

**ΛΕΥΚΑΦΑΙΡΕΣΗ  
ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΗΣΗ  
ΑΔΡΑΝΟΠΟΙΗΣΗ  
ΚΛΑΣΜΑΤΟΠΟΙΗΣΗ**

# ΛΕΥΚΑΦΑΙΡΕΣΗ

# ΛΕΥΚΑ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΑ - ΠΑΡΕΝΕΡΓΕΙΕΣ

- Άμεσες
- Απώτερες
- Ανάπτυξη αντισωμάτων έναντι των λευκών αιμοσφαιρίων
- Κυτοκίνες από τα λευκά του δότη

# ΛΕΥΚΑ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΑ - ΠΑΡΕΝΕΡΓΕΙΕΣ

- Πυρετικές μη αιμολυτικές αντιδράσεις
- TRALI
- Αλλοανοσοποίηση στα HLA / HPA
- Αδυναμία εύρεσης συμβατού μοσχεύματος
- Οξεία ή απώτερη απόρριψη μοσχεύματος (μυελού / συμπαγούς)
- Μη ικανοποιητική απάντηση στη χορήγηση ουδετεροφίλων

# ΛΕΥΚΑ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΑ - ΠΑΡΕΝΕΡΓΕΙΕΣ

- Ανθεκτικότητα στη χορήγηση αιμοπεταλίων
- Αλλοάνοση νεογνική ουδετεροπενία
- ανοσοτροποποίηση
- Μεταφορά ενδοκυττάρων λοιμωδών παραγόντων  
(CMV, Creutzfeld-Jacob, βακτηριακές λοιμώξεις)

- *Λευκαφαιρεμένα ΣΕ*: λευκά  $<1 \times 10^6$  /μονάδα ΣΕ  
φίλτρα τελευταίας γενιάς
- *Μετά την αιμοληψία* και πριν το διαχωρισμό του ολικού αίματος  
pre storage leukodepletion  
αποφυγή παραγωγής κυτοκινών
- *Πριν τη μετάγγιση*  
εργαστήριο, πιο αποτελεσματική λόγω σταθμισμένων συνθηκών παρά κλίνη
- *Αποθήκευση*: 24 ώρες  
θερμοκρασία +2 έως +6 °C
- Πιθανή απώλεια 15% έως 23% των ερυθρών (αποδεκτός Hct 50-70%)

# ΕΝΔΕΙΞΕΙΣ

- Ιστορικό έστω και ενός επεισοδίου πυρετικής μη αιμολυτικής αντίδρασης
- Πολυμεταγγιζόμενοι ασθενείς  
προφύλαξη από πυρετική αντίδραση /  
αλλοανοσοποίηση
- Αποφυγή μετάδοσης CMV-λοίμωξης ή άλλων  
ενδοκυττάριων λοιμώξεων σε ασθενείς  
με συγγενείς ή επίκτητες ανοσοανεπάρκειες  
που θα υποβληθούν σε ΜΑΚ  
έγκυες γυναίκες

# ΕΝΔΕΙΞΕΙΣ

- Ενδομήτριες μεταγγίσεις, πρόωρα νεογνά και παιδιατρικοί ασθενείς έως 1 έτους
- Υποψήφιοι για μεταμόσχευση συμπαγών οργάνων  
μείωση πιθανότητας απόρριψης μοσχεύματος
- Υποψήφιοι για ΜΑΚ
- Ανοσοτροποποίηση:  
δεν υπάρχουν επαρκείς αποδείξεις για την πρόληψη των μετεγχειρητικών λοιμώξεων και την υποτροπή του καρκίνου



# **ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΗΣΗ**

# TA-GvHD

- Θανατηφόρος νόσος (90-100%)
- Κατά τις μεταγγίσεις ανοσοκατεσταλμένων ασθενών
- Κατά τις μεταγγίσεις ανοσοϊκανών ασθενών από συγγενείς 1<sup>ου</sup> ή 2<sup>ου</sup> βαθμού
- Μη απόρριψη αλλά εμφύτευση και πολλαπλασιασμός των λεμφοκυττάρων των παραγώγων αίματος
- Συμμετοχή δέρματος, ήπατος, γαστρεντερικού, μυελού των οστών, λεμφικού συστήματος

# ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΗΣΗ

- ΣΕ, ΑΜΠ, Ουδετερόφιλα
- γ-ακτινοβολία ή ακτίνες x
- 25-50 Gy, ακτινοβολητή, ισότοπα  $^{137}\text{Cs}$  ή  $^{60}\text{Co}$
- Καταστροφή DNA, αδυναμία πολλαπλασιασμού, αδρανοποίηση λεμφοκυττάρων δότη
- πρόληψη TA-GvHD σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς και σε ανοσοϊκανούς λήπτες από HLA απλοταυτόσημους δότες
- Έως και 14 μέρες από τη συλλογή τους
- Φύλαξη για άλλες 14 μέρες μετά την ακτινοβολήση

# ΑΝΕΠΙΘΥΜΗΤΕΣ ΕΝΕΡΓΕΙΕΣ

- Υπερκαλιαιμία κατά την αποθήκευση τις επόμενες μέρες από την ακτινοβόληση
- Ενδομήτριες μεταγγίσεις / αφαιμαξομεταγγίσεις νεογνών
- Πλύσιμο πριν τη χορήγηση?

# ΕΝΔΕΙΞΕΙΣ

- Οποιαδήποτε μετάγγιση παραγώγου από συγγενή 1<sup>ου</sup> ή 2<sup>ου</sup> βαθμού
- Μετάγγιση HLA συμβατών ΑΜΠ
- Ενδομήτριες μεταγγίσεις, σε νεογνά <1500 gr και ηλικία κύησης <30 εβδομάδες
- Αφαιμαξομετάγγιση νεογνών
- Μετάγγιση ουδετεροφίλων σε παιδιά
- Σύνδρομο ανοσοανεπάρκειας

# ΕΝΔΕΙΞΕΙΣ

- Ασθενείς που υποβάλλονται ή θα υποβληθούν σε ΜΑΚ
- Δότες μοσχεύματος αν χρειάζονται μετάγγιση
- Μετά από θεραπεία από ανάλογα πουργινών (fludarabine, cladribine, deoxycofornycin)
- v.Hodgkin σε όποιο στάδιο
- Ανάλογα με την ένταση της ανοσοκαταστολής σε ασθενείς που υποβάλλονται σε χημειοθεραπεία

*Μη απαραίτητη αν δεν υπάρχουν οι παραπάνω συνθήκες σε ασθενείς με*

- HIV λοίμωξη
- απλαστική αναιμία
- μεταμόσχευση συμπαγών οργάνων
- NHL
- οξεία λευχαιμία
- συμπαγείς όγκους

*Δε συστήνεται ακτινοβόληση*

- FFP
- Κρυσκαθίζημα
- Συμπυκνωμένοι παράγοντες πήξης
- Λευκωματίνη
- Ανοσοσφαιρίνη



# ΑΔΡΑΝΟΠΟΙΗΣΗ

- *Επεξεργασία παραγώγων αίματος με χημικά μέσα ή/και ακτινοβολήση που καθιστούν ανενεργούς τους λοιμογόνους παράγοντες που πιθανώς περιέχουν χωρίς την απομάκρυνσή τους*
- *Εφαρμογή στην παραγωγή πρωτεϊνών μετά την κλασματοποίηση του πλάσματος*
- *Παραγωγή ασφαλέστερων αιμοπεταλίων και πλάσματος*

# Κίνδυνος μετάδοσης λοιμώξεων μέσω των μεταγγίσεων είναι εξαιρετικά χαμηλός

- Προσεκτική επιλογή αιμοδοτών
- Εθελοντής αιμοδότης
- Αρχείο αποκλεισμού αιμοδοτών
- Εργαστηριακός έλεγχος αιμοδότη
- Έλεγχος για λοιμώδεις παράγοντες (HBV, HCV, HIV, σύφιλη, HTLV)

- Παραμένει ο κίνδυνος βακτηριακής επιμόλυνσης και εμφάνισης επεισοδίων κλινικής σήψης

*Αμερικανικός ερυθρός σταυρός*

*ΑΜΠ 1/03/2004 – 31/12/2011*

*677 (+) κ/α 3.426.573 συλλογές*

*πιθανή σήψη 1/10 έως 1/6 μολυσμένους ασκούς*

- Πρωτόζωα
- Ιούς
- Σποραδικός έλεγχος για EBV, CMV, WNV, gram(+)/(-)
- Variant Creutzfeld-Jacob
- Περίοδος «παραθύρου»
- Νέα παθογόνα-καθυστέρηση ανεύρεσης αποτελεσματικής μεθόδου
- Ψευδώς θετικά αποτελέσματα καταστροφή φιαλών

# Ιδανικοί μέθοδοι αδρανοποίησης (FDA)

- Αδρανοποίηση όλων των μικροοργανισμών χωρίς

εισαγωγή νεοαντιγόνων

μείωση λειτουργικότητας προϊόντος

μείωση διάρκεια ζωής προϊόντος

παραμονή υπολειμμάτων/προϊόντων διάσπασης  
ουσιών

# Ιδανικοί μέθοδοι αδρανοποίησης (FDA)

- Συνολικός κίνδυνος από τα αδρανοποιημένα προϊόντα μικρότερος από τον κίνδυνο μετάδοσης παθογόνων μέσω μετάγγισης του αρχικού προϊόντος
- Αποδεκτό κόστος

## Most advanced methods for pathogen reduction of labile blood products.

	<b>Photosensitiser + light source</b>	<b>Blood product</b>	<b>Kill power rate</b>
INTERCEPT Blood System	amotosalen-HCl (psoralen) + UVA (320–400 nm)	FFP, PC	4–7 log <sub>10</sub> steps
MIRASOL PRT system	riboflavin (vitamin B2) + (UA) UVB (265–370)	FFP, PC, RBC, WB	4–6 log <sub>10</sub> steps
THERAFLEX UV-platelet system	None UVC irradiation (254 nm) only	PC	4–6 log <sub>10</sub> steps
S-303 PRT system	S-303 (psoralen), glutathione activation upon pH shift	RBC, WB	4–6 log <sub>10</sub> steps
TMB Plasma system	methylene blue + visible light (590 nm)	FFP	≥6 log <sub>10</sub> steps



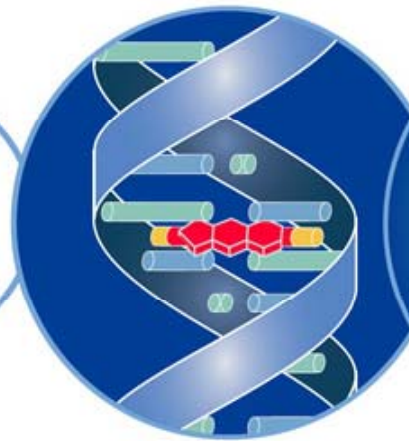
Amotosalen



Targeting

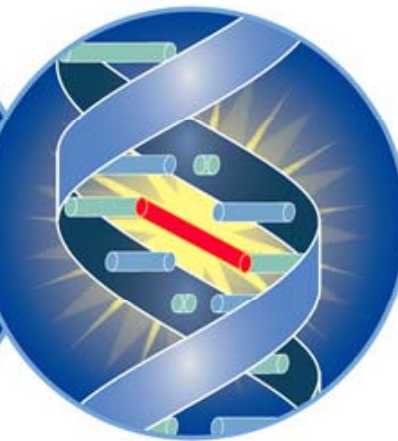


Helical region  
of DNA and RNA

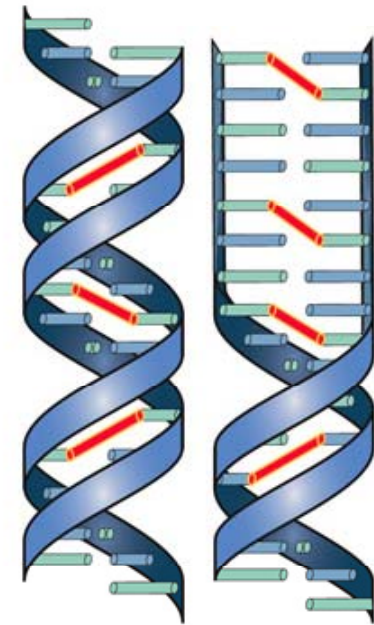


Intercalation

UVA Illumination



Crosslinking



Replication blocked

# AMOTOSALEN (S59)

- Συνθετικό ψωραλένιο
- Έκθεση στο φως, σύνδεση με DNA/RNA, σχηματισμός δεσμών, αναστολή πολλαπλασιασμού
- Δράση σε ιούς με ή χωρίς περίβλημα, Gram(+)/(-) και λευκά
- Σε συνδυασμό με UVA αδρανοποίηση παθογόνων σε ΑΜΠ και πλάσμα
- Μείωση 8-10% του αριθμού των ΑΜΠ (ανάγκη για περισσότερες μονάδες - ίδια αποτελεσματικότητα ως προς την αιμορραγική διάθεση)
- FFP οριακή μείωση παραγόντων πήξης, ικανοποιητική λειτουργικότητα

1. Sterile connect collection bag and transfer product bag



500  $\mu$ M riboflavin solution



Broad spectrum UV light  
6.2 J/mL

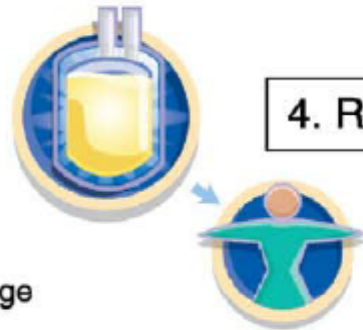


2. Add riboflavin

3. Illuminate for 6-10 minutes



4. Ready to transfuse



Illumination and storage  
in one container

# ΡΙΒΟΦΛΑΒΙΝΗ (B12)

- Αντίδραση με το φως (UV) και παραγωγή ριζών υπεροξειδίων που καταστρέφουν τα νουκλεϊκά οξέα
- Μείωση 5% του αριθμού των ΑΜΠ
- Αποδοτική για παθογόνα σε ΑΜΠ / πλάσμα, ερυθρά (?)
- Ασφαλή τα φωτο-προϊόντα ?
- Αποτελεσματική μέθοδος για HIV, WNV, Parvo B19, Gram(+)/(-)

# ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΗΣΗ με Ultraviolet Light (UVC )

- Καταστοφή νουκλεϊκών οξέων (μήκος κύματος 254nm)
- Απενεργοποίηση κάθε είδους ιών ανεξαρτήτως περιβλήματος
- Πιο ευαίσθητοι οι ιοί με μονόκλωνο DNA (HAV, ραρονovirus)
- Επίδραση στις πρωτεΐνες του πλάσματος (ασταθής αλβουμίνη, ίζημα IVIG)

# γ- ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΗΣΗ

- Άμεση ρήξη νουκλεϊκών οξέων και πρωτεϊνών
- Έμμεση επίδραση στα νουκλεϊκά οξέα και στις πρωτεΐνες μετά την παραγωγή ελευθέρων ριζών
- Χρήση για την παραγωγή παράγοντα VIII και IX

# S-303

- Χρήση στα ερυθρά
- Δεσμούς με DNA/RNA
- Ενεργοποίηση κατά την μεταφορά από χαμηλό σε ουδέτερο pH του αίματος, υδρόλυση, σχηματισμός S-300, μεταβολισμός άμεσα, απέκκριση μη συνδεδεμένου, παραμονή συνδεδεμένου στο ερυθροκύτταρο χωρίς επηρεασμό της λειτουργίας του.
- Αποτελεσματικό σε ιούς, βακτήρια, πρωτόζωα, χωρίς τοξικότητα, ασφαλές για τα ερυθρά
- Αρχικές μελέτες ενθαρρυντικές, αλλά στη συνέχεια εμφανίστηκαν αντισώματα έναντι των επεξεργασμένων ερυθρών

# SOLVENT-DETERGENT (S-D)

- Ευρέως στη βιομηχανία παραγωγής πλάσματος
- Μείγμα οργανικών διαλυτών και μη ιονικών απορρυπαντικών (TNBP και Triton X-100)
- Καταστροφή μεμβράνης περιβλήματος ιών / βακτηρίων
- Αποτελεσματική για ιούς με περίβλημα λιπιδίων (HIV, HBV, HCV, EBV, CMV)
- Μη αποτελεσματική για HAV, Parvo-B19
- Μείωση συγκέντρωσης πρωτεΐνης S και α2-αντιπλασμίνης
- Ευρώπη χωρίς προβλήματα χρήση ευρέως σε αρκετές χώρες
- Αδρανοποίηση πλάσματος και προϊόντων του
- Λόγω καταστροφής μεμβράνης όχι σε ΣΕ και ΑΜΠ



# ΚΥΑΝΟΥΝ ΜΕΘΥΛΕΝΙΟΥ(MB)

- σύνδεση εξωτερικά ή παρεμβολή μεταξύ τμημάτων της έλικας του DNA
- φωτοδυναμικές αλληλεπιδράσεις (620-670nm), καταστροφή νουκλεϊκών οξέων
- Σύνδεση στον πυρήνα ιών, μεμβράνη βακτηρίων/ερυθροκυττάρων
- Υπολειπόμενη χρωστική δυνατό να μειωθεί περαιτέρω με φιλτράρισμα
- Αποτελεσματική στους ιούς με περίβλημα
- Μη ικανοποιητική για HAV, βακτήρια, πρωτόζωα
- 10% απώλεια αρκετών παραγόντων πήξης και ειδικότερα του FVIII / ινοδωγόνου

# ΑΔΡΑΝΟΠΟΙΗΣΗ – συμπυκνωμένα ερυθρά / ολικό αίμα

- Σε φάσεις μελετών
- Intercept συμπυκνωμένα ερυθρά
- Mirasol ολικό αίμα

# ΑΔΡΑΝΟΠΟΙΗΣΗ – ΑΜΠ

Δεν αποδεικνύεται διαφορά μεταξύ αδρανοποιημένων και συμβατικών ΑΜΠ

- Θνητότητα
- Κλινικά σημαντική ή σοβαρή αιμορραγία
- Αντιδράσεις στις μεταγγίσεις
- Ανεπιθύμητα συμβάματα

*Παράταση χρόνου χρόνου ζωής PLT*

*Περιορισμό ακτινοβολήσης*

# ΑΔΡΑΝΟΠΟΙΗΣΗ και GnHD

- Θεωρητικά η αδρανοποίηση θα μπορούσε να αντικαταστήσει την ακτινοβόληση
- Οι τεχνικές που επιδρούν στα νουκλεϊκά οξέα αδρανοποιούν επίσης και τα λευκά που μπορούν να προκαλέσουν TA-GnHD
- AMOTOSALEN, ριβοφλαβίνη αποτρέπουν GnHD

# ΑΔΡΑΝΟΠΟΙΗΣΗ – ΚΛΙΝΙΚΗ ΠΡΑΞΗ

*Καθυστέρηση εφαρμογής ευρέως*

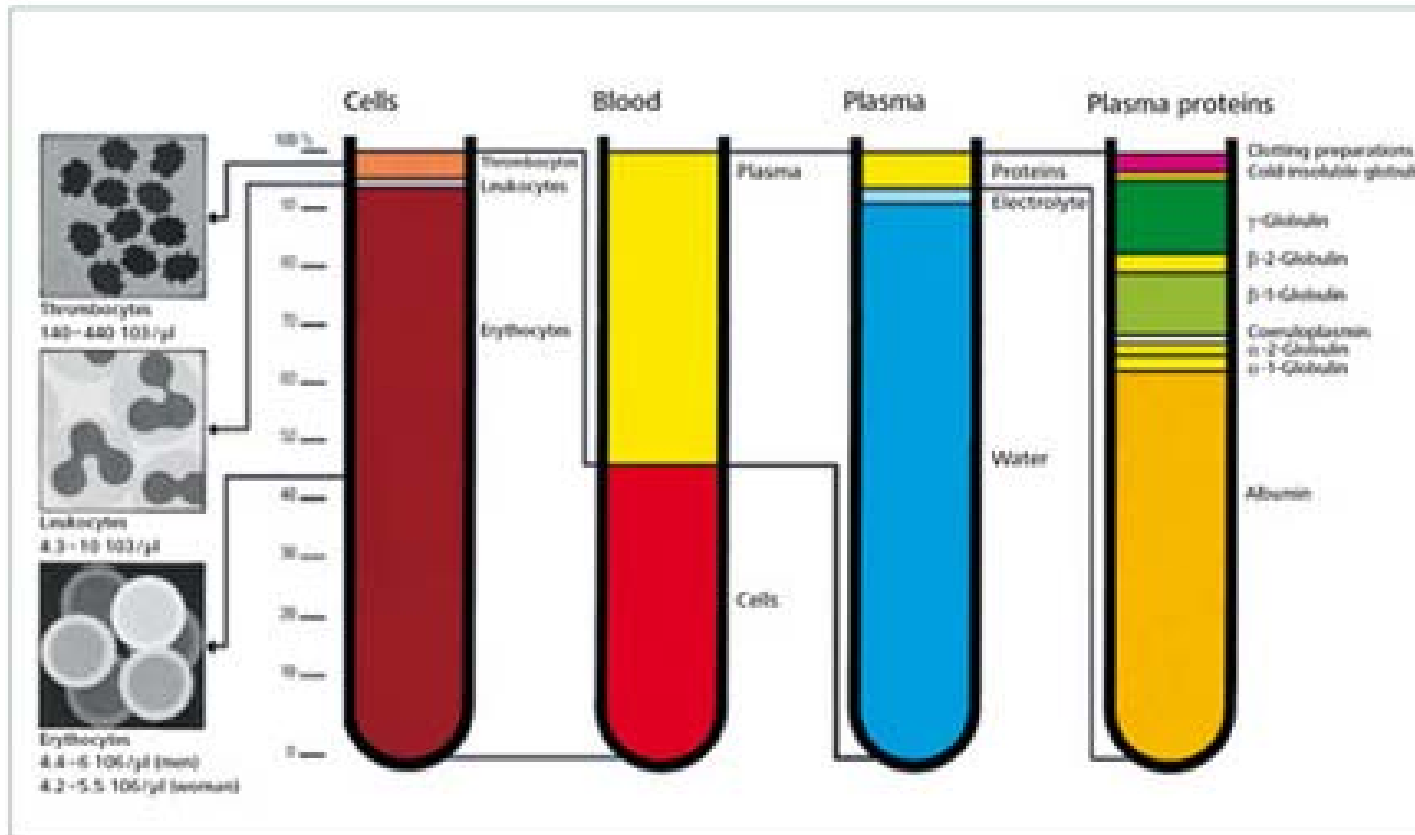
- Μεγάλη ασφάλεια προϊόντων αίματος
- Απουσία μεθόδου εφαρμόσιμης στο ολικό αίμα ή σε όλα τα προϊόντα
- Ανικανότητα αδρανοποίησης όλων των παθογόνων

# **ΚΛΑΣΜΑΤΟΠΟΙΗΣΗ ΠΛΑΣΜΑΤΟΣ**

- *Διαδικασία διαδοχικής επεξεργασίας του πλάσματος με σκοπό το διαχωρισμό συγκεκριμένων πρωτεϊνών και την παρασκευή σημαντικών φαρμακευτικών προϊόντων*

**Πλάσμα 55% του όγκου του αίματος διαφανές ωχροκίτρινο υγρό που περιέχει:**

**•Νερό, πρωτεΐνες, γλυκόζη, λιπίδια, βιταμίνες, ορμόνες, άλατα**





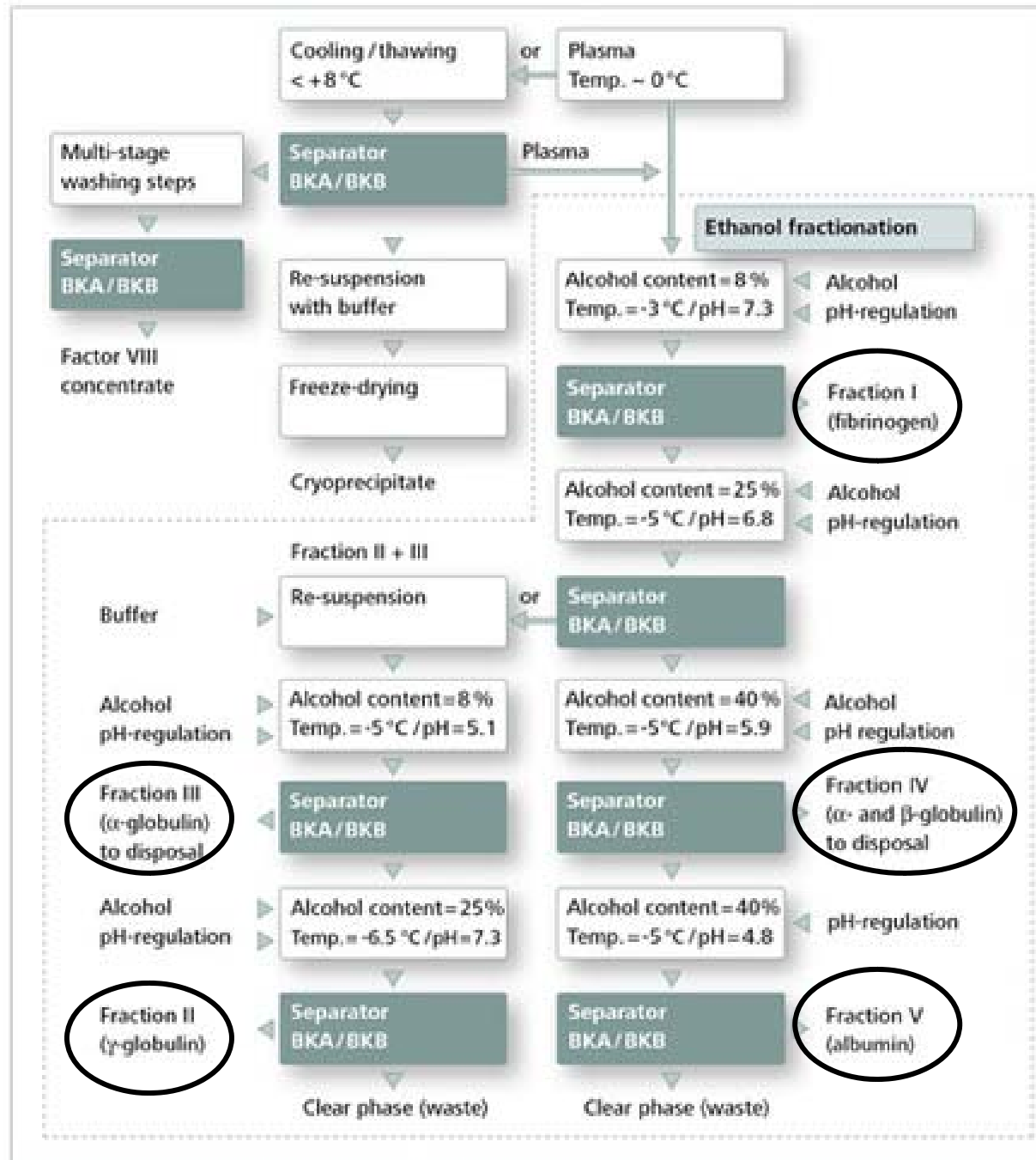
- Βιομηχανική επεξεργασία πλάσματος από μεγάλο αριθμό μονάδων σε δεξαμενές
- Ετησίως κλασματοποιούνται  $22-25 \times 10^6$  lt πλάσματος σε περίπου 70 κέντρα παγκοσμίως, ιδιωτικά ή κρατικά, στις ανεπτυγμένες χώρες και με δυνατότητα επεξεργασίας από 50.000 έως  $3 \times 10^6$  lt (βιομηχανία \$ 6.9 δις)
- Ετήσιες ανάγκες της Ελλάδας σε λευκωματίνη καλύπτονται με 5-6 τόνους πλάσματος το χρόνο.

# Πηγές πλάσματος για κλασματοποίηση

- Αυτοτοποιημένη πλασμαφαίρεση δότη
- Ανακτώμενο πλάσμα - μετά τη φυγοκέντρηση ολικού αίματος και την απομάκρυνση όλων των κυτταρικών στοιχείων
- Φρέσκο κατεψυγμένο στους  $-20$  έως  $-30$  °C (διατήρηση παραγόντων πήξης - κατάψυξη εντός 6-8 ωρών από τη συλλογή για τη διατήρηση του FVIII)
- Υπερ-άνοσο πλάσμα - δότες με υψηλό τίτλο αντισωμάτων (anti-D, anti-Rho, anti-HAV, anti-HBs, anti-tetanus, anti-varicella/herpes zoster)

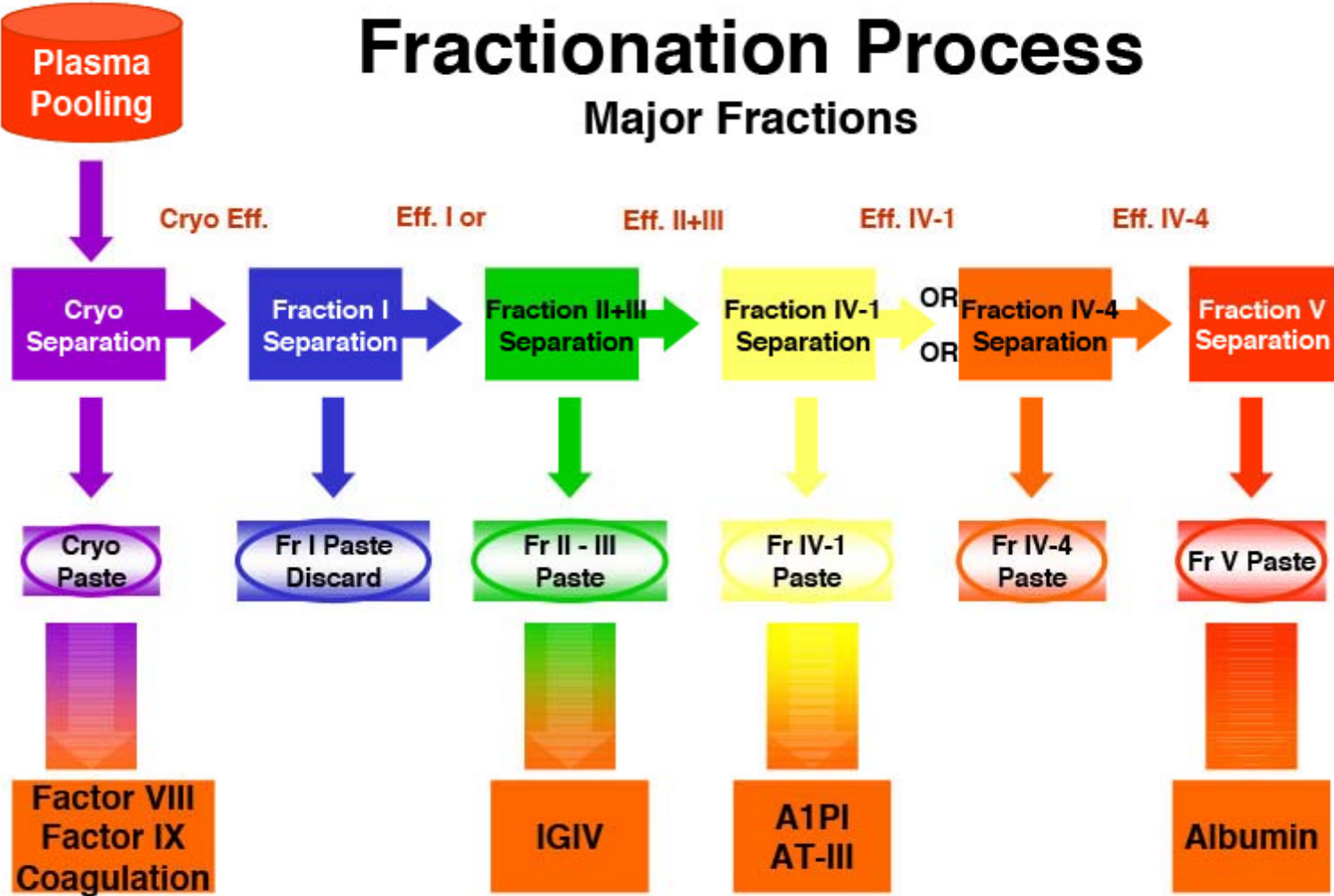
# ΜΕΘΟΔΟΣ COHN

- Δεξαμενή διαχωρίζονται (κλασματοποιούνται) 10000lt ή 50000 μονάδες
- Διατήρηση βιολογικής ενεργότητας
- Πρωτεΐνες έχουν διαφορετική διαλυτότητα που επιτρέπει το διαχωρισμό ανάλογα με  
*pH*  
*θερμοκρασίας*  
*συγκέντρωση εθανόλης*  
*συγκέντρωση ιόντων*  
*συγκέντρωση πρωτεΐνης*



# Fractionation Process

## Major Fractions



# ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ

- Εμφάνιση 1969
- Ανάπτυξη από 1980
- Βελτίωση καθαρότητας προϊόντων
- Αυξημένη απόδοση ποσότητας πρωτεϊνών
- Απενεργοποίηση ιών, prions
- Αφαίρεση ενδοτοξινών και χημικών που χρησιμοποιούνται για την απενεργοποίηση

<b>Products</b>	<b>Main Indications</b>
<b>Albumin</b>	
Human Serum Albumin	Volume replacement
<b>Blood Coagulation factors</b>	
<b>Factor VIII</b>	<b>Haemophilia A</b>
Prothrombin complex (PCC/PPSB)	Complex liver diseases; warfarin or coumarin derivatives reversal
<b>Factor IX</b>	<b>Haemophilia B</b>
Factor VII	Factor VII deficiency
<b>Von Willebrand Factor</b>	<b>von Willebrand factor deficiency (Type 3 and severe forms of Type 2)</b>
Factor XI	Haemophilia C (FXI deficiency)
Fibrinogen	Fibrinogen deficiency
Factor XIII	Factor XIII deficiency
Activated PCC	Haemophilia with anti-FVIII (or FIX) inhibitors

<b>Protease inhibitors</b>	
Antithrombin	Antithrombin III deficiency
Alpha 1 antitrypsin	Congenital deficiency of alpha 1 antitrypsin with clinically demonstrable panacinar emphysema
C1-inhibitor	Hereditary angioedema
<b>Anticoagulants</b>	
Protein C	Protein C deficiency / (thrombosis)
<b>Fibrin sealant (fibrin glue)</b>	Topical haemostatic / healing / sealing agent (surgical adjunct)



<b>Intramuscular Immunoglobulins (IMIG)</b>	
Normal (polyvalent)	Prevention of hepatitis A (also rubella, and other specific infections)
hepatitis B	Prevention of hepatitis B
tetanus	treatment or prevention of tetanus infection
anti-Rho(D)	Prevention of the haemolytic disease of the new-born
Rabies	Prevention of rabies infection
Varicella/zoster	Prevention of chicken-pox infection

<b>Intravenous Immunoglobulins (IVIg)</b>	
normal (polyvalent)	Replacement therapy in immune deficiency states immune modulation in immune disorders
Cytomegalovirus (CMV)	Prevention of CMV infection (e.g.after Bone Marrow Transplantation)
Hepatitis B	Prevention of HBV infection (e.g.liver transplant)
Rho (D)	Prevention of the haemolytic disease of the new-born.
<b>Intravenous Immunoglobulins M</b>	septic shock; binding of endotoxins

# ΑΣΦΑΛΕΙΑ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

- Όλοι οι δότες ελέγχονται για HBV, HCV, HIV, HTLV, σύφιλη
- Αδρανοποίηση ιών
- Παστερίωση
- Διήθηση ιών

# ΑΣΦΑΛΕΙΑ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

- Λευκωματίνη, χωρίς κίνδυνο μετάδοσης λόγω θερμικής αποστείρωσης κατά την παρασκευή
- Ανοσοσφαιρίνες, χωρίς κίνδυνο μετάδοσης- κανένας από τους γνωστούς παράγοντες δεν βρίσκεται στο κλάσμα του πλάσματος από το οποίο προέρχονται
- Παράγοντες πήξης υπόκεινται σε διαδικασίες αποστείρωσης και αδρανοποίησης

- *Επιτακτική η παραγωγή πλάσματος για την κάλυψη αναγκών  
λευκωματίνης  
ανοσοσφαιρών  
παραγόντων πήξης  
σε ικανή ποσότητα και σε χαμηλό κόστος*