



Σχολή Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας
Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών
Τομέας Ιατρικών Εργαστηρίων

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Μέθοδοι αδρανοποίησης παθογόνων σε παράγωγα αίματος



Όνοματεπώνυμο Φοιτητή (ΑΜ)

Γρηγόριος Αλβανίδης (62116010)

Όνοματεπώνυμα Επιβλεπόντων

Αργύριος Τσαντές, Αναπληρωτής Καθηγητής Ε.Κ.Π.Α.

Αναστάσιος Κριεμπάρδης, Αναπληρωτής Καθηγητής Πα.Δ.Α

Αθήνα 2020

Πηγή εικόνας εξωφύλλου : <https://pharmaintelligence.informa.com/resources/product-content/pathogenreduction-tech-gets-some-focus-at-fda-panel-meeting-but-not-enough-cerus-says>



Faculty of Health and Care Sciences
Department of Biomedical Sciences
Division of Medical Laboratories

DISSERTATION

Pathogen inactivation techniques of blood products



NAME OF STUDENT (CN)

Grigorios Alvanidis (62116010)

NAMES OF SUPERVISORS

Argirios Tsantes , Associate Professor

Anastasios Kriebardis, Associate Professor

Athens 2020

Ευχαριστίες

Θέλω να ευχαριστήσω τους επιβλέποντες της παρούσας διπλωματικής εργασίας Αναπληρωτές Καθηγητές κκ και Τσαντέ Αργύριο και Κριεμπάρδη Αναστάσιο, που μου έδωσαν την ευκαιρία να αναλάβω ένα τόσο ενδιαφέρον θέμα.

Οφείλω ένα μεγάλο ευχαριστώ στην κ. Πέτρου Ελένη, της οποίας η καθοδήγηση αλλά και συμβολή στην ολοκλήρωση της πτυχιακής μου εργασίας ήταν καθοριστική.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω το προσωπικό της μονάδας αιμοδοσίας του ΠΓΝ «Αττικόν» για τις γνώσεις που μου προσέφεραν και ιδιαιτέρως την κυρία Λουκοπούλου Ηλέκτρα.

Περιεχόμενα

| | |
|--|----|
| Περίληψη..... | 11 |
| Abstract | 13 |
| Εισαγωγή | 1 |
| Κεφάλαιο 1 : Γενικό Μέρος..... | 2 |
| 1.1.Παράγωγα αίματος | 3 |
| 1.1.1.Ολικό αίμα..... | 3 |
| 1.1.2.Συμπυκνωμένα ερυθρά..... | 4 |
| 1.1.3.Φρέσκο κατεψυγμένο πλάσμα | 5 |
| 1.1.4.Αιμοπετάλια | 6 |
| 1.1.5.Κρυοκαθίζημα | 9 |
| 1.2.Ενδείξεις μετάγγισης..... | 11 |
| 1.2.1.Ενδείξεις μετάγγισης ολικού αίματος..... | 11 |
| 1.2.2.Ενδείξεις μετάγγισης συμπυκνωμένων ερυθρών αιμοσφαιρίων (ΣΕ) | 11 |
| 1.2.3.Ενδείξεις μετάγγισης φρέσκου κατεψυγμένου πλάσματος (FFP) | 12 |
| 1.2.4.Ενδείξεις μετάγγισης αιμοπεταλίων (PLT) | 14 |
| 1.2.5.Ενδείξεις μετάγγισης κρυοκαθιζήματος | 16 |
| 1.3.Ανεπιθύμητες αντιδράσεις μετάγγισης | 16 |
| 1.3.1.Αιμολυτικές αντιδράσεις..... | 17 |
| 1.3.2.Αλλεργικές και αναφυλακτικές αντιδράσεις | 18 |
| 1.3.3.Μετάδοση λοιμογόνων παραγόντων | 19 |
| 1.3.4.Οξεία πνευμονική βλάβη συνδεόμενη με μετάγγιση (Σύνδρομο TRALI) | 23 |
| 1.3.5.Μεταμεταγγισιακή πορφύρα..... | 25 |
| 1.3.6.Αιμοσιδήρωση..... | 25 |
| 1.3.7.Πυρετικές μη αιμολυτικές αντιδράσεις | 26 |
| 1.3.8.Ανοσοτροποποιητικές δράσεις | 27 |
| 1.3.9.Νόσος μοσχεύματος εναντίον ξενιστή σχετιζόμενη με μετάγγιση | 28 |
| 1.3.10.Υπερφόρτωση κυκλοφορίας | 29 |
| 1.3.11.Βακτηριακή επιμόλυνση παραγώγων αίματος..... | 30 |
| 1.4. Ασφαλέστερη μετάγγιση..... | 32 |
| 1.4.1.Πριν από την φλεβοκέντηση..... | 32 |
| 1.4.2.Κατά την διάρκεια της φλεβοκέντησης | 34 |
| 1.4.3.Μετά από την φλεβοκέντηση | 35 |
| 1.4.4.Λευκαφαίρεση | 35 |

| | |
|--|----|
| 1.4.5.Ακτινοβόληση..... | 36 |
| 1.4.6.Πλύσιμο..... | 36 |
| 1.5.Μέθοδοι αδρανοποίησης παθογόνων..... | 37 |
| 1.5.1.Αδρανοποίηση παραγώγων αίματος..... | 37 |
| 1.5.2.Πλάσμα..... | 38 |
| 1.5.3.Αιμοπετάλια..... | 40 |
| Κεφάλαιο 2: Intercept Blood System..... | 43 |
| 2.1.Περιγραφή του Intercept Blood System..... | 43 |
| 2.2.Πρωτόκολλο αδρανοποίησης παθογόνων..... | 44 |
| 2.3.Αδρανοποίηση παθογόνων με το Intercept Blood System..... | 47 |
| 2.4.Αμοτосαλένιο..... | 49 |
| 2.5.Μηχανισμός δράσης του αμοτосαλένιου..... | 49 |
| 2.6.Τοξικές επιδράσεις του Intercept Blood system..... | 51 |
| 2.7.Επιπτώσεις του Intercept στο πλάσμα..... | 52 |
| 2.8. Επιπτώσεις του Intercept στα αιμοπετάλια..... | 56 |
| Κεφάλαιο 3: Mirasol Pathogen Reduction Technology (PRT) System..... | 59 |
| 3.1.Περιγραφή του Mirasol PRT System..... | 59 |
| 3.2.Πρωτόκολλο αδρανοποίησης του Mirasol PRT System..... | 61 |
| 3.3.Αδρανοποίηση παθογόνων με το Mirasol PRT System..... | 67 |
| 3.4.Ριβοφλαβίνη..... | 69 |
| 3.5.Μηχανισμός δράσης ριβοφλαβίνης..... | 70 |
| 3.6.Τοξικές επιδράσεις της ριβοφλαβίνης..... | 71 |
| 3.7.Επιπτώσεις του Mirasol PRT System στο πλάσμα..... | 73 |
| 3.8.Επιπτώσεις του Mirasol PRT System στα αιμοπετάλια..... | 76 |
| 3.8.1.Υπερδραστικότητα αιμοπεταλίων..... | 76 |
| 3.8.2.Απώλεια α-κοκκίων κατά την αποθήκευση..... | 78 |
| 3.8.3.Διαταραχή εξάπλωσης στο κολλαγόνο..... | 79 |
| 3.8.4.Μεταβολικές αλλοιώσεις αιμοπεταλίων..... | 79 |
| 3.8.5Υποκίνηση απόπτωσης σε αιμοπετάλια αδρανοποιημένα με το Mirasol PRT System..... | 81 |
| Κεφάλαιο 4: THERAFLEX-UV Platelets System..... | 82 |
| 4.1.Περιγραφή του THERAFLEX-UV Platelets System..... | 82 |
| 4.2.Πρωτόκολλο αδρανοποίησης του THERAFLEX-UV Platelets System..... | 83 |
| 4.3.Αδρανοποίηση παθογόνων με το THERAFLEX-UV Platelets System..... | 85 |

| | |
|---|-----|
| 4.4.Μηχανισμός δράσης UVC ακτινοβολίας..... | 87 |
| 4.5.Τοξικές επιδράσεις από την εφαρμογή της UVC ακτινοβολίας..... | 89 |
| 4.6. In vitro ποιότητα αιμοπεταλίων έπειτα από την αδρανοποίηση με το THERAFLEX-UV Platelets System | 90 |
| Κεφάλαιο 5: THERAFLEX-MB Plasma System..... | 91 |
| 5.1.Περιγραφή του THERAFLEX-MB Plasma System..... | 92 |
| 5.2.Πρωτόκολλο αδρανοποίησης του THERAFLEX-MB Plasma System..... | 92 |
| 5.3.Αδρανοποίηση παθογόνων με το THERAFLEX-MB Plasma System | 94 |
| 5.4.Μπλε του μεθυλενίου | 97 |
| 5.5.Μηχανισμός δράσης του μπλε του μεθυλενίου | 98 |
| 5.6.Τοξικές επιδράσεις του μπλε του μεθυλενίου..... | 99 |
| 5.7.Επιπτώσεις του THERAFLEX-MB Plasma System στο πλάσμα | 99 |
| Συμπεράσματα | 100 |
| Βιβλιογραφία..... | 101 |

Περίληψη

Η μετάγγιση αίματος είναι μια διαδικασία πραγματοποιείται καθημερινά σε μεγάλο αριθμό ασθενών, για την θεραπεία ενός εκτενούς εύρους παθήσεων. Πρωταρχικός στόχος της, καθώς και των παραγώγων που προέρχονται από αυτήν, είναι η χορήγηση μονάδων που δεν εγκυμονούν κινδύνους για τον οργανισμό του ασθενή. Ο κυριότερος και συγχρόνως πιο διαχρονικός κίνδυνος, είναι η μετάγγιση παραγώγων αίματος τα οποία φέρουν παθογόνους μικροοργανισμούς όπως βακτήρια, ιούς και πρωτόζωα. Για την αντιμετώπιση αυτού του κινδύνου, αναπτύχθηκαν τεχνικές που αποσκοπούν στην εξάλειψη των παθογόνων μικροοργανισμών από τα προς μετάγγιση παράγωγα αίματος και αποκαλούνται Μέθοδοι Αδρανοποίησης Παθογόνων. Τη δεδομένη χρονική στιγμή εφαρμόζονται σε αιμοπετάλια και πλάσμα. Οι κυριότερες μέθοδοι περιλαμβάνουν τη χρήση αμοτοσαλένιου/UVA ακτινοβολίας (Intercept Blood System), ριβοφλαβίνης/UVA-UVB ακτινοβολίας (Mirasol PRT System), UVC ακτινοβολίας (THERAFLEX-UV Platelets System) και μπλε του μεθυλενίου/ ορατού φωτός (THERAFLEX-MB Plasma System). Στη συγκεκριμένη πτυχιακή εργασία παρουσιάζεται κάθε ένα από τα παραπάνω συστήματα, η αποτελεσματικότητά τους και οι επιπτώσεις τους στα παράγωγα στα οποία εφαρμόζονται.

Abstract

Blood transfusions are performed daily in a large number of patients, for the treatment of a wide range of diseases. The primary goal of blood transfusion, as well as its derivatives, is to provide units that do not pose a risk to the patient's organism. One of the main and intertemporal dangers of blood transfusion, is the administration of blood products which carry pathogens such as bacteria, viruses and protozoa. To address this risk, techniques have been developed to eliminate pathogens in transfused blood products, which are called Pathogen Inactivation Techniques (PIT's). At the given time they are applied to platelets and plasma. The main methods include the use of amotosalen/UVA irradiation (Intercept Blood System), riboflavin/UVA-UVB irradiation (Mirasol PRT System), UVC irradiation (THERAFLEX-UV Platelets System) and methylene blue/visible light (THERAFLEX-MB Plasma System). This dissertation presents each of the above systems, their effectiveness and their effects on the derivatives to which they are applied.

Εισαγωγή

Ως μετάγγιση αίματος περιγράφεται η μεταφορά αίματος από την κυκλοφορία ενός ανθρώπου στην κυκλοφορία ενός άλλου για θεραπευτικούς σκοπούς [1] και συνιστά κλάδο της ιατρικής μεταγγίσεων[2]. Ο άγγλος William Harvey (1578-1657) , ήταν ο πρώτος που περιέγραψε την ικανότητα της καρδιάς να ρυθμίζει την κυκλοφορία του αίματος- καθώς αυτό διέρχεται από εκείνη και εν συνεχεία κατευθύνεται προς τα αγγεία- και ουσιαστικά με αυτόν τον τρόπο υποκίνησε τους μετέπειτα επιστήμονες να ασχοληθούν περαιτέρω με την επιστήμη του αίματος. Λίγα χρόνια αργότερα και συγκεκριμένα το 1667, ο Richard Lower πραγματοποίησε την 1^η επιτυχή μετάγγιση αίματος συνδέοντας την καρωτίδα ενός προβάτου (δότης αίματος) με την φλέβα ενός ανθρώπου (δέκτης αίματος) ονόματι Arthur Coga [1]. Ενάμιση αιώνα αργότερα , ο James Bundell επιχειρεί και πραγματοποιεί την πρώτη μετάγγιση αίματος από άνθρωπο σε άνθρωπο με την ημερομηνία - της ιστορικής αυτής στιγμής για την επιστήμη της μετάγγισης αίματος – να είναι 22 Δεκεμβρίου του 1818. Σε βάθος 11 χρόνων (1818-1829) ο James Bundell πραγματοποιεί άλλες 10 μεταγγίσεις αίματος μεταξύ ανθρώπων και σε συνδυασμό με τη μετέπειτα επιστημονική του πορεία κερδίζει το χαρακτηρισμό του « πατέρα της σύγχρονης μετάγγισης αίματος» [3].

Η καθιέρωση της μετάγγισης αίματος ως επιστήμη επήλθε το 1900 με την ανακάλυψη του αντιγονικού συστήματος ABO από τον Karl Landsteiner, με τους Ottenberg και Schultz το 1907 να πραγματοποιούν τη πρώτη μετάγγιση αίματος σύμφωνα με την ABO συμβατότητα . Ο Πρώτος Παγκόσμιος πόλεμος (1914-1918) ανέδειξε την ανάγκη αποθήκευσης μονάδων αίματος για την μετέπειτα χορήγηση τους σε ασθενείς με έντονη αιμορραγία. Το γεγονός αυτό οδήγησε στην δημιουργία της πρώτης τράπεζας αίματος στο Λένινγκραντ της Ρωσίας το 1932 και στην ίδρυση της πρώτης λειτουργικής τράπεζας αίματος στη Βαρκελώνη το 1936 ένεκα του Ισπανικού εμφυλίου (1937-1939) [4]. Στην επόμενη μεγάλη πολεμική σύρραξη, δηλαδή στον Δεύτερο Παγκόσμιο πόλεμο (1939-1945), η αποθήκευση του αίματος γινόταν σε γυάλινες φιάλες , με την μετατροπή του δοχείου αποθήκευσης από γυάλινο σε πλαστικό να λαμβάνει χώρα μετά από τον πόλεμο της Κορέας (1950-1953) [5].

Η επιστήμη της μετάγγισης αίματος έδειχνε να διαγράφει ανοδική πορεία και να εξελίσσεται, έως ότου εμφανίστηκε η εξάπλωση του AIDS τη δεκαετία του 1980 [5]. Η ικανότητα μετάδοσης του AIDS δια μέσου της μετάγγισης ταρακούνησε τα θεμέλια του ιατρικού κλάδου αμφισβητώντας σε μεγάλο βαθμό την ασφάλεια της. Μάλιστα η αμφισβήτηση αυτή αποδείχθηκε και στατιστικά, μιας και παρατηρήθηκε σταδιακή μείωση του ποσοστού των αιμοδοτών κατά τη περίοδο 1986-1997 [2]. Αποτέλεσμα των ανωτέρων γεγονότων, ήταν ο ενδεδειγμένος έλεγχος των μονάδων αίματος που προορίζονται για μετάγγιση. Μέχρι το 1990 ο ιολογικός έλεγχος των μονάδων αίματος για παρουσία του ιού της ηπατίτιδας C (HCV) αποτελούσε ρουτίνα, ενώ η περαιτέρω ανάπτυξη των μοριακών τεχνικών διεύρυνε τον αριθμό των μολυσματικών παραγόντων που μπορούν να ανιχνευθούν σε ένα ασκό προς μετάγγιση, μειώνοντας κατά πολύ μεγάλο ποσοστό τη μετάδοση νοσημάτων λόγω μετάγγισης [6].

Το φάσμα των παθογόνων τα οποία εγκυμονούν κινδύνους για τη ζωή του ανθρώπου εφόσον διέλθουν στην αιματική ροή μετά από μετάγγιση, είναι ιδιαίτερα ευρύ και θα αναλυθεί εν μέρει στη συνέχεια. Για τον λόγο αυτό αποτελεί πρόκληση της επιστημονικής κοινότητας η εύρεση τεχνικών οι οποίες αν και προς στιγμήν δεν μπορούν να εξαλείψουν την πιθανότητα εμφάνισης παθογόνων, μπορούν να την περιορίσουν. Μία από αυτές τις τεχνικές η οποία έχει κάνει την εμφάνιση της τα τελευταία χρόνια, βρίσκεται και στο επίκεντρο της εν λόγω εργασίας. Η τεχνική αυτή αποκαλείται Μέθοδος Αδρανοποίησης Παθογόνων (PIT ή Pathogen Inactivation Technique).

Ως Μέθοδοι Αδρανοποίησης Παθογόνων (PIT's – Pathogen Inactivation Techniques) χαρακτηρίζονται οι τεχνικές που αποσκοπούν στην περαιτέρω μείωση – των ήδη χαμηλών- ποσοστών μετάδοσης παθογόνων μικροοργανισμών ή μολύνσεων κατά τη διαδικασία μεταγγίσεων αίματος ή παραγώγων αυτού. Χρησιμοποιούνται εδώ και αρκετά χρόνια στο πλάσμα αλλά και στα αιμοπετάλια, ενώ η χρήση τους προς το παρόν δεν ενδείκνυται σε ερυθρά αιμοσφαίρια [7]. Περισσότερες πληροφορίες θα παρουσιαστούν εν συνεχεία στο κύριο μέρος της εργασίας.

Κεφάλαιο 1 : Γενικό Μέρος

1.1.Παράγωγα αίματος

Ως παράγωγα/προϊόντα αίματος, ορίζονται τα θεραπευτικά συστατικά του αίματος όπως ερυθροκύτταρα, αιμοπετάλια , FFP, κρυοκαθίζημα ή κοκκιοκύτταρα [8]. Τα διαθέσιμα ως προς μετάγγιση παράγωγα του αίματος είναι αρκετά, με την χορήγηση τους να γίνεται ύστερα από την εκτίμηση της κατάστασης του ασθενούς και βάσει αυτής επιλέγεται το κατάλληλο παράγωγο. Μετά από την λήψη του αίματος από τον δότη, λαμβάνεται το φρέσκο Ολικό αίμα το οποίο αποτελείται από τα ερυθρά αιμοσφαίρια(RBC's ή Red blood cells) , τα αιμοπετάλια (PLT's ή Platelets), τα λευκά αιμοσφαίρια (WBC's ή White blood cells) , τους παράγοντες πήξης και τις πρωτεΐνες του πλάσματος . Τα παράγωγα τα οποία μεταγγίζονται με τη μεγαλύτερη συχνότητα είναι το ολικό αίμα (WB ή Whole blood), τα συμπυκνωμένα ερυθρά (PRBC's ή Packed red blood cells), το φρέσκο κατεψυγμένο πλάσμα (FFP ή Fresh frozen plasma), τα αιμοπετάλια (PLT's) και το κρυοκαθίζημα (cryoprecipitate) [9].

1.1.1.Ολικό αίμα

Το ολικό αίμα (WB) μετά από τη συλλογή του μπορεί να αποθηκευθεί σε ασκούς που φέρουν αντιπηκτικό CPD (αποτελούμενο από κιτρικό άλας, φωσφορικό άλας και δεξτρόζη), CP2D (ίδια σύσταση με το CPD αλλά με διπλάσια ποσότητα δεξτρόζης) ή CPDA (αποτελεί το κύριο αντιπηκτικό του ολικού αίματος και φέρει κιτρικά άλατα, φωσφορικά άλατα, δεξτρόζη και αδενίνη) [10-11]. Η αποθήκευση του πραγματοποιείται στους 2-6°C χωρίς να απαιτείται ανακίνηση του ασκού αποθήκευσης, με τη «διάρκεια ζωής» του ασκού να οριοθετείται στις 21 ημέρες αν το αντιπηκτικό επιλογής είναι το CPD ή στις 35 αν το αντιπηκτικό είναι το CPDA [12]. Υπάρχει και μια διάκριση του ολικού αίματος σε 2 κατηγορίες : α) το φρέσκο ολικό αίμα (Fresh WB) το οποίο μπορεί να παραμείνει σε θερμοκρασία δωματίου και να μεταγγισθεί εντός 24 ωρών από τη συλλογή του αλλιώς απορρίπτεται [13] και β) το ολικό αίμα που αποθηκεύεται (Stored WB) [10]. Η χρήση του ολικού αίματος δεν είναι τόσο συνηθισμένη πλέον και αυτό οφείλεται στην αυξημένη πιθανότητα μετάδοσης λοιμογόνων παραγόντων [14], αλλά και στον αυξημένο κίνδυνο ABO

ασυμβατότητας μεταξύ δότη και δέκτη, οδηγώντας σε αιμολυτική αντίδραση του ασθενούς [10].



Εικόνα 1. Ασκός Ολικού αίματος (Η φωτογραφία προέρχεται από τη μονάδα αιμοδοσίας του ΠΓΝ "Αττικών")

1.1.2. Συμπυκνωμένα ερυθρά

Τα συμπυκνωμένα ερυθρά (PRBC's) προέρχονται από το φρέσκο ολικό αίμα, ύστερα από φυγοκέντρηση στις 4100rpm για 10 λεπτά [9]. Αποτέλεσμα της φυγοκέντρησης είναι ο διαχωρισμός των ερυθρών από το πλάσμα και η καθίζηση τους στο κατώτερο τμήμα του ασκού. Συνολικά αφαιρούνται 200-250mL πλάσματος κατά τη διαδικασία της φυγοκέντρησης. Τα συμπυκνωμένα ερυθρά μπορούν να διατηρηθούν σε ασκό με αντιπηκτικό CPDA για 35 ημέρες [15] ή σε ασκό με αντιπηκτικό CPDA-SAGM (σαν το CPDA με επιπρόσθετη παρουσία αλάτων, αδενίνης, γλυκόζης και μανιτόλης) [11] για 42 ημέρες, με τη θερμοκρασία αποθήκευσης να είναι και στις δύο περιπτώσεις 2-6°C. Εναλλακτικά μπορεί να πραγματοποιηθεί αποθήκευση των συμπυκνωμένων ερυθρών παρουσία υψηλής συγκέντρωσης γλυκερόλης στους -60 έως -80°C για 10 χρόνια [16]. Η τελική ποσότητα των διαθέσιμων συμπυκνωμένων ερυθρών εντός του

ασκού είναι 250-260mL, τα οποία έχουν τιμή αιματοκρίτη 70-80% [15] (για το λόγο αυτό πραγματοποιείται ανασύσταση των ερυθρών προ της μετάγγισης με αλατούχο διάλυμα 0.9% σε αναλογία 10mL διαλύματος/ 30mL ερυθρών [9]) και μπορούν να αυξήσουν την αιμοσφαιρίνη του ασθενούς κατά 1g/dL και τον αιματοκρίτη κατά 3%[17]. Πέρα της φυγοκέντρησης αποτελεί κοινή πρακτική – για συγκεκριμένη κατηγορία ασθενών- η λευκαφαίρεση και ακτινοβόληση των ερυθρών προκειμένου να μειωθεί η πρόκληση κάποιας ανεπιθύμητης αντίδρασης λόγω παρουσίας των λευκών αιμοσφαιρίων [17].



Εικόνα 2. Ασκός Συμπυκνωμένων ερυθρών που περιέχει αντιπηκτικό CPDA-SAGM και έχει υποστεί λευκαφαίρεση (Η φωτογραφία προέρχεται από τη μονάδα αιμοδοσίας του ΠΓΝ "Αττικόν")

1.1.3.Φρέσκο κατεψυγμένο πλάσμα

Το φρέσκο κατεψυγμένο πλάσμα (FFP) είναι ένα από τα σημαντικότερα παράγωγα αίματος. Τυπικά το πλάσμα λαμβάνεται ύστερα από φυγοκέντρηση ενός ασκού ολικού αίματος και το βρίσκουμε στο υπερκείμενο υγρό [15]. Εναλλακτικά για να

πραγματοποιηθεί ο διαχωρισμός του πλάσματος από το ολικό αίμα μπορεί να πραγματοποιηθεί και η διαδικασία της πλασμαφαίρεσης [18]. Συνήθως η ποσότητα του FFP είναι 200-250mL [19], ωστόσο σε γενικότερα πλαίσια μπορεί να κυμανθεί από 180 mL έως και 400 mL [18]. Για να χαρακτηριστεί ένας ασκός πλάσματος ως FFP θα πρέπει να ψυχθεί έως και 8 ώρες από τη συλλογή του [19], σε θερμοκρασία -30°C [18]. Η αποθήκευση του πραγματοποιείται στην ίδια θερμοκρασία μέχρι και για ένα χρόνο [15], ενώ μετά το πέρας του ενός χρόνου το FFP λαμβάνει τον χαρακτηρισμό κατεψυγμένο πλάσμα (FP) και μπορεί να αποθηκευθεί για άλλα 4 χρόνια [9]. Κατά τη κατάψυξη του ο ασκός αποθήκευσης του FFP καθίσταται ιδιαίτερα σκληρός και χρειάζονται προσεκτικοί του χειρισμού προκειμένου να αποφευχθεί τυχόν θραύση του. Πριν από τη χορήγηση του το FFP πρέπει να αποψυχθεί με προσοχή και κατά τη διαδικασία της απόψυξης γίνεται προσεκτικός μακροσκοπικός έλεγχος του ασκού για ενδεχόμενες ανωμαλίες του [18], ενώ η χορήγηση του ασκού πρέπει να πραγματοποιηθεί εντός έξι ωρών από την απόψυξη του [19].

Εντός του FFP ακόμα και ένα χρόνο μετά την αποθήκευση εμπεριέχονται παράγοντες αίματος όπως ο FII, FVII, FVIII, FIX, FX, παράγοντας von Willebrand (vWF)[20], για το λόγο αυτό χορηγείται συμπληρωματικά σε ασθενείς που φέρουν ελλείψεις των παραγόντων αυτών ή ελλείψεις πρωτεϊνών [9].



Εικόνα 3.Ασκός FFP (Η φωτογραφία προέρχεται απο τη μονάδα αιμοδοσίας του ΠΓΝ "Αττικόν")

1.1.4.Αιμοπετάλια

Τα αιμοπετάλια λαμβάνονται είτε μέσω μεθόδων φυγοκέντρησης του αρχικού ασκού ολικού αίματος, είτε μέσω της διαδικασίας της αφαίρεσης [15]. Τα αιμοπετάλια διαθέτουν το μικρότερο μέγεθος και μοριακό βάρος από τους άλλους δύο κυτταρικούς τύπους (λευκά και ερυθρά αιμοσφαίρια), οπότε κατά τη διαδικασία της φυγοκέντρησης εμπεριέχονται στο υπερκείμενο υγρό του ασκού μαζί με το πλάσμα [21]. Υπάρχουν δύο τρόποι φυγοκέντρησης του ολικού αίματος από τους οποίους προκύπτουν δύο τύποι αιμοπεταλίων, τα αιμοπετάλια που προέρχονται από φυγοκέντρηση πλάσματος πλούσιου σε αιμοπετάλια (PRP ή Platelet rich plasma) και αιμοπετάλια προερχόμενα από τη λευκοκυτταρική στοιβάδα (BC-PC ή Buffy coat-Platelet concentrates) [22]. Το PRP λαμβάνεται από αρχική ήπια φυγοκέντρηση ολικού αίματος (αλλιώς αποκαλούμενη και ως «light spin») και εν συνεχεία το πλάσμα που φέρει τα αιμοπετάλια υπόκειται σε μια πιο δυνατή φυγοκέντρηση (γνωστή και ως heavy spin) από την οποία και προκύπτουν τα αιμοπετάλια. Ο ασκός που προέρχεται από φυγοκέντρηση του PRP περιέχει 50-70mL αιμοπεταλίων συγκέντρωσης 5.5×10^{10} [15]. Τα αιμοπετάλια χαρακτηριζόμενα και ως BC-PC, προέρχονται από αρχικό heavy spin του ολικού αίματος όπου σχηματίζεται το buffy coat και δημιουργείται pool από buffy coat (συνήθως χρησιμοποιούνται 10) το οποίο υποβάλλεται σε light spin και σε λευκαφαίρεση με τελικό αποτέλεσμα την απομόνωση αιμοπεταλίων. Αξίζει να σημειωθεί, πως το PRP είναι πιο κοινό στις ΗΠΑ ενώ τα BC-PC είναι πιο ευρέως χρησιμοποιούμενα στην Ευρώπη [23].



Εικόνα 4. Ασκός κοινών αιμοπεταλίων (Η φωτογραφία προέρχεται απο τη μονάδα αιμοδοσίας του ΠΓΝ "Αττικών")

Η λήψη αιμοπεταλίων με τη διαδικασία της αφαίρεσης πραγματοποιείται με τη χρήση μηχανήματος το οποίο διαχωρίζει τους κυτταρικούς πληθυσμούς του αίματος, απομονώνοντας τα αιμοπετάλια. Τα λευκά και τα ερυθρά αιμοσφαίρια επιστρέφουν μέσω του μηχανήματος ξανά στην κυκλοφορία [22]. Τα αιμοπετάλια αφαίρεσης που λαμβάνονται έχουν συνολικό όγκο 200-400mL μαζί με παρουσία πλάσματος (περίπου 250mL), ενώ η ελάχιστη συγκέντρωση αιμοπεταλίων που μπορεί να συλλεχθεί είναι $3 \times 10^{11} / 250\text{mL}$. Το πλεονέκτημα της αφαίρεσης είναι ότι μπορεί να ληφθεί απευθείας ποσότητα η οποία ισοδυναμεί με pool αιμοπεταλίων από 5-6 διαφορετικούς δότες [15]. Ανεξαρτήτως της διαδικασίας με την οποία απομονώνουμε τα αιμοπετάλια, η αποθήκευση τους γίνεται σε θερμοκρασία 20-24 °C για 5-7 ημέρες και σε συνθήκες διαρκούς ανακίνησης, ενώ οι ασκοί που χρησιμοποιούνται για την αποθήκευση τους φέρουν ειδικούς μικροσκοπικούς πόρους για την «αναπνοή» των αιμοπεταλίων που καθίσταται αναγκαία για την επιβίωση τους [22]. Η θερμοκρασία αποθήκευσης ευνοεί την ανάπτυξη αρκετών

παθογόνων μικροοργανισμών καθιστώντας πρόκληση την μεγαλύτερης διάρκειας αποθήκευση των αιμοπεταλίων με την εισαγωγή των μεθόδων αδρανοποίησης παθογόνων να προσπαθεί να επιλύσει αυτό το πρόβλημα.

1.1.5.Κρυοκαθίζημα

Το κρυοκαθίζημα είναι ένα παράγωγο το οποίο χαρακτηρίζεται από την παρουσία υψηλού μοριακού βάρους πρωτεϊνών του πλάσματος και προέρχεται από σταδιακή απόψυξη ενός ασκού FFP σε θερμοκρασία 1-6°C [24]. Κατά την απόψυξη του FFP, στο κατώτερο τμήμα του ασκού καθιζάνει το κρυοκαθίζημα το οποίο έχει μια χαρακτηριστική λευκή όψη [9]. Αφού πραγματοποιηθεί ο διαχωρισμός μεταξύ κρυοκαθιζήματος και του υπερκείμενου υγρού, το πρώτο μπορεί να αποθηκευθεί στους -18°C για ένα χρόνο [15]. Το κρυοκαθίζημα είναι πλούσιο σε συγκεντρώσεις των παραγόντων VIII, vWF, XIII [25], XI αλλά και σε ινωδογόνο και φιβρονεκτίνη [9]. Η συνολική ποσότητα που συλλέγεται από έναν ασκό FFP είναι 10-15 mL και περιέχει 80 IU/mL παράγοντα VIII και 150mg ινωδογόνου [15].

Στη συνέχεια ακολουθεί ο Πίνακας 1 με όλα τα προς μετάγγιση διαθέσιμα παράγωγα [16]:

**Πίνακας 1 : Παράγωγα αίματος τα οποία μπορούν να μεταγγιστούν μαζί με ορισμένα χαρακτηριστικά τους και τον όγκο που καταλαμβάνουν στον ασκό αποθήκευσης.
HCT= αιματοκρίτης**

| Προϊόν Αίματος | Χαρακτηριστικά | Όγκος |
|-------------------|---|---|
| Ολικό αίμα | HCT 36-44 % Αιμοπετάλια μη βιώσιμα μετά τις πρώτες 24 ώρες, παράγοντες πήξης σημαντικά μειωμένοι μετά από 2 ημέρες | 520 ml (450ml αίμα και 63 ml CPD ή CPDA-1) |
| Ερυθρά | HCT 70-80% Περιεκτικότητα σε λευκά και αιμοπετάλια όπως το ολικό αίμα. | 260 ml |

| | | |
|---|---|-----------------|
| Ερυθρά σε προσθετικό διάλυμα | Ερυθρά σε μειωμένο όγκο πλάσματος με 100ml προσθετικού διαλύματος αδερίνης- NaCl | 340ml |
| Πλυμένα Ερυθρά | HCT 70-80% Απομάκρυνση 98% του πλάσματος. Απώλεια έως 20% της μάζας των ερυθρών. | 180ml |
| Κατεψυγμένα ερυθρά | HCT 70-80% Ανασύσταση σε φυσιολογικό ορό, λευκαφαίρεση. Απώλεια έως 20% της μάζας των ερυθρών | 250ml |
| Λευκαφαιρεμένα ερυθρά | $< 5 \times 10^6$ WBC'S >85% της αρχικής ερυθροκυτταρικής μάζας | 450 ± 25 ml |
| Κοινά Αιμοπετάλια | Αιμοπετάλια $> 5,5 \times 10^{10}$ Πλάσμα 50-70 ml pH $> 6,2$ Λευκαφαιρεμένα Ερυθρά $< 0,5-1,0$ ml | 50-70 ml |
| Αιμοπετάλια αφαίρεσης μονού δότη | Αιμοπετάλια $> 3 \times 10^{11}$ Πλάσμα 250 ml pH $> 6,2$ Λευκαφαιρεμένα Ερυθρά $< 0,5-1,0$ ml | 200-400 ml |
| Λευκαφαιρεμένα αιμοπετάλια | Λευκά $< 5 \times 10^6$ $< 10\%$ απώλεια αιμοπεταλίων | 450 ± 25 ml |
| Κοκκιοκύτταρα | Κοκκιοκύτταρα $> 1 \times 10^{10}$ 200-300 ml πλάσμα. Μεγάλη συγκέντρωση αιμοπεταλίων. HCT έως 10% | 200-300 ml |
| FFP(Φρέσκο κατεψυγμένο πλάσμα) | Περιέχει <u>όλους</u> τους παράγοντες πήξης, συμπλήρωμα και πρωτεΐνες πλάσματος . | 200-260 ml |
| Πλάσμα φτωχό σε κρυσταλλίνη | Μειωμένες συγκεντρώσεις ινωδογόνου, παράγοντα VIII και vWF | 200 ml |
| Κρυσταλλίνη | 80 μονάδες παράγοντα VIII > 150 mg ινωδογόνο 40-70% του vWF της αρχικής μονάδας FFP 20-30% του XIII της αρχικής μονάδας FFP <u>Δεν</u> περιέχει παράγοντα V | 10-15 ml |

1.2.Ενδείξεις μετάγγισης

1.2.1.Ενδείξεις μετάγγισης ολικού αίματος

Η μετάγγιση ολικού αίματος έχει σχεδόν αντικατασταθεί από την μετάγγιση παραγώγων αίματος, ωστόσο δεν έχει καταργηθεί εντελώς [14]. Ενδείξεις για τη μετάγγιση ολικού αίματος αποτελούν οξείες αιμολυτικές και αιμορραγικές εκδηλώσεις [26], ενώ το ολικό αίμα είναι συχνά συσχετισμένο με τις διαδικασίες αναζωογόνησης οξέων αιμορραγικών επεισοδίων [10]. Επειδή η χρήση πλέον προορίζεται κυρίως για αιμορραγικά επεισόδια, μεταγγίζεται αρκετά συχνά κατά τη πραγματοποίηση στρατιωτικών επιχειρήσεων [27]. Ουσιαστικά το ολικό αίμα είναι απαραίτητο για τις μαζικές μεταγγίσεις, όπου εξαιτίας του γεγονότος ότι διαθέτει όλους τους κυτταρικούς πληθυσμούς τείνει να είναι καταλληλότερο για πολύ-τραυματίες [14]. Αξιολόγηση των τιμών του αιματοκρίτη και της αιμοσφαιρίνης είναι απαραίτητες κατά τις αιμορραγικές εκδηλώσεις και καθορίζουν κατά μεγάλο βαθμό τη πραγματοποίηση ή μη της μετάγγισης. Βέβαια ο αιματοκρίτης ορισμένες φορές κρίνεται αναξιόπιστος, οπότε πιο σημαντική στην αξιολόγηση της απώλειας αίματος είναι η τιμή της αιμοσφαιρίνης. Συνήθεις ενδείξεις χορήγησης ασκού ολικού αίματος αποτελούν τιμή Hb < 7 gr/dL, ιστική υποξία και μειωμένη μεταφορά οξυγόνου [26].

1.2.2.Ενδείξεις μετάγγισης συμπυκνωμένων ερυθρών αιμοσφαιρίων (ΣΕ)

Η μετάγγιση ερυθρών αιμοσφαιρίων ενδείκνυται προκειμένου να επιτευχθεί οξυγόνωση των ιστών, όταν οι τιμές της αιμοσφαιρίνης είναι ιδιαιτέρως χαμηλές και μειώνεται η ικανότητα μεταφοράς οξυγόνου στους ιστούς [28]. Στις γενικότερες ενδείξεις για τη μετάγγιση ερυθρών αιμοσφαιρίων συγκαταλέγονται η απώλεια αίματος μεγαλύτερη του 1,5 λίτρου ή του 30% του συνολικού όγκου αίματος του ασθενούς [17], αλλά η και πτώση της αιμοσφαιρίνης σε τιμές μικρότερες από 7g/dL [29]. Οι κλινικές παράμετροι βάσει των οποίων καθορίζεται η ανάγκη για μετάγγιση ερυθρών αιμοσφαιρίων είναι : α) ηλικία , β)ενδείξεις και συμπτώματα αναιμίας, γ)

ταχύτητα απώλειας αίματος, δ) όγκος αίματος που έχει χαθεί, ε) καρδιακή λειτουργία, στ) πνευμονική λειτουργία, ζ) φαρμακευτικές αγωγές [28]. Στη συνέχεια παρατίθενται ασθένειες/ κλινικές καταστάσεις που απαιτούν μετάγγιση:

1. Οξεία αναιμία : Μετάγγιση πραγματοποιείται ύστερα από εκτίμηση της τιμής της αιμοσφαιρίνης, της απώλειας αίματος και της κλινικής κατάστασης του ασθενούς. Σε απώλεια <15% του συνολικού όγκου δε πραγματοποιείται μετάγγιση, σε απώλεια 15-30% μετάγγιση γίνεται μόνο σε ενδείξεις προ-υπάρχουσας καρδιακής και πνευμονικής νόσου ενώ απώλεια >30% χρήζει μετάγγισης ερυθρών αιμοσφαιρίων [28].
2. Χρόνια αναιμία : Σπανίως πραγματοποιείται μετάγγιση σε τιμές Hb>8 gr/dL. Σε διαταραχές μυοκαρδίου και αναπνευστικής λειτουργίας μετάγγιση γίνεται όταν η Hb < 8 gr/dL. Σε ασθενείς που υποβάλλονται σε χημειοθεραπείες και ακτινοθεραπείες το αποδεκτό όριο αλλάζει και μετάγγιση γίνεται σε τιμές Hb < 10 gr/dL. Σε θαλασσαιμικούς ασθενείς η τιμή μετάγγισης οριοθετείται σε Hb < 9-9,5 gr/dL, ενώ σε θρομβοπενικούς ασθενείς αποσκοπεί στη διατήρηση του αιματοκρίτη στο 30% και στην ελάττωση του κινδύνου εμφάνισης αιμορραγίας. [28].
3. Χειρουργεία : Παράγοντες που επηρεάζουν την αναγκαιότητα της μετάγγισης είναι το είδος του χειρουργείου, η διάρκεια και ο όγκος της απώλειας αίματος και η υποκείμενη νόσος του ασθενούς. Κατά γενικό κανόνα σε τιμές Hb < 7 gr/dL χορηγούνται ερυθρά. [28].
4. Μεταμόσχευση μυελού των οστών : Η μετάγγιση καθορίζεται εξ ολοκλήρου από την κατάσταση του εκάστοτε ασθενούς και μεταγγίζονται λευκαφαιρεμένα ερυθρά ίδιας ομάδας αίματος και γονοτύπου. [28].
5. Μεταγγίσεις νεογνών : Χρησιμοποιούνται ειδικοί ασκοί των 25-100 mL που φέρουν λευκαφαιρεμένα ή ακτινοβολημένα ερυθρά, με τη μετάγγιση να πραγματοποιείται σε τιμές Hb < 10 gr/ [30].
6. Αιμορραγικό σοκ : Γίνεται χορήγηση μονάδων ερυθρών για αναζωογόνηση του ασθενούς και περιορισμό της αιμορραγίας [30].
7. Σηπτικό σοκ : Μετάγγιση πραγματοποιείται σε τιμές Hb < 10 gr/dL [30].

1.2.3 Ενδείξεις μετάγγισης φρέσκου κατεψυγμένου πλάσματος (FFP)

Στην κλινική πράξη δύο είναι οι κυριότερες ενδείξεις για τη χορήγηση FFP και αυτές είναι η αποτροπή της αιμορραγίας (προφύλαξη) ή διακοπή της αιμορραγίας (θεραπευτική χορήγηση). Η προφυλακτική μετάγγιση FFP ανέρχεται σε ποσοστό 50% των συνολικών μεταγγίσεων FFP , με την πραγματοποίηση της να γίνεται πριν από χειρουργική επέμβαση ή επεμβατική μέθοδο [31]. Εργαστηριακά ευρήματα τα οποία ενισχύουν την ανάγκη μετάγγισης FFP αποτελούν ο χρόνος προθρομβίνης (PT ή Prothrombin time), το INR (International normalized ratio) , ο χρόνος ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστίνης (APTT Activated partial thromboplastin time) αλλά και μετρήσεις των παραγόντων πήξης για διαταραχές πήκτικότητας. Οι παραπάνω εξετάσεις δύνανται να αναδείξουν προβλήματα των ενδογενών και εξωγενών μονοπατιών της πήξης[32]. Κλινικές ασθένειες/ καταστάσεις όπου κρίνεται απαραίτητη η μετάγγιση FFP είναι :

- 1) Διόρθωση της συγκέντρωσης παραγόντων πήξης λόγω κληρονομικών και επίκτητων διαταραχών/ ελλείψεων. Η διόρθωση των παραγόντων πήξης συνήθως πραγματοποιείται για : α) περιορισμό ενεργούς αιμορραγίας σε ηπατική νόσο, β) αποφυγή πρόκλησης αιμορραγίας κατά τη διενέργεια χειρουργείου ή επεμβατικής μεθόδου σε ασθενείς με ηπατική νόσο [33], γ) αποφυγή αιμορραγίας πριν από χειρουργείο σε ασθενείς με ελλείψεις παραγόντων πήξης [32], δ) άμεση διόρθωση των επιπέδων βιταμίνης Κ και αναστροφή των επιπτώσεων του αντιπηκτικού βαρφαρίνης παρουσία μεγάλου αιματώματος ή ενδοκρανιακής αιμορραγίας, ή για τη προετοιμασία μεγάλου χειρουργείου σε περίπτωση όπου δε μπορεί να πραγματοποιηθεί θεραπεία με συγκεντρώσεις παραγόντων του συμπλέγματος προθρομβίνης [31,33], ε) διόρθωση διάχυτης ενδοαγγειακής πήξης ή υποκείμενης νόσου όπου εμπλέκονται οι παράγοντες πήξης [32], στ) διόρθωση της τριχοειδικής αιμορραγίας σε ασθενείς που υποβάλλονται σε μαζική μετάγγιση [33], ζ) έλλειψη ενός μοναδικού παράγοντα πήξης (συνηθέστερα του παράγοντα V), όταν δεν είναι εφικτή η χορήγηση συγκεντρώσεων μόνο του παράγοντα που εμφανίζει τη διαταραχή [32].
- 2) Πλασμαφαίρεση και επακόλουθη χορήγηση πλάσματος για θρομβωτικές μικροαγγειοπάθειες όπως το αιμολυτικό/ουραιμικό σύνδρομο, η αύξηση ηπατικών

ενζύμων σε αιμολυτική αναιμία [33] και η θρομβωτική θρομβοπενική πορφύρα [18].

- 3) Ανασύσταση ολικού αίματος κατά τη διαδικασία μετάγγισης ανταλλαγής (ταυτόχρονη αφαίρεση αίματος ασθενή και αντικατάσταση του από αίμα δότη) [33].
- 4) Κληρονομικό αγγειοίδημα ένεκα απουσίας του αναστολέα της C_1 εστεράσης [33].

Στα νεογνά, η μετάγγιση FFP πραγματοποιείται σε αιμορραγία λόγω έλλειψης βιταμίνης K ή λόγω παρουσίας διάχυτης ενδοαγγειακής πήξης [32], καθώς και σε κληρονομική διαταραχή/έλλειψη ενός παράγοντα. Οι μονάδες προς μετάγγιση θα πρέπει να είναι απαραίτητως ABO συμβατές με τον δέκτη, ενώ δεν απαιτείται υποχρεωτικά συμβατότητα κατά το σύστημα Rhesus [33].

1.2.4. Ενδείξεις μετάγγισης αιμοπεταλίων (PLT)

Η μετάγγιση των αιμοπεταλίων, μπορεί να διακριθεί και αυτή σε προφυλακτική και θεραπευτική [34]. Η προφυλακτική μετάγγιση αιμοπεταλίων καθορίζεται κυρίως από την εκτίμηση του κλινικού γιατρού και συνήθως πραγματοποιείται ύστερα από την αξιολόγηση τριών βασικών παραμέτρων : α) πότε ένας χρόνιος θρομβοπενικός ασθενής χρήζει μετάγγισης αιμοπεταλίων, β) ποια είναι η κατώτερη αποδεκτή τιμή για τη προφυλακτική χορήγηση αιμοπεταλίων και γ) τι είδους δοσολογία μετάγγισης κρίνεται απαραίτητη [35]. Κατά κύριο λόγο η προφυλακτική μετάγγιση πραγματοποιείται σε χρόνια θρομβοπενικούς ασθενείς προκειμένου να αποφευχθεί αιμορραγία, ή σε περιπτώσεις αποφυγής εκτεταμένης αιμορραγίας όταν υπάρχουν ενδείξεις [36]. Αν και στο παρελθόν προφυλακτική μετάγγιση πραγματοποιούνταν σε αριθμό αιμοπεταλίων μικρότερο των 20.000/μl, πλέον το όριο έχει καθιερωθεί σε αριθμό αιμοπεταλίων μικρότερο των 10.000/μl. Το όριο αυτό αναλόγως των εκάστοτε κλινικών περιστατικών επιδέχεται τροποποιήσεις όπως σε ασθενείς με νεκρωτικό όγκο ή όγκο ουροδόχου κύστεως που τοποθετείται στα 20.000/μl, σε ασθενείς με οξεία λευχαιμία όπου τοποθετείται στα 5.000/μl, σε ασθενείς με οξεία

προμυελοκυτταρική λευχαιμία στα 20.000/μl και σε περιπτώσεις όπου θρομβοπενικοί ασθενείς επρόκειτο να υποβληθούν σε κάποια επεμβατική μέθοδο γίνεται προφυλακτική μετάγγιση για αύξηση του αριθμού αιμοπεταλίων σε μεγαλύτερο των 40.000/μl [37]. Στις προφυλακτικές μεταγγίσεις αιμοπεταλίων προτιμούνται οι πολλαπλές μεταγγίσεις με χαμηλή δοσολογία, ωστόσο λόγω του αυξημένου κόστους μπορούν να πραγματοποιηθούν εναλλακτικά λιγότερες μεταγγίσεις με υψηλή δοσολογία [36]. Η θεραπευτική μετάγγιση αιμοπεταλίων διενεργείται σε εκδηλώσεις θρομβοπενίας, με την αναγκαιότητα της να ορίζεται από την εντόπιση της αιμορραγίας και είναι το μέγεθος αυτής, από την απουσία ή δυσλειτουργία παραγόντων πήξης, από την υποκείμενη νόσο του ασθενούς και από τυχόν φαρμακευτικές αγωγές που λαμβάνει [33]. Θεραπευτική μετάγγιση αιμοπεταλίων απαιτείται σε :

1. Ασθενείς που υποβάλλονται σε μετάγγιση αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων.
2. Ασθενείς που υποβάλλονται σε χειρουργική επέμβαση και ο αριθμός των αιμοπεταλίων είναι μικρότερος των 50.000/μl (σπανίως σε ασθενείς με αιμοπετάλια <100.000/μl).
3. Μαζικές μεταγγίσεις όπου ο όγκος των ερυθρών που μεταγγίζεται είναι μεγαλύτερος από τον συνολικό όγκο αίματος του δέκτη και σκοπός είναι η διατήρηση του αριθμού των αιμοπεταλίων σε μεγαλύτερο από 50.000/μl.
4. Ασθενείς που υφίστανται αιμορραγία ύστερα από χειρουργική επέμβαση, η οποία δεν εντοπίζεται στο όργανο/σημείο της χειρουργικής επέμβασης.
5. Οξεία διάχυτη ενδοαγγειακή πήξη όπου παρατηρείται αιμορραγία και θρομβοπενία, γίνεται συνεκτίμηση της κλινικής εικόνας του ασθενούς και διενέργεια εργαστηριακών εξετάσεων (PT, APTT, INR) και εφόσον κριθεί αναγκαίο πραγματοποιείται θεραπευτική μετάγγιση για διατήρηση των αιμοπεταλίων σε αριθμό >50.000/μl.
6. Επίκτητες ή κληρονομικές διαταραχές αιμοπεταλίων.
7. Αυτοάνοση θρομβοπενία, όπου μετάγγιση γίνεται σε οξεία αιμορραγία η οποία μπορεί να αποβεί θανατηφόρα.
8. Μετα-μεταγγισιακή πορφύρα.

1.2.5.Ενδείξεις μετάγγισης κρυσκαθιζήματος

Κλινικές καταστάσεις στις οποίες ενδείκνυται η μετάγγιση κρυσκαθιζήματος είναι :

1. Μαζική μετάγγιση όπου εμφανίζεται εκτεταμένη αιμορραγία ή σε αιμορραγία ύστερα από χειρουργείο καρδιάς [25].
2. Κληρονομικές διαταραχές ινωδογόνου όπου η μετάγγιση κρυσκαθιζήματος γίνεται για την αποφυγή ή την αντιμετώπιση της αιμορραγίας [25].
3. Ιατρογενής πρόωρη ρήξη εμβρυικών υμένων κατά την εγκυμοσύνη [25].
4. Αιμορραγία μετά από τον τοκετό [38].
5. Ηπατική δυσλειτουργία [39].
6. Κληρονομική έλλειψη παράγοντα XIII με τη μετάγγιση να πραγματοποιείται για την αποφυγή και την αντιμετώπιση της αιμορραγίας [25].
7. Νόσος von Willebrand [25].
8. Ουραιμία [25].

1.3.Ανεπιθύμητες αντιδράσεις μετάγγισης

Ως ανεπιθύμητη αντίδραση ή συμβάν ορίζεται η μη επιθυμητή αντίδραση του οργανισμού του ασθενούς, ύστερα από τη χορήγηση αίματος ή παραγώγων του [40]. Οι ανεπιθύμητες αντιδράσεις συνιστούν τη μεγαλύτερη επιπλοκή της μετάγγισης, με την έγκαιρη αναγνώριση τους να είναι κομβικής σημασίας για την υγεία του δέκτη αίματος [41]. Μια ανεπιθύμητη αντίδραση μπορεί να πραγματοποιηθεί είτε κατά τη διάρκεια της μετάγγισης (άμεση αντίδραση), είτε μετά από κάποιες ώρες από την ολοκλήρωση της (απώτερη αντίδραση) [42] και η επίπτωση της στον οργανισμό μπορεί να είναι ήπια ή απειλητική για τη ζωή [43]. Στις σοβαρές ανεπιθύμητες αντιδράσεις που θα αναλυθούν στη συνέχεια συμπεριλαμβάνονται : οι αιμολυτικές αντιδράσεις, οι αλλεργικές και αναφυλακτικές αντιδράσεις, η μετάδοση λοιμογόνων παραγόντων, η οξεία πνευμονική βλάβη συνδεόμενη με μετάγγιση, η μεταμεταγγισιακή πορφύρα, η αιμοσιδήρωση, οι πυρετικές μη αιμολυτικές αντιδράσεις, οι ανοσοτροποιοτικές δράσεις, η βακτηριακή επιμόλυνση παραγώγων

αίματος, η νόσος μοσχεύματος εναντίον ξενιστή και η υπερφόρτωση της κυκλοφορίας.

1.3.1.Αιμολυτικές αντιδράσεις

Οι αιμολυτικές αντιδράσεις σχετιζόμενες με μετάγγιση (αλλιώς γνωστές και ως Hemolytic Transfusion Reactions ή HTR's) αποτελούν μια εν δυνάμει θανατηφόρα επιπλοκή της μετάγγισης αίματος και μπορούν να κατηγοριοποιηθούν ως προς τον χρόνο εκδήλωσης τους σε άμεσες ή όψιμες. Η άμεση μορφή μιας αιμολυτικής αντίδρασης εμφανίζεται εντός 24 ωρών από τη μετάγγιση και οφείλεται στην καταστροφή μη συμβατών ερυθρών αιμοσφαιρίων από αντισώματα του αίματος του δέκτη, είτε εξωαγγειακά είτε ενδοαγγειακά [44]. Η όψιμη μορφή εμφανίζεται 7 έως 10 μέρες μετά από μετάγγιση φαινομενικά συμβατού αίματος, το οποίο ωστόσο διεγείρει μια καθυστερημένη ανοσολογική απόκριση λόγω προγενέστερης ευαισθητοποίησης του δότη από προηγούμενες μεταγγίσεις [45].

Συμπτώματα της άμεσης αιμολυτικής αντίδρασης αποτελούν ο πυρετός, ο εμετός, η δύσπνοια, το ρίγος, το αίσθημα καύσου, η γενικευμένη ανησυχία, ο οσφυϊκός/στερνικός πόνος, η υπέρταση, η αιμοσφαιρινουρία, η επίσταξη, η ολιγοουρία ή ανουρία και η διάχυτη ενδοαγγειακή πήξη [46].

Στις άμεσες αιμολυτικές αντιδράσεις, η αιμόλυση προέρχεται από αλληλεπίδραση των μη συμβατών Α και Β ερυθροκυτταρικών αντιγόνων με προϋπάρχοντα IgM αντισώματα και σπανιότερα με IgG αντισώματα. Η αλληλεπίδραση αυτή πυροδοτεί την ενεργοποίηση του συμπληρώματος. Σε πλήρη δραστηριότητα του συμπληρώματος, τα κλάσματα C5 και C9 του συμπλέγματος μεμβρανικής επίθεσης (MAC ή Membrane Attack Complex) δημιουργούν πολλαπλούς πόρους στην επιφάνεια των μεταγγισμένων ερυθρών αιμοσφαιρίων επιφέροντας την κυτταρική λύση [16], αλλά και την απελευθέρωση περίσσειας ποσότητας αιμοσφαιρίνης η οποία ευθύνεται και για τα συμπτώματα αιμοσφαιριναϊμίας και αιμοσφαιρινουρίας [47].

Σε ατελή ενεργοποίηση του συμπληρώματος συμμετέχουν τα κλάσματα του C3a και C5a (τα οποία και αποτελούν αναφυλατοξίνες), τα οποία με τη σειρά τους

κινητοποιούν την έκκριση μαστοκυττάρων, σεροτονίνης και ισταμίνης. Οι παραπάνω ουσίες , επάγουν την παραγωγή κυτταροκινών και χημειοκινών οι οποίες συναντώνται σε φλεγμονώδεις αντιδράσεις, όπως είναι ο ιστικός παράγοντας νέκρωσης α (TNF α) και η ιντερλευκίνη-8 (IL-8). Επιπρόσθετα, τα συστήματα καλλικρεΐνης και βραδυκινίνης αλλά και τα μονοπάτια της πήξης οδηγούν σε εκδήλωση συνδρόμου συστηματικής φλεγμονώδους αντίδρασης . Επιπλέον, σε ατελή δράση του συμπληρώματος μπορεί να συμμετέχει και το κλάσμα C3b με πραγματοποίηση οψωνισμού. Ο οψωνισμός μαζί με δράση του φαγοκυτταρικού συστήματος οδηγεί σε εξωαγγειακή αιμόλυση που λαμβάνει χώρα στο ήπαρ και στον σπλήνα [48].

Στις όψιμες αιμολυτικές αντιδράσεις, η αιμόλυση προκαλείται από δευτερογενή/αναμνηστική ανοσολογική απόκριση ύστερα από ανοσοποίηση από προηγούμενες μεταγγίσεις αίματος, από χορηγήσεις αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων ή από εγκυμοσύνη. Οι εκδηλώσεις δεν είναι τόσο σοβαρές όσο στις άμεσες αντιδράσεις και ενδέχεται αρκετές φορές να μην γίνουν αντιληπτές από τον ασθενή, με τον εντοπισμό της άλλο-ανοσοποίησης να ανακαλύπτεται ύστερα από ευρήματα σε εξετάσεις. Ωστόσο, αν επέλθουν κλινικές εκδηλώσεις τότε συνήθως πρόκειται για αναιμία, ίκτερο (λόγω εξωαγγειακής αιμόλυσης), μείωση της αιμοσφαιρίνης και σπανιότερα πυρετό, αιμοσφαιριναίμια και αιμοσφαιρινουρία [49].

Σε περίπτωση που επιβεβαιωθεί η ύπαρξη αιμολυτικής αντίδρασης τότε η θεραπευτική αντιμετώπιση συνίσταται σε : άμεση διακοπή της μετάγγισης ,διαρκής ενυδάτωση του ασθενούς, υποστήριξη του δραστικού ενδοαγγειακού όγκου της νεφρικής αιμάτωσης, χορήγηση διουρητικών αγκύλης για διαρκή διούρηση, χρήση αγγειοσυσπαστικών φαρμάκων, χορήγηση ηλεκτρολυτικών διαλυμάτων, άμεση αντιμετώπιση νευρολογικών και καρδιολογικών συμπτωμάτων (επιληπτική κρίση και αρρυθμία, αντίστοιχα), επαναφορά νεφρικής και νεφρικής λειτουργίας εφόσον εκδηλωθούν και αντιμετώπιση της διάχυτης ενδοαγγειακής πήξης (ΔΕΠ) [16].

1.3.2.Αλλεργικές και αναφυλακτικές αντιδράσεις

Οι αλλεργικές και αναφυλακτικές αντιδράσεις (ATR's) συνιστούν το 3% των συνολικών ανεπιθύμητων αντιδράσεων [50]. Οι αλλεργικές εκδηλώσεις μπορούν να είναι ήπιες και περιλαμβάνουν συμπτώματα όπως κνησμός, εξάνθημα και τοπικό οίδημα στο σημείο φλεβοκέντησης ενώ η συμπτωματολογία των αναφυλακτικών εκδηλώσεων είναι οξεία, παρατηρείται εντός ολίγων λεπτών από την έναρξη της μετάγγισης και περιλαμβάνει υπέρταση, βρογχόσπασμο, αγγειοκινητική αστάθεια και αναπνευστική δυσλειτουργία [51]. Τυπικά οι αλλεργικές αντιδράσεις αποτελούν αντίδραση υπερευαισθησίας Τύπου 1 η οποία υποκινείται από αντισώματα IgE [52] και παρατηρείται εντός 4 ωρών από την ολοκλήρωση της μετάγγισης [53]. Τα ενεργοποιημένα μαστοκύτταρα και βασεόφιλα επάγουν την έκκριση ισταμίνης, λευκοτριένιων, προσταγλαδίνης και ενεργοποίηση του συμπληρώματος.

Οι αλλεργικές αντιδράσεις θεωρούνται πολύ-παραγοντικές (συνδυασμός παραγώγου και στοιχείων του δέκτη) και είναι άμεσα συνδεδεμένες με χορήγηση παραγώγων πλάσματος. Δεδομένου ότι τα αιμοπεταλιακά παράγωγα μπορεί να εμπεριέχουν μικροποσότητες πλάσματος και αυτά είναι ικανά να πυροδοτήσουν μια αλλεργική/αναφυλακτική αντίδραση. Η χρήση πλάσματος που είναι αναμεμειγμένο με ειδικό διάλυμα απορρυπαντικού (Solvent Detergent ή SD) μειώνει σημαντικά τη πρόκληση αντίδρασης [54], ενώ στη περίπτωση των αιμοπεταλιακών παραγώγων τα περιστατικά μειώνονται κατά τα 2/3 όταν βρίσκονται σε διάλυμα PAS και κατά 95% ύστερα από πλύσιμο των αιμοπεταλίων [55].

Με την παρουσία σημείων αλλεργικής αντίδρασης, γίνεται άμεση διακοπή της μετάγγισης και χορήγηση αντί-ισταμίνης H1 για περιορισμό των συμπτωμάτων. Αν υπάρχουν ενδείξεις για οξεία αναφυλαξία χορηγείται ενδομυϊκά επινεφρίνη συνοδευόμενη ή μη από αντί-ισταμίνη H1, ενώ μπορούν να χορηγηθούν επιπλέον γλυκοκορτικοειδή και βρογχοδιαστολείς [51]. Εφόσον τα συμπτώματα υποχωρήσουν τότε μπορεί να πραγματοποιηθεί εκ νέου η μετάγγιση, με τον ίδιο ασκό και υπό αυστηρή επιτήρηση για τυχόν υποτροπή [56].

1.3.3.Μετάδοση λοιμογόνων παραγόντων

Υπάρχει ένα ευρύ φάσμα παθογόνων στελεχών τα οποία μπορούν να μεταδοθούν δια μέσου της μετάγγισης. Στο φάσμα αυτό συγκαταλέγονται ο ιός για τις ηπατίτιδες

B (HBV), C (HCV), A (HAV) και E (HEV), ο ιός της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (HIV I/II), ο ανθρώπινος Τ-λεμφοτρόπος ιός (HTLV I/II), ο κυτταρομεγαλοϊός (CMV), ο παρβοϊός Β19, ο ιός του Δυτικού Νείλου (WNV), ο ιός του Δάγκκειου πυρετού (DENV), το τρυπανόσωμα, το παράσιτο της ελονοσίας και η νόσος Creutzfeldt- Jacob Disease (vCJD) [57]. Παρότι η μετάδοση λοιμογόνων παραγόντων αποτελεί μια εκ των θεμελιωδών ανεπιθύμητων αντιδράσεων της μετάγγισης, τα τελευταία 30 χρόνια οι εξελίξεις του επιστημονικού κλάδου έχουν συμβάλλει στην δραματική μείωση αλλά όχι εκμηδένιση τέτοιων περιστατικών.

Τα μέγιστα στην μείωση μετάγγισης παθογόνων μικροοργανισμών έχει συμβάλλει η εφαρμογή του ελέγχου νουκλεϊκών οξέων (NAT ή Nucleic acid testing). Η NAT αποτελεί μια μοριακή τεχνική που επιτρέπει την ανίχνευση ιικού φορτίου εντός του αίματος από τα αρχικά στάδια της παρουσίας του ιού. Το γεγονός αυτό έχει οδηγήσει στην μείωση του παραθύρου ανίχνευσης αρκετών λοιμογόνων παραγόντων, επιτρέποντας τη ταχύτερη ανίχνευση μολυσματικών παραγόντων αίματος και την αποφυγή μετάγγισης τους σε ασθενείς [58]. Το NAT μπορεί να εφαρμοστεί είτε σε μικρές δεξαμενές δοτών όπου τότε χαρακτηρίζεται ως MPNAT (Mini-pool NAT), είτε σε μεμονωμένους δότες όπου αποκαλείται SDNAT (Single Donor NAT). Στη συνέχεια ακολουθεί ο Πίνακας 2 όπου αναγράφονται οι λοιμώδεις παράγοντες οι οποίοι ανιχνεύονται πλέον μέσω του NAT, το παράθυρο ανίχνευσης τους και ο κίνδυνος μετάδοσης τους [16].

Πίνακας 2 : Λοιμογόνοι παράγοντες που βρίσκονταν στο κέντρο του ενδιαφέροντος το παρελθόν και τα στοιχεία ανίχνευσης τους βάσει της χρήσης του NAT

| Λοιμογόνος Παράγοντας | Δείκτες που ανιχνεύονται | Περίοδος παραθύρου | Κίνδυνος μετάδοσης |
|-----------------------|--------------------------|--------------------|--------------------|
|-----------------------|--------------------------|--------------------|--------------------|

| | | | |
|--------------------|--------------------|---|-------------|
| HIV | Anti-HIV I/II | 11 ημέρες | 1:2.135.000 |
| HIV | p24 Αντιγόνο | 16 ημέρες | 1:1.468.000 |
| HCV | Anti-HCV | 10 ημέρες | 1:1.935.000 |
| HBV | Anti-HBc και HBsAg | 59 ημέρες | 1:205.000 |
| HBV | Anti-HBc και HBsAg | 48-50 ημέρες (Εφαρμογή MPNAT) 23-34 ημέρες (Εφαρμογή SDNAT) | 1:205.000 |
| HTLV I/II | Anti- HTLV I/II | 51 ημέρες | 1:2.993.000 |
| HAV και HEV | Anti- HAV και HEV | Δεν παρατηρείται περίοδος παραθύρου αφού μεταδίδονται κατά την φάση της ιαμίας | 1:1.000.000 |

HIV =Human Immunodeficiency Virus, HBV=Hepatitis B Virus, HTLV=Human T-Lymphotropic Virus, HAV= Hepatitis A Virus, HEV= Hepatitis E Virus

Οι παραπάνω λοιμογόνους παράγοντες αλλά και ο κυτταρομεγαλοϊός (CMV), αν και χρήζουν ιδιαίτερης προσοχής πλέον δεν αποτελούν απειλή όπως στο παρελθόν. Το γεγονός αυτό έχει επιτευχθεί από την ευρεία εφαρμογή των μοριακών ελέγχων του αίματος των δοτών αλλά και από την καλύτερη τεχνική αιμοεπαγρύπνησης που έχει υιοθετηθεί.

Τα τελευταία χρόνια στο προσκήνιο έχουν επέλθει παθογόνα τα οποία εν μέρει δεν είναι άγνωστα, ωστόσο η συχνότητα εμφάνισής τους σε μολυσμένα παράγωγα αίματος έχει αυξηθεί ένεκα των αλλαγών που παρατηρούνται στις κατανομές των πληθυσμών και στην αύξηση της μετανάστευσης [59]. Σε αυτά τα παθογόνα εντάσσονται και είδη φλαβοϊών όπως ο Ιός του Δυτικού Νείλου (WNV ή West Nile virus), ο ιός Ζίκα (ZIKV ή Zika Virus) και ο ιός Chikungunya. Κοινό χαρακτηριστικό τους είναι η μετάδοσή τους στον άνθρωπο από τα κουνούπια, αλλά και η μετάδοσή τους από άνθρωπο σε άνθρωπο ύστερα από αιμοδότηση ενός ατόμου κατά την ασυμπτωματική περίοδο [60]. Ιδιαίτερη μνεία αξίζει να γίνει στον WNV μιας και είναι ο συνηθέστερος ως προς την εμφάνισή του, με την πλειονότητα των κρουσμάτων να συναντώνται στην Αφρική, στην Ευρώπη και στις χώρες της Μεσογείου. Κατά κύριο λόγο οι φορείς του WNV εκδηλώνουν συμπτώματα όπως η

ήπια εμφάνιση πυρετού, αίσθημα κακουχίας και μυαλγίας, ενώ σπανίως (σε ποσοστό <1%) παρουσιάζεται εγκεφαλίτιδα [61]. Λόγω της απουσίας των συμπτωμάτων οι φαινομενικά υγιείς δότες αίματος προβαίνουν στην αιμοδότηση, χωρίς να γνωρίζουν ότι εγκυμονεί κίνδυνος μετάδοσης της νόσου. Ο Ιός του Δυτικού Νείλου μπορεί να μεταγγιστεί στον άνθρωπο δια μέσου ασκών αιμοπεταλίων, συμπυκνωμένων ερυθρών και φρέσκου κατεψυγμένου πλάσματος (FFP) [62].

Πέρα των διάφορων ιών που μπορεί να μεταγγιστούν με παράγωγα αίματος, άλλη μια κατηγορία παθογόνων η οποία μπορεί να μεταγγιστεί είναι αυτή των παρασίτων. Η μετάδοση παρασίτων αποτελεί πρόβλημα κυρίως των υπο ανάπτυξη χωρών, αλλά και χωρών με φτωχές συνθήκες υγιεινής. Μάλιστα λόγω των συνθηκών διαβίωσης σε αυτές τις χώρες, οι παρασιτικές λοιμώξεις λόγω μετάγγισης έχουν μεγάλο ποσοστό θνησιμότητας [63]. Οι κύριες παρασιτικές λοιμώξεις είναι η τοξοπλάσμωση που προκαλείται από το *Toxoplasma gondii*, η λεισμανίαση από *Leishmania spp*, η ελονοσία από το *Plasmodium sp*, η μπαμπεσίωση από το *Babesia microtii*, και η τρυπανοσωμίαση από το *Trypanosoma cruzi* (ή αλλιώς νόσος Chagas) [64]. Η μπαμπεσίωση είναι ενδημική ωστόσο αποτελεί συχνό φαινόμενο στις ΗΠΑ [65], η λεισμανίαση και η τοξοπλάσμωση έχουν χαμηλή συχνότητα εμφάνισης, ενώ η ελονοσία και η νόσος Chagas εμφανίζουν μια ελαφρώς μεγαλύτερη συχνότητα συγκριτικά με τις υπόλοιπες [64]. Η μετάδοση της ελονοσίας γίνεται κυρίως με ασκούς συμπυκνωμένων ερυθρών ή ολικού αίματος, η νόσος Chagas σχετίζεται κατά κύριο λόγο με ασκούς αιμοπεταλίων [66] και η μπαμπεσίωση με ασκούς συμπυκνωμένων ερυθρών και σπανίως με ασκούς αιμοπεταλίων [67].

Μία νόσος που ενδιαφέρει την ιατρική των μεταγγίσεων και αποτελεί μέχρι και σήμερα αντικείμενο μελέτης, είναι η νόσος Creutzfeldt-Jacob (vCJD). Προκαλείται από prions και μπορεί να προκαλέσει σπογγώδη εγκεφαλοπάθεια, μια θανατηφόρα ασθένεια του νευρικού συστήματος. Η ανακάλυψη ότι η συγκεκριμένη νόσος μπορεί να μεταδίδεται δια μέσου της μετάγγισης πραγματοποιήθηκε στο Ηνωμένο Βασίλειο, ύστερα από έρευνα που ανέδειξε τη συσχέτιση εμφάνισης της νόσου vCJD σε ασθενείς που είχαν μεταγγιστεί στο παρελθόν [60]. Αν και ακόμα δεν έχει επιβεβαιωθεί ο ισχυρισμός ότι η νόσος μπορεί να μεταδοθεί δια μέσου της μετάγγισης, λαμβάνονται προληπτικά μέτρα όπως ο αποκλεισμός αιμοδοτών που

είχαν τη νόσο στο παρελθόν ή υπήρχαν ενδείξεις της νόσου [64], ενώ ενδείκνυται η λευκαφαίρεση η οποία μειώνει το συνολικό φορτίο των prions κατά 50% [68].

1.3.4.Οξεία πνευμονική βλάβη συνδεδεμένη με μετάγγιση (Σύνδρομο TRALI)

Το σύνδρομο TRALI συνιστά μια εκ των σοβαρότερων επιπλοκών της μετάγγισης, η οποία μπορεί να αποβεί θανατηφόρα για τον ασθενή. Πρόκειται για ένα σύνδρομο με οξεία συμπτωματολογία, το οποίο εμφανίζεται εντός 6 ωρών από την πραγματοποίηση της μετάγγισης. Σε σύγκριση με άλλες ανεπιθύμητες αντιδράσεις οι οποίες προκαλούνται αποκλειστικά από ποσότητες πλάσματος ή αιμοπεταλίων, στη πρόκληση του TRALI μπορούν να συμμετάσχουν το πλάσμα, τα αιμοπετάλια, το κρουοκαθίζημα, τα κοκκιοκύτταρα, τα ερυθρά αιμοσφαίρια αλλά και τα αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα [69].

Οι κλινικές εκδηλώσεις της νόσου περιλαμβάνουν κατά βάση πνευμονικό οίδημα και οξεία δύσπνοια. Ωστόσο ενδέχεται να εμφανιστεί πυρετός, υποξαιμία, υπέρταση, ταχυκαρδία και κυάνωση. Τα συμπτώματα συνήθως εκδηλώνονται σε μια με- δύο ώρες από τη μετάγγιση – με μέγιστη χρονική διάρκεια εκδήλωσης τις έξι ώρες- ενώ σε ελάχιστες περιπτώσεις μη τυπικού TRALI έχει σημειωθεί εμφάνιση των συμπτωμάτων μετά από 48 ώρες [70]. Επιβεβαίωση ύπαρξης του συνδρόμου μπορεί να γίνει με ακτινογραφία η οποία αναδεικνύει αμφοτερόπλευρη πνευμονική βλάβη και οίδημα καθώς και με υπερηχογράφημα καρδιάς [71].

Ως προς την σοβαρότητα του αλλά και τη θεραπευτική αντιμετώπιση που απαιτείται, το TRALI μπορεί να λάβει τέσσερις διαβαθμίσεις [72] :

- Βαθμός 1 (Ήπιο) : Άμεση επαναφορά με ή χωρίς τη χρήση μάσκας οξυγόνου
- Βαθμός 2 (Σοβαρό) : Απαιτείται μη επεμβατική οξυγόνωση ή μεταφορά σε μονάδα εντατικής θεραπείας
- Βαθμός 3 (Απειλητικό για τη ζωή) : Ο ασθενής υφίσταται επεμβατική μηχανική υποστήριξη/οξυγόνωση η οποία μπορεί να συνοδεύεται από συμπληρωματική θεραπεία

- Βαθμός 4 (Θανατηφόρο) : Η σοβαρότητα του συνδρόμου επιφέρει κατάληξη του ασθενούς

Η παθοφυσιολογία του συνδρόμου TRALI συνδέεται με το λεγόμενο μοντέλο των «δύο χτύπημάτων». Το «πρώτο χτύπημα» προέρχεται από τη κλινική κατάσταση του ασθενούς, η οποία οδηγεί σε ενεργοποίηση του πνευμονικού ενδοθηλίου και σε έκκριση ουδετερόφιλων πολυμορφοπύρηνων. Τα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρηννα με τη σειρά τους οδηγούν σε απελευθέρωση κυτταροκινών [73]. Υποκείμενες νόσοι οι οποίες μπορεί να προκαλέσουν το πρώτο χτύπημα είναι σήψη, αιματολογική κακοήθεια, μαζική μετάγγιση, αλκοολισμός, σοκ, οξεία νεφρική δυσλειτουργία, σοβαρή ηπατική νόσος, τραύμα, μηχανική υποστήριξη και χειρουργεία καρδιάς, σπονδυλικής στήλης και ήπατος [74]. Το δεύτερο χτύπημα σε TRALI υποκινούμενο από αντισώματα οφείλεται στη μετάγγιση πλάσματος το οποίο φέρει αντισώματα που στρέφονται έναντι αντιγόνων της επιφάνειας των ενεργοποιημένων πολυμορφοπύρηνων, με αποτέλεσμα να επάγεται η παραγωγή πρωτεασών. Στο μη επαγόμενο από αντισώματα TRALI το 2^ο χτύπημα οφείλεται σε συσσώρευση προφλεγμονωδών ρυθμιστών και λιπιδίων [75].

Η ανοσολογική μορφή του συνδρόμου ή αλλιώς το TRALI με μεσολάβηση αντισωμάτων προκαλείται συνήθως από αντισώματα του αιμοδότη τα οποία στρέφονται έναντι ανθρώπινων αλλοαντιγόνων των ουδετεροφίλων (HNA ή Human neutrophil alloantigens) και ανθρώπινων αλλοαντιγόνων των λευκοκυττάρων τύπου I (HLA I) του δέκτη του αίματος. Ενδέχεται, η εμφάνιση του συνδρόμου να οφείλεται και σε αντισώματα έναντι HLA II αντιγόνων, ενώ κοινό σημείο της ανάπτυξης του TRALI ανεξαρτήτως από τη παρουσία HLA I ή HLA II είναι η συσσώρευση και ενεργοποίηση κοκκιοκυττάρων στο αγγειακό σύστημα του πνεύμονα [74]. Η μη ανοσολογική μορφή οφείλεται στη παρουσία στο χορηγούμενο αίμα, διαλυτών παραγόντων όπως τα λιπίδια τα οποία συσσωρεύονται και ενεργοποιούν τα κοκκιοκύτταρα. Εξίσου σημαντική είναι και η παρουσία του CD40L που αποτελεί μέλος της οικογένειας των υποδοχέων του ιστικού παράγοντα νέκρωσης α (TNFα), επάγοντας την παραγωγή κυτταροκινών και την ενεργοποίηση των πολυμορφοπύρηνων που μειώνουν τη βιωσιμότητα των ενδοθηλιακών κυττάρων του πνεύμονα και οδηγούν σε βλάβη του [76]. Τα τρέχοντα διαγνωστικά δεδομένα

υποδεικνύουν μια συσχέτιση της μη ανοσολογικής μορφής του συνδρόμου με τις συνθήκες αποθήκευσης των παραγώγων αίματος, με παρατεταμένη αποθήκευση και με διαταραχές της μορφολογίας των ερυθρών και των αιμοπεταλίων λόγω αυτής[77].

Δυστυχώς για την αντιμετώπιση του συνδρόμου, δεν τίθενται αρκετές επιλογές παρά μόνο υποστήριξη της αναπνοής του ασθενούς με χορήγηση οξυγόνου και μηχανική υποστήριξη / διασωλήνωση. Επιπρόσθετα, μπορούν να χρησιμοποιηθούν κορτικοειδή και διουρητικά [78].

1.3.5.Μεταμεταγγισιακή πορφύρα

Η πορφύρα μετά από μετάγγιση (PTP ή Post transfusion purpura) είναι μια σπάνια και ενδεχομένως θανατηφόρα επιπλοκή της μετάγγισης η οποία αναπτύσσεται 5-12 ημέρες μετά από τη μετάγγιση και χαρακτηρίζεται από έντονη θρομβοπενία [79]. Συνήθως, εμφανίζεται σε πολύτοκες γυναίκες καθώς και σε άτομα με πολλαπλές μεταγγίσεις [80], ενώ η συχνότητα εμφάνισης της είναι ένα ανά 50.000-100.000 μεταγγίσεις [81]. Η πλειονότητα των καταγεγραμμένων περιστατικών υποδηλώνουν ότι η θρομβοπενία που παρατηρείται οφείλεται σε αλλοαντισώματα έναντι των αιμοπεταλίων (HPA 1a), τα οποία παράγονται μέσω αναμνηστικής ανοσολογικής απόκρισης. Περιστασιακά , τα αντισώματα στρέφονται και εναντίον των HPA 1b,3a,3b,4a,5a και 5b [82].

Χαρακτηριστικό της μεταμεταγγισιακής πορφύρας είναι σοβαρά αιμορραγικά επεισόδια, οφειλόμενα στην θρομβοπενία [83]. Η αντιμετώπιση της βασίζεται στην χορήγηση κορτιζόνης και υπεράνοσης γ σφαιρίνης, στην πραγματοποίηση πλασμαφαίρεσης ενώ σπανίως, επί εμφάνισης σοβαρών επιπλοκών αφαιρείται ο σπλήνας. Αν δεν ακολουθηθεί κάποιο θεραπευτικό σχήμα, μπορεί να πραγματοποιηθεί αυτόματη αποκατάσταση του αριθμού των αιμοπεταλίων με το πέρας 1-4 εβδομάδων από την έναρξη της θρομβοπενίας [84].

1.3.6.Αιμοσιδήρωση

Ασθένειες όπως τα μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα, οι διάφορες μορφές αναιμίας (δρεπανοκυτταρική, ανθεκτική, απλαστική) αλλά και οι θαλασσαιμίες απαιτούν

συχνές μεταγγίσεις για μεγάλα χρονικά διαστήματα [85]. Ανά μια μονάδα αίματος χορηγούνται στον οργανισμό περίπου 250 mg σιδήρου, ωστόσο σε επαναλαμβανόμενη μεταγγισιακή θεραπεία αυξάνονται οι ποσότητες σιδήρου που εναποτίθενται στον οργανισμό [86]. Για την αποφυγή βλαβών από την υπερφόρτωση του σιδηρού χρειάζεται συστηματική θεραπεία αποσιδήρωσης, ενώ αρκετά φαρμακευτικά σκευάσματα ελέγχονται ως προς την αποτελεσματική μείωση επιπέδων σιδήρου [87].

1.3.7. Πυρετικές μη αιμολυτικές αντιδράσεις

Ως πυρετική μη αιμολυτική αντίδραση, χαρακτηρίζεται η αύξηση της θερμοκρασίας του σώματος $\geq 1^{\circ}\text{C}$ και η οποία σχετίζεται με μετάγγιση αίματος και εκδηλώνεται με ρίγος, φρίκια, αίσθημα παγωνιάς και δυσφορία. Η εμφάνιση μιας τέτοιας αντίδρασης πραγματοποιείται εντός 2 ωρών από την ολοκλήρωση της μετάγγισης, με τη διαφορική της διάγνωση να επιτυγχάνεται μέσω αποκλεισμού [88].

Υπάρχουν δύο πιθανοί μηχανισμοί ως προς την πρόκληση πυρετικών μη αιμολυτικών αντιδράσεων. Ο πρώτος μηχανισμός σχετίζεται με τη συσσώρευση κυτταροκινών που προέρχονται από λευκοκύτταρα (όπως οι ιντερλευκίνες IL-1, IL-6, IL-8 αλλά και ο TNF α) και εμπεριέχονται σε ασκούς αιμοπεταλίων κυρίως λόγω της συντήρησής τους σε θερμοκρασία δωματίου [89]. Κατά τον δεύτερο μηχανισμό, η αντίδραση υποκινείται από αντισώματα του δέκτη, με ικανότητα κυτταρόλυσης και συγκόλλησης, που στρέφονται έναντι HLA αντιγόνων που βρίσκονται στην επιφάνεια των λεμφοκυττάρων, αιμοπεταλίων και κοκκιοκυττάρων στο αίμα του δότη και στα παράγωγα του. Η συχνότητα εμφάνισης των αντιδράσεων αυτών, είναι μεγαλύτερη σε πολυμεταγγιζόμενους ασθενείς καθώς και σε πολύτοκες γυναίκες λόγω πρότερης ευαισθητοποίησης των συγκεκριμένων ασθενών έναντι HLA αντιγόνων [90].

Οι πυρετικές μη αιμολυτικές αντιδράσεις αντιμετωπίζονται με άμεση διακοπή της μετάγγισης, χορήγηση φυσιολογικού ορού, και αντιπυρετικών. Για τη πρόληψη των αντιδράσεων συνίσταται, η ενδελεχής λήψη του ιατρικού ιστορικού του ασθενούς και η χρήση φίλτρων λευκαφαίρεσης κατά τη διαδικασία δημιουργίας

παραγώγων αίματος καθώς επιτυγχάνουν την μείωση της συγκέντρωσης των λευκοκυττάρων στα προς μετάγγιση παράγωγα [91].

1.3.8.Ανοσοτροποποιητικές δράσεις

Οι ανοσοτροποποιητικές δράσεις σχετιζόμενες με μετάγγιση (TRIM ή Transfusion related immunomodulation), αποτελούν ένα φάσμα προ-φλεγμονωδών και ανοσοκατασταλτικών ενεργειών που προέρχονται από λευκοκύτταρα, αποπτωτικά κύτταρα, κυτταροκίνες, διαλυτά HLA πεπτίδια, ελεύθερη αιμοσφαιρίνη και μικροσωματίδια [92]. Σε αυτές συγκαταλέγονται η αυξημένη έκκριση αντι-φλεγμονωδών κυτταροκινών, η μειωμένη λειτουργικότητα μονοκυττάρων και μακροφάγων, η μειωμένη δραστηριότητα NK κυττάρων και ουδετερόφιλων πολυμορφοπύρηνων καθώς και η έκπτωση της υπερευαισθησίας επιβραδυνόμενου τύπου [93]. Το TRIM είναι άρρηκτα συνδεδεμένο με τη μετάγγιση αλλογενούς αίματος (ABT ή Allogeneic blood transfusion), μιας και με τη χορήγηση αλλογενούς αίματος εισάγονται στον οργανισμό του ασθενούς ξένα ως προς αυτόν αντιγόνα [94].

Δεδομένου ότι ακόμα διερευνώνται οι ακριβείς παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί που επιφέρουν τις ανοσοτροποποιήσεις [95], έχουν προταθεί αρκετοί οι οποίοι φαίνεται να συμβάλλουν στην εμφάνισή τους [96]. Οι κυριότεροι εξ αυτών είναι: η κλωνική εξάλειψη συγκεκριμένων κυτταρικών σειρών του ανοσοποιητικού συστήματος, παραγωγή αντί-ιδιοτυπικών αντισωμάτων, καταστολή της δράσης των κυττάρων φυσικών φονέων (NK cells), επαγωγή κατασταλτικών T-κυττάρων και μηχανισμών απόπτωσης αλλά και συγκέντρωση παραγόντων στο υπερκείμενο υγρό των χορηγούμενων παραγώγων που αναστέλλουν τη λειτουργία των ουδετερόφιλων πολυμορφοπύρηνων και την ικανότητα ανοσολογικής απόκρισης [94]. Κυρίαρχο ρόλο στην πρόκληση των ανοσοτροποποιητικών δράσεων ωστόσο έχουν τα μεταγγιζόμενα λευκοκύτταρα και τα αντιγόνα HLA τύπου I και II στην επιφάνεια αυτών [92].

Οι σοβαρές μεταβολές της «συμπεριφοράς» του ανοσοποιητικού συστήματος του ασθενούς θέτουν σοβαρούς προβληματισμούς για τη χορήγηση αλλογενούς αίματος. Οι προβληματισμοί αυτοί αποτελούν ένα φυσικό επακόλουθο, μίας και τα

κλινικά αποτελέσματα των ανοσοτροποποιητικών δράσεων είναι ιδιαιτέρως σημαντικά. Πιο συγκεκριμένα, τα αποτελέσματα αυτά είναι : αυξημένη υποτροπή κακοηθειών/νεοπλασιών, αύξηση των περιστατικών μετεγχειρητικών βακτηριακών επιμολύνσεων, ενεργοποίηση ενδογενών λοιμώξεων HIV και CMV καθώς και αυξημένη βραχυπρόθεσμη θνησιμότητα. Μέτρα προφύλαξης τα οποία βρίσκονται σε θέση να περιορίσουν τα φαινόμενα εκδήλωσης του TRIM είναι η μετάγγιση αυτόλογου αίματος αλλά και η λευκαφαίρεση των παραγώγων αίματος, είτε πριν είτε μετά την αποθήκευσή τους [94].

1.3.9.Νόσος μοσχεύματος εναντίον ξενιστή σχετιζόμενη με μετάγγιση

Η σχετιζόμενη με μετάγγιση νόσο μοσχεύματος εναντίον ξενιστή (TA-GvHD ή Transfusion associated- Graft versus host disease) , είναι μια σχετικά σπάνια επιπλοκή της μετάγγισης ωστόσο εφόσον εκδηλωθεί είναι ιδιαίτερα επιβλαβής και συνήθως θανατηφόρα. Η νόσος μοσχεύματος εναντίον ξενιστή (GvHD) αποτελεί μια γνωστή επιπλοκή της αλλογενούς μεταμόσχευσης μυελού των οστών εδώ και 60 χρόνια, με τη διαφοροποίηση της σε TA-GvHD να πραγματοποιείται τη δεκαετία του 1970 [97]. Η νόσος προκαλείται από τη μετάγγιση T-λεμφοκυττάρων που είναι ικανά να επάγουν ανοσολογική απόκριση σε άτομα με ελαττωμένη ή καθόλου λειτουργικότητα του ανοσοποιητικού τους συστήματος. Από τη στιγμή που ο οργανισμός του δέκτη δεν είναι ικανός να απομακρύνει τα T-λεμφοκύτταρα, εκείνα με τη σειρά τους εγκαθίστανται, πολλαπλασιάζονται και εν τέλει επιτίθενται στα κύτταρα του ξενιστή τους [98].

Υπάρχουν τρεις κύριοι αναγνωρισμένοι παράγοντες κινδύνου που σχετίζονται με τη πρόκληση της νόσου και αυτοί είναι : α) διαφορές ως προς την HLA συμβατότητα μεταξύ δότη-δέκτη, β) πραγματοποίηση χειρουργείου καρδιάς με καρδιοπνευμονικό bypass και γ) αυξημένη διάρκεια αποθήκευσης του παραγώγου που χορηγείται [99]. Τα μεταγγιζόμενα T-λεμφοκύτταρα αναγνωρίζουν τα κύτταρα του δέκτη ως ξένα, επάγοντας τη παραγωγή φλεγμονωδών κυτταροκινών και οι οποίες με τη σειρά τους διεγείρουν την έκκριση NK κυττάρων, μακροφάγων και υποτύπων T-λεμφοκυττάρων

που στρέφονται εναντίον των ιστών του δέκτη [100]. Σε ασθενείς με φυσιολογική λειτουργία του ανοσοποιητικού τους συστήματος, η εμφάνιση της νόσου είναι ελάχιστη και μπορεί να παρατηρηθεί σε περιπτώσεις όπου ο δότης αίματος προέρχεται από το συγγενικό περιβάλλον του ασθενούς και είναι ομόζυγος ως προς τα αλληλόμορφα του συστήματος HLA, ενώ ο ασθενής είναι ετερόζυγος ως προς αυτά [101].

Οι κλινικές εκδηλώσεις της TA-GvHD κάνουν την εμφάνιση τους 8-10 μέρες μετά από τη πραγματοποίηση της μετάγγισης και σε αυτές συμπεριλαμβάνονται πυρετός, διάρροια, εμετός, ηπατομεγαλία, ίκτερος και ερυθρηματώδες εξάνθημα του δέρματος [102], με το τελευταίο σε ορισμένες περιπτώσεις να επεκτείνεται στα άκρα δημιουργώντας φουσκάλες και ακόμα πιο σπάνια νεκρόλυση [103]. Επιπλέον, εμφανίζεται πανκυτταροπενία και απλασία του μυελού των οστών με το πέρας 2-30 ημερών [99].

Η πρόληψη της νόσου μπορεί να επιτευχθεί με περιορισμό της χορήγησης παραγώγων που φέρουν ανοσοϊκανά λεμφοκύτταρα όπως τα συμπυκνωμένα ερυθρά, το ολικό αίμα, τα αιμοπετάλια και τα κοκκιοκύτταρα. Ωστόσο, στην κλινική πράξη ο περιορισμός των ανωτέρω καθίσταται δύσκολος. Επομένως, τα μέτρα πρόληψης εστιάζουν στη μείωση των ποσοτήτων λεμφοκυττάρων που μεταγγίζονται για αυτό και προτείνονται τεχνικές λευκαφαίρεσης και ακτινοβολήσης των παραγώγων αίματος αλλά και ορισμένα πρωτόκολλα μεθόδων αδρανοποίησης παθογόνων [104].

1.3.10.Υπερφόρτωση κυκλοφορίας

Η σχετιζόμενη με μετάγγιση υπερφόρτωση της κυκλοφορίας (TACO ή Transfusion associated circulatory overload) περιγράφει ένα σύνολο ενδείξεων/συμπτωμάτων οξέος πνευμονικού οιδήματος λόγω υπερφόρτωσης της κυκλοφορίας εντός 6-12 ωρών από την πραγματοποίηση της μετάγγισης [105]. Σύμφωνα με τη Διεθνή Κοινότητα Μετάγγισης Αίματος (ISBT), σαν TACO μπορεί να οριστεί η εμφάνιση ενός εκ των παρακάτω συμπτωμάτων με το πέρας 6 ωρών από τη μετάγγιση και τα οποία είναι : οξεία δυσφορία του αναπνευστικού συστήματος, ταχυκαρδία, υπέρταση, οξύ

πνευμονικό οίδημα και θετικό ισοζύγιο υγρών [106]. Προδιαθεσικοί παράγοντες για την εμφάνιση της συγκεκριμένης επιπλοκής αποτελούν οι αλληπάλληλες μεταγγίσεις, η αυξημένη ηλικία του ασθενούς, ιστορικό συμφορητικής καρδιακής ανεπάρκειας, η χρόνια νεφρική νόσος και η αναιμία [107].

Οι ακριβείς παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί που εμπλέκονται στην εμφάνιση της TACO ακόμα δεν έχουν αποσαφηνιστεί. Ωστόσο υπάρχουν διάφορες υποθέσεις αλλά και εναλλακτικοί μηχανισμοί που προσπαθούν να εξηγήσουν την αιτιολογία της ανεπιθύμητης αυτής αντίδρασης. Τη δεδομένη χρονική στιγμή η κύρια υπόθεση της αιτιολογίας της TACO βασίζεται στη συσσώρευση υγρού στα πνευμονικά τριχοειδή, η οποία αυξάνει την υδροστατική πίεση εντός των αγγείων εξωθώντας υγρά από αυτά και κατευθύνοντας τα στον διάμεσο πνευμονικό χώρο [105]. Εναλλακτικούς ισχυρισμούς αποτελούν : α) όπως και στη TRALI, η TACO επέρχεται από ενεργοποίηση των ουδετερόφιλων πολυμορφοπύρηνων τα οποία προκαλούν διαρροή υγρού από τα πνευμονικά τριχοειδή, άρα και πνευμονικό οίδημα [108], β) σε οξείες φλεγμονές η διαταραχή του ενδοθηλιακού τοιχώματος ή του στρώματος γλυκοκάλυκα που υπάρχει στους πνεύμονες, αυξάνει την εισροή υγρού στον διάμεσο πνευμονικό χώρο κατά 10 φορές [105] και γ) οι επιπτώσεις των διαταραχών αποθήκευσης των ερυθρών αιμοσφαιρίων (αιμόλυση, αύξηση ποσοστού ελεύθερης αιμοσφαιρίνης και μικροσωματιδίων) επιφέρουν και δυσλειτουργία του ενδοθηλιακού τοιχώματος [109].

Η θεραπευτική αντιμετώπιση της TACO περιλαμβάνει την άμεση διακοπή της μετάγγισης, αμέσως αφότου γίνουν αντιληπτά συμπτώματα πνευμονικής δυσχέρειας. Ακολουθεί, χορήγηση οξυγόνου ή/και μηχανική υποστήριξη εφόσον κρίνεται αναγκαία από την κλινική εικόνα του ασθενούς. Ιδιαίτερα σημαντική, κρίνεται και η χορήγηση διουρητικών για να μειωθεί ο όγκος των υγρών, ενώ θετικά φαίνεται να επιδρά και η χορήγηση νιτρογλυκερίνης η οποία μειώνει την συστολική και διαστολική πίεση του αριστερού κόλπου αλλά ο ασθενής σε αυτή τη περίπτωση χρήζει διαρκούς παρακολούθησης [105].

1.3.11.Βακτηριακή επιμόλυνση παραγώγων αίματος

Η βακτηριακή επιμόλυνση των παραγώγων αίματος αποτελεί ένα εκ των πρωταρχικών ζητημάτων της μετάγγισης αίματος. Αν και πλέον δεν υφίσταται τόσο συχνά κατά τις μεταγγίσεις, εξακολουθεί να παραμένει ένα ιδιαίτερα σημαντικό κομμάτι της αιμοεπαγρύπνησης . Η συχνότητα εμφάνισης επιμόλυνσης ενός παραγώγου από βακτήρια είναι 1/100.000-1.000.000 για ασκούς συμπυκνωμένων ερυθρών και 1/900-100.000 για ασκούς αιμοπεταλίων [110]. Μια βακτηριακή επιμόλυνση έχει ως κατάληξη της εμφάνιση σήψης στον ασθενή, επομένως είναι εύκολα αντιληπτό πως πρόκειται για μια άκρως σοβαρή επιπλοκή της μετάγγισης.

Η βαρύτητα της μόλυνσης εξαρτάται από αρκετούς παράγοντες όπως είναι το είδος του βακτηρίου που εισέρχεται στη κυκλοφορία, το συνολικό βακτηριακό φορτίο, ο ρυθμός ανάπτυξης των βακτηρίων τόσο εντός του παραγώγου κατά την αποθήκευση αυτού όσο και κατά την είσοδο τους στον οργανισμό, τα χαρακτηριστικά του ασθενούς, το ανοσοποιητικό του σύστημα, τυχόν υποκείμενες νόσοι αλλά και η αντί-μικροβιακή θεραπεία που ακολουθείται [111]. Τα κλινικά συμπτώματα οφείλονται στην απελευθέρωση τοξινών από τα βακτήρια και περιλαμβάνουν πυρετό, ναυτία, έμετο, αίσθημα ζάλης και ρίγους, υπόταση , ταχυκαρδία, ενώ τα σοβαρότερα είναι η καρδιακή ανακοπή και το σηπτικό σοκ [112]. Τα παραπάνω συμπτώματα μπορούν να εκδηλωθούν κατά τη διάρκεια της μετάγγισης ή/και σε διάστημα λίγων λεπτών έως λίγων ωρών από την ολοκλήρωση της [110].

Οι συνθήκες αποθήκευσης των αιμοπεταλίων (22-24 °C) αποτελούν τις ιδανικές για την επιβίωση και ανάπτυξη των βακτηρίων, για το λόγο αυτό τα επεισόδια βακτηριακής επιμόλυνσης είναι πιο συχνά σε ασκούς αιμοπεταλίων. Τα συνηθέστερα βακτήρια που μπορεί να εμφανιστούν ανήκουν στην οικογένεια των Σταφυλοκόκκων με κύριο εκπρόσωπο τον *Staphylococcus epidermidis* [113]. Ένα άλλο βακτήριο που μπορεί να επιμολύνει τους ασκούς είναι ο *Bacillus cereus* [114], ενώ έχει καταγραφεί και η παρουσία ορισμένων αναερόβιων βακτηρίων όπως είναι το *Clostridium perfringens* [115] και το *Propionibacterium sp* [166]. Ενδέχεται να απομονωθούν και Gram (-) βακτήρια όπως είναι τα *Escherichia Coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter spp.*, *Serratia spp*, τα οποία λόγω των ισχυρότερων ενδοτοξινών που παράγουν συγκριτικά με τα Gram (+) βακτήρια μπορούν να επάγουν θανατηφόρες σηπτικές εκδηλώσεις [113].

Τα Συμπυκνωμένα ερυθρά αποθηκεύονται σε συνθήκες (1-6 °C) οι οποίες αποτρέπουν την εμφάνιση των περισσότερων βακτηρίων. Αυτός είναι και ο λόγος που οι βακτηριακές επιμολύνσεις από χορήγηση ασκών ΣΕ, είναι πιο σπάνιες. Ψυχρόφιλα βακτήρια που είναι ικανά να επιβιώσουν και αναπτυχθούν σε συμπυκνωμένα ερυθρά είναι είδη των οικογενειών *Pseudomonas* (κυρίως η *Pseudomonas aeruginosa*), *Yersinia* (κυρίως η *Yersinia enterocolitica*), *Enterobacter* και *Flavobacterium* [113]. Περιστασιακά, μπορεί να παρατηρηθούν και *E.coli* αλλά και *Campylobacter* spp [117].

Σε ιδιαίτερα σπάνιες περιπτώσεις όπου για βακτηριακή επιμόλυνση ενοχοποιείται πλάσμα ή κρυοκαθίζημα, τότε συνήθως απομονώνεται ένα εκ των *Burkholderia cepacia* ή *Pseudomonas aeruginosa* [114].

Για την πρόληψη βακτηριακών επιμολύνσεων ακολουθείται αυστηρότερο screening αιμοδοτών, ενδεδειγμένη και κυρίως σωστή αντισηψία του σημείου φλεβοκέντησης [118], πλήρωση πρώτα του συνοδού ασκού και ύστερα του κυρίως ασκού συλλογής χρήση συστημάτων ανίχνευση βακτηρίων, εφαρμογή μοριακών τεχνικών ανίχνευσης [116], αλλά και εφαρμογή μεθόδων αδρανοποίησης παθογόνων που θα αναλυθούν λεπτομερώς παρακάτω.

1.4. Ασφαλέστερη μετάγγιση

1.4.1.Πριν από την φλεβοκέντηση

Η μετάγγιση αποτελεί μια διαδικασία η οποία μπορεί να καταστεί σωτήρια για την επιβίωση ενός ανθρώπου. Ωστόσο, από την έναρξη της εφαρμογής μέχρι και σήμερα διατυπώνεται ένα ερώτημα: «η μετάγγιση έχει περισσότερα πλεονεκτήματα ή μειονεκτήματα;». Η αμφισβήτηση της ασφάλειας της μετάγγισης και των επιπτώσεων της στον οργανισμό του ασθενούς, είναι απόρροια των ανεπιθύμητων αντιδράσεων που αναφέρθηκαν παραπάνω. Κυρίαρχο μέλημα της μετάγγισης αίματος είναι η διασφάλιση της υγείας τόσο του δότη αίματος, όσο και του δέκτη. Για αυτό το λόγο έχουν υιοθετηθεί τρόποι με τους οποίους μπορεί η μετάγγιση να γίνει όσο το δυνατόν μια περισσότερο ασφαλής διαδικασία.

Οι διαδικασίες που συμπεριλαμβάνονται για τη διασφάλιση της μετάγγισης, επεκτείνονται σε ένα ευρύ φάσμα από την έλευση του αιμοδότη στην μονάδα αιμοδοσίας μέχρι τη τελική χορήγηση του αίματος ή παραγώγου του στον ασθενή/δέκτη. Αρχικά καθώς ο αιμοδότης εισέρχεται στην μονάδα αιμοδοσίας του δίνεται ένα ερωτηματολόγιο στο οποίο καλείται να συμπληρώσει τα ατομικά του στοιχεία αλλά και να δηλώσει αν έχει κάποιο υποκείμενο νόσημα το οποίο θα μπορούσε να οδηγήσει σε αποκλεισμό του από την αιμοδοσία. Στο έντυπο που συμπληρώνει ο αιμοδότης, αναγράφονται μια σειρά από ασθένειες/ καταστάσεις αλλά και ερωτήσεις του τρόπου διαβίωσης του αιμοδότη οι οποίες είναι ενδεικτικές της καταλληλότητας του ατόμου να δώσει αίμα [119]. Ο κλινικός ιατρός κατά την αξιολόγηση του ερωτηματολογίου διαθέτει την απαραίτητη εμπειρία και κρίση, ούτως ώστε να κρίνει αν τα όσα έχει δηλώσει ο ασθενής είναι ψευδή ή όχι. Παράλληλα με την εξέταση του εντύπου του ιστορικού ο υπεύθυνος ιατρός εξετάζει την εμφάνιση αλλά και γενικότερη εικόνα του αιμοδότη, μιας και μπορεί να υποπέσουν στην αντίληψη του στοιχεία που θα οδηγήσουν σε αποκλεισμό του αιμοδότη όπως π.χ : ωχρότητα του δέρματος, ιδρώτας ή αίσθημα ανησυχίας [120]. Απαραίτητες προϋποθέσεις οι οποίες ελέγχονται εκείνη τη στιγμή από τον επιβλέπων ιατρό είναι η θερμοκρασία του αιμοδότη να είναι έως 37.5°C, οι σφύξεις 50-100/λεπτό, τόσο η συστολική όσο και η διαστολική πίεση να μην ξεπερνούν τα 180 mm Hg και 100 mm Hg αντίστοιχα καθώς και η τιμή της Hb να είναι για τους άνδρες >13.5 gr/dl και για τις γυναίκες >12.5 gr/dl. Εννοείται πως ο αιμοδότης δεν πρέπει να βρίσκεται υπό την επήρεια αλκοόλ ή ναρκωτικών ουσιών [16].

The image shows two pages of a form for blood donation. The left page is titled 'STOIXEΙΑ ΓΡΑΦΗΛΙΑΤΟΣ ΑΙΜΟΔΟΤΗ' (Donor Information) and contains fields for name, date of birth, sex, address, and contact information. It also includes a section for medical history and a list of donation types. The right page is titled 'ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΙΣΤΟΡΙΚΟΥ ΑΙΜΟΔΟΤΗ' (Donor History) and contains a table for recording donation dates and volumes. It also includes a section for medical history and a list of donation types.

Εικόνα 5. Έντυπο συμπλήρωσης στοιχείων και ιστορικού αιμοδοτή (Η εικόνα προέρχεται από την ιστοσελίδα του Εθνικού Κέντρου Αιμοδοσίας

1.4.2. Κατά την διάρκεια της φλεβοκέντησης

Κατά τη πραγματοποίηση της λήψης του αίματος ιδιαίτερη προσοχή χρειάζεται η αντισηψία του σημείου φλεβοκέντησης. Μη επαρκής αντισηψία της περιοχής φλεβοκέντησης μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα την εισαγωγή στην αιματική ροή βακτηρίων που αποικίζουν τη χλωρίδα του δέρματος του δότη ή την είσοδο βακτηρίων που προέρχονται από τον λήπτη αν δεν τηρεί τα προβλεπόμενα μέτρα υγιεινής/ προστασίας [121]. Επίσης εξίσου σημαντική είναι η επιθεώρηση των ασκών συλλογής για τυχόν αλλοιώσεις των περιεχομένων τους ή μικρο-θραύσεις οι οποίες μπορούν να αποτελέσουν πύλες εισόδου παθογόνων μικροοργανισμών και να προκαλέσουν βακτηριαιμία ή ακόμα και βακτηριακής αιτιολογίας σήψη [122].

1.4.3.Μετά από την φλεβοκέντηση

Μετά από την ολοκλήρωση της λήψης αίματος, μπορούν να πραγματοποιηθούν περαιτέρω αναλύσεις του αίματος οι οποίες έχουν σκοπό να αποτρέψουν πιθανή ανεπιθύμητη αντίδραση. Μία εξ αυτών πραγματοποιείται με το NAT το οποίο περιγράφηκε παραπάνω και ανιχνεύει λοιμογόνους παράγοντες όπως βακτήρια , ενώ μέχρι προσφάτως χρησιμοποιείται και για ανίχνευση την ιών όπως ο WNV και παρασίτων όπως το *Trypanosoma cruzi* και η Babesia [123]. Πέραν του NAT, στην επιπρόσθετη επεξεργασία του αίματος και των παραγώγων του περιλαμβάνονται η λευκαφαίρεση, η ακτινοβολήση, το πλύσιμο και η μέθοδος αδρανοποίησης παθογόνων.

1.4.4.Λευκαφαίρεση

Ως λευκαφαίρεση, ορίζεται η διαδικασία μείωσης του αριθμού των λευκοκυττάρων στα συστατικά του αίματος όπως είναι τα ερυθρά και τα αιμοπετάλια. Τα λευκαφαιρεμένα ερυθρά μπορεί να προέλθουν από φιλτράρισμα των ερυθρών αμέσως μετά τη συλλογή του αίματος και πριν την αποθήκευση του, ειδάλλως η λευκαφαίρεση μπορεί να γίνει με τη χρήση ειδικών φίλτρων από τα οποία διέρχονται τα συμπυκνωμένα ερυθρά κατά τη μετάγγιση. Η λευκαφαίρεση των αιμοπεταλίων μπορεί να επιτευχθεί μέσω φιλτραρίσματος των αιμοπεταλίων ή με τη μέθοδο της αφαίρεσης [124]. Κατά κύριο λόγο, προτιμάται η λευκαφαίρεση αμέσως μετά τη συλλογή, μιας και περιορίζεται η συσσώρευση φλεγμονωδών κυτταροκινών λόγω αποθήκευσης (IL-1,IL-6 TNF) καθώς και είναι δυνατή η καλύτερη εργαστηριακή αξιολόγηση της λευκαφαίρεσης και ο περαιτέρω ποιοτικός έλεγχος της [125]. Στα επιβεβαιωμένα κλινικά οφέλη της λευκαφαίρεσης συγκαταλέγονται η μείωση των περιστατικών πυρετογόνων μη αιμολυτικών αντιδράσεων, η αποφυγή της HLA άλλο-ανοσοποίησης αλλά και μειωμένη μετάδοση CMV [126]. Στα ενδεχόμενα κλινικά οφέλη ανήκουν η ελάττωση της ανοσοτροποποίησης, η ελάττωση της δυσλειτουργίας οργάνων και η ελάττωση της απευθείας βακτηριακής μόλυνσης [127]. Ακόμα, εξετάζεται η συμβολή της λευκαφαίρεσης στην αποφυγή μετάδοσης

prions και τη πρόκληση vCJD [128], ενώ ακόμα δεν έχει αποδειχθεί κατά πόσο μπορεί η λευκαφαίρεση να συμβάλλει στην αποφυγή μετάδοσης HTLV I/II, EBV και στη προφύλαξη από GvHD και TRALI [127].

1.4.5.Ακτινοβολήση

Η ακτινοβολήση των παραγώγων αίματος είναι μια διαδικασία κατά την οποία ακτίνες X ή γ-ακτινοβολία εφαρμόζονται στα κυτταρικά συστατικά του αίματος, με σκοπό κατά κύριο λόγο της αποτροπής της σχετιζόμενης με μετάγγιση GvHD (TA-GvHD) [129]. Περισσότερο χρησιμοποιείται η ακτινοβολία γ, ωστόσο επιφέρει ορισμένες αλλοιώσεις στα ερυθρά αιμοσφαίρια [130]. Άτομα τα οποία έχουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης TA-GvHD και στα οποία γίνεται μετάγγιση ακτινοβολημένων παραγόντων είναι οι ανοσοκατεσταλμένοι ασθενείς, ασθενείς που έχουν υποστεί μετάγγιση αλλογενών αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων και πρόωρα νεογνά [126]. Επίσης ασθενείς που διαθέτουν ένα απλότυπο HLA και επρόκειτο να μεταγγιστούν με παράγωγο από ομόζυγο ως προς HLA δότη, (συνήθως άτομα του συγγενικού περιβάλλοντος του ασθενούς) χρήζουν μετάγγισης ακτινοβολημένου παραγώγου [129]. Σε πρόσφατες μελέτες ερευνάται η συμβολή της ακτινοβολήσης στην αποτροπή φαινομένων ανοσοτροποποίησης λόγω μετάγγισης [131].

1.4.6.Πλύσιμο

Το πλύσιμο των παραγώγων αίματος πραγματοποιείται με σκοπό την απομάκρυνση της πλειονότητας των πρωτεϊνών και των αντισωμάτων του πλάσματος, που δύνανται να προκαλέσουν κάποια ανεπιθύμητη αντίδραση. Κυρίως το πλύσιμο των παραγώγων είναι αποτελεσματικό για την αποτροπή αλλεργικών/αναφυλακτικών αντιδράσεων [126]. Πλυμένα παράγωγα αίματος λαμβάνουν ασθενείς με σοβαρές αλλεργικές αντιδράσεις στο παρελθόν, ασθενείς με κίνδυνο υπερκαλιαιμίας αλλά και ασθενείς με έλλειψη IgA [132]. Μειονέκτημα του πλυσίματος είναι η απώλεια ποσότητας του παραγώγου [126].

1.5.Μέθοδοι αδρανοποίησης παθογόνων

Οι μέθοδοι αδρανοποίησης παθογόνων συνιστούν μια διαδικασία που αποσκοπεί στον περιορισμό μετάδοσης μολύνσεων που σχετίζονται με τη μετάγγιση παραγώγων αίματος [133]. Στηρίζονται στη φυσικοχημική διαταραχή των δομικών στοιχείων των παθογόνων μικροοργανισμών καθώς και στη τροποποίηση των νουκλεϊκών οξέων τους με απώτερο σκοπό την αναστολή του πολλαπλασιασμού τους [134]. Υπάρχουν τρία διαθέσιμα συστήματα αδρανοποίησης το Intercept System, το Mirasol System και το Theraflex System, εκ των οποίων τα δυο πρώτα είναι ευρέως διαδεδομένα ενώ το Theraflex ακόμα δεν έχει εδραιωθεί. Τόσο το Intercept όσο και το Mirasol χρησιμοποιούν ευαίσθητες στην εφαρμογή ακτινοβολίας ουσίες, το αμοτοσαλένιο και τη ριβοφλαβίνη αντίστοιχα, ενώ το Theraflex δεν χρησιμοποιεί κάποια φωτοευαίσθητη ουσία. Η ακτινοβολία που εφαρμόζεται είναι τύπου UVA για το Intercept, τύπου UVA+UVB για το Mirasol και τύπου UVC για το Theraflex [7]. Οι χημικές φωτοευαίσθητες ουσίες που χρησιμοποιούνται διαταράζουν την ακεραιότητα της μεμβράνης των παθογόνων μικροοργανισμών, καθιστώντας τους εν δυνάμει μη μολυσματικούς. Η επίδραση των μεθόδων αδρανοποίησης στα βακτήρια εξαρτάται από τον χαρακτηρισμό τους ως Gram + ή Gram – αλλά και από τα χαρακτηριστικά αντοχής που μπορεί να διαθέτει το εκάστοτε βακτήριο. Όσον αφορά τους ιούς, η αποτελεσματικότητα των μεθόδων εξαρτάται από την παρουσία λιπιδίων ή πρωτεϊνικών φακέλων [135]. Πέραν των βακτηρίων και των ιών, είναι εφικτή και η αδρανοποίηση παρασίτων. Καθένα από τα 3 συστήματα αναμένεται να παρουσιαστεί ενδελεχώς στη συνέχεια.

1.5.1.Αδρανοποίηση παραγώγων αίματος

Η αδρανοποίηση παθογόνων μικροοργανισμών πραγματοποιείται στα αιμοπετάλια και στο πλάσμα. Στα ερυθρά αιμοσφαίρια δε δύναται να εφαρμοστεί κάποια μέθοδος αδρανοποίησης, ένεκα των μεταβολών που υφίστανται τα ερυθρά και οι οποίες οδηγούν σε αιμόλυση και στο σχηματισμό νέων αντιγόνων [136]. Τα συστήματα

Intercept και Mirasol είναι εκείνα τα οποία χρησιμοποιούνται κατά κόρον για την αδρανοποίηση πλάσματος και αιμοπεταλίων, το Theraflex βρίσκεται υπο διερεύνηση και κλινική μελέτη [137], ενώ για τα ερυθρά αιμοσφαίρια βρίσκεται στα τελικά στάδια ανάπτυξης ένα σύστημα που παρομοιάζει τη λειτουργία του Intercept [138]. Χρονολογικά οι μέθοδοι αδρανοποίησης ξεκίνησαν να εφαρμόζονται στις αρχές της δεκαετίας του 1990 στο πλάσμα και ακολούθησε ορισμένα χρόνια αργότερα η εφαρμογή τους στα αιμοπετάλια [139]. Ωστόσο, η εφαρμογή των συστημάτων στα αιμοπετάλια αντιμετωπίζει περισσότερες προκλήσεις λόγω των συνθηκών αποθήκευσης τους που ευνοούν την ανάπτυξη αρκετών παθογόνων αλλά και λόγω της μειωμένης διάρκειας ζωής. Σε γενικές γραμμές τα πλεονεκτήματα των μεθόδων αδρανοποίησης, βρίσκονται σε διαρκή σύγκριση με τα μειονεκτήματά τους τα οποία εστιάζονται σε μορφολογικές και λειτουργικές αλλοιώσεις των κυττάρων όπου εφαρμόζονται.

1.5.2 Πλάσμα

Το πλάσμα συνιστά ένα εκ των σημαντικότερων υγρών του ανθρώπινου σώματος, συμβάλλει στη διατήρηση του ενδοαγγειακού όγκου και της φυσιολογικής κυκλοφορίας του αίματος. Αποτελείται από μεγάλο αριθμό ηλεκτρολυτών, πρωτεϊνών και ορμονών [140]. Όπως έχει αναφερθεί και παραπάνω το πλάσμα είναι ζωτικής σημασίας για ασθενείς με διαταραχές πήξης ή χρόνιες αιμορραγικές διαθέσεις, μίας και αντικαθιστά ή συμπληρώνει στον οργανισμό ελαττωματικές/απούσες πρωτεΐνες [141]. Πέρα από την χρήση του για διαταραχές πήκτικότητας, το πλάσμα αποτελείται από εκατοντάδες πρωτεΐνες των οποίων η παρουσία ωφελεί τον οργανισμό και δε σχετίζονται απαραίτητα με το φάσμα της πήξης[142].

Τα τελευταία χρόνια έχει αυξηθεί η μετάγγιση πλάσματος που είναι που πλούσιο σε αιμοπετάλια (PRP). Το πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια, είναι αυτόλογο πλάσμα το οποίο χαρακτηρίζεται από την επιπρόσθετη παρουσία αιμοπεταλίων [143] και προέρχεται από φυγοκέντρηση ολικού αίματος το οποίο έχει ληφθεί από τον ασθενή πριν από κάποια επεμβατική μέθοδο [144]. Η αύξηση της συχνότητας

μετάγγισης αυτού του είδους πλάσματος οφείλεται στις «αναγεννητικές του ιδιότητες» και στην ευρεία χρήση του σε αθλητές, σε ασθενείς με προβλήματα σπονδυλικής στήλης και γενικότερα σε παθήσεις μυοσκελετικής φύσεως [145]. Επιπρόσθετα μπορεί να χρησιμοποιηθεί για διαδικασίες αναζωογόνησης της επιδερμίδας του προσώπου [146] και για τη καλύτερη ίαση ενός τραύματος [143]. Ιδιαίτερες αντενδείξεις για τη μετάγγιση PRP δεν παρατηρούνται εκτός από την αποφυγή μετάγγισης σε ασθενείς με αιματολογικές δυσλειτουργίες αιμοπεταλίων, ενώ ιδιαίτερη προσοχή απαιτείται στην αποφυγή επιμόλυνσης της περιοχής όπου πραγματοποιείται η έγχυση του PRP [143].

Άλλες κατηγορίες πλάσματος, οι οποίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για μετάγγιση είναι :

- Πλάσμα που έχει καταψυχθεί εντός 24 ωρών (κοινό πλάσμα ή αλλιώς και FP24), έχει προέλθει από ολικό αίμα και έχει διατηρηθεί στους 4-6°C από τη στιγμή της φλεβοκέντησης μέχρι και τη προετοιμασία και αποθήκευση του στους -18°C. Χορηγείται σε παρόμοιες ενδείξεις με αυτές του FFP, ωστόσο επειδή τα επίπεδα των FVIII και FV είναι περισσότερο ελαττωμένα από ότι στο FFP δε χρησιμοποιείται σε ελλείψεις αυτών των παραγόντων [147].
- Ξεπαγωμένο πλάσμα (Thawed plasma), το οποίο όπως υποδηλώνει το όνομα του έχει προέλθει από απόψυξη ενός ασκού FFP ή FP24 στους 30-37°C, ενώ η αποθήκευση του πραγματοποιείται στους 1-6°C μέχρι και 4 ημέρες από την απόψυξη του αρχικού ασκού. Παρατηρείται έκπτωση στις συγκεντρώσεις των πρωτεϊνών που συμμετέχουν στο σχηματισμό θρόμβου, ωστόσο τα επίπεδα των FII, FVII, FIX, FX, ADAMTS-13 και του ινωδογόνου παραμένουν σε παραπλήσιες τιμές με τους αντίστοιχους παράγοντες που βρίσκονται εντός των ασκών FFP και FP24 [147].
- Υγρό πλάσμα που δεν έχει καταψυχθεί ποτέ (Liquid plasma). Αυτό το είδος πλάσματος αποτελεί μια εναλλακτική του ξεπαγωμένου πλάσματος και παράγεται από ασκό ολικού αίματος μέχρι και 5 μέρες πριν από τη λήξη του τελευταίου [148]. Συντηρείται στους 1-6°C και η διάρκεια αποθήκευσης είναι 30 ημέρες [147], αν και υπάρχουν έρευνες οι οποίες προτείνουν ότι η αποθήκευση τους από τη στιγμή παραγωγής τους δε θα πρέπει να υπερβαίνει τις 7 ημέρες διότι μετά από αυτό το διάστημα επέρχεται ενεργοποίηση

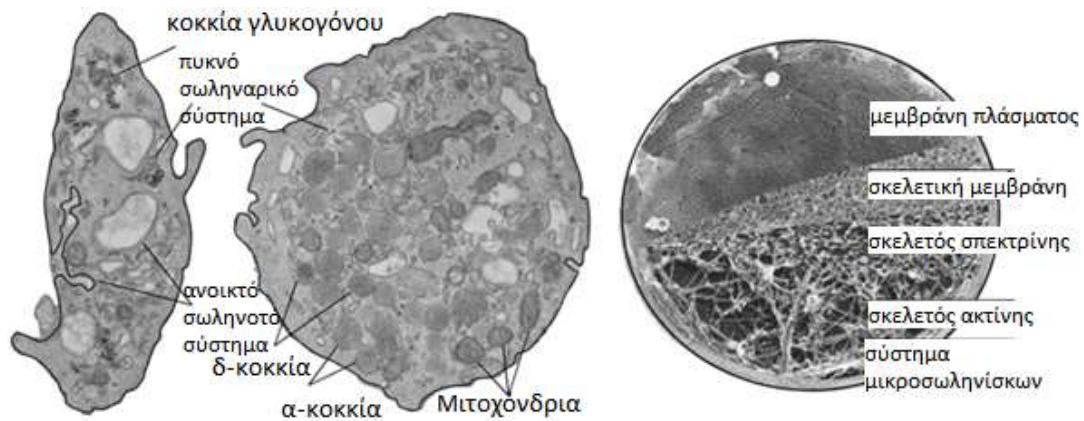
αρκετών δεικτών [149]. Η χορήγηση του είναι αρκετά σπάνια και πραγματοποιείται σε περιπτώσεις οξείας αιμορραγίας αμέσως μετά από την παραγωγή του [147].

Το πλάσμα μπορεί να υποβληθεί σε μεθόδους αδρανοποίησης παθογόνων, ωστόσο ύστερα από εφαρμογή τους παρατηρούνται αλλαγές σε παράγοντες πήξης οι οποίες ποικίλουν αναλόγως με τη μέθοδο που χρησιμοποιείται [150]. Στις πιο αξιοσημείωτες αλλοιώσεις συγκαταλέγονται απώλεια στις συγκεντρώσεις των FV, FVIII αλλά και μειωμένη ενεργότητα α_1 - αντιθρυψίνης και α_2 - αντιπλασμίνης [151]. Αν και η συμβολή των μεθόδων αδρανοποίησης είναι άκρως σημαντική και απαραίτητη σε αρκετές κλινικές περιπτώσεις, οι αλλοιώσεις που προκαλούν σε αρκετούς παράγοντες δημιουργούν και τον όποιο ενδοιασμό υπάρχει ως προς την εφαρμογή τους.

1.5.3.Αιμοπετάλια

Τα αιμοπετάλια αποτελούν τα κυτταρικά στοιχεία του αίματος τα οποία διαδραματίζουν κεντρικό ρόλο στην διαδικασία της αιμόστασης [152], ενώ ο τρόπος παραγωγής τους και τα δομικά χαρακτηριστικά τους τα καθιστούν ικανά να επάγουν ανοσολογική απόκριση [153]. Εκ των τριών κυτταρικών πληθυσμών του αίματος, διαθέτουν το μικρότερο μέγεθος, στερούνται πυρήνα και προέρχονται από τα μεγακαρυοκύτταρα [154]. Απελευθερώνονται ως ανταπόκριση στη δράση της θρομβοποιητίνης και απομακρύνονται από την κυκλοφορία με το πέρασμα 7-10 ημερών [155].

Τα δομικά χαρακτηριστικά των αιμοπεταλίων τα διαχωρίζουν ευκρινώς από τα υπόλοιπα κυτταρικά στοιχεία και σε αυτά συγκαταλέγονται μια οριοθετημένη μεμβράνη πλάσματος, ένας δακτύλιος μικροσωληνίσκων και ένα σύνολο σκελετών όπως ο σκελετός της μεμβράνης, σκελετός σπεκτρίνης και σκελετός ακτίνης. Στα οργανίδια που εμπεριέχονται στα αιμοπετάλια ανήκουν τα α-κοκκία, τα πυκνά κοκκία, τα κοκκία γλυκογόνου, τα μιτοχόνδρια καθώς και ανοικτά και πυκνά συστήματα σωληναρίων [156].



Εικόνα 6. Εικόνες αιμοπεταλίων ύστερα απο τομή και παρατήρηση τους σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, όπου φαίνονται δομικά χαρακτηριστικά τους ,τα κοκκία τους και τα σωληναριακά τους συστήματα (Ανατύπωση απο [157])

Διαταραχή της ακεραιότητας του ενδοθηλίου έχει ως αποτέλεσμα τη διάσπαση υπο-ενδοθηλιακών συστατικών στα οποία προσκολλώνται τα αιμοπετάλια [158]. Η προσκόλληση των αιμοπεταλίων οδηγεί σε συσσώρευση τους, η οποία με τη σειρά της επιφέρει απελευθέρωση συστατικών που επάγουν την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων όπως είναι η θρομβοξανή A_2 και το ADP. Η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων συνοδεύεται από απελευθέρωση θρομβίνης και συνδυαστικά με τη δράση του καταρράκτη πήξης οδηγεί στο τελικό αποτέλεσμα, δηλαδή τη σύσταση ενός καλά δομημένου αιμοστατικού θρόμβου που αποτρέπει την απώλεια αίματος [153]. Κατά αυτόν τον τρόπο, επιτυγχάνεται και η διαδικασία της αιμόστασης. Ολόκληρο το φάσμα της αιμόστασης είναι ιδιαίτερος μεγάλο, ωστόσο στη προκειμένη περίπτωση αναφέρεται συνοπτικά.

Εκτός από την αιμόσταση, η δράση των αιμοπεταλίων επεκτείνεται και στον τομέα της ανοσολογίας. Αρκετά από τα οργανίδια που εμπεριέχονται στα αιμοπετάλια όπως είναι κυτταροκίνες και χημειοκίνες συμμετέχουν ενεργά σε περιστατικά φλεγμονών και στην αντιμετώπιση τους, ενώ η αιμοπεταλιακή έκφραση υποδοχέων τύπου Toll (TLR's) και η αλληλεπίδραση των αιμοπεταλίων με τον υποδοχέα ενεργοποίησης που εκφράζεται σε μυελοειδή κύτταρα τύπου 1, εμπλέκονται στις διαδικασίες ανίχνευσης παθογόνων εντός του οργανισμού [153]. Οι διαταραχές των αιμοπεταλίων μπορεί να είναι τόσο κληρονομικές, όσο και επίκτητες. Στις κληρονομικές διαταραχές ανήκουν:

- διαφόρων τύπου θρομβοπενίες οι οποίες διαχωρίζονται μεταξύ τους από το μέγεθος των αιμοπεταλίων όπως η θρομβοπενία σχετιζόμενη με το γονίδιο MYH9 και το σύνδρομο γκρίζων αιμοπεταλίων με μεγάλο μέγεθος αιμοπεταλίων, οι θρομβοπενίες RUNX1/ ETV6/ANKRD26 με φυσιολογικό μέγεθος αιμοπεταλίων και το σύνδρομο Wiskott-Aldrich με μικρό μέγεθος αιμοπεταλίων [159].
- Διαταραχές προσκόλλησης των αιμοπεταλίων όπως το σύνδρομο Bernard-Soulier, που αποτελεί μία σπάνια κληρονομική διαταραχή [160]. Διαταραχές συσσώρευσης των αιμοπεταλίων όπως η θρομβασθένεια Glanzmann, που χαρακτηρίζεται από σοβαρά επεισόδια αιμορραγίας [161].
- Διαταραχές αιμοπεταλιακών κοκκίων, οι οποίες εμπλέκονται σε φαινόμενα ήπιας αιμορραγικής διάθεσης [159].

Οι επίκτητες διαταραχές περιλαμβάνουν μευλοϋπερπλαστικά νεοπλάσματα, τη νόσο von Willebrand αιμοπεταλιακού τύπου, τη νόσο von Willebrand τύπου 2B [162], τις διαταραχές του υποδοχέα κολλαγόνου [160] και την αυτοάνοση θρομβοπενική πορφύρα [163]. Μη αιματολογικές διαταραχές που συσχετίζονται με επίκτητες διαταραχές αιμοπεταλίων είναι νεφρική δυσλειτουργία, η ουραιμία και η ηπατική νόσος [162].

Τα δομικά χαρακτηριστικά των αιμοπεταλίων σε αρκετές από τις προαναφερθείσες διαταραχές απουσιάζουν ή βρίσκονται σε έλλειψη. Με τη μετάγγιση των αιμοπεταλίων εισάγονται στον οργανισμό υγιή αιμοπετάλια για την αντιμετώπιση τους. Ωστόσο, η εφαρμογή των μεθόδων αδρανοποίησης επιφέρει αλλοιώσεις στα προς μετάγγιση αιμοπετάλια αμφισβητώντας την χρησιμότητα τους.

Κεφάλαιο 2: Intercept Blood System

Το Intercept Blood System προέρχεται από την εταιρία Cerus Corporation με έδρα το Concord, CA στις ΗΠΑ και το MH Amersfoort στην Ευρώπη. Έλαβε πιστοποίηση CE από την Ευρωπαϊκή Ένωση ως ιατρική συσκευή Τάξης III το 2006 και έκτοτε έχουν ακολουθήσει πιστοποιήσεις από περαιτέρω Ευρωπαϊκούς οργανισμούς αλλά και από τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA) των ΗΠΑ. Χρησιμοποιείται για την αδρανοποίηση παθογόνων από αιμοπετάλια και πλάσμα αφαίρεσης, καθώς και από αιμοπετάλια και πλάσμα προερχόμενα από διαχωρισμό ολικού αίματος [164].

2.1.Περιγραφή του Intercept Blood System

Το σύστημα αποτελείται από τον κυρίως αναλυτή αλλά και από ένα σύνολο συνοδών ασκών και φίλτρα τα οποία εμπεριέχονται σε σφραγισμένα πακέτα. Ο κυρίως αναλυτής αποκαλείται “INT 100 Illumination Device” και το εκάστοτε αναλώσιμο κιτ μια χρήσης υποδιαιρείται σε 4 επιμέρους τμήματα : α) ένα πλαστικό περιέκτη είδους PL2411 που δεν επιτρέπει το φώς να διαπεράσει και εμπεριέχει 15mL διαλύματος αμοτοσαλένιου συγκέντρωσης 6mM ,β) έναν πλαστικό ασκό είδους PL2410 και χωρητικότητας 1,3 λίτρων στον οποίο πραγματοποιείται η ακτινοβόληση του πλάσματος, γ) ένα φίλτρο ή ασκό CAD (Compound Absorption Device) ο οποίος απομακρύνει τη περίσσεια ποσότητα του αμοτοσαλένιου και δ) τελικοί ασκοί που εμπεριέχουν τα αδρανοποιημένα παράγωγα, είδους PL269 και ένας έως τρεις στον αριθμό αναλόγως με το αν το αδρανοποιημένο παράγωγο είναι αιμοπετάλια ή πλάσμα [165]. Η ακτινοβόληση πραγματοποιείται με ενέργεια $3J/cm^2$ και έχει διάρκεια 7-9 λεπτά [166]. Η απορρόφηση της περίσσειας ποσότητας μέσω του CAD, πραγματοποιείται σε 10-20 λεπτά μέσω συνεχούς ροής σε ασκούς πλάσματος και σε 4-16 ώρες μέσω αναδευτήρα σε ασκούς αιμοπεταλίων [167].



Πακέτο αδρανοποίησης παθογόνων για ασκό αιμοπεταλίων



Πακέτο αδρανοποίησης παθογόνων για ασκό πλάσματος



Intercept Blood System

Εικόνα 7. Παρουσιάζονται από πάνω προς τα κάτω με τη σειρά : α) αναλώσιμο κίτ αδρανοποίησης παθογόνων για αιμοπετάλια, β) αναλώσιμο κίτ αδρανοποίησης παθογόνων για πλάσμα και γ) ο κύριος αναλυτής αδρανοποίησης του Intercept Blood System (η εικόνα προέρχεται από την επίσημη ιστοσελίδα του Intercept Blood System <https://interceptbloodsystem.com/en/blood-center/intercept>)

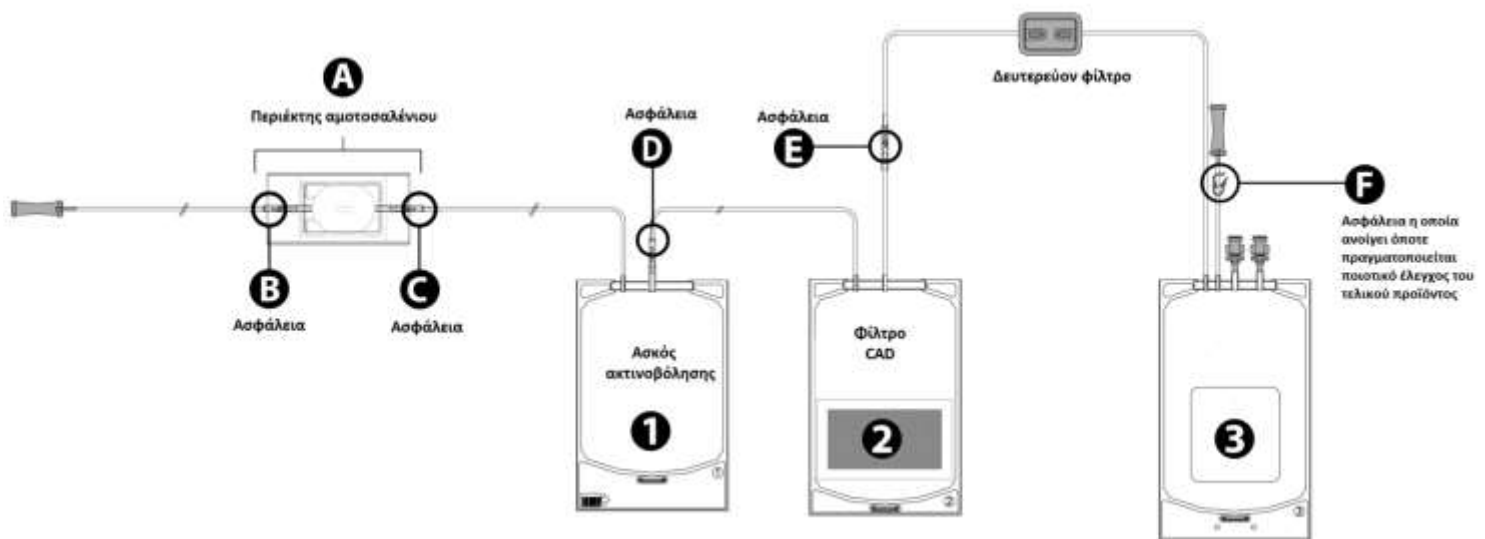
2.2. Πρωτόκολλο αδρανοποίησης παθογόνων

Αρχικό βήμα πριν από την πραγματοποίηση του πρωτοκόλλου αποτελεί η συλλογή ολικού αίματος και η παραγωγή του σε ΣΕ, πλάσμα και αιμοπετάλια προκειμένου να πραγματοποιηθεί η αδρανοποίηση ενός εκ των 2 τελευταίων παραγώγων. Η αδρανοποίηση αιμοπεταλίων πραγματοποιείται συνήθως σε αιμοπετάλια αφαίρεσης. Το πρωτόκολλο που πραγματοποιείται είναι το εξής [168]:

1. Η αδρανοποίηση πρέπει να γίνει μέχρι το πολύ 1 ημέρα από την δημιουργία του παραγώγου.
2. Ανοίγουμε το αναλώσιμο κίτ το οποίο φέρει τον ασκό αμοτοσαλένιου, και τους ασκούς ακτινοβολήσης, CAD και τελικής συλλογής.

3. Πραγματοποιείται συγκόλληση με θερμό-συγκολλητή υπό στείρες συνθήκες μεταξύ του παραγώγου και του περιέκτη του αμοτοσαλένιου.
4. Τοποθετούνται barcodes με τα στοιχεία του ασκού του παραγώγου, στους ασκούς ακτινοβολήσης και συλλογής.
5. Ο ασκός του παραγώγου τοποθετείται σε κάθετη θέση. Ο περιέκτης του αμοτοσαλένιου φέρει 2 ασφάλειες, μια στο πάνω μέρος και μία στο κάτω. Αφαιρείται η κάτω ασφάλεια που βρίσκεται συνδεδεμένη με τον ασκό ακτινοβολήσης και αφού το αμοτοσαλένιο κατευθυνθεί στο εσωτερικό του ασκού ακτινοβολήσης ακολουθεί άνοιγμα και της πάνω ασφάλειας, επιτρέποντας το παράγωγο να διέλθει από τον περιέκτη του αμοτοσαλένιου προς τον ασκό ακτινοβολήσης.
6. Ακολουθεί ανάδευση με ήπιες κινήσεις το μείγμα αμοτοσαλένιου-παραγώγου και εξωθείται ο αέρας εντός του ασκού ακτινοβολήσης προς τον περιέκτη του αμοτοσαλένιου και σφραγίζεται με λαβίδα ή clip για να μην επιστρέψει ο αέρας πίσω.
7. Επιτρέπεται την απελευθέρωση μίγματος εντός του σωλήνα που συνδέεται με τον περιέκτη, σε συνολική απόσταση 4 cm από τον ασκό ακτινοβολήσης και σφραγίζεται και αποσυνδέεται ο περιέκτης από τον ασκό με θερμό-συγκολλητή.
8. Τοποθετείται το σύστημα ασκός ακτινοβολήσης- CAD- τελικός ασκός εντός του αναλυτή, με τον ασκό ακτινοβολήσης να εναποτίθεται στο μεγάλο συρτάρι της αριστερής μεριάς του αναλυτή και τους CAD- τελικό ασκό στο μικρότερο συρτάρι δεξιά.
9. Σαρώνονται τα barcodes που φέρει ο ασκός ακτινοβολήσης με σκάνερ χειρός που βρίσκεται εντός του αναλυτή, προκειμένου τα στοιχεία του ασκού να παραληφθούν από το λογισμικό του αναλυτή. Πιέζεται το κουμπί “start” και ξεκινάει η ακτινοβολήση διάρκειας 7-9 λεπτών.
10. Με την ολοκλήρωση της ακτινοβολήσης, ο αναλυτής τυπώνει μια λεπτομερή αναφορά των στοιχείων της αδρανοποίησης του παραγώγου.
11. Αφαιρείται με προσοχή ολόκληρο το σύστημα και το κρεμάται με τον ασκό ακτινοβολήσης να βρίσκεται στη κορυφή και το CAD κατακόρυφα κάτω από αυτόν.

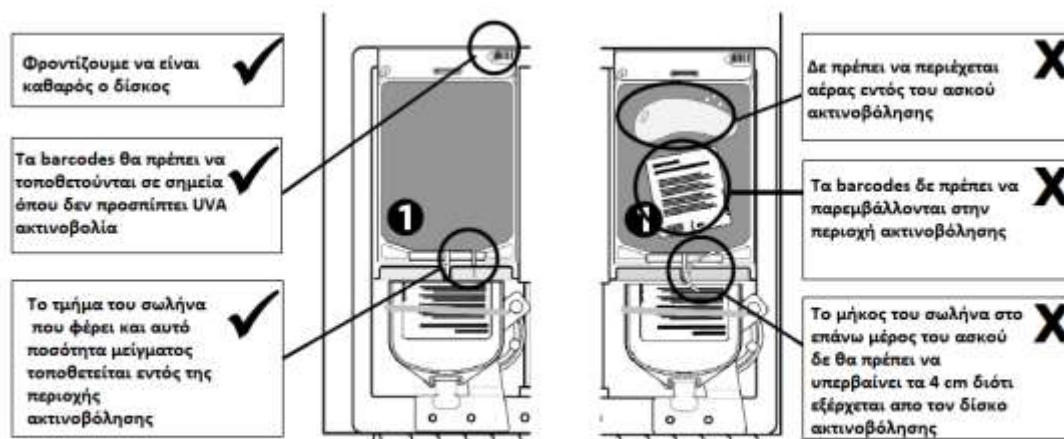
12. Αφαιρείται η ασφάλεια κάτω από τον ασκό ακτινοβόλησης και επιτρέπεται στο μείγμα να κατευθυνθεί στο CAD για την απομάκρυνση της περίσσειας ποσότητας αμοτσοαλένιου. Αφαιρείται ο περιττός αέρα προς τη πλευρά του ασκού ακτινοβόλησης, σφραγίζονται και αποχωρίζονται οι ασκοί μέσω συγκόλλησης.
13. Αν η αδρανοποίηση αφορά πλάσμα επιτρέπεται το CAD για 10-20 λεπτά παραπάνω, ενώ αν πρόκειται για αιμοπετάλια το σύστημα τοποθετείται εντός αναδευτήρα για 4-16 ώρες.
14. Με την απομάκρυνση της περίσσειας, αφαιρείται η ασφάλεια στο κάτω μέρος του CAD και επιτρέπεται να ρεύσει το αδρανοποιημένο πλέον παράγωγο στον τελικό ασκό συλλογής.
15. Με την πλήρωση του τελικού ασκού, απομακρύνεται το μεγαλύτερο μέρος του αέρα, σφραγίζεται και αποσυνδέεται ο ασκός CAD από τον τελικό ασκό με χρήση θερμό-συγκολλητή .



Εικόνα 8. Αναλυτική περιγραφή των επί μέρους τμημάτων του αναλώσιμου κιτ αδρανοποίησης (η εικόνα προέρχεται από το εγχειρίδιο χρήσης αναλώσιμων κιτ του Intercept Blood System)

Για την σωστή αδρανοποίηση του παραγώγου απαιτείται ιδιαίτερη προσοχή στην αλληλουχία των βημάτων του πρωτοκόλλου καθώς και στην σωστή τοποθέτηση του

συστήματος εντός του αναλυτή. Στην εικόνα 9 που ακολουθεί φαίνονται τα σωστά και λανθασμένα σημεία στη τοποθέτηση του συστήματος.



Εικόνα 9.Αριστερά παρουσιάζονται τα σημεία της σωστής τοποθέτησης του ασκοῦ εντός του δίσκου ακτινοβολίας, ενώ δεξιά παρουσιάζονται τα λανθασμένα σημεία που πρέπει να αποφεύγονται (η εικόνα προέρχεται από το εγχειρίδιο χρήσης του αναλώσιμου κιτ του Intercept Blood System)

2.3.Αδρανοποίηση παθογόνων με το Intercept Blood System

Το συγκεκριμένο σύστημα επιτελεί αδρανοποίηση ενός μεγάλου εύρους παθογόνων στα αιμοπετάλια και στο πλάσμα, συμπεριλαμβανομένων ιών, βακτηρίων και πρωτόζωων. Πέρα των παθογόνων μικροοργανισμών, πραγματοποιείται και αδρανοποίηση λευκών αιμοσφαιρίων τα οποία εμπλέκονται σε ανεπιθύμητες αντιδράσεις μετάγγισης (όπως π.χ η TA-GvHD) [166].

Στον Πίνακα 3 αναφέρονται τα παθογόνα ενάντια των οποίων είναι αποτελεσματικό το Intercept [169] :

Πίνακας 3. Παθογόνοι μικροοργανισμοί που αδρανοποιούνται απο το Intercept Blood System, μαζί με τη λογαριθμική μείωση που εμφανίζουν.

| Παθογόνος μικροοργανισμός | Λογαριθμική μείωση των παθογόνων |
|--------------------------------------|---|
| Ιοί χωρίς φάκελο | |
| Bluetongue Virus | 6.1-6.4 |
| Parvovirus B19 | 4.0-4.9 |
| Ιοί περιβαλλόμενοι από φάκελο | |
| HIV | 6.2 |
| CMV | 5.9 |
| HBV | 5.5 |
| HCV | 4.5 |
| Duck HBV | 6.2 |
| Ιός διάρροιας βοοειδών | 6.0 |
| HTLV I/II | 4.7/5.1 |
| Ιός του Δυτικού Νείλου (WNV) | 6.0 |
| Gram (-) βακτήρια | |
| <i>Escherichia coli</i> | 6.4 |
| <i>Serratia marcescens</i> | 6.7 |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 5.6 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 4.5 |
| <i>Salmonella choleraesuis</i> | 6.2 |
| <i>Yersinia enterocolitica</i> | 5.9 |
| <i>Enterobacter cloacae</i> | 5.9 |
| Gram (+) βακτήρια | |
| Είδη Lactobacillus | 6.9 |
| <i>Propionibacterium acnes</i> | 6.7 |
| <i>Clostridium perfringens</i> | 7.0 |
| <i>Bifidobacterium adolescentis</i> | 6.5 |
| Πρωτόζωα | |
| <i>Trypanosoma cruzi</i> | 5.3 |
| <i>Plasmodium falciparum</i> | 7.0 |
| <i>Leishmania mexicana</i> | 5.2 |

Το Intercept βασίζεται στην φωτοχημική επεξεργασία του ασκού με τη χρήση μιας φωτο-διεγερτικής ουσίας η οποία αποκαλείται αμοτοσαλένιο ή αλλιώς γνωστό και ως συνθετικό ψωραλένιο S-59 [170]. Η εν λόγω ουσία ενεργοποιείται ύστερα από ακτινοβολία της με UVA (υπεριώδης Α) ακτινοβολία συγκεκριμένου μήκους κύματος και έχει την ικανότητα να παρεμβάλλεται στα εκάστοτε τμήματα DNA/RNA, αναστέλλοντας την αντιγραφή του DNA και τη μεταγραφή του RNA [171].

2.4.Αμοτοσαλένιο

Το αμοτοσαλένιο είναι ένα συνθετικό είδος ψωραλένιου, το οποίο έχει δημιουργηθεί από τους επιστήμονες με σκοπό την αδρανοποίηση παθογόνων σε παράγωγα αίματος [135]. Τα ψωραλένια αποτελούν ετεροκυκλικές ενώσεις απαντώνται και στη φύση υπό την μορφή των μεθόξυ-ψωραλενίων (8-MOP, 5-MOP) και του τρι-μέθυλο-ψωραλενίου (TMP), σε φυτά όπως το σέλερι και το λάϊμ [172]. Τα φυσικά ψωραλένια χρησιμοποιούνται εδώ και αρκετά χρόνια για την αντιμετώπιση διάφορων παθήσεων, όπως παραδείγματος χάριν το 8-MOP χρησιμοποιείται για την αντιμετώπιση της ψωρίασης [173], ενώ η χημική σύσταση των ψωραλενίων έχει συνδεθεί άρρηκτα με τη κατανόηση της δομής των νουκλεϊκών οξέων και με την ανάπτυξη τεχνικών χειρισμού των νουκλεϊκών οξέων [172].

Με την προσθήκη πλευρικών ομάδων αμίνης, το αμοτοσαλένιο γίνεται υδατοδιαλυτό αυξάνοντας τη συγγένεια του με τα νουκλεϊκά οξέα. Απαραίτητα χαρακτηριστικά που πρέπει να διαθέτει ένα ψωραλένιο για να επιτύχει την αδρανοποίηση παθογόνων σε ένα παράγωγο αίματος είναι : α) χημική καθαρότητα, β) ενεργοποίηση μόνο μετά από ακτινοβολία, γ) επιλεκτική επίδραση έναντι των οργανισμών στόχων και δ) ταχεία αδρανοποίηση των στόχων με όσο το δυνατόν μικρότερη τοξική επίδραση στο παράγωγο [135,174].

2.5.Μηχανισμός δράσης του αμοτοσαλένιου

Το ψωραλένιο S-59 αδρανοποιεί παθογόνα σε πλάσμα και αιμοπετάλια ύστερα από εφαρμογή UVA ακτινοβολίας σε μήκος κύματος 340-400 nm. Το συγκεκριμένο ψωραλένιο δε μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε ερυθρά αιμοσφαίρια καθώς η αιμοσφαιρίνη απορροφά την UVA ακτινοβολία και υφίσταται αλλοιώσεις [135]. Ο μηχανισμός δράσης του αμοτοσαλένιου περιλαμβάνει 3 βασικά τμήματα :

- **1^ο Βήμα - Παρεμβολή** : Αρχικά το ψωραλένιο παρεμβάλλεται μεταξύ της έλικας του DNA ή RNA του οργανισμού που αδρανοποιείται [135]. Με την εφαρμογή της UVA ακτινοβολίας, η χημική ουσία προσδένεται στις ολεφινικές ομάδες των βάσεων πυριμιδίνης των νουκλεϊκών οξέων του παθογόνου μικροοργανισμού [172]. Στις πυριμιδίνες ανήκουν οι βάσεις θυμίνη, κυτοσίνη και ουρακίλη [135]. Η συγγένεια της χημικής ουσίας με τα νουκλεϊκά οξέα είναι ιδιαίτερος μεγάλη, επιτρέποντας την ισχυρή αλληλεπίδραση τους ακόμα και σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις νουκλεϊκών οξέων. Το γεγονός αυτό, αναδεικνύεται σε σημείο κλειδί της χρήσης του αμοτοσαλένιου. Αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης είναι η εγκατάσταση του δακτυλίου του S-59 εντός της έλικας του γενετικού υλικού του παθογόνου και στο σχηματισμό ενός μονοαγωγού [172].
- **2^ο Βήμα- Σχηματισμός μονοαγωγού** : Ως μονοαγωγό ορίζεται το προϊόν που σχηματίζεται μετά από την αλληλεπίδραση 2 χημικών ενώσεων/ συμπλεγμάτων. Στη προκειμένη περίπτωση, η αλληλεπίδραση περιλαμβάνει το αμοτοσαλένιο και τις πυριμιδίνες [135]. Σε παθογόνους μικροοργανισμούς που φέρουν DNA ως γενετικό υλικό πρωταρχικός στόχος του S-59 είναι η θυμίνη και σπανίως η κυτοσίνη , ενώ σε παθογόνα με RNA προτεραιότητα έχει η σύνδεση με την ουρακίλη [175]. Η δημιουργία του μονοαγωγού, ξετυλίγει σταδιακά τη διπλή έλικα και σε συνδυασμό με τη συνεχή UVA ακτινοβολία δημιουργείται και 2^ο προϊόν το οποίο συμβάλει στη διασύνδεση του αμοτοσαλένιου με τη διπλή έλικα [135].
- **3^ο Βήμα – Διασύνδεση** : Η διασύνδεση του τμήματος διαταράσσει τη συνοχή της διπλής έλικας, επιφέροντας μόνιμη αλλοίωση του γονιδιώματος του παθογόνου αναστέλλοντας τις διαδικασίες αντιγραφής, μεταγραφή και

μετάφρασης. Κατ' αυτόν τον τρόπο επιτυγχάνεται και η αδρανοποίηση του παθογόνου μικροοργανισμού [176].



Εικόνα 10. Μηχανισμός δράσης αμοτοσαλίνιου κατά την διαδικασία αδρανοποίησης (η εικόνα προέρχεται απο το έντυπο ενημέρωσης της Cerus Corporation για το Intercept Blood System)

2.6.Τοξικές επιδράσεις του Intercept Blood system

Ιδιαίτερα σημαντικές κρίνονται οι επιπτώσεις που έχει η εφαρμογή του ψωραλίνιου S-59, τόσο στα αιμοπετάλια όσο και στο πλάσμα. Αν και το αμοτοσαλίνιο δημιουργήθηκε επιλεκτικά για την αδρανοποίηση παθογόνων του αίματος και των παραγώνων του, οι τοξικές του επιδράσεις στα παράγωγα στα οποία εφαρμόζεται αποτελούν ένα διαρκές αντικείμενο μελέτης με σκοπό την αξιολόγηση της ωφέλειας του συστήματος. Πέραν της διερεύνησης της επίδρασης του αμοτοσαλίνιου στα αιμοπετάλια και στο πλάσμα, έχει πραγματοποιηθεί μια σειρά ερευνών με στόχο την αξιολόγηση της φωτο-τοξικότητας, γόνο-τοξικότητας και της καρκινογένεσης που μπορεί να επιφέρει το αμοτοσαλίνιο. Οι παραπάνω κατηγορίες τοξικότητας, αποτελούν και τις πιο σημαντικές μιας και φέρουν μεγαλύτερη επίδραση στη διαβίωση του οργανισμού και η αξιολόγηση τους έχει πραγματοποιηθεί σε διάφορα πειραματόζωα , κυρίως ποντίκια [167].

Σε *in vitro* ελέγχους αλλά και *in vivo* σε οργανισμό ποντικών, δε παρατηρούνται φαινόμενα γόνο-τοξικότητας όταν πραγματοποιείται εφαρμογή του φίλτρου CAD. Ωστόσο σε έλεγχο της γόνο-τοξικότητας του αμοτοσαλένιου χωρίς την εφαρμογή του CAD αναδείχθηκε παρουσία της στο 1/3 των περιπτώσεων, γεγονός που κατέδειξε την ανάγκη εφαρμογής του CAD για απομάκρυνση της περίσσειας ποσότητας του αμοτοσαλένιου. Όσον αφορά τη καρκινογένεση, έπειτα από τη χορήγηση παραγώνων- στα οποία έχει εφαρμοστεί αδρανοποίηση με χρήση του Intercept- σε ετερόζυγα ως προς το αντιγόνο p53 ποντίκια δε παρατηρήθηκε κάποια αύξηση ογκογένεσης, αναδεικνύοντας την απουσία πρόκλησης καρκίνου λόγω εφαρμογής του Intercept Blood system [176]. Τέλος, παρά τη παραμονή μικρής ποσότητας αμοτοσαλένιου ακόμα και μετά από απομάκρυνση της περίσσειας του από το CAD δεν έχει παρατηρηθεί κάποιο φαινόμενο φωτο-τοξικότητας [177].

2.7.Επιπτώσεις του Intercept στο πλάσμα

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, το FFP αποτελείται από ένα σύνολο παραγόντων πήξης, ανασταλτών- υποκινητών πήξης και από πρωτεΐνες, τα οποία καθίστανται απαραίτητα για ασθενείς με διαταραχές πήκτικότητας του αίματος. Το σύνολο αυτών των στοιχείων, αποτελεί και το κύριο σημείο ενδιαφέροντος για τις αλλοιώσεις τις οποίες μπορεί να επιφέρει η εφαρμογή του Intercept Blood System. Προκειμένου να εξακριβωθεί αν η αδρανοποίηση προκαλεί βλάβη στους θεραπευτικούς αυτούς παράγοντες – και αν συμβαίνει σε τι έκταση παρατηρείται – έχουν πραγματοποιηθεί μετρήσεις της λειτουργικότητας των παραγόντων πριν και μετά από την εφαρμογή του πρωτοκόλλου αδρανοποίησης.

Σε μία έρευνα που πραγματοποιήθηκε από προσωπικό της Cerus Corporation (εταιρεία παραγωγής του Intercept) [165], μετρήθηκε η λειτουργικότητα των παραγόντων πήξης FII-FXI με χρήση των PT και APTT, ο FXIII μέσω χρωμογονικής ανίχνευσης ενός προϊόντος της ενεργοποίησής του, ενώ η μέτρηση των πρωτεϊνών S,C και της αντιθρομβίνης πραγματοποιήθηκε με εμπορικά διαθέσιμα kit ειδικά για αυτά. Η μέτρηση του πλασμινογόνου και της α_2 - αντιπλασμίνη έγινε με χρωμογονικές μεθόδους και η μέθοδος ELISA εφαρμόστηκε για τους δείκτες

σχηματισμού θρόμβου. για τους παράγοντες συμπληρώματος C3a,C5a και για τον αναστολέα της C1-εστεράσης. Για τη μέτρηση της διατήρησης της λειτουργικότητας των παραγόντων που εμπλέκονται στο σύμπλεγμα von Willebrand έγινε ηλεκτροφόρηση και Western Blot. Τα αποδεκτά όρια τιμών που μετρήθηκαν και μέσω των οποίων βγήκε το ποσοστό διατήρησης της λειτουργικότητας, προέρχονται από την Cerus Corporation ή από τα εκάστοτε kit που χρησιμοποιήθηκαν. Τα αποτελέσματα διακρίνονται στον Πίνακα 4 :

Πίνακας 4. Στον πίνακα παρουσιάζονται οι τιμές των πρωτεϊνών και παραγόντων πήξης του πλάσματος, πριν και μετά από την πραγματοποίηση αδρανοποίησης με το Intercept Blood System, καθώς και το ποσοστό διατήρησης της λειτουργικότητας τους.

| Δείκτης προσδιορισμού | Μέση τιμή δείκτη πριν από την αδρανοποίηση | Μέση τιμή δείκτη μετά από την αδρανοποίηση | Διατήρηση λειτουργικότητας (%) |
|------------------------------|---|---|---------------------------------------|
| Ινωδογόνο (mg/dl) | 307.2 | 235.8 | 77 ± 3 |
| FII (IU/dl) | 103.0 | 92.3 | 90 ± 3 |
| FV (IU/dl) | 136.0 | 125.8 | 92 ± 2 |
| FVII (IU/dl) | 116.5 | 90.2 | 78 ± 3 |
| FVIII (IU/dl) | 151.7 | 118.0 | 78 ± 5 |
| FIX (IU/dl) | 111.3 | 92.5 | 83 ± 2 |
| FX (IU/dl) | 99.2 | 87.2 | 88 ± 2 |
| FXI (IU/dl) | 106.7 | 92.7 | 87 ± 2 |
| FXIII (IU/dl) | 114.5 | 105.0 | 92 ± 3 |
| Αντιθρομβίνη (IU/dl) | 95.5 | 92.5 | 97 ± 4 |
| Πρωτεΐνη C (IU/dl) | 121.3 | 113.3 | 93 ± 4 |
| Πρωτεΐνη S (IU/dl) | 111.7 | 112.0 | 100 ± 6 |

| | | | |
|-------------------------------------|------|------|---------|
| Αντιθρυψίνη (mg/dl) | 90·0 | 87·5 | 97 ± 1 |
| Αντιπλασμίνη (IU/dl) | 92·3 | 72·2 | 78 ± 6 |
| Πλασμινογόνο (IU/dl) | 97·2 | 91·0 | 94 ± 5 |
| Ενεργότητα vWF | - | - | 93 ± 6 |
| Αντιγόνο vWF | - | - | 98 ± 4 |
| vWF: CP | - | - | 89 ± 7 |
| C3a | - | - | 68 ± 7 |
| C5a | - | - | 94 ± 8 |
| Αναστολέας C1- εστεράσης | - | - | 100 ± 6 |

Φυσικά για να γίνει αντιληπτή η διατήρηση της λειτουργικότητας καθίσταται απαραίτητη και η παράθεση των τιμών αναφορών βάσει των οποίων βγήκαν τα παραπάνω ποσοστά, τα οποία και παρουσιάζονται στον Πίνακα 5 ακολούθως.

Πίνακας 5. Τιμές αναφοράς στις οποίες βασίστηκε ο προσδιορισμός του ποσοστού λειτουργικότητας των πρωτεϊνών και παραγόντων πήξης που παρουσιάζονται στον Πίνακα 4.

| | | | | | |
|------------------|------------------|--------------|-----------------|---------------------|-----------------|
| Ινωδογόνο | 200-300 mg/dl | FIX | 75-145 IU/dl | Πρωτεΐνη S | 80-140 IU/dl |
| FII | 80-120 IU/dl | FX | 75-130 IU/dl | Πρωτεΐνη C | 85-135 IU/dl |
| FV | 95-170 IU/dl | FXI | 60-150 IU/dl | Αντιθρυψίνη | 90-200 mg/dl |
| FVII | 70-175 IU/dl | FXIII | 85-135 IU/dl | Πλασμινογόνο | 70-130 IU/dl |

| | | | | | |
|--------------|-----------------|---------------------|-----------------|---------------------|-----------------|
| FVIII | 85-235 IU/dl | Αντιθρομβίνη | 85-105 IU/dl | Αντιπλασμίνη | 80-150 IU/dl |
|--------------|-----------------|---------------------|-----------------|---------------------|-----------------|

Όπως γίνεται αντιληπτό από την παρατήρηση των ανωτέρω πινάκων η διατήρηση της λειτουργικότητας των αιμοστατικών πρωτεϊνών και των παραγόντων πήξης είναι ιδιαίτερος καλή. Οι παράγοντες με τη χαμηλότερη διατήρηση είναι οι FVII και FVIII, των οποίων οι τιμές ωστόσο κυμαίνονται εντός φυσιολογικών ορίων. Όσον αφορά τις αντιθρομβωτικές πρωτεΐνες (πρωτεΐνη C, πρωτεΐνη S, αντιθρυψίνη, αντιθρομβίνη) η διατήρησή τους είναι άκρως καλή, κάτι το οποίο δεν ισχύει και για την αντιπλασμίνη που ανιχνεύθηκε στα κατώτατα αποδεκτά όρια. Σε γενικές γραμμές, η διατήρηση των δεικτών που εξετάσθηκαν ήταν ικανοποιητική χωρίς να αναδεικνύεται κάποια σοβαρή μεταβολή. Παρατίθενται και οι δείκτες ενεργοποίησης του μηχανισμού της πήξης στον Πίνακα 6, που ήταν και οι τελευταίοι που εξετάσθηκαν.

Πίνακας 6. Τιμές παραγόντων που εμπλέκονται στην ενεργοποίηση του μηχανισμού πήξης - πριν και μετά από την αδρανοποίηση - μαζί με τις τιμές αναφοράς τους.

| Δείκτες | Τιμή πριν από την αδρανοποίηση | Τιμή μετά από την αδρανοποίηση | Τιμή αναφοράς |
|-------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|----------------------|
| D-dimers (ng/ml) | < 110-179 | < 110-212 | < 256 |
| F1·2 (nM) | 0·2-0·6 | 0·2-0·6 | 0·4-1·8 |
| TAT (ng/ml) | < 2·0-2·3 | < 2·0-6·0 | < 5·1 |
| FVIIa (mU/ml) | 13-87 | <13-97 | < 160 |

Οι τιμές αυτές αποτέλεσαν και επιβεβαίωση μίας έρευνας που είχε πραγματοποιηθεί ορισμένα χρόνια νωρίτερα, όπου οι ερευνητές είχαν παρατηρήσει παράταση των PT και APTT κατά 1 και 4.3 δευτερόλεπτα αντίστοιχα, με συνεπακόλουθη χαμηλότερη διατήρηση των FVII, FVIII και του ινωδογόνου συγκριτικά με όλους του υπόλοιπους παράγοντες [166]. Τα ίδια ευρήματα μπορούν να ανευρεθούν και σε αδρανοποιημένο κρουοκαθίζημα, το οποίο δεν είναι τόσο

συνηθισμένο ως προς τη συχνότητα εμφάνισης του [137]. Σε γενικές γραμμές, οι 3 προαναφερθείς παράγοντες επιδεικνύουν χαμηλότερη διατήρηση όπως παρουσιάζεται και σε άλλες έρευνες [178].

Χορήγηση αδρανοποιημένου πλάσματος σε ασθενείς με επίκτητες και κληρονομικές διαταραχές πήξης, ανέδειξε την ικανότητα αντιμετώπισης της αιμορραγίας με παρόμοιο τρόπο με τη χορήγηση μη αδρανοποιημένου πλάσματος [179]. Σε αντιπαράθεση με αυτή την έρευνα, χορηγήθηκε σε φυσιολογικά άτομα βαρφαρίνη με σκοπό την πτώση των επιπέδων του FVII και ακολούθησε χορήγηση αδρανοποιημένου FFP. Με το πέρας 2 εβδομάδων, έγινε επανάληψη χορήγησης βαρφαρίνης και χορήγηση μη αδρανοποιημένου FFP. Οι τιμές που παρατηρήθηκαν και στις 2 θεραπείες ήταν παραπλήσιες με ελάχιστες διαφορές, πλήρως αποδεκτές [180].

Οι περισσότερες έρευνες συγκλίνουν στο ίδιο αποτέλεσμα : η αδρανοποίηση πλάσματος με Intercept επιφέρει μια μικρή έκπτωση, η οποία δεν αλλάζει κατά κύριο λόγο κάποια από τις θεραπευτικές του ιδιότητες.

2.8. Επιπτώσεις του Intercept στα αιμοπετάλια

Η εκτίμηση της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων, πραγματοποιείται με την διερεύνηση μιας σειράς παραγόντων. Σε αυτούς συγκαταλέγονται βιοχημικοί παράγοντες, παράγοντες ενεργοποίησης της δράσης των αιμοπεταλίων και παράγοντες απόπτωσης-νέκρωσης.

Οι βιοχημικοί παράγοντες τείνουν να εμφανίζουν μια ελαφρά μείωση στις τιμές τους μετά από την αδρανοποίηση τους και κατά την διάρκεια των επτά συνολικών ημερών αποθήκευσής τους. Οι παράγοντες οι οποίοι παρουσιάζουν αυτές τις μειώσεις είναι το pH, η pO_2 , η pCO_2 , η συγκέντρωση διττανθρακικών, η συγκέντρωση γλυκόζης, η συνολική έκκριση ATP, ενώ αυξάνεται η συγκέντρωση γαλακτικού [174]. Παρομοίως, μικρή μείωση παρουσιάζουν και παράγοντες όπως ο μέσος όγκος αιμοπεταλίων (MPV ή Mean Platelet Volume), η αντίδραση στο υποτονικό shock (HSR ή Hypotonic Shock Reaction), ενώ αποδεκτές είναι και οι

αλλαγές που παρατηρούνται στη μορφολογική σύσταση, στο σχήμα των αιμοπεταλίων και στην ικανότητα συσώρευσης τους [181].

Ενδεικτικά των μεταβολών που υφίστανται οι παραπάνω παράγοντες, είναι τα ευρήματα μιας έρευνας που πραγματοποιήθηκε στην Αυστραλία και παρουσιάζονται στον Πίνακα 7 [182].

Πίνακας 7. Παράμετροι των αιμοπεταλίων, οι οποίοι υπολογίστηκαν τη 1η, 2η, 5η και 7η μέρα αποθήκευσης σε ασκούς control και σε ασκούς που έχουν υποστεί αδρανοποίηση με το Intercept Blood System. Ως Χ.Α: Χωρίς αδρανοποίηση και Μ.Α: Με αδρανοποίηση.

| | 1 ^η μέρα | | 2 ^η μέρα | | 5 ^η μέρα | | 7 ^η μέρα | |
|--|---------------------|----------------|---------------------|----------------|---------------------|----------------|---------------------|----------------|
| | Χ.Α | Μ.Α | Χ.Α | Μ.Α | Χ.Α | Μ.Α | Χ.Α | Μ.Α |
| Αριθμός Αιμοπεταλίων (x10⁹/ μονάδα) | 334.5 ± 43.97 | 341.42 ± 40.02 | 319.35 ± 31.90 | 291.17 ± 29.73 | 303.46 ± 32.16 | 269.56 ± 25.45 | 286.50 ± 36.03 | 254.75 ± 25.12 |
| MPV (fL) | 5.35 ± 0.22 | 5.32 ± 0.23 | 5.58 ± 0.27 | 5.15 ± 0.19 | 5.33 ± 0.23 | 5.05 ± 0.16 | 5.28 ± 0.26 | 5.08 ± 0.23 |
| Βιώσιμα κύτταρα (%) | 99.02 ± 0.50 | 99.16 ± 0.44 | 98.18 ± 1.94 | 97.86 ± 2.52 | 98.44 ± 0.70 | 98.64 ± 0.43 | 98.68 ± 0.37 | 98.52 ± 0.44 |
| Απελευθέρωση LDH (%) | 3.37 ± 0.24 | 3.28 ± 0.23 | 3.68 ± 0.04 | 3.86 ± 0.24 | 3.98 ± 0.35 | 4.40 ± 0.21 | 3.94 ± 0.39 | 4.54 ± 0.46 |
| pH (22°C) | 7.17 ± 0.01 | 7.18 ± 0.02 | 7.22 ± 0.22 | 7.17 ± 0.02 | 7.28 ± 0.02 | 7.25 ± 0.02 | 7.29 ± 0.03 | 7.22 ± 0.02 |
| Διττανθρακικό (mmol L⁻¹) | 9.98 ± 0.13 | 10.08 ± 0.35 | 9.32 ± 0.24 | 7.93 ± 0.29 | 9.35 ± 0.23 | 6.95 ± 0.31 | 9.38 ± 0.42 | 6.27 ± 0.24 |
| ΑΤΡ (mol 10¹¹ αιμοπετάλια⁻¹) | 6.93 ± 0.62 | 6.15 ± 0.28 | 5.70 ± 0.33 | 4.75 ± 0.48 | 4.78 ± 0.51 | 4.23 ± 0.46 | 4.01 ± 0.21 | 3.29 ± 0.48 |
| pO₂ (mm Hg⁻¹) | 147.83 ± 8.91 | 148.50 ± 10.88 | 147.67 ± 8.14 | 153.67 ± 6.41 | 146.50 ± 11.43 | 149.50 ± 3.02 | 144.33 ± 5.61 | 147.33 ± 8.26 |
| pCO₂ (mm Hg⁻¹) | 32.98 ± 1.35 | 32.47 ± 2.70 | 25.72 ± 2.01 | 25.72 ± 1.59 | 20.43 ± 1.34 | 17.38 ± 0.76 | 20.15 ± 1.11 | 17.30 ± 0.89 |
| Αντίδραση υποτονικού shock (%) | 88.25 ± 4.97 | 79.53 ± 6.51 | 79.38 ± 2.49 | 79.77 ± 6.15 | 72.58 ± 2.20 | 69.97 ± 5.73 | 68.12 ± 8.52 | 61.66 ± 9.95 |

Από την ανάγνωση των στοιχείων του Πίνακα 7 μπορούν να παρατηρηθούν μεταβολές στους παράγοντες που απεικονίζονται σε αυτόν. Όλες οι μειώσεις/αυξήσεις που παρατηρούνται τείνουν να βρίσκονται σε παρόμοιες τιμές με αυτές των

μονάδων που χρησιμοποιούνται ως μάρτυρες. Όπως είναι αναμενόμενο με τη πάροδο του χρόνου αποθήκευσης αλλάζουν αρκετά οι τιμές. Ωστόσο η λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων μεταξύ αδρανοποιημένων και μη μονάδων, παραμένει εν δυνάμει ίδια. Τα δύο πιο αξιοσημείωτα ευρήματα της εν λόγω έρευνας είναι, πως αν και το pH διατηρήθηκε σε τιμές >6.4 (που αποτελεί και το κατώτατο αποδεκτό όριο [183]) η μείωση του ήταν ταχύτερη στα αδρανοποιημένα δείγματα σε σχέση με τους μάρτυρες, κάτι το οποίο παρατηρήθηκε και στο ATP.

Οι παράμετροι που σχετίζονται με την ενεργοποίηση, καθώς και με την απόπτωση/νέκρωση μπορούν να αξιολογηθούν με ποικίλες τεχνικές. Η εκάστοτε τεχνική επιφέρει διαφορετικές τιμές υπολογισμού, τα αποτελέσματα ωστόσο παραμένουν στο ίδιο μήκος κύματος κατά γενική ομολογία. Μια εκ των πιο αξιόπιστων αποτελεί η σήμανση των δεικτών της επιφάνειας των αιμοπεταλίων CD62P (P-σελεκτίνη), CD63, CD61, CD41a, CD42b με φθορίζοντα αντισώματα και ποσοτική ανίχνευση των φθορίζοντων συμπλεγμάτων με κυτταρομετρία ροής. Επίσης η φωσφατιδυλοσερίνη που αποτελεί δείκτη απόπτωσης μπορεί να ανιχνευθεί με σήμανση του συζεύγματος αννεξίνης-V [184]. Τα επίπεδα των CD63, CD61, CD41a, CD42b δεν εμφανίζουν κάποια ιδιαίτερη μεταβολή σε σχέση με μη αδρανοποιημένα με το Intercept αιμοπετάλια [182], ωστόσο το CD62P το οποίο ευθύνεται για την έκκριση α-κοκκίων από τα αιμοπετάλια [185] αυξάνεται με ταχύτερο ρυθμό ύστερα από αδρανοποίηση [186]. Επιπλέον η κασπάση 3 αλλά και η αννεξίνη-V, δύο δείκτες των οποίων η έκφραση αναδεικνύει την απόπτωση, δεν εμφάνισαν κάποια ιδιαίτερη μεταβολή που να συνιστά ότι το Intercept επιταχύνει την απόπτωση των αιμοπεταλίων [185].

Στη πιο πρόσφατη έρευνα που διεξήχθη στην Αυστρία διερευνήθηκε η ικανότητα των αδρανοποιημένων με το Intercept αιμοπεταλίων, να αντιμετωπίσουν σοβαρά αιμορραγικά επεισόδια. Οι ασθενείς στην πλειονότητα τους έπασχαν από αιματολογικές κακοήθειες όπως οξεία μυελοειδής λευχαιμία, οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία, πολλαπλούν μυέλωμα, λεμφώματα Hodgkin και μη Hodgkin καθώς και από διάφορες μορφές αναιμίας. Οι ερευνητές έπειτα από αξιολόγηση της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων με εφαρμογή θρομβοελαστογραφίας (μέθοδος αξιολόγησης της ικανότητας των αιμοπεταλίων να σχηματίσουν θρόμβο και να επιτύχουν αιμόσταση [187]), αλλά και με αξιολόγηση της επάρκειας των

αδρανοποιημένων αιμοπεταλίων να αναχαιτίσουν την αιμορραγία, κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι τα αιμοπετάλια που έχουν υποστεί επεξεργασία με το Intercept Blood System δεν υστερούν καθόλου στη κλινική πράξη σε σχέση με μη αδρανοποιημένα αιμοπετάλια [188].

Κεφάλαιο 3: Mirasol Pathogen Reduction Technology (PRT) System

Το Mirasol Pathogen Reduction Technology (PRT) System προέρχεται από την Terumo BCT, μια εταιρεία με έδρα το Lakewood, CA στις ΗΠΑ. Έλαβε πιστοποίηση CE τάξης IIb για την εφαρμογή του σε αιμοπετάλια και πλάσμα, το 2007 και το 2008 αντίστοιχα. Το 2015 έλαβε πιστοποίηση CE για την εφαρμογή του σε ασκούς ολικού αίματος [189]. Χρησιμοποιείται για την αδρανοποίηση παθογόνων σε αιμοπετάλια και πλάσμα που προέρχονται από τη διαδικασία αφαίρεσης ή από διαχωρισμό από ολικό αίμα, ενώ μπορεί να πραγματοποιηθεί αδρανοποίηση σε αιμοπετάλια τα οποία βρίσκονται σε Προσθετικό Διάλυμα Αιμοπεταλίων (PAS ή Platelet Additive Solution) [190]. Η εφαρμογή του Mirasol PRT System σε ολικό αίμα βρίσκεται στη φάση κλινικών δοκιμών, ενώ μέχρι σήμερα έχει πραγματοποιηθεί επιτυχώς μία κλινική δοκιμή τρίτου σταδίου στη Γκάνα για αδρανοποίηση ασκών ολικού αίματος με σκοπό την αδρανοποίηση του παθογόνου που προκαλεί την ελονοσία [191].

3.1.Περιγραφή του Mirasol PRT System

Το Mirasol PRT System αποτελείται από : 1) τη συσκευή ακτινοβολήσης , 2) το αναλώσιμο κιτ αδρανοποίησης, 3) το λογισμικό το οποίο αποκαλείται Mirasol Manager και 4) έναν ζυγό για τους ασκούς που πρόκειται να αδρανοποιηθούν [192].

1. **Συσκευή ακτινοβολήσης** : Είναι υπεύθυνη για την εκπομπή της UV ακτινοβολίας. Η ελάχιστη δόση ακτινοβολίας που εκπέμπεται στον ασκό ακτινοβολήσης ορίζεται στα 6.2J/mL [193]. Καθ' όλη τη διάρκεια της ακτινοβολήσης η συσκευή ελέγχει τη θερμοκρασία του παραγώγου που αδρανοποιείται , ενώ σε περίπτωση αύξησης της ενεργοποιείται ένας ειδικός

ανεμιστήρας ο οποίος αποσκοπεί στην μείωση της θερμοκρασίας σε επιτρεπτά για τη βιωσιμότητα του παραγώγου επίπεδα [194]. Η UV ακτινοβολία που εκπέμπει η συσκευή ακτινοβολήσης μπορεί να είναι UVB μήκους κύματος 280-315nm και UVA μήκους κύματος 315-400nm [195].

2. **Αναλώσιμο κιτ αδρανοποίησης** : Τα αναλώσιμα κιτ είναι διαφορετικά, αναλόγως με το παράγωγο που αδρανοποιείται κάθε φορά. Η διαφορά αυτή παρατηρείται στους τελικούς ασκούς μετά από τη διαδικασία αδρανοποίησης και αν αυτοί προορίζονται για αποθήκευση ή μετάγγιση [196]. Οι ασκός ακτινοβολήσης φτιάχνονται από βίο-συμβατά υλικά και ενώνονται με τον ασκό του αρχικού παραγώγου μέσω θερμοσυγκόλλησης. Το διάλυμα της ριβοφλαβίνης βρίσκεται εντός αδιαφανούς θήκης αλουμινίου, αφού η ριβοφλαβίνη είναι φωτοευαίσθητη. Η συνολική συγκέντρωση της ριβοφλαβίνης που εμπεριέχεται στο αναλώσιμο κιτ είναι 500μmol/L , διαλυμένη σε NaCl 0.9% με το συνολικό διάλυμα να έχει pH 4.0-5.0, το οποίο έχει διαμορφωθεί από τη παρουσία HCl. Στο αρχικό παράγωγο προστίθενται 35 ± 5 mL του παραπάνω διαλύματος, με σκοπό η τελική συγκέντρωση της ριβοφλαβίνης να είναι 50 mL [193].
3. **Λογισμικό Mirasol manager** : Είναι προαιρετικό και μέσω αυτού μπορεί να πραγματοποιηθεί επισκόπηση των στοιχείων του ασκού ακτινοβολήσης, καθώς και όλης της διαδικασίας αδρανοποίησης [196].
4. **Ζυγός** : Κατά την καταχώρηση των στοιχείων του παραγώγου στο λογισμικό Mirasol manager, πραγματοποιείται και μέτρηση του όγκου του παραγώγου. Μέσω αυτού καθορίζεται η συνολική ενέργεια της ακτινοβολίας που είναι απαραίτητη για την αποτελεσματική αδρανοποίηση του παραγώγου, αλλά και η διάρκεια αδρανοποίησης [193].



Εικόνα 11.Απεικόνιση του Mirasol PRT System, στο οποίο φαίνονται τα εξής τμήματα απο αριστερά προς τα δεξιά : α)αναλώσιμο κιτ αδρανοποίησης, β) ζυγός ασκού, γ) κύριος αναλυτής αδρανοποίησης και δ) υπολογιστής που φέρει το Mirasol Manager (η εικόνα προέρχεται απο την ιστοσελίδα της Terumo BCT, της εταιρίας κατασκευής του Mirasol PRT System [<https://www.terumobct.com/Mirasol>])

3.2.Πρωτόκολλο αδρανοποίησης του Mirasol PRT System

Το Mirasol PRT είναι σε θέση να αδρανοποιήσει τόσο αιμοπετάλια αλλά και πλάσμα, τα οποία έχουν παραχθεί/αποχωρισθεί με διάφορες μεθόδους. Τα αιμοπετάλια μπορεί να προέρχονται από αφαίρεση αιμοπεταλίων, από ολικό αίμα και επακόλουθο διαχωρισμό από τη λευκοκυτταρική στοιβάδα (BC PLT's) ή από πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια (PRP) , ενώ είναι εφικτή η αδρανοποίηση αιμοπεταλίων τα βρίσκονται εντός Προσθητικού Διαλύματος Αιμοπεταλίων (PAS). Όσον αφορά το πλάσμα, αδρανοποίηση μπορεί να πραγματοποιηθεί σε πλάσμα αφαίρεσης ή πλάσμα από διαχωρισμό ολικού αίματος και είναι ικανή η αδρανοποίηση ασκών FFP που έχουν ήδη καταψυχθεί. Στους Πίνακες 8 και 9 που ακολουθούν, αναγράφονται τα χαρακτηριστικά των ασκών αιμοπεταλίων και πλάσματος που μπορούν να αδρανοποιηθούν αντίστοιχα [190].

Πίνακας 8. Είδη αιμοπεταλιακών παραγώγων που μπορούν να αδρανοποιηθούν, μαζί με τα χαρακτηριστικά τους.

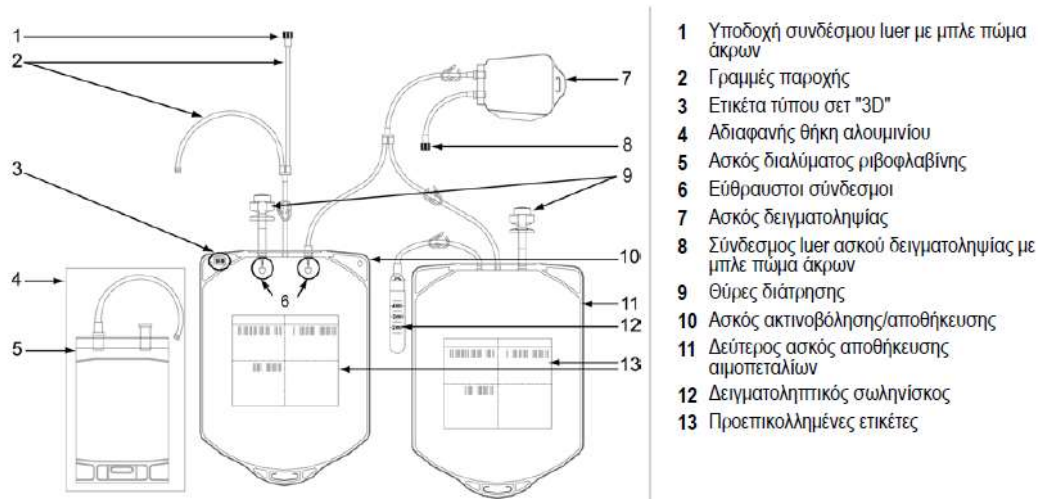
| Χαρακτηριστικά | Αιμοπετάλια σε πλάσμα | Αιμοπετάλια από διαχωρισμό πλάσματος | Αιμοπετάλια σε PAS |
|---|---|---|---|
| Πρόλευση Αιμοπεταλίων | Αφαίρεση ή διαχωρισμός αιμοπεταλίων από ολικό αίμα που εμπεριέχονται σε πλάσμα | Υπέρ-συμπυκνωμένα αιμοπετάλια διαχωρισμένα από πλάσμα | Αφαίρεση ή διαχωρισμός αιμοπεταλίων από ολικό αίμα και προσθήκη PAS |
| Παράθυρο αδρανοποίησης | Αιμοπετάλια αφαίρεσης :2-22 ώρες από τη συλλογή, Ολικό αίμα : <8 ώρες από το διαχωρισμό του παραγώγου | Αιμοπετάλια αφαίρεσης :2-22 ώρες από τη συλλογή | Αιμοπετάλια αφαίρεσης :2-22 ώρες από τη συλλογή, Ολικό αίμα : <8 ώρες από το διαχωρισμό του παραγώγου |
| Όγκος αιμοπεταλίων | 170-360 mL | 90-360 mL | 250-450 mL |
| Συγκέντρωση των αιμοπεταλίων προ αδρανοποίησης | 0.80-2.10 PLT's $\times 10^6/\mu\text{L}$ | 1.75-3.40 PLT's $\times 10^6/\mu\text{L}$ | 0.80-1.50 PLT's $\times 10^6/\mu\text{L}$ |
| Απόδοση αιμοπεταλίων | Μέχρι 7.5×10^{11} | Μέχρι 12.0×10^{11} | $2.4-6.75 \times 10^{11}$ |
| Συγκέντρωση αιμοπεταλίων που αποθηκεύεται | 0.70-2.10 PLT's $\times 10^6/\mu\text{L}$ | 0.70-1.50 PLT's $\times 10^6/\mu\text{L}$ μετά από προσθήκη PAS | 0.70-1.50 PLT's $\times 10^6/\mu\text{L}$ |

| | | | |
|----------------------------------|--|--|--|
| μετά την αδρανοποίηση | | | |
|----------------------------------|--|--|--|

Πίνακας 9.Χαρακτηριστικά ασκών πλάσματος και συνθήκες αποθήκευσης τους μετά απο την αδρανοποίηση.

| Χαρακτηριστικά | Αδρανοποίηση πλάσματος και συνθήκες αποθήκευσης |
|--|---|
| Προέλευση πλάσματος | Αφαίρεσης ή διαχωρισμός ολικού αίματος |
| Όγκος πλάσματος | 170-360 mL |
| Παράθυρο αδρανοποίησης | Πλάσμα αφαίρεσης : Αδρανοποίηση και ψύξη εντός 8 ωρών από τη συλλογή Πλάσμα από ολικό αίμα : Αδρανοποίηση και ψύξη εντός 6 ωρών από τη δημιουργία του παραγώγου Ήδη κατεψυγμένο πλάσμα : Αδρανοποίηση και ψύξη εντός 2 ωρών |
| Περίοδος αποθήκευσης FFP αδρανοποιημένου με Mirasol | Μέγιστος χρόνος αποθήκευσης : δύο χρόνια από την αρχική ημερομηνία συλλογής |

Τα κύρια βήματα αδρανοποίησης παραμένουν ίδια, με την μόνη διαφορά στην όλη διαδικασία να παρατηρείται κυρίως στους τελικούς ασκούς συλλογής. Ενδεικτικά παρατίθεται (Εικόνα 12) το αναλώσιμο κιτ αδρανοποίησης αιμοπεταλίων βάσει του οποίου θα περιγραφεί και το πρωτόκολλο αδρανοποίησης.



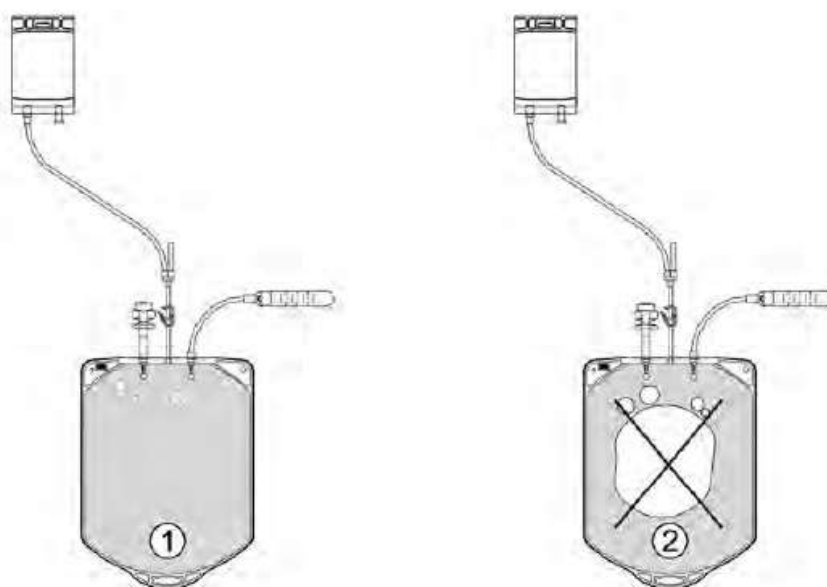
Εικόνα 12.Αναλώσιμο κιτ αδρανοποίησης αιμοπεταλίων, το οποίο αποτελείται από δεύτερο ασκό που προορίζεται για την αποθήκευση των αδρανοποιημένων αιμοπεταλίων (η εικόνα προέρχεται από το εγχειρίδιο χρήσης του Mirasol PRT System)

Το ακόλουθο πρωτόκολλο, αναγράφεται όπως πραγματοποιήθηκε στην μονάδα αιμοδοσίας του ΠΓΝ «Αττικών» και βάσει του εγχειριδίου χρήσης του Mirasol PRT System [197] :

1. Εκκίνηση της συσκευής ακτινοβόλησης του Mirasol PRT και βαθμονόμηση φωτός με χρήση ραδιόμετρου το οποίο παρέχεται από την εταιρεία παραγωγής του αναλυτή (Η βαθμονόμηση είναι απαραίτητη πριν από την έναρξη της αδρανοποίησης) .
2. Άνοιγμα του αναλώσιμου κιτ αδρανοποίησης , προσεκτική παρατήρηση των επί μέρους τμημάτων για τυχόν θραύσεις/ ανωμαλίες και κλείσιμο όλων των clip που υπάρχουν στις δύο γραμμές παροχής (σημείο 2).
3. Πραγματοποιείται θερμοσυγκόλληση του ασκού διαλύματος ριβοφλαβίνης (σημείο 5) με τη μικρή γραμμή παροχής (σημείο 2), ενώ ο ασκός των αιμοπεταλίων θερμοσυγκολλείται στη κορυφή της μεγάλης γραμμής παροχής (σημείο 1) . Αφού γίνει η συγκόλληση αφήνεται το διάλυμα ριβοφλαβίνης να εισρεύσει πλήρως στον ασκό ακτινοβόλησης (σημείο 10).
4. Αφού όλο το διάλυμα εισέλθει στον ασκό ακτινοβόλησης, με προσοχή πιέζεται ο ασκός ακτινοβόλησης ούτως ώστε ο αέρας που βρίσκεται εντός αυτού να κατευθυνθεί προς τον άδειο ασκό ριβοφλαβίνης. Επιτρέπεται λίγο από το διάλυμα να ανέβει στη γραμμή παροχής σε απόσταση περίπου 2 cm

και πραγματοποιείται θερμοσυγκόλληση και απόρριψη του αρχικού ασκού ριβοφλαβίνης.

5. Στη συνέχεια ανοίγεται η σύνδεση του ασκού των αιμοπεταλίων και επιτρέπεται στα αιμοπετάλια να εισέλθουν στον ασκό ακτινοβόλησης όπου βρίσκεται το διάλυμα ριβοφλαβίνης. Αφού αδειάσει ο ασκός των αιμοπεταλίων, αφαιρείται ο περίσσιος αέρας με προσοχή από τον ασκό, πραγματοποιείται θερμοσυγκόλληση και αφαιρείται ο ασκός των αιμοπεταλίων.



Εικόνα 13. Στο σημείο 1 παρουσιάζεται η σωστή μακροσκοπική εικόνα του ασκού πριν την αδρανοποίηση, ενώ στο σημείο 2 παρουσιάζεται η λανθασμένη μακροσκοπική εικόνα του ασκού με περίσσεια ποσότητα αέρα (η εικόνα προέρχεται από το εγχειρίδιο χρήσης του Mirasol PRT System)

6. Επάνω στον ασκό ακτινοβόλησης επικολλείται barcode (σημείο 13) του παραγώγου που θα αδρανοποιηθεί και σημειώνεται η απόδοση των αιμοπεταλίων (αιμοπετάλια x 10^{11}).
7. Μεταφέρεται το κιτ στον αναλυτή του Mirasol και μέσω των scanner που διαθέτει ο αναλυτής, πραγματοποιείται σάρωση του barcode του αρχικού ασκού για να καταχωρηθεί στο λογισμικό του αναλυτή. Στη συνέχεια σαρώνεται ο ασκός ακτινοβόλησης μέσω του ειδικού barcode που φέρει

(σημείο 3) και ακολουθεί ζύγιση του ασκού για καταχώρηση του συνολικού όγκου που επρόκειτο να αδρανοποιηθεί.

8. Πραγματοποιείται τοποθέτηση του ασκού ακτινοβόλησης με προσοχή στον δίσκο ακτινοβόλησης, όπως φαίνεται στην Εικόνα 14.



Εικόνα 14. Σωστή τοποθέτηση του ασκού ακτινοβόλησης εντός του αναλυτή του Mirasol PRT System (η εικόνα προέρχεται από τη πραγματοποίηση πρωτοκόλλου αδρανοποίησης αιμοπεταλίων στη μονάδα αιμοδοσίας του ΠΓΝ "Αττικόν")

9. Κατά την τοποθέτηση πρέπει ο ασκός ακτινοβόλησης να ασφαλίσει καλά, καθώς και να μη παρεμβάλλεται κανένας σωληνίσκος στην περιοχή ακτινοβόλησης.

10. Αφού εξασφαλιστεί πως έγινε σωστή τοποθέτηση, κλείνει ο δίσκος ακτινοβολήσης και ξεκινά η αδρανοποίηση. Ο χρόνος της αδρανοποίησης εξαρτάται από τον όγκο του εκάστοτε παραγώγου.
11. Μετά από την ολοκλήρωση του παραγώγου ακολουθεί σήμανση και έλεγχος του ασκού που έχει αδρανοποιηθεί, σύμφωνα με την πρακτική που έχει υιοθετήσει το εκάστοτε εργαστήριο και ακολουθεί αποθήκευση ή μετάγγιση.

3.3.Αδρανοποίηση παθογόνων με το Mirasol PRT System

Το εν λόγω σύστημα αδρανοποίησης είναι αποτελεσματικό έναντι ενός μεγάλου εύρους ιών (περιβαλλόμενοι και μη από πυρηνικό φάκελο), βακτηριών (gram θετικών και αρνητικών), καθώς και παρασίτων [133]. Επιπλέον, η επεξεργασία παραγώγων αίματος με το Mirasol PRT μπορεί να χρησιμοποιηθεί αντί της ακτινοβολήσης, για την πρόληψη της συνδεόμενης με μετάγγιση νόσου μοσχεύματος εναντίον ξενιστή (TA-GvHD) [198].

Το Mirasol PRT System επιτελεί αδρανοποίηση παθογόνων με χρήση φωτόευαίσθητης ριβοφλαβίνης (μορφή υδατοδιαλυτής βιταμίνης B2), υπο την επίδραση των υπεριωδών ακτινοβολιών UVA/UVB σε μήκος κύματος 270-360 nm [199]. Ο συνδυασμός της ριβοφλαβίνης με την υπεριώδη ακτινοβολία , οδηγούν σε αλληλεπίδραση της πρώτης με τα νουκλεϊκά οξέα των παθογόνων οδηγώντας σε βιοχημικές μεταβολές τους μέσω εξαρτωμένων και μη από οξυγόνο διαδικασιών [194]. Οι μεταβολές αυτές σχηματίζουν ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, οι οποίες προκαλούν μη αναστρέψιμη βλάβη στα νουκλεϊκά οξέα των παθογόνων και επιφέρουν την αδρανοποίηση τους [170].

Στον Πίνακα 10 που ακολουθεί παρατίθενται οι ιοί και τα παράσιτα που αδρανοποιούνται επιτυχώς από το Mirasol PRT μαζί με τη λογαριθμική μείωση/ ml που παρατηρείται [195], ενώ στον Πίνακα 11 παρουσιάζονται τα βακτήρια που αδρανοποιούνται με το ποσοστό αποτελεσματικότητας του Mirasol PRT [200] :

Πίνακας 10.Ιοί και παράσιτα που αδρανοποιούνται μέσω του Mirasol PRT System, καθώς και η λογαριθμική μείωση που εμφανίζουν.

| Παθογόνος Μικροοργανισμός | Λογαριθμική μείωση/ ml |
|---------------------------|------------------------|
|---------------------------|------------------------|

| | |
|------------------------------|-------|
| Ιοί με φάκελο | |
| HIV | 4.5 |
| WNV | ≥ 5.1 |
| HCV | 3.2 |
| HBV | 2.5 |
| Influenza Virus | ≥ 5.0 |
| CMV | 2.1 |
| Chikungunya Virus | 2.1 |
| Ιός της λύσσας (VSV) | ≥ 6.3 |
| Ιοί χωρίς φάκελο | |
| HAV | 1.8 |
| Parvovirus B19 | ≥ 5.0 |
| Παράσιτα | |
| <i>Plasmodium Falciparum</i> | ≥ 3.2 |
| <i>Leishmania donovani</i> | ≥ 4.0 |
| <i>Trypanosoma cruzi</i> | ≥ 5.0 |
| <i>Babesia microti</i> | ≥ 4.0 |
| <i>Orieta tsutsugamushi</i> | ≥ 5.0 |

Πίνακας 11. Βακτήρια που αδρανοποιούνται από το συνδυασμό ριβοφλαβίνης και UVA ακτινοβολίας, ο τύπος τους και η αποτελεσματικότητα του Mirasol PRT System ως προς την αδρανοποίησή τους.

| Βακτήριο | Τύπος | Αποτελεσματικότητα αδρανοποίησης (%) |
|-----------------------------------|---------------|---|
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> | Gram-θετικό | 100 |
| <i>Escherichia coli</i> | Gram-αρνητικό | 100 |
| <i>Bacillus cereus</i> | Gram-θετικό | 100 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | Gram-θετικό | 90 |
| <i>Streptococcus agalactiae</i> | Gram-θετικό | 100 |
| <i>Streptococcus mitis</i> | Gram-θετικό | 100 |
| <i>Streptococcus pyogenes</i> | Gram-θετικό | 100 |
| <i>Enterobacter cloacae</i> | Gram-αρνητικό | 100 |

| | | |
|--------------------------------|---------------|-----|
| <i>Propionibacterium acnes</i> | Gram-θετικό | 100 |
| <i>Serratia marcescens</i> | Gram-αρνητικό | 100 |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | Gram-αρνητικό | 100 |
| <i>Acinetobacter baumannii</i> | Gram-αρνητικό | 66 |
| <i>Yersinia enterocolitica</i> | Gram-αρνητικό | 100 |
| Συνολική | | 98 |
| Αποτελεσματικότητα (%) | | |

3.4. Ριβοφλαβίνη

Η ριβοφλαβίνη (ή αλλιώς υδατοδιαλυτή βιταμίνη Β2) είναι ιδιαίτερης σημασίας για τον άνθρωπο. Είναι παρούσα σε αρκετούς αερόβιους οργανισμούς και αποτελεί συστατικό αρκετών τροφίμων όπως το γάλα, τα αυγά, η μπύρα, η μαγιά και ορισμένα λαχανικά. Είναι πρόδρομη μορφή της μόνο-νουκλεοτιδικής φλαβίνης (FMN ή flavin mononucleotide) και του δινουκλεοτιδίου φλαβίνης-αδενίνης (flavin adenine dinucleotide). Αμφότερα τα παραπάνω συνένζυμα, συμμετέχουν σε αρκετές διαδικασίες μεταφοράς ηλεκτρονίων στον ανθρώπινο οργανισμό [194].

Η επιλογή της ριβοφλαβίνης ως δραστική ουσία για την αδρανοποίηση παθογόνων προέρχεται από την ενδελεχή μελέτη της εδώ και αρκετές δεκαετίες [201], καθώς και από το γεγονός ότι αποτελεί ένα ιδιαίτερα θρεπτικό συστατικό [193]. Έχει ένα ιδιαίτερα ασφαλές κλινικό «προφίλ» [193] και έχει λάβει τον χαρακτηρισμό «Γενικώς Αναγνωρισμένο ως Ασφαλές» (GRAS ή Generally Recognized as Safe) από το Υπουργείο Γεωργίας των Ηνωμένων Πολιτειών (USDA) [203]. Θεωρείται ασφαλής για χορήγηση στην ιατρική πράξη, δια μέσου της στοματικής οδού ως διατροφικό συμπλήρωμα [193], είτε μέσω ενέσιμης χορήγησης ενδοφλέβια ή ενδομυϊκά [202] σε περιπτώσεις ανεπάρκειας της [193]. Μία από τις πιο γνωστές εφαρμογές της ριβοφλαβίνης στην κλινική πράξη, αποτελεί η χορήγηση της σε υψηλές δόσεις σε νεογνά που εμφανίζουν υπερχολερυθριναιμία [137].

Το μόριο της ριβοφλαβίνης φέρει δομή επίπεδου συζευγμένου δακτυλίου, με μία πλευρική αλυσίδα σακχάρου η οποία προσδίδει στη ριβοφλαβίνη αυξημένη υδατοδιαλυτότητα. Το επίπεδο τμήμα του μορίου είναι εκείνο το οποίο παρεμβάλλεται μεταξύ των βάσεων του DNA ή RNA του παθογόνου μικροοργανισμού και έπειτα από την ενεργοποίηση με χρήση UV ακτινοβολίας

προκαλεί οξείδωση των νουκλεϊκών οξέων των παθογόνων, αποτρέποντας των πολλαπλασιασμό τους [203].

3.5.Μηχανισμός δράσης ριβοφλαβίνης

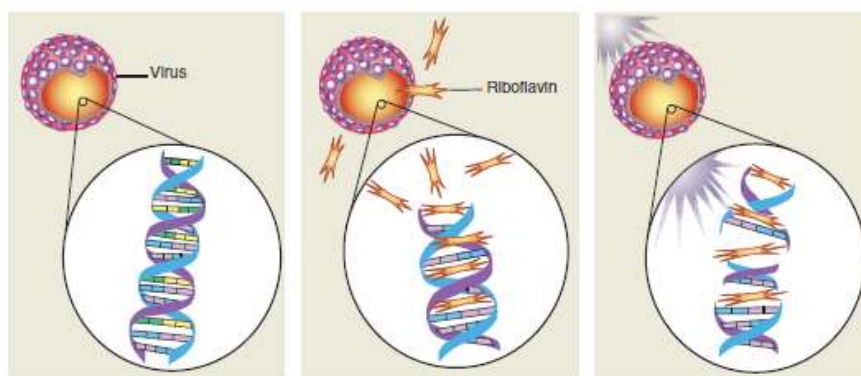
Ο μηχανισμός δράσης της ριβοφλαβίνης στηρίζεται στην επιλεκτική πρόσδεση της στα νουκλεϊκά οξέα των παθογόνων μικροοργανισμών [194], χωρίς ωστόσο να προσδέεται σε πρωτεΐνες ή άλλα κύτταρα [195]. Η αδρανοποίηση είναι δυνατόν να επιτευχθεί μέσω δύο διαφορετικών φωτοχημικών αντιδράσεων :

- Τύπου I φωτοχημική αντίδραση , στην οποία συμμετέχουν η ριβοφλαβίνη και ένα βιολογικό υπόστρωμα. Στη προκειμένη περίπτωση ως βιολογικό υπόστρωμα θεωρούνται τα νουκλεϊκά οξέα των παθογόνων, στα οποία προσδέεται η ριβοφλαβίνη και παρεμβάλλεται στο γονιδίωμα των οργανισμών που πρόκειται να αδρανοποιηθούν [135]. Η ριβοφλαβίνη στοχεύει τα νουκλεϊκά οξέα δημιουργώντας ομοιοπολικές διασταυρούμενες συνδέσεις και πραγματοποιείται μεταφορά ηλεκτρονίων ή αφαίρεση υδρογόνου και ακόλουθη αλληλεπίδραση αυτών με μοριακό οξυγόνο με σκοπό τον σχηματισμό Δραστικών Ειδών Οξυγόνου (ROS ή Reactive Oxygen Species) , όπως το υπεροξειδίου του υδρογόνου και ρίζες υδροξυλίου [204]. Η μεταφορά ηλεκτρονίων τροποποιεί τα νουκλεϊκά οξέα, κυρίως βάσεις γουανίνης [195] στις οποίες προκαλείται μη αναστρέψιμη βλάβη, εμποδίζοντας τις διαδικασίες πολλαπλασιασμού και επιδιόρθωσης του παθογόνου [205].
- Τύπου II φωτοχημική αντίδραση , κατά την οποία είναι απαραίτητη η παρουσία οξυγόνου . Σε αυτού του είδους την αντίδραση, η ενεργοποιημένη από την UV ακτινοβολία ριβοφλαβίνη μεταφέρει ενέργεια στα μόρια οξυγόνου με αποτέλεσμα τη δημιουργία δραστικών μορίων οξυγόνου [204]. Τα μόρια αυτά επιφέρουν ισχυρή οξειδωτική δράση [203], οξειδώνοντας τις

βάσεις γουανίνης και επιφέρουν θραύση του γονιδιώματος των παθογόνων [206].

Ο αριθμός των βλαβών που δημιουργεί η ριβοφλαβίνη, πραγματοποιείται με συχνότητα 1 βλάβη / 300 ζεύγη βάσεων [207]. Στον μιτοχονδριακό DNA ωστόσο η βλάβη των νουκλεϊκών οξέων είναι μικρότερη [195]. Επίσης, η ικανότητα της ριβοφλαβίνης να αδρανοποιήσει παθογόνα σχετίζεται και από την απορρόφηση από το υδατικό μέσο στο οποίο είναι διαλυμένη. Σε μήκος κύματος που κυμαίνεται στα 310-320nm , η απορρόφηση της ριβοφλαβίνης από το νερό είναι μειωμένη με αποτέλεσμα την ισχυρότερη αδρανοποίηση των ιών [208].

Η μέγιστη δράση της ριβοφλαβίνης παρατηρείται σε μήκη κύματος του ορατού φάσματος φως, για το λόγο αυτό η ακτινοβολία της πραγματοποιείται με UVB ακτινοβολία μήκους κύματος 280-315nm ή UVA ακτινοβολία μήκους κύματος 315-400nm. Το μέγιστο μήκος κύματος που χρησιμοποιεί το Mirasol PRT System για την αδρανοποίηση των παθογόνων στελεχών αποσκοπεί στην επιλεκτική δράση της ριβοφλαβίνης μόνο ενάντια στα νουκλεϊκά τους οξέα, για αυτό το λόγο δεν παρατηρείται απορρόφηση ακτινοβολίας από τα FMN, FAD και κυτόχρωμα C τα οποία είναι σημαντικά στη διατήρηση της λειτουργικότητας και ενεργότητας των μιτοχονδρίων [195].



Εικόνα 15.Μηχανισμός δράσης της ριβοφλαβίνης κατά την αδρανοποίηση παθογόνων μικροοργανισμών (Ανατύπωση απο [206])

3.6.Τοξικές επιδράσεις της ριβοφλαβίνης

Η ριβοφλαβίνη κατά την ακτινοβόληση της διασπάται στην ουσία lumichrome (LC), στη 4'-κετο-ριβοφλαβίνη , στη 2'-κετο-ριβοφλαβίνη και στη φόρμυλο-μέθυλο-φλαβίνη [193]. Οι ουσίες αυτές αποτελούν φυσιολογικούς μεταβολίτες της ριβοφλαβίνης και έχουν ανιχνευθεί σε μη αδρανοποιημένα παράγωγα σε χαμηλές συγκεντρώσεις [201]. Το γεγονός ότι αυτοί οι μεταβολίτες συναντώνται φυσιολογικά στον ανθρώπινο οργανισμό, ενισχύουν τον ισχυρισμό ότι η αδρανοποίηση με χρήση της ριβοφλαβίνης δεν είναι επιζήμια μιας και εισάγονται στον οργανισμό «οικεία» ως προς αυτόν στοιχεία [195].

Κλινικά η ριβοφλαβίνη χρησιμοποιείται ιδιαίτερα συχνά για την αντιμετώπιση του νεογνικού ίκτερου, όπου παρουσιάζεται προσωρινή ανεπάρκεια της λόγω επικάλυψης του φάσματος φωτός της ριβοφλαβίνης και της χολερυθρίνης [209-210]. Λόγω της εκτεταμένης χρήσης της σε νεογνά έχουν πραγματοποιηθεί αρκετές έρευνες για την επίδραση της στον οργανισμό τους. Στην πιο αξιολογημένη από αυτές, η οποία πραγματοποιήθηκε σε 55.000 νεογνά σε βάθος εννέα ετών δε βρέθηκε κάποιο ίχνος τοξικότητας ή επιζήμιας επίδρασης της ριβοφλαβίνης στα νεογνά [211].

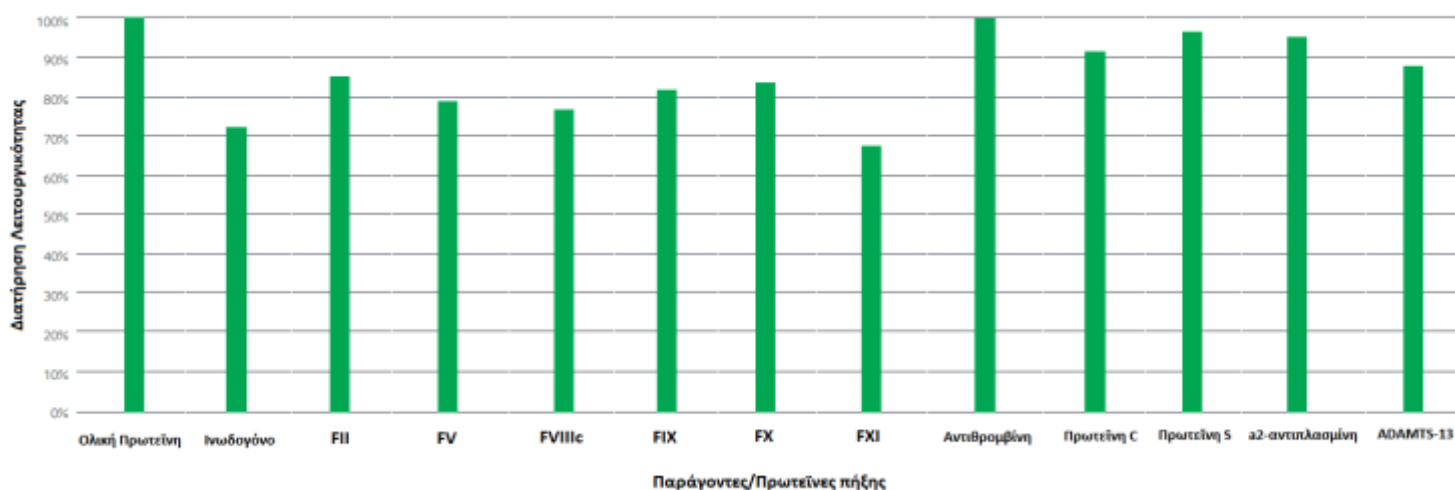
Το μέγιστο μη τοξικό επίπεδο της ριβοφλαβίνης στη κυκλοφορία του αίματος ακόμα παραμένει άγνωστο. Αρκετές έρευνες έχουν ελέγξει την επίδραση της ριβοφλαβίνης στην εμβρυϊκή ανάπτυξη, τη γονοτοξικότητα της και την κυτταροτοξικότητα της ύστερα από χορήγηση παραγώγων που έχουν αδρανοποιηθεί με το Mirasol PRT ή μετά απο χορήγηση υψηλών επιπέδων lumichrome, χωρίς ωστόσο κάποιο εύρημα [195]. Επιπλέον, έλεγχοι ως προς την οξεία και χρόνια συστηματική τοξικότητα της ριβοφλαβίνης αλλά και το σχηματισμό νέο-αντιγονικότητας ήταν αρνητικοί [212]. Άξια αναφοράς είναι μια έρευνα η οποία είχε ως επίκεντρο την επίδραση παραγώγων που έχουν αδρανοποιηθεί με ριβοφλαβίνη στην πρόκληση του συνδρόμου TRALI σε ποντικούς. Η αξιολόγηση της πραγματοποιήθηκε με έλεγχο του μοντέλου « δύο χτυπημάτων» *in vivo* , χωρίς να ανιχνευθεί αύξηση της συχνότητας του συνδρόμου σε σχέση με μη αδρανοποιημένα παράγωγα [213].

Πέρα από τους παραπάνω τέσσερις μεταβολίτες που αναφέρθηκαν, η ριβοφλαβίνη σε αλκαλικά υδάτινα διαλύματα μπορεί να διασπαστεί σε λουμιφλαβίνη [194]. Η λουμιφλαβίνη δεν εμφανίζει κάποιο ίχνος γενικευμένης

τοξικότητας ή γονοτοξικότητας. Παρόλα αυτά σε έκθεση της λουμιφλαβίνης σε μεταβολικά ένζυμα που παρατηρούνται στο κόλον και στο ήπαρ, παρατηρήθηκε αυξημένη μεταλλαξιόγόνος δράση [214]. Ακόμα δεν έχει καταγραφεί κάποιο ίχνος μεταλλαξιόγόνου δράσης της λουμιφλαβίνης στο αίμα ή σε παράγωγα του [135].

3.7.Επιπτώσεις του Mirasol PRT System στο πλάσμα

Το πλάσμα καθώς και παράγωγα που μπορούν να προέλθουν από αυτό (FFP, κρουοκαθίζημα κλπ) , είναι απαραίτητα στην θεραπεία ασθενών με διαταραχές της πήξης. Για αυτόν τον λόγο, έχει ιδιαίτερη σημασία οι παράγοντες και οι πρωτεΐνες πήξης που εμπεριέχονται στο πλάσμα να διατηρούν όσο το δυνατόν τη λειτουργικότητά τους. Η διαδικασία της αδρανοποίησης του πλάσματος με το Mirasol PRT System επιφέρει μερικές μειώσεις στους παράγοντες πήξης [195], οι οποίες παρουσιάζονται στην Εικόνα 16 μαζί με το ποσοστό διατήρησής τους [215-216].



Εικόνα 16.Διάγραμμα διατήρησης του ποσοστού λειτουργικότητας παραγόντων και πρωτεϊνών πήξης του πλάσματος, ύστερα από εφαρμογή του Mirasol PRT System.

Όπως φαίνεται και στην Εικόνα 16, η ολική πρωτεΐνη διατηρεί σχεδόν ακέραια τη λειτουργικότητά της, κάτι το οποίο παρατηρείται και στην αντιθρομβίνη. Οι περισσότεροι παράγοντες πήξης διατηρούν τη λειτουργικότητά τους σε επίπεδα παρόμοια με τα αρχικά τους, ενώ τόσο η πρωτεΐνη C αλλά και η πρωτεΐνη S διατηρούν 96% της λειτουργικότητάς τους [216]. Οι μεγαλύτερες μειώσεις

παρατηρούνται στους παράγοντες FVIIIc, FV και στο ινωδογόνο , ωστόσο τα επίπεδα τους κυμαίνονται εντός των αποδεκτών ορίων του Συμβουλίου της Ευρώπης (CoE ή Council of Europe)[217]. Τα παραπάνω ευρήματα, βρίσκονται στο ίδιο μήκος κύματος και με άλλες έρευνες οι οποίες έχουν αναδείξει πτώση της λειτουργικότητας του FVIIIc και του ινωδογόνου κατά 14-15% [218], με τη λειτουργικότητα των FVIIIc και FV να διατηρείται σε ποσοστά 75% και 73% αντίστοιχα [219-220]. Αν και παρατηρούνται σημαντικές μειώσεις της λειτουργικότητας των παραγόντων αυτών, οι τιμές τους παραμένουν πάντα εντός των αποδεκτών ορίων του CoE. Όσον αφορά τις αντιπηκτικές και ανασταλτικές πρωτεΐνες τα ποσοστά τους διατηρούνται σε πολύ καλά επίπεδα, χωρίς να επηρεάζονται ιδιαίτερα από το Mirasol PRT System [221].

Ο παράγοντας vWF , κατά κύριο λόγο παραμένει ανεπηρέαστος από την αδρανοποίηση με χρήση ριβοφλαβίνης στη πλειοψηφία των ερευνών που έχουν πραγματοποιηθεί [218-219], ενώ ελάχιστες έρευνες αναφέρουν μειώσεις των οποίων τα ποσοστά μπορούν να θεωρηθούν αμελητέα [221]. Επίσης, μικρή μείωση της λειτουργικότητας παρατηρείται και στα πολυμερή υψηλού μοριακού βάρους του συμπλέγματος vWF [219].

Το κρυοκαθίζημα φέρει το μεγαλύτερο ποσοστό των παραγόντων VII, vWF, XIII του ινωδογόνου και της φιβρονεκτίνης. Ασκοί κρυοκαθιζήματος που έχουν προέλθει από πλάσμα που έχει αδρανοποιηθεί με το Mirasol PRT, διαθέτουν όλους τους προαναφερθέντες παράγοντες σε επίπεδα πλήρως αποδεκτά με το CoE [195].

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν δύο μελέτες οι οποίες διερεύνησαν τη διατήρηση της λειτουργικότητας των παραγόντων και πρωτεϊνών πήξης σε αδρανοποιημένους ασκούς FFP, μετά από αποθήκευση τους στους -30°C για δύο χρόνια [222-223]. Οι δύο αυτές μελέτες επικεντρώθηκαν στους παράγοντες που έχουν αναφερθεί και προηγουμένως, ενώ η μία εξ αυτών διερεύνησε τις διαφορές στις πρωτεΐνες του συμπληρώματος και σε ανοσοσφαιρίνες αδρανοποιημένου FFP μετά από ψύξη 16 μηνών [223]. Οι Πίνακες 12 και 13 που ακολουθούν απεικονίζουν τα αποτελέσματα των μελετών.

Πίνακας 12. Διατήρηση λειτουργικότητας παραγόντων και πρωτεϊνών πήξης πλάσματος, σε ασκό αδρανοποιημένου FFP που έχει αποθηκευθεί στους -30 °C για 2 χρόνια

| Πρωτεΐνη | Διατήρηση λειτουργικότητας (%) |
|-------------------------|--------------------------------|
| Ολική πρωτεΐνη (g/L) | 105 ± 5 |
| Ινωδογόνο (mg/dL) | 74 ± 6 |
| FII (IU/mL) | 89 ± 10 |
| FV (IU/mL) | 70 ± 8 |
| FVII (IU/mL) | 65 ± 9 |
| FVIIIc (IU/mL) | 80 ± 8 |
| FIX (IU/mL) | 79 ± 24 |
| FX (IU/mL) | 78 ± 9 |
| FXI (IU/mL) | 53 ± 10 |
| FXII (IU/mL) | 81 ± 12 |
| Αντιθρομβίνη (IU/mL) | 100 ± 6 |
| ΠρωτεΐνηC (IU/mL) | 86 ± 4 |
| Πρωτεΐνη S (IU/mL) | 93 ± 12 |
| A2-αντιπλασμίνη (IU/mL) | 85 ± 7 |
| Πλασμινολυσίνη (IU/mL) | 94 ± 6 |

Πίνακας 13. Τιμές πρωτεϊνών συμπληρώματος και ανοσοσφαιρινών που προέρχονται από αδρανοποιημένο FFP, το οποίο έχει αποθηκευθεί στους -30 °C για 16 μήνες. Οι τιμές αυτές παρουσιάζονται σε αντιδιαστολή με τιμές ασκών FFP που δρουν ως μάρτυρες.

| Πρωτεΐνη | Control FFP | FFP αδρανοποιημένο με το Mirasol PRT System |
|--------------------------------|-------------|---|
| C3a (ng/dl) | 3534 ± 1118 | 3217 ± 1019 |
| C5a (ng/dl) | 7.2 ± 3.8 | 8.8 ± 4.3 |
| C1 αντιγόνο αναστολέας (mg/ml) | 11.2 ± 1.2 | 9.0 ± 0.8 |
| CH50 (U/mL) | 167 ± 34 | 102 ± 35 |
| Ολική IgG (mg/dl) | 831 ± 201 | 689 ± 164 |
| IgG ₁ (mg/dl) | 483 ± 105 | 369 ± 90 |
| IgG ₂ (mg/dl) | 279 ± 81 | 275 ± 92 |
| IgG ₃ (mg/dl) | 31 ± 11 | 26 ± 9 |
| IgG ₄ (mg/dl) | 24 ± 17 | 21 ± 18 |
| IgM (mg/dl) | 74 ± 41 | 57 ± 35 |

Στον Πίνακα 12 είναι εμφανές ότι η πλειοψηφία των παραγόντων διατήρησε σε ικανοποιητικά επίπεδα τη λειτουργικότητά τους. Ακόμα και ο παράγοντας FVIIIc κυμάνθηκε σε πολύ καλό ποσοστό, κάτι το οποίο όμως δεν ισχύει για τους παράγοντες FVII και FXI των οποίων ωστόσο οι τιμές δεν εγείρουν ανησυχία [222]. Από τα αποτελέσματα του Πίνακα 13 φαίνεται ότι σε αντιπαράθεση με τις τιμές μαρτύρων που χρησιμοποιήθηκαν οι C3a, CH50 και το C1 αντιγόνο αναστολέας είχαν εμφανώς χαμηλότερες τιμές, κάτι το οποίο είναι σύμφωνο με προγενέστερη μελέτη [193].

3.8.Επιπτώσεις του Mirasol PRT System στα αιμοπετάλια

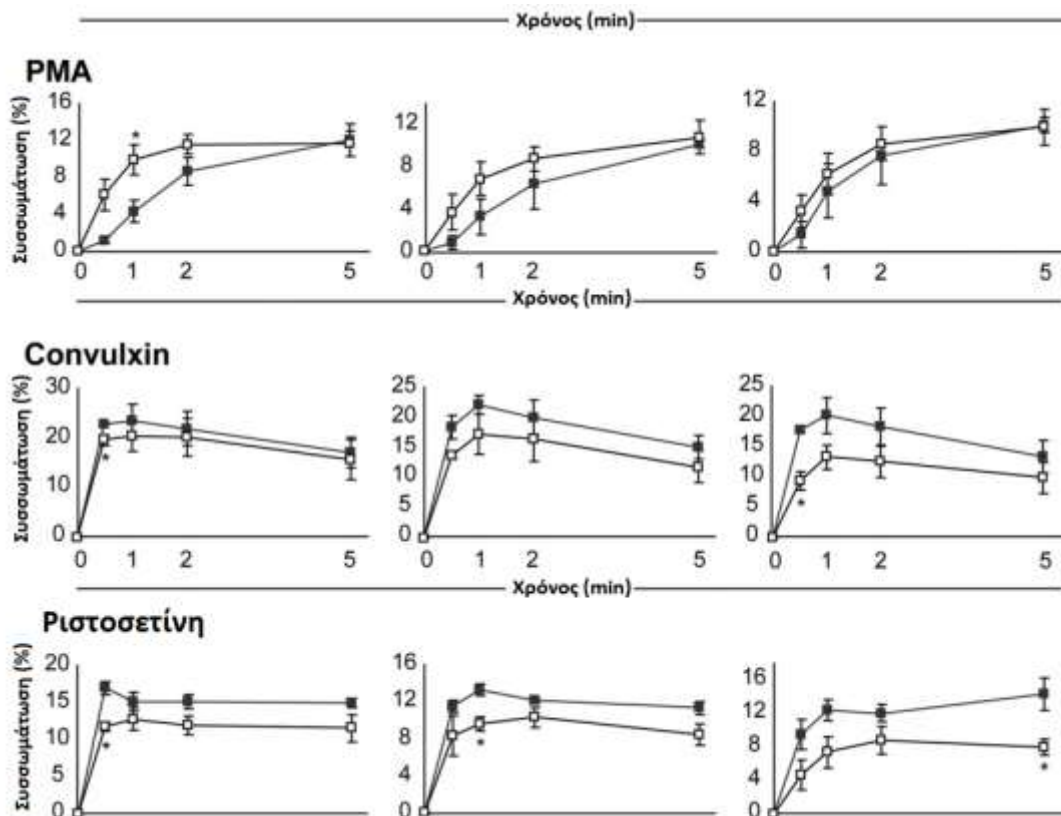
Τα αιμοπετάλια διαθέτουν ένα σύνολο ενδοκυττάρων αλλά και εξοκυττάρων χαρακτηριστικών, των οποίων η διατήρηση είναι αναγκαία για τη θεραπευτική τους λειτουργία. Συνεπώς, η διερεύνηση των επιπτώσεων που έχει το Mirasol PRT System στα αιμοπετάλια είναι μεγαλύτερη συγκριτικά με αυτή του πλάσματος. Η ανίχνευση των επιπτώσεων που απαντώνται στα εκάστοτε χαρακτηριστικά, μπορεί να πραγματοποιηθεί κυρίως με εφαρμογή της κυτταρομετρίας ροής και με τη σήμανση τους με φθορίζοντα αντισώματα.

3.8.1.Υπερδραστικότητα αιμοπεταλίων

Σε ασκούς αιμοπεταλίων που έχουν αδρανοποιηθεί με ριβοφλαβίνη και UV ακτινοβολία, παρατηρείται αυξημένο ποσοστό CD62-P θετικών αιμοπεταλίων (P-σελεκτίνη) [224] και της ακέραιας λυσοσωμικής πρωτεΐνης της μεμβράνης των αιμοπεταλίων (LIMP ή Lysosomal integral membrane protein) [225]. Πρόκειται για δείκτες ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων και η αύξηση τους τείνει να εξαρτάται από τη δόση ακτινοβολίας που δέχονται τα αιμοπετάλια, μιας και η αύξηση τους είναι ιδιαίτερως μεγαλύτερη σε δόση 12.3 J/mL παρά σε 6.2 J/mL [225]. Αύξηση ωστόσο παρατηρείται στην $\alpha_{IIb}\beta_3$ ιντεγκρίνη (CD41 και CD61) στο CD42b (υποδοχέας του παράγοντα vWF) [224] και στη φμπρονεκτίνη [225], ιδίως κατά τη πάροδο της αποθήκευσης των αδρανοποιημένων αιμοπεταλίων και μετά το πέρας της πέμπτης

ημέρας αποθήκευσης. Τα παραπάνω συνεπάγονται αναδιάταξη των μορίων υποδοχέων της μεμβράνης των αιμοπεταλίων, λόγω απώλειας της βασικής κοκκίωσης τους [224].

Τα αδρανοποιημένα με Mirasol αιμοπετάλια εμφανίζουν αυθόρμητη συσσώρευση, ενώ στη προσθήκη αγωνιστή PMA (προσδέεται και ενεργοποιεί την ιντεγκρίνη $\alpha_{IIb}\beta_3$) εμφάνισαν υπερβολική δραστηριότητα ήδη από τη τρίτη ημέρα αποθήκευσης. Η ικανότητα συσσώρευσης σε χρήση conulxin (Τύπου C πρωτεΐνη που μοιάζει με λεκτίνη) , που προσδέεται και ενεργοποιεί τη γλυκοπρωτεΐνη GPVI, ήταν αρκετά χαμηλή. Το ίδιο φαινόμενο παρατηρείται και με τη χρήση ριστοσεΐνης, η οποία υποκινεί τη πρόσδεση του vWF στις γλυκοπρωτεΐνες GPIb-IX-V. Συνολικά, η εξαρτώμενη από ιντεγκρίνη υπερδραστικότητα παρατηρείται στα αδρανοποιημένα αιμοπετάλια κατά τις πρώτες ημέρες αποθήκευσης τους, ενώ η συσσώρευση που εξαρτάται από τον υποδοχέα του vWF και από τη γλυκοπρωτεΐνη GPVI μειώνεται κατά την αποθήκευση [224].



Εικόνα 17. Αποτελέσματα συσώρευσης αιμοπεταλίων ύστερα απο εφαρμογή κυτταρομετρίας ροής. Η συσώρευση ελέγχθηκε βάσει ανταπόκρισης στην παρουσία αγωνιστών PMA, convalxin και ριστοσετίνη. Παρατηρούνται σημαντικές διαφορές μεταξύ αιμοπεταλίων που έχουν αδρανοποιηθεί με το Mirasol PRT System (□) και με μη αδρανοποιημένα αιμοπετάλια control (■) (Ανατύπωση από [224])

3.8.2. Απώλεια α-κοκκίων κατά την αποθήκευση

Η ικανότητα έκκρισης α-κοκκίων μπορεί να αξιολογηθεί με ανίχνευση της πρωτεΐνης PF4 των α-κοκκίων. Την δεύτερη και πέμπτη ημέρα αποθήκευσης των αδρανοποιημένων με Mirasol αιμοπεταλίων, η έκκριση της πρωτεΐνης PF4 ως ανταπόκριση στη χορήγηση θρομβίνης είναι παρόμοια με αιμοπετάλια control. Ωστόσο μετά από τη πέμπτη μέρα και συγκεκριμένα την όγδοη ημέρα αποθήκευσης τα επίπεδα PF4 φέρουν σημαντική μείωση. Επιπλέον η τάση «εξάντλησης» του κοκκιδώδους περιεχομένου των αιμοπεταλίων τείνει να αυξάνεται λόγω της

παρουσίας της ριβοφλαβίνης, μιας και μείωση των κοκκίων παρατηρείται και από εφαρμογή UV ακτινοβολίας αλλά σε αρκετά μικρότερο βαθμό [224].

3.8.3. Διαταραχή εξάπλωσης στο κολλαγόνο

Η προσκόλληση και εξάπλωση των αιμοπεταλίων στο υποενδοθηλιακό κολλαγόνο, αποτελεί βασικό βήμα για την επούλωση ενός τραύματος. Μέσω της πρόσδεσης στο κολλαγόνο, υποκινείται κυτταροσκελετική αναδιαμόρφωση οδηγώντας σε ενεργοποίηση και εξάπλωση των αιμοπεταλίων. Επώαση αδρανοποιημένων αιμοπεταλίων σε αντικειμενοφόρες πλάκες επιστρωμένες με κολλαγόνο Τύπου I και επακόλουθη παρατήρηση σε μικροσκόπιο, ανέδειξε μείωση εξάπλωσης των αιμοπεταλίων κατά 65% με εκκίνηση τη δεύτερη μέρα αποθήκευσης και συνεχίστηκε μέχρι και την όγδοη μέρα. Το εύρημα αυτό συνιστά πως η αδρανοποίηση με Mirasol επιδρά άμεσα στην ικανότητα κυτταροσκελετικής αναδιαμόρφωσης των αιμοπεταλίων και ενδεχομένως σε διαταραχές επούλωσης τραυμάτων [224].

3.8.4. Μεταβολικές αλλοιώσεις αιμοπεταλίων

Τα αιμοπετάλια χαρακτηρίζονται από ένα σημαντικό αριθμό βιοχημικών και μεταβολικών παραμέτρων, των οποίων η αλλοίωση ενδέχεται να επηρεάζει τη βιωσιμότητα και λειτουργία τους. Σε γενικές γραμμές τα αδρανοποιημένα με Mirasol αιμοπετάλια εμφανίζουν διαφορές σε αρκετές παραμέτρους, οι οποίες παραμένουν εντός των αποδεκτών ορίων. Ο συνολικός αριθμός των αιμοπεταλίων, η απελευθέρωση ιόντων K^+ , καθώς και η απελευθέρωση γαλακτικής αφυδρογονάσης (LDH) εμφανίζουν μικρές αλλαγές οι οποίες ωστόσο δεν εγείρουν ιδιαίτερη ανησυχία [226]. Μείωση εμφανίζεται στη τιμή του pH, η οποία στη πλειοψηφία των ερευνών που έχουν πραγματοποιηθεί [227-228] παραμένει εντός των διεθνών οδηγιών, ωστόσο σε παρατεταμένη αποθήκευση αδρανοποιημένων αιμοπεταλίων ενδέχεται το pH να φτάσει οριακά χαμηλότερα από το κατώτερο αποδεκτό όριο [226]. Επιπρόσθετα, παρατηρείται αυξημένη κατανάλωση γλυκόζης, αυξημένος ρυθμός

παραγωγής γαλακτικού τα οποία επάγουν σημαντική μείωση των επιπέδων γλυκόζης [226]. Η γλυκολυτική δραστηριότητα συνοδεύεται από μείωση των επιπέδων οξυγόνου, διοξειδίου του άνθρακα και των διττανθρακικών [226], γεγονός που υποδηλώνει τον αυξημένο οξειδωτικό μεταβολισμό που υφίστανται τα αδρανοποιημένα αιμοπετάλια κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης τους και ιδίως τις τελευταίες ημέρες [227]. Η αυξημένη γλυκόλυση μπορεί να οδηγήσει σε πλήρη κατανάλωση της γλυκόζης ιδίως με το πέρας της πέμπτης ημέρας αποθήκευσης [228], ενώ παρομοίως μετά από τη πέμπτη μέρα ενδέχεται να παρατηρούν επίπεδα $pO_2 \geq 10$ mm Hg (37°C) [226], το οποίο αποτελεί το κατώτατο όριο επαρκούς παροχής O_2 .

Η αντίδραση στο υποτονικό σοκ (HSR ή Hypotonic Shock Response) καθώς και το λεγόμενο “swirl score”, είναι ενδεικτικές παράμετροι της βιωσιμότητας των αιμοπεταλίων όσον αφορά τη διατήρηση του δισκοειδούς σχήματος τους και την ακεραιότητα της κυτταρικής τους μεμβράνης. Διατήρηση και των δύο σε ποσοστό 60% κρίνεται ως το χαμηλότερο αποδεκτό, με τις παραμέτρους να κυμαίνονται σε επίπεδα της τάξης του 70% έως την πέμπτη ημέρα αποθήκευσης και έπειτα να μειώνονται κάτω από το αποδεκτό όριο [226].

Τα παραπάνω στοιχεία παρατίθενται λεπτομερώς στον Πίνακα 14 με τις τιμές που ανιχνεύθηκαν σε αιμοπετάλια αδρανοποιημένα με το Mirasol PRT System, κατά τη διάρκεια επτά ημερών αποθήκευσης τους [226].

Πίνακας 14. Αξιολόγηση μεταβολικών παραμέτρων των αιμοπεταλίων που έχουν αδρανοποιηθεί με το Mirasol PRT System και έχουν αποθηκευθεί σε προβλεπόμενες συνθήκες για επτά ημέρες.

| Παράμετρος | Μέρα αδρανοποίησης | Πρώτη μέρα | Πέμπτη μέρα | Έβδομη μέρα |
|---------------------------------|--------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Αριθμός PLT ($\times 10^9/L$) | 1071 \pm 105 | 1021 \pm 124 | 1012 \pm 111 | 1007 \pm 110 |
| Απελευθέρωση LDH (U/L) | 106 \pm 12 | 104 \pm 14 | 185 \pm 64 | 152 \pm 15 |
| K^+ (mmol/L) | 2.7 \pm 0.2 | 2. \pm 0.2 | 3.0 \pm 0.2 | 3.2 \pm 0.2 |
| HSR (%) | 75.8 \pm 8.2 | 80.6 \pm 7.8 | 71.2 \pm 6.6 | 50.5 \pm 21.1 |
| Swirl score | 3.0 \pm 0.0 | 2.9 \pm 0.3 | 1.5 \pm 0.7 | 0.3 \pm 0.5 |
| pH | 7.33 \pm 0.07 | 7.41 \pm 0.06 | 6.97 \pm 0.15 | 6.50 \pm 0.31 |
| pO_2 (mm Hg) | 12.6 \pm 3.6 | 16.9 \pm 7.8 | 12.7 \pm 0.9 | 8.3 \pm 1.9 |
| pCO_2 (mm Hg) | 24.7 \pm 3.7 | 16.9 \pm 2.8 | 12.7 \pm 0.9 | 8.3 \pm 1.9 |

| | | | | |
|---|------------|------------|-----------|-----------|
| HCO_3^- (mmol/L) | 15.4 ± 0.9 | 12.7 ± 0.7 | 3.9 ± 1.2 | 1.2 ± 0.8 |
| Ρυθμός κατανάλωσης Glu (mmol/ $\times 10^{12}$ κύτταρα/ ώρα) | - | 43 ± 16 | 63 ± 13 | 71 ± 28 |
| Ρυθμός παραγωγής γαλακτικού (mmol/ $\times 10^{12}$ κύτταρα/ ώρα) | - | 91 ± 46 | 92 ± 24 | 67 ± 16 |

3.8.5 Υποκίνηση απόπτωσης σε αιμοπετάλια αδρανοποιημένα με το Mirasol PRT System

Η φωσφατιδυλοσερίνη αποτελεί ένα πρώιμο δείκτη απόπτωσης των αιμοπεταλίων, η οποία οδηγεί σε φαγοκυττάρωση τους από μακροφάγα [229]. Τα αιμοπετάλια ύστερα από εφαρμογή του Mirasol παρουσιάζουν υψηλά επίπεδα έκθεσης της φωσφατιδυλοσερίνης καθ' όλη τη διάρκεια αποθήκευσης σε σύγκριση με μη αδρανοποιημένα αιμοπετάλια, με την μεγαλύτερη αύξηση να παρατηρείται στη πέμπτη και έβδομη ημέρα αποθήκευσης τους [230].

Το «μονοπάτι» της απόπτωσης ρυθμίζεται μέσω της ισορροπίας πρωτεϊνών που αναστέλλουν και υποκινούν την απόπτωση, οι οποίες ανήκουν στην οικογένεια πρωτεϊνών Bcl-2 [231]. Οι αντί-αποπτωτικές πρωτεΐνες Bcl-2 και Bcl_{XL} εμφάνισαν μικρή αλλά μη επιζήμια μείωση στα αδρανοποιημένα αιμοπετάλια, ωστόσο οι προ-αποπτωτικές πρωτεΐνες Bak και Bax αυξάνονται σημαντικά έπειτα από την αδρανοποίηση, γεγονός που επιδεικνύει επιτάχυνση της διαδικασίας της απόπτωσης [230].

Το κυτόχρωμα C αποτελεί μια ουσία η οποία παρουσιάζεται στο κυτοσόλιο, ύστερα από απελευθέρωση της από τα μιτοχόνδρια κατά τη διαδικασία της απόπτωσης. Αν και επίπεδα του κυτοχρώματος C παρατηρούνται σε αδρανοποιημένα και μη αιμοπετάλια, είναι περισσότερο αυξημένα κατά τη πρώτη μέρα αποθήκευσης σε αδρανοποιημένα αιμοπετάλια. Ωστόσο ενδέχεται η πρώιμη απελευθέρωση του κυτοχρώματος C να προέρχεται από εναλλακτικά «μονοπάτια» σηματοδότησης της απόπτωσης, τα οποία χρειάζονται περαιτέρω διερεύνηση [230].

Η αννεξίνη V προσδέεται σε αρνητικά φορτισμένα φωσφολιπίδια [232] και η αυξημένη πρόσδεση της σε εμπύρηννα κύτταρα συνιστά δείκτη έναρξης της απόπτωσης . Σε αιμοπεταλία που έχουν αδρανοποιηθεί, παρατηρείται μεγαλύτερο ποσοστό προσδεμένης αννεξίνης V το οποίο τείνει να εξαρτάται από την δόση ακτινοβολίας που εκπέμπεται. Σε δόση 12.3J/mL η έκθεση σε αρνητικά φορτισμένα φωσφολιπίδια είναι μεγαλύτερη από ότι στα 6.2 J/mL, συνεπώς σε υψηλότερη δόση ακτινοβολίας παρατηρείται και μεγαλύτερη πρόσδεση αννεξίνης V. Σε αρκετές περιπτώσεις όπου αυξάνεται η πρόσδεση της αννεξίνης εντοπίζεται ταυτόχρονη μείωση HSR, επιδεικνύοντας ένα είδος γραμμικής συσχέτισης μεταξύ αυτών των δύο παραμέτρων [228].

Κεφάλαιο 4: THERAFLEX-UV Platelets System

Το THERAFLEX-UV Platelets System προέρχεται από την εταιρεία Macopharma, η οποία έχει την έδρα της στην Γαλλία. Έχει λάβει πιστοποίηση CE τάξης IIB το 2009 [189] και τη δεδομένη στιγμή βρίσκεται στα τελικά στάδια κλινικών δοκιμών [233], για αυτό δεν χρησιμοποιείται στη ρουτίνα ακόμα [234]. Μπορεί να εφαρμοστεί σε αιμοπετάλια αφαίρεσης καθώς και σε αιμοπετάλια που προέρχονται από διαχωρισμό ολικού αίματος.

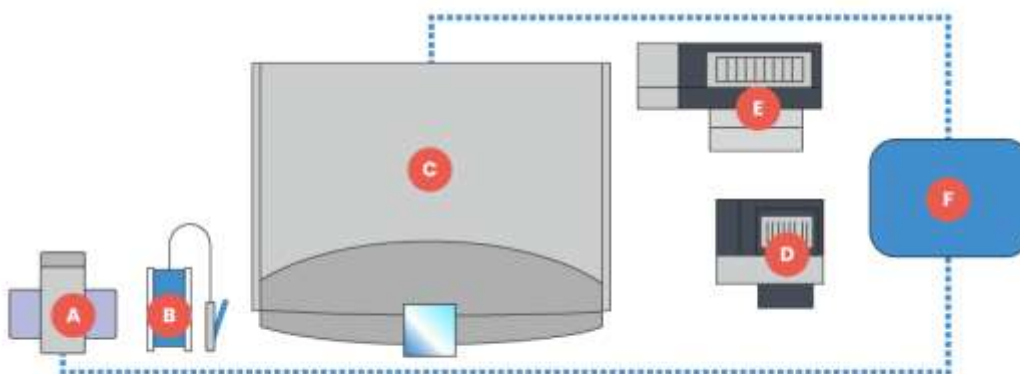
4.1.Περιγραφή του THERAFLEX-UV Platelets System

Το THERAFLEX-UV Platelets System αποτελείται από τα εξής μέρη [235]:

1. **Συσκευή θερμοσυγκόλλησης** : Χρησιμοποιείται για την ένωση των αρχικών ασκών αιμοπεταλίων με τον ασκό ακτινοβολήσης.
2. **Συσκευή MacoSeal TWIN EVA LIGHT** : Πρόκειται για ένα σύστημα που απαρτίζεται από δύο θερμοσυγκολλητές χειρός. Ο πρώτος (με σήμανση κίτρινου χρώματος στο κάτω μέρος του) χρησιμοποιείται για τη σφράγιση του

ασκού ακτινοβολήσης στο αριστερό κορυφαίο τμήμα του, ενώ ο δεύτερος (με σήμανση μπλε χρώματος στο κάτω μέρος του) χρησιμεύει στη θερμοσυγκόλληση των σωληναρίων P.V.C που συνδέουν τους ασκούς.

3. **Αναλυτής αδρανοποίησης MacoTronic UV** : Πρόκειται για το μέσο εκπομπής της UVC ακτινοβολίας σε μήκος κύματος $254 \pm 10\text{nm}$ και δόσης 0.2 J/cm^2 , για διάρκεια μικρότερη του ενός λεπτού.
4. **Εκτυπωτής ετικετών ασκών.**
5. **Εκτυπωτής αναφοράς αδρανοποίησης.**
6. **Σύστημα διαχείρισης δεδομένων MacoTrace** : Πρόκειται για το λογισμικό το οποίο βρίσκεται σε άμεση σύνδεση με τον αναλυτή MacoTronic UV. Ουσιαστικά επικοινωνεί με τον κυρίως αναλυτή και καταγράφει τη κατάσταση του ασκού ακτινοβολήσης κατά τη διάρκεια της αδρανοποίησης.



Εικόνα 18. Τα τμήματα που απαρτίζουν το THERAFLEX-UV Platelets System. Απο αριστερά προς τα δεξιά : A) Συσκευή θερμοσυγκόλλησης, B) Συσκευή MacoSeal TWIN EVA LIGHT, C) Αναλυτής αδρανοποίησης MacoTronic UV, D) Εκτυπωτής ετικετών ασκών, E) Εκτυπωτής αναφοράς αδρανοποίησης και F) Σύστημα διαχείρισης δεδομένων MacoTrace (η εικόνα προέρχεται από τη ιστοσελίδα της Macopharma, της εταιρίας κατασκευής του THERAFLEX-UV Platelets System [<https://www.theraflex-uv-platelets.com/a-technology-based-purely-on-light/>])

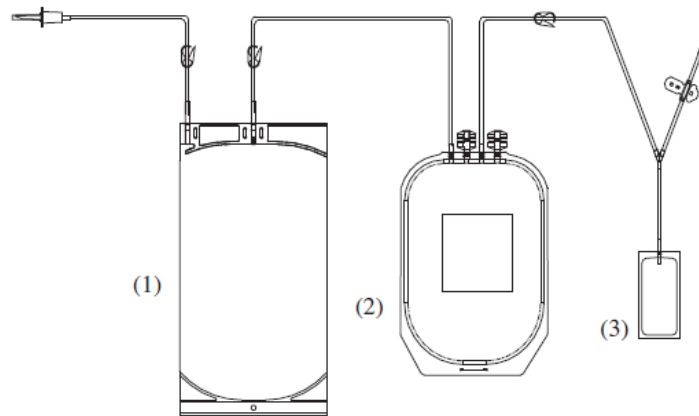
4.2. Πρωτόκολλο αδρανοποίησης του THERAFLEX-UV Platelets System

Η εφαρμογή του πρωτοκόλλου αδρανοποίησης μπορεί να πραγματοποιηθεί σε αιμοπετάλια τα οποία έχουν προέλθει από τη διαδικασία της αφαίρεσης, ή από οποιαδήποτε άλλη διαδικασία διαχωρισμού των αιμοπεταλίων (διαχωρισμός από ολικό αίμα, από λευκοκυτταρική στοιβάδα ή από πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια), ενώ είναι εφικτή η αδρανοποίηση αιμοπεταλίων που βρίσκονται σε διάλυμα PAS. Το πρωτόκολλο αδρανοποίησης έχει ως εξής [236]:

- Άνοιγμα του αναλώσιμου κιτ και έλεγχος της κατάστασης των ασκών καθώς και των σωληναρίων που υπάρχουν, για τυχόν διάτρηση ή παρουσία κάποια βλάβης.
- Θερμοσυγκόλληση του αρχικού ασκού των αιμοπεταλίων με τον ασκό ακτινοβολήσης.
- Εκρόή των αιμοπεταλίων εντός του ασκού ακτινοβολήσης.
- Αφού εισέλθουν τα αιμοπετάλια στον ασκό ακτινοβολήσης με ήπιες κινήσεις, διπλώνεται ο ασκός ακτινοβολήσης με σκοπό να απομακρυνθεί ο περιττός αέρας προς το σωληνάριο του αρχικού ασκού. Αφού τα αιμοπετάλια διανύσουν απόσταση 1.5-2cm στο σωληνάριο του αρχικού ασκού διακόπτεται η ροή με την χρήση ενός κλιπ.
- Με χρήση του πρώτου θερμοσυγκολλητή MacoSeal (με τη μπλε σήμανση) σφραγίζεται ο ασκός ακτινοβολήσης στο επάνω αριστερά τμήμα, από όπου έγινε η εισαγωγή των αιμοπεταλίων. Ακολούθως με τον δεύτερο θερμοσυγκολλητή MacoSeal (με τη κίτρινη σήμανση) διαχωρίζεται ο αρχικός ασκός από τον ασκό ακτινοβολήσης.
- Με προσοχή ο τελικός ασκός αποθήκευσης τυλίγεται και τοποθετείται εντός ειδικού πλαστικού δοχείου, το οποίο έχει συγκεκριμένη θέση εντός του αναλυτή MacoTronic.
- Τοποθέτηση και ασφάλιση του ασκού ακτινοβολήσης στον δίσκο ακτινοβολήσης του MacoTronic και τοποθέτηση του δοχείου που φέρει τον τελικό ασκό. Ο ασκός ακτινοβολήσης ασφαλίσει με τη τοποθέτηση του σε δύο άγκιστρα τα οποία επιτρέπουν την ανακίνηση του ασκού ακτινοβολήσης κατά τη διαδικασία αδρανοποίησης.

- Πραγματοποιείται σάρωση των στοιχείων του τελικού ασκού ακτινοβόλησης και του LOT που φέρει ο ασκός ακτινοβόλησης.
- Ακτινοβόληση διάρκειας < 1min.
- Με την ολοκλήρωση της ακτινοβόλησης , σαρώνεται ο τελικός ασκός αποθήκευσης και εκτυπώνεται ετικέτα που φέρει τα στοιχεία του και υποδεικνύει ότι τα αιμοπεταλία αυτού του ασκού έχουν αδρανοποιηθεί.
- Μεταφορά αδρανοποιημένων αιμοπεταλίων στον τελικό ασκό αποθήκευσης.
- Απόρριψη περιττού αέρα όπως προηγουμένως , θερμοσυγκόλληση (με τον δεύτερη συσκευή MacoSeal) και αποσύνδεση του ασκού ακτινοβόλησης.
- Αποθήκευση των αιμοπεταλίων στις προβλεπόμενες συνθήκες.

Συνολικά η ολοκλήρωση του πρωτοκόλλου αδρανοποίησης διαρκεί 8 λεπτά, καθιστώντας τη μια από τις πιο γρήγορες και εύκολες διαδικασίες αδρανοποίησης [236].



Εικόνα 19.Αναλώσιμο κιτ αδρανοποίησης αιμοπεταλίων του THERAFLEX-UV Platelets System (Πηγή 236)

4.3.Αδρανοποίηση παθογόνων με το THERAFLEX-UV Platelets System

Το συγκεκριμένο σύστημα σε αντίθεση με τα δύο προαναφερθέντα, δε χρησιμοποιεί κάποια φωτοευαίσθητη ουσία για την αδρανοποίηση των παθογόνων μικροοργανισμών. Η αδρανοποίηση στηρίζεται εξ ολοκλήρου στην επίδραση της UVC ακτινοβολίας, μήκους κύματος 254 nm με ταυτόχρονη ανακίνηση των αιμοπεταλίων [171]. Ως αποτέλεσμα, σχηματίζονται διμερή πυριμιδίνης-πυριμιδόνης και διμερή κυκλοβουτανίου-πυριμιδίνης [189].

Η αδρανοποίηση παθογόνων με τη χρήση UVC ακτινοβολίας που υιοθετεί το THERAFLEX είναι αποτελεσματική σε ένα ευρύ φάσμα βακτηρίων τα οποία παρουσιάζονται στον Πίνακα 15 παρακάτω [237]. Όσον αφορά τους ιούς ωστόσο, παρατηρούνται ορισμένοι περιορισμοί σε σύγκριση με τα άλλα διαθέσιμα συστήματα αδρανοποίησης. Συγκεκριμένα, υψηλή αδρανοποίηση επιτυγχάνεται στον Παρβοϊό που προέρχεται από σκύλους (CPV ή Canine Parvovirus), στον ιό που προκαλεί φλυκταινώδη στοματίτιδα (VSV ή Vesicular Stomatitis Virus) και στον ιό της μεταδιδόμενης γαστρεντερίτιδας (TGEV ή Transmissible Gastroenteritis Virus), ενώ χαμηλή αδρανοποίηση παρατηρείται στον ιό της ιογενούς διάρροιας των βοοειδών (BVDV ή Bovine Viral Diarrhea Virus) και στον ιό που προκαλεί τη νόσο Aujeszky (PRV ή Pseudorabies Virus). Επιπλέον, η αδρανοποίηση του HIV και του SV40 (Simian Virus 40) είναι αρκετά περιορισμένη και κυμαίνεται σε 1-2 log [238].

Η UVC ακτινοβολία τείνει να είναι πιο αποτελεσματική έναντι ιών με μεγάλο μέγεθος γονιδιώματος και σε μονόκλωνους ιούς. Κατ' επέκταση, το THERAFLEX UV-Platelets System δύναται να αδρανοποιήσει ιούς που φέρουν μονόκλωνο DNA ή RNA ως γενετικό υλικό, ενώ η αδυναμία της UVC ακτινοβολίας να αδρανοποιήσει μικρούς ιούς με δίκλωνο γενετικό υλικό θέτουν ως προς περαιτέρω διερεύνηση την αποτελεσματικότητα του συστήματος για την πλήρη αδρανοποίηση ιών [238].

Πίνακας 15. Βακτήρια που αδρανοποιούνται επιτυχώς με τη χρήση του THERAFLEX-UV Platelets System.

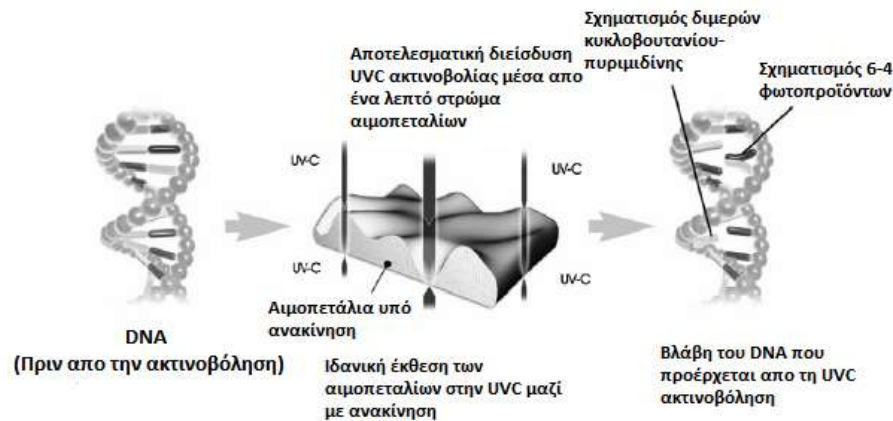
| Βακτήριο | Αερόβιο/Αναερόβιο | Τύπος Gram | Λογαριθμική μείωση |
|-----------------------------|--------------------|------------|--------------------|
| Enterobacter cloacae | Δυνητικά Αναερόβιο | - | 6.3 ± 0.6 |

| | | | |
|-----------------------------------|--------------------|---|-----------|
| Escherichia coli | Δυνητικά Αναερόβιο | - | 7.3 ± 0.4 |
| Klebsiella pneumoniae | Δυνητικά Αναερόβιο | - | 5.9 ± 0.7 |
| Morganella morganii | Δυνητικά Αναερόβιο | - | 7.5 ± 0.3 |
| Proteus mirabilis | Δυνητικά Αναερόβιο | - | 7.0 ± 0.3 |
| Pseudomonas fluorescens | Αερόβιο | - | 7.0 ± 0.2 |
| Serratia marcescens | Δυνητικά Αναερόβιο | - | 5.8 ± 0.2 |
| Staphylococcus aureus | Δυνητικά Αναερόβιο | + | 6.6 ± 0.4 |
| Staphylococcus epidermidis | Δυνητικά Αναερόβιο | + | 4.6 ± 0.5 |
| Streptococcus bovis | Δυνητικά Αναερόβιο | + | 7.0 ± 0.3 |
| Streptococcus dysgalactiae | Δυνητικά Αναερόβιο | + | 3.5 ± 0.3 |
| Streptococcus pyogenes | Αναερόβιο | + | 4.4 ± 0.8 |
| Listeria monocytogenes | Δυνητικά Αναερόβιο | + | 4.8 ± 0.3 |
| Acinetobacter baumannii | Αερόβιο | - | 5.1 ± 0.3 |
| Streptococcus agalactiae | Δυνητικά Αναερόβιο | + | ≥ 6.0 |
| Streptococcus pneumoniae | Δυνητικά Αναερόβιο | + | 4.8 ± 1.0 |
| Bacillus cereus | Δυνητικά Αναερόβιο | + | 3.1 ± 0.1 |
| Bacillus thuringiensis | Δυνητικά Αναερόβιο | + | 3.6 ± 0.4 |
| Propionibacterium acnes | Αερόβιο | + | 4.5 ± 1.1 |

4.4.Μηχανισμός δράσης UVC ακτινοβολίας

Η χαμηλού μήκους κύματος UVC ακτινοβολία (200-280 nm), είναι ικανή να επιτύχει αδρανοποίηση παθογόνων μικροοργανισμών μέσω της αλληλεπίδρασης με τα νουκλεϊκά τους οξέα [239]. Η μονοχρωματική εκπομπή UVC ακτινοβολίας στα 254 nm συμπίπτει οριακά με τη μέγιστη απορρόφηση της από DNA/RNA (260nm) αλλά και ταυτόχρονα με την χαμηλότερη δυνατή απορρόφηση της από πρωτεΐνες. Η άμεση αλληλεπίδραση της UVC ακτινοβολίας με τα νουκλεϊκά οξέα των παθογόνων οδηγεί στο σχηματισμό διμερών πυριμιδίνης-πυριμιδόνης και κυκλοβουτανίου-πυριμιδίνης, δημιουργώντας ένα εμπόδιο στην διαδικασία αντιγραφής των παθογόνων [240]. Τα περισσότερα από τα φωτοχημικά προϊόντα που σχηματίζονται, προέρχονται από πυριμιδίνες που βρίσκονται σε γειτονικές θέσεις μεταξύ τους, ενώ βλάβες μπορούν να περιλαμβάνουν βάσεις που βρίσκονται σε διαφορετικές έλικες του DNA του παθογόνου [239]. Ωστόσο η UVC ακτινοβολία ενδέχεται να οδηγήσει σε απόκριση και άλλων κυττάρων, υποκινώντας διαδικασίες επιδιόρθωσης του DNA και αντισταθμίζοντας με αυτόν τον τρόπο τις βλάβες που δημιουργούνται. Αν ο αριθμός των βλαβών που υφίστανται οι παθογόνοι μικροοργανισμοί υπερβαίνει είναι ιδιαίτερα μεγάλος, τότε δεν είναι εφικτή η επιδιόρθωση του γονιδιώματος τους με αποτέλεσμα την εξάλειψη τους ή την εξάλειψη των κυττάρων ξενιστών που επάγουν τον πολλαπλασιασμό τους [239].

Η απορρόφηση της UVC μπορεί να πραγματοποιηθεί πέρα από τα νουκλεϊκά οξέα των παθογόνων και από τα λευκοκύτταρα [236], μειώνοντας την HLA αλλοανοσοποίηση που μπορεί να επέλθει από την μετάγγιση αιμοπεταλίων [241]. Η επιτυχή δράση της UVC ακτινοβολίας στο THERAFLEX οφείλεται και στην ανακίνηση του ασκού ακτινοβόλησης κατά τη διαδικασία ακτινοβόλησης. Μέσω της ανακίνησης δημιουργούνται λεπτά στρώματα που είναι διαπερατά στην υπεριώδη ακτινοβολία επιτυγχάνοντας την αδρανοποίηση, μαζί με ομοιόμορφη ανάμειξη όλων των κυττάρων εντός του ασκού [236].



Εικόνα 20. Μηχανισμός δράσης της UVC ακτινοβολίας (Ανατύπωση από [236])

4.5.Τοξικές επιδράσεις από την εφαρμογή της UVC ακτινοβολίας

Το THERAFLEX-UV Platelets System χρησιμοποιεί αποκλειστικά UVC ακτινοβολία για την αδρανοποίηση παθογόνων μικροοργανισμών, σε αντίθεση με τα προηγούμενα συστήματα αδρανοποίησης τα οποία εκτός από την επίδραση UV ακτινοβολίας περιλαμβάνουν την ενεργοποίηση μια φωτοδιεγερτικής ουσίας (αμοτοσαλένιο ή ριβοφλαβίνη). Το γεγονός ότι δεν εισέρχεται κάποια εξωγενής- φαρμακευτική ουσία στον οργανισμό δεν επιτρέπει τη διενέργεια τυπικών τοξικολογικών δοκιμασιών.

Έχουν πραγματοποιηθεί προ-κλινικές έρευνες σε σκύλους στους οποίους έχουν χορηγηθεί αιμοπεταλία ύστερα από εφαρμογή UVC ακτινοβολίας [239]. Η χορήγηση αδρανοποιημένων αιμοπεταλίων με UVC σε σκύλους ράτσας Beagle, δεν επέδειξε κάποιο πρόβλημα τοπικής ή συστηματικής δυσανεξίας στον οργανισμό των σκύλων [242]. Επιπλέον δε παρατηρήθηκαν συμπτώματα αύξησης του αριθμού των λευκών αιμοσφαιρίων ή ορατή διόγκωση λεμφαδένων, τα οποία αποτελούν ενδείξεις κινητοποίησης του ανοσοποιητικού συστήματος [239].

4.6. In vitro ποιότητα αιμοπεταλίων έπειτα από την αδρανοποίηση με το THERAFLEX-UV Platelets System

Τα προηγούμενα συστήματα αδρανοποίησης περιλαμβάνουν φωτο-διεγερτικές ουσίες οι οποίες συμβάλλουν στη δημιουργία αλλοιώσεων στη ποιότητα των αιμοπεταλίων, συνεπώς έχουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον οι αλλοιώσεις που υφίστανται τα αιμοπετάλια αποκλειστικά από την εφαρμογή UVC ακτινοβολίας. Ο αριθμός των αιμοπεταλίων τείνει να παραμένει σταθερός, ωστόσο φαίνεται πως η αύξηση του εξαρτάται από τη δόση της UVC ακτινοβολίας καθώς με αύξηση της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας, αυξάνεται και ο αριθμός των αιμοπεταλίων [243]. Ήπια αύξηση αλλά άξια αναφοράς παρουσιάζει ο μέσος όγκος αιμοπεταλίων (MPV), ο οποίος παραμένει σταθερά αυξημένος καθ' όλη τη διάρκεια αποθήκευσης [244]. Οι εργαστηριακές μετρήσεις των PT, aPTT, D-dimers και του ινωδογόνου δεν έδειξαν κάποια αρνητική επίδραση της UVC ακτινοβολίας, ενώ η χρήση κυτταρομετρίας ροής και ELISA δεν ανέδειξε σχηματισμό αντισωμάτων έναντι των ακτινοβολημένων αιμοπεταλίων [243].

Οι βιοχημικές παράμετροι εμφανίζουν ορισμένες μεταβολές, οι οποίες στην πλειοψηφία τους δεν είναι ανησυχητικές. Συγκεκριμένα παρατηρείται μικρή αύξηση του pH, εντός των φυσιολογικών ορίων και σε παρόμοια επίπεδα με αιμοπετάλια που δεν έχουν υποστεί αδρανοποίηση με το THERAFLEX. Μείωση παρατηρείται στα επίπεδα της γλυκόζης ένεκα της αυξημένης κατανάλωσης της [245] – χωρίς να καταναλώνεται πλήρως [244] - η οποία συνοδεύεται από αύξηση στη ποσότητα του γαλακτικού [245]. Επιπλέον τα επίπεδα pCO₂ παρουσιάζουν μείωση, παραμένοντας εντός αποδεκτών ορίων, ενώ αυξάνονται τα επίπεδα διττανθρακικών και η κατανάλωση ATP ιδίως μετά από την πέμπτη ημέρα αποθήκευσης. Το λεγόμενο swirl score - δηλαδή η μακροσκοπική παρατήρηση των αιμοπεταλίων εντός του ασκού και του υπερκείμενου υγρού τους για παρατήρηση αλλαγής χρώματος ή ανωμαλιών – παρέμεινε αρκετά καλό σε όλες τις ημέρες αποθήκευσης [245].

Η παράμετρος που εμφανίζει τη μεγαλύτερη αλλοίωση είναι η αντίδραση στο υποτονικό σοκ (HSR), η οποία μειώνεται απευθείας μετά από την επίδραση της UVC ακτινοβολίας [243] και συνολικά παρατηρείται έκπτωση της τάξης του 20-30% καθ' όλη τη διάρκεια αποθήκευσης [236]. Οι γλυκοπρωτεΐνες της κυτταρικής μεμβράνης

παραμένουν σχεδόν αμετάβλητες [244], αλλά τα επίπεδα CD62P και η πρόσδεση αννεξίνης V και PAC-1 παρουσιάζουν μικρή αύξηση, γεγονός που υποδεικνύει μερική ενεργοποίηση των αδρανοποιημένων αιμοπεταλίων [236]. Ωστόσο συγκριτικά με μη αδρανοποιημένα αιμοπετάλια, οι τιμές των CD62P, αννεξίνης V και PAC-1 κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης κυμαίνονται σε παραπλήσιο μήκος κύματος.

Σε μια από τις πιο πρόσφατες έρευνες πραγματοποιήθηκε αξιολόγηση της *in vitro* ποιότητας αιμοπεταλίων που είχαν αδρανοποιηθεί με UVC ακτινοβολία και εν συνεχεία αποθηκεύθηκαν στους 2-6°C, σε σύγκριση με αιμοπετάλια που είχαν και αυτά αδρανοποιηθεί με UVC αλλά αποθηκεύθηκαν σε τυπικές συνθήκες [246]. Η εν λόγω έρευνα ανέδειξε ότι ο συνδυασμός της UVC ακτινοβολίας και της αποθήκευσης σε κρύες συνθήκες, τείνει να επιφέρει μεγαλύτερες αλλοιώσεις στα αδρανοποιημένα αιμοπετάλια. Αναλυτικότερα, ο MPV εμφάνισε μεγαλύτερη αύξηση, όπως αύξηση εμφάνισε και η κατανάλωση της γλυκόζης και η παραγωγή γαλακτικού. Το pH διατηρήθηκε σε σχετικά καλά επίπεδα, κάτι το οποίο δεν παρατηρήθηκε στο HSR το οποίο όπως αναμενόταν εμφάνισε αρκετά μεγάλη μείωση. Οι γλυκοπρωτεΐνες της κυτταρικής μεμβράνης GPIIb, GPIa παρέμειναν αμετάβλητες, η GPIIb/IIIa παρουσίασε αυξημένη ενεργότητα και η GPVI μειώθηκε έντονα από την επίδραση της UVC ακτινοβολίας και της χαμηλής θερμοκρασίας. Η αποθήκευση στους 2-6°C επέδρασε αρνητικά και στους δείκτες CD62P και αννεξίνη V, αυξάνοντας τους σε σημαντικό βαθμό. Συμπερασματικά, η επίδραση της χαμηλής θερμοκρασίας και της UVC ακτινοβολίας επιταχύνουν τις αλλοιώσεις παραμέτρων των αιμοπεταλίων σε σύγκριση με απλά αδρανοποιημένα αιμοπετάλια [246].

Κεφάλαιο 5: THERAFLEX-MB Plasma System

Το THERAFLEX-MB Plasma System προέρχεται από την ίδια εταιρία από όπου παράγεται και το THERAFLEX-UV Platelets System. Έχει λάβει πιστοποίηση CE τάξης III το 2004 και τη δεδομένη χρονική στιγμή χρησιμοποιείται από 15 χώρες παγκοσμίως, συμπεριλαμβανομένης και της Ελλάδας. Επιτελεί αδρανοποίηση παθογόνων σε ασκούς FFP, οι οποίοι μπορεί να προέρχονται από της διαδικασία της αφαίρεσης ή από διαχωρισμό πλάσματος από ολικό αίμα. Εν αντιθέσει με το

THERAFLEX-UV Platelets System που υιοθετεί τη χρήση μόνο UVC ακτινοβολίας για την αδρανοποίηση, το συγκεκριμένο σύστημα βασίζεται στη προσθήκη της ουσίας μπλε του μεθυλενίου στον ασκό του πλάσματος και στην ακτινοβόληση του ασκού σε φάσμα του ορατού φωτός και σε μήκος κύματος 630nm [189].

5.1.Περιγραφή του THERAFLEX-MB Plasma System

Παρατηρούνται αρκετά όμοια στοιχεία με το σύστημα αδρανοποίησης αιμοπεταλίων της THERAFLEX, μιας και στο παρόν σύστημα υπάρχουν οι δύο εκτυπωτές –ετικετών και αναφοράς αδρανοποίησης-, η συσκευή θερμοσυγκόλλησης, το σύστημα διαχείρισης δεδομένων MacoTrace καθώς και η συσκευή MacoSeal, μόνο που εδώ χρησιμοποιείται αποκλειστικά η δεύτερη συσκευή με τη μπλε σήμανση. Η ειδοποιός διαφορά μεταξύ των δύο συστημάτων παρατηρείται στον αναλυτή αδρανοποίησης, όπου στο THERAFLEX-MB Plasma System χρησιμοποιείται ο αναλυτής MacoTronic B2. Η αδρανοποίηση με αυτόν τον αναλυτή επιτυγχάνεται από την παρουσία 96 λαμπών LED , οι οποίες εκπέμπουν ακτινοβολία ορατού φάσματος στα 627 ± 10 nm. Είναι εφικτή η αδρανοποίηση δύο ασκών FFP ανά κύκλο αδρανοποίησης, με τη συνολική διαδικασία να διαρκεί 12-15 λεπτά [247].

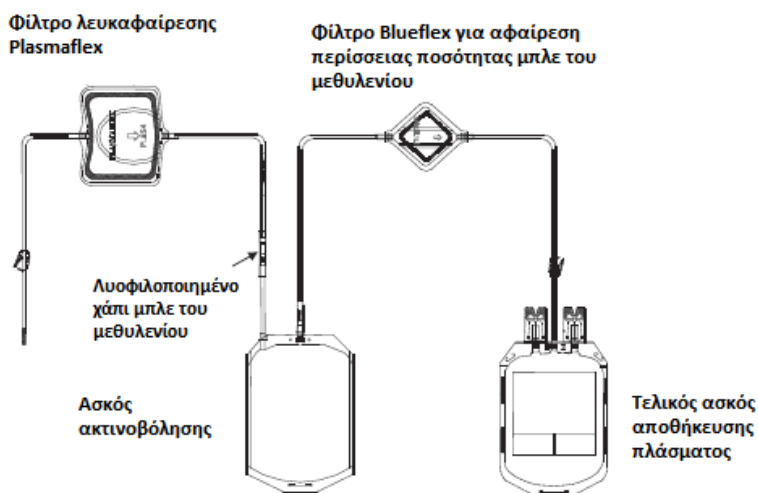
5.2.Πρωτόκολλο αδρανοποίησης του THERAFLEX-MB Plasma System

Το πρωτόκολλο αδρανοποίησης ασκών FFP με το εν λόγω σύστημα έχεις ως εξής [248]:

1. Κλείσιμο όλων των διακόπτων ροής μπλε χρώματος.
2. Σύνδεση του ασκού FFP με το σύστημα του αναλώσιμου κιτ, μέσω θερμοσυγκόλλησης.
3. Το συνδεδεμένο σύστημα κρεμάται και εν συνεχεία γίνεται θραύση της βαλβίδας.
4. Ανοίγεται ο διακόπτης ροής και επιτρέπεται στο πλάσμα του αρχικού ασκού να κατευθυνθεί στον ασκό ακτινοβόλησης.

5. Κατά τη πορεία του προς το ασκό ακτινοβόλησης, το πλάσμα διέρχεται από το φίλτρο Plasmaflex το οποίο πραγματοποιεί λευκαφαίρεση, καθώς και από ένα σημείο του PVC σωληνίσκου όπου περιέχεται λυοφιλοποιημένο χάπι μπλε του μεθυλενίου.
6. Πρέπει να διασφαλιστεί ότι το φίλτρο Plasmaflex έχει αδειάσει πλήρως, αλλά και ότι το χάπι του μπλε του μεθυλενίου έχει ανασυσταθεί πλήρως με το πλάσμα εντός του ασκού ακτινοβόλησης, πριν να αποσυνδεθεί με θερμοσυγκόλληση ο αρχικός ασκός πλάσματος.
7. Πραγματοποιείται ήπια ανάδευση του πλάσματος στον τελικό ασκό ακτινοβόλησης για καλή ανάμειξη πλάσματος-μπλε του μεθυλενίου και στη συνέχεια πιέζουμε ελαφρά τον ασκό για να κατευθυνθεί ο περιττός αέρα προς τα πάνω. Αφού απορριφθεί πλήρως ο περιττός αέρας, αφαιρείται ο αρχικός ασκός.
8. Βεβαιώνεται η σωστή ανάμειξη του μπλε του μεθυλενίου με το πλάσμα, με μακροσκοπική παρατήρηση του ασκού και ακολουθεί τοποθέτηση του ασκού εντός του αναλυτή αδρανολογίας.
9. Η τοποθέτηση του ασκού στον αναλυτή MacoTronic B2 καθώς και η πραγματοποίηση της αδρανολογίας πρέπει να γίνει εντός 90 λεπτών από την ανάμειξη του πλάσματος με το μπλε του μεθυλενίου.
10. Εκτυπώνεται ειδική ετικέτα των στοιχείων του ασκού, η οποία τοποθετείται στον τελικό ασκό αποθήκευσης και τοποθετείται το σύστημα ασκών εντός αναλυτή, χωρίς να παρεμβάλλεται κάποιο σωληνάριο στην επιφάνεια όπου πρόκειται να πέσει η δέσμη φωτός.
11. Με την ολοκλήρωση της ακτινοβόλησης πρέπει να πραγματοποιηθεί διαχωρισμός του πλάσματος και του μπλε του μεθυλενίου, μέσω διέλευσης του πλάσματος από το φίλτρο Blueflex.
12. Ο μέγιστος χρόνος πραγματοποίησης του διαχωρισμού μετά από την αδρανολογία είναι 60 λεπτά.
13. Κατά τη δίοδο του πλάσματος από το φίλτρο Blueflex, πραγματοποιείται μεταβολή του χρώματος του πλάσματος και με το πλήρες άδειασμα του φίλτρου ακολουθεί απόρριψη περιττού αέρα και αφαίρεση του ασκού ακτινοβόλησης με θερμοσυγκόλληση.

14. Ο τελικός ασκός αποθήκευσης ψύχεται στις προβλεπόμενες συνθήκες αποθήκευσης του FFP.



Εικόνα 21. Αναλώσιμο κίτ αδρανοποίησης πλάσματος που χρησιμοποιείται στο THERAFLEX-MB Plasma System (η εικόνα προέρχεται από το εγχειρίδιο χρήσης του THERAFLEX-MB Plasma System).

5.3. Αδρανοποίηση παθογόνων με το THERAFLEX-MB Plasma System

Η ικανότητα αδρανοποίησης βακτηρίων του συγκεκριμένου συστήματος, δεν εμφανίζει μεγάλο εύρος όπως έχει παρουσιαστεί στα προηγούμενα συστήματα. Ωστόσο είναι σε θέση να αδρανοποιήσει τα βασικά παθογόνα βακτήρια που αδρανοποιεί η πλειοψηφία των συστημάτων. Τα βακτήρια που αδρανοποιούνται μέσω του THERAFLEX-MB Plasma system παρουσιάζονται στον Πίνακα 16 [249].

Πίνακας 16. Βακτήρια που αδρανοποιούνται μέσω του συστήματος THERAFLEX MB-Plasma System και η λογαριθμική μείωση που υφίστανται.

| Βακτηριακό είδος | Λογαριθμική μείωση |
|----------------------------|--------------------|
| Escherichia coli | ≥ 4.8 |
| Staphylococcus epidermidis | ≥ 4.9 |
| Staphylococcus aureus | ≥ 4.8 |
| Bacillus cereus | ≥ 4.8 |

| | |
|-------------------------------|-------|
| Klebsiella pneumoniae | ≥ 4.8 |
| Bacillus subtilis | ≥ 4.7 |
| Brevundimonas diminuta | ≥ 4.0 |

Η αδρανοποίηση ιών περιλαμβάνει ένα μεγαλύτερο «κατάλογο» παθογόνων, έναντι των οποίων μπορεί να δράσει ο συνδυασμός του μπλε του μεθυλενίου με το ορατό φως. Η ενεργοποίηση του μπλε του μεθυλενίου από ορατό φως, οδηγεί στον σχηματισμό μονατομικού οξυγόνου με αποτέλεσμα την οξείδωση της γουανίνης, τη καταστροφή των νουκλεϊκών οξέων των ιών και την αναστολή της αντιγραφής τους. Επιπλέον, πειράματα βασισμένα στον HIV ανέδειξαν ότι το μπλε του μεθυλενίου μπορεί να κινηθεί εναντίον του πυρηνικού φακέλου, των πρωτεϊνών του πυρήνα και του ενζύμου αντίστροφη μεταγραφάση. Η λογαριθμική μείωση των ιών που φέρουν φάκελο είναι ιδιαιτέρως καλή και μπορούν να αδρανοποιηθούν επιτυχώς οι HIV, HBV και HCV (για την αδρανοποίηση των δύο τελευταίων έχει χρησιμοποιηθεί ως μοντέλο ο ιός PRV που προκαλεί τη νόσο Aujeszky). Επίσης, μπορεί να αδρανοποιηθεί και ο ιός του Δυτικού Νείλου, ένα από τα σημαντικότερα παθογόνα που έχει αυξηθεί σημαντικά η συχνότητα εμφάνισης του τα τελευταία χρόνια. Η λογαριθμική μείωση που παρατηρείται στους ιούς χωρίς φάκελο είναι καλή, αλλά σχετικά χαμηλότερη συγκριτικά με τους ιούς που διαθέτουν φάκελο. Το σύνολο των ιών που αδρανοποιούνται μαζί με τη λογαριθμική τους μείωση παρουσιάζονται στον Πίνακα 17 [249].

Έρευνα σε *in vitro* καλλιέργειες ποντικών έχουν εμφανίσει ικανοποιητική λογαριθμική μείωση του παρασίτου *Trypanosoma cruzi*, με τα αποτελέσματα της έρευνας να υποδεικνύουν ότι το THERAFLEX-MB Plasma System ίσως να δύναται να χρησιμοποιηθεί για την αντιμετώπιση της σχετιζόμενης με μετάγγιση νόσου Chagas. Η αποτελεσματικότητα του μπλε του μεθυλενίου στην αδρανοποίηση του πλασμάδιου της ελονοσίας ακόμα δεν έχει διερευνηθεί, μιας και η διαδικασία της λευκαφαίρεσης καθώς και οι διαδικασίες ψύξης-απόψυξης του πλάσματος αναστέλλουν τον πολλαπλασιασμό του [249].

Πίνακας 17. Ιοί με ή χωρίς φάκελο που αδρανοποιούνται απο το THERAFLEX-MB Plasma System, η οικογένεια που ανήκουν και η λογαριθμική μείωση που εμφανίζουν.

| Ιοί με φάκελο | Οικογένεια | Λογαριθμική μείωση |
|---|----------------|--------------------|
| Ιός Sindbis (SINV) | Τογκαϊός | ≥ 9.7 |
| Έρπης των βοοειδών (BoHV1) | Ερπητοϊός | ≥ 8.1 |
| Ιός του δάσους Semilki (SFV) | Τογκαϊός | ≥ 7.0 |
| Ιός Chikungunya (CHIKV) | Τογκαϊός | ≥ 6.6 |
| Ιός της ηπατίτιδας πάπιας B (DHBV) | Hepadnaviridae | ≥ 6.0 |
| Ιός του πυρετού των χοίρων, χολέρα χοίρου (CSFV) | Φλαβοϊός | ≥ 5.9 |
| Ιός του Δυτικού Νείλου (WNV) | Φλαβοϊός | ≥ 5.8 |
| Ιός Ζίκα (ZIKV) | Φλαβοϊός | ≥ 5.7 |
| HIV-1 | Ρετροϊός | ≥ 5.5 |
| Ιός της νόσου Aujeszky (PRV) | Ερπητοϊός | ≥ 5.5 |
| Ιός του απλού έρπητα (HHV1) | Ερπητοϊός | ≥ 5.5 |
| Ιός διάρροιας βοοειδών (BVDV) | Φλαβοϊός | ≥ 5.4 |
| Ιός της γρίπης A (H ₁ N ₁) | Ορθομυξοϊός | ≥ 5.1 |
| Ιός της μολυσματικής βρογχίτιδας των πτηνών (IBV) | Κοροναϊός | ≥ 4.9 |
| Ιός της λύσσας (VSV) | Ραβδοϊός | ≥ 4.9 |

| | | |
|---|-------------|---------------|
| Ιός του Δάγκειου πυρετού (DENV) | Φλαβοϊός | ≥ 4.5 - ≥ 5.8 |
| Ιός της γρίπης Α (H ₃ N ₂) | Ορθομυξοϊός | ≥ 4.4 |
| Κυτταρομεγαλοϊός (CMV) | Ερπητοϊός | ≥ 4.1 |
| Ιός της ηπατίτιδας C (HCV) | Φλαβοϊός | ≥ 3.8 |
| Ιοί χωρίς φάκελο | | |
| Ανθρώπινος αδενοϊός 5 (HAdV-5) | Αδενοϊός | ≥ 5.3 |
| Παρβοϊός B19 | Παρβοϊός | ≥ 5.0 |
| Ιός Simian 40 (SV40) | Πολυομαϊός | ≥ 4.0 |
| Feline calicivirus (FCV) | Καλισιϊός | ≥ 3.9 |

5.4.Μπλε του μεθυλενίου

Το μπλε του μεθυλενίου (MB) δημιουργήθηκε το 1876 από τον Heinrich Caro και αποτελεί χρώση φαινοθειαζίνης. Σημαντικά ιστορικά γεγονότα της χρωστικής αυτής αποτελούν , η χρησιμοποίηση της το 1891 για τη θεραπεία της ελονοσίας σε δύο ασθενείς, η επιτυχής απενεργοποίηση του ιού HSV ύστερα από συνδυασμό μπλε του μεθυλενίου με ορατό φώς το 1928, καθώς και η ανακάλυψη ότι μπορεί να κινηθεί εναντίον νουκλεϊκών οξέων παθογόνων μικροοργανισμών παρουσία οξυγόνου, η οποία πραγματοποιήθηκε το 1956 [135]. Η ικανότητα του μπλε του μεθυλενίου να επιφέρει αδρανοποίηση ιών σε μονάδες πλάσματος περιγράφηκε για πρώτη φορά το 1991 [250]. Η χρήση του πέρα από την αδρανοποίηση, επεκτείνεται και στη χορήγηση του ως αντισηπτικό/απολυμαντικό εκ στόματος καθώς και στην αντιμετώπιση

δηλητηρίασης από νιτρικά άλατα. Επιπλέον, χρησιμοποιείται στη θεραπεία της μεθαιμοσφαιριναιμίας και μέχρι στιγμής δεν έχουν καταγραφεί οξείες αντιδράσεις από μακροχρόνια χρήση του μπλε του μεθυλενίου [135].

5.5.Μηχανισμός δράσης του μπλε του μεθυλενίου

Το μπλε του μεθυλενίου μπορεί να προσδεθεί στο DNA με δύο διαφορετικούς τρόπους, αναλόγως με την ιοντική ισχύ και τη συγκέντρωση ιόντων Mg^{2+} . Μπορεί είτε να προσδεθεί στην εξωτερική έλικα του DNA, είτε να παρεμβάλλεται μεταξύ των βάσεων της έλικας του DNA. Ο ακριβής μηχανισμός δράσης περιλαμβάνει την επιλεκτική διάσπαση βάσεων γουανίνης. Σε αναερόβιες συνθήκες, πραγματοποιείται μεταφορά ηλεκτρονίων η οποία αρχικά οδηγεί στη διάσπαση φωσφοδιεστερικών δεσμών και εν συνεχεία στον αποχωρισμό των δύο αλυσίδων, ενώ σε αερόβιες συνθήκες σχηματίζονται δραστικά είδη οξυγόνου (ROS). Η μέγιστη απορρόφηση του μπλε του μεθυλενίου είναι 620-670 nm και όταν εκτεθεί σε φως εντός των συγκεκριμένων ορίων μπορεί να δημιουργηθεί αντίδραση Τύπου I (αντίδραση οξειδοαναγωγής) ή Τύπου II (φώτο - οξειδωτική αντίδραση) [135].



Εικόνα 22. Μηχανισμός δράσης του μπλε του μεθυλενίου σε συνδυασμό με την παρουσία ορατού φωτός (η εικόνα προέρχεται από τη σελίδα της Macopharma, [<https://blood-safety.macopharma.com/en/category/products/theraflex-mb-plasma-products>])

5.6.Τοξικές επιδράσεις του μπλε του μεθυλενίου

Μονάδες πλάσματος στις οποίες έχει προστεθεί μπλε του μεθυλενίου, έχουν υποστεί εκτενείς τοξικολογικές εξετάσεις. Οι τοξικολογικές αυτές εξετάσεις έχουν πραγματοποιηθεί με σκοπό να προσδιοριστεί το μέγιστο περιθώριο ασφαλούς χορήγησης του μπλε του μεθυλενίου, το οποίο θα συμβάλλει και στη καλύτερη ενημέρωση των κλινικών ερευνητών. Οι περισσότεροι έλεγχοι έχουν πραγματοποιηθεί σε πειραματόζωα και έχουν αναδείξει περιορισμένη τοξικότητα και μέχρι στιγμής δεν έχει παρατηρηθεί νέο-αντιγονικότητα ή γονοτοξικότητα. Επιπλέον σε ποντίκια χορηγήθηκαν μονάδες πλάσματος που έφεραν δεκαπλάσια ποσότητα μπλε του μεθυλενίου, χωρίς να παρατηρείται κάποιο φαινόμενο δερματικής αναφυλαξίας [251]. Παρόλα αυτά ο προσδιορισμός της τοξικότητας του μπλε του μεθυλενίου στους ανθρώπους, αναμένεται να διαπιστωθεί πλήρως μέσω της συνεχούς αιμοεπαγρύπνησης.

5.7.Επιπτώσεις του THERAFLEX-MB Plasma System στο πλάσμα

Παρατηρείται μερική απώλεια της λειτουργικότητας των παραγόντων πήξης, η οποία οφείλεται κυρίως στην οξείδωση των πρωτεϊνών κατά τη διάρκεια της ακτινοβολήσης του πλάσματος [252]. Η μείωση της λειτουργικότητας δεν εμφανίζει κάποια συσχέτιση με τις διαδικασίες ψύξης-απόψυξης, λευκαφαίρεσης μέσω του Plasmaflex ή αφαίρεση της χρωστικής μέσω του Blueflex, μιας και σε αυτές τις περιπτώσεις η μείωση που παρατηρείται μπορεί να θεωρηθεί και αμελητέα [253]. Οι παράγοντες FVIII και ινωδογόνο – που αποτελούν της συνηθέστερες παραμέτρους αξιολόγησης της λειτουργικότητας του πλάσματος – παρουσιάζουν μείωση σε ποσοστό 10-35%. Σε σύγκριση με μη αδρανοποιημένους ασκούς πλάσματος, ασκοί που έχουν αδρανοποιηθεί με προσθήκη μπλε του μεθυλενίου δεν εμφανίζουν κάποια διαφορά στη παραγωγή θρομβίνης. Οι απώλειες που εμφανίζουν οι υπόλοιποι παράγοντες

πήξης είναι χαμηλότερες, ενώ πολύ μικρή είναι η επίδραση στις πρωτεΐνες C και S, στην αντιθρομβίνη III και στο πλασμινογόνο [252].

Δεδομένα που συλλέχθηκαν από 110.000 μονάδες πλάσματος που είχαν αδρανοποιηθεί με προσθήκη μπλε του μεθυλενίου, παρουσίασαν μείωση των επιπέδων FVIII, η οποία ωστόσο παρέμεινε εντός των αποδεκτών ορίων [254]. Επίσης μονάδες κρουϊζήματος που έχουν προέλθει από FFP αδρανοποιημένο με μπλε του μεθυλενίου, παρουσιάζουν έκπτωση ινωδογόνου και FVIII της τάξης του 20-40% [255].

Συμπεράσματα

Η εφαρμογή των μεθόδων αδρανοποίησης παθογόνων καθιστούν τη διαδικασία της μετάγγισης σαφώς ασφαλέστερη απ' ό,τι στο παρελθόν. Όλα τα συστήματα που παρουσιάστηκαν, επιτυγχάνουν την αδρανοποίηση των επικρατέστερων παθογόνων που συνιστούν απειλή για την αιματική ροή. Τα συστήματα Intercept Blood System και Mirasol PRT System, είναι εκείνα που τα οποία επιφέρουν τη μεγαλύτερη μείωση των παθογόνων και είναι ικανά να αδρανοποιήσουν ένα αρκετά μεγάλο εύρος εξ αυτών. Τα δύο συστήματα της Macopharma, το THERAFLEX-UV Platelets System και το THERAFLEX-MB Plasma System, τείνουν να βρίσκονται σε αντιπαράλληλη κατεύθυνση. Το THERAFLEX-UV Platelets System μπορεί να αδρανοποιήσει έναν αρκετά μεγάλο αριθμό βακτηρίων, ωστόσο η ικανότητα του να αδρανοποιήσει έναν αντιστοίχως μεγάλο αριθμό ιών προς το παρόν τίθεται υπό διερεύνηση. Όσον αφορά το THERAFLEX-MB Plasma System είναι εφικτή η αδρανοποίηση μιας πληθώρας ιών, ενώ η αδρανοποίηση βακτηρίων περιορίζεται μόνο στα βασικά βακτήρια.

Πέρα από την αδρανοποίηση παθογόνων, τα συστήματα αδρανοποίησης επιφέρουν και ορισμένες αλλοιώσεις στα αιμοπετάλια και στο πλάσμα. Σε γενικές γραμμές οι αλλοιώσεις που παρατηρούνται από όλα τα συστήματα είναι αποδεκτές μιας και παραμένουν εντός ορίων. Οι περισσότερες παράμετροι κυμαίνονται σε τιμές παραπλήσιες με αυτές των control που χρησιμοποιούνται, ωστόσο οι μέθοδοι αδρανοποίησης τείνουν να επιτυγχάνουν αλλοιώσεις οι οποίες χωρίς την εφαρμογή τους θα εμφανίζονταν μεταγενέστερα κατά την αποθήκευση των παραγώγων. Εκ των

τεσσάρων συστημάτων που παρουσιάστηκαν, τα THERAFLEX-UV Platelets System και THERAFLEX-MB Plasma System εμφάνισαν τις λιγότερες αρνητικές επιδράσεις, όμως αμφότερα βρίσκονται υπο διερεύνηση και δεν εφαρμόζονται σε καθημερινή βάση. Όσον αφορά τους δύο «πυλώνες» των μεθόδων αδρανοποίησης παθογόνων, δηλαδή το Intercept Blood System και το Mirasol PRT System, η επίδραση τους στο πλάσμα κρίνεται ανεκτή για τη διασφάλιση της ποιότητας του παραγώγου, ενώ και τα δύο συστήματα έχουν μεγαλύτερη επίδραση στα αιμοπετάλια. Η επίδραση του Mirasol PRT System στα αιμοπετάλια αξίζει περαιτέρω διερεύνηση, μιας και αρκετές παράμετροι που απαιτούνται για τη διατήρηση της θεραπευτικής ιδιότητας των αιμοπεταλίων κυμαίνονται σε επίπεδα που εγείρουν προβληματισμό.

Εν κατακλείδι, οι μέθοδοι αδρανοποίησης παθογόνων είναι ιδιαίτερες αποτελεσματικές στο ρόλο τους. Ωστόσο πρέπει να ληφθούν υπόψη οι αλλοιώσεις που παρατηρούνται και να αποτελέσουν το κέντρο ενδιαφέροντος μελλοντικών ερευνών, προκειμένου να διασφαλιστεί η θεραπευτική ιδιότητα των αδρανοποιημένων παραγώγων.

Βιβλιογραφία

- 1) Learoyd, P. The history of blood transfusion prior to the 20th century - Part 1. *Transfusion Medicine*. 2012;22(5):308–314.
- 2) Ransfusion T, Edicine M, Lood B, et al. First of Two Parts TRENDS IN BLOOD USE AND COLLECTION. Published online 1999.
- 3) Learoyd P. The history of blood transfusion prior to the 20th century-part 2. *Transfus Med*. 2012;22(6):372-376.
- 4) Freedman J. Transfusion - Whence and why. *Transfus Apher Sci*. 2014;50(1):5-9.
- 5) Farrugia A, Starr D. Where now for transfusion: The evolution of a paradigm and its logical progression. *Transfusion*. 2016;56:S224-S232.
- 6) Grindon AJ. Brief History of Blood Transfusion. *Transfusion medicine and hemostasis* 2009;9-11.
- 7) Rebullia P. The long and winding road to pathogen reduction of platelets, red blood cells and whole blood. *Br J Haematol*. 2019;186(5):655-667.

- 8) Robinson S, Harris A, Atkinson S, et al. The administration of blood components: a British Society for Haematology Guideline. *Transfus Med.* 2018;28(1):3-21.
- 9) Chiaramonte D. Blood-component therapy: Selection, administration and monitoring. *Clin Tech Small Anim Pract.* 2004;19(2):63-67.)
- 10) Cap AP, Beckett A, Benov A, et al. Whole blood transfusion. *Mil Med.* 2018;183(1):44-51.
- 11) Κριεμπάρδης Α : Τεχνικές Λήψης Βιολογικών Υλικών. Ιατρικές Εκδόσεις Λαγός Δημήτριος. Αθήνα 2011: Σελ 41-45.
- 12) Spinella PC, Cap AP. Whole blood: Back to the future. *Curr Opin Hematol.* 2016;23(6):536-542.
- 13) Hughes JD, Macdonald VW, Hess JR: Warm storage of whole blood for 72hours. *Transfusion* 2007;47(11):2050-6
- 14) Repine TB, Perkins JG, Kauvar DS, Blackburne L. The use of fresh whole blood in massive transfusion. *J Trauma - Inj Infect Crit Care.* 2006;60(6 SUPPL.).
- 15) Fasano R, Luban NLC. Blood Component Therapy. *Pediatr Clin North Am.* 2008;55(2):421-445.
- 16) Πάγκαλης Γ.Α: Αιματολογία στην κλινική πράξη. Ιατρικές Εκδόσεις Π.Χ Πασχαλίδης. Αθήνα 2008: Σελ 1039-1081.
- 17) Sharma S, Sharma P, Tyler LN. Transfusion of blood and blood products: Indications and complications. *Am Fam Physician.* 2011;83(6):719-724.
- 18) Duguid J, O'Shaughnessy DF, Atterbury C, et al. Guidelines for the use of fresh-frozen plasma, cryoprecipitate and cryosupernatant. *Br J Haematol.* 2004;126(1):11-28.
- 19) Dombourian M, Holland L. Optimal use of fresh frozen plasma. *J Infus Nurs.* 2012;35(1):28-32.
- 20) Wardrop KJ, Brooks MB. Stability of Hemostatic Proteins in Canine Fresh Frozen Plasma Units. *Vet Clin Pathol.* 2001;30(2):91-95.
- 21) Identification PB, Harel M, Geiger T. Standard Operating Procedures for Plasma Collection in Clinical Research. 2017;1619:477-486.
- 22) Tynngård N. Preparation, storage and quality control of platelet concentrates. *Transfus Apher Sci.* 2009;41(2):97-104.

- 23) Vassallo RR, Murphy S. A critical comparison of platelet preparation methods. *Curr Opin Hematol*. 2006;13(5):323-330.
- 24) Taylor DD, Zacharias W, Gercel-taylor C. Serum/Plasma Proteomics. *Methods Mol Biol*. 2011;728(1):235-246.
- 25) Callum JL, Karkouti K, Lin Y. Cryoprecipitate: The Current State of Knowledge. *Transfus Med Rev*. 2009;23(3):177-188.
- 26) Divers TJ. Blood component transfusions. *Vet Clin North Am - Food Anim Pract*. 2005;21(3):615-622.
- 27) Weymouth W, Long B, Koyfman A, Winckler C. Whole Blood in Trauma: A Review for Emergency Clinicians. *J Emerg Med*. 2019;56(5):491-498.
- 28) Liumbruno G, Bennardello F, Lattanzio A, Piccoli P, Rossetti G. Recommendations for the transfusion of red blood cells. *Blood Transfus*. 2009;7(1):49-64.
- 29) Hébert PC, Wells G, Blajchman MA, et al. A multicenter, randomized, controlled clinical trial of transfusion requirements in critical care. Transfusion Requirements in Critical Care Investigators, Canadian Critical Care Trials Group [published correction appears in *N Engl J Med*. 1999;340(13):1056]. *N Engl J Med*. 1999;340(6):409-417.)
- 30) Napolitano LM. Anemia and Red Blood Cell Transfusion: Advances in Critical Care. *Crit Care Clin*. 2017;33(2):345-364.
- 31) Stanworth SJ, Hyde CJ, Murphy MF. Evidence for indications of fresh frozen plasma. *Transfus Clin Biol*. 2007;14(6):551-556.
- 32) Shah A, Stanworth SJ, McKechnie S. Evidence and triggers for the transfusion of blood and blood products. *Anaesthesia*. 2015;70:10-19.
- 33) Liumbruno G, Bennardello F, Lattanzio A, Piccoli P, Rossetti G. Recommendations for the transfusion of plasma and platelets. *Blood Transfus*. 2009;7(2):132-150.
- 34) Squires JE. Indications for platelet transfusion in patients with thrombocytopenia. *Blood Transfus*. 2015;13(2):221-226.
- 35) Slichter SJ. Evidence-based platelet transfusion guidelines. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. Published online 2007:172-178.

- 36) Slichter SJ. Platelet Transfusion Therapy. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2007;21(4):697-729.
- 37) Thiagarajan P, Afshar-Kharghan V. Platelet transfusion therapy. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2013;27(3):629-643.
- 38) Anderson MA, Glazebrook B, Cutts B, Stevenson L, Bielby L, Borosak M. When do we transfuse cryoprecipitate? *Intern Med J.* 2013;43(8):896-902.
- 39) Nascimento B, Goodnough LT, Levy JH. Cryoprecipitate therapy. *Br J Anaesth.* 2014;113(6):922-934.
- 40) Popovsky MA, Robillard P, Schipperus M, Stainsby D, Tissot JD, Wierum J. ISBT Working Party on Haemovigilance. Proposed standard definitions for surveillance of noninfectious adverse transfusion reactions. 2006
- 41) Sahu S,H, Verma A. Adverse events related to blood transfusion. *Indian J Anaesth* 2014;58:543-51
- 42) Delobel J, Garraud O, Barelli S, Lefrère JJ, Prudent M, Lion N, Tissot JD. Storage lesion: History and perspectives. *World J Hematol* 2015; 4(4): 54-68
- 43) Aubron C, Aries P, Le Niger C, Sparrow RL, Ozier Y. How clinicians can minimize transfusion-related adverse events? *Transfus Clin Biol.* 2018;25(4):257-261.
- 44) Osterman JL, Arora S. Blood Product Transfusions and Reactions. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2017;31(6):1159-1170.
- 45) Vamvakas E, Blajchman M. Transfusion-related mortality: the ongoing risks of allogeneic blood transfusion and the available strategies for their prevention. *Blood* 2009;113:3406–17
- 46) Squires JE. Risks of transfusion. *South Med J.* 2011;104(11):762-769.
- 47) Panch SR, Montemayor-Garcia C, Klein HG. Hemolytic transfusion reactions. *N Engl J Med.* 2019;381(2):150-162.
- 48) Davenport RD. Pathophysiology of hemolytic transfusion reactions. *Semin Hematol* 2005; 42: 165-8.
- 49) Zimring JC, Spitalnik SL. Pathobiology of transfusion reactions. *Annu Rev Pathol* 2015; 10: 83-110
- 50) Heddle NM, Blajchman MA, Meyer RM, et al. A randomized controlled trial comparing the frequency of acute reactions to plasma-removed platelets and prestorage WBC-reduced platelets. *Transfusion* 2002;42:556–66

- 51) Goel R, Tobian AAR, Shaz BH. Noninfectious transfusion-associated adverse events and their mitigation strategies. *Blood*. 2019;133(17):1831-1839.
- 52) Frazier SK, Higgins J, Bugajski A, Jones AR, Brown MR. Adverse Reactions to Transfusion of Blood Products and Best Practices for Prevention. *Crit Care Nurs Clin North Am*. 2017;29(3):271-290.
- 53) Delaney M, Wendel S, Bercovitz RS, et al. Transfusion reactions: prevention, diagnosis, and treatment. *Lancet*. 2016;388(10061):2825-2836.
- 54) Saadah NH, van der Bom JG, Wiersum-Osselton JC, et al. Comparing transfusion reaction risks for various plasma products - an analysis of 7 years of ISTARE haemovigilance data. *Br J Haematol*. 2018;180(5):727-734
- 55) Savage WJ. Transfusion Reactions. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2016;30(3):619-634.
- 56) Tinegate H, Birchall J, Gray A, et al, and the BCSH Blood Transfusion Task Force. Guideline on the investigation and management of acute transfusion reactions. Prepared by the BCSH Blood Transfusion Task Force. *Br J Haematol* 2012; 159: 143–53.
- 57) Allain JP, Stramer SL, Carneiro-Proietti ABF, et al. Transfusion-transmitted infectious diseases. *Biologicals*. 2009;37(2):71-77.
- 58) Laperche S, Tiberghien P, Roche-Longin C, Pillonel J. Fifteen years of Nucleic Acid Testing in France: Results and lessons. *Transfus Clin Biol*. 2017;24(3):182-188.
- 59) Alter HJ, Harvey GK. The hazards of blood transfusion in historical perspective. *Blood*. 2008;112(7):2617-2626.
- 60) Ainley LI, Hewitt PE. Haematology patients and the risk of transfusion transmitted infection. *Br J Haematol*. 2018;180(4):473-483.
- 61) Colpitts TM, Conway MJ, Montgomery RR, Fikrig E. West Nile virus: Biology, transmission, and human infection. *Clin Microbiol Rev*. 2012;25(4):635-648.
- 62) Petersen LR, Brault AC, Nasci RS. West Nile virus: Review of the literature. *JAMA - J Am Med Assoc*. 2013;310(3):308-315.
- 63) Owusu-Ofori S, Allain J-P & Owusu-Ofori A. Prevention of transfusion-transmitted malaria. ISBT Science series.2016;12:161-167

- 64) Garraud O, Sut C, Haddad A, et al. Transfusion-associated hazards: A revisit of their presentation. *Transfus Clin Biol.* 2018;25(2):118-135.
- 65) Bisk E.K, Moritz E.D, El-Amine H, Bish D.R & Stramer S.L. Cost-effectiveness of Babesia microtii antibody and nucleic acid blood donation screening using results from prospective investigational studies. *Transfusion.* 2015;55:2256-2271.
- 66) Angheben A, Boix L, Buonfrate D, Gobbi F, Bisoffi Z, Pupella S, et al. Chagas disease and transfusion medicine: a perspective from non endemic countries. *Blood Transfusion* 2015;13:540-50.
- 67) Fang DC, McCullough J. Transfusion-Transmitted Babesia microti. *Transfus Med Rev.* 2016;30(3):132-138.
- 68) Lefrere JJ, Hewitt P. From mad cows to sensible blood transfusion: the risk of prion transmission by labile blood components in the United Kingdom and in France. *Transfusion* 2009;49:797-812.
- 69) Otrrock ZK, Liu C, Grossman BJ. Transfusion-related acute lung injury risk mitigation: an update. *Vox Sang.* 2017;112(8):694-703.
- 70) Bux J. Transfusion-related acute lung injury (TRALI): A serious adverse event of blood transfusion. *Vox Sang.* 2005;89(1):1-10.
- 71) Roubinian N. TACO and TRALI: Biology, risk factors, and prevention strategies. *Hematol (United States).* 2018;2018(1):585-594.
- 72) Andreu G, Boudjedir K, Muller JY, et al. Analysis of Transfusion-Related Acute Lung Injury and Possible Transfusion-Related Acute Lung Injury Reported to the French Hemovigilance Network From 2007 to 2013. *Transfus Med Rev.* 2018;32(1):16-27.
- 73) Silliman CC: The two-event model of transfusion-related acute lung injury. *Crit Care Med* 2006; 34(5 Suppl): S124–S131.
- 74) Peters AL, Van Stein D, Vlaar APJ. Antibody-mediated transfusion-related acute lung injury; from discovery to prevention. *Br J Haematol.* 2015;170(5):597-614.
- 75) Silliman CC, Voelkel NF, Allard JD, et al.: Plasma and lipids from stored packed red blood cells cause acute lung injury in an animal model. *J Clin Invest* 1998; 101:1458–1467.

- 76) Khan SY, Kelher MR, Heal JM, Blumberg N, Boshkov LK, Phipps R, et al. Soluble CD40 ligand accumulates in stored blood components, primes neutrophils through CD40, and is a potential cofactor in the development of transfusion-related acute lung injury. *Blood* 2006;108:2455–62.
- 77) Peters AL, van Hezel ME, Juffermans NP, Vlaar APJ. Pathogenesis of non-antibody mediated transfusion-related acute lung injury from bench to bedside. *Blood Rev.* 2015;29(1):51-61.
- 78) Semple JW, Rebetz J, Kapur R. Transfusion-associated circulatory overload and transfusion-related acute lung injury. *Blood.* 2019;133(17):1840-1853.
- 79) Padhi P, Parihar GS, Stepp J, Kaplan R. Post-transfusion purpura: A rare and life-threatening aetiology of thrombocytopenia. *BMJ Case Rep.* 2013;(June 2012):2012-2014.
- 80) Rafei H, Yunus R, Nassereddine S. Post-Transfusion Purpura: A Case Report of an Underdiagnosed Phenomenon. *Cureus.* 2017;9(5):1-6.
- 81) Metcalfe P. Platelet antigens and antibody detection. *Vox Sang* 2004;87(s1):82-86.
- 82) Shtalrid M, Shvidel L, Vorst E, Weinmann EE, Berrebi A, Sigler E. Post-transfusion purpura: A challenging diagnosis. *Isr Med Assoc J.* 2006;8(10):672-674.
- 83) De Kruijff E, Van Gammeren AJ, Porcelijn L, Van Esser JWJ. Post-transfusion purpura in a woman with acute myeloid leukemia. *Neth J Med.* 2019;77(2):81-83.
- 84) Menis M, Forshee RA, Anderson SA, et al. Posttransfusion purpura occurrence and potential risk factors among the inpatient US elderly, as recorded in large Medicare databases during 2011 through 2012. *Transfusion.* 2015;55(2):284-295.
- 85) Porter JB, de Witte T, Cappellini MD, Gattermann N. New insights into transfusion-related iron toxicity: Implications for the oncologist. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2016;99:261-271.
- 86) Coates TD, Wood JC. How we manage iron overload in sickle cell patients. *Br J Haematol.* 2017;177(5):703-716.

- 87) Lindsey WT, Olin BR. Deferasirox for Transfusion-Related Iron Overload: A Clinical Review. *Clin Ther*. 2007;29(10):2154-2166.
- 88) Josephson, C.D. Febrile Non-hemolytic Transfusion Reactions. *Transfusion Medicine and Hemostasis*.2009:309-310.
- 89) Menis M, Forshee RA, Anderson SA, et al. Febrile non-haemolytic transfusion reaction occurrence and potential risk factors among the U.S. elderly transfused in the inpatient setting, as recorded in Medicare databases during 2011-2012. *Vox Sang*. 2015;108(3):251-261.
- 90) Mourad Z, Hassab H, Younan D, Abdo A. Human leucocyte antigen alloimmunisation in repeatedly transfused thalassaemic Egyptian children and its relation to febrile non-haemolytic transfusion reactions. *Transfus Med*. 2015;25(6):380-384.
- 91) Wallis JP. Transfusion practice. *Transfus Med*. 2009;19(6):303.
- 92) Youssef LA, Spitalnik SL. Transfusion-related immunomodulation: A reappraisal. *Curr Opin Hematol*. 2017;24(6):551-557.
- 93) Remy KE, Hall MW, Cholette J, et al. Mechanisms of red blood cell transfusion-related immunomodulation. *Transfusion*. 2018;58(3):804-815.
- 94) Vamvakas EC, Blajchman MA. Transfusion-related immunomodulation (TRIM): An update. *Blood Rev*. 2007;21(6):327-348.
- 95) Muszynski JA, Spinella PC, Cholette JM, et al. Transfusion-related immunomodulation: review of the literature and implications for pediatric critical illness. *Transfusion*. 2017;57(1):195-206.
- 96) Almizraq RJ, Seghatchian J, Acker JP. Extracellular vesicles in transfusion-related immunomodulation and the role of blood component manufacturing. *Transfus Apher Sci*. 2016;55(3):281-291.
- 97) Rühl H, Bein G, Sachs UJH. Transfusion-Associated Graft-Versus-Host Disease. *Transfus Med Rev*. 2009;23(1):62-71.
- 98) Sunul H, Erguven N. Transfusion-associated graft-versus-host disease. *Transfus Apher Sci*. 2013;49(2):331-333.
- 99) Jawa RS, Young DH, Stothert JC, Kulaylat MN, Landmark JD. Transfusion-associated graft versus host disease in the immunocompetent patient: An ongoing problem. *J Intensive Care Med*. 2015;30(3):123-130.

- 100) Dwyre DM, Holland P V. Transfusion-associated graft-versus-host disease. *Vox Sang*. 2008;95(2):85-93.
- 101) Kleinman S, Stassinopoulos A. Transfusion-associated graft-versus-host disease reexamined: potential for improved prevention using a universally applied intervention. *Transfusion*. 2018;58(11):2545-2563.
- 102) Gokhale SG, Gokhale SS. Transfusion-associated graft versus host disease (TAGVHD)-with reference to neonatal period. *J Matern Neonatal Med*. 2015;28(6):700-704.
- 103) Anonymous. Transfusions and graft-versus-host disease [Editorial]. *Lancet*. 1989;1(8637):529-530.
- 104) Fast LD. Developments in the prevention of transfusion-associated graft-versus-host disease. *Br J Haematol*. 2012;158(5):563-568.
- 105) Bosboom JJ, Klanderma RB, Migdady Y, et al. Transfusion-Associated Circulatory Overload: A Clinical Perspective. *Transfus Med Rev*. 2019;33(2):69-77.
- 106) International Society of Blood Transfusion Proposed standard definitions for surveillance of non infectious adverse transfusion reactions. International Haemovigilance Network, 2011
- 107) Lin Y, Cohen R, Armali C, et al. Transfusion-associated circulatory overload prevention: a retrospective observational study of diuretic use. *Vox Sang*. 2018;113(4):386-392.
- 108) Blumberg N, Heal JM, Gettings KF, et al. An association between decreased cardiopulmonary complications (transfusion-related acute lung injury and transfusion-associated circulatory overload) and implementation of universal leukoreduction of blood transfusions. *Transfusion*. 2010;50(12):2738-2744.
- 109) Donadee C, Raat NJ, Kanas T, Tejero J, Lee JS, Kelley EE, et al. Nitric oxide scavenging by red blood cell microparticles and cell-free hemoglobin as a mechanism for the red cell storage lesion. *Circulation* 2011;124:465–76.
- 110) Walther-Wenke G. Incidence of bacterial transmission and transfusion reactions by blood components. *Clin Chem Lab Med*. 2008;46(7):919-925.

- 111) Vasconcelos E, Seghatchian J. Bacterial contamination in blood components and preventative strategies: An overview. *Transfus Apher Sci.* 2004;31(2):155-163.
- 112) Gottlieb T. Hazards of bacterial contamination of blood products. *Anaesth Intensive Care.* 1993;21(1):20-23.
- 113) Murphy MF, Pamphilon DH, Heddle NM. Practical Transfusion Medicine. *Pract Transfus Med.* Published online 2013:168-175.
- 114) Depcik-Smith ND, Hay SN, Brecher ME. Bacterial contamination of blood products: Factors, options, and insights. *J Clin Apher.* 2001;16(4):192-201.
- 115) Walther-Wenke G, Schrezenmeier H, Deitenbeck R et al. Screening of platelet concentrates for bacterial contamination: spectrum of bacteria detected, proportion of transfused units, and clinical follow-up. *Ann Hematol* 2009;89:83–91
- 116) Nikitin IK. Bacterial contamination of blood components. *Gematol i Transfusiologiya.* 2010;55(5):10-13.
- 117) Ramirez-Arcos S, Goldman M. Bacterial contamination, in *Transfusion Reactions* (ed. MA Popovsky), American Association of Blood Banks, Bethesda.2012: pp.153–181
- 118) Dodd RY. Bacterial contamination and transfusion safety : experience in the United States Contamination bactérienne et sécurité transfusionnelle : l ' expérience des États-Unis. 2003;10:6-9.
- 119) De Kort W, Mayr W, Jungbauer C, et al. Blood donor selection in European Union directives: Room for improvement. *Blood Transfus.* 2016;14(2):101-108.
- 120) Systems CH. Hemovigilance : Definition. 2003;5(1):237-245.
- 121) Hillyer CD, Josephson CD, Blajchman MA, Vostal JG, Epstein JS, Goodman JL. Bacterial contamination of blood components: risks, strategies, and regulation: joint ASH and AABB educational session in transfusion medicine. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* Published online 2003:575-589.
- 122) Germain M, Goldman M. Blood donor selection and screening: strategies to reduce recipient risk. *Am J Ther.* 2002;9(5):406-410.

- 123) Godbey EA, Thibodeaux SR. Ensuring safety of the blood supply in the United States: Donor screening, testing, emerging pathogens, and pathogen inactivation. *Semin Hematol*. 2019;56(4):229-235.
- 124) Dzik WH. Leukoreduction of blood components. *Curr Opin Hematol*. 2002;9(6):521-526.
- 125) Sharma RR, Marwaha N. Leukoreduced blood components: Advantages and strategies for its implementation in developing countries. *Asian J Transfus Sci*. 2010;4(1):3-8.
- 126) Storch EK, Custer BS, Jacobs MR, Menitove JE, Mintz PD. Review of current transfusion therapy and blood banking practices. *Blood Rev*. 2019;38:100593.
- 127) Blajchman MA. The clinical benefits of the leukoreduction of blood products. *J Trauma - Inj Infect Crit Care*. 2006;60(6 SUPPL.)
- 128) Douet JY, Bujdoso R, Andréoletti O. Leukoreduction and blood-borne vCJD transmission risk. *Curr Opin Hematol*. 2015;22(1):36-40.
- 129) Mintz PD, Wehrli G. Irradiation eradication and pathogen reduction. Ceasing cesium irradiation of blood products. *Bone Marrow Transplant*. 2009;44(4):205-211.
- 130) Tormey CA, Hendrickson JE. Irradiation of Red Blood Cells and Alloimmunization. *Lab Med*. 2017;48(2):172-177.
- 131) Nelson KA, Aldea GS, Warner P, et al. Transfusion-related immunomodulation: gamma irradiation alters the effects of leukoreduction on alloimmunization. *Transfusion*. 2019;59(11):3396-3404.
- 132) Zantek ND, Parker RI, van de Watering LM, Josephson CD, Bateman ST, Valentine SL, et al. Recommendations on selection and processing of RBC components for pediatric patients from the pediatric critical care transfusion and anemia expertise initiative. *Pediatr Crit Care Med* 2018;19(9S Suppl 1):S163–9.
- 133) Yonemura S, Doane S, Keil S, Goodrich R, Pidcoke H, Cardoso M. Improving the safety of whole blood-derived transfusion products with a riboflavinbased pathogen reduction technology. *Blood Transfus*. 2017;15(4):357-364.

- 134) Mundt JM, Rouse L, Van Den Bossche J, Goodrich RP. Chemical and Biological Mechanisms of Pathogen Reduction Technologies. *Photochem Photobiol.* 2014;90(5):957-964.
- 135) Pelletier JPR, Transue S, Snyder EL. Pathogen inactivation techniques. *Best Pract Res Clin Haematol.* 2006;19(1):205-242.
- 136) Wagner SJ. Developing pathogen reduction technologies for RBC suspensions. *Vox Sang* 2011;100:112–21.
- 137) Devine D V., Schubert P. Pathogen Inactivation Technologies: The Advent of Pathogen-Reduced Blood Components to Reduce Blood Safety Risk. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2016;30(3):609-617.
- 138) Winter KM, Johnson L, Kwok M, et al. Red blood cell in vitro quality and function is maintained after S-303 pathogen inactivation treatment. *Transfusion* 2014;54: 1798–807.
- 139) Lozano M, Cid J. Pathogen inactivation. *Current Opinion in Hematology* 2013;20(6):540-545.
- 140) Strengers PFW, Klein HG. Plasma is a strategic resource. *Transfusion.* 2016;56(12):3133-3137.
- 141) Watson JJJ, Pati S, Schreiber MA. Plasma transfusion: History, current realities, and novel improvements. *Shock.* 2016;46(5):468-479.
- 142) Schenk S, Schoenhals G, de Souza G, Mann M: A high confidence, manually validated human blood plasma protein reference set. *BMC Med Genomics.* 2008; 1(41):1–28.
- 143) Peng GL. Platelet-Rich Plasma for Skin Rejuvenation: Facts, Fiction, and Pearls for Practice. *Facial Plast Surg Clin North Am.* 2019;27(3):405-411.
- 144) Marx RE. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *J Oral Maxillofac Surg* 2004;62(4):489–96.
- 145) Wu PIK, Diaz R, Borg-Stein J. Platelet-Rich Plasma. *Phys Med Rehabil Clin N Am.* 2016;27(4):825-853.
- 146) Frautschi RS, Hashem AM, Halasa B, et al. Current evidence for clinical efficacy of platelet rich plasma in aesthetic surgery: a systematic review. *Aesthet Surg J* 2017;37(3):353–62.

- 147) Benjamin RJ, McLaughlin LS. Plasma components: Properties, differences, and uses. *Transfusion*. 2012;52(SUPPL. 1).
- 148) Cardigan R, Green L. Thawed and liquid plasma - what do we know? *Vox Sang*. 2015;109(1):1-10.
- 149) Norda R, Knutson F, Berseus O, et al.: Unexpected effects of donor gender on the storage of liquid plasma. *Vox Sang* 2007; 93:223–228.
- 150) Rock G: A comparison of methods of pathogen inactivation of FFP. *Vox Sang* 2011; 100:169–178.
- 151) Mast AE, Stadanlick JE, Lockett JM, Dietzen DJ. Solvent/ detergent-treated plasma has decreased antitrypsin activity and absent antiplasmin activity. *Blood* 1999;94:3922-7.
- 152) Jenne CN, Kubes P. Platelets in inflammation and infection. *Platelets*. 2015;26(4):286-292.
- 153) Semple JW, Italiano JE, Freedman J. Platelets and the immune continuum. *Nat Rev Immunol*. 2011;11(4):264-274.
- 154) Holinstat M. Normal platelet function. *Cancer Metastasis Rev*. 2017;36(2):195-198.
- 155) Kaushansky K. The molecular mechanisms that control thrombopoiesis. *J Clin Invest* 2005; 115: 3339–3347.
- 156) Born G. Platelets: Past, present and future. *Handb Exp Pharmacol*. 2012;210:3-22.
- 157) Hartwig JH, Barkalow K, Azim A, Italiano J. The elegant platelet: signals controlling actin assembly. *Thromb Haemost*. 1999;82:392–398.
- 158) Thomas MR, Storey RF. Theme Issue Article 449 Mark R. Thomas; Robert F. Storey. *Thromb Haemost*. 2015;1114(2):449-458.
- 159) Lambert MP. Inherited Platelet Disorders: A Modern Approach to Evaluation and Treatment. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2019;33(3):471-487.
- 160) Nurden, A. T., & Nurden, P. (2001). INHERITED DEFECTS OF PLATELET FUNCTION. *Reviews in Clinical and Experimental Hematology*, 5(4), 314–334.
- 161) Poon, M.-C., Di Minno, G., d' Oiron, R., & Zotz, R. (2016). *New Insights Into the Treatment of Glanzmann Thrombasthenia*. *Transfusion Medicine Reviews*, 30(2), 92–99.

- 162) Casari C, Bergmeier W. Acquired platelet disorders. *Thromb Res.* 2016;141:S73-S75.
- 163) Goubran H, Hart C, Othman I, Seghatchian J. Flow cytometry and immune thrombocytopenic purpura. *Transfus Apher Sci.* 2018;57(6):800-803.
- 164) Irsch J, Seghatchian J. Update on pathogen inactivation treatment of plasma, with the INTERCEPT Blood System: Current position on methodological, clinical and regulatory aspects. *Transfus Apher Sci.* 2015;52(2):240-244.
- 165) Irsch J, Pinkoski L, Corash L, Lin L. INTERCEPT plasma: Comparability with conventional fresh-frozen plasma based on coagulation function - An in vitro analysis. *Vox Sang.* 2010;98(1):47-55.
- 166) Singh Y, Sawyer LS, Pinkoski LS, et al. Photochemical treatment of plasma with amotosalen and long-wavelength ultraviolet light inactivates pathogens while retaining coagulation function. *Transfusion.* 2006;46(7):1168-1177.
- 167) Irsch J, Lin L. Pathogen inactivation of platelet and plasma blood components for transfusion using the INTERCEPT blood system. *Transfus Med Hemotherapy.* 2011;38(1):19-31.
- 168) Abedi MR, Doverud AC. Preparation and pathogen inactivation of double dose buffy coat platelet products using the INTERCEPT blood system. *J Vis Exp.* 2012;(70).
- 169) McCullough J et al. Therapeutic efficacy and safety of platelets treated with a photochemical process for pathogen inactivation: the SPRINT Trial. *Blood* 2004; 104: 1534–1541.
- 170) Kaiser-Guignard J, Canellini G, Lion N, Abonnenc M, Osselaer JC, Tissot JD. The clinical and biological impact of new pathogen inactivation technologies on platelet concentrates. *Blood Rev.* 2014;28(6):235-241.
- 171) Osman A, Hitzler WE, Provost P. The platelets' perspective to pathogen reduction technologies. *Platelets.* 2018;29(2):140-147.
- 172) Wollowitz S. Fundamentals of the psoralen-based helinx™ technology for inactivation of infectious pathogens and leukocytes in platelets and plasma. *Semin Hematol.* 2001;38(4 SUPPL. 11):4-11.
- 173) Honigsmann H. Phototherapy of psoriasis. *Clin Exp Dermatol.* 2001;26:343-350.

- 174) Wu YY, Snyder EL. Safety of the blood supply: Role of pathogen reduction. *Blood Rev.* 2003;17(2):111-122.
- 175) Bachelleri J-P, Thompson JF, Wegnez MR. Identification of the modified nucleotides produced by covalent photo addition of hydroxymethyltrimethylpsoralen to RNA. *Nucleic Acids Res* 1981;9:2207-2222.
- 176) Ciaravino V, McCullough T, Cimino G, Sullivan T. Preclinical safety profile of plasma prepared using the INTERCEPT Blood System. *Vox Sang.* 2003;85(3):171-182.
- 177) Ciaravino V, McCullough T & Cimino G. The role of toxicology assessment in transfusion medicine. *Transfusion* 2003; 43: 1481–1492.
- 178) Erickson A, Waldhaus K, David T, et al. Plasma treated with amotosalen and ultraviolet A light retains activity for hemostasis after 5 days post-thaw storage at 1 to 6°C. *Transfusion.* 2017;57(4):997-1006.
- 179) Corash L. Helinx technology for inactivation of infectious pathogens and leukocytes in labile blood components: from theory to clinical application. *Transfusion and Apheresis Science* 2001;25:179–181.
- 180) Hambleton J et al. Pharmacokinetic study of FFP photochemically treated with amotosalen (S-59) and UV light compared to FFP in healthy volunteers anticoagulated with warfarin. *Transfusion* 2002; 42: 1302–1307.
- 181) Janetzko K, Lin L, Eichler H, Mayaudon V, Flament J, Klüter H. Implementation of the INTERCEPT blood system for platelets into routine blood bank manufacturing procedures: Evaluation of apheresis platelets. *Vox Sang.* 2004;86(4):239-245.
- 182) Johnson L, Loh YS, Kwok M, Marks DC. In vitro assessment of buffy-coat derived platelet components suspended in SSP+ treated with the INTERCEPT Blood system. *Transfus Med.* 2013;23(2):121-129.
- 183) Picker, S.M., Speer, R. & Gathof, B.S. Functional characteristics of buffycoat PLTs photochemically treated with amotosalen-HCl for pathogen inactivation. *Transfusion.* 2004;44:320–329.

- 184) Johnson, L., Winter, K.M., Hartkopf-Theis, T., Reid, S., Kwok, M. & Marks, D.C. .Evaluation of the automated collection and extended storage of apheresis platelets in additive solution. *Transfusion*. 2012;52: 503–509.
- 185) Jansen GAJ, Van Vliet HHDM, Vermeij H, et al. Functional characteristics of photochemically treated platelets. *Transfusion*. 2004;44(3):313-319.
- 186) Carvalho H, Alguero C, Santos M, de Sousa G, Trindade H, Seghatchian J. The combined effect of platelet storage media and intercept pathogen reduction technology on platelet activation/activability and cellular apoptosis/necrosis: Lisbon-RBS experience. *Transfus Apher Sci*. 2006;34(2):187-192.
- 187) Fassl J, Matt P, Eckstein F, et al. Transfusion of Allogeneic blood products in proximal aortic surgery with hypothermic circulatory arrest: effect of thromboelastometry-guided transfusion management. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2013;27: 1181-8.
- 188) Leitner GC, Ho M, Tolios A, Hopfinger G, Rabitsch W, Wohlfarth P. The assessment of platelet function by thromboelastometry as a point-of-care test to guide Intercept-treated platelet support in hemato-oncological patients and hematopoietic stem cell transplantation recipients. *Transfusion*. 2020;60(7):1391-1399.
- 189) Drew VJ, Barro L, Seghatchian J, Burnouf T. Towards pathogen inactivation of red blood cells and whole blood targeting viral DNA/RNA: Design, technologies, and future prospects for developing countries. *Blood Transfus*. 2017;15(6):512-521.
- 190) Mirasol Simplicity Insert, Terumo BCT
- 191) Kwon SY. Pathogen reduction technology - is it time? *ISBT Sci Ser*. 2016; 11: 117-22.
- 192) Terumo BCT. Mirasol® Illuminator Version 6.2 Operator's Manual Part No. 879108-460B . 2019-11.
- 193) Reddy HL, Dayan AD, Cavagnaro J, Gad S, Li J, Goodrich RP. Toxicity Testing of a Novel Riboflavin-Based Technology for Pathogen Reduction and White Blood Cell Inactivation. *Transfus Med Rev*. 2008;22(2):133-153.

- 194) Goodrich RP, Edrich RA, Li J, Seghatchian J. The Mirasol™ PRT system for pathogen reduction of platelets and plasma: An overview of current status and future trends. *Transfus Apher Sci.* 2006;35(1):5-17.
- 195) Marschner S, Goodrich R. Pathogen reduction technology treatment of platelets, plasma and whole blood using riboflavin and UV light. *Transfus Med Hemotherapy.* 2011;38(1):8-18.
- 196) Terumo BCT. Mirasol® Illuminator Version 6.2 Operator's Manual. (2019-11). Part No. 879108-460B.
- 197) Terumo BCT. Mirasol Platelet Disposable Kit for Plasma : Instructions for Use. (2019-11). Part No 777710-060B.
- 198) Marschner S, Fast LD, Baldwin WM, Slichter SJ, Goodrich RP. White blood cell inactivation after treatment with riboflavin and ultraviolet light. *Transfusion.* 2010;50(11):2489-2498.
- 199) Solheim BG, Seghatchian J. Update on pathogen reduction technology for therapeutic plasma: An overview. *Transfus Apher Sci.* 2006;35(1):83-90.
- 200) Goodrich RP, Gilmour D, Hovenga N, Keil SD. A laboratory comparison of pathogen reduction technology treatment and culture of platelet products for addressing bacterial contamination concerns. *Transfusion.* 2009;49(6):1205-1216.
- 201) Hardwick CC, Herivel TR, Hernandez SC, Ruane PH, Goodrich RP. Separation, Identification and Quantification of Riboflavin and its Photoproducts in Blood Products using High-performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detection: A Method to Support Pathogen Reduction Technology . *Photochem Photobiol.* 2007;80(3):609-615.
- 202) Feys HB, Van Aelst B, Compernelle V. Biomolecular Consequences of Platelet Pathogen Inactivation Methods. *Transfus Med Rev.* 2019;33(1):29-34.
- 203) Corbin F. Pathogen inactivation of blood components: current status and introduction of an approach using riboflavin as a photosensitizer. *Int J Hematol.* 2002;76 Suppl 2:253-257.
- 204) Chan BP. Biomedical applications of photochemistry. *Tissue Eng - Part B Rev.* 2010;16(5):509-522.

- 205) Kumar V, Lockerbie O, Keil SD, et al. Riboflavin and UV-Light Based Pathogen Reduction: Extent and Consequence of DNA Damage at the Molecular Level. *Photochem Photobiol.* 2004;80(1):15.
- 206) Klein HG. Pathogen inactivation technology: Cleansing the blood supply. *J Intern Med.* 2005;257(3):224-237.
- 207) Goodrich RP, Edrich RA, Goodrich L, Scott C, Manica K, Hlavinka D, Hovenga N, Hansen E, Gampp D, Keil SD, Gilmour DI, Li J, Martin CB, Platz MS: The antiviral and antibacterial properties of riboflavin and light: applications to blood safety and transfusion medicine; in Silva E, Edwards AM, (eds): *Flavins: Photochemistry and Photobiology. Comprehensive Series in Photochemical and Photobiological Sciences.* Cambridge, The Royal Society of Chemistry. 2006:83–113
- 208) Janetzko K, Hinz K, Marschner S, Klóter H, Bugert P: Monitoring of the Mirasol Pathogen Reduction Procedure for Platelet Concentrates by PCR and bioanalyzer; *Transfus Med Hemother* 2007;34(suppl 1):S60.
- 209) Sisson TR: Photodegradation of riboflavin in neonates. *Fed Proc* 46:1883-1885, 1987.
- 210) Bates CJ: Human requirements for riboflavin. *Am J Clin Nutr* 46:122-123, 1987.
- 211) Olsen JH, Hertz H, Kjaer SK, Bautz A, Mellemkjaer L, Boice JD Jr: Childhood leukemia following phototherapy for neonatal hyperbilirubinemia (Denmark). *Cancer Causes Control* 1996;7:411– 414
- 212) Reddy HL, Dayan AD, Cavagnaro J, et al. Toxicity testing of a novel riboflavin-based technology for pathogen reduction and white blood cell inactivation. *Transfus Med Rev* 2008; 22: 133-53.
- 213) Silliman CC, Khan SY, Ball JB, Kelher MR, Marschner S: Mirasol Pathogen Reduction Technology treatment does not affect acute lung injury in a two-event in vivo model caused by stored blood components. *Vox Sang* 2010;98:525–530.
- 214) Kale H et al. Assessment of the genotoxic potential of riboflavin and lumiflavin. A. Effect of metabolic enzymes. *Mutation Research* 1992; 298: 9–16.

- 215) Hornsey VS, Drummond O, Morrison A, McMillan L, MacGregor IR, Prowse CV: Pathogen reduction of fresh plasma using riboflavin and ultraviolet light: effects on plasma coagulation proteins. *Transfusion* 2009;49:2167–2172.
- 216) Larrea L, Calabuig M, Roldan V, Rivera J, Tsai HM, Vicente V, Roig R: The influence of riboflavin photochemistry on plasma coagulation factors. *Transfus Apher Sci* 2009;41:199–204.
- 217) Keitel S (ed): Guide to the Preparation, Use and Quality Assurance of Blood Components Strasbourg, Council of Europe. 2009 :256–258.
- 218) Ettinger A, Miklaur MM, Bihm DJ, Maldonado-Codina G, Goodrich RP. Preparation of cryoprecipitate from riboflavin and UV light-treated plasma. *Transfus Apher Sci*. 2012;46(2):153-158.
- 219) Smith J, Rock G. Protein quality in Mirasol pathogen reduction technology-treated, apheresis-derived fresh-frozen plasma. *Transfusion*. 2010;50(4):926-931.
- 220) Hornsey VS, Drummond O, Morrison A, McMillan L, MacGregor IR, Prowse C V. Pathogen reduction of fresh plasma using riboflavin and ultraviolet light: Effects on plasma coagulation proteins. *Transfusion*. 2009;49(10):2167-2172.
- 221) Rock G. A comparison of methods of pathogen inactivation of FFP. *Vox Sang*. 2011;100(2):169-178.
- 222) Ettinger A, Miklaur MM, Hendrix BK, Bihm DJ, Maldonado-Codina G, Goodrich RP. Protein stability of previously frozen plasma, riboflavin and UV light-treated, refrozen and stored for up to 2years at -30°C. *Transfus Apher Sci*. 2011;44(1):25-31.
- 223) Bihm DJ, Ettinger A, Buytaert-Hoefen KA, et al. Characterization of plasma protein activity in riboflavin and UV light-treated fresh frozen plasma during 2 years of storage at -30°C. *Vox Sang*. 2010;98(2):108-115.
- 224) Zeddies S, De Cuyper IM, Van Der Meer PF, et al. Pathogen reduction treatment using riboflavin and ultraviolet light impairs platelet reactivity toward specific agonists in vitro. *Transfusion*. 2014;54(9):2292-2300.
- 225) Perez-Pujol S, Tonda R, Lozano M, et al. Effects of a new pathogen-reduction technology (Mirasol PRT) on functional aspects of platelet concentrates. *Transfusion*. 2005;45(6):911-919.

- 226) Picker SM, Steisel A, Gathof BS. Effects of Mirasol PRT treatment on storage lesion development in plasma-stored apheresis-derived platelets compared to untreated and irradiated units. *Transfusion*. 2008;48(8):1685-1692.
- 227) Li J, De Korte D, Woolum MD, et al. Pathogen reduction of buffy coat platelet concentrates using riboflavin and light: Comparisons with pathogen-reduction technology-treated apheresis platelet products. *Vox Sang*. 2004;87(2):82-90.
- 228) Abonnenc M, Crettaz D, Sonogo G, Escolar G, Tissot JD, Prudent M. Towards the understanding of the UV light, riboflavin and additive solution contributions to the in vitro lesions observed in Mirasol®-treated platelets. *Transfus Clin Biol*. 2019;26(4):209-216.
- 229) Brown SB, Clarke MCH, Magowan L, Sanderson H, Savill J Constitutive death of platelets leading to scavenger receptor-mediated phagocytosis. *J Biol Chem* 2000;275: 5987-96.
- 230) Reid S, Johnson L, Woodland N, Marks DC. Pathogen reduction treatment of buffy coat platelet concentrates in additive solution induces proapoptotic signaling. *Transfusion*. 2012;52(10):2094-2103.
- 231) Zhang H, Nimmer P, Tahir S, Chen J, Fryer R, Hahn K, Iciek LA, Morgan SJ, Nasarre MC, Nelson R, Preusser LC, Reinhart GA, Smith ML, Rosenberg SH, Elmore SW, Tse C. Bcl-2 family proteins are essential for platelet survival. *Cell Death Differ* 2007;14:943-51.
- 232) Xiao HY, Matsubayashi H, Bonderman DP, et al. Generation of annexin V-positive platelets and shedding of microparticles with stimulus-dependent procoagulant activity during storage of platelets at 4°C. *Transfusion* 2000;40:420-7.
- 233) Garraud O, Lozano M. Pathogen inactivation/reduction technologies for platelet transfusion: Where do we stand? *Transfus Clin Biol*. 2018;25(3):165-171.
- 234) Feys, H.B., van Aelst, B. & Compennolle, V. Biomolecular consequences of platelet pathogen inactivation methods. *Transfusion Medicine Reviews*. 2019;33: 29–34.
- 235) THERAFLEX UV- Platelets System Platform Overview.

- 236) Seghatchian J, Tolksdorf F. Characteristics of the THERAFLEX UV-Platelets pathogen inactivation system - An update. *Transfus Apher Sci.* 2012;46(2):221-229.
- 237) Gravemann U, Handke W, Müller TH, Seltsam A. Bacterial inactivation of platelet concentrates with the THERAFLEX UV-Platelets pathogen inactivation system. *Transfusion.* 2019;59(4):1324-1332.
- 238) Terpstra FG, Van't Wout AB, Schuitemaker H, et al. Potential and limitation of UVC irradiation for the inactivation of pathogens in platelet concentrates. *Transfusion.* 2008;48(2):304-313.
- 239) Seltsam A, Müller TH. UVC irradiation for pathogen reduction of platelet concentrates and plasma. *Transfus Med Hemotherapy.* 2011;38(1):43-54.
- 240) Cadet J, Sage E, Douki T: Ultraviolet radiation mediated damage to cellular DNA. *Mutat Res* 2005;571:3–17.
- 241) Solheim BG, Seghatchian J. Pathogen inactivation. In: Simon TL, Snyder EL, Solheim BG, Stowell CP, Strauss RG, Perides M, editors. *Rossi's principles of transfusion medicine.* Philadelphia: Blackwell Publishing Ltd.2009: 801–10.
- 242) Pohler P, Lehmann J, Veneruso V, Lambrecht B, Mohr H, Mueller TH, Seltsam A: THERAFLEX UV-platelets: no evidence for intolerance and antibody formation in dogs during a 10-week safety pharmacology study. *Transfus Med Hemother* 2009;36(suppl 1):47.
- 243) Thiele T, Pohler P, Kohlmann T, et al. Tolerance of platelet concentrates treated with UVC-light only for pathogen reduction - a phase I clinical trial. *Vox Sang.* 2015;109(1):44-51.
- 244) Van der Meer PF, Gravemann U, de Korte D, et al. Effect of increased agitation speed on pathogen inactivation efficacy and in vitro quality in UVC-treated platelet concentrates. *Vox Sang.* 2016;111(2):127-134.
- 245) Sandgren P, Tolksdorf F, Struff WG, Gulliksson H. In vitro effects on platelets irradiated with short-wave ultraviolet light without any additional photoactive reagent using the THERAFLEX UV-Platelets method. *Vox Sang.* 2011;101(1):35-43.

- 246) Johnson L, Cameron M, Waters L, Padula MP, Marks DC. The impact of refrigerated storage of UVC pathogen inactivated platelet concentrates on in vitro platelet quality parameters. *Vox Sang.* 2019;114(1):47-56.
- 247) THERAFLEX MB-Plasma MacoTronic B2 Rev 2 User Manual
- 248) Srv, B. S. V. S. D. V, & Srv, S. D. V. (2015). Disposable set for Pathogen Inactivation of plasma.
- 249) Reichenberg S, Gravemann U, Sumian C, Seltsam A. Challenge study of the pathogen reduction capacity of the THERAFLEX MB-Plasma technology. *Vox Sang.* 2015;109(2):129-137.
- 250) Pamphilon D. Viral inactivation of fresh frozen plasma. *British Journal of Haematology* 2000; 109: 680
- 251) Seghatchian J, Struff WG, Reichenberg S. Main properties of the THERAFLEX MB-plasma system for pathogen reduction. *Transfus Med Hemotherapy.* 2011;38(1):55-64.
- 252) Seghatchian J, Walker WH, Reichenberg S. Updates on pathogen inactivation of plasma using Theraflex methylene blue system. *Transfus Apher Sci.* 2008;38(3):271-280.
- 253) Cardigan R, Garwood M, Hornsey V. Effect of freezethawing, leucocyte depletion, methylene blue (MB) treatment and removal on teh quality of FFP. *Vox Sang.* 2002;83:190.
- 254) Castrillo A, Eiras A, Cid J, Castro A, Adelantado M, Abalo M, et al. Quality of methylene blue plasma over the last five years. *Vox Sang* 2006;91(Suppl. 3):182.
- 255) Hornsey VS, Drummond O, Young D, Docherty A, Prowse CV. A potentially improved approach to methylene blue virus inactivation of plasma: the Maco Pharma Maco-Tronic system. *Transfus Med* 2001

