

**ΛΕΥΚΑΦΑΙΡΕΣΗ
ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΗΣΗ
ΑΔΡΑΝΟΠΟΙΗΣΗ
ΚΛΑΣΜΑΤΟΠΟΙΗΣΗ**

ΛΕΥΚΑΦΑΙΡΕΣΗ

ΛΕΥΚΑ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΑ - ΠΑΡΕΝΕΡΓΕΙΕΣ

- Άμεσες
- Απώτερες
- Ανάπτυξη αντισωμάτων έναντι των λευκών αιμοσφαιρίων
- Κυτοκίνες

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
- Ανθεκτικότητα στη χορήγηση αιμοπεταλίων
- Αλλοάνοση νεογνική ουδετεροπενία
- ανοσοτροποποίηση
- Μεταφορά ενδοκυττάριων 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 ΜΑΚ
μείωση πιθανότητας απόρριψης μοσχεύματος
- Υποψήφιοι για μεταμόσχευση συμπαγών οργάνων
- 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
- Μη απόρριψη αλλά πολλαπλασιασμός 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}Cs ή ^{60}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^{ου} ή 2^{ου} βαθμού
- Μετάγγιση HLA συμβατών ΑΜΠ
- Ενδομήτριες μεταγγίσεις σε νεογνά <1500 gr και ηλικία κύησης <30 εβδομάδες
- Αφαιμαξομετάγγιση νεογνών
- Μετάγγιση ουδετεροφίλων σε παιδιά
- Σύνδρομα ανοσοανεπάρκειας

ΕΝΔΕΙΞΕΙΣ

- Ασθενείς που υποβάλλονται ή θα υποβληθούν σε ΜΑΚ
- Δότες μοσχεύματος αν χρειάζονται μετάγγιση
- Μετά από θεραπεία από ανάλογα πουργινών (fludarabine, cladribine, deoxycytosine)
- 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

ΑΔΡΑΝΟΠΟΙΗΣΗ

- Επεξεργασία παραγώγων αίματος με χημικά μέσα ή/και ακτινοβόληση που καθιστούν ανενεργούς λοιμογόνους παράγοντες που πιθανώς περιέχουν χωρίς την απομάκρυνσή τους

Κίνδυνος μετάδοσης λοιμώξεων μέσω των μεταγγίσεων είναι εξαιρετικά χαμηλός

- προσεκτική επιλογή αιμοδοτών
- έλεγχος για λοιμώδεις παράγοντες (HBV, HCV, HIV, σύφιλη, HTLV)

- Παραμένει ο κίνδυνος βακτηριακής επιμόλυνσης (ΑΜΠ-πιθανή σήψη)
- Πρωτόζωα
- 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
- Συνολικός κίνδυνος από τα αδρανοποιημένα προϊόντα μικρότερος από τον κίνδυνο μετάδοσης παθογόνων μέσω μετάγγισης του αρχικού προϊόντος
- Αποδεκτό κόστος

SOLVENT- DETERGENT (S-D)

- Καταστροφή μεμβράνης περιβλήματος ιών / βακτηρίων
- Μείγμα οργανικών διαλυτών και μη ιονικών απορρυπαντικών (TNBP και Triton X-100)
- Αποτελεσματική για ιούς με περίβλημα λιπιδίων (HIV, HBV, HCV, EBV, CMV)
- Μη αποτελεσματική για HAV, Parvo-B19
- Μείωση συγκέντρωσης πρωτεΐνης S και α2-αντιπλασμίνης
- ΗΠΑ αποσύρση 2002 λόγω θρομβώσεων σε ασθενείς με μεταμόσχευση ήπατος
- Ευρώπη μέθοδος διαφέρει, 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
- Μεταλλαξιογόνο? (στα βακτήρια ναι)

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

S-303

- 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

PEN 110 (INACTINE)

- Σύνδεση με νουκλεϊκά οξέα → ανενεργά
- Αδρανοποίηση παθογόνων ερυθρών (ιούς και βακτήρια, αλλά όχι σε υψηλές συγκεντρώσεις βακτηρίων-περισσότερες μελέτες χρειάζονται)
- Χωρίς επίδραση στην επιβίωση των ερυθρών
- Ανάπτυξη ανοσολογικής αντίδρασης στα επεξεργασμένα ερυθρά ασθενών με δρεπανοκυτταρική

ΡΙΒΟΦΛΑΒΙΝΗ (B12)

- Αντίδραση με το φως (UV) και παραγωγή ριζών υπεροξειδίων που καταστρέφουν τα νουκλεϊκά οξέα
- 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, parvovirus)
- 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

ΑΔΡΑΝΟΠΟΙΗΣΗ και GnHD

- Οι τεχνικές που επιδρούν στα νουκλεϊκά οξέα αδρανοποιούν επίσης και τα λευκά που μπορούν να προκαλέσουν TA-GnHD
- AMOTOSALEN, PEN110, ριβοφλαβίνη αποτρέπουν GnHD (μελέτες στα ποντίκια)
- Θεωρητικά η αδρανοποίηση θα μπορούσε να αντικαταστήσει την ακτινοβόληση

ΑΔΡΑΝΟΠΟΙΗΣΗ – ΚΛΙΝΙΚΗ ΠΡΑΞΗ

- *Πλάσμα*
Solvent detergent, Methylene Blue, S-59 και η ριβοφλαβίνη
- *ΑΜΠ*
S-59
- *Ερυθρά*
Δεν υπάρχει εγκεκριμένη μέθοδος

ΑΔΡΑΝΟΠΟΙΗΣΗ – ΚΛΙΝΙΚΗ ΠΡΑΞΗ

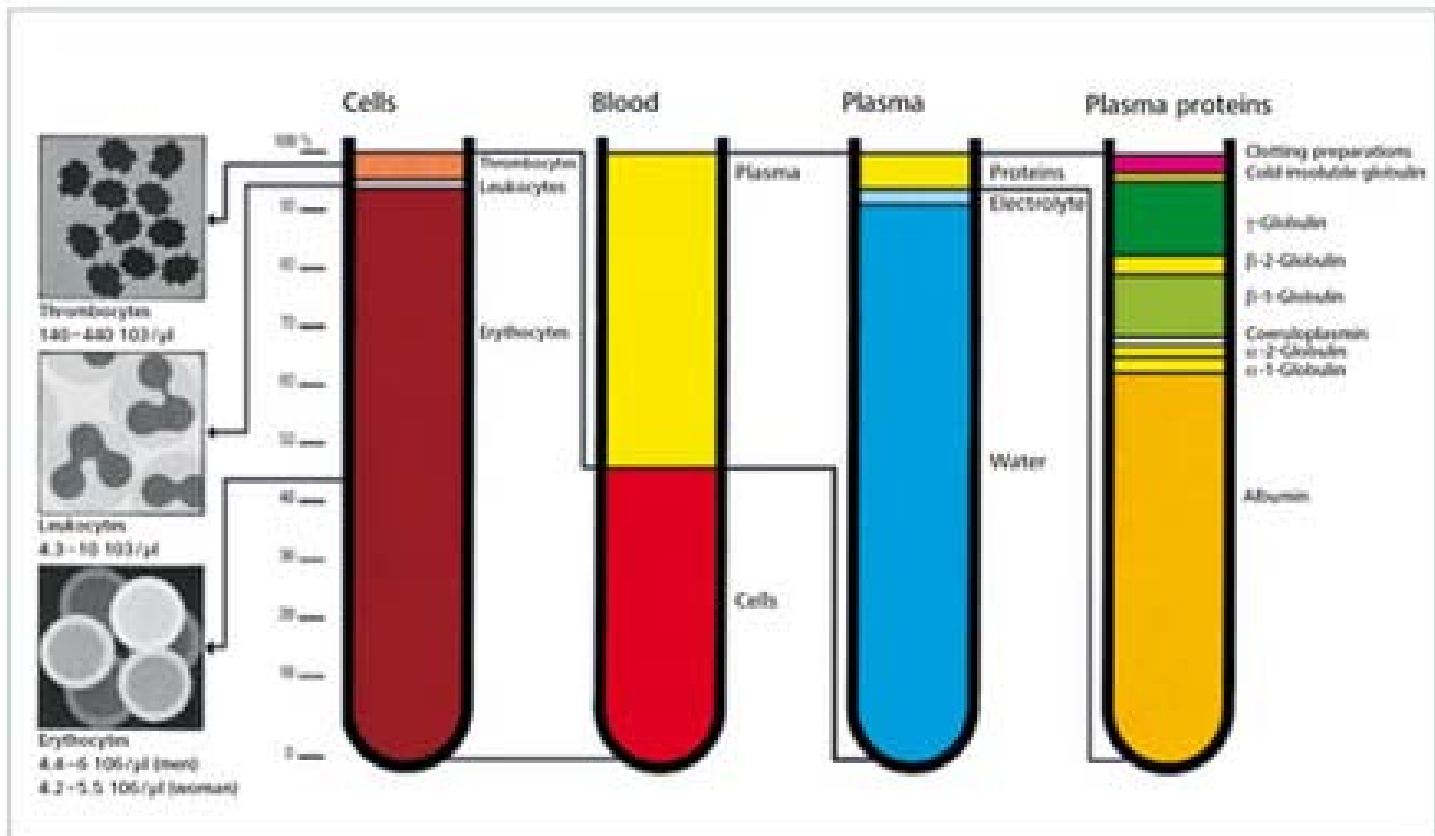
Καθυστέρηση εφαρμογής

- Μεγάλη ασφάλεια προϊόντων αίματος
- Απουσία μεθόδου εφαρμόσιμης στο ολικό αίμα ή σε όλα τα προϊόντα
- Ανικανότητα αδρανοποίησης όλων των παθογόνων
- Αντιμετώπιση αναδυόμενων παθογόνων με ανάπτυξη νέων τεχνικών
- Ανησυχία για πιθανές παρενέργειες από τα υπολειπόμενα χημικά προϊόντα

ΚΛΑΣΜΑΤΟΠΟΙΗΣΗ ΠΛΑΣΜΑΤΟΣ

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

- Βιομηχανική επεξεργασία πλάσματος από μεγάλο αριθμό μονάδων αίματος 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 3×10^6 lt (βιομηχανία \$ 6.9 δις)
- Ετήσιες ανάγκες της Ελλάδας σε λευκωματίνη καλύπτονται με 5-6 τόνους πλάσματος το χρόνο.

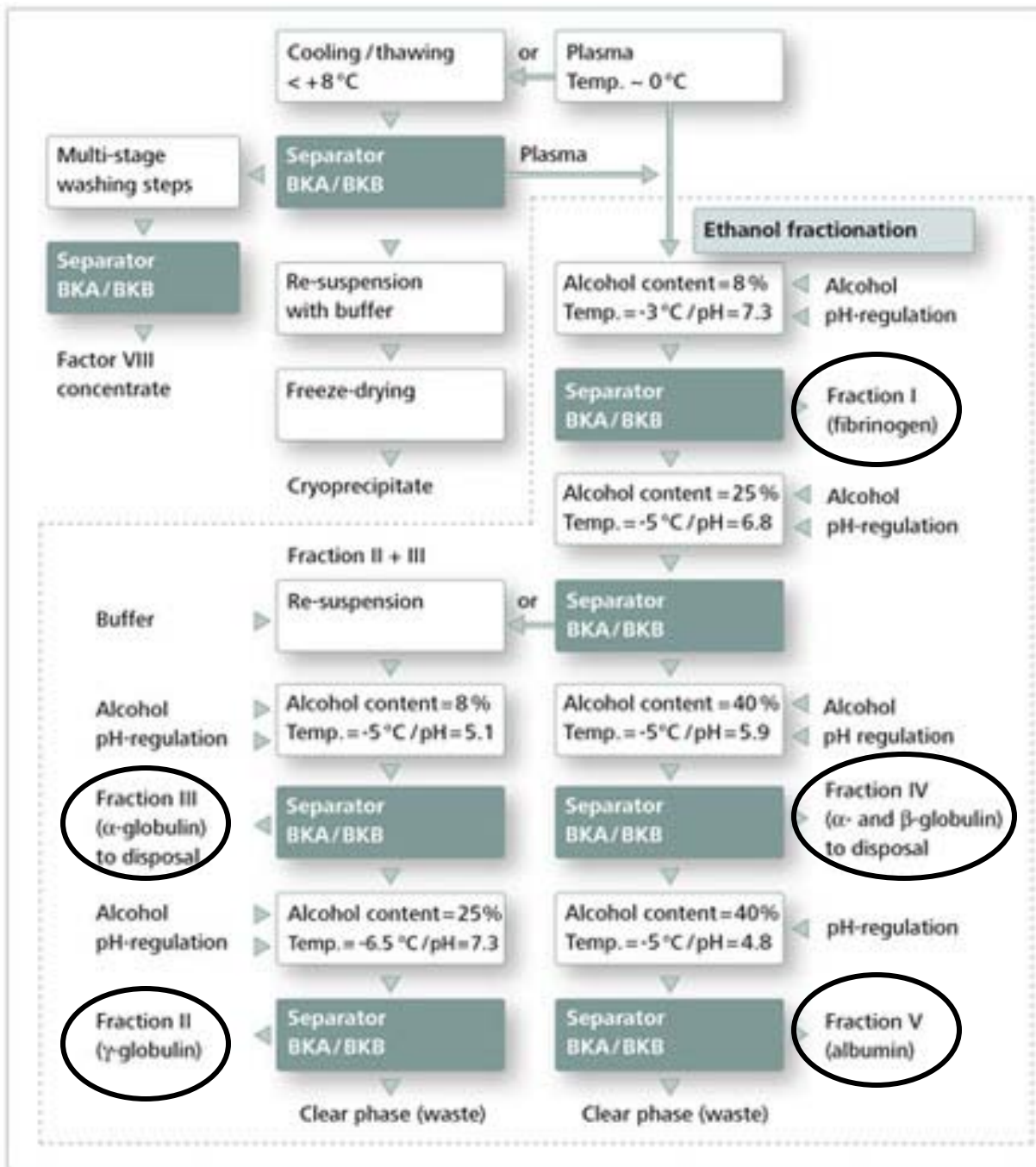


Πηγές πλάσματος για κλασματοποίηση

- Αυτοποποιημένη πλασμαφαίρεση δότη
- Ανακτώμενο πλάσμα - μετά τη φυγοκέντρηση ολικού αίματος και την απομάκρυνση όλων των κυτταρικών στοιχείων
- Φρέσκο κατεψυγμένο στους -20 έως -30 °C
- 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 10000lt ή 50000 μονάδες διαχωρίζονται (κλασματοποιούνται)
- Διατήρηση βιολογικής ενεργότητας
- Πρωτεΐνες έχουν διαφορετική διαλυτότητα που επιτρέπει το διαχωρισμό ανάλογα με
pH
θερμοκρασίας
συγκέντρωση εθανόλης
συγκέντρωση ιόντων
συγκέντρωση πρωτεΐνης



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

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

| | |
|---|---|
| Intramuscular Immunoglobulins (IMIG) | |
| 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 |

| | |
|---|--|
| Intravenous Immunoglobulins (IVIg) | |
| 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. |
| Intravenous Immunoglobulins M | septic shock; binding of endotoxins |

ΑΣΦΑΛΕΙΑ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

- Όλοι οι δότες ελέγχονται για HBV, HCV, HIV, HTLV, σύφιλη
- 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*