

# VÉRKÉSZÍTMÉNYEK, PLAZMADERIVÁTUMOK

Dr. Pécs Miklós



Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem,  
Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék



HMF Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

1

---

---

---

---

---

---

---

---

# A VÉR BIOKÉMIÁJA

Áramló folyadék, amely anyagokat és hőt szállít a szervezetben belül, és beállítja az állandó belső környezetet a sejtek számára. A sejt közötti folyadékban diffúziós transzport működik, a vér viszont áramlik = konvekciós transzport. Kétirányú: a sejtekhez viszi a tápanyagokat és az oxigént, elszállítja az anyagcseretermékeket, a szén-dioxidot és a hőt.

Lazarostos kötőszövet.  
Mennyisége kb. 5 liter.  
Vér = vérplazma + sejt elemek  
Vér = szérum + vérelempény



2

---

---

---

---

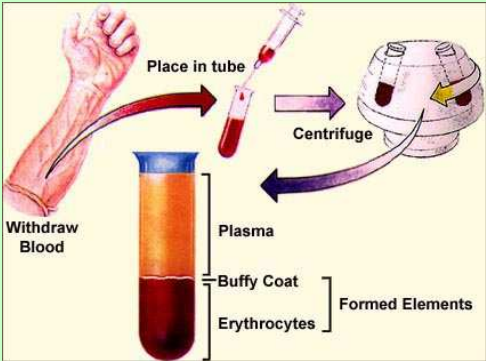
---

---

---

---

# A VÉR BIOKÉMIÁJA



3

---

---

---

---

---

---

---

---



### VÉRKÉSZÍTMÉNYEK

Vérkészítmény	Biológiai hatást kifejtő komponens	Tárolás	Lejárat
<b>Trombocita készítmények</b>			
Trombocita koncentrátum	trombociták	20 - 24°C	5 nap
Fehérvérsejt mentesre szűrt tromb. koncentrátum	trombociták	20 - 24°C	1-5 nap
Fagyasztott, felolvasztott, mosott trombocita konc.	trombociták	Az elkészítés után azonnal	
Fehérvérsejt konc.	granulociták	20 - 24°C	24 óra
<b>Plazmakészítmények</b>			
Friss fagyasztott plazma	Plazmafehérjék és labilis alvadási faktorok	-25°C alatt	1 év
Friss fagyasztott plazma	Plazmafehérjék	-25°C alatt	1 év
Krioprecipitátum	vW faktor, faktor VIII, XIII fibrinogén, fibronectin	-25°C alatt	1 év

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék 7

---

---

---

---

---

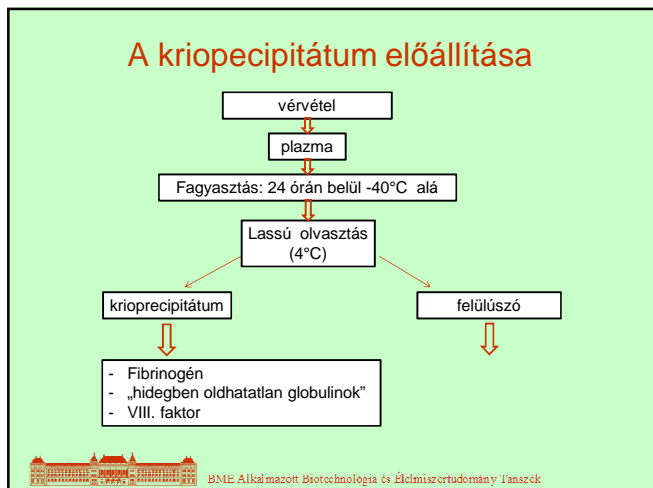
---

---

---

---

---




---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### PLAZMAFEHÉRJÉK

1l Plazma

6 - 8% Protein

92 - 94% víz  
(sószenhidrát, zsír)

40 - 50 g/l Albumin

10 - 25 g/l Immunoglobulinok

2 - 4 g/l Fibrinogén

9 - 10 g/l 6 nagy mólsúlyú fehérje (Transferrin, Haptoglobin, C<sub>3</sub>, α<sub>2</sub>-Makroglobulin, α<sub>1</sub>-Proteinase-Inhibitor, Apolipoprotein I)

8,5 g/l kb. 110 különböző plazmafehérje (többek között alvadási faktorok és enzim inhibitorok)

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék 9

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

## VÉRFEHÉRJÉK

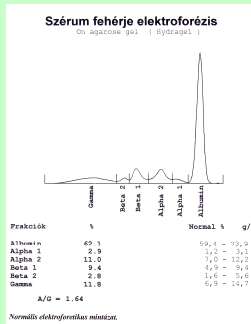
Több frakció:

**Albumin:** pufferol, beállítja az ozmózisnyomást, N tartalék, apoláros hordozó.

**Globulinok** ( $\alpha_1$   $\alpha_2$   $\beta_1$   $\beta_2$ ) Gliko- és lipoproteinek, szállító funkció

**$\gamma$  globulin:** immunfehérjék, antitestek, a fehér vérszettek termelők

**Véralvadási faktorok:** fibrinogén




---

---

---

---

---

---

---

---

---

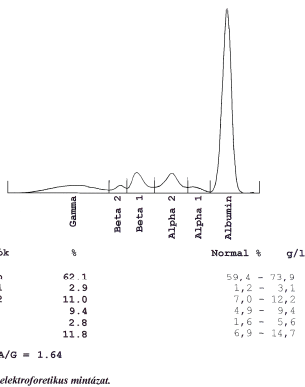
---

---

---

## Sérum fehérje elektroforézis

(On agarose gel / Hydragel)




---

---

---

---

---

---

---

---

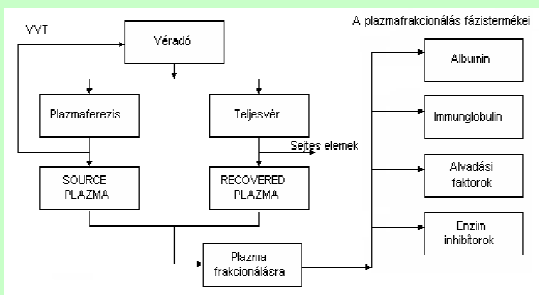
---

---

---

---

## A VÉRPLAZMA FRAKCIONÁLÁSA




---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

## PLAZMADERIVÁTUMOK

Albumin	Alvadási faktorkok	Immunoglobulinok	Enzim inhibitorok	Egyéb
5% és 20%-os infúziós oldatok	Faktor VIII, IX, Faktor X, XIII Fibrinogen FI PCC (protrombin komplex koncentrátum) (FII, VII, IX, X, prot S, C) vW faktor Aktivált PCC	16 %-os im. IgG Intravénás IgG Anti-tetanusz Anti-D IgG Anti-CMV IgG Hep B IgG Veszétség ell. Anti varicella IgM gazdag	AntitrombinIII C1 észteráz inhibitor Alfa1-proteináz inhibitor	Fibrin ragasztó



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

13

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

## 1. ALBUMIN KÉSZÍTMÉNYEK

Termék	Indikáció	Molekul a súly Dalton	Plazma konc. g/l	Kihozatal g/l
ALBUMIN 20%	Ozmózis nyomás emelése	66.000	30-35	22-27
ALBUMIN 5%	Plazma volumen pótlás Nem fehérje pótszer!			
PPS, Plazma Protein Oldat	Plazma volumen pótlás	66.000	33-38	30-32



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

14

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

## 2. IMMUNGLOBULINOK

Termék	Indikáció	Molsúly D	Plazma konc. g/l	Kihozatal g/l
IgG subcutan	Szubsztitúciós kezelésre primer immunhiányos (PID)szindrómákban: – változó immunhiány – súlyos kombinált immunhiány – IgG alosztály hiány esetén ismétlődő infekciókban	169.000	12	4
IgG iv.	PID, SID, ITP	169.000	12	3-4
Tetanusz IgG	Tetanusz fertőzés megelőzése	169.000		
Anti D IgG	Rh negatív szülő nők	169.000		
Anti CMV IgG	CMV fertőzés megelőzése (transzplantációknál)	169.000		
Hepatitisz B, rubeola, veszétség, kullancs enc.				



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

15

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### 3. HEMOSZTATIKUMOK

Termék	Indikáció	Molsúly Dalton	Plazma konc. g/l	Kihozatal %
Faktor VIII	„A” hemofiliások kezelése	300.000	$3 \times 10^{-4}$	18-22
FVIII + vW fakt.	vWillebrand betegek kezelése	1-4 M		15
Faktor IX	B hemofiliások kezelése	57.000	$5 \times 10^{-3}$	12-18
F II,VII,IX,X PCC	Orálisan alvadásgátló betegek kezelése	72.000 50.000 59.000	0,1 $5 \times 10^{-3}$ $10 \times 10^{-3}$	15-25
Aktivált PCC	Inhibitoros „A” hemofiliások kezelése			
Fibrinogén F1	Fibrinogén hiány szubsztitúciója	340.000	2,5-4,5	10
Faktor XIII	Sebgyógyulás gyorsítása	320.000	$5 \times 10^{-3}$	20
Trombin=FIIa	Fibrin aktiváló enzim	72.000	0,1	500 NE/ml

16

---

---

---

---

---

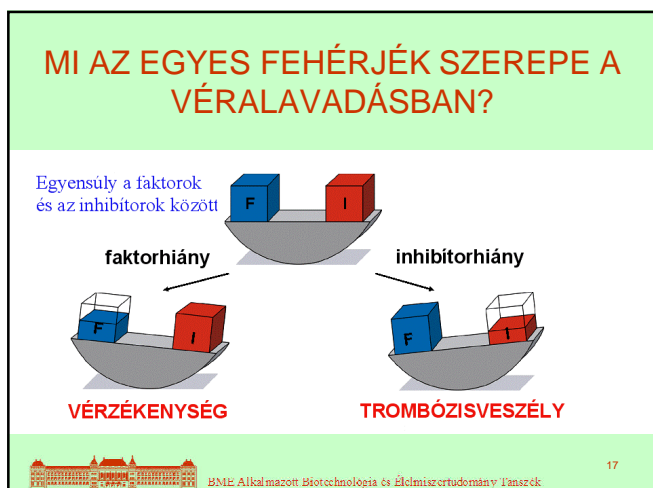
---

---

---

---

---




---

---

---

---

---

---

---

---

---

---




---

---

---

---

---

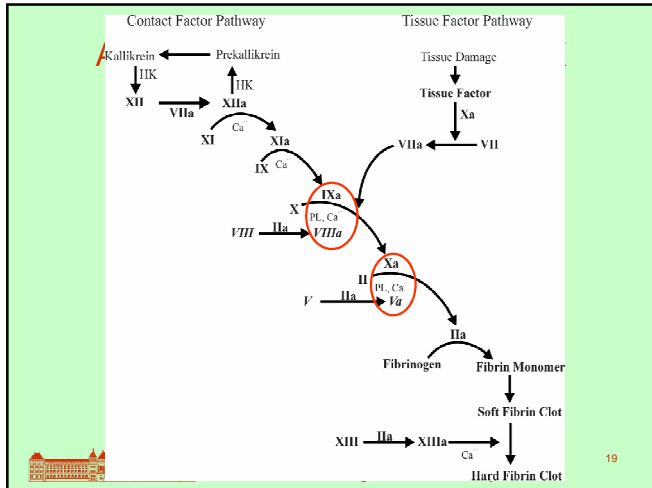
---

---

---

---

---




---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

## VÉRALVADÁS 2.

Biológiai erősítés: parányi kis változásból komoly anyagmennyiség átalakulása lesz:

XII faktor – 10 ppb



IX faktor – 3-5000 ppb



Fibrinogén – 4.000.000 ppb

A kétféle alvadási reakciósor a X (Stuart) faktor aktiválásával közösen folytatódik.

Az X<sub>a</sub> faktor a III, IV és V faktorokkal (foszfolipid, kalcium, akcelerín) katalizálja a protrombin → trombin (II → II<sub>a</sub>) átalakulást.

---

---

---

---

---

---

---

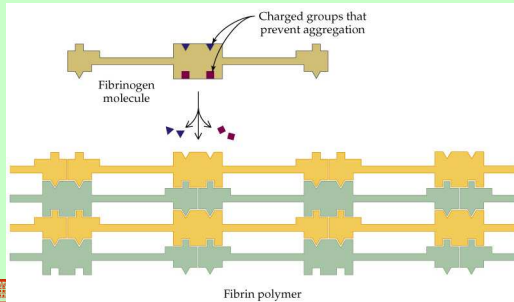
---

---

---

## VÉRALVADÁS 3.

A trombin a fibrinogén → fibrin (I → I<sub>a</sub>) folyamatot katalizálja. A fibrin ezután lineáris kötegekké polimerizálódik, majd a XIII<sub>a</sub> (Laki-Lóránd) faktor térhálósítja.




---

---

---

---

---

---

---

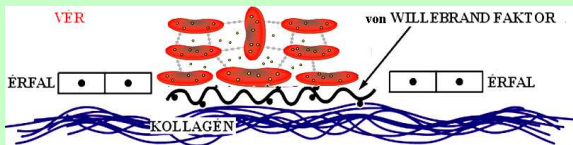
---

---

---

## TROMBOCITA AGGREGÁCIÓ

Ha az érrendszer valahol megsérül, akkor a sérülés helyén a vérlemezkék a sérült érfalhoz tapadnak, és az odatapadtak közé mindig újabbak rakódnak le. Ha a sérülés kicsi, ez önmagában is elég lehet a lezáráshoz. Ha viszont a sérülés nagyobb, akkor a plazmatikus véralvadás is megindul, és a fibrin tartja össze a lemezkéket.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

22

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

## 4. INHIBITOR OLDAL

Inhibitor	Gátolt fehérje
Antithrombin III (+heparin)	Thrombin F Xa F XIIa, F XIa, F VIIa
Protein C és Protein S	F VIIIa F Va

### A véralvadás gátlása:

- Ca megkötése, oxaláttal vagy citráttal
- heparin (poliszacharid, állati szervekből)
- hirudin (pióca, rec-fehérje)
- kumarin-származékok (rágcsálóirtó szer, antidotum: K-vitamin)



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

23

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

## TECHNOLÓGIÁK

Technológiák kialakulása, fejlődése

- 1940 USA Hadügyminisztérium kutató csoport
- 1941 Pilot Plant laboratórium (Harvard)
- 1946 COHN 6. Method (E.J. Cohn and co-workers J.Am.Chem. Soc. 68. 459-475 1946)
- 1962 KISTLER & NITSHMANN Method
- 1960-70 egyéb kicsapószer
- 1970- Kromatográfiai technológia,
- 1970- Alvadási faktorok iv IgG
- 1980- Nagy tisztaságú faktor készítmények
- 1990- Rekombináns készítmények



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

24

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---





## Vírusinaktiválás / eltávolítás

**Fizikai módszerek**

<p><b>Inaktiválás hőkezeléssel</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li><input type="checkbox"/> Pasztörizálás</li> <li><input type="checkbox"/> Száraz hőkezelés</li> <li><input type="checkbox"/> Gőzölés</li> </ul>	<p><b>Eltávolítás</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li><input type="checkbox"/> Nanoszűrés</li> <li><input type="checkbox"/> Kromatográfiai módszerek</li> <li><input type="checkbox"/> Kicsapás</li> </ul>
--	---

<p><b>Kémiai módszerek</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li><input type="checkbox"/> Solvens – Detergens eljárás</li> <li><input type="checkbox"/> <math>\beta</math>-Propiolakton</li> <li><input type="checkbox"/> Jód</li> </ul>	<p><b>Fotokémiai módszerek</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li><input type="checkbox"/> Metilénkék</li> <li><input type="checkbox"/> Psoralen</li> <li><input type="checkbox"/> Hypericin</li> </ul>
---	---

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék 28

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

## Vírusinaktiválás / eltávolítás

**PASZTORIZÁLÁS**

Fehérje oldat

↓

Stabilizálószer adagolás

↓

Hőkezelés 10 óra 60°C (vízfürdő v.duplikátor)

↓

Stabilizálószer eltávolítás

↓

További tisztítás

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék 29

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

## Vírusinaktiválás / eltávolítás

**SD (SOLVENT-DETERGENT) KEZELÉS**

Solvent: 1 % TNBP tri-n-butil-foszfát  
 Detergens: 1 % detergens (Triton X-100, Tween)  
 4 óra 30° C-os hőkezelés  
 Extrakció növényi olajjal (pl. steril szójaolaj)  
 Kromatográfiai tisztítás (C18 tölteten)  
 Ultraszűrés

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék 30

---

---

---

---

---

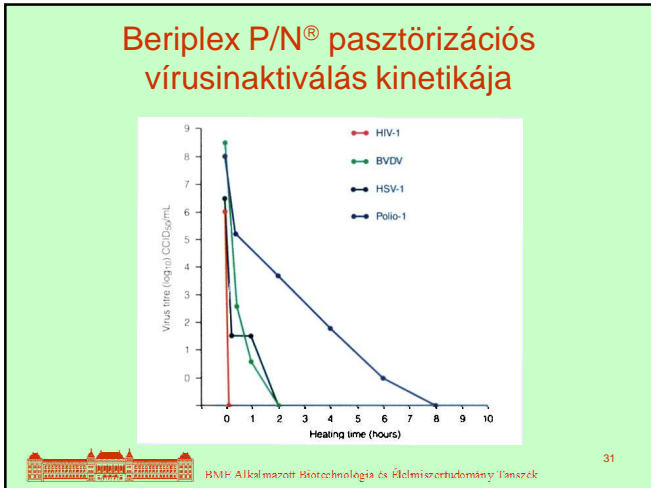
---

---

---

---

---




---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Beriplex P/N vírusmentesítésének validációs eredménye

<u>Modellvírusok</u>	HIV env.,RNA	HSV env.,DNA	BVDV Mod.f.Hep.C	Polio n.env.,RNA
Pasteurization (log 10)	> 6,6	> 6,0	> 8,5	> 7,9
Nanofiltration (log 10)	>7,1	> 7,2	4,0	(0,3)
Total reduction (log 10)	> 21,1	19,9	15,5	15,5

**HBV:** Nanofiltration reduction of 4 log  
Remaining steps > 6,5 log (chimpanzees)  
 Total reduction: > 10 log

32

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Tiszta faktorok gyártása:

**IX-es faktor = antihemofiliás faktor B  
= Christmas faktor**

**Humafactor 9:**  
 humán koagulációs IX-es faktor koncentrátum, speciális intravénásan alkalmazható vérvénásalkapító szer hemofília-B kezelésére

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### A IX-es faktor a szervezetben

A májban szintetizálódik.  
 Szintéziséhez K-vitaminra van szükség, a vitamin hiányában funkcionálisan inaktív → alvadási zavar  
 Koncentrációja a plazmában 3-5 µg/ml.  
 Az egyik legstabilabb véralvadási faktor.  
 A vérkeringésben féléletideje 18-24 óra.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

---

---

---

---

---

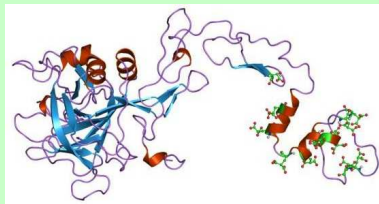
---

---

---

### A IX-es faktor fehérjeszerkezete

Egyláncú glikoprotein, molekulásúlya 56 000 Dalton.  
 415 aminosavból áll, az aminosavak sorrendje ismert.  
 A fehérje kb. 20% szénhidrátot tartalmaz.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

---

---

---

---

---

---

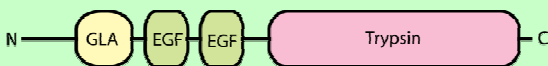
---

---

### A IX-es faktor fehérjeszerkezete

Domének:

Gla-domén: az N-terminális szakaszon 12 gamma-karboxi-glutaminsavat (Gla) tartalmaz.  
 EGF (Epidermal Growth Factor) domén: itt egy másik szokatlan aminosav, hidroxizsároléonsav található.  
 Ser-proteáz domén: analóg a tripsinnel és a többi alvadási proteázzal.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

---

---

---

---

---

---

---

---

### A IX-es faktor hiánya

Hiánya vérzéses hajlamot okoz, a betegség neve Hemofília B, vagy Christmas betegség.

A vérzéses tünetek szoros korrelációban vannak a faktorhiány mértékével.

Ha a plazma IX-es faktor tartalma a normálhoz képest:

- < 1% súlyos
- 1-4% közepesen súlyos
- 5-25% enyhe




---

---

---

---

---

---

---

---

### A IX-es faktor genetikája

A IX-es faktor gén az X kromoszóma hosszú karján helyezkedik el.

A hemofília recesszív jelleggel öröklődik, tehát a betegség nem expresszálódik, ha a normális allél is jelen van → nemhez kötött betegség, csak férfiakat betegít meg, a nők tünetmentes hordozók.




---

---

---

---

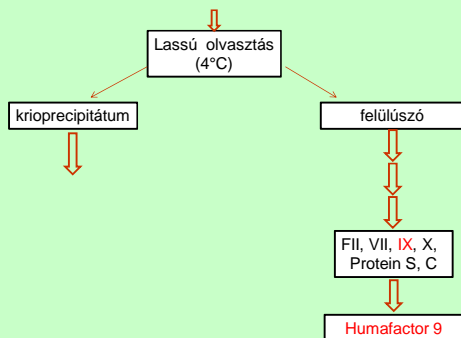
---

---

---

---

### A IX-es faktor izolálása




---

---

---

---

---

---

---

---




---

---

---

---

---

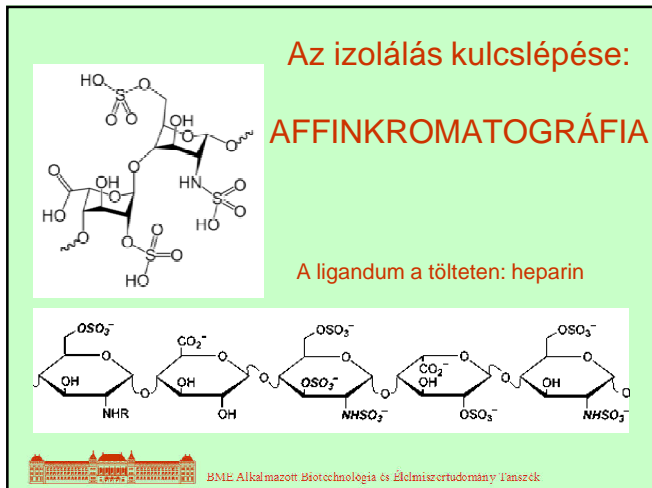
---

---

---

---

---




---

---

---

---

---

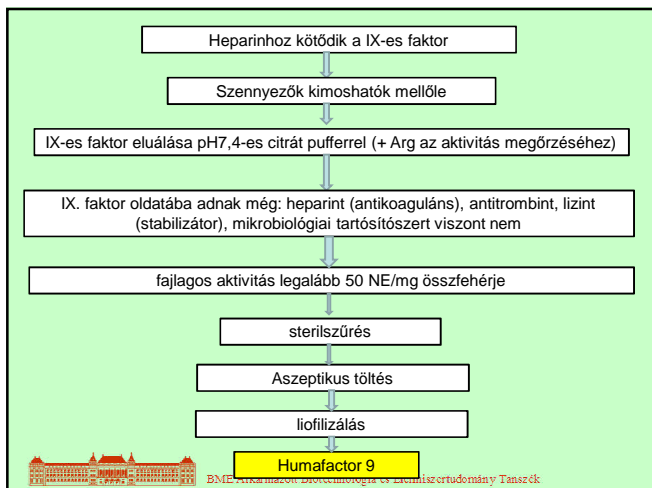
---

---

---

---

---




---

---

---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

---

---

---