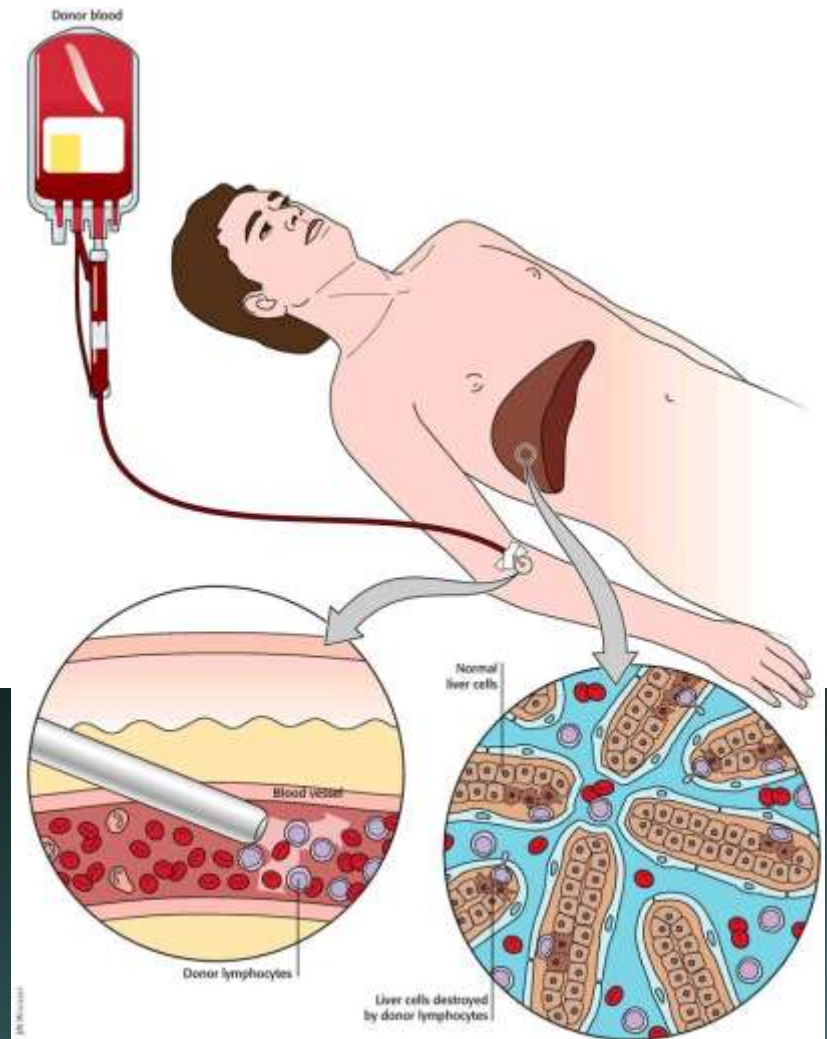


Πρόληψη ΤΑ-GvHD:

Αδρανοποίηση ή
ακτινοβόληση
παραγώνων;



Ευαγγελία Λυδάκη,
Αιματολόγος ,
Δ/ντρια Αιμοδοσίας,

Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο
Ηρακλείου, Κρήτης

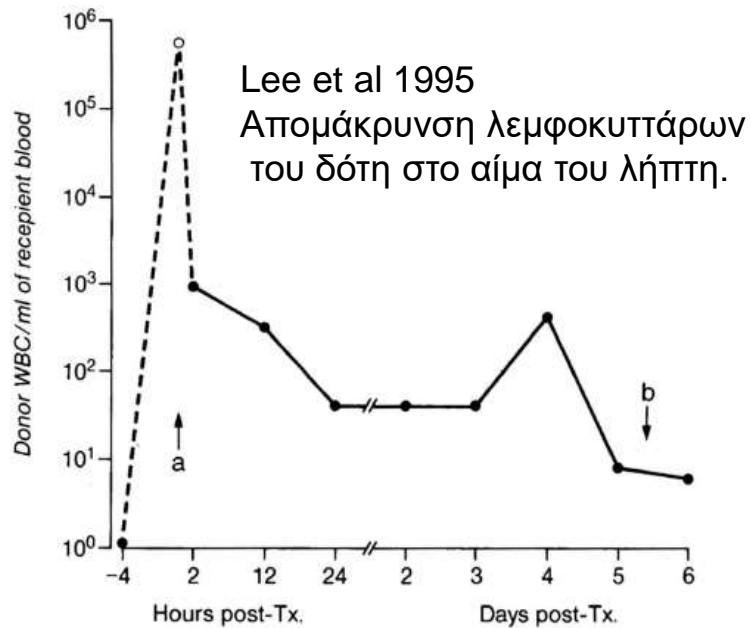
**TA-
GVHD**

**θανατηφόρος στο 90% των
περιπτώσεων**

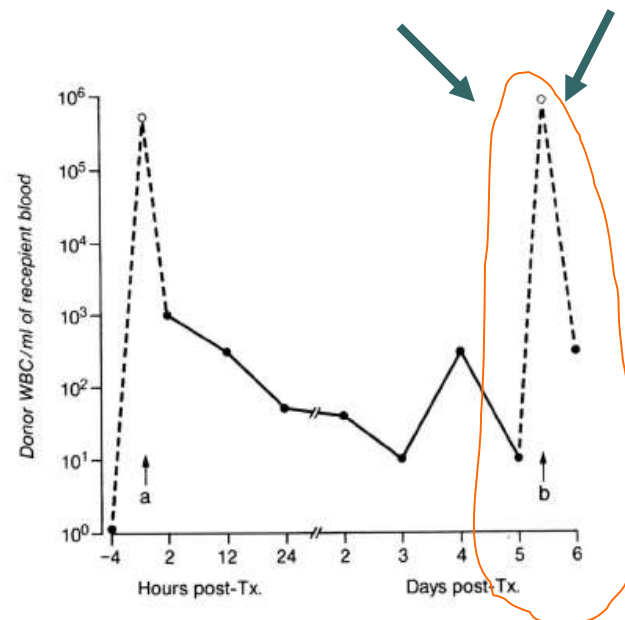


Η τύχη των ξένων λεμφοκυττάρων στο περιφερικό αίμα

Συνήθως



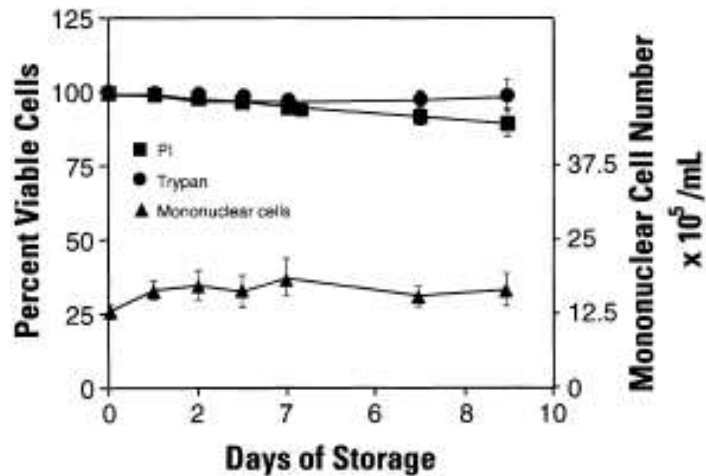
Πολύ σπάνια TA-GvHD



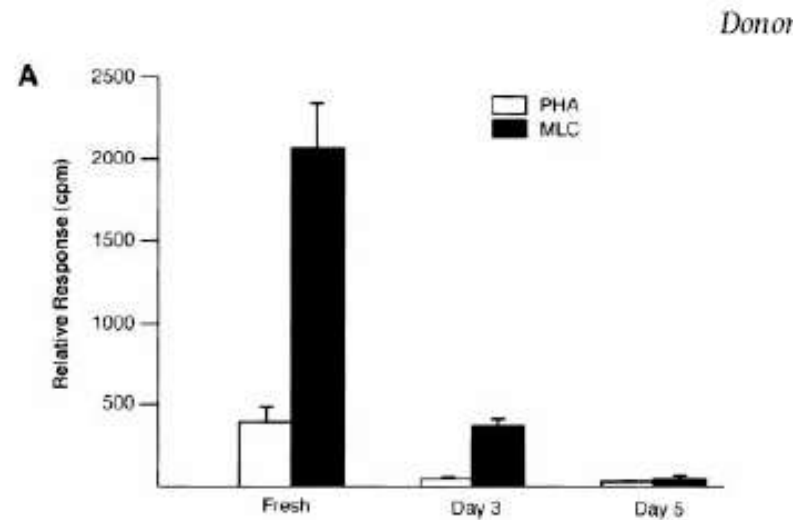
8×10^4 → πυροδοτεί TA-GvHD Carrey, 2002

Η τύχη των λεμφοκυττάρων στο συντηρημένο αίμα (4°C) Cang et al BJH, 2000

Βιωσιμότητα
λεμφοκυττάρων



Λειτουργικότητα
λεμφοκυττάρων



TA- GvHD: νόσος ή φάντασμα;

A systematic review
of transfusion-
associated graft
versus host disease
(TA-GVHD),

Blood 2016

- 348 περιπτώσεις από 1966-2013
- 14% από συγγενή δότη,
- 35% σε ασθενείς που θα έπρεπε να λάβουν ακτινοβολημένα παράγωγα
- Χειρουργείο 45%
- 93,7 % των παραγώγων < 10 ημερών
- Είδη παραγώγων
 - rbc:38%
 - Wb: 26,4%
 - plts: 5,7%
 - FFP: 1 case
- Leukodepleted 17%
- **Καμία περίπτωση από ακτινοβολημένο με σωστές προδιαγραφές ακτινοβολήσης**
-
-

Παράγοντες
που καθορίζουν
την
επικινδυνότητα
μιας μετάγγισης
για TA-GvHD

- Η χορήγηση φρέσκου αίματος
- Η παρουσία ανοσοανεπάρκειας ή ανοσοκαταστολής στο δέκτη
- Η μετάγγιση HLA συμβατού αίματος ή αίματος από συγγενείς
- Συχνότητα στις ευπαθείς ομάδες ασθενών 0.1-1% (Dwyre et al. Vox Sang 2008)

ΣΥΝΟΠΤΙΚΑ ομάδες ασθενών που όπου απαιτείται πρόληψη για TA- GvHD

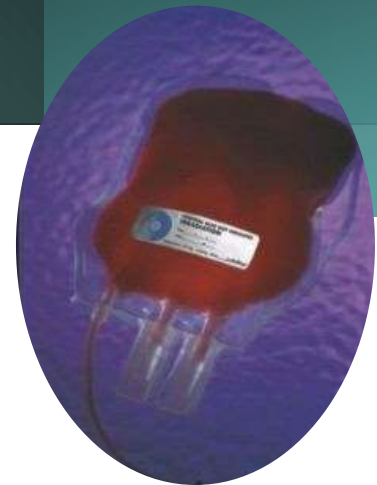
- 1^{ου} ή 2^{ου} βαθμού συγγενείς
- HLA συμβατές μεταγγίσεις
- ενδομήτριες, αφαιμαξομεταγγίσεις, νεογνικές μεταγγίσεις
- Συγγενή σύνδρομα ανοσοανεπάρκειας
- Που λαμβάνουν μεταγγίσεις κοκκιοκυττάρων
- Που λαμβάνουν μεταγγίσεις 7 ημ πριν και μετά αλλογενή και αυτόλογη μεταμόσχευση μυελού των οστών (ή στελεχιαίων κυττάρων)
- Με νόσο Hodgkin's
- Που λαμβάνουν θεραπεία με ανάλογα πουρινών, ανταγωνίστες πουρινών αντιθυμοκυτταρική σφαιρίνη, CAMPATH

Πρόληψη ΤΑ-GvHD

Ακτινοβόληση

Αδρανοποίηση

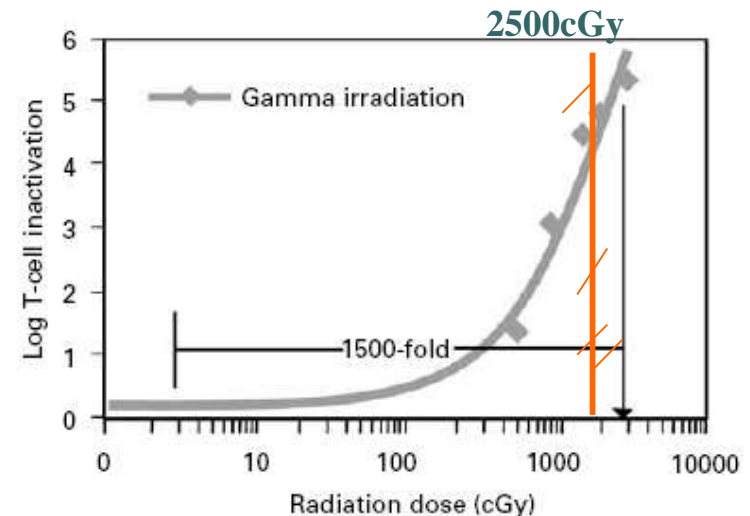
Ακτινοβόληση



- γ -ακτινοβολία (καισιο-137, κοβαλτιο-60)
- Χ-ακτινοβολία (vox Sang.2005)

Ακτινοβολία: αποτελεσματικότητα (απενεργοποίηση των Τ-λεμφοκυττάρων)

- Μελέτες με : in vitro απάντηση σε μιτογόνα, MLCs και LDA
- 2500-3000 cGy →
(LDA) Pelszynski et al, 1994



- < 2000 cGy → θραύση DNA, Έχουν αναφερθεί περιπτώσεις TA-GvHD (Lowethai et al 1993)

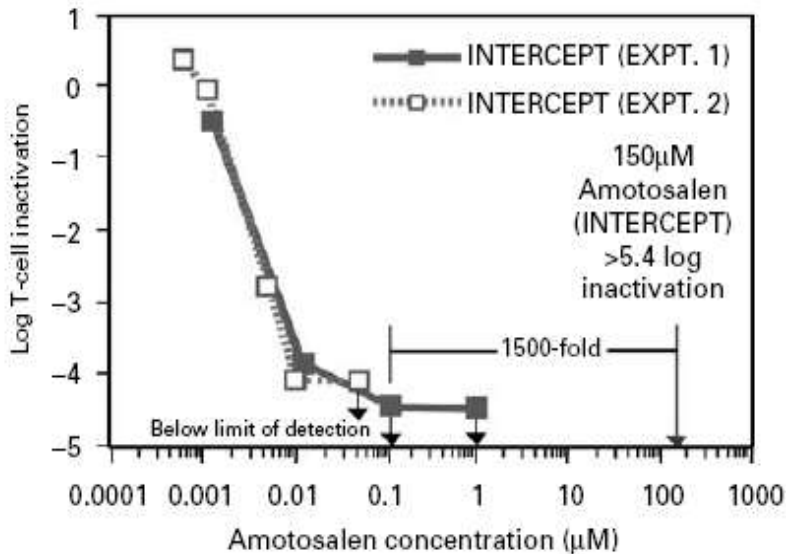
Αδρανοποίηση (PI technologies)

INTECEPT
MIRASOL
THERAFLEX

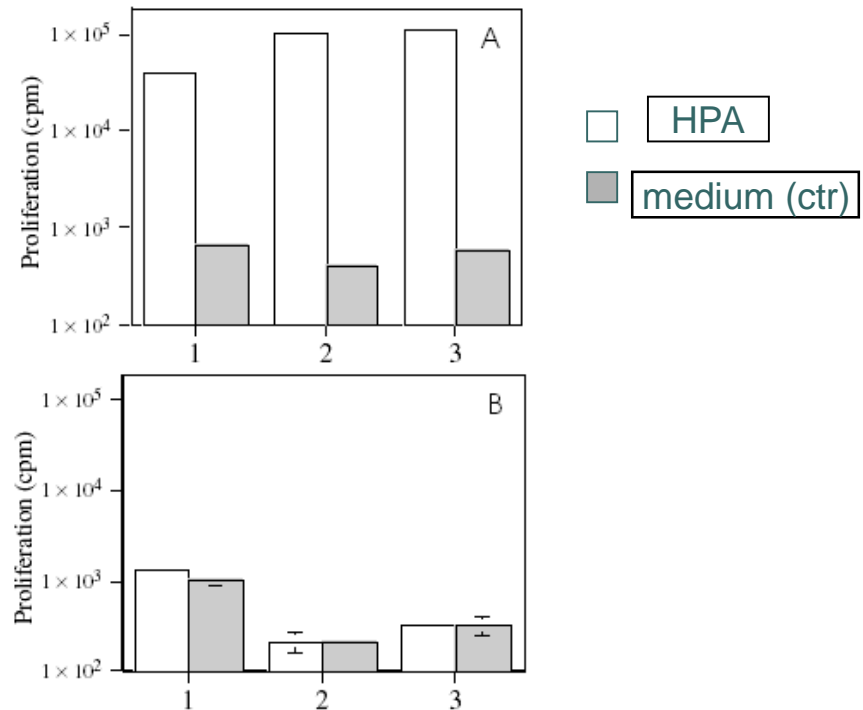
- Οι PI τεχνολογίες ξεκίνησαν αρχικά για την καταστροφή ιών, μικροβίων και πρωτοζώων
-
- 2001-2: Δίνονται εγκρίσεις για την χρήση μεθόδων αδρανοποίησης σε **παράγωγα αιμοπεταλίων.**
- 2008: δίνεται έγκριση στην Ε.Ε. στη ριβοφλαβίνη (Mirasol) και την αμοτοσαλένη S-59 (Intercept) ώστε **να μην ακτινοβολούνται** τα παράγωγα αιμοπεταλίων που έχουν αδρανοποιηθεί
- **2020:** δίνεται έγκριση σε πολλές χώρες για την χρήση ριβοφλαβίνης στην αδρανοποίηση ολικού αίματος

Αδρανοποίηση: αποτελεσματικότητα (απενεργοποίηση T- λεμφοκυττάρων)

Αμοτοσαλένη



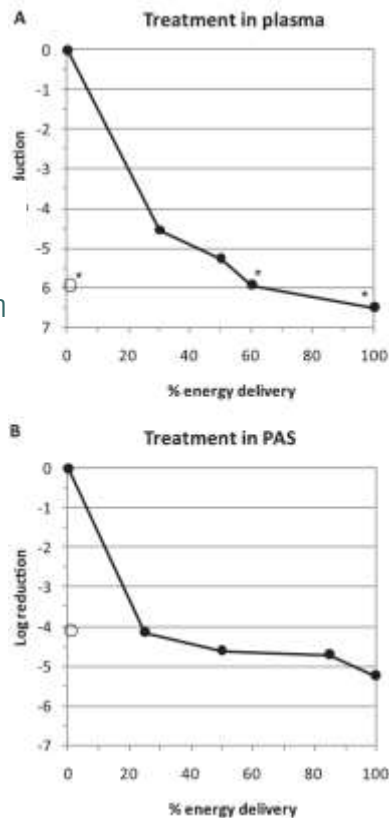
Ριβοφλαβίνη



γ irradiation vs PI treatment (Mirasol) σε αναστολή πολ/σμου των T-λευκοκυττάρων

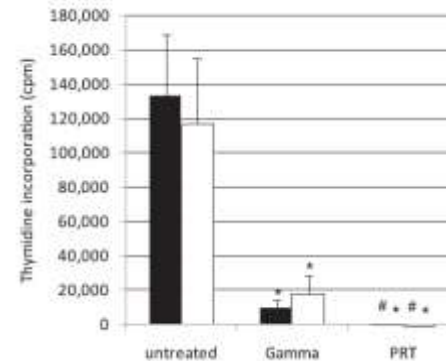
Μείωση ικανότητας πολ/σμου των T cells

- ακτινοβόληση
- αδρανοποίηση



- Φαίνεται ότι μετά την γ-ακτινοβόληση τα T-κύτταρα διατηρούν κάποιες ανοσοϊκανότητες γεγονός που δεν συμβαίνει μετά από αδρανοποίηση.

Κλινική πράξη?



Fast et al, Transfusion 2011
Castro et al, Transfusion 2018

Ακτινοβόληση
έναντι
αδρανοποίησης

- **ΚΥΤΤΑΡΙΚΕΣ ΒΛΑΒΕΣ**
- **Ερυθρά**
- **Αιμοπετάλια**



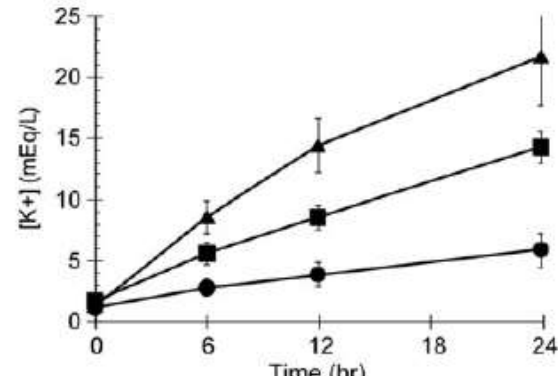
Επίδραση ακτινοβολήσης στα συμπυκνωμένα ερυθρά

- Δεν υπάρχει απόδειξη ότι το ακτινοβολημένο αίμα είναι λιγότερο αποτελεσματικό στη άνοδο του Ht

- Το εξωκυττάριο K^+ αυξάνεται

(ΕΜΒΡΥΑ, ΝΕΟΓΝΑ!!!)

- Μικρή αύξηση ATP και 2,3 DPG στα ερυθρά
- Στις 35 ημέρες αποθήκευσης:



6, 12, 18, and 24 hours after washing without irradiation (●), washing before irradiation (■), or washing after irradiation (▲).



↑ συγκέντρωσης Hb πλάσματος

Διεθνείς συστάσεις για την ακτινοβόληση παραγώγων αίματος

	Μεγάλη Βρετανία	Αμερική	Ιαπωνία
Δόση	Ελάχιστη: 2500 cGy Κανένα τμήμα > 5000 cGy	2500 cGy στο κέντρο του ασκού. Ελάχιστο 1500cGy σε κάθε του τμήμα	Ανάμεσα σε 1500 και 5000 cGy
Ηλικία παραγώγου (ΣΕ)	< 14 ημέρες από τη συλλογή	Χωρίς περιορισμό	-Όλα τα φρέσκα < 3 ημέρες - < 14 ημέρες σε ειδικές κατηγορίες ασθενών - χωρίς περιορισμό εάν ο ασθενής είναι ανοσοϊκανός
Αποθήκευση παραγώγου (ΣΕ)	έως 14 ημέρες από την ακτινοβόληση ο έως 28 ημέρες από τη συλλογή (Συμ. Ευρώπης)	Έως 28 ημέρες από την ακτινοβόληση	3 εβδομάδες από την συλλογή

Αδρανοποίηση σε ολικό αίμα: Δράση PI με Rivoflavin στα ερυθρά

Ακτινοβόληση έναντι αδρανοποίησης ολικού αίματος: συγκέντρωση K^+

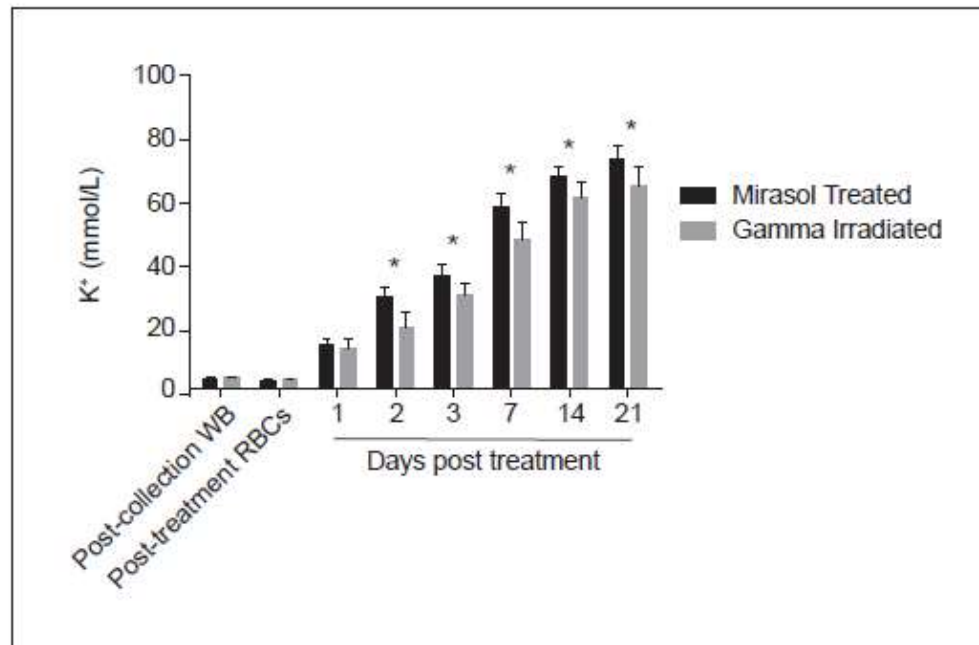
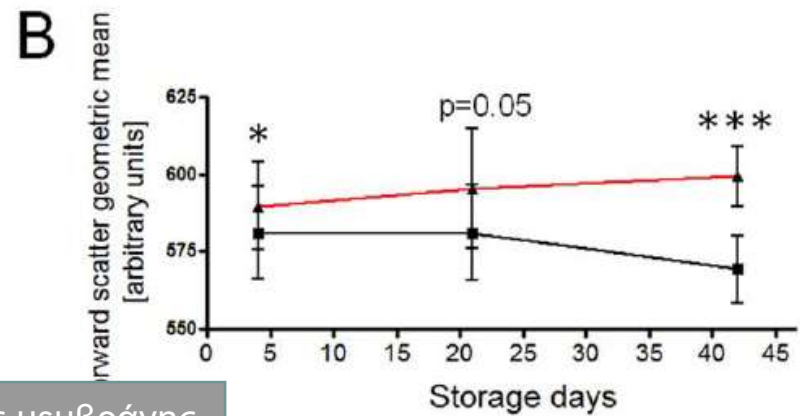
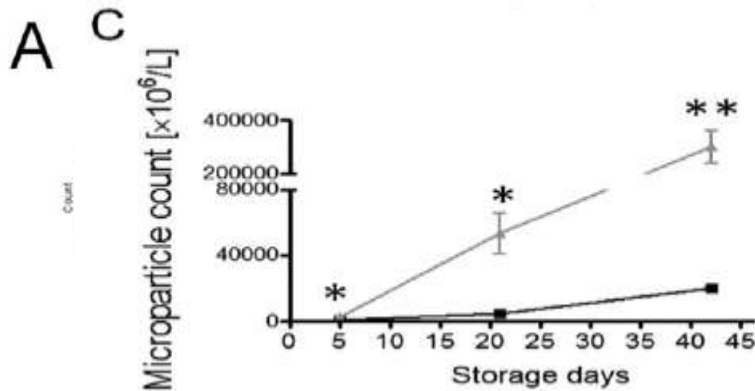


Fig. 2. Potassium concentration in Mirasol-treated versus gamma-irradiated RBCs over time. Mean values of extracellular $[K^+]$ in

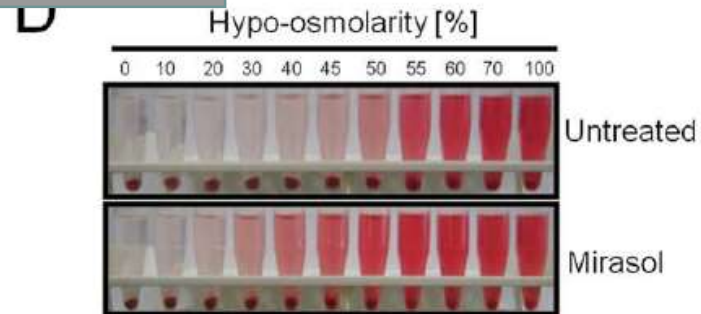
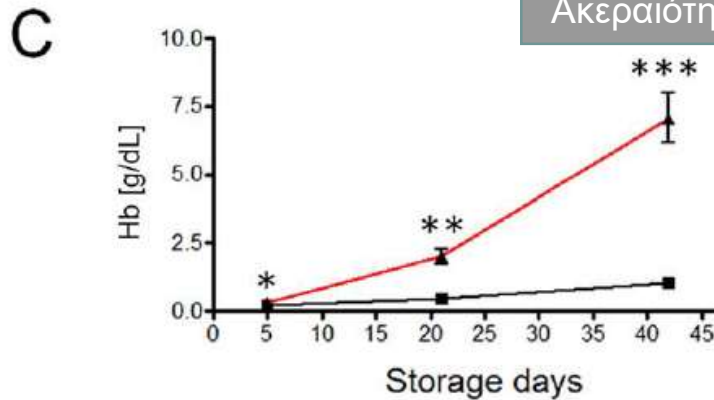
Δράση της αδρανοποίησης (Rivoflavin) στα συμπυκνωμένα ερυθρά κατά την αποθήκευση

Μικρομόρια

Ερυθροκυτταρική μάζα



Ακεραιότητα της μεμβράνης



γ- ακτινοβολία έναντι Χ- ακτινοβολίας σε αιμοπετάλια

- Ισοδύναμα ως προς:
 - Βιοχημικό profil
 - Έκφραση γλυκοπρωτεϊνών επιφανείας
 - Δείκτες ενεργοποίησης
-
- Lacey et al, Transfusion 2021

Επίδραση ακτινοβόλησης στα ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑ (in vitro μελέτες)

Table 1 *In vitro* parameters of leukoreduced platelet concentrates in plasma, irradiated with 25 Gy on day 1

	Reference	Irradiated	<i>P</i> -value
Day 1			
Volume, ml	362 ± 13	363 ± 15	0.92
Platelets, × 10 ⁹	411 ± 35	394 ± 40	0.15
Leucocytes, × 10 ⁶	0.04 ± 0.04	0.05 ± 0.05	0.52
Red cells, × 10 ⁹	0.13 ± 0.08	0.14 ± 0.11	0.45
Day 8			
Swirl	2.7 ± 0.6	2.6 ± 0.8	0.34
pH	6.85 ± 0.19	6.73 ± 0.34	0.07
pO ₂ , mmHg	52 ± 13	47 ± 16	0.48
pCO ₂ , mmHg	45 ± 3	51 ± 22	0.40
Bicarbonate, mmol/l	7.6 ± 2.3	8.0 ± 2.1	0.32
Glucose, mmol/l	11.6 ± 2.2	10.2 ± 3.6	0.09
Lactate, mmol/l	15.6 ± 3.5	17.5 ± 5.7	0.12
CD62 expression, %	20 ± 7	23 ± 12	0.33
Morphology	223 ± 26	194 ± 56	0.06

Results are expressed as mean ± standard deviation (*n* = 12).

Gamma irradiation does not affect 7-day storage of platelet concentrates

P. F. van der Meer & R. N. I. Pietersz

Sanquin Blood Bank North West region, Amsterdam, the Netherlands

ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑ

μεμονωμένες ήπιες μεταβολικές διαταραχές,
ενεργοποίησης και μείωση του αριθμού την 5^η ημέρα
της αποθήκευσης αιμοπεταλίων αφαίρεσης

Mallhi et al, 2016

Table 3 – Day 5 in vitro parameters, of 400 apheresis derived platelet concentrates, irradiated with 25 Gy on Day 1.

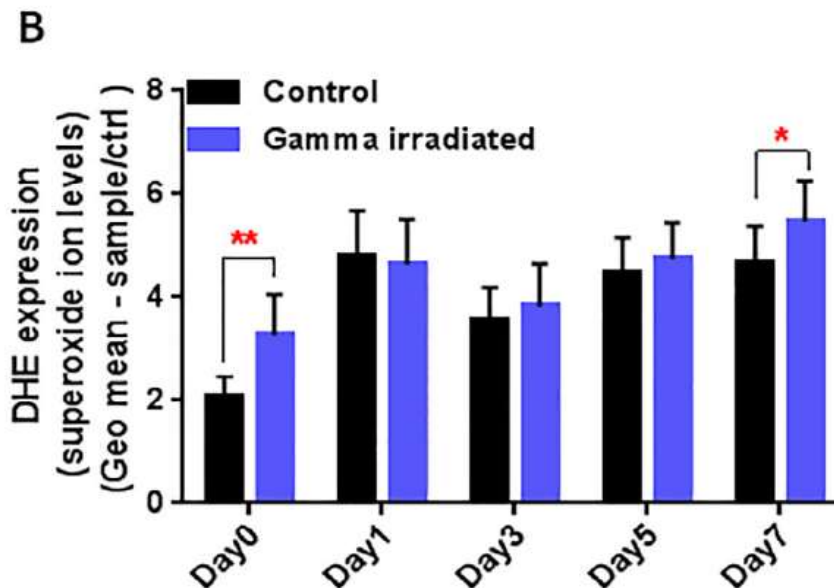
Parameters	Mean ± SD (95% CI)		p value (2-tailed)
	Non-irradiated	Irradiated	
Morphology score	288 ± 10 (278–298)	288 ± 10 (278–298)	0.112
Platelet counts	1225 ± 152 (1073–1377)	1156 ± 124 (1032–1280)	<0.001 ^a
pH	6.57 ± 0.25 (6.32–6.82)	6.56 ± 0.25 (6.31–6.81)	<0.001 ^a
pO ₂	27.7 ± 10.2 (17.5–37.9)	27.6 ± 10.7 (16.9–38.3)	0.141
pCO ₂	62.9 ± 8.2 (54.7–71.1)	62.7 ± 8.2 (54.5–70.9)	0.622
Na ⁺	146.4 ± 11.3 (135.1–157.7)	146.4 ± 11.5 (134.9–157.9)	0.825
K ⁺	3.18 ± 0.45 (2.73–3.63)	3.19 ± 0.5 (2.69–3.69)	0.234
HCO ₃ ⁻	13.6 ± 1.8 (11.8–15.4)	13.6 ± 1.8 (11.8–15.4)	0.206
Ca ²⁺	6.47 ± 0.9 (5.57–7.37)	6.47 ± 0.9 (5.57–7.37)	0.087
Lactate	4.16 ± 1.4 (2.76–5.56)	4.52 ± 1.5 (3.02–6.02)	<0.001 ^a
Glucose	395 ± 26 (369–421)	384 ± 38 (346–422)	<0.001 ^a
CD62P	27.7 ± 6.8 (20.9–34.5)	29.41 ± 7 (22.41–36.41)	<0.001 ^a

^a p value < 0.05 is considered to be significant.

The effect of gamma irradiation on platelet redox state during storage

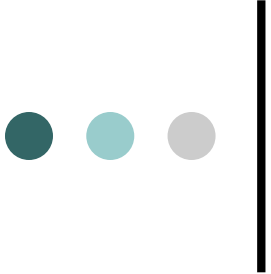
Nodeh et al, Transfusion 2021

Η γ-ακτινοβολία προάγει την παραγωγή δραστικών παραγώγων O_2 που παράγονται κατά την αποθήκευση p-PCs (σε 2 διαφορετικές φάσεις: αμέσως μετά και κατά την 5^η ημέρα)



Επιπεδα ιόντων
υπεροξειδίου

- Ρόλος στην προαγωγή των PSLs ?



Κλινικές μελέτες: ίδια αποτελεσματικότητα? αιμοπεταλίων με ή χωρίς ακτινοβόληση

TRAP trial: 533 ασθενείς με ΟΛΛ

Blood. 2005 May 15; 105(10): 4106–4114

Μειωμένη ανταπόκριση στις
PLT μεταγγίσεις με:
UV-B ή gamma-ακτινοβόληση

Zhu et al, Transfusion Med Hematother, 2014 20 ασθενείς υπό ΧΜΘ

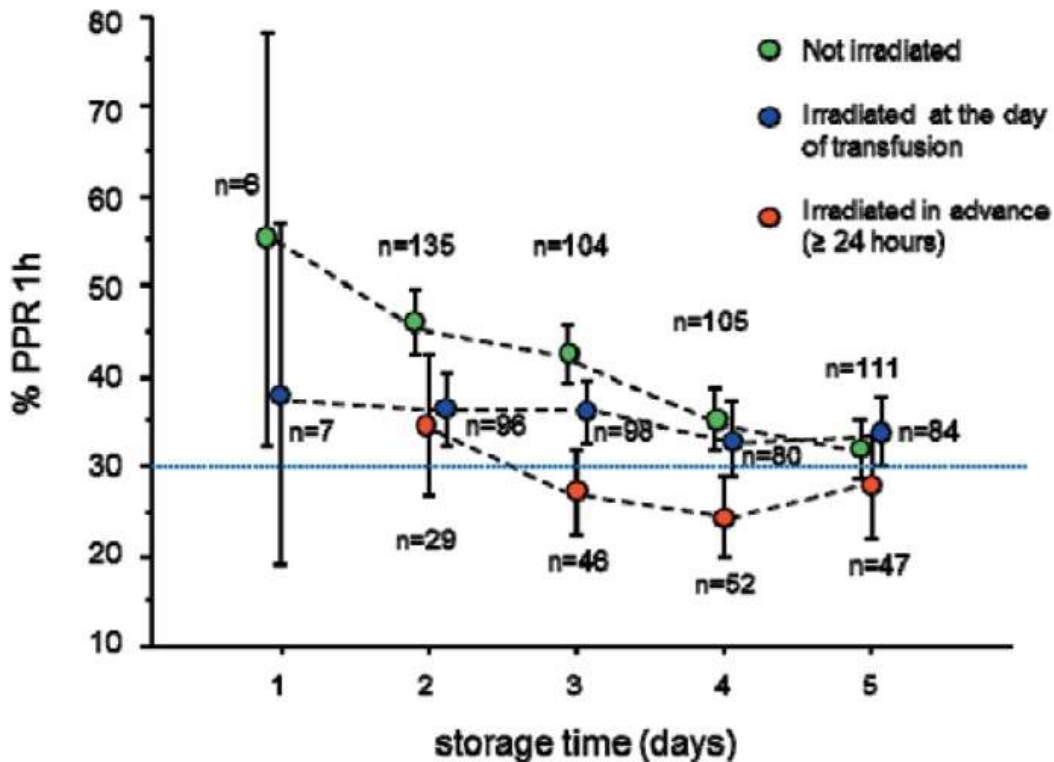
- In Vitro:
 - Blood samples
for TEG: 1h & 24 h
- In vivo:
- CI & CCI, 1h & 24 h

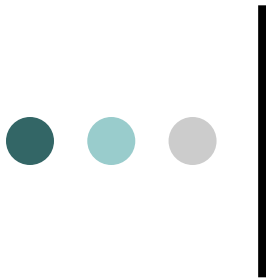
Όχι
διαφορές
σε
αιμοστατικ
ή
ικανότητα
και
ανάκτηση
με CTR

Παιδιά: η πρώιμη ακτινοβόληση των αιμοπεταλίων επηρεάζει την αποδοτικότητα των μεταγγίσεων

- 145 παιδιά με κακοήθη νοσήματα
- 1000 μεταγγίσεις

Julmy et al, Trans Med Hematother, 2014





Βλάβες αιμοπεταλίων μετά από αδρανοποίηση (in vitro)

TABLE 2 | Summary of impact of pathogen inactivation (PI) treatment on platelet features compared to untreated control.

Platelet storage feature	PI system		
	INTERCEPT	MIRASOL	THERAFLEX
Metabolic activity	± (96); ↑ (97)	↑ (98)	↑ (99)
Platelet activation (CD62P expression)	↑ (96, 100)	↑ (98)	↑ (99)
Platelet adhesion (under flow)	± (101); ↑ (102) ^a	↓ (102); ±(103)	n.d.
Clot formation (thrombo-elastography)	↓ (104)	↑ ^b , ↓ ^c (105)	↓ (99)
Responsiveness (to agonists)	↓ (102); ±↓ ^d (106) ^e	↓ (98)	± (99)
Platelet apoptosis (PS exposure)	± (107); ↑ (108) ^a	↑ (109)	↑ (99)
Platelet microparticle release	↑ (110)	↑ (111)	↑ (112)
Free mitochondria release	n.d.	↑ (95)	n.d.

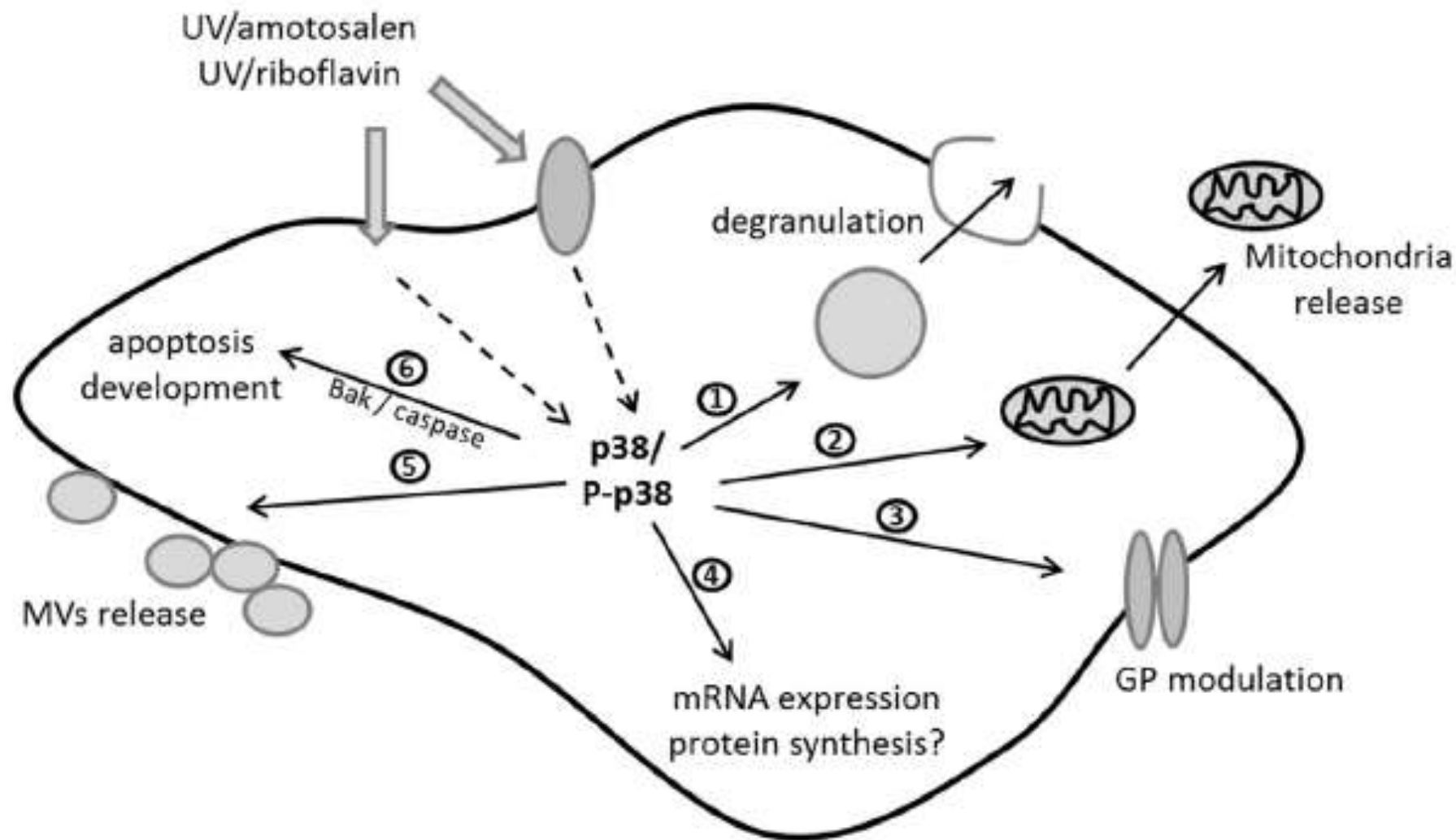
↓ = decrease; ± = similar; ↑ = increase; n.d. = not determined. The references are only examples of published studies, but are not comprehensive. Differences in some study outcomes could be due to variations in production methods used (platelet-rich plasma vs BC/PCs or apheresis PCs), composition in storage solution—plasma vs platelet additive solution (in different concentration)—and assay procedures.

^aAt end of storage.

^bThrombus stability.

^cAggregation.

^dAgonist-dependent.



molecular model of signaling triggered by ultraviolet (UV)/riboflavin (MIRASOL) and UV/amotosalen (INTERCEPT) in cell surface/receptor proteins to activate p38MAPK kinase as one of the central players in the signaling cascade. Thus phosphorylation (P-p38) is involved in regulating (1) degranulation, (2) release of free mitochondria, (3) the modulation of mRNAs and potentially protein synthesis, (5) microvesicle (MVs) release, and (6) the development of apoptosis via p38 activation. This figure was modified from Ref. (150).

Jama, 2018
clinical review:
Pathogen-
reduced
platelets for the
prevention of
bleeding in
people of any
age

12 μελέτες

- 2075 ασθενείς τυχαίοποιημένοι
- 42% λευκοί, 1% Μαύροι, 1% Ισπανοί, 1% άλλοι
- 95% νεοπλασματική νόσος
- 10 χώρες, Ευρώπη & Αμερική

Συγκρίσεις:

- PI-treated platelets vs standard plt
- 9 intercept, 2 Mirasol, 1 Intercept+Mirasol
- 2 Intercept vs Mirasol

Τι μελετήθηκε

- Αιμορραγικά επεισόδια: αριθμός, τύπος και σοβαρότητα
- Ανεπιθύμητες αντιδράσεις
- Ανάκτηση αιμοπεταλίων
- Ανάγκες σε ερυθρά και αιμοπετάλια

Jama,
2018

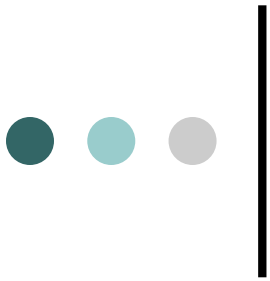
Table. Relative and Absolute Effects for Pathogen-Reduced Platelet Transfusion vs Standard Platelet Transfusion

Outcomes	Participants, No. (Studies, No.)	Risk Ratio (95% CI)	Anticipated Absolute Effects		Quality of the Evidence (GRADE)
			Pathogen-Reduced Platelets, per 1000 (95% CI)	Standard Platelets, per 1000	
Bleeding					
Clinically significant	1392 (5 studies)	1.10 (0.97-1.25)	627 (553-712)	570	Moderate
Serious or life-threatening	1495 (6 studies)	1.24 (0.76-2.02)	44 (27-72)	36	Moderate
All-cause mortality	1509 (6 studies)	0.81 (0.50-1.29)	43 (27-69)	54	Moderate
Participants with a serious adverse event, No.	1340 (7 studies)	1.09 (0.88-1.35)	196 (158-242)	179	Moderate
Participants experiencing platelet refractoriness, No. ^a	1525 (7 studies)	2.94 (2.08-4.16)	149 (106-212)	51	High
Platelet transfusions per participant, No.	1509 (6 studies)	NA	The mean number of platelet transfusions in the pathogen-reduced platelet arm was 1.23 platelet transfusions higher (0.86 to 1.61 higher)		High
Transfusion-transmitted infection (TTI)	1132 (6 studies)	NA	No bacterial TTI occurred; studies did not report on viral TTI.		Low

Μαζική Αιμορραγία:

- **όταν το $\geq 50\%$** των χορηγούμενων παραγώγων είναι αδρανοποιημένο παρατηρείται μειωμένη αιμοστατική δράση

Transfusion 2017 Arbaeen et al

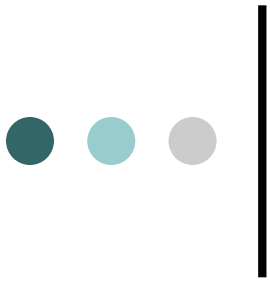


Οι βλάβες των αιμοπεταλίων μετά από γ-ακτινοβόληση είναι μεμονωμένες και περισσότερο επιτείνουν (ήπια) φαινόμενα που συμβαίνουν λόγω αποθήκευσης.

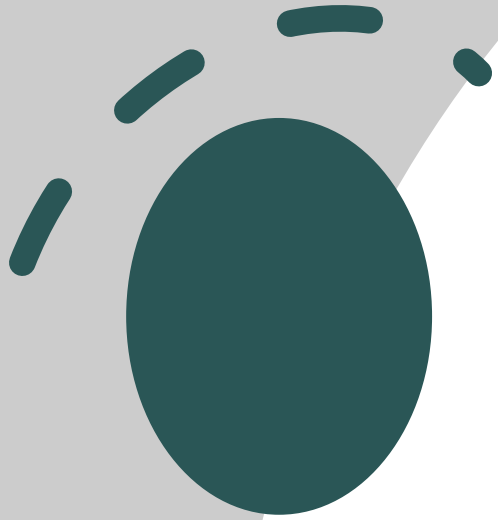
Σε αντίθεση με αυτές που συμβαίνουν μετά από αδρανοποίηση οι οποίες είναι εξεσημασμένες και επηρεάζουν την κλινική ανταπόκριση των μεταγγίσεων

Συμπερασματικά

- Η ακτινοβόληση είναι μια φτηνή, αποτελεσματική, δοκιμασμένη μέθοδος που αναπτύχθηκε για την αντιμετώπιση της TA-GVHD. Εφαρμόζεται σε όλα τα παράγωγα αίματος χωρίς να προκαλεί αξιοσημείωτες βλάβες στα κύτταρα του αίματος
- Αντίθετα, η αδρανοποίηση, που αναπτύχθηκε για την αντιμετώπιση λοιμογόνων παραγόντων, είναι μεν αποτελεσματική στην πρόληψη του TA- GvHD αλλά:
 - Είναι ακριβή μέθοδος
 - Δεν εφαρμόζεται στα συμπυκνωμένα ερυθρά
 - Προκαλεί πιο εκσεσημασμένες βλάβες στα κύτταρα του αίματος οι οποίες φαίνεται ότι μειώνουν την αποτελεσματικότητα των μεταγγίσεων



- Άρα το debate ακτινοβολήση έναντι αδρανοποίησης νομίζω ότι δεν υφίσταται γιατί η αδρανοποίηση δεν στέκει από μόνη της για την πρόληψη της TA GVHD.
- Για την πρόληψη της TA GVHD γίνεται ακτινοβολήση
(χωρίς να σημαίνει ότι η αδρανοποίηση, όπου εφαρμόζεται, δεν είναι αποτελεσματική)
- *Απαγορεύεται τα αιμοπετάλια που αδρανοποιούνται μετά να ακτινοβολούνται*



Ευχαριστώ