



VÉRKÉSZÍTMÉNYEK, PLAZMADERIVÁTUMOK

Dr. Pécs Miklós



Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem,
Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék



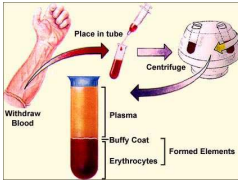

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

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 anyagcsere-termékeket, a szén-dioxidot és a hőt.

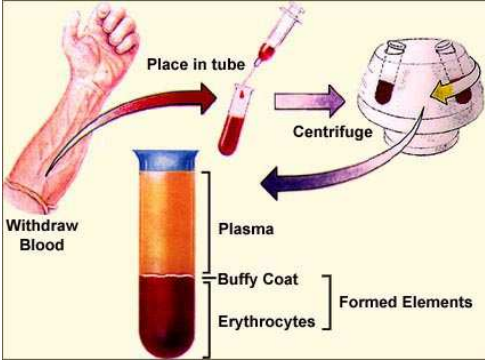

Lazarostos kötőszövet.
Mennyisége kb. 5 liter.
Vér = vérplazma + sejt elemek
Vér = szérum + vérelepek

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

2

A VÉR BIOKÉMIÁJA

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

3

A VÉR ÖSSZETÉTELE

Összes szárazanyag: 17 %, de térfogatra az alkos elemek 45-50 %-ot tesznek ki.

Percentage by body weight:
 Other fluids and tissues: 52%
 Plasma: 55%
 Formed elements: 45%

Plasma (percentage by weight):
 Proteins: 7%
 Water: 91%
 Other solutes: 2%

Plasma (percentage by volume):
 Albumin: 58%
 Globulins: 38%
 Fibrinogen: 4%

Formed elements (number per cubic mm):
 Platelets: 250-400 thousand
 Leukocytes: 5-9 thousand
 Erythrocytes: 4.5-5.8 million

Formed elements breakdown:
 Ions
 Nutrients
 Waste products
 Gases
 Regulatory substances
 Leukocytes: Neutrophils (60-70%), Lymphocytes (20-25%), Monocytes (5-8%), Eosinophils (1-4%), Basophils (0.5-1%)

4

VÉRKÉSZÍTMÉNYEK

Friss teljes vér → Friss vér, buffy coat eltávolítva

Friss teljes vér → Folyékony plazma → FFP → Ipari földolgozás

Friss teljes vér → Buffy coat → Trombocita konc → Fehérvérsejt mentes
 → Fagyasztva tárolt

Friss teljes vér → Vörösvérsejt koncentrátum → Fehérvérsejt koncentrátum

Fehérvérsejt koncentrátum → Mosott VVT
 → Szűrt, mosott VVT
 → fagyasztva tárolt VVT

5

VÉRKÉSZÍTMÉNYEK

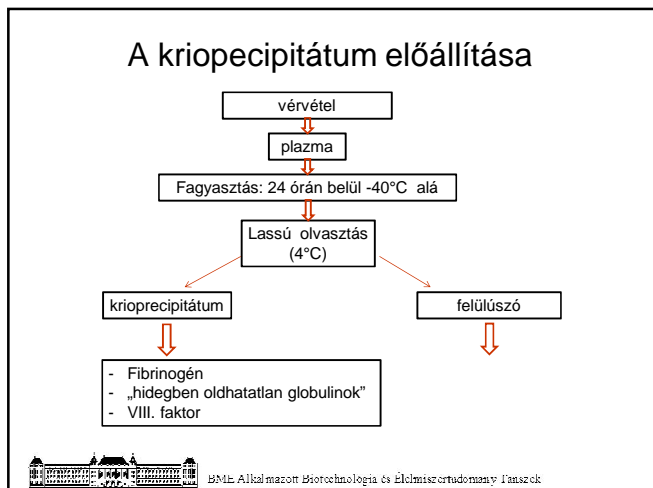
| Vérkészítmény | Biológiai hatást kifejtő komponens | Tárolás | Lejárat |
|---|------------------------------------|---------|---------|
| CPD-s (alvadástgátolt) teljes vér | VVT, plazmafehérjék | +4°C | 28 nap |
| CPD-A(denine)-s teljes vér | VVT, plazmafehérjék | +4°C | 28 nap |
| Vörösvérsejt készítmények | | | |
| VVT plazmában vagy adenin tartalmú oldatban szuszpendálva | VVT | +4°C | 28-35 |
| Mosott VVT | VVT | +4°C | 24 óra |
| Szűrt, mosott VVT | VVT | +4°C | 24 óra |
| Fagyasztva tárolt, glicerinnel mentesre mosott VVT | VVT | +4°C | 24 óra |

6

VÉRKÉSZÍTMÉNYEK

| Vérkészítmény | Biológiai hatást kifejtő komponens | Tárolás | Lejárat |
|---|--|----------------------------|---------|
| Trombocita készítmények | | | |
| 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 |
| Plazmakészítmények | | | |
| 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



PLAZMAFEHÉRJÉK

1l Plazma

6 - 8% Protein

92 - 94% víz
(só, szénhidrát, 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, C₃, α₂-Makroglobulin, α₁-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

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. | | | | |



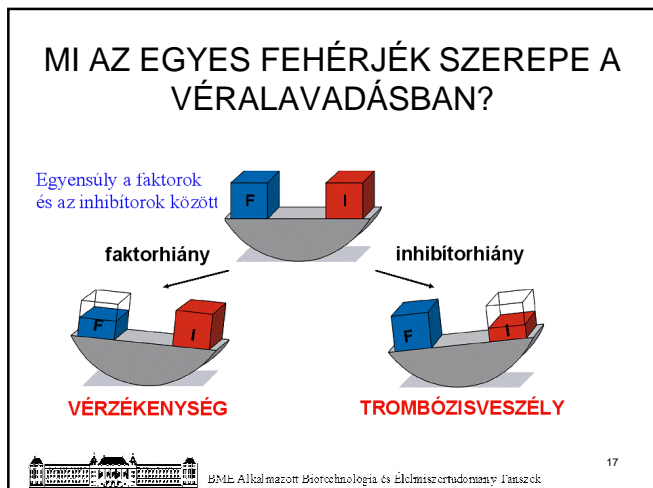
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

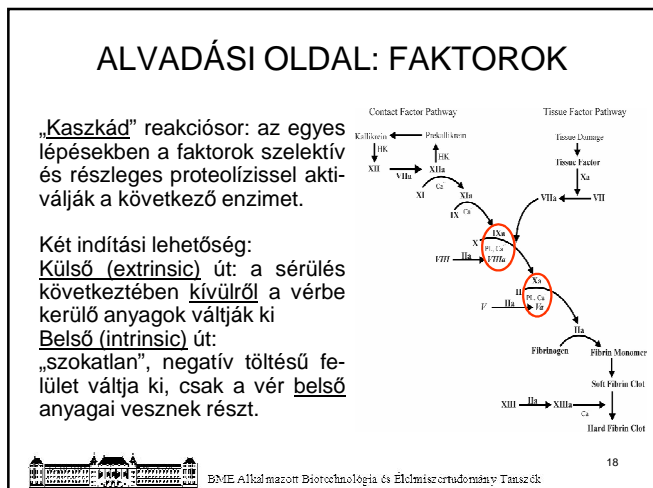
15

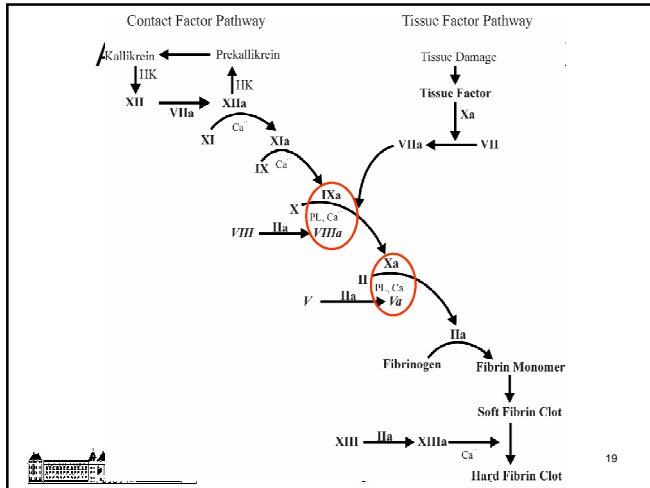
3. HEMOSZTATIKUMOK

| Termék | Indikáció | Molsúly Dalton | Plazma konc. g/l | Kihozatal % |
|------------------|--|----------------|---------------------|-------------|
| Faktor VIII | „A” hemofiliások kezelése | 300.000 | 3×10^{-4} | 18-22 |
| FVIII + vW fakt. | vWillebrand betegek kezelése | 1-4 M | | 15 |
| Faktor IX | B hemofiliások kezelése | 57.000 | 5×10^{-3} | 12-18 |
| F II,VII,IX,X | Orálisan alvadásgátló betegek kezelése | 72.000 | 0,1 | 15-25 |
| PCC | | 50.000 | 5×10^{-3} | |
| | | 59.000 | 10×10^{-3} | |
| Aktivált PCC | Inhibitoros „A” hemofiliások kezelése | | | |
| Fibrinogén F1 | Fibrinogén hiány szubsztitúciója | 340.000 | 2,5-4,5 | 10 |
| Faktor XIII | Sebgyógyulás gyorsítása | 320.000 | 5×10^{-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 reakció sor a X (Stuart) faktor aktiválásával közösen folytatódik.

Az X_a faktor a III, IV és V faktorokkal (foszfolipid, kalcium, akcelerin) katalizálja a protrombin → trombin (II → II_a) átalakulást.

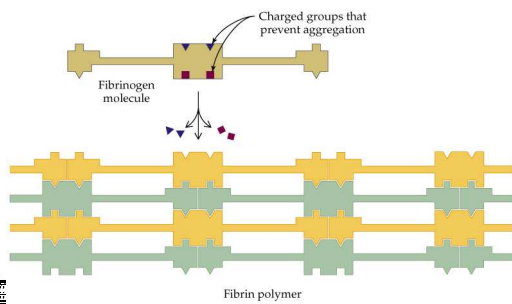


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

20

VÉRALVADÁS 3.

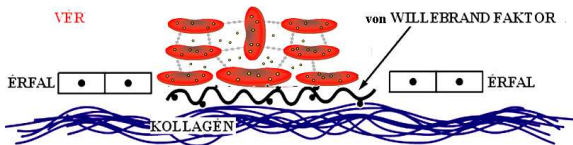
A trombin a fibrinogén → fibrin (I → I_a) folyamatot katalizálja. A fibrin ezután lineáris kötegekké polimerizálódik, majd a XIII_a (Laki-Lóránd) faktor térhálósítja.



Fibrin polymer

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>Inaktiválás hőkezeléssel</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Pasztörizálás <input type="checkbox"/> Száraz hőkezelés <input type="checkbox"/> Gőzölés | <p>Eltávolítás</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Nanoszűrés <input type="checkbox"/> Kromatográfiai módszerek <input type="checkbox"/> Kicsapás |
| <p>Kémiai módszerek</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Solvens – Detergens eljárás <input type="checkbox"/> β-Propiolakton <input type="checkbox"/> Jód | <p>Fotokémiai módszerek</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Metilénkék <input type="checkbox"/> Psoralen <input type="checkbox"/> Hypericin |

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

28

Vírusinaktiválás / eltávolítás

PASZTÖRIZÁLÁS

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-butyl-foszfát
 Detergens: 1 % detergens (Triton X-100, Tween)

4 óra 30° C-os hőkezelés

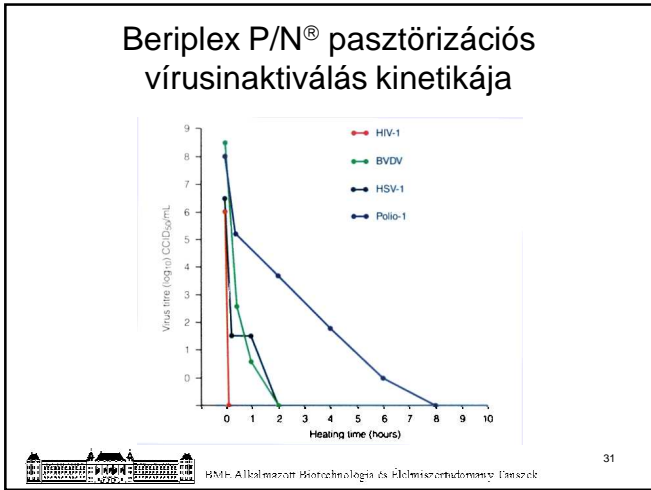
Extrakció növényi olajjal (pl. steril szójaolaj)

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

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

Tiszta faktorok gyártása:

IX-es faktor = antihemofiliás faktor B
= Christmas faktor

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

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

A IX-es faktor a szervezetben

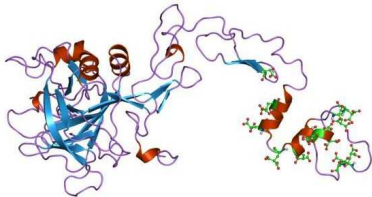
A májban szintetizálódik.
 Szintéziséhez K-vitaminra van szükség, a vitamin hiányában funkcionálisan inaktív → alvadási zavar
 Koncentrációja a plazmában 3-5 µg/ml.
 Az egyik legstabilabb véralvadási faktor.
 A vérkeringésben féléletideje 18-24 óra.



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.

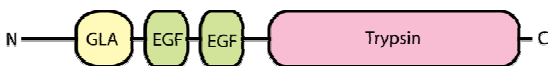


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

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, hidroxi-aszparaginsav 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



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

37

A IX-es faktor genetikája

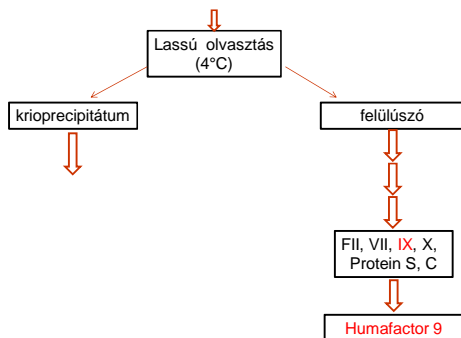
A IX-es faktor gén az X kromoszóma hosszú karján helyezkedik el.

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.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

A IX-es faktor izolálása



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék



