



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΠΡΟΝΟΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΟΜΕΑΣ: ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΩΝ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ:

Πολυάνοσες ανοσοσφαιρίνες από πλάσμα ιαθέντων ασθενών ως
θεραπεία έναντι της νόσου COVID-19.

Όνοματεπώνυμο Φοιτητή (και ΑΜ):
Μαριόν Γκίκα (62116008)

Όνοματεπώνυμο Επιβλέποντα (και Βαθμίδα ή Ιδιότητα):
Αναστάσιος Κριεμπάρδης, Αναπληρωτής καθηγητής

Αθήνα, Ιούλιος 2021



UNIVERSITY OF WEST ATTICA
FACULTY OF HEALTH AND CARE SCIENCES
DEPARTMENT OF BIOMEDICAL SCIENCES
DIVISION: MEDICAL LABORATORIES

DISSERTATION:

Polyvalent immunoglobulins from convalescent plasma as a treatment
for COVID-19 disease.

STUDENT NAME (and CN):
Marjon Gjika (62116008)

NAME OF SUPERVISOR (and TITLE):
Anastasios Kriebardis, Associate Professor

Athens, July of 2021

ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ/ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Ο/Η κάτωθι υπογεγραμμένος/η Μαριόν Γκίκα του Κωσταντίν, με αριθμό μητρώου 62116008 φοιτητής/τρια του Πανεπιστημίου Δυτικής της Σχολής ΣΕΥΠ του Τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών, δηλώνω υπεύθυνα ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της πτυχιακής/διπλωματικής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολο τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος.

Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μας».

Ο/Η Δηλών/ούσα
ΜΑΡΙΟΝ ΓΚΙΚΑ



(Υπογραφή)

Μέλη Εξεταστικής Επιτροπής

Η πτυχιακή εργασία εξετάστηκε επιτυχώς από την κάτωθι Εξεταστική Επιτροπή:

| α/α | Όνοματεπώνυμο | Ιδιότητα/Βαθμίδα | Ψηφιακή υπογραφή |
|------------|--|-------------------------|-------------------------|
| 1 | ΑΝΑΣΤΑΣΙΟΣ ΚΡΙΕΜΠΑΡΔΗΣ (ΕΙΣΗΓΗΤΗΣ) | Αν. Καθηγητής | |
| 2 | ΧΑΡΑ ΓΕΩΡΓΑΤΖΑΚΟΥ | Ακ. Υπότροφος | |
| 3 | ΕΥΣΤΑΘΙΑ ΠΑΠΑΓΕΩΡΓΙΟΥ | Καθηγήτρια | |

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή κύριο Αναστάσιο Κριεμπάρδη, για τη στήριξη του σε ακαδημαϊκό και διαπροσωπικό επίπεδο.

Τέλος, οφείλω ένα μεγάλο ευχαριστώ στην οικογένεια και στους φίλους μου, οι οποίοι με στήριξαν αυτή την αρκετά δύσκολη ακαδημαϊκή χρονιά.

“Aut viam inveniam aut faciam.”

-Hannibal

Περιεχόμενα

| | |
|--|----|
| Μέλη Εξεταστικής Επιτροπής..... | 1 |
| ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ | 2 |
| ΠΕΡΙΛΗΨΗ | 4 |
| ABSTRACT | 5 |
| ΕΙΣΑΓΩΓΗ | 6 |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΙΟΣ COVID-19 (SARS-CoV-2) | 7 |
| 1.1 Γενικά στοιχεία | 7 |
| 1.1.1 Ιολογικά στοιχεία | 7 |
| 1.1.2 Νόσος COVID-19 | 8 |
| 1.1.3 Επιδημιολογία COVID-19 και άλλων κορωνοϊών | 11 |
| 1.1.4 Επιδημία SARS | 13 |
| 1.1.5 Επιδημία MERS..... | 13 |
| 1.2. Διάγνωση της νόσου COVID-19 | 14 |
| 1.3 Φαρμακευτικές οδοί αντιμετώπισης | 15 |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΚΛΑΣΜΑΤΟΠΟΙΗΣΗ ΠΛΑΣΜΑΤΟΣ ΑΙΜΑΤΟΣ..... | 17 |
| 2.1 Ιστορική αναδρομή | 17 |
| 2.2 Σύγχρονες προσεγγίσεις..... | 18 |
| 2.3 Παράγωγα κλασματοποιημένου πλάσματος | 18 |
| 2.3.1 Λευκωματίνη | 20 |
| 2.3.2 Παράγοντες πήξης - αντιπηκτικοί παράγοντες | 20 |
| 2.3.3 Αναστολείς πρωτεασών | 21 |
| 2.3.4 Ανοσοσφαιρίνες | 22 |
| 2.4 Πλάσμα ιαθέντων ως όπλο αντιμετώπισης νοσημάτων | 23 |
| 2.4.1 Ιστορική αναδρομή | 23 |
| 2.4.2 Πλάσμα ιαθέντων ενάντια στον ιό COVID-19 | 24 |
| 2.5 Περιορισμοί της χρήσης πλάσματος ιαθέντων | 24 |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΑΠΟ ΠΛΑΣΜΑ | 26 |
| 3.1 Εισαγωγή | 26 |
| 3.2 Απομόνωση αντισωμάτων από πλάσμα αίματος σε ιολογικές νόσους..... | 26 |
| 3.3 Απομόνωση αντισωμάτων από πλάσμα αίματος στην έξαρση του ιού Ebola | 28 |
| 3.4 Τεχνικές απομόνωσης αντισωμάτων από πλάσμα αίματος | 28 |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΣΕ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗ ΚΛΙΜΑΚΑ | 30 |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΣΥΖΗΤΗΣΗ..... | 32 |
| ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ | 36 |
| Πίνακας Εικόνων | 45 |
| Πίνακας Σχημάτων | 46 |

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η δεκαετία που διανύουμε στιγματίστηκε από την πανδημία του ιού SARS-CoV-19. Η εξαιρετικά υψηλή μεταδοτικότητα του, η πολύπλοκη παθολογία που παρουσιάζει, καθώς και η πρακτικά παντελής έλλειψη ερευνών πάνω στο συγκεκριμένο παθογόνο (καθώς πρόκειται για αναδυόμενο), οδήγησαν τους αρμόδιους φορείς σε λήψη αυστηρών υγειονομικών μέτρων, τα οποία επηρέασαν αρνητικά την ανθρωπότητα, όσον αφορά την οικονομία, την ψυχική υγεία και τις κοινωνικές αλληλεπιδράσεις.

Η περισσότερα υποσχόμενη φαρμακευτική αντιμετώπιση βρίσκεται σε μεθοδολογίες που χρησιμοποιούνται εδώ και αρκετές δεκαετίες. Η ίδια λύση δόθηκε σε διάφορες ιολογικές και βακτηριακές νόσους. Δόθηκε σε παρελθοντικές επιδημίες, με πιο πρόσφατο παράδειγμα τα τελευταία ξεσπάσματα ιών του γένους *Ebola* του 1995 και του 2013. Πρόκειται για την απομόνωση πολυάνοσων ανοσοσφαιρινών από πλάσμα αίματος ανοσοποιημένου πληθυσμού, στον οποίο ανήκουν οι αναρρωμένοι ασθενείς, καθώς και όσοι έχουν εμβολιαστεί. Η συγκεκριμένη μεθοδολογία παραγωγής αντισωμάτων έχει αρκετά πλεονεκτήματα σε σχέση με άλλες, όσον αφορά το κόστος παραγωγής, την απαραίτητη μελέτη του παθογόνου και την ευκολία εφαρμογής της. Για την παραγωγή τους απαιτείται η μαζική κλασματοποίηση τους και η απομόνωση τους από το αντίστοιχο κλάσμα.

Αν και η ύπαρξη μεταλλάξεων του αρχικού στελέχους ανησυχεί τους ειδικούς, τα παράγωγα πλάσματος θα μπορέσουν να λειτουργήσουν ως πηγή αντισωμάτων εξειδικευμένων έναντι του εκάστοτε μεταλλαγμένου στελέχους. Επιπλέον, δεδομένων των υγειονομικών και νομικών συνθηκών που επικρατούν στην παράνομη εμπορία εξωτικών ζώων, είναι στατιστικά βέβαιο ότι μέσα στις επόμενες δεκαετίες θα υπάρξει κάποιο επιδημικό κύμα, οφειλόμενο σε καινούργια παθογόνα, άγνωστα στον άνθρωπο. Όταν έρθει η ώρα αυτή, οι πολυάνοσες ανοσοσφαιρίνες πρέπει να αξιοποιηθούν, για την καλύτερη δυνατή διαχείριση της κατάστασης.

ABSTRACT

This decade has been marred by the SARS-CoV-19 pandemic. Its extremely high transmissibility, the complex pathology it presents, as well as the practically complete lack of research on this particular pathogen (as it is an emerging one), led the competent authorities to take strict health measures, which negatively affected humanity, in terms of economy, mental health and social interactions.

The most promising medication is found in methodologies that have been used for several decades. The same solution was given to various virological and bacterial diseases. It has been given in past epidemics, most recently the latest outbreaks of Ebola in 1995 and 2013. It is the isolation of multivalent immunoglobulins from the blood plasma of an immunized population, to which belong both recovering patients as well as those who have been vaccinated belong. This methodology of antibody production has several advantages over others, in terms of production costs, the necessary study of the pathogen and its ease of application. Their production requires their mass fractionation and their isolation from the corresponding fraction.

Although the presence of mutations in the original strain concerns the experts, plasma derivatives will be able to function as a source of antibodies specific to the respective mutant strain. In addition, given the health and legal conditions prevailing in the illicit trade of exotic animals, it is statistically certain that in the coming decades there will be an epidemic wave, due to new pathogens unknown to humans. When this time comes, the multivalent immunoglobulins should be utilized, for the best possible management of the condition.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Από την αρχή της ανθρωπότητας, εμφανιζόντουσαν ανά δεκαετίες επιδημικά και πανδημικά κύματα. Από την αρχαιότητα, οι πανδημίες θεωρήθηκαν θεϊκή τιμωρία και προειδοποίηση για την εγκατάληψη της ηθικής. Επιδημικές νόσοι ήταν ο καθοριστικότερος παράγοντας για τον παρ'ολίγον αφανισμό των προκολομβιανών πολιτισμών της Λατινικής Αμερικής.

Η ιστορικότερη πανδημία στην ιστορία του ανθρώπινου είδους έλαβε χώρα τον 14^ο αιώνα (συγκεκριμένα το 1347) στην Ευρασία και αφορούσε την βουβωνική πανώλη (γνωστή και ως *μαύρος θάνατος*). Οι συνολικές απώλειες έφτασαν, σύμφωνα με ιστορικές πηγές, το 1/3 του συνολικού πληθυσμού της Ευρώπης. Τα πανδημικά κύματα είχαν τεράστιο αντίκτυπο στην εργασιακή ζωή των ανθρώπων (εκθετική αύξηση σε μισθούς, λόγω μειωμένου διαθέσιμου εργατικού δυναμικού), και στο περιβάλλον (αυξημένοι ρυθμοί αναδάσωσης λόγω μικρότερης ανθρώπινης εκμετάλλευσης). Αντίστοιχα όπως και στην περίπτωση της πανδημίας COVID-19 (όπως θα δούμε αργότερα), η πανδημία της βουβωνικής πανώλης προκάλεσε ρατσιστικές επιθέσεις έναντι στους Εβραϊκούς πληθυσμούς της Ευρώπης, οι οποίοι λόγω των θρησκευτικών τους εθίμων τηρούσαν μέτρα υγιεινής (σε αντίθεση με τους υπόλοιπους πληθυσμούς). Η λεπτομέρεια αυτή τους προσέδιδε έναν βαθμό ανοσίας, γεγονός το οποίο προκάλεσε μια σειρά επιθέσεων, καθώς θεωρήθηκαν εκείνοι οι υπαίτιοι για την πανδημία.

Η πιο πρόσφατη πανδημία (η οποία αναλύεται στην εν λόγω εργασία) οφείλεται σε έναν εξαιρετικά μολυσματικό κορωνοϊό, με αρκετά σύνθετη και πολύπλοκη παθοφυσιολογία. Ο ιός αυτός ανάγκασε την ανθρωπότητα να πατήσει παύση από οτιδήποτε άλλο και να επικεντρωθεί στον περιορισμό και την αντιμετώπιση της πανδημίας. Η πανδημία, καθώς και τα μέτρα για την διαχείριση και αντιμετώπιση της, είχαν αξιοσημείωτο αντίκτυπο στην καθημερινότητα μας, σε εργασιακό, κοινωνικό και ψυχολογικό επίπεδο.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΙΟΣ COVID-19 (SARS-CoV-2)

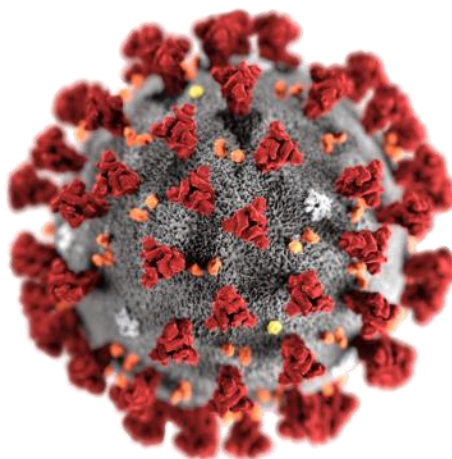
1.1 Γενικά στοιχεία

1.1.1 Ιολογικά στοιχεία

Ο ιός **SARS-CoV-2** είναι ο αιτιολογικός παράγοντας της νόσου COVID-19, καθώς και της πανδημίας που στιγμάτισε την αρχή της νέας δεκαετίας. (1)

Πρόκειται για έναν ιό μεγέθους **50-200 nm** (2), με γενετικό υλικό **μονόκλωνο RNA θετικής πολικότητας (+ssRNA)** (3), γεγονός το οποίο τον κατατάσει στην κατηγορία IV της ταξινόμησης κατά Baltimore. (4) Ανήκει στο γένος *Betacoronavirus* της οικογενείας *Coronaviridae*. Όσον αφορά την **δομή** του, πρόκειται για μία στερεοτυπική δομή κορωνοϊού, **αποτελούμενη από 4 πρωτεΐνες (S, E, M, N)**. Όλες, πλύν της N (η οποία συγκρατεί το γενετικό υλικό), αποτελούν τον ικό φάκελο. (5)

Το μεγαλύτερο ενδιαφέρον εμφανίζει η ακιδική πρωτεΐνη S, πάνω στην οποία στηρίζεται η παθολογία του ιού. (5) Αναλυτικότερα, η πρωτεΐνη αποτελείται από **δύο υπομονάδες**, τις **S1** και **S2**. Η λειτουργία της υπομονάδας S1 είναι η **προσκόλληση** του ιού **στα ανθρώπινα κύτταρα**, ενώ της S2 η **είσοδος του στο κυτταρόπλασμα** των κυττάρων. (6)



Εικόνα 1 Εικονογράφηση του ιού SARS-CoV-2.

(Υπόμνημα: ■ ακιδικές πρωτεΐνες S, ■ φάκελος λιποπρωτεϊνικής φύσεως, ■ πρωτεΐνες E φακέλου, ■ μεμβρανικές πρωτεΐνες M)

Πηγή: Giacomo C (2020). "The Spiky Blob Seen Around the World". *The New York Times*.

Η **μετάδοση του ιού** πραγματοποιείται κυρίως **από άνθρωπο σε άνθρωπο** (7) και **μέσω μολυσμένων επιφανειών**. (8) Στην πρώτη περίπτωση, η αρχική θεώρηση αποτελούσε ότι η μεταφορά γίνεται από μικροσταγονίδια λόγω βήχα ή φταρνίσματος, σε απόσταση έως και 1,80 m. (9) Επόμενες μελέτες υπέδειξαν ότι αερολύματα του ιού μπορούν να φτάσουν σε μεγαλύτερες αποστάσεις. (10) Τέλος, επιπρόσθετος κίνδυνος μετάδοσης απεδείχθη η ομιλία (11,12) και η κακή υγιεινή, καθώς ο ιός έχει βρεθεί σε δείγματα κοπράνων και σπέρματος μολυσμένου πληθυσμού. (13) Όσον αφορά τις μολυσμένες επιφάνειες, η πιθανότητα μετάδοσης εξαρτάται από το υλικό της επιφάνειας. Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι μελέτη, σύμφωνα με την οποία η βιωσιμότητα του ιού σε πλαστικές επιφάνειες φτάνει έως και τις 3 ημέρες, ενώ σε χάλκινες δεν ξεπερνά τις 4 ώρες. (14)

Ενδείξεις όπως η **γενετική ομοιότητα** με άλλους κορωνοϊούς που προσβάλλουν ζώα, υποδεικνύουν ότι ο ιός έχει **ζωική προέλευση**. (15) Ως ο πιο πιθανός ενδιάμεσος ξενιστής αναφέρεται η **νυχτερίδα** του είδους *Rhinolophus sinicus*, καθώς δείγματα που απομονώθηκαν από το συγκεκριμένο είδος κατείχαν ομοιότητα της τάξης του 80% σε σχέση με τον ιό 2019-nCoV. (16) Συγκεκριμένα, ένα στέλεχος, γνωστό ως RaTG13, έφτασε το ποσοστό γενετικής ομοιότητας των 96%. (17) Αρχικά, αναφέρθηκε ως δυνητικά ενδιάμεσος ξενιστής ο **παγκολίνος** (*Manis javanica*) (18), θεωρία που απορρίφθηκε λόγω δεδομένων, όπως μικρή ομοιότητα της γενετικής αλληλουχίας και το γεγονός ότι το συγκεκριμένο είδος νοσεί, φαινόμενο ασυνήθιστο για ενδιάμεσους ξενιστές. (19)

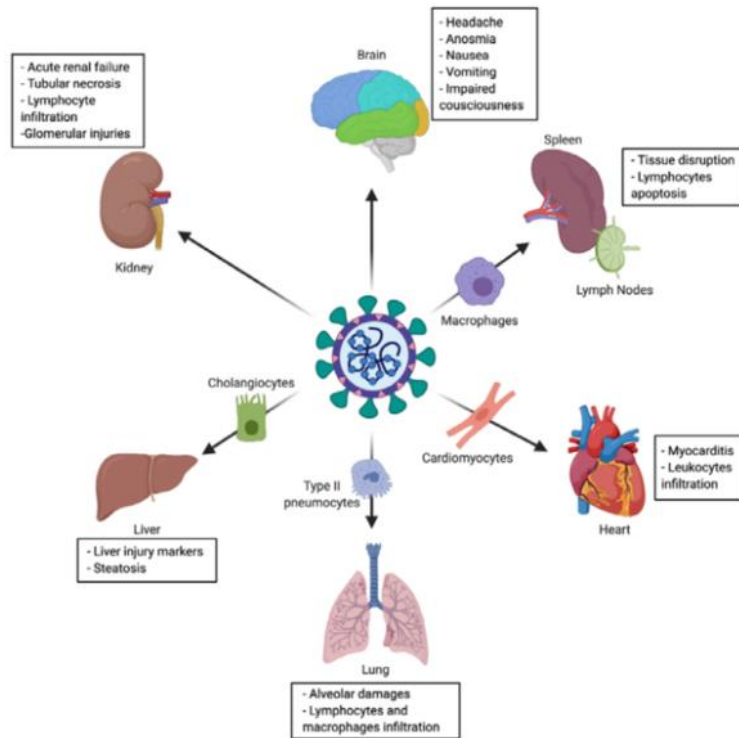
1.1.2 Νόσος COVID-19

Η **νόσος COVID-19** ή **οξεία αναπνευστική νόσος 2019-nCoV** είναι η μεταδοτική νόσος που προκαλείται από τον ομώνυμο ιό. Στα πιο **κοινά συμπτώματα** συγκαταλέγονται ο **βήχας**, ο **πυρετός**, **μυικοί πόνοι** (20), ο **πονοκέφαλος** (21), καθώς και η **ανοσμία** (απουσία της όσφρησης) και η **αγευσία** (απουσία της γεύσης). (22,23) Σύμφωνα με τα επιδημιολογικά δεδομένα, 1 στους 3 φορείς του ιού δεν εμφανίζει κανένα σύμπτωμα σε οποιαδήποτε χρονική στιγμή (**ασυμπτωματικός φορέας**). (24,25) Η **περίοδος επώασης** του ιού ανέρχεται στις 4 με 5 ημέρες. Κατά

συνέπεια, σε συμπτωματικούς φορείς η εμφάνιση των συμπτωμάτων πραγματοποιείται σε 2 με 7 ημέρες μετά τη μόλυνση. (26)

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, η **παθολογία** του ιού οφείλεται στην ακιδική πρωτεΐνη S, της οποίας οι υπομονάδες ευθύνονται για την πρόσδεση του ιού με τα ανθρώπινα κύτταρα-ξενιστές και για την είσοδο του σε αυτά. Η πρωτεΐνη εμφανίζει μεγάλη χημική συγγένεια με τον υποδοχέα **ένζυμο της αγγειοτενσίνης (ACE 2)**, με τον οποίο προσδένεται. (27) Ο συγκεκριμένος υποδοχέας εμφανίζει την μεγαλύτερη του έκφραση στις κυτταρικές μεμβράνες των **κυψελιδικών κυττάρων τύπου II**. Αυτός είναι ο λόγος που οι **πνεύμονες** είναι το πιο ευάλωτο ως προς τον ιό όργανο στον ανθρώπινο οργανισμό. (28) Η ύπαρξη του συγκεκριμένου υποδοχέα στα κύτταρα του **ρινικού επιθηλίου** και στους **οσφρητικούς νευρώνες** είναι η πιθανή εξήγηση για τα συμπτώματα της ανοσμίας και αγευσίας. (29) Μετά την πρόσδεση της ακιδικής πρωτεΐνης με τον υποδοχέα, ο ιός εισέρχεται στο κύτταρο. Κατόπιν, επάγεται η παραγωγή πολλαπλών αντιγράφων του, από το κύτταρο-ξενιστή. Μετά την παραγωγή αυτών, επέρχεται θάνατος του κυττάρου-ξενιστή. Σταδιακά, αναπτύσσεται **αναπνευστική ανεπάρκεια**, η οποία δύναται να οδηγήσει σε **θάνατο**. (30)

Η παθοφυσιολογία του ιού φαίνεται ότι οφείλεται και στην **αυξημένη** παραγωγή **κυτταροκινών**. Από τα συχνότερα ευρήματα στους ασθενείς είναι το **σύνδρομο οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας (acute respiratory distress syndrome-ARDS)**. Στο γεγονός αυτό οφείλεται η ύπαρξη αυξημένων επιπέδων **C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP)**, **γαλακτικής αφυδρογονάσης (LDH)** και **φερριτίνης** σε ορούς ασθενών με το συγκεκριμένο εύρημα. (31)



Εικόνα 2 . Παθοφυσιολογία του ιού SARS-CoV-2 σε διάφορα όργανα του ανθρώπινου οργανισμού. (Πηγή: Lebeau, G.; Vagner, D.; Frumence, É.; Ah-Pine, F.; Guillot, X.; Nobécourt, E.; Raffray, L.; Gasque, P. “Deciphering SARS-CoV-2 Virologic and Immunologic Features”. (2020) Int. J. Mol. Sci., 21, 5932.)

Εύρημα που υποστηρίζει την υπόθεση ύπαρξης κάποιου **συνδρόμου απελευθέρωσης κυτταροκινών**, αποτελεί η ύπαρξη αυξημένων επιπέδων κυτταροκινών, όπως οι ιντερλευκίνες **IL-2**, **IL-6** και **IL-7**, ο παράγοντας διέγερσης αποικίας κοκκιοκυττάρων-μακροφάγων **GM-CSF** και ο παράγοντας νέκρωσης όγκου **TNF-α**. (32)

Πέραν του αναπνευστικού συστήματος, ο ιός προσβάλλει κι άλλα οργανικά συστήματα. (βλ. *Εικόνα 1.2*) Πέρα των κυψελιδικών κυττάρων τύπου II, συχνοί στόχοι του κορωνοϊού είναι τα **κύτταρα του μυοκαρδίου**, τα **χολαγειοκύτταρα** και τα **μακροφάγα** του σπλήνα. Τα αποτελέσματα είναι μυοκαρδίτιδα, στεάτωση και απόπτωση λεμφοκυττάρων, αντίστοιχα. (33) Σημαντικές επιπλοκές αποτελούν τα **ισχαιμικά** και **θρομβοεμβολικά επεισόδια**, τα οποία πιθανώς είναι αποτέλεσμα μιας αλυσιδωτής αντίδρασης αγγειοσυστολών των αγγείων της πνευμονικής κυκλοφορίας. Η αντίδραση αυτή αναφέρεται ότι οφείλεται στην μειωμένη οξυγόνωση λόγω της λοίμωξης. (34) Ομοίως, **νεφροπάθειες** αναφέρθηκαν σε 3 στους 10 νοσηλεύομενους ασθενείς σε Νέα Υόρκη και Κίνα. (35)

Η **θνησιμότητα** της νόσου είναι πολυπαραγοντική, αφού εξαρτάται από πληθώρα χαρακτηριστικών, όπως το **φύλο του ασθενούς** και η ύπαρξη ή απουσία κάποιου

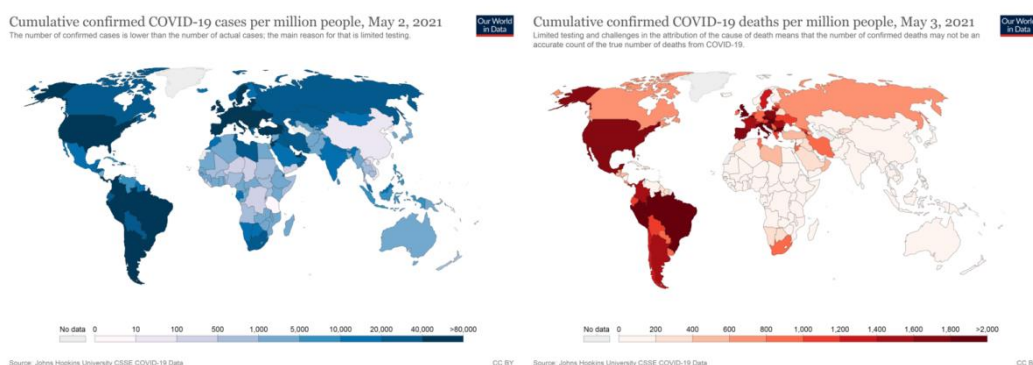
υποκειμένου νοσήματος. Σύμφωνα με αρχικές μελέτες στις χώρες που επλήγησαν περισσότερο τους πρώτους μήνες της πανδημίας (Κίνα, Ιταλία), υπήρχε **μεγαλύτερο ποσοστό θνησιμότητας** στον **αντρικό πληθυσμό**. (36,37) Αναφορικά, σύμφωνα με το εθνικό τους Κέντρο Διαχείρισης και Αποτροπής Νοσημάτων, στην Λαϊκή Δημοκρατία της Κίνας το 2,8% των νοσούντων ανδρών κατέληγε, σε αντίθεση με το αντίστοιχο γυναικείο ποσοστό που έφτασε το 1,7%. (38) Το φαινόμενο αυτό, πιθανώς να οφείλεται σε καθημερινές συνήθειες, όπως μεγαλύτερο ποσοστό καπνιστών και μεγαλύτερη κατανάλωση αλκοόλ από τον αντρικό πληθυσμό (39), είτε σε νωρίτερη ηλικιακή εμφάνιση υποκειμένων νοσημάτων (πχ. υπέρταση) στους άνδρες. (40) Αν και μεταγενέστερες επιδημιολογικές μελέτες δεν υπέδειξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στη θνησιμότητα μεταξύ των δύο φύλων (41), μια αντίστοιχη έρευνα στην Ευρώπη επιβεβαιώνει το αρχικό πόρισμα (άνδρες αποτέλεσαν το 57% και 72% των επιβεβαιωμένων κρουσμάτων και θανάτων αντίστοιχα). (42)

Όσον αφορά τις **συνυπάρχουσες κλινικές παθολογίες**, έχει διαπιστωθεί ότι συνεισφέρουν σε αρκετά μεγάλο βαθμό στην κλινική εικόνα του ασθενή. Έρευνα του Ιταλικού Istituto Superiore di Sanità έδειξε ότι στο 96,1% των ασθενών, με καταγεγραμμένο κλινικό ιστορικό, υπήρχε **συννοσηρότητα** της λοίμωξης του COVID-19 με κάποια άλλη ασθένεια (τουλάχιστον μία). Ο μέσος όρος συννοσηρότητας έφτανε τις 3,4 νόσους ανά ασθενή. Από τους ασθενείς αυτούς, οι περισσότεροι θάνατοι σημειώθηκαν σε περιστατικά με **υπέρταση, διαβήτη τύπου 2 και στεφανιαία νόσο**. Τα ποσοστά έφτασαν το 66, 29,8 και 27,6% αντίστοιχα. (43)

1.1.3 Επιδημιολογία COVID-19 και άλλων κορωνοϊών

Χρονική αφετηρία της πανδημίας αποτελεί το **τέλος του 2019**, όταν σημειώθηκαν τα πρώτα κρούσματα του ιού στην **επαρχία Wuhan** της Λαϊκής Δημοκρατίας της Κίνας. Συγκεκριμένα, τα πρώτα καταγεγραμμένα κρούσματα εντοπίστηκαν τον **Δεκέμβριο** του 2019. Η ιχνηλάτηση του “ασθενή μηδέν” (*patient zero*), με άλλα λόγια του πρώτου ατόμου με λοίμωξη από το νέο κορωνοϊό, δεν ήταν δυνατή. Η ιχνηλάτηση των πρώτων κρουσμάτων οδήγησε στην αγορά θαλασσινών Huanan, παρόλο που είναι πιθανόν η μετάδοση του ιού να ξεκίνησε αλλού. (56,57) Η μετάδοση του συγκεκριμένου ιού κυρήχθηκε ως **κατάσταση εκτάκτου ανάγκης**

διεθνούς ενδιαφέροντος στην δημόσια υγεία (Public Health Emergency of International Concern) από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (ΠΟΥ) στις 30 Ιανουαρίου του 2020, ενώ ως πανδημία κυρήχθηκε στις 11 Μαρτίου.



Εικόνα 3 Συνολικός αριθμός επιβεβαιωμένων κρουσμάτων και θανάτων της πανδημίας SARS COVID-19 ανά εκατομμύριο (έως τις 2 Μαΐου 2021). (Πηγές: 1)"Total confirmed cases of COVID-19 per million people". Our World in Data. Archived from the original on 19 March 2020. Retrieved 10 April 2020.) 2)"Cumulative confirmed COVID-19 deaths per million people". Our World in Data.

Ο δείκτης R_0 ή βασικός δείκτης μετάδοσης, σύμφωνα με αρχικές εκτιμήσεις, υπολογίστηκε μεταξύ **1,4 με 2,5**. (58) Μεταγενέστερες μελέτες, ωστόσο, έδειξαν ότι η τιμή του έφτανε το **5,7**. (59) Με άλλα λόγια, στην αρχική φάση της πανδημίας, από ένα φορέα προέκτυπαν κατά μέσο όρο 5,7 καινούριες λοιμώξεις (5,7 καινούριοι φορείς).

Έως τις 9 Μαΐου του 2021, τα **επιβεβαιωμένα κρούσματα** φτάνουν τα **162.590.514**, ενώ οι **θάνατοι** τους **3.371.126**. (60) Με έναν γρήγορο υπολογισμό, το επίσημο **ποσοστό θνησιμότητας** ισούται με **2,07%**. Σύμφωνα με προβλέψεις του ΠΟΥ, τα **συνολικά κρούσματα** ξεπερνάνε κατά πολύ τα επιβεβαιωμένα, φτάνοντας τα 780 εκατομμύρια ή, αλλιώς, **το 10% του παγκόσμιου πληθυσμού**. (61)

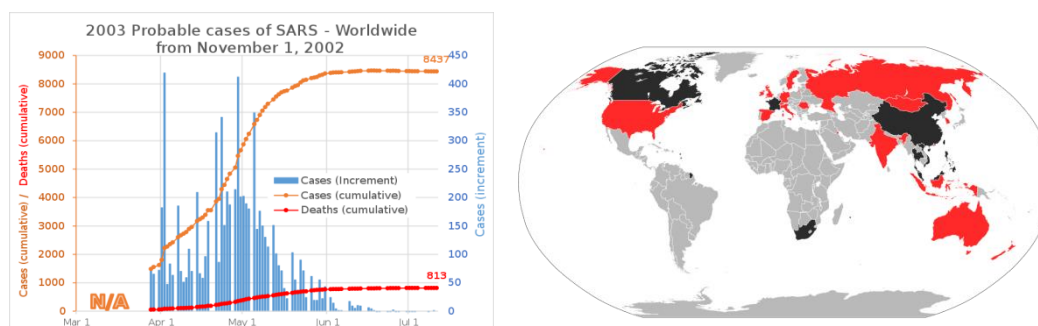
Όσον αφορά τη **χώρα μας**, ο συνολικός αριθμός των επιβεβαιωμένων **κρουσμάτων** φτάνει τα **407.857**, εκ των οποίων τα **12.218** οδηγήθηκαν σε **θάνατο**. (62) Αυτό σημαίνει ότι **ποσοστό θνησιμότητας** αγγίζει το **0,03%**, σημαντικά λιγότερο από αντίστοιχο παγκόσμιο.

Η πανδημία COVID-19 δεν πρόκειται για την πρώτη επιδημία οφειλόμενη σε ιό της οικογενείας των κορωνοϊών τις τελευταίες δεκαετίες. Έχουν προηγηθεί **άλλες δύο**, το 2002 και το 2013, οι οποίες οφείλονται στους ιούς **SARS** και **MERS** αντίστοιχα. (63)

1.1.4 Επιδημία SARS

Η συγκεκριμένη επιδημία έγινε γνωστή ως “*η πρώτη πανδημία του 21^{ου} αιώνα*”. (64) Ο υπεύθυνος για την επιδημία ιός, αναφερόμενος ως **SARS-CoV** ή απλά **SARS**, θεωρείται **προκάτοχος** του ιού SARS-CoV-2. (65) Εναρκτήρια στιγμή υπήρξε η 16^η Νοεμβρίου του 2002 στην πόλη **Foshan** της Λαϊκής Δημοκρατίας της Κίνας, όπου σημειώθηκαν τα πρώτα καταγεγραμμένα κρούσματα. (66)

Όπως και στην περίπτωση του ιού COVID-19, ο **πιθανότερος** ενδιάμεσος **ξενιστής** του ιού SARS είναι η **νοχτερίδα**. Σε σπήλαιο της επαρχίας Yunnan, απομονώθηκε στέλεχος κορωνοϊού με **γενετική ομοιότητα 96%** (ως προς τον ιό SARS). (67)



Εικόνα 4 Συνολικά κρούσματα και θάνατοι λόγω της επιδημίας SARS, καθώς και κατανομή των κρουσμάτων ανά χώρα. (Υπόμνημα δεύτερης εικόνας: χώρες όπου σημειώθηκαν επιβεβαιωμένοι θάνατοι, χώρες όπου βρέθηκαν επιβεβαιωμένα κρούσματα) Πηγή: Cumulative Number of Reported Probable Cases of Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS). WHO.

Συνολικό απολογισμό αποτελούν τα **8.096** επιβεβαιωμένα **κρούσματα**, εξ αυτών τα **774** κατέληξαν σε **θάνατο** του ασθενή. (68)

Μέχρι στιγμής, **δεν υπάρχει εμβόλιο** έναντι του SARS-CoV, διαθέσιμο σε ανθρώπους. Όπως απεδείχθη, δεν μπορούν να συγκεντρωθούν αρκετά κόνδυλια για την έρευνα και ανάπτυξη του, λόγω μελλοντικής **μειωμένης ζήτησης** στην αγορά. (69)

1.1.5 Επιδημία MERS

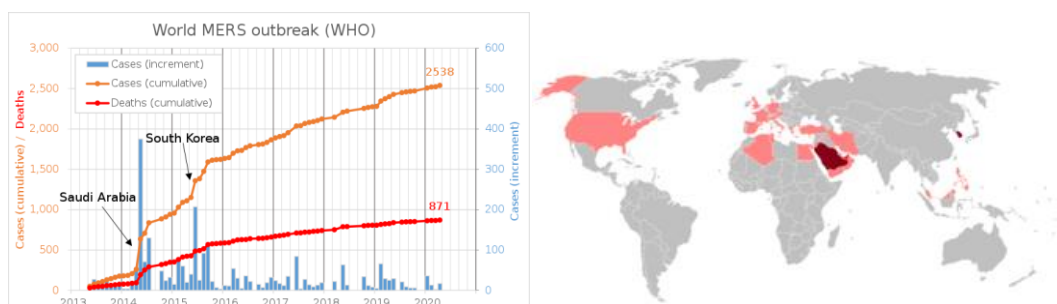
Το ακρωνύμιο **MERS** (Middle East Respiratory Syndrome) οφείλεται στην περιοχή που επλήγη από την συγκεκριμένη επιδημία, δηλαδή τη **Μέση Ανατολή**.

Συγκεκριμένα, το πρώτο καταγεγραμμένο κρούσμα βρέθηκε στην πόλη **Jeddah** της **Σαουδικής Αραβίας**, στις 6 Ιουνίου του 2012. Επρόκειτο για έναν άνδρα 60 ετών

με οξεία πνευμονία, ο οποίος απεβίωσε 14 ημέρες αργότερα. Ως αίτιο θανάτου απεδείχθη η νεφρική ανεπάρκεια. (70)

Η νόσος MERS (γνωστή και ως η *γρίπη των καμήλων*) περιλαμβάνει κλασική συμπτωματολογία αναπνευστικών λοιμώξεων από κορωνοϊούς, με συμπτώματα όπως βήχας, αναπνευστική ανεπάρκεια και πυρετός.

Έως την πιο πρόσφατη καταγραφή (Ιανουάριος 2020), ο συνολικός αριθμός κρουσμάτων και θανάτων έφτασε τα 2519 και 866 αντίστοιχα. Επομένως, το **ποσοστό θνησιμότητας** υπολογίζεται στο **34,3%**. (71)



Εικόνα 5 Συνολικά κρούσματα και θάνατοι λόγω της επιδημίας MERS, καθώς και κατανομή των κρουσμάτων ανά χώρα. (Υπόμνημα δεύτερης εικόνας: 100+ επιβεβαιωμένα κρούσματα, 50+ επιβεβαιωμένα κρούσματα, 1+επιβεβαιωμένα κρούσματα) (Πηγή:"Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) – United Arab Emirates". World Health Organization. 31 January 2020.)

Μια **σημαντική διαφορά** του MERS-CoV με τους SARS-CoV ιούς είναι ότι στην προκειμένη περίπτωση ως **ενδιάμεσος ξενιστής** φαίνεται να είναι η **καμήλα**, και όχι η νυχτερίδα (παρόλο που πιθανολογείται ως η δεξαμενή από όπου προήλθε). Εδώ οφείλεται το γεγονός ότι στα μέτρα πρόληψης περιλαμβάνεται το σχολαστικό πλύσιμο χεριών μετά από επαφή με καμήλες και σωστό μαγείρεμα τροφών που προέρχονται από αυτές. (72)

Όπως και στην περίπτωση του SARS-CoV, **δεν έχει ανακαλυφθεί** ακόμα **θεραπευτική αντιμετώπιση** ή **εμβόλιο** έναντι του MERS-CoV. (73) Σημαντική βελτίωση της κλινικής εικόνας φαίνεται να επιφέρει η χρήση **εξωσωματικής οξυγόνωσης μεμβράνης (ECMO)**. (74)

1.2. Διάγνωση της νόσου COVID-19

Ως μέθοδοι προληπτικού ελέγχου της νόσου COVID-19, χρησιμοποιούνται μοριακές τεχνικές ανίχνευσης νουκλεϊκών οξέων, δηλαδή κυρίως η εξέταση

αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης αντίστροφης μεταγραφής (Reverse Transcription PCR ή RT-RCR). Στις δοκιμασίες αυτές, χρησιμοποιούνται δείγματα ρινικού ή ρινοφαρυγγικού επιχρίσματος, καθώς και πτύελα. (44) Με την πάροδο του χρόνου, εταιρείες βιοτεχνολογίας ανέπτυξαν ορολογικά τεστ, στα οποία ανιχνεύονται αντισώματα έναντι του ιού.

Σε περιστατικά νοσηλεύομενων ασθενών με μεγάλη πιθανότητα λοίμωξης από τον SARS-COV-2 (στους οποίους δεν συνίσταται ο έλεγχος ρουτίνας), ζωτική σημασία για την διάγνωση έχουν οι απεικονιστικές τεχνικές (κυρίως αξονική τομογραφία και ραδιογραφία). Διμερείς πολυοβαρικές αδιαφάνειες με περιφερειακή, ασύμμετρη και οπίσθια κατανομή συναντάμε σε πρώιμα στάδια της νόσου, ενώ σε προχωρημένο στάδιο, στα ευρήματα είναι η πνευμονική ενοποίηση και η λοβιακή πάχυνση διαφράγματος με μεταβλητή κυψελιδική πλήρωση. (45) Σε ασυμπτωματικούς φορείς προκύπτουν ευρήματα, όπως ασύμμετρες περιφερειακές αδιαφάνειες χωρίς υπεζωκοτικές συλλογές. (46) Στην περίπτωση που πραγματοποιείται αξονική τομογραφία, είναι απαραίτητη η επιβεβαίωση με εξέταση με RT-RCR, διότι οι απεικονιστικές τεχνικές δεν παρέχουν την δυνατότητα διαφοροδιάγνωσης μεταξύ ιών που προσβάλλουν το αναπνευστικό σύστημα.

1.3 Φαρμακευτικές οδοί αντιμετώπισης

Μέχρι την στιγμή της συγγραφής της εν λόγω εργασίας, δεν έχει δοθεί έγκριση από τον Ευρωπαϊκό Οργανισμό Φαρμάκων (ΕΟΦ) για τη χρήση κάποιου φαρμακευτικού σκευάσματος έναντι του ιού SARS-CoV-2. Στους νοσηλεύομενους ασθενείς παρέχεται υποστηρικτική θεραπεία για την ανακούφιση από τα συμπτώματα (χορήγηση οξυγόνου, αναπλήρωση υγρών), καθώς και φαρμακευτική ή/και μηχανική υποστήριξη όσον αφορά τα υπόλοιπα οργανικά συστήματα που επηρεάστηκαν από την λοίμωξη. (47,48)

Διάφορα φάρμακα έχουν δοκιμαστεί για την αντιμετώπιση του ιού. Σε αυτά ανήκει το σχήμα αντιρετροϊκών Lopinavir/Ritonavir (εμπορικές ονομασίες Kaletra, Aluvia). Η κύρια χρήση του είναι η πρόληψη και θεραπεία του AIDS. Λαμβάνεται εκ στόματος σε μορφή κάψουλας, δισκίου ή διαλύματος. (49) Ο μηχανισμός δράσης του βασίζεται στην λειτουργία του Lopinavir ως αναστολέα πρωτεασών και του Ritonavir ως φαρμακοκινητικό καταλύτη. Η θεραπευτική του δράση βασίζεται στην αναστολή

των πρωτεασών του HIV, διακόπτοντας με αυτό το τρόπο τον κύκλο ζωής του ιού. (50,51) Το γεγονός ότι οι ρετροϊοί έχουν παρόμοια βιοχημικά στάδια στον κύκλο ζωής τους είναι ο λόγος που το Lopinavir/Ritonavir προτάθηκε έναντι του SARS-CoV-2.

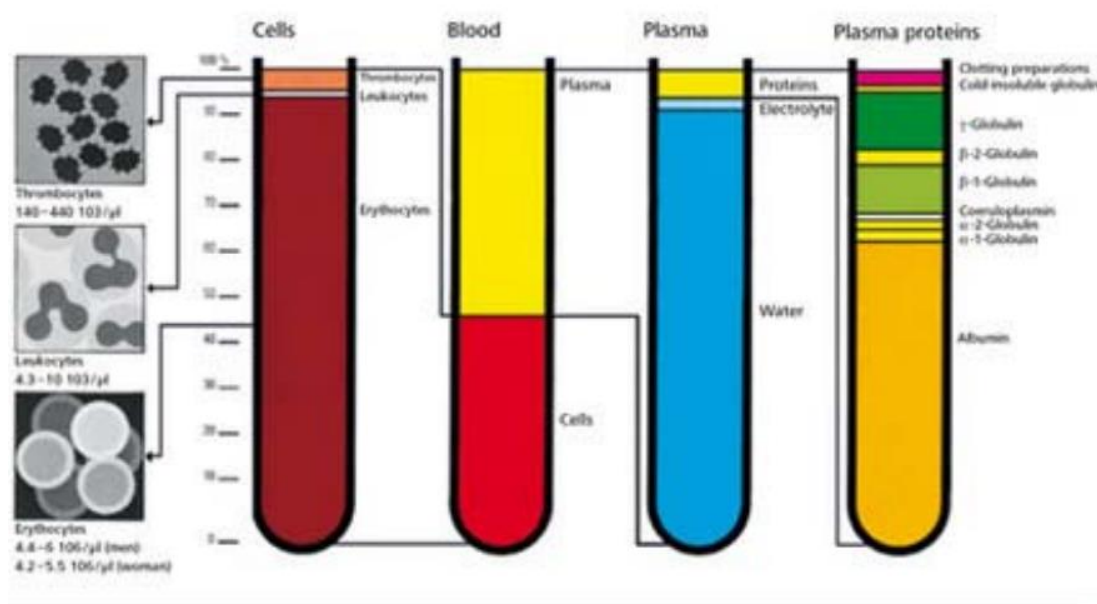
Ένα άλλο πολλά υποσχόμενο σκεύασμα αποτέλεσε η υδροξυχλωροκίνη (εμπορικές ονομασίες Plaquenil, Hydroquin, Axemal, Dolquine), ανθελονοσιακό φάρμακο με περεταίρω θεραπευτικές χρήσεις σε αυτοάνοσα νοσήματα, όπως την ρευματοειδή αρθρίτιδα και τον ερυθματώδη λύκο. (52) Χορηγείται σε μορφή θειικής υδροξυχλωροκίνης και λαμβάνεται δια του στόματος. Η χρήση της προτάθηκε για την ανοσορυθμιστική της δράση, παρεμποδίζοντας το φαινόμενο της απελευθέρωσης κυτταροκινών, εμποδίζοντας την εξέλιξη της λοίμωξης σε νόσο. Εναλλακτικές δράσεις της θα μπορούσαν να περιλαμβάνουν διαταραχή της ένωσης μεταξύ της πρωτεΐνης S και του υποδοχέα ACE-2, με μηχανισμούς όπως η αύξηση του pH (αναστέλλοντας την ενδοκύττωση του ιού) και η μείωση της γλυκοζυλίωσης του υποδοχέα ACE-2. Όπως αναφέρθηκε, επρόκειτο για ένα αρκετά υποσχόμενο φάρμακο, διότι έχει αποδειχθεί η *in vitro* δράση του έναντι του ιού (ενθαρρυντικά αποτελέσματα σε κυτταρικές σειρές Vero E6). (53)

Και στις δύο περιπτώσεις, μετά από μετα-αναλύσεις κλινικών δεδομένων, η χορήγηση των φαρμάκων κρίθηκε από αναποτελεσματική, έως και επιβλαβής σε ορισμένες περιπτώσεις. (54,55) Συγκεκριμένα για την υδροξυχλωροκίνη, προέκυψε ότι ενώ δεν εμφανίζεται στατιστικά σημαντική μείωση του ποσοστού θνητότητας, αυξάνεται ο συνολικός χρόνος νοσηλείας του ασθενούς

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΚΛΑΣΜΑΤΟΠΟΙΗΣΗ ΠΛΑΣΜΑΤΟΣ ΑΙΜΑΤΟΣ

2.1 Ιστορική αναδρομή

Κλασματοποίηση πλάσματος αίματος (*blood plasma fractionation*) ορίζεται ως η μέθοδος διαδοχικού διαχωρισμού των κλασμάτων του πλάσματος, η οποία πραγματοποιείται σε βιομηχανική κλίμακα, με σκοπό την απομόνωση των συστατικών του. Από την διαδικασία αυτή προκύπτουν τα παράγωγα (ή προϊόντα) πλάσματος, στα οποία ανήκουν **ανοσοσφαιρίνες**, **αντιπηκτικοί παράγοντες** (αντιθρομβίνη), **παράγοντες πήξης** (VIII, IX, von Willebrand), **αναστολείς πρωτεασών** (α_1 -αντιθρυψίνη) και η **αλβουμίνη** (ή λευκωματίνη) (75).



Εικόνα 6 Εικονογράφηση της σύστασης των κυττάρων του αίματος, του ολικού αίματος, του πλάσματος και των πρωτεϊνών του πλάσματος, αντίστοιχα. (Από αριστερά προς τα δεξιά) (Πηγή: <https://www.eae.gr/images/files/aimodosia/drastiriotites/2014/parousiaseis/03.mpartzoudis.pdf>)

“Πατέρας” της μεθόδου θεωρείται ο Αμερικανός βιοχημικός **Dr Edwin J. Cohn**, ο οποίος πραγματοποίησε την πρώτη κλασματοποίηση μεγάλης κλίμακας κατά την διάρκεια του **Β΄ Παγκοσμίου Πολέμου**. Σκοπός του ήταν η παραγωγή **μεγάλων ποσοτήτων** λευκωματίνης για το στρατιωτικό σώμα των ΗΠΑ, το οποίο συμμετείχε στον πόλεμο εκείνη την εποχή. Μετά τη λήξη του πολέμου, οι προσπάθειες του Cohn επικεντρώθηκαν στην απομόνωση και άλλων προϊόντων, μέσω της κλασματοποίησης.

Με χρήση **φυγοκέντρωσης** διαχωρίζεται το κάθε κλάσμα. Το απαιτούμενο συστατικό βρίσκεται στο καθίζημα. Το υποκείμενο που προκύπτει, χρησιμοποιείται στο επόμενο στάδιο ως πρώτη ύλη. Η **διαφοροποίηση** του εκάστοτε κλάσματος επιτυγχάνεται σε διαφορετικές τιμές **θερμοκρασίας, pH** και συγκέντρωσης **αιθανόλης**. Ακολουθεί η επεξεργασία του κάθε κλάσματος ξεχωριστά, από το οποίο αφαιρούνται τυχόν παθογόνα στοιχεία (κυρίως απενεργοποίηση ιών) και ,τελικά, απομονώνεται το ζητούμενο παράγωγο.

Η **βιομηχανία της παραγωγής προϊόντων πλάσματος** αναμένεται να παραμείνει ακμάζουσα τις επερχόμενες δεκαετίες, καθώς διαθέτει **ποικίλα πλεονεκτήματα**, όπως το συγκριτικά χαμηλό κόστος σε σχέση με τις εναλλακτικές μεθόδους παραγωγής των συγκεκριμένων προϊόντων. Επιπροσθέτως, έχουν αναφερθεί **θεραπευτικά πλεονεκτήματα** σε παράγωγα κλασματοποιημένου πλάσματος, έναντι άλλων εναλλακτικών. Σε δύο κλινικές μελέτες ασθενών που δεν έλαβαν φαρμακευτική αγωγή στο παρελθόν, τα κλασματοποιημένα προϊόντα εμφάνισαν χαμηλότερη τάση πρόκλησης αναστολέων. (76,77)

2.2 Σύγχρονες προσεγγίσεις

Η μέθοδος έχει χαρακτηριστεί πως διαθέτει **“συντηρητικό” χαρακτήρα** (75), καθώς το μεγαλύτερο μέρος της βασίζεται ακόμα στην δουλειά της επιστημονικής ομάδας του Dr Cohn. Γεγονός σπάνιο, αναλογιζόμενοι ότι το μεγαλύτερο μέρος της μεθοδολογίας της κλασματοποίησης είναι γνωστό από **την δεκαετία του 50**.

Παρά την διατήρηση του κυριότερου κορμού της μεθοδολογίας, η κλασική κλασματοποίηση συνδυάζεται, πλέον, με τεχνικές όπως η **υγρή χρωματογραφία** (αυξημένη αποκατάσταση ανοσοσφαιρινών IgG), το **nanofiltering** και η **απενεργοποίηση των ιών**. Αυτές οι αλλαγές συμβάλλουν στην δημιουργία **καθαρότερων και ασφαλέστερων** τελικών προϊόντων.

2.3 Παράγωγα κλασματοποιημένου πλάσματος

Τα πρώτα προϊόντα πλάσματος που παράχθηκαν ήταν η αλβουμίνη και η ανοσοσφαιρίνη IgG. Η **διαφοροποίηση** του εκάστοτε κλάσματος είναι δυνατή, λόγω

της διαφορετικής διαλυτότητας που παρουσιάζει η εκάστοτε θεραπευτική πρωτεΐνη, ανάλογα τις συνθήκες που επικρατούν στην δεξαμενή (pH, συγκέντρωση αιθανόλης).

Τα παράγωγα της κλασματοποίησης του πλάσματος, καθώς και η κλινική τους χρήση, συνοψίζονται στον *Πίνακα 1*.

Πίνακας 1 Κλινική χρήση των κυριότερων προϊόντων πλάσματος. (74)

| Προϊόν πλάσματος | Κλινική χρήση |
|------------------------------------|---|
| Αλβουμίνη (λευκωματίνη) | Αναπλήρωση όγκου σωματικών υγρών. |
| Παράγοντας II | Έλλειψη παράγοντα II |
| Παράγοντας V | Έλλειψη παράγοντα V |
| Παράγοντας VII | Έλλειψη παράγοντα VII |
| Παράγοντας VIII | Αιμορροφιλία A |
| Παράγοντας IX | Αιμορροφιλία B |
| Παράγοντας X | Έλλειψη παράγοντα X |
| Παράγοντας XI | Αιμορροφιλία C |
| Παράγοντας XIII | Έλλειψη παράγοντα XIII |
| Παράγοντας von Willebrand | Έλλειψη παράγοντα von Willebrand (τύπου 2 ή 3) |
| Ινωδογόνο | Συγγενής ή επίκτητη (αιμορραγία) έλλειψη ινωδογόνου |
| Σύμπλεγμα προθρομβίνης | Ηπατικές νόσοι, Αιμορροφιλία A, Αιμορροφιλία B |
| Πρωτεΐνη C | Συγγενής έλλειψη πρωτεΐνης C |
| Θρομβίνη (Παράγοντας IIa) | Αιμοστατικός/επουλωτικός παράγοντας |
| Αντιθρομβίνη | Συγγενής ή επίκτητη (αιμορραγία) έλλειψη αντιθρομβίνης |
| α ₁ -αντιθριψίνη | Συγγενής έλλειψη α ₁ -αντιθριψίνης (πνευμονικό εμφύσημα) |
| Πολυκλωνική ανοσοσφαιρίνη IgG | Προφύλαξη ανοσοκατεσταλμένων ασθενών από λοιμώξεις, ρύθμιση της ανοσολογικής λειτουργίας σε διαταραχές του ανοσοποιητικού |
| Υπεράνοση ανοσοσφαιρίνη IgG | Πρόληψη ή/και θεραπεία ασθενειών |
| Αντίσωμα anti-Rho | Πρόληψη της αιμολυτικής νόσου του νεογνού |

| | |
|-----|--|
| (D) | |
|-----|--|

2.3.1 Λευκωματίνη

Πρόκειται για την πρωτεΐνη με την μεγαλύτερη συγκέντρωση στο πλάσμα του ανθρώπινου αίματος. Οι βασικότερες βιολογικές της λειτουργίες είναι η **διατήρηση** της **κολλοειδοοσμωτικής πίεσης** και η **μεταφορά** των θυρεοειδικών (και άλλων) **ορμονών**, καθώς και **λιπαρών οξέων**.

Χρησιμοποιείται, συνήθως ως διάλυμα συγκέντρωσης 5-25%, σε καταστάσεις **απώλειας αίματος** ή άλλων υγρών, σε περιστατικά, όπως τραύματα, εγκαύματα και χειρουργεία. Επιπλέον, δύναται να χρησιμοποιηθεί σε περιστατικά με αποσυμπιεστική **κίρρωση ήπατος** και άλλες ηπατικές νόσους **παρουσία ασκίτη**. Η κύρια χρήση του είναι η **ανάπληρωση** του χαμένου όγκου των υγρών ή του αίματος.

2.3.2 Παράγοντες πήξης - αντιπηκτικοί παράγοντες

Στα σημαντικότερα παράγωγα πλάσματος συμπεριλαμβάνονται οι παράγοντες πήξης. Πρόκειται για μία ομάδα πρωτεϊνών, οι οποίες εμπλέκονται σε διάφορα μονοπάτια της πήξης του αίματος. Επομένως, μερική ή πλήρης **απουσία** τους από το κυκλοφορικό σύστημα οδηγεί σε παθολογία του συστήματος πήξης του αίματος. Η συνηθέστερη τους κλινική χρήση περιλαμβάνει **ενδοφλέβια χορήγηση** των παραγόντων, με σκοπό την **αναπλήρωση** τους στο αίμα του ασθενή.

Στους κυριότερους παράγοντες πήξης ανήκουν οι **παράγοντες VIII, IX και von Willebrand**. Η έλλειψη τους οδηγεί στις **αιμορροφιλίες A και B** και στη **νόσο von Willebrand**, αντίστοιχα. **Ανασυνδιασμένοι** αντιαιμορροφιλικοί παράγοντες (VIII, IX, XI) κυκλοφορούν στο εμπόριο. Παρόλα αυτά, η κλασματοποιημένη μορφή τους προτιμάται, λόγω του χαμηλότερου κόστους παραγωγής.

Το **ινωδογόνο** (Παράγοντας I) είναι ένα σύμπλεγμα γλυκοπρωτεϊνών, το οποίο παράγεται στο ήπαρ. Θεωρείται πρωτεΐνη **οξείας φάσης** (αυξημένη συγκέντρωση σε φλεγμονή, τραυματισμό ιστών και κάποιες μορφές καρκίνου). Μετατρέπεται σε **ινώδες**, σε περιπτώσεις τραυματισμού κάποιου αγγείου ή ιστού. Εν συνεχεία, το ινώδες μετατρέπεται σε θρόμβο. Η αντίδραση **μετατροπής** ινωδογόνου σε ινώδες

καταλύεται από την πρωτεάση **θρομβίνη**. Η θρομβίνη (Παράγοντας IIa) ανευρίσκεται στην κυκλοφορία του αίματος στην ανενεργή της μορφή, δηλαδή την **προθρομβίνη** (Παράγοντας II).

Το **σύμπλεγμα προθρομβίνης** περιλαμβάνει τους παράγοντες **II, IX, X** και τις **πρωτεΐνες C και S**. Χορηγείται για την **αντιστάθμιση** της επίδρασης **αντιπηκτικών-ανταγωνιστών** της **βιταμίνης K** (πχ. βαρφαρίνη), σε έκτακτες χειρουργικές επεμβάσεις και σε σοβαρές **ηπατικές παθήσεις**. Θεραπευτική εφαρμογή υπάρχει και στις **αιμορροφιλίες A και B**. Στην πρώτη περίπτωση κρίνεται απαραίτητη η παράλληλη εξουδετέρωση των anti-FVIII αναστολέων, ενώ σε περιστατικά της B προτιμάται όταν συνυπάρχει έλλειψη του παράγοντα IC.

Ο κυριότερος αντιπηκτικός παράγοντας είναι η **αντιθρομβίνη**. Η κλινική της χρήση αφορά άτομα με **κληρονομική έλλειψη** αντιθρομβίνης, καθώς και την πρόληψη θρομβώσεων σε **προ-** και **μετεγχειρητικούς** ασθενείς. Αν και είναι δυνατή η παραγωγή του από **γάλα ανασυνδιασμένων** κατσικών (78), η κλασματοποίηση προτιμάται, καθώς αποτελεί μία **απλούστερη και οικονομικότερη** μέθοδο.

2.3.3 Αναστολείς πρωτεασών

Σε αυτούς συγκαταλέγονται η **α₁-αντιθριψίνη** και ο **αναστολέας της πρωτεΐνης C₁**. Ανήκουν στις **σερπίνες** και η λειτουργία τους είναι η **προστασία** των ιστών από **φλεγμονή** και η **αναστολή** του **συμπληρώματος**, αντίστοιχα. Η θεραπευτική χρήση της α₁-αντιθριψίνης είναι κυρίως η ελάττωση της εξέλιξης του **πνευμονικού εμφυσήματος**, ενώ η χορήγηση του αναστολέα C₁ ενδείκνυται, πρωτίστως, σε περιστατικά **κληρονομικού αγγειοιδήματος**, αλλά και σε περιπτώσεις όπου είναι θεμιτός ο **περιορισμός της νέκρωσης κυττάρων** (πχ. Κατά την διάρκεια ενός καρδιακού επεισοδίου, η έλλειψη οξυγόνου επάγει τη νέκρωση των κυττάρων του μυοκαρδίου. Η νέκρωση έχει ως αποτέλεσμα την διάχυση κυτταρικών τμημάτων στον εξωκυττάριο χώρο, άρα και κατ'επέκταση την ενεργοποίηση του συμπληρώματος. Η χορήγηση του αναστολέα C₁ αναστέλλει την ενεργοποίηση. Επομένως, περιορίζει την βλάβη των υπολοίπων κυττάρων).

Ο αναστολέας C₁ ανήκει στα παράγωγα πλάσματος, των οποίων η μοναδική **πρακτικά βιώσιμη** μέθοδος παραγωγής είναι η κλασματοποίηση πλάσματος αίματος δωρητών. Σε αυτή την περίπτωση, η κλασματοποίηση αποτελεί την μόνη επιλογή,

καθώς η παραγωγή ανασυνδιασμένου αναστολέα δεν είναι δυνατή. Αποτελεί μια πρωτεΐνη που απαιτεί αρκετές μεταμεταφραστικές τροποποιήσεις (γλυκοζυλίωση), ώστε να είναι λειτουργική. Τα χρησιμοποιούμενα βακτήρια (συνήθως *E.coli*) δεν διαθέτουν τους αντίστοιχους μεταμεταφραστικούς μηχανισμούς, επομένως δεν μπορούν να παράξουν τη συγκεκριμένη λειτουργική πρωτεΐνη. (79)\

2.3.4 Ανοσοσφαιρίνες

Πρόκειται για το παράγωγο με την μεγαλύτερη σημασία για την αντιμετώπιση και εξέλιξη της εκάστοτε πανδημίας, άρα και κατ'επέκταση της πανδημίας COVID-19. Αναλόγως τη χρήση τους, η χορήγηση μπορεί να γίνει **ενδοφλέβια**, **υποδόρια**, καθώς και **ενδομυϊκά**. Περιπτώσεις όπου η απομόνωση ανοσοσφαιρινών από ανοσοποιημένα άτομα έχει συνεισφέρει στην **αντιμετώπιση νοσημάτων** παρουσιάζονται αναλυτικά στο Κεφάλαιο 3. Σε αυτή την περίπτωση, **πηγή** του πλάσματος αποτελούν **δότες με υψηλό τίτλο** του ζητούμενου αντισώματος.

Πέρα της χρήσης αυτής, οι παραγόμενες ανοσοσφαιρίνες, που απομονώνονται από το κλασματοποιημένο πλάσμα, έχουν περισσότερες κλινικές εφαρμογές. Σε περιστατικά **ανοσοκατεσταλμένων** ασθενών (πχ. AIDS), η **προφύλαξη** τους από **λοιμώξεις** πραγματοποιείται με χορήγηση των ανοσοσφαιρινών αυτών, διότι το ανοσοποιητικό τους σύστημα δεν δύναται να ανταπεξέλθει.

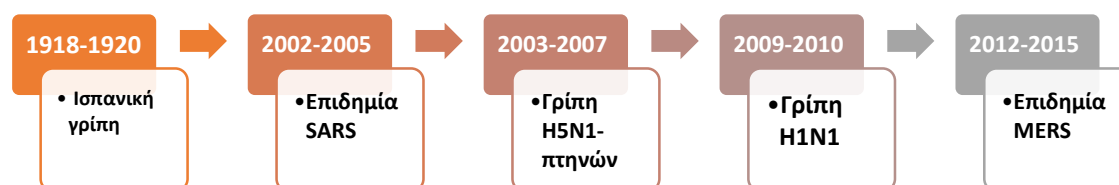
Μια εξειδικευμένη περίπτωση αποτελεί το αντίσωμα **anti-D**, το οποίο χορηγείται για την προφύλαξη **Rhesus(-) γυναικών**, οι οποίες κυοφορούν **Rhesus(+)** έμβρυα. Η χρήση του αντισώματος είναι **ενδομυϊκή**, για αποφυγή τυχόν περιστατικού αιμολυτικής κρίσης.

Τέλος, σε διάφορες **διαταραχές** του **ανοσοποιητικού** συστήματος, η χρήση των αντισωμάτων **ρυθμίζει** την **ανοσολογική λειτουργία** των ασθενών. (75)

2.4 Πλάσμα ιαθέντων ως όπλο αντιμετώπισης νοσημάτων

2.4.1 Ιστορική αναδρομή

Η χρήση **πλάσματος ιαθέντων ασθενών** (*convalescent plasma*), ως θεραπευτική οδός αντιμετώπισης παθήσεων μικροβιολογικής φύσεως, αποτελούσε μια αποτελεσματική τακτική έως και την περίοδο της έναρξης ευρείας χρήσης αντιβιοτικών. Η συγκεκριμένη θεραπευτική προσέγγιση στοχεύει στην **βραχυπρόθεσμη παθητική ανοσοποίηση**, η οποία επιτυγχάνεται ταχέως, με τη χορήγηση αντισωμάτων έναντι του ζητούμενου παθογόνου. Εκτός από βακτηριακές και ιολογικές ασθένειες, η θεραπεία με ΠΙΑ πιθανόν να μπορέσει να χρησιμοποιηθεί και στην **αντιμετώπιση** κάποιων μορφών **καρκίνου**. (80) Από το ΠΙΑ μπορούν να χρησιμοποιηθούν θεραπευτικά προϊόντα υπό τη μορφή **ολικού αίματος, πλάσματος, ορού** ή απομονωμένης **ανοσοσφαιρίνης IgG**. Στην συγκεκριμένη εργασία θα εστιάσουμε στη τελευταία μορφή, στο Κεφάλαιο 3. Περιπτώσεις όπου η θεραπεία με ΠΙΑ βρήκε εφαρμογή σε περιπτώσεις επιδημιών ιολογικής προέλευσης αναγράφονται στην *Εικόνα 2.1*.



Εικόνα 7 Χρήση θεραπείας πλάσματος ιαθέντων για την αντιμετώπιση ιολογικών επιδημιών. (80)

Αφετηρία για την χρήση πλάσματος ιαθέντων υπήρξε η προσπάθεια αντιμετώπισης της **διφθερίτιδας** (*Corynebacterium diphtheriae*) από τους von Behring και Kitasato, όπου χρησιμοποιήθηκε ορός ανοσοποιημένων ζώων (ινδικών χοιριδίων-*Cavia porcellus*), αρχικά, κι εν συνεχεία ορός αίματος και ολικό αίμα ασθενών. (80) Η αντιτοξίνη που προέκυψε χαρακτηρίστηκε ως **“η σημαντικότερη ιατρική πρόοδος (του 19ου αιώνα) στο τομέα των μεταδοτικών ασθενειών”**. Η

ερευνητική δουλειά του von Behring βραβεύτηκε με το βραβείο **Νόμπελ Ιατρικής**, το 1901.

Την ίδια χρονιά, παρόμοια μεθοδολογία δοκιμάστηκε για τη θεραπεία του **τετάνου** (*Clostridium tetani*). Αναλυτικότερα, ανοσοσφαιρίνες από πλάσμα ανοσοποιημένων αλόγων (*Equus ferus caballus*) χορηγήθηκαν σε άτομα σε κρίσιμη κατάσταση. Από την δεκαετία του 60 μέχρι σήμερα, η ανοσοσφαιρίνη αυτή χορηγείται **προληπτικά** σε μη εμβολιασμένα άτομα, τα οποία φέρουν τραύματα με σοβαρή πιθανότητα επιμόλυνσης. Τέλος, η ανοσοσφαιρίνη, ακόμα και σήμερα, είναι η μοναδική θεραπευτική επιλογή έναντι σε **τροφικές δηλητηριάσεις** από *Clostridium tetani*.

Υπεράνοση ανοσοσφαιρίνη χρησιμοποιήθηκε και το 1953 στην Ινδία, για τον επιτυχή περιορισμό ενός ξεσπάσματος **ανεμοβλογιάς** στην πόλη Madras. Η χρήση της συνεχίζεται μέχρι σήμερα, σε περιστατικά επιπλοκών από τον εμβολιασμό για την ανεμοβλογιά.

2.4.2 Πλάσμα ιαθέντων ενάντια στον ιό COVID-19

Όπως προαναφέρθηκε, στο παρελθόν συγγενικοί ιοί του COVID-19 (**SARS, MERS**) ήταν υπεύθυνοι για επιδημικά ξεσπάσματα. Και οι δύο ιοί σημείωσαν αρκετά μεγαλύτερο ποσοστό θνησιμότητας από το αντίστοιχο του SARS-CoV-2. Επιπλέον, ακόμα και σήμερα δεν έχει ανακαλυφθεί κάποιο φάρμακο για τους ιούς. Επομένως, η επιτακτικότητα της ανάγκης για αντισώματα έναντι των ιών ήταν αρκετά μεγάλη.

Συμπέρασμα που προέκυψε από τις **κλινικές μελέτες** που πραγματοποιήθηκαν κατά την διάρκεια προηγούμενων επιδημιών κορωνοϊών είναι ότι η χρήση ΠΙΑ βελτίωσε σημαντικά τις παραμέτρους νοσηλείας των ασθενών (**αυξημένος χρόνος επιβίωσης, μειωμένη θνησιμότητα, μικρότερος χρόνος νοσηλείας**). (81)

2.5 Περιορισμοί της χρήσης πλάσματος ιαθέντων

Παρά το γεγονός ότι το **πλάσμα ιαθέντων ασθενών** είναι μια πολλά υποσχόμενη εξέλιξη της ιατρικής επιστήμης, υπάρχουν κάποιοι περιορισμοί, οι οποίοι

είτε οφείλονται στον περιορισμένο αριθμό κλινικών δοκιμών που έχουν πραγματοποιηθεί, είτε σε πιθανά θέματα ασφαλείας που προκύπτουν. (80)

Η κλασματοποίηση πλάσματος δεν είναι η μοναδική μεθοδολογία παραγωγής αντισωμάτων. Δεν έχει διεξαχθεί, μέχρι σήμερα, κάποια μελέτη για την **υπάρξη** αυξημένης **αποτελεσματικότητας** της θεραπείας αυτής, σε σχέση με την ανοσοθεραπεία με **βιομηχανικά** παραγόμενα μονοκλωνικά **αντισώματα**.

Όσον αφορά την **ασφάλεια** των προϊόντων πλάσματος, η πιθανότητα **επιμόλυνσης** τους από **ιούς**, όπως ο HIV και οι ιοί των ηπατίτιδων B και C, παραμένει ένα σοβαρό ζήτημα. Το φαινόμενο αυτό έχει αυξημένη συχνότητα εμφάνισης, σε περιπτώσεις όπου οι δότες πλάσματος προέρχονται από/διαμένουν σε περιοχές με ενδημική έξαρση του εκάστοτε ιού. Το εν λόγω ζήτημα αναμένεται να προσπεραστεί με τη χρήση των εξελισσόμενων μεθόδων **αδρανοποίησης/εξουδετέρωσης** των παραγώγων πλάσματος.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΑΠΟ ΠΛΑΣΜΑ

3.1 Εισαγωγή

Η απομόνωση υπεράνοσων ανοσοσφαιρινών από πλάσμα ιαθέντων ασθενών κατέχει σημαντικά πλεονεκτήματα, σε σχέση με την βιομηχανική κατασκευή μονοκλωνικών αντισωμάτων, κατά την διάρκεια μιας πανδημίας. Τα κυριότερα από αυτά είναι ο μειωμένος βαθμός δυσκολίας και το χαμηλότερο κόστος παραγωγής τους. Ένα άλλο, κριτικής σημασίας εν μέσω πανδημίας, πλεονέκτημα είναι η λιγότερη απαιτούμενη έρευνα του παθογόνου παράγοντα και των ιδιοτήτων του (γονιδίωμα, βιολογική δομή, παθοφυσιολογία). Με άλλα λόγια, η δυνατότητα παραγωγής τους προκύπτει συντομότερα, συμβάλλοντας καθοριστικά στην ταχύτερη λήξη της οποιαδήποτε ενδημικής/πανδημικής κατάστασης.

Η μεθοδολογία ανοσοποίησης από τα χορηγούμενα αντισώματα χαρακτηρίζεται ως παθητική ανοσία. Αυτή επιτυγχάνεται όταν έτοιμες ανοσοσφαιρίνες παρέχουν ενεργή χυμική ανοσία στους χορηγούμενους οργανισμούς. Αν και το φαινόμενο αυτό μπορεί να συμβεί φυσικά, από την μητέρα στο έμβρυο μέσω του πλακούντα ή στο νεογέννητο παιδί μέσω του μητρικού γάλακτος, σε πανδημικές καταστάσεις σημαντικότερη είναι η τεχνητή παθητική ανοσία, κατά την οποία χορηγούνται ενδοφλέβια ή ενδομυϊκά αντισώματα, τα οποία έχουν απομονωθεί από το πλάσμα ανοσοποιημένων ανθρώπων ή ζώων.

3.2 Απομόνωση αντισωμάτων από πλάσμα αίματος σε ιολογικές νόσους

Η ύπαρξη περιορισμένων φαρμακευτικών επιλογών έναντι των ιών, σε σχέση με τις υπόλοιπες κατηγορίες παθογόνων μικροοργανισμών (πχ. χρήση αντιβιοτικών), συμβάλλει καθοριστικά στην προτίμηση της συγκεκριμένης θεραπευτικής κατεύθυνσης.

Πίνακας 2 Ιολογικές νόσοι που αντιμετωπίζονται με χρήση αντισωμάτων πλάσματος ιαθέντων ασθενών/ οροθετικών δοτών. Στη στήλη της φαρμακευτικής αντιμετώπισης γράφονται αποκλειστικά οι ουσίες που λειτουργούν ως αντιϊκοί παράγοντες.

| Όνομασία παθογόνου | | Φαρμακευτική αντιμετώπιση | Αναφορά |
|-----------------------------|--|---|---------|
| Ιός ηπατίτιδας Β | <i>Hepatitis B virus</i> | Tenofovir, interferon | (75) |
| Ιός ηπατίτιδας C | <i>Hepatitis C virus</i> | Sofosbuvir, simeprevir | |
| Ιός της λύσσας | <i>Rabies lyssavirus</i> | - | |
| Ανθρώπινος κυτταρομεγαλοϊός | <i>Human herpesvirus 5</i> | Ganciclovir, valganciclovir, letermovir | |
| Ιός Epstein-Barr | <i>Human gammaherpesvirus 4</i> | - | (82) |
| Ιός έρπητα ζωστήρα | <i>Human alphaherpesvirus 3</i> | Vidarabine | |
| Ερπητοϊός 1 & 2 | <i>Herpes simplex virus 1 & 2</i> | Pyrimidine, aciclovir, valaciclovir | |
| HIV | <i>human immunodeficiency virus</i> | zidovudine, dolutegravir/ lamivudine/ tenofovir, tenofovir/ lamivudine/ efavirenz | (83) |
| SARS | <i>Severe Acute Respiratory Syndrome Virus</i> | - | |
| MERS | <i>Middle East Respiratory Syndrome Virus</i> | - | |

Στους ιούς που αναφέρονται στον Πίνακα 3.1, η χρήση ανοσοσφαιρινών είναι η πρώτη επιλογή για την πρόληψη και θεραπεία των νοσούντων. Μάλιστα, για την περίπτωση του ιού της λύσσας δεν υπάρχει κάποια διαθέσιμη θεραπευτική εναλλακτική.

3.3 Απομόνωση αντισωμάτων από πλάσμα αίματος στην έξαρση του ιού Ebola

Από την πρώτη επίσημη καταγραφή τον Ιούνιο του 1976 έως και σήμερα, οι αφρικανικές χώρες μαστίζονται από επιδημίες των ιών του γένους *Ebola*. Ανά χρονικά διαστήματα, υπάρχουν επιδημικά ξεσπάσματα ιών της οικογενείας *Ebola* σε τροπικές χώρες της **υποσαχάριας Αφρικής** (Ζαΐρ, Σιέρρα Λεόνε, Σουδάν). Το συγκεκριμένο γένος προκαλεί **αιμορραγικό πυρετό**, ο οποίος προσβάλλει τον **άνθρωπο** και άλλα **πρωτεύοντα** θηλαστικά. Τα επιδημικά κύματα φέρουν ένα **εύρος** ποσοστών **θνησιμότητας** μεταξύ **25** και **90%**, με το μέσο όρο να φτάνει το **50%**. (84)

Ο συγκεκριμένος ιός (ως ομάδα ιών) σκοπίμως δεν αναφέρθηκε προηγουμένως στην συγκεκριμένη εργασία. Η επιδημία του **1995** στην Λαϊκή Δημοκρατία του **Κονγκό** (εκ των **315** κρουσμάτων, τα **254** κατέληξαν σε θάνατο), καθώς και το πιο πρόσφατο ξέσπασμα του **2013** στις χώρες της **Δυτικής Αφρικής** (**70%** ποσοστό θνησιμότητας) στάθηκαν ιδανικές ευκαιρίες για κλινικές δοκιμές της θεραπευτικής αποτελεσματικότητας των πολυάνοσων ανοσοσφαιρινών.

Αναλυτικότερα, στην επιδημία του 1995, ως μέτρο έκτακτης ανάγκης, πραγματοποιήθηκαν μεταγγίσεις ολικού αίματος από ανοσοποιημένους δότες, με σκοπό την χορήγηση **anti-Ebola** αντισωμάτων σε νοσούντες. Τα αποτελέσματα ήταν πολλά υποσχόμενα, καθώς **7** στους **8** θεραπευόμενους **ασθενείς** επιβίωσαν. (85)

3.4 Τεχνικές απομόνωσης αντισωμάτων από πλάσμα αίματος

Η κυριότερη μεθοδολογία απομόνωσης αντισωμάτων αφορά εξειδικευμένες τεχνικές **χρωματογραφίας μεγάλης κλίμακας**. Οι τεχνικές αυτές εξασφαλίζουν μεγαλύτερη καθαρότητα στο μίγμα των ανοσοσφαιρινών. Επομένως, κατά συνέπεια, αυξάνουν την αποτελεσματικότητα του προϊόντος, μειώνοντας παράλληλα το κόστος παραγωγής. (74)

Η χρωματογραφία **ανταλλαγής ιόντων** σε στήλες κυτταρίνης/διαιθυλαμινοαιθύλιο (DEAE) ήταν από τις πρώτες τεχνικές που εφαρμόστηκαν. Πρόκειται για την πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδο χρωματογραφίας για τον

καθαρισμό πρωτεϊνών. Τα σημαντικότερα της πλεονεκτήματα είναι η **υψηλή αναλυτική της ικανότητα**, η **επαναληψιμότητα** της, καθώς και η δυνατότητα επεξεργασίας **μεγάλων όγκων** διαλύματος. Ο διαχωρισμός και ο καθαρισμός των πρωτεϊνών βασίζεται στις διαφορές των ιοντικών ιδιοτήτων των αμινοξέων που βρίσκονται στην επιφάνεια της πρωτεΐνης. Διαλέγοντας ένα pH που απέχει κατά προσέγγιση 1 μονάδα από το ισοηλεκτρικό σημείο της πρωτεΐνης, η πρωτεΐνη αυτή θα είναι αρκετά φορτισμένη ώστε να δεσμευτεί στη στήλη ιοντοαλλαγής, αλλά όχι αρκετά ισχυρά δεσμευμένη, ώστε να χρειάζονται ακραίες συνθήκες έκλουσης. Ακόμα και σήμερα, η τεχνική αυτή και παραλλαγές της είναι η πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη. (86)

Ως εναλλακτική μέθοδος δοκιμάστηκε η χρωματογραφία **επαγωγής υδρόφοβου φορτίου (HCIC)**. Κατόπιν ερευνών, προέκυψε ότι δεν επρόκειτο για μια βιώσιμη εναλλακτική, καθώς το μίγμα **δεν είχε μεγάλη καθαρότητα** (σημαντική παρουσία ινωδογόνου και αντισωμάτων IgA/IgM). (86)

Η αρχική μεθοδολογία απομόνωσης των ανοσοσφαιρινών περιλάμβανε καθίζηση αιθανόλης (***ethanol precipitation***). Η αιθανόλη λειτουργεί ως αντιδιαλύτης, λόγω χαμηλής διηλεκτρικής σταθεράς. Η αρχή μεθόδου της τεχνικής βασίζεται στην **διαφορετική διαλυτότητα της αιθανόλης** σε θερμοκρασίες χαμηλότερες των 0 °C. Η προσθήκη της στο διάλυμα εμποδίζει την δημιουργία ισχυρών ιοντικών δεσμών, με αποτέλεσμα την ευκολότερη απομόνωση του ζητούμενου συστατικού, εφόσον αυτό είναι ηλεκτρικά φορτισμένο.

Τέλος, τα αντισώματα μπορούν να απομονωθούν με τη χρήση υπερφίλτρων (***ultrafiltration***) και φίλτρων μικροκλίμακας (***microfiltration***). Στην πρώτη περίπτωση, πραγματοποιείται μερική κλασματοποίηση του κλάσματος με το προϊόν που μας ενδιαφέρει, όπου χρησιμοποιούνται φίλτρα με συγκεκριμένη διάμετρο πόρων. Αυτά συγκεντρώνουν τις πρωτεΐνες, ενώ παράλληλα απομακρύνουν τα άλατα και άλλα στοιχεία χαμηλού μοριακού βάρους. Όσον αφορά το ***microfiltration***, το κλασματοποιημένο μίγμα ρέει μέσα από δίκτυο φίλτρων, εφαρμόζοντας χαμηλή πίεση, όπου διαχωρίζονται συστατικά μεγέθους 0,2-10 μm.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΣΕ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗ ΚΛΙΜΑΚΑ

Όπως αναφέρθηκε στο Κεφάλαιο 2, ως πηγή του πλάσματος λειτουργούν δότες με **υψηλό τίτλο** του ζητούμενου **αντισώματος**. Τη χρονική στιγμή που γράφεται η εν λόγω εργασία, είναι **διαθέσιμα** προς μαζική χρήση **16 εμβόλια** (*Pfizer–BioNTech, Moderna, BBIBP–CorV, CoronaVac, Covaxin, WIBP–CorV, CoviVac, Minhai-Kangtai, QazVac, Sputnik Light, Sputnik V, Oxford–AstraZeneca, Convidecia, Johnson & Johnson, EpiVacCorona* και *RBD-Dimer*). Μέχρι στιγμής, **308** διαφορετικά **υποψήφια εμβόλια** βρίσκονται σε οποιαδήποτε δοκιμαστική φάση. (87) Δεδομένου ότι η ανοσοποίηση του εμβολιασμένου πληθυσμού είναι αποδεδειγμένη, ως δότες μπορούν να λειτουργήσουν όσοι έχουν εμβολιαστεί. Αυτή η λύση συνίσταται σε περιπτώσεις όπου τα αποθέματα πλάσματος αναρρωμένων ασθενών είναι σε έλλειψη ή η ανάγκη για ανοσοσφαιρίνες αυξημένη.

Η μεθοδολογία παραγωγής κλασματοποιημένης ανθρώπινης ανοσοσφαιρίνης βασίζεται στην δουλειά της επιστημονικής ομάδας του Dr Cohn. Η **αρχή μεθόδου** συνοπτικά περιλαμβάνει την απομόνωση της ζητούμενης πρωτεΐνης μέσω φυγοκέντρωσης, με καθοριστικές παραμέτρους την **συγκέντρωση της αιθανόλης, τη θερμοκρασία, το pH και την συγκέντρωση και το ισοηλεκτρικό σημείο της ζητούμενης πρωτεΐνης**. Στο προφίλ των δοτών **δεν** πρέπει να συμπεριλαμβάνεται κάποια **ενεργή νόσος**. Ακόμη και στην περίπτωση όπου χρησιμοποιούνται ιαθέντες ασθενείς ως δότες, η ανάρρωση απαιτείται να είναι πλήρης. Το πλάσμα αυτών **ελέγχεται** για τυχόν μόλυνση από τους **ιούς ηπατίτιδας Β, C και επίκτητης ανοσοανεπάρκειας (HIV)**. Η κάθε μονάδα έχει δυνατότητα **σύντηρης** για αρκετούς **μήνες**, σε θερμοκρασίες **-20 °C ή μικρότερες**.

Στα πρώτα κλάσματα (από I μέχρι V) ανευρίσκονται οι πιο συχνά ανευρισκόμενες πρωτεΐνες, όπου στο κλάσμα I περιλαμβάνεται το ινωδογόνο, στο II οι **γ-σφαιρίνες** (συμπεριλαμβανομένων και των **πολύανοσων ανοσοσφαιρινών**) και στο V η αλβουμίνη. Οι συνθήκες που επικρατούν κατά τον διαχωρισμό του κλάσματος II είναι συγκέντρωση αιθανόλης 25%, θερμοκρασία -5°C και pH ίσο με 6,9.

Σε κάθε δεξαμενή τοποθετούνται **τουλάχιστον 2.000 lt** (ή **1.000 μονάδες**) πλάσματος, με σκοπό τον διαχωρισμό των κλασμάτων του. Ο αριθμός αυτός, ο

οποίος μπορεί να φτάσει μέχρι και τις **100.000 μονάδες**, εξαρτάται από τις προδιαγραφές της εταιρείας παραγωγής.

Πίνακας 3 Τα κλάσματα που προκύπτουν από την μέθοδο Cohn-Onocley και οι πρωτεΐνες που προκύπτουν από το καθένα από αυτά. (86)

| Κλάσμα | | Προϊόν |
|-----------------------|-------|--------------------|
| | I | ινωδογόνο |
| | II | γ-σφαιρίνες |
| | III | β-σφαιρίνες |
| Μέθοδος Oncley | III-0 | λιποπρωτεΐνες |
| | III-1 | ισογλουτινίνες |
| | III-2 | προθρομβίνη |
| | III-3 | πλασμινογόνο |
| | IV | α-σφαιρίνες |
| | V | λευκωματίνη |

Μετά τις τεχνικές απομόνωσης των ανοσοσφαιρινών που αναφέρονται στο Κεφάλαιο 3.4, ακολουθούν οι **μέθοδοι απενεργοποίησης** των παθογόνων ιολογικής φύσεως. Αυτές περιλαμβάνουν τη χρήση διαλυμάτων **απορρυπαντικών** (τα οποία αφαιρούνται στην συνέχεια απο το μίγμα), την **ακτινοβόληση** με ακτίνες **UVC** (συμπληρωματικά, κυρίως για την εξουδετέρωση ιών μικρού μεγέθους) και την χρήση φίλτρων νανοκλίμακας (**nanofiltration**). Σε κάποιες περιπτώσεις χρησιμοποιούνται τεχνικές **χρωματογραφίας**, για αφαίρεση ιών με συγκεκριμένες φυσικοχημικές και βιοχημικές ιδιότητες. Τέλος, σε ορισμένες εταιρείες παραγωγής πραγματοποιείται **παστερίωση** του μίγματος, σε θερμοκρασία 60 °C για 10 ώρες. (86)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Ο Δεκέμβριος του 2019 σηματοδότησε καθοριστικές αλλαγές στη ζωή όλης της ανθρωπότητας. Η υψηλή μεταδοτικότητα του ιού SARS-CoV-2, σε συνδιασμό με την παντελή έλλειψη οποιασδήποτε έρευνας πάνω στο συγκεκριμένο παθογόνο, οδήγησαν τις κυβερνήσεις ανά τον κόσμο να λάβουν αυστηρότατα υγειονομικά μέτρα. Τα μέτρα αυτά περιλάμβαναν υποχρεωτική χρήση μάσκας προσώπου σε εξωτερικούς χώρους, αναθεωρημένα πρωτόκολλα απολύμανσης και περιορισμό των κοινωνικών επαφών (κυρίως μέσω του *lockdown*). Καθώς τα μέτρα αυτά, αν και υγειονομικά, είχαν τεράστιο κοινωνικό, πολιτικό και οικονομικό αντίκτυπο, υπήρξαν οι αντίστοιχες συνέπειες. Η ψυχική υγεία του συνόλου επιδεινώθηκε, λόγω των αισθημάτων μοναξιάς, των αρχικών συμπτωμάτων της κατάθλιψης και της αυξημένης συχνότητας περιστατικών ενδοοικογενειακής βίας. Η καθημερινότητα των ανθρώπων πλέον περιλάμβανε άγχος, λόγω φόβου για τυχόν λοίμωξη από τον ιό, φόβου για την απώλεια των θέσεων εργασίας τους και του βιωτικού τους επιπέδου και αισθήματος απόγνωσης, το οποίο προέκυψε από την αδυναμία των κυβερνήσεων να διαχειριστούν την πανδημία. Συγκλονιστικά τα αποτελέσματα μελέτης στις ΗΠΑ που πραγματοποιήθηκε τον Ιούνιο του 2020, η οποία έδειξε ότι το 40% των συμμετοχόντων εμφάνισε, ενώ το 11% είχε τάσεις αυτοκτονίας. (88) Όσον αφορά την Ευρώπη, σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε στην Ιταλία, εκ των συμμετοχόντων το 18.7% δήλωσε την ύπαρξη μέτριας έως σοβαρής αγχώδους διαταραχής, ενώ το 21.2% δήλωσε μέτρια έως και εξαιρετικά σοβαρή κατάθλιψη. (89)

Η πανδημία, έμμεσα, επηρέασε την πρόληψη και θεραπεία άλλων ασθενειών, άσχετων με τον κορωνοϊό. Τα κυριότερα αίτια είναι η υπερφόρτωση των νοσοκομειακών μονάδων από ασθενείς με νόσο COVID-19, ο περιορισμένος αριθμός αποθεμάτων υγειονομικών προμηθειών και η αποφυγή επισκέψεων από τους ασθενείς (πχ. εγκεφαλικά επεισόδια, σκωληκοειδίτιδα). Συγκεκριμένα για ασθένειες μεταδιδόμενες με κουνούπια (ελονοσία, δάγκειος πυρετός), οι εξάρσεις που σημειώθηκαν οφείλονται, πέρα των λόγων που αναφέρθηκαν παραπάνω, σε διαταραχές στην αλυσίδα ανεφοδιασμού ειδικών προμηθειών προληπτικής σημασίας (διανομή αντικουνουπικών δικτύων για κούνιες μωρών). (90) Το ακριβώς αντίθετο συνέβη με τα σεξουαλικά μεταδιδόμενα νοσήματα και νοσήματα που οφείλονται σε

διάφορους ιούς που προσβάλλουν το αναπνευστικό σύστημα, τα οποία λόγω των κοινωνικών περιορισμών, του lockdown και της υποχρεωτικής χρήσης μάσκας παρουσίασαν σημαντική μείωση εμφάνισης. (91)

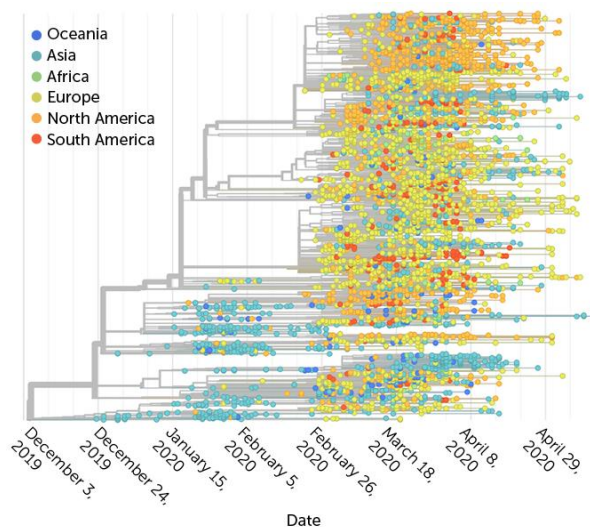
Τέλος, μια πρωτοφανής συνέπεια της πανδημίας ήταν η ύπαρξη φαινομένων ρατσισμού και ξενοφοβίας, κατά πληθυσμών με καταγωγή από την Κίνα και την ΝΑ Ασία. Στις ΗΠΑ και στο Ηνωμένο Βασίλειο αναφέρθηκε αξιοσημείωτη αύξηση περιστατικών λεκτικής και σωματικής βίας, με ρατσιστικά προσχήματα (*σινοφοβία*, *ινδοφοβία*). (92) Το φαινόμενο αυτό οδήγησε στην δημιουργία ενός αντιρατσιστικού κινήματος, με παγκόσμια απήγηση, του οποίου το κεντρικό σλόγκαν είναι *'Hate is a virus'*.

Η κλασματοποίηση πλάσματος αίματος είναι μια απλή, αλλά εξαιρετικά αποτελεσματική μέθοδος για παραγωγή μονοκλωνικών αντισωμάτων έναντι παθογόνων, τα οποία δεν έχουν μελετηθεί επαρκώς. Η κλασματοποιημένη ανθρώπινη ανοσοσφαιρίνη αποτελεί το κυριότερο προϊόν της βιομηχανίας παραγωγών αίματος παγκοσμίως (συνολικής αξίας 6,9 δις δολλαρίων).

Η προέλευση του ιού κατέχει εξέχουσα σημασία για την κατανόηση και την πρόβλεψη της εξέλιξης της, καθώς και για την διατύπωση απόψεων όσον αφορά την πιθανότητα εμφάνισης επόμενων πανδημιών και την αντιμετώπιση αυτών. Το φαινόμενο *spillover*, γνωστό και ως άμεση ζωνοσική μετάδοση, βάση των δεδομένων που έχουμε, είναι το πιο πιθανό σενάριο εισαγωγής του συσχεκκριμένου παθογόνου στην δεξαμενή του είδους μας. Εναλλακτικές θεωρίες περιλαμβάνουν την μετάδοση μέσω της τροφικής αλυσίδας και την μετάδοση μέσω κάποιου ενδιάμεσου ξενιστή. (93,94) Στις δύο πρώτες θεωρίες (και πιο πιθανές), κοινός παρονομαστής είναι ο χειρισμός εξωτικών ζώων, είτε για πώληση είτε για βρώση τους. Ανησυχία προκαλεί η αδιαφορία των αρχών για το φαινόμενο αυτό και τους τρόπους αντιμετώπισης του. Εφόσον δεν παρθούν τα απαραίτητα μέτρα, η ανθρωπότητα είναι αναγκασμένη να ζήσει ξανά μέσα στις επόμενες δεκαετίες την ανάδειξη κάποιου καινούργιου παθογόνου και, δυνητικά, κάποιο επιδημικό ξέσπασμα. Επομένως, στην επόμενη πανδημία (πιθανότατα ιολογικής φύσεως), η παραγωγή αντισωμάτων από πλάσμα αίματος ασθενών θα μπορέσει να φέρει εξέχουσα σημασία στην φαρμακευτική περίθαλψη των νοσούντων.

Μεγάλη ανησυχία για την μελλοντική εξέλιξη της πανδημίας αποτελούν οι χιλιάδες μεταλλάξεις του ιού. Σύμφωνα με την επικρατέστερη θεωρία προέλευσης τους, ο ιός επάγει την διαδικασία της αντιγονικής διαφυγής (*antigenic*

escape, immune escape, immune evasion, escape mutation), λόγω ανοσοθεραπείας που λαμβάνουν οι συγκεκριμένοι ασθενείς. (95) Η θεωρία αυτή υποστηρίζεται από το γεγονός ότι, σε διαφορετικούς ασθενείς, εμφανίζονται οι ίδιες μεταλλάξεις στα αντιγόνα επιφάνειας. Από τις παραλλαγές, ιδιαίτερης σημασίας χρίζουν οι VOC 202012/01, 501Y.V2 και Cluster5. Το στέλεχος VOC 202012/01 (γνωστό κι ως το



Εικόνα 8 Καταγεγραμμένες μεταλλάξεις του ιού COVID-19 από τις 12/2019 έως τις 4/2020. Πηγή: <https://nextstrain.org/ncov/global>

βρετανικό στέλεχος, καθώς το πρώτο κρούσμα φημολογείται ότι εμφανίστηκε στο Ηνωμένο Βασίλειο), σύμφωνα με επιδημιολογικά στοιχεία, φέρει μεγαλύτερη μεταδοτικότητα και θνησιμότητα. (96) Ανάμεσα σε αρκετές διαφοροποιήσεις, τόσο σε σχέση με το αρχικό στέλεχος, όσο και με τα παραλλαγμένα, η βασικότερη είναι η μετάλλαξη N501Y. Αυτή είναι υπεύθυνη για την αντικατάσταση της ασπαραγίνης σε τυροσίνη, στην 501^η θέση της πρωτεΐνης S της ακίδας. Η αλλαγή αυτή ισχυροποιεί τον δεσμό μεταξύ του ιού με τον υποδοχέα ACE2 των κυττάρων του ανθρώπου (97,98) και, κατά συνέπεια, του προσδίδει μεγαλύτερη επικινδυνότητα. Η παραλλαγή 501Y.V2, αναφερόμενη κι ως η *παραλλαγή της Νοτίου Αφρικής* (λόγω της τοποθεσίας προέλευσης της), διαφοροποιείται λόγω της μετάλλαξης N501Y. Δεν έχει αναφερθεί κάποια αλλαγή στην μεταδοτικότητα και θνησιμότητα, συγκριτικά με το αρχικό στέλεχος. (97,98) Τέλος, η μετάλλαξη Cluster5 εμφανίστηκε στην Δανία, σε εγκαταστάσεις εκτροφής βιζόν (*Mustela vison*). Ως στοιχεία διαφοροποίησης λειτουργούν αρκετές μεταλλάξεις, κυρίως στην πρωτεΐνη S. Θεωρητικά το στέλεχος έχει εξοντωθεί, έπειτα από την απαγόρευση της εκτροφής τους και την θανάτωση των εκτρεφόμενων κοπαδιών.

Η ανησυχία έγκειται στο γεγονός ότι πιθανώς να χρειαστεί διαφορετική φαρμακευτική αντιμετώπιση στους ασθενείς με τα μεταλλαγμένα στελέχη του ιού. Η χρήση πλάσματος ιαθέντων ασθενών, δυνητικά, θα μπορέσει να δώσει λύση και στο συγκεκριμένο πρόβλημα. Για παράδειγμα, σε ασθενείς με νόσο που οφείλεται στο *βρετανικό στέλεχος*, ως θεραπεία μπορεί να λειτουργήσει η χορήγηση αντισωμάτων anti-VOC 202012/01.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Gorbalenya, Alexander E. (2020). "Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus – The species and its viruses, a statement of the Coronavirus Study Group". *bioRxiv*.
2. Chen N, Zhou M, Dong X, Qu J, Gong F, Han Y, et al. (2020). "Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study". *The Lancet*. **395** (10223): 507–513.
3. Machhi J., Herskovitz J., Senan A. M., Dutta D., Nath, B., Oleynikov M. D., Blomberg W. R., Meigs D. D., Hasan M., Patel M., Kline P., Chang R. C., Chang L., Gendelman H. E., Kevadiya B. D. (2020). "The Natural History, Pathobiology, and Clinical Manifestations of SARS-CoV-2 Infections". *Journal of Neuroimmune Pharmacology*. **15** (3): 359–386.
4. Sills E.S., Wood S.H. (2020). "An Experimental Model for Peri-conceptual COVID-19 Pregnancy Loss and Proposed Interventions to Optimize Outcomes". *International Journal of Molecular and Cellular Medicine*. **9** (3): 180–187.
5. Wu C, Liu Y, Yang Y, Zhang P, Zhong W, Wang Y, et al. (2020). "Analysis of therapeutic targets for SARS-CoV-2 and discovery of potential drugs by computational methods". *Acta Pharmaceutica Sinica B*. **10** (5): 766–788.
6. "Coronaviruses - a general introduction" (2021). *The Centre for Evidence-Based Medicine*.
7. Li, J. Y., You, Z., Wang, Q., Zhou, Z. J., Qiu, Y., Luo, R., & Ge, X. Y. (2020). "The epidemic of 2019-novel-coronavirus (2019-nCoV) pneumonia and insights for emerging infectious diseases in the future". *Microbes and Infection*. Special issue on the new coronavirus causing the COVID-19 outbreak 22 (2): 80–85.
8. "Getting your workplace ready for COVID-19" (PDF). *www.who.int*. WHO.
9. CDC (2020). "COVID-19 and Your Health". *Centers for Disease Control and Prevention*.
10. Lewis, Dyani (2020). "Mounting evidence suggests coronavirus is airborne — but health advice has not caught up". *Nature* **583** (7817): 510–513.

11. Anfinrud, P., Stadnytskyi, V., Bax, C. E., & Bax, A. (2020). "Visualizing Speech-Generated Oral Fluid Droplets with Laser Light Scattering". *The New England Journal of Medicine*.
12. Stadnytskyi, V., Bax, C. E., Bax, A., & Anfinrud, P. (2020). "The airborne lifetime of small speech droplets and their potential importance in SARS-CoV-2 transmission". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **117** (22): 11875–11877.
13. Li, D., Jin, M., Bao, P., Zhao, W., & Zhang, S. (2020). "Clinical Characteristics and Results of Semen Tests Among Men With Coronavirus Disease 2019". *JAMA Network Open* **3** (5).
14. Van Doremalen, N., Bushmaker, T., Morris, D. H., Holbrook, M. G., Gamble, A., Williamson, B. N., ... & Munster, V. J. (2020). "Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1". *The New England Journal of Medicine*.
15. "Origin of SARS-CoV-2" (2020). *www.who.int*.
16. "Bat SARS-like coronavirus isolate bat-SL-CoVZC45, complete genome" (2020). *National Center for Biotechnology Information (NCBI)*.
17. "Bat coronavirus isolate RaTG13, complete genome" (2020). *National Center for Biotechnology Information (NCBI)*.
18. Zhao J, Cui W, Tian BP (2020). "The Potential Intermediate Hosts for SARS-CoV-2". *Frontiers in Microbiology*. **11**: 580137.
19. Hu B, Guo H, Zhou P, Shi ZL (2020). "Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19". *Nature Reviews Microbiology*. **19** (3): 141–154.
20. Islam MA (2021). "Prevalence and characteristics of fever in adult and paediatric patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19): A systematic review and meta-analysis of 17515 patients". *PLOS ONE*: e0249788.
21. Islam MA (2020). "Prevalence of Headache in Patients With Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Systematic Review and Meta-Analysis of 14,275 Patients". *Frontiers in Neurology*: 1–9.
22. Saniasiaya J, Islam MA (2021). "Prevalence of Olfactory Dysfunction in Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Meta-analysis of 27,492 Patients". *The Laryngoscope*: 865–878.

23. Saniasiaya J, Islam MA (2020). "Prevalence and Characteristics of Taste Disorders in Cases of COVID-19: A Meta-analysis of 29,349 Patients". *Otolaryngology–Head and Neck Surgery*: 1–10.
24. Nogrady B (2020). "What the data say about asymptomatic COVID infections". *Nature*. **587** (7835): 534–535. doi:10.1038/d41586-020-03141-3. PMID 33214725.
25. Gao Z, Xu Y, Sun C, Wang X, Guo Y, Qiu S, Ma K (2021). "A systematic review of asymptomatic infections with COVID-19". *Journal of Microbiology, Immunology, and Infection = Wei Mian Yu Gan Ran Za Zhi*. **54** (1): 12–16.
26. Gandhi RT, Lynch JB, Del Rio C (2020). "Mild or Moderate Covid-19". *The New England Journal of Medicine*. **383** (18): 1757–1766.
27. Xu X, Chen P, Wang J, Feng J, Zhou H, Li X, et al. (2020). "Evolution of the novel coronavirus from the ongoing Wuhan outbreak and modeling of its spike protein for risk of human transmission". *Science China. Life Sciences*. **63** (3): 457–460.
28. Verdecchia P, Cavallini C, Spanevello A, Angeli F (June 2020). "The pivotal link between ACE2 deficiency and SARS-CoV-2 infection". *European Journal of Internal Medicine*. **76**: 14–20.
29. Meunier N, Briand L, Jacquin-Piques A, Brondel L, Pénicaud L (2020). "COVID 19-Induced Smell and Taste Impairments: Putative Impact on Physiology". *Frontiers in Physiology*. **11**: 625110.
30. Gibson PG, Qin L, Puah SH (July 2020). "COVID-19 acute respiratory distress syndrome (ARDS): clinical features and differences from typical pre-COVID-19 ARDS". *The Medical Journal of Australia*. **213** (2): 54–56.e1.
31. Zhang C, Wu Z, Li JW, Zhao H, Wang GQ (May 2020). "Cytokine release syndrome in severe COVID-19: interleukin-6 receptor antagonist tocilizumab may be the key to reduce mortality". *International Journal of Antimicrobial Agents*. **55** (5): 105954.
32. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. (February 2020). "Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China". *Lancet*. **395** (10223): 497–506.
33. Lebeau, G., Vagner, D., Frumence, É., Ah-Pine, F., Guillot, X., Nobécourt, E., ... & Gasque, P. (2020). Deciphering SARS-CoV-2 Virologic and Immunologic Features. *Int. J. Mol. Sci.* 21, 5932.

34. Wadman M (2020). "How does coronavirus kill? Clinicians trace a ferocious rampage through the body, from brain to toes". *Science*.
35. Coronavirus: Kidney Damage Caused by COVID-19, *Johns Hopkins Medicine*, C. John Sperati, updated 14 May 2020.
36. Chen N, Zhou M, Dong X, Qu J, Gong F, Han Y, et al. (2020). "Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study". *Lancet*. **395** (10223): 507–513.
37. Wenham C, Smith J, Morgan R (2020). "COVID-19: the gendered impacts of the outbreak". *Lancet*. **395** (10227): 846–848.
38. "The Epidemiological Characteristics of an Outbreak of 2019 Novel Coronavirus Diseases (COVID-19)" (2020). *China CDC Weekly*. **2** (8): 113–122.
39. Yuki K, Fujiogi M, Koutsogiannaki S (2020). "COVID-19 pathophysiology: A review". *Clinical Immunology*. **215**: 108427.
40. Rabin RC (2020). "In Italy, Coronavirus Takes a Higher Toll on Men". *The New York Times*.
41. Fu L, Wang B, Yuan T, Chen X, Ao Y, Fitzpatrick T, et al. (2020). "Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 (COVID-19) in China: A systematic review and meta-analysis". *The Journal of Infection*. **80** (6): 656–665.
42. "COVID-19 weekly surveillance report". *World Health Organization (WHO)*. Retrieved 7 April 2020.
43. Palmieri L, Andrianou X, Barbariol P, Bella A, Bellino S, Benelli E, et al. (2020). Characteristics of SARS-CoV-2 patients dying in Italy Report based on available data on July 22nd, 2020 (PDF) (Report). *Istituto Superiore di Sanità*.
44. Li C, Zhao C, Bao J, Tang B, Wang Y, Gu B (November 2020). "Laboratory diagnosis of coronavirus disease-2019 (COVID-19)". *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry*.
45. Salehi S, Abedi A, Balakrishnan S, Gholamrezanezhad A (2020). "Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Systematic Review of Imaging Findings in 919 Patients". *AJR. American Journal of Roentgenology*. **215** (1): 87–93.
46. Li Y, Xia L (2020). "Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): Role of Chest CT in Diagnosis and Management". *AJR. American Journal of Roentgenology*. **214** (6): 1280–1286.

47. Liu K, Fang YY, Deng Y, Liu W, Wang MF, Ma JP, et al. (2020). "Clinical characteristics of novel coronavirus cases in tertiary hospitals in Hubei Province". *Chinese Medical Journal*. **133** (9): 1025–1031.
48. Wang T, Du Z, Zhu F, Cao Z, An Y, Gao Y, Jiang B (2020). "Comorbidities and multi-organ injuries in the treatment of COVID-19". *Lancet*. Elsevier BV. **395** (10228): e52.
49. "Lopinavir and Ritonavir" (2016). *The American Society of Health-System Pharmacists*.
50. Sham HL, Kempf DJ, Molla A, Marsh KC, Kumar GN, Chen CM, et al. (1998). "ABT-378, a highly potent inhibitor of the human immunodeficiency virus protease". *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **42** (12): 3218–24.
51. Foster C (2006). "Research at Argonne helps Abbott Labs develop anti-HIV drug". *Medicine & Health*.
52. "Hydroxychloroquine Sulfate Monograph for Professionals".(2020) *The American Society of Health-System Pharmacists*.
53. Hernandez, A. V., Roman, Y. M., Pasupuleti, V., Barboza, J. J., & White, C. M. (2020). Hydroxychloroquine or chloroquine for treatment or prophylaxis of COVID-19: a living systematic review. *Annals of internal medicine*, 173(4), 287-296.
54. Siemieniuk RA, Bartoszko JJ, Ge L, Zeraatkar D, Izcovich A, Kum E, et al. (2020). "Drug treatments for covid-19: living systematic review and network meta-analysis". *BMJ*. **370**: m2980.
55. Kim PS, Read SW, Fauci AS (2020). "Therapy for Early COVID-19: A Critical Need". *JAMA. American Medical Association (AMA)*. **324** (21): 2149–2150.
56. Maxmen A (2021). "WHO report into COVID pandemic origins zeroes in on animal markets, not labs". *Nature*. **592** (7853): 173–174.
57. Graham, Rachel L.; Baric, Ralph S. (19 May 2020). "SARS-CoV-2: Combating Coronavirus Emergence". *Immunity*. **52** (5): 734–736.
58. "Statement on the meeting of the International Health Regulations (2005) Emergency Committee regarding the outbreak of novel coronavirus 2019 (n-CoV) on 23 January 2020". (2020) *World Health Organization (WHO)*.
59. Sanche S, Lin YT, Xu C, Romero-Severson E, Hengartner N, Ke R (2020). "High Contagiousness and Rapid Spread of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2". *Emerging Infectious Diseases*. **26** (7): 1470–1477.

60. "COVID-19 Dashboard by the Center for Systems Science and Engineering (CSSE) at Johns Hopkins University (JHU)". (2021) *ArcGIS*. Johns Hopkins University.
61. "WHO: 10% of world's people may have been infected with virus". (2020) *AP NEWS*.
62. "Δεδομένα για τον κορωνοϊό στην Ελλάδα - Τελευταία Ενημέρωση" (2021). *Υπουργείο Υγείας*. Ανακτήθηκε στις 5 Ιουνίου 2021.
63. Κονιδάρη ΑΜ, Βυζαντιάδης ΤΑ, Γκιούλα Γ, Εξηντάρη Μ, Καχριμανίδου Μ, Πρωτονοταρίου Ε, Σκούρα Λ, Χατζηδημητρίου Δ: Εγχειρίδιο κλινικής μικροβιολογίας. Εκδόσεις University Studio Press. Θεσσαλονίκη 2018: Σελ 26.
64. LeDuc, J. W., & Barry, M. A. (2004). SARS, the first pandemic of the 21st century. *Emerging Infectious Diseases*, 10(11), e26.
65. van Doremalen N, Bushmaker T, Morris DH, Holbrook MG, Gamble A, Williamson BN, et al. (2020). "Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1". *The New England Journal of Medicine*. **382** (16): 1564–1567.
66. "A Chronicle on the SARS Epidemic"(2003). *Chinese Law & Government*. **36** (4): 12–15.
67. Cui, Jie; Li, Fang; Shi, Zheng-Li (2019). "Origin and evolution of pathogenic coronaviruses". *Nature Reviews Microbiology*. **17** (3): 181–192.
68. "Summary of probable SARS cases with onset of illness from 1 November 2002 to 31 July 2003" (2004). *World Health Organization (WHO)*.
69. "Scientists were close to a coronavirus vaccine years ago. Then the money dried up" (2020). *NBC News*.
70. Zaki, Ali M; Van Boheemen, Sander; Bestebroer, Theo M; Osterhaus, Albert D.M.E; Fouchier, Ron A.M (2012). "Isolation of a Novel Coronavirus from a Man with Pneumonia in Saudi Arabia". *New England Journal of Medicine*. **367** (19): 1814–1820.
71. "MERS situation update, January 2020" (2020). *World Health Organization (WHO)*.
72. "Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV)" (2020). Διαθέσιμο στο: www.who.int.
73. "MERS Clinical Features". *Centers for Disease Control and Prevention*. 2019.

74. Alshahrani MS, Sindi A, Alshamsi F, Al-Omari A, El Tahan M, Alahmadi B, Zein A, Khatani N, Al-Hameed F, Alamri S, Abdelzaher M, Alghamdi A, Alfousan F, Tash A, Tashkandi W, Alraddadi R, Lewis K, Badawee M, Arabi YM, Fan E, Alhazzani W (2018). "Extracorporeal membrane oxygenation for severe Middle East respiratory syndrome coronavirus". *Annals of Intensive Care*. **8** (1): 3.
75. Burnouf T. (2018). An overview of plasma fractionation. *Annals of Blood*. **3**. 33-33.
76. Peyvandi F, Mannucci PM, Garagiola I, et al. (2016) "A Randomized Trial of Factor VIII and Neutralizing Antibodies in Hemophilia A." *N Engl J Med*. 374:2054-64.
77. Calvez T, Chambost H, d'Oiron R, et al. (2018) "Analyses of the FranceCoag cohort support differences in immunogenicity among one plasma-derived and two recombinant factor VIII brands in boys with severe hemophilia A." *Haematologica* .103:179-89.
78. Διαθέσιμο στο: [FDA website for ATryn \(BL 125284\)](#)
79. Koles K, van Berkel PH, Pieper FR, Nuijens JH, Mannesse ML, Vliegthart JF, Kamerling JP (2004). "N- and O-glycans of recombinant human C1 inhibitor expressed in the milk of transgenic rabbits". *Glycobiology*. **14** (1): 51–64.
80. Marano G, Vaglio S, Pupella S, et al. (2016) "Convalescent plasma: new evidence for an old therapeutic tool?". *Blood Transfu*. **14** (2): 152-157.
81. DJ Wooding, H Bach (2020). "Treatment of COVID-19 with convalescent plasma: lessons from past coronavirus outbreaks." *Clinical Microbiology and Infection*.
82. Keller MA, Stiehm E R (2000). Passive Immunity in Prevention and Treatment of Infectious Diseases. *Clinical Microbiology Reviews*. **13**. 602-614. 4
83. Graham, Barney S.; Ambrosino, Donna M. (2015). "History of Passive Antibody Administration for Prevention and Treatment of Infectious Diseases". *Current Opinion in HIV and AIDS*. **10** (3): 129–134.
84. "Ebola virus disease, Fact sheet N°103, Updated September 2014" (2014). *World Health Organization (WHO)*.
85. Mupapa, K., M. Massamba, K. Kibadi, K. Kivula, A. Bwaka, M. Kipasa, R. Colebunders, and J. J. Muyembe-Tamfum on behalf of the International Scientific and Technical Committee. (1999). Treatment of Ebola hemorrhagic

- fever with blood transfusions from convalescent patients. *J. Infect. Dis.* 179(Suppl.):S18-S23
86. Barahona Afonso, A. F., & João, C. M. P. (2016). The production processes and biological effects of intravenous immunoglobulin. *Biomolecules*, 6(1), 15.
 87. "COVID-19 vaccine development pipeline" (2021). *Vaccine Centre, London School of Hygiene and Tropical Medicine*.
 88. Czeisler MÉ, Lane RI, Petrosky E, Wiley JF, Christensen A, Njai R, et al. (2020). "Mental Health, Substance Use, and Suicidal Ideation During the COVID-19 Pandemic - United States, June 24-30, 2020". *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report*. **69** (32): 1049–1057.
 89. Gualano MR, Lo Moro G, Voglino G, Bert F, Siliquini R (2020). "Effects of Covid-19 Lockdown on Mental Health and Sleep Disturbances in Italy". *International Journal of Environmental Research and Public Health*. **17** (13): 4779.
 90. Hogan AB, Jewell BL, Sherrard-Smith E, Vesga JF, Watson OJ, Whittaker C, et al. (2020). "Potential impact of the COVID-19 pandemic on HIV, tuberculosis, and malaria in low-income and middle-income countries: a modelling study". *The Lancet. Global Health*. **8** (9): e1132–e1141.
 91. Wareham J (2020). "U.K. Lockdown Has 'Broken HIV Chain' With Huge Reduction In New STI Cases". *Forbes*.
 92. Burton N (2020). "The coronavirus exposes the history of racism and "cleanliness"". *Vox*.
 93. Wacharapluesadee, S., Tan, C. W., Maneerorn, P., Duengkae, P., Zhu, F., Joyjinda, Y., ... & Wang, L. F. (2021). Evidence for SARS-CoV-2 related coronaviruses circulating in bats and pangolins in Southeast Asia. *Nature communications*, 12(1), 1-9.
 94. Banerjee, A., Doxey, A. C., Mossman, K., & Irving, A. T. (2020). Unravelling the zoonotic origin and transmission of SARS-CoV-2. *Trends in ecology & evolution*.
 95. Kupferschmidt K (2020). "U.K. variant puts spotlight on immunocompromised patients' role in the COVID-19 pandemic". *Science*.
 96. Peacock, Sharon (2020). "Here's what we know about the new variant of coronavirus | Sharon Peacock". *The Guardian*. ISSN 0261-3077.

97. CDC (2020). "Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)". *Centers for Disease Control and Prevention*.
98. CDC (2020). «Cases, Data, and Surveillance». *Centers for Disease Control and Prevention*.

Πίνακας Εικόνων

| | | |
|----------|---|----|
| Εικόνα 1 | Εικονογράφιση του ιού SARS-CoV-2..... | 7 |
| Εικόνα 2 | Παθοφυσιολογία του ιού SARS-CoV-2 σε διάφορα όργανα του ανθρωπίνου οργανισμού. (Πηγή: Lebeau, G.; Vagner, D.; Frumence, É.; Ah-Pine, F.; Guillot, X.; Nobécourt, E.; Raffray, L.; Gasque, P. “Deciphering SARS-CoV-2 Virologic and Immunologic Features”. (2020) Int. J. Mol. Sci., 21, 5932.)..... | 10 |
| Εικόνα 3 | Συνολικός αριθμός επιβεβαιωμένων κρουσμάτων και θανάτων της πανδημίας SARS COVID-19 ανά εκατομμύριο (έως τις 2 Μαΐου 2021). (Πηγές: 1)"Total confirmed cases of COVID-19 per million people". Our World in Data. Archived from the original on 19 March 2020. Retrieved 10 April 2020.) 2)"Cumulative confirmed COVID-19 deaths per million people". Our World in Data..... | 12 |
| Εικόνα 4 | Συνολικά κρούσματα και θάνατοι λόγω της επιδημίας SARS, καθώς και κατανομή των κρουσμάτων ανά χώρα. (Υπόμνημα δεύτερης εικόνας: χώρες όπου σημειώθηκαν επιβεβαιωμένοι θάνατοι, χώρες όπου βρέθηκαν επιβεβαιωμένα κρούσματα) Πηγή: Cumulative Number of Reported Probable Cases of Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS). WHO..... | 13 |
| Εικόνα 5 | Συνολικά κρούσματα και θάνατοι λόγω της επιδημίας MERS, καθώς και κατανομή των κρουσμάτων ανά χώρα. (Υπόμνημα δεύτερης εικόνας: 100+ επιβεβαιωμένα κρούσματα, 50+ επιβεβαιωμένα κρούσματα, 1+επιβεβαιωμένα κρούσματα) (Πηγή:"Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) – United Arab Emirates". World Health Organization. 31 January 2020.)..... | 14 |
| Εικόνα 6 | Εικονογράφιση της σύστασης των κυττάρων του αίματος, του ολικού αίματος, του πλάσματος και των πρωτεϊνών του πλάσματος, αντίστοιχα. (Από αριστερά προς τα δεξιά) (Πηγή: https://www.eae.gr/images/files/aimodosia/drastiriotites/2014/parousiaseis/03.mpartzoudis.pdf)..... | 17 |
| Εικόνα 7 | Χρήση θεραπείας πλάσματος ιαθέντων για την αντιμετώπιση ιολογικών επιδημιών. (80) | 23 |
| Εικόνα 8 | Καταγεγραμμένες μεταλλάξεις του ιού COVID-19 από τις 12/2019 έως τις 4/2020. Πηγή: https://nextstrain.org/ncov/global | 34 |

Πίνακας Σχημάτων

| | | |
|-----------|---|----|
| Πίνακας 1 | Κλινική χρήση των κυριότερων προϊόντων πλάσματος. (74) | 19 |
| Πίνακας 2 | Ιολογικές νόσοι που αντιμετωπίζονται με χρήση αντισωμάτων πλάσματος ιαθέντων ασθενών/ οροθετικών δοτών. Στη στήλη της φαρμακευτικής αντιμετώπισης γράφονται αποκλειστικά οι ουσίες που λειτουργούν ως αντιϊκοί παράγοντες. | 27 |
| Πίνακας 3 | Τα κλάσματα που προκύπτουν από την μέθοδο Cohn-Oncley και οι πρωτεΐνες που προκύπτουν από το καθένα από αυτά. (86) | 31 |