

# Journal of Transfusion Medicine

ISSN 1689-6017  
e-ISSN 2080-1505

Rok 2023, tom 16, nr 1

## Hemostasis restoring in postpartum hemorrhage — algorithm 2023

*Przywracanie hemostazy w ciężkim krwotoku poporodowym — algorytm 2023*

*Elżbieta Nowacka*

## What's new in the field of serum-based eye drops

*Najnowsze doniesienia z zakresu sztucznych łez z surowicy*

*Joanna Janus, Katarzyna Chmielewska, Agata Mikołowska, Jolanta Antoniewicz-Papis*

## Innovative applications of platelet derivatives in light of information presented during the 2022 virtual congress of the International Society of Blood Transfusion (ISBT); selected issues

*Wybrane zagadnienia dotyczące nowatorskich zastosowań preparatów płytkopochodnych w świetle informacji przedstawionych w czasie wirtualnego kongresu Międzynarodowego Towarzystwa Przetaczania Krwi*

*Paulina Goczyńska, Joanna Lasocka, Elżbieta Lachert*



# Journal of Transfusion Medicine



Rok 2023, tom 16, nr 1

ISSN 1689-6017  
e-ISSN 2080-1505

**Redaktor naczelna:** Magdalena Łętowska  
**Zastępca redaktora naczelnego:** Jerzy Windyga  
**Sekretarz redakcji:** Krystyna Dudziak  
**Redaktor prowadzący:** Izabela Hallmann  
**Redaktorzy działów:**  
**Transfuzjologia kliniczna:** Ryszard Pogłód  
**Transfuzjologia laboratoryjna:** Piotr Grabarczyk  
**Hematologia i Hemostaza:** Jerzy Windyga

#### Rada Naukowa:

Jean Pierre Allain (Anglia), Margarida Amil Diaz (Portugalia), Jolanta Antoniewicz-Papis, Ewa Brojer, Przemysław Juszczynski, Elżbieta Lachert, Ewa Lech-Marańda, Miquel Lozano (Hiszpania), Mario Muon (Portugalia), Edyta Odnoczek, Piotr Paluszkiwicz, Aleksandra Rosiek, Erwin Scharberg (Niemcy), Zbigniew Szczepiórkowski (Stany Zjednoczone)

**Journal of Transfusion Medicine** (ISSN 1689-6017, e-ISSN 2080-1505) jest czasopismem wydawanym cztery razy w roku przez VM Media Group sp. z o.o., Grupa Via Medica, ul. Świętokrzyska 73, 80-180 Gdańsk, tel.: 58 320 94 94; faks: 58 320 94 60; e-mail: viamedica@viamedica.pl; www.viamedica.pl

Wersja elektroniczna czasopisma znajduje się na stronie:  
<https://journals.viamedica.pl>

#### Adres Redakcji:

Instytut Hematologii i Transfuzjologii  
Zakład Transfuzjologii  
ul. Indiry Gandhi 14, 02-776 Warszawa  
tel.: 22 349 63 71, tel./faks: 22 349 63 72  
e-mail: bloodorg@ihit.waw.pl

Zasady edycji i informacje dla autorów zamieszczono na stronie  
[www.jtm.viamedica.pl](http://www.jtm.viamedica.pl)

**Prenumerata w wersji elektronicznej jest bezpłatna**  
[https://journals.viamedica.pl/journal\\_of\\_transfusion\\_medicine/about/subscriptions](https://journals.viamedica.pl/journal_of_transfusion_medicine/about/subscriptions)

**Reklamy:** należy kontaktować się z wydawnictwem Via Medica, tel.: (58) 320 94 94; e-mail: dsk@viamedica.pl  
Redakcja nie ponosi odpowiedzialności za treść reklam.

Wszelkie prawa zastrzeżone, włącznie z tłumaczeniem na języki obce. Żaden fragment tego czasopisma zarówno tekstu, jak i grafiki nie może być wykorzystywany w jakiegokolwiek formie. W szczególności zabronione jest dokonywanie reprodukcji oraz przekładanie na język mechaniczny lub elektroniczny, a także utrwalanie w jakiegokolwiek postaci, przechowywanie w jakimkolwiek układzie pamięci oraz transmitowanie, czy to w formie elektronicznej, mechanicznej czy za pomocą fotokopii, mikrofilmu, nagrań, skanów bądź w jakikolwiek inny sposób, bez wcześniejszej pisemnej zgody wydawcy. Prawa wydawcy podlegają ochronie przez krajowe prawo autorskie oraz konwencje międzynarodowe, a ich naruszenie jest ścigane pod sankcją karną.

Czasopismo jest indeksowane w bazach *CrossRef*, *EBSCO*, *Free Medical Journals*, *Google Scholar*, Głównej Biblioteki Lekarskiej, *Index Copernicus* (79,23), Ministerstwa Edukacji i Nauki (20), Polskiej Bibliografii Naukowej, *Ulrich's Periodicals Directory*, *WorldCat*.





# Journal of Transfusion Medicine

2023, tom 16, nr 1

ISSN 1689-6017  
e-ISSN 2080-1505

---

## CONTENTS

---

### REVIEW ARTICLES

#### Hemostasis restoring in postpartum hemorrhage — algorithm 2023

Elżbieta Nowacka..... 1

#### What's new in the field of serum-based eye drops

Joanna Janus, Katarzyna Chmielewska,  
Agata Mikołowska,  
Jolanta Antoniewicz-Papis..... 23

### CONGRESS REPORT

#### Innovative applications of platelet derivatives in light of information presented during the 2022 virtual congress of the International Society of Blood Transfusion (ISBT); selected issues

Paulina Goczyńska, Joanna Lasocka,  
Elżbieta Lachert..... 31

---

## SPIS TREŚCI

---

### ARTYKUŁY POGLĄDOWE

#### Przywracanie hemostazy w ciężkim krwotoku poporodowym — algorytm 2023

Elżbieta Nowacka..... 12

#### Najnowsze doniesienia z zakresu sztucznych łez z surowicy

Joanna Janus, Katarzyna Chmielewska,  
Agata Mikołowska,  
Jolanta Antoniewicz-Papis..... 27

### STRESZCZENIE KONGRESOWE

#### Wybrane zagadnienia dotyczące nowatorskich zastosowań preparatów płytkopochodnych w świetle informacji przedstawionych w czasie wirtualnego kongresu Międzynarodowego Towarzystwa Przetaczania Krwi

Paulina Goczyńska, Joanna Lasocka,  
Elżbieta Lachert..... 35



# Hemostasis restoring in postpartum hemorrhage — algorithm 2023

Elżbieta Nowacka 

Anaesthesiology and Intensive Therapy Department of professor Witold Orłowski  
 Independent Public Clinical Hospital, Warsaw, Poland  
 Chairwoman of the Section of Fluid Therapy and Haemostasis  
 — Polish Society of Anaesthesiology and Intensive Therapy

## Summary

*Postpartum hemorrhage (PPH) is still the leading cause of perinatal death in women of reproductive age. It is characterized by high dynamics, and most women die within the first day of puerperium and as many as 88% of them within the first 4 hours from the onset of hemorrhage. Management of each massive obstetric hemorrhage requires interdisciplinary, team-based and multidirectional action. The need for simultaneous application of uterotonic agents, surgical and/or endovascular methods as well as procedures aimed at restoring volume and hemostasis should be emphasized. The protocol for the management of severe PPH should be individualized and take into account hemorrhage etiology. Each time the volume of circulating blood as well as the degree of blood loss have to be determined, and the adequate procedures, the starting points for implementing aggressive treatment and the satisfactory end points must be defined. The most common cause of severe, life-threatening PPH is uterine atony. Restoration of hemostasis in massive PPH consists in transfusion of blood components, administration of antifibrinolytic drugs and coagulation factor concentrates, rFVIIa included. Patient survival is often determined by the very risk assessment for hemorrhage, early diagnosis and rapid implementation of PPH management algorithms.*

**Key words:** hemorrhage, massive life-threatening PPH, severe postpartum hemorrhage, massive transfusion, hemostasis, rFVIIa

*J. Transf. Med.* 2023; 16:1–11

Postpartum hemorrhage (PPH) is still the most common cause of perinatal death in women of reproductive age [1, 2]. It is characterized by high dynamics, and its occurrence may surprise the obstetrician team. Most women die within the first day of the postpartum period, and as many as 88% during the first 4 hours of the onset of hemorrhage [3]. Most likely, even up to 90% of these deaths

could have been avoided if standardized medical procedures were implemented [4]. Management of each massive obstetric hemorrhage should be interdisciplinary, team-based and multidirectional. The management strategy emphasizes the need for administration of uterotonic agents, surgical and/or endovascular procedures aimed at restoring hemostasis [5]. Patient survival is often determined by

**Correspondence address:** dr n. med. Elżbieta Nowacka, Anaesthesiology and Intensive Therapy Department of professor Witold Orłowski Independent Public Clinical Hospital, ul. Czerniakowska 231, 00–416 Warsaw, Poland, phone: +48 22 584 11 22, e-mail: elzbieta.nowacka@szpital-orlowskiego.pl, mops2506@interia.pl

Translation: mgr Krystyna Dudziak

This article is available in open access under Creative Common Attribution-Non-Commercial-No Derivatives 4.0 International (CC BY-NC-ND 4.0) license, allowing to download articles and share them with others as long as they credit the authors and the publisher, but without permission to change them in any way or use them commercially.

the physician's awareness of the risk for hemorrhage, early diagnosis and rapid implementation of PPH management algorithms.

It is not easy to precisely define PPH; there is currently no single satisfactory definition as reflected by several terms referring to this emergency the use of which depends on the accepted criterion [6]. The multitude of definitions is most likely one of the reasons for delayed implementation of proper management. PPH is most commonly defined as the loss of 2000 ml of circulating blood. This term however is too general and not sufficiently precise. From the point of view of hemodynamic changes, systemic effects/consequences and necessity of timely therapeutic decisions, more functional seem definitions referring to the rate of blood loss at a definite time interval in relation to the patient's circulating blood volume. The most reliable definition of massive PPH refers to the loss of 20% of circulating blood which corresponds to a loss of 150 ml/minute [7]. The current algorithms for the management of severe postpartum hemorrhage (sPPH), severe) are based on the physiology of the woman's homeostasis and hemostasis in pregnancy and puerperium as well as on the cellular model of thrombus/clot formation and dissolution [8–10].

The maternal organism adapts itself to the developing pregnancy and the process of adaptation induces changes in numerous systems and organs. The adjusted mechanisms regulate the pregnant woman's homeostatic system at the molecular, immunological, hormonal and neurogenic levels, and together with the function and role of the uteroplacental unit they determine her response to nociceptive stimuli. In response to peripartum haemorrhage, the adaptative ability of the circulatory and coagulation systems is of crucial importance as is the disturbed equilibrium between thrombus formation and fibrinolysis within the placenta [11].

At the term of delivery, the serum platelet count of pregnant women is lower than in the population of non-pregnant women as caused by subliminal disseminated intravascular coagulation (DIC) only in placental capillaries. A pregnant woman synthesizes 200–500% of all coagulation factors, with the exception of factor XIII (FXIII), which is a fibrin stabilizing factor [12]. FXIII activity cannot be assessed with such routine tests as: activated partial thromboplastin time (APTT), prothrombin time (PT) and thrombin time (TT) [13].

In response to vascular injury, the body in labor or postpartum rapidly forms a clot which is unstable. "Point of care" testing ([POC]: TEG — thromboelastography, ROTEM — thromboelastometry)

used to assess the overall physiological response of the system of clot formation and dissolution, display a hypercoagulable profile for pregnancy. Hypercoagulability is primarily determined by an increased concentration of coagulation factors, fibrinogen included [14–16].

Fibrinogen plays a key role at all stages of hemostasis, including platelet hemostasis, clot formation and fibrinolysis. Recent research emphasizes the correlation between fibrinogen concentration at delivery and the risk of PPH; this refers to 20–25% of patients with a fibrinogen level > 4 g/l. Hemorrhage might be expected in 50% of pregnant women with normal fibrinogen level at term, while all pregnant women with a fibrinogen level < 2 g/l are likely to develop PPH [17].

Placental hemostasis is characterized by a disturbed equilibrium/balance between TF (tissue factor) and TFPI (tissue factor inhibitor) and impaired fibrinolysis which occurs as result of adaptive changes [18, 19]. Activation of the coagulation system and increased TF expression are the main mechanisms that protect the parturient against excessive blood loss following placental abruption, while impaired fibrinolysis facilitates fibrin deposition and clot formation. Physiological placenta abruption is associated with a simultaneous reduction in platelet count and lower concentration of coagulation factors involved in the process of clot formation [20, 21]. Fibrinogen level is reduced not only as result of clot formation, but also due to deposition of fibrinogen in the extraplacental hematoma. Fibrinolysis impairment facilitates clot formation, while the relative deficiency of factor XIII in pregnant women is responsible for lower cohesion, stability and durability. In the physiological bleeding at normal delivery, fibrinolysis is significantly impaired and clot-formation activity predominates [22, 23].

Any hemorrhage in the perinatal period activates fibrinolysis within the endometrium and induces a mechanism of a vicious circle that intensifies blood loss [24]. Fibrinolysis in PPH results from endothelial ischemia and increased activity of tissue plasminogen activator (tPA) [25]. A major problem in controlling PPH is fibrinolysis in capillaries [26]. Activation of fibrinolysis at the onset of hemorrhage may be confined merely to the extraplacental site and often goes undetected with POC methods such as thromboelastography or thromboelastometry (TEG, ROTEM). Due to fibrinogen consumption and deposit following physiological placenta separation, the lowest fibrinogen concentration is observed on the first



postpartum day and in such cases PPH correlates with severe coagulopathy, afibrinogenemia and life-threatening hemorrhage which is difficult to control with conventional methods [27]. Fibrinogen is an acute-phase protein and its concentration increases systematically from the 72nd postpartum hour. Additionally, in the first 3 postpartum days, platelet adhesion and aggregation is impaired [28].

Management of sPPH requires defining the parturient's circulating blood volume, the degree of blood loss, the starting points for aggressive management and the satisfactory end points as well as timely implementation of adequate procedures [29–31].

The most common cause of severe, life-threatening PPH is uterine atony (70% PPH) [32]. In the setting of the maternity/obstetric ward, the key problem is to define the volume of circulating blood [33, 34].

The presented algorithm (Tables 1 and 2) estimates the volume and percentage of blood loss in relation to body weight and body mass index (BMI) [35]. In normal weight pregnant women the circulating blood volume is about 100/ml/kg [36], while in women with BMI > 35–73 ml/kg; similar to the estimated volume for non-pregnant women with normal body weight (70 ml/kg on body weight) [37]. In the clinical setting, the estimation of the circulating blood loss in PPH may be difficult and is usually underestimated [38]. In pregnant women with low body weight or obese women the risk of underestimation is high.

The loss of blood is estimated mainly by the number of surgical drapes used during a procedure; in everyday clinical practice however not all surgical dressing material is routinely weighed. Depending on the degree of saturation, a standard surgical drape (45 × 45 cm) corresponds to the loss of 100–300 ml of blood but this may be subjective. For example, a 5 × 5 cm wet swab corresponds to 30 ml of blood loss and a 10 × 10 cm swab to as much as 60 ml. The difference is usually overlooked [39].

Depending on the degree of blood loss and the accompanying clinical symptoms, four categories of hypovolemic shock have been determined (Table 3) [40, 41].

The intensity of hemorrhagic shock can currently be estimated in a minute with an analyzer for rapid assessment of acid-base balance and the reading is based only on the base excess (BE) parameter. Successive assessment of this BE parameter (approx. every 20 minutes) enables hemorrhage follow-up. It also has prognostic

value because — as result of the adaptation of the circulatory system to pregnancy — the maternal general condition parameters remain normal for long despite significant blood loss [42].

Noninvasive measurement of systolic and diastolic arterial blood pressure displays normal value in 20–30% of pregnant women who lose more than 1500–2000 ml of blood [43]. The critical point is the loss of 40% of circulating blood because it is then that the transition from hypovolemic shock to decompensated shock occurs [44].

Disturbed microvascular flow in vital organs brings about impaired oxygen delivery to tissues, which results in hypoxia. Hypoxia enhances metabolic acidosis, as well as neutrophil adhesion to endothelial cells, blood stasis, intravascular coagulation, ischemia and multiple organ failure, associated with poor prognosis and poor quality of life (if the patient survives). Therefore, the last moment to implement aggressive PPH management is the loss of 30% of circulating blood. Obstetricians call it the “Rule of 30” (Table 4) [45].

In every case of PPH, it is necessary to consider the response of the coagulation system to hemorrhage of different etiology. In uterine atony and trauma to the genital tract, coagulopathy is equally dependent on the consumption of coagulation factors and hemodilution [46], while premature separation of a correctly positioned placenta is a clear example of fibrinogen consumption up to afibrinogenemia [47]. Amniotic fluid embolism is a coagulopathy resulting from the loss and biodegradation of coagulation factors and the intravascular coagulation syndrome. Uterine atony during caesarean section may also be an atypical form of amniotic fluid embolism that requires implementing the AOK algorithm (ATROPINE-ONDANSETRON-KETONAL) to inhibit the transition from the pulmonary phase to the next phases (cardiac, coagulopathy) [48]. It has been determined that each PPH episode is primarily related to fibrinogen consumption [49]. There is a linear correlation between the circulating blood loss and fibrinogen concentration that has not been observed for hemoglobin levels and routine coagulation tests [50, 51].

The management of severe PPH is a multidisciplinary approach that is conducted simultaneously. The treatment of a patient with severe PPH is not based on the knowledge and skills of a single physician but that of a team of professionals who cooperate with each other. Severe PPH always implies massive transfusion and volume and hemostatic resuscitation. Implementation of the

**Table 1.** Volume of circulating blood and % of blood loss related to body mass and body mass index (BMI) < 35

	Body mass [kg]																						
	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100	105	110	115	120	125	130	135	140	145	150		
<b>BMI &lt; 35: blood volume</b>	<b>5000</b>	<b>5500</b>	<b>6000</b>	<b>6500</b>	<b>7000</b>	<b>7500</b>	<b>8000</b>	<b>8500</b>	<b>9000</b>	<b>9500</b>	<b>10 000</b>												
100 ml/kg [ml]																							
20% loss [ml]	1000	1100	1200	1300	1400	1500	1600	1700	1800	1900	2000												
30% loss [ml]	1500	1650	1800	1950	2100	2250	2400	2550	2700	2850	3000												
40% loss [ml]	2000	2200	2400	2600	2800	3000	3200	3400	3600	3800	4000												

**Table 2.** Volume of circulating blood and % of blood loss related to body mass and body mass index (BMI) > 35

	Body mass [kg]																						
	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100	105	110	115	120	125	130	135	140	145	150		
<b>BMI &gt; 35: Blood volume</b>							<b>5840</b>	<b>6205</b>	<b>6570</b>	<b>6935</b>	<b>7300</b>	<b>7665</b>	<b>8030</b>	<b>8395</b>	<b>8760</b>	<b>9125</b>	<b>9490</b>	<b>9855</b>	<b>10 220</b>	<b>10 585</b>	<b>10 950</b>		
73 ml/kg [ml]																							
20% loss [ml]							1168	1241	1314	1387	1460	1533	1606	1679	1752	1825	1898	1971	2044	2117	2190		
30% loss [ml]							1753	1861	1971	2080	2190	2299	2409	2518	2628	2737	2847	2956	3066	3176	3285		
40% loss [ml]							2336	2482	2628	2774	2920	3066	3212	3358	3504	3650	3796	3942	4088	4234	4380		

**Table 3.** Four categories of hypovolemic shock intensity related to the degree of blood loss and clinical symptoms

Category/ /shock intensity	% loss	Blood volume [ml]	Tachycardia [μ/min]	SBP/DPB	SI=HR/ /SBP	Sodium deficiency	Symptoms	Prohemostatic management
I/Compensated	10–15	500–1000	100/min	Normal	0.9–1.0	≤ 2		Tranexamic acid
II/ Mild	15–20	1200–1500	< 120/min	SBP — normal DBP ↓	1.0	–2 do –6	Peripheral vasoconstriction CRT > 2 s Weak pulse Lower urine output	Tranexamic acid RBCs
III/Moderate	25–35	1600–2200	> 120/min	SBP ↓ 70–80 mmHg	1.0–1.4	–6 do –10	Pale skin Agitation Pulse filamentation Tachypnoea Oliguria	Tranexamic acid Fibrinogen Calcium Noradrenalin RBCs/FFP/ /CRYO/ /rFVIIa PCC
IV/Severe	35–45	> 2500	> 140/min	SBP ↓ ↓ 50–70 mmHg	> 1.5	≥ 10	Drowsiness Gray skin No CRT Anuria	Tranexamic acid Fibrinogen Calcium Noradrenalin RBCs/FFP/ /CRYO/ /rFVIIa PCC

DBP — diastolic blood pressure; FFP — fresh frozen plasma; HR — heart rate; RBC — red blood cells; CRYO — cryoprecipitate; PCC — prothrombin complex concentrates; rFVIIa — recombinant activated factor VII; SBP — systolic blood pressure; SI — shock index = HR/SBP

**Table 4.** Rule of „thirty” estimates approximate 30% blood loss. Estimation is based on changes of selected parameters by 30 (in corresponding units)

Rule of „30”
Fall of systolic blood pressure by 30%
Increase of heart rate (HR) by 30%
A 30% increase in respiratory rate
Fall in hemoglobin level (HGB) and hematokryt (HT) by 30%
Urine output of less than 30 ml/h

Holcomb algorithm (the RBC:FFP ratio of 1:1) is successfully used in obstetrics and has contributed to significant improvement of prognosis in severe, life-threatening PPH [52].

The recommended initial procedure is the quickest possible order of 4 units of RBC, 4 units of FFP and 4 units of cryoprecipitate (Cryo). If bleeding continues or becomes more intensive, the next step is to order another 4 units of RBCs, 4 units of FFP, 4 units of Cryo and 1 therapeutic dose of PC (platelet concentrate), either pooled or from apheresis. If more than 5 units of RBC are ordered from the start, it is recommended to order PC in a stoichiometric ratio [53]. When ordering blood components, even in centers with their own Blood Bank, one should include the time necessary for FFP and cryoprecipitate thawing which delays transfusion by about 30–40 minutes [54]. Immediate access to RBCs for rapid transfusion which requires no compatibility test, is also possible but the delivery of erythrocytes does not restore hemostasis.

At least two large peripheral accesses ports should be secured and intravenous fluid therapy with balanced crystalloids should be started according to the ROSE algorithm (resuscitation-optimization-stabilization-elimination), taking into account the strong ion difference (SID) [55] to restore the circulating blood volume [56]. In hypovolemic shock the infused crystalloids act like colloids in the blood vessel. After infusion, 60–70% leave the vascular bed. Stabilization of the vascular bed with intravenous catecholamines (norepinephrine) should be considered to maintain permissive hypotension with mean arterial pressure (MAP) not exceeding 65 mmHg until the surgical cause of bleeding is controlled [57]. Aggressive efforts to restore circulating volume often result in iatrogenic hemodilution [58]. Moreover, acidosis and hypothermia exacerbate coagulopathy and impair clot formation. Maternal death is usually caused by

hemostatic disorders and hypovolemia rather than by abnormal hemoglobin levels [59].

One of the pillars of the operating team is the “fourteenth” factor — a skilled and experienced obstetrician (perinatologist) familiar with procedural techniques of postpartum hemorrhage control [60].

Simultaneously, the team of anesthesiologists strives/struggles to maintain normal body temperature (normothermia) and to prevent acidosis [61]. It is of crucial importance to inhibit fibrinolysis by prompt intravenous administration of tranexamic acid (TXA) at a dose of 20 mg/kg body weight, usually 1 g [62–64]. The next step is fibrinogen substitution with fibrinogen concentrate at a dose of 2–4 g or with cryoprecipitate (2 U/10 kg b.w.) [65]. Centers with no Blood Bank of their own can use prothrombin complex concentrates (PCC) at a dose of 500–1000 U as emergency bridging therapy until blood components are delivered. [66].

In April 2022, the European Medicines Agency (EMA) registered recombinant activated factor VII (rFVIIa) for the management severe postpartum hemorrhage [67, 68]. The drug is for intravenous use if uterotonic drugs are ineffective, intensive bleeding cannot be controlled by conventional means, and surgical measures to save the patient’s life must be escalated [69]. The procedure of rFVIIa (1 rFVIIa) administration is presented as the first step in the algorithm for restoring hemostasis in obstetric hemorrhage (Fig. 1) [70].

Given the high physiological levels of fibrinogen and other coagulation factors in pregnancy even despite the rapid loss of 20–30% of the circulating blood, prompt/early administration of the recommended dose of rFVIIa ensures conditions for the drug to act so there is no time for acidosis or hypothermia to develop. A routine dose of 60–90 µg/kg b.w. is recommended and can be repeated after 30 minutes [71]. The body mass dependent rFVIIa dosage is presented in Table 5.

Clot formation profiles based on TEG, ROTEM thromboelastometry confirmed high safety of a single infusion of up to 4 g of TXA in PPH. Tranexamic acid reduces blood loss and the need for transfusions by 50% [72].

Every case of PPH requires fibrinogen supplementation; 1 g of fibrinogen concentrate increases the level of the patient’s fibrinogen in plasma by 0.3 g/dl [73–76]. In Poland, the main source of fibrinogen is cryoprecipitate. Apart from F I it also contains FXIII, FVIII and VWF factor.

Transfusion of cryoprecipitate is called for because pregnant women are deficient in factor XIII, indispensable for clot stabilization and prevention



Table 5. Dosage of recombinant activated factor VII (rFVIIa) in severe PPH related to body mass and available vials/ampoules

Body mass [kg]	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100	105	110	115	120	125	130	135	140	145	150
<b>Dosage of rFVIIa related to body mass and available vials/ ampoules</b>																					
<b>Number of mg per dose of 60 µg/kg bm.</b>	3	3.3	3.6	3.9	4.2	4.5	4.8	5.1	5.4	5.7	6	6.3	6.6	6.9	7.2	7.5	7.8	8.1	8.4	8.7	9
<b>Number of vials per one dose</b>	1 × 1 mg + 1 × 2 mg	2 × 2 mg	2 × 2 mg	2 × 2 mg	1 × 5 mg	1 × 5 mg	1 × 5 mg	1 × 5 mg + 1 × 1 mg	1 × 5 mg + 1 × 1 mg	1 × 5 mg + 1 × 1 mg	1 × 5 mg + 1 × 1 mg	1 × 5 mg + 1 × 2 mg	1 × 5 mg + 1 × 2 mg	1 × 5 mg + 1 × 2 mg	1 × 8 mg	1 × 8 mg	1 × 8 mg	1 × 8 mg + 1 × 1 mg	1 × 8 mg + 1 × 1 mg	1 × 8 mg + 1 × 1 mg	1 × 8 mg + 1 × 1 mg
<b>Number of mg per dose of 90 µg/kg bm.</b>	4.5	4.95	5.4	5.85	6.3	6.75	7.2	7.65	8.1	8.55	9	9.45	9.9	10.35	10.8	11.25	11.7	12.15	12.6	13.05	13.5
<b>Number of vials per one dose</b>	1 × 5 mg	1 × 5 mg	1 × 5 mg + 1 × 1 mg	1 × 5 mg + 1 × 1 mg	1 × 5 mg + 1 × 2 mg	1 × 5 mg + 1 × 2 mg	1 × 8 mg	1 × 8 mg	1 × 8 mg + 1 × 1 mg	1 × 8 mg + 1 × 1 mg	1 × 8 mg + 1 × 1 mg	1 × 8 mg + 1 × 2 mg	1 × 8 mg + 1 × 2 mg	1 × 8 mg + 1 × 2 mg	1 × 8 mg + 1 × 2 mg	1 × 8 mg + 2 × 2 mg	1 × 8 mg + 2 × 2 mg	1 × 8 mg + 2 × 2 mg	1 × 8 mg + 2 × 2 mg	1 × 8 mg + 2 × 2 mg	1 × 8 mg + 2 × 2 mg
<b>Average dose (rounded)</b>	4	4	5	5	5	6	6	6	7	7	8	8	8	9	9	9	10	10	11	11	11
<b>Number of vials per one average dose</b>	2 × 2 mg lub 1 × 5 mg	2 × 2 mg lub 1 × 5 mg	1 × 5 mg	1 × 5 mg	1 × 5 mg	1 × 5 mg + 1 × 2 mg*	1 × 5 mg + 1 × 2 mg*	1 × 5 mg + 1 × 2 mg*	1 × 5 mg + 1 × 2 mg*	1 × 5 mg + 1 × 2 mg*	1 × 5 mg + 1 × 2 mg*	1 × 8 mg	1 × 8 mg	1 × 8 mg + 1 × 2 mg*	1 × 8 mg + 1 × 2 mg*	1 × 8 mg + 1 × 2 mg*	1 × 8 mg + 1 × 2 mg*	1 × 8 mg + 1 × 2 mg*	1 × 8 mg + 1 × 2 mg*	1 × 8 mg + 2 × 2 mg**	1 × 8 mg + 2 × 2 mg**
<b>Optimal number of vials to secure the ward with 2 doses per patient of 50–150 kg bm</b>	* 1 mg may be administered just after reconstitution while the rest may be kept in the vial for 6 h at up to 25°C then used for the repeat dose with the second 5 mg vial										**3 mg may be administered just after reconstitution while the rest may be kept in the vial for 6 h at up to 25°C then used for a repeat dose with the second 8 mg vial to reach the minimum dose										
The 10 ml volume of a pre-filled syringe with a solvent for 5 mg and 8 mg doses allows to combine reconstituted doses for patients of 60–135 kg + 2 × 8 mg																					

rFVIIa — recombinant activated factor VII; sPPH — severe postpartum hemorrhage



of bleeding [77, 78]. Supplementation of fibrinogen concentrate and/or cryoprecipitate is the only way to increase fibrinogen content in plasma to a target fibrinogen level for hemostasis (2.5–3 d/l for a bleeding patient) [65] whereas transfusion of FFP often results in dilution of endogenous fibrinogen. To achieve hemostasis, it is necessary to administer FFP at a dose of 30 ml/kg b.w., because the routine dose of 10–15 ml/kg b.w. is insufficient [79]. Intravenous PCC at a dose of 500–1000 units is more effective than equivalent doses of FFP [80, 81]. If rFVIIa was used in the first step as defined by the EMA, PCC cannot be administered for higher risk of thromboembolic complications.

If PPH management proceeds according to the hemostasis restoration algorithm (administration of TXA, fibrinogen concentrate/cryoprecipitate, PCC) followed by massive transfusion (RBC:FFP — 1:1, cryoprecipitate 2 U/10 kg/b.w., PC — platelet concentrate), maintenance of normal plasma ionized calcium level, in the absence of satisfactory hemostasis and/or uncontrollable parenchymal bleeding and/or “ongoing” phenomenon, it is recommended to administer rFVIIa according to the second point of the hemostasis restoration algorithm (2 rFVIIa) [82] provided no acidosis or hypothermia is reported and hemoglobin concentration is above 7 g/dl, fibrinogen > 2 g/l, platelet count >  $50 \times 10^9/l$ .

During ongoing surgery and persistent bleeding, another dose of rFVIIa may be administered 30 minutes after the first one, if the drug is effective. In exceptional situations, if parenchymal hemostasis has not been restored despite surgical procedures, administration of two doses of rFVIIa at 30-minute intervals may be considered under conditions that ensure drug effectiveness (fibrinogen concentration > 2 g/l, platelet count over  $50 \times 10^9/l$ , pH > 7.2) according to the third point of the hemostasis restoration algorithm (3 rFVIIa) [83, 84].

Medical procedures in severe, life-threatening PPH, performed according to the presented hemostasis restoring algorithm, contribute to significant reduction of the risk of maternal death in the perinatal period, improve prognosis and fertility preservation. Crucial for effective performance of all professional teams involved in PPH management are constant knowledge update and upgrading of qualifications and skills. Optimization of management, preparation of background, rational use of resources and recording of activities add to better outcome of treatment and prognosis in patients with postpartum hemorrhage.

**Conflict of interest:** none declared

## References

1. Say L, Chou D, Gemmill A, et al. Global causes of maternal death: a WHO systematic analysis. *Lancet Glob Health*. 2014; 2(6): e323–e333, doi: 10.1016/S2214-109X(14)70227-X, indexed in Pubmed: 25103301.
2. World Health Organization. Trends in maternal mortality 2000 to 2017: estimates by WHO, UNICEF, UNFPA, World Bank Group and the United Nations Population Division 2019, Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/327596>.
3. WHO. Maternal mortality: key facts. 2018. <http://www.who.int/en/news-room/factsheets/detail/maternal-mortality> (accessed Dec 12, 2022).
4. Diguisto C, Saucedo M, Kallianidis A, et al. BÄdker B, Buoncrisiano M. Maternal mortality in eight European countries with enhanced surveillance systems: descriptive population based study. *BMJ* 2022: 379.
5. Bohren MA, Lorencatto F, Coomarasamy A, et al. Formative research to design an implementation strategy for a postpartum hemorrhage initial response treatment bundle (E-MOTIVE): study protocol. *Reprod Health*. 2021; 18(1): 149, doi: 10.1186/s12978-021-01162-3, indexed in Pubmed: 34261508.
6. Bienstock JL, Eke AC, Hueppchen NA, et al. Postpartum hemorrhage. *N Engl J Med*. 2021; 384(17): 1635–1645, doi: 10.1056/NEJMra1513247, indexed in Pubmed: 33913640.
7. Shah A, Kerner V, Stanworth SJ, et al. Major haemorrhage: past, present and future. *Anaesthesia*. 2023; 78(1): 93–104, doi: 10.1111/anae.15866, indexed in Pubmed: 36089857.
8. Llau JV, Acosta FJ, Escolar G, et al. Multidisciplinary consensus document on the management of massive haemorrhage (HEMOMAS document). *Med Intensiva*. 2015; 39(8): 483–504, doi: 10.1016/j.medin.2015.05.002, indexed in Pubmed: 26233588.
9. Kogutt BK, Vaught AJ. Postpartum hemorrhage: Blood product management and massive transfusion. *Semin Perinatol*. 2019; 43(1): 44–50, doi: 10.1053/j.semperi.2018.11.008, indexed in Pubmed: 30527516.
10. Collis RE, Collins PW. Haemostatic management of obstetric haemorrhage. *Anaesthesia*. 2015; 70: 78–86, doi: 10.1111/anae.12913, indexed in Pubmed: 25440400.
11. Greer O, Shah N, Johnson M. Maternal sepsis update: current management and controversies. *Obstet Gynaecol*. 2019; 22(1): 45–55, doi: 10.1111/tog.12623.
12. Coopland A, Alkjaersig N, Fletcher AP. Reduction in plasma factor 13 (fibrin stabilizing factor) concentration during pregnancy. *J Lab Clin Med*. 1969; 73(1): 144–153, indexed in Pubmed: 5762158.
13. Bedson R, Riccoboni A. Physiology of pregnancy: clinical anaesthetic implications. *Continuing Education in Anaesthesia Critical Care & Pain*. 2014; 14(2): 69–72, doi: 10.1093/bjaceaccp/mkt036.
14. Ramler P, Gillissen A, Henriquez D, et al. Clinical value of early viscoelastometric point-of-care testing during postpartum hemorrhage for the prediction of severity of bleeding: A multicenter prospective cohort study in the Netherlands. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2021; 100(9): 1656–1664, doi: 10.1111/aogs.14172, indexed in Pubmed: 33999407.
15. Gillissen A, van den Akker T, Caram-Deelder C, et al. Comparison of thromboelastometry by ROTEM Delta and ROTEM Sigma in women with postpartum haemorrhage. *Scand J Clin Lab*

- Invest. 2019; 79(1-2): 32–38, doi: 10.1080/00365513.2019.1571220, indexed in Pubmed: 30727759.
16. Liew-Spilger AE, Sorg NR, Brenner TJ, et al. Viscoelastic hemostatic assays for postpartum hemorrhage. *J Clin Med.* 2021; 10(17), doi: 10.3390/jcm10173946, indexed in Pubmed: 34501395.
  17. Charbit B, Mandelbrot L, Samain E, et al. PPH Study Group. The decrease of fibrinogen is an early predictor of the severity of postpartum hemorrhage. *J Thromb Haemost.* 2007; 5(2): 266–273, doi: 10.1111/j.1538-7836.2007.02297.x, indexed in Pubmed: 17087729.
  18. Aharon A, et al. Tissue factor and tissue factor pathway inhibitor levels in trophoblast cells: implications for placental hemostasis. *Thromb Haemost.* 2004; 92(4): 776–786, doi: 10.1160/TH04-01-0033, indexed in Pubmed: 15467908.
  19. Dusse LM, Carvalho Md, Cooper AJ, et al. Tissue factor and tissue factor pathway inhibitor: a potential role in pregnancy and obstetric vascular complications? *Clin Chim Acta.* 2006; 372(1-2): 43–46, doi: 10.1016/j.cca.2006.03.025, indexed in Pubmed: 16713593.
  20. Bremme KA. Haemostatic changes in pregnancy. *Best Pract Res Clin Haematol.* 2003; 16(2): 153–168, doi: 10.1016/s1521-6926(03)00021-5, indexed in Pubmed: 12763484.
  21. Anderson CA, Avery MD. Anatomy and physiology during labor and birth. In: King TL, Brucker MC, Osborne K, Jevitt CM, eds. *Varney's Midwifery*. 6th ed. Burlington, MA: Jones & Bartlett Learning, LLC; 2019: 861–880.
  22. Fu M, Liu J, Xing J, et al. Reference intervals for coagulation parameters in non-pregnant and pregnant women. *Sci Rep.* 2022; 12(1): 1519, doi: 10.1038/s41598-022-05429-y, indexed in Pubmed: 35087162.
  23. Chapin JC, Hajjar KA. Fibrinolysis and the control of blood coagulation. *Blood Rev.* 2015; 29(1): 17–24, doi: 10.1016/j.blre.2014.09.003, indexed in Pubmed: 25294122.
  24. Collins PW, Lilley G, Bruynseels D, et al. Fibrin-based clot formation as an early and rapid biomarker for progression of postpartum hemorrhage: a prospective study. *Blood.* 2014; 124(11): 1727–1736, doi: 10.1182/blood-2014-04-567891, indexed in Pubmed: 25024304.
  25. Huissoud C, Carrabin N, Benchaib M, et al. Coagulation assessment by rotation thrombelastometry in normal pregnancy. *Thromb Haemost.* 2009; 101(4): 755–761, indexed in Pubmed: 19350122.
  26. Moore HB, Moore EE, Morton AP, et al. Shock-induced systemic hyperfibrinolysis is attenuated by plasma-first resuscitation. *J Trauma Acute Care Surg.* 2015; 79(6): 897–903; discussion 903, doi: 10.1097/TA.0000000000000792, indexed in Pubmed: 26680132.
  27. Erez O. Disseminated intravascular coagulation in pregnancy - Clinical phenotypes and diagnostic scores. *Thromb Res.* 2017; 151 Suppl 1: S56–S60, doi: 10.1016/S0049-3848(17)30069-5, indexed in Pubmed: 28262236.
  28. Valera MC, Parant O, Vayssiere C, et al. Physiologic and pathologic changes of platelets in pregnancy. *Platelets.* 2010; 21(8): 587–595, doi: 10.3109/09537104.2010.509828, indexed in Pubmed: 20873962.
  29. Bose P, Regan F, Paterson-Brown S. Improving the accuracy of estimated blood loss at obstetric haemorrhage using clinical reconstructions. *BJOG.* 2006; 113(8): 919–924, doi: 10.1111/j.1471-0528.2006.01018.x, indexed in Pubmed: 16907938.
  30. Dildy GA, Paine AR, George NC, et al. Estimating blood loss: can teaching significantly improve visual estimation? *Obstet Gynecol.* 2004; 104(3): 601–606, doi: 10.1097/01.AOG.0000137873.07820.34, indexed in Pubmed: 15339775.
  31. Lertbunnaphong T, Lapthanapat N, Leetheeragul J, et al. Postpartum blood loss: visual estimation versus objective quantification with a novel birthing drape. *Singapore Med J.* 2016; 57(6): 325–328, doi: 10.11622/smedj.2016107, indexed in Pubmed: 27353510.
  32. Nyfløt L, Sandven I, Stray-Pedersen B, et al. Risk factors for severe postpartum hemorrhage: a case-control study. *BMC Pregnancy and Childbirth.* 2017; 17(1), doi: 10.1186/s12884-016-1217-0, indexed in Pubmed: 28068990.
  33. Langlois C. Post-partum transfusion: The view of the anaesthetist in a delivery room. *Transfus Clin Biol.* 2019; 26(3): 150–151, doi: 10.1016/j.tracli.2019.06.233, indexed in Pubmed: 31400931.
  34. Kogutt BK, Vaught AJ. Postpartum hemorrhage: Blood product management and massive transfusion. *Semin Perinatol.* 2019; 43(1): 44–50, doi: 10.1053/j.semperi.2018.11.008, indexed in Pubmed: 30527516.
  35. Hernandez JS, Alexander JM, Sarode R, et al. Calculated blood loss in severe obstetric hemorrhage and its relation to body mass index. *Am J Perinatol.* 2012; 29(7): 557–560, doi: 10.1055/s-0032-1310528, indexed in Pubmed: 22495893.
  36. Hytten F. Blood volume changes in normal pregnancy. *Clin Haematol.* 1985; 14(3): 601–612, indexed in Pubmed: 4075604.
  37. Vricella LK, Louis JM, Chien E, et al. Blood volume determination in obese and normal-weight gravidas: the hydroxyethyl starch method. *Am J Obstet Gynecol.* 2015; 213(3): 408.e1–408.e6, doi: 10.1016/j.ajog.2015.05.021, indexed in Pubmed: 25981844.
  38. Kennedy H, Haynes SL, Shelton CL. Maternal body weight and estimated circulating blood volume: a review and practical nonlinear approach. *Br J Anaesth.* 2022; 129(5): 716–725, doi: 10.1016/j.bja.2022.08.011, indexed in Pubmed: 36167682.
  39. Patel A, Goudar SS, Geller SE, et al. Drape estimation vs. visual assessment for estimating postpartum hemorrhage. *Int J Gynaecol Obstet.* 2006; 93(3): 220–224, doi: 10.1016/j.ijgo.2006.02.014, indexed in Pubmed: 16626718.
  40. Gaddipati S, Vercauteren M. Shock. In: Velde M, Scholefield H, Plante L (Eds.). *Maternal critical care: a multidisciplinary approach*. Cambridge University Press, Cambridge 2013: 160–173.
  41. Chauhan M, Gray K, Foley M. Bleeding During Pregnancy. *Obstetric Catastrophes.* 2021; 587–606, doi: 10.1007/978-3-030-70034-8\_46.
  42. Rixen D, Raum M, Bouillon B, et al. Arbeitsgemeinschaft. Base deficit development and its prognostic significance in posttrauma critical illness: an analysis by the trauma registry of the Deutsche Gesellschaft für Unfallchirurgie. *Shock.* 2001; 15(2): 83–89, doi: 10.1097/00024382-200115020-00001, indexed in Pubmed: 11220646.
  43. Vousden N, Nathan HL, Shennan AH. Innovations in vital signs measurement for the detection of hypertension and shock in pregnancy. *Reprod Health.* 2018; 15(Suppl 1): 92, doi: 10.1186/s12978-018-0533-4, indexed in Pubmed: 29945641.
  44. Pacagnella RC, Borovac-Pinheiro A. Assessing and managing hypovolemic shock in puerperal women. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2019; 61: 89–105, doi: 10.1016/j.bpobgyn.2019.05.012, indexed in Pubmed: 31345740.
  45. Carillo AP, Chandrachan E. Postpartum haemorrhage and haematological management. *Obstetrics, Gynaecology & Re-*

- productive Medicine. 2014; 24(10): 291–295, doi: 10.1016/j.ogrm.2014.07.004.
46. Bolliger D, Görlinger K, Tanaka KA. Pathophysiology and treatment of coagulopathy in massive hemorrhage and hemodilution. *Anesthesiology*. 2010; 113(5): 1205–1219, doi: 10.1097/ALN.0b013e3181f22b5a, indexed in Pubmed: 20881594.
  47. Kim JW, Lee YK, Chin JH, et al. Development of a scoring system to predict massive postpartum transfusion in placenta previa totalis. *J Anesth*. 2017; 31(4): 593–600, doi: 10.1007/s00540-017-2365-8, indexed in Pubmed: 28466102.
  48. Long M, Martin J, Biggio, J. Atropine, ondansetron, and ketorolac: supplemental management of amniotic fluid embolism. *Ochsner Journal*. 2022; 22(3): 253–257, doi: 10.31486/toj.21.0107, indexed in Pubmed: 36189093.
  49. Butwick AJ. Postpartum hemorrhage and low fibrinogen levels: the past, present and future. *Int J Obstet Anesth*. 2013; 22(2): 87–91, doi: 10.1016/j.ijoa.2013.01.002, indexed in Pubmed: 23473552.
  50. Cortet M, Deneux-Tharaux C, Dupont C, et al. Association between fibrinogen level and severity of postpartum haemorrhage: secondary analysis of a prospective trial. *Br J Anaesth*. 2012; 108(6): 984–989, doi: 10.1093/bja/aes096, indexed in Pubmed: 22490316.
  51. Huissoud C, Carrabin N, Audibert F, et al. Bedside assessment of fibrinogen level in postpartum haemorrhage by thrombelastometry. *BJOG*. 2009; 116(8): 1097–1102, doi: 10.1111/j.1471-0528.2009.02187.x, indexed in Pubmed: 19459866.
  52. Barbieri RL. Control of massive hemorrhage: Lessons from Iraq reach the US labor and delivery suite *OBG Manag*. 2007 July; 19(7): 8–16.
  53. Goodnough LT, Daniels K, Wong AE, et al. How we treat: transfusion medicine support of obstetric services. *Transfusion*. 2011; 51(12): 2540–2548, doi: 10.1111/j.1537-2995.2011.03152.x, indexed in Pubmed: 21542850.
  54. Ministerstwo Zdrowia, Narodowe Centrum Krwi. Wytyczne w zakresie leczenia krwi i jej składnikami oraz produktami krwiopochodnymi w podmiotach leczniczych wydanie III. *Wojewski Instytut Medyczny, Warszawa*; 2020.
  55. Kilic O, Gultekin Y, Yazici S. The impact of intravenous fluid therapy on acid-base status of critically ill adults: a Stewart approach-based perspective. *Int J Nephrol Renovasc Dis*. 2020; 13: 219–230, doi: 10.2147/IJNRD.S266864, indexed in Pubmed: 33061531.
  56. Malbrain ML, Langer T, Annane D, et al. Intravenous fluid therapy in the perioperative and critical care setting: Executive summary of the International Fluid Academy (IFA). *Ann Intensive Care*. 2020; 10(1): 64, doi: 10.1186/s13613-020-00679-3, indexed in Pubmed: 32449147.
  57. Natrella M, Di Naro E, Loverro M, et al. The more you lose the more you miss: accuracy of postpartum blood loss visual estimation. A systematic review of the literature. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2018; 31(1): 106–115, doi: 10.1080/14767058.2016.1274302, indexed in Pubmed: 28002983.
  58. Getrajdman C, Sison M, Lin HM, et al. The effects of hemodilution on coagulation in term parturients: an study utilizing rotational thromboelastometry. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2022; 35(10): 1969–1977, doi: 10.1080/14767058.2020.1776250, indexed in Pubmed: 32519906.
  59. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2019). Pregnancy-related deaths. Retrieved January 15, 2020, from <https://www.cdc.gov/reproductivehealth/maternalinfanthealth/pregnancy-relatedmortality.htm>.
  60. Püchel J, Sitter M, Kranke P, et al. Procedural techniques to control postpartum hemorrhage. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*. 2022; 36(3-4): 371–382, doi: 10.1016/j.bpa.2022.09.002, indexed in Pubmed: 36513432.
  61. Sultan P, Habib AS, Cho Y, et al. The Effect of patient warming during Caesarean delivery on maternal and neonatal outcomes: a meta-analysis. *Br J Anaesth*. 2015; 115(4): 500–510, doi: 10.1093/bja/aev325, indexed in Pubmed: 26385660.
  62. Shakur H, Elbourne D, Gülmezoglu M, et al. The WOMAN Trial (World Maternal Antifibrinolytic Trial): tranexamic acid for the treatment of postpartum haemorrhage: an international randomised, double blind placebo controlled trial. *Trials*. 2010; 11: 40, doi: 10.1186/1745-6215-11-40, indexed in Pubmed: 20398351.
  63. Muñoz M, Stensballe J, Ducloy-Bouthors AS, et al. Patient blood management in obstetrics: prevention and treatment of postpartum haemorrhage. A NATA consensus statement. *Blood Transfus*. 2019; 17(2): 112–136, doi: 10.2450/2019.0245-18, indexed in Pubmed: 30865585.
  64. Hofer S, Blaha J, Collins PW, et al. Haemostatic support in postpartum haemorrhage: A review of the literature and expert opinion. *Eur J Anaesthesiol*. 2023; 40(1): 29–38, doi: 10.1097/EJA.0000000000001744, indexed in Pubmed: 36131564.
  65. Collins PW, Solomon C, Sutor K, et al. Theoretical modelling of fibrinogen supplementation with therapeutic plasma, cryoprecipitate, or fibrinogen concentrate. *Br J Anaesth*. 2014; 113(4): 585–595, doi: 10.1093/bja/aeu086, indexed in Pubmed: 25064078.
  66. Ahonen J, Stefanovic V, Lassila R. Management of post-partum haemorrhage. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2010; 54(10): 1164–1178, doi: 10.1111/j.1399-6576.2010.02309.x, indexed in Pubmed: 21069897.
  67. Affronti G, Agostini V, Brizzi A, et al. The daily-practiced post-partum hemorrhage management: an Italian multidisciplinary attended protocol. *Clin Ter*. 2017; 168(5): e307–e316, doi: 10.7417/T.2017.2026, indexed in Pubmed: 29044353.
  68. Abdul-Kadir R, McLintock C, Ducloy AS, et al. Evaluation and management of postpartum hemorrhage: consensus from an international expert panel. *Transfusion*. 2014; 54(7): 1756–1768, doi: 10.1111/trf.12550, indexed in Pubmed: 24617726.
  69. Gallos ID, Papadopoulou A, Man R, et al. Uterotonic agents for preventing postpartum haemorrhage: a network meta-analysis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2018; 12(12): CD011689, doi: 10.1002/14651858.CD011689.pub3, indexed in Pubmed: 30569545.
  70. Colucci G, Helsing K, Biasutti FD, et al. Standardized management protocol in severe postpartum hemorrhage: a single-center study. *Clin Appl Thromb Hemost*. 2018; 24(6): 884–893, doi: 10.1177/1076029618758956, indexed in Pubmed: 29669438.
  71. Shaylor R, Weiniger CF, Austin N, et al. National and International Guidelines for Patient Blood Management in Obstetrics: A Qualitative Review. *Anesth Analg*. 2017; 124(1): 216–232, doi: 10.1213/ANE.0000000000001473, indexed in Pubmed: 27557476.
  72. Ducloy-Bouthors AS, Jude B, Duhamel A, et al. EXADELI Study Group. High-dose tranexamic acid reduces blood loss in postpartum haemorrhage. *Crit Care*. 2011; 15(2): R117, doi: 10.1186/cc10143, indexed in Pubmed: 21496253.
  73. Aawar N, Alikhan R, Bruynseels D, et al. Fibrinogen concentrate versus placebo for treatment of postpartum haemorrhage: study



- protocol for a randomised controlled trial. *Trials*. 2015; 16: 169, doi: 10.1186/s13063-015-0670-9, indexed in Pubmed: 25906770.
74. Wikkelsø AJ, Edwards HM, Afshari A, et al. FIB-PPH trial group. Pre-emptive treatment with fibrinogen concentrate for postpartum haemorrhage: randomized controlled trial. *Br J Anaesth*. 2015; 114(4): 623–633, doi: 10.1093/bja/aeu444, indexed in Pubmed: 25586727.
  75. Deleu F, Deneux-Tharoux C, Chiesa-Dubruille C, et al. EPI-MOMS study Group. Fibrinogen concentrate and maternal outcomes in severe postpartum hemorrhage: A population-based cohort study with a propensity score-matched analysis. *J Clin Anesth*. 2022; 81: 110874, doi: 10.1016/j.jclinane.2022.110874, indexed in Pubmed: 35662057.
  76. Vermeulen T, Van de Velde M. The role of fibrinogen in postpartum hemorrhage. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*. 2022; 36(3-4): 399–410, doi: 10.1016/j.bpa.2022.10.002, indexed in Pubmed: 36513434.
  77. Armstrong S, Fernando R, Ashpole K, et al. Assessment of coagulation in the obstetric population using ROTEM® thromboelastometry. *Int J Obstet Anesth*. 2011; 20(4): 293–298, doi: 10.1016/j.ijoa.2011.05.004, indexed in Pubmed: 21835606.
  78. Butwick AJ, Goodnough LT. Transfusion and coagulation management in major obstetric hemorrhage. *Curr Opin Anaesthesiol*. 2015; 28(3): 275–284, doi: 10.1097/ACO.0000000000000180, indexed in Pubmed: 25812005.
  79. Kozek-Langenecker S, Sørensen B, Hess JR, et al. Clinical effectiveness of fresh frozen plasma compared with fibrinogen concentrate: a systematic review. *Crit Care*. 2011; 15(5): R239, doi: 10.1186/cc10488, indexed in Pubmed: 21999308.
  80. DeLoughery E, Avery B, DeLoughery TG. Retrospective study of rFVIIa, 4-factor PCC, and a rFVIIa and 3-factor PCC combination in improving bleeding outcomes in the warfarin and non-warfarin patient. *Am J Hematol*. 2016; 91(7): 705–708, doi: 10.1002/ajh.24384, indexed in Pubmed: 27074566.
  81. Nienaber U, Innerhofer P, Westermann I, et al. The impact of fresh frozen plasma vs coagulation factor concentrates on morbidity and mortality in trauma-associated haemorrhage and massive transfusion. *Injury*. 2011; 42(7): 697–701, doi: 10.1016/j.injury.2010.12.015, indexed in Pubmed: 21392760.
  82. Lumbreras-Marquez M, Vilella-Franyutti D, Reale S, et al. Coagulation management in obstetric anesthesia. *Curr Anesthesiol Rep* 2022; 12(2): 266–276, doi: 10.1007/s40140-022-00517-1.
  83. de Lloyd L, Bovington R, Kaye A, et al. Standard haemostatic tests following major obstetric haemorrhage. *Int J Obstet Anesth*. 2011; 20(2): 135–141, doi: 10.1016/j.ijoa.2010.12.002, indexed in Pubmed: 21439811.
  84. Negrier C. Optimizing on-demand treatment with NovoSeven room temperature stable. *Haemophilia*. 2010; 16 Suppl 3: 35–40, doi: 10.1111/j.1365-2516.2010.02258.x, indexed in Pubmed: 20586800.

# Przywracanie hemostazy w ciężkim krwotoku poporodowym — algorytm 2023

Elżbieta Nowacka 

Oddział Anestezjologii i Intensywnej Terapii, Samodzielny Publiczny Szpital Kliniczny  
im. prof. W. Orłowskiego, Warszawa  
Przewodnicząca Sekcji Płynoterapii i Hemostazy  
Polskiego Towarzystwa Anestezjologii i Intensywnej Terapii

Artykuł jest tłumaczeniem pracy:

Nowacka E. Hemostasis restoring in postpartum hemorrhage — algorithm 2023. *J Trans Med* 2023; 16 (1): 1–11.

DOI: 10.5603/JTM.2023.0001.

Należy cytować wersję pierwotną.

## Streszczenie

*Krwotok poporodowy (PPH) nadal pozostaje najczęstszą przyczyną okołoporodowych zgonów kobiet w wieku rozrodczym. Cechuje się dużą dynamiką, a najwięcej kobiet umiera w ciągu pierwszej doby połogu i aż 88% z nich w pierwszych 4 godzinach od momentu jego wystąpienia. Postępowanie w każdym masywnym krwotoku położniczym powinno być interdyscyplinarne, zespołowe i wielokierunkowe. Należy podkreślić konieczność jednoczesnego stosowania środków uterotonicznych, metod chirurgicznych i/lub wewnątrznaczyniowych oraz postępowania nakierowanego na przywracanie wolemii i hemostazy. Protokół leczenia ciężkiego PPH należy nakierować na daną pacjentkę i uwzględniać etiologię krwotoku. Wymaga to każdorazowo zdefiniowania objętości krwi krążącej, stopnia jej utraty, wdrożenia adekwatnego do utraty postępowania oraz wyznaczenia punktów początkowych, od których rozpoczyna się agresywne leczenie, oraz punktów końcowych, które dają efekt satysfakcjonujący. Najczęstszą przyczyną ciężkiego, zagrażającego życiu PPH, jest atonia macicy. Przywracanie hemostazy w masywnym PPH polega na toczeniu składników krwi, podaży leków hamujących fibrynolizę, koncentratów czynników krzepnięcia, w tym rFVIIa. O przeżyciu pacjentki często decyduje sama świadomość ryzyka wystąpienia krwotoku, wczesne rozpoznanie i szybkie wdrożenie algorytmów leczenia PPH.*

**Słowa kluczowe:** krwotok, masywny krwotok zagrażający życiu, ciężki krwotok poporodowy, masywna transfuzja, hemostaza, rFVIIa

*J. Transf. Med.* 2023; 16: 12–22

Krwotok poporodowy (PPH, *postpartum hemorrhage*) nadal pozostaje najczęstszą przyczyną okołoporodowych zgonów kobiet w wieku rozrodczym [1, 2]. Cechuje się dużą dynamiką, a jego wy-

stąpienie może stanowić zaskoczenie dla zespołu sprawującego opiekę położniczą nad pacjentką. Najwięcej kobiet umiera w ciągu pierwszej doby połogu i aż 88% z nich w pierwszych 4 godzinach

**Adres do korespondencji:** dr n. med. Elżbieta Nowacka, Oddział Anestezjologii i Intensywnej Terapii, Samodzielny Publiczny Szpital Kliniczny im. prof. W. Orłowskiego, ul. Czerniakowska 231, 00–416 Warszawa, tel. 22 584 11 22, e-mail: elzbieta.nowacka@szpital-orlowskiego.pl, mops2506@interia.pl

Artykuł jest dostępny bezpłatnie na podstawie licencji Creative Commons Attribution-Non-Commercial-No Derivatives 4.0 International (CC BY-NC-ND 4.0) umożliwiającej jego pobranie oraz udostępnianie pod warunkiem wskazania autorstwa i wydawcy. Niedopuszczalne jest wprowadzanie jakichkolwiek zmian lub wykorzystanie komercyjne bez zgody wydawcy.

od momentu wystąpienia krwotoku [3]. Prawdopodobnie nawet 90% tych zgonów można by uniknąć poprzez stosowanie ujednoczonych procedur medycznych [4]. Postępowanie w każdym masywnym krwotoku położniczym powinno być interdyscyplinarne, zespołowe i wielokierunkowe. Należy podkreślić konieczność jednoczesnego stosowania środków uterotonicznych, metod chirurgicznych i/lub wewnątrznaczyniowych oraz postępowania nakierowanego na poprawę hemostazy [5]. O przeżyciu pacjentki często decyduje sama świadomość ryzyka wystąpienia krwotoku, wczesne rozpoznanie i szybkie wdrożenie algorytmów leczenia PPH.

Niełatwo jest precyzyjnie zdefiniować PPH, czego dowodem może być występowanie kilku określeń/terminów stosowanych w zależności od przyjętego kryterium [6]. Mnogość definicji jest prawdopodobnie jedną z przyczyn opóźnienia wdrożenia właściwego leczenia. Najpopularniejsza i najbardziej znana formuła to utrata 2000 ml objętości krwi krążącej. Jednak jest to określenie zbyt ogólne i nieprecyzyjne. Z punktu widzenia zmian hemodynamicznych, następstw ogólnoustrojowych i konieczności podjęcia określonych decyzji terapeutycznych bardziej funkcjonalne wydają się pojęcia oceniające szybkość utraty krwi w określonym przedziale czasowym w odniesieniu do aktualnej objętości krwi krążącej u danej pacjentki. Najbardziej rzetelną definicją masywnego PPH jest utrata 20% objętości krwi krążącej, co odpowiada utracie 150 ml/minutę [7]. Aktualne algorytmy postępowania w ciężkim PPH (sPPH, *severe postpartum hemorrhage*) oparte są na fizjologii homeo- i hemostazy ciężarnej/rodzącej oraz na komórkowym modelu układu tworzenia i rozpuszczania skrzepu [8–10].

Organizm matki adaptuje się do rozwijającej się ciąży. Adaptacja dotyczy wielu układów i narządów. Zmienione mechanizmy regulujące homeostazę ustroju ciężarnej na poziomie molekularnym, immunologicznym, hormonalnym i neurogennym oraz funkcja i rola jednostki maciczo-łożyskowej decydują o odpowiedzi ustroju kobiety na bodźce nocyceptywne. W odpowiedzi na krwotok okołoporodowy fundamentalne znaczenie mają adaptacja układu krążenia i układu krzepnięcia oraz zmieniona równowaga w układzie tworzenia skrzepu i fibrynolizy w obrębie łożyska [11].

W terminie porodu liczba płytek krwi w surowicy ciężarnej jest niższa niż w populacji kobiet niebędących w ciąży, co wynika z podprogowego zespołu wykrzepiania wewnątrznaczyniowego (DIC, *disseminated intravascular coagulation*), ograniczonego tylko do naczyń włosowatych łoży-

ska. Ciężarna syntetyzuje 200–500% wszystkich czynników krzepnięcia, z wyjątkiem czynnika XIII (FXIII), który odpowiada za stabilizację powstającego skrzepu [12]. Ocena aktywności FXIII nie jest możliwa za pomocą rutynowych badań: czas częściowej tromboplastyny po aktywacji (APTT, *activated partial thromboplastin time*), czas protrombinowy (PT, *prothrombin time*) i czas trombinowy (TT, *thrombin time*) [13].

W odpowiedzi na uraz naczynia w organizmie rodzącej i położnicy szybko tworzy się skrzep, ale jest on mało stabilny. W testach „przy łóżku chorego” (POC, *point of care*): TEG — tromboelastografia, ROTEM — tromboelastometria) oceniających ogólną fizjologiczną odpowiedź układu tworzenia i rozpuszczania skrzepu, prawidłowy temogram ciężarnej jest nadkrzepliwy. Nadkrzepliwość warunkuje przede wszystkim zwiększone stężenie czynników krzepnięcia, w tym fibrynogenu [14–16].

Fibrynogen odgrywa kluczową rolę we wszystkich etapach hemostazy, zarówno w procesie hemostazy płytkowej, tworzenia skrzepu, jak i fibrynolizy. W ostatnich latach podkreśla się korelację pomiędzy poziomem fibrynogenu oznaczonym u ciężarnej w terminie porodu a możliwością wystąpienia PPH, który może się pojawić u 20–25% pacjentek z poziomem fibrynogenu przekraczającym 4 g/l. U 50% ciężarnych, u których poziom fibrynogenu w terminie porodu oscyluje w granicach normy laboratoryjnej, należy się spodziewać krwotoku, natomiast u wszystkich ciężarnych z poziomem fibrynogenu niższym niż 2 g/l prawdopodobnie rozwinie się PPH [17].

Hemostaza miejsca łożyskowego charakteryzuje się adaptacyjnie zmienioną równowagą pomiędzy TF (czynnik tkankowy) a TFPI (inhibitor czynnika tkankowego) oraz upośledzeniem fibrynolizy [18, 19]. Aktywacja układu krzepnięcia i zwiększona ekspresja TF należą do głównych mechanizmów zabezpieczających rodzącą przed nadmiernymi stratami krwi po oddzieleniu łożyska, a upośledzenie fibrynolizy ułatwia depozycję fibryny i tworzenie skrzepu. Fizjologiczne oddzielenie łożyska wiąże się z jednoczesnym obniżeniem liczby płytek krwi i stężenia czynników krzepnięcia uczestniczących w procesie tworzenia skrzepu [20, 21]. Poziom fibrynogenu ulega obniżeniu nie tylko na skutek jego udziału w procesie formowania skrzepu, ale również z uwagi na jego deponowanie w krwiaku pozałożyskowym. Upośledzenie fibrynolizy ułatwia tworzenie skrzepu, ale występujący u ciężarnych względny niedobór czynnika XIII jest odpowiedzialny za jego mniejszą spójność, stabilność i trwałość. W fizjologicznym krwawieniu, któ-

re pojawia się w prawidłowym porodzie, fibrynoliza jest znacząco upośledzona i przeważa aktywność związana z tworzeniem się skrzepu [22, 23].

Wystąpienie każdego krwotoku w okresie okołoporodowym aktywuje fibryrolizę w obrębie śluzówki macicy i rozpoczyna mechanizm błędnego koła nasilającego utratę krwi [24]. Fibrynoliza w PPH wynika z niedokrwienia endotelium i zwiększonej aktywności tkankowego aktywatora plazminogenu (tPA, *tissue plasminogen activator*) [25]. Dużym problem w opanowaniu PPH jest fibrynoliza w drobnych naczyniach włosowatych [26]. Aktywacja fibrynolizy w początkowym okresie krwotoku może być tylko ograniczona do miejsca pozałożyskowego i często nie można jej stwierdzić systemowo przyłóżkowymi metodami POC, takimi jak tromboelastografia i tromboelastometria (badanie TEG lub badanie ROTEM). Z uwagi na zużycie i depozyt fibrynogeny po fizjologicznym oddzieleniu się łożyska najniższe jego stężenie obserwuje się w pierwszej dobie porodu i u takich pacjentek wystąpienie PPH koreluje z możliwością ciężkiej koagulopatii, afibrynogenemii i krwotokiem zagrażającym życiu, trudnym do opanowania klasycznymi metodami [27]. Fibrynogen należy do białek ostrej fazy i od 72. godziny porodu jego stężenie systematycznie rośnie. Dodatkowo w pierwszych 3 dobach porodu jest upośledzona zdolność płytek krwi do adhezji i agregacji [28].

Postępowanie w ciężkim PPH wiąże się z koniecznością zdefiniowania w rodzącej objętości krwi krążącej, stopnia jej utraty oraz punktów początkowych, od których rozpoczyna się agresywne leczenie, i punktów końcowych takich, które nas satysfakcjonują, oraz wdrożenia adekwatnego postępowania [29–31].

Najczęstszą przyczyną ciężkiego, zagrażającego życiu krwotoku poporodowego jest atonia macicy (70% PPH) [32]. Kluczowym problemem, w warunkach oddziału położniczego, pozostaje zdefiniowanie objętości krwi krążącej [33, 34].

Na opracowanym algorytmie przedstawiono w formie tabelarycznej (tab. 1 i tab. 2) szacunkową objętość i odsetek utraconej objętości krwi u danej pacjentki w zależności od masy ciała i wskaźnika masy ciała (BMI, *body mass index*) [35]. U ciężarnych z prawidłową masą ciała szacowana objętość krwi krążącej to 100 ml/kg mc. [36], natomiast u ciężarnych z BMI > 35 to tylko 73 ml/kg mc. i jest ona zbliżona do szacowanej objętości u pacjentek z prawidłową masą ciała niebędących w ciąży (70 ml/kg mc.) [37]. Kliniczna ocena utraconej objętości krwi krążącej w PPH może być bardzo trudna i zwykle niedoszacowana [38]. Dużym

ryzykiem niedoszacowania obciążone są zarówno kobiety ciężarne z niską masą ciała, jak i kobiety z otyłością.

W codziennej praktyce rutynowo nie wazy się wszystkich materiałów opatrunkowych wykorzystanych w procedurze zabiegowej, a utrata oceniana jest głównie na podstawie liczby użytych serwet operacyjnych. W zależności od stopnia nasączenia standardowej serwety chirurgicznej (45 × 45 cm) przyjmuje się utratę w zakresie 100–300 ml, ale ocena jest bardzo subiektywna. Na przykład mokry gazik o wymiarach 5 × 5 cm to 30 ml utraconej objętości krwi, a gazik 10 × 10 cm to aż 60 ml utraty i ten ubytek zwykle bywa pomijany [39].

W zależności od stopnia utraty i towarzyszących objawów klinicznych wyróżniono cztery kategorie nasilenia hipowolemicznego wstrząsu krwotocznego, co przedstawiono w tabeli 3 [40, 41].

Aktualnie przyjmuje się, iż wykonanie badania równowagi kwasowo-zasadowej (za pomocą analizatora do szybkiej oceny parametrów krytycznych) pozwala tylko na podstawie jednego parametru — niedoboru zasad (BE) ocenić w ciągu minuty stopień nasilenia wstrząsu krwotocznego. Sekwencyjna (co ok. 20 minut) ocena BE pozwala także na monitorowanie krwotoku i może mieć wartość prognostyczną, zwłaszcza że, z uwagi na adaptację układu krążenia do ciąży, parametry stanu ogólnego matki dość długo pozostają prawidłowe, pomimo znacznej utraty krwi [42].

Zarówno skurczowe, jak i rozkurczowe ciśnienie krwi mierzone metodą nieinwazyjną może być prawidłowe u 20–30% pacjentek z utratą powyżej 1500–2000 ml [43]. Punkt krytyczny to utrata 40% objętości krwi krążącej z uwagi na przejście wstrząsu w fazę dekomensacji [44].

Efektom zaburzonego przepływu włócniczekowego, w obrębie mikrokrążenia ważnych życiowo narządów, jest zmniejszone dostarczenie tlenu do tkanek; skutkiem tego jest hipoksja i kwasica metaboliczna oraz przyleganie granulocytów obojętnochłonnych do śródbłonna, zastój krwi, wykrzepianie wewnątrznaczyniowe, niedokrwienie i rozwój niewydolności wielonarządowej, co wiąże się ze złym rokowaniem, a w przypadku przeżycia, z jakością życia. Dlatego ostatnim momentem, w którym należy rozpocząć agresywne leczenie PPH, to utrata 30% objętości krwi krążącej dla danej pacjentki, co w położnictwie nazwano „Regułą trzydziestek” (tab. 4) [45].

W każdym przypadku PPH należy uwzględnić odpowiedź układu krzepnięcia na krwotok w zależności od jego etiologii. W atonii i urazach dróg rodnych koagulopatia jest zależna w równym



Tabela 1. Objętość krwi krążącej i procent utraty w zależności od masy ciała i wartości wskaźnika masy ciała (BMI) < 35

	Masa ciała [kg]																					
	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100	105	110	115	120	125	130	135	140	145	150	
BMI < 35: Objętość krwi 100 ml/kg [ml]	5000	5500	6000	6500	7000	7500	8000	8500	9000	9500	10 000											
20% utraty [ml]	1000	1100	1200	1300	1400	1500	1600	1700	1800	1900	2000											
30% utraty [ml]	1500	1650	1800	1950	2100	2250	2400	2550	2700	2850	3000											
40% utraty [ml]	2000	2200	2400	2600	2800	3000	3200	3400	3600	3800	4000											

Tabela 2. Objętość krwi krążącej i procent utraty w zależności od masy ciała i wartości wskaźnika masy ciała (BMI) > 35

	Masa ciała [kg]																				
	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100	105	110	115	120	125	130	135	140	145	150
BMI > 35: Objętość krwi 73 ml/kg [ml]							5840	6205	6570	6935	7300	7665	8030	8395	8760	9125	9490	9855	10 220	10 585	10 950
20% utraty [ml]							1168	1241	1314	1387	1460	1533	1606	1679	1752	1825	1898	1971	2044	2117	2190
30% utraty [ml]							1753	1861	1971	2080	2190	2299	2409	2518	2628	2737	2847	2956	3066	3176	3285
40% utraty [ml]							2336	2482	2628	2774	2920	3066	3212	3358	3504	3650	3796	3942	4088	4234	4380

Tabela 3. Cztery kategorie nasilenia hipowolemicznego wstrząsu krwotocznego w zależności od stopnia utraty krwi i towarzyszących temu objawom klinicznym

Kategoria/ nasilenie wstrząsu	% utraty	Objętość krewi [ml]	Tachykardia [μ/min]	SBP/DPB	SI = HR/ /SBP	Niedobór zasad	Objawy	Leczenie prohemostatyczne	
								Kwas traneksamowy	Kwas traneksamowy
I/Wyrównany	10–15	500–1000	100/min	Norma	0,9–1,0	≤ 2		Kwas traneksamowy	Kwas traneksamowy
II/Nieznaczny	15–20	1200–1500	< 120/min	SBP — norma DBP ↓	1,0	-2 do -6	Wazokonstrykcja obwodowa Opóźniony powrót włośniczkowy > 2 s Tętno słabo napięte Zmniejszona diureza	Kwas traneksamowy	KKcz traneksamowy
III/Średni	25–35	1600–2200	> 120/min	SBP ↓ 70–80 mmHg	1,0–1,4	-6 do -10	Blade powłoki Pobudzenie Nitkowate tętno Tachypnoe Oliguria	Kwas traneksamowy Fibrynogen Calcium Noradrenalina	KKcz/FFP/ /KRIO/ /rFV/IIa PCC
IV/Ciężki	35–45	> 2500	> 140/min	SBP ↓ ↓ 50–70 mmHg	> 1,5	≥ 10	Sennaść Szare powłoki Brak powrotu włośniczkowego Anuria	Kwas traneksamowy Fibrynogen Calcium Noradrenalina	KKcz/FFP/ /KRIO/ /rFV/IIa PCC

DBP (diastolic blood pressure) — rozkurczowe ciśnienie tętnicze; FFP (fresh frozen plasma) — osocze świeżo mrożone; HR (heart rate) — czynność serca; KKcz — koncentrat krwinek czerwonych; KRIO — krioprecypitat; PCC (prothrombin complex concentrates) — koncentrat czynników zespołu protrombiny; rFVIIa (recombinant activated factor VII) — aktywowany rekombinowany VII czynnik krzepnięcia; SBP (systolic blood pressure) — skurczowe ciśnienie tętnicze; SI (shock index) — indeks wstrząsu = HR/SBP

**Tabela 4.** Reguła „trzydziestek” pozwalająca na szacunkową ocenę utraty krwi o 30% na podstawie zmiany wybranych parametrów o 30 (w odpowiadających jednostkach)

Reguła „30”
Obniżenie ciśnienia skurczowego o 30%
Przyspieszenie czynności serca o 30%
Zwiększenie liczby oddechów o 30%
Obniżenie stężenia hemoglobiny (HGB) i hematokrytu (HT) o 30%
Ograniczenie diurezy poniżej 30 ml/h

stopniu od zużycia czynników krzepnięcia i hemodylucji [46], natomiast przedwczesne oddzielenie łożyska prawidłowo usadowionego jest wyraźnym przykładem zużycia fibrynogenu aż do afibrinogenemii włącznie [47]. Zator płynem owodniowym to koagulopatia wynikająca z utraty i biodegradacji czynników krzepnięcia oraz zespołu wykrzepiania wewnątrznaczyniowego. Atonia macicy w trakcie cesarskiego cięcia może być także nietypową postacią zatoru płynem owodniowym i wymaga wdrożenia algorytmu AOK (ATROPINA–ONDA–SETRON–KETONAL), aby zahamować przejście fazy płucnej w następną (sercową, koagulopatii) [48]. Wykazano, że każdy PPH to przede wszystkim zużycie fibrynogenu [49]. Występuje liniowa zależność pomiędzy stopniem utraty objętości krwi krążącej a stężeniem fibrynogenu, czego nie zaobserwowano w przypadku poziomu hemoglobiny i rutynowych badań układu krzepnięcia [50, 51].

Postępowanie w ciężkim PPH to działanie wielospecjalistyczne, które jest prowadzone jednocześnie. Leczenie pacjentki z ciężkim PPH nie opiera się na wiedzy i umiejętnościach pojedynczego lekarza, ale na licznych zespołach osób ciężko pracujących i współpracujących. Masywny PPH to zawsze masywna transfuzja oraz resuscytacja objętości i resuscytacja hemostazy. Implementacja algorytmu Holocomba (stosunek koncentratu krwinek czerwonych (KKCz) do osocza świeżo mrożonego (FFP, *fresh frozen plasma*) – KKCz : FFP – 1:1) bardzo dobrze sprawdza się w położnictwie i od czasu wprowadzenia znacząco poprawił rokowanie w ciężkim, zagrażającym życiu PPH [52].

Rekomendowane wstępne postępowanie obejmuje możliwie szybkie wstępne zamówienie 4 j. KKCz, 4 j. FFP i 4 j. KRIO (krioprecypitat). Jeśli krwawienie trwa nadal i/lub nasila się, w następnym etapie należy zamówić kolejne 4 j. KKCz, 4 j. FFP, 4 j. KRIO i 1 j. KKP (koncentrat krwinek płytkowych, zlewany lub z aferezy; dawka terapeutyczna). Jeśli od samego początku zamawiamy

powyżej 5 j. KKCz, to od razu zamawiamy także KKP w stosunku stechiometrycznym [53]. Należy pamiętać, że zamówienie składników krwi nawet w ośrodkach, które w lokalizacji mają własny Bank Krwi, wiąże się z koniecznością rozmrożenia FFP i krioprecypitatu, co opóźnia o około 30–40 minut możliwość ich przetoczenia [54]. Istnieje procedura bezzwłocznego pozyskania KKCz do szybkiej transfuzji bez próby zgodności, ale podaż erytrocytów nie wpływa na poprawę hemostazy.

Zawsze powinno się zabezpieczyć przynajmniej dwa duże dojsścia obwodowe i rozpocząć płynoterapię zbilansowanymi krystaloidami z uwzględnieniem różnicy silnych jonów (SID) [55] w algorytmie ROSE (resuscytacja–optymalizacja–stabilizacja–eliminacja) w celu przywrócenia wolemii [56]. W trakcie infuzji, w hipowolemicznym wstrząsie krwotocznym, krystaloidy pozostają w świetle naczyń i zachowują się jak koloidy. Po zakończeniu wlewu w 60–70% opuszczają łożysko naczyniowe. Dodatkowo należy włączyć stabilizację łożyska naczyniowego wlewu katecholamin (noradrenalina) tak, aby do czasu opanowania chirurgicznej przyczyny krwawienia utrzymywać permissywną hipotensję ze średnim ciśnieniem tętniczym (MAP, *mean arterial pressure*) nieprzekraczającym 65 mmHg [57]. Agresywne postępowanie w celu poprawy wolemii często jest przyczyną jatrogennej koagulopatii z rozcieńczenia [58]. Ponadto narastająca kwasica i wychłodzenie pogarszają warunki powstawania skrzepu. Matka umiera najczęściej z powodu zaburzeń hemostazy i wolemii, nie zaś z powodu nieprawidłowego stężenia hemoglobiny [59].

Jednym z najważniejszych członków zespołu operującego jest czynnik „czternasty” — sprawny i doświadczony położnik (perinatolog), któremu nie obce są chirurgiczne techniki opanowywania krwawienia [60].

Jednocześnie zespół anestezyjologiczny stara się utrzymać prawidłową ciepłotę ciała (normotermia) i zapobiegać kwasicy [61]. Kluczowe znaczenie ma zahamowanie fibrynolizy przy zastosowaniu kwasu traneksamowego (TXA, *tranexamic acid*), który należy podać dożylnie, najszybciej jak to tylko możliwe, w dawce 20 mg/kg mc., najczęściej 1 g [62–64]. Kolejny etap to substytucja fibrynogenu w formie koncentratu w dawce 2–4 g lub krioprecypitatu (2 j./10 kg mc.) [65]. W ośrodkach, które nie mają własnego Banku Krwi, ratunkowo w terapii pomostowej w oczekiwaniu na składniki krwi można zastosować koncentrat czynników zespołu protrombiny (PCC, *prothrombin complex concentrates*) w dawce 500–1000 j. [66].

W kwietniu 2022 roku Europejska Agencja Leków (EMA, *European Medicines Agency*) zarejestrowała stosowanie aktywowanego rekombinowanego VII czynnika krzepnięcia (rFVIIa, *recombinant activated factor VII*) w ciężkim krwotoku poporodowym [67, 68]. Lek należy użyć dożylnie w sytuacji nieadekwatnego działania środków uterotonicznych i nasilającego się krwawienia niedającego się opanować postępowaniem konwencjonalnym oraz prawdopodobnej konieczności eskalacji działań zabiegowych w celu ratowania życia pacjentki [69]. To postępowanie zostało przedstawione jako pierwszy punkt zdefiniowanej podaży rFVIIa (1 rFVIIa) w algorytmie przywracania hemostazy w krwotoku położniczym (ryc. 1) [70].

Z uwagi na fizjologicznie wysoki poziom fibrynogenu i innych czynników krzepnięcia u ciężarnej, nawet przy szybkiej utracie 20–30% objętości krwi krążącej, przy odpowiednio wczesnym podaniu rekomendowanej dawki leku, zapewnione są hemostatyczne warunki działania rFVIIa, a u pacjentki nie zdąży się rozwinąć kwasica i nie występuje hipotermia. Rutynowo zaleca się dawkę 60–90  $\mu\text{g}/\text{kg}$  mc. z możliwością jej powtórzenia po 30 minutach [71]. Dawkowanie rFVIIa w zależności od masy ciała przedstawiono w tabeli 5.

Na podstawie wykonanych badań globalnej oceny tworzenia skrzepu (TEG, ROTEM) wykazano duże bezpieczeństwo jednorazowego zastosowania nawet do 4 g TXA w PPH. Kwas traneksamowy zmniejsza o 50% utratę krwi i konieczność transfuzji [72].

W każdym przypadku PPH należy suplementować fibrynogen; 1 g koncentratu fibrynogenu podnosi stężenie fibrynogenu w osoczu pacjentki o 0,3 g/dl [73–76]. W Polsce głównym źródłem fibrynogenu jest krioprecypitat, który zawiera, poza pierwszym czynnikiem krzepnięcia, dodatkowo czynnik FXIII, FVIII oraz czynnik VWF.

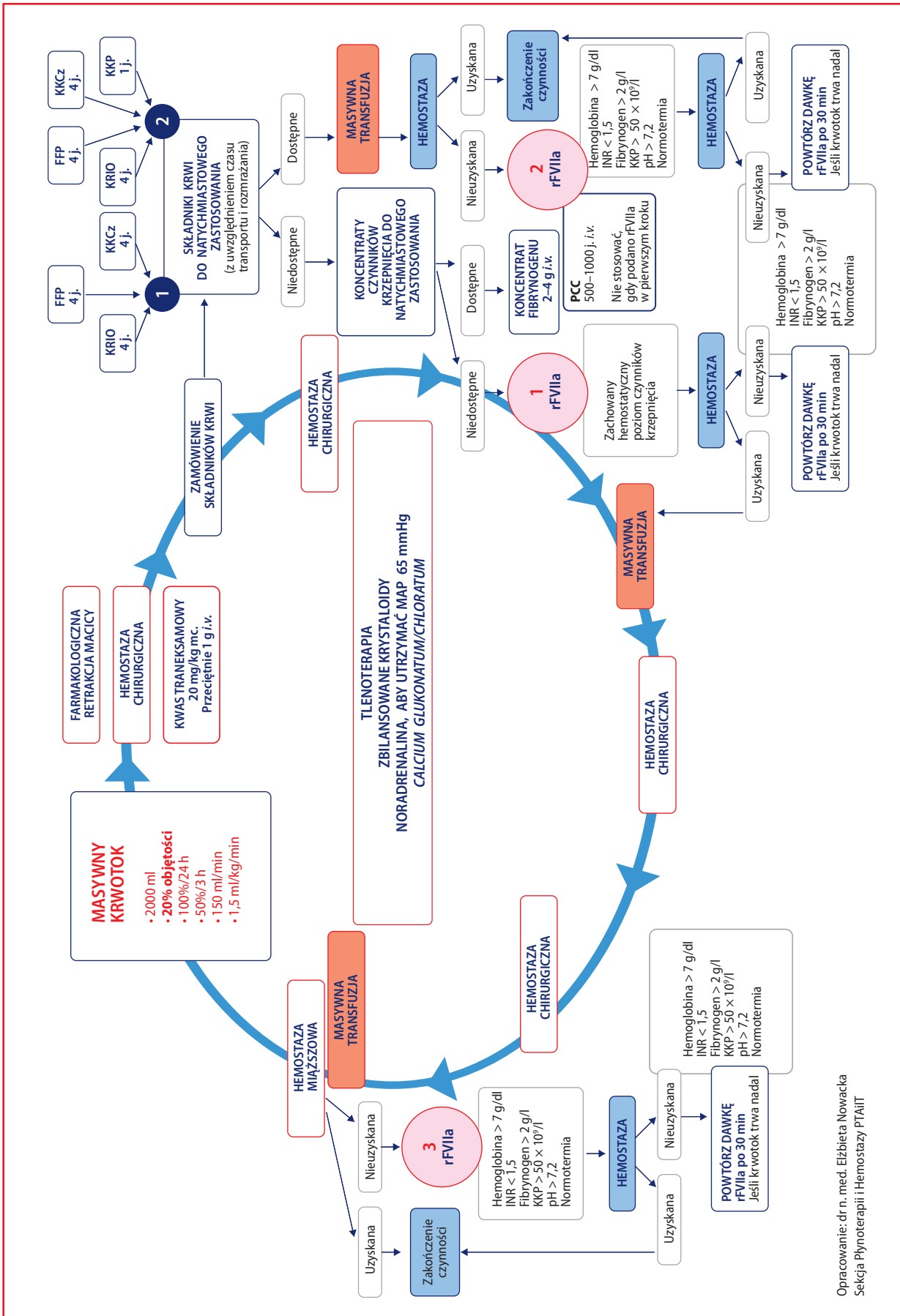
Transfuzja krioprecypitatu jest niezbędna z uwagi na niedobór u kobiet ciężarnych czynnika XIII, który stabilizuje skrzep [77, 78]. Tylko podaż koncentratu fibrynogenu i/lub krioprecypitatu podnosi poziom fibrynogenu w osoczu do poziomu hemostatycznego (poziom hemostatyczny u krwawiącej pacjentki wynosi 2,5–3 d/l) [65], natomiast transfuzja FFP często rozcieńcza endogenne fibrynogen. Aby uzupełnić poziom czynników krzepnięcia do wartości hemostatycznych, należy podać osocze w dawce 30 ml/kg mc., ponieważ rutynowa podaż FFP w dawce 10–15 ml/kg mc. nie zapewnia ich hemostatycznych poziomów [79]. Zastosowanie

dożylnie PCC w dawce 500–1000 j. jest skuteczniejsze niż ekwiwalentne dawki FFP [80, 81]. Jeśli zastosowano rFVIIa w pierwszym punkcie zdefiniowanej podaży przez EMA, nie wolno podawać PCC z uwagi na podwyższone ryzyko powikłań zakrzepowo-zatorowych.

W przypadku postępowania w PPH zgodnie z algorytmem przywracania hemostazy (podanie TXA, koncentratu fibrynogenu/krioprecypitat, PCC) z następową masywną transfuzją (KKCz:FFP — 1:1, krioprecypitat 2 j./10 kg/mc., KKP — koncentrat krwinek płytkowych), utrzymaniem prawidłowego osoczonego poziomu wapnia zjonizowanego, pod warunkiem że u pacjentki nie występuje kwasica, temperatura ciała nie jest obniżona (hipotermia), a stężenie hemoglobiny wynosi powyżej 7 g/dl, fibrynogenu > 2 g/l, liczba płytek krwi >  $50 \times 10^9/\text{l}$ , wobec braku zadowalającej hemostazy i/lub krwawienia miąższowego niedającego się opanować i/lub zjawiska „ongoing”, należy rozważyć podanie rFVIIa według punktu drugiego algorytmu przywracania hemostazy (2 rFVIIa) [82].

W sytuacji trwającego zabiegu operacyjnego i utrzymującego się krwawienia po 30 minutach od pierwszej dawki można podać kolejną dawkę rFVIIa, pod warunkiem skutecznego działania leku. W wyjątkowych sytuacjach, jeśli pomimo wdrażanych działań chirurgicznych nie uzyskano hemostazy miąższowej, można rozważyć podanie dwóch dawek rFVIIa w odstępach 30-minutowych w warunkach zapewniających skuteczne działanie leku (stężenie fibrynogenu > 2 g/l, liczba płytek krwi powyżej  $50 \times 10^9/\text{l}$ , pH > 7,2) według punktu trzeciego algorytmu ratowania hemostazy (3 rFVIIa) [83, 84].

Działania medyczne w ciężkim, zagrażającym życiu PPH, zgodne z zaprezentowanym algorytmem wsparcia hemostazy, znacząco zmniejszają ryzyko zgonu matek w okresie okołoporodowym, poprawiają rokowanie i pozwalają na zachowanie płodności. Zasadniczą rolę odgrywa stałe uaktualnianie wiedzy oraz podnoszenie kwalifikacji wszystkich zespołów biorących udział w procesie leczenia PPH. Optymalizacja postępowania, przygotowanie, racjonalne wykorzystanie zasobów i protokolowanie działań przyczyniają się do poprawy wyników i rokowania u pacjentek z krwotokiem poporodowym.



Opracowanie: dr n. med. Elżbieta Nowacka  
 Sekcja Płynoterapii i Hemostazy PTAiIT

**Rycina 1.** Postępowanie anesteziologiczno-polożnicze w sytuacji wystąpienia ciężkiego krwotoku poporodowego — algorytm przywracania hemostazy w krwotoku polożniczym 2023  
 FFP (*fresh frozen plasma*) — osocze świeżo mrożone; INR (*international normalized ratio*) — międzynarodowy współczynnik znormalizowany; KKcz — koncentrat krwinek płytkowych; KRIO — krioprecypitat; MAP (*mean arterial pressure*) — średnie ciśnienie tętnicze; PCC (*prothrombin complex concentrates*) — koncentrat czynników zespołu protrombiny; rFVIIa (*recombinant activated factor VII*) — aktywowany rekombinowany VII czynnik krzepnięcia



**Tabela 5.** Dawkowanie aktywowanego rekombinowanego VII czynnika krzepnięcia (rFVIIa) w ciężkim krwotoku poporodowym (sPPH) w zależności od masy ciała i dostępnych fiolek/opakowań

Masa ciała [kg]	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100	105	110	115	120	125	130	135	140	145	150	
Ilość mg przy dawce 60 µg/kg mc.	3	3,3	3,6	3,9	4,2	4,5	4,8	5,1	5,4	5,7	6	6,3	6,6	6,9	7,2	7,5	7,8	8,1	8,4	8,7	9	
Liczba fiolek potrzebnych do przygotowania pojedynczej dawki	1 x 1 mg + 1 x 2 mg	2 x 2 mg	2 x 2 mg	2 x 2 mg	1 x 5 mg	1 x 5 mg	1 x 5 mg	1 x 5 mg + 1 x 1 mg	1 x 5 mg + 1 x 1 mg	1 x 5 mg + 1 x 1 mg	1 x 5 mg + 1 x 1 mg	1 x 5 mg + 1 x 2 mg	1 x 5 mg + 1 x 2 mg	1 x 5 mg + 1 x 2 mg	1 x 8 mg	1 x 8 mg	1 x 8 mg	1 x 8 mg + 1 x 1 mg	1 x 8 mg + 1 x 1 mg	1 x 8 mg + 1 x 1 mg	1 x 8 mg + 1 x 1 mg	
Ilość mg przy dawce 90 µg/kg mc.	4,5	4,95	5,4	5,85	6,3	6,75	7,2	7,65	8,1	8,55	9	9,45	9,9	10,35	10,8	11,25	11,7	12,15	12,6	13,05	13,5	
Liczba fiolek potrzebnych do przygotowania pojedynczej dawki	1 x 5 mg	1 x 5 mg	1 x 5 mg + 1 x 1 mg	1 x 5 mg + 1 x 1 mg	1 x 5 mg + 1 x 2 mg	1 x 5 mg + 1 x 2 mg	1 x 8 mg	1 x 8 mg	1 x 8 mg + 1 x 1 mg	1 x 8 mg + 1 x 1 mg	1 x 8 mg + 1 x 1 mg	1 x 8 mg + 1 x 2 mg	1 x 8 mg + 1 x 2 mg	1 x 8 mg + 1 x 2 mg	1 x 8 mg + 1 x 2 mg	1 x 8 mg + 2 x 2 mg	1 x 8 mg + 2 x 2 mg	1 x 8 mg + 1 x 5 mg	1 x 8 mg + 1 x 5 mg	1 x 8 mg + 1 x 5 mg	1 x 8 mg + 1 x 5 mg	
Dawka średnia (w zaokrągleniu)	4	4	5	5	5	6	6	6	7	7	8	8	8	9	9	9	10	10	11	11	11	
Liczba fiolek potrzebnych do przygotowania pojedynczej dawki średniej	2 x 2 mg lub 1 x 5 mg	2 x 2 mg lub 1 x 5 mg	1 x 5 mg	1 x 5 mg	1 x 5 mg	1 x 5 mg + 1 x 2 mg*	1 x 5 mg + 1 x 2 mg*	1 x 5 mg + 1 x 2 mg*	1 x 5 mg + 1 x 2 mg	1 x 5 mg + 1 x 2 mg	1 x 5 mg + 1 x 2 mg	1 x 8 mg + 1 x 2 mg	1 x 8 mg + 1 x 2 mg*	1 x 8 mg + 1 x 2 mg*	1 x 8 mg + 1 x 2 mg*	1 x 8 mg + 1 x 2 mg*	1 x 8 mg + 1 x 2 mg*	1 x 8 mg + 1 x 2 mg	1 x 8 mg + 1 x 2 mg	1 x 8 mg + 2 x 2 mg**	1 x 8 mg + 2 x 2 mg**	
Optymalna liczba fiolek na zabezpieczenie oddziały w dwie dawki dla pacjentek o masie ciała 50-150 kg	*Po rozpuszczeniu można podać 1 mg, a pozostałą część leku przechowywać w fiolce przez 6 godzin w temperaturze do 25°C i zużyć przy dawce powtórnej z drugą fiolką 5 mg											+ 2 x 8 mg										
	2 x 2 mg + 2 x 5 mg											**Po rozpuszczeniu można podać 3 mg, a pozostałą część leku przechowywać w fiolce przez 6 godzin w temperaturze do 25°C i zużyć przy dawce powtórnej z drugą fiolką 8 mg, uzyskując wysokość dawki minimalnej										
	Ampuikostrykawka z rozpuszczalnikiem dla dawki 5 mg i 8 mg ma pojemność 10 ml, co pozwala na połączenie rozpuszczonych dawek dla pacjentek o masie ciała 60-135 kg w jednej ampuikostrykawce																					

rFVIIa (recombinant activated factor VII) — aktywowany rekombinowany VII czynnik krzepnięcia; sPPH (severe postpartum hemorrhage) — ciężki krwotok poporodowy

**Konflikt interesów:** nie zgłoszono

## Piśmiennictwo





- Say L, Chou D, Gemmill A, et al. Global causes of maternal death: a WHO systematic analysis. *Lancet Glob Health*. 2014; 2(6): e323–e333, doi: 10.1016/S2214-109X(14)70227-X, indexed in Pubmed: 25103301.
- World Health Organization. Trends in maternal mortality 2000 to 2017: estimates by WHO, UNICEF, UNFPA, World Bank Group and the United Nations Population Division 2019, Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/327596>.
- WHO. Maternal mortality: key facts. 2018. <http://www.who.int/en/news-room/factsheets/detail/maternal-mortality> (accessed Dec 12, 2022).
- Diguisto C, Saucedo M, Kallianidis A, et al. BÅdker B, Buoncristiano M. Maternal mortality in eight European countries with enhanced surveillance systems: descriptive population based study. *BMJ* 2022: 379.
- Bohren MA, Lorencatto F, Coomarasamy A, et al. Formative research to design an implementation strategy for a postpartum hemorrhage initial response treatment bundle (E-MOTIVE): study protocol. *Reprod Health*. 2021; 18(1): 149, doi: 10.1186/s12978-021-01162-3, indexed in Pubmed: 34261508.
- Bienstock JL, Eke AC, Hueppchen NA, et al. Postpartum hemorrhage. *N Engl J Med*. 2021; 384(17): 1635–1645, doi: 10.1056/NEJMr1513247, indexed in Pubmed: 33913640.
- Shah A, Kerner V, Stanworth SJ, et al. Major haemorrhage: past, present and future. *Anaesthesia*. 2023; 78(1): 93–104, doi: 10.1111/anae.15866, indexed in Pubmed: 36089857.
- Llau JV, Acosta FJ, Escolar G, et al. Multidisciplinary consensus document on the management of massive haemorrhage (HEMOMAS document). *Med Intensiva*. 2015; 39(8): 483–504, doi: 10.1016/j.medin.2015.05.002, indexed in Pubmed: 26233588.
- Kogutt BK, Vaught AJ. Postpartum hemorrhage: Blood product management and massive transfusion. *Semin Perinatol*. 2019; 43(1): 44–50, doi: 10.1053/j.semperi.2018.11.008, indexed in Pubmed: 30527516.
- Collis RE, Collins PW. Haemostatic management of obstetric haemorrhage. *Anaesthesia*. 2015; 70: 78–86, doi: 10.1111/anae.12913, indexed in Pubmed: 25440400.
- Greer O, Shah N, Johnson M. Maternal sepsis update: current management and controversies. *Obstet Gynaecol*. 2019; 22(1): 45–55, doi: 10.1111/tog.12623.
- Coopland A, Alkjaersig N, Fletcher AP. Reduction in plasma factor 13 (fibrin stabilizing factor) concentration during pregnancy. *J Lab Clin Med*. 1969; 73(1): 144–153, indexed in Pubmed: 5762158.
- Bedson R, Riccoboni A. Physiology of pregnancy: clinical anaesthetic implications. *Continuing Education in Anaesthesia Critical Care & Pain*. 2014; 14(2): 69–72, doi: 10.1093/bjaceaccp/mkt036.
- Ramler P, Gillissen A, Henriquez D, et al. Clinical value of early viscoelastometric point-of-care testing during postpartum hemorrhage for the prediction of severity of bleeding: A multicenter prospective cohort study in the Netherlands. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2021; 100(9): 1656–1664, doi: 10.1111/aogs.14172, indexed in Pubmed: 33999407.
- Gillissen A, van den Akker T, Caram-Deelder C, et al. Comparison of thromboelastometry by ROTEM Delta and ROTEM Sigma in women with postpartum haemorrhage. *Scand J Clin Lab Invest*. 2019; 79(1-2): 32–38, doi: 10.1080/00365513.2019.1571220, indexed in Pubmed: 30727759.
- Liew-Spilger AE, Sorg NR, Brenner TJ, et al. Viscoelastic hemostatic assays for postpartum hemorrhage. *J Clin Med*. 2021; 10(17), doi: 10.3390/jcm10173946, indexed in Pubmed: 34501395.
- Charbit B, Mandelbrot L, Samain E, et al. PPH Study Group. The decrease of fibrinogen is an early predictor of the severity of postpartum hemorrhage. *J Thromb Haemost*. 2007; 5(2): 266–273, doi: 10.1111/j.1538-7836.2007.02297.x, indexed in Pubmed: 17087729.
- Aharon A, et al. Tissue factor and tissue factor pathway inhibitor levels in trophoblast cells: implications for placental hemostasis. *Thromb Haemost*. 2004; 92(4): 776–786, doi: 10.1160/TH04-01-0033, indexed in Pubmed: 15467908.
- Dusse LM, Carvalho Md, Cooper AJ, et al. Tissue factor and tissue factor pathway inhibitor: a potential role in pregnancy and obstetric vascular complications? *Clin Chim Acta*. 2006; 372(1-2): 43–46, doi: 10.1016/j.cca.2006.03.025, indexed in Pubmed: 16713593.
- Bremme KA. Haemostatic changes in pregnancy. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2003; 16(2): 153–168, doi: 10.1016/s1521-6926(03)00021-5, indexed in Pubmed: 12763484.
- Anderson CA, Avery MD. Anatomy and physiology during labor and birth. In: King TL, Brucker MC, Osborne K, Jevitt CM, eds. *Varney's Midwifery*. 6th ed. Burlington, MA: Jones & Bartlett Learning, LLC; 2019: 861–880.
- Fu M, Liu J, Xing J, et al. Reference intervals for coagulation parameters in non-pregnant and pregnant women. *Sci Rep*. 2022; 12(1): 1519, doi: 10.1038/s41598-022-05429-y, indexed in Pubmed: 35087162.
- Chapin JC, Hajjar KA. Fibrinolysis and the control of blood coagulation. *Blood Rev*. 2015; 29(1): 17–24, doi: 10.1016/j.blre.2014.09.003, indexed in Pubmed: 25294122.
- Collins PW, Lilley G, Bruynseels D, et al. Fibrin-based clot formation as an early and rapid biomarker for progression of postpartum hemorrhage: a prospective study. *Blood*. 2014; 124(11): 1727–1736, doi: 10.1182/blood-2014-04-567891, indexed in Pubmed: 25024304.
- Huissoud C, Carrabin N, Benchaib M, et al. Coagulation assessment by rotation thrombelastometry in normal pregnancy. *Thromb Haemost*. 2009; 101(4): 755–761, indexed in Pubmed: 19350122.
- Moore HB, Moore EE, Morton AP, et al. Shock-induced systemic hyperfibrinolysis is attenuated by plasma-first resuscitation. *J Trauma Acute Care Surg*. 2015; 79(6): 897–903; discussion 903, doi: 10.1097/TA.0000000000000792, indexed in Pubmed: 26680132.
- Erez O. Disseminated intravascular coagulation in pregnancy — Clinical phenotypes and diagnostic scores. *Thromb Res*. 2017; 151 Suppl 1: S56–S60, doi: 10.1016/S0049-3848(17)30069-5, indexed in Pubmed: 28262236.
- Valera MC, Parant O, Vayssiere C, et al. Physiologic and pathologic changes of platelets in pregnancy. *Platelets*. 2010; 21(8): 587–595, doi: 10.3109/09537104.2010.509828, indexed in Pubmed: 20873962.
- Bose P, Regan F, Paterson-Brown S. Improving the accuracy of estimated blood loss at obstetric haemorrhage using clinical reconstructions. *BJOG*. 2006; 113(8): 919–924, doi: 10.1111/j.1471-0528.2006.01018.x, indexed in Pubmed: 16907938.

30. Dildy GA, Paine AR, George NC, et al. Estimating blood loss: can teaching significantly improve visual estimation? *Obstet Gynecol.* 2004; 104(3): 601–606, doi: 10.1097/01.AOG.0000137873.07820.34, indexed in Pubmed: 15339775.
31. Lertbunnaphong T, Laphthanapat N, Leetheeragul J, et al. Postpartum blood loss: visual estimation versus objective quantification with a novel birthing drape. *Singapore Med J.* 2016; 57(6): 325–328, doi: 10.11622/smedj.2016107, indexed in Pubmed: 27353510.
32. Nyfløt L, Sandven I, Stray-Pedersen B, et al. Risk factors for severe postpartum hemorrhage: a case-control study. *BMC Pregnancy and Childbirth.* 2017; 17(1), doi: 10.1186/s12884-016-1217-0, indexed in Pubmed: 28068990.
33. Langlois C. Post-partum transfusion: The view of the anaesthetist in a delivery room. *Transfus Clin Biol.* 2019; 26(3): 150–151, doi: 10.1016/j.traci.2019.06.233, indexed in Pubmed: 31400931.
34. Kogutt BK, Vaught AJ. Postpartum hemorrhage: Blood product management and massive transfusion. *Semin Perinatol.* 2019; 43(1): 44–50, doi: 10.1053/j.semperi.2018.11.008, indexed in Pubmed: 30527516.
35. Hernandez JS, Alexander JM, Sarode R, et al. Calculated blood loss in severe obstetric hemorrhage and its relation to body mass index. *Am J Perinatol.* 2012; 29(7): 557–560, doi: 10.1055/s-0032-1310528, indexed in Pubmed: 22495893.
36. Hytten F. Blood volume changes in normal pregnancy. *Clin Haematol.* 1985; 14(3): 601–612, indexed in Pubmed: 4075604.
37. Vricella LK, Louis JM, Chien E, et al. Blood volume determination in obese and normal-weight gravidas: the hydroxyethyl starch method. *Am J Obstet Gynecol.* 2015; 213(3): 408.e1–408.e6, doi: 10.1016/j.ajog.2015.05.021, indexed in Pubmed: 25981844.
38. Kennedy H, Haynes SL, Shelton CL. Maternal body weight and estimated circulating blood volume: a review and practical nonlinear approach. *Br J Anaesth.* 2022; 129(5): 716–725, doi: 10.1016/j.bja.2022.08.011, indexed in Pubmed: 36167682.
39. Patel A, Goudar SS, Geller SE, et al. Drape estimation vs. visual assessment for estimating postpartum hemorrhage. *Int J Gynaecol Obstet.* 2006; 93(3): 220–224, doi: 10.1016/j.ijgo.2006.02.014, indexed in Pubmed: 16626718.
40. Gaddipati S, Vercauteren M. Shock. In Velde M, Scholefield H, Plante L (Eds.). *Maternal critical care: a multidisciplinary approach.* Cambridge University Press, Cambridge 2013: 160–173.
41. Chauhan M, Gray K, Foley M. Bleeding During Pregnancy. *Obstetric Catastrophes.* 2021; 587–606, doi: 10.1007/978-3-030-70034-8\_46.
42. Rixen D, Raum M, Bouillon B, et al. Arbeitsgemeinschaft. Base deficit development and its prognostic significance in posttrauma critical illness: an analysis by the trauma registry of the Deutsche Gesellschaft für Unfallchirurgie. *Shock.* 2001; 15(2): 83–89, doi: 10.1097/00024382-200115020-00001, indexed in Pubmed: 11220646.
43. Vousden N, Nathan HL, Shennan AH. Innovations in vital signs measurement for the detection of hypertension and shock in pregnancy. *Reprod Health.* 2018; 15(Suppl 1): 92, doi: 10.1186/s12978-018-0533-4, indexed in Pubmed: 29945641.
44. Pacagnella RC, Borovac-Pinheiro A. Assessing and managing hypovolemic shock in puerperal women. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2019; 61: 89–105, doi: 10.1016/j.bpobgyn.2019.05.012, indexed in Pubmed: 31345740.
45. Carillo AP, Chandrharan E. Postpartum haemorrhage and haematological management. *Obstetrics, Gynaecology & Reproductive Medicine.* 2014; 24(10): 291–295, doi: 10.1016/j.ogrm.2014.07.004.
46. Bolliger D, Görlinger K, Tanaka KA. Pathophysiology and treatment of coagulopathy in massive hemorrhage and hemodilution. *Anesthesiology.* 2010; 113(5): 1205–1219, doi: 10.1097/ALN.0b013e3181f22b5a, indexed in Pubmed: 20881594.
47. Kim JW, Lee YK, Chin JH, et al. Development of a scoring system to predict massive postpartum transfusion in placenta previa totalis. *J Anesth.* 2017; 31(4): 593–600, doi: 10.1007/s00540-017-2365-8, indexed in Pubmed: 28466102.
48. Long M, Martin J, Biggio, J. Atropine, ondansetron, and ketorolac: supplemental management of amniotic fluid embolism. *Ochsner Journal.* 2022; 22(3): 253–257, doi: 10.31486/toj.21.0107, indexed in Pubmed: 36189093.
49. Butwick AJ. Postpartum hemorrhage and low fibrinogen levels: the past, present and future. *Int J Obstet Anesth.* 2013; 22(2): 87–91, doi: 10.1016/j.ijoa.2013.01.002, indexed in Pubmed: 23473552.
50. Cortet M, Deneux-Tharaux C, Dupont C, et al. Association between fibrinogen level and severity of postpartum haemorrhage: secondary analysis of a prospective trial. *Br J Anaesth.* 2012; 108(6): 984–989, doi: 10.1093/bja/aes096, indexed in Pubmed: 22490316.
51. Huissoud C, Carrabin N, Audibert F, et al. Bedside assessment of fibrinogen level in postpartum haemorrhage by thrombelastometry. *BJOG.* 2009; 116(8): 1097–1102, doi: 10.1111/j.1471-0528.2009.02187.x, indexed in Pubmed: 19459866.
52. Barbieri RL. Control of massive hemorrhage: Lessons from Iraq reach the US labor and delivery suite *OBG Manag.* 2007 July; 19(7): 8–16.
53. Goodnough LT, Daniels K, Wong AE, et al. How we treat: transfusion medicine support of obstetric services. *Transfusion.* 2011; 51(12): 2540–2548, doi: 10.1111/j.1537-2995.2011.03152.x, indexed in Pubmed: 21542850.
54. Ministerstwo Zdrowia, Narodowe Centrum Krwi. *Wytyczne w zakresie leczenia krwii i jej składnikami oraz produktami krwiopochodnymi w podmiotach leczniczych wydanie III.* Wojskowy Instytut Medyczny, Warszawa; 2020.
55. Kilic O, Gultekin Y, Yazici S. The impact of intravenous fluid therapy on acid-base status of critically ill adults: a stewart approach-based perspective. *Int J Nephrol Renovasc Dis.* 2020; 13: 219–230, doi: 10.2147/IJNRD.S266864, indexed in Pubmed: 33061531.
56. Malbrain ML, Langer T, Annane D, et al. Intravenous fluid therapy in the perioperative and critical care setting: Executive summary of the International Fluid Academy (IFA). *Ann Intensive Care.* 2020; 10(1): 64, doi: 10.1186/s13613-020-00679-3, indexed in Pubmed: 32449147.
57. Natrella M, Di Naro E, Loverro M, et al. The more you lose the more you miss: accuracy of postpartum blood loss visual estimation. A systematic review of the literature. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2018; 31(1): 106–115, doi: 10.1080/14767058.2016.1274302, indexed in Pubmed: 28002983.
58. Getrajman C, Sison M, Lin HM, et al. The effects of hemodilution on coagulation in term parturients: an study utilizing rotational thromboelastometry. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2022; 35(10): 1969–1977, doi: 10.1080/14767058.2020.1776250, indexed in Pubmed: 32519906.
59. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2019). *Pregnancy-related deaths.* Retrieved January 15, 2020, from <https://>

- www.cdc.gov/reproductivehealth/maternalinfanthealth/pregnancy-relatedmortality.htm.
60. Püchel J, Sitter M, Kranke P, et al. Procedural techniques to control postpartum hemorrhage. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol.* 2022; 36(3-4): 371–382, doi: 10.1016/j.bpa.2022.09.002, indexed in Pubmed: 36513432.
  61. Sultan P, Habib AS, Cho Y, et al. The Effect of patient warming during Caesarean delivery on maternal and neonatal outcomes: a meta-analysis. *Br J Anaesth.* 2015; 115(4): 500–510, doi: 10.1093/bja/aev325, indexed in Pubmed: 26385660.
  62. Shakur H, Elbourne D, Gülmezoglu M, et al. The WOMAN Trial (World Maternal Antifibrinolytic Trial): tranexamic acid for the treatment of postpartum haemorrhage: an international randomised, double blind placebo controlled trial. *Trials.* 2010; 11: 40, doi: 10.1186/1745-6215-11-40, indexed in Pubmed: 20398351.
  63. Muñoz M, Stensballe J, Ducloy-Bouthors AS, et al. Patient blood management in obstetrics: prevention and treatment of postpartum haemorrhage. A NATA consensus statement. *Blood Transfus.* 2019; 17(2): 112–136, doi: 10.2450/2019.0245-18, indexed in Pubmed: 30865585.
  64. Hofer S, Blaha J, Collins PW, et al. Haemostatic support in postpartum haemorrhage: A review of the literature and expert opinion. *Eur J Anaesthesiol.* 2023; 40(1): 29–38, doi: 10.1097/EJA.0000000000001744, indexed in Pubmed: 36131564.
  65. Collins PW, Solomon C, Sutor K, et al. Theoretical modelling of fibrinogen supplementation with therapeutic plasma, cryoprecipitate, or fibrinogen concentrate. *Br J Anaesth.* 2014; 113(4): 585–595, doi: 10.1093/bja/aeu086, indexed in Pubmed: 25064078.
  66. Ahonen J, Stefanovic V, Lassila R. Management of postpartum haemorrhage. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2010; 54(10): 1164–1178, doi: 10.1111/j.1399-6576.2010.02309.x, indexed in Pubmed: 21069897.
  67. Affronti G, Agostini V, Brizzi A, et al. The daily-practiced post-partum hemorrhage management: an Italian multidisciplinary attended protocol. *Clin Ter.* 2017; 168(5): e307–e316, doi: 10.7417/T.2017.2026, indexed in Pubmed: 29044353.
  68. Abdul-Kadir R, McLintock C, Ducloy AS, et al. Evaluation and management of postpartum hemorrhage: consensus from an international expert panel. *Transfusion.* 2014; 54(7): 1756–1768, doi: 10.1111/trf.12550, indexed in Pubmed: 24617726.
  69. Gallos ID, Papadopoulou A, Man R, et al. Uterotonic agents for preventing postpartum haemorrhage: a network meta-analysis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2018; 12(12): CD011689, doi: 10.1002/14651858.CD011689.pub3, indexed in Pubmed: 30569545.
  70. Colucci G, Helsing K, Biasutti FD, et al. Standardized management protocol in severe postpartum hemorrhage: a single-center study. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2018; 24(6): 884–893, doi: 10.1177/1076029618758956, indexed in Pubmed: 29669438.
  71. Shaylor R, Weiniger CF, Austin N, et al. National and International Guidelines for Patient Blood Management in Obstetrics: A Qualitative Review. *Anesth Analg.* 2017; 124(1): 216–232, doi: 10.1213/ANE.0000000000001473, indexed in Pubmed: 27557476.
  72. Ducloy-Bouthors AS, Jude B, Duhamel A, et al. EXADELI Study Group. High-dose tranexamic acid reduces blood loss in postpartum haemorrhage. *Crit Care.* 2011; 15(2): R117, doi: 10.1186/cc10143, indexed in Pubmed: 21496253.
  73. Aawar N, Alikhan R, Bruynseels D, et al. Fibrinogen concentrate versus placebo for treatment of postpartum haemorrhage: study protocol for a randomised controlled trial. *Trials.* 2015; 16: 169, doi: 10.1186/s13063-015-0670-9, indexed in Pubmed: 25906770.
  74. Wikkelsø AJ, Edwards HM, Afshari A, et al. FIB-PPH trial group. Pre-emptive treatment with fibrinogen concentrate for postpartum haemorrhage: randomized controlled trial. *Br J Anaesth.* 2015; 114(4): 623–633, doi: 10.1093/bja/aeu444, indexed in Pubmed: 25586727.
  75. Deleu F, Deneux-Tharaux C, Chiesa-Dubruille C, et al. EPI-MOMS study Group. Fibrinogen concentrate and maternal outcomes in severe postpartum hemorrhage: A population-based cohort study with a propensity score-matched analysis. *J Clin Anesth.* 2022; 81: 110874, doi: 10.1016/j.jclinane.2022.110874, indexed in Pubmed: 35662057.
  76. Vermeulen T, Van de Velde M. The role of fibrinogen in postpartum hemorrhage. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol.* 2022; 36(3-4): 399–410, doi: 10.1016/j.bpa.2022.10.002, indexed in Pubmed: 36513434.
  77. Armstrong S, Fernando R, Ashpole K, et al. Assessment of coagulation in the obstetric population using ROTEM® thromboelastometry. *Int J Obstet Anesth.* 2011; 20(4): 293–298, doi: 10.1016/j.ijoa.2011.05.004, indexed in Pubmed: 21835606.
  78. Butwick AJ, Goodnough LT. Transfusion and coagulation management in major obstetric hemorrhage. *Curr Opin Anaesthesiol.* 2015; 28(3): 275–284, doi: 10.1097/ACO.0000000000000180, indexed in Pubmed: 25812005.
  79. Kozek-Langenecker S, Sørensen B, Hess JR, et al. Clinical effectiveness of fresh frozen plasma compared with fibrinogen concentrate: a systematic review. *Crit Care.* 2011; 15(5): R239, doi: 10.1186/cc10488, indexed in Pubmed: 21999308.
  80. DeLoughery E, Avery B, DeLoughery TG. Retrospective study of rFVIIa, 4-factor PCC, and a rFVIIa and 3-factor PCC combination in improving bleeding outcomes in the warfarin and non-warfarin patient. *Am J Hematol.* 2016; 91(7): 705–708, doi: 10.1002/ajh.24384, indexed in Pubmed: 27074566.
  81. Nienaber U, Innerhofer P, Westermann I, et al. The impact of fresh frozen plasma vs coagulation factor concentrates on morbidity and mortality in trauma-associated haemorrhage and massive transfusion. *Injury.* 2011; 42(7): 697–701, doi: 10.1016/j.injury.2010.12.015, indexed in Pubmed: 21392760.
  82. Lumbreras-Marquez M, Villela-Franyutti D, Reale S, et al. Coagulation management in obstetric anesthesia. *Curr Anesthesiol Rep* 2022; 12(2): 266–276, doi: 10.1007/s40140-022-00517-1.
  83. de Lloyd L, Bovington R, Kaye A, et al. Standard haemostatic tests following major obstetric haemorrhage. *Int J Obstet Anesth.* 2011; 20(2): 135–141, doi: 10.1016/j.ijoa.2010.12.002, indexed in Pubmed: 21439811.
  84. Negrier C. Optimizing on-demand treatment with NovoSeven room temperature stable. *Haemophilia.* 2010; 16 Suppl 3: 35–40, doi: 10.1111/j.1365-2516.2010.02258.x, indexed in Pubmed: 20586800.



# What's new in the field of serum-based eye drops

Joanna Janus , Katarzyna Chmielewska , Agata Mikołowska ,  
 Jolanta Antoniewicz-Papis 

Department of Transfusion Medicine, Institute of Hematology and Transfusion Medicine, Warsaw, Poland

## Summary

*Worldwide serum-based eye drops are successfully used in the treatment of the Dry Eye Syndrome (DES). Autologous serum eye drops (ASEDs) are most common but allogenic eye drops were introduced in many countries mostly because of the COVID-19 pandemic. Not all aspects of the product formula have however been worked out so far. Each medical entity involved in the preparation, packaging and distribution of the product performs according to its own procedures.*

*Various actions have therefore been undertaken to standardize, harmonize and exchange the experience in this field. In 2022 the 5<sup>th</sup> edition of EDQM's Guide to the quality and safety of tissues and cells for human application was issued. Within the EU4Health Programme a new group for Recommendations and Guidance Documents for the Management of Substances of Human Origin (SoHO) in Hospitals is being formed. International cooperation of serum-based product users lead to the establishment of working group events — Workshops on the Eye Drops of Human Origin (EDHO) and Serum eye drop manufacturer's group.*

*Despite the widespread use of serum-based eye drops all over the world, in almost none of the countries, EU included, are there strict legal regulations for handling the product. It is therefore necessary to come up with a universal definition of artificial tears therapy and to determine specific procedures for the product preparation.*

**Key words:** serum-based eye drops, autologous eye drops, allogenic eye drops, dry eye syndrome

*J. Transf. Med. 2023; 16: 23–26*

## Introduction

Serum-based eye drops are successfully used in the treatment of Dry Eye Syndrome (DES) around the world. Artificial tears made from serum were first used in the 1970s and since then they gradually became more common. Most common are autologous serum eye drops (ASEDs) but in many countries allogenic eye drops were introduced due to COVID-19 pandemic. Frequently allogeneic

drops were the only therapeutic option when autologous donations were limited to a minimum or even stopped altogether.

## European standards

Not all aspects of product formula have however been worked out. Each medical entity involved in the preparation, packaging and distribution of the product performs according to in-house

**Correspondence address:** mgr Joanna Janus, Department of Transfusion Medicine, Institute of Hematology and Transfusion Medicine, ul. Indiry Gandhi 14, 02–776 Warsaw, Poland, phone: +48 22 34 96 388, e-mail: jjanus@ihit.waw.pl

Translation: mgr Krystyna Dudziak

This article is available in open access under Creative Common Attribution-Non-Commercial-No Derivatives 4.0 International (CC BY-NC-ND 4.0) license, allowing to download articles and share them with others as long as they credit the authors and the publisher, but without permission to change them in any way or use them commercially.

procedures. This applies to both autologous and allogeneic preparations [1, 2]. In December 2022 the 5th edition of *Guide to the quality and safety of tissues and cells for human application* was issued [3]. One of the chapters is dedicated to good practices for preparation of autologous and allogeneic artificial tears. The edition of the Guide that first mentioned serum eye drops did not come forward with any strict rules to be applied by European countries but merely with guidelines.

Currently a group for Recommendations and Guidance Documents for the Management of Substances of Human Origin (SoHO) in Hospitals is being formed as part of EU4Health Programme for the period 2021–2027. The main aim is to strengthen the quality, safety and efficacy of SoHO in health care entities. The recommendations would refer to blood products, serum eye drops included [4].

### International experience and cooperation

Working groups of ISBT are also involved in the development of consensus guidelines and expertise on regulations, methodology and clinical use of serum eye drops. On May 2022, Vienna hosted Workshops on the Eye Drops of Human Origin (EDHO) which had been planned for March 2020 but were postponed due to COVID-19 pandemic. The workshops were conducted both on-line and on-site and included over 80 participants. One of the topics were the results of ISBT survey provided by Australian Lifeblood showing how the methods/procedures of eye drop preparation vary between countries as does the source of serum/plasma (whole blood, cord blood, platelet lysate). The sessions also focused on the comparison of the human tears and serum tears, tissue engineering of lacrimal glands, different eye diseases that require EDHO as well as issues related to manufacture, labelling and processing. Several presentations referred to the advantages of introducing EDHO at early stages of the diseases for better results. The subject of allogeneic eye drops and their advantage over autologous drops was also addressed. One of the approaches to allogeneic eye drops preparation is pooling and pathogen inactivation. Participants from many countries raised the crucial problem of the lack of regulations and classification of the EDHO — blood product, drug, pharmaceutical product [5].

The field of novel blood-derived products, including serum-based eye drops, still requires development and improvement. Recently, DES

affects more and more patients, and so the serum eye drops therapy is gradually becoming more popular worldwide. The last several years have come up with numerous publications on artificial tears. Articles have also appeared on the International Society of Blood Transfusion (ISBT) Virtual Meeting 2022.

The center from Malaysia presented a poster referring to the use of autologous serum in the treatment of patients with chemical eye injury. Chemical injury to the eye may lead to permanent vision loss unless promptly recognized and treated. The paper presented the management outcome of a 29-year-old patient who suffered from explosion of high-pressure acetylene gas with damage to his eyes. The patient was treated with autologous eye serum. Saline hydration was administered immediately (pH dropped from 9.0 to 7.0 after administration of a total of 7 L of saline per eye [6]. Slit-lamp examination revealed bilateral eyelid edema, conjunctival damage, limbal ischemia, visualization inability while pupil and iris lesions were classified as grade IV chemical injury. Following saline hydration, the next stage of management was the use of topical antibiotics, steroids and commercial eye drops. Conventional therapy was ineffective so autologous serum eye drops (ASEDs) were introduced on the seventh day of injury. Drops were applied to each eye every 2 hours. After 4 months of treatment, the patient's visual acuity improved in both eyes.

The Institute of Hematology and Transfusion Medicine (IHTM), Warsaw, Poland presented the research on inactivation used in processing of allogeneic “artificial” tears [7]. The aim was to analyze the opinions of patients regarding allogeneic “artificial tears”, pathogen inactivated with the Mirasol system as well as their impact on vision-related quality of life.

Autologous “artificial tears” (from patient's serum) have been prepared at the Institute since 1991. Over the period of 30 years, 662 patients with eye disorders such as Sjögren's syndrome or graft-versus-host disease (GvHD) following allogeneic haematopoietic stem cell transplantation have benefited from this form of therapy. However, to prepare an autologous product is not always possible. Since 2021, the PRT system with Mirasol has been implemented for pathogen inactivation during preparation of allogeneic “artificial tears”. This was caused by the threat brought about by the ever-present infectious agents and the necessity to strengthen microbiological safety of the product.

In 2021, 40 patients (9 men and 31 women) with Sjögren's syndrome (44%), dry eye syndrome (33%, GvHD (11%) and other diseases such as glaucoma or eye damage in (12%) were found eligible for the study. Whole blood was collected from healthy AB men (RhD irrelevant) with no transfusion history. The blood units were incubated for clotting, then centrifuged to obtain cell-free serum. Serum was inactivated in the MIRASOL system and then transferred into tubes (under sterile conditions) and divided into 0.5 ml capsules to be stored frozen at  $< -18^{\circ}\text{C}$  for up to 12 months. Before therapy and one month after its termination, each patient was requested to complete the OSDI questionnaire (Ocular Surface Disease Index), which is a reliable tool for assessment of the severity of dry eye syndrome.

The average OSDI score prior to therapy was 69 (22.5–100) and after a month of using MIRASOL inactivated “artificial tears”, the value decreased to 44, which only confirms the positive attitude of patients to the therapy. Patients experienced better eye lubrication/hydration (intensified tear production), less pain and sensitivity to light as well as much clearer vision. Only two patients reported adverse reactions after using inactivated “artificial tears”. The adverse reactions included the feeling of sand under the eye lid and eye irritation. Effective treatment was reported in 12/14 patients (93%). In conclusion, allogeneic eye drops, subjected to inactivation in the Mirasol system, are effective for the management of the dry eye syndrome, Sjögren's syndrome and GvHD. The inactivation procedure has no adverse effect on the eye drops.

A centre from the Netherlands presented a poster on which micro sized and conventional sized eye drop systems used for the preparation of allogeneic serum were compared [8]. Research was performed on the use of capsules in micro size and the capsules that are normally dispensed to patients. Effectiveness of therapy was based on the OSDI index. For one month patients applied micro capsules and then conventional capsules. Fifty-three patients took part in the study and 48 completed the trial. For both types of capsules the improvement was significant as reflected by the OSDI index (from 0 to 100) which was used to compare patients' satisfaction before and after the use of both types of capsule sizes. After using the micro capsules the OSDI dropped from 52 to 41 and after standard size capsules — from 53 to 45. The smaller size capsules showed similar efficacy to the standard size ‘artificial tears’. The smaller capsules

are a good alternative because of the lower serum content, but they are less convenient.

In November 2020, the serum eye drop manufacturer's group was initiated by the representatives of Meise Medizintechnik GmbH. The participants are centres from European countries, as well as Australia, South Africa and Asia, which produce autologous and allogeneic artificial tears. The topics discussed during the last meeting included: management under COVID-19 pandemic conditions of serum eye drops preparation in NHS Blood and Transplant, Liverpool, UK as well as strengthening the safety of allogeneic eye drops by inactivation in the Institute of Hematology and Transfusion Medicine (IHTM), Warsaw, Poland. The discussion focused mainly on allogeneic eye drops, which are currently gaining popularity because they strengthen patient's safety, are easily accessible and perform better than ASEDs in patients suffering from numerous disorders (autoimmune disorders included).

## Summary

Despite the widespread and worldwide use of serum-based eye drops, there are no strict legal regulations for handling the product. There is also the problem of qualifying serum eye drops to the appropriate group of medicinal/blood products. It therefore seems necessary to implement appropriate regulations for placement of artificial tears therapy and to define specific rules of performance which would be the same across Europe.

All attempts at unification and determination of regulations among expert groups, such as the EU4Health Program or workshops on EDHO will certainly contribute to safer and wider use of artificial tears.

**Conflict of interest:** none declared

**Financial support:** none



## References

1. Antoniewicz-Papis J. Artificial tears to treat dry eye syndrome. *Acta Haematol Pol.* 2021; 4: 412–415.
2. Seghatchian J, van der Meer PF. A concise overview of advances in therapeutic efficacy of serum eye drops and their alternatives to treat dry eye syndrome: Verifying the narratives of clinical consistency beyond the periphery of international inconsistency on the methods of collection and application. *Transfus Apher Sci.* 2015; 53(1): 85–87, doi: [10.1016/j.transci.2015.05.013](https://doi.org/10.1016/j.transci.2015.05.013), indexed in Pubmed: [26143344](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26143344/).
3. Guide to the quality and safety of tissues and cells for human application, 5th edition, European Directorate for the Quality

- of Medicines & HealthCare of the Council of Europe (EDQM), 2022.
4. <https://ted.europa.eu/udl?uri=TED:NOTICE:712271-2022:TEXT:EN:HTML>
  5. Gabriel Ch, Marks D, Schallmoser K, et al. Workshop on Eye Drops of Human Origin, *Transfusion Today*. 2023; 134: 12–13.
  6. Ashamuddin N, Mohd Noor S, Mahamud M, et al. Thicker than tears: Autologous Serum Eyedrop (ASED) for chemical eye injury patient. Perks and barriers in Malaysia, *Vox Sanguinis* 2022; 117, S1, P098.
  7. Chmielewska K, Janus J, Mikołowska A., et al. Inactivation used in processing of allogenic ‘artificial tears. *Vox Sanguinis* 2022; 117, S1, P103.
  8. Vermeulen C, van der Burg L, van Geloven N, et al. Allogeneic micro sized serum eye drops compared to conventional sized serum eye drops: A prospective, randomized, non-inferiority, investigator-masked, cross-over, multicenter clinical. *Vox Sanguinis* 2022; 117, S1, P107.



## Najnowsze doniesienia z zakresu sztucznych łez z surowicy

Joanna Janus , Katarzyna Chmielewska , Agata Mikołowska ,  
Jolanta Antoniewicz-Papis 

Zakład Transfuzjologii, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, Warszawa

### Artykuł jest tłumaczeniem pracy:

Janus J, Chmielewska K, Mikołowska A et al. What's new in the field of serum-based eye drops. J Transf Med 2023; 16 (1): 23–26.

DOI: 10.5603/JTM.2023.0002.

Należy cytować wersję pierwotną.

### Streszczenie

*Krople do oczu z surowicy są z powodzeniem stosowane w leczeniu zespołu suchego oka na całym świecie. Najczęściej stosowanym preparatem są autologiczne krople do oczu. Jednak w wielu krajach, głównie z powodu pandemii COVID-19, wprowadzono do rutynowego stosowania allogeniczne krople do oczu. Do tej pory nie istnieją jednolite zasady przygotowania sztucznych łez. Każda jednostka, która wykonuje preparat, ma opracowane własne procedury przygotowania, pakowania oraz dystrybucji.*

*Z tego względu podejmowane są różne działania mające na celu standaryzację procesu i wymianę doświadczeń ekspertów. W 2022 roku wydano piątą edycję publikowanego przez EDQM Guide to the quality and safety of tissues and cells for human application. W ramach europejskiego programu EU4Health powstaje również nowa grupa ds. zaleceń i wytycznych dotyczących zarządzania substancjami pochodzenia ludzkiego (SoHO) w jednostkach ochrony zdrowia. Międzynarodowa współpraca doprowadziła także do powstania grup związanych z kroplami do oczu z surowicy (EDHO, Eye Drops of Human Origin) oraz użytkowników kropli do oczu z surowicy (Serum eye drop manufacturer's group).*

*Pomimo powszechnego stosowania kropli do oczu z surowicy na całym świecie nie zostały jeszcze wypracowane wystandaryzowane procedury czy regulacje prawne. Dlatego też niezbędne wydaje się zakwalifikowanie sztucznych łez z surowicy do odpowiedniej grupy produktów krwiopochodnych oraz określenie konkretnych zasad postępowania z preparatem.*

**Słowa kluczowe:** krople do oczu z surowicy, autologiczne sztuczne łzy, allogeniczne sztuczne łzy, zespół suchego oka

*J. Transf. Med. 2023; 16: 27–30*

### Wstęp

Na całym świecie krople do oczu z surowicy są z powodzeniem stosowane w leczeniu zespołu suchego oka (ZSO). Stosowanie sztucznych łez zostało zapoczątkowane w latach 70 XX wieku

i od tego czasu stało się powszechne. Najczęściej stosowanym preparatem są autologiczne krople do oczu. Jednak w wielu krajach, głównie z powodu pandemii COVID-19, wprowadzono do rutynowego stosowania allogeniczne krople do oczu. Często krople te były jedynym rozwiązaniem, gdy odda-

**Adres do korespondencji:** mgr Joanna Janus, Zakład Transfuzjologii, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, ul. Indiry Gandhi 14, 02-776 Warszawa, tel. +48 22 34 96 388, e-mail: jjanus@ihit.waw.pl

Artykuł jest dostępny bezpłatnie na podstawie licencji Creative Commons Attribution-Non-Commercial-No Derivatives 4.0 International (CC BY-NC-ND 4.0) umożliwiającej jego pobranie oraz udostępnianie pod warunkiem wskazania autorstwa i wydawcy. Niedopuszczalne jest wprowadzanie jakichkolwiek zmian lub wykorzystanie komercyjne bez zgody wydawcy.

wanie krwi przez dawców autologicznych zostało ograniczone lub nawet wstrzymane.

### Standardy europejskie

Do tej pory nie istnieją jednolite zasady przygotowania sztucznych łez z surowicy. Każda jednostka, która wykonuje preparat, ma opracowane własne procedury związane z przygotowaniem, pakowaniem oraz dystrybucją. Dotyczy to zarówno preparatów autologicznych, jak i allogenicznych [1, 2]. W grudniu 2022 roku wydano piątą edycję publikowanego przez EDQM *Guide to the quality and safety of tissues and cells for human application* dotyczącego jakości i bezpieczeństwa tkanek i komórek przeznaczonych do stosowania u ludzi [3]. Jeden z rozdziałów poświęcono dobrym praktykom podczas wykonywania sztucznych łez autologicznych i allogenicznych. Pierwsza wzmianka o kroplach z surowicy w Guide nie zawierała ściśle określonych wytycznych dotyczących wykonania preparatu, których powinny przestrzegać kraje europejskie.

W ramach europejskiego programu EU4Health na lata 2021–2027 powstaje nowa grupa ds. zaleceń i wytycznych dotyczących zarządzania substancjami pochodzenia ludzkiego (SoHO) w jednostkach ochrony zdrowia. Głównym celem grupy będzie wspieranie jakości, bezpieczeństwa i skuteczności. Wytyczne mają obejmować produkty krwiopochodne, w tym krople do oczu z surowicy [4].

### Międzynarodowe doświadczenie i współpraca

Grupy robocze ISBT poszukują również sposobu na wypracowanie konsensusu w sprawie metodologii, wytycznych oraz klinicznego zastosowania kropli do oczu z surowicy. Planowane na marzec 2020 roku warsztaty *Eye Drops of Human Origin* (EDHO) w związku z pandemią COVID-19 odbyły się w Wiedniu w maju 2022 roku w formie online oraz stacjonarnie z udziałem ponad 80 uczestników. Jednym z poruszanych tematów były wyniki ankiety ISBT dostarczonej przez *Australian Lifeblood* pokazującej różnice w poszczególnych krajach odnośnie metodologii wykonywania kropli z surowicy oraz materiału używanego do ich wykonania, tj. surowicy/osocza (krew pełna, krew pępowinowa, lizat płytkowy). Sesje obejmowały porównanie łez ludzkich oraz sztucznych łez z surowicy, inżynierię tkankową gruczołów łzowych, różne choroby oczu, jak również problemy związane z etykietowaniem kropli i preparatyką materiału. Kilka wystąpień

dotyczyło zalet wprowadzenia EDHO we wczesnych stadiach choroby w celu osiągnięcia lepszych wyników. Poruszono także kwestię allogenicznych kropli do oczu i ich przewagi nad autologicznymi. Jednak głównym problemem poruszonym przez uczestników z wielu krajów był brak regulacji prawnych oraz kwestia klasyfikacji EDHO jako produktu krwiopochodnego, leku czy indywidualnego preparatu farmaceutycznego [5].

Obszar nowych produktów krwiopochodnych, w tym kropli do oczu na bazie surowicy, wciąż wymaga ulepszeń i rozwoju. W ostatnich latach, kiedy ZSO dotyka coraz więcej pacjentów, krople z surowicy zyskują popularność na całym świecie. W ciągu ostatnich lat pojawiło się wiele publikacji dotyczących sztucznych łez. Prace odnoszące się do tego tematu pojawiły się również na konferencji ISBT Virtual Meeting 2022.

W sesji *Blood products — Plasma products: ośrodek z Malezji* przedstawił pracę „*Thicker than tears: Autologous Serum Eyedrop (ASED)*” dotyczącą zastosowania autologicznej surowicy w leczeniu pacjenta z chemicznym urazem oka. Urazy chemiczne oka mogą doprowadzić do trwałej utraty wzroku, jeśli nie zostaną szybko rozpoznane i leczone. W pracy przedstawiono wyniki leczenia autologiczną surowicą oczu 29-letniego pacjenta, który uległ wypadkowi w pracy — wybuch gazu acetylenowego pod wysokim ciśnieniem. Natychmiast wdrożono nawadnianie solą fizjologiczną (pH z wartości 9,0 obniżyło się do 7,0 po zastosowaniu łącznie 7 l soli fizjologicznej do każdego oka) [6]. W wyniku wypadku stwierdzono rozległy uraz oczu, w tym uszkodzenia źrenicy i tęczęwki zaklasyfikowane jako uraz chemiczny IV stopnia. Kolejnym etapem leczenia po nawodnieniu solą fizjologiczną było miejscowe stosowanie antybiotyków, sterydów i komercyjnych kropli do oczu. Ze względu na brak skuteczności konwencjonalnej terapii w 7. dniu od urazu zdecydowano się na zastosowanie autologicznych kropli do oczu z surowicy, które aplikowano co 2 godziny do każdego oka. Po 4 miesiącach kuracji stwierdzono poprawę w ostrości widzenia w obu oczach.

Podczas tej samej sesji Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie przedstawił pracę „*Inactivation used in processing of allogenic ‘artificial tears’*”, której celem była analiza opinii pacjentów na temat allogenicznych sztucznych łez, poddanych inaktywacji czynników zakaźnych w systemie MIRASOL i ich wpływ na jakość życia związaną z widzeniem [7].

Autologiczne sztuczne łzy otrzymywane są w Instytucie Hematologii i Transfuzjologii od

1991 roku. W ciągu 30 lat z leczenia tego rodzaju preparatami skorzystało 662 pacjentów z zespołem suchego oka, zespołem Sjögrena czy chorobą przeszczep przeciwko gospodarzowi (GvHD, *graft-versus-host disease*), występującą po przeszczepieniu allogenicznych krwiotwórczych komórek macierzystych. Ze względu na różne ograniczenia nie zawsze istnieje możliwość przygotowania preparatu autologicznego. Ryzyko obecności czynników zakaźnych i konieczność zwiększania bezpieczeństwa mikrobiologicznego spowodowały wdrożenie systemu do inaktywacji czynników zakaźnych (MIRASOL), zastosowanego podczas preparatyki allogenicznych sztucznych łez od 2021 roku.

W 2021 roku do badań zakwalifikowano 40 pacjentów (9 mężczyzn i 31 kobiet), u których zdiagnozowano zespół Sjögrena (44%), zespół suchego oka (33%), GvHD (11%) oraz inne choroby oczu, takie jak jaskra lub uszkodzenie w wyniku urazu (12%). Dziesięć jednostek krwi pełnej pobrano do pojemników bez antykoagulantu od zdrowych mężczyzn z grupą krwi AB (czynnik RhD nieistotny) bez historii transfuzji. Osiem jednostek krwi pełnej poddano inaktywacji w systemie MIRASOL. Jednostki krwi inkubowano w celu wykrzepienia, a następnie poddawano wirowaniu dla uzyskania surowicy bez zawartości komórek. Otrzymałą surowicę przelewano do drenów (w warunkach sterylnych) i dzielono na 0,5-mililitrowe kapsułki, które przechowywano w stanie zamrożonym w temperaturze  $< -18^{\circ}\text{C}$  do 12 miesięcy. Każdy pacjent został poproszony o wypełnienie kwestionariusza OSDI (Wskaźnik choroby powierzchni oka), którego wartość jest rzetelnym i wiarygodnym narzędziem służącym do oceny nasilenia zespołu suchego oka przed rozpoczęciem terapii i po miesiącu od zakończenia leczenia.

Średni wynik OSDI przed leczeniem wynosił 69 (22,5–100, natomiast po miesiącu stosowania sztucznych łez poddanych inaktywacji w systemie MIRASOL wartość obniżyła się do 44, co potwierdzają pozytywne opinie pacjentów. Pacjenci odczuwali lepsze nawilżenie oka (nasiloną produkcją łez), zmniejszony ból i wrażliwość na światło oraz wyraźniejsze widzenie. Tylko 2 pacjentów zgłosiło działania niepożądane po zastosowaniu inaktywowanych sztucznych łez. Działania niepożądane objawiały się uczuciem piasku pod powiekami lub swędzeniem oczu. Skuteczne leczenie zaobserwowano u 12 spośród 14 (93%) pacjentów. Podsumowując, można stwierdzić, że allogeniczne krople do oczu, poddane metodzie inaktywacji w systemie MIRASOL, są skuteczne w leczeniu ZSO, zespołu

Sjögrena i GvHD. Z badań wynika, że inaktywacja nie wpłynęła niekorzystnie na krople do oczu.

W pracy z Holandii zaprezentowano porównanie mikrokapsulek sztucznych łez oraz kapsulek konwencjonalnych [8]. Ośrodek przedstawił badania dotyczące stosowania kropli w dużo mniejszym rozmiarze niż kapsułki, które standardowo są wydawane pacjentom, a do oceny skuteczności posłużył arkusz OSDI. Pacjenci przez miesiąc otrzymywali mikrokapsułki, a następnie konwencjonalne kapsułki. W badaniu wzięło udział 53 pacjentów, a 48 ukończyło badanie. W obu przypadkach wykazano znaczną poprawę. Porównano wskaźnik OSDI przed oraz po użyciu obu wielkości kapsulek. Po zastosowaniu mikrokapsulek OSDI spadło z 52 do 41, a po wykorzystaniu kapsulek standardowej wielkości z 53 do 45. Kapsułki w mniejszym rozmiarze wykazały podobną skuteczność do standardowej wielkości wykonywanych sztucznych łez. Mniejsze kapsułki są dobrą alternatywą ze względu na mniejsze starty surowicy, jednak pod względem wygody użytkowania były oceniane gorzej.

W listopadzie 2020 roku z inicjatywy *Meise Medizintechnik GmbH* została stworzona grupa zajmująca się kroplami do oczu z surowicy. Uczestnikami spotkań grupy były ośrodki wykonujące preparaty sztucznych łez autologicznych oraz allogenicznych. Były to głównie ośrodki z krajów europejskich, a także z Australii, RPA i krajów azjatyckich. Na ostatnim spotkaniu — 23 listopada 2022 roku poruszono tematy związane z przygotowaniem kropli z surowicy podczas pandemii COVID-19 w ośrodku *NHS Blood and Transplant* w Liverpoolu (Wielka Brytania) oraz zwiększeniem bezpieczeństwa allogenicznych kropli do oczu poprzez inaktywację w Instytucie Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie (Polska). Dyskusja skupiła się głównie na allogenicznych sztucznych łezach, które obecnie zyskują na popularności ze względu na łatwiejszy dostęp do materiału, wydajność, bezpieczeństwo pacjenta oraz doniesienia potwierdzające lepsze działanie niż preparaty autologiczne u pacjentów cierpiących między innymi na choroby autoimmunologiczne.

## Podsumowanie

Pomimo powszechnego stosowania kropli do oczu z surowicy na całym świecie nie zostały jeszcze wypracowane wystandaryzowane procedury czy regulacje prawne. Dlatego też niezbędne wydaje się zakwalifikowanie sztucznych łez z surowicy do odpowiedniej grupy produktów krwio-

pochodnych oraz określenie konkretnych zasad postępowania z preparatem.

Wszelkie próby ujednoczenia tego procesu, w tym utworzenie grup eksperckich, takich jak EU4Health czy warsztatów EDHO, z pewnością pozytywnie wpłyną na bezpieczniejsze i szersze zastosowanie sztucznych łez w przyszłości.

**Konflikt interesów:** nie zgłoszono

**Wsparcie finansowe:** brak

### Piśmiennictwo

1. Antoniewicz-Papis J. Artificial tears to treat dry eye syndrome. *Acta Haematol Pol.* 2021; 4: 412–415.
2. Seghatchian J, van der Meer PF. A concise overview of advances in therapeutic efficacy of serum eye drops and their alternatives to treat dry eye syndrome: Verifying the narratives of clinical consistency beyond the periphery of international inconsistency on the methods of collection and application. *Transfus Apher Sci.* 2015; 53(1): 85–87, doi: 10.1016/j.transci.2015.05.013, indexed in Pubmed: 26143344.
3. Guide to the quality and safety of tissues and cells for human application, 5th edition, European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare of the Council of Europe (EDQM), 2022.
4. <https://ted.europa.eu/udl?uri=TED:NOTICE:712271-2022:TEXT:EN:HTML>
5. Gabriel Ch., Marks D., Schallmoser K, et al. Workshop on Eye Drops of Human Origin, *Transfusion Today.* 2023; 134: 12–13.
6. Ashamuddin N, Mohd Noor S, Mahamud M, et al. Thicker than tears: Autologous Serum Eyedrop (ASED) for chemical eye injury patient. Perks and barriers in Malaysia, *Vox Sanguinis* 2022; 117, S1, P098.
7. Chmielewska K, Janus J, Mikołowska A, et al. Inactivation used in processing of allogenic 'artificial tears. *Vox Sanguinis* 2022; 117, S1, P103.
8. Vermeulen C, van der Burg L, van Geloven N, et al. Allogeneic micro sized serum eye drops compared to conventional sized serum eye drops: A prospective, randomized, non-inferiority, investigator-masked, cross-over, multicenter clinical. *Vox Sanguinis* 2022; 117, S1, P107.



# Innovative applications of platelet derivatives in light of information presented during the 2022 virtual congress of the International Society of Blood Transfusion (ISBT); selected issues

Paulina Goczyńska , Joanna Lasocka , Elżbieta Lachert 

Department of Transfusion Medicine, Institute of Hematology and Transfusion Medicine, Warsaw, Poland

Platelet concentrates (PCs) have long been in use in the hemotherapy of thrombocytopenia and accompanying symptoms of bleeding disorder. In the 1980s, the stimulating effect of platelet-derived growth factors on cell metabolism was observed in animals. The factors include: platelet-derived growth factor (PDGF-aa, PDGF-ab and PDGF-bb), transforming growth factor beta (TGF-B1 and TGF-B2), vascular endothelial growth factor (VEGF) and fibroblast growth factor (FGF). The important role of biological mediators that regulate early proliferation and participate in the differentiation of all cell types relevant for regeneration of soft and hard tissues has also been confirmed. Since then, the interest in platelet-based products has significantly increased, and the use of platelet-rich plasma or PC, has become the subject of a growing number of publications not only in the field of regenerative medicine (e.g. limb ulcers, osteoarthritis or bone graft fixation), but also in plastic surgery or cosmetology. Frequent reports on the clinical use of platelet derivatives in the form of lysates have been appearing. Since the 1990s, there has also been growing interest in products containing autologous serum, e.g. for patients with dry eye syndrome (DES).

During the virtual congress of the International Society of Blood Transfusion (ISBT) held on June 4–8, 2022, several papers on the unconventional use of platelet derivatives were presented. The related issues were accessible during poster sessions: “Blood products — The versatility of platelets and their products” and “Cellular therapies — New avenues of cellular therapy” [1–3].

In the paper “Although expired, platelets are now starting a new life in medicine”, Burnouf (Taipei University of Medical Sciences) discusses an alternative use of expired PCs. The study results demonstrate that allogeneic platelets in expired PCs can be a valuable material for preparation of human platelet lysates (HPL) or platelet biomaterials for clinical use in cell therapies and regenerative medicine. The scientific rationale for these clinical applications is the large amount of trophic factors in platelets (growth factors, cytokines, chemokines, antioxidants, inflammatory and anti-inflammatory factors, etc.) which are indispensable for coordination and promotion of cell growth and tissue regeneration. Lysates obtained from expired PC are stored frozen in blood establishments and delivered to the HPL manufacturer under previously agreed conditions. The process of lysate preparation consists in freezing and thawing of PCs in order to promote platelet lysis. The result is the release of biologically active substances from platelet granules. The obtained protein solution is subjected to centrifugation (or filtration) to remove residual morphotic elements. The final step involves sterile filtration, bottling, freezing and storage. Lysates are used, i.a. to supplement culture media for mesenchymal stromal cells (MSC) (bone marrow, adipose tissue, Wharton’s jelly or tooth pulp), as alternative to the most common fetal bovine or horse serum. With zoonotic serum there is always the higher risk of both culture contamination and transfer to the medium of: xenoproteins, toxins, growth inhibitors and zoonotic infectious agents such as bovine herpesvirus Type-1 (BHV-1) which

**Correspondence address:** mgr Paulina Goczyńska, Department of Transfusion Medicine, Institute of Hematology and Transfusion Medicine, ul. Indiry Gandhi 14, 02–776 Warsaw, Poland, phone: +48 22 349 63 86, e-mail: pgoczynska@ihit.waw.pl  
 Translation: mgr Krystyna Dudziak

This article is available in open access under Creative Common Attribution-Non-Commercial-No Derivatives 4.0 International (CC BY-NC-ND 4.0) license, allowing to download articles and share them with others as long as they credit the authors and the publisher, but without permission to change them in any way or use them commercially.

causes infectious bovine rhinotracheitis (IBR/IPV) or bovine viral diarrhoea virus (BVDV) [1].

Such risk is eliminated if human lysate is used. Experimental studies have also confirmed the effectiveness of adding platelet lysate to the growth medium of corneal epithelial cells, chondrocytes, fibroblasts and endothelial cells.

The potentially beneficial effect of platelet lysates in regenerative medicine was based on the extensive clinical experience with allogeneic in autologous platelet rich plasma (PRP) in orthopedic surgery (e.g. osteoarthritis), soft tissue wound healing (e.g. resistant ulcers), maxillofacial surgery, dentistry and implantology, sports medicine and ophthalmology. Allogeneic PCs are also used in preparation of eye drops of human origin (EDHO) in the form of serum or platelet lysates used for the management of the dry eye syndrome. In the preclinical stage are currently studies on the assessment of neuroprotective and neuro-regenerative effects of lysates in the management of neurodegenerative disorders and brain tissue injuries [4–6].

As emphasized in another study — “Preparation and neuroprotective activity of nanofiltered human platelet lysate in Parkinson’s disease and traumatic brain injury models” — which was presented during the Session: Cellular therapies — New avenues of cellular therapy, platelet lysates may be the future of biotherapy of neurodegenerative diseases and injuries of the central nervous system. A homogeneous series of lysate are obtained by pooling PC and introducing pathogen inactivation methods to ensure product safety. Burnouf et al. presented studies evaluating the impact of nanofiltration during the process of lysate preparation from pooled PCs on the effectiveness of therapy of Parkinson’s disease and brain tissue damage. The PC pool was obtained from 50 PC units first subjected to initial filtration (0.2 and 0.1  $\mu\text{m}$ ) and then to nanofiltration (0.001  $\text{m}^2$  Planova 20 N (19 nm)) at a constant flow rate of 0.1 ml/min and under controlled pressure. The mouse parvovirus (MVM) model and the immuno-qPCR method were used to assess the degree of viral reduction. Total protein content was determined by the Bradford method, and the quantification of neurotrophic factors was determined by ELISA tests. Platelet-derived extracellular vesicles (PEVs) were studied by dynamic light scattering (DLS) and nanoparticle tracking (NTA). Proteomic analysis was performed with liquid chromatography and mass spectrometry. In vivo cell models were used to evaluate the neuroprotective and anti-inflammatory functions of platelet lysates subjected to nanofiltration. Diffe-

rentiated human midbrain dopamine (DA) neurons were used as a model for Parkinson’s disease (PD). At the same time, an in vivo mouse model was used to perform a mild traumatic brain injury to assess whether intranasal administration of human platelet lysates (nanofiltered) reduces the expression of pro-inflammatory mRNA markers (RT-PCR). The studies revealed that nanofiltration can be implemented in the process of obtaining platelet lysates in order to increase viral safety with no effect on the neuroprotective and anti-inflammatory effects of these products [2].

In the same session — New avenues of cellular therapy, Le et al. presented the results of multi-center studies performed in China and France (“Proteomics studies of human platelet lysates for optimized applications in cell therapies and regenerative biotherapies”). The paper emphasizes the fact that no standard method of platelet lysate preparation has been developed so far, and the differences in the method of preparation may affect the protein content and biological function, of the product and therefore its safety and clinical effectiveness. The aim of the study was to compare 7 methods of preparing human platelet lysate (HPL):

1. Freeze-thaw platelet lysate (FTPL): PC was frozen and thawed to release platelet content into plasma compartment.
2. Serum-Converted Platelet Lysate (SCPL): calcium chloride added to PC to convert fibrinogen into fibrin.
3. Heat treated Serum-Converted Platelet Lysate (HSCPL): SCPL was heat-treated (56°C, 30 min).
4. Platelet Pellet Lysate (PPL): isolated plasma-free platelets lysed by freeze/thaw.
5. Heat-treated-Platelet Pellet Lysate subjected to heating (56°C, 30 min) (HPPL).
6. Micro-Filtered-HPPL (HPPL0201): a 0.2–0.1  $\mu\text{m}$  filtration sequence was used to remove large molecules or particles.
7. Nanofiltered-HPPL (HPPL0201): HPPL0201 was filtered through Planova 20 N, a 19-virus removal filter.

Proteomics studies identified 1441 proteins in various types of lysates. Some plasma proteins were too abundant and masked platelet-derived proteins. Removal of the ‘interfering proteins’ made it possible to evaluate the platelet proteome. The protein composition of platelet lysates was found dependent on the preparation method used, and particularly on the additional steps such as plasma removal, heating and filtration. Differences

in the proteome composition of platelet lysates may therefore affect their functions and in consequence their effectiveness for cell therapy and regenerative medicine [3].

### **The latest reports on the use of platelet lysates**

Research-outcome on platelet lysates presented at the ISBT congress confirms the rising interest in these products. There is a growing number of literature reports on both the methods of preparation and application. One study demonstrated that platelet lysates used in growth media enhanced the clonogenic properties of mesenchymal stem cells (MSC) from bone marrow and adipose tissue. The same study showed the slight effect of the preparation method on the pluripotent cells (e.g. on the differentiation potential). Because of the lack of uniform methods of obtaining platelet lysates, they are not often used for the production of growth media. It may however be expected that promising research outcome as well as safe methods used for preparation of PC as starting material (e.g. virus detection, pathogen inactivation techniques) will render lysates a more appreciated addition to growth media) [4, 7, 8].

Apart from participation in the coagulation process, platelets also play an important role in other physiological mechanisms. Platelets have been found to secrete pro-neurogenic factors and communicate with the brain tissue to affect the cognitive functions of the brain (the ability to process environmental stimuli). This is closely related to the presence of neurotrophic factors in the platelet  $\alpha$ -granules such as brain-derived neurotrophic factor (BDNF), platelet factor 4 (PF4) stimulator of neurogenesis, as well as other aforementioned proteins involved in the mechanisms of growth and regeneration (e.g. EGF, VEGF or PDGF). These reports have raised interest in the potential use of lysates in neuro-regenerative processes. The results of both in vitro and in vivo studies in such models of diseases as: amyotrophic lateral sclerosis (ALS), traumatic brain injury (TBI), Parkinson's and Alzheimer's confirmed the supportive role of lysates in the optimal structure and function of neurons (neuroprotective effect). In the ischemic stroke model, also the stimulating effect on nerve cell and blood vessel formation was confirmed. For the above mentioned disease entities, the induction of nerve cell division is of crucial importance and a great chance for health improvement. In advanced cases of traumatic brain

injury (TBI), which may cause physical, cognitive, socio-emotional impairment or even death, palliative (i.e. symptomatic) management seems to be the only approach. Lysate therapy, due to the wide spectrum of proteome proteins (a set of proteins present in the cell at a given moment), may be one of the very few accessible therapeutic options. For the maximal safety of studies, HPLs subjected to nanofiltration and inactivation by heating (approx. 55°C for 0.5 h) (Heat-treated Inactivated Platelet Pellet Lysate; IHPPL) are used. Membrane filtration removes viruses. High temperature prevents the activation of thrombin and factor XI and minimizes thrombosis risk. A 5% solution of IHPPL after a week of incubation with microglia and neurons showed no toxicity towards them and did not induce inflammatory activity (as marked by no expression of inflammatory factors — tumor necrosis factor; TNF and anti-cyclooxygenase, COX-2). With support of research on neuron division, there is hope for implementation of lysates to clinical procedures for management of the disorders of the nervous system [6, 9, 10].

Due to the biologically active substances, platelet-derived products have already found their way to the therapy of numerous diseases, such as: hard-healing wounds and degenerative joint diseases. The current research may open the pathway for future clinical use of these products in neurodegenerative diseases and the regeneration of bones, tendons, neurons etc.

**Conflict of interest:** none declared

### **References**

1. Burnouf T. Although expired, platelets are now starting a new life in medicine. *Vox Sanguinis* 2022.
2. Delila L, Nebie O, Le N. Preparation and neuroprotective activity of nanofiltered human platelet lysate in Parkinson's disease and traumatic brain injury models. *Vox Sanguinis* 2022.
3. Le N, Han C, Delila L. Proteomics studies of human platelet lysates for optimized applications in el therapies and regenerative biotherapies. *Vox Sanguinis* 2022.
4. Barro L, Burnouf PA, Chou ML, et al. Human platelet lysates for human cell propagation. *Platelets*. 2020; 32(2): 152–162, doi: 10.1080/09537104.2020.1849602, indexed in Pubmed: 33251940.
5. Antoniewicz-Papis J. Artificial tears to treat dry eye syndrome. *Acta Haematol Pol* 2021; 4 (52): 412–415.
6. Nebie O, Carvalho K, Barro L, et al. Human platelet lysate biotherapy for traumatic brain injury: preclinical assessment. *Brain*. 2021; 144(10): 3142–3158, doi: 10.1093/brain/awab205, indexed in Pubmed: 34086871.
7. Gao Y, Ku NJ, Sung TC, et al. The effect of human platelet lysate on the differentiation ability of human adipose-derived stem cells cultured on ECM-coated surfaces. *J Mater Chem*

- B. 2019; 7(45): 7110–7119, doi: 10.1039/c9tb01764j, indexed in Pubmed: 31513217.
8. Mareschi K, Marini E, Niclot AG, et al. A new human platelet lysate for mesenchymal stem cell production compliant with good manufacturing practice conditions. *Int J Mol Sci.* 2022; 23(6), doi: 10.3390/ijms23063234, indexed in Pubmed: 35328655.
  9. Nebie O, Barro L, Wu YW, et al. Heat-treated human platelet pellet lysate modulates microglia activation, favors wound healing and promotes neuronal differentiation *in vitro*. *Platelets.* 2020; 32(2): 226–237, doi: 10.1080/09537104.2020.1732324, indexed in Pubmed: 32106742.
  10. Delila L, Nebie O, Le N, et al. Neuroprotective activity of a virus–safe nanofiltered human platelet lysate depleted of extracellular vesicles in Parkinson’s disease and traumatic brain injury models. *Bioengineering & Translational Medicine.* 2022; 8(1), doi: 10.1002/btm2.10360, indexed in Pubmed: 36684076.



# Wybrane zagadnienia dotyczące nowatorskich zastosowań preparatów płytkopochodnych w świetle informacji przedstawionych w czasie wirtualnego kongresu Międzynarodowego Towarzystwa Przetaczania Krwi

Paulina Goczyńska , Joanna Lasocka , Elżbieta Lachert 

Zakład Transfuzjologii, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, Warszawa

#### Artykuł jest tłumaczeniem pracy:

Goczyńska P, Lasocka J, Lachert E. Innovative applications of platelet derivatives in light of information presented during the 2022 virtual congress of the International Society of Blood Transfusion (ISBT); selected issues. *J Transf Med* 2023; 16 (1): 31–34. DOI: 10.5603/JTM.2023.0003. Należy cytować wersję pierwotną.

Koncentraty krwinek płytkowych (KKP) od lat są stosowane w krwiolecznictwie u pacjentów z małopłytkowością i z towarzyszącymi jej objawami skazy krwotocznej. Już w latach 80. XX wieku zaobserwowano stymulujący wpływ płytkopochodnych czynników wzrostu na metabolizm komórek u zwierząt. Do czynników tych należą: płytkopochodny czynnik wzrostu (PDGF-aa, PDGF-ab i PDGF-bb, *platelet-derived growth factor*), transformujący czynnik wzrostu beta (TGF-B1 i TGF-B2, *transforming growth factor*), naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu (VEGF, *vascular endothelial growth factor*) oraz czynnik wzrostu fibroblastów (FGF, *fibroblast growth factor*). Potwierdzono także, że biologiczne mediatory regulujące wczesną proliferację biorą udział w różnicowaniu wszystkich typów komórek odgrywających ważną rolę w regeneracji tkanek miękkich i twardych. Od tego czasu znacznie zwiększyło się zainteresowanie preparatami na bazie płytek krwi, coraz więcej ukazujących się prac przedstawiało zastosowanie osocza bogatopłytkowego lub KKP, które stosowano nie tylko w medycynie regeneracyjnej (np. owrzodzenia kończyn, choroby zwyrodnieniowe stawów czy umocowania przeszczepów kości), ale również w chirurgii plastycznej czy też kosmologii. Coraz częściej zaczęły pojawiać się także doniesienia

o możliwościach zastosowania klinicznego preparatów płytkopochodnych stosowanych w formie lizatów. Od lat 90. XX wieku zainteresowanie budzą także preparaty zawierające autologiczną surowicę, stosowane m.in. u pacjentów z zespołem suchego oka.

W trakcie wirtualnego kongresu Międzynarodowego Towarzystwa Przetaczania Krwi (ISBT, *International Society of Blood Transfusion*), który odbył się w dniach 4–8 czerwca 2022 roku, zaprezentowano kilka prac odnoszących się do niekonwencjonalnego zastosowania preparatów płytkopochodnych. Zagadnienia dotyczące ww. preparatów prezentowano podczas sesji plakatowych: „Blood products — The versatility of platelets and their products” oraz „Cellular therapies — New avenues of cellular therapy” [1–3].

W pracy Burnoufa (*Although expired, platelets are now starting a new life in medicine*) z Medycznego Uniwersytetu w Taipei przedstawiono możliwość alternatywnego wykorzystania przeterminowanych KKP. Na podstawie wyników badań stwierdzono, że allogeniczne krwinki płytkowe w przeterminowanych KKP mogą być cennym materiałem do przygotowania ludzkich lizatów płytkowych (HPL, *human platelet lysates*) lub biomateriałów płytkowych w celu ich medycznego

**Adres do korespondencji:** mgr Paulina Goczyńska, Zakład Transfuzjologii, Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie, ul. Indiry Gandhi 14, 02–776 Warszawa, tel. 22 349 6386, e-mail: pgoczyńska@ihit.waw.pl

Artykuł jest dostępny bezpłatnie na podstawie licencji Creative Commons Attribution-Non-Commercial-No Derivatives 4.0 International (CC BY-NC-ND 4.0) umożliwiającej jego pobranie oraz udostępnianie pod warunkiem wskazania autorstwa i wydawcy. Niedopuszczalne jest wprowadzanie jakichkolwiek zmian lub wykorzystanie komercyjne bez zgody wydawcy.

zastosowania w terapiach komórkowych i w medycynie regeneracyjnej. Naukowe uzasadnienie dla tych klinicznych zastosowań leży w fakcie, że krwinki płytkowe zawierają dużą ilość czynników troficznych (czynniki wzrostu, cytokiny, chemokiny, przeciwutleniacze, czynniki zapalne i przeciwzapalne itp.), które są niezbędne do koordynowania i promowania wzrostu komórek i regeneracji tkanek. Lizaty, otrzymane z przeterminowanych KKP, są zamrażane i przechowywane w centrach krwiodawstwa, a następnie dostarczane do producenta HPL, zgodnie z wcześniej ustalonymi warunkami. Proces otrzymywania lizatów obejmuje zamrażanie i rozmrażanie KKP w celu lizy krwinek płytkowych skutkującej uwolnieniem z ich ziarnistości aktywnych biologicznie substancji. Następnie otrzymany rozwór białka jest poddawany wirowaniu (lub filtracji) w celu usunięcia resztkowych elementów morfotycznych. Ostatni etap obejmuje sterylną filtrację, rozlewanie do butelek i przechowywanie w stanie zamrożonym. Lizaty są wykorzystywane między innymi w charakterze suplementu w podłożach hodowlanych dla mezenchymalnych komórek zrębu (MSC, *mesenchymal stromal cells*) (szpiku, tkanki tłuszczowej, galarety Whartona czy miazgi zęba), zamiennie dla najczęściej stosowanej płodowej surowicy bydlecej lub końskiej. Stosując surowicę odzwierzęcą, zawsze zwiększa się ryzyko zarówno kontaminacji hodowli, jak i możliwość przeniesienia do podłoża ksenoprotein, toksyn, inhibitorów wzrostu oraz odzwierzęcych czynników zakaźnych, takich jak na przykład herpeswirus bydła typu-1 (BHV-1, *bovine herpesvirus type-1*), który może wywołać zapalenie nosa i tchawicy bydła (IBR/IPV, *infectious bovine rhinotracheitis*), wirus biegunki bydła (BVDV, *bovine viral diarrhoea virus*) [1].

Stosowanie ludzkiego lizatu eliminuje to ryzyko. W badaniach eksperymentalnych potwierdzono również skuteczność zastosowania podłoża z dodatkiem lizatu krwinek płytkowych w hodowli komórek nabłonka rogówki, chondrocytów, fibroblastów czy komórek śródbłonka.

Możliwość stosowania lizatów krwinek płytkowych w medycynie regeneracyjnej oparto na bogatym doświadczeniu klinicznym wynikającym z zastosowania allogenicznego lub autologicznego osocza bogatopłytkowego (PRP, *platelet rich plasma*) między innymi w chirurgii ortopedycznej (np. choroba zwyrodnieniowa stawów), gojeniu ran tkanek miękkich (np. opornych owrzodzeń), chirurgii szczękowo-twarzowej, stomatologii i implantologii, medycynie sportowej czy okulistyce. Allogeniczne KKP są używane także do otrzymywania kropli do oczu pochodzenia ludzkiego (EDHO,

*eye drops of human origin*) w postaci surowicy lub lizatów krwinek płytkowych stosowanych w leczeniu zespołu suchego oka. Obecnie (faza badań przedklinicznych) oceniane jest również działanie neuroprotektoryjne i neuroregeneracyjne lizatów, co może mieć zastosowanie w leczeniu zaburzeń neurodegeneracyjnych i urazów tkanki mózgowej [4–6].

Jak podkreślono w kolejnej pracy, zaprezentowanej w Sesji: *Cellular therapies — New avenues of cellular therapy (Preparation and neuroprotective activity of nanofiltered human platelet lysate in Parkinson's disease and traumatic brain injury models)* w przyszłości stosowanie lizatów krwinek płytkowych może stanowić nową bioterapię neurodegradacyjnych chorób i uszkodzeń centralnego układu nerwowego. Otrzymanie jednorodnej serii lizatu jest związane z koniecznością pulowania KKP oraz wprowadzenia metod redukcji czynników zakaźnych w celu zwiększenia bezpieczeństwa stosowanych preparatów. Burnouf i wsp. przedstawili badania oceniające wpływ wprowadzenia nanofiltracji w procesie otrzymywania lizatów z pul KKP na ich ewentualną skuteczność w leczeniu Parkinsona i uszkodzeń tkanki mózgowej. Pulę otrzymano w wyniku połączenia 50 preparatów KKP, którą poddano wstępnej filtracji (0,2 i 0,1  $\mu\text{m}$ ), a następnie nanofiltracji (0,001  $\text{m}^2$  Planova 20 N (19 nm)) przy stałym natężeniu przepływu 0,1 ml/min i pod kontrolowanym ciśnieniem. W celu oceny stopnia redukcji wirusa zastosowano model parwowirusa mysiego (MVM, *minute virus of mice*) i metodę immuno-qPCR. Zawartość białka całkowitego oznaczano metodą Bradforda, a ilościowe oznaczenie czynników neurotroficznych określono za pomocą testów ELISA. Płytkowe pęcherzyki zewnątrzkomórkowe (PEVs, *platelet-derived extracellular vesicles*) badano metodą dynamicznego rozpraszania światła (DLS, *dynamic light scattering*) i metodą śledzenia nanocząsteczek (NTA). Analizę proteomiczną przeprowadzono za pomocą chromatografii cieczowej i spektrometrii masowej. W celu oceny neuroprotektoryjnych i przeciwzapalnych funkcji poddanych nanofiltracji lizatów krwinek płytkowych zastosowano komórkowe modele *in vivo*. Zróżnicowane ludzkie neurony dopaminergiczne śródmózgowia zastosowano jako model choroby Parkinsona (PD). Jednocześnie, stosując model mysy *in vivo*, przeprowadzono łagodne urazowe uszkodzenie mózgu w celu oceny, czy donosowe podanie ludzkich lizatów krwinek płytkowych (poddanych nanofiltracji) powoduje zmniejszenie ekspresji prozapalnych markerów mRNA (RT-PCR). Na podstawie wyników badań

stwierdzono, że nanofiltrację można wdrożyć do procesu otrzymywania lizatów krwinek płytkowych w celu zwiększenia bezpieczeństwa wirusologicznego bez wpływu na działanie neuroprotektoryjne i przeciwzapalne tych preparatów [2].

W tej samej Sesji: *Cellular therapies — New avenues of cellular therapy*. Le i wsp. przedstawili wyniki badań (*Proteomics studies of human platelet lysates for optimized applications in cell therapies and regenerative biotherapies*) otrzymane podczas wielośrodkowych badań wykonanych w Chinach i we Francji. W pracy podkreślono, że nie opracowano jeszcze jednej standardowo stosowanej metody otrzymywania lizatów krwinek płytkowych, natomiast różnice w sposobie ich przygotowywania mogą wpływać na ich skład białkowy i funkcję biologiczną, a w konsekwencji na ich bezpieczeństwo i skuteczność kliniczną. Celem tej pracy była próba porównania 7 metod otrzymywania lizatów krwinek płytkowych (HPL):

1. Zamrażanie–rozmarzanie lisatu krwinek płytkowych (FTPL): KKP zamrażano i rozmrażano w celu uwolnienia zawartości krwinek płytkowych do osocza.
2. Konwertowany lizat krwinek płytkowych w surowicy (SCPL): do KKP dodawano chlorku wapnia w celu przekształcenia fibrynogenu w fibrynę.
3. Konwertowany lizat krwinek płytkowych w surowicy (HSCPL) poddany procesowi ogrzewania (56°C, 30 min).
4. Lizat osadu krwinek płytkowych (PPL): wyizolowane krwinki płytkowe, pozbawione osocza poddawane lizie przez zamrażanie/rozmarzanie.
5. Lizat osadu krwinek płytkowych poddany procesowi ogrzewania (56°C, 30 min) (HPPL).
6. Lizat osadu krwinek płytkowych z mikrofiltracją (HPPL0201): filtracja 0,2–0,1 µm.
7. Lizat osadu krwinek płytkowych z mikrofiltracją (HPPL0201) poddany dodatkowo nanofiltracji (Planova 20 N, filtr usuwający wirusy 19 nm).

W wyniku badań proteomicznych zidentyfikowano 1441 białek w różnych rodzajach lizatów. Stwierdzono, że niektóre białka, występujące w wysokich stężeniach w osoczu, maskowały białka pochodzenia płytkowego. Usunięcie „przeszkadzających białek” umożliwiło ocenę proteomu krwinek płytkowych. Stwierdzono także, że skład białek lizatów krwinek płytkowych zależy od metody ich otrzymywania, a szczególnie od dodatkowych etapów, takich jak usuwanie osocza, ogrzewanie i filtracja. Różnice w składzie proteomu lizatów

krwinek płytkowych, mogą zatem wpływać na ich funkcjonalność, a w konsekwencji na różną skuteczność w terapii komórkowej i w medycynie regeneracyjnej [3].

### Zastosowanie lizatów krwinek płytkowych — najnowsze doniesienia

Prace dotyczące lizatów krwinek płytkowych, przedstawione podczas kongresu ISBT, potwierdzają coraz większe zainteresowanie tymi preparatami. W piśmiennictwie coraz częściej pojawiają się doniesienia dotyczące zarówno metod ich otrzymywania, jak i ich zastosowania. W jednej z prac udowodniono na przykład, że stosowanie podłoża hodowlanych zawierających lizaty krwinek płytkowych nasila właściwości klonogenne komórek MSC ze szpiku i tkanki tłuszczowej. W wyżej wymienionym badaniu wykazano niewielki wpływ metody otrzymywania lizatów na namnażane komórki (np. na ich potencjał różnicowania). Obecnie ze względu na brak jednoznacznych metod otrzymywania lizatów krwinek płytkowych nie są preparatem często stosowanym do produkcji podłoża wzrostowych. Jednak należy oczekiwać, że zachęcające wyniki badań oraz bezpieczne metody otrzymywania materiału wyjściowego, jakim są KKP (m.in. detekcja wirusów, metody inaktywacji biologicznych czynników chorobotwórczych) spowodują, że lizaty będą coraz częściej otrzymywane i dodawane do podłoża wzrostowych) [4, 7, 8].

Krwinki płytkowe oprócz udziału w procesie krzepnięcia odgrywają istotną rolę w innych fizjologicznych mechanizmach. Potwierdzono na przykład, że krwinki płytkowe, wydzielając czynniki proneurogenne, komunikują się z tkanką mózgową, wpływając na funkcje kognitywne mózgu (zdolność przetwarzania bodźców z otoczenia). Jest to ściśle związane z obecnością w ziarnistościach krwinek płytkowych czynników neurotroficznych — neurotrofowego czynnika pochodzenia mózgowego (BDNF, *brain-derived neurotrophic factor*), czynnika płytkowego 4 (PF4, *platelet factor 4*), pełniącego funkcję stymulatora neurogenezy oraz innych, wspomnianych wcześniej białek, biorących udział w mechanizmach wzrostu i regeneracji, między innymi czynnikiem wzrostu naskórki (EGF, *epidermal growth factor*), VEGF lub PDGF. W związku z powyższymi doniesieniami zainteresowano się zastosowaniem lizatów w procesach neuroregeneracyjnych. Wyniki badań (zarówno *in vitro*, jak i *in vivo*) otrzymane w modelach chorób: stwardnienia zanikowego bocznego (ALS, *amyotrophic lateral sclerosis*), urazowego uszkodzenia mózgu (TBI,



*traumatic brain injury*), Parkinsona czy Alzheimera potwierdziły, że lizaty podtrzymują optymalną strukturę i funkcję neuronów (wykazują działanie neuroprotektoryjne), a w modelu udaru niedokrwionego mózgu potwierdzono także działanie pobudzające tworzenie komórek nerwowych i naczyń krwionośnych. W przypadku ww. jednostek chorobowych ważną jest możliwość indukcji podziałów komórek nerwowych, co daje szansę na poprawę stanu zdrowia pacjentów. W przypadku urazowego uszkodzenia mózgu (TBI) mogącego doprowadzić w zaawansowanej formie do zaburzeń fizycznych, poznawczych, społeczno-emocjonalnych lub nawet śmierci stosuje się wyłącznie leczenie paliatywne (tzn. objawowe). Leczenie lizatami, ze względu na ich szerokie spektrum białek proteomu (zestaw białek występujących w komórce, w danym momencie), może stanowić w tym przypadku jedną z nielicznych opcji terapeutycznych. W celu zapewnienia maksimum bezpieczeństwa do badań stosuje się HPLs poddane nanofiltracji oraz inaktywacji poprzez ogrzewanie (ok. 55°C przez 0,5 h) (IHPPL, *heat-treated Inactivated Platelet Pellet Ly-sate*). Filtracja membranowa zapewnia usunięcie wirusów, natomiast wysoka temperatura zapobiega aktywacji trombiny, aktywacji czynnika XI oraz chroni pacjenta przed ewentualnym ryzykiem zakrzepicy. Pięć-procentowy roztwór IHPPL po tygodniu inkubacji z komórkami mikrogleju i neuronami nie wykazywał w stosunku do nich toksyczności i nie indukował stanu zapalnego, wyrażanego w komórkach przez ekspresję czynników zapalnych (m.in. czynnika martwicy nowotworów [TNF, *tumor necrosis factor*] oraz cyklooksygenazy [COX-2, *cyclooxygenase-2*]), co w połączeniu z badaniami nad podziałami neuronów daje nadzieję na możliwość implementacji lizatów do leczenia układu nerwowego [6, 9, 10].

Aktywne biologicznie substancje zawarte w płytkach krwi sprawiają, że obecnie preparaty płytkopochodne już znalazły swoje zastosowanie w terapii wielu jednostek chorobowych, między

innymi takich jak niegojące się rany i choroby zwyrodnieniowe stawów, a prowadzone obecnie badania mogą umożliwić wykorzystanie tych preparatów w przyszłości, na przykład w chorobach neurodegeneracyjnych oraz regeneracji kości, ścięgien, neuronów i innych.

**Konflikt interesów:** nie zgłoszono

## Piśmiennictwo

1. Burnouf T. Although expired, platelets are now starting a new life in medicine. *Vox Sanguinis* 2022.
2. Delila L, Nebie O, Le N. Preparation and neuroprotective activity of nanofiltered human platelet lysate in Parkinson's disease and traumatic brain injury models. *Vox Sanguinis* 2022.
3. Le N, Han C, Delila L. Proteomics studies of human platelet lysates for optimized applications in cell therapies and regenerative biotherapies. *Vox Sanguinis* 2022.
4. Barro L, Burnouf PA, Chou ML, et al. Human platelet lysates for human cell propagation. *Platelets*. 2020; 32(2): 152–162, doi: 10.1080/09537104.2020.1849602, indexed in Pubmed: 33251940.
5. Antoniewicz-Papis J. Artificial tears to treat dry eye syndrome. *Acta Haematol Pol* 2021; 4 (52): 412–415.
6. Nebie O, Carvalho K, Barro L, et al. Human platelet lysate bi-therapy for traumatic brain injury: preclinical assessment. *Brain*. 2021; 144(10): 3142–3158, doi: 10.1093/brain/awab205, indexed in Pubmed: 34086871.
7. Gao Y, Ku NJ, Sung TC, et al. The effect of human platelet lysate on the differentiation ability of human adipose-derived stem cells cultured on ECM-coated surfaces. *J Mater Chem B*. 2019; 7(45): 7110–7119, doi: 10.1039/c9tb01764j, indexed in Pubmed: 31513217.
8. Mareschi K, Marini E, Niclot AG, et al. A new human platelet lysate for mesenchymal stem cell production compliant with good manufacturing practice conditions. *Int J Mol Sci*. 2022; 23(6), doi: 10.3390/ijms23063234, indexed in Pubmed: 35328655.
9. Nebie O, Barro L, Wu YW, et al. Heat-treated human platelet pellet lysate modulates microglia activation, favors wound healing and promotes neuronal differentiation *in vitro*. *Platelets*. 2020; 32(2): 226–237, doi: 10.1080/09537104.2020.1732324, indexed in Pubmed: 32106742.
10. Delila L, Nebie O, Le N, et al. Neuroprotective activity of a virus-safe nanofiltered human platelet lysate depleted of extracellular vesicles in Parkinson's disease and traumatic brain injury models. *Bioengineering & Translational Medicine*. 2022; 8(1), doi: 10.1002/btm2.10360, indexed in Pubmed: 36684076.