

Opzetten van een "twee hit" autoloog bloedplaatjes transfusiemodel in gezonde vrijwilligers

Gepubliceerd: 18-11-2014 Laatste bijgewerkt: 15-05-2024

Het opzetten van een *twee hit* in vivo autoloog bloedplaatjestransfusie model in gezonde mannelijke vrijwilligers.

Ethische beoordeling	Goedgekeurd WMO
Status	Werving gestart
Type aandoening	Luchtwegaandoeningen NEG
Onderzoekstype	Interventie onderzoek

Samenvatting

ID

NL-OMON55634

Bron

ToetsingOnline

Verkorte titel

Opzetten van een bloedplaatjes transfusiemodel in gezonde vrijwilligers

Aandoening

- Luchtwegaandoeningen NEG

Synoniemen aandoening

trombocyten transfusie geïnduceerde hypoxie; acute benauwdheid na bloedplaatjes bloedtransfusie

Betreft onderzoek met

Mensen

Ondersteuning

Primaire sponsor: Academisch Medisch Centrum

Overige ondersteuning: Beursaanvraag ZonMW

Onderzoeksproduct en/of interventie

Trefwoord: Bloedplaatjes, Gezonde Vrijwilligers, Opslag, TRALI

Uitkomstmaten

Primaire uitkomstmaten

Een significante stijging ($p < 0.05$, ANOVA multiple comparison test) in totale eiwit lekkage in de BAL-vloeistof van de proefpersonen in de experimentele groep (*eerste hit* met LPS en 1 unit PLTs opgeslagen gedurende 7 dagen) vergeleken met de controle groepen.

Secundaire uitkomstmaten

1. Een significante stijging in inflammatie en coagulatie markers in BALF en plasma samples van de proefpersonen in de experimentele groep (*eerste hit* met LPS en 1 unit PLTs opgeslagen gedurende 7 dagen) vergeleken met de controle groepen.
2. Identificatie van potentiële bio-markers voor TRALI.
3. identificatie van veranderingen in fenotype van getransfundeerde rode bloed cellen en hun interactie met cellen in de circulatie van de ontvanger.
4. Onderzoeken van de neurovasculaire koppeling tijdens endotoxemie

Toelichting onderzoek

Achtergrond van het onderzoek

Transfusie-gerelateerde acute longschade (TRALI) is de belangrijkste oorzaak van transfusie-gerelateerde morbiditeit en mortaliteit. TRALI wordt beschouwd als een "twee hit" syndroom. De eerste *hit* is de onderliggende aandoening van de patient, bijvoorbeeld sepsis of een infectie. De *eerste hit* resulteert in priming van neutrofiële granulocyten. De *tweede hit* is de transfusie van een bloedproduct, waarbij antilichamen aanwezig in een plasma bevattend

bloedproduct of pro-inflammatoire stoffen aanwezig in opgeslagen cel-bevattende bloedproducten (bijvoorbeeld rode bloedcellen (RBC), bloedplaatjes (PLTs)) of de oude erythrocyten en/of bloedplaatjes de geprimeerde neutrofielen activeren. Deze activatie leidt uiteindelijk tot longoedeem oftewel TRALI.

In tegenstelling tot de traditionele opvatting dat TRALI een goede prognose heeft, laten recente studies zien dat TRALI een aanzienlijk effect op morbiditeit en sterfte heeft. Dit blijkt vooral te gelden voor specifieke patiëntengroepen zoals intensive care patiënten. De associatie tussen transfusie en sterfte heeft geresulteerd in aanpassing van het donatiebeleid gericht op het verminderen van het risico van het optreden van TRALI.

Plasmaproducten die afkomstig zijn van vrouwelijke donoren en meer specifiek multipara donoren hebben een hoger risico (tot wel 40%) op de aanwezigheid van antilichamen gericht tegen leukocyten antigenen en zijn geassocieerd met het optreden van TRALI. Dit was een reden voor Nederland en het Verenigd Koninkrijk om vanaf 2006 en 2003 respectievelijk een *male only* plasma donatiebeleid te introduceren. Door het uitsluiten van vrouwelijke donoren voor plasmadonatie is de incidentie van TRALI afgenomen, maar deze maatregel was niet voldoende om het optreden van TRALI volledig te voorkomen. Meer onderzoek is nodig om te bepalen of het gebruik van verse (in Nederland worden RBC maximaal 35 dagen opgeslagen en bloedplaatjes maximaal 7 dagen) cel-bevattende bloedproducten een aanvullende maatregel voor het verminderen van TRALI zou kunnen zijn.

We hebben onlangs aangetoond in een in vivo diermodel dat het supernatant van opgeslagen bloedplaatjes milde longschade veroorzaakt in de aanwezigheid van een "eerste hit" van lipopolysaccharide (LPS). Klinische studies laten echter tegenstrijdige resultaten zien over de gevolgen van transfusie van opgeslagen PLTs en het ontstaan van respiratoire complicaties. Zoals hierboven beschreven is de gedachte dat opslagduur van cel bevattende bloedproducten (zoals bloedplaatjes) geassocieerd is met het ontwikkelen van TRALI. Het opzetten van een gerandomiseerde trial zou een logische stap zijn. Hoewel recente studies een relatief hoge incidentie van TRALI laten zien, is de incidentie in de algemene patiënten populatie nog steeds laag. Bovendien is de aanwezigheid of afwezigheid van een "eerste hit" moeilijk te meten in de klinische setting. Dit samen maakt het zeer moeizaam om een gerandomiseerde klinische trial uit te voeren. Om deze reden stellen wij voor om een 'twee hit' in vivo autoloog PLTs transfusie model op te zetten, dat wil zeggen een mild TRALI model bij gezonde vrijwilligers. Het model kan antwoord geven op de vraag of in de klinische setting opgeslagen PLTs producten mild long letsel veroorzaken in aanwezigheid van een "eerste hit" (dat wil zeggen een milde vorm van TRALI).

De voordelen van een dergelijk model zijn de volgende; 1) een autoloog transfusie model maakt het mogelijk om het effect van opslagduur op het ontstaan van longschade selectief te onderzoeken aangezien antilichaam gemedieerde TRALI is uitgesloten; 2) de "eerste hit" is gestandaardiseerd; 3) dit model kan ons helpen identificeren welke mechanismen betrokken zijn bij het ontstaan van opgeslagen PLTs geïnduceerd long letsel en kan in de toekomst gebruikt worden om preventieve of therapeutische behandelingen te testen en voor het optimaliseren van de bewaarmethoden voor PLTs. Een controle arm waarin

NaCl 0.9% wordt toegediend als "first hit" in plaats van LPS faciliteert onderzoek naar de effecten van opgeslagen bloedplaatjes in een circulatie die niet geprimed is met LPS. Eerdere onderzoek naar autologe bloedplaatjestransfusie in gezonde vrijwilligers hebben wel transfusiekinetiek en opbrengst van opgeslagen plaatjes onderzocht, maar hierin is niet naar het effect van opslagduur op coagulatie en inflammatie gekeken. De additie van deze controle arm maakt dat in ons onderzoek mogelijk.

Wij stellen daarom de ontwikkeling van een "two hit" in vivo autoloog PLTs transfusie model voor. Dat wil zeggen, een mild TRALI model in gezonde vrijwilligers om te onderzoeken of de opslagduur van PLTs ook in mensen gerelateerd is aan ontstaan van TRALI na een "first hit" met LPS.

Doel van het onderzoek

Het opzetten van een *twee hit* in vivo autoloog bloedplaatjestransfusie model in gezonde mannelijke vrijwilligers.

Onderzoeksopzet

Open label gerandomiseerde interventie trial

In totaal zullen 36 vrijwilligers meedoen aan de studie verdeeld over 6 groepen van 6:

Groep 1 (6 personen): "first hit" Lipopolysaccharide (LPS) 2ng/kg i.v. + "second hit" fysiologisch zout i.v.

Groep 2 (6 personen): "first hit" LPS i.v. + "second hit" bloedplaatjestransfusie (2 dagen opslag)

Groep 3 (6 personen): "first hit" LPS i.v. + "second hit" bloedplaatjestransfusie (7 dagen opslag)

Groep 4 (6 personen): "first hit" Fysiologisch zout 10 ml i.v. + "second hit" fysiologisch zout i.v.

Groep 5 (6 personen): "first hit" Fysiologisch zout 10 ml i.v. + "second hit" bloedplaatjestransfusie (2 dagen opslag)

Groep 6 (6 personen): "first hit" Fysiologisch zout 10 ml i.v. + "second hit" bloedplaatjestransfusie (7 dagen opslag)

Onderzoeksproduct en/of interventie

Methoden: Alle proefpersonen zullen voor deelname aan het onderzoek worden gescreend (medische voorgeschiedenis, lichamelijk onderzoek, ECG, bloed onderzoek, spirometrie, DLCO, thoraxfoto) door de arts-onderzoeker van ons ziekenhuis en van de bloedbank Sanquin. Alle geincludeerde gezonde vrijwilligers (n = 36) zullen 1 eenheid apherese bloedplaatjesdoneren bij de bloedbank Sanquin. Deze bloeddonaties zullen worden verwerkt tot 1 eenheid apherese bloedplaatjes (PLTs) . Verwerking en opslag zal volgens het standaard protocol van Sanquin gebeuren. Voor transfusie worden de bloedplaatjes onder steriele condities gelabeld met biotine (vitamine B8, Suflo-NHS van Pierce, 25 microgram per

milliliter) zodat de cellen na transfusie middels flow cytometrie geïdentificeerd kunnen worden voor aanvullend onderzoek. Op de studiedag zelf zullen de gezonde vrijwilligers een "eerste hit" van E. coli lipopolysaccharide (LPS) 2 ng/kg i.v. (n = 18) of NaCl 0.9% 10 ml (n = 18) toegediend krijgen. Anderhalf uur na de LPS wordt het circulerend volume berekend met behulp van intraveneuze toediening van indocyaninegroen. Twee uur na de "eerste hit" ontvangen zij een autologe transfusie van 1 eenheid verse (2 dag opslag) gebiotinileerde PLTs of een autologe transfusie van 1 eenheid oude gebiotinileerde PLTs (7 dagen van de opslag) of een gelijkwaardige hoeveelheid natriumchloride 0,9% infusie. De transfusie zelf zal worden uitgevoerd in één uur. Tijdens het experiment worden de bloeddruk en arteriële oxygenatie via een arteriële lijn gemeten. Bloedmonsters worden uit de arteriële lijn voorafgaand aan de "eerste hit", voorafgaand aan de indocyaninegroen toediening, 5, 10 en 20 minuten na de indocyaninegroen toediening, voorafgaand aan de transfusie, 10 minuten, 0,5, 1 en 2, 4 en 6 uur na de transfusie afgenomen. Daarnaast zal na 6 uur opnieuw spirometrie en DLCO meeting plaatsvinden. Een thoraxfoto en een broncho-alveolaire lavage (BAL) zal eveneens 6 uur na de transfusie worden uitgevoerd. De BAL zal worden uitgevoerd door een ervaren longarts volgens de Nederlandse richtlijnen van longartsen (NVALT, 2004). In de BAL-vloeistof en plasma monsters zullen ontstekingsmarkers, markers voor neutrofiel activatie en stollings markers worden gemeten om te bevestigen of we een model van TRALI hebben ontwikkeld. Twee tot vier dagen en drie maanden na de studiedag wordt een venapunctie van 4 ml verricht om bloedplaatjes kinetiek te onderzoeken en te bepalen of er antistoffen tegen biotine zijn ontstaan. Tevens wordt in de groep LPS + natriumchloride oplossing extra metingen verricht. In deze groep vrijwilligers vindt gedurende de studiedag EEG-dopler metingen plaats om de neurovasculaire koppeling te onderzoeken tijdens vroege endotoxemie. Daarnaast zal de cardiac output bepaald worden met behulp van de nexfin (kleine cuff om de vinger).

Inschatting van belasting en risico

De bloeddonatie:

1. Het doneren van een bloedtransfusie zal gebeuren zoals dit ook normaal op de bloedbank Sanquin plaats vindt. De bloedafname kan gepaard gaan met wat pijn en de kans op een blauwe plek. De bloedtransfusies worden door Sanquin verwerkt volgens hun standaardprotocol tot klinische bloedproducten.

De bloedproducten:

1. De bloedtransfusies zijn van de proefpersoon zelf afkomstig en zullen daarbij geen risico vormen voor bijvoorbeeld virus transmissie. De mogelijkheid bestaat dat de transfusie milde longschade induceert van voorbijgaande aard. De proefpersoon zal dit misschien ervaren als milde benauwdheid.

2. Het bloedproduct zal voor transfusie gelabeld worden met biotine (vitamine B8) waarmee de cellen na transfusie geïdentificeerd kunnen worden middels flow cytometrie (FACS). Labeling vindt plaats onder steriele condities volgens reeds bestaande protocollen. Voor transfusie worden kweken afgenomen om de steriliteit te bevestigen waarmee er geen risico is op infectie bij de ontvanger. In eerdere studies ontwikkelden 1 op de 8 vrijwilligers antistoffen tegen biotine. Deze waren na een jaar weer verdwenen en hadden geen klinische relevantie. Herhaalde infusie van biotine gelabelde bloedplaatjes hadden geen

nadelige gevolgen.

3. Gedurende opslag van het bloedproduct verkregen uit de bloeddonatie van de proefpersoon zal er een paar keer een monster uit het bloedproduct worden gehaald om de veranderingen gedurende opslag te kunnen meten. Deze afnamen vinden onder steriele omstandigheden plaats waarbij risico op bacteriële contaminatie nihil is.

Het onderzoek:

1. Het twee maal ondergaan van een röntgenfoto betreft een zeer lage stralingsbelasting.
2. Voor het onderzoek zal een infuus worden ingebracht in de slagader in de pols of in de slagader in de elleboogsplooi van de arm (arteriëlijn). Deze plek wordt eerst verdoofd. Met deze techniek is inmiddels door de onderzoekers veel ervaring opgedaan. Er bestaat bij deze techniek een kleine kans op blauwe plekken of bloedstolsel vorming in het bloedvat. Gedurende de laatste jaren hebben zich in onze handen op het operatie complex (15-20 patiënten per dag) geen complicaties bij deze procedure voorgedaan. Het plaatsen van een arteriëlijn wordt uitgevoerd door een ervaren anesthesist.
3. Toediening van endotoxine kan leiden tot milde griepachtige symptomen, die kunnen bestaan uit een geringe stijging van lichaamstemperatuur, spierpijn en/of moeheid.
4. De bronchuslavage (longspoeling) wordt uitgevoerd door een ervaren longarts. Het belangrijkste ongemak is een droge hoest ter plaatse van het neusgat danwel mond waardoor de scoop geïntroduceerd wordt. Deze klachten worden echter onderdrukt door de eerder genoemde lidocaine spray. Daarnaast kan er eventueel binnen 24 uur koorts ontstaan.
5. De bloedafnames tijdens het onderzoek worden uit de arteriëlijn gedaan en zullen dus niet gepaard gaan met extra prikken. De hoeveelheid bloed die tijdens de studie dag afgenomen wordt is 150 ml. De 150 ml bloedafname is naast de bloeddonatie van 150 - 400 ml waarvan de proefpersoon afhankelijk van de arm die hij/zij loot het merendeel (de bloedplaatjes) op de studiedag terug krijgt. Deze wisselingen in bloedvolume kan het lichaam in korte tijd weer volledig aanvullen. Het is niet toegestaan om in de drie maanden voorafgaand aan deze studie of tijdens deze studie bloeddonaties te geven of mee te doen met een andere studie.
6. De transfusie van de gelabelde bloedplaatjes heeft geen bijwerkingen. Bij 1 op de 8 vrijwilligers ontstaan er antistoffen in het bloed tegen biotine. Deze verdwijnen binnen een jaar vanzelf weer en hebben geen gevolgen voor de gezondheid. Wel mag de vrijwilliger gedurende deze periode niet opnieuw een infuus-behandeling met biotine ondergaan.
7. Het gebruik van Indocyaninegroen wordt toegediend via het infuus. Dit infuus hebben de vrijwilligers ook nodig voor de toediening van de LPS en het bloedproduct. Daarom is onze inschatting dat het gebruik van indocyaninegroen weinig bezwarend is voor de vrijwilligers.

Risico:

De bijwerkingen kunnen als mild ingeschat worden vanwege de volgende redenen:

1. Studies binnen ons onderzoeksinstituut hebben laten zien dat het toedienen van E. coli LPS met een dosis van 4 ng/kg in gezonde vrijwilligers veilig is. Wij zullen echter een lagere dosis van 2 ng/kg toedienen waarbij er nog wel priming van de neutrofielen ontstaat maar geen SIRS reactie.
2. Het toedienen van verse dan wel opgeslagen autologe transfusie producten in gezonde vrijwilligers blijkt ook veilig te zijn. De combinatie van deze twee modellen kunnen mogelijk tijdelijke bijwerkingen veroorzaken.

De bijwerkingen beschouwen we als mild zoals in sectie E9 beschreven. De redenen hiervoor zijn als volgt;

1. Dierstudies die de combinatie van deze twee modellen gebruiken laten slechts milde longschade zien.
2. In het model wat wij voorstellen gebruiken we een 1000 maal lagere dosis van LPS (2ng/kg) in vergelijking met de dierstudies. Dit zal het model nog milder maken en de kans op bijwerkingen doen verminderen.
3. Een vergelijkbaar model met LPS als "first hit" en opgeslagen rode bloedcellen als "second hit" dat in ons instituut is ontwikkeld, blijkt veilig toepasbaar bij gezonde vrijwilligers.
4. In eerdere studies in gezonde mensen met biotine gelabelde rode bloed cellen ontwikkelden 1 op de 8 vrijwilligers antistoffen tegen biotine. Deze waren na een jaar weer verdwenen en hadden geen klinische relevantie. In een bloedplaatjestransfusiemodel is de ontwikkeling van antistoffen niet bepaald maar in dit onderzoek gaf herhaalde intraveneuze blootstelling aan biotine gelabelde bloedplaatjes geen nadelige effecten bij gezonde vrijwilligers. Het biotinyleren is hiermee veilig gebleken.
5. Indocyanine groen is veelvuldig getest in zowel gezonde vrijwilligers als in ernstig zieke patiënten. Hierbij zijn geen nadelige effecten aangetoond. Omdat dit product jodium bevat worden vrijwilligers met schildklierproblemen, een allergie of overgevoeligheid voor jodium(producten) uitgesloten van deelname.
- 6: continue EEG-dopler metingen en nexfin zijn non-invasieve metingen, deze zijn pijnloos.

Contactpersonen

Publiek

Academisch Medisch Centrum

Meibergdreef 9
Amsterdam 1105 AZ
NL

Wetenschappelijk

Academisch Medisch Centrum

Meibergdreef 9
Amsterdam 1105 AZ
NL

Locaties

Landen waar het onderzoek wordt uitgevoerd

Netherlands

Deelname eisen

Leeftijd

Volwassenen (18-64 jaar)

Belangrijkste voorwaarden om deel te mogen nemen (Inclusiecriteria)

1. Mannelijk geslacht
2. Leeftijd 18 tot en met 35 jaar

Belangrijkste redenen om niet deel te kunnen nemen (Exclusiecriteria)

1. Geen informed consent
2. Afwijkend resultaat tijdens de screening voor inclusie (anamnese, lichamelijk onderzoek, ECG, bloed- en urineonderzoek, spirometrie, DLCO, röntgen foto van de thorax)
3. Voorgeschiedenis van middelen misbruik
4. Gebruik van medicatie op recept
5. Roken < 6 maanden
6. Bloeddonatie < 3 maanden
7. Bloedverlies > 500 ml < 3 maanden
8. Eerdere bloedtransfusie
9. Deelname aan een geneesmiddelenstudie < 3 maanden
10. Eerdere deelname aan LPS-vrijwiligers onderzoek

- 11. Allergie of overgevoeligheid voor jodiumproducten
- 12. Actieve schildklierpathologie

Onderzoeksopzet

Opzet

Type:	Interventie onderzoek
Onderzoeksmodel:	Parallel
Toewijzing:	Gerandomiseerd
Blinding:	Enkelblind
Controle:	Placebo
Doel:	Algemeen wetenschappelijk

Deelname

Nederland	
Status:	Werving gestart
(Verwachte) startdatum:	15-05-2017
Aantal proefpersonen:	36
Type:	Werkelijke startdatum

Ethische beoordeling

Goedgekeurd WMO	
Datum:	18-11-2014
Soort:	Eerste indiening
Toetsingscommissie:	METC Amsterdam UMC
Goedgekeurd WMO	
Datum:	23-06-2017
Soort:	Amendement
Toetsingscommissie:	METC Amsterdam UMC
Goedgekeurd WMO	
Datum:	04-12-2017
Soort:	Amendement

Toetsingscommissie:	METC Amsterdam UMC
Goedgekeurd WMO	
Datum:	28-02-2020
Soort:	Amendement
Toetsingscommissie:	METC Amsterdam UMC
Goedgekeurd WMO	
Datum:	14-04-2022
Soort:	Amendement
Toetsingscommissie:	METC Amsterdam UMC

Registraties

Opgevolgd door onderstaande (mogelijk meer actuele) registratie

Geen registraties gevonden.

Andere (mogelijk minder actuele) registraties in dit register

ID: 26852

Bron: Nationaal Trial Register

Titel:

In overige registers

Register	ID
CCMO	NL50117.018.14
OMON	NL-OMON26852