

7 ΜΕΤΑ-ΜΕΤΑΓΓΙΣΙΑΚΗ ΕΠΑΡΚΕΙΑ ΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΑΠΟ ΑΙΜΟΔΟΤΕΣ ΜΕ ΣΤΙΓΜΑ Β-ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗΣ ΑΝΑΙΜΙΑΣ

Β. Τζούνακας¹, Α. Αναστασιάδη¹, Ε. Παρώνης², Α. Αποστολίδου², Β-Ζ. Αρβανίτη¹, Ε. Μπαλάφας², Π. Αλεξάκος², Κ. Πασχίδης², Ν. Κωστομητσόπουλος², Κ. Σταμούλης³, Ι. Πατσιασίδερα¹, Α. Κριεμπάρδης⁴, Μ. Αντωνέλου¹

¹Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, ²Κέντρο Κλινικής, Πειραματικής Χειρουργικής & Μεταφραστικής Έρευνας, Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών Ακαδημίας Αθηνών, (ΙΙΒΕ-ΑΑ), ³Εθνικό Κέντρο Αιμοδοσίας, ⁴Εργαστήριο Αξιοπιστίας και Ποιοτικού Ελέγχου στην Εργαστηριακή Αιματολογία (HemQcR), Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ: Πρόσφατες μελέτες της ομάδας μας έδειξαν πως οι μονάδες μετάγγισης συμπυκνωμένων ερυθροκυττάρων που προέρχονται από αιμοδότες με στίγμα β-μεσογειακής αναιμίας (βΜΑ) αντιμετωπίζουν αποτελεσματικότερα το στρες της αποθήκευσης που προωθεί την αιμόλυση και τη διαταραχή του οξειδοαναγωγικού ισοζυγίου, ενώ από το μεταβολικό και πρωτεομικό τους πρότυπο αναδεικνύεται ένα ισχυρό αντιοξειδωτικό δυναμικό. Ορισμένα από τα βέλτιστα χαρακτηριστικά των αποθηκευμένων ερυθροκυττάρων των συγκεκριμένων αιμοδοτών, όπως η αντίσταση σε λύση και η ελαττωμένη εξωτερίκευση φωσφατιδυλοσερίνης, μπορούν να συνδεθούν με καλύτερη ανάκτηση μετά τη μετάγγιση. Για το λόγο αυτό, στη συγκεκριμένη μελέτη προσπαθήσαμε να ερευνήσουμε την ανάκτηση αλλά και ποικίλες φυσιολογικές παραμέτρους των ερυθροκυττάρων με στίγμα βΜΑ μετά τη μετάγγιση με χρήση τόσο *in vivo* όσο και *in vitro* μοντέλων.

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ: Ερυθροκύτταρα από 10 αιμοδότες με στίγμα βΜΑ και 10 αιμοδότες-μάρτυρες αποθηκευμένα σε μονάδες με CPD-SAGM ανασυστάθηκαν με πλάσμα υγιούς ή μεταγγισιοεξαρτώμενου ασθενή με βΜΑ. Μετά από 24ωρη επώαση σε θερμοκρασία σώματος τα δείγματα αναλύθηκαν ως προς παραμέτρους αιμόλυσης (αυθόρμητη, οσμωτική, μηχανική, οξειδωτική), οξειδοαναγωγικού ισοζυγίου (συσσώρευση δραστικών ριζών οξυγόνου, υπεροξειδωση λιπιδίων) και πρωτεόστασης (πρωτεασωματική ενεργότητα). Επιπλέον, πραγματοποιήθηκε μετάγγιση σημειωμένων ερυθροκυττάρων (8 ετερόζυγοι βΜΑ και 8 αιμοδότες μάρτυρες, φρέσκα και αποθηκευμένα) σε ανοσοεπαρκείς (C57BL/6J) και ανοσοκατεσταλμένους (NOD/SCID) μύες και υπολογίστηκε η 24ωρη ανάκτησή τους μέσω κυτταρομετρίας ροής. Και στα 2 μοντέλα, η ποσότητα των μεταγγισμένων ερυθροκυττάρων ήταν αντίστοιχη των 2 μονάδων μετάγγισης.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ: Τα ερυθροκύτταρα των ετερόζυγων για βΜΑ βρέθηκαν πιο ανθεκτικά στην αυθόρμητη (π.χ. ημέρα 7/θαλασσαιμικό πλάσμα: $3,97 \pm 2,51$ έναντι $7,79 \pm 2,71$ mg/dL, $p=0,006$, ετερόζυγοι έναντι μαρτύρων), οσμωτική, οξειδωτική και μηχανική αιμόλυση, είτε παρουσία υγιούς είτε θαλασσαιμικού πλάσματος, σε σχέση με τα ανασυσταμένα κύτταρα-μάρτυρες. Η εξωτερίκευση φωσφατιδυλοσερίνης ήταν ισότιμη μεταξύ των δύο ομάδων, όπως και η συσσώρευση ενδοκυττάρων δραστικών ριζών οξυγόνου, με την εξαίρεση της μειωμένης παραγωγής τους σε ανασυσταμένα σε θαλασσαιμικό πλάσμα κύτταρα ετερόζυγων στο τέλος της αποθήκευσης. Η υπεροξειδωση των λιπιδίων ήταν ηπιότερη στις μεμβράνες των ετερόζυγων μετά την ανάμιξή τους με υγιές πλάσμα σε σχέση με των μαρτύρων (π.χ. ημέρα 42: $49,15 \pm 9,45$ έναντι $60,87 \pm 11,07$ μM TBA/mL ερυθροκυττάρων, $p=0,032$, ετερόζυγοι έναντι μαρτύρων), ενώ ήταν καθολικά αυξημένες οι 3 πρωτεασωματικές ενεργότητες της ίδιας ομάδας σε όλες τις συνθήκες (π.χ. ημέρα 7/θαλασσαιμικό πλάσμα, ενεργότητα τύπου κασπάσης: 11794 ± 1921 έναντι 7321 ± 1047 RFU/mg πρωτεΐνης, $p=0,0005$, ετερόζυγοι έναντι μαρτύρων). Όσον αφορά στο ξενοβιοτικό μοντέλο μετάγγισης εντοπίστηκε σημαντική τάση για αυξημένη 24ωρη *in vivo* ανάκτηση τόσο με τη χρήση φρέσκου αίματος ($p=0,013$) όσο και με τη μετάγγιση πακεταρισμένων ερυθροκυττάρων (ημέρα 42, $p=0,071$) σε ανοσοεπαρκείς μύες-δέκτες (C57BL/6J). Το αποτέλεσμα αυτό δεν επιβεβαιώθηκε στην περίπτωση ανοσοκατεσταλμένων μυών.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ: Τα αποθηκευμένα ερυθροκύτταρα των αιμοδοτών με στίγμα βΜΑ διατηρούν την εγγενή τους αντίσταση σε αυθόρμητη, μηχανική, οσμωτική και οξειδωτική λύση μετά από *in vitro* μετάγγιση, ενώ παρουσιάζουν πλεονέκτημα όσον αφορά πρωτεοστατικές και οξειδοαναγωγικές παραμέτρους. Επιπρόσθετα, η μετάγγιση ανθρώπινων ερυθροκυττάρων από ετερόζυγους για βΜΑ αιμοδότες σε ζωικά μοντέλα δίνει σημαντικές ενδείξεις για καλύτερα επίπεδα 24ωρης ανάκτησης.

Το έργο χρηματοδοτείται από το Ελληνικό Ίδρυμα Έρευνας και Καινοτομίας (ΕΛΙΔΕΚ) και από τη Γενική Γραμματεία Έρευνας και Καινοτομίας (ΓΓΕΚ), με αρ. Σύμβασης Έργου #2032.