

# Metabolisme van trombocyten en functiemetingen

**Auteur** S. Cauwenberghs

**Trefwoorden** activatietoestand, bewaarcondities, reactievermogen, trombocytentransfusie

## Samenvatting

Op 20 juni 2007 promoveerde mevrouw drs. S. Cauwenberghs aan de Universiteit Maastricht op het promotieonderzoek, getiteld 'Platelet responsiveness and function during storage: implications for platelet transfusion therapy', onder begeleiding van de promotor prof. dr. J. Rosing

(Universiteit Maastricht) en de copromotoren dr. J.W.M. Heemskerk (Universiteit Maastricht) en dr. J. Curvers (Stichting Sanquin Bloedvoorziening). Hieronder zijn de belangrijkste bevindingen van het onderzoek weergegeven.

(*Ned Tijdschr Hematol* 2007;4:317-9)

## Inleiding

In het lichaam kunnen trombocyten slechts 8 tot 10 dagen overleven. Wanneer trombocyten geïsoleerd worden voor transfusiedoeleinden, neemt hun functionaliteit af door de niet-fysiologische opslagcondities. Aangezien deze trombocyten van levensbelang zijn voor onder andere leukemiepatiënten die met chemotherapie behandeld worden, moet steeds getracht worden het metabolisme van de trombocyten zo goed mogelijk te bewaren tijdens opslag.

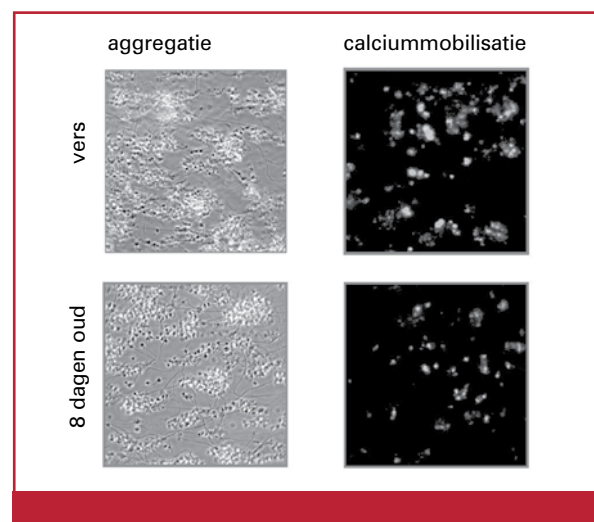
In dit proefschrift is de metabole toestand van trombocyten geëvalueerd aan de hand van gevoelige technieken die ook bruikbaar zijn bij extreem lage aantallen. Dit heeft geleid tot een beter inzicht in de afname van de functionaliteit van de opgeslagen trombocyten en de mogelijke oorzaak hiervan.

## De metabole toestand van geïsoleerde trombocyten

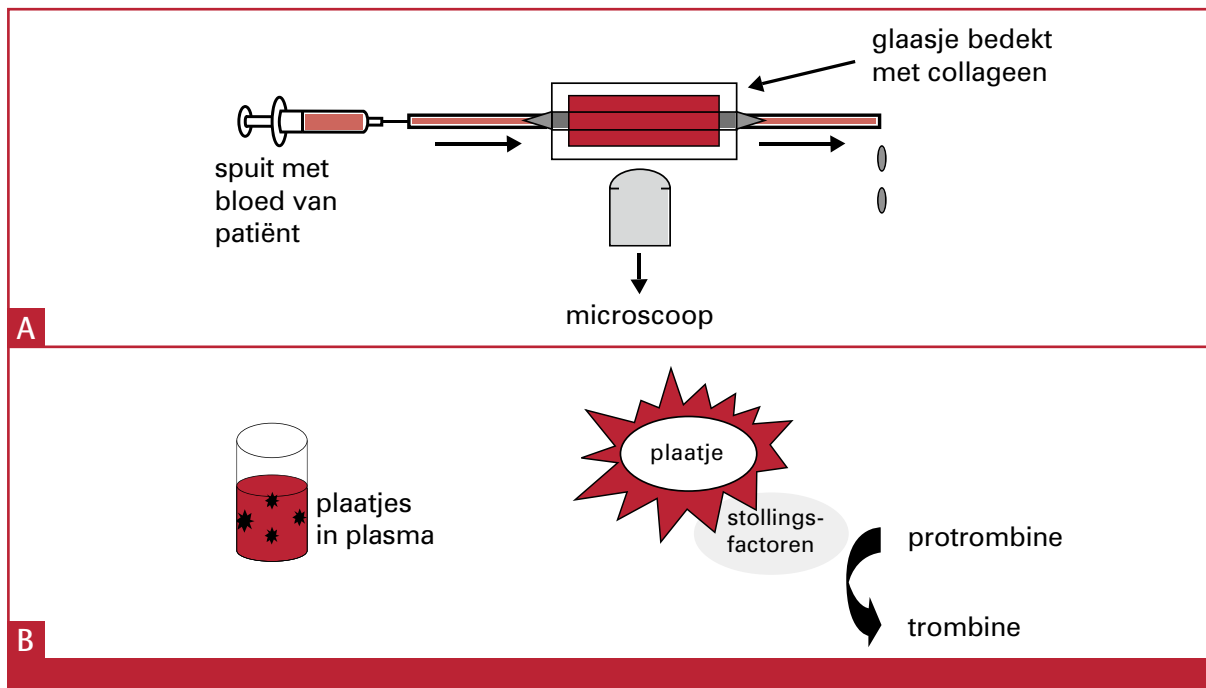
De metabole toestand van trombocyten kan het best bestudeerd worden door zowel de aanwezigheid van activiteitsmarkers op het celoppervlak te meten als hun vermogen om te reageren op fysiologische stimuli.<sup>1,2</sup> In dit proefschrift is aan de hand van gevoelige functietests aangetoond dat het reactievermogen van trombocyten licht afneemt tijdens opslag en dat op hetzelfde moment de activiteit toeneemt. Het afgenomen reactievermogen, dat een verminderde aggregatie als gevolg heeft, kan toegeschreven

worden aan een verlaagde calciummobilisatie in de kernloze cel (zie *Figuur 1*), mogelijk te wijten aan een apoptoseachtig proces.<sup>3</sup>

Het reactievermogen van de trombocyten zal sterker afnemen wanneer het opslagmedium gewijzigd wordt (van plasma naar een synthetische bewaarvloeistof) of wanneer de trombocyten bestraald



**Figuur 1.** Aggregatie en calciummobilisatie in vers geïsoleerde (boven) en 8 dagen oude (onder) trombocyten. Links is het hechtingsvermogen aan een collageen oppervlak en het aggregatievermogen van de trombocyten weergegeven. Rechts is het vermogen van de trombocyten om calcium te mobiliseren na adhesie aan collageen, weergegeven.



**Figuur 2.** A. Trombusvorming onder stromingscondities: een test die het vermogen weergeeft van getransfundeerde trombocyten om trombi te vormen (aggregatie) na perfusie over een glaasje dat bedekt is met collageen. B. Trombinegeneratie in plaatjesrijk plasma: een test die het vermogen weergeeft om trombine te genereren aan het plaatjesoppervlak.

worden.<sup>4-6</sup> Het is daarom belangrijk om voor ogen te houden dat het verlagen van de antigeniciteit van een trombocytenproduct tegelijkertijd de integriteit van de trombocyten kan aantasten.

In dit proefschrift is tevens aangetoond dat de enorme hoeveelheid aan stollingsactiverende micropartikels in trombocytenproducten te wijten is aan geactiveerde oppervlakte-integrines die de celmembran destabiliseren.<sup>7</sup> Het is nog onduidelijk wat de rol van deze micropartikels in vivo is. Wel staat vast dat zij snel uit de circulatie verdwijnen.

### Weergave van de hemostase bij een trombocytopeniepatiënt na transfusie

Alhoewel er een breed spectrum aan klinische hemostasetests voor trombocyten bestaat, zijn maar weinig van deze tests bruikbaar onder trombocytopenische condities. Om specifiek de functie van plaatjes te testen in trombocytopenisch bloed, zijn 2 methoden ontwikkeld. Het betreft een meting van de trombusvorming in bloed onder stromingscondities, en de meting van trombinegeneratie in stollend plaatjesrijk plasma (zie *Figuur 2*). Bij een groep leukemiepatiënten met trombocytopenie is vervolgens nagegaan of beide tests in staat zijn om het positieve effect van een trombocytentransfusie te detecteren.

Daarbij is aangetoond dat de getransfundeerde trombocyten in staat zijn om meer trombi te vormen en de generatie van trombine in het bloed van de patiënt te versnellen.<sup>8</sup> Na het aantonen van hun bruikbaarheid onder trombocytopenische condities, zijn beide tests gebruikt om de functionaliteit van trombocyten die opgeslagen zijn in plasma of in synthetische bewaarvloeistof, te bepalen. In het laatste geval kon een herstel van het reactievermogen geconstateerd worden na transfusie bij de patiënt. Verder bleek dat met beide functietests afwijkingen in de trombusvorming en/of de stolling opgespoord kunnen worden. Verwacht wordt dat deze tests in de toekomst bruikbaar zullen zijn voor het bepalen van de hemostaseactiviteit in het bloed van patiënten met trombocytopenie, en dan als indicator kunnen dienen voor het risico op bloedingen.

### Conclusie

Geconcludeerd kan worden dat de hier beschreven resultaten bijdragen tot een beter inzicht in de algemene afname van de functionaliteit van trombocyten tijdens opslag. Bewaarcondities kunnen hierbij een sterke invloed hebben op de functionaliteit van de plaatjes tijdens opslag. Daarnaast geven deze resultaten aan dat een in-vitroanalyse niet noodzakelijk

## Aanwijzingen voor de praktijk

1. Het wijzigen van het opslagmedium en bijhorende toepassingen om de antigeniciteit van het trombocytenproduct te verlagen, kan een drastisch effect hebben op de kwaliteit van de trombocyten.
2. Het nagaan van de kwaliteit van een trombocytenproduct kan het best door zowel de activatietoestand als het reactievermogen van de trombocyten te bestuderen.
3. Een in-vitroanalyse geeft niet noodzakelijk weer hoe de trombocyten zich in vivo zullen gedragen. Dit benadrukt het belang van een praktisch bruikbare hemostasetest - naast het bepalen van het plaatjesaantal na transfusie - die nauwkeurig is onder trombocytopenische condities.

weergeeft hoe de plaatjes zich in vivo zullen gedragen. Dit benadrukt de noodzaak van een goede en praktisch bruikbare hemostasetest die nauwkeurige resultaten geeft onder trombocytopenische condities. De beschreven methoden zouden hiervoor als startpunt kunnen dienen. Verder is het nuttig om meer onderzoek te verrichten naar de langzame afname van de functionaliteit die optreedt tijdens opslag. Deze situeert zich ter hoogte van de calciummobilisatie in de cel en gaat gepaard met het voorkomen van grote hoeveelheden micropartikels in de plaatjespreparaten. De beschreven resultaten kunnen in de toekomst hopelijk bijdragen tot het optimaliseren van de bewaarcondities van trombocyten en het verbeteren van de praktijk rond trombocytentransfusie.

## Referenties

1. Cauwenberghs S, Van Pampus EC, Curvers J, Akkerman JW, Heemskerk JW. Hemostatic and signaling functions of transfused platelets. *Transfus Med Rev* 2007;21:287-94.
2. Curvers J, Van Pampus EC, Feijge MA, Rombout-Sestrienkova E, Giesen PL, Heemskerk JW. Decreased responsiveness and development of activation markers of PLTs stored in plasma. *Transfusion* 2004;44:49-58.
3. Cauwenberghs S, Curvers J, Feijge MA, Heemskerk JW. Effect of storage on agonist-induced calcium responses in platelets: a pilot study. To be submitted.
4. Keuren JF, Cauwenberghs S, Heeremans J, De Kort W, Heemskerk JW, Curvers J. Platelet ADP response deteriorates in synthetic storage media. *Transfusion* 2006;46:204-12.
5. Cauwenberghs S, Feijge MA, Hageman G, Hoylaerts M, Akkerman JW, Curvers J, et al. Plasma ectonucleotidases prevent desensitization of purinergic receptors in stored platelets: importance for platelet activity during thrombus

formation. *Transfusion* 2006;46:1018-28.

6. Cauwenberghs S, Curvers J, Feijge MA, Heemskerk JW. Effect of gamma-irradiation on the functionality of platelets: evaluation before and after transfusion. To be submitted.
7. Cauwenberghs S, Feijge MA, Harper AG, Sage SO, Curvers J, Heemskerk JW. Shedding of procoagulant microparticles from unstimulated platelets by integrin-mediated destabilization of actin cytoskeleton. *FEBS Lett* 2006;580:5313-20.
8. Cauwenberghs S, Feijge MA, Theunissen E, Heemskerk JW, Van Pampus EC, Curvers J. Novel methodology for assessment of prophylactic platelet transfusion therapy by measuring increased thrombus formation and thrombin generation. *Br J Haematol* 2007;136:480-90.

Ontvangen 3 september 2007, geaccepteerd 27 september 2007.

## Correspondentieadres

Mw. dr. S. Cauwenberghs, postdoc

Institute for Molecular Cardiovascular Research (IMCAR)

Pauwelsstraße 30

D-52074 Aken

Duitsland

Tel.: +49 241 80 855 28

E-mailadres: scauwenberghs@ukaachen.de

Belangenconflict: geen gemeld.

Financiële ondersteuning: Landsteiner Foundation for Blood Transfusion Research, Amsterdam (0219).