PROMJENE KOJE NASTAJU TIJEKOM ČUVANJA KONCENTRATA TROMBOCITA

Katavić, Jelena

Undergraduate thesis / Završni rad

2014

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split / Sveučilište u Splitu**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:176:590157

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

Sveučilišni odjel zdravstvenih studija
SVEUČILIŠTE U SPLITU

Repository / Repozitorij:

Repository of the University Department for Health Studies, University of Split

zir.nsk.hr

UNIVERSITY OF SPLIT

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Sveučilište u Splitu

Sveučilišni odjel zdravstvenih studija

Medicinska laboratorijska dijagnostika

PROMJENE KOJE NASTAJU TIJEKOM ČUVANJA KONCENTRATA TROMBOCITA

ZAVRŠNI RAD

MENTOR: Dr.sc. Slavica Dajak, dr.med.

STUDENTICA: Jelena Katavić

Ak.god. 2013/2014

POPIS KRATICA

BFU-MK - engl. burst forming units for megakaryocites

CFU-MK - engl. colony forming units for megakaryocites

DNK - Deoksiribonukleinska kiselina

MPV - Prosječni volumen trombocita

vWF - Von Willebrand faktor

PS - Protein S

PAI - Inhibitor plazminogen aktivatora

ADP - Adenozin difosfat

ATP - Adenozoin trifosfat

PAR - engl.protease-activated receptor

DIK - Diseminirana intravaskularna koagulacija

HUS - Hemolitično-uremični sindrom

TTP - Trombocitička trombocitopenična purpura

PDW - širina raspodjele trombocita po volumenu (engl. platelet distibution width)

PCT - trombokrit (engl. plateletcrit)

ITP - idiopatska trombocitopenična purpura

NAIT - neonatalna aloimuna trombocitopenija

PTP - posttransfuzijska purpura

PRP - plazma bogata trombocitima (engl. platelet-rich plasma)

PPP - plazma siromašna trombocitima (engl. Platelet-Poor Plasma)

SADRŽAJ

1 UVOD 5

1.1 TROMBOCITI 5

1.1.1 Sazrijevanje trombocita 5

1.1.2 Građa trombocita 5

1.1.2.1 Trombocitni antigeni 7

1.1.3 Funkcija trombocita 7

1.1.3.1 Adhezija 8

1.1.3.2 Sekrecija sadržaja granula 8

1.1.3.3 Agregacija 8

1.1.4 Poremećaji trombocita 9

1.1.4.1 Kvalitativne promjene trombocita 9

1.1.4.2 Kvantitativne promjene trombocita 10

1.1.5 Određivanje vrijednosti trombocita na hematološkom brojaču 11

1.2 KONCENTRAT TROMBOCITA 12

1.2.1 Dobrovoljni davatelji krvi 13

1.2.1.1 Laboratorijsko ispitivanje darovane doze krvi 14

1.2.2 Proizvodnja koncentrata trombocita 15

1.2.2.1 Proizvodnja koncentrata trombocita iz plazme bogate trombocitima 15

1.2.2.2 Proizvodnja koncentrata trombocita iz sloja leukocita i trombocita 16

1.2.2.3 Proizvodnja koncentrata trombocita trombocitaferezom 17

1.2.3 Čuvanje koncentrata trombocita 17

1.2.4 Transfuzijsko liječenje koncentratom trombocita 18

2 CILJ RADA 21

3 MATERIJALI I METODE 22

3.1 Od doze pune krvi do koncentrata trombocita 22

3.2 Biokemijske analize 23

3.3 Hematološke analize 23

3.4 Statistička obrada podataka 23

4 REZULTATI 24

5 RASPRAVA 29

6 ZAKLJUČCI 31

7 LITERATURA 32

8 SAŽETAK 34

9 SUMMARY 35

10 ŽIVOTOPIS 36

1 UVOD

1.1 TROMBOCITI

Trombociti su stanice diskoidnog oblika koje obavljaju mnoge važne funkcije u organizmu. Osnovna su sastavnica u primarnoj fazi hemostaze, ali daju svoj doprinos i u sekundarnoj fazi. Trombociti imaju aktivnu ulogu u upali oslobađajući razne faktore koji su snažni amplifikatori aktivnosti bazofila, mastocita i neutrofila. Referentni raspon trombocita za zdravu osobu je 150-450 x 10^9/L, dužina života u perifernoj krvi je 9-11 dana, srednji stanični volumen (MPV) iznosi 5.8 fl. Kod mlađih trombocita MPV je veći dok se starenjem trombocita vrijednost smanjuje.

1.1.1 Sazrijevanje trombocita

Trombociti ili krvne pločice su stanice nastale u koštanoj srži fragmentiranjem citoplazme zrelih megakariocita koji nastaju u procesu megakariocitopoeze. Megakariociti nastaju iz BFU-MK (*engl. burst forming units for megakaryocites*) i CFU-MK *(engl. colony forming units for megakaryocites).* Megakariocitopoeza se odvija pod djelovanjem različitih faktora rasta prvenstveno trombopoetina (TPO). Trombopoetin potiče proces sazrijevanja, što dovodi do znatnog povećanja megakariocitne DNK i sinteze trombocitnih specifičnih bjelančevina (1). Vrijeme potrebno za stvaranje trombocita u procesu megakariocitopoeze je prosječno deset dana. Nakon diferencijacije mladi trombociti se otpuštaju iz koštane srži i zadržavaju se u slezeni 36 sati prije ulaska u krvotok. Otprilike 70-80 % trombocita cirkulira krvotokom, dok je 20-30 % pohranjeno u slezeni. Trombociti se uništavaju procesom fagocitoze u koštanoj srži, jetri i slezeni.

1.1.2 Građa trombocita

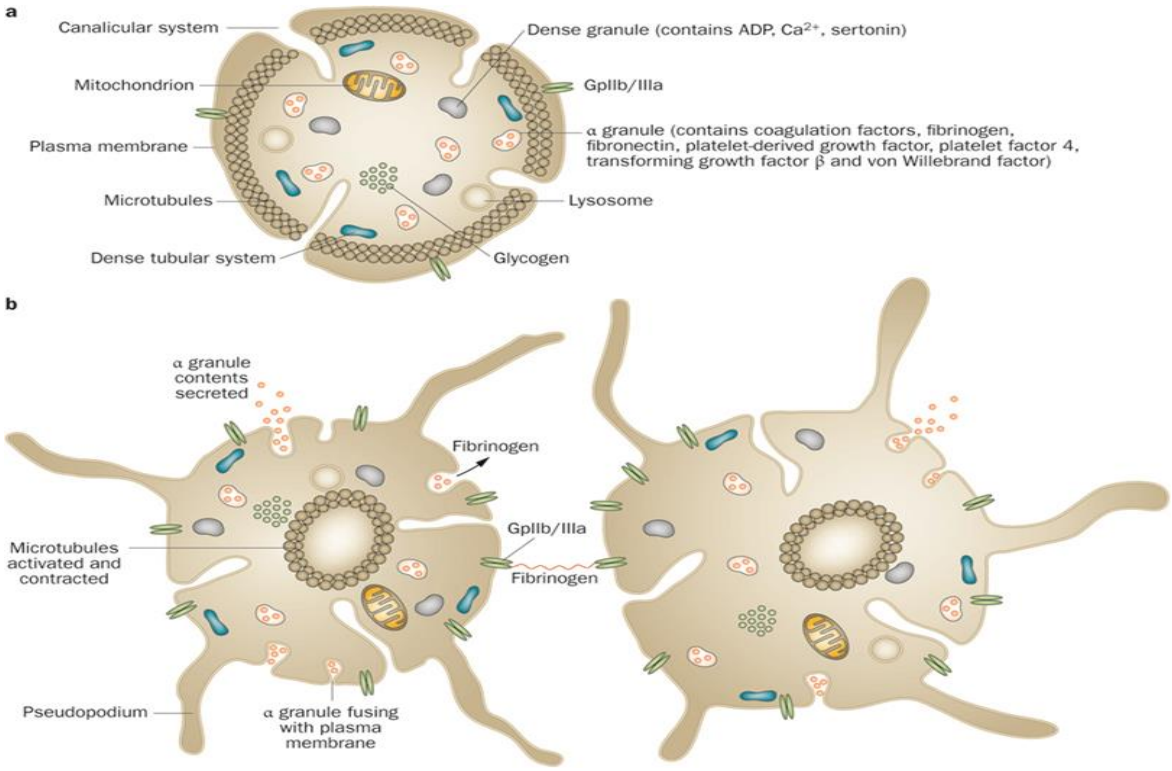
Trombociti su stanice koje ne sadrže jezgru, endoplazmatski retikulum ni Golgijev aparat, slika 1, stoga za obavljanje svojih funkcija ovise o proteinima sintetiziranim u megakariocitima. Stanična membrana trombocita obavijena je glikoproteinskim omotačem koji sadrži plazmatske proteine i faktore zgrušavanja, fibrinolize i komplementa. Na površini trombocita nalaze se brojni glikoproteini koji imaju važnu ulogu u reakcijama adhezije i agregacije (1). Za funkciju trombocita najvažniji su

glikoproteini Ib, IIb i IIIa. Na glikoproteinu Ib su receptori za vWF, dok glikoproteini IIb i IIIa tvore kompleks glikprotein IIb/IIIa koji sadrži receptore za fibrinogen i odgovoran je za agregaciju trombocita. Membrana trombocita sadrži i velike količine fosfolipida koji djeluju aktivacijski na više mjesta u procesu zgrušavanja krvi (2). Ispod membrane nalaze se filamenti i mikrotubuli koji oblikuju citoskelet. Postoji još jedan sustav mikrofilamenata koji sudjeluje u kontrakciji i sekreciji trombocita i uzrokuje promjenu oblika (1). U zoni organela zrelog trombocita nalaze se lizosomi, peroksizomi, mitohondriji, alfa granule i guste granule. Gusti tubularni sustav trombocita sadrži kolagen i mjesto je sinteze prostaglandina i tromboksana A_2.

U trombocitima najviše ima alfa granula koje sadrže:

- ✓ adhezivne proteine (fibrinogen, fibronektin, vWF)
- ✓ faktore rasta
- ✓ faktore zgrušavanja (fV, fibrinogen, PS, fXI, PAI-1)

Guste granule sadrže važne medijatore potrebne za obavljanje funkcije trombocita ADP, ATP, kalcijeve ione, serotonin.



Slika 1. Trombocit: *a*- inaktivni oblik, *b*- aktivni oblik (6)

1.1.2.1 Trombocitni antigeni

Na površini trombocita nalaze se:

- ✓ Specifični trombocitni antigeni (HPA *engl. human platelet antigens*)
- ✓ Antigeni tkivne snošljivosti (HLA *engl. human leukocyte antigens*)
- ✓ Antigeni sustava krvnih grupa (ABO antigeni)

Specifični trombocitni antigeni nalaze se na glikoproteinima trombocitne membrane. Označeni su brojevima prema redosljedu otkrivanja, a aleli unutar sustava označeni su slovima. Slovom *a* su označeni antigeni veće učestalosti (HPA-1a, 98%), dok su slovom *b* označeni oni manje učestalosti (HPA-1b, 29%). Većinom se radi o razlici u jednom nukleotidu odnosno o SNP (*engl. single nucleotide polymorphism*).

Uz navedene antigene na trombocitnoj membrani nalazi se veliki broj HLA antigena klase I, uglavnom se radi o antigenima A i B lokusa.

Od antigena krvnih grupa na trombocitima se nalaze ABH antigeni, I, P i Lewis. Trombocitni antigeni imaju poseban klinički značaj zbog imunološkog odgovora koji nastaje nakon kontakta s njima. Protutijela nastala imunizacijom mogu uzrokovati razna patološka stanja. Autoimuna protutijela usmjerena su na antigene vlastitih trombocita i uzrokuju idiopatsku trombocitopeničnu purpuru (ITP). Aloimuna proutijela nastaju imunizacijom nakon kontakta sa stranim trombocitima tijekom trudnoće ili nakon transfuzije i uzrokuju neonatalnu aloimunu trombocitopeniju (NAIT) i postransfuzijsku purpuru (PTP), a mogu biti uzrok refraktornosti na transfuzije trombocita.

1.1.3 Funkcija trombocita

Trombociti imaju važnu ulogu u mnogim procesima u organizmu, najznačajnija uloga koju imaju je u procesu zgrušavanja krvi. Trombociti cirkuliraju krvotokom u svom inaktivnom obliku, tijekom hemostaze oni prelaze u svoj aktivni oblik i sudjeluju u stvaranju hemostatskog tromba.

Stvaranje tromba događa se u tri glavna koraka:

1. Adhezija trombocita za slobodni kolagen u krvnim žilama
2. Otpuštanje (egzocitoza) sadržaja granula
3. Agregacija (3).

1.1.3.1 Adhezija

Adhezija je reakcija u kojoj se trombociti s kolagenom vežu za stijenke krvne žile. Kada trombociti dođu u dodir s oštećenom krvnom žilom, odnosno kolagenskim vlaknima oni mijenjaju svoj oblik i na taj se način aktiviraju. Oni počnu bubriti te poprime nepravilne oblike, s brojnim zrakastim izdancima što strše s njihove površine (2). Dolazi do promjene površine trombocita, organele se smještaju centralno i tako aktivirani trombociti oslobađaju svoje brojne aktivne čimbenike. Takvi trombociti postaju ljepljivi te prijanjaju za tkivni kolagen i vWF, uz to luče velike količine ADP-a, a njihovi enzimi stvaraju tromboksan A_2.

1.1.3.2 Sekrecija sadržaja granula

Nastali tromboksan A_2 započinje reakciju oslobađanja sadržaja granula. Tijekom reakcije sekrecije sadržaja trombocitnih granula, kolagen i trombin aktiviraju sintezu prostaglandina. Tromboksan A_2 potiče agregaciju trombocita i ima jaku vazokonstriktornu aktivnost.

1.1.3.3 Agregacija

Agregacija je reakcija u kojoj se trombociti vežu jedan za drugog. ADP i tromboksan A_2 aktiviraju susjedne trombocite i čine ih ljepljivima te oni prijanjaju za već aktivirane trombocite. Na oštećenoj krvnoj stijenci aktivira se sve veći broj trombocita koji agregiraju jedan za drugi i tvore rahli trombocitni čep koji se u daljnjem procesu zgrušavanja povezuje fibrinskim nitima i postaje nepropustan.

Trombociti uz središnju ulogu u primarnoj fazi hemostaze, imaju važnu ulogu i u sekundarnoj fazi hemostaze gdje osiguravaju fosfolipidnu i prokoagulacijsku površinu za odvijanje koagulacijskih reakcija prema staničnom modelu hemostaze. Zbog uloge trombocita u svim navedenim procesima koji su od vitalne važnosti za organizam, treba pravovremeno otkriti bilo kakav poremećaj vezan uz trombocite.

1.1.4 Poremećaji trombocita

Poremećaji broja trombocita mogu biti kvantitativni i kvalitativni. U kvantitativne poremećaje ubrajamo trombocitopenije i trombocitoze. Trombocitopenija predstavlja stanje s smanjenim brojem trombocita u odnosu na referentni raspon, dok trombocitoza predstavlja stanje s povećanim brojem trombocita. Kvalitativne promjene trombocita su trombocitopatije (1).

1.1.4.1 Kvalitativne promjene trombocita

Kvalitativne promjene trombocita su promjene u funkciji trombocita, mogu biti stečene ili nasljedne. Trombocitopatije se najčešće manifestiraju petehijama po koži, modricama, spontanim krvarenjima iz nosa, gingive te produženim krvarenjima iz ozljeda, a posljedica su raznih stečenih bolesti (tablica 1). Stečeni poremećaji funkcije trombocita češći su od nasljednih i vezani su uz niz patoloških stanja, a mogu biti izazvani i raznim lijekovima (tablica 1). Najčešći od lijekova koji uzrokuje poremećaj funkcije trombocita je aspirin ili njegovi derivati.

Tablica 1. Poremećaji prema funkciji trombocita

Poremećaj u adheziji trombocita	**Nasljedni:** ***** *Bernard-Soulierov sindrom* – membranski defekt glikoproteina Ib
	Stečeni: ***** *uremija*
Poremećaj u agregaciji tromocita	**Nasljedni:** *****_Glanzmannova trombastenija_ – nedostatak glikoproteina IIb/IIIa
	Stečeni: ***** posljedica uzimanja lijekova
Poremećaj sekrecije granula	**Nasljedni:** ***** _Sindrom sivih trombocita_ – nedostatak α granula
	Stečeni: ***** mijeloproliferativni poremećaji

1.1.4.2 Kvantitativne promjene trombocita

Trombocitoze odnosno povišen broj trombocita nastaju kod niza patoloških stanja u organizmu. Dijele se na primarne trombocitoze i sekundarne ili reaktivne trombocitoze. Uzrok primarnih je najčešće neki mijeloproliferativni poremećaj, dok sekundarne mogu nastati kao posljedica sistemske upale, maligniteta, krvarenja i sl.

Trombocitopenije mogu nastati kao posljedica:

- ✓ smanjenog ili defektnog stvaranja trombocita (*aplastična anemija*)
- ✓ zbog poremećaja raspodjele trombocita u cirkulaciji (*hipersplenizam*)
- ✓ zbog ubrzane razgradnje i potrošnje trombocita (*DIK, HUS, TTP*)
- ✓ terapije lijekovima (*heparin inducirana trombocitopenija*)

Klinička slika trombocitopenija je raznolika, ne očituje se kod svih bolesnika krvarenjima u sluzinicu i kožu (petehije i ekhimoze). Raznolikost kliničke slike usko je povezana sa stupnjem izraženosti trombocitopenije.

Prema broju trombocita razlikujemo:

- ✓ umjerene trombocitopenije (50-150 x 10^9/L)
- ✓ srednje trombocitopenije (30-50 x 10^9/L)
- ✓ teške trombocitopenije (10-30 x 10^9/L)
- ✓ vrlo teške trombocitopenije (Trc < 10 x 10^9/L) (4).

Kod umjereno smanjenog broja trombocita može doći do produženog vremena krvarenja, dok kod srednjih trombocitopenija dolazi do krvarenja pri manjoj ozljedi. U slučaju teških i vrlo teških trombocitopenija bolesnik može spontano krvariti. Zbog jako niskog broja trombocita ili poremećaja njihove funkcije trombociti ne mogu obavljati svoju ulogu u procesu stvaranja krvnog ugruška i to predstavlja veliki rizik za bolesnika. Stoga prvi korak u dijagnostici trombocitopenija predstavlja određivanje broja trombocita u perifernoj krvi.

1.1.5 Određivanje vrijednosti trombocita na hematološkom brojaču

Kompletna krvna slika je osnovna laboratorijska analiza krvi koja se radi zbog procjene općeg zdravstvenog stanja i otkrivanja različitih poremećaja u organizmu poput anemija, infekcija, virusnih i malignih oboljenja i sl. Analizom krvne slike dobiva se uvid u broj i kvalitetu leukocita, eritrocita i trombocita. Danas rutinska analiza

kompletne krvne slike osim broja trombocita uključuje i trombocitne pokazatelje (indekse) te grafički prikaz njihove raspodjele po volumenu.

To su prvenstveno:

- ✓ **MPV *(mean platelet volumen)*** – srednji volumen trombocita izražen u femtolitrima (fL)
- ✓ **PDW *(platelet distribution width)*** – širina krivulje raspodjele po volumenu
- ✓ **PCT *(plateletcrit)* –** trombocitni pokazatelj koji predstavlja volumni postotak trombocita, odnosno omjer ukupnog volumena trombocita i volumena aspiriranog uzorka pune krvi, određuje se isključivo matematički preko PDW-a

Osim trombocitnih pokazatelja analizator nam daje i razne upozoravajuće poruke na koje trebamo obratiti pažnju. Trombocitni pokazatelji i poruke na analizatorima su nam prvenstveno važne za otkrivanje pseudotrombocitopenije. Pseudotrombocitopenija je pojava lažno sniženog broja trombocita. Spomenuti fenomen je u potpunosti tehničke prirode, pojavljuje se ***in vitro*** i nema nikakvo kliničko značenje za pacijenta, stoga je od iznimne važnosti prepoznati lažno snižen broj trombocita. Neočekivane trombocitopenije zahtijevaju daljnju obradu laboratorijskog osoblja u vidu mikroskopskog pregleda razmaza periferne krvi. Neprepoznata lažna trombocitopenija može imati poražavajuće posljedice u skrbi o bolesniku uključujući dodatne, skupe pretrage kao i potencijalno opasnu upotrebu raznih lijekova i tretmana.

1.2 KONCENTRAT TROMBOCITA

Koncentrat trombocita (KT) je krvni pripravak dobiven iz doze pune krvi. To je dragocjen lijek koji dobivaju bolesnici kojima je potrebno transfuzijsko liječenje, a zahvaljujući plemenitosti dobrovoljnih davatelja krvi. Rastuća primjena agresivnih medicinskih postupaka i kemoterapije jako je povećala učestalost liječenja trombocitnim transfuzijama (5). Zbog ljudskog podrijetla i proizvodnje koja je ograničena brojem dobrovoljnih davatelja krvi, te zbog načina proizvodnje i kratkog roka trajanja koncentrati trombocita imaju posebno mjesto među lijekovima.

1.2.1 Dobrovoljni davatelji krvi

Kako bi se osiguralo brzo, kvalitetno i sigurno liječenje bolesnika potrebno je uvijek imati dovoljne količine krvi u pričuvi, a time i dovoljan broj davatelja krvi koji čine okosnicu transfuzijskog liječenja. Krv nije moguće proizvesti na umjetan način, jedini izvor krvi kao lijeka je čovjek. Davatelj krvi je osoba koja daruje krv, plazmu ili stanične dijelove po osnovnim načelima darivanja krvi dobrovoljnosti, anonimnosti, solidarnosti i besplatnosti. Krv može darivati svaki čovjek dobrog općeg zdravstvenog stanja koji zadovoljava opće kriterije za darivanje krvi (tablica 2).

Tablica 2. Opći kriteriji za darivanje krvi

Dob	Od 18-65 godina
Tjelesna težina	> 55 kg, proporcionalno visini
Tjelesna temperatura	Do 37^{o}C
Krvni tlak	Sistolični 90-180 mmHg
	Dijastolični 50-110 mmHg
Puls	50-110 otkucaja u minuti
Hemoglobin	Žene ≥ 125 g/L
	Muškarci ≥ 135 g/L
Žene	4 x godišnje s razmakom između darivanja 3 mjeseca
Muškarci	3 x godišnje s razmakom između darivanja 4 mjeseca

Najčešći način darivanja krvi je darivanje jedne doze pune krvi. Krv se uzima u plastičnu vrečicu s anikoagulantnom otopinom. Uzorkuje se 450 ± 50 mL krvi u kojoj se nalaze svi njezini sastojci (eritrociti, plazma, trombociti i leukocit).

Drugi način darivanja je uzimanje jednog ili više krvnih sastojaka pomoću aparata koji nazivamo stanični separator, a sami postupak afereza. Aferezom prikupljena doza krvnog pripravka sadrži veći broj određenih stanica nego doza uzorkovana standardnom venepunkcijom. Plazmaferezom se uzima plazma za liječenje bolesnika ili proizvodnju derivata plazme, a trombaferezom se uzima koncentrat trombocita. U odnosu na klasično darivanje krvi prednost darivanja krvi postupkom afereze je da se krv može darivati češće. Trombociti se staničnim separatorom mogu darivati do 12 puta godišnje s razmakom između dva davanja najmanje 14 dana, a plazma do 25 puta godišnje s razmakom između dva davanja najmanje 7 dana.

1.2.1.1 Laboratorijsko ispitivanje darovane doze krvi

Transfuzija krvi mora biti sigurna i djelotvorna, stoga nakon svakog darivanja svaka doza krvi ili krvnog pripravka treba proći laboratorijsko ispitivanje. Laboratorijsko ispitivanje uvedeno je prvenstveno zbog zaštite primatelja krvi, ali i zaštite samog dobrovoljnog davatelja. Ispitivanje se provodi na uzorcima krvi davatelja koji se uzimaju pri svakom darivanju krvi.

Laboratorijsko ispitivanje uključuje:

- ✓ Određivanje ABO krvne grupe i RhD krvne grupe
- ✓ Ispitivanje prisutnosti iregularnih antieritrocitnih protutijela
- ✓ Ispitivanje prisutnosti uzročnika krvlju prenosivih bolesti: HBsAg, anti-HCV, anti-HIV tip 1/ 2 i TPHA
- ✓ NAT testiranje HBV, HCV i HIV infekcije

Ispitivanje se radi nakon svakog dobrovoljnog davanja krvi, svakoj dozi krvi. Proces ispitivanja reguliran je zakonom. Samo doze čiji su testovi bili negativni na krvlju prenosive bolesti i iregularna antieritrocitna protutijela smiju se primijeniti u transfuzijskom liječenju ili za pripravu krvnih pripravaka. Svi rezultati laboratorijskog ispitivanja su strogo povjerljivi i tajnost podataka mora biti osigurana. Istodobno dok se provodi laboratorijsko ispitivanje darovane krvi potrebno je od iste doze krvi pripraviti krvni pripravak. Obrada i priprava doze krvnog pripravka započinje odmah po dolasku doze krvi u laboratorije transfuzijske ustanove.

1.2.2 Proizvodnja koncentrata trombocita

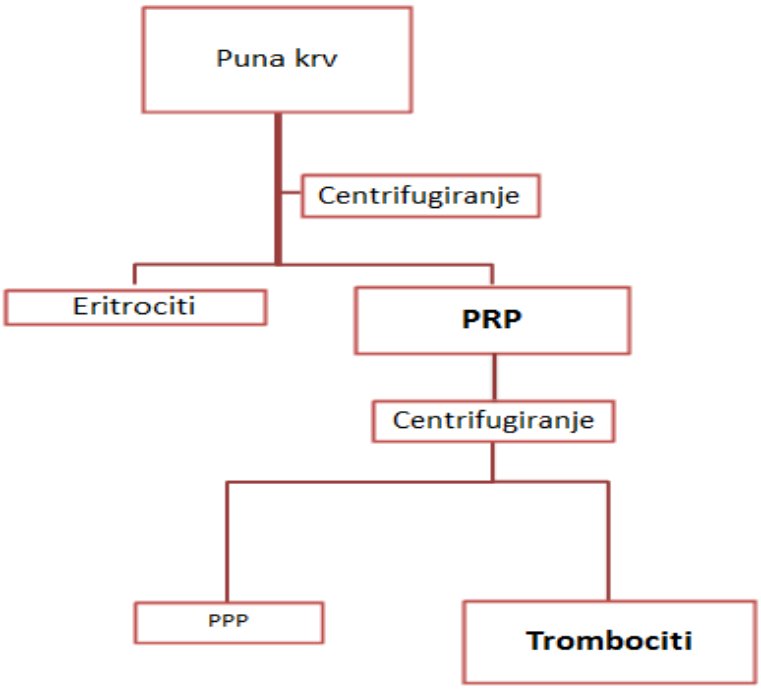
Trombocitni su pripravci proizvedeni izdvajanjem i koncentriranjem trombocita od krvi dobrovoljnih davatelja i istodobnim smanjivanjem ostalih krvnih stanica u pripravku (5). Proizvodnja trombocitnog pripravka treba započeti unutar šest sati od uzorkovanja doze krvi.

Načini proizvodnje koncentrata trombocita:

- ✓ Proizvodnja koncentrata trombocita iz plazme bogate trombocitima (engl. *Platelet Rich Plasma*, PRP)
- ✓ Proizvodnja koncentrata trombocita iz sloja leukocita i trombocita (engl. *Buffy Coat*, BC)
- ✓ Proizvodnja koncentrata trombocita trombaferezom

1.2.2.1 Proizvodnja koncentrata trombocita iz plazme bogate trombocitima

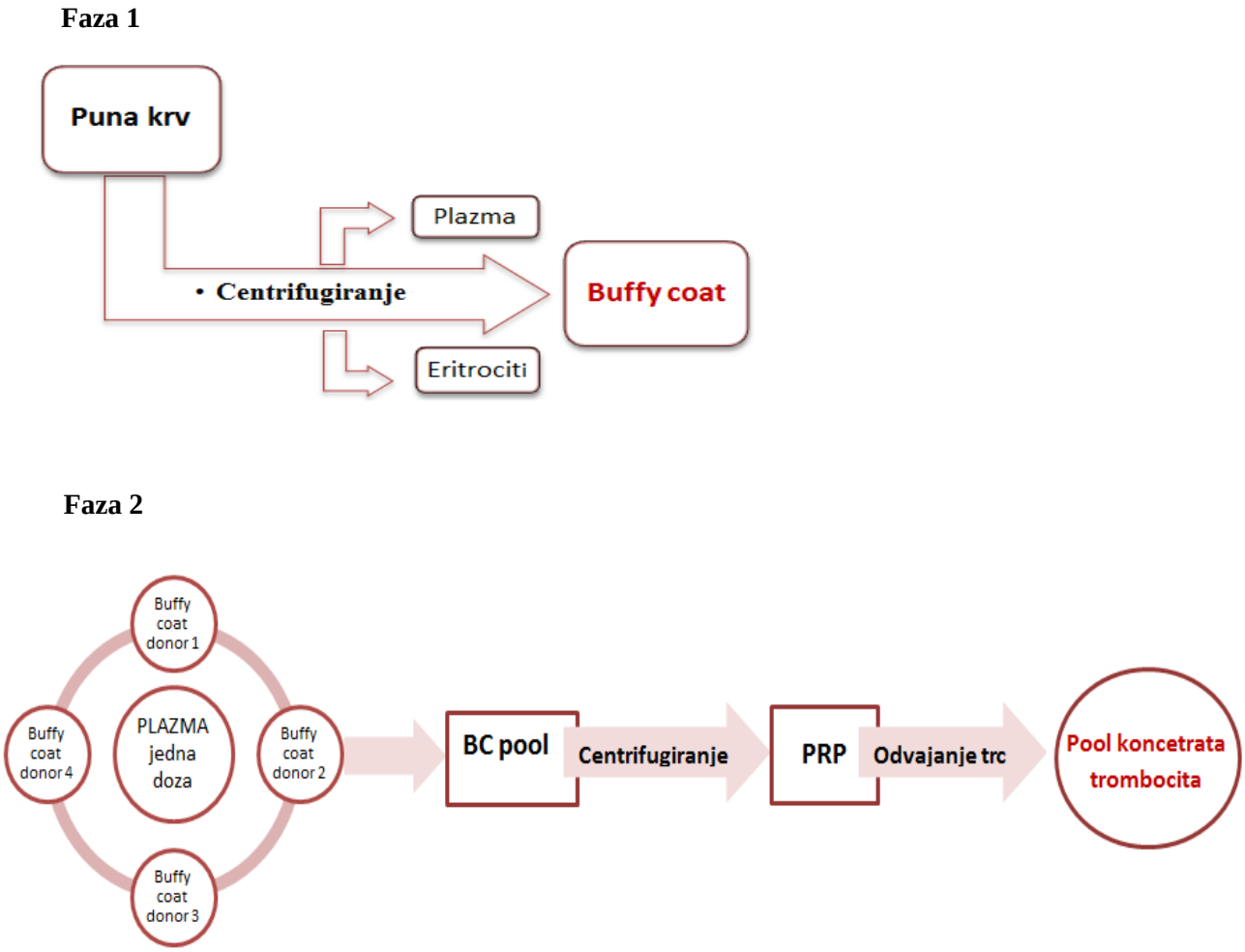
Dvostrukim centrifugiranjem 450 mL krvi prvo se dobije plazma bogata trombocitima, zatim se iz te plazme proizvede samo jedan trombocitni pripravak, slika 2. Broj trombocita u 75% i više doza pripravljenih od PRP mora biti viši od 5-8x10^{10}/dozi, broj leukocita u pripravku treba biti manji od 0,2-1x10^{9}/dozi. Volumen dobivenog koncentrata mora biti između 40 i 60 mL.



Slika 2. Proizvodnje koncentrat trombocita iz PRP

1.2.2.2 Proizvodnja koncentrata trombocita iz sloja leukocita i trombocita

Postupak proizvodnje koncentrata trombocita iz „buffy coat-a“ provodi se u dvije faze, slika 3. Sam postupak proizvodnje "pool"-a koncentrata trombocita obuhvaća izdvajanje sloja leukocita i trombocita iz centrifugirane pune krvi, miješanje po 4 doze sloja leukocita i trombocita s jednom dozom plazme (svi pripravci iste ABO i Rh D krvne grupe), centrifugiranje takvoga "pool"-a i izdvajanje supernatantnog koncentrata trombocita ("pool"-a od 4 doze) u vrećicu za čuvanje trombocita. Cjelokupna prerada radi se bez prekida sterilne barijere. Broj trombocita izdvojen iz „buffy coata“ u 75% i više doza mora biti veći od $5,5x10^{10}$/dozi.

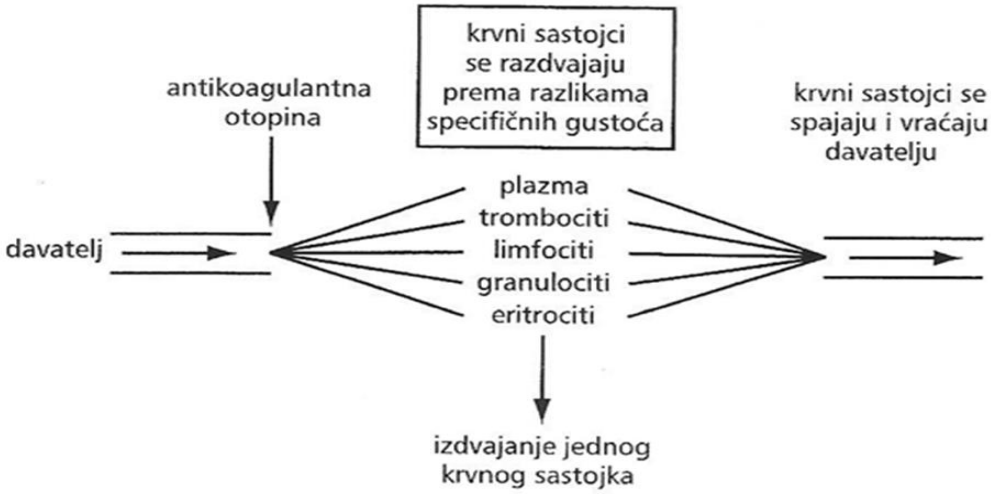


Slika 3. Proizvodnje koncentrata trombocita iz „buffy coat-a“

Faza 1 *proizvodnja BC iz pojedinačnih doza pune krvi*
Faza 2 *pooliranje 4 doze BC i jedne doze plazme iste krvne grupe i Rh faktora, proizvodnja poola koncentrata trombocita*

1.2.2.3 Proizvodnja koncentrata trombocita trombocitaferezom

Trombocitaferezom, od krvi davatelja spojenog ekstrakorportalnom cirukulacijom s centrifugom u kojoj se izdvajaju trombociti proizvede se pripravak u kojem je broj trombocita ekvivalentan broju od 6-12 pripravaka proizvedenih od 450 mL krvi (5). Proizvodnja pripravka aferezom podrazumjeva prikupljanje jednog krvnog sastojka, a ostatak krvnih komponenti se vraća u krvotok dobrovoljnog davatelja, slika 4. Broj trombocita dobiven na ovaj način treba biti u 75% i više doza veći od $3x10^{11}$/dozi, broj leukocita mora biti manji od $1,0x10^{9}$.



Slika 4. Proizvodnja pripravka aferezom (5)

1.2.3 Čuvanje koncentrata trombocita

Trombocitne pripravke treba čuvati u posebnim uvjetima. Koncentrat trombocita se čuva u plastičnim vrećicama koje su propusne za izmjenu plinova (CO_2 i O_2), vrećice se trebaju stalno lagano tresti kako bi se ubrzala izmjena plinova. Temperatura pohrane koncentrata trombocita treba biti $22^{o}C \pm 2^{o}C$. Zbog navedenih uvjeta čuvanja koncentrata trombocita za iste se koriste posebno dizajnirani uređaji koji se nazivaju *agitatori trombocita*. Temperaturna homogenost je osigurana uporabom otvorenog tipa mrežaste police i dopušta slobodnu cirkulaciju termostatiranog zraka. Alarm se emitira ako se otkrije bila kakva nepravilnost. Tresuća brzina od 60 njihanja/minuti drži trombocite u stalnom gibanju tijekom skladištenja ovisno o standardima koji su

propisani za čuvanje trombocitnog pripravka. Zbog opasnosti od bakterijske kontaminacije rok uporabe trombocitnih pripravaka ograničen je na pet dana (5). Nakon pet dana skladištenja trombociti gube svoje karakteristike, više od 25% trombocita u uzorku nije sposobno obavljati svoju funkciju. Prema Zakonu o krvi i krvnim pripravcima koji je na snazi u Republici Hrvatskoj trombocitni pripravak kojem je istekao rok trajanja mora se proglasiti kao nesukladan i kao takav ne smije se koristiti u liječenju bolesnika.

1.2.4 Transfuzijsko liječenje koncentratom trombocita

Transfuzijsko liječenje dio je zdravstvene skrbi bolesnika, a sigurnost i učinkovitost ovisi o nizu čimbenika. Transfuzija pojedinog krvnog pripravka primjenjuje se kada se bolest ili kliničko stanje bolesnika ne može spriječiti ili liječiti primjenom nekih alternativnih postupaka ili lijekova. Transfuzije koncentrata trombocita su temelj liječenja kod bolesnika s trombocitopenijom. Primjenjuju se u spriječavanju i liječenju krvarenja u bolesnika s niskim brojem trombocita. Hemostaza i održavanje integriteta krvnih žila ovisi o broju i funkciji trombocita (5). Cilj liječenja bolesnika s trobocitopenijom je postići zadovoljavajući broj trombocita odnosno vrijednost koja zadovoljava fiziološke potrebe bolesnika.

Indikacije za transfuzije trombocita:

- ✓ Liječenje krvarenja zbog trombocitopenije ili trombocitopatije.
- ✓ Sprječavanje krvarenja u bolesnika s trombocitopenijom koji ima broj trombocita <5-10 x 10^9/L, osim u imunim trombocitopenijama.
- ✓ Sprječavanje i liječenje krvarenja u bolesnika podvrgnutom manjem kirurškom zahvatu, kada je broj trombocita <30 x 10^9/L.
- ✓ Sprječavanje i liječenje krvarenja u bolesnika podvrgnutom većem kirurškom zahvatu, kada je broj trombocita <50 x 10^9/L (8).

Potreban broj doza koncentrata trombocita ovisi o kliničkom stanju bolesnika. U početku liječenja potrebno je odraslom bolesniku koji nije imuniziran dati jednu dozu trombocita/10kg tjelesne mase, dok novorođenčetu treba dati 0,3 doze trombocita/kg tjelesne mase. Daljnje liječenje koncentratima trombocita ovisi o učinkovitosti

transfuzije trombocitima kao i o kliničkom stanju bolesnika. U specifičnim indikacijama kliničar može zahtijevati izdavanje koncentrata trombocita sa smanjenim brojem leukocita, koncentrata opranih trombocita ili ozračeni koncentrat trombocita. Također u slučaju kada na raspolaganju nema koncentrata trombocita krvne grupe bolesnika može se zahtjevati koncentrat trombocita u smanjenom volumenu, različite krvne grupe od bolesnikove (tablica 3).

Tablica 3. Kompatibilni koncentrati trombocita za bolesnike ABO krvnih grupa (8)

Krvna grupa		KRVNE GRUPE PRIMATELJA			
trombocita		A	B	O	AB
TROMBOCIT	A	+	MV	+	MV
	B	MV	+	+	MV
	O	MV	MV	+	MV
	AB	+	+	+	+

MV = mali volumen,

Prije transfuzije trombocitima treba obratiti pažnju na kvalitetu krvnog pripravka. Treba provjeriti da li u krvnom pripravku ima vidljivih agregata, jer se koncentrat s vidljivim agregatima ne smije se primijeniti. Treba se strogo držati pravila, odgovornosti i radnih uputa tijekom transfuzije bilo kojeg krvnog pripravka, jer je to „transplatacija u malom“ i rizik da nešto pođe po zlu uvijek postoji. Svaki krvni pripravak mora proći kontrolu gotovog proizvoda i o svakom postupku treba se voditi iscrpna dokumentacija radi osiguranja i poboljšanja kvalitete u transfuzijskoj medicini.



Slika 5. Prikaz naljepnice koncentrata trombocita prvog dana roka trajanja



Slika 6. Prikaz naljepnice koncentrata trombocita zadnjeg dana roka trajanja

2 CILJ RADA

Od trenutka kad se doza krvi uzme od dobrovoljnog davatelja krvi komponente koje se u njoj nalaze podložne su promjenama. Promjene koje nastaju tijekom prerade doze krvi definiranju nam rok upotrebe i valjanost krvnog pripravka. Sve aktivnosti i postupci tijekom prerade usmjereni su prema tome da se promjene uspore koliko je to moguće.

U skladu s tim, cilj ovog rada je ispitati promjene koje nastaju tijekom čuvanja koncentrata trombocita. U tu svrhu ćemo ispitati biokemijske (natrij, kalij i pH) i hematološke parametre (broj leukocita i trombocita, te trombocitne indekse MPV, PDW i PCT) u koncentratima trombocita na dan proizvodnje te šesti dan od darivanja krvi tj. nakon isteka roka valjanosti.

3 MATERIJALI I METODE

Za potrebe završnog rada na Odjelu za transfuzijsku medicinu KBC-a Split uzeto je deset uzoraka koncentrata trombocita prvog dana proizvodnje i deset uzoraka koncentrata trombocita šestog dana od dana proizvodnje u kojima smo napravili biokemijske i hematološke analize.

3.1 Od doze pune krvi do koncentrata trombocita

Od DDK je uzeta puna krv u četverostruke *OPTIPAC* „top and bottom“ vrećice s citrat-fosfat-dekstroza (CPD) antikoagulantnom otopinom (Quadriple bags CPD/SAGM 450 mL), proizvođača MacoPharma. Unutar šest sati od uzimanja krvi davatelja započela je prva faza proizvodnje trombocitnog pripravka metodom dvostrukog diferencijalnog centrifugiranja sloja leukocita i trombocita (slika 3). U prvoj fazi snažnijim diferencijalnim centrifugiranjem (3000 okr./min, 15 minuta na 22°C, ubrzanje 5, kočenje 3) dobili smo sloj leukocita i trombocita tzv. „buffy coat“ (BC). Nakon centrifugiranja odvojili smo BC na aparatu za automatsko razdvajanje centrifugirane krvi na krvne komponente, *Macopress* proizvođača MacoPharma. Unutar 24 sata od uzimanja krvi treba započeti druga faza proizvodnje. Četri doze BC sloja i jednu dozu plazme (do 180 mL) iste krvne i Rh grupe sterilno su spojene sa vrećicom za pooliranje trombocita. Kada slojevi leukocita i trombocita isteknu u vrećicu za pooliranje trombocita zatvorimo sistem iznad vrećice za pooliranje i u vrećice u kojima su se predhodno nalazili BC-ovi pustimo da isteče aditivna otopina za trombocite SSP, proizvođača MacoPharma. Kada aditivna otopina isteče zatvorimo sistem i dobro protresemo vrećice te otvorimo sistem vrećice za pooliranje i pustimo da SSP isteče u nju. Nakon što smo završli iz vrećice za pooliranje istisnemo zrak i zavarimo sistem, te blago centrifugiramo (1850 okr./min, 6 minuta na 22^0C, ubrzanje 7, kočenje 3). Centrifugirane vrećice stavimo na Macopress te odvojimo pool koncentrata trombocita. Dobiveni koncentrat trombocita odlaže se u agigator bez preklapanja vrećica na temperaturi od 22^0C±2^0C, pet dana od datuma uzimanja krvi.

3.2 Biokemijske analize

Na Odjelu za medicinsku laboratorijsku dijagnostiku KBC-a Split u proizvedenom koncentratu trombocita analizirali smo natrij (Na), kalij (K) i pH od biokemijskih parametara. Iz vrećice u kojoj su pohranjeni koncentrati trombocita uzorkovali smo u manju vrećicu koncentrat trombocita, a potom ih prebacili u epruvete bez antikoagulansa (2 mL koncentrata trombocita). Na analizatoru *RAPIDlab 1265*, proizvođača Siemens, napravili smo analize natrija, kalija i pH.

3.3 Hematološke analize

Hematološke analize, broj leukocita (Lkc) i trombocita (Trc), te trombocitni indeksi (MPV, PDW, PCT) su također napravljene na Odjelu za medicinsku laboratorijsku dijagnostiku KBC Split. Iz vrećice u kojoj su pohranjeni koncentrati trombocita uzorkovali smo u manju vrećicu koncentrat trombocita, a potom ih prebacili u epruvete bez antikoagulansa, 2 mL uzorka i analizirali na hematološkom analizatoru *ADVIA 2120i*, proizvođača Siemens.

3.4 Statistička obrada podataka

Statistička obrada dobivenih podataka učinjena je programskom podrškom *Microsoft Excel 2010*. Za analizirane vrijednosti izračunata je aritmetička sredina, standardna devijacija, medijan, minimum i maksimum. Rezultati su prikazani grafički i tabelarno.

4 REZULTATI

Za potrebe ovog istraživanja obavljena su dva mjerenja biokemijskih (Na, K, pH) i hematolških parametra (broj Lkc i Trc, MPV, PDW i PCT). Prvo mjerenje je obavljeno u deset uzoraka koncentrata trombocita prvog dana proizvodnje, a drugo mjerenje u deset uzoraka koncentrata trombocita šestog dana od dana proizvodnje.

Rezultati biokemijskih i hematoloških analiza ispitivanih parametara u koncentratu trombocita prvog dana proizvodnje prikazani su u tablici 4. Za navedene vrijednosti napravljena je statistička analiza, izračunata je aritmetička sredina, standardna devijacija, medijan, minimum i maksimum. Rezultati dobiveni statističkom obradom podataka su navedeni u tablici 5.

Rezultati ispitivanih biokemijskih i hematoloških parametara dobivenih analizom koncentrata trombocita starih šest dana od dana proizvodnje prikazani su u tablici 6. Za dobivene vrijednosti napravljena je statistička analiza ($\bar{x}$ ± SD, medijan, min. i maks.), te su dobiveni rezultati prikazani u tablici 7.

U tablici 8 je prikazana usporedba aritmetičke sredine ispitivanih parametara, dobivenih mjerenjem u koncentratu trombocita prvog dana proizvodnje i u koncentratu trombocita šestog dana od dana proizvodnje. Utvrđeno je da je vrijednost kalija šestog dana od dana proizvodnje porasla za 0,15 mmol/L, dok je vrijednost natrija pala za 0,1 mmol/L, MPV-a za 0,1 fL, a pH za 0,139. Na slikama 7 i 8 grafički je prikazana usporedba dobivenih vrijednosti dvaju mjerenja (medijan) za kalij, pH i MPV (slika 7) te za natrij i broj trombocita (slika 8). U priloženoj tablici 8 i na grafičkim prikazima (slika 7 i 8) možemo uočiti minimalne razlike između dva mjerenja koje upućuju na to da se promjene tjekom čuvanja krvnog pripravka događaju, ali zbog kratkog roka trajanja razlike su minimalne. Porast kalija upućuje na to da membrana stanice propada, dok pad MPV-a da stanica stari, a samim time i njen se volumen smanjuje. Tijekom pet dana pohrane koncentrata trombocita u njima se odvijaju razni metabolički procesi, ali nastale promjene u ispitivanim biokemijskim i hematološkim parametrima su minimalne. Uzimajući u obzir vrijednosti ispitivanih parametara možemo zaključiti da je koncentrat trombocita i nakon pet dana čuvanja siguran za primjenu.

Tablica 4. Rezultati ispitivanih parametara u KT prvog dana pohrane

Broj uzorka	Ispitivane varijable							
	Na (mmol/L)	K (mmol/L)	pH	Trc (10e9/L)	MPV (fL)	PDW (%)	PCT (L/L)	Lkc (10e9/L)
1	159,91	3,7	7,223	1106	8,4	43,6	0,009	0
2	157,4	3,59	7,249	1375	8,8	48,3	0,012	0,01
3	158,5	3,57	7,228	623	8,5	41,3	0,005	0,02
4	158,1	3,51	7,212	950	8,2	43	0,008	0,05
5	158,9	3,84	7,202	1127	8,7	45,3	0,01	0,03
6	159,4	3,79	7,245	701	8,7	43,5	0,006	0,02
7	159,7	3,64	7,259	833	8,8	46,8	0,007	0,01
8	158,7	3,37	7,316	1005	8,3	42,6	0,008	0
9	161,4	3,49	7,249	1068	8,6	43,6	0,009	0,04
10	159	3,6	7,236	1079	7,8	38,1	0,008	0,01

Tablica 5. Statistički podatci dobiveni obradom vrijednosti iz tablice 4

Ispitivane varijable	$\bar{x}$±SD	Medijan	(min-max)
Na (mmol/L)	159,1±1,0	159,0	157,4-161,4
K (mmol/L)	3,61±0,13	3,60	3,37-3,84
pH	7,242±0,030	7,241	7,202-7,316
Trc (10e9/L)	987±210	1037	623-1375
MPV (fL)	8,5±0,3	8,6	7,8-8,8
PDW (%)	43,6±2,7	43,6	38,1-48,3
PCT (L/L)	0,008±0,002	0,008	0,005-0,012
Lkc (10e9/L)	0,02±0,02	0,02	0-0,05

Tablica 6. Rezultati ispitivanih parametara u KT šestog dana od dana proizvodnje

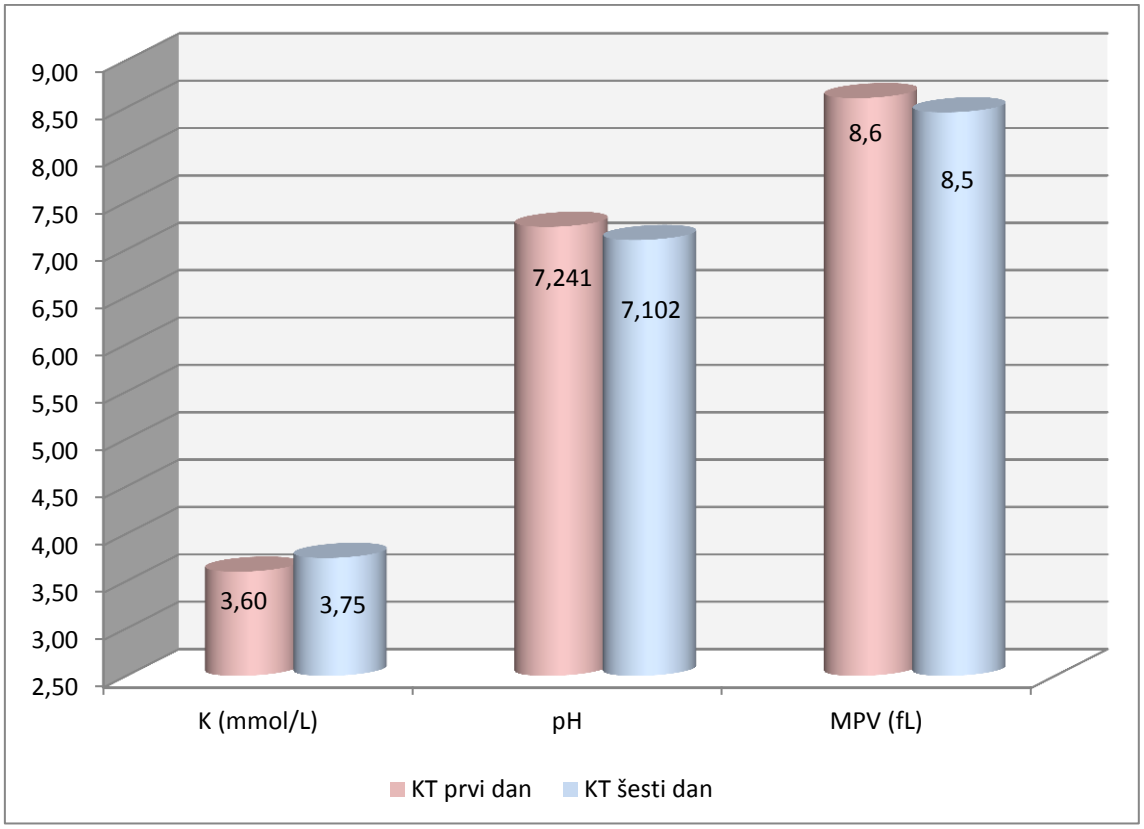
Broj uzorka	Ispitivane varijable							
	Na (mmol/L)	K (mmol/L)	pH	Trc (10e9/L)	MPV (fL)	PDW (%)	PCT (L/L)	Lkc (10e9/L)
1	159,71	3,86	7,067	1067	8,8	43,6	0,009	0,04
2	159,71	4,11	6,977	1406	8,2	43,3	0,012	0,04
3	156,9	3,61	7,087	1313	8	40,4	0,011	0,04
4	160	3,32	7,116	1037	8	41,3	0,008	0,01
5	156,8	3,66	7,124	1029	8,3	42,9	0,009	0,03
6	157,9	4,8	7,039	1140	9	49	0,01	0,05
7	158,7	3,83	7,276	648	8,4	39,4	0,005	0,02
8	159	3,6	7,144	1091	8,7	43,4	0,009	0,05
9	159	3,74	7,129	1016	8,5	44,3	0,009	0,05
10	149,9	3,75	7,045	1202	8,5	45,5	0,01	0

Tablica 7. Statistički podatci dobiveni obradom vrijednosti iz tablice 6

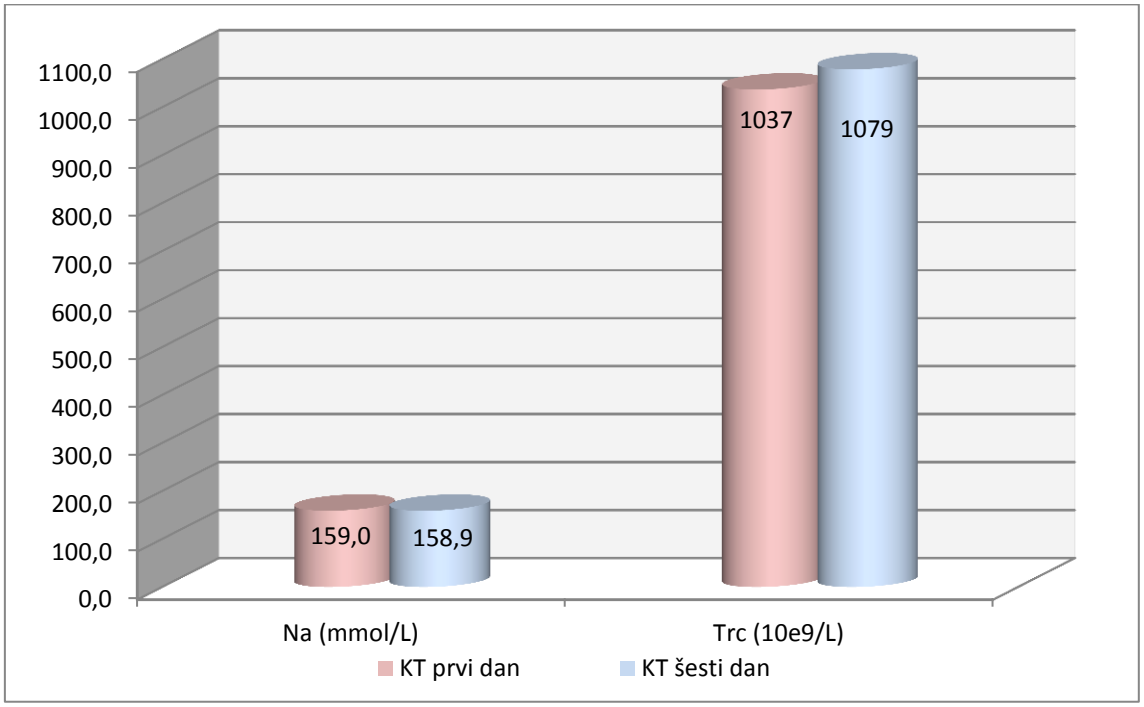
Ispitivane varijable	$\bar{x}$ ± SD	Medijan	(min-max)
Na (mmol/L)	157,8±3,0	158,9	149,9-160,0
K (mmol/L)	3,83±0,40	3,75	3,32-4,80
pH	7,10±0,080	7,102	6,977-7,276
Trc (10e9/L)	1095±203	1079	648-1406
MPV (fL)	8,4±0,3	8,5	8,0-9,0
PDW (%)	43,31±2,71	43,35	39,4-49,0
PCT (L/L)	0,01±0,002	0,04	0-0,05
Lkc (10e9/L)	0,03±0,02	0,04	0-0,05

Tablica 8. Usporedba statističkih podataka dobivenih prvog dana proizvodnje i šestog dana od dana proizvodnje

Ispitivane varijable	Prvi dan	Šesti dan
	$\bar{x}$ ± SD	$\bar{x}$ ± SD
Na (mmol/L)	159,1±1,0	157,8±3,0
K (mmol/L)	3,61±0,13	3,83±0,40
pH	7,242±0,030	7,10±0,080
Trc (10e9/L)	987±210	1095±203
MPV (fL)	8,5±0,3	8,4±0,3
PDW (%)	43,6±2,7	43,31±2,71
PCT (L/L)	0,008±0,002	0,01±0,002
Lkc (10e9/L)	0,02±0,02	0,03±0,02



Slika 7. Usporedba dobivenih vrijednosti K, pH i MPV-a prvog i šestog dana pohrane KT



Slika 8. Usporedba dobivenih vrijednosti Na i broja Trc prvog i šestog dana pohrane KT

5 RASPRAVA

Trombociti u našem organizmu čine važnu i kompleksnu ulogu, stoga je vrlo važno kod bolesnika s niskim brojem trombocita postići vrijednost koja zadovoljava fiziološke potrebe bolesnika primjenom koncentrata trombocita. Sigurnost i učinkovitost primjene koncentrata trombocita treba biti na visokom nivou, a ona ovisi o nizu čimbenika. Od uzimanja pune krvi od DDK preko procesa proizvodnje i skladištenja trombocita pa sve do primjene koncentrata trombocita u transfuzijskom liječenju u krvnom se pripravku događaju razne promjene. Nastale promjene smanjuju učinkovitost trombocita u procesu hemostaze, te se skraćuje njihov život u organizmu primaoca krvnog pripravka. Tijekom skladištenja koncentrata trombocita dolazi do raspadanja određenog broja trombocita i ostatnih leukocita što dovodi do oslobađanja bioloških medijatora reakcije koji su često uzrok postransfuzijskih reakcija na koncentrat trombocita. Uvjeti proizvodnje i skladištenja pripravka na 20^0C do 24^0C pogoduju bakterijskoj kontaminaciji (5) o čemu posebno treba voditi računa tijekom kontrole kvalitete krvnog pripravka. U procesu proizvodnje koncentrata trombocita treba voditi računa da se spriječi aktivacija trombocita, jer aktivirani trombociti progresivno gube svoju metaboličku aktivnost, što je praćeno morfološkim, biokemijskim i funkcionalnim promjenama. Tijekom skladištenja trombociti troše svoje energijske zalihe, samim time aerobni metabolizam prelazi u anaerobni, a koncentracija energijom bogatih spojeva ATP-a i ADP-a pada. Posljedično smanjenju ATP-a i ADP-a glukoza se pretvara u laktat, a povećanjem koncentracije laktata smanjuje se koncentracija bikarbonata. Bikarbonati su vrlo važni u plazmi koncentrata trombocita zbog održavanja optimalne vrijednosti pH samog pripravka. Pad pH ispod 6,2 praćen je gubitkom vijabilnosti trombocita (5). Događaju se razne promjene trombocita od promjene oblika, biokemijskih promjena u vidu porasta LDH, pada pH i koncentracije ATP-a, kao i smanjenje adhezivnosti i agregacije te smanjenom prokoagulacijskom aktivnošću. Normalni, živi i funkcionalni trombociti rutinski se dokazuju diskoidnim oblikom trombocita i tzv. swirling fenomenom, tj. stvaranjem oblačića u vrećici (5). Koncentrat trombocita predstavlja veliki problem transfuzijskoj medicini u smislu očuvanja kvalitete i funkcije krvnog pripravka. Veliki broj istraživanja je napravljen upravo na tu

temu, a u svrhu poboljšanja kvalitete i produženja roka trajanja koncentrata trombocita. Većina novih studija dolazi do zaključka da su se tijekom godina poboljšali uvjeti čuvanja i proizvodnje koncentrata trombocita, a samim time parametri koji se mjere u svrhu praćenja kvalitete koncentrata trombocita su zadovoljavajući. Još uvijek u većini zemalja rok valjanosti koncentrata trombocita je pet dana prvenstveno radi bakterijske kontaminacije. Znanstvenici se nadaju da će se u skoro vrijeme krenuti s primjenom preparata za inaktivaciju patogena te da će se procedura sakupljanja, proizvodnje i pohrane koncentrata trombocita standadizirati, a samim time i rok valjanosti pripravka produžiti na sedam dana. Znanstvenici s Malte (Zammit, 2006) smatraju da se tri važna parametra moraju uzeti u obzir za pravilnu provjeru kvalitete koncentrata trombocita to su: broj trombocita, pH i bakterijska kontaminacija. U istraživanju (Zammit, 2006) su ispitali još neke parametre (ostatne leukocite i eritrocite, LDH, glukozu i trombocitne indekse), došli su do zaključka da su u mjerenjima prvog i sedmog dana od dana proizvodnje minimalna odstupanja. Najveća odstupanja su pokazala mjerenja glukoze u i LDH, ali još uvijek u prihvatljivim granicama.

U ovom radu isto možemo uočiti da su odstupanja u mjerenjima minimalna. Svakako možemo zaključiti da se dobiveni rezultati uvelike podudaraju s rezultatima istraživača koji su se bavili ovom problematikom. Smatram da ima još mnogo mogućnosti za istraživanje ove teme. Buduća istraživanja svakako trebaju obuhvatiti veći broj uzoraka te još neke biokemijske parametre. Bilo bi dobro da se zadnja mjerenja provedu 8-9 dana od proizvodnje koncentrata. Zanimljivo bi bilo vidjeti rezultate mikrobiološke analize kao i rezultate nekih koagulacijskih analiza u svrhu provjere kvalitete i funkcije koncentrata trombocita, te produljenja roka valjanost istih.

6 ZAKLJUČCI

Temeljm ovog istraživanja možemo donijeti slijedeće zaključke:

1. Tijekom čuvanja koncentrata trombocita nastaju minimalne promjene u ispitivanim parametrima (Na, K, pH, leukocita, trombocita i trombocitnih indeksa).
2. Kvaliteta koncentrata trombocita i nakon isteka roka valjanosti (šesti dan od uzimanja krvi) zadovoljava analizirane parametre
3. Rezultati ovog rada su poticaj za istraživanje dodatnih parametara u svrhu proučavanja kvalitete i funkcije koncentrata trombocita radi produljenja roka valjanosti

7 LITERATURA

1. *Labar B, Hauptmann E i sur: Hematologija. Zagreb, Školska knjiga; 2007*

2. *Arthur C. Guyton, John E. Hall: Medicinska fiziologija. Zagreb, Medicinska naklada; 2012*

3. *Murray RK, Bender DA, Botham KM, Kennelly PJ, Rodwell VW, Weil PA: Harperova ilustrirana biokemija, 28. izd. Zagreb, Medicinska naklada; 2011*

4. *Topić E, Primorac D Janković S: Medicinsko-biokemijska dijagnostika u kliničkoj praksi. Zagreb, Medicinska naklada; 2004*

5. *Grgičević D i sur: Transfuzijska medicina u kliničkoj praksi. Zagreb, Medicinska naklada; 2006*

6. *Martin, J. F. et al. (2012) The causal role of megakaryocyte–platelet hyperactivity in acute coronary syndromes Nat. Rev. Cardiol. doi:10.1038/nrcardio.2012.131*

7. *Grgičević D, Vuk T: Imunohematologija i transfuzijska medicina. Zagreb, Medicinska naklada; 2000*

8. *Grgičević D, Skodlar J, Šarlija D: Preporuke za transfuzije krvi i krvnih pripravaka u kliničkoj medicini. Zagreb, 1998.*

9. *Zammit V: In vitro assessment of platelets stored for seven days in a platelet additive medium - A pilot study; University of Wolverhampton School of Applied Sciences Division of Biomedical Science; Malta, 2006.*

10. *Amorini AM, Tuttobene M, [...], and Denti G: Evaluation of biochemical parameters in platelet concentrates stored in glucose solution. Blood Transfus. Jan 2007; 5(1): 24–32*

11. *Levin E, Jenkins C, Culibrk B, Gyöngyössy-Issa MI, Serrano K, Devine DV. Development of a quality monitoring program for platelet components: a report of the first four years' experience at Canadian Blood Services. Transfusion. 2012 April; 52(4): 810–818.*

12. *Chandra T, Gupta A, Kumar A, Afreen S: Morphological and functional changes in random donor platelets stored for seven days in platelet additive solution. International Journal of Blood Transfusion and Immunohematology 2011;1:20-25*

13. *Borzini P, Lazzaro A, Mazzucco L:Evaluation of the hemostatic function of stored platelet concentrates using the platelet function analyzer (PFA-100™); Haematologica. 1999 Dec;84(12):1104-9.*

14. *Golubić Ćepulić, B, Izvori grešaka i njihova kontrola: Model upravljanja neželjenim događajima u kliničkoj transfuziologiji; (2011); Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu.*

15. *Pravilnik o osiguranju kvalitete krvi i krvnih pripravaka u zdravstvenim ustanovama (Narodne novine br. 80/07 i 18/09)*

16. *Pravilnik o posebnim tehničkim zahtjevima za krv i krvne pripravke (Narodne novine br. 80/07 i 79/13)*

17. *Pravilnik o sustavu sljedivosti krvnih pripravaka i praćenju ozbiljnih štetnih događaja i ozbiljnih štetnih reakcija (Narodne novine br.63/07 i 18/09)*

18. *Zakon o krvi i krvnim sastojcima RH (Narodne novine br,79/06)*

19. *Marušić M: Uvod u znanstveni rad u medicini. Medicinska naklada. Zagreb, 2013*

8 SAŽETAK

Cilj: Cilj ovog rada je ispitati promjene biokemijskih i hematoloških parametara koje nastaju tijekom čuvanja koncentrata trombocita.

Materijali i metode: Analizirano je deset koncentrata trombocita prvog dana proizvodnje, te deset koncentrata šestog dana od uzimanja krvi. U navedenim uzorcima biokemijski parametari (natrij, kalij i pH) su analizirani na analizatoru *RAPIDlab 1265, Siemens.* Hematološki parametri, broj leukocita, trombocita te trombocitni indeksi (MPV, PDW i PCT) su analizirani na hematološkom brojaču *Advia 2120i,* Siemens. Statistička obrada podataka je napravljena pomoću *Microsoft Excel 2010*. Za dobivene vrijednosti izračunata je aritmetička sredina, standardna devijacija, medijan te minimum i maksimum.

Rezultati: Iz dobivenih rezultata utvrđene su manja promjene ispitivanih parametara u koncentratima trombocita prvog i šestog dana čuvanja. Vrijednost kalija šestog dana od dana proizvodnje porasla je za 0,15 mmol/L, natrija je pala za 0,1 mmol/L, srednji volumen trombocita je pao za 0,1 fL, a pH je pao za 0,14.

Zaključak: Razlike između ispitivanih parametra (Na, K, pH, leukocita, trombocita i trombocitnih indeksa) u koncentratu trombocita prvog dana proizvodnje i šestog dana proizvodnje su minimalna. Rezultati ispitivanja pokazuju da su ispitivani parametri u prihvatljivim granicama i na kraju roka valjanosti. Ovaj rad je poticaj za istraživanje dodatnih parametara u svrhu proučavanja kvalitete i funkcije koncentrata trombocita radi produljenja roka valjanosti.

Ključne riječi: koncentrat trombocita, krvni pripravak, transfuzija

9 SUMMARY

Objective: The aim of this study was to examine changes in biochemical and hematological parameters that occur during storage of platelet concentrates.

Materials and Methods: We analyzed ten platelet concentrates on the first day of production, as well as ten concentrate on the sixth day from the date of production. In these samples biochemical parameters (sodium, potassium and pH) were analyzed by the analyzer RAPIDlab 1265, Siemens. Hematological parameters, leukocyte count, platelet count and platelet indices (MPV, PDW and PCT) were analyzed on a hematology analyzer Advia 2120, Siemens. Statistical analysis was done using Microsoft Excel 2010th. The arithmetic mean, standard deviation, median, the maximum and minimum mean were calculated for the obtained values.

Results: The results showed minor changes in the parameters examined in platelet concentrates first and sixth days of storage. Value potassium sixth days of production increased by 0.15 mmol/L, sodium level decreased by 0.1 mmol/L, mean platelet volume decreased by 0.1 fl and pH decreased by 0,14.

Conclusion: The differences between the studied parameters (Na, K, pH, leukocytes, platelets and platelet index) in the platelet concentrate on the first day of production, and on the sixth day of production are minimal. Results of this study indicates that the examined parameters are still within acceptable limits at the end of the shelf life. This study have an incentive to explore some other parameters in order to study the quality and function of platelet concentrates to extend shelf life.

Keywords: Platelet concentrates, blood product, transfusion.

10 ŽIVOTOPIS

Ime i prezime: Jelena Katavić

Datum i mjesto rođenja: 17.12.1981.g, Split

Adresa stanovanja: Mali put 9, Split

Telefon: 021/324-961

Mobitel: 098/17 27 266

E-mail: j2katavic@gmail.com

1988-1996 Osnovna škola Trilj

1996-2000 Zdravstvena škola Split

2001 Pripravnički staž u KBC-u Split, Odjel za medicinsku laboratorijsku dijagnostiku

2002 Položen stručni ispit pri Ministarstvu zdravstva u Zagrebu

2006 Zaposlila sam se u KBC-u Split, Odjel za medicinsku laboratorijsku dijagnostiku

2011-.... Upisala sam prvu godinu Prediplomskog sveučilišnog studija MLD, na Odjelu zdravstvenih studija Sveučilišta u Splitu