



Σχολή Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας
Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών
ΜΠΣ Βιοϊατρικές μέθοδοι και τεχνολογία στη διάγνωση



ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Αντιδράσεις από τη μετάγγιση ερυθροκυττάρων σε
συνάρτηση με το χρόνο αποθήκευσης**

POST GRADUATE THESIS

Erythrocyte transfusion reactions as a function of storage time



ΟΝΟΜΑ ΦΟΙΤΗΤΡΙΑΣ/NAME OF STUDENTS

Δέσποινα Κουϊμτζή

Despoina Kouimtzi

ΟΝΟΜΑ ΕΙΣΗΓΗΤΗ/NAME OF THE SUPERVISOR

Αναστάσιος Κριεμπάρδης

Anastasios Kriebardis

ΑΙΓΑΛΕΩ/AIGALEO 2021



Faculty of Health and Caring Professions
Department of Biomedical Sciences
Postgraduate program:
Biomedical methods and technology in diagnosis



POST GRADUATE THESIS

Erythrocyte transfusion reactions as a function of storage time

Despoina Kouimtzi
dml19002
despinakouim@gmail.com

FIRST SUPERVISOR
ANASTASIOS G. KRIEMBARDIS

SECOND SUPERVISOR
HARA T. GEORGATZAKOU

THIRD SUPERVISOR
EFSTATHIA G. PAPAGEORGIU

AIGALEO 2021

Δήλωση περί λογοκλοπής

Η κάτωθι υπογεγραμμένη Δέσποινα Κουϊμτζή του Εμμανουήλ, με αριθμό μητρώου 19002 φοιτήτρια του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών Βοϊατρικές μέθοδοι και Τεχνολογία στη Διάγνωση του Τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών της Σχολής Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, δηλώνω ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της μεταπτυχιακής 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 σύνολό 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 μου».

Η δηλούσα

Δέσποινα Κουϊμτζή

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον καθηγητή και εισηγητή μου κ. Κριεμπάρδη Αναστάσιο, γιατί μπόρεσε να διακρίνει το αντικείμενο του ενδιαφέροντος μου και να προσαρμόσει το θέμα της διπλωματικής μου πάνω σε αυτό. Η βοήθεια του στην πορεία ήταν πολύτιμη και ουσιαστική.

Επίσης οφείλω ένα μεγάλο ευχαριστώ στην Προϊσταμένη μου κα Παύλου Ευθυμία, η οποία όλα αυτά τα χρόνια που τη γνωρίζω πιστεύει σε μένα και με εμπιστεύεται. Η δική της παρότρυνση ήταν καθοριστική προκειμένου να ξεκινήσω το μεταπτυχιακό.

Αφιερώσεις

Θα ήθελα να αφιερώσω την διπλωματική μου εργασία στο σύζυγο και την κόρη μου. Τόσο η έμπρακτη όσο και η ψυχολογική υποστήριξη τους, αποτελούσε για μένα ώθηση για να συνεχίσω. Χωρίς αυτούς τίποτε δεν θα είχε πραγματοποιηθεί.

Περίληψη

Εισαγωγή: Οι μονάδες ερυθρών αιμοσφαιρίων (RBCs) είναι το πιο δημοφιλές προϊόν μετάγγισης παγκοσμίως. Οι ενδείξεις για μετάγγιση περιλαμβάνουν συμπτωματική αναιμία, οξεία δρεπανοκυτταρική κρίση και οξεία απώλεια αίματος άνω του 30% του όγκου του αίματος, με σκοπό την αποκατάσταση της παροχής οξυγόνου στους ιστούς. Ωστόσο, τα αποθηκευμένα RBC από δότες δεν είναι ποιοτικό ίσο προϊόν και, από πολλές απόψεις, αυτό είναι ένα θέμα που ανησυχεί στην πρακτική της μετάγγισης.

Σκοπός: Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η ανασκόπηση στοιχείων σχετικά με τις αντιδράσεις από την μετάγγιση ερυθροκυττάρων σε συνάρτηση με το χρόνο αποθήκευσης. Περιγράφεται η διαδικασία της μετάγγισης ερυθρών αιμοσφαιρίων και η επίδραση των συνθηκών αποθήκευσης στην ποιότητα των μονάδων RBC. Ακόμα αναφέρονται οι παθοφυσιολογικές αλλαγές κατά την αποθήκευση ερυθρών κυττάρων και οι στρατηγικές που ακολουθούνται κατά την απόθήκευσή τους (κρυσσαίνηση, αναερόβια αποθήκευση, επεξεργασία με οξείδια του αζώτου, εναλλακτικά πρόσθετα και / ή διαλύματα, πρωτεϊνική καρβονυλίωση και μικροσωματίδια, Omics). Τέλος παρουσιάζεται η σύγκριση μετάγγισης "φρέσκων" vs "παλαιωμένων" ερυθρών κυττάρων σε κλινικές δοκιμές.

Μέθοδος: Για την συγκεκριμένη βιβλιογραφική ανασκόπηση, η αναζήτηση των άρθρων θα γίνει στις ακόλουθες βάσεις δεδομένων, Scopus, Google Scholar και Google. Οι λέξεις κλειδιά που χρησιμοποιήθηκαν ήταν: Red cell storage, red cell storage lesion, transfusion, reactions, storage, microparticles, Omics.

Αποτελέσματα: Εκτός από την παραλλαγή δότη-προς-δότη, ο χρόνος αποθήκευσης επηρεάζει τη μονάδα RBC στο ποιοτικό επίπεδο, καθώς τα RBC γερνούν στον περιέκτη αποθήκευσης και υφίστανται τη λεγόμενη "βλάβη αποθήκευσης". Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι η βλάβη αποθήκευσης οδηγεί σε αυξημένη κάθαρση μετά από μετάγγιση, κορεσμό τρανσφερίνης πλάσματος, σάρωση νιτρικού οξειδίου και / ή ανοσοδιαμόρφωση με πιθανά ανεπιθύμητα κλινικά αποτελέσματα που σχετίζονται με τη μετάγγιση, όπως οξεία πνευμονική βλάβη ή υψηλότερο ποσοστό θνησιμότητας. Ενώ, μέχρι σήμερα, αρκετές μελέτες έχουν ισχυριστεί τον κίνδυνο ή τις επιβλαβείς συνέπειες των «παλαιωμένων» έναντι «νεαρών/φρέσκων» RBC, είναι ακόμα θέμα συζήτησης και πρέπει να ληφθεί υπόψη το κλινικό πλαίσιο. Οι ασθενείς που εξαρτώνται από τη μετάγγιση μπορεί να επωφεληθούν από μετάγγιση με «νέες» μονάδες RBC, καθώς εξασφαλίζει μεγαλύτερες περιόδους

μετάγγισης, ενώ η μετάγγιση με «παλαιωμένες» μονάδες RBC δεν είναι από μόνη της επιβλαβής. Προσεγγίσεις Omics εφαρμόζονται στον χαρακτηρισμό των RBC μέσω της αποθήκευσης, για την καλύτερη κατανόηση του (παθο) φυσιολογικού ρόλου των μικροσωματιδίων (MS) που βρίσκονται φυσικά, καθώς και σε αποθηκευμένες μονάδες RBC.

Συμπεράσματα: Ίσως ο χρόνος αποθήκευσης RBC δεν είναι η μοναδική και απαραίτητη προϋπόθεση για την ποιότητα των RBC και υπάρχει ανάγκη να καθοριστούν ποιες παράμετροι αντικατοπτρίζουν πράγματι τη βέλτιστη αποτελεσματικότητα και ασφάλεια. Ένας καλύτερος χαρακτηρισμός Omics των συστατικών των "νεαρών" και "παλαιωμένων" μονάδων RBC, συμπεριλαμβανομένων των MS, του δότη και του λήπτη, μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη νέων θεραπειών, ή οικονομικά αποδοτικών εξατομικευμένων στρατηγικών μετάγγισης.

Abstract

Introduction: Red blood cell counts (RBCs) are the most popular transfusion product worldwide. Indications for transfusion include symptomatic anemia, acute sickle cell crisis, and acute blood loss of more than 30% of blood volume to restore tissue oxygen supply. However, RBCs stored by donors are not a quality equal product and, in many ways, this is a matter of concern in transfusion practice.

Purpose: The aim of the present study is to review the erythrocyte transfusion reactions as a function of storage time. The process of red blood cell transfusion and the effect of storage conditions on the quality of RBC units are described. Also the pathophysiological changes during the storage of red cells and the strategies followed during their storage (cryopreservation, anaerobic storage, treatment with nitrogen oxides, alternative additives and / or solutions, protein formation and carbonyl presentation) as well as the comparison of the application of "fresh" vs "aged" red blood cells in clinical trials are mentioned.

Method: For this literature review, articles were searched in the following databases, Scopus, ScienceDirect, Google Scholar and NCBI. The keywords used were: Red cell storage, red cell storage lesion, transfusion, reactions, storage, microparticles, Omics.

Results: In addition to the donor-to-donor variation, the storage time affects the RBC unit in quality, as the RBCs age in the storage container and suffer the so-called storage failure. Several studies have shown that storage damage leads to increased post-transfusion clearance, plasma transferrin saturation, nitric oxide scanning, and / or immunomodulation with possible adverse clinical outcomes associated with transfusion, such as acute pneumonia. While, to date, several studies have claimed the risk or harmful effects of "aged" versus "young / fresh" RBCs, it is still a matter of debate and the clinical context must be considered. Transfusion-dependent patients may benefit from transfusions with "new" RBC units, as it provides longer transfusion periods, while transfusions with "old" RBC units are not in themselves harmful. Omics approaches are applied to the characterization of RBC through storage, for a better understanding of the (pathological) physiological role of naturally occurring microparticles (MS), as well as in stored RBC units.

Discussion: RBC storage time may not be an accurate substitute for RBC quality and there is a need to determine which parameters actually reflect optimum efficiency and safety. A

better Omics characterization of the components of "young" and "old" RBCs, may lead to the development of new therapies, or cost-effective personalized transfusion strategies.

Περιεχόμενα

Δήλωση περί λογοκλοπής	iv
Ευχαριστίες	vi
Αφιερώσεις	viii
Περίληψη	x
Abstract	xii
Συνοτομογραφίες	xvi
Κεφάλαιο 1. Ερυθρά αιμοσφαίρια.....	2
1.1 Μετάγγιση ερυθρών αιμοσφαιρίων: απαιτήσεις, οδηγίες και συστάσεις	2
1.2 Πώς προετοιμάζονται και αποθηκεύονται οι συμβατικές μονάδες RBC;	4
1.3 Επίδραση των συνθηκών αποθήκευσης στην ποιότητα των μονάδων RBC	4
1.4 Προϊόντα ερυθρών κυττάρων	5
Κεφάλαιο 2 Παθοφυσιολογικές αλλαγές κατά την αποθήκευση ερυθρών κυττάρων	7
2.1 Τροποποιημένος μεταβολισμός RBC	7
2.2 Αυξημένο οξειδωτικό στρες ερυθρών κυττάρων	9
2.3 Βλάβη μεμβρανών ερυθρών κυττάρων	10
2.4 Μειωμένη βιωσιμότητα των ερυθρών κυττάρων	12
2.5 Τρέχουσα κατάσταση κλινικών στοιχείων σχετικά με την κλινική σημασία της αποθηκευτικής βλάβης των ερυθρών αιμοσφαιρίων.....	15
2.5.1 Εθελοντικές σπουδές.....	15
2.5.2 Ανθρώπινες μελέτες παρατήρησης.....	16
2.5.3 Τυχαιοποιημένες ελεγχόμενες δοκιμές (RCT).....	17
Κεφάλαιο 3 Στρατηγικές αποθήκευσης RBC	19
3.1 Κρυσσαυτήρηση	19
3.2 Αναερόβια αποθήκευση	20
3.2 Επεξεργασία με οξείδια του αζώτου	21
3.3 Εναλλακτικά πρόσθετα και / ή διαλύματα	21
3.4 Πρωτεϊνική καρβονυλίωση και μικροσωματίδια	22
3.5 Opioids ως εργαλείο στην ιατρική μετάγγιση	22
3.6 Σύγκριση μετάγγισης "φρέσκων" vs "παλαιωμένων" ερυθρών κυττάρων: κλινικές πτυχές	25
3.6.1 Ασθενείς με καρδιακή νόσο, καρδιακή επέμβαση, χειρουργική επέμβαση και τραύμα	27
3.6.2 Νεογνό και μητρότητα	28

3.6.3 Μικροσωματίδια - Δημιουργία μικροσωματιδίων	28
3.6.4 Κλινική επίδραση των φυσιολογικών RBC και των μονάδων μικροσωματιδίων	29
Συμπεράσματα	31
Βιβλιογραφία.....	32
Πηγές Εικόνων	39

Συντομογραφίες

	Αγγλική ορολογία	Ελληνική ορολογία
RBC	red blood cells	ερυθρά κύτταρα
CBC	complete blood count	πλήρης αριθμός αίματος
HGB	haemoglobin concentration	συγκέντρωση αιμοσφαιρίνης
HCT	haematocrit	αιματοκρίτης
ACD	acid citrate dextrose	κιτρικό οξύ δεξτρόζη
CPD	citrate phosphate dextrose	κιτρική φωσφορική δεξτρόζη
NO	nitric oxide	νιτρικό οξύ
LR	leucoreduced	RBC με λευκαφαίρεση
NLR	non-leucoreduced	RBC χωρίς λευκαφαίρεση
PUFAs	polyunsaturated fatty acids	κύρια πολυακόρεστα λιπαρά οξέα
ROS	reactive oxygen species	αντιδραστικά είδη οξυγόνου
TRALI	transfusion-related acute lung injury	οξεία πνευμονική βλάβη που σχετίζεται με μετάγγιση
MP	Microparticles	Μικροσωματίδια
EMPs	erythrocyte-derived MPs	MP που προέρχονται από ερυθροκύτταρα
ATP	Adenosine triphosphate	Τριφωσφορική αδενοσίνη
NADH	nicotinamide adenine dinucleotide	δινουκλεοτίδιο νικοτιναμίδης
RCT	randomized controlled trial	Τυχαιοποιημένες ελεγχόμενες δοκιμές

Πρόλογος

Από τα πολύ παλιά χρόνια αναγνωρίστηκε η συμβολή του αίματος στη διατήρηση της ζωής και της υγείας. Η μετάγγιση θεωρείται μια ιδιαίτερα χρήσιμη κλινική πρακτική. Ανέκαθεν, η σωστή αποθήκευση του αίματος, αποτελούσε βασική συνιστώσα της μετάγγισης κι αυτό γιατί η αποθήκευση επηρεάζει την ποιότητα του αίματος και ιδιαίτερα των ερυθρών αιμοσφαιρίων που προορίζονται για μετάγγιση.

Η κύρια λειτουργία των ερυθρών αιμοσφαιρίων (RBC) είναι η πρόσληψη, η μεταφορά και η παροχή οξυγόνου. Επιπλέον, τα RBC συμβάλλουν στην οσμωτική πίεση του αίματος, στις αλληλεπιδράσεις αιμοπεταλίων-ενδοθηλίου και στη μεταφορά αρκετών μορίων όπως φάρμακα ή ανοσοσυμπλέγματα. Ο σκοπός των μεταγγίσεων RBC είναι η θεραπεία ή πρόληψη της υποξίας των ιστών. Σχεδόν όλο το οξυγόνο μεταφέρεται από την αιμοσφαιρίνη (Hb). Η παροχή οξυγόνου καθορίζεται περαιτέρω από την καρδιακή έξοδο και από την ικανότητα πρόσληψης οξυγόνου στον πνεύμονα. Υπό συνθήκες ηρεμίας, η παροχή οξυγόνου υπερβαίνει τη ζήτηση. Κατά την αποθήκευση ex-vivo, τα ερυθρά αιμοσφαίρια υφίστανται μορφολογικές, βιοχημικές και λειτουργικές μεταβολές, οι οποίες επηρεάζουν τη λειτουργία και τη βιωσιμότητά τους και αναφέρονται συλλογικά ως "αλλοιώσεις αποθήκευσης", ή "αποθηκευτικές βλάβες".

Οι αλλοιώσεις αυτές βρίσκονται σε άμεση συνάρτηση με το σωστό τρόπο αλλά και το χρόνο αποθήκευσης. "Οι αποθηκευτικές βλάβες" με το να επηρεάζουν την αποθήκευση των ερυθροκυττάρων, έχουν επιπτώσεις στο δικαίωμα του ασθενή να λαμβάνει "καλής ποιότητας" αίμα κατά τη μετάγγιση. Εξάλλου η ποιότητα του αίματος μπορεί να συμβάλει σημαντικά στη θεραπεία του ασθενή με θετικό τρόπο, μπορεί να μη του προσφέρει καμία σημαντική βοήθεια, ή και να επιδεινώσει την κατάσταση του μέχρι και να γίνει επικίνδυνη για τη ζωή του. "Αντίδραση" κατά τη μετάγγιση χαρακτηρίζουμε κάθε κλινική εκδήλωση ή εργαστηριακό εύρημα, η εμφάνιση του οποίου συνδέεται άμεσα ή έμμεσα με τη χορήγηση αίματος.

Στην παρούσα εργασία θα διερευνηθούν οι επιπτώσεις της αποθήκευσης ερυθρών κυττάρων και οι αντιδράσεις από την μετάγγισή τους συναρτήσει του χρόνου αποθήκευσης

«...unlike wine and fine violins, red blood cells do not improve with age...»

Harvey G. Klein

Κεφάλαιο 1. Ερυθρά αιμοσφαίρια

Τα ερυθρά αιμοσφαίρια (RBC), ή τα ερυθροκύτταρα, είναι τα κύτταρα που είναι υπεύθυνα για τη μεταφορά οξυγόνου στους ιστούς του σώματος και το διοξείδιο του άνθρακα από τους ιστούς του σώματος προς τους πνεύμονες. Δεν έχουν πυρήνα και τα περισσότερα οργανίδια, αλλά περιέχουν κυρίως αιμοσφαιρίνη, η οποία είναι μία μεταλλοπρωτεΐνη με τετραμερή δομή, της οποίας οι ομάδες αίμης δεσμεύουν ενεργά αέρια μόρια. Στην κυκλοφορία του αίματος, ένα ερυθροκύτταρο, που έχει διάμετρο 6-8 μm , πρέπει να επιμηκύνεται και να παραμορφώνεται για να διέλθει μέσω των τριχοειδών αγγείων και των σχισμών των ενδοθηλιακών κυττάρων. Έτσι, κατά τη διάρκεια ζωής των 120 ημερών, το ερυθροκύτταρο υφίσταται εκτεταμένη παθητική παραμόρφωση και πρέπει να είναι μηχανικά σταθερό για να αντισταθεί στον κατακερματισμό (García-Roa et al., 2017).

Τα ερυθρά αιμοσφαίρια απομακρύνονται από την κυκλοφορία του αίματος με δύο διαφορετικούς μηχανισμούς. Η γήρανση των RBC χαρακτηρίζεται από μειωμένη παραμόρφωσή τους και αυξημένη σφαιρικότητα λόγω της απώλειας της προοδευτικής επιφάνειας (μεμβράνη) και της μείωσης του μεταβολισμού. Οι οξειδωτικές προκλήσεις για τα RBC, όπως η εξαρτώμενη από τη γήρανση οξείδωση της πρωτεΐνης μεμβράνης Band3, αυξάνουν τη συγγένεια των κανονικά κυκλοφορούντων αντι-Band3 αντισωμάτων (Franco et al., 2014). Τέτοια αντισώματα, όταν συνδέονται με μεμβράνη, οδηγούν σε μερική ενεργοποίηση συμπληρώματος στην επιφάνεια του RBC, η οποία σχετίζεται με μειωμένη παραμόρφωση του RBC. Αυτά τα ανοσοσύμπλοκα, με τη σειρά τους, αναγνωρίζονται από τους υποδοχείς συμπληρώματος σαν μακροφάγα, τα οποίοι καθαρίζουν ενεργά τα RBC από την κυκλοφορία του αίματος. Ο άλλος μηχανισμός εκκαθάρισης των RBC σχετίζεται με μια διαδικασία ανεξάρτητη από τη γήρανση, η οποία προκαλεί καταστροφή ανέπαφων RBCs, και / ή φυσαλικοποίηση RBC, όπως συμβαίνει κατά τη διάρκεια της φλεγμονής.

1.1 Μετάγγιση ερυθρών αιμοσφαιρίων: απαιτήσεις, οδηγίες και συστάσεις

Η αναιμία μπορεί να οριστεί αυστηρά ως μείωση του απόλυτου αριθμού κυκλοφορούντων RBC σε μία ή περισσότερες από τις κύριες μετρήσεις RBC που λαμβάνονται ως μέρος του πλήρους αριθμού αίματος (CBC), δηλαδή συγκέντρωση αιμοσφαιρίνης (HGB) ή αιματοκρίτη (HCT). Η κύρια συνέπεια της αναιμίας είναι ότι δεν μεταφέρεται αρκετό οξυγόνο

στους ιστούς του σώματος. Ανάλογα με τη σοβαρότητα και τη διάρκεια της αναιμίας, μπορεί να οδηγήσει σε εξασθένιση, δύσπνοια, πονοκεφάλους, αρρυθμία και / ή πόνο στο στήθος. Ανάλογα με την αιτία της αναιμίας και το κλινικό πλαίσιο, η μετάγγιση των RBC μπορεί να συνιστάται ως θεραπεία. Φαινομενικά, η μετάγγιση που απαιτείται μπορεί να κυμαίνεται από μία μόνο μονάδα RBC έως αρκετές μονάδες σε μια σύντομη περίοδο, ή σε ένα σύστημα παρατεταμένης μετάγγισης κατά τη διάρκεια παρατεταμένης περιόδου ή διάρκειας ζωής (Remy & Spinella, 2016).

Τα ερυθρά αιμοσφαίρια είναι το προϊόν αίματος που μεταγγίζεται συχνά με περίπου 85 εκατομμύρια μονάδες RBC να μεταγγίζονται παγκοσμίως ανά έτος, εκ των οποίων 12–16 εκατομμύρια μονάδες μεταγγίζονται μόνο στις Ηνωμένες Πολιτείες. Η μετάγγιση των RBC πρέπει να βασίζεται στην κλινική κατάσταση του ασθενούς. Οι ενδείξεις για μετάγγιση περιλαμβάνουν συμπτωματική αναιμία, οξεία δρεπανοκυτταρική κρίση και οξεία απώλεια αίματος άνω του 30% του όγκου του αίματος (Sharma, Sharma, & Tyler, 2011).

Οι οδηγίες μετάγγισης έχουν εξελιχθεί με τα χρόνια. Ο κανόνας 10/30, δηλαδή η μετάγγιση όταν ένας ασθενής έχει επίπεδα HGB 10 g / dL ή λιγότερο και HCT 30% ή λιγότερο, χρησιμοποιήθηκε μέχρι τη δεκαετία του 1980 . Το 1999, μια τυχαίοποιημένη, πολυκεντρική, ελεγχόμενη κλινική δοκιμή αξιολόγησε μια περιοριστική μετάγγιση (HGB 7–9 g / dL) έναντι μιας φιλελεύθερης μετάγγισης (HGB 10–12 g / dL) σε ασθενείς που ήταν σοβαρά άρρωστοι. Οι περιοριστικές πρακτικές μετάγγισης οδήγησαν σε σχετική μείωση κατά 54% του αριθμού των μονάδων μετάγγισης και μείωση του ρυθμού θνησιμότητας των 30 ημερών (Sharma et al., 2011).

Μια βέλτιστη στρατηγική μετάγγισης θα πρέπει να εξεταστεί μεμονωμένα και θα πρέπει να περιλαμβάνει τη χορήγηση αρκετών RBC για μεγιστοποίηση των κλινικών αποτελεσμάτων, αποφεύγοντας παράλληλα τις περιττές μεταγγίσεις που αυξάνουν το κόστος και εκθέτουν τους ασθενείς σε πιθανούς κινδύνους που σχετίζονται με τη μετάγγιση. Το κλινικό πλαίσιο είναι κρίσιμο στην απόφαση για μετάγγιση RBC πάνω ή κάτω από το καθορισμένο όριο αιμοσφαιρίνης. Για παράδειγμα, η στρατηγική περιοριστικής μετάγγισης είναι χρήσιμη για παιδιά που είναι σταθεροί ασθενείς σε εντατική θεραπεία . Ωστόσο, δεν πρέπει να χρησιμοποιείται σε πρόωρα νεογνά ή σε παιδιά με σοβαρή υποξαιμία, ενεργή απώλεια αίματος, αιμοδυναμική αστάθεια ή κυανωτική καρδιακή νόσο. Φαινομενικά, οι ασθενείς με στεφανιαία νόσο είναι μια σημαντική υποομάδα που μπορεί να χρειαστεί να

αντιμετωπιστεί διαφορετικά, καθώς η παροχή οξυγόνου από τα RBCs στην καρδιά είναι κρίσιμη και μπορεί να μειωθεί με παρεμποδισμένες στεφανιαίες αρτηρίες ή ανααιμία.

1.2 Πώς προετοιμάζονται και αποθηκεύονται οι συμβατικές μονάδες RBC;

Οι μονάδες ερυθρών αιμοσφαιρίων παρασκευάζονται από πλήρες αίμα αφαιρώντας το κλάσμα πλάσματος μετά από φυγοκέντρηση. Μία μονάδα RBC πρέπει να αυξήσει το HGB κατά 1 g / dL και το HCT κατά 3%. Σήμερα, εφαρμόζεται λευκαφαίρεση των μονάδων RBC πριν από την αποθήκευση, η οποία περιορίζει την αλληλοανοσοποίηση που σχετίζεται με τη μετάγγιση και θεωρούνται ασφαλείς για κυτταρομεγαλοϊό.

Στις μονάδες RBC προστίθενται διαλύματα συντηρητικών για τη βελτίωση της διάρκειας ζωής και της ποιότητάς τους. Στις αρχές της δεκαετίας του 1940, η ανάπτυξη του πρώτου αποτελεσματικού αντιπηκτικού-συντηρητικού διαλύματος, της δεξτρόζης του κιτρικού οξέος (ACD), επέτρεψε την αποθήκευση των RBC για έως και 21 ημέρες. Κατά τα επόμενα χρόνια, καταβλήθηκε προσπάθεια για την ανάπτυξη άλλων διαλυμάτων, όπως η κιτρική φωσφορική δεξτρόζη (CPD), η οποία επέτρεψε την αποθήκευση για 21 ημέρες, η CPD-αδενίνη, η οποία επέτρεψε την αποθήκευση για 35 ημέρες και η τρέχουσα γενιά πρόσθετων διαλυμάτων που επιτρέπουν τη διατήρηση των RBC έως και 42 ημερών στους 1-6 °C (Cancelas et al., 2015). Στις περισσότερες ευρωπαϊκές τράπεζες αίματος, τα συντηρητικά που χρησιμοποιούνται στην αποθήκευση RBC περιέχουν SAG-μανιτόλη (αλατόνερο-αδενίνη-δεξτρόζη-μαννιτόλη). Τα πιο συνηθισμένα είναι AS-1 (Adsol®; Fenwal, Lake Zurich, IL, USA), AS-3 (Nutricel®, χωρίς μαννιτόλη; Haemonetics Corporation, Braintree, MA, USA) και AS-5 (Optisol®; Terumo Corporation, Elkton, MD, ΗΠΑ). Σήμερα, ερμητικά και αποστειρωμένα συστήματα αποθήκευσης έχουν αναπτυχθεί για τον διαχωρισμό και τη συλλογή συστατικών αίματος σε ένα αποστειρωμένο περιβάλλον, ακόμη και προσαρμοσμένα για την προετοιμασία μονάδων μετάγγισης για παιδιατρικούς ασθενείς.

1.3 Επίδραση των συνθηκών αποθήκευσης στην ποιότητα των μονάδων RBC

Η αποθηκευτική βλάβη είναι μια ονομασία που περιλαμβάνει γενικά όλες τις αλλαγές που συμβαίνουν καθώς τα RBCs γερνούν ενώ βρίσκονται σε διάλυμα αποθήκευσης. Αυτές οι αλλαγές έχουν ως αποτέλεσμα την αιμόλυση (με ταυτόχρονη αύξηση του εξωκυτταρικού ελεύθερου σιδήρου, του αίματος και της αιμοσφαιρίνης, με αποτέλεσμα τη μείωση της

βιοδραστικότητας του αζώτου από το νιτρικό οξείδιο [NO] λόγω σάρωσης), τις μορφολογικές αλλαγές, τη συσσώρευση γαλακτικού οξέος και καλίου / ασβεστίου, τη μείωση σε 2, 3-DPG και ATP, τη μείωση του ποσοστού pH και γλυκόλυσης και τη συσσώρευση βιοδραστικών πρωτεϊνών, λιπιδίων και μικροσωματιδίων ή μικροσωματιδίων που προέρχονται από RBC (MPs / MVs) (Bakkour et al., 2016). Αυτό οδήγησε στην ταξινόμηση των μονάδων RBC «νεαρών» (<14–21 ημερών) έναντι «παλαιών» (> 21 ημερών). Μια πρόσφατη μελέτη παρουσίασε τη σημαντική επίδραση του χρόνου αποθήκευσης και της διαδικασίας παρασκευής στην αύξηση των μιτοχονδριακών DNA χωρίς κύτταρα (mtDNA) και των εξωκυτταρικών κυστιδίων (EVs) σε μονάδες RBC. Αν και η κλινική συνάφεια αυτών των ευρημάτων είναι άγνωστη, τόσο το mtDNA όσο και τα EVs θα μπορούσαν να επηρεάσουν την ασφάλεια της μετάγγισης, καθώς αντιπροσωπεύουν μοριακά μοτίβα που σχετίζονται με βλάβες (DAMPs) τα οποία ενδέχεται να προκαλέσουν ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος του λήπτη.

Η συσσώρευση βιοδραστικών λιπιδίων κατά την αποθήκευση RBC έχει αναγνωριστεί ως πιθανή πηγή επακόλουθων μεταγγίσεων σε ευάλωτους πληθυσμούς. Μια στοχευμένη μεταβολική μελέτη που επικεντρώνεται στον ποσοτικό προσδιορισμό ενός πίνακα βιοδραστικών λιπιδίων τόσο σε μονάδες RBC με λευκαφαίρεση (leucoreduced, LR) όσο και σε μονάδες χωρίς λευκαφαίρεση (non-leucoreduced, NLR) κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης έδειξε ότι η λευκαφαίρεση μείωσε σημαντικά την παραγωγή βιοδραστικών λιπιδίων. Ωστόσο, παρά την λευκαφαίρεση, τα κύρια πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFAs) και τα προϊόντα οξειδωσης (οξυλιπίνες) παρατηρήθηκαν στις μονάδες RBC που αποθηκεύτηκαν για 42 ημέρες (Fu, Felcyn, Odem-Davis, & Zimring, 2016).

1.4 Προϊόντα ερυθρών κυττάρων

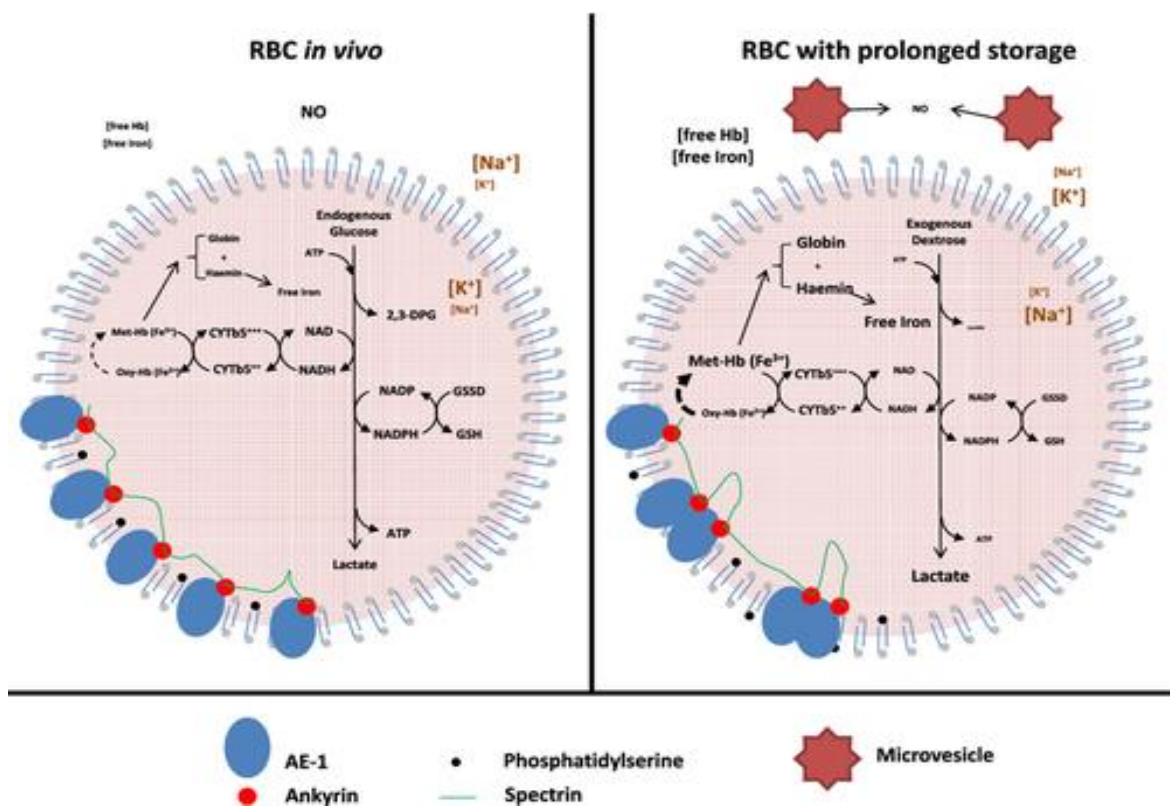
Για την παραγωγή ερυθρών κυττάρων που προορίζονται για μετάγγιση, στον δυτικό κόσμο συλλέγονται 450 ή 500 ml ολικού αίματος σε 63 ή 70 ml CPD-A (κιτρικό-φωσφορικό-δεξτρόζη με αδενίνη), αντίστοιχα. Η διαδικασία παρασκευής προϊόντων RBC ποικίλλει σημαντικά. Οι παραλλαγές αφορούν το χρόνο και τη θερμοκρασία κράτησης πριν από τη φυγοκέντρηση με ήπια ή έντονη περιστροφή, διήθηση ολικού αίματος ή RBC για την απομάκρυνση των λευκοκυττάρων ή όχι. Τα προκύπτοντα προϊόντα RBC έχουν διάφορους όγκους υπολειμματικού πλάσματος, αιμοπεταλίων και λευκοκυττάρων. Τα ερυθρά

αιμοσφαίρια μπορούν να αποθηκευτούν σε σάκους PVC στους 2-6 ° C για περίοδο 5 εβδομάδων ή περισσότερο, ανάλογα με το χρησιμοποιούμενο διάλυμα συντήρησης των ερυθρών κυττάρων. Οι σάκοι αποθήκευσης από PVC περιέχουν τον πλαστικοποιητή δι-αιθυλεξυλ φθαλικό εστέρα (DEHP) που συσσωρεύεται στη μεμβράνη των ερυθρών κυττάρων και επιβραδύνει τη διαδικασία αιμόλυσης και σχηματισμού μικροσωματιδίων και βελτιώνει την επιβίωση των ερυθρών κυττάρων (Van De Watering & Brand, 2008). Οι κανονισμοί απαιτούν 24 ώρες μετά τη μετάγγιση να ανακτώνται περισσότερο από το 75% των κυττάρων στην κυκλοφορία του αίματος [8, 9]. Κατά τη λήξη, το πλάσμα Hb δεν μπορεί να υπερβαίνει το 0,8% (Ευρώπη) ή το 1% (ΗΠΑ) της μάζας των RBC.

Είναι συνετό να συνειδητοποιήσουμε ότι οι διαθέσιμες βάσεις δεδομένων που χρησιμοποιούνται για κλινικές μελέτες σχετικά με το ρόλο των "παλαιωμένων" ερυθρών κυττάρων, χρησιμοποίησαν διαφορετικά προϊόντα RBC. Αυτές οι μελέτες περιλαμβάνουν κυρίως συσκευασμένο RBC που περιέχει όλα τα λευκοκύτταρα και τα αιμοπετάλια, RBC μετά την απομάκρυνση του πλούσιου σε αιμοπετάλια πλάσματος αφήνοντας την πλειονότητα των λευκοκυττάρων στο προϊόν και RBC με αφαίρεση 60-70% των λευκοκυττάρων. Επιπλέον, υπάρχει ένας μεταβλητός όγκος υπολειμματικού πλάσματος και διαφορετικά διαλύματα συντήρησης σε αυτά τα προϊόντα ερυθρών κυττάρων.

Κεφάλαιο 2 Παθοφυσιολογικές αλλαγές κατά την αποθήκευση ερυθρών κυττάρων

Η λειτουργία της αποθήκευσης ερυθρών αιμοσφαιρίων είναι η διατήρηση της λειτουργικότητας και της βιωσιμότητας των ερυθρών κυττάρων καθ' όλη την εγκεκριμένη περίοδο αποθήκευσης. Η δυσκολία που αντιμετωπίζουν τα σύγχρονα μέσα αποθήκευσης, ωστόσο, είναι ότι η λειτουργικότητα και η βιωσιμότητα των ερυθρών κυττάρων επηρεάζονται προοδευτικά κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης από τρεις αλληλένδετους μηχανισμούς: αλβιωμένος μεταβολισμός, αυξημένο οξειδωτικό στρες και βλάβη μεμβράνης (Εικ. 1).



Εικόνα 1. Αλλαγές ερυθρών κυττάρων που σχετίζονται με την αποθήκευση (García-Roa et al., 2017)

2.1 Τροποποιημένος μεταβολισμός RBC

Τα περισσότερα κύτταρα ικανοποιούν τις μεταβολικές ανάγκες τους με οξειδωτική φωσφορυλίωση της γλυκόζης, αλλά τα ερυθρά κύτταρα δεν έχουν μιτοχόνδρια και ως εκ τούτου πρέπει να βασίζονται στην αναερόβια γλυκόλυση για να παράγουν μεταβολίτες, κυρίως τριφωσφορική αδενοσίνη (ATP), 2,3 - διφωσφογλυκερικό (2,3 - DPG) και μειωμένο

νικοτιναμίδιο νικοτιναμίδης (NADH). Η τριφωσφορική αδενοσίνη είναι η πηγή ενέργειας για πολλές βιοχημικές αντιδράσεις των ερυθρών αιμοσφαιρίων, το 2,3, DPG ρυθμίζει τη συγγένεια της αιμοσφαιρίνης με το οξυγόνο και το NADH είναι ένας σημαντικός παράγοντας που αναστρέφει την αυθόρμητη οξείδωση οξυαιμοσφαιρίνη σε μεθαιμοσφαιρίνη εντός του ερυθρού κυττάρου (Orlón & Karkouti, 2015).

Η ψυχρή αποθήκευση των ερυθρών κυττάρων στους 4 ± 2 °C βοηθά στη διατήρηση της λειτουργικότητας και της βιωσιμότητας των ερυθρών κυττάρων μειώνοντας τον μεταβολικό ρυθμό των ερυθρών αιμοσφαιρίων. Για κάθε ένα βαθμό πτώσης της θερμοκρασίας αποθήκευσης, υπάρχει περίπου 10% μείωση του μεταβολικού ρυθμού των ερυθρών κυττάρων, και στους 4 °C, ο μεταβολικός ρυθμός είναι δέκα φορές χαμηλότερος απ' ότι στους 25 °C (Hess, 2014). Καθώς η μεταβολική δραστηριότητα δεν σταματά εντελώς όταν αποθηκεύονται ερυθρά κύτταρα, προστίθενται γλυκόζη ή δεξτρόζη στα μέσα αποθήκευσης για να επιτρέψουν στα ερυθρά κύτταρα να συνεχίσουν τη γλυκόλυση και έτσι να παράγουν επαρκή ATP, 2,3 - DPG και NADH για να διατηρούν επαρκή λειτουργικότητα και βιωσιμότητα κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης. Η συνεχιζόμενη γλυκόλυση, ωστόσο, έχει ως αποτέλεσμα τη συσσώρευση γαλακτικού οξέος στο υπερκείμενο. Η προκύπτουσα οξέωση αναστέλλει τη γλυκόλυση μέσω ενός βρόχου αρνητικής ανάδρασης (Flatt, Bawazir, & Bruce, 2014), η οποία οδηγεί σε προοδευτική μείωση της ATP, 2, 3 - DPG και NADH επίπεδα. Μέχρι την έκτη εβδομάδα αποθήκευσης, τα επίπεδα γαλακτικού στο υπερκείμενο αυξάνονται κατά αρκετές φορές, το pH είναι κάτω από 6,5, τα περιεχόμενα ATP και NADH μειώνονται ουσιαστικά και το περιεχόμενο 2,3 - DPG εξαντλείται (Karon, van Buskirk, Jaben, Hoyer, & Thomas, 2012). Τα μειωμένα επίπεδα ATP επηρεάζουν όλες τις μεταβολικές δραστηριότητες των ερυθρών κυττάρων, συμπεριλαμβανομένης της ίδιας της γλυκόλυσης (καθώς απαιτείται ATP για τα αρχικά στάδια της γλυκόλυσης, δημιουργώντας έναν φαύλο κύκλο). Επίσης επηρεάζουν το σχηματισμό κυτοσολικών αντιοξειδωτικών (μειώνοντας έτσι τις αντιοξειδωτικές άμυνες) και τη διατήρηση της ακεραιότητας της μεμβράνης (μειώνοντας έτσι τη κυτταρική παραμόρφωση και προαγωγή μεταβολών στο δισκοειδές σχήμα τους). Αν και υπάρχει άμεση σχέση μεταξύ των μειωμένων επιπέδων ATP και της βιωσιμότητας ερυθρών κυττάρων, ο συνολικός ρόλος της εξάντλησης της ATP στην "αποθηκευτική βλάβη" φαίνεται να είναι περιορισμένος. Επιπλέον η εξάντληση της 2,3 - DPG μειώνει την παροχή οξυγόνου, αλλά τα επίπεδα αναπληρώνονται γρήγορα μετά τη μετάγγιση. Ως εκ τούτου η πιο σημαντική συμβολή στην αλλοίωση αποθήκευσης είναι

πιθανό να είναι η εξάντληση του μειωμένου NADH, το οποίο εμποδίζει τη μετατροπή της μεθαιμοσφαιρίνης σε οξυαιμοσφαιρίνη εντός του ερυθρού κυττάρου επιδεινώνοντας έτσι το οξειδωτικό στρες (Karger, Lukow, & Kretschmer, 2012).

Ένα άλλο αποτέλεσμα της ψυχρής αποθήκευσης είναι ότι εμποδίζει την ανταλλαγή νατρίου και καλίου στη μεμβράνη των ερυθρών κυττάρων μέσω της αντλίας νατρίου / καλίου τριφωσφατάση αδενοσίνης ($\text{Na} + / \text{K} + \text{ATPase}$). Υπό κανονικές συνθήκες, η συγκέντρωση καλίου και νατρίου στο εσωτερικό των ερυθρών κυττάρων διατηρούνται σε περίπου 90 mM και 5 mM, αντίστοιχα, ενώ στο εξωτερικό, είναι περίπου 5 και 140 mM, αντίστοιχα. Μέχρι την έκτη εβδομάδα αποθήκευσης, η περιεκτικότητα των ερυθρών κυττάρων σε κάλιο μειώνεται κατά περίπου 40% και η περιεκτικότητα σε νάτριο είναι αυξάνεται κατά περίπου 300% (Flatt et al., 2014). Ταυτόχρονα, η περιεκτικότητα σε κάλιο στο υπερκείμενο των αποθηκευμένων μονάδων αυξάνεται σημαντικά, γεγονός που μπορεί να οδηγήσει σε υπερκαλιαιμία μετά τη μετάγγιση. Η αυξημένη περιεκτικότητα σε ενδοκυτταρικό νάτριο επηρεάζει τον όγκο και το σχήμα του κυττάρου, έτσι ο μέσος όγκος των αποθηκευμένων ερυθρών αιμοσφαιρίων αυξάνεται μετά από 3 εβδομάδες αποθήκευσης. Αυτό το φαινόμενο είναι πιο έντονο στα παλαιότερα ερυθρά αιμοσφαίρια, μειώνοντας την παραμόρφωση και τη βιωσιμότητά τους (Lutz & Bogdanova, 2013).

2.2 Αυξημένο οξειδωτικό στρες ερυθρών κυττάρων

Για να μπορέσει η αιμοσφαιρίνη να δεσμεύσει αναστρέψιμα το οξυγόνο (οξυαιμοσφαιρίνη-δεοξυαιμοσφαιρίνη) εντός του ερυθρού κυττάρου, τα συστατικά του σιδήρου αίματος πρέπει να διατηρηθούν στη μειωμένη ή σιδηρούχα μορφή τους (Fe^{2+}). Υπό κανονικές συνθήκες, μια μικρή ποσότητα οξυαιμοσφαιρίνης υφίσταται αυθόρμητη οξείδωση, δημιουργώντας μεθαιμοσφαιρίνη, η οποία έχει οξειδωμένο ή σιδηρούχο σίδηρο (Fe^{3+}) και δεν μπορεί να δεσμεύσει οξυγόνο και δραστικά είδη οξυγόνου (Buehler, Karnaukhova, Gelderman, & Alayash, 2011). Η μεθαιμοσφαιρίνη είναι εγγενώς ασταθής και μετουσιώνεται σε σφαιρίνη και αιμίνη (επίσης γνωστή ως σίδηρος ή οξειδωμένο αίμα). Η ελεύθερη αιμίνη και ο σίδηρος, σε συνδυασμό με αντιδραστικά είδη οξυγόνου, μπορεί να δημιουργήσουν εξαιρετικά επικίνδυνες ρίζες υδροξυλίου που μπορούν να προκαλέσουν οξειδωτικό τραυματισμό στα λιπίδια και στις πρωτεΐνες της μεμβράνης. Υπό κανονικές συνθήκες,

τα ερυθρά κύτταρα προστατεύονται από αυτόν τον οξειδωτικό τραυματισμό, επειδή ο ρυθμός της αυθόρμητης οξείδωσης της αιμοσφαιρίνης είναι αργός.

Όλοι αυτοί οι προστατευτικοί μηχανισμοί βλάπτονται κατά την αποθήκευση. Η αυθόρμητη οξείδωση της αιμοσφαιρίνης προς τη μεθαιμοσφαιρίνη αυξάνεται υπό συνθήκες αυξημένης μερικής πίεσης οξυγόνου και οξέωσης (και τα δύο είναι παρόντα κατά την αποθήκευση). Επιπλέον, λόγω των μεταβολικών αλλαγών που περιγράφηκαν νωρίτερα, τα επίπεδα NADH, GSH και ασκορβικού οξέος μειώνονται σημαντικά κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου (Collard, White, & Corplestone, 2014). Η αυξημένη αυθόρμητη οξείδωση της αιμοσφαιρίνης, εκθέτει τα ερυθρά κύτταρα σε αυξημένο οξειδωτικό στρες, το οποίο είναι η κυρίαρχη αιτία βλάβης της μεμβράνης των ερυθρών κυττάρων (Mohanty, Nagababu, & Rifkind, 2014).

2.3 Βλάβη μεμβρανών ερυθρών κυττάρων

Η λειτουργικότητα και η βιωσιμότητα των ερυθρών κυττάρων εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την ακεραιότητα της μεμβράνης των ερυθρών κυττάρων, για τη διατήρηση του φυσιολογικού σχήματος των κυττάρων, της παραμόρφωσης και της μηχανικής σταθερότητας. Οι σχετικές με την αποθήκευση αλλαγές στο μεταβολισμό και το οξειδωτικό στρες, έχουν σημαντικές επιβλαβείς επιπτώσεις στην ακεραιότητα των μεμβρανών των ερυθρών κυττάρων.

Η μεμβράνη των ερυθρών κυττάρων αποτελείται από μια διπλή στιβάδα λιπιδίων που διασπείρεται με πρωτεΐνες. Η λιπιδική διπλή στιβάδα περιλαμβάνει φωσφολιπίδια, χοληστερόλη και λιπαρά οξέα που κατανέμονται ασύμμετρα μεταξύ των εσωτερικών και εξωτερικών στρωμάτων. Η φωσφατιδυλοσερίνη είναι ένα σημαντικό συστατικό της στιβάδας λιπιδίων που υπό κανονικές συνθήκες υπάρχει εξ ολοκλήρου στην εσωτερική στιβάδα, αλλά σε ερυθρά αιμοσφαίρια, εκφράζεται στο εξωτερικό στρώμα της μεμβράνης. Όταν η φωσφατιδυλοσερίνη εκφράζεται στο εξωτερικό στρώμα, είναι πολύ θρομβογόνο και δρα επίσης ως ένα σημαντικό σήμα γήρανσης που οδηγεί στην απομάκρυνση των ερυθρών κυττάρων από δικτυοενδοθηλιακά μακροφάγα (Orlón & Karkouti, 2015). Η χοληστερόλη είναι ένα άλλο σημαντικό συστατικό της στιβάδας λιπιδίων καθώς η αυξημένη αναλογία χοληστερόλης προς φωσφολιπίδιων μειώνει το ιξώδες και την παραμορφωσιμότητα των ερυθρών κυττάρων και προάγει αλλοιώσεις στο σχήμα των ερυθρών

κυττάρων. Σημαντικές πρωτεΐνες μεμβράνης περιλαμβάνουν τον ανταλλάκτη 1 ανιόντων διαμεμβρανικής πρωτεΐνης 1 (AE1, επίσης γνωστός ως ζώνη 3), και τις πρωτοταγείς δομικές κυτταροσκελετικές πρωτεΐνες φαστρίνη και αγκυρίνη. Η AE1 είναι μια πρωτεΐνη μεταφοράς που ρυθμίζει την ανταλλαγή χλωρίου και όξινου ανθρακικού άλατος κατά μήκος της μεμβράνης και επίσης συνδέει τη λιπιδική διπλή στιβάδα με τον κυτταροσκελετό με δέσμευση στην ανκυρίνη, η οποία με τη σειρά της συνδέεται με τη φαστρίνη. Η κανονική οργάνωση πρωτεϊνών είναι ζωτικής σημασίας για τη διατήρηση της σταθερότητας, της παραμόρφωση και του σχήματος των ερυθρών κυττάρων. Το AE1 εμπλέκεται επίσης στη σηματοδότηση γήρανσης, καθώς η διάσπασή του (ή ομαδοποίηση) δημιουργεί ένα νεο-αντιγόνο που έχει ως αποτέλεσμα την ταχεία κάθαρση του ερυθρού κυττάρου από την κυκλοφορία του αίματος.

Μεταβολικές μεταβολές λόγω ψυχρής αποθήκευσης και μειωμένης γλυκόλυσης καθώς και αυξημένου οξειδωτικού στρες έχουν βαθιά επιβλαβή αποτελέσματα στη μεμβράνη των ερυθρών κυττάρων. Η αυξημένη αυτόματη οξείδωση της αιμοσφαιρίνης μέσα στο ερυθρό κύτταρο οδηγεί σε καταβύθιση δομικά παραμορφωμένων μορφών μεθαιμοσφαιρίνης (γνωστών ως αιμοχρωμάτων) κοντά στην κυτταρική μεμβράνη και προκαλεί διακοπή της AE1 και της κυτταροσκελετικής μεμβράνης της πρωτεΐνης. Η μετουσίωση της μεθαιμοσφαιρίνης οδηγεί στο σχηματισμό αιμίνης και σιδήρου, που διαχωρίζονται ελεύθερα στη μεμβράνη λιπιδικής διπλής στιβάδας για να προκαλέσουν υπεροξείδωση των μεμβρανικών λιπιδίων, πρωτεϊνών και υδατανθράκων (Karon et al., 2012). Η διάσπαση και η υπεροξείδωση της μεμβράνης προκαλεί διαρροή κατιόντων μεμβράνης, αυξημένες αναλογίες χοληστερόλης προς πλάσμα, εξωτερίκευση φωσφατιδυλοσερίνης, συγκέντρωση AE1 και αύξηση της παραγωγής μικροσωματιδίων. Αυτές οι αλλαγές μειώνουν τη λειτουργικότητα και τη βιωσιμότητα των ερυθρών κυττάρων, προκαλώντας αστάθεια και απώλεια μεμβράνης, μειωμένη παραμόρφωση, αλλαγές στο δισκοειδές σχήμα των ερυθρών κυττάρων και αυξημένη σηματοδότηση γήρανσης (Frank et al., 2013). Ο σχηματισμός και η συσσώρευση μικροκυττάρων στο υπερκείμενο αυξάνεται εκθετικά κατά την αποθήκευση. Τα συσσωρευμένα μικροκύτταρα μπορούν επίσης να προκαλέσουν φυσιολογικές διαταραχές μετά τη μετάγγιση, συμβάλλοντας στον υπερκορεσμό των συστημάτων κάθαρσης του σώματος για αιμολυμένα ερυθρά αιμοσφαίρια. Τα συσσωρευμένα μικροκύτταρα στο υπερκείμενο μπορούν επίσης να μειώσουν τη βιοδιαθεσιμότητα του παραγόμενου NO (το οποίο είναι ισχυρό αγγειοδιασταλτικό, αντιοξειδωτικό και αναστολέας της συσσώρευσης

αιμοπεταλίων) από ενδοθηλιακά κύτταρα στο λήπτη, η οποία μπορεί οδηγεί σε ισχαιμία ιστού και τραυματισμό στα τελικά όργανα (Liu et al., 2014).

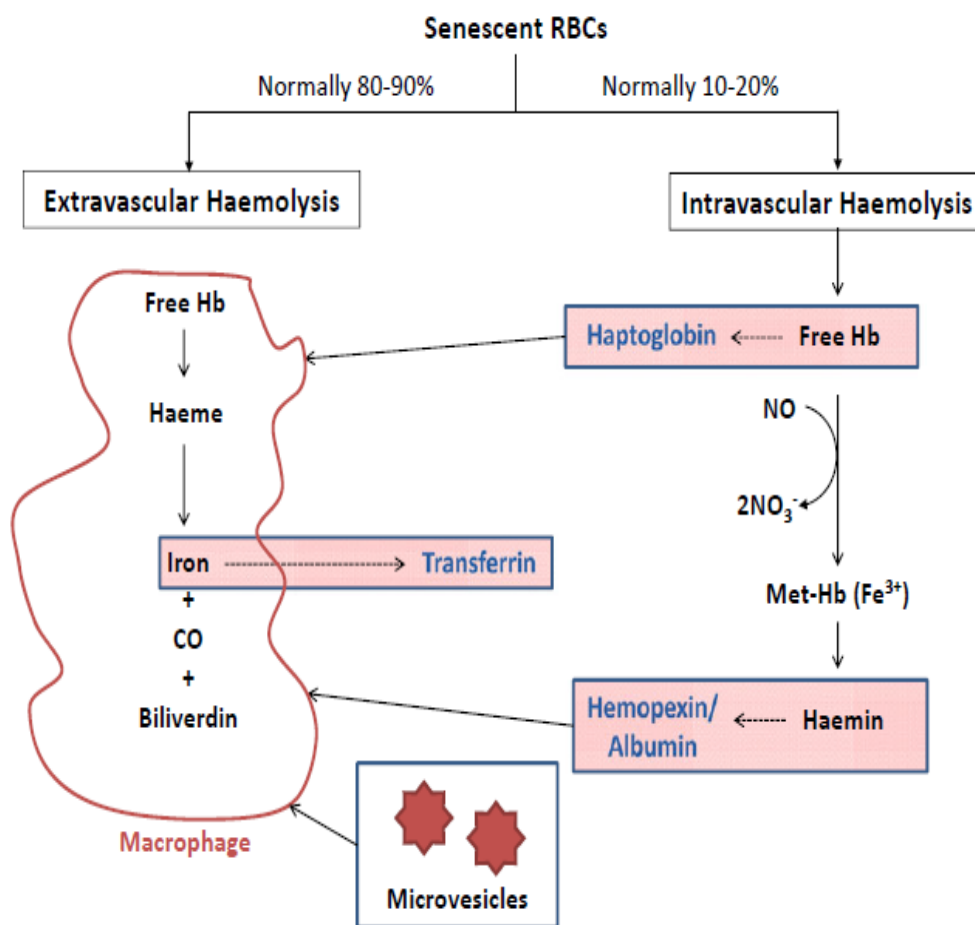
2.4 Μειωμένη βιωσιμότητα των ερυθρών κυττάρων

Η τελική κοινή οδός τραυματισμού λόγω μεταβολών που σχετίζονται με την αποθήκευση, μπορεί να μειώσει τη βιωσιμότητα των ερυθρών κυττάρων, με αποτέλεσμα την αιμόλυση πριν και μετά τη μετάγγιση. Η αιμόλυση πριν από τη μετάγγιση οδηγεί στην απελευθέρωση ερυθρών κυττάρων στο υπερκείμενο. Το γεγονός αυτό οδηγεί σε περίπου οκτώ φορές αύξηση στα επίπεδα της ελεύθερης αιμοσφαιρίνης στο υπερκείμενο μετά από 6 εβδομάδες αποθήκευσης (Ozment et al., 2013). Ως αποτέλεσμα παρόμοιων διεργασιών που συμβαίνουν στο ερυθρό κύτταρο, μέρος της ελεύθερης αιμοσφαιρίνης στο υπερκείμενο υφίσταται αυθόρμητη οξείδωση, με αποτέλεσμα τη συσσώρευση ειδών μεθαιμοσφαιρίνης, αιμίνης, σιδήρου και αντιδραστικού οξυγόνου στο υπερκείμενο, επιδεινώνοντας έτσι το οξειδωτικό στρες στο οποίο εκτίθενται τα ερυθρά κύτταρα κατά την αποθήκευση. Τα επίπεδα της μεθαιμοσφαιρίνης, τα οποία κανονικά αποτελούν <1% της συνολικής αιμοσφαιρίνης στο υπερκείμενο, αυξάνονται διπλά μετά από 3 εβδομάδες αποθήκευσης. Ελεύθερος σίδηρος, ο οποίος είναι ουσιαστικά μη ανιχνεύσιμος κατά τη διάρκεια των πρώτων ημερών αποθήκευσης, είναι πανταχού παρόν στο υπερκείμενο μετά από 3 εβδομάδες αποθήκευσης (Collard et al., 2014). Παρόμοια με τα αποτελέσματα μετά τη μετάγγιση των μικροσωματιδίων, το περιεχόμενο του υπερκείμενου μπορεί επίσης να μειώσει τη βιοδιαθεσιμότητα των παραγώγων NO του ενδοθηλίου και να συμβάλλει στον υπερκορεσμό των συστημάτων κάθαρσης για αιμολυμένα ερυθρά κύτταρα στον δέκτη. Ωστόσο, δεδομένου ότι η ποσότητα της ελεύθερης αιμοσφαιρίνης στο υπερκείμενο αποτελεί <1% της συνολικής αιμοσφαιρίνης σε μια μονάδα αίματος, αυτή η συμβολή είναι πιθανό να είναι μικρή.

Ένα πολύ πιο επαχθές φορτίο για τον λήπτη είναι πιθανό να είναι ο προσδευτικά αυξανόμενος αριθμός ερυθρών αιμοσφαιρίων που γερνούν αλλά δεν υποβάλλονται σε αιμόλυση κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης. Αυτά τα οποία αποτελούν σχεδόν το 25% των συνολικών κυττάρων σε μια μονάδα αίματος έως την τέταρτη εβδομάδα αποθήκευσης, αιμολύονται και απομακρύνονται από την κυκλοφορία του λήπτη εντός 1 ώρας μετάγγισης (Luten et al., 2008). Η ταχεία αφαίρεσή τους μπορεί να κατακλύσει τα κανονικά συστήματα αιμόλυσης που περιλαμβάνουν αρκετές πολύ αποτελεσματικές αλλά

κορεσμένες οδούς για την απομάκρυνση του περιεχομένου των ερυθρών κυττάρων από την κυκλοφορία, περιορίζοντας έτσι τις τοξικές τους επιδράσεις.

Υπό κανονικές συνθήκες, περίπου το 1% των κυκλοφορούντων ερυθρών αιμοσφαιρίων $2,5 \times 10^{13}$ του σώματος ($5 \times 10^6 \mu\text{l}^{-1}$ αίματος) υφίστανται γήρανση και απαλλάσσονται από την κυκλοφορία κάθε μέρα (η οποία ανέρχεται σε περίπου 1×10^{10} κύτταρα ανά ώρα), με την πλειονότητα (80-90%) να υποβάλλονται σε εξωαγγειακή αιμόλυση στους μακροφάγους του δικτυοενδοθηλιακού συστήματος και το υπόλοιπο 10-20% να υποβάλλεται σε ενδοαγγειακή αιμόλυση (Εικόνα 2).



Εικόνα 2. Αιμολυτικές οδοί ερυθρών αιμοσφαιρίων μετά από μετάγγιση

Όταν τα ερυθρά αιμοσφαίρια καταστρέφονται στον ενδοαγγειακό χώρο, η απελευθερούμενη αιμοσφαιρίνη δεσμεύεται ταχέως στην απτοσφαιρίνη και απομακρύνεται από την κυκλοφορία με μακροφάγα (Schaer et al., 2013). Η σαρωμένη αιμοσφαιρίνη στη συνέχεια αποικοδομείται με ασφάλεια εντός των μακροφάγων. Μόλις ξεπεραστεί η

ικανότητα σάρωσης της απτοσφαιρίνης, η εναπομένουσα ελεύθερη αιμοσφαιρίνη σαρώνει το NO του ενδοθηλιακού για να σχηματίσει μεθαιμοσφαιρίνη. Όπως σημειώνεται παραπάνω, η μειωμένη βιοδιαθεσιμότητα NO μπορεί να προκαλέσει ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, συσσωμάτωση αιμοπεταλίων και οξειδωτικό τραυματισμό, που μπορεί να οδηγήσει σε ισχαιμία του ιστού και τραυματισμό στα τελικά όργανα. Η σχηματισμένη μεθαιμοσφαιρίνη με τη σειρά της μετατρέπεται σε ελεύθερη αιμίνη, η οποία στη συνέχεια καθαρίζεται γρήγορα από την κυκλοφορία και μεταφέρεται στο ήπαρ με αιμοπεξίνη και αλβουμίνη, προστατεύοντας έτσι από τα ισχυρά προ-οξειδωτικά και προφλεγμονώδη αποτελέσματά της. Έτσι, η ενδοαγγειακή κάθαρση των αιμολυμένων ερυθρών αιμοσφαιρίων προστατεύει από τις τοξικές επιδράσεις της ελεύθερης αιμοσφαιρίνης και των αιμινών με κόστος μειωμένης βιοδιαθεσιμότητας NO.

Η εξωαγγειακή αιμόλυση περιλαμβάνει τους δικτυοενδοθηλιακούς μακροφάγους που αναγνωρίζουν και φαγοκυτταρώνουν όχι μόνο τα γηρασμένα ερυθρά αιμοσφαίρια, αλλά και τα συμπλέγματα απτοσφαιρίνης-αιμοσφαιρίνης και αιμοπεξίνης-αιμίνης που σχηματίζονται κατά τη διάρκεια της ενδοαγγειακής αιμόλυσης. Μόλις βρεθούν μέσα στους μακροφάγους, η αιμοσφαιρίνη και οι αιμίνες που καθαρίζονται καταλύονται από την αιμη-οξυγονάση-1 σε μονοξειδίο του άνθρακα, σε μπιλιβερδίνη (πρόδρομος της χολερυθρίνης) και το πιο σημαντικό σε σίδηρο (Orlón & Karkouti, 2015). Η πλειονότητα του ανακτηθέντος σιδήρου ρυθμίζεται και αποθηκεύεται εντός του μακροφάγου σε φερριτίνη, και το υπόλοιπο απελευθερώνεται στην κυκλοφορία όπου δεσμεύεται από την τρανσφερίνη πρωτεΐνη - φορέα σιδήρου. Η υπερβολική εξωαγγειακή αιμόλυση μπορεί να οδηγήσει στην παρουσία εξαιρετικά τοξικού ελεύθερου σιδήρου εντός των μακροφάγων καθώς και στην κυκλοφορία.

Όπως σημειώθηκε παραπάνω, υπό κανονικές συνθήκες, τα συστήματα ενδοαγγειακής και εξωαγγειακής αιμόλυσης καθαρίζουν περίπου 1×10^{10} ερυθρά κύτταρα ανά ώρα. Μια μεμονωμένη μονάδα αίματος που έχει αποθηκευτεί για περισσότερο από 4 εβδομάδες, ωστόσο, περιέχει περίπου $1,5 \times 10^{12}$ ερυθρά αιμοσφαίρια, εκ των οποίων περίπου το 25%, ή περίπου 4×10^{11} , θα έχει γεράσει κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης και θα καθαριστεί από την κυκλοφορία εντός 1 ώρα μετάγγισης. Επιπλέον, κάθε μονάδα περιέχει επίσης μεγάλο αριθμό μικροσωματιδίων με φορτίο αιμοσφαιρίνης, ελεύθερη αιμοσφαιρίνη, αιμίνη και σίδηρο στο υπερκείμενο που πρέπει επίσης να καθαριστούν γρήγορα από την κυκλοφορία. Δεδομένου ότι ο αριθμός των ερυθρών αιμοσφαιρίων είναι μόνο

κατά τάξη μεγέθους μεγαλύτερος από τον αριθμό που εκκαθαρίζεται ανά ώρα υπό κανονικές συνθήκες, είναι πολύ πιθανό ότι η μετάγγιση μίας μονάδας παλαιού αίματος μπορεί να υπερκαλύψει τα προστατευτικά συστήματα εξωαγγειακής και ενδοαγγειακής αιμόλυσης σε ορισμένους ασθενείς, με αποτέλεσμα τη μείωση της βιοδιαθεσιμότητας του ενδοθηλιακά παραγόμενου NO και την παρουσία ελεύθερης αιμοσφαιρίνης, αιμίνης και σιδήρου στην κυκλοφορία του παραλήπτη καθώς και εντός των δικτυοενδοθηλιακών μακροφάγων (Wojczyk et al., 2014). Οι πιθανές κλινικές συνέπειες αυτών των επιπτώσεων είναι πολλές και περιλαμβάνουν: αυξημένο κίνδυνο μόλυνσης λόγω ενεργοποίησης ή δυσλειτουργίας μακροφάγων και απελευθέρωσης κυτοκίνης, της ισχαιμίας ιστών λόγω ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας και της δυσλειτουργία των τελικών οργάνων λόγω οξειδωτικού τραυματισμού. Το κατά πόσον αυτές οι επιδράσεις είναι κλινικά σχετικές παραμένει αβάσιμο και ζήτημα έντονης διερεύνησης.

2.5 Τρέχουσα κατάσταση κλινικών στοιχείων σχετικά με την κλινική σημασία της αποθηκευτικής βλάβης των ερυθρών αιμοσφαιρίων

2.5.1 Εθελοντικές σπουδές

Μελέτες σε εθελοντές έχουν εξετάσει την επίδραση της αποθήκευσης αίματος σε φυσιολογικές μεταβλητές μετά τη μετάγγιση, όπως γνωστική αναιμία που προκαλείται από τη γνωστική δυσλειτουργία, εξωαγγειακή αιμόλυση, αύξηση σιδήρου στον ορό, τάση για βακτηριακία (αξιολογήθηκε *in vitro*), εξασθένηση της υπεραιμίας που προκαλείται από NO και ανταλλαγή αερίων. Όλες αυτές οι μελέτες περιελάμβαναν διασταυρούμενα σχέδια όπου χρησιμοποιήθηκε αυτόλογο αίμα για μετάγγιση μετά από σύντομο χρονικό διάστημα (από 3-4 ώρες έως 3-7 ημέρες) και παρατεταμένη (από 23 έως 42 ημέρες) διάρκεια αποθήκευσης. Σε όλες τις περιπτώσεις, κάθε άτομο συμμετείχε και στα δύο σκέλη της μελέτης, χρησιμεύοντας έτσι ως δείγματα ελέγχου. Από όλες αυτές τις παραμέτρους, παρατηρήθηκαν μόνο παροδικές αυξήσεις στην εξωαγγειακή αιμόλυση και αυξήσεις σιδήρου στον ορό σε σχέση με τη μακροχρόνια αποθήκευση (García-Roa et al., 2017), υποστηρίζοντας τον κεντρικό ρόλο της μειωμένης βιωσιμότητας των ερυθρών αιμοσφαιρίων σε πιθανή μακροχρόνια αποθήκευση.

Οι εθελοντικές μελέτες έχουν το πλεονέκτημα της διερεύνησης των αποτελεσμάτων στον άνθρωπο, επιτυγχάνοντας τη μέγιστη διερεύνηση οποιουδήποτε αποτελέσματος θεραπείας. Παρ' όλα αυτά, πάσχουν από αμέτρητα μειονεκτήματα τα οποία απαιτούν προσεκτική ερμηνεία. Συγκεκριμένα, οι εθελοντές συχνά στερούνται συννοσηρότητας, λαμβάνουν αργές, χαμηλού όγκου εγχύσεις αυτόλογου αίματος (ελαχιστοποιώντας έτσι τις πιθανές δυσμενείς επιπτώσεις της υπερφόρτωσης όγκου και της ανοσοδιαμόρφωσης, αντίστοιχα), και είναι ακατάλληλοι για τη μελέτη ορισμένων αποτελεσμάτων όπως η θνησιμότητα. Το πιο σημαντικό, οι εθελοντικές μελέτες έχουν περιορισμένη εξωτερική ισχύ για πολλούς από τους ενδιαφερόμενους πληθυσμούς μελέτης.

2.5.2 Ανθρώπινες μελέτες παρατήρησης

Κανένας δευτερεύων τύπος μελέτης δεν είναι πανταχού παρών στον τομέα της έρευνας αποθήκευσης ερυθρών αιμοσφαιρίων από τις μελέτες παρατήρησης σε ανθρώπους. Παράδειγμα αποτελεί η έρευνα του Purdy et al. (1997), με πάνω από τριάντα μελέτες παρατήρησης που δημοσιεύτηκαν στη βιβλιογραφία (Saager et al., 2013), και πολλές πρόσφατες συστηματικές κριτικές (Karkouti, 2014) που επιχειρούν να ενοποιήσουν αυτά τα δεδομένα. Η κριτική από τους Wang et al. (2012) ήταν η μόνη που βρήκε σημαντική σχέση μεταξύ μετάγγισης παλαιότερων ερυθρών αιμοσφαιρίων και θνησιμότητας, αλλά αυτή η ανασκόπηση περιελάμβανε αρκετές πρωτογενείς μελέτες που «προφανώς συγχέονται».

Συνολικά, δεν μπορούν να εξαχθούν συμπεράσματα από υπάρχουσες μελέτες λόγω σημαντικών περιορισμών στο σχεδιασμό ή τις αναλύσεις τους. Οι μελέτες παρατήρησης είναι γεμάτες με πολλές πιθανές πηγές προκατάληψης που ενδέχεται να εμποδίσουν την ικανότητά τους να απαντήσουν στην ερευνητική ερώτηση. Για παράδειγμα, ελλείψει τυχαιοποίησης, ενδέχεται να προκύψει δειγματοληψία, έτσι ώστε τα παλαιότερα ερυθρά αιμοσφαίρια να μεταγγίζονται κατά κύριο λόγο σε πιο άρρωστους ασθενείς ή σε ασθενείς με πιο επισφαλή χειρουργική επέμβαση, βάσει ενός συνδυασμού αυξημένης ζήτησης και θεσμικών πιέσεων στις τράπεζες αίματος για αποτελεσματικότητα. Εάν πράγματι υπάρχει αιτιώδης συσχετισμός μεταξύ του λανθάνοντος χρόνου αποθήκευσης και των δυσμενών αποτελεσμάτων, η παρουσία αυτής της προκατάληψης θα υπερεκτιμούσε αυτό το αποτέλεσμα.

Δεδομένου ότι η μέγιστη διάρκεια αποθήκευσης ερυθρών αιμοσφαιρίων είναι συνάρτηση της χρήσης συντηρητικών που ποικίλλει ανάλογα με τη χώρα, η μη

προσαρμοσμένη συγκέντρωση εθνικών αποτελεσμάτων, θα καθιστούσε τα αποτελέσματα τόσο μη εκδηλώσιμα όσο και χωρίς νόημα.

Πρέπει επίσης να σημειωθεί προσεκτικά η φύση της αντιστοίχισης της ομάδας ABO μεταξύ δότη και λήπτη. Συγκεκριμένα, τα ερυθρά κύτταρα της Ομάδας Ο θεωρούνται ο καθολικός δότης, μειώνοντας έτσι τον χρόνο κύκλου εργασιών τους και διογκώνοντας τον αριθμό των μεταγγίσεων της Ομάδας Ο στην υποομάδα φρέσκου αίματος ασθενών. Συνεπώς, φιάλες με μεγαλύτερο χρόνο αποθήκευσης μεταγγίζονται σε λήπτες αίματος εκτός Ο, όπως αποδεικνύεται από τη μεγαλύτερη μελέτη παρατήρησης για το θέμα. Λόγω της γνωστής συσχέτισης των υποτύπων αίματος εκτός Ο με αυξημένο ρυθμό φλεβικών θρομβο-εμβολικών συμβάντων και πιθανή αυξημένη θνησιμότητα, η αντιστοίχιση ABO με τις αιτιώδεις σχέσεις ενδιαφέροντος, πιθανόν να είναι παραπλανητική, ελλείψει κατάλληλης στατιστικής προσαρμογής. Τέλος, ο αριθμός των μεταγγίσεων ερυθρών αιμοσφαιρίων είναι μια παράμετρος που απαιτεί ιδιαίτερη προσοχή. Κάθε πρόσθετη μονάδα μεταγγιζόμενων ερυθρών κυττάρων φέρνει ταυτόχρονα τη μέση ηλικία μεταγγισμένων ερυθρών κυττάρων πιο κοντά στη μέση τράπεζα αίματος, ενώ επιλέγεται για έναν πιο κρίσιμο πληθυσμό ασθενών με αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης δυσμενών αποτελεσμάτων. Επιπλέον, αυτή η σύγκυση μεταξύ του λανθάνοντος χρόνου αποθήκευσης και των δυσμενών αποτελεσμάτων μπορεί να επηρεαστεί περαιτέρω από τον ακριβή ορισμό του τι συνιστά “φρέσκο” και “παλαιό” αίμα (Orlov & Karkouti, 2015).

2.5.3 Τυχαιοποιημένες ελεγχόμενες δοκιμές (RCT)

Παρόλο που έχουν δημοσιευτεί σχεδόν δώδεκα RCT σχετικά με τη σχέση μεταξύ της διάρκειας αποθήκευσης και των δυσμενών αποτελεσμάτων, η πλειονότητα ήταν είτε μικρή είτε δεν έχει επαρκή ισχύ για την αξιολόγηση της θνησιμότητας. Επιπλέον, κανένας από αυτούς δεν έχει βρει σημαντικές διαφορές στα αποτελέσματα μεταξύ φρέσκων και παλαιών μονάδων στους λήπτες μετάγγισης, σε μια ποικιλία κλινικών ρυθμίσεων. Μια σειρά συνεχιζόμενων RCT, συμπεριλαμβανομένης μιας που έχει ολοκληρωθεί και δημοσιευτεί (Fergusson et al., 2012), στοχεύουν να συνεισφέρουν πολύτιμες πληροφορίες σε αυτόν τον τομέα ενδιαφέροντος.

Μία πρόσφατη δημοσιευμένη RCT που περιλάμβανε 377 πρόωρα βρέφη δεν βρήκε διαφορά στα ποσοστά νοσηρότητας (νεκρωτική εντεροκολίτιδα, αμφιβληστροειδοπάθεια, βρογχοπνευμονική δυσπλασία ή ενδοκοιλιακή αιμορραγία) ή θνησιμότητα

μεταξύ εκείνων που έλαβαν φρέσκα (≤ 7 ημερών όπως δηλώνεται από το πρωτόκολλο), έναντι παλαιών ερυθρών κυττάρων (Fergusson et al., 2012).

Πέντε άλλα μεγάλα RCT είτε έχουν ολοκληρωθεί είτε βρίσκονται σε εξέλιξη. Η μελέτη αξιολόγησης της ηλικίας του αίματος έχει ολοκληρώσει την πρόσληψη και την τυχαιοποίηση 2510 ασθενών ΜΕΘ σε ολόκληρο τον Καναδά για να λάβουν είτε φρέσκα (≤ 7 ημερών) ή παλαιότερα (τυπική διαδικασία τράπεζας αίματος για την πρώτη χρήση των παλαιότερων μονάδων αίματος, ανεξάρτητα από την ηλικία) ερυθρά αιμοσφαίρια με το κύριο αποτέλεσμα να προκαλεί θνησιμότητα 90 ημερών. Η διάρκεια αποθήκευσης ερυθρών κυττάρων και τα αποτελέσματα στη μελέτη καρδιακής χειρουργικής έχει εγγραφεί για ασθενείς επί 7 χρόνια με στόχο να τυχαιοποιήσει συνολικά 2.800 πρωτογενείς ή επανεγχειρητικούς ενήλικες καρδιοχειρουργικούς ασθενείς για να λάβουν είτε φρέσκα (<14 ημερών) ή παλαιότερα (> 20 ημερών) ερυθρά αιμοσφαίρια σε ένα μόνο κέντρο, με αποτέλεσμα το θάνατό τους εντός 30 ημερών μετά την επέμβαση.

Η μελέτη διάρκειας αποθήκευσης ερυθρών αιμοσφαιρίων ολοκλήρωσε την τυχαιοποίηση 1696 ασθενών που υποβλήθηκαν σε περίπλοκη καρδιακή χειρουργική επέμβαση σε 33 κέντρα στις ΗΠΑ για να λάβουν είτε φρέσκα ερυθροκύτταρα (fresh 10 ημερών) ή παλαιότερα (≥ 21 ημερών). Το πρωταρχικό αποτέλεσμα ήταν μια αλλαγή από τη βασική τιμή δυσλειτουργίας πολλαπλών οργάνων στις 7 ημέρες μετεγχειρητικά.

Αυτά τα μεγάλης κλίμακας RCTs είναι πιθανό να βελτιώσουν την κατάσταση των γνώσεων και να συμβάλουν στην πρακτική μετάγγισης στο επίπεδο της φροντίδας, ενώ εξακολουθούν να υπόκεινται σε πολλούς περιορισμούς. Πρώτον, έχοντας υπόψη τους ηθικούς περιορισμούς, είναι απίθανο οποιαδήποτε τυχαιοποιημένη δοκιμή να επιτρέψει μια ουσιαστική αντίθεση μεταξύ ομάδων αίματος που αντικατοπτρίζει το φάσμα της διάρκειας αποθήκευσης των ερυθροκυττάρων. Αυτό το μειονέκτημα περιορίζει ουσιαστικά την ισχύ ενός RCT λόγω τόσο ενός μικρού αποτελέσματος παρέμβασης, όσο και της άγνωστης χρονικής πορείας υποβάθμισης των ερυθρών κυττάρων.

Κεφάλαιο 3 Στρατηγικές αποθήκευσης RBC

Η αποθήκευση των RBCs προκαλεί προοδευτικές βιοχημικές, μεταβολικές και μορφολογικές αλλαγές που επηρεάζουν τη βιωσιμότητα των ερυθρών αιμοσφαιρίων, την παραμόρφωση, την ικανότητα μεταφοράς οξυγόνου και τη ροή μικροκυκλοφορίας. Παρά τα αντιφατικά δεδομένα που αναφέρθηκαν, υπάρχουν στοιχεία από συστηματική ανάλυση που υποστηρίζουν την ιδέα ότι η επιβλαβής επίδραση της αποθήκευσης RBC δεν έχει μόνο άμεση σχέση με την αποτελεσματικότητα της μετάγγισης, αλλά και αρνητικές κλινικές συνέπειες, ειδικά σε ορισμένους λήπτες. Επομένως, μια ανεπαρκής στρατηγική μετάγγισης δεν έχει μόνο αρνητικό κλινικό αντίκτυπο, αλλά και σημαντικές οικονομικές συνέπειες. Γίνονται επομένως προσπάθειες για τη βελτίωση της διάρκειας ζωής, αλλά και της ποιότητας των μονάδων RBC, μέσω αμερόληπτων προσεγγίσεων χαρακτηρισμού της μονάδας RBC κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης. Ορισμένες από τις τρέχουσες εναλλακτικές λύσεις ενδέχεται να έχουν συγκεκριμένη εφαρμογή και σχέση κόστους-αποτελεσματικότητας.

3.1 Κρυοσυντήρηση

Η αποθήκευση των RBC σε εξαιρετικά χαμηλή θερμοκρασία σταματά τον κυτταρικό μεταβολισμό, αποτρέποντας την προοδευτική επιδείνωση που είναι υπεύθυνη για τη βλάβη αποθήκευσης RBC, επιτρέποντας τη διατήρηση των μονάδων RBC για παρατεταμένες περιόδους. Η πρώτη επιτυχής κρυοσυντήρηση ανθρώπινων RBCs σε γλυκερόλη αναφέρθηκε από τους Smith et al. (1950), και λίγο μετά από αυτό, πραγματοποιήθηκε η πρώτη μετάγγιση ανθρώπινων κρυοσυντηρημένων RBC. Στις αρχές της δεκαετίας του 1960, αρκετές χιλιάδες μονάδες είχαν παγώσει, αποψυχθεί και μεταγγιστεί. Παρ' όλα αυτά, η χρήση της κρυοσυντήρησης παρεμποδίστηκε από τη σύνθετη διαδικασία κατάψυξης, το αυξημένο κόστος και την περιορισμένη διάρκεια ζωής των αποψυγμένων προϊόντων. Η επακόλουθη ανάπτυξη πιο εξελιγμένων λύσεων πλύσης μετά την απόψυξη και προσθηκών, έχουν καταστήσει τα κρυοσυντηρημένα RBC καλύτερα προσαρμοσμένα στην κλινική πρακτική. Υπάρχουν διάφορες διαδικασίες μεθόδου κατάψυξης / απόψυξης / απογλυκερίωσης. Είναι σημαντικό ότι η διαδικασία πλύσης - απογλυκερίωσης μειώνει επιβλαβείς ουσίες, όπως τα βιοδραστικά λιπίδια, τις κυτοκίνες, το κάλιο και την ελεύθερη αιμοσφαιρίνη και αφαιρεί τα υπολείμματα λευκοκυττάρων που απομένουν. Τα κρυοσυντηρημένα πλυμένα RBC περιέχουν σχεδόν μηδενική βιολογικά δραστική ουσία στο υπερκείμενο.

Ωστόσο, σε κρυοσυντηρημένα RBCs η βλάβη αποθήκευσης μεταβάλλεται (Chang et al., 2016). Ενώ τα επίπεδα ATP και 2,3-DPG διατηρούνται ενώ είναι κατεψυγμένα, μειώνονται γρήγορα μετά την απόψυξη και παρεμποδίζεται το προφίλ συγκόλλησης RBC. Από την άλλη πλευρά, η κρυοσυντήρηση δεν φαίνεται να είναι επιζήμια για την παραμόρφωση των RBC. Σήμερα, τα κρυοσυντηρημένα RBC χρησιμοποιούνται κυρίως σε διαφορετικές τοποθεσίες όπου η διαθεσιμότητα RBC είναι περιορισμένη ή απρόβλεπτη: 1) στρατιωτική πρακτική / πεδίο μάχης 2) αποθήκευση RBC από σπάνιες ομάδες αίματος 3) γεφύρωση προμηθειών κατά τη διάρκεια βραχυπρόθεσμων ελλειμμάτων RBC (όπως συμβαίνει σε φυσικές ή αστικές καταστροφές) 4) για αυτόλογη μετάγγιση RBC όταν απαιτείται ανάκτηση του αριθμού RBC πριν από τη χειρουργική επέμβαση 5) για ασθενείς με ανεπάρκεια ανοσοσφαιρίνης A.

3.2 Αναερόβια αποθήκευση

Η οξειδωτική βλάβη συμβαίνει ήδη από τις πρώτες 7-14 ημέρες αποθήκευσης RBC. Επιπλέον, η τεχνολογία ακτινοβολίας γάμμα και αδρανοποίησης παθογόνων παράγει ROS που προκαλούν οξείδωση RBC οδηγώντας σε μειωμένη παραμόρφωση και επιβίωση RBC *in vivo* (García-Roa et al., 2017).

Έχει υποτεθεί ότι η αναερόβια αποθήκευση θα μετριάσει σημαντικά την εξαρτώμενη από το οξυγόνο βλάβη στα RBC και θα έχει πλεονεκτήματα έναντι της συμβατικής (αερόβιας) αποθήκευσης. Η αναερόβια αποθήκευση των RBC έχει αποδειχθεί ότι μειώνει το συνολικό ρυθμό ανάπτυξης βλαβών αποθήκευσης (αιμόλυση, παραγωγή κυστιδίων και έκθεση σε φωσφατιδυλοσερίνη). Ωστόσο, η έγχυση του RBC *in vitro*, η οποία μειώνεται με την αποθήκευση, είναι ανεξάρτητη από την αερόβια ή την αναερόβια αποθήκευση. Είναι ενδιαφέρον ότι τα αναερόβια αποθηκευμένα RBC έδειξαν σημαντική μείωση στον αριθμό των κακώς παραμορφώσιμων RBC. Παρά τις επιπτώσεις που έχει αυτό το γεγονός στην αύξηση της αποτελεσματικότητας των μεταγγίσεων (περισσότερη παροχή οξυγόνου στους ιστούς), πρέπει να διεξαχθούν πιο σχετικές κλινικά μελέτες (Tzounakas, Kriebardis, et al., 2016).

3.2 Επεξεργασία με οξείδια του αζώτου

Σε κανονικές συνθήκες, η αλληλεπίδραση της ροής του αίματος με το αγγειακό ενδοθήλιο διεγείρει την παραγωγή ενδογενούς NO. Κατά τη μετάγγιση, η παρουσία βλαβών στα RBC ή αλλοιώσεων αποθήκευσης, προκαλεί διαταραχή στην καρδιαγγειακή ομοιόσταση σε διαφορετικά επίπεδα, πολλά από τα οποία σχετίζονται στενά με τη διαθεσιμότητα και τη λειτουργία του NO. Η αποκατάσταση παραγωγής, διαθεσιμότητας και λειτουργίας NO θα μπορούσε να αποτελέσει βασικό σημείο στην επιτυχία της μετάγγισης.

Για παράδειγμα, το αέριο NO αποτρέπει την πνευμονική και συστηματική υπέρταση που προκαλείται από μετάγγιση. Άλλες προσεγγίσεις, για την επίλυση της απορρύθμισης του NO που προκαλείται από μετάγγιση, περιλαμβάνουν συμπλήρωση νιτρογλυκερίνης, η οποία μειώνει παροδικά την αγγειοσυστολή ή την κατασκευή νανοσωματιδίων που περιέχουν NO.

Μελέτες που βασίζονται σε μοντέλα με ζώα δείχνουν ότι η συμπλήρωση NO είναι μια πολλά υποσχόμενη περιοχή για τη βελτίωση των ανεπιθύμητων ενεργειών των «παλιών» μεταγγισμένων μονάδων RBC. Απαιτούνται περαιτέρω μελέτες για να εξεταστούν αυτές οι στρατηγικές αποκατάστασης NO και να μεταφραστούν σε βελτιωμένα αποτελέσματα σε μεταγγιζόμενους ασθενείς (Muenster et al., 2016).

3.3 Εναλλακτικά πρόσθετα και / ή διαλύματα

Πολλές ομάδες έχουν προτείνει εναλλακτικές λύσεις για την αποκατάσταση της ανισορροπίας της οξειδοαναγωγής, συμπληρώνοντας τα διαλύματα αποθήκευσης με αντιοξειδωτικά, όπως η βιταμίνη C (ασκορβικό οξύ), η σεροτονίνη και τα ASs 90. Άλλες μελέτες προσφέρουν έναν νέο μηχανισμό για τη βελτίωση της ποιότητας του αποθηκευμένου αίματος, με αναστολή της όξινης σφιγγομυελινάσης με αμιτριπτυλίνη, σταθεροποιώντας τη μεμβράνη των ερυθροκυττάρων. Η μετάγγιση των αποθηκευμένων RBC που υποβλήθηκαν σε αγωγή με αμιτριπτυλίνη είχε ως αποτέλεσμα μια δόσοεξαρτώμενη μείωση της δραστηριότητας της όξινης σφιγγομυελινάσης, προλαμβάνοντας τελικά την φλεγμονή των πνευμόνων σε ποντίκια.

Εναλλακτικά, νέες μελέτες σε ποντίκια έχουν δείξει το πιθανό όφελος της συνέγχυσης με αιμοπεξίνη ή απτοσφαιρίνη στην ανάνηψη αιμορραγικού σοκ με αποθηκευμένα RBCs, αυξάνοντας το ποσοστό επιβίωσης και μειώνοντας τη φλεγμονή των ιστών.

Είναι ενδιαφέρον ότι μόνο η ταυτόχρονη έγχυση απτοσφαιρίνης με RBC απέτρεψε την αιμοσφαιρίνη και τον τραυματισμό των νεφρών (Graw et al., 2016).

3.4 Πρωτεϊνική καρβονυλίωση και μικροσωματίδια

Η πρωτεϊνική καρβονυλίωση οδηγεί σε μη αναστρέψιμες βλάβες πρωτεϊνικής οξειδωσης και αποτελεί δείκτη οξειδωτικού στρες και γήρανσης, μεταβάλλοντας τις ενεργές θέσεις και τη δομή των προσβεβλημένων πρωτεϊνών. Σύμφωνα με πρόσφατες μελέτες, οι αντιοξειδωτικές πρωτεΐνες και αρκετά ένζυμα είναι εξαιρετικά ευαίσθητα στην καρβονυλίωση. Η διαδικασία κηλίδωσης επιτρέπει την απομάκρυνση μέρους των καρβονυλιωμένων πρωτεϊνών από αποθηκευμένα RBC.

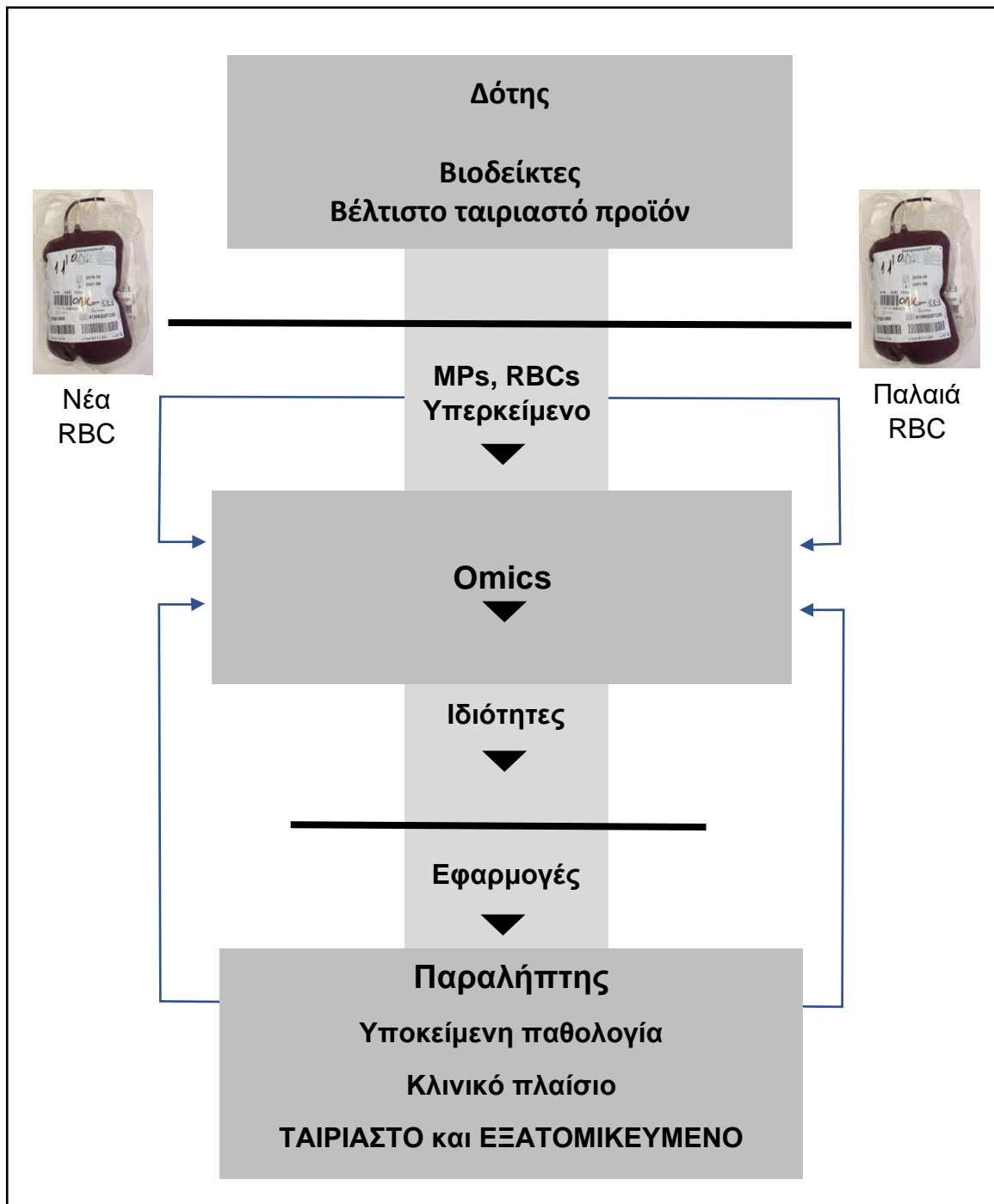
3.5 Omics ως εργαλείο στην ιατρική μετάγγιση

Οι μελέτες Omics έχουν συχνά επικριθεί για τη μικρή συμβολή τους στον τομέα της Ιατρικής μετάγγισης λόγω της περιγραφικής και παρατηρητικής τους φύσης. Παρ' όλα αυτά, οι πρόσφατες προσπάθειες συσχέτισης μεταβολικών δεδομένων και μεταβλητών που σχετίζονται με τη μετάγγιση, όπως η ανάκτηση 24 ωρών για μεταγγιζόμενα RBCs, υπόσχονται να ενισχύσουν το σχεδιασμό και τον έλεγχο καινοτόμων στρατηγικών αποθήκευσης. Οι μεταβολικές τεχνολογίες έχουν αναπτυχθεί χάρη στις πρόσφατες εξελίξεις στη φασματομετρία μάζας και στην ενσωμάτωση της βιοπληροφορικής των δεδομένων Omics (D'Alessandro et al., 2017).

Έχουν πραγματοποιηθεί αναλύσεις μεταβολικής σε RBCs από ζωικά και in vitro μοντέλα προκειμένου να κατανοηθεί ο ρόλος των μεταβολιτών που εμπλέκονται σε οξειδωτικές βλάβες των αποθηκευμένων RBCs, και έχει αναφερθεί ότι 8 εξωκυτταρικές ενώσεις (γαλακτικό οξύ, νικοτιναμίδιο, 5-οξοπρολίνη, ξανθίνη, υποξανθίνη, γλυκόζη, μηλικό οξύ και αδενίνη) επαρκούν για τον προσδιορισμό της μεταβολικής ηλικίας του προϊόντος RBC. Μεταβολικές μελέτες έχουν δείξει ότι συγκεκριμένες οξειδωτικές και μεταβολικές βλάβες, που επιδεινώθηκαν από την αποθήκευση υπό υπεροξικές συνθήκες, βελτιώθηκαν από την υποξική αποθήκευση. Ωστόσο, παρόλο που το οξειδωτικό στρες διατηρήθηκε λιγότερο σε αναερόβια αποθηκευμένα RBC σε σύγκριση με τα αερόβια αποθηκευμένα αντίστοιχα, οι δείκτες οξειδωτικού στρες συσσωρεύονται ακόμη και κατά την εξέλιξη της αναερόβιας αποθήκευσης.

Ίσως ο χρόνος αποθήκευσης RBC δεν είναι ένα ακριβές υποκατάστατο για την ποιότητα RBC και υπάρχει ανάγκη να καθοριστεί ποιες παράμετροι αντικατοπτρίζουν τη βέλτιστη αποτελεσματικότητα και ασφάλεια. Θα χρειαστούν μελέτες για να προσδιοριστεί ο τρόπος καθορισμού της ποιότητας RBC και εάν οι αλλαγές σε αυτά τα μεταβολικά ή βιοχημικά προφίλ (κυτταρική παραμόρφωση, οξειδωτική βλάβη, μεταβολισμός NO, ελεύθερος σίδηρος, προσεγγίσεις OMIC) είναι πιο ακριβής. Συγκεκριμένα, μια στοχευμένη πρωτεϊμική ανάλυση του υπερκείμενου μονάδας RBC αποκάλυψε νέους βιοδείκτες της βλάβης αποθήκευσης RBC και υπόσχεται να γίνει μια βασική αναλυτική μελέτη για την ανάπτυξη και τον έλεγχο εναλλακτικών στρατηγικών επεξεργασίας κυττάρων (Tzounakas, Georgatzakou, et al., 2016). Επιπλέον, τα βασικά χαρακτηριστικά των δοτών, όπως μεμβράνη Peroxiredoxin-2 και συγκέντρωση ουρικού οξέος στον ορό, έχουν προταθεί ως υποψήφιοι βιοδείκτες ποιότητας αποθήκευσης.

Ο χρόνος αποθήκευσης RBC εξακολουθεί να είναι υποψήφια μέτρηση ποιότητας που απαιτεί περαιτέρω εξέταση. Ένας καλύτερος χαρακτηρισμός Omics των «νεαρών» και «παλαιών» μονάδων RBC, συμπεριλαμβανομένων του δότη και του παραλήπτη, μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη νέων θεραπειών, συμπεριλαμβανομένης της χρήσης μηχανικών RBC ως εργαλείων παράδοσης δραστικών ουσιών με βάση τα κύτταρα ή στρατηγικές εξατομικευμένης μετάγγισης (Εικόνα 3).



Εικόνα 3. Σχέδιο που απεικονίζει το μέλλον των προσεγγίσεων Omics για την ανάπτυξη εξατομικευμένων στρατηγικών μετάγγισης και νέων θεραπειών που βασίζονται σε κύτταρα ή μετάγγιση. MP: μικροσωματίδια; RBC: ερυθρά αιμοσφαίρια.

3.6 Σύγκριση μετάγγισης "φρέσκων" vs "παλαιωμένων" ερυθρών κυττάρων: κλινικές πτυχές

Η υποβάθμιση των RBC κατά την αποθήκευση αντιπροσωπεύει ένα σημαντικό κίνδυνο για την αποτελεσματική διάχυσή τους και την παροχή οξυγόνου στους ιστούς, κάτι που είναι το αντίθετο του επιδιωκόμενου αποτελέσματος της πρακτικής της μετάγγισης. Μερικές από τις ανησυχίες είναι η πιθανή ταχύτερη εκκαθάριση των "παλαιωμένων" ερυθρών κυττάρων, η τοξικότητα / φλεγμονή που προκαλείται από την αιμόλυση και τον ελεύθερο σίδηρο και άλλα ανεπιθύμητα συμβάντα, συμπεριλαμβανομένου υψηλότερου κινδύνου μόλυνσης ή υψηλότερου ποσοστού θνησιμότητας που εξαρτάται από τη μετάγγιση (Brunskill et al., 2015). Τα στοιχεία δείχνουν ότι οι βλάβες κατά την αποθήκευση επηρεάζουν την ποιότητα των RBC (αιμόλυση, ακαμψία μεμβράνης), η οποία επηρεάζει άμεσα την ικανότητα μεταφοράς αερίου και την κάθαρση RBC προκαλώντας την εμφάνιση DAMP χωρίς κύτταρα, με συνέπειες δυσμενείς για την υγιή ομοιόσταση, συμπεριλαμβανομένης της εκκίνησης της έμφυτης ανοσοαπόκρισης. Ο ελεύθερος σίδηρος προκαλεί κορεσμό τρανσφερίνης στο πλάσμα, το ελεύθερο αίμα μπορεί να προκαλέσει βλάβη στα νεφρά ή στο ήπαρ ή καρδιακά συμβάντα και τα EV μπορεί να προκαλέσουν εκκίνηση ουδετερόφιλων και παραγωγή αντιδραστικών ειδών οξυγόνου (ROS) (Hod et al., 2011). Αυτές οι αλλαγές μπορεί να προκαλέσουν μείωση του διαθέσιμου NO, με επακόλουθη ενδοθηλιακή δυσλειτουργία να προδιαθέτει σε νοσηρότητα και θνησιμότητα στον αποδέκτη μετάγγισης. Ωστόσο, άλλες μελέτες δείχνουν ότι (συνολικά) οι υγιείς λήπτες είναι απίθανο να έχουν βασική αγγειακή δυσλειτουργία ή μεταβολική κατάσταση που θα μπορούσε εύκολα να διαταραχθεί από παράγοντες που σχετίζονται με τη μετάγγιση. Είναι ενδιαφέρον ότι πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι ούτε η αυξημένη κάθαρση, ούτε ο αυξημένος κορεσμός τρανσφερίνης, ούτε ο αυξημένος κίνδυνος οξείας πνευμονικής βλάβης που σχετίζεται με μετάγγιση (TRALI) αντιμετωπίζεται κατά τη μετάγγιση «παλαιών» έναντι «νεαρών» RBC σε ένα μοντέλο ανθρώπινης ενδοτοξαιμίας (Peters et al., 2017).

Παρά τις προσπάθειες που καταβλήθηκαν για να εκτιμηθεί εάν τα «παλαιωμένα» έναντι των «νεαρών» RBC πρέπει να χρησιμοποιηθούν σε ένα καθεστώς μετάγγισης, αυτό εξακολουθεί να είναι θέμα συζήτησης, απλώς και μόνο επειδή δεν υπήρξε συναίνεση σχετικά με την ομάδα μελέτης ή για την αξιολόγηση των κλινικών συνεπειών και παραμέτρων που μετρήθηκαν σε τέτοιες μελέτες, οπότε έχουν παρουσιαστεί αντικρουόμενα

αποτελέσματα. Είναι επίσης σημαντικό να αναγνωριστεί η διακύμανση μεταξύ δωρητών σε δότες (λόγω γενετικών παραγόντων, φύλου και κοινωνικών συνθηκών όπως το κάπνισμα και η διατροφή) και η πιθανότητα ότι η παρατεταμένη αποθήκευση εκθέτει τα RBC σε συνθήκες μη φυσιολογικού στρες, επηρεάζει τα μέσα αποθήκευσης και μπορεί να ενισχύσει τα αποτελέσματα των υποκλινικών παθολογικών εκδηλώσεων (Osei-Hwedie et al., 2016). Αξίζει να σημειωθεί ότι δεδομένου ότι η λευκαφαίρεση των RBC έχει εισαχθεί ως τυπική διαδικασία για την προετοιμασία των μονάδων RBC, ο αυξημένος κίνδυνος έκρηξης κυτοκίνης και αλλοανοσοποίησης δεν δικαιολογεί τη χρήση «νέων» RBCs. Ωστόσο, σήμερα υπάρχει μια γενική συναίνεση για την εφαρμογή μιας στρατηγικής μετάγγισης «νεαρών» RBC σε αυτούς τους ασθενείς που χρειάζονται συχνές μεταγγίσεις, απλώς και μόνο επειδή μειώνουν τον αριθμό των απαραίτητων μονάδων RBC, μειώνοντας έτσι τους γενικούς κινδύνους που σχετίζονται με τη μετάγγιση (Ng et al., 2015).

Σε δύο πρόσφατες δοκιμές συμμετείχαν 4.000 συμμετέχοντες σε μια ποικιλία πληθυσμών (καρδιακή χειρουργική επέμβαση, σοβαρά άρρωστοι και νοσοκομειακοί ασθενείς). Τα αποτελέσματα όλων αυτών των δοκιμών δεν βρήκαν κανένα κλινικό όφελος στη χρήση πιο φρέσκων RBCs σε σύγκριση με τα παλαιότερα ή τα τυπικά RBCs. Αντίθετα, η INFORM, μια μεγάλη τυχαιοποιημένη δοκιμή που συγκρίνει την επίδραση νεότερων έναντι παλαιότερων μονάδων RBC στην πρακτική μετάγγισης στη θνησιμότητα στο νοσοκομείο, σε νοσοκομειακούς ασθενείς σε κέντρα στην Αυστραλία, τον Καναδά, το Ισραήλ και τις ΗΠΑ, καταλήγει στο συμπέρασμα ότι η μετάγγιση με «νέα» RBCs σχετίζεται με ανώτερα αποτελέσματα σε σύγκριση με τις τυπικές μονάδες RBC, και υπογραμμίζει το γεγονός ότι πρέπει να δοθεί προσοχή στη μείωση των χρόνων αποθήκευσης αίματος (Eikelboom et al., 2016). Παρόλο που φαίνεται ότι η χρήση "παλαιωμένων" μονάδων RBC δεν παρουσιάζει συγκεκριμένο κίνδυνο, ο χρόνος αποθήκευσης RBC πρέπει να προκαλεί ανησυχία σε συγκεκριμένες περιπτώσεις.

Οι περισσότερες μελέτες που αναφέρθηκαν παραπάνω, έχουν επικεντρωθεί σε πιθανή συσχέτιση μεταξύ της διάρκειας του χρόνου αποθήκευσης και του κινδύνου ανεπιθύμητων αποτελεσμάτων, συμπεριλαμβανομένης της θνητότητας.

Υπάρχουν όμως και μελέτες που έχουν εξετάσει κατά πόσο ο χρόνος αποθήκευσης επηρεάζει την αποτελεσματικότητα των συστατικών. Συγκεκριμένα, προσδιορίζουν την επίδραση του χρόνου αποθήκευσης RBC στην αύξηση της αιμοσφαιρίνης σε μεταγγισμένους ασθενείς.

Μελέτες έγιναν σε ασθενείς με μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο "MDS", σε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε χειρουργική επέμβαση, σε πολυμεταγγιζόμενους ασθενείς αλλά και σε υγιείς εθελοντές σε μία μόνο αυτόλογη μετάγγιση RBC. Σ' αυτές αποδείχτηκε μια αρνητική συσχέτιση μεταξύ της αποθήκευσης RBC και της αύξησης της αιμοσφαιρίνης, με αποτέλεσμα χαμηλότερη αύξηση αιμοσφαιρίνης σε μεγαλύτερο χρόνο αποθήκευσης. Σε απόλυτους όρους αυτές οι επιδράσεις ήταν σχετικά μικρές, αλλά λαμβάνοντας υπόψη ότι η αναμενόμενη αύξηση της αιμοσφαιρίνης από μια μονάδα RBC είναι περίπου 10 g/L σε ένα ασθενή μέσου ύψους και βάρους, τα αποτελέσματα μας δείχνουν ότι οι μονάδες μετάγγισης με παρατεταμένη αποθήκευση δίνουν έως και 15% λιγότερη αύξηση αιμοσφαιρίνης απ' ό,τι αναμενόταν (Jenny Rydén, 2019)

3.6.1 Ασθενείς με καρδιακή νόσο, καρδιακή επέμβαση, χειρουργική επέμβαση και τραύμα

Αρκετές μελέτες έχουν αναφέρει επιδράσεις σε διάφορες καρδιακές παραμέτρους λόγω μετάγγισης με «παλαιωμένα» RBC, σε ασθενείς με καρδιαγγειακή νόσο ή σε αυτούς που υποβάλλονται σε καρδιακή παρέμβαση, όπως ο κίνδυνος θνησιμότητας στο νοσοκομείο, μειωμένη πνευμονική ή καρδιακή λειτουργία και αγγειακή νόσος. Αντιθέτως, άλλες μελέτες δείχνουν ότι δεν υπάρχει σημαντική αύξηση των ανεπιθύμητων ενεργειών, συμπεριλαμβανομένης της θνησιμότητας σε ασθενείς με καρδιακή χειρουργική επέμβαση που λαμβάνουν "παλαιωμένες" ή "νεαρές" μονάδες RBC.

Οι συσχετισμοί μεταξύ του χρόνου αποθήκευσης του RBC και της διάρκειας παραμονής σε μονάδα εντατικής θεραπείας (ICU) αναφέρθηκαν σε εργασίες (Hebert et al., 1999). Πιο πρόσφατες μελέτες περιγράφουν την ανάπτυξη πνευμονίας (αλλά όχι άλλων τύπων λοιμώξεων) που συσχετίζονταν σημαντικά κατά τη λήψη RBCs που είχαν αποθηκευτεί περισσότερες από 28 ημέρες (Triulzi & Yazer, 2010). Η υπόθεση είναι ότι τα «παλαιωμένα» RBCs αυξάνουν την ευαισθησία σε φλεγμονή των πνευμόνων και προκαλούν νεκρόπτωση του πνεύμονα που μπορεί να ευθύνεται για τον αυξημένο κίνδυνο πνευμονικής δυσλειτουργίας σε ασθενείς με κρίσιμη ασθένεια. Ωστόσο, ο μηχανισμός είναι άγνωστος. Οι ασθενείς με σηπτικό σοκ επωφελούνται από μια περιοριστική στρατηγική μετάγγισης, αλλά δεν έχει βρεθεί διαφορά κατά τη σύγκριση των "νεαρών" και "παλαιωμένων" RBCs (Holst, 2016). Αυτό το εύρημα τεκμηριώνεται από πρόσφατες μελέτες σε μοντέλο ανθρώπινης ενδοτοξαιμίας.

Σε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε μείζονα γαστρεντερική χειρουργική επέμβαση, η συχνότητα εμφάνισης μετεγχειρητικών επιπλοκών ήταν υψηλότερη μεταξύ των ασθενών που έλαβαν "παλαιωμένο" έναντι "νεαρού" αίματος. Ο van de Watering (2011) αναφέρει μια μικρή ευεργετική επίδραση των "παλαιωμένων" RBC σε μεταγγιζόμενους ασθενείς που έλαβαν ορθοκολική χειρουργική και εντοπίστηκε μειωμένη υποτροπή του καρκίνου. Αντίθετα αποτελέσματα σχετικά με τη χρήση του "παλαιωμένων" έναντι του «νεαρών» RBC έχουν επίσης αναφερθεί για πρακτική μετάγγισης σε ασθενείς με εγκεφαλικό τραύμα (Kim et al., 2015).

3.6.2 Νεογνό και μητρότητα

Όσον αφορά την ομάδα των ασθενών με πρόωρο τοκετό και τα νεογνά, οι μελέτες δείχνουν ότι η μετάγγιση των «παλαιωμένων» έναντι των «νεαρών» RBC δεν έχει κλινικές συνέπειες. Ωστόσο, μια μελέτη για παιδιά με σοβαρή ασθένεια, παρατήρησε ότι η μετάγγιση των RBC που αποθηκεύτηκαν για περισσότερο από τέσσερις εβδομάδες, αύξησε σημαντικά την αιμοσφαιρίνη στο πλάσμα, τον σίδηρο του ορού και το σίδηρο που δεν συνδέεται με τρανσφερίνη. Πολλές μελέτες έχουν εξετάσει τις κλινικές επιπτώσεις της μετάγγισης των "νεαρών" έναντι των "παλαιωμένων" RBC σε νεογνά και μέχρι σήμερα δεν έχουν βρεθεί σημαντικές ενδείξεις. Στους ασθενείς που σχετίζονται με τη μητρότητα και απαιτούν μετάγγιση RBC, τα στοιχεία αναφέρουν ότι δεν υπάρχουν αυξημένα ποσοστά ανεπιθύμητων αποτελεσμάτων μετά τη μετάγγιση με αποθηκευμένα RBCs (Patterson et al., 2015).

3.6.3 Μικροσωματίδια - Δημιουργία μικροσωματιδίων

Τα μικροσωματίδια (ΜΣ) είναι μικρά σωματίδια επικαλυμμένα με φωσφολιπίδια (που απελευθερώνονται από κυτταρικές μεμβράνες λόγω τοπικών κυτταροσκελετικών αναδιατάξεων και εκκόλαψης μεμβράνης), που προκαλούνται από ενεργοποίηση ή απόπτωση. Περιέχουν πρωτεΐνες μεμβράνης και κυτταροπλασματικό φορτίο από το μητρικό κύτταρο, και βρίσκονται σχεδόν σε κάθε υγρό σώματος. Τα ΜΣ ποικίλλουν σε μέγεθος, που κυμαίνονται από 50 nm έως 1 μm, και έχουν χαμηλό δείκτη διάθλασης.

Κατά τα τελευταία χρόνια, έχει σημειωθεί σημαντική πρόοδος στον χαρακτηρισμό των κυστιδίων που προέρχονται από αιμοσφαίρια και τον πιθανό ρόλο τους στην

υγεία και τις ασθένειες. Η πρώτη έκθεση για την ύπαρξη ΜΣ στο αίμα δημοσιεύθηκε πριν από σχεδόν 70 χρόνια («σκόνη» αιμοπεταλίων). Αργότερα, τα ΜΣ που προέρχονται από RBCs, μονοκύτταρα, ενδοθηλιακά κύτταρα και κοκκιοκύτταρα, επιπλέον αυτών που προέρχονται από αιμοπετάλια, περιγράφηκαν στο πλάσμα (Raposo & Stoorvogel, 2013).

Δημιουργία μικροσωματιδίων

Η παραγωγή μικροσωματιδίων προκύπτει από μια αλλαγή στην ασυμμετρία της διπλής στιβάδας λιπιδίων της κυτταρικής μεμβράνης. Η φυσιολογική παραγωγή ΜΣ πραγματοποιείται ταυτόχρονα με την απόπτωση διαφορετικών κυττάρων και η παρουσία ΜΣ στο αίμα υγιών ατόμων δείχνει φαινομενικά σταθερή. Η παραγωγή ΜΣ μπορεί επίσης να προκύψει λόγω φυσιολογικών / παθολογικών γεγονότων που προκύπτουν από την ενεργοποίηση των κυττάρων από αγωνιστές.

Υπάρχουν διάφοροι παράγοντες που ενεργοποιούν το σχηματισμό ΜΣ κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης RBC, οι οποίοι περιλαμβάνουν η διατμητική τάση (λόγω της στενής επαφής μεταξύ των RBC στον περιέκτη αποθήκευσης), οι αντιπηκτικές δράσεις, το οξειδωτικό στρες, ο δείκτης ασβεστίου και η προ-αποπτωτική διέγερση.

Είναι επίσης γνωστό ότι η διάρκεια της αποθήκευσης είναι καθοριστική για τη γένεση ΜΣ. Επιπλέον, η ηλικία και το φύλο του δότη έχουν περιγραφεί ότι επηρεάζουν την απελευθέρωση ΜΣ κατά την αποθήκευση, δηλαδή αίμα από γυναίκες ή μεγαλύτερους σε ηλικία δότες είναι πιο επιρρεπείς στον σχηματισμό ΜΣ.

3.6.4 Κλινική επίδραση των φυσιολογικών RBC και των μονάδων μικροσωματιδίων

Τα κύρια χαρακτηριστικά των ΜΣ που προέρχονται από ερυθροκύτταρα (EMPs) είναι παρόμοια με αυτά των ΜΣ που προέρχονται από άλλα κύτταρα, αν και είναι πιο ομοιογενή σε μέγεθος (περίπου 0,15 μm). Τα EMPs αντιπροσωπεύουν περίπου το 4-8% των συνολικών ΜΣ στο πλάσμα. Τα ΜΣ που προέρχονται από RBC συνδέονται με την εμφάνιση πολλών παθολογιών (Seghatchian & Amiral, 2016). Ο πολυμερισμός της ανώμαλης αιμοσφαιρίνης S επηρεάζει τη σταθερότητα της μεμβράνης RBC (οδηγώντας σε σχήμα δρεπανοκυτταρικού ερυθροκυττάρου και κυστίδια), η οποία συσχετίζεται με τον ρυθμό της ενδοαγγειακής αιμόλυσης καθώς και με τον βαθμό ενεργοποίησης της πήξης, καθώς τα EMPs είναι προπηκτικά. Τα EMPs αυξάνονται σε ασθενείς που αναπτύσσουν οξεία νόσο

μοσχεύματος έναντι του ξενιστή, μετά από μεταμόσχευση βλαστικών κυττάρων, αν και ο μηχανισμός δεν είναι σαφής. Έχουν παρατηρηθεί επίσης αυξημένα επίπεδα EMP σε περιπτώσεις λοίμωξης από ελονοσία, ειδικά με το *Plasmodium falciparum*.

Είναι αποδεδειγμένο ότι τα αποθηκευμένα συμπυκνώματα RBC έχουν συσχετιστεί με παθολογικές αντιδράσεις που κυμαίνονται από ανοσοδιαμόρφωση και προ-φλεγμονή μετά τη μετάγγιση. Τα EMPs δρουν στο έμφυτο ανοσοποιητικό σύστημα ως προ-φλεγμονώδεις μεσολαβητές που προκαλούν ή διαδίδουν φλεγμονώδη σήματα.

Τα ΜΣ που προέρχονται από αποθηκευμένα RBC συνδέονται με την εμφάνιση των ακόλουθων ανεπιθύμητων ενεργειών που εξαρτώνται από τη μετάγγιση. Το TRALI είναι από τις πιο σοβαρές από τις ανεπιθύμητες ενέργειες που σχετίζονται με τη μετάγγιση με υψηλή νοσηρότητα και θνησιμότητα. Μια πρόσφατη μελέτη υποστηρίζει ότι τα EMP είναι πιθανό να είναι μεσολαβητές για το TRALI, σύμφωνα με τα ακόλουθα στοιχεία: Πρώτον, έχει αποδειχθεί ότι τα EMPs μπορούν να δεσμεύσουν και να ενεργοποιήσουν ουδετερόφιλα. Δεύτερον, το συμπλήρωμα και η IgG εμπλουτίζονται σε EMPs από «παλαιωμένα» RBC λόγω της βλάβης κατά την αποθήκευση. Αυτά τα δύο γεγονότα οδηγούν στην ανάπτυξη του TRALI. Επιπλέον, τα EMPs εμφανίζουν ισχυρή προπηκτική δράση, ώστε να μπορούν να συμβάλλουν στη θρόμβωση μετά τη μετάγγιση. Αυτό θα μπορούσε να εξηγηθεί από το γεγονός ότι τα EMPs εκφράζουν την ανιονική φωσφολιπιδική φωσφατιδυλοσερίνη (PS), η οποία χρησιμεύει για τη συναρμολόγηση των παραγόντων πήξης σε ενεργά σύμπλοκα για την παραγωγή θρομβίνης (Rubin et al., 2013).

Σήμερα, τα ΜΣ μελετούνται ως: 1) βιοδείκτες για διάγνωση και πρόγνωση, 2) για την παρακολούθηση της θεραπευτικής αποτελεσματικότητας και της διαστρωμάτωσης του κινδύνου των ασθενών, καθώς και της εξατομικευμένης ιατρικής και φυσικά, 3) σε διάφορες αναδυόμενες θεραπευτικές εφαρμογές. Δεδομένου ότι τς ΜΣ συμβαίνουν με υψηλότερη συχνότητα σε μεγαλύτερες περιόδους αποθήκευσης, η διαφορά μεταξύ «παλαιωμένων» και «νεαρών» RBC θα πρέπει να γίνεται όταν είναι κλινικά σχετικό για να αποφευχθούν τα ΜΣ στο προϊόν μετάγγισης

Συμπεράσματα

Κατά τα τελευταία χρόνια, έχει σημειωθεί σημαντική πρόοδος στην αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια της θεραπείας μετάγγισης αίματος. Παρ' όλα αυτά, οι γνώσεις σχετικά με τους περίπλοκους μεταβολικούς μηχανισμούς που διέπουν την αποθήκευση των ερυθρών κυττάρων συνεχώς ανανεώνονται. Έχουν προταθεί πολλές στρατηγικές για την επίτευξη της μέγιστης διάρκειας αποθήκευσης του αίματος.

Οι μελέτες καταλήγουν ότι η χρήση παλαιών μονάδων RBC δεν παρουσιάζει συγκεκριμένο κίνδυνο, παρόλ' αυτά ο χρόνος αποθήκευσης θα πρέπει να προκαλεί εντονότερη προσοχή και ανησυχία σε συγκεκριμένες περιπτώσεις ασθενών.

Επιπλέον η αρνητική συσχέτιση μεταξύ του χρόνου αποθήκευσης και της ανάκτησης της αιμοσφαιρίνης του ασθενούς, μας "αναγκάζει" να επιλέγουμε μονάδες RBC με μικρό χρόνο αποθήκευσης για ορισμένες κατηγορίες ασθενών προκειμένου να εξασφαλίσουμε μεγαλύτερες περιόδους μετάγγισης.

Οι πολλαπλές συνεχιζόμενες, μεγάλης κλίμακας μελέτες έχουν τεκμηριώσει την επίδραση της αποθήκευσης στην ποιότητα των ερυθρών κυττάρων και τις πιθανές βλάβες αποθήκευσης καθώς και επιπτώσεις στα αποτελέσματα των ασθενών. Ωστόσο, πρέπει να συνεχιστεί η προσπάθεια αξιολόγησης των μελετών για την κατανόηση της παθοφυσιολογίας και των συνεπειών της βλάβης αποθήκευσης ερυθρών κυττάρων στην κλινική πρακτική.

Βιβλιογραφία

- Antonelou, M., & Seghatchian, J. (2016). Insights into red blood cell storage lesion: Toward a new appreciation. *Transfus Apher Sci.*, 292-301.
- Bakkour, S., Acker, J. P., Chafets, D. M., Inglis, H. C., Norris, P. J., Lee, T. H., & Busch, M. P. (2016). Manufacturing method affects mitochondrial DNA release and extracellular vesicle composition in stored red blood cells. *Vox Sanguinis*, 111(1), 22–32. <https://doi.org/10.1111/vox.12390>
- Brunskill, S., Wilkinson, K., Doree, C., & et al. (2015). Transfusion of fresher versus older red blood cells for all conditions. *Cochrane Database Syst Rev.*, 5, CD010801.
- Buehler, P. W., Karnaukhova, E., Gelderman, M. P., & Alayash, A. I. (2011). Capturing the “Radical” Menace. *ANTIOXIDANTS & REDOX SIGNALING*, 14(9).
- Cancelas, J. A., Dumont, L. J., Maes, L. A., Rugg, N., Herschel, L., Whitley, P. H., Szczepiokowski, Z. M., Siegel, A. H., Hess, J. R., & Zia, M. (2015). Additive solution-7 reduces the red blood cell cold storage lesion. *Transfusion*, 55(3), 491–498. <https://doi.org/10.1111/trf.12867>
- Chang, A. L., Hoehn, R. S., Jernigan, P., Cox, D., Schreiber, M., & Pritts, T. A. (2016). Previous Cryopreservation Alters the Natural History of the Red Blood Cell Storage Lesion. *Shock*, 46(3S), 89–95. <https://doi.org/10.1097/SHK.0000000000000668>
- Collard, K., White, D., & Copplestone, A. (2014a). The influence of storage age on iron status, oxidative stress and antioxidant protection in paediatric packed cell units. *Blood Transfusion*, 12, 210–9.
- Collard, K., White, D., & Copplestone, A. (2014b). The influence of storage age on iron status, oxidative stress and antioxidant protection in paediatric packed cell units. *Blood Transfusion*, 12, 210–219.
- D’Alessandro, A., Nemkov, T., Yoshida, T., Bordbar, A., Palsson, B. O., & Hansen, K. C. (2017). Citrate metabolism in red blood cells stored in additive solution-3. *Transfusion*, 57(2), 325–336. <https://doi.org/10.1111/trf.13892>
- Donadee, C., Raat, N. J. H., Kanas, T., Tejero, J., Lee, J. S., Kelley, E. E., Zhao, X., Liu, C., Reynolds, H., Azarov, I., Frizzell, S., Meyer, E. M., Donnenberg, A. D., Qu, L., Triulzi, D., Kim-Shapiro, D. B., & Gladwin, M. T. (2012). Nitric oxide scavenging by red blood cell microparticles and cell-free hemoglobin as a mechanism for the red cell storage lesion.

- Circulation*, 124(4), 465–476. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.110.008698>
- Eikelboom, J., Cook, R., Barty, R., & et al. (2016). Rationale and design of the informing fresh versus old red cell management (INFORM) trial: an international pragmatic randomized trial. *Transfus Med Rev.*, 30, 25–9.
- Fergusson, D. A., Hébert, P., Hogan, D. L., LeBel, L., Rouvinez-Bouali, N., Smyth, J. A., Sankaran, K., Tinmouth, A., Blajchman, M. A., Kovacs, L., Lachance, C., Lee, S., Walker, C. R., Hutton, B., Ducharme, R., Balchin, K., Ramsay, T., Ford, J. C., Kakadekar, A., ... Shapiro, S. (2012). Effect of fresh red blood cell transfusions on clinical outcomes in premature, very low-birth-weight infants: The ARIPI randomized trial. *JAMA - Journal of the American Medical Association*, 308(14), 1443–1451. <https://doi.org/10.1001/2012.jama.11953>
- Flatt F., J. F., Bawazir M., W. M., & Bruce, L. J. (2014). The involvement of cation leaks in the storage lesion of red blood cells. *Frontiers in Physiology*, 5, 1–12. <https://doi.org/10.3389/fphys.2014.00214>
- Franco, R. S., Puchulu-Campanella, M. E., Barber, L. A., Palascak, M. B., Joiner, C. H., Low, P. S., & Cohen, R. M. (2014). Changes in the properties of normal human red blood cells during in vivo aging. *American Journal of Hematology*, 88(1), 44–51. <https://doi.org/10.1002/ajh.23344>
- Frank, S. M., Abazyan, B., Ono, M., Hogue, C. W., Cohen, D. B., Berkowitz, D. E., Ness, P. M., & Barodka, V. M. (2013). Decreased erythrocyte deformability after transfusion and the effects of erythrocyte storage duration. *Anesthesia and Analgesia*, 116(5), 975–981. <https://doi.org/10.1213/ANE.0b013e31828843e6>
- Fu, X., Felcyn, J. R., Odem-Davis, K., & Zimring, J. C. (2016). Bioactive lipids accumulate in stored red blood cells despite leukoreduction: a targeted metabolomics study. *Transfusion*, 56(10), 2560–2570. <https://doi.org/10.1111/trf.13748>
- García-Roa, M., Del Carmen Vicente-Ayuso, M., Bobes, A. M., Pedraza, A. C., González-Fernández, A., Martín, M. P., Sáez, I., Seghatchian, J., & Gutiérrez, L. (2017). Red blood cell storage time & transfusion: Current practice, concerns & future perspectives. *Blood Transfusion*, 15(3), 222–231. <https://doi.org/10.2450/2017.0345-16>
- Graw, J. A., Mayeur, C., Rosales, I., Liu, Y., Sabbisetti, V. S., Riley, F. E., Rechester, O., Malhotra, R., Warren, H. S., Colvin, R. B., Bonventre, J. V., Bloch, D. B., & Zapol, W. M. (2016). Haptoglobin or hemopexin therapy prevents acute adverse effects of

- resuscitation after prolonged storage of red cells. *Circulation*, 134(13), 945–960.
<https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.115.019955>
- Hebert, P., Wells, G., Martin, C., & et al. (1999). Variation in red cell transfusion practice in the intensive care unit: a multicentre cohort study. *Crit Care.*, 3, 57–63.
- Hess, J. R. (2014). Measures of stored red blood cell quality. *Vox Sanguinis*, 107(1), 1–9.
<https://doi.org/10.1111/vox.12130>
- Hod, E., Brittenham, G., Billote, G., & et al. (2011). Transfusion of human volunteers with older, stored red blood cells produces extravascular hemolysis and circulating non-transferrin-bound iron. *Blood*, 118, 6675–82.
- Holst, L. (2016). Benefits and harms of red blood cell transfusions in patients with septic shock in the intensive care unit. *Dan Med J.*, 63, pii: B5209.
- Jenny Rydén, M. C.-L. (2019, June). A longer duration of red blood cell storage is associated with. *TRANSFUSION MEDICINE*, σσ. 59;1945–1952.
- Karger, R., Lukow, C., & Kretschmer, V. (2012). Deformability of red blood cells and correlation with atp content during storage as leukocyte-depleted whole blood. *Transfusion Medicine and Hemotherapy*, 39(4), 277–282.
<https://doi.org/10.1159/000339809>
- Karkouti, K. (2014). From the Journal archives: The red blood cell storage lesion: Past, present, and future. *Canadian Journal of Anesthesia*, 61(6), 583–586.
<https://doi.org/10.1007/s12630-013-0106-5>
- Karon, B., van Buskirk, C., Jaben, E., Hoyer, J., & Thomas, D. (2012). Temporal sequence of major biochemical events during blood bank storage of packed red blood cells. *Blood Transfusion*, 10, 453– 461.
- Kim, E., Kim, H., Park, S., & et al. (2015). Effect of red blood cell transfusion on unfavorable neurologic outcome and symptomatic vasospasm in patients with cerebral aneurysmal rupture: old versus fresh blood. *World Neurosurg.*, 84, 1877–86.
- Koch, C. G., Duncan, A. I., Fingueroa, P., Dai, L., Sessler, D. I., Frank, S. M., . . . Blackstone, E. H. (2019). Real Age: Red Blood Cell Aging During Storage. *Ann Thorac Surg.*, 973-980.

- Liu, C., Liu, X., Janes, J., Stapley, R., Patel, R., Gladwin, M. T., & Kim-Shapiro, D. B. (2014). Mechanism of Faster NO Scavenging by Older Stored Red Blood Cells. *Free Radical Biology and Medicine*, *65*, S101. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2013.10.643>
- Luten, M., Roerdinkholder-Stoelwinder, B., Schaap, N. P. M., De Grip, W. J., Bos, H. J., & Bosman, G. J. C. G. M. (2008). Survival of red blood cells after transfusion: A comparison between red cells concentrates of different storage periods. *Transfusion*, *48*(7), 1478–1485. <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2008.01734.x>
- Lutz, H. U., & Bogdanova, A. (2013). Mechanisms tagging senescent red blood cells for clearance in healthy humans. *Frontiers in Physiology*, *4* DEC(December), 1–16. <https://doi.org/10.3389/fphys.2013.00387>
- Mohanty, J. G., Nagababu, E., & Rifkind, J. M. (2014). Red blood cell oxidative stress impairs oxygen delivery and induces red blood cell aging. *Frontiers in Physiology*, *5* FEB(February), 1–6. <https://doi.org/10.3389/fphys.2014.00084>
- Muenster, S., Beloiartsev, A., Yu, B., & et al. (2016). Exposure of stored packed erythrocytes to nitric oxide prevents transfusion-associated pulmonary hypertension. *Anesthesiology*, *125*, 952–963.
- Ng, M., Ng, A., Chan, J., & et al. (2015). Effects of packed red blood cell storage duration on post-transfusion clinical outcomes: a meta-analysis and systematic review. *Intensive Care Med.*, *41*, 2087–97.
- Orlov, D., & Karkouti, K. (2015). The pathophysiology and consequences of red blood cell storage. *Anaesthesia*, *70*. <https://doi.org/10.1111/anae.12891>
- Osei-Hwedieh, D., Kanias, T., Croix, C., & et al. (2016). Sick cell trait increases red blood cell storage hemolysis and post-transfusion clearance in mice. *EBioMedicine*, *11*, 239–48.
- Ozment, C. P., Mamo, L. B., Campbell, M. L., Lokhnygina, Y., Ghio, A. J., & Turi, J. L. (2013). Transfusion-related biologic effects and free hemoglobin, heme, and iron. *Transfusion*, *53*(4), 732–740. <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2012.03837.x>
- Patterson, J., Irving, D., Isbister, J., & et al. (2015). Age of blood and adverse outcomes in a maternity population. *Transfusion.*, *55*, 2730–7.
- Peters, A., Kunanayagam, R., van Bruggen, R., & et al. (2017). Transfusion of 35-day stored red blood cells does not result in increase of plasma non-transferrin bound iron in

- human endotoxemia. *Transfusion*, *57*, 53–59.
- Purdy, F. R., Tweeddale, M. G., & Merrick, P. M. (1997). Association of mortality with age of blood transfused in septic ICU patients. *Canadian Journal of Anaesthesia*, *44*(12), 1256–1261. <https://doi.org/10.1007/BF03012772>
- Raposo, G., & Stoorvogel, W. (2013). Extracellular vesicles: exosomes, microvesicles, and friends. *J Cell Biol.*, *200*, 373–83.
- Raval, J. S., Fontes, J., Banerjee, U., Yazer, M. H., Mank, E., & Palmer, A. F. (2013). Ascorbic acid improves membrane fragility and decreases haemolysis during red blood cell storage. *Transfusion Medicine*, *23*(2), 87–93. <https://doi.org/10.1111/tme.12013>
- Remy, K. E., & Spinella, P. C. (2016). Red blood cell storage age – what we know from clinical trials. *Expert Review of Hematology*, *9*(11), 1011–1013. <https://doi.org/10.1080/17474086.2016.1243051>
- Rubin, O, Delobel, J., Prudent, M., & et al. (2013). Red blood cell-derived microparticles isolated from blood units initiate and propagate thrombin generation. *Transfusion.*, *53*, 1744–54.
- Rubin, Olivier, Delobel, J., Prudent, M., Lion, N., Kohl, K., Tucker, E. I., Tissot, J. D., & Angelillo-Scherrer, A. (2013). Red blood cell-derived microparticles isolated from blood units initiate and propagate thrombin generation. *Transfusion*, *53*(8), 1744–1754. <https://doi.org/10.1111/trf.12008>
- Saager, L., Turan, A., Dalton, J. E., Figueroa, P. I., Sessler, D. I., & Kurz, A. (2013). Erythrocyte storage duration is not associated with increased mortality in noncardiac surgical patients: A retrospective analysis of 6,994 patients. *Anesthesiology*, *118*(1), 51–58. <https://doi.org/10.1097/ALN.0b013e3182746ba4>
- Schaer, D. J., Buehler, P. W., Alayash, A. I., Belcher, J. D., & Vercellotti, G. M. (2013). Hemolysis and free hemoglobin revisited: Exploring hemoglobin and hemin scavengers as a novel class of therapeutic proteins. *Blood*, *121*(8), 1276–1284. <https://doi.org/10.1182/blood-2012-11-451229>
- Seghatchian, J., & Amiral, J. (2016). Unresolved clinical aspects and safety hazards of blood derived- EV/MV in stored blood components: From personal memory lanes to newer perspectives on the roles of EV/MV in various biological phenomena. *Transfus Apher Sci.*, *55*, 10–22.
- Sharma, S., Sharma, P., & Tyler, L. (2011). Transfusion of blood and blood products:

- indications and complications. *Am Fam Physician*, *83*, 719–724.
- Sun, K., D'alessandro, A., & Xia, Y. (2017). Purinergic control of red blood cell metabolism: novel strategies to improve red cell storage quality. *Blood Transfus*, 535-542.
- Sut, C., Tariket, S., Chou, M., Garraud, O., Laradi, S., Hamzeh-Cognasse, H., . . . Cognasse, F. (2017). Duration of red blood cell storage and inflammatory marker generation. *Blood Transfus*, 145-152
- Triulzi, D., & Yazer, M. (2010). Clinical studies of the effect of blood storage on patient outcomes. *Transfus Apher Sci.*, *43*, 95–106.
- Tzounakas, V. L., Georgatzakou, H. T., Kriebardis, A. G., Voulgaridou, A. I., Stamoulis, K. E., Foudoulaki-Paparizos, L. E., Antonelou, M. H., & Papassideri, I. S. (2016). Donor variation effect on red blood cell storage lesion: A multivariable, yet consistent, story. *Transfusion*, *56*(6), 1274–1286. <https://doi.org/10.1111/trf.13582>
- Tzounakas, V. L., Kriebardis, A. G., Georgatzakou, H. T., Foudoulaki-Paparizos, L. E., Dzieciatkowska, M., Wither, M. J., Nemkov, T., Hansen, K. C., Papassideri, I. S., D'Alessandro, A., & Antonelou, M. H. (2016). Data on how several physiological parameters of stored red blood cells are similar in glucose 6-phosphate dehydrogenase deficient and sufficient donors. *Data in Brief*, *8*, 618–627. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2016.06.018>
- Tzounakas, V. L., Kriebardis, A. G., Papassideri, I. S., & Antonelou, M. H. (2016). Donor-variation effect on red blood cell storage lesion: A close relationship emerges. *Proteomics Clin Appl*, 791-804.
- Tzounakas, V. L., Kriebardis, A. G., Seghatchian, J., Papassideri, I. S., & Antonelou, M. H. (2017). Unraveling the Gordian knot: red blood cell storage lesion and transfusion outcomes. *Blood Transfus*, 126-130.
- van de Watering, L. (2011). Red cell storage and prognosis. *Vox Sang.*, *100*, 36–45.
- Van De Watering, L. M. G., & Brand, A. (2008). Effects of storage of red cells. *Transfusion Medicine and Hemotherapy*, *35*(5), 359–367. <https://doi.org/10.1159/000155221>
- Wang, D., Sun, J., Solomon, S. B., Klein, H. G., & Natanson, C. (2012). Transfusion of older stored blood and risk of death: A meta-analysis. *Transfusion*, *52*(6), 1184–1195. <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2011.03466.x>
- Wojczyk, B. S., Kim, N., Bandyopadhyay, S., Francis, R. O., Zimring, J. C., Hod, E. A., & Spitalnik, S. L. (2014). Macrophages clear refrigerator storage-damaged red blood cells and subsequently secrete cytokines in vivo, but not in vitro, in a murine model.

Transfusion, 54(12), 3186–3197. <https://doi.org/10.1111/trf.12755>

Yoshida, T., Prudent, M., & D'alessandro, A. (2019). Red blood cell storage lesion: causes and potential clinical consequences. *Blood Transfus*, 27-52.

Πηγές Εικόνων

- Εικόνα 1: García-Roa, M., Del Carmen Vicente-Ayuso, M., Bobes, A. M., Pedraza, A. C., González-Fernández, A., Martín, M. P., ... Gutiérrez, L. (2017). *Blood Transfusion*. 15(3), 222–231.
- Εικόνα 2: Orlov, D., & Karkouti, K. (2015). The pathophysiology and consequences of red blood cell storage. *Anaesthesia*, 70.
- Εικόνα 3: García-Roa, M., Del Carmen Vicente-Ayuso, M., Bobes, A. M., Pedraza, A. C., González-Fernández, A., Martín, M. P., ... Gutiérrez, L. (2017). *Blood Transfusion*. 15(3), 222–231.