

**ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ:** Για την ορθή εφαρμογή του μαθηματικού τύπου πρέπει: α) η χορήγηση G-CSF να προηγείται της αιμοληψίας προ συλλογής, κατά τουλάχιστον 30min, β) το διάστημα μεταξύ αιμοληψίας και συλλογής να μην υπερβαίνει τις 3 ώρες, και γ) ο όγκος του προϊόντος να αφορά τον ακριβή, «καθαρό» όγκο συλλογής MNC. Ο *cef* εκτιμάται ασφαλώς σε προϊόν συλλογής >50ml. Τα κριτήρια επιλογής του *cef* και οι ενέργειες στις οποίες οδηγεί η εκτίμηση του αποτελέσματος της συλλογής περιγράφονται στην εικόνα. Αναλύθηκαν τα δεδομένα 113 αυτόλογων και 12 ετερόλογων συλλογών AAK. Σε πρώτη φάση: α) το 51,2% εκτιμήθηκαν ως καλής απόδοσης ( $cef=36$ ), β) το 24% ως μέτριας απόδοσης ( $cef=30$ ), γ) το 16,8% ως χαμηλής απόδοσης ( $cef=20$ ) και δ) το 8% ως υψηλής απόδοσης ( $cef=40$ ). Στο 90,4% των συλλογών η χρήση του τύπου οδήγησε σε τροποποιήσεις με στόχο τη βελτιστοποίηση του αποτελέσματος ως εξής: α) στο 45,6% των συλλογών μειώθηκε η παράμετρος επιλογής στιβάδας (CP), β) στο 42,4% η διάρκεια συλλογής παρατάθηκε, γ) στο 37,6% η συλλογή ολοκληρώθηκε νωρίτερα, δ) στο 1,6% των περιπτώσεων (N=2) ζητήθηκε επανεκτίμηση του αποτελέσματος με κυτταρομετρία ροής. Η διάμεση διαφορά μεταξύ του εκτιμώμενου αριθμού CD34+/Kg στο τελικό προϊόν συλλογής - βάσει του μαθηματικού τύπου - και του αριθμού των CD34+/Kg, όπως αυτός καταμετρήθηκε με κυτταρομετρία ροής, ήταν  $0,333 \times 10^6 \pm 0,926 \times 10^6$ . Στο 69,6% των συλλογών η απόκλιση ήταν  $\leq 10\%$ , στο 85,6% ήταν  $\leq 15\%$ , και στο 88,8% ήταν  $\leq 20\%$ . Στο 64,3% των περιπτώσεων, με απόκλιση  $>20\%$ , η επαρκής κινητοποίηση είχε επιτευχθεί με χορήγηση Plerixafor (διάμεση τιμή *cef*:  $64,4 \pm 10,7$  και διάμεση διαφορά μεταξύ εκτιμώμενου και τελικού αποτελέσματος:  $1,980 \times 10^6 \pm 0,872 \times 10^6$ ).

**ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ:** Η χρήση του μαθηματικού τύπου ( $CD34 \times V \times 1000 \times cef$ )/ $B \Sigma = x$ , επιτρέπει την επίτευξη βέλτιστης σχέσης κόστους-αποτελέσματος, με τη βελτίωση της απόδοσης της συλλογής, την αποφυγή πολλαπλών συνεδριών, την αποφυγή περίσσειας προϊόντος. Επιπλέον αποτελεί ένα πολύτιμο, απλό εργαλείο για την αξιολόγηση του αποτελέσματος της συλλογής AAK, όπως απαιτείται από συστήματα πιστοποίησης (JACIE).

## 76 NETosis: «ΑΥΤΟΚΤΟΝΙΚΟΣ» ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΣ ΘΑΝΑΤΟΣ ΚΟΚΚΙΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΜΕΣΟΠΟΡΩΔΩΝ ΝΑΝΟΥΛΙΚΩΝ

Σ. Φόρτης<sup>1</sup>, Χ. Γεωργατζάκου<sup>1</sup>, Ι. Τσαμειδίδη<sup>2</sup>, Γ. Αλβανίδης<sup>1</sup>, Ε. Παπαγεωργίου<sup>1</sup>, Δ. Γκιλιόπουλος<sup>3</sup>, Γ. Πουρουτζίδου<sup>4</sup>, Α. Θεοχαρίδου<sup>2</sup>, Ε. Κοντονασάκη<sup>2</sup>, Α. Κριεμπάρδης<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ερευνητικό Εργαστήριο Αξιοπιστίας και Ποιοτικού Ελέγχου στην Εργαστηριακή Αιματολογία- HemQcR, Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής, <sup>2</sup>Τμήμα Οδοντιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, <sup>3</sup>Τμήμα Χημείας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, <sup>4</sup>Τμήμα Φυσικής, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

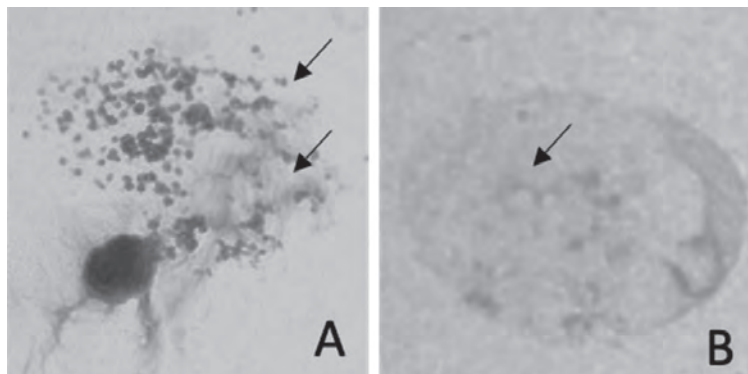
**ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ:** Τα μεσοπορώδη νανοϋλικά με βάση το πυρίτιο (MSN) θεωρούνται πολλά υποσχόμενοι φορείς φαρμάκων λόγω της δομής και του μεγέθους των πόρων τους, καθώς διαθέτουν υψηλή ικανότητα φόρτωσης/ενθυλάκωσης και απελευθέρωσης βιοδραστικών ουσιών. Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν ο έλεγχος συμβατότητας νανοϋλικών που έχουν συντεθεί με διαφορετικές φυσικοχημικές ιδιότητες με τα λευκοκύτταρα. Ακόμα, παραμένει αμφιλεγόμενο αν η απελευθέρωση εξωκυττάρων «παγίδων» ουδετεροφίλων (NETs) αντιπροσωπεύει ένα ενεργό και ειδικό φυσιολογικό μηχανισμό ή είναι αποτέλεσμα κυτταρικής ρήξης λόγω τοξινών, οξειδωτικών ουσιών κ.α. Ο απώτερος στόχος ήταν ο έλεγχος της συμβατότητας των λευκοκυττάρων με MSN εξετάζοντας την βιωσιμότητα, τη μορφολογία καθώς και την ικανότητα αυτών να ενεργοποιούν NETs, έναν αυτοκτονικό κυτταρικό θάνατο γνωστό ως NETosis.

**ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ:** Πραγματοποιήθηκε απομόνωση λευκοκυττάρων περιφερικού αίματος από υγιείς δότες (N=3) και ακολούθησαν καλλιέργειες των κυττάρων παρουσία μεσοπορώδων νανοϋλικών πυριτίας με και χωρίς την ενσωμάτωση ιόντων Ca και Ce (Si-NP, SiCa-NP, SiCaCe2.5-NP, SiCaCe5-NP) σε διαφορετικές συγκεντρώσεις (0.010mg/ml, 0.025mg/ml, 0.050mg/ml και 0.075mg/ml). Μετά την επώαση, προσδιορίστηκε η βιωσιμότητα των κυττάρων με κυτταρομετρία ροής (Annexin V/

Propidium Iodide) ενώ μετά από επίστρωση και χρώση παρατηρήθηκε η μορφολογία σε φωτονικό μικροσκόπιο για τον έλεγχο της ικανότητάς τους να ενεργοποιούνται μέσω NETosis.

**ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ:** Η παρουσία των νανοϋλικών, σε όλες τις συγκεντρώσεις, δεν επηρέασε τη βιωσιμότητα και τη μορφολογία των λεμφοκυττάρων και μονοκυττάρων. Ωστόσο, παρατηρήθηκε μειωμένη βιωσιμότητα των κοκκιοκυττάρων παρουσία όλων των νανοϋλικών. Για τα νανοϋλικά Si-NP, SiCa-NP, SiCaCe2.5-NP, SiCaCe5-NP στη συγκέντρωση 0.010mg/ml παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική μείωση της βιωσιμότητας των κοκκιοκυττάρων (σε σχέση με τους μάρτυρες) κατά 6.4%, 11.8%, 12.23% και 9.62%, αντίστοιχα ( $p < 0,01$ ). Στην συγκέντρωση των 0.025mg/ml η μείωση της βιωσιμότητας ήταν 11.87%, 8.13%, 8.8% και 11.2% για τα Si-NP, SiCa-NP, SiCaCe2.5-NP, SiCaCe5-NP, αντίστοιχα ( $p < 0,01$ ). Το παράδοξο ήταν ότι με τις υψηλότερες συγκεντρώσεις των νανοϋλικών δεν παρατηρήθηκε μεγαλύτερη μείωση της βιωσιμότητας. Η μικροσκοπική παρατήρηση επιβεβαίωσε τα αποτελέσματα της κυτταρομετρίας και βρέθηκε ότι τα κοκκιοκύτταρα παρουσίασαν εικόνα NETosis. Σε ποσοστό 12% τα κοκκιοκύτταρα είχαν ομοιογενή υαλώδη εμφάνιση του κυτταροπλάσματος, άφθονα κενोटόπια ενώ σε ορισμένα από αυτά (9%) παρουσιάστηκε βλάβη στην κυτταρική μεμβράνη και κυτταροπλασματικά συσσωματώματα. Οι πυρήνες εμφανίζονταν κατεστραμμένοι με πυρηνικές πυκνώσεις στα περισσότερα. Σε μεγάλο ποσοστό (12%) εντοπίστηκε εξωκυττάρια κατεστραμμένο πυρηνικό υλικό με αποσυμπύκνωση και εξωτερική χρωματίνης. Περίπου 11% των ουδετερόφιλων κοκκιοκυττάρων παρουσίασαν εικόνα αποκοκκίωσης. Τα μονοκύτταρα παρόλο που μορφολογικά ήταν φυσιολογικά παρουσίασαν έντονη φαγοκυττάρωση κατεστραμμένων κοκκιοκυττάρων.

**ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ:** Μικροσκοπικά φαίνεται τα MSN να ενεργοποιούν τα κοκκιοκύτταρα και την NETosis. Αυτή η ενεργοποίηση εγκλωβίζει τα MSN στα NET και επιτρέπει την έναρξη μίας φλεγμονώδους αντίδρασης. Τα τελευταία χρόνια, έχει αποδοθεί στα ουδετερόφιλα, πολύ σημαντικός ρόλος στην εξέλιξη διαφόρων ασθενειών (π.χ. καρκίνος ή αυτοάνοσα νοσήματα) και πολλές θεραπευτικές προσεγγίσεις έχουν ως στόχο την ρύθμιση τους μέσω MSN. Έρευνες υποστηρίζουν την απελευθέρωση NET ως κομβικής σημασίας αμυντικό μηχανισμό (ζωτική NETosis). Απαιτείται περαιτέρω έρευνα για την αξιοποίηση των παρόντων νανοϋλικών στη θεραπεία ασθενειών με φλεγμονώδες υπόστρωμα μέσω ενεργοποίησης της NETosis.



**Εικόνα 1.** Ενδεικτική εικόνα της NETosis στα κοκκιοκύτταρα ύστερα από επώαση με τα μεσοπορώδη νανοϋλικά με βάση το πυρίτιο (MSN). (A) Καταστροφή συνέχειας κυτταρικής μεμβράνης και απελευθέρωση κοκκίων στον εξωκυττάρια χώρο. (B) Κυτταρική μεμβράνη κοκκιοκυττάρου που έχει χάσει τα κοκκία και τον πυρήνα του.

## 77 ΛΕΤΕΡΜΟΝΙΡ: ΕΜΠΕΙΡΙΑ ΕΝΟΣ ΚΕΝΤΡΟΥ ΣΤΗΝ ΠΡΟΦΥΛΑΞΗ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΓΑΛΟΪΟΥ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΑΛΛΟΓΕΝΗ ΜΕΤΑΜΟΣΧΕΥΣΗ ΑΡΧΕΓΟΝΩΝ ΑΙΜΟΠΟΙΗΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ

Μ. Λίγκα<sup>1</sup>, Δ. Τσοκάνας<sup>1</sup>, Μ. Μπαλή<sup>1</sup>, Χ. Κοροβίλα<sup>1</sup>, Φ. Παληογιάννη<sup>2</sup>, Μ. Μαραγκός<sup>3</sup>, Α. Σπυριδωνίδης<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Μονάδα Μεταμόσχευσης Μυελού των Οστών, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Πατρών, <sup>2</sup>Μικροβιολογικό/Ανοσολογικό Εργαστήριο, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Πατρών, <sup>3</sup>Παθολογική Κλινική, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Πατρών

**ΣΚΟΠΟΣ:** Η αλλογενής μεταμόσχευση αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων (αλλο-ΜΑΚ) αποτελεί σωτήρια θεραπεία για πολλαπλά κακοήθη και μη κακοήθη νοσήματα. Ωστόσο, οι ασθενείς που υποβάλλονται σε αλλο-ΜΑΚ βρίσκονται σε υψηλό κίνδυνο νόσου από ενεργοποίηση του κυτταρομεγαλοΪου (CMV). Ο CMV είναι ερπητοϊός -β που προκαλεί ασυμπτωματική λοίμωξη σε 70-80% των ανοσοεπαρκών ατόμων και στη συνέχεια παραμένει σε λανθάνουσα κατάσταση στα μονοκύτταρα και