

**Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta v Hradci Králové**  
**Fakultní nemocnice Hradec Králové**

## **Automatizované multikomponentní odběry složek krve**

**MUDr. Renata Procházková**



**Autoreferát dizertační práce**

**Doktorský studijní program: Vnitřní nemoci**

**Hradec Králové, 2008**

Práce byla zčásti podporována grantem **IGA MZ ČR NR/8015-3.**

Dizertační práce byla vypracována v rámci kombinovaného studia doktorského studijního programu Vnitřní nemoci na Oddělení klinické hematologie při II. interní klinice Lékařské fakulty v Hradci Králové, Univerzity Karlovy v Praze a Fakultní nemocnice Hradec Králové.

**Uchazeč : MUDr. Renata Procházková**

Transfuzní oddělení, Krajská nemocnice Liberec

**Školitel : Prof. MUDr. Milan Bláha, CSc.**

II. interní klinika - Oddělení klinické hematologie

Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta v Hradci Králové

Fakultní nemocnice Hradec Králové

**Školitel – konzultant : Prof. MUDr. Stanislav Filip, PhD.**

Klinika onkologie a radioterapie

Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta v Hradci Králové

Fakultní nemocnice Hradec Králové

**Oponenti :**

**Prof. MUDr. Vlastimil Ščudla, CSc.**  
Lékařská fakulta UP, Olomouc

**Doc. MUDr. Zdena Gašová, CSc.**  
Ústav hematologie a krevní transfúze, Praha

Stanovisko k dizertaci vypracovala katedra interních oborů Univerzity Karlovy v Praze, Lékařské fakulty v Hradci Králové.

S dizertací je možné se seznámit na děkanátu Lékařské fakulty UK v Hradci Králové, Šimkova ul. 870.

**Prof. MUDr. Jan Bureš, CSc.**

Předseda komise pro obhajoby dizertačních prací  
v doktorském studijním programu Vnitřní nemoci.

## OBSAH

1. Úvod.....	4
1.1. Multikomponentní odběry – princip metody.....	5
1.2. Výběrová kritéria dárců krve .....	5
1.3. Vliv aferéz na dárce krve .....	5
1.4. Jakost transfuzních přípravků .....	6
2. Cíle práce.....	7
3. Metodika.....	8
3.1. Krevní separátory a odběrové protokoly .....	8
3.2. Soubor dárců.....	9
3.3. Hodnocené parametry.....	10
3.4. Statistické metody.....	12
4. Souhrnné výsledky.....	13
4.1. Aferetické parametry.....	13
4.2. Vliv MKO na dárce krve.....	13
4.3. Jakost transfuzních přípravků.....	17
4.4. Vstupní kritéria pro dárce krve.....	20
5. Rozprava.....	21
6. Závěr.....	26
7. Souhrn.....	26
8. Seznam vybrané literatury.....	29
9. Přehled publikací a přednášek.....	36

## 1. Úvod

Léčba krví má zajímavou historii, která se vyvíjela od původních mystických představ až po vědecky zdůvodněné metody dnešní hemoterapie. Mezi historické milníky vědeckého vývoje patří objev krevního oběhu W. Harweyem r. 1616, první převod lidské krve J. Blundelem v roce 1816, objev krevních skupin K. Landsteinerem v r. 1901 (32), použití citrónanu sodného jako antikoagulační látky v roce 1915, objev skladovacího roztoku ACD, který umožnil skladovat odebranou krev 21 dnů, vývoj plastických hmot a uzavřených souprav pro odběr a kompletní zpracování odebrané krve (18). Neméně významný přínos znamenal objev krevních separátorů, umožňujících selektivní odběr vybrané krevní složky (6). Transfuzní přípravky pro zajištění hemoterapie je tak dnes možné získávat klasickými odběry plné krve a jejím následným zpracováním na jednotlivé složky anebo aferetickými technikami. Cílem obou způsobů je získání transfuzního přípravku (TP) požadované jakosti, s minimálním vlivem odběru na zdravotní stav dárce krve.

Multikomponentní odběry krve (MKO) jsou moderní alternativou k dárcovství plné krve. Jedná se o nový trend v transfuzním lékařství, kdy při odběru jednoho dárce na krevním separátoru lze odebrat erythrocyty, trombocyty a plasmu v různých kombinacích současně. Metoda umožňuje přípravu standardizovaných přípravků vysoké jakosti, přináší výhody pro pacienty i transfuzní pracoviště. Problematika je v současné době intenzivně studována (41, 48, 49, 75, 76 a další).

Pro pacienty má aplikace více transfuzních přípravků od jednoho dárce význam zejména u polytransfundovaných pacientů. Lze tak snížit možnost imunizace hemoterapií (37,63) i možné riziko infekčních komplikací včetně septických, zvláště po aplikaci trombocytárních koncentrátů (33,46). Aplikace erythrocytárních koncentrátů s vysokým standardním obsahem hemoglobinu může prodloužit interval mezi následnými transfuzemi (30). Metoda může být vhodná i při autotransfuzích (25).

Pro transfuzní pracoviště metoda přináší zvýšení flexibility, umožňuje lepší organizaci odběrů podle aktuálních požadavků a racionální využití dárcovské základny, zejména při chronickém nedostatku dárců a stoupajících nárocích na jejich výběr (4,21,41). Metoda MKO umožňuje odběr více přípravků na základě klinických indikací, jako jsou např. požadavky na CMV-negativní produkty nebo HLA shodné či PL A1 negativní trombocyty (37,17,64). Výsledkem MKO je přípravek ve finální formě, není již třeba další nákladná technika a pracovní síla na následné zpracování, jako tomu je u odběrů plné krve. Metoda je tak jen relativně nákladná, ekonomizaci přináší vhodná volba kombinací odběrů (15, 41).

### 1.1. Multikomponentní odběry - princip metody

Metoda představuje několik desítek minut trvajících odběr na krevním separátoru, kterým proteče zhruba 1/2 celkového krevního objemu dárce. Během tohoto procesu je krev dárce odváděna speciálním setem intermitentně v cyklech po cca 250 ml, anebo průběžně kontinuální aferézou. Je vystavena kontaktu s odběrovým materiálem a centrifugací (cca 3000 - 7000 otáček) (63), kterou jsou podle specifické hmotnosti oddělovány jednotlivé buněčné složky krve a plasma. Žádané složky jsou sbírány do vaků. Do krevního oběhu dárce se vrací složky krve, které nejsou předmětem sběru. V současné době lze MKO provádět na několika typech krevních separátorů (37). Přístroje pracují automaticky, řízeny jsou počítači. Obsluha zvolí žádanou proceduru a pak sleduje její průběh, případně zasahuje při poruchách nebo vedlejších příhodách. Nejčastější kombinace odběrů jsou dvě jednotky erytrocytů, trombocyty v kombinaci s plasmou či erytrocyty, či dvě jednotky trombocytů. Odběr plasmy není prioritou (77). Při dvojité erythrocytaferéze a odběrech převyšujících 650 ml krevních složek je nutná objemová náhrada. Při jedné aferéze lze odebrat maximálně 13% TBV (78).

### 1.2. Výběrová kritéria pro dárce multikomponentních odběrů

Pro výběr dárců zatím nejsou stanovena jednotná kritéria. Autoři proto postupují dle Doporučení Rady Evropy (78) a jejich kombinací s národními kritérii pro aferézy či vlastním zkušenostmi (4,72). Doporučení Rady Evropy obsahuje základní kritéria pro výběr dárců krve (váha > 50 kg, hemoglobin (Hb) u mužů > 135 g/L, u žen > 125 g/L, počet trombocytů při trombocytaferéze >  $150 \times 10^9/L$ ) a přesné požadavky na odběr 2 jednotek erytrocytů (váha > 70 kg, TBV > 5 000 ml, Hb > 140 g/L, Ht > 0,42, interval mezi odběry 6 měsíců). Vstupní kritéria pro ostatní typy MKO nejsou stanovena. Doporučuje se hodnocení více vstupních ukazatelů zdravotního stavu dárce, jako hodnotu feritinu u dvojitých odběrů erytrocytů (9,37) nebo předodběrový počet trombocytů dárce ve vztahu k TBV apod. (4). Limitujícím faktorem se ukazuje být délka procedury, zejména u bezplatných dárců krve.

### 1.3. Vliv aferéz na dárce krve

Dle současných zkušeností je metoda považována pro dárce krve za bezpečnou (15). Mezi krátkodobé efekty běžných aferéz na dárce patří např. bolest při vpichu, neasea, hematomy, citrátové a oběhové reakce a další (5,7,39,42). U MKO je spektrum jejich výskytu podobné, výskyt oběhových reakcí bývá i nižší než u dárců plné krve (17). Z dlouhodobých vlivů procedury na dárce krve byla sledována zejména úprava hematologických parametrů a zásob železa po dvojité erythrocytaferéze (26,63). Názory na preventivní substituci přípravky železa u dárců nejsou jednotné. Vyšetření hladiny feritinu je doporučováno jako marker

výběru a sledování dárce, jeho hladina však není stanovena (9,26). Kompletní dlouhodobé sledování zdravotního stavu dárců MKO jsme v dostupné literatuře nenalezli.

Při aferetických odběrech dochází k dlouhotrvajícímu kontaktu s odběrovým materiálem. Zvýšená hladina annexinu V a P-selektinu u odběrů plně krve upozorňuje na možnou prokoagulační aktivaci stykem krve s odběrovým materiálem (19). U MKO jsme informace o možném vlivu dlouhodobého kontaktu krve s odběrovým materiálem na krevní buňky navrácené dárci v dostupné literatuře nenalezli.

#### **1.4. Jakost transfuzních přípravků**

Důležitou součástí výroby transfuzních přípravků je kontrola jejich jakosti, na kterou má vliv řada faktorů. Standardně jsou hodnoceny základní parametry jakosti hodnotící obsah účinné látky (obsah Hb a Ht u koncentrátů erytrocytů, u koncentrátů trombocytů jejich počet), dále buněčnou kontaminaci přípravků, zejména příměs leukocytů. Obsah volného Hb jako markeru probíhající hemolýzy je stanovován u erytrocytárních koncentrátů (67,78). Speciální parametry jakosti transfuzních přípravků: Krevní buňky podléhají během odběru, zpracování a skladování významným morfologickým a biochemickým změnám, které jsou ovlivněny řadou faktorů, například technologií odběru, složením antikoagulačního roztoku, kontaktem s povrchem odběrového vaku či setu, metodou zpracování, či způsobem leukofiltrace. Tyto alterace u erytrocytů i trombocytů v koncentrátech limitují jejich skladovatelnost a dle některých autorů mohou asociovat se snížením potransfuzní recovery in vivo. U trombocytů v koncentrátech je uvedený proces navíc ovlivněn i jejich vysokou senzitivitou na stimuly během přípravy (1,3,12,22,50,59,66,68). Metabolické alterace krevních buněk se odráží např. ve změnách pH, zvýšení LDH v supernatantu, v konzumpci glukózy a produkci laktátu. Za moderní marker jakosti krevních buněk je považován annexin V, globální marker apoptózy. Jeho zvýšená plasmatická hladina je v přímé relaci se stupněm buněčného poškození a jeho stanovení je používáno jako vysoce senzitivní parametr kvality trombocytárních koncentrátů, u erytrocytárních koncentrátů byl použit zatím ojedinele v korelaci s volným hemoglobinem a kaliem (2, 23, 29, 34, 45, 60,71).

Stav krevních buněk je dále významně ovlivněn obsahem leukocytů v přípravku. Snížení obsahu leukocytů časnou leukodeplecí snižuje uvolnění většiny na leukocyty vázaných cytokinů a intracelulárních enzymů, které mohou indukovat poškození erytrocytů i trombocytů v koncentrátech během skladování (38,58,62). Obsah cytokinů v přípravcích tak může být vhodným indikátorem jakosti TP (61). Specifickou změnou pro trombocyt je aktivace. Podobně jako proces apoptózy je aktivace trombocytu spojena s morfologickými a

funkčními změnami. Významným markerem je vzestup hladiny P-selektinu (12,36,40,58). Specifické změny při skladování erytrocytů („red cell storage lesions“), jako jsou pokles obsahu 2,3-difosfoglycerátu, adenosintrifosfátu, změny kalia a další, byly popsány již v roce 1956 (20). Tyto změny progredují během skladování a jsou ovlivněny antikoagulačními a skladovacími roztoky (66).

Vzrůstající počet literárních referencí ke zkoumané problematice je zaměřen zejména na sledování jakosti produktů. Přípravky získané metodou MKO byly srovnatelné, dle některých autorů i vyšší jakosti než přípravky z plné krve. Speciální markery (annexin V, P-selektin) byly sledovány u trombocytárních koncentrátů, kde byly prokázány rozdíly nejen mezi aferetickými přípravky a přípravky z plné krve, ale i mezi produkty z různých typů separátorů. U erytrocytů z aferézy jsme reference o annexinu V v literatuře nenalezli. Byla vyslovena potřeba dalších studií (15,37,35,36, 44,68). Sledování zdravotního stavu dárce je publikováno ojediněle, dlouhodobé sledování dárců chybí. V naší zemi se multikomponentní odběry provádějí na ojedinělých pracovištích, komplexní publikace v českém odborném přsemnictví zatím nejsou.

## 2. Cíle práce

Cílem práce bylo blíže prozkoumat a zhodnotit vybrané, dosud ne zcela jasné otázky:

2.1. Zhodnotit přímý vliv MKO na zdravotní stav dárce krve – vedlejší účinky aferéz, bezprostřední vliv procedury na parametry krevního obrazu, zhodnotit vliv procedury na markery aktivity krevních buněk navracených dárci (hsCRP, annexin V, P-selektin), toto posoudit u jednotlivých odběrových protokolů.

2.2. Posoudit dlouhodobý vliv MKO na dárce s cílem vybrat vhodné parametry pro dlouhodobé monitorování zdravotního stavu dárce. Zaměřit se na krevní obraz, parametry metabolismu železa (feritin, transferinový receptor), celkovou bílkovinu, albumin a imunoglobuliny. Posoudit současné schema sledování zdravotního stavu dárce pro aferetické odběry a posoudit nutnost jeho doplnění.

2.3. Zhodnotit předepsané (základní) a speciální parametry jakosti, markery poškození a aktivace přípravek získaných MKO a jejich možný přínos vůči přípravkům z plné krve.

2.4. Na základě získaných poznatků upřesnit vstupní kritéria pro dárce MKO a posoudit možnost konverze dárců na tento typ odběrů v našich podmínkách.

2.5. Upřesnit místo a indikaci přípravek získaných metodou MKO v hemoterapii.

2.6. Posoudit ekonomický aspekt metody.

### 3. Metodika

Prospektivní studie byla provedena v letech 2003 –2006. Projekt byl schválen Etickými komisemi KN Liberec, FN a LF UK v Hradci Králové. Součástí studie byl přijatý a obhájený výzkumný projekt IGA MZ ČR č. NR/8015 – 3.

Studie sledovala určené parametry dárců krve pro tento typ odběrů, parametry vlastní procedury a transfuzních přípravků, a porovnávala je s vybranými parametry alikvotního počtu dárců plné krve a přípravků z plné krve.

#### 3.1. Krevní separátory a odběrové protokoly

Odběry jsme prováděli na již zavedeném separátoru Haemonetics MCS+ (Haemonetics Corp., Braintree, USA) (dále MCS), metodu MKO jsme nově zavedli na separátoru Trima Accel (Gambro BCT, inc. Lakewood, USA) (dále Trima). Separátor Haemonetics MCS+ umožňuje provádět odběry intermitentním způsobem, deleukotizace trombocytárních koncentrátů probíhá kontinuální filtrací, pro jednotlivé kombinace odběrů jsou třeba speciální sety. Aferéza na separátoru Trima je kontinuální, trombocytární koncentráty jsou připravovány speciálním leukoredukčním systémem, pro celé spektrum odběrů slouží universální set. Erytrocytární koncentráty připravené oběma uvedenými separátory mohou být následně deleukotizovány.

Na separátoru MCS byly provedeny odběry 2 jednotek trombocytů (TA: 1 TU > 200 x 10<sup>9</sup> PLT a odběry trombocytů s plasmou (TA: 1 TU > 200 x 10<sup>9</sup> PLT, TA300 MCS: 1,5 TU > 300 x 10<sup>9</sup> PLT, objem plasmy 240 ml/TU). Odběry byly provedeny bez objemové náhrady. Dále jsme provedli odběry 2 jednotek erytrocytů (kompensace kontinuální infuzí 400 ml fyziologického roztoku) (30). Erytrocyty z aferézy resuspendované (EAR MCS) byly po odběru resuspendovány ve 100 ml roztoku SAGM na jednotku. Ervtrocyty z aferézy deleukotizované (EAD MCS) byly po odběru rovněž resuspendovány ve 100 ml roztoku SAGM a následně deleukotizovány filtry integrovanými v setu (RC 2H PALL, Miláno, Itálie). Kombinované odběry trombocytů a erytrocytů jsme na přístroji MCS neprováděli vzhledem k dlouhému trvání aferézy (37).

Na separátoru Trima jsme provedli kombinované odběry trombocytů s plasmou (TA300 Trima: 1,5 TU: > 300 x 10<sup>9</sup> PLT, objem plasmy 230 ml/TU), odběry trombocytů s erytrocyty (TA300 + RBC) a ojediněle odběry 2 jednotek trombocytů (TA: > 200 x 10<sup>9</sup> PLT). Spektrum odběrů uvádí **tab. č. 1**.



**Tab. č. 1 Spektrum provedených odběrů**

typ odběru	Dle skupin dárců			Dle přístrojů	
	Celkem	Skupina A	Skupina B	MCS	Trima
2 TU RBC	98	98	0	98	0
2 TU TA	11	5	6	5	6
TA + PA	5	1	4	5	0
TA300 + PA	83	21	62	47	36
TA300 + RBC	28	0	28	0	28
<b>Celkem</b>	<b>225</b>	<b>125</b>	<b>100</b>	<b>155</b>	<b>70</b>

Legenda: RBC: erytrocyty z aferézy, PA: plasma, TA: trombocyty z aferézy ( $> 200 \times 10^9$  PLT), TA300: trombocyty z aferézy ( $> 300 \times 10^9$  PLT), TU: transfuzní jednotka, Skupina A: odběry 2 TU koncentrátů erytrocytů, trombocytárních koncentrátů, Skupina B: odběry koncentrátů trombocytů.

### 3.2. Soubor dárců

Sledovaný soubor tvořilo 52 dárců (48 mužů a 6 žen). Do souboru byli podle časové posloupnosti a požadavku na transfuzní přípravek zařazeni dobrovolní bezplatní dárci plasmy, kteří přicházeli k odběru v době od 24.10.2003 do 15.6.2004 a podepsali informovaný souhlas. U tohoto souboru provedeno 225 MKO, u jednotlivých dárců byly odběry prováděny opakovaně. Zkoumaný soubor byl rozdělen na dvě skupiny. Ve skupině A jsou zařazeni dárci, u kterých byly provedeny odběry 2 TU RBC a tyto odběry nebyly prováděny u skupiny B. Ve skupině B jsou dárci, kde byly provedeny odběry TA 300 + RBC. Ostatní odběry, tj. 2 TU TA, TA + PA a TA300 + PA byly prováděny u obou skupin. Důvodem rozdělení byla potřeba monitorovat parametry metabolismu železa po odběrech 2 TU RBC.

Před každým odběrem byl dárcé vyšetřen lékařem a zhodnocena vstupní kritéria. Vstupní kritéria pro dárci při MKO jsme stanovili dle Doporučení Rady Evropy modifikovaných dle vlastních zkušeností (53), pro trombocytaferézy na separátoru Trima byla akceptována předodběrová hodnota trombocytů min.  $220 \times 10^9/L$  doporučená výrobcem (tab. č. 2).

U zkoumaného souboru byl prováděn longitudinální sběr a hodnocení dat, jak bude uvedeno níže. Pro posouzení vstupních kritérií dárců u trombocytaferéz nebyl soubor dle našeho názoru a po konzultaci se statistikem dostatečně početný. Proto jsme pro tyto účely zhodnotili aferetické parametry a základní jakost u dalších souběžně provedených MKO u 80 dárců (37 odběrů 2 TA, 86 odběrů TA + PA a 12 odběrů TA300 + RBC, 68 mužů, 12 žen).

**Tab. č. 2 Pracovní výběrová kritéria pro dárce krve**

Parametry	2 TA, TA+PA	TA + RBC	2 RBC	
TBV (ml)	> 4300	> 4300	> 5000	
Váha (kg)	nebo > 65	>50	> 70	
Hematokrit	Muži > 0,40 Ženy > 0,38	> 0,30*	> 0,42	> 0,30*
Hemoglobin (g/L)	Muži > 135 Ženy > 125	> 110*	> 140	> 110*
Trombocyty x 10 <sup>9</sup> /L	1TU > 200 MCS > 260 Trima > 220	Trima > 220	-	
Časový limit (min)	< 75		-	

Legenda: RBC: erytrocyty z aferézy, TA: trombocyty z aferézy, PA: plasma, TU: transfuzní jednotka (TA: > 200 x 10<sup>9</sup> PLT), \* limit hodnot po odběru.

### 3.3. Hodnocené parametry

#### 3.3.1. Ukazatele přímého vlivu MKO na zdravotní stav dárce

- a) Klinické projevy aferéz: U jednotlivých typů odběrů jsme sledovali jsme bezprostřední nežádoucí projevy výkonů.
- b) Laboratorně: U vybraných kombinací odběrů (2 TU RBC, TA300 MCS, TA300 Trima, TA300 + RBC) jsme sledovali změnu hodnot Hb, Ht a trombocytů (PLT) po aferéze a změnu plasmatické hladiny Ca a Mg (průkaz možného vlivu citrátového antikoagulans). U odběrů 2 TU RBC, TA300 MCS a TA300 Trima byly sledovány markery poškození a aktivity krevních buněk navrácených dárci po aferéze (hsCRP, annexin V), u TA300 MCS a TA300 Trima navíc změny hladin sP- selektinu.

#### 3.3.2. Ukazatele dlouhodobého vlivu MKO na zdravotní stav dárce

- a) Markery metabolismu železa - hladina Fe, transferin, ferritin, solubilní transferinový receptor (sTfR) a jeho index (qTfRI) byly sledovány u obou souborů po 180 dnech, u souboru A navíc v den 30 a 90 po dvojité erythrocytaferéze. Po 4. erythrocytaferéze byl sledován již jen ferritin z finančních důvodů. Preparáty železa jsme preventivně nepodávali.
- b) V půlročních intervalech byla sledována hodnota celkové bílkoviny, albuminu a imunoglobulinů G, A a M.

### 3.3.3. Parametry aferéz

U všech kombinací odběrů jsme hodnotili celkový objem krve dárce (TBV), zpracovaný objem krve (TPV), trvání aferézy, spotřebu antikoagulans, odebrané množství krevních složek v mililitrech a v % TBV.

### 3.3.4. Parametry jakosti transfuzních přípravků

U přípravků získaných čtyřmi kombinacemi odběrů na dvou separátorech byly hodnoceny základní a vybrané speciální parametry jakosti. Výsledky byly porovnány navzájem, dále s parametry odpovídajících přípravků z plné krve a korelovány k vstupním parametrům dárce krve.

**a) Erytrocytární koncentráty:** Hodnotili jsme EAD MCS a EAD Trima, dále EAR MCS s cílem posoudit vliv kontaminace leukocyty na jakost produktů. V den skladování 0 a 40 jsme hodnotili objem, obsah Hb, Ht, hodnotu pH, hladinu volného Hb, LDH, kalia, glukosy, laktátu a annexinu V. Kontaminaci leukocyty jsme stanovili v den 0. V případě annexinu V jsme navíc porovnávali jeho hladinu v přípravku vůči klidové hodnotě u dárce krve.

**b) Trombocytoární koncentráty:** Objem, obsah trombocytů a kontaminaci leukocyty jsme hodnotili u všech získaných TU. U TA300 Trima, TA300 MCS a kontrolního souboru trombocytů z plné krve (TB) jsme v den skladování 0 a 5 stanovili hodnotu pH, glukosy, laktátu, LDH, annexinu V a sP-selektinu. V případě annexinu V a sP-selektinu jsme navíc porovnávali jejich hladinu v přípravku vůči klidové hodnotě u dárce krve.

Pro vyšetření trombocytoárních koncentrátů byly vzorky odebírány v den 0 a den 5 resp. 6. V den 0 bylo odebráno bezprostředně po přípravě 10 ml přípravku, centrifugováno 5 min. při 5000 ot. na laboratorní centrifuze Jouan C 3.12 (Jouan S.A., Francie). U koncentrátů erytrocytů byly vzorky odebírány v den 0 a den 40. V den 0 bylo odebráno bezprostředně po přípravě 23 ml přípravku, centrifugováno 5 min. při 3400 ot. na laboratorní centrifuze Jouan C 3.12 (Jouan S.A., Francie). Vyšetření pH, laktátu, glukosy a LDH proběhlo týž den do 4 hodin po odběru vzorků. Materiál pro vyšetření annexinu V a sP selektinu byl zamražen v alikvotech a skladován při  $-30^{\circ}\text{C}$ . Odběry vzorků pro laboratorní vyšetření přípravků byly prováděny validovaným sterilním způsobem.

Kontrolní soubor dárců plné krve k porovnání stanovených parametrů zdravotního stavu u souboru aferetických dárců tvořilo 26 mužů, odběry byly prováděny 4x ročně. Pro hodnocení parametrů jakosti transfuzních přípravků byly zavzaty odběry plné krve i u 16 žen. Kontrolní soubory transfuzních přípravků: Vybrali jsme odpovídající typy běžně používaných přípravků z plné krve – erytrocyty resuspendované deleukotizované (ERD) a trombocyty

z buffy coatu (TB). K porovnání aferetických parametrů jsme použili historický soubor 34 jednoduchých trombocytaferéz provedených na separátoru MCS. Soubory byly početně porovnatelné.

**Laboratorní analýza:** Krevní obraz dárců a buněčné parametry jakosti erytrocytů byly stanovovány na přístroji Coulter T 890 a Coulter STKS. Počet trombocytů v přípravcích byl stanoven na přístroji Coulter STKS (Beckman Coulter, Florida, USA). Přítomnost leukocytů v deleukotizovaných přípravcích byla stanovena v Nageottově komůrce (lyzační roztok Turck firmy Merck). Biochemická vyšetření byla provedena na Oddělení klinické biochemie KN Liberec. Pro stanovení parametrů u dárců krve a přípravků byly použity následující metody: celková bílkovina metodou biuretové reakce (kit Total Protein, kat. č. 2000903, Roche Diagnostics), albumin reakcí s BCG (kat. č. 1970909, Roche Diagnostics), elektroforéza bílkovin metodou Sebia, elfo na agaroze. Imunoglobuliny byly stanoveny munoturbidimetry kity Roche Diagnostics (IgG-2, kat. č. 3507408, IgM-2, kat.č. 3507149, IgA-2, kat. č. 3507297). Plasmatická hladina železa byla vyšetřena kitem FerroZin, (kat. č. 1876996, Roche Diagnostics), feritin soupravou Elecsys Ferritin (kat. č. 03737551, Roche Diagnostics), transferin imunoturbidimetry (Transferin ver. 2, kat.č. 3015084, Roche Diagnostics), solubilní transferinový receptor latexem usnadněnou turbidimetrií (sTfR, kat.č. 2148315, Roche Diagnostics), hladina kalia nepřímou potenciometrií (ISE indirect Na,K,Cl, kat.č. 825441, Roche Diagnostics) a hladina magnézia reakcí s xylidilovou modří (Mg, kat.č. 1551353, Roche Diagnostics). Imunologická vyšetření byla provedena na Ústavu klinické imunologie a alergologie FN v Hradci Králové. K stanovení hladiny annexinu V byl použit kit IMUCLONE Annexin ELISA Kit, kat. č. 650 (American Diagnostica Inc., Stamford, USA). Solubilní P-selektin byl stanoven pomocí kitu Human Soluble P-Selectin Immunoassay, kat. č. BBE 6 (R & D Systems Inc., Minneapolis, USA).

### 3.4. Statistické metody

Cílem statistického hodnocení bylo hodnocení určených parametrů u zkoumaných souborů dárců i transfuzních přípravků v časové ose a hodnocení parametrů mezi hodnoceným a kontrolním souborem navzájem. Pro prezentaci dat byly použity základní grafické nástroje (spojnicové a sloupcové grafy) a přehledové tabulky (průměru, medián, směrodatná odchylka, range). K statistickému hodnocení byl použit statistický software Excel 4.0. K hodnocení normality rozložení dat v souborech jsme použili D'Agostiniův test. Pro normálně rozložená data byl použit Studentův t-test, F-test, párový test a Pearsonův korelační koeficient. Pro soubory s nenormálně rozloženými daty byl použit Mannův –

Whitneyův test, Wilcoxonův párový test a Spearmanův korelační koeficient. Statistická významnost byla posouzena na hladině  $p < 0,05$ .

#### 4. Souhrnné výsledky

##### 4.1. Aferetické parametry

Sledované parametry aferéz - celkový objem krve dárce (TBV), trvání odběru, spotřebu antikogulačního roztoku, množství zpracovaného objemu krve (TPV), odebrané množství krevní složky a dosažení predikované jakosti přípravků uvádí **tab. č. 3**.

Dvojitá erythrocytaferéza trvala průměrně 40 min. (stejně jako běžný odběr plasmy). Současný odběr plasmy při odběru TA + PA vedl ke zkrácení jeho trvání o 8 minut, snížila se spotřeba antikoagulans o 23 ml a TPV o 156 ml (pro vše platí:  $p < 0,001$ ). Odběr druhé jednotky trombocytů vedl k prodloužení aferézy o 12 min., zvýšila se spotřeba antikoagulans o 20 ml a TPV o 480 ml (vše  $p < 0,001$ ). Trvání aferézy u odběru TA300 + PA na separátoru Trima bylo významně kratší (54 min.), současně zde byl i nižší průměrný předodběrový počet PLT u dárce ( $263 \times 10^9/L$ ) v porovnání s odběrem na separátoru MCS (vše  $p < 0,001$ ) (**tab. č. 3**). U obou přístrojů trvání aferéz silně záviselo na předodběrovém počtu PLT dárce ( $r$ : MCS - 0,8; Trima - 0,9), závislost na TBV byla minimální ( $r$ : MCS - 0,1; Trima - 0,2). U odběru TA300 + RBC jsme zjistili obdobné výsledky a vztahy.

##### 4.2. Vliv MKO na dárce krve

###### 4.2.1. Bezprostřední vliv MKO na zdravotní stav dárce krve

Při hodnocení přímého vlivu procedury jsme nezaznamenali žádné závažné klinické vedlejší účinky. Po odběrech nedošlo k poklesu hladiny Ca a Mg pod fyziologické meze. U odběrů 2 TU RBC Hb poklesl průměrně o  $18 \pm 5 \text{ g/L}$  a Ht o  $0,06 \pm 0,02$  (obojí  $p < 0,001$ ), ke změně počtu trombocytů nedošlo ( $p = 0,85$ ). Pokles PLT po odběru TA300 + PA na separátoru MCS činil  $49 \pm 22 \times 10^9/L$  ( $p < 0,001$ ). Na separátoru Trima činil pokles PLT po odběru  $50 \pm 18 \times 10^9/L$  ( $p < 0,001$ ). U odběrů TA300 + RBC počet PLT klesl o  $43 \pm 14 \times 10^9/L$  ( $p = 0,02$ ), změny Hb a Ht nebyly statisticky významné (Hb: pokles o  $2 \pm 3 \text{ g/L}$ ,  $p = 0,43$ ; Ht:  $0,00 \pm 0,01$ ,  $p = 0,45$ ).

**Markery poškození krevních buněk navrácených dárce (tab. č. 4):** U odběrů TA300 + PA a 2 TU RBC nedošlo k statisticky významnému zvýšení annexinu V po aferéze, u odběrů TA300 + PA ani ke změně hladin sP-selektinu. To svědčí, že krevní buňky nebyly aferézami poškozeny a aktivita buněk navrácených dárce krve nebyla procedurami ovlivněna

Tab. č.3 Ateretické parametry

Typ odběru	TBV dárcce (ml)	TPV (ml)	TPV/TBV %	PLT <sup>1</sup> ( $\times 10^9/L$ )	Čas <sup>2</sup> (min)	Antikoagulant <sup>3</sup> (ml)	Odebraný objem (ml)	Odebrané % TBV	PLT <sup>5</sup> ( $\times 10^9/TU$ )
<b>2 RBC</b>									
(n=64)	5555 ± 394	1121 ± 49	20 ± 1	-	40 ± 3	74 ± 3	385 ± 8	7 ± 0,5	-
<b>2 TA</b>									
(n = 48)	5189 ± 587	2581 ± 295	50 ± 7	341 ± 35	70 ± 8	213 ± 19	386 ± 13	7,5 ± 0,8	241 ± 33
<b>TA+PA</b>									
(n=81)	5443 ± 565	1945 ± 304	36 ± 7	267 ± 45	50 ± 8	170 ± 20	478 ± 29	8,7 ± 1,1	277 ± 41
<b>TA300+PA</b>									
MCS (n=57)	5537 ± 516	2416 ± 281	39 ± 1	293 ± 33	62 ± 8	200 ± 19	512 ± 30	9,3 ± 1,0	366 ± 44
<b>TA300+PA</b>									
Trima (n=30)	5517 ± 540	2347 ± 286	43 ± 6	263 ± 40	54 ± 2	286 ± 32	503 ± 12	9,2 ± 1,0	351 ± 37
<b>TA300+RBC</b>									
(n=40)	5437 ± 661	2633 ± 284	49 ± 7	276 ± 41	51 ± 5	332 ± 32	485 ± 8	9,0 ± 1,1	330 ± 31
<b>TA<sup>6</sup></b>									
(n=34)	5136 ± 627	2101 ± 233	42 ± 7	244 ± 33	58 ± 8	193 ± 23	243 ± 22	4,8 ± 0,7	256 ± 39

Legenda: <sup>1</sup> počet trombocytů dárcce před odběrem, <sup>2</sup> tvárni aferézy, <sup>3</sup> celková spotřeba antikoagulačního roztoku, <sup>4</sup> odebraný objem včetně antikoagulans, <sup>5</sup> obsah trombocytů v 1 TU, <sup>6</sup> kontrolní soubor. RBC: erytrocyty, PA: plasma, TA: trombocyty z aferézy (>200 x 109 PLT), TA300: trombocyty z aferézy (> 300 x 109 PLT), hodnoty udány v AV ± SD (průměr a směrodatná odchylka).

**Tab. č. 4 Změny annexinu V a sP-selektinu u dárců po aferéze**

		Annexin V (ug/L)			sP-selektin (ug/L)		
		Před	Po	p	Před	Po	p
<b>2 TU RBC</b> n = 21	AV/SD	10,7 ± 8,8	10,2 ± 8,5	< 0,01	nevyšetřeno		
	range	1,0 - 28,3	0,8 - 27,5				
	medián	8,0	8,1				
<b>TA 300+PA MCS</b> n = 22	AV/SD	9,8 ± 6,9	9,1 ± 5,8	0,22	84,3 ± 60,4	80,8 ± 47,8	0,47
	range	1,6 - 23,3	2,1 - 19,5		16,9 - 268,1	18,5 - 189,5	
	medián	8,9	7,4		84,3	80,8	
<b>TA 300 +PA Trima</b> n = 26	AV/SD	9,9 ± 5,9	9,3 ± 6,0	0,24	70,2 ± 35,2	68,9 ± 33,7	0,65
	range	2,0 - 25,1	1,1 - 19,9		31,1 - 146,9	25,3 - 159,6	
	medián	8,5	8,1		70,2	68,9	

Legenda: RBC: erytrocyty z sferézy, PA: plasma, TA300: trombocyty z aferézy (> 300 x 10<sup>9</sup> PLT).

#### 4.2.2. Dlouhodobý vliv MKO na dárce krve

**Vývoj Hb a parametrů metabolismu Fe u dárců 2 jednotek RBC (soubor A) uvádí tab. č. 5.** Za 30 dnů po odběru jsme zaznamenali statisticky významné změny všech sledovaných parametrů, tzn. snížení hodnot Hb, Ht, Fe, saturace transferinu, feritinu a vzestup hodnot transferinu, sTfR a qTfRi. U většiny dárců došlo ke spontánní úpravě uvedených parametrů na předodběrové hodnoty. U hodnot Hb, Ht, plasmatického Fe a saturace transferinu tomu tak bylo již za 90 dnů po odběru (25 dárců). Úprava hladiny feritinu trvala 180 dnů u 22 dárců, u dalších dárců 270 - 360 dnů po odběru. K úpravě hodnot transferinu, sTfR a qTfRi za 180 dnů nedošlo, vývoj hodnot měl však tendenci k úpravě. Dárci, u kterých došlo k doplnění zásob Fe za 180 dnů, měli průměrnou vstupní hodnotu feritinu vyšší (50,8 ± 21,3 ug/L) nežli dárce, u kterých k doplnění zásob na hodnotu před odběrem nedošlo (34,2 ± 8,3 ug/L) (p = 0,004). Po redukci sledovaného souboru na 20 dárců (pracovní a zdravotní důvody) se ukázalo, že 17 dárců opakovaně spontánně doplňuje zásoby železa v intervalu 180 dnů, a 3 dárce opakovaně potřebují k spontánní obnově těchto zásob 270 dnů. Při hodnocení vývoje hodnot sTfR a qTfRi jsme zjistili statisticky významné rozdíly oproti dnu 0 i po 1., 2. i 3. erythrocytaferéze (p < 0,001). U dárců souboru B (odběry trombocytů s plasmou) nebyly u parametrů uvedených v tab. č. 5 zjištěny statisticky významné rozdíly v den 0, 180, 360 ani 720.

U souboru dárců plné krve byl dlouhodobý vývoj Hb, Ht a parametrů Fe obdobný. U Hb, Ht, Fe a saturace transferinu nedošlo ve dnech 90, 180 a 360 statisticky významnému snížení hodnot (vše p > 0,05). Hladina feritinu byla v den 90 a 180 snížena v porovnání

s hodnotou v den 0 ( $p = 0,001$ ), v den 360 nikoli ( $p = 0,09$ ). Hodnoty sTfR a qTfRi byly statisticky významně zvýšeny po celou dobu sledování ( $p < 0,001$ ). Přípravek železa jsme museli podat u tří dárců, z toho u dvou dárců jsme zjistili pozitivní okultní krvácení.

Při hodnocení hladin celkové bílkoviny, albuminu a imunoglobulinů jsme nezjistili v dvouletém sledování statisticky významné změny jejich hladin (soubor A: CB:  $p = 0,20$ , albumin:  $p = 0,10$ , IgG:  $p = 0,41$  a IgM:  $p = 0,89$ , IgA:  $p < 0,01$  - zde byl vzestup hladiny u 2 dárců, soubor B: CB:  $p = 1,0$ , albumin:  $p = 0,82$ , IgG:  $p = 0,33$ , IgA:  $p = 0,85$ , IgM:  $p = 0,97$ ).

**Tab. č. 5** Hodnocení Hb, Ht a parametrů metabolismu Fe po dvojité erythrocytaferéze

Den			0		30		90		180	
			30	30	p	28	p	30	p	
Hb	g/L	AV/SD	152 ± 7	147 ± 7	< 0,001	151 ± 7	0,28	149 ± 7	0,02	
		range	141-164	136-161		136-164		136-161		
		medián	151	147		153		150		
Ht		AV/SD	0,43 ± 0,02	0,41 ± 0,02	< 0,001	0,43 ± 0,02	0,7	0,43 ± 0,02	0,99	
		range	0,39 - 0,46	0,38 - 0,46		0,38 - 0,47		0,38 - 0,48		
		medián	0,43	0,41		0,43		0,42		
Fe	umol/L	AV/SD	22,0 ± 7,1	18,6 ± 10,1	0,04	21,3 ± 7,8	0,9	20,4 ± 7,5	0,31	
		range	8,9 - 36,1	5,5 - 53,3		6,7 - 39,2		8,3 - 43,8		
		medián	2,7	17,6		21		19,4		
Transferin	g/L	AV/SD	2,74 ± 0,32	3,01 ± 0,32	< 0,001	2,93 ± 0,33	< 0,001	2,88 ± 0,36	< 0,001	
		range	2,09 - 3,49	2,37 - 3,62		2,25 - 3,72		2,27 - 3,84		
		medián	2,73	3,05		2,84		2,8		
Saturace	%	AV/SD	33 ± 11	25 ± 15	0,003	31 ± 13	0,7	29 ± 11	0,11	
		range	14 - 67	6 - 64		14 - 65		11 - 58		
		medián	30	23		28		27		
Feritin	ug/L	AV/SD	47,3 ± 20,4	22,1 ± 10,5	< 0,001	27,8 ± 11,2	< 0,001	41,4 ± 24,6	0,14	
		range	22,3 - 123,1	7,5 - 46,3		7,3 - 78,0		6,0 - 134,1		
		medián	41,3	20,2		24,3		35,6		
sTfR	mg/L	AV/SD	2,92 ± 0,73	4,88 ± 1,03	< 0,001	3,71 ± 0,98	< 0,001	3,37 ± 0,94	< 0,001	
		range	1,62 - 4,46	3,11 - 7,71		1,05 - 7,36		2,17 - 6,75		
		medián	2,79	4,80		3,66		3,32		
qTfRi		AV/SD	0,78 ± 0,20	1,73 ± 0,57	< 0,001	1,27 ± 0,56	< 0,001	1,02 ± 0,58	< 0,001	
		range	0,46 - 1,17	0,89 - 3,73		0,69 - 3,70		0,54 - 3,77		
		medián	0,19	0,57		0,59		0,58		

Legenda: saturace: saturace transferinu, sTfR: solubilní transferinový receptor, qTfRi: index sTfR (= sTfR/In feritin), p: statistická významnost ke dni 0.



### 4.3. Jakost transfuzních přípravků

#### 4.3.1. Erytrocytární koncentráty

**Základní parametry koncentrátů erytrocytů** (objem, Hb, Ht a obsah leukocytů v TU) a jejich vývoj během skladování uvádí **tab. č. 6**. EAD MCS, EAD Trima i EAR MCS vykazaly vysoký standard objemu a obsahu Hb v TU v porovnání s ERD z plné krve. U všech jednotek bylo docíleno predikovaného obsahu Hb ( $> 40$  g/TU). Během skladování nedošlo ke snížení obsahu Hb či hodnot Ht v přípravku. Všechny jednotky EAD MCS i EAD Trima splnily doporučený limit příměsi leukocytů ( $< 1 \times 10^6$ /TU), EAR MCS nikoli. 6 TU stanovený limit ( $< 1,2 \times 10^9$ /TU) nesplnilo, 12 TU obsahovalo hraniční příměs leukocytů ( $> 1 \times 10^9$ /TU). U EAD MCS i EAD Trima byla zjištěna nižší míra korelace obsahu Hb a Ht v produktu s předodběrovými hodnotami Hb a Ht dárce krve v porovnání s přípravky z plné krve (Hb: r : - 0,03/ - 0,01, Ht: r: 0,3/0,21).

**Tab. č. 6 Základní parametry jakosti erytrocytárních koncentrátů**

		Objem	Hemoglobin		Hematokrit		Leukocyty		
		ml/TU	g/TU		/TU		$\times 10^6$ /TU		
			den 0	den 40	p	den 0	den 40	p	
EAD MCS n = 40	AV/SD	268 ± 3	53 ± 2	54 ± 2	<0,001	0,57 ± 0,01	0,59 ± 0,02	<0,001	0,05 ± 0,08
	range	260 - 274	50 - 56	51 - 57		0,55 - 0,60	0,55 - 0,64		0,00 - 0,32
	medián	269	53	54		0,57	0,59		0,01
EAD Trima n = 19	AV/SD	276 ± 8	50 ± 2	51 ± 2	<0,001	0,54 ± 0,01	0,56 ± 0,02	<0,001	0,00 ± 0,00
	range	261 - 294	46 - 54	47 - 54		0,52 - 0,57	0,52 - 0,59		0,00 - 0,00
	medián	276	50	51		0,56	0,56		0,00
EAR MCS n = 40	AV/SD	290 ± 3	59 ± 2	59 ± 1	0,01	0,60 ± 0,02	0,63 ± 0,02	<0,001	0,86 ± 0,29 *
	range	281 - 299	56 - 62	57 - 62		0,57 - 0,64	0,58 - 0,67		0,38 - 1,45
	medián	290	59	59		0,60	0,63		0,84
ERD n = 20	AV/SD	295 ± 25	56 ± 5	54 ± 5	0,02	0,55 ± 0,03	0,53 ± 0,04	0,05	0,02 ± 0,04
	range	252 - 327	47 - 66	46 - 63		0,52 - 0,60	0,45 - 0,59		0,00 - 0,12
	medián	301	56	54		0,54	0,53		0,00

Legenda: EAD MCS: erytrocyty deleukotizované ze separátoru MCS, EAD Trima: erytrocyty deleukotizované ze separátoru Trima, EAR MCS: erytrocyty resuspendované ze separátoru MCS, ERD: erytrocyty deleukotizované z plné krve, \*  $\times 10^9$ , n: počet transfuzních jednotek.

U EAD MCS, EAR MCS, EAD Trima i kontrolního souboru ERD došlo ke statisticky významnému vzestupu **markerů membránového poškození buňky** ( $p < 0,001$ ) (**tab. č. 7**). Předepsaný **stupeň hemolýzy** ( $< 0,8\%$  erytrocytové masy na konci skladování) byl splněn u všech typů produktů. U EAD MCS byl v porovnání s EAD Trima vyšší vzestup vHb i LDH (obojí  $p < 0,001$ ), vzestup hodnot  $K^+$  byl srovnatelný ( $p = 0,19$ ). Při porovnání EAD Trima a ERD byly srovnatelné vzestupy volného Hb ( $p = 0,18$ ) a  $K^+$  ( $p = 0,10$ ). Nejvýznamnější

vzestup volného Hb, K<sup>+</sup>, LDH vykázaly EAR MCS (vše p < 0,001), tedy přípravky nedeleukotizované. Vzestup hodnot annexinu V byl srovnatelný u EAD MCS a EAD Trima (p = 0,33), nejvýznamnější u EAR MCS byl (p < 0,001). Hodnoty annexinu V v přípravcích v den 0 byly v porovnání s hladinou u dárce nižší (EAD MCS: 2,1 ± 1,3, dárce 10,7 ± 8,8, p < 0,001, ERD: 0,3 ± 0,5, dárce 6,0 ± 4,9, p < 0,001, vše v ng/ml).

**Tab. č. 7 Vývoj parametrů membránového poškození erytrocytu**

Den		EAD MCS n=20		EAD TRIMA n=19		EAR MCS n=20		ERD n=20	
		0	40	0	40	0	40	0	40
Volný Hb mg/TU	AV/SD	36 ± 5	212 ± 97	26 ± 18	120 ± 33	47 ± 10	216 ± 65	8 ± 6	124 ± 67
	range	29 - 47	80 - 556	11- 86	82 -229	27 - 61	129 -354	3- 28	
	medián	35	198	21	120	50	196	6	103
pH	AV/SD	7,49 ± 0,14	6,73 ± 0,08	7,32 ± 0,06	6,64 ± 0,05	7,54 ± 0,07	6,75 ± 0,06	7,48 ± 0,10	6,73 ± 0,10
	range	7,16 -7,65	6,59 -6,93	7,23 -7,42	6,53 -6,73	7,45 - 7,73	6,65 -6,87	7,37 -7,78	6,62 - 6,94
	medián	7,54	6,72	7,33	6,66	7,53	6,74	7,46	6,76
K <sup>+</sup> mmol/L	AV/SD	1,8 ± 0,7	44,4 ± 16,6	1,7 ± 0,4	40,7 ± 7,9	1,2 ± 0,3	55,2 ± 9,1	0,9 ± 0,2	45,0 ± 10,3
	range	1,0 -3,1	18,0 -71,8	1,2 -2,6-3	21,5 - 50,1	0,9 -2,5	35,5 -69,0	0,6 -1,6	25,0 - 59,6
	medián	1,9	49,4	1,6	41,2	1,2	56,8	0,9	47,5
Annexin V ng/mL	AV/SD	2,1 ± 1,3	4,5 ± 2,7	3,4 ± 1,8	5,5 ± 3,2	5,7 ± 4,2	31,2 ± 3,8	0,3 ± 0,5	1,5 ± 1,0
	range	0,7 -4,7	1,9 -11,3	0,9 -8,2	2,1 -14,3	1,8 - 20,8	26,1 - 42,4	0,1 - 2,1	0,6 - 4,7
	medián	1,4	3,5	2,9	4,6	4,8	30,4	0,2	1,1
Glukosa mmol/L	AV/SD	27,0 ± 2,0	9,6 ± 0,8	25,1 ± 1,3	12,3 ± 1,2	26,8 ± 2,1	9,0 ± 1,0	29,9 ± 2,4	14,2 ± 3,1
	range	22,6 -29,7	7,9 -11,1	23,7 - 28,8	10,5 -15,5	23,7 -32,9	6,8 -10,4	28,1 -39,1	11,1 -20,5
	medián	27,5	9,5	24,8	12,1	26,5	9,0	29,4	14,3
LDH ukat/L	AV/SD	1,82 ± 0,46	6,52 ± 1,79	1,84 ± 0,81	3,60 ± 0,87	2,44 ± 0,58	18,8 ± 4,39	0,70 ± 0,21	3,50 ± 1,73
	range	0,26 -2,86	3,97 - 9,64	1,18 - 4,52	1,59 -5,10	1,77 - 4,24	11,7 - 26,5	0,36 - 1,23	1,73 -4,98
	medián	1,8	6,21	1,6	3,79	2,32	17,6	0,69	3,10
Laktát mmol/L	AV/SD	2,77 ± 0,44	22,41 ± 13,7	1,59 ± 0,23	30,98 ± 4,73	2,14 ± 0,25	27,18 ± 13,13	2,02 ± 0,46	31,80 ± 6,65
	range	2,11 - 3,55	8,47 -45,45	1,27 -1,95	25,30 - 43,15	1,78 - 2,86	7,58 - 47,25	1,36 -2,75	24,57 -43,40
	medián	2,71	13,89	1,57	30,45	2,06	34,87	2,08	33,17

Legenda: EAD MCS: erythrocyty deleukotizované ze separátoru MCS , EAD Trima: erythrocyty deleukotizované ze separátoru Trima, EAR MCS: erythrocyty resuspendované ze separátoru MCS, ERD: erythrocyty deleukotizované z plné krve. Pro všechny rozdíly mezi dnem 0 a 40: p < 0,001.

#### 4.3.2. Trombocytární koncentráty

**Základní parametry jakosti** (objem, obsah trombocytů v TU, kontaminace leukocyty) uvádí **tab. č. 8**. Přípravky z MKO vykázaly vysoký standard obsahu trombocytů, požadované výtěžnosti bylo docíleno v 91 – 95 % produktů. Ve výtěžnosti mezi TA300 MCS a TA300 Trima nebyl statisticky významný rozdíl (p = 0,08). Také koncentráty získané odběrem TA300 + RBC měly srovnatelnou výtěžnost s přípravky získanými odběrem TA300 + PA na

obou separátorech ( $p = 0,11/0,48$ ). Limit obsahu leukocytů ( $< 1,0 \times 10^6/\text{TU}$ ) byl splněn u všech přípravků.

**Markery poškození a aktivace trombocytů** (pH, obsah glukosy, laktátu, LDH, annexin V, sP-selektin) uvádí **tab. č. 9**. U TA300 MCS, TA300 Trima i kontrolních TB došlo během skladování k statisticky významným změnám uvedených markerů. U koncentrátů z odběru TA300 + RBC na separátoru Trima byly změny pH, LDH a laktátu srovnatelné s výsledky u TA300 Trima (pH:  $p = 0,35$ , LDH:  $p = 0,67$ , laktát:  $p = 0,25$ ).

**Tab. č. 8 Základní parametry jakosti trombocytárních koncentrátů**

Separátor MCS	počet	Objem (ml/TU)			PLT ( $\times 10^9/\text{TU}$ )		
		AV/SD	range	med.	AV/SD	range	med.
2 TU TA	48	193 ± 7	175 - 214	192	241 ± 33	185 - 321	233
TA + PA	81	233 ± 25	175 - 296	230	277 ± 41	202 - 390	274
TA 300 MCS + PA	57	273 ± 21	233 - 321	247	366 ± 44	265 - 462	370
<b>Separátor Trima</b>							
TA 300 Trima + PA	36	277 ± 23	257 - 284	278	351 ± 37	266 - 491	352
TA 300 + RBC	40	281 ± 4	272 - 290	204	330 ± 31	263 - 412	322

Legenda: TA: trombocyty z aferézy ( $> 200 \times 10^9$  PLT), TA 300: trombocyty z aferézy ( $> 300 \times 10^9$  PLT), PA: plasma z aferézy, RBC: erytrocyty z aferézy, AV/SD: průměr ± směrodatná odchylka, med.: medián.

**Tab. č. 9 Parametry poškození a aktivace trombocytárních koncentrátů**

	den	TA 300 Trima n= 20			TA 300 MCS n= 20			TB n= 20		
		0	5	p	0	5	p	0	5	p
<b>pH</b>	AV/SD	7,2 ± 0,0	7,0 ± 0,2	< 0,001	7,2 ± 0,2	6,9 ± 0,2	< 0,001	7,2 ± 0,0	7,3 ± 0,1	< 0,001
	range	7,2 - 7,3	6,3 - 7,3		7,1 - 7,7	6,6 - 7,3		7,1 - 7,2	7,1 - 7,5	
	medián	7,2	7,0		7,2	7,0		7,2	7,3	
<b>Laktát mmol/L</b>	AV/SD	1,5 ± 0,4	16,9 ± 3,7	< 0,001	1,25 ± 0,46	17,06 ± 3,08	< 0,001	2,76 ± 0,58	8,85 ± 2,44	< 0,001
	range	1,3 - 7,3	11,8 - 27,0		0,5 - 2,6	11,4 - 23,1		1,9 - 4,1	5,0 - 14,8	
	medián	1,5	17,0		1,2	17,2		2,7	8,3	
<b>LDH ukat/L</b>	AV/SD	4,4 ± 0,5	7,7 ± 1,7	< 0,001	4,48 ± 1,01	12,44 ± 11,37	0,002	4,14 ± 0,56	5,85 ± 2,38	0,005
	range	3,6 - 5,4	5,4 - 11,8		3,1 - 7,2	4,7 - 48,3		3,0 - 5,3	3,7 - 14,7	
	medián	4,4	7,4		4,4	8,5		4,1	5,0	
<b>Glukosa mmol/L</b>	AV/SD	20,0 ± 1,6	12,7 ± 2,3	< 0,001	25,2 ± 3,0	21,7 ± 1,9	< 0,001	23,6 ± 1,0	20,7 ± 1,2	< 0,001
	range	18,3 - 24,0	8,0 - 16,2		20,2 - 31,7	17,2 - 24,7		22,0 - 26,1	18,5 - 23,0	
	medián	19,4	12,7		25,5	21,9		23,7	21,0	
<b>Annexin V ng/ml</b>	AV/SD	13,5 ± 6,2	20,9 ± 4,2	< 0,001	8,7 ± 6,9	22,7 ± 3,9	< 0,001	14,6 ± 5,2	19,5 ± 3,3	< 0,001
	range	5,2 - 25,9	8,2 - 26,8		0,7 - 24,9	17,3 - 31,2		4,6 - 21,0	9,7 - 24,1	
	medián	11,7	21,5		8,4	23,1		15,4	20,2	
<b>sP-selektin ng/ml</b>	AV/SD	141,3 ± 115,0	357,5 ± 107,4	< 0,001	79,1 ± 59,6	382,0 ± 139,5	< 0,001	173,6 ± 102,8	240,9 ± 105,9	0,053
	range	40,2 - 379,3	175,4 - 533,7		20,4 - 262,3	201,6 - 710,2		51,4 - 374,9	80,0 - 560,5	
	medián	95,8	327,7		58,1	396,9		154,0	218,2	

Legenda: TA: hladiny annexinu a sP-selektinu v trombocytárních koncentrátech, DK: hladiny annexinu V a sP-selektinu u dárce sledovaného souboru před odběrem.

Nejvýznamnější vzestup hladiny annexinu V byl zjištěn u TA300 MCS (proti TA300 Trima:  $p = 0,01$ , proti TB:  $p < 0,01$ ). Zvýšení hladiny sP-selektinu během skladování bylo u TA300 MCS i TA300 Trima srovnatelné ( $p = 0,28$ ) a vyšší v porovnání s TB ( $p < 0,001$ ), kde ke změně hladiny sP-selektinu nedošlo ( $p = 0,053$ ). Prokázali jsme závislost hladiny sP-selektinu na hladině annexinu V v den přípravy u všech typů produktů (TA300 MCS:  $r = 0,85$ , TA300 Trima:  $r = 0,93$ , TB:  $r = 0,72$ ). Na konci skladování tato závislost nalezena nebyla. Lze tedy s vysokou pravděpodobností usoudit, že změny hladin uvedených markerů v přípravcích v den přípravy mohou být způsobeny vlivem použité technologie.

#### 4.4 Vstupní kritéria pro dárce krve

Na základě výše získaných poznatků jsme vstupní kritéria pro dárce MKO upřesnili. Výsledky ukázaly na nutnost vybírat dárce diferencovaně nejen dle přístrojů, ale i jednotlivých typů odběrů na přístroji (**tab. č. 10**).

Pro dárce dvojitých erythrocytaferéz je vhodné současná výběrová kritéria doplnit o stanovení feritinu. Optimální se ukázala hodnota nad  $40 \mu\text{g/L}$ , při které dárči rychleji doplňovali zásoby železa (str. 15).

U kombinovaných trombocytaferéz s plasmou nebo erythrocyty je předodběrová hodnota trombocytů dárce klíčová pro volbu připravovaného produktu a pro trvání aferézy (str. 13). Pro odběry na přístroji Trima lze vybírat dárce s nižší hodnotou trombocytů nežli na přístroj MCS ( $p < 0,001$ ). TBV dárce je u těchto odběrů limitujícím faktorem pro stanovení odebíraného objemu přípravku, pro trvání aferézy je jeho význam minimální (54). Jako optimální se ukazuje hodnota TBV nad  $4\,300 \text{ ml}$  pro odběr trombocytárního koncentrátu o obsahu  $> 300 \times 10^9 \text{ PLT}$ . Při této hodnotě TBV je pravděpodobnost překročení povoleného limitu odběru (13 % TBV) prakticky vyloučena.

Zařazení speciálního váhového kritéria není mimo odběr dvojitě erythrocytaferézy nutné, neboť je zohledněno při výpočtu TBV. Jako výběrové kritérium jsme proto zařadili váhový limit  $50 \text{ kg}$  dle Doporučení EU (78).

**Tab. č. 10 Výběrová kritéria pro dárce MKO**

Parametry	2 TA, TA+PA	TA + RBC	2 RBC	
TBV (ml)	> 4300		> 5000	
Váha (kg)	>50		> 70	
Hematokrit	Muži > 0,40 Ženy > 0,38	> 0,30*	> 0,42	> 0,30 *
Hemoglobin (g/L)	Muži > 135 Ženy > 125	> 110*	> 140	> 110 *
Trombocyty x 10 <sup>9</sup> /L	1TU > 200 MCS > 260 Trima > 220	Trima > 220	> 130 <sup>n</sup>	
Feritin (ug/L)	-		> 40	
Časový limit (min.)	< 75		-	

Legenda: RBC: erytrocyty z aferézy, TA: trombocyty z aferézy, PA: plasma, TU: transfuzní jednotka (> 200 x 10<sup>9</sup> PLT), \* limit hodnot po odběru, <sup>n</sup> spodní fyziologická mez trombocytů v periferní krvi dárce.

Dlouhodobé monitorování zdravotního stavu dárce je u opakovaných dárců dvojitých erythrocytaferéz účelné doplnit o monitorování hladiny feritinu. Jako optimální se ukazuje stanovení 1x ročně, načasované v druhém čtvrtletí po dvojitě erythrocytaferéze, kdy je možné očekávat vzestupný trend hladiny železa.

## 5. Rozprava

### 5.1. Vliv metodiky na zdravotní stav dárce krve

Naše studie prokázala bezprostřední bezpečnost MKO pro dárce krve, což je v souladu s některými nálezy z literatury (26,42,63). Relativně vysoké množství použitého antikoagulačního roztoku u kombinovaných odběrů erythrocytů s trombocyty se neprojevalo negativně, nezaznamenali jsme žádné citrátové reakce. Hodnoty krevního obrazu po všech typech odběrů s vysokou rezervou překračovaly doporučené limity, pokles počtu trombocytů po trombocytaferéze na separátorech MCS i Trima byl srovnatelný (p = 0,96). Prokázali jsme, že při procedurách nedochází k poškození a aktivaci buněk, toto zjištění považujeme za klíčové, v literatuře zatím nebylo publikováno. Zásadní je také zjištění vyšších klidových hodnot annexinu V u souboru aferetických dárců ve srovnání s dárci plné krve. Tento fakt není zatím v literatuře publikován a v budoucnu jej chceme ověřit, resp. objasnit. Vzhledem

k relativně nízké četnosti provedených MKO u našeho souboru vzniká dojem, že fakt může být v souvislosti spíše s aplikací aferetických technik obecně. Dlouhodobé sledování dárců prokázalo, že nedochází k významným změnám ve v hladinách celkové bílkoviny, albuminu či imunoglobulinů, naše zjištění je v souladu s literaturou (70). U dárců dvou jednotek erytrocytů došlo po odběru k statisticky významnému poklesu hladiny Hb, Ht, Fe a feritinu. U většiny dárců následovala spontánní úprava hodnot Hb, Ht a Fe za 90 dnů, u feritinu za 180 dnů. U dárců s hladinou feritinu nad 40  $\mu\text{g/L}$  docházelo k rychlejší spontánní rekonstituci zásob železa, uvedenou hodnotu feritinu je možné zařadit jako výběrové kritérium pro dáorce tohoto typu odběrů. Dlouhodobě však přetrvával statisticky významný vzestup sTfR i indexu qTfRi, a to i u dárců plné krve, což může signalizovat obdobně se snižující zásoby železa u obou typů odběrů (52). Pro praxi bude u opakovaných dárců nejen dvojitych erythrocytaferéz, ale i plné krve důležité doplnit monitorování metabolismu železa. Stanovení sTfR jako přesnějšího markeru nedostatku železa (16,65) bude třeba vzhledem k vysoké ceně vyšetření indikovat individuálně. Stávající doporučení pro dlouhodobé sledování aferetických dárců, zaměřené na sledování CB, albuminu a/nebo imunoglobulinů je třeba u dárců dvojitych erythrocytaferéz doplnit o monitorování hladiny feritinu 1x ročně. Zjistili jsme, na rozdíl od jiných autorů, že paušální substituce přípravky železa není nutná, je nutno k ní přistupovat individuálně, s vědomím nutnosti diferenciatně diagnostické rozvahy i nad jinými možnými příčinami nedostatku železa. (8, 57, 69).

## 5.2. Jakost transfuzních přípravků

Transfuzní přípravky získané metodou MKO vykazaly vysoký standard objemu a obsahu účinné látky, tj. hemoglobinu, resp. trombocytů. Z tohoto pohledu je jejich jakost ve srovnání s přípravky z plné krve jednoznačně vyšší (30,44).

Hodnocení markerů poškození buněk je složitější. Schopnost aplikovaných trombocytárních koncentrátů plnit hemostatickou funkci může být ovlivněna jejich metabolickým stavem. Za kritický je považován pokles pH pod hodnotu 6,2, kdy dochází k ireversibilnímu poškození trombocytu, reprezentovanému ireversibilní expresí P- selektinu (13,31). Některé studie však prokázaly jen nízkou korelaci mezi jeho expresí a přežitím destičky in vivo (11,12). Hodnoty pH u většiny námi hodnocených jednotek TA300 Trima i TA300 MCS se pohybovaly v rozmezí 6,8 – 7,4 (78), ani v jednom případě jsme nezaznamenali pokles hodnoty pH pod kritickou mez 6,2. Pokles pH u TA300 Trima i TA300 MCS během skladování byl srovnatelný (74). Zjistili jsme statisticky významné zvýšení středních hodnot hladin annexinu V u TA300 Trima a TB v porovnání s jeho hodnotami u

dárce krve před odběrem (Trima:  $p = 0,02$ , TB:  $p < 0,001$ ), u TA300 MCS nikoli. Znamená to, že zvýšení hladiny annexinu V v koncentrátech v den přípravy je ovlivněno pouze jejími technologiemi, a že vliv jednotlivých způsobů přípravy na trombocyt je odlišný. U všech typů trombocytárních koncentrátů došlo během skladování k postupnému zvýšení hodnot annexinu V, nejvýznamněji u TA300 MCS ( $p = 0,01$ ). Vzestup hladin sP-selektinu během skladování jsme pozorovali u TA300 Trima, TA300 MCS i TB (**tab. č. 10**), jeho hladiny těsně reflektovaly buněčné poškození stanovené měřením annexinu V (35). Zhodnocením závislosti hladiny sP-selektinu na hodnotě annexinu V jsme zjistili, že tato závislost u TA300 Trima, TA300 MCS i TB je vysoká pouze v den přípravy. Počáteční aktivace trombocytu v přípravcích způsobená technologiemi přípravy tedy pravděpodobně neovlivňuje proces apoptózy buněk během skladování. Vývoj poškození trombocytu je ovlivněn zvláště podmínkami v průběhu skladování produktu, jako je koncentrace trombocytů či složení antikoagulačních roztoků (55,56).

**EAD MCS, EAD Trima i EAR MCS** vykazaly vysoký standard obsahu Hb v TU, jak prokázali i jiní (43,44,76), který nezávisel na vstupních hodnotách Hb dárce. U EAD MCS, EAD Trima i EAR MCS i kontrolního souboru ERD došlo během skladování ke statisticky významnému vzestupu markerů membránového poškození buněk. Zaznamenali jsme pokles pH, hladiny glukózy a vzestup hladiny laktátu. Významné je, že u žádného typu přípravku pH nekleslo pod hodnotu 6,5, stejně jako zjistil Moog a spol., 2001 (43). Hodnota pH má vliv na enzymy regulující koncentraci 2,3 - DPG. Tím významně ovlivňuje jeho hladinu a následně vazbu kyslíku na Hb (24,37). Hodnota pH může však být ovlivněna mimo proces apoptózy i složením antikoagulačního roztoku. Vzestup LDH u EAD MCS vůči EAD Trima během byl vyšší ( $p < 0,001$ ), vzestupy hladin kalia a annexinu V byly srovnatelné ( $p = 0,19/0,33$ ). Nejvýznamnější vzestup kalia, LDH a annexinu V vůči všem ostatním typům erytrocytárních koncentrátů byl zaznamenán u EAR MCS (vše  $p < 0,001$ ). Bylo prokázáno, že přítomnost leukocytů v přípravku může indukovat poškození krevních buněk (66). Vzhledem k tomu, že EAR MCS jsou připraveny stejnou aferetickou technikou jako EAD MCS (odlišnost je jen v následné filtraci erytrocytů) lze předpokládat, že typ technologie přípravy koncentráту patrně nemá takový vliv na poškození erytrocytu během skladování jako kontaminace přípravku leukocyty. Porovnání s literaturou je velmi obtížné, stanovení a hodnocení annexinu V pro porovnání našich výsledků v tomto rozsahu nebylo zatím publikováno. V den přípravy hladina annexinu V v erytrocytárních koncentrátech nebyla použitými technologiemi ovlivněna. Uzavíráme proto stejně jako u trombocytárních koncentrátů, že pro další vývoj stavu erytrocytů má technologie jejich přípravy minimální

vliv. Rozhodující vliv mají skladovací podmínky, mimo obsahu leukocytů je to i hodnota pH skladovacího roztoku apod. (24,27). Aktuálně je diskutován zejména vliv pH na obsah 2,3-DPG v koncentráte erytrocytů s následnými změnami v uvolňování  $O_2$  z Hb (24,28) a následný význam v akutní péči (47).

### 5.3. Výběrová kritéria pro dárce krve

Prokázali jsme, že pro všechny kombinace odběrů trombocytů je klíčovým parametrem předodběrový počet trombocytů dárce, který určuje výběr produktu a ovlivňuje trvání aferézy. Hodnota TBV dárce má na trvání aferézy jen minimální vliv u separátoru MCS, statisticky nevýznamný je i u separátoru Trima. Pro zdravotní stav dárce má však její hodnocení při výběru dárce význam zásadní, neboť je limitujícím parametrem pro objem odebraných krevních složek. Pro dvojitě erythrocytaferézy jsme kvantifikovali hodnotu feritinu ( $> 40 \mu\text{g/L}$ ) jako výběrové kritérium. Univerzální výběrová kritéria pro tento typ odběrů nelze očekávat (54).

Z praktických důvodů je nutné mezi výběrová kritéria zařadit i krevní skupinu, pro kombinované odběry trombocytů s erythrocyty vybírat dárce krevních skupin 0+ a A+, u dárců skupiny AB a B volit raději odběry trombocytů s plasmou (4).

### 5.4. Možnost konverze dárců plné krve k multikomponentní aferéze

Pokusili jsme se zjistit možnost konverze dárců plasy na MKO. Analyzovali jsme soubor 447 dárců plasy (370 mužů, 77 žen). Při aplikaci kritérií Doporučení Rady Evropy bylo pro dvojitou erythrocytaferézu vhodných 293 mužů, žádná žena. Ze souboru 150 mužů, vhodných dle běžných kritérií pro dvojitou erythrocytaferézu 13 mužů (8,6 %) odběr dvojitých erythrocytů odmítlo, u 137 mužů jsme doplnili mezi výběrová kritéria o hodnotu feritinu  $> 40 \mu\text{g/L}$ , toto kritérium pak splnilo 87 mužů, tj. 63 %. Lze tedy předpokládat, že dvojitou dávku erythrocytů je schopno darovat cca 60 % dárců splňujících kritéria Rady Evropy (doplněno o naše kritérium pro feritin). Trombocyty s plasmou, resp. erythrocyty je dle kritérií uvedených v tab. č. 10 schopno darovat cca 70 % dárců.

Neméně důležitým faktorem pro akceptaci MKO dárce krve je trvání aferézy. Z tohoto pohledu je separátor Trima, obecně považovaný za rychlejší přístroj, pro dárce akceptovatelnější, jak popsali i jiní autoři (10,51).



## 5.5. Indikační kritéria pro transfuzní přípravky

Přípravky z MKO by měly být pro své výhody přednostně směřovány k polytransfundovaným příjemcům. Vysoký standard obsahu erytrocytů či trombocytů v léčebné dávce má vysoký terapeutický účinek (4, 65). Snížení expozice příjemce počtu dárců snižuje preventivně riziko imunizace a imunosuprese příjemce. Výskyt septických potransfuzních reakcí je snížen zejména u trombocytárních koncentrátů (46). Dále jsou přípravky indikovány u pacientů s přítomností aloprotilátů proti všem typům krevních buněk. Přípravu erytrocytů z aferézy bez leukodeplece ze separátoru MCS v běžné praxi nepovažujeme za vhodnou vzhledem k vysoké příměsi leukocytů. Další indikace jsou totožné s přípravky z plné krve.

## 5.6. Ekonomické hledisko

Při kalkulaci cen transfuzních přípravků na TO KN Liberec se ukázala metodika zvolených protokolů jako rentabilní při hodnocení vynaložených nákladů. Odběr druhé jednotky krevní složky jednoznačně metodiku oproti jednoduché aferéze zefektivňuje. Efekt přináší nejen zisk dalšího přípravku, ale i redukce nákladů na povinné laboratorní kontroly, zejména na vyšetření virologických markerů (65) či předtransfuzní vyšetření (73). Při zavádění metodiky je primárně nutno vycházet z ceny setů, toto posouzení může některé protokoly předem vyřadit. Ekonomické hledisko mohou také ovlivnit požadavky zdravotnického zařízení na transfuzní přípravky, například při přebytku plasmy bude dvojitá erythrocytaferéza jednoznačným přínosem.

## 5.7. Další směr výzkumu

Projekt přinesl řadu otázek, kterými je vhodné se nadále zabývat. Jde zejména prozkoumání stavu apoptózy krevních buněk u dárců plné krve a plasmy, práce v této oblasti zatím publikovány nebyly. Další nezodpovězenou otázkou zůstává klinický význam buněčného poškození a aktivace krevních buněk v přípravcích. V literatuře se objevují práce zabývající se touto tematikou, aktuálně zejména v oblasti apoptózy erytrocytů. Stejně tak není jasný vliv změn krevních buněk zjištěný v přípravcích in vitro na potransfuzní recovery. Také řada otázek, týkající se klinického vlivu transfuze apoptotických krevních buněk na příjemce zůstává nezodpovězena (14).

## 6. Závěr

Metoda MKO je dárci dobře akceptována, zhodnocení klinických projevů a parametrů aktivace buněk po aferézách neprokázalo negativní vliv metody na zdravotní stav dárce krve. Krevní buňky navrácené dárci nejsou zvýšeně poškozeny ani aktivovány (prioritní poznatek). Neprokázali jsme klinicky významný negativní vliv opakovaných odběrů na hladinu plasmatického železa a feritinu, celkové bílkoviny, albuminu a imunoglobulinů. Dvojitá erythrocytaferéza a frekventní dárcovství plné krve představují pro dárce srovnatelnou zátěž (zde u některých dárců může docházet k deficitu zásob železa, substituce přípravky železa by měla být individuální, s ohledem na další možné příčiny jeho deficitu).

Pro jednotlivé přístroje i kombinace odběrů je třeba používat diferencovaná vstupní kritéria pro dárce. Klíčovým parametrem výběru pro kombinované trombocytaferézy je předodběrový počet trombocytů dárce, hodnota TBV je limitujícím faktorem pro volbu objemu odebíraných přípravků. U dvojitých erythrocytaferéz je třeba výběrová kritéria Rady Evropy doplnit o stanovení feritinu ( $> 40 \text{ ug/L}$ ), u opakovaných odběrů je třeba hladinu feritinu monitorovat.

Jakost přípravků je vysoce standardní, nezávislá na vstupních parametrech dárce. Krevní buňky nejsou aferézami poškozeny ani zvýšeně aktivovány. V jakosti přípravků z obou separátorů nebyly zjištěny významné rozdíly. Použité technologie neovlivňují stav buněk v přípravcích na konci skladování, klíčový význam pro jakost přípravků a vývoj změn v krevních buňkách mají podmínky skladování produktů, např. pH skladovacích roztoků či koncentrace trombocytů v koncentrátech. Bližší poznání apoptózy a aktivace krevních buněk u dárců i v transfuzních přípravcích zůstává otázkou do budoucna. Přípravky od jednoho dárce jsou určeny zejména pro polytransfundované pacienty. Metoda se ukazuje ekonomicky rentabilní při správném výběru kombinací odběrů a může být použita i pro zajištění zejména deleukotizovaných přípravků při nedostatku dárců plné krve.

Při správné volbě kombinací odběrů a výběru dárců jedná o bezpečnou alternativu dárcovství plné krve, zajišťující vysokou jakost přípravků, s přínosem pro příjemce transfuze i transfuzní službu. Bližší poznání apoptózy a aktivace krevních buněk u dárců i v transfuzních přípravcích zůstává otázkou do budoucna.

## 7. Souhrn

**Úvod:** Multikomponentní odběry umožňují odebírat současně více různých krevních složek v různých kombinacích od jednoho dárce. Aplikace více přípravků od jednoho dárce snižuje pro pacienta možnost imunizace hemoterapií a riziko přenosu infekcí. Pro transfuzní

pracoviště je přínosem flexibilní využití dárcovského fondu dle aktuálních potřeb. Všechny aspekty metody nejsou dosud objasněny.

**Cílem** studie bylo 1) u dárců: zhodnotit přímý a dlouhodobý vliv MKO na zdravotní stav dárce krve, upřesnit vstupní kritéria pro dárce MKO, upřesnit schema pro dlouhodobé monitorování dárců. 2) U produktů: zhodnotit parametry jakosti a markery poškození a aktivace buněk. 3) Dále upřesnit indikaci přípravků získaných MKO v hemoterapii a posoudit ekonomický aspekt metody.

**Metodika:** V prospektivní studii bylo provedeno 225 odběrů u 52 dárců na dvou separátorech (Haemonetics MCS+: 98 dvojitých odběrů erytrocytů, 52 trombocytaferéz s plasmou, 5 dvojitých trombocytaferéz, Trima Accel: 36 trombocytaferéz s plasmou, 28 odběrů trombocytů s erytrocyty). Metodika MKO na separátoru Trima byla nově zavedena. U odběrů byl hodnocen vliv MKO na dárce krve. Byly hodnoceny změny hodnot Hb, Ht, trombocytů, annexinu V a sP – selektinu po aferézách. Ve stanovených intervalech byly sledovány hodnoty Fe, transferinu, saturace transferinu, feritinu, sTfR a qTfRi, celkové bílkoviny, albuminu a imunoglobulinu A, G a M. U přípravků byl hodnocen obsah Hb či trombocytů a kontaminace leukocyty v den přípravy, dále markery buněčného poškození v den přípravy a expirace (erytrocytární koncentráty: kalium, laktát, LDH, pH a annexin V, trombocytární koncentráty: pH, LDH, laktát, annexin V, sP-selektin). Výsledky byly porovnány s parametry alikvotního počtu dárců a přípravků z plné krve. Statistické hodnocení bylo provedeno na hladině významnosti  $p < 0,05$ .

**Výsledky:** Neprokázali jsme bezprostřední ani dlouhodobý negativní vliv metody na zdravotní stav dárce krve. Krevní buňky vrácené dárci nejsou zvýšeně aktivovány (hladiny annexinu V a sP-selektinu po aferézách nebyly statisticky významně zvýšeny). Nové je zjištění vyšších klidových hodnot annexinu V u souboru aferetických dárců v porovnání s nálezem u dárců plné krve. Dvouleté sledování dárců MKO prokázalo, že nedochází ke klinicky významným změnám hladiny plasmatického železa, feritinu, celkové bílkoviny, albuminu a imunoglobulinů. U některých dárců může docházet po dvojitě erythrocytaferéze k deficitu zásob železa (zvýšená hodnota sTfR), substituce přípravky železa by měla být individuální, s ohledem na možné příčiny sideropenie. Pro jednotlivé přístroje i kombinace odběrů je třeba vybírat dárce dle diferencovaných vstupních kritérií, tato kritéria byla upřesněna. U dvojitých odběrů erytrocytů je třeba doplnit vstupní kritéria o stanovení feritinu ( $> 40 \mu\text{g/L}$ ), u opakovaných odběrů zařadit monitorování feritinu. Jakost přípravků je vysoce standardní, nezávislá na vstupních parametrech dárce. Krevní buňky nejsou aferézami poškozeny ani zvýšeně aktivovány. V jakosti přípravků z obou separátorů nebyly zjištěny

významné rozdíly. Použité technologie neovlivňují stav apoptózy a aktivace buněk v přípravcích na konci skladování. Klíčový význam pro vývoj změn v krevních buňkách mají podmínky skladování produktů. Přípravky od jednoho dárce jsou určeny zejména pro polytransfundované pacienty. Metoda se ukazuje ekonomicky rentabilní při správném výběru kombinací odběrů.

**Závěr:** Při správné volbě kombinací odběrů a výběru dárců se jedná o bezpečnou alternativu dárcovství plné krve, zajišťující vysokou jakost přípravků, bez vlivu na aktivaci krevních buněk. Bližší poznání apoptózy a aktivace krevních buněk u dárců i v transfuzních přípravcích zůstává otázkou do budoucna.

### **Summary:**

**Background:** Simultaneous collection of several blood components from a single donor is enabled through multicomponent apheresis (MCA). The use of multiple components from the same donor decreases the possibility of transfusion induced alloimmunisation and reduces the risk of infection. Not all aspects of this approach are fully understood.

**Aims** of this prospective study were: 1) to follow both immediate and long-term effects of multicomponent apheresis on donor health; 2) to investigate quality parameters of blood components, markers of cells activation and apoptosis (annexin V, sP-selectin) and 3) to specify more precisely selection criteria for these donors and to propose schedule for their long-term follow-up.

**Method:** We completed 225 collections in 52 donors on two devices (Haemonetics MCS+: 98 double erythrocytaphereses, 52 thrombocytaphereses plus plasma, 5 double thrombocytaphereses, Trima Accel: 36 thrombocytaphereses plus plasma, 28 thromboerythrocytaphereses). The effect of MCA on donors was followed: the changes of Hb and Hct values, platelet counts, level of annexin V a sP – selectin, values of iron, transferin, ferritin, sTfR and qTfRi, total protein, albumin and immunoglobulin A, G, M. Products were measured for: the content of Hb/platelets, leukocyte contamination on the day of preparation; the markers of cells damage and activation at the start and the end of expiration (red blood cells concentrates: kalium, lactate, LDH, pH and annexin V, platelet concentrates: pH, LDH, lactate, annexin V, sP-selectin). The results were compared with the same parameters in whole blood donors and products stemming from their respective donations. Statistical significance was shown when p-value was < 0,05.

**Results:** MCA has neither immediate nor long-term adverse effects on blood donor health. Blood cells returned back to donors display no markers of activation (no significant changes

in the levels of annexin V and sP-selectin were observed). No significant changes in the level of plasma iron, ferritin, total protein, albumin and immunoglobulins were found during 2 years period of blood donors observation. The decrease of iron stores in several donors of double erythrocytaphereses was found. The plasma level of ferritin > 40ug/L is recommended for repeated double erythrocytapheresis donors. Inclusion criteria for selection of optimal donor for both particular cell separator and particular protocol were postulated by this study. The quality of blood components is high and independent of inclusion parameters of donors. Blood cells are neither activated nor damaged by apheresis. There are no significant differences in tested quality parameters between transfusion products obtained by different apheresis devices. The technology of apheresis is not influencing activation and apoptosis of cells in blood components. The components from a single donor are targeted especially at polytransfused patients. The above mentioned method proves to be economically effective under the condition of correct choice of apheresis products combinations.

**Conclusions:** Multicomponent apheresis is a safe alternative to blood donation for obtaining multiple blood component while preserving high quality. Blood cells are neither activated nor damaged by apheresis. Further knowledge in apoptosis and activation of donor blood cells and cells in blood components remains an issue for the future

## 8. Seznam vybrané literatury

1. Bandarenko N., Rose M. et al. In vivo characteristics of double units of RBC collected by apheresis with a single in-line WBC reduction filter. *Transfusion* 2001; 41: 1373-1377.
2. Bertino A.M., Qi X.Q., Xia Y. et al. Apoptotic markers are increased in platelets stored at 37 °C. *Transfusion* 2003; 43: 857-866.
3. Bessos H., Seghatchian J. Red cell storage lesions: The potential impact of storage – induced CD47 decline on immunomodulation and the survival of leucofiltered red cells. *Transfus Apher Sci* 2005; 32: 227-232.
4. Blanco L. Tailored collection of multicomponent by apheresis. *Transfus Apher Sci* 2002; 27: 123-127.
5. Bláha M., Jebavý L., Šírokový O., Malý J., Pecka M. Vedlejší účinky hemaferéz. *Vnitř Lék* 1989; 51: 25: 972 – 981.
6. Bláha M. Multikomponentní automatizované odběry – nový trend v dárcovství krve – editorial. *Vnitř Lék* 2005; 51: 320-326.

7. Bolan Ch.D., Greer S.E. et al. Comprehensive analysis of citrate effects during platepheresis in normal donors. *Transfusion* 2001; 41: 1165 – 1171.
8. Boulton F. Managing donors and iron deficiency. *Vox Sang* 2004; 87 (suppl.) 22-24.
9. Bonomo P., Garozzo G., Bennardello F. The selection of donors in multicomponent collection management. *Transfus Apher Sci* 2004; 30: 55-59.
10. Bueno J.L. A comparison of PLT collections from two apheresis devices. *Transfusion* 2004; 44: 119-124.
11. Cardigan R., Turner C., Harrison P. Current methods of assessing platelet function: relevance to transfusion medicine. *Vox Sang* 2005; 88: 153 - 163
12. Curvers J., van Pampus E.C.M., Feijge M.A.H. et al. Decreased responsiveness and development of activation markers of PLTs stored in plasma. *Transfusion* 2004; 44: 49-58.
13. Dijkstra-Tiekstra M.J., Pietersz R.N.I., Huijgens P.C. Correlation between the extent of platelet activation in platelet concentrates and in vitro and in vivo parameters. *Vox Sang* 2004, 87: 257-263.
14. Dzik W.H. Apoptosis, TGF beta and transfusion –related immunosupresion: Biologic versus clinical effects. *Transfus Apher Sci* 2003; 29: 127-129.
15. Elfath M.D., Whitley P., et al. Evaluation of an automated system for the collection of packed RBC, platelets, and plasma. *Transfusion* 2000; 40: 1214-1222.
16. Flesland O., Eskelund A.K., Flesland A.B. et al. Transferrin receptor in serum. A new toll in the diagnosis and prevention of iron deficiency in blood donors. *Transfus Apher Sci* 2004; 31: 11-16.
17. Gable R.G. The use of platelet concentrates versus platepheresis – the donor perspective. *Transfusion* 2001; 41: 727-729.
18. Gašová Z. Od odběrů plné krve k multikomponentnímu dárcovství – editorial. *Vnitř Lék* 2005; 51: 274- 275.
19. Gemmell Ch. Activation of platelets by in vitro whole blood contact with materials: increases in microparticle, procoagulant activity and soluble P – selectin blood levels. *J. Biomater Sci Polym Ed* 2001; 12: 933-43.
20. Gibson J.G., Murphy W.P., Scheitlin W.A. et al. The influence of intracellular factors involved in the collection of blood in ACD on maintenance of red cell viability during refrigerated storage. *Am J Clin Pathol* 1956; 26: 858 - 873.

21. Goodnough L.T., Shander A., Brecher M.E. Transfusion medicine: looking to the future. *The Lancet* 2003; 361: 161-188.
22. Gullikson H. Platelet storage media. *Transfus Apher Sci* 2001; 24: 241 – 244.
23. Gutensohn K. et. Al. Annexin V and platelet antigen expression is not altered during storage of platelet concentrates obtained with AMICUS cell separator. *Transfus Sci* 1999; 20: 113 – 120.
24. Hess J.R. An update on solutions for red cell storage. *Vox Sanq* 2006; 91: 13-19.
25. Höcker P. Red cell apheresis in autologous preoperative blood donation. *Transfus Apher Sci* 2001; 24: 75-78.
26. Hogler W. et al. Prolonged iron depletion after allogeneic 2-unit apheresis. *Transfusion* 2001; 41: 602-605.
27. Högman C.F., Löf H., Meryman H.T. Storage of red blood cells with improved maintenance of 2,3-bisphosphoglycerate. *Transfusion* 2006; 46:1534-1552.
28. Högman C.F., Meryman H.T. Red blood cells intended for transfusion: quality criteria revisited. *Transfusion*, 2006; 46: 137-142.
29. Hornsey V. et al. Leucofiltration, retention/generation of soluble prion and Annexin V and storage of blood components. *Transfus Sci* 2000; 22: 75-76.
30. Holme S., Elfath M.D. et al. Evaluation of in vivo and in vitro quality of apheresis collected RBC stored for 42 days. *Vox Sanq* 1998; 75: 212 – 217.
31. Holme S., Sweeney S. et al. The expression of p-selectin during collection, processing, and storage of platelet concentrates: relationship to loss in vivo viability. *Transfusion* 1997; 37: 12-17.
32. Hrubíško M., Dobrý E. *Základy hemoterapie*. Osveta, 1974, s. 5 -16.
33. Jebavý L., Malý J., Štěpánová V., Blažek M., Procházková R., Cermanová M., Měřička P., Bláha M. Danger of infection transmission during hematological progenitor cell transplantation. *Transfus Apher Sci* 2005; 33: 239.
34. Krailadsiri P., Seghatchian J., Williamson L.M. Platelet storage lesion of WBC-reduced, pooled buffy coat – derived platelet concentrates prepared in three in-process filter/storage bag combinations. *Transfusion* 2001; 41: 243-250.
35. Krailadsiri P., Seghatchian J. Effect of processing and storage on platelet activation, cellular injury and microvesiculation. *Transfus Apher Sci* 2001; 24: 237-238.

36. Krailadsiri P., Seghatchian J. Are all platelet concentrates equivalent ? *Vox Sang* 2000; 78: 171-175.
37. Leitner G.C., Stohlawetz P.J. et al. Quality of packed red blood cells and platelet concentrates by multicomponent collection using the MCS Plus device. *Journ Clin Apher* 2003; 18: 21-25.
38. Lin S. J. Cytokine release in febrile non-haemolytic red cell transfusion reactions. *Vox Sang* 2002; 82: 156-160.
39. Makar Y.F., Butler M.O. et al. National audit of citrate toxicity in plateletpheresis donors. *Transfus Med* 2002; 12: 187 – 191.
40. Malý J., Blažek M., Bláha M., Bláha V., Pecka M., Cermanová M. LDL-aféze a endoteliální funkce. ( LDL apheresis and endothelial function.) in: *Atherosclerosis 2005*, eds.: IV. interní klinika LFUK, Praha 2005. s. VI.
41. Mathes G.A. Options and cost effectiveness of multicomponent blood collection. *Transfus Apher Sci* 2002; 27: 115 – 121.
42. Mauricio R., de Sousa G., Seghatchian J. What's happening? An overview of potential adverse reactions associated with apheresis technology. *Transf Apher Sci* 2006; 33: 351–356.
43. Moog R. et al. Evaluation of a concurrent multicomponent collection system for the collection and storage of WBC – reduced RBC apheresis concentrates. *Transfusion* 2001; 41: 1159-1164.
44. Moog R., Bartsch R., Muller N. Concurrent collection of in-line filtered platelets and red cells by apheresis. *Ann Hematol* 2002; 81: 322-355.
45. Muller – Steinhardt M., Janetzko K., Kandler R., Flament J., Kirschner H., Kluter H. Impact of various red cell concentrate preparation methods on the efficacy of prestorage white cell filtration and red cells during storage for 42 days. *Transfusion* 1997; 37: 1137-1142.
46. Ness P., Braine H., King K. et al. Single donor platelets reduce the risk of septic platelet transfusion reactions. *Transfusion* 2001; 41: 857-861.
47. Offner P. J. Age of blood: does it make a difference? *Critical Care* 2004; 8 (suppl 2): S24-S26.



### 9. 3. Publikovaná abstrakta posterů a přednášek

1. Procházková R., Řehořová L., Hubáčková L. Blood donors' entrance criteria for multicomponent apheresis – retrospective study. 14<sup>th</sup> Congress of European Society for Hemotherapy and Hemapheresis, 10.-13.9.2003, Praha, abstract book, HK Credit, Hradec Králové, 2003, p. 38. ISBN 80-903238-8-X.
2. Procházková R. Secondary TTP- differences in course and therapeutical strategy. Blood Banking and Transfusion Medicine, 2003; 1 (Suppl 1): S399. ISSN 1304 - 2718.
3. Procházková R., Veselá I. Protokol o vyšetření potransfuzní reakce – součást řešení problematiky hemovigilance. 14<sup>th</sup> Congress of European Society for Hemotherapy and Hemaferesis, 10.-13.9.2003, Praha, abstract book, HK Credit, Hradec Králové, 2003, p. 36. ISBN 80-903238-8-X.
4. Řehořová L., Hubáčková L., Procházková R., Hlavatý P. Kontrola jakosti transfuzních přípravků – racionalizace použitím programu Excell a základních statistických metod. 14<sup>th</sup> Congress of European Society for Hemotherapy and Hemaferesis, 10.-13.9.2003, Praha, abstract book, HK Credit, Hradec Králové, 2003, p. 38. ISBN 80-903238-8-X.
5. Procházková R., Kurková R., Řehořová R., Hubáčková L. Suitability apheresis donors for multicomponent apheresis. Vox Sang 2004; 87 (suppl 3): 21. Impact factor: 2,111.
6. Procházková R., Řehořová L., Hubáčková L., Kurková R. Multikomponentní odběry na separátoru Haemonetics MCS+. 10. pracovní dny, Společnost pro transfuzní lékařství, 8.-10. 9. 2004, Rožnov pod Radhoštěm, sborník abstrakt, HK Credit, Hradec Králové 2004, s. 14. ISBN 80-86780-10-4.
7. Procházková R., Masopust J. Návrh hlášení a vyšetření potransfuzních reakcí. 10. pracovní dny, Společnost pro transfuzní lékařství, 8.-10. 9. 2004, Rožnov pod Radhoštěm, sborník abstrakt, HK Credit, Hradec Králové 2004, s. 15. ISBN 80-86780-10-4.
8. Procházková R., Hubáčková L., Řehořová L., Kurková R. Erythrocyty z aferézy de leukotizované – zhodnocení parametrů jakosti. In: Pecka M., Malý J. Laboratorní hematologie 2004. HK Credit, Hradec Králové 2004, s. 109. ISBN 80-86780-13-9.
9. Procházková R. Multikomponentní odběry krve – teorie a praxe. XIX. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, Rubico, Olomouc 2005, s. 33. ISBN 80-7346-051-3.

10. Procházková R., Hubáčková L., Řehořová L. Quality parameters of two WBC reduced units collected by apheresis. Vox Sang 2005; 89 (suppl 1): 52. Impact factor: 2,111.
11. Procházková R. Vliv dvojité erythrocytaferézy na dárce krve. XIV. Slovenský a český hematologicko-transfuziologický sjezd s mezinárodní účastí, 29.9.-2.10.2005, Vysoké Tatry, Štrbské Pleso, sborník abstrakt, TGT s.r.o., Bratislava 2005, s.19. ISBN 80-968685-9-4.
12. Řehořová L., Hubáčková L., Procházková R. Analýza trendů v kontrole jakosti transfuzních přípravků. XIV. Slovenský a český hematologicko-transfuziologický sjezd s mezinárodní účastí, 29.9.-2.10.2005, Vysoké Tatry, Štrbské Pleso, sborník abstrakt, TGT s.r.o., Bratislava 2005, s.73. ISBN 80-968685-9-4.
13. Masopust J., Kraczková J., Němeček V., Procházková R. Kombinovaný test pro vyšetřování antigenu i protilátky proti viru hepatitidy C. XIV. Slovenský a český hematologicko-transfuziologický sjezd s mezinárodní účastí, 29.9.-2.10.2005, Vysoké Tatry, Štrbské Pleso, sborník abstrakt, TGT s.r.o., Bratislava 2005, s.73. ISBN 80-968685-9-4.
14. Procházková R., Řehořová L., Hubáčková L. Double erythrocytapheresis: Quality parameters of two WBC- reduced RBC. Transfus Apher Sci 2005; 33: 107. Impact factor: 1,090.
15. Procházková R., Řehořová L., Hubáčková L. Multicomponent apheresis: Apheresis parameters and quality of platelets from separator Haemonetics MCS+ and Trima Accel. Transfus Apher Sci 2005; 33: 104. Impact factor: 2,111.
16. Jebavý L., Malý J., Štěpánová V., Blažek M., Procházková R., Cermanová M., Měříčka P., Bláha M. Danger of infection transmission during hematological progenitor cell transplantation. Transfus Apher Sci 2005; 33: 239. Impact factor 1,090.
17. Blaha M., Cermanová M., Bláha V., Blažek M., Malý J., Procházková R., Solichová D., Široký O. LDL-apheresis in familial hyperlipoproteinemia: Results of long lasting therapy. Transfus Apher Sci 2005; 33: 241 - 242. Impact factor 1,090.
18. Procházková R. Výběrová kritéria pro dárce erytrotrombocytaferéz na separátoru Trima Accel. XX. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, Rubico, Olomouc 2005 s. 58. ISBN 80-7346-065-3.
19. Procházková R., Andrýs C., Krejssek J., Hubáčková L., Řehořová L. Markers of apoptosis and activation in platelets from separator Haemonetics MCS+ and Trima Accel.

- European Society for Hemotherapy and Hemaferesis - 2006 meeting, Umea, Sweden, June 20. - 21. 6. Final program, E8.
20. Procházková R., Hubáčková L., Řehořová L. Suitability of donors for erythrothrombocytapheresis on Trima Accel. Vox Sang 2006; 91 (suppl 3): 210. Impact factor: 2,111.
21. Procházková R., Veselá I., Řehořová L. Automatizace imuno hematologických vyšetření v klinické laboratoři – analyzátor WADiana Compact. XI. Pracovní dny Společnosti pro transfuzní lékařství, 25.-27.9.2006, Brno, Sborník abstrakt, Společnost pro transfuzní lékařství. ISBN 80-239-7765-2.
22. Řehořová L., Procházková R., Veselá I., Kohlová J. Automatizace imuno hematologických vyšetření dárců krve. XI. Pracovní dny Společnosti pro transfuzní lékařství, 25.-27.9.2006, Brno, Sborník abstrakt, Společnost pro transfuzní lékařství. ISBN 80-239-7765-2.
23. Procházková R., Hubáčková L., Andrys C., Krejsek J., Bláha M. Erythrocyty – markery apoptózy při hodnocení parametrů jakosti. Interná medicína 2006; 6: S 21-S 22. ISSN 1335-8359.
24. Procházková R., Hubáčková L., Andrys C., Krejsek J., Bláha M., Řehořová L. Erythrocyty z aferézy - markery vitality buněk při hodnocení parametrů jakosti. In: Pecka M., Malý J. Laboratorní hematologie 2006. HK Credit, Hradec Králové 2006, s. 57-58. ISBN 80-86780-29-5.
25. Bláha M., Cermanová M., Bláha V., Jarolím P., Andrys C., Blažek M., Smolej L., Procházková R., Zajíc J., Zimová R. Endoglin – a promising laboratory marker for evaluation of decrease of atherosclerotic activity. Laboratorní hematologie 2006, HK Credit, Hradec Králové 2006, s. 102. ISBN 80-86780-29-5.
26. Procházková R. Multikomponentní aferézy – přínos pro krevní dárcovství. In: Malý J., Pecka M. Trombóza a hemostáza 2007. HK Credit, Hradec Králové 2007, 22 – 24. ISBN 978–80– 86780–02-3.
27. R. Procházková, J. Krejsek, C. Andrys, M. Bláha, L. Hubáčková, L. Řehořová. Multicomponent apheresis – new trend in blood donation. Acta medica (Hradec Králové) 2007; 50: 81. ISSN 1211 - 4286.
28. Bláha M., Cermanová M., Bláha V., Jarolím P., Andrys C., Blažek M., Malý J., Smolej L., Procházková R., Zajíc J., Zimová R. Elevated serum soluble endoglin(sCD105)

decreased during extracorporeal elimination of LDL-cholesterol: assessing the efficacy of endothelial damage repair. *Acta medica (Hradec Králové)* 2007; 50: 62 – 63.

29. Procházková R. Potransfuzní reakce. Sborník abstrakt, XXI. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, Rubico, Olomouc.2007, s. 43 - 44. ISBN 978-80-7346-078-5.
30. Procházková R. Hlášení potransfuzních reakcí a událostí – součást řešení problematiky hemovigilance v KN Liberec. *Interná medicína* 2007; 7: S 26. ISSN 1335-8359.
31. Písačka M., Králová E., Procházková R. Anti –Ge antibodies – Enormous titre increase and mild acute reaction after transfusion of crosmatch negative units. *Transfusion* 2007; 47 (suppl 3): 163A. Impact factor 3,278.

#### **9. 4. Přednášky – výběr**

1. Procházková R., Turek P., Hamšíková E., Kuřková D. HCVcAg in blood donors - feasibility study. *Western Congress of the ISBT Shanghai*, 10.- 13.11.2001.
2. Procházková R., Řehořová L., Veselá I., Kratochvílová B., Šťastná L. Screening antierytrocytárních protilátek bez enzymatického testu u předtransfuzního vyšetření - XXX. Český a slovenský hematologický a transfuziologický kongres s mezinárodní účastí, Praha, 22.-25.9.2002.
3. Procházková R. Sekundární trombotická trombocytopenická purpura – odlišnosti v diagnostice a terapeutické strategii. XXX. Český a slovenský hematologický a transfuziologický kongres s mezinárodní účastí, Praha, 22.-25.9.2002.
4. Procházková R., Hanáčková A., Veselá I. Protokol o vyšetření potransfuzní reakce jako součást komplexního řešení problematiky v Nemocnici Liberec. Česko – slovenské dny laboratorní hematologie, Hradec Králové, 28.-29.11.2002.
5. Procházková R. Secondary TTP - differences in course and therapeutical strategy. VIII<sup>th</sup> European Congress of the ISBT, Istanbul, 5.-9.7.2003.
6. Procházková R., Veselá I. Protokol o vyšetření potransfuzní reakce – součást řešení problematiky hemovigilance. 9. pracovní dny Společnosti pro transfuzní lékařství, Praha, 10.-13.9.2003.
7. Procházková R., Řehořová L., Hubáčková L. Blood donors' entrance criteria for multicomponent apheresis – retrospective study. 14<sup>th</sup> Congress of the ESFH, Praha 10.-13. 9. 2003.

8. Procházková R., Walterová L. Present State of Hemovigilance in Czech Republic. Second German. Czech Transfusion Days, Praha, 9.-10.6. 2004.
9. Procházková R., Kurková R., Řehořová R., Hubáčková L. Suitability apheresis donors for multicomponent apheresis. XXVIII<sup>th</sup> Congress of the International Society of Blood Transfusion, Edinburgh, 11.-15. 7. 2004.
10. Procházková R., Řehořová L., Hubáčková L., Kurková R. Multikomponentní odběry na separátoru Haemonetics MCS+. 10. pracovní dny STL ČLS JEP, Rožnov pod Radhoštěm, 8.-10. 9. 2004.
11. Procházková R., Hubáčková L., Řehořová L., Kurková R. Erythrocyty z aferézy delekutizované – zhodnocení parametrů jakosti. VI. Česko – slovenské dny laboratorní hematologie s mezinárodní účastí, Hradec Králové, 25. - 26. 11. 2004.
12. Procházková R. Hemovigilance. XXI. Vanýskův den, Brno, 11.3. 2005.
13. Procházková R., Hubáčková L. Multikomponentní aferézy. Transfuziologická konference s mezinárodní účastí, Čilistová, Slovenská republika, 6.- 8.6.2005.
14. Procházková R. Multikomponentní odběry dárců krve – teorie a praxe. XIX. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, Olomouc, 15.-18.6.2005.
15. Procházková R., Hubáčková L., Řehořová L. Quality parameters of two WBC-reduced units collected by apheresis. XV<sup>th</sup> Regional Congress of the ISBT, Europe, Athens, 2.- 6.7.2005.
16. Procházková R. Vliv dvojité erythrocytaferézy na dárce krve. XIV. Slovenský a český hematologicko-transfuziologický sjezd s mezinárodní účastí, Štrbské Pleso, Slovenská republika, 29.9.-2.10.2005.
17. Procházková R. Potransfuzní reakce a hemovigilance. XIV. Slovenský a český hematologicko-transfuziologický sjezd s mezinárodní účastí, Štrbské Pleso, Slovenská republika, 29.9.-2.10.2005.
18. Procházková R. Vliv dvojité erythrocytaferézy na dárce krve. XIV. Slovenský a český hematologicko-transfuziologický sjezd s mezinárodní účastí, Štrbské Pleso, Slovenská republika, 29.9.-2.10.2005.
19. Řehořová L., Hubáčková L., Procházková R. Analýza trendů v kontrole jakosti transfuzních přípravků. XIV. Slovenský a český hematologicko-transfuziologický sjezd s mezinárodní účastí, Štrbské Pleso, Slovenská republika, 29.9.-2.10.2005.

20. Procházková R., Řehořová L., Hubáčková L. Double erythrocytapheresis: Quality parameters of two WBC- reduced RBC. 15<sup>th</sup> Congress of the ESFH, Antalya, Turkey, 5.-9.10. 2005.
21. Procházková R., Řehořová L., Hubáčková L. Multicomponent apheresis: Apheresis parameters and quality of platelets from separator Haemonetics MCS+ and Trima Accel. 15<sup>th</sup> Congress of the ESFH, Antalya, Turkey, 5.-9.10. 2005.
22. Jebavý L., Malý J., Štěpánová V., Blažek M., Procházkova R., Cermanova M., Meřička P., Blaha M. Danger of infection transmission during hematological progenitor cell transplantation. 15<sup>th</sup> Congress of the ESFH, Antalya, Turkey, 5.-9.10. 2005.
23. Blaha M., Cermanova M., Blaha V., Blažek M., Malý J., Prochazkova R., Solichova D., Široký O. LDL-apheresis in familial hyperlipoproteinemia: Results of long lasting therapy. 15<sup>th</sup> Congress of the ESFH, Antalya, Turkey, 5.-9.10. 2005.
24. Procházková R., Andrys C., Krejsek J., Hubáčková L., Řehořová L. Multikomponentní odběry krve - zhodnocení markerů apoptózy a aktivace trombocytů. Pracovní den Společnosti pro transfuzní lékařství, Nové postupy v dárcovských a terapeutických hemaferézách, Praha, 24.11.2005.
25. Procházková R. Optimal transfusion treatment of anaemic patients undergoing surgery. Residential course „ Clinical transfusion medicine“, European School of transfusion medicine, Liberec, 29.3.-1.4.2006.
26. Procházková R. Overview of the most common untowards reactions to transfusion. Residential course „ Clinical transfusion medicine“, European School of transfusion medicine, Liberec, 29.3.-1.4.2006.
27. Procházková R. Výběrová kritéria pro dárce erytrotrombocytferéz na separátoru Trima Accel. XX. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, Olomouc, 31.5.-3.6.2006.
28. Procházková R., Andrys C., Krejsek J., Hubáčková L., Řehořová L. Markers of apoptosis and activation in platelets from separator Haemonetics MCS+ and Trima Accel. ESFH meeting, Umea, Sweden, 20.-21.6.2006.
29. Procházková R., Hubáčková L., Řehořová L. Suitability of donors for thromboerythrocytapheresis. XXIX<sup>th</sup> International Congress of ISBT, Cape Town, 2.-7.9. 2006.
30. Procházková R., Veselá I., Řehořová L. Automatizace imunohepatologických vyšetření

- v klinické laboratoři – analyzátor WADiana Compact. XI. Pracovní dny Společnosti pro transfuzní lékařství, Brno, 25.-27.9.2006.
31. Procházková R., Hubáčková L., Andrýs C., Krejsek J., Bláha M. Erythrocyty z aferézy - markery apoptózy při hodnocení parametrů jakosti. II. Bratislavské hematologické a transfuziologické dny s mezinárodní účastí. Bratislava, 26.- 27.10.2006.
  32. Procházková R., Hubáčková L., Andrýs C., Krejsek J., Bláha M., Řehořová L. Erythrocyty z aferézy – markery vitality buněk při hodnocení parametrů jakosti. VII. Česko-Slovenské dny laboratorní hematologie s mezinárodní účastí. Hradec Králové, 23.- 24.11.2006.
  33. Bláha, M., Cermanová, M., Bláha, V., Jarolím, P., Andrýs, C., Blažek, M., Smolej, L., Procházková, R., Zajíc, J., Zimová, R.: Endoglin – a promising laboratory marker for evaluation of decrease of atherosclerotic activity. VII. Česko-Slovenské dny laboratorní hematologie, Hradec Králové, 23.-24.11.2006.
  34. Procházková R., Krejsek J., Andrýs C., Bláha M., Hubáčková L., Řehořová L. Multicomponent apheresis - new trend in blood donation. Vědecká konference LF UK Hradec Králové, 23.1.2007.
  35. Procházková R. Multikomponentní aferézy – přínos pro krevní dárcovství. XIV. Česko-Slovenská konference o trombóze a hemostáze s mezinárodní účastí, Hradec Králové, 17.- 19.5.2007.
  36. Procházková R. Potransfuzní reakce. XXI. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, Olomouc, 16.-19.6.2007.
  37. Walterová L., Procházková R. Méně frekventované komplikace transfuze. IV. Košické hematologické a transfuziologické dny s mezinárodní účastí, Košice, 27.-29. 9. 2007.
  38. Procházková R. Hlášení potransfuzních reakcí a událostí – součást řešení problematiky hemovigilance v KN Liberec. III. Bratislavské hematologické a transfuziologické dny s mezinárodní účastí, Bratislava, 11.- 13. 10. 2007.
  39. Písačka M., Králová E., Procházková R. Anti – Ge antibodies – Enormous titre increase and mild acute reaction after transfusion of crossmatch negative units. 2007 AABB Annual Meeting, Anaheim, California, USA, 20 –23. October 2007.
  40. Procházková R., Hubáčková L., Andrýs C., Krejsek J. Erythrocyty z aferézy – markery apoptózy při hodnocení parametrů jakosti. Pracovní den STL, Praha, 28.11.2007.