Rune Haaverstad, M.D., Ph.D., Venny Kvalheim, M.D., Ph.D.,
Hanne Braathen, B.Sc., Turid Helen Felli Lunde, M.Sc.,
Tor Hervig, M.D., Ph.D., Karl Ove Hufthammer, Ph.D.,
Philip C. Spinella, M.D., Torunn Oveland Apelseth, M.D., Ph.D.

ANESTHESIOLOGY 2020; XXX:00–00

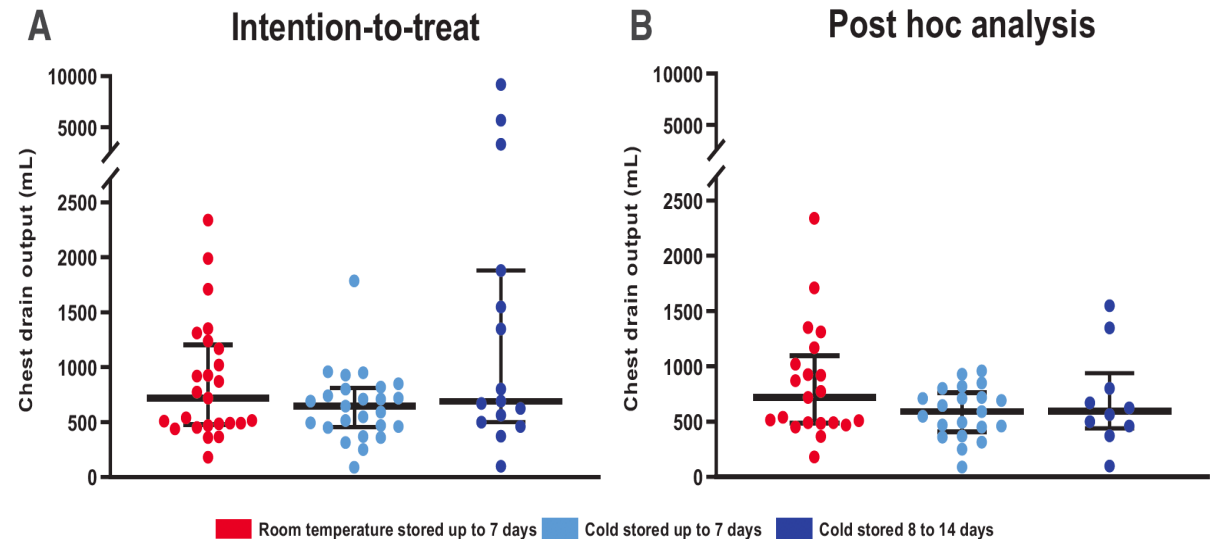


Fig. 2. Postoperative blood loss as measured by chest drain output for intention-to-treat patients (A) and *post hoc* analysis patients receiving room temperature–stored platelets, 7 days cold–stored platelets, and 8 to 14 days cold–stored platelets (B). The dots represent the individual study patients. The lines show median with interquartile range. The difference between the room temperature– and cold–stored for 7 days arms was not statistically significant ($P_{\text{intention-to-treat}} = 0.265$, $P_{\text{post hoc}} = 0.115$, two-tailed Mann–Whitney U test; SPSS Statistics for Windows, version 24.0, IBM, USA). The nonconcurrent stage II cold–stored for 8 to 14 days arm was not compared with the two stage I arms.



ÚVN
ÚSTŘEDNÍ VOJENSKÁ NEMOCNICE
Vojenská fakultní nemocnice Praha

Bergen: zkušenosti během COVIDu se skladem současně chladvých + 20-24°C trombocytů

276 vyrobeno chladvých trombo,
186 transfundováno 92 pacientům
-- 88% chirurgické krvácení
--- žádné potransfuzní reakce
-- 96% přežití

Received: 4 February 2022 | Revised: 1 May 2022 | Accepted: 2 June 2022
DOI: 10.1111/trf.16988

ORIGINAL RESEARCH

TRANSFUSION

Implementation of a dual platelet inventory in a tertiary hospital during the COVID-19 pandemic enabling cold-stored apheresis platelets for treatment of actively bleeding patients

Hanne Braathen¹ | Kristin G. Hagen¹ | Einar K. Kristoffersen^{1,2} | Geir Strandenes¹ | Torunn O. Apelseth^{1,2,3}

TABLE 3 TEG 6s global hemostasis assay before and after transfusion of cold-stored platelets

TEG 6s global hemostasis assay	<i>n</i>	Median (IQR, min-max)	<i>n</i>	Median (IQR, min-max)
CKH R (min)	10	8.95 (5.9–10.9, 4.2–19.2)	10	6.75 (5–9, 3.8–10.2)
CKH K (min)	8 ^a	2.5 (1.45–3.6, 0.9–4)	8 ^a	1.65 (1.2–5.95, 1.1–9.8)
CKH angle (degree)	10	57.5 (53.8–70.8, 36.9–76.7)	10	67.75 (58.5–73.5, 38–75.7)
CKH maximum amplitude (mm)	10	48.5 (38.9–59.4, 1.2–66.9)	10	58.05 (47.7–59.3, 23.9–64.9)
CFF maximum amplitude (mm)	9 ^b	14 (6.3–18, 2.2–25.8)	9 ^b	19 (16.2–19.3, 3.1–24.1)



ÚVN

ÚSTŘEDNÍ VOJENSKÁ NEMOCNICE
Vojenská fakultní nemocnice Praha



We have studied many aspects of stored PLTs

Results consistent: cold is better



- Aggregation
- Adhesion under flow, spreading, anti-PLT drug reversal
- Clot strength
- Clot retraction
- Clot architecture
- Thrombin generation
- TEG/ROTEM
- Mitochondrial function
- Apoptosis activation
- Membrane integrity
- Granule content
- Response to regulatory stimuli
- RNA preservation
- Inflammatory potential (TXA2 and sCD40L release)
- Bacterial growth
- **In vivo (rat) hemostasis (histology, intravital microscopy)**
- **Clinical bleeding**



4C better

Current practice
focuses on R&S,
HSR, ESC,
morphology...

*and accepts cost
& risk!!!*



U V M
ÚSTŘEDNÍ VOJENSKÁ NEMOCNICE
Vojenská fakultní nemocnice Praha

**Slide provided by
COL Andre Cap, USAISR**



Results widely replicated: **CSP** > RTP

Don't just take my word for it...



- Becker et al, US, 1970s
- Valeri et al, US, 1970s
- Hoffmeister, US, 2001-2018
- Sandgren et al, Sweden, 2007
- Stranden et al, Norway, 2014-2018
- Johnson et al, Australia, 2016-18
- Marini et al, Germany, 2018
- Stolla et al, US, 2018
- Cancelas et al, US, 2017
- Stubbs et al, US, 2015-2018
- Handigund et al, Korea, 2016
- Yang et al, China, 2018
- **Others...**



**4C: better
function**



ÚVN

ÚSTŘEDNÍ VOJENSKÁ NEMOCNICE
Vojenská fakultní nemocnice Praha

**Slide provided by
COL Andre Cap, USAISR**

Chladové trombocyty v ozbrojených silách USA zcela nahradily trombo 20-24°C

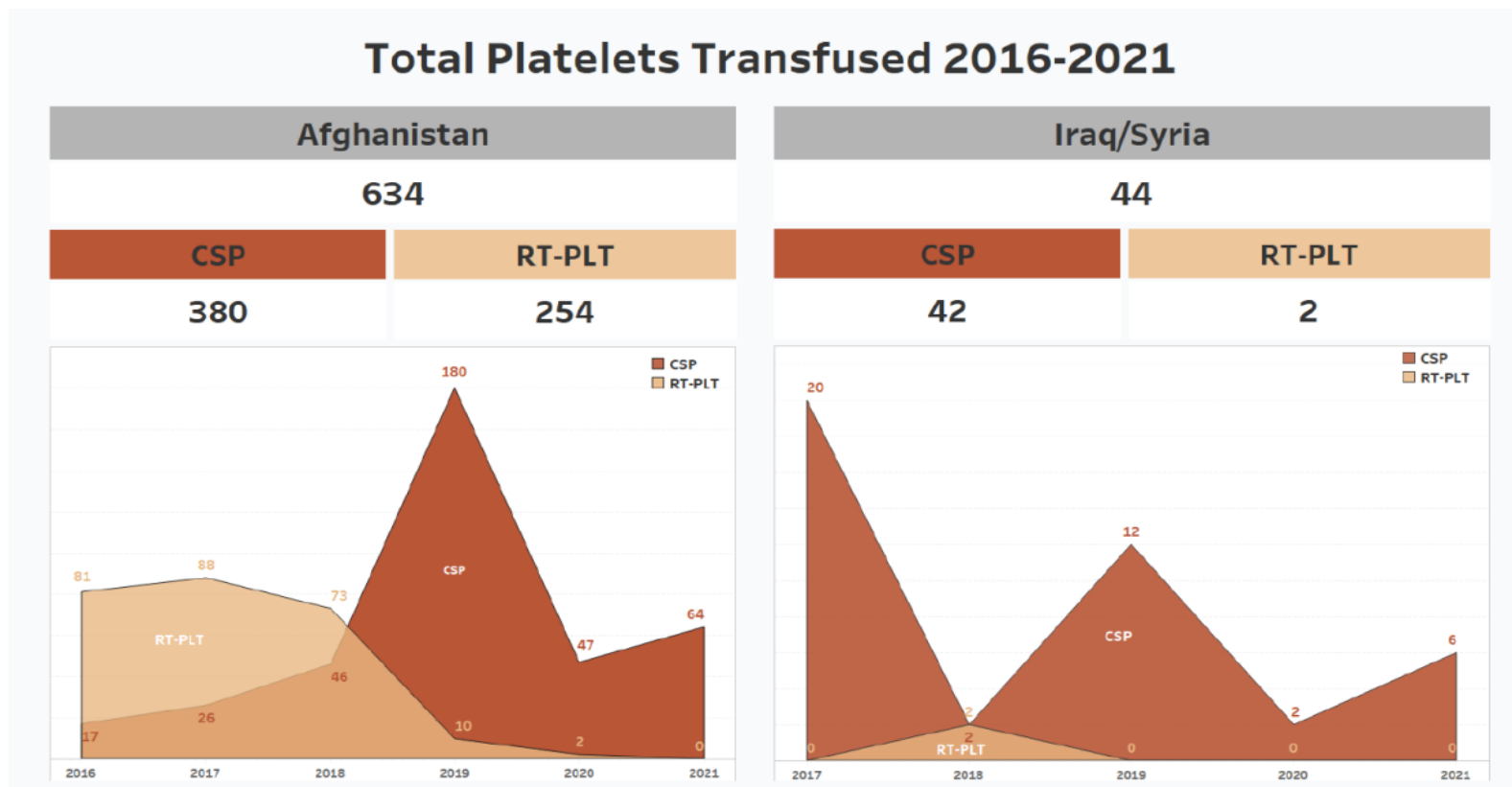


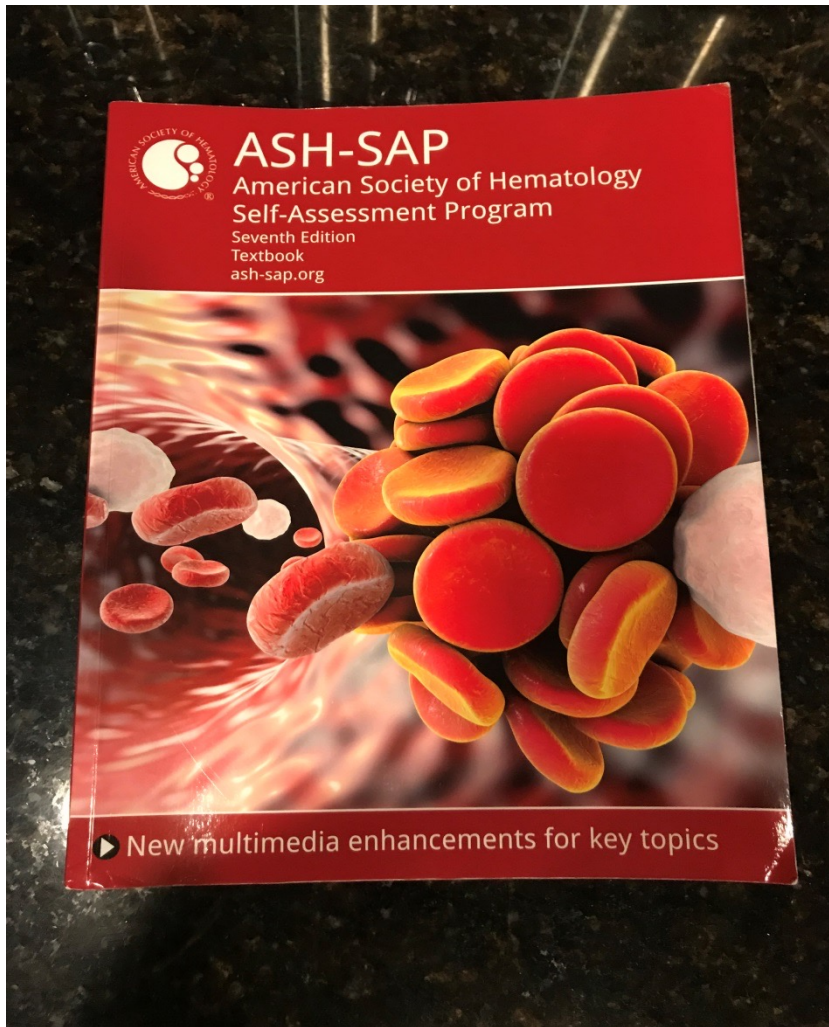
Figure 7: CSP and RT-PLT transfusions in Afghanistan and Iraq Theaters, 2016-2021.



ÚVN

ÚSTŘEDNÍ VOJENSKÁ NEMOCNICE
Vojenská fakultní nemocnice Praha

2015 – FDA schválila chladiové trombocyty y ke klinickému použití



activation, which is reflected in platelet shape change, adhesion, aggregation, secretion of platelet granular contents, and the expression of activation antigens.

In 2015, the FDA approved cold-stored platelets, which are stored at 4°C without agitation for 3 days. Cold-stored platelets are used only for resuscitation in actively bleeding patients. Refrigeration activates platelets (eg, increased P-selectin expression) and renders them more immediately efficacious after transfusion, even if post-transfusion platelet increments are lower than with room temperature-stored platelets.

After routine platelet collection, 2 additional modifications to platelet products are available: platelet additive reduced platelets. Platelet



ÚVN

ÚSTŘEDNÍ VOJENSKÁ NEMOCNICE
Vojenská fakultní nemocnice Praha

Závěr

Chladové trombocyty

- navzdory kratší životnosti v oběhu po transfuzi, vykazují lepší funkční vlastnosti a v některých situacích (trauma, krvácení) jsou výhodnějším přípravkem
- výrazně zjednoduší skladovací i přepravní logistiku.



ÚVN

ÚSTŘEDNÍ VOJENSKÁ NEMOCNICE
Vojenská fakultní nemocnice Praha

Děkuji za pozornost!

