



ÚVN

ÚSTŘEDNÍ VOJENSKÁ NEMOCNICE
Vojenská fakultní nemocnice Praha

Oddělení hematologie a krevní transfuze



Kryokonzervované trombocyty ve světě – Vox Sanguinis Interantional Forum on platelet cryopreservation

Bohoněk M.

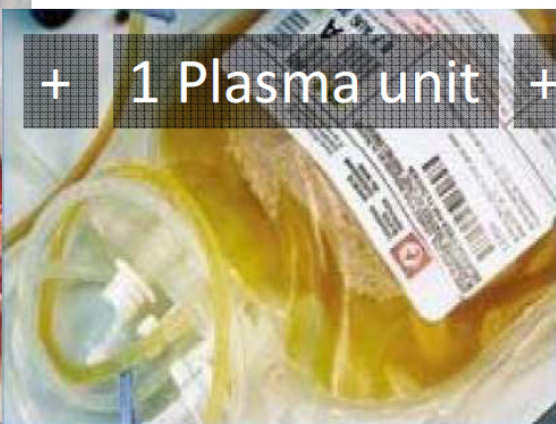
11. STŘEŠOVICKÝ TRANSFUZNÍ DEN

29. Listopadu 2017, Kongresové centrum ÚVN Praha

Včasná, agresivní a komplexní transfuzní léčba může u těchto pacientů přispět ke korekci koagulopatie, zastavení krvácení a zlepšení stavu –
– „**pravidlo 1.zlaté hodiny**“

Nejúčinnější léčbou je, pokud erytrocyty, plazma a trombocyty jsou dostupné co nejdříve.

- Transfusion in trauma =



ÚV
ÚSTŘEDNÍ
Vojenská fakulta



Začarovaný kruh krvácení

KRVÁCENÍ



Koagulopatie



Resuscitace



Hemodiluce/ hypotermie

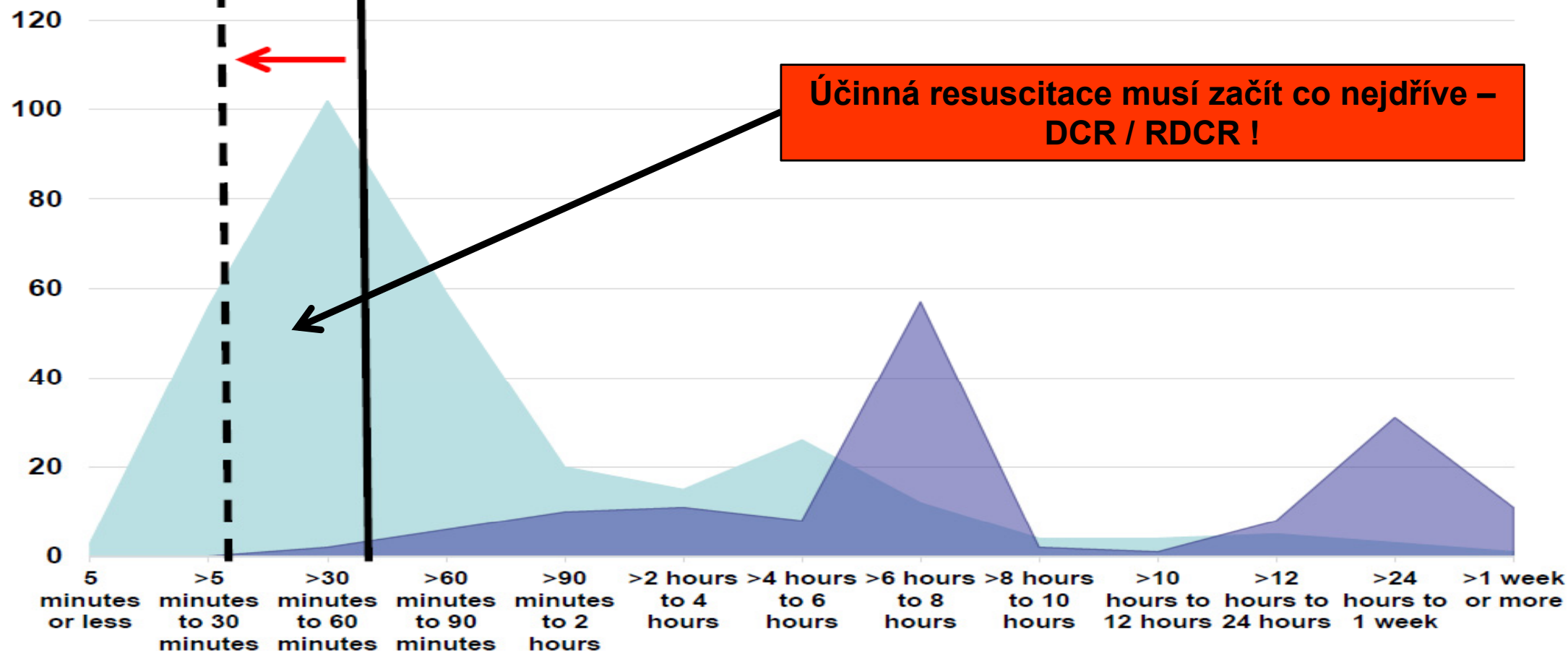


1. “zlatá hodina” nestačí...

Number of KIA and DOW Deaths by Time Increment

N=457

KIA DOW



ÚVN

ÚSTŘEDNÍ VOJENSKÁ NEMOCNICE
Vojenská fakultní nemocnice Praha

Shackelfor, et al, JTS, 2016

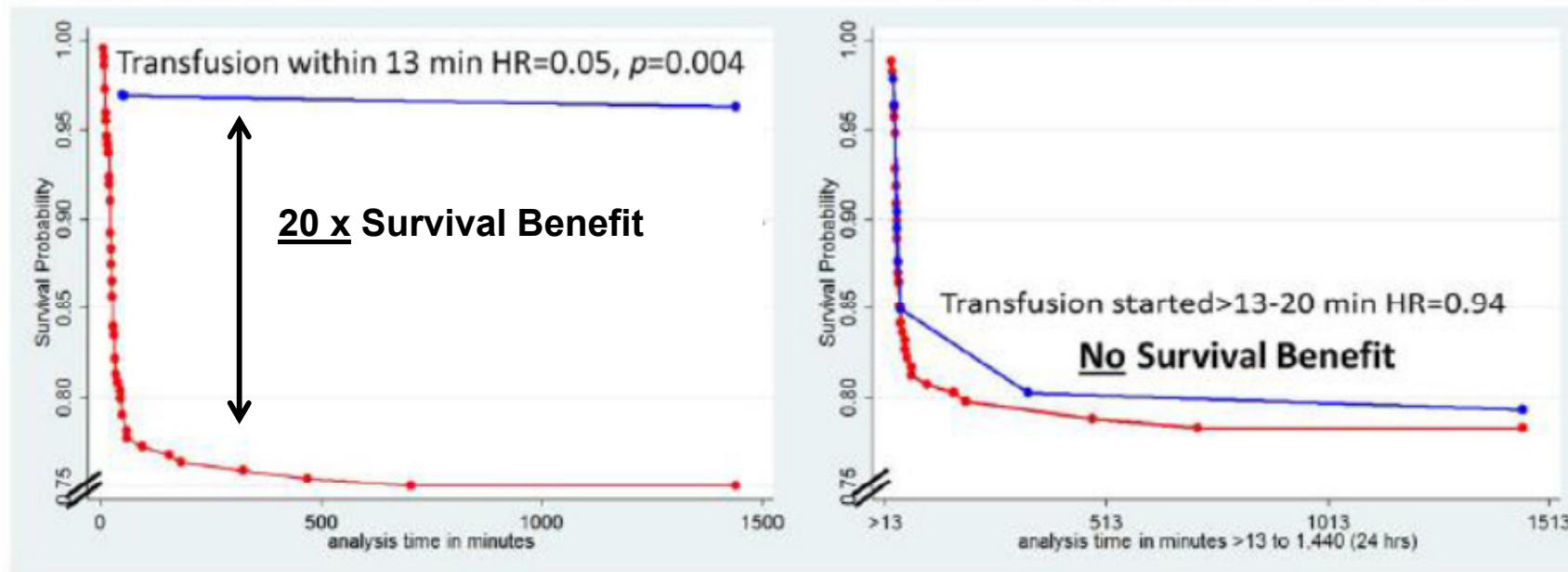
Čas je nadevše....

Rapid Pre- or In-Hospital Transfusion

Adjusted Cox Models for 24 hour Survival

**Transfusion started within 13*
vs. >13 minutes after MEDEVAC
take-off from POI**

**Among survivors past minute
13, transfusion started >13-20
vs. >20 minutes after take-off**



*34 min
from injury

US military casualties in Afghanistan: 04/2012 – 08/2015
No = 400

Trombocyty

Vzhledem k velmi krátké době použití je obtížné vytváření skladových zásob trombocytů pro většinu krevních skladů nemocnic



ÚVN

ÚSTŘEDNÍ VOJENSKÁ NEMOCNICE
Vojenská fakultní nemocnice Praha

Trombocyty

Spotřeba celosvětově stoupá a vede k výkyvům v jejich zásobování a občasné lokální nedostupnosti, zejména ve vzdálenějších oblastech.



ÚSTŘ
Vojens



Vhodnou alternativou je **sklad kryokonzervovných trombocytů**, které se s úspěchem používají ve vojenské medicíně.



ÚVN

ÚSTŘEDNÍ VOJENSKÁ NEMOCNICE
Vojenská fakultní nemocnice Praha



Kryokonzervace a skladování mražených krevních buněk může významně (až neomezeně) prodloužit dobu jejich použití.

Nezbytností je zajištění zvláštních podmínek během procesu mražení, které zabrání poškození buněk.



ÚVN

ÚSTŘEDNÍ VOJENSKÁ NEMOCNICE
Vojenská fakultní nemocnice Praha

Poškození buněk při zmrazování:

- celulární dehydratace
- změny pH
- mechanické trauma způsobené krystalky vodního ledu



ÚVN

ÚSTŘEDNÍ VOJENSKÁ NEMOCNICE
Vojenská fakultní nemocnice Praha

Kryoprotektivní látky

- **Intracelulární /penetrující** (efekt vnitrobuněčné ochrany -
↑ osmolality, zabránění tvorbě ledových krystalů)
 - **glycerol**
 - **dimetylsulfoxid (DMSO)**
- **Extracelulární / nepenetrující** (stabilizace bun.mebrány, efekt vitrifikace)
 - **hydroxyetylškrob (HES), dextran**



ÚVN

ÚSTŘEDNÍ VOJENSKÁ NEMOCNICE
Vojenská fakultní nemocnice Praha

Metody kryokonzervace trombocytů



1. Trombocyty mohou být zmrazeny za použití čtyř kryoprotektivních látek:

- 2 intracelulárních (DMSO, glycerol)
- 2 extracelulárních (HES, dextran)
- **5% DMSO je nejvhodnější**

HES and dextran were found to be poor cryoprotectives, PLTs cryopreserved in glycerol gave lower yields and poor in-vitro viability compared with those cryopreserved in DMSO

Taylor M., Cryopreservation of platelets: an in-vitro comparison of four methods, J.Clin.Pathol, 1981; 34:71-75



ÚVN

ÚSTŘEDNÍ VOJENSKÁ NEMOCNICE
Vojenská fakultní nemocnice Praha

Metody kryokonzervace trombocytů



A Simple Method for Freezing Human Platelets Using 6% Dimethylsulfoxide and Storage at -80°C

By C. R. Valeri, H. Feingold, and L. D. Marchionni

Blood, Vol. 43, No. 1 (January), 1974

2. Trombocyty mohou být zmraženy v 6 % DMSO v -80°C až 2 roky. Tato metoda je modifikována koncentrací trombocytů a odstraněním supernatantu ještě před zmražením.

Valeri C.R., Rando G., Khuri S., Freezing human platelets using 6% DMSO **with removal of the supernatant** solution prior to freezing and storage of at -80°C without post-thaw processing, *Transfusion* 2005; 45:1890-8



ÚVN

ÚSTŘEDNÍ VOJENSKÁ NEMOCNICE
Vojenská fakultní nemocnice Praha

Resuspenzní roztoky

Plazma



0,9% NaCl



PAS



ÚVN

ÚSTŘEDNÍ VOJENSKÁ NEMOCNICE
Vojenská fakultní nemocnice Praha

Vlastnosti kryokonzervovaných trombocytů

- ve srovnání s nativními trombocyty jsou částečně aktivované
- obsahují zřetelné uvolněné mikropartikule
- vykazují vyšší prokoagulační aktivitu

Dumont LJ, Cancelas JA, Dumont DF, *et al.*: A randomized controlled trial evaluating recovery and survival of 6% dimethyl sulfoxide-frozen autologous platelets in healthy volunteers. *Transfusion* 2013; 53:128–137

Johnson L, Coorey CP, Marks DC: The hemostatic activity of cryopreserved platelets is mediated by phosphatidylserine-expressing platelets and platelet microparticles. *Transfusion* 2014; 54:1917–1926



ÚVN

ÚSTŘEDNÍ VOJENSKÁ NEMOCNICE
Vojenská fakultní nemocnice Praha

Klinické studie kryokonzervovaných trombocytů

- srovnávací studie nativních a zmražených trombocytů při kardiochirurgických výkonech:

Kryotrombo - žádné vedlejší účinky

- nižší spotřeba transfuzních přípravků
- nižší laboratorní potransfuzní přírůstek v KO
- nižší potransfuzní přežití
- laboratorně in vitro vyšší prokoagulační aktivita

Khuri SF, Healey N, MacGregor H, *et al.*: Comparison of the effects of transfusions of cryopreserved and liquid-preserved platelets on hemostasis and blood loss after cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1999; 117:172–183; discussion 83–84.

- CLIP – Austrálie: srovnání klinického efektu nativních a kryokonzervovaných trombocytů u chirurgických krvácení

Reade MC, Marks DC, Johnson L, *et al.*: Frozen platelets for rural Australia: the CLIP trial. *Anaesth Intensive Care* 2013; 41:804–805

- ÚVN Praha – srovnávací studie použití kryokonzervovaných a nativních trombocytů u pacientů se závažným krvácením

Kryokonzervované trombocyty
v klinické praxi: srovnávací studie
s nativními trombocyty

Bohoněk M.¹, Kutáč D.¹, Landová L.¹, Kořánová M.¹, Sládková E.¹, Stašková E.¹, Voldřich M.², Tyll T.²

¹Oddělení hematologie a krevní transfuze, Ústřední vojenská nemocnice – Vojenská fakultní nemocnice Praha
²Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny I. LF UK a ÚVN, Ústřední vojenská nemocnice – Vojenská fakultní nemocnice Praha

Transfuzní Hematol. dnes, 22, 2016, No. 4, p. 268–278



ÚVN

ÚSTŘEDNÍ VOJENSKÁ NEMOCNICE
Vojenská fakultní nemocnice Praha

Klinické zkušenosti s kryokonzervovanými trombocyty

- University of Maryland (Baltimore, USA) – 700 autologních kryokonzervovaných trombocytů u onkologických pacientů s CHTER:
 - Bezpečné
 - Efektivní
 - Zvýšila se dostupnost HLA-typizovaných trombocytů
- Nizozemské vojenské zdravotnictví: od roku 2006 zkušenosti s podáním téměř 1500 kryokonzervovaných trombocytů cca 400 pacientům

Schiffer CA, Aisner J, Dutcher JP: Platelet cryopreservation using dimethyl sulfoxide. *Ann N Y Acad Sci* 1983; 411:161–169

-80°C Frozen platelets, efficient logistics, available, compatible, safe and effective in the treatment of trauma patients with or without massive blood loss in military theatre.

Femke Noorman (F.Noorman@mindef.nl) and John F. Badloe (JF.Badloe@mindef.nl)

Military Blood Bank, Leiden, The Netherlands.

AABB Oct 2012, Transfusion Practice/Clinical Case Studies; S53-030H; Presentation

RESEARCH ARTICLE

Transfusion: -80 °C Frozen Blood Products Are Safe and Effective in Military Casualty Care

Femke Noorman^{1,2,3,4,5}, Thijs T. C. F. van Dongen^{2,3,4,5}, Marie-Christine J. Plat³, John F. Badloe¹, John R. Hess⁴, Rigo Hoencamp⁵

PLOS ONE | DOI:10.1371/journal.pone.0168401 December 13, 2016



ÚVN

ÚSTŘEDNÍ VOJENSKÁ NEMOCNICE
Vojenská fakultní nemocnice Praha

Vox Sanguinis International Forum on platelet cryopreservation

C.S. Cohn, L.J. Dumont, M. Lozano, D.C. Marks, L. Johnson, S. Ismay, N. Bondar, F. T'Sas, A.P.H. Yokoyama, J.M. Kutner, J.P. Acker, M. Bohonek, A. Sailliol, C. Martinaud, R. Poglód, J. Antoniewicz-Papis, E. Lachert, P.B.L. Pun, J. Lu, J. Cid, F. Guijarro, L. Puig, B. Gerber, L. Alberio, U. Schanz, A. Buser, F. Noorman, M. Zoodsma, P.F. van der Meer, D. de Korte, S. Wagner & M. O'Neill

Vox Sanguinis International Forum on platelet cryopreservation: Summary

C.S. Cohn, L.J. Dumont, M. Lozano, D.C. Marks, L. Johnson, S. Ismay, N. Bondar, F. T'Sas, A.P.H. Yokoyama, J.M. Kutner, J.P. Acker, M. Bohonek, A. Sailliol, C. Martinaud, R. Poglód, J. Antoniewicz-Papis, E. Lachert, P.B.L. Pun, J. Lu, J. Cid, F. Guijarro, L. Puig, B. Gerber, L. Alberio, U. Schanz, A. Buser, F. Noorman, M. Zoodsma, P.F. van der Meer, D. de Korte, S. Wagner & M. O'Neill

**ÚVN**ÚSTŘEDNÍ VOJENSKÁ NEMOCNICE
Vojenská fakultní nemocnice Praha

Dotazník:

Question 1

Are cryopreserved platelet units used in your center?

If yes, please estimate the number of units that are cryopreserved each year, and the number of units that are thawed and transfused annually.

If no, do you have plans to implement cryopreservation? Are there significant hindrances to implementation?

Question 2

If cryopreserved units are transfused at your center, are there specific indications or patient populations for whom they are used?

Question 3

In your view, is there a 'best-practice' method for the cryopreservation of platelets? And for thawing?

Question 4

What are the current storage conditions and the shelf life that you are using for cryopreserved platelets? and after thawing?

Question 5

Do you track specific quality control metrics with your cryopreserved platelets units? What do you measure pre- and post-thaw?

Question 6

What is the major advantage(s) conferred by cryopreservation?

Question 7

Do you believe that other platelet storage methods, such as lyophilization, will come into common use?



ÚVN

ÚSTŘEDNÍ VOJENSKÁ NEMOCNICE
Vojenská fakultní nemocnice Praha

Austrálie



Výroba:

ano, pro armádu a pro klinické civilní studie

Použití:

v civilu zatím pouze v rámci klinických studií

Metoda:

v 6% DMSO, 24-48 hod po odběru
skladování při -65 - -90°C, exp. 2 roky
rekonstituce v plazmě při 30°C, exp. 6 hod

Výhody:

dlouhá doba použitelnosti

↓ expirace a likvidace trombo – rozmražení na pacienta

↑ prokoagulační aktivita – výhoda pro pac.se závažným krvácením



ÚVN

ÚSTŘEDNÍ VOJENSKÁ NEMOCNICE
Vojenská fakultní nemocnice Praha

Belgie



Výroba:

ano, pro armádu

Použití:

v civilu ne, perspektivně při vojenské operaci

Metoda:

v 6% DMSO

skladování při -65 - -90°C, exp. 2 roky

rekonstituce v plazmě, exp. 6 hod

Výhody:

dlouhá doba použitelnosti
protrobotický potenciál



ÚVN

ÚSTŘEDNÍ VOJENSKÁ NEMOCNICE
Vojenská fakultní nemocnice Praha

Brazílie



Výroba:

t.č. ne, nedávno pro studie

Použití:

ne, perspektivně

Metoda:

v 6% DMSO

skladování při -65 - -90°C, exp. 2 roky

rekonstituce v plazmě, exp. 4 hod

Výhody:

dlouhá doba použitelnosti

okamžitá dostupnost

možnost skladovat vzácné trombocyty



ÚVN

ÚSTŘEDNÍ VOJENSKÁ NEMOCNICE
Vojenská fakultní nemocnice Praha



Výroba:

ano

Použití:

ano, zatím ÚVN, perspektivně v KTC a dalších ZZ

Metoda

v 6% DMSO, do 2 hod po odběru
skladování při -65 - -90°C, exp. 2 roky
rekonstituce v plazmě při 32°C, exp. 6 hod

Výhody:

okamžitá dostupnost
prokoagulační aktivita – vhodné pro závažná krvácení
řešení zajištění trombocytů pro polní vojenské zdravotnictví



ÚVN

ÚSTŘEDNÍ VOJENSKÁ NEMOCNICE
Vojenská fakultní nemocnice Praha

Francie



Výroba:

ano – od 2015

Použití:

ano: vzácné HPA/HLA trombocyty
závažná krvácení

Metoda

v 5% DMSO

skladování při -65 - -90°C, exp. 2 roky / -180°C, exp.3 roky
rekonstituce v plazmě při 32°C, exp. 6 hod

Výhody:

dostupnost trombocytů, když nejsou k dispozici běžné nativní
řešení zajištění trombocytů pro polní vojenské zdravotnictví
zajištění trombocytů v odlehlých oblastech



ÚVN

ÚSTŘEDNÍ VOJENSKÁ NEMOCNICE
Vojenská fakultní nemocnice Praha

Kanada



Výroba:

t.č. ne, uvažuje se o výrobě ve vojenské transfuzní službě

Použití:

ne

Metoda - uvažovaná:

v 6% DMSO

skladování při -65 - -90°C, exp. 2 roky

rekonstituce v plazmě / PAS

Výhody:

dlouhá doba použitelnosti

prokoagulační aktivita – vhodné pro závažná krvácení

řešení zajištění trombocytů v odlehlých oblastech



ÚVN

ÚSTŘEDNÍ VOJENSKÁ NEMOCNICE
Vojenská fakultní nemocnice Praha

Polsko

Výroba:

ano



Použití:

ano: 11-13.000 T.D. / rok (10-12% celkové spotřeby trombocytů)

- pokud nejsou k dispozici nativní**
- speciální indikace: novorozenci a intranuterinní transfuze při imunologické trombocytopenii HLA / HPA vzácné trombocyty**

Metoda

v 5% DMSO, do 24 hod po odběru

skladování při -65 - -90°C, exp. 1 rok / -140°C, exp.2 roky

rekonstituce v 0,9% NaCl s vit.C exp. 2 hod při 20-24°C

Výhody:

okamžitá dostupnost

možnost zajištění skladu HLA/HPA vzácných trombocytů

dlouhá doba použitelnosti



ÚVN

ÚSTŘEDNÍ VOJENSKÁ NEMOCNICE
Vojenská fakultní nemocnice Praha

Singapur



Výroba:

ano – pouze pro výzkum

Použití:

ne, uvažují perspektivně

Metoda

v 6% DMSO, z BC

skladování při -65 - -90°C, exp. 2 roky

rekonstituce v plazmě při 32°C, exp. 4 hod

Výhody:

dlouhá doba použitelnosti,

↓ celkové expirace a likvidace trombocytů

zajištění trombocytů v případě nedostatku nativních



ÚVN

ÚSTŘEDNÍ VOJENSKÁ NEMOCNICE
Vojenská fakultní nemocnice Praha

Španělsko



Výroba:

ano

Použití:

ano, HLA typizované trombocyty

Metoda

v 6% DMSO

skladování při -65 - -90°C, exp. 2 roky

rekonstituce v plazmě při 32°C, exp. 4 hod

Výhody:

zajištění HLA typizovaných trombocytů



ÚVN

ÚSTŘEDNÍ VOJENSKÁ NEMOCNICE
Vojenská fakultní nemocnice Praha

Nizozemí

Výroba:

ano, pouze vojenská TS

Použití:

ano, pouze v polním vojenském zdravotnictví

Metoda

v 6% DMSO, z aferézy, 24 hod po odběru
skladování při -65 - -90°C, exp. 4 roky
rekonstituce v plazmě při 32°C, exp. 6 hod

Výhody:

zajištění komplexní hemostatické terapie v polním vojenském zdravotnictví



ÚVN

ÚSTŘEDNÍ VOJENSKÁ NEMOCNICE
Vojenská fakultní nemocnice Praha

USA



Výroba:

ano, zatím pouze pro studie, v perspektivě po schválení FDA

Použití:

ne, pouze v rámci studií

Metoda

v 4-6% DMSO,
skladování při -65 - -90°C, exp.2 roky
rekonstituce v plazmě / 0,9% NaCl

Výhody:

snažší zajištění trombocytů
zajištění HLA typizované trombocytů
vojenské použití



ÚVN

ÚSTŘEDNÍ VOJENSKÁ NEMOCNICE
Vojenská fakultní nemocnice Praha

Shrnutí

Výroba:

ano, resp. perspektivně

Použití:

ano, resp. perspektivně

- pro závažná krvácení
- HLA/HPA typizované trombocyty

Metoda

v 4-6% DMSO,
skladování při -65 - -90°C, exp.2 roky
rekonstituce v plazmě (0,9% NaCl)

Výhody:

snažší zajištění trombocytů při nedostatku nativních, odlehlé oblasti
prokoagulační aktivita – hemostatická terapie při závažných krvácení
zajištění HLA/HPA typizovaných trombocytů
vojenské použití



ÚVN

ÚSTŘEDNÍ VOJENSKÁ NEMOCNICE
Vojenská fakultní nemocnice Praha



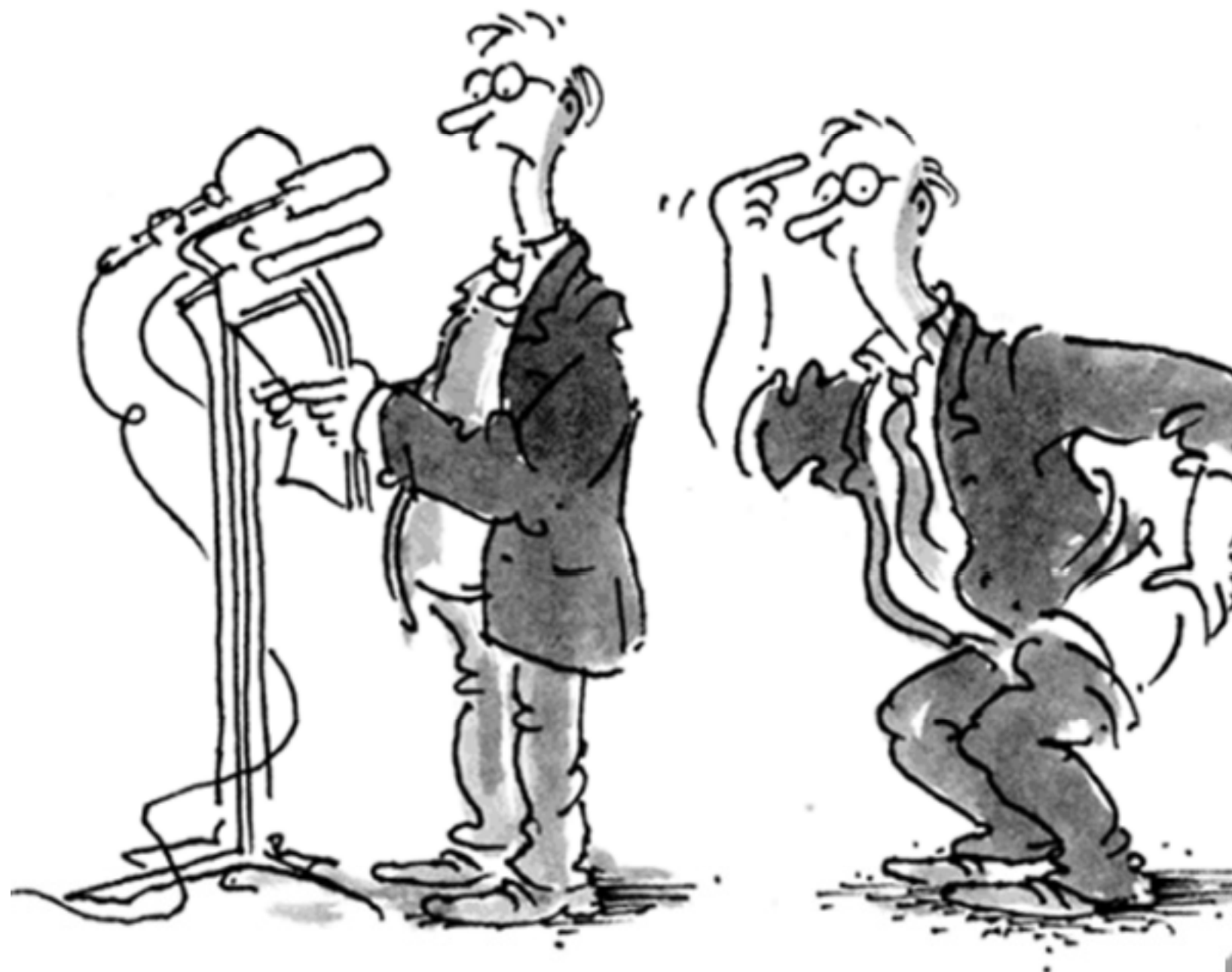
Děkuji za pozornost!



Otázky ?

milos.bohonek@uvn.cz





ZPRÁVA O SITUACI NA ČESKÉ POLITICKÉ SCÉNĚ
JE SIMULTÁNNĚ TLUMOCĚNA DO ZNAKOVÉ ŘEČI.



KDYBY DŘÍV RODIČE ČASTĚJI POUŽÍVALI ŘEMEN, NEMUSELA DNES POLITICKÁ SCÉNA VYPADAT TAK, JAK VYPADÁ.