

συμπληρώματος συνέβαλε σημαντικά στη μείωση των θρομβωτικών επεισοδίων και κατ' επέκταση στην αύξηση της επιβίωσης των ασθενών.

### 130 ΠΡΟΚΑΤΑΡΚΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΕΛΕΓΧΟΥ ΑΙΜΟΣΥΜΒΑΤΟΤΗΤΑΣ ΝΑΝΟΥΪΚΩΝ ΣΕ ΔΕΞΑΜΕΝΗ ΑΣΚΟΥ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ

Χ. Γεωργατζάκου<sup>1</sup>, Σ. Φόρτης<sup>1</sup>, Ι. Τσαμεσιδης<sup>2</sup>, Ε. Παπαγεωργίου<sup>1</sup>, Κ. Σταμούλης<sup>3</sup>, Δ. Γκιλιόπουλος<sup>4</sup>, Γ. Πουρουτζίδου<sup>5</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>Εθνικό Κέντρο Αιμοδοσίας – ΕΚΕΑ, Αθήνα, <sup>4</sup>Τμήμα Χημείας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, <sup>5</sup>Τμήμα Φυσικής, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

**ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ:** Ο έλεγχος της αιμοσυμβατότητας είναι υψίστης σημασίας κατά τη δημιουργία νέων νανοϋλικών (NP) τα οποία προορίζονται ως μεταφορείς φαρμάκων. Προηγούμενες μελέτες έχουν αναφέρει διαταραχές στην αιμόσταση οι οποίες εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από τις φυσικοχημικές ιδιότητες των NP. Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν ο έλεγχος των επιδράσεων NP διαφορετικής σύστασης, τα οποία έχουν κατασκευαστεί με βάση το πυρίτιο, σε ασκούς αιμοπεταλίων (PLTs).

**ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ:** Χρησιμοποιήθηκαν μονάδες δεξαμενοποιημένων PLTs ίδιας ομάδας κατά ABO. Οι ασκοί PLTs αποθηκεύτηκαν για πέντε ημέρες σύμφωνα με τις διεθνείς οδηγίες. Τα PLTs επώαστηκαν με τα νανοϋλικά Si-NP, SiCa-NP, SiCaCe 2.5-NP, SiCaCe 5-NP σε διαφορετικές συγκεντρώσεις (0,010 mg/ml, 0,025mg/ml, 0,050mg/ml, 0,075mg/ml) για 30min στους 37°C. Μετρήθηκαν τα επίπεδα ενδοκυττάρων δραστικών ριζών οξυγόνου (ROS), τα ποσοστά (%) των ROS+ καθώς και τα ποσοστά (%) PS+/CD62P+ αιμοπεταλίων με κυτταρομετρία ροής, ως δείκτες ενεργοποίησής τους, την 1<sup>η</sup> και 5<sup>η</sup> ημέρα αποθήκευσης.

**ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ:** Την 1<sup>η</sup> ημέρα αποθήκευσης όλα τα νανοϋλικά προκάλεσαν σημαντική αύξηση στα ενδοκυττάρια ROS (171-209%), τα οποία διατηρήθηκαν υψηλά σε όλες τις συγκεντρώσεις για τα νανοϋλικά Si-NP, SiCa-NP, SiCaCe 2.5-NP. Όσον αφορά στα ποσοστά των ROS+ αιμοπεταλίων η μεγαλύτερη αύξηση (11,9%) παρατηρήθηκε στα SiCaCe 2.5-NP σε συγκέντρωση 0,010mg/ml, στα οποία αυξανόμενης συγκέντρωσης παρουσιάστηκε μικρή μείωση (1,44%) των ROS+ αιμοπεταλίων. Στο SiCaCe 5-NP η αύξηση της συγκέντρωσης οδήγησε σε απότομη μείωση στην ένταση του φθορισμού και στα ποσοστά ROS+ PLTs υποδηλώνοντας πιθανή τοξική επίδραση του συγκεκριμένου υλικού στα αιμοπετάλια, η οποία επιβεβαιώνεται και από τη μέτρηση των PS+/CD62P+ PLTs. Την 5<sup>η</sup> ημέρα αποθήκευσης, όλα τα νανοϋλικά επέφεραν σημαντική αύξηση (167 έως 329%) στα επίπεδα ενδοκυττάρων ROS, σε όλες τις συγκεντρώσεις, ενώ η σημαντικότερη αύξηση των ROS+ PLTs (%) παρατηρήθηκε μετά από επώαση με το SiCaCe 2.5-NP. Όσον αφορά στα επίπεδα των PS+/CD62P+ PLTs, την 1<sup>η</sup> ημέρα αποθήκευσης, τα SiCa-NP, SiCaCe 2.5-NP και SiCaCe 5-NP σε όλες τις συγκεντρώσεις επέφεραν αύξηση που ξεπερνούσε το 70%, σε αντίθεση με το Si-NP όπου αύξηση ήταν σημαντικά χαμηλότερη (<61%) στις χαμηλές συγκεντρώσεις (0,010 και 0,025mg/ml). Την 5<sup>η</sup> ημέρα αποθήκευσης, τα υψηλότερα ποσοστά ενεργοποιημένων PS+/CD62P+ PLTs παρατηρήθηκαν μετά από επώαση με το νανοϋλικό SiCa-NP σε όλες τις συγκεντρώσεις και στο Si-NP μόνο στις συγκεντρώσεις 0,010 και 0,075mg/ml, ενώ το SiCaCe 2.5-NP παρουσίασε τη χαμηλότερη αύξηση (0 έως 7,3%) στις συγκεντρώσεις 0,010 και 0,075mg/ml.

**ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ:** Όλα τα υλικά που ελέγχθηκαν οδηγούν σε σημαντική αύξηση των δεικτών ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων. Η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων που προκύπτει από τη σημαντική επίδραση των νανοϋλικών SiCa-NP, SiCaCe 2.5-NP και SiCaCe 5-NP, πιθανά οφείλεται στην παρουσία των ιόντων ασβεστίου που συμμετέχουν στη δημιουργία του συμπλόκου προθρομβινάσης. Ωστόσο, η παρουσία του δημητρίου (Ce) σε συγκεκριμένες συγκεντρώσεις φαίνεται να είναι παράγοντας εν μέρει ανασταλτικός για την ενεργοποίηση των PLTs. Επιπλέον, οι διαφορετικές συγκεντρώσεις του κάθε υλικού παίζουν καθοριστικό ρόλο στην επίδραση που έχουν στα κύτταρα, η οποία δεν είναι απαραίτητα ανάλογη της συγκέντρωσης. Η εύρεση των κατάλληλων συγκεντρώσεων και της κατάλληλης σύστα-

σης των νανοϋλικών, πιθανά να επιτρέψει τη μελλοντική χρήση τους ως αιμοστατικούς παράγοντες, σε επείγουσες καταστάσεις αιμορραγίας σε συνδυασμό με τη χορήγηση μονάδων αποθηκευμένων αιμοπεταλίων.

### 131 ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΑΙΜΟΣΤΑΣΗΣ ΣΤΗΝ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΧΡΟΝΙΑΣ ΝΕΦΡΙΚΗΣ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑΣ: Η ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΜΕΤΑΞΥ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΔΙΑΛΥΤΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ

Ε. Παύλου<sup>1,2</sup>, Χ. Γεωργατζάκου<sup>1\*</sup>, Σ. Φόρτη<sup>1</sup>, Κ. Τσαντέ<sup>1</sup>, Α. Τσαντές<sup>1</sup>, Ε. Νομικού<sup>2</sup>, Α. Καποτά<sup>3</sup>, Δ. Πετράς<sup>3</sup>, Μ. Βενετίκου<sup>4</sup>, Ε. Παπαγεωργίου<sup>1</sup>, Μ. Αντωνέλου<sup>5</sup>, Α. Κριεμπάρδης<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Εργαστήριο Αξιοπιστίας και Ποιοτικού Ελέγχου στην Εργαστηριακή Αιματολογία-HemQcR, Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής, <sup>2</sup>ΝΥ Αιμοδοσίας και Τμήματος Αιμόστασης-Αιμορροφιλικών Ασθενών, ΓΝ «Ιπποκράτειο», Αθήνα, <sup>3</sup>Νεφρολογικό Τμήμα, ΓΝ «Ιπποκράτειο», Αθήνα, <sup>4</sup>Εργαστήριο Ανατομίας - Παθολογικής Ανατομίας & Φυσιολογίας – Διατροφής, Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής, <sup>5</sup>Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

**ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ:** Οι διαταραχές αιμόστασης στη χρόνια νεφρική ανεπάρκεια σχετίζονται με υψηλό κίνδυνο αιμορραγίας και θρομβωτικών επεισοδίων. Η παρούσα μελέτη στόχευε στη διερεύνηση των αιμοστατικών διαταραχών που οφείλονται στις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των διαλυτών παραγόντων πήξης και των κυττάρων του αίματος, καθώς και στις επιδράσεις που έχει η αιμοκάθαρση, σε ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια.

**ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ:** Μελετήθηκαν 32 ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια υπό αιμοκάθαρση και 15 υγιείς μάρτυρες. Πραγματοποιήθηκε λήψη ολικού αίματος από τους υγιείς μάρτυρες και τους ασθενείς, πριν και μετά το τέλος της συνεδρίας αιμοκάθαρσης. Η αξιολόγηση της αιμόστασης περιλάμβανε την εργαστηριακή διερεύνηση της πρωτογενούς και δευτερογενούς αιμόστασης, ανάλυση των σχετικών παραγόντων (συστήματος πήξης, ινωδόλυσης και αναστολής) και την ενεργότητα της πρωτεΐνης ADAMTS-13. Επιπλέον, μετρήθηκαν τα επίπεδα ενδοκυττάρων δραστικών ριζών οξυγόνου (ROS) και η εξωτερίκευση φωσφατιδυλοσερίνης (PS) στα ερυθρά αιμοσφαίρια και στα αιμοπετάλια, καθώς και ο δείκτης ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων CD62P, με κυτταρομετρία ροής. Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με τα προγράμματα Graph Pad Prism 8.0.3 και SPSS v.27.

**ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ:** Ο έλεγχος της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων με την προσθήκη των αγωνιστών επινεφρίνη και ADP (PFA/EP1 και PFA/ADP) έδειξε παθολογικά αυξημένες τιμές στους ασθενείς. Στην πλειονότητά τους, η ενεργότητα των παραγόντων πήξης, ινωδόλυσης και των αναστολέων της πήξης ήταν εντός των φυσιολογικών τιμών, όμως η διαδικασία της αιμοκάθαρσης προκάλεσε αύξηση των τιμών στους μισούς από αυτούς. Επιπλέον, η αιμοκάθαρση επιδείνωσε τα ήδη παθολογικά αυξημένα επίπεδα του αναστολέα της πρωτεΐνης ADAMTS-13. Τα αιμοπετάλια των ασθενών χαρακτηρίζονταν από αυξημένους δείκτες ενεργοποίησης (PS, CD62P, ROS), ενώ βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ των επιπέδων οξειδωτικού στρες και εξωτερίκευσης PS των ερυθρών αιμοσφαιρίων με τους παράγοντες πήξης και με χαρακτηριστικά των αιμοπεταλίων.

**ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ:** Η παρούσα μελέτη αποδεικνύει την πολυπλοκότητα του μηχανισμού αιμόστασης στην νεφρική ανεπάρκεια. Ενδείξεις αυξημένου κινδύνου αιμορραγίας συνυπάρχουν με διαλυτά και κυτταρικά προθρομβωτικά χαρακτηριστικά σε συνδυασμό με μια υπερिनωδολυτική κατάσταση σε αυτούς τους ασθενείς. Η αιμοκάθαρση φαίνεται να επιδεινώνει το προθρομβωτικό δυναμικό, ενώ η εμμένουσα αιμοπεταλιακή δυσλειτουργία πιθανά αποτελεί έναν αντισταθμιστικό παράγοντα στην αυξημένη προδιάθεση για θρομβωτικά επεισόδια, μετά την αιμοκάθαρση. Η αλληλεπίδραση των ερυθρών αιμοσφαιρίων με τα αιμοπετάλια, το θρόμβο, το ενδοθήλιο, τα διαλυτά συστατικά των μονοπατιών πήξης και η συμβολή των εξωκυττάρων κυστιδίων στην αιμόσταση της ουραιμίας, καθώς και η ταυτοποίηση του αναστολέα της πρωτεΐνης ADAMTS-13 στη νεφρική ανεπάρκεια τελικού σταδίου, χρειάζονται περαιτέρω διερεύνηση.

\*«Η υλοποίηση της μεταδιδακτορικής έρευνας/εργασίας συγχρηματοδοτήθηκε από την Ελλάδα και την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο) μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Ανάπτυξη Ανθρώπινου