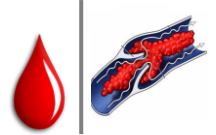




ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ



Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών

ΘΡΟΜΒΩΣΗ – ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΑ – ΙΑΤΡΙΚΗ ΤΩΝ ΜΕΤΑΤΤΙΣΕΩΝ

Επιστημονική Υπεύθυνη: Ομότιμη Καθηγήτρια Ωρ. Σ. Τραυλού

Διπλωματική Εργασία

«Διακύμανση Ερυθροκυτταρικών και Βιοχημικών Παραμέτρων
παθοφυσιολογικής σημασίας θηλέων αιμοδοτριών»

ΟΝΟΜΑ : Δρόσος Παναγιώτης

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ : Πολίτου Μαριάννα

Ακαδημαϊκό Έτος : 2011-2012

Εξεταστική Επιτροπή:

1. Πολίτου Μαριάννα, Επίκουρη Καθηγήτρια Ιατρικής Σχολής, Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών.
2. Αντωνέλλου Μαριάννα, Λέκτορας Τμήματος Βιολογίας, Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών.
3. Κριεμπάρδης Αναστάσιος, Επίκουρος Καθηγητής Τμήματος Ιατρικών Εργαστηρίων, Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Αθηνών.

Στην οικογένεια μου για όλη την στήριξη,

Στη Χρύσα για την υπομονή...

Τα τετραθέμελα του κόσμου τούτου:

ψωμί, κρασί, φωτιά, Γυναίκα.

Νίκος Καζαντζάκης

Πρόλογος

Η παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε στα πλαίσια του Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών «**Θρομβώσεις – Αιμορραγία – Ιατρική των Μεταγίσεων**».

Πρωτίστως, θα ήθελα να εκφράσω βαθιές ευχαριστίες στην Ομότιμη Καθηγήτρια της Ιατρικής Σχολής, του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, κυρία Ωραιάνθη Τραυλού, γιατί αρχικά ως Διευθύντρια με επέλεξε στο Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών ενώ στη συνέχεια μου έδωσε τη δυνατότητα να εργαστώ στο συγκεκριμένο θέμα.

Στη συνέχεια, ευχαριστίες οφείλω στην επιβλέπουσα της παρούσας εργασίας, Επίκουρη Καθηγήτρια της Ιατρικής Σχολής, του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών και Διευθύντρια της Αιμοδοσίας, του Αρεταιείου Νοσοκομείου Αθηνών, κυρία Πολίτου Μαριάννα, για τις πολύτιμες συμβουλές της σε όλα τα επίπεδα, την αμέριστη και εποικοδομητική κριτική στην διόρθωση της εργασίας και την ηθική συμπαράσταση σε όλη την διάρκεια της εκπόνησής της.

Ειλικρινείς ευχαριστίες οφείλω στην Λέκτορα του Τμήματος Βιολογίας, του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, για τις εύστοχες παρατηρήσεις της και την πρόθυμη ανταπόκρισή της, όποτε μου ζητήθηκε, Η συμμετοχή της ήταν πολύ σημαντική, τόσο στην πορεία όσο και στην ολοκλήρωση της μελέτης αυτής.

Δεν θα λησμονήσω να ευχαριστήσω το τρίτο μέλος της Εξεταστικής Επιτροπής μου, τον Επίκουρο Καθηγητή του Τμήματος Ιατρικών Εργαστηρίων, κύριο Κριεμπάρδη Αναστάσιο, ο οποίος μου έδωσε την ευκαιρία να εργαστώ στο Εργαστήριο Αιματολογίας – Αιμοδοσίας, του Τμήματος Ιατρικών Εργαστηρίων του ΤΕΙ Αθήνας. Τον ευχαριστώ επίσης, για την καθοριστική ενθάρρυνση και καθοδήγηση.

Επιπλέον, δεν μπορώ να μην ευχαριστήσω το Κοινοφελές Ίδρυμα «Αλέξανδρος Σ. Ωνάσης» για την υποτροφία που έλαβα, κατά τη διάρκεια των σπουδών μου και για την οποία θα είμαι ευγνώμων .

Τέλος, ευχαριστώ θερμά τις εθελόντριες αιμοδότριες που συμμετείχαν στην παρούσα έρευνα και τους φοιτητές Καριοφύλλη Καραμπέρι, Βαρβάρα Γώγου, Βασιλική Χαραλαμπίδου, τους Εργαστηριακούς Συνεργάτες του Τμήματος Ιατρικών Εργαστηρίων, κύρια Όλγα Παππά, κυρία Όλγα Παπατζιτζέ και κύριο Απόστολο Μπελούκα, καθώς και την κυρία Απλακίδη Χαρά, ΕΤΕΠ, του Τμήματος Ιατρικών Εργαστηρίων, για την βοήθεια και ενθάρρυνση που μου έδιναν όταν χρειαζόταν.

Περιεχόμενα

ΕΙΣΑΓΩΓΗ	8
A1.Ερυθροκύτταρο και Ερυθροκυτταρική Μεμβράνη.....	8
<i>A1.1 Ερυθρό αιμοσφαίριο</i>	8
<i>A1. 1. 1. Ρόλος</i>	9
<i>A1. 1. 2. Μορφή</i>	9
<i>A1. 1. 3. Άλλες ιδιότητες</i>	10
A1. 2. Ερυθροκυτταρική μεμβράνη	11
<i>A1. 2. 1. Ρόλος</i>	11
<i>A1. 2. 2. Σύνθεση</i>	12
<i>A1. 2. 3. Διαμεμβρανικές πρωτεΐνες</i>	14
<i>A1.2. 4. Περιφερειακές πρωτεΐνες</i>	17
<i>A1. 2. 5. Κυτταροσκελετός</i>	19
A2.1 Αναπαραγωγικό Σύστημα Γυναίκας.....	21
A2.2 Ορμονική δραστηριότητα	31
A2.3 Οιστρογόνα	40
<i>Βιοσύνθεση οιστρογόνων</i>	49
<i>Μεταβολισμός Οιστρογόνων</i>	51
A2.4 Οιστραδιόλη.....	53
A2.5. Οιστρογόνα και Ερυθροκύτταρα.....	60
A3.Αποθηκευτική Βλάβη του Ερυθροκυττάρου	63
<i>A3.1 Μορφολογικές μεταβολές</i>	64
<i>A3.3. Οξειδωτική βλάβη</i>	73
ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	82
B.1. Αντιδραστήρια – Συσκευές και Όργανα	82
ΔΙΑΛΥΜΑΤΑ-ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ	82
ΣΥΣΚΕΥΕΣ- ΟΡΓΑΝΑ.....	83
B.1.2 ΧΡΩΣΕΙΣ	84
B.2 Μέθοδοι	85
B2.1 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΟΜΑΔΑΣ ΑΙΜΑΤΟΣ ΚΑΤΑ ABO	87
(AABB Manual, 2012).....	87
B2.2 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΜΟΣ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ RHESUS (AABB Manual, 2012).....	89
<i>Προσδιορισμός Rh (D) τύπου- Δοκιμασία πλάκας</i>	89
B2.3 ΕΠΙΧΡΙΣΜΑ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ	90

B2.4 ΧΡΩΣΗ MAY GRUNWALD-GIEMSA (AABB Manual, 2012).....	92
B2.5 ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΗΣΗ	93
B2.6 ΟΣΜΩΤΙΚΗ ΕΥΘΡΑΥΣΤΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΩΝ	94
B2.6 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΛΕΥΘΕΡΗΣ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗΣ ΠΛΑΣΜΑΤΟΣ	96
(AABB Manual, 2012).....	96
B2.7 ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΔΕΙΚΤΗ ΜΑΖΑΣ ΣΩΜΑΤΟΣ (BMI).....	97
B2.8 FRAP- Αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος (Benzie & Stray1999).....	98
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	100
1. Δημογραφικά στοιχεία.	101
2. Κλινική εικόνα.	101
3. Αιματολογικός Έλεγχος.	103
4. Ωσμωτική Αντίσταση Ερυθροκυττάρων	117
5. Υπολογισμός Ελεύθερης Αιμοσφαιρίνης πλάσματος	118
6. Βιοχημικός και Ορμονολογικός Έλεγχος	118
7. Ολική Αντιοξειδωτική Ικανότητα	122
8. Ομάδες Αίματος	123
9. Καθημερινές συνήθειες	124
10. Στατιστική επεξεργασία.	132
ΣΥΖΗΤΗΣΗ	140
<i>Δ1. Θετική συσχέτιση της οιστραδιόλης με αιμοσφαιρίνη</i>	141
<i>Δ2. Θετική συσχέτιση της οιστραδιόλης με αιματοκρίτη και αριθμό ερυθρών αιμοσφαιρίων</i>	142
<i>Δ3. Δείκτης μάζας σώματος και επίπεδα οιστραδιόλης</i>	144
<i>Δ4. Ουρικό οξύ, ερυθρά, λευκά αιμοσφαίρια και αιμοπετάλια</i>	145
<i>Δ5. Λιπίδια και δείκτης μάζας σώματος</i>	146
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	147

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

A1.Ερυθροκύτταρο και Ερυθροκυτταρική Μembrάνη

Το αίμα είναι ο υγρός ιστός του ανθρώπινου οργανισμού. Αποτελείται από κύτταρα όπως ερυθροκύτταρα (red blood cells, RBCs), λευκοκύτταρα (white blood cells, WBCs), αιμοπετάλια ή θρομβοκύτταρα (platelets, PLTs), δικτυοερυθροκύτταρα (ΔΕΚ) και από μεσοκυττάρια ουσία (πλάσμα). Τα κύτταρα του αίματος αιωρούνται μέσα στο πλάσμα και ονομάζονται αιμοσφαίρια (Passini et al, 2010).

Το ερυθρό αιμοσφαίριο είναι το κύριο κυτταρικό συστατικό του αίματος και η συγκέντρωσή του είναι μεγαλύτερη σε σύγκριση με αυτή των άλλων κυττάρων του αίματος (Passini et al, 2010).

A1.1 Ερυθρό αιμοσφαίριο

Τα ερυθρά αιμοσφαίρια ταξιδεύουν σε όλο το σώμα άπειρες φορές κατά τη διάρκεια των 120 ημερών ζωής τους, πριν να εκκαθαριστούν τελικά από τον σπλήνα (Passini et al, 2010). Φυσιολογικά, ένας ενήλικας άνδρας έχει περίπου 5.000.000 ερυθροκύτταρα ανά μL (ολικού) αίματος και μια ενήλικη γυναίκα έχει περίπου 4.500.000 ερυθροκύτταρα ανά μL (ολικού) αίματος. Τα ερυθροκύτταρα αποτελούνται, στο μεγαλύτερο μέρος τους, από νερό, αιμοσφαιρίνη (hemoglobin, Hb), άλλες πρωτεΐνες και μικρά ποσά λιπιδίων (Passini et al, 2010).

Η Hb είναι υπεύθυνη για τη μεταφορά του οξυγόνου (O_2) σε όλους τους ιστούς του σώματος, βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα του ερυθροκυττάρου και, καθώς είναι χρωστική ουσία, είναι υπεύθυνη για το χαρακτηριστικό κόκκινο χρώμα του (Passini et al, 2010). Αποτελεί το μοναδικό μεταφορέα αερίων. Επίσης, η Hb, αποτελεί το 97% της διαλυτής άνυδρης ερυθροκυτταρικής πρωτεϊνικής μάζας και το 35% της συνολικής μάζας του ερυθροκυττάρου. Λόγω του ότι είναι αμφολύτης, συσσωρεύεται στην ερυθροκυτταρική μεμβράνη κατά τη διάρκεια της λύσης. Έτσι, διακυβεύεται ο εντοπισμός των πρωτεϊνών που βρίσκονται σε χαμηλή συγκέντρωση, κάτι που δεν αφορά μόνο τα διαλυτά τμήματα (Passini et al, 2010).

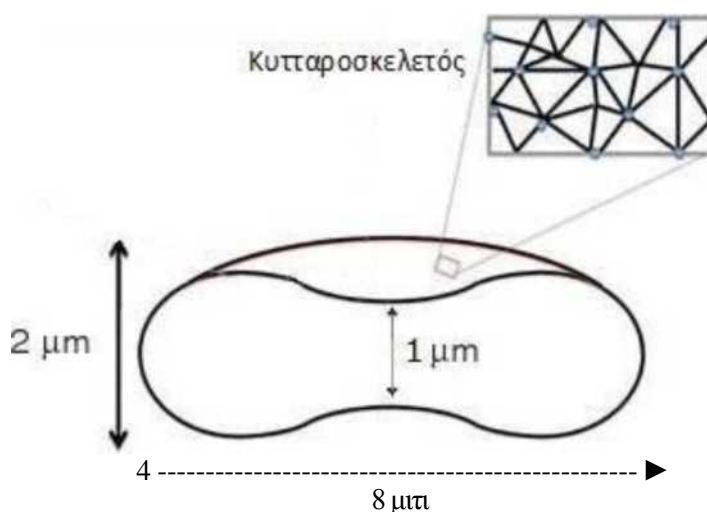
Α1. 1. 1. Ρόλος

Τα ερυθρά αιμοσφαίρια είναι ιδιαίτερα «δυναμικά» συστατικά του αίματος που δε συμμετέχουν μόνο στη μεταφορά αερίων, αλλά και στην αλληλεπίδραση με άλλα κύτταρα του αίματος, ενδοθηλιακά κύτταρα και πρωτεΐνες του πλάσματος (Passini et al, 2010).

Η κυριότερη λειτουργία τους είναι η μεταφορά του οξυγόνου σε όλο το σώμα, καθώς τα ερυθρά αιμοσφαίρια είναι οι μοναδικοί μεταφορείς οξυγόνου στον ανθρώπινο οργανισμό. Άλλες λειτουργίες τους είναι: α) η έκλυση του ενζύμου ανθρακική ανυδράση, που επιτρέπει στο νερό (H_2O) του αίματος τη μεταφορά του διοξειδίου του άνθρακα (CO_2) στους πνεύμονες, και β) ο έλεγχος του pH, κάτι που επιτυγχάνουν συμπεριφερόμενα ως οξεοβασικό ρυθμιστικό διάλυμα (Passini et al, 2010).

Α1. 1. 2. Μορφή

Τα ώριμα ερυθρά αιμοσφαίρια είναι τα μοναδικά ευκαρυωτικά κύτταρα (στα θηλαστικά), που είναι απύρρηνα και δεν έχουν οργανίδια στο κυτταρόπλασμα. Το μέγεθός τους είναι περίπου 8μm διάμετρος και 2μm πάχος (1μm στο κέντρο και 1,9-2,5μm στην περιφέρεια) (Εικόνα 1). Το σχήμα τους θυμίζει αμφίκοιλου δίσκου και καθορίζεται από τις ιδιότητες της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης και του υποκείμενου κυτταροσκελετικού δικτύου (Εικόνα 1). Αυτό το ασυνήθιστο αμφίκοιλο σχήμα είναι απαραίτητο για να επιτευχθεί η μεταφορά των αερίων ακόμα και σε τριχοειδή αγγεία μικρότερης διαμέτρου (Passini et al, 2010).



Εικόνα 1: Σχηματική αναπαράσταση του σχήματος και των διαστάσεων ενός υγιούς ερυθροκυττάρου. Το πλέγμα αναπαριστά το δίκτυο σπεκτρίνης στον κυτταροσκελετό. Πιο συγκεκριμένα, κάθε εξάγωνο πλέγμα αντιπροσωπεύει 6 μόρια σπεκτρίνης και οι γαλάζιες κουκίδες αντιπροσωπεύουν τα μόρια αγκυρίνης (Diez-Silva et al, 2010)

Όμως, επειδή η διάμετρος των ερυθρών αιμοσφαιρίων είναι μεγαλύτερη από αυτή κάποιων τριχοειδών αγγείων (3μm), παραμορφώνονται έτσι ώστε να περάσουν μέσα από αυτά και έπειτα επανέρχονται στην κανονική τους μορφή (παραμορφωσιμότητα). Η παραμόρφωση αυτή είναι εφικτή χάρη στην ελαστικότητα του ερυθροκυττάρου, η οποία οφείλεται στη μεμβράνη (Passini et al, 2010, Svetina, 2012).

Ο όγκος του ερυθροκυττάρου ρυθμίζεται μέσω: α) της ενεργής μεμβρανικής μεταφοράς (π.χ. αντλίες), β) της καθοδηγούμενης από την κλίση, παθητικής μεταφοράς και γ) ενός αριθμού καναλιών (Passini et al, 2010).

Α1. 1. 3. Άλλες ιδιότητες

Τα ερυθρά αιμοσφαίρια βρίσκονται διαρκώς σε κίνηση στην κυκλοφορία του αίματος. Επίσης, το γεγονός ότι στην ώριμη μορφή τους δεν έχουν οργανίδια συνδεδεμένα με τη μεμβράνη, απλοποιεί την πρωτεομική ανάλυση της μεμβράνης.

Γενικά, το ερυθρό αιμοσφαίριο, σε σύγκριση με πολλά άλλα είδη κυττάρων, μπορεί εύκολα να απομονωθεί *ex vivo* (Passini et al, 2010).

Τα ερυθρά αιμοσφαίρια είναι πρώιμοι στόχοι της οξειδωτικής καταστροφής, καθώς είναι μεταφορείς οξυγόνου (Passini et al, 2010).

Το ερυθροκύτταρο περιέχει περίπου 1578 διαφορετικές κυτταροπλασματικές πρωτεΐνες. Από αυτές, 340 έχουν αναγνωρισθεί ως μεμβρανικές πρωτεΐνες (Passini et al, 2010, Hess et al, 2010).

A1. 2. Ερυθροκυτταρική μεμβράνη

A1. 2. 1. Ρόλος

Η μεμβράνη των ερυθρών αιμοσφαιρίων ήταν και είναι ιδιαίτερα χρήσιμη ως μοντέλο για μελέτες της μεμβρανικής δομής. Είναι η βιολογική μεμβράνη που έχει μελετηθεί εκτενέστερα, καθώς τα ερυθρά αιμοσφαίρια δεν περιέχουν πυρήνα ή εσωτερικά οργανίδια και έτσι αντιπροσωπεύουν μια πηγή από την οποία μπορεί εύκολα να απομονωθεί «καθαρή» πλασματική μεμβράνη. Αποτελεί μόλις το 1% του βάρους του ερυθροκυττάρου, αλλά παρόλα αυτά ο ρόλος της είναι ιδιαίτερης σημασίας για τη διατήρηση της ακεραιότητάς του (Passini et al, 2010, Svetina, 2010).

Πιο συγκεκριμένα, η ερυθροκυτταρική μεμβράνη είναι υπεύθυνη για τις εξής λειτουργίες:

- Το διαχωρισμό των περιεχομένων του κυττάρου από το πλάσμα.
- Τη διατήρηση του χαρακτηριστικού σχήματος του ερυθροκυττάρου (Passini et al, 2010, Svetina., 2010).
- Τη ρύθμιση της συγκέντρωσης των ενδοκυττάρων κατιόντων (Passini et al, 2010).
- Τις αλληλεπιδράσεις του ερυθροκυττάρου με τα άλλα κύτταρα και γενικά την επικοινωνία του με το γύρω περιβάλλον, μέσω υποδοχέων που βρίσκονται στην επιφάνεια της μεμβράνης (Passini et al, 2010).
- Η ικανότητα του ερυθροκυττάρου να ανταποκρίνεται όταν προκύπτει ανάγκη παραμόρφωσης, εξαρτάται από τη μεμβράνη του (Passini et al, 2010, Svetina, 2010). Όταν ασκείται πίεση στο ερυθρό αιμοσφαίριο, τότε τα μόρια της σπεκτρίνης υφίστανται αναστρέψιμη αλλαγή στη δομή τους. Στην περίπτωση πολύ έντονης ή παρατεταμένης πίεσης, η μεμβράνη παρουσιάζει μόνιμη παραμόρφωση. Η παραμόρφωση μπορεί να ελαττωθεί με αυξήσεις των ενώσεων μεταξύ των πρωτεϊνών του σκελετού, ή μεταξύ των διαμεμβρανικών πρωτεϊνών και των πρωτεϊνών του σκελετού (Passini et al, 2010, Svetina, 2010). Γενικά, το αμφίκυκλο σχήμα του ερυθρού αιμοσφαιρίου προκύπτει από την αλληλεπίδραση της λιπιδικής διπλοστιβάδας

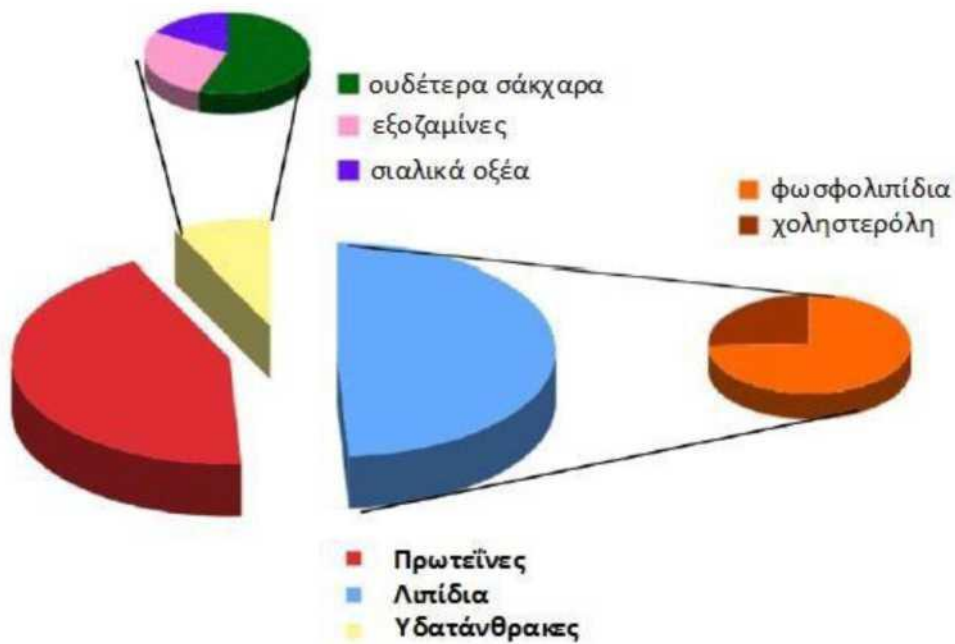
με τις κυτταροσκελετικές πρωτεΐνες. Η οσμωτικότητα και το εμβαδόν επιφανείας ως προς τον όγκο, το pH και οι αποκλίσεις των συγκεντρώσεων των κατιόντων (χαμηλά επίπεδα καλίου (K⁺), υψηλά επίπεδα νατρίου (Na⁺) και ασβεστίου (Ca²⁺), η απόκλιση της φόρτισης μεταξύ των επιφανειών της μεμβράνης, όλα είναι βασικές παράμετροι για την εξασφάλιση της ρευστότητας και της παραμορφωσιμότητας της μεμβράνης. Τα παραπάνω επιτρέπουν στο ερυθροκύτταρο να ανταποκρίνεται γρήγορα στις μεταβολές του περιβάλλοντος, όπως π.χ. στα διάφορα μεγέθη των τριχοειδών αγγείων (Passini et al, 2010).

Α1. 2. 2. Σύνθεση

Η θεμελιώδης δομή της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης είναι η φωσφολιπιδική διπλοστιβάδα. Πιο συγκεκριμένα, η ερυθροκυτταρική μεμβράνη είναι μία ασύμμετρη λιπιδική διπλοστιβάδα, η οποία αποτελείται από πρωτεΐνες, λιπίδια και υδατάνθρακες που σχετίζονται στενά αναμεταξύ τους. Ενώ ένας αριθμός πρωτεϊνών διαπερνά τη μεμβράνη (διαμεμβρανικές πρωτεΐνες), αρκετές πρωτεΐνες (π.χ. γλυκολυτικά ένζυμα, πρωτεΐνες του κυτταροσκελετικού δικτύου) συνδέονται με τη μεμβράνη μόνο μέσω αλληλεπιδράσεων με άλλα μεμβρανικά συστατικά. Το είδος, και κατ' επέκταση οι δυνάμεις των αλληλεπιδράσεων, εξαρτώνται από τα χαρακτηριστικά των εμπλεκόμενων πρωτεϊνών (π.χ. ιοντικές αλληλεπιδράσεις, δεσμοί υδρογόνου) (Passini et al, 2010).

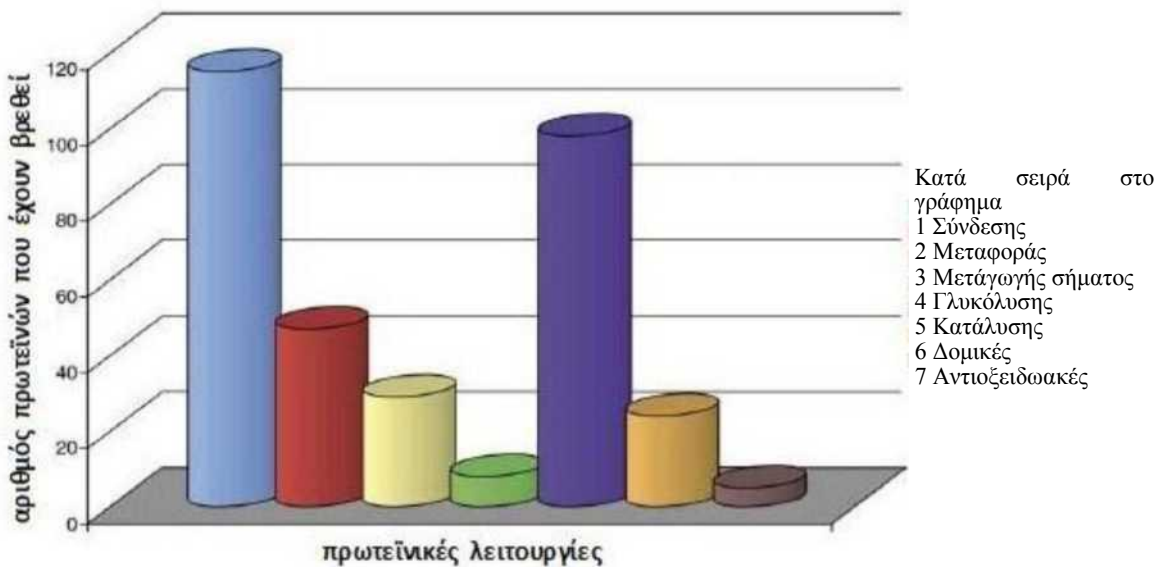
Συνοψίζοντας, η ερυθροκυτταρική μεμβράνη αποτελείται από μία διπλοστιβάδα λιπιδίων και ένα σκελετό, ο οποίος είναι ένα κλειστό, δύο διαστάσεων δίκτυο από τετραμερή σπεκτρίνης (Svelc et al, 2012)

- Η ερυθροκυτταρική μεμβράνη αποτελείται από πρωτεΐνες (49%), λιπίδια (44%), εκ των οποίων το 33% είναι φωσφολιπίδια και το 11% χοληστερόλη, και υδατάνθρακες (7%), εκ των οποίων το 4% είναι ουδέτερα σάκχαρα, το 2% εξοζαμίνες και το 1% σιαλικά οξέα (*Εικόνα 2*) (Passini et al, 2010).



Εικόνα 2: Τα ποσοστά των κύριων συστατικών της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης (Passini et al, 2010).

Η ερυθροκυτταρική μεμβράνη είναι πλούσια σε λιπίδια (Passini et al, 2010). Όμως, παρόλο που τα λιπίδια είναι τα βασικά δομικά στοιχεία της, οι πρωτεΐνες είναι αυτές που είναι υπεύθυνες για τη διεκπεραίωση συγκεκριμένων λειτουργιών της (Εικόνα 3)



Εικόνα 3: Οι λειτουργίες των πρωτεϊνών της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης (Passini et al, 2010).

Οι πρωτεΐνες της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης διαχωρίζονται σε δύο ομάδες, τις διαμεμβρανικές και τις περιφερειακές ή σκελετικές. Εκτός από αυτόν το διαχωρισμό, υπάρχει και μια πιο λειτουργική κατάταξη, σύμφωνα με την οποία οι μεμβρανικές πρωτεΐνες αναγνωρίζονται ως: α) κυτταροσκελετικές πρωτεΐνες, π.χ. σπεκτρίνη και ακτίνη, οργανωμένες σε ένα δίκτυο, β) διαμεμβρανικές πρωτεΐνες, π.χ. πρωτεΐνη-ζώνη-3, γλυκοφορίνες, ενσωματωμένες στη λιπιδική διπλοστιβάδα, ή γ) συνδετικές πρωτεΐνες, π.χ. αγκυρίνη, πρωτεΐνη 4.2 (Passini et al, 2010).

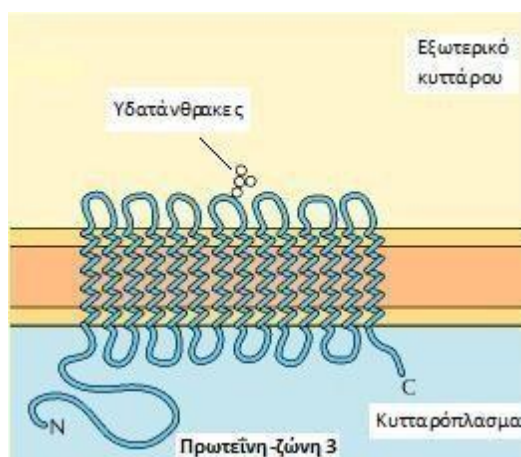
A1. 2. 3. Διαμεμβρανικές πρωτεΐνες

Διαμεμβρανικές ονομάζονται οι πρωτεΐνες, τμήματα των οποίων εισχωρούν στη διπλοστιβάδα των λιπιδίων. Οι κυριότερες εξ αυτών είναι η πρωτεΐνη-ζώνη 3 και οι γλυκοφορίνες (A, B, C, D, E).

α) Πρωτεΐνη-ζώνη-3

Η πρωτεΐνη-ζώνη-3 (band-3) είναι η κύρια διαμεμβρανική πρωτεΐνη του ερυθροκυττάρου (Hess et al, 2010). Είναι ένα ιδιαίτερα υδρόφοβο συστατικό της μεμβράνης, όπου βρίσκεται σε αφθονία (Passini et al, 2010). Ειδικότερα, έχει υπολογιστεί ότι υπάρχουν ένα εκατομμύριο αντίγραφα της σε κάθε κύτταρο, κάτι που την κάνει να αποτελεί το 30% του μεμβρανικού πρωτεόματος (Passini et al, 2010).

Η λειτουργία της πρωτεΐνης-ζώνης 3 έχει κατανοηθεί επαρκώς. Αυτή η πρωτεΐνη, είναι ο μεταφορέας ανιόντων που είναι υπεύθυνος για τη διαμεμβρανική μεταφορά των ιόντων όξινου ανθρακικού (ή αλλιώς διτανθρακικά ανιόντα, bicarbonate, HCO_3^-) και χλωρίου (Cl^-) στα ερυθρά αιμοσφαίρια. Η πολυπεπτιδική της αλυσίδα αποτελείται από 929 αμινοξέα. Μέσα στη μεμβράνη, τα διμερή της πρωτεΐνης-ζώνης 3 σχηματίζουν σφαιρικές δομές που περιέχουν εσωτερικά κανάλια, μέσω των οποίων τα ιόντα μπορούν να περνούν μέσα από τη λιπιδική διπλοστιβάδα (Εικόνα 4).



Εικόνα 4: Σχηματική αναπαράσταση της πρωτεΐνης-ζώνη 3 (σχηματισμός μπλε χρώματος), που διαπερνά τη λιπιδική διπλοστιβάδα (κίτρινο-πορτοκαλί χρώμα). N: αμινοτελικό άκρο, C: καρβοξυλικό άκρο. (Cooper, Structure of Plasma membrane, 2000)

Η διατήρηση της ιοντικής ισορροπίας επιτυγχάνεται κυρίως χάρη στην πρωτεΐνη-ζώνη 3. Χωρίς αμφιβολία, η πρωτεΐνη-ζώνη 3, είναι ο σημαντικότερος ερυθροκυτταρικός μεταφορέας. Δρα ως ανιοντοανταλλάκτης, δηλαδή έχει την ικανότητα να ανταλλάσσει ταχύτατα HCO_3^- και Cl^- , ενώ τα μεγαλύτερα ανιόντα (π.χ. θειικά ανιόντα, φωσφορικά ανιόντα) μεταφέρονται με πιο αργούς ρυθμούς (Passini et al, 2010).

Επιπλέον, η πρωτεΐνη-ζώνη 3, είναι σημαντικό σημείο σύνδεσης για τον κυτταροσκελετό και για άλλες πρωτεΐνες του ερυθροκυττάρου. Συνδέει τη λιπιδική διπλοστιβάδα με τον υποκείμενο κυτταροσκελετό της μεμβράνης. Αυτό το επιτυγχάνει, κατά πρώτον αλληλοεπιδρώντας με την αγκυρίνη και την πρωτεΐνη 4.2 και κατά δεύτερον μέσω σύνδεσής της με την πρωτεΐνη 4.1 (Passini et al, 2010).

β) Γλυκοφορίνες

Οι γλυκοφορίνες (glycophorines), στο σύνολό τους, είναι οι διαμεμβρανικές πρωτεΐνες του ερυθροκυττάρου που βρίσκονται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση. Είναι μικρές γλυκοπρωτεΐνες αποτελούμενες από 131 αμινοξέα. Το μοριακό τους βάρος είναι περίπου 30.000 kDa, μισό από το οποίο είναι πρωτεΐνη και μισό υδατάνθρακας. Επίσης, έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε σιαλικά οξέα (σιαλογλυκοπρωτεΐνες) (Passini

et al, 2010).

Μπορούν να διαιρεθούν σε δύο υποομάδες βάσει της ομοιότητάς τους στη γονιδιακή τους δομή. Οι γλυκοφορίνες A, B και E (GPA, GPB, GPE) προέρχονται από συγγενή γονίδια, ενώ οι γλυκοφορίνες C και D (GPC, GPD) προκύπτουν από μία ενιαία περιοχή (μέσω εναλλασσόμενου ματίσματος του mRNA) (Passini et al, 2010).

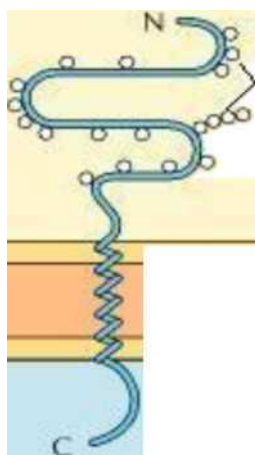
Η GPA είναι υπεύθυνη για την αρνητικά φορτισμένη επιφάνεια του ερυθροκυττάρου. Επίσης, υποδεικνύεται ότι μπορεί να έχει μια λειτουργία, πέραν του δομικού της ρόλου στην επιφάνεια του ερυθροκυττάρου, ως πρωτεΐνη- συνοδός κατά την μετακίνηση της πρωτεΐνης-ζώνης 3 προς την ερυθροκυτταρική μεμβράνη. Η λειτουργία της GPB δεν είναι ξεκάθαρη. Η GPC είναι σημαντική για τη σύνδεση του κυτταροσκελετικού δικτύου στη μεμβράνη. Η GPD μεταφράζεται από το ίδιο mRNA που μεταφράζεται και η GPC, αλλά υπολείπεται των 30 πρώτων καταλοίπων. Το προϊόν του γονιδίου ονομαζόμενο GPE δεν έχει αναγνωριστεί ακόμα. (Passini et al, 2010).

Παρόλο που οι γλυκοφορίνες είναι οι πρώτες διαμεμβρανικές πρωτεΐνες που χαρακτηρίστηκαν, η ακριβής τους λειτουργία παραμένει αδιευκρίνιστη (Εικόνα 5).

Υδατάνθρακες
Εξωτερικό κυττάρου

Κυτταρόπλασμα

Γλυκοφορίνη



Εικόνα 5: Αναπαράσταση της γλυκοφορίνης, που διαπερνά τη λιπιδική διπλοστιβάδα (κίτρινο-πορτοκαλί χρώμα). N: αμινοτελικό άκρο, C: καρβοξυλικό άκρο (Cooper Structure of Plasma membrane, 2000)

A1.2. 4. Περιφερειακές πρωτεΐνες

Οι περισσότερες από τις πρωτεΐνες της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης είναι περιφερειακές πρωτεΐνες. Περιφερειακές ονομάζονται οι πρωτεΐνες που αλληλεπιδρούν με πρωτεΐνες και λιπίδια στη μεμβρανική επιφάνεια, αλλά δεν εισχωρούν στο υδρόφοβο εσωτερικό της λιπιδικής διπλοστιβάδας. Συνδέονται έμμεσα με τη μεμβράνη μέσω των αλληλεπιδράσεών τους με τις διαμεμβρανικές πρωτεΐνες. Επίσης, αλληλεπιδρούν μεταξύ τους με σκοπό το σχηματισμό του κυτταροσκελετού.

α) Σπεκτρίνη

Η περιφερειακή πρωτεΐνη που βρίσκεται σε υψηλότερη συγκέντρωση στα ερυθροκύτταρα είναι η σπεκτρίνη (spectrin), η οποία είναι η κύρια κυτταροσκελετική πρωτεΐνη. Η σπεκτρίνη αποτελεί το 75% του κυτταροσκελετού. Ειδικότερα, υπάρχουν 100.000 αντίγραφα της σε κάθε κύτταρο (Passini et al, 2010).

Τα μόρια της σπεκτρίνης είναι ραβδοειδή και πολύ ελαστικά, καθώς είναι οργανωμένα σε μία ιδιαίτερα σπειροειδή, ελικοειδή κατάσταση. Έτσι, τους προσδίδονται ιδιότητες ελατηρίου και η ικανότητα να διαστέλλονται και να συστέλλονται (Passini et al, 2010).

Δομικά, η σπεκτρίνη, αποτελείται από δύο διακριτά μέρη, την α-σπεκτρίνη (α -Sp) και τη β-σπεκτρίνη (β -Sp). Είναι δύο πολυπεπτιδικές αλυσίδες, οι οποίες περιπλέκονται μεταξύ τους για το σχηματισμό διμερών, που με τη σειρά τους σχηματίζουν τετραμερή. Τα τετραμερή της σπεκτρίνης ($\alpha_2\beta_2$) είναι τα συστατικά «κλειδιά» του κυτταροσκελετικού δικτύου, που ρυθμίζουν το σχήμα του κυττάρου, την παραμορφωσιμότητα της μεμβράνης, τη σταθερότητα της μεμβράνης και την πλευρική κινητικότητα της πρωτεΐνης-ζώνης 3 (Passini et al, 2010).

β) Ακτίνη

Μια άλλη περιφερειακή πρωτεΐνη είναι η ακτίνη (actin), η οποία είναι μια πρωτεΐνη σφαιρικού σχήματος. Αποτελείται από ομοιόμορφα νημάτια, μικρού μήκους, τα οποία συμβάλλουν στη σύνδεσή της με τα άκρα της α-σπεκτρίνης και της β-σπεκτρίνης (Passini et al, 2010).

Η ακτίνη συμμετέχει στο κομβικό σύμπλεγμα. Ο ρόλος της σε αυτό είναι σημαντικός, καθώς ο λόγος της πολυμερισμένης προς τη μη πολυμερισμένη ακτίνη ελέγχει την ελαστικότητα της μεμβράνης, που αυξάνεται όταν ο πολυμερισμός της ακτίνης αναστέλλεται. Ο στενός έλεγχος γύρω από αυτήν την αναλογία διενεργείται από τέσσερις δευτερεύουσες, κυτταροσκελετικές πρωτεΐνες, την τροπομοντουλίνη, την τροπομουοσίνη, τα ετεροδιμερή της αβ-αντουσίνης και τη δεματίνη (πρωτεΐνη 4.9). Τα συμπλέγματα τροπομοντουλίνης - τροπομουοσίνης σταθεροποιούν τα κοντά νημάτια της ακτίνης, που ενισχύουν τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ σπεκτρίνης και ακτίνης. Η δεματίνη τυλίγει τα νημάτια της ακτίνης υπό μορφή «καλωδίων», ενώ οι αδουσίνες συμμετέχουν τόσο στην προσαρμογή, όσο και στο τύλιγμα των νηματίων της ακτίνης. Επίσης, οι αδουσίνες, παίζουν ένα ρόλο στην έγκαιρη συναρμολότητα των συμπλεγμάτων σπεκτρίνης - ακτίνης, σχηματίζοντας ένα τριμερές σύμπλεγμα σπεκτρίνης - ακτίνης - αδουσίνης (Passini et al, 2010).

γ) Πρωτεΐνη 4.1

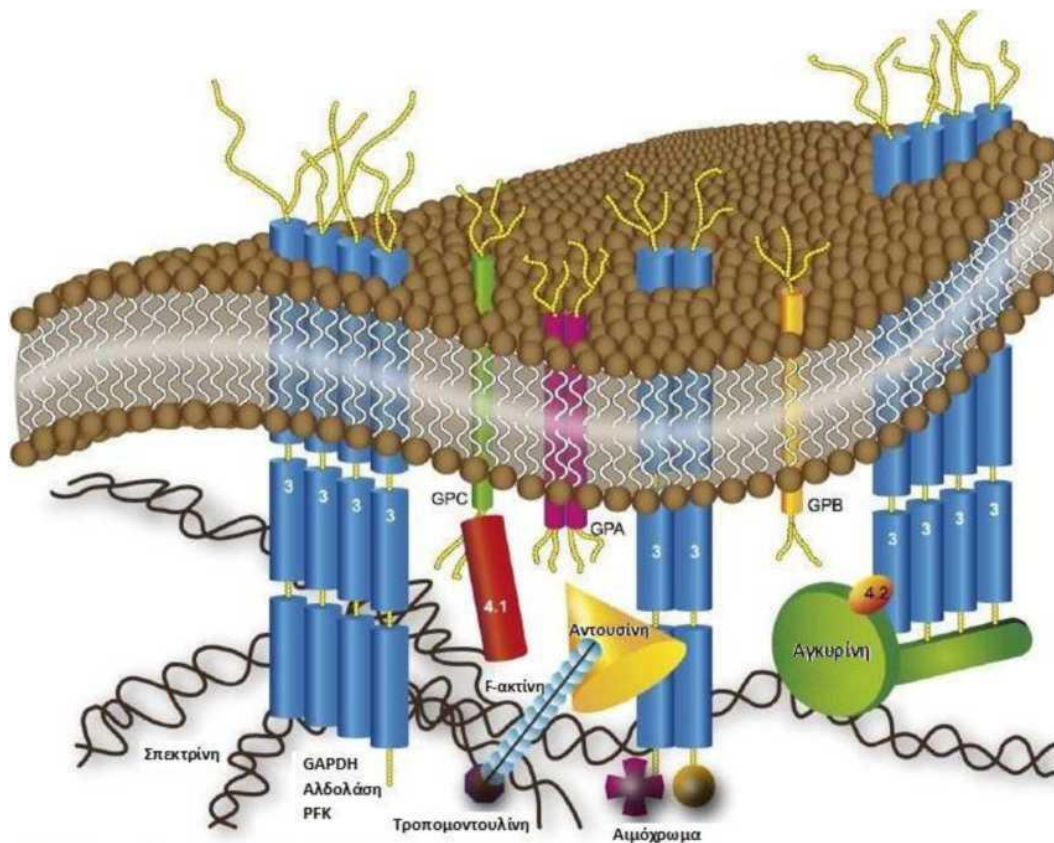
Η πρωτεΐνη 4.1 έχει σφαιρικό σχήμα και παρέχει έναν επιπλέον δεσμό μεταξύ της μεμβράνης και του κυτταροσκελετού. Αυτό το επιτυγχάνει συνδεόμενη στα σημεία ένωσης της σπεκτρίνης και της ακτίνης, αλλά και στις γλυκοφορίνες A και C και στην πρωτεΐνη-ζώνη-3 (Cooper, Structure of Plasma membrane, 2000). Επίσης, η πρωτεΐνη 4.1, διαμορφώνει την αλληλεπίδραση της σπεκτρίνης, μέσω της αγκυρίνης, με την ερυθροκυτταρική μεμβράνη. Από την άλλη, η αλληλεπίδραση της πρωτεΐνης 4.1 με τη γλυκοφορίνη C, ρυθμίζεται από την p55 (Passini et al, 2010).

δ) Αγκυρίνη

Η αγκυρίνη (ankyrin) είναι μια περιφερειακή πρωτεΐνη πυραμιδοειδούς σχήματος και μεγάλου μεγέθους. Λειτουργεί ως ο κύριος σύνδεσμος μεταξύ της μεμβράνης και του κυτταροσκελετού, καθώς συνδέεται με τα τετραμερή της σπεκτρίνης και με την πρωτεΐνη-ζώνη 3. Ουσιαστικά, συνδέει τον σκελετό της μεμβράνης (κυτταροσκελετό) με τη λιπιδική διπλοστιβάδα.

Α1. 2. 5. Κυτταροσκελετός

Ο κυτταροσκελετός βρίσκεται κάτω από την ερυθροκυτταρική μεμβράνη (υπομεμβρανικός) και καθορίζει το σχήμα του κυττάρου (Εικόνα 6). Είναι ένα οργανωμένο δίκτυο πρωτεϊνών που περιλαμβάνει κύρια (π.χ. σπεκτρίνη, ακτίνη, πρωτεΐνη 4.1, αγκυρίνη) και δευτερεύοντα συστατικά (π.χ. πρωτεΐνη 4.2, δεματίνη, αδουσίνη, τροπομυοσίνη, τροπομοντουλίνη, κ.α.), πολλά από τα οποία αλληλεπιδρούν όχι μόνο μεταξύ τους, αλλά και με πρωτεΐνες και λιπίδια της μεμβράνης (Εικόνα 6). Τα ερυθροκυτταρικά πρωτεόματα επιβεβαιώνουν την παρουσία όλων των ήδη γνωστών, κύριων πρωτεϊνών και υποδεικνύουν την παρουσία ενός αριθμού κυτταροσκελετικών πρωτεϊνών χαμηλής συγκέντρωσης (π.χ. μυοσίνη, μοεσίνη, εζρίνη, ραδιξίνη, κ.α.), η φυσιολογική λειτουργία των οποίων παραμένει απροσδιόριστη (Passini et al, 2010).



Εικόνα 6: Μοντέλο της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης και του υποκείμενου υπομεμβρανικού κυτταροσκελετού. Απλοποιημένη σχηματική αναπαράσταση της αλληλεπίδρασης μεταξύ της μεμβράνης και του (υποκείμενου) κυτταροσκελετού (Passini et al, 2010).

Οι λειτουργίες του κυτταροσκελετικού δικτύου ρυθμίζονται από το είδος και την έκταση των μετα-μεταφραστικών τροποποιήσεων (post-translational modifications, PTMs). Η αναδιάταξη του κυτταροσκελετικού δικτύου, που ακολουθεί την παραμόρφωση της μεμβράνης, είναι δυνατή χάρη στην καθεαυτή δομική της διάταξη και στις δυναμικές μεταβολές μεταξύ εκτεταμένων και συμπιεσμένων διαμορφώσεων. Η σύνδεση του κυτταροσκελετικού δικτύου στη μεμβράνη προκαλείται από τις αλληλεπιδράσεις των σπεκτρίνη - αγκυρίνη - πρωτεΐνη-ζώνη 3 και των σπεκτρίνη - πρωτεΐνη 4.1 - γλυκοφορίνη C (Passini et al, 2010).

Όπως επισημάνθηκε, η πλαστικότητα του κυτταροσκελετού ρυθμίζεται από τις PTMs και κυρίως από την κατάσταση φωσφορυλίωσης των εμπλεκόμενων πρωτεϊνών, οι οποίες με τη σειρά τους σχετίζονται με τη μηχανική σταθερότητα της μεμβράνης, όπου η αυξημένη φωσφορυλίωση μειώνει τη σταθερότητα της μεμβράνης (Passini et al, 2010).

A2.1 Αναπαραγωγικό Σύστημα Γυναίκας

Το αναπαραγωγικό σύστημα της γυναίκας διαθέτει μια σειρά από σύνθετους και αλληλεξαρτώμενους μηχανισμούς (κυρίως ορμονικούς και νευρικούς μηχανισμούς) που απαιτούνται για να επιτευχθούν οι παρακάτω 6 βασικές λειτουργίες:

- i) Τη παραγωγή θηλυκών γαμετών (τα ωάρια), με τη διαδικασία της ωογένεσης.
- ii) Τη προετοιμασία για υποδοχή των αρσενικών γαμετών (τα σπερματοζώαρια).
- iii) Τη παροχή ενός κατάλληλου περιβάλλοντος για τη γονιμοποίηση των ωαρίων με τα σπερματοζώαρια.
- iv) Την εξασφάλιση ενός περιβάλλοντος για την ανάπτυξη του εμβρύου.
- v) Την απομάκρυνση του ανεπτυγμένου εμβρύου στο εξωτερικό περιβάλλον.
- vi) Τέλος, τη διατροφή του νεογνού μέσω της μητέρας, (χρήσιμες ουσίες που απαιτούνται για την πλήρη ανάπτυξη του νεογνού) [Young, Barbara, 2006]

Συνοψίζοντας, ο βασικός στόχος του αναπαραγωγικού συστήματος της γυναίκας είναι η προετοιμασία του οργανισμού για τη σύλληψη και έπειτα ακολούθως η διαδικασία της ανάπτυξης και ωρίμανσης ενός εμβρύου, δηλ. το στάδιο της εγκυμοσύνης. Βασική προϋπόθεση για τη συνεχή προετοιμασία του οργανισμού και δημιουργία ενδεχόμενης γονιμοποίησης, είναι η διαδικασία του καταμήνιου ή εμμηνορρυσιακού ή έμμηνου κύκλου. Ο καταμήνιος κύκλος στο αναπαραγωγικό σύστημα της γυναίκας είναι μια συνεχιζόμενη, επαναλαμβανόμενη διαδικασία με απώτερο στόχο την γονιμοποίηση.

Καταμήνιος Κύκλος

Ο καταμήνιος κύκλος είναι το αποτέλεσμα μια αρμονικής λειτουργίας και συνεργασίας του υποθαλάμου, της υπόφυσης, των ωθηκών και του ενδομητρίου. (Shannon M. Hawkins et al, 2008)

Πριν την ανάλυση του εμμηνορρυσιακού κύκλου, καθίσταται απαραίτητη η ανάλυση των συστημάτων που συντελούν στην ομαλή και συνεχιζόμενη διεξαγωγή του.

Υποθάλαμος

Ο υποθάλαμος είναι τμήμα του διεγκεφάλου, στην βάση του εγκεφάλου, και αποτελεί το έδαφος και τμήμα των πλαγίων τοιχωμάτων της τρίτης κοιλίας (Εικόνα 7). (Ιωάννης Μ. Μπόντης, 2007)

Μέσα στον υποθάλαμο υπάρχουν διάφορες ομάδες νευρικών κυττάρων, όπου ονομάζονται πυρήνες του υποθαλάμου. Οι πυρήνες του υποθαλάμου εκκρίνουν νευροορμόνες με εκλυτική ή ανασταλτική δράση μέσα στην κυκλοφορία του πυλαίου φλεβικού συστήματος, οι οποίες μεταφέρονται στην αδενούπόφυση (ή υπόφυση) και μεταβάλλουν τη λειτουργία της κυκλοφορίας.

Οι ορμόνες αυτές είναι:

- η GnRH (εκλυτική ορμόνη των γοναδοτροπινών)
- η GHRH (εκλυτική ορμόνη της αυξητικής ορμόνης)
- η TRH (εκλυτική ορμόνη της TSH)
- η CRH (εκλυτική ορμόνη της ACTH)
- η ντοπαμίνη.

(Γεώργιος Μ. Ιατράκης, 2012)

Υπόφυση

Η υπόφυση είναι ένας αδένας, όπου αποτελεί μέρος του εγκεφάλου (Εικόνα 7). Πιο συγκεκριμένα βρίσκεται κάτω από την περιοχή του υποθαλάμου εντός του θύλακα, που ονομάζεται τουρκικό εφίππιο (Εικόνα 7). Η επικοινωνία υποθαλάμου-υπόφυσης επιτυγχάνεται διαμέσου ενός μίσχου, του χοανοειδούς δακτυλίου. Κύρια λειτουργία της υπόφυσης είναι η παραγωγή ορμονών με διάφορες δράσεις.

Επιπροσθέτως, η υπόφυση αποτελείται από τον πρόσθιο λοβό (αδενούπόφυση) και τον οπίσθιο λοβό (νευροϋπόφυση) (Ιωάννης Μ. Μπόντης, 2007).

i) Από την αδενούπόφυση εκκρίνονται οι εξής ορμόνες:

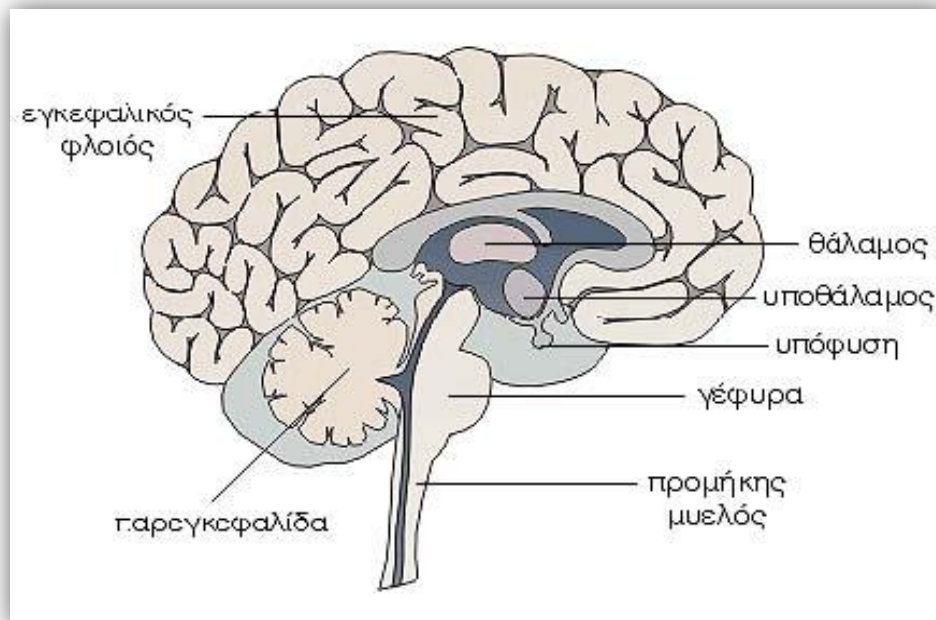
- η ωοθυλακιοτρόπος ορμόνη (FSH),

- η ωχρινοποιητική ορμόνη (LH)
- η αυξητική ή σωματοτρόπος ορμόνη (GH),
- η θυρεοειδοτρόπος ορμόνη (TSH)
- η φλοιοεπινεφριδιοτρόπος ορμόνη (ACTH), και
- η προλακτίνη (PRL).

(Γεώργιος Μ. Ιατράκης, 2012)

ii) Από την νευροϋπόφυση εκκρίνονται οι εξής ορμόνες:

- η αγγειοπρεσίνη (αντιδιουρητική ορμόνη, ADH)
- η ωκυτοκίνη



Εικόνα 7: Απεικόνιση του εγκεφάλου (ανατομική θέση των τμημάτων υποθαλάμου-υπόφυσης)

Γενικές πληροφορίες για τον εμμηνορρυσιακό κύκλο

Ο εμμηνορρυσιακός κύκλος όπως αναφέρθηκε και παραπάνω σηματοδοτεί το αποτέλεσμα μιας αρμονικής λειτουργίας και συνεργασίας πολλαπλών οργάνων και μηχανισμών (Hacker and Moore, 2010).

Τους κύριους ρυθμιστές του έμμηνου κύκλου αποτελούν οι ενδοκρινείς αδένες, όπου διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο για την αναπαραγωγή της γυναίκας.

Ωστόσο, σύμφωνα με πρόσφατες επιστημονικές έρευνες ο εμμηνορρυσιακός κύκλος μπορεί εύκολα να διαταραχθεί από περιβαλλοντικούς παράγοντες, όπως είναι το άγχος, η υπερβολική άσκηση, οι διατροφικές συνήθειες και παχυσαρκία.

Η διαταραχή μπορεί να οφείλεται και σε γενετικούς παράγοντες όπως, η διαταραχή του χρωμοσώματος X ή διάφορες σημειακές μεταλλάξεις (GALT) (Shannon M. Hawkins et al, 2008).

Φυσιολογία του Εμμηνορρυσιακού Κύκλου

Αναφορικά, ο εμμηνορρυσιακός κύκλος της γυναίκας περιλαμβάνει δυο κύριες διαδικασίες: Αρχικά, επιτελείται η ωρίμανση και η απελευθέρωση ενός ωαρίου, ικανού για γονιμοποίηση. Στη συνέχεια πραγματοποιείται η κατάλληλη προετοιμασία του ενδομητρίου για την εμφύτευση του γονιμοποιηθέντος ωαρίου.

Για την επίτευξη των παραπάνω διαδικασιών ο καταμήνιος κύκλος διαιρείται σε 4 κύριες φάσεις:

ΦΑΣΕΙΣ ΕΜΜΗΝΟΡΡΥΣΙΑΚΟΥ ΚΥΚΛΟΥ	
i)	Εμμηνορρυσιακή φάση
ii)	Ωοθηλακική φάση ή Παραγωγική φάση
iii)	Φάση Ωορρηξίας
iv)	Ωχρινική ή Εκκριτική φάση

i) Εμμηνορρυσιακή φάση

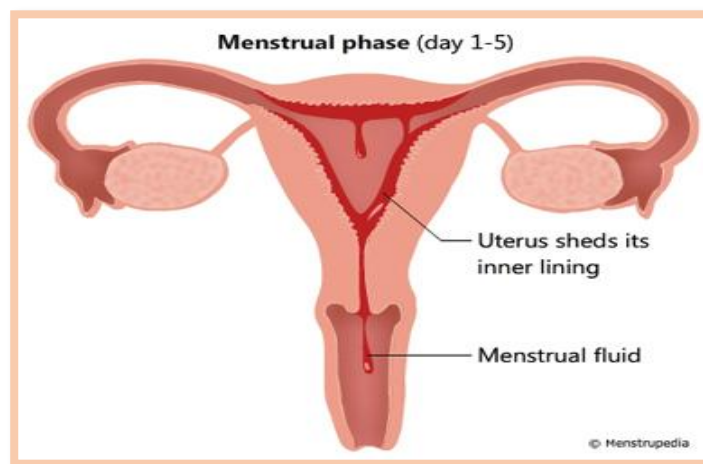
Η εμμηνορρυσιακή φάση αποτελεί την πρώτη φάση του εμμηνορρυσιακού κύκλου, η οποία αρχίζει την 1^η ημέρα και διαρκεί μέχρι την 5^η ημέρα του έμμηνου κύκλου. Στη φάση αυτή πραγματοποιείται η έμμηνος ρύση της γυναίκας (Young, Barbara, 2006). Ως έμμηνος ρύση χαρακτηρίζεται η αιμορραγική φάση των κυκλικών μεταβολών που συμβαίνουν στο ενδομήτριο της γυναίκας από την ήβη* μέχρι την εμμηνόπαυση. (Ιωάννης Μ. Μπόντης, 2007).

Η έμμηνος ρύση αποτελεί την αρχή της διαδικασίας του εμμηνορρυσιακού κύκλου, και κατά συνέπεια της εμμηνορρυσιακής φάσης, και γίνεται αντιληπτό, όταν προκαλείται αιμορραγία στην περιοχή της μήτρας, της γυναίκας.

Η διάρκεια της εμμήνου ρύσεως κυμαίνεται στις 3-5 ημέρες στο μεγαλύτερο ποσοστό των γυναικών (από 2 έως 7 ημέρες θεωρείται φυσιολογική) . Στο διάστημα αυτό, της αιμορραγίας η απώλεια αίματος που καθίσταται φυσιολογική είναι από 10ml έως 80ml.

Η έμμηνος ρύση προκαλείται από τη μήτρα και αποβάλλεται μέσω του τραχήλου και των αιμοφόρων αγγείων, το ενδομήτριο (Εικόνα 8).

Κατά την αποβολή του έμμηνου υγρού πραγματοποιείται συστολή της μήτρας και των κοιλιακών μυών, με αποτέλεσμα την δημιουργία μυϊκών πόνων στη περιοχή της κοιλιάς.



Εικόνα 8: Απεικόνιση της φυσιολογίας του γεννητικού συστήματος της γυναίκας στο στάδιο της εμμηνορρυσιακής φάσης. Συνοπτικά, η μήτρα απορρίπτει την εσωτερική της επένδυση μεταφέροντας το έμμηνο υγρό στον τράχηλο.

ii) Παραγωγική ή Ωοθυλακική φάση

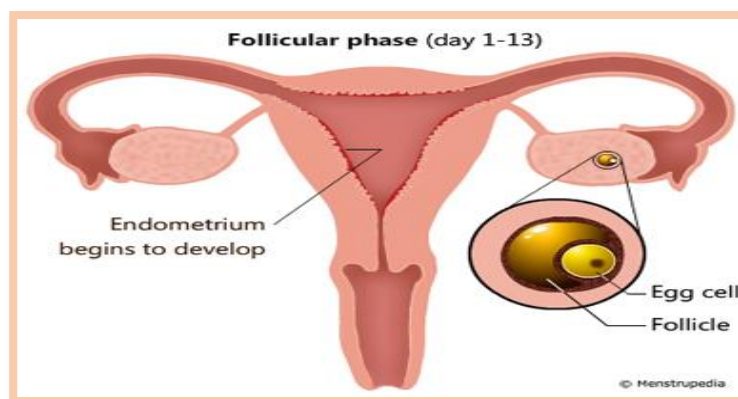
Η παραγωγική ή ωοθυλακική φάση ξεκινά την 4^η ημέρα του εμμηνορρυσιακού κύκλου και διαρκεί μέχρι το στάδιο της ωοθυλακιορρηξίας, έως την 13^η ημέρα περίπου. Σύμφωνα με επιστημονικές πηγές η παραγωγική φάση (έτσι θα αναφέρεται εφεξής) συμπεριλαμβάνεται με την εμμηνορρυσιακή φάση, και θεωρείται ότι ξεκινά την 1^η και διαρκεί μέχρι την 13^η ημέρα περίπου (Young, Barbara, 2006).

Κατά την παραγωγική φάση πραγματοποιούνται η εξής διαδικασίες:

Αρχικά, στην ωοθήκη αρχίζουν και αναπτύσσονται 8-10 ωοθυλάκια (Εικόνα 9). Ωστόσο σε φυσιολογικές καταστάσεις, μόνο ένα από αυτά επικρατεί και φτάνει στην τελική ωρίμανση (Εικόνα 9). Στη συνέχεια προκαλείται ρήξη του ώριμου ωοθυλακίου υπό την επίδραση ορμονών του υποθαλάμου και της υπόφυσης (γοναδοτροπινών και κυρίως FSH) την 13^η ημέρα. Παράλληλα, στη φάση αυτή προετοιμάζεται το ενδομήτριο για να υποδεχθεί το γονιμοποιημένο ωάριο, υπό την επίδραση οιστρογόνων, κυρίως της ορμόνης οιστραδιόλη.

Για αυτό το λόγο η παραγωγική φάση ονομάζεται και οιστρογονική, λόγω της παραγωγής των οιστρογόνων και της οιστραδιόλης, η οποία επιδρά στο ενδομήτριο αυξάνοντας το πάχος του (Γεώργιος Μ. Ιατράκης, 2012).

Επιπροσθέτως, τα οιστρογόνα και η οιστραδιόλη συντελούν και άλλες λειτουργίες στα ωοθυλάκια, αλλά και γενικότερα στον εμμηνορρυσιακό κύκλο όπου θα αναλυθούν περαιτέρω παρακάτω.



Εικόνα 9: Απεικόνιση της φυσιολογίας του γεννητικού συστήματος της γυναίκας στο στάδιο της παραγωγικής φάσης. Συνοπτικά, επιτελούνται δύο διαδικασίες α) η ανάπτυξη και ωρίμανση των ωοθυλακίων. Β) η ανάπτυξη και η προετοιμασία του ενδομητρίου.

iii) Φάση ωοθηλακιορρηξίας ή ωορρηξίας

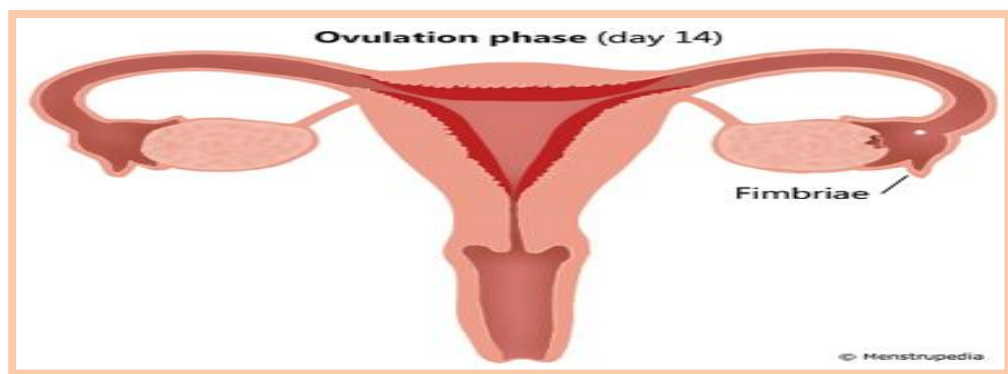
Η φάση της ωοθηλακιορρηξίας ξεκινά την 14^η ημέρα του εμμηνορρυσιακού κύκλου.

Η ωοθηλακιορρηξία ορίζεται ως η φάση ρήξης και αποδέσμευσης πλήρως ανεπτυγμένων κυττάρων (ωοθυλακίων), που βρίσκονται στις ωοθήκες. Παράλληλα στις ωοθήκες πραγματοποιείται η απελευθέρωση του ωαρίου, υπό την επίδραση ορμονών της υπόφυσης (Εικόνα 10). Μπορούν, στην ωοθηλακιορρηξία να απελευθερωθούν 1 ή περισσότερα ωάρια από τις ωοθήκες με κύριο στόχο την επίτευξη γονιμοποίησης. Η απελευθέρωση του ωαρίου επιτελείται από τη δράση πρωτεολυτικών ενζύμων (Hacker and Moore, 2010).

Η ωοθηλακιορρηξία (η ρήξη του ωαρίου) σε γυναίκες με σταθερό εμμηνορρυσιακό κύκλο πραγματοποιείται την 14^η ημέρα, και αποτελεί το διάστημα γόνιμων ημερών μιας γυναίκας.

Ωστόσο, η γόνιμη περίοδος μιας γυναίκας με σταθερό κύκλο ορίζεται μεταξύ 10^{ης} (σπάνια 9^{ης}) και 18^{ης} ημέρας. Πιο συγκεκριμένα, η γόνιμη περίοδος αρχίζει 4 ημέρες πριν την ωορρηξία και τελειώνει μία ημέρα μετά την απελευθέρωση του ανεπτυγμένου ωαρίου (S. Chaudri et al., 2008).

Για αυτό, ανάλογα με την ημέρα ωορρηξίας και την διάρκεια του καταμήνιου κύκλου μπορεί να υπολογιστεί και η γόνιμη περίοδος.



Εικόνα 10: Απεικόνιση της φυσιολογίας του γεννητικού συστήματος της γυναίκας στη φάση της ωοθηλακιορρηξίας, όπου πραγματοποιείται η ρήξη του ώριμου ωοθυλακίου. Πηγή: www.menstrupedia.com

iv) Ωχρινική ή εκκριτική φάση

Η ωχρινική ή εκκριτική φάση αρχίζει αμέσως μετά την ωοθηλακιορρηξία, την 15^η ημέρα και διαρκεί μέχρι την επόμενη εμμηνορρυσία (1^η ημέρα), όπου επαναλαμβάνεται η διαδικασία του εμμηνορρυσιακού κύκλου.

Στη φάση αυτή πραγματοποιούνται τα ακόλουθα γεγονότα:

Αρχικά, το ανεπτυγμένο ωάριο απελευθερώνεται, στο στάδιο της ωοθηλακιορρηξίας και καταλήγει στη σάλπιγγα για 24 ώρες (Εικόνα 11). Στο διάστημα αυτό, εάν ένα κύτταρο σπέρματος δεν εμποτίσει το ωάριο εντός αυτού του χρόνου, τότε το ωάριο αποσυντίθεται.

Παράλληλα, στην ωχρινική φάση εκτός από την απελευθέρωση του ανεπτυγμένου ωαρίου δημιουργείται και το ωχρό σωματίο (Γεώργιος Μ. Ιατράκης, 2012).

Το ωχρό σωματίο παράγει την προγεστερόνη, όπου επιδρά στο ενδομήτριο για να υποστηρίξει την εμφύτευση και την περαιτέρω ανάπτυξη του γοιμοποιηθέντος ωαρίου.

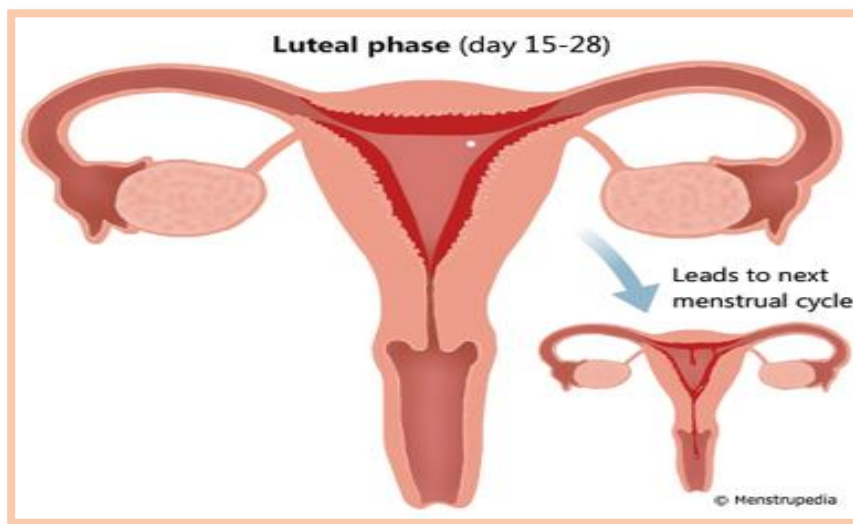
Επιπλέον, το ωοθυλάκιο (ωάριο) σε συνδυασμό με το ωχρό σωματίο παράγουν στεροειδείς ορμόνες και δρουν στα περιφερικά όργανα-στόχους και κυρίως στην περιοχή της μήτρας.

Αναλυτικότερα, στην εκκριτική φάση όσον αφορά το ενδομήτριο, αμέσως μετά την ωορρηξία, παρουσιάζεται αυξημένη εκκριτική δραστηριότητα που οφείλεται στην επίδραση της προγεστερόνης. Οι αδένες επιμηκύνονται, και το ενδομήτριο αναπτύσσεται.

Μια εβδομάδα μετά την ωορρηξία το ενδομήτριο φθάνει στο μεγαλύτερο σημείο της ανάπτυξης και εκκριτικής του δραστηριότητας (πάχος ενδομητρίου 5-7 cm).

Εάν υπάρξει γονιμοποίηση, η εξέλιξη ανάπτυξης του ενδομητρίου συνεχίζεται προκειμένου να μετατραπεί σε φθαρτό.

Στην περίπτωση που δεν υπάρξει γονιμοποίηση, στο διάστημα της ωχρινικής φάσης, τότε αρχίζει η υποστροφή του ενδομητρίου, στην οποία το ενδομήτριο χάνει την ορμονική υποστήριξή του και αποπίπτει στην αρχή του καταμήνιου κύκλου της γυναίκας, την εμμηνορρυσιακή φάση ή έμμηνο ρύση (Ιωάννης Μ. Μπόντης, 2007)



Εικόνα 11: Απεικόνιση της φυσιολογίας του γεννητικού συστήματος της γυναίκας , στο στάδιο της εκκριτικής φάσης. Συνοπτικά επιτελούνται δύο διαδικασίες α) Απελευθέρωση του ώριμου ωαρίου και μετατροπή του σε ωχρό σώματιο. β) επιδράσεις στο γεννητικό σύστημα με την ύπαρξη ή μη ύπαρξη γονιμοποίησης

Επιμέρους ταξινόμηση του εμμηνορρυσιακού κύκλου

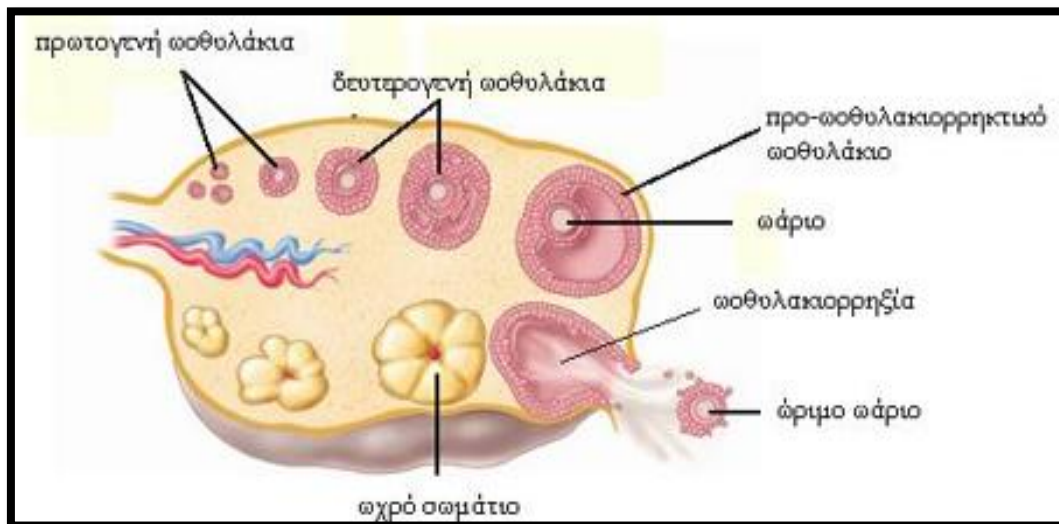
Ο εμμηνορρυσιακός κύκλος μπορεί να διαιρεθεί σε διάφορες επιμέρους φάσεις. Αυτό συμβαίνει διότι, κατά τη διάρκεια του καταμήνιου κύκλου πραγματοποιούνται παράλληλα πολλαπλές μεταβολές και αλλαγές τόσο στην επένδυση της μήτρας, όσο και στις ωοθήκες.

Για αυτό το λόγο, με βάση τις αλλαγές της μήτρας και των ωοθηκών, ο καταμήνιος κύκλος διακρίνεται σε 2 επιμέρους κύκλους:

Ωοθηκικός κύκλος: (κυκλικές μεταβολές που συμβαίνουν στις ωοθήκες) (Εικόνα 12).

Ο ωοθηκικός κύκλος διακρίνεται σε 3 φάσεις (ονομαστικά)

i)	Ωοθυλακική φάση
ii)	Ωορρηκτική φάση
iii)	Ωχρινική (εκκριτική) φάση

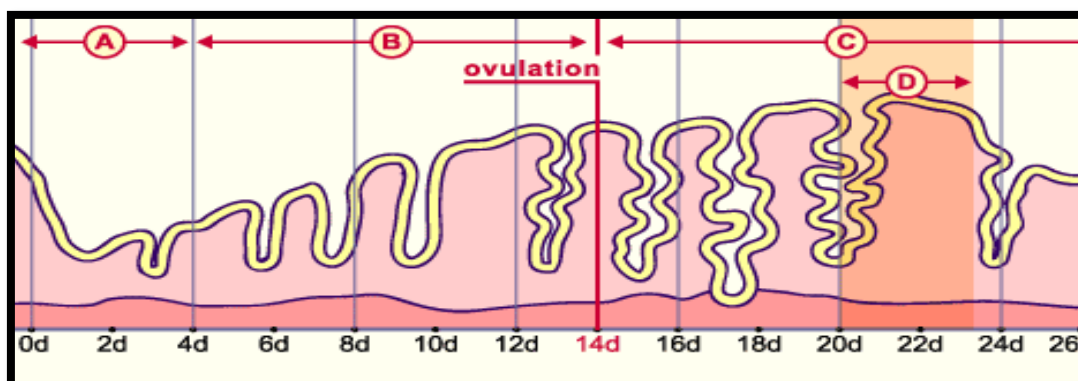


Εικόνα 12 Ωοθηκικός Κύκλος: Στάδια μετατροπής του ώριμου ωαρίου σε ωχρό σωματίο,

Ενδομητρικός κύκλος: (κυκλικές μεταβολές που συμβαίνουν στο ενδομήτριο της μήτρας) (Εικόνα 13).

Ο ενδομητρικός κύκλος διακρίνεται σε 3 φάσεις (ονομαστικά)

i)	Εμμηνορρυσιακή φάση
ii)	Παραγωγική φάση
iii)	Εκκριτική φάση



Εικόνα 13: Ενδομητρικός κύκλος: Αλλαγές που παρατηρούνται στο ενδομήτριο μιας γυναίκας κατά τη διάρκεια ενός φυσιολογικού καταμήνιου κύκλου.

A2.2 Ορμονική δραστηριότητα

Οι ορμόνες που σχετίζονται με την αναπαραγωγική λειτουργία της γυναίκας διακρίνονται σε τρεις ομάδες. Η πρώτη περιλαμβάνει την GnRH, η οποία εκκρίνεται από το τμήμα του εγκεφάλου που ονομάζεται υποθάλαμος. Η δεύτερη περιλαμβάνει τις FSH και LH (γοναδοτροπίνες) που παράγονται επίσης στον εγκεφαλο και συγκεκριμένα στην υπόφυση. Η τρίτη ομάδα αποτελεί τα οιστρογόνα (θα αναλυθούν επιμέρους), την προγεστερόνη και τα ανδρογόνα που κυρίως προέρχονται από τις γονάδες, και ορισμένα παράγονται στην ωθήκη (S. Vadakkadath Meethal et al, Lori Asarian and Nori Geary, 2006).

Ορμονική προσέγγιση του καταμήνιου κύκλου

Ο καταμήνιος ή εμμηνορρυσιακός κύκλος είναι το αποτέλεσμα μια αρμονικής λειτουργίας και συνεργασίας του υποθαλάμου, της υπόφυσης, των ωθηκών και του ενδομητρίου, όπως έχει αναφερθεί σε προηγούμενο κεφάλαιο (Hawkins et al, 2010).

Σημαντικό ρόλο στην φυσιολογική διαδικασία ενός καταμήνιου κύκλου, την γονιμοποίηση του ωαρίου, καθώς και την ανάπτυξη του εμβρύου κατά την διάρκεια της εγκυμοσύνης και του τοκετού έχουν οι ορμόνες.

Οι ορμόνες αποτελούν καθοριστικό ρόλο για την αρμονική συνεργασία πολλαπλών οργάνων που απαιτούνται για την σωστή διεξαγωγή του γεννητικού συστήματος της γυναίκας. (Hacker and Moore, 2010).

Πιο συγκεκριμένα, σχετικά με τις ορμόνες και τα είδη ορμονών είναι οι εξής:

i) GNRH

Ο υποθάλαμος (τμήμα του διεγκεφάλου) εκκρίνει ορμόνη απελευθέρωσης γοναδοτροπίνης, την GnRH, η οποία διεγείρει την πρόσθια υπόφυση για να εκκρίνει την ωθυλακιοτρόπο ορμόνη (FSH), καθώς και την ωχρινοτρόπο ορμόνη (LH).

(Hawkins et al, 2010, Mullen et al, 2013)

Η δράση της GnRH δεν επιτελείται με απευθείας έκκριση της στα κύτταρα του πρόσθιου λοβού της υπόφυσης, αλλά μεταφέρεται μέσω αμινεργικών νευρώνων απευθείας ή μέσω ενδιάμεσων νευρώνων υπό τον έλεγχο διαφόρων νευροδιαβιβαστών.

Στον υποθάλαμο επιπλέον εκκρίνονται εκλυτικοί και ανασταλτικοί παράγοντες. Ο εκλυτικός παράγοντας των γοναδοτροπινών (GnRH) είναι ένα δεκαπεπτίδιο, το οποίο παράγεται από τον τοξοειδή πυρήνα κατά ώσεις (ανα 1 με 3 ώρες, ανάλογα με την φάση του γεννητικού κύκλου) (Ιωάννης Μ. Μπόντης, 2007, Mullen et al, 2013).

Οι κατά ώσεις έκκριση της GnRH έχουν ως αποτέλεσμα την έκκριση κατά ώσεις της FSH και της LH. Άρα, μεταξύ της GnRH και των εκκρινόμενων από την υπόφυση γοναδοτροπινών FSH και LH υπάρχει παλίνδρομη ρύθμιση (ή διεθνώς feedback).

ii) Γοναδοτροπίνες

Όσον αφορά τις γοναδοτροπίνες, πρόκειται για γλυκοπρωτείνες αποτελούμενες από δυο πολυπεπτιδικές ομάδες, την ομάδα α και β (Shannon M. Hawkins et al, 2010).

Η α- υποομάδα είναι κοινή για την FSH και LH, αντίθετα οι β- υποομάδες διαφέρουν και είναι αυτές που δίνουν τις διαφορετικές βιολογικές ιδιότητες στις ορμόνες.

Οι γοναδοτροπίνες συντίθενται και αποθηκεύονται στα γοναδοτρόπα κύτταρα, στο τμήμα της αδενούπόφυσης και στη συνέχεια περνούν στην κυκλοφορία.

Ο χρόνος ημίσειας ζωής της FSH είναι περίπου 5 ώρες, ενώ της LH είναι περίπου 30 λεπτά (Ιωάννης Μ. Μπόντης, 2007, Hacker's and Moore's, Mullen et al, 2013).

Οι σημαντικότερες δράσεις των γοναδοτροπινών είναι η διέγερση για ωρίμανση και λειτουργία των ωοθηκών. Επιπλέον, ο έλεγχος της παραγωγής των γεννητικών κυττάρων και η στεροειδογένεση.

iii) Προλακτίνη

Η προλακτίνη είναι μια πολυπεπτιδική ορμόνη, που εκκρίνεται από τα λακτότροπα κύτταρα του πρόσθιου λοβού της υπόφυσης. Η έκκριση της καθορίζεται και ρυθμίζεται από έναν ανασταλτικό παράγοντα, τη ντοπαμίνη. Τα οιστρογόνα και

διάφοροι νευροδιαβιβαστές παρεμβαίνουν για να ευνοηθεί η έκκριση της προσταγλαδίνης.

Όπως και η GnRH, έτσι και η έκκριση της προσταγλαδίνης γίνεται κατά ώσεις, ωστόσο εκκρίνεται σε συνεχή ροή σε μικρές ποσότητες.

Παίζει σημαντικό ρόλο στον εμμηνορρυσιακό κύκλο της γυναίκα, κυρίως στην εκκριτική φάση (Hacker's and Moore's, 2010, Ιωάννης Μ. Μπόντης, 2007).

iv) Προγεστερόνη

Η προγεστερόνη είναι μια από τις σημαντικότερες ορμόνες του ανθρώπινου οργανισμού. Ανήκει στη κατηγορία των στεροειδών ορμονών. Παράγεται φυσιολογικά στο σώμα για να διασφαλίσει την ομαλή λειτουργία μιας εγκυμοσύνης.

Κατά τη διάρκεια του εμμηνορρυσιακού κύκλου έχει πολλαπλές δράσεις και ρόλους, σε διάφορα όργανα-στόχους (ωθήκες, μήτρα, ενδομήτριο) κυρίως στην εκκριτική φάση.

Κύριος ρόλος, η συμμετοχή της στην επένδυση των τοιχωμάτων της μήτρας, του ενδομητρίου για την δημιουργία και προστασία του γονιμοποιημένου ωαρίου. Επιπλέον, εμποδίζει τις συστολές της μήτρας και δημιουργεί μια ανοσολογική ανοχή για τα προϊόντα της σύλληψης.

Όσον αφορά την επίδραση της προγεστερόνης στις υπόλοιπες ορμόνες, έχει κατασταλτική δράση. Καταστέλλει συγκεκριμένα την δράση των οιστρογόνων, των κυτοκινών και προσταγλανδινών.

Κύρια πηγή προγεστερόνης είναι η ωθήκη, σε μορφή 17-0H προγεστερόνη. Κυρίως, η κυκλοφορούσα προγεστερόνη στο περιφερικό αίμα είναι συνδεδεμένη με φορείς πρωτεϊνών, ενώ λιγότερο από το 10% κυκλοφορεί ελεύθερη, και φυσιολογικά δραστική (Hacker and Moore, 2010).

v) Ανδρογόνα

Τα ανδρογόνα όπως τα οιστρογόνα αλλά και η προγεστερόνη ανήκουν στην ομάδα των στεροειδών ορμονών (Lori Asarian and Nori Geary, 2006). Κατά κύριο λόγο, μεγάλα ποσοστά ανδρογόνων ανιχνεύονται στους άντρες, καθώς υποομάδα των ανδρογόνων αποτελεί η τεστοστερόνη (κύρια αντρική ορμόνη) και η ανδροστενδιόνη. Οι όρχεις και ο φλοιός επινεφριδίων παράγουν μεγάλα ποσοστά τεστοστερόνης και

ανδροστενδιόνης σε καθημερινή βάση. Αντίθετα, ο γυναικείος οργανισμός παράγει σαφώς μικρότερα ποσοστά ανδρογόνων, με όργανα παραγωγής τους, τις ωθήκες αλλά και σε μικρότερα ποσοστά τα λιπώδη κύτταρα και τον φλοιό των επινεφριδίων, όπως και στους άντρες. Ως πρώτη ύλη των ανδρογόνων είναι η χοληστερόλη, η οποία διασπάται για την βιοσύνθεση των στεροειδών ορμονών.

Τα ανδρογόνα έχουν ποικίλες δράσεις τόσο στους άντρες όσο και στις γυναίκες. Αρχικά, όσον αφορά τους άντρες: Στο στάδιο της εφηβείας, τα ανδρογόνα συμμετέχουν και ελέγχουν την ανάπτυξη δευτερευόντων φυλετικών χαρακτηριστικών, όπως τριχοφυΐα, φωνητικές χορδές και διαμόρφωση σώματος. Στους ενήλικους άντρες είναι η ρύθμιση ωρίμανσης των σπερματοζωαρίων, και γενικότερα η συμμετοχή στη λειτουργία διαφόρων αδένων στο γεννητικό σύστημα (προστάτης κ.τ.λ.).

Όσον αφορά τις γυναίκες: στο στάδιο της εφηβείας η εκκρίσή τους διατηρεί την ορμονική ισορροπία του γυναικείου σώματος και αλληλεπιδρά με τα οιστρογόνα για την ομαλή ανάπτυξη του σώματος (τόνωση του σώματος, ανάπτυξη τριχών στην ηβική περιοχή κ.τ.λ.). Αυξημένα επίπεδα ανδρογόνων δημιουργούν ορμονικές διαταραχές και αλλαγές στο γυναικείο σώμα όπως: αυξημένη τριχοφυΐα, εμφάνιση ακμής κ.τ.λ.

Στις ενήλικες γυναίκες, συμμετέχουν στη σύνθεση των οιστρογόνων και παράλληλα βοηθούν στη σεξουαλική επιθυμία και ικανοποίηση. Επιπλέον, ρυθμίζουν τις λειτουργίες του σώματος πριν, κατά τη διάρκεια και μετά την εμμηνόπαυση.

Καταλήγοντας, τόσο στους άντρες όσο και στις γυναίκες τα ανδρογόνα επιδρούν στον μεταβολισμό, διεγείροντας την πρωτεϊνική σύνθεση.

Με την αρχή του εμμηνορρυσιακού κύκλου (έναρξη εμμήνου ρύσεως), η GnRH διεγείρει την πρόσθια υπόφυση για να εκκρίνει την FSH και LH. Η FSH τις πρώτες ημέρες του εμμηνορρυσιακού κύκλου στη διάστημα της παραγωγικής φάσης, έχει ως ρόλο την ανάπτυξη αρκετών ωοθυλακίων, που διεγείρονται.

Στη συνέχεια, επιλέγεται μια υποομάδα ωοθυλακίων, τα οποία είναι περισσότερα ώριμα βιοχημικά και απαντούν καλύτερα στις γοναδοτροπίνες. Από την ομάδα αυτή θα επιλεγεί ένα ωοθυλάκιο, όπου αποτελεί το επικρατούν, που έχει την

μεγαλύτερη δεσμευτική ικανότητα για την FSH με αποτέλεσμα να μπορεί να παράγει μεγαλύτερα ποσά οιστρογόνων.

Αναλυτικότερα, οι ορμόνες FSH και LH, επιδρούν σε ειδικούς υποδοχείς που βρίσκονται στην κυτταρική μεμβράνη, αρχικά επιδρώντας η LH στην παραγωγή ανδρογόνων (τεστοστερόνης και ανδροστενδιόνης). Στη συνέχεια τα ανδρογόνα φέρονται στα κοκκώδη κύτταρα, που υπάρχουν ειδικοί υποδοχείς της FSH, και στα κύτταρα αυτά προάγουν την παραγωγή και ενεργοποίηση του ενζύμου αρωματάση.

Η αρωματάση με τη σειρά της προκαλεί την αρωματοποίηση των ανδρογόνων σε οιστρογόνα¹ και κυρίως σε οιστραδιόλη. Τα ωοθυλάκια καθώς ωριμάζουν εκκρίνουν οιστρογόνα. Τα παραγόμενα στο επικρατούν ωοθυλάκιο οιστρογόνα ασκούν μιτωτική δράση στα κοκκώδη κύτταρα και προκαλούν τον πολλαπλασιασμό τους, ως αποτέλεσμα της αύξηση των υποδοχέων της FSH στα κοκκώδη κύτταρα. Έτσι λόγω της συνεργασίας της FSH και των οιστρογόνων έχουμε εντονότερη αρωματοποίηση των παραγομένων από τα κύτταρα της θήκης ανδρογόνων και επομένως την παραγωγή όλο και μεγαλύτερων ποσοτήτων οιστρογόνων, που με τη σειρά τους αυξάνουν τις διαιρέσεις των κοκκωδών κυττάρων.

Τέλος, τα οιστρογόνα μαζί με την FSH, προκαλούν την εμφάνιση στα κοκκώδη κύτταρα υποδοχέων LH, ώστε να μπορέσουν με τη σειρά τους να απαντήσουν στην προωοθυλακιορρηκτική αύξηση της LH.

Τα οιστρογόνα εκτός από την τοπική τους δράση στην ωοθήκη, παίζουν σημαντικό ρόλο και στην υπόφυση. Συγκεκριμένα, τα οιστρογόνα σε συνεργασία με την ιχθυμίνη (μη στεροειδή ουσία) που παράγεται από τα κοκκώδη κύτταρα των ωοθυλάκιων, ασκούν αρνητική παλίνδρομη δράση στην έκκριση της FSH από την υπόφυση, προκαλώντας την μείωσή της. Έτσι, το ωοθυλάκιο, που στην αρχή του κύκλου είναι περισσότερο ώριμο βιοχημικά και παράγει μεγαλύτερα ποσά οιστρογόνων, αφ' ενός αυξάνει την δεσμευτική του ικανότητα για την FSH, όπως αναφέρθηκε παραπάνω, για την ανάπτυξη του επικρατούν ωοθυλάκιο, αφ' ετέρου δε

¹Οιστρογόνα: Όσον αφορά τα οιστρογόνα στη παραγωγική φάση, στο διάστημα της εμμηνου ρύσεως (2-7 ημέρες) αυξάνεται η έκκριση μιας οιστρογόνου ορμόνης, της οιστραδιόλης (E₂), η οποία προκαλεί την αναγέννηση του βλεννογόνου της μήτρας, ως αποτέλεσμα την δημιουργία και παραγωγή ενός νέου ενδομητρίου.

μέσω της αρνητικής παλίνδρομης ρύθμισης στην υπόφυση προκαλεί την ελάττωση της παραγόμενης FSH.

Αυτό συμβαίνει, διότι με την ελάττωση της FSH σταματά η υποστήριξη της στα λιγότερο ανεπτυγμένα ωοθυλάκια, διακόπτεται η παραγωγή οιστρογόνων και ο πολλαπλασιασμός των κοκκωδών κυττάρων όσο και η λειτουργία τους. Έτσι, τα μη επικρατέστερα ωοθυλάκια οδηγούνται σε ατρησία και εκφυλίζονται.

Το διάστημα που τα επίπεδα των οιστρογόνων φτάσουν τη μέγιστη τιμή τους και παραμείνουν σε αυτά τα επίπεδα για 12-24 ώρες, η δράση που ασκούν στον υποθάλαμο και στην υπόφυση από αρνητική μετατρέπεται σε θετική, με αποτέλεσμα την μαζική έκκριση της LH (μεσοκυκλικό κύμα της LH), όπου προκαλείται η τελική ωρίμανση του ωαρίου και η πρόκληση ωοθυλακιορρηξίας.

Συνοπτικά, η ορμόνη FSH εκκρίνεται και αυξάνεται σταδιακά από την 2^η ημέρα για την εμπλοκή της σε μηχανισμούς, με σκοπό την παραγωγή και έκκριση οιστρογόνων και κυρίως οιστραδιόλης. Την 5^η ημέρα περίπου αρχίζει να μειώνονται τα υψηλά επίπεδα FSH και σταδιακά η οιστραδιόλη να αυξάνεται σταδιακά, ακολουθώντας μια συνεχή παραγωγική διαδικασία. Τέλος, με την έκκριση της οιστραδιόλης και την ελάττωση της FSH, ασκούνται πιέσεις στον υποθάλαμο και την υπόφυση, με αποτέλεσμα την απελευθέρωση της LH ορμόνης, λίγες μέρες πριν την ωοθυλακιορρηξία για να επέλθει η τελική ωρίμανση του ωαρίου (Sperroff, 1999)

Στη φάση της ωοθυλακιορρηξίας, βασικό ρόλο στην τελική ωρίμανση του ωαρίου και στην ρήξη του ωοθυλακίου έχει το μεσοκυκλικό κύμα της LH. Το μεσοκυκλικό κύμα οφείλεται στην θετική παλίνδρομη δράση που ασκεί η εκκριτική αιχμή των παραγόμενων από την ωοθήκη οιστρογόνων και ιδιαίτερα της οιστραδιόλης, με αποτέλεσμα πρόκληση στην υπόφυση την αύξηση των υποδοχέων της GnRH.

Η θετική παλίνδρομη αλληλορρυθμιση ενεργοποιείται, όταν τα οιστρογόνα υπερβούν τα 200 pg/ml σε χρονικό διάστημα περίπου 50 ωρών. Σε περίπτωση που δεν συμβεί η ωοθυλακιορρηξία, και το ωοθυλάκιο παραμένει άτρητο, ο κύκλος ονομάζεται μονοφασικός.

Η LH επιδρά έντονα στο ωοθυλάκιο, για να πραγματοποιηθεί η ωοθυλακιορρηξία, που χρονικά προκαλείται 10-12 ώρες μετά την εκκριτική της αιχμή. Πριν συμβεί όμως η ωοθυλακιορρηξία, 48 ώρες πριν η LH επιδρά στα κοκκώδη κύτταρα μέσω των υποδοχέων της, και προκαλεί την παραγωγή της προγεστερόνης.

Έτσι, λοιπόν υπάρχει μια συνεργασία μεταξύ της LH και της προγεστερόνης για να αρχίζει να αυξάνεται η παραγωγή προγεστερόνης μέχρι να φτάσει σε υψηλά επίπεδα, το οποίο συμβαίνει στην εκκριτική φάση.

Με την σειρά της η προγεστερόνη στη φάση της ωοθυλακιορρηξίας διευκολύνει την θετική παλίνδρομη ανταπόκριση της LH. Όπως και με την οιστραδιόλη, έτσι και η προγεστερόνη κατά την φάση της ωοθυλακιορρηξίας αυξάνεται συνεχώς και κατά την αύξηση προκαλεί τον τερματισμό της LH (14^η ημέρα), με μηχανισμό αρνητικής παλίνδρομης ρύθμισης.

Πριν συμβεί η αναστολή της LH, η ωχρινοτρόπος ορμόνη επεμβαίνει στο ωάριο και προκαλεί την ολοκλήρωση της μείωσής του (στην μειωτική διαίρεση και στον καθορισμό των χρωματοσωμάτων του ωαρίου). Επιπλέον, η LH επιδρά στα κοκκώδη κύτταρα (στο σύστημα της κυκλοοξυγενάσης) και προκαλεί την παραγωγή ιντερλευκινών και προσταγλανδινών., ουσίες που διεγείρουν τη σύνθεση διαφόρων πρωτεολυτικών ενζύμων και σε συνεργασία με την LH παράγουν ουσίες, που προκαλούν τη σύσπαση των λείων μυϊκών ινών που περιβάλλουν το ωοθυλάκιο.

Όσον αφορά την FSH στη φάση της ωοθυλακιορρηξίας συμμετέχει στην απόσπαση του ωαρίου μαζί με τα κοκκώδη κύτταρα, που το περιβάλλουν, από την υπόλοιπη μάζα των κοκκωδών κυττάρων. Η δράση της FSH αυτή, παίζει καθοριστικό ρόλο διότι έτσι αναστέλλεται η επίδραση του ανασταλτικού παράγοντα της ωρίμανσης, του ωοθυλακίου. Άλλη δράση της FSH είναι η δημιουργία ενός παράγοντα που ενεργοποιεί την μετατροπή του πλασμινογόνου σε πλασμίνη, η οποία στη συνέχεια ασκεί πρωτεολυτική δράση στο τοίχωμα του ωοθυλακίου. Τέλος, η FSH επιδρά στη δημιουργία αυξημένου αριθμού υποδοχέων LH στα κοκκώδη κύτταρα, που είναι απαραίτητη για την ομαλή λειτουργία του ωχρού σωματίου.

Η οιστραδιόλη σε αυτή την φάση συναντάται στα υψηλότερα επίπεδα, διότι με την ωρίμανση του ωαρίου, παρεμβαίνει στην δημιουργία ενός ευνοϊκού περιβάλλοντος για την γονιμοποίηση του ωαρίου, και παράλληλα εξασφαλίζει σε συνδυασμό και με την προγεστερόνη την μετατροπή του ώριμου ωοθυλακίου σε ωχρό σωματίο.

Κατά την εκκριτική φάση, σημαντικό ρόλο αποτελεί η μετατροπή του ωοθυλακίου σε ωχρό σωματίο. Από ορμονικής προσέγγισης, στην εκκριτική φάση εκκρίνεται σε υψηλά επίπεδα η προγεστερόνη, κυρίως από τα κύτταρα της έσω θήκης

και της ωχρινοτρόπου στοιβάδας. Τα επίπεδα της προγεστερόνης αυξάνονται σταδιακά, καταλήγοντας ως μέγιστο επίπεδο τα 25 ng/ml περίπου την 22^η ημέρα του κύκλου. Η αύξηση αυτή της προγεστερόνης, προκαλεί ταυτόχρονα αύξηση της θερμοκρασίας του σώματος, διότι η προγεστερόνη δρα στο θερμορρυθμιστικό κέντρο του εγκεφάλου.

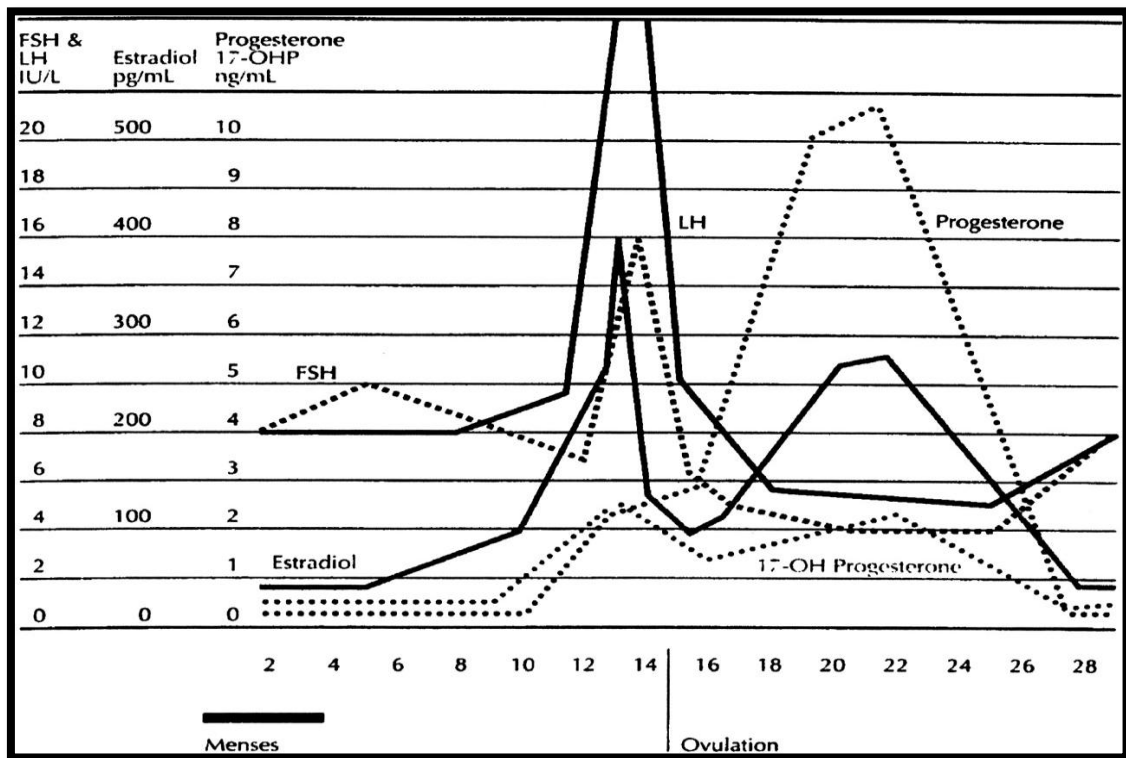
Επιπλέον, η προγεστερόνη επιδρά τοπικά και κεντρικά, αναστέλλοντας την παραγωγή άλλων ωοθυλακίων για την επικράτηση του ενός ωοθυλακίου. Σε αυτή τη φάση η προγεστερόνη επιδρά κυρίως στα περιφερικά όργανα-στόχους και κυρίως στην μήτρα. Πιο συγκεκριμένα, επιδρά στο ενδομήτριο, για να προετοιμάσει την εμφύτευση του γονιμοποιημένου ωαρίου.

Το πάχος του ενδομητρίου φτάνει περίπου 5-7 mm και η επιφάνεια του παρουσιάζεται ανώμαλη. Εάν υπάρξει γονιμοποίηση συνεχίζεται η εξέλιξη του ενδομητρίου προκειμένου να μετατραπεί σε φθαρτό. Στην περίπτωση που δεν υπάρξει γονιμοποίηση, αρχίζει η διαδικασία της υποστροφής του ενδομητρίου, καθώς χάνει την ορμονική υποστήριξη και αποπίπτει προκαλώντας την εμφάνιση της εμμήνου ρύσεως.

Ιδιαίτερη σημασία συντελούν και τα οιστρογόνα, καθώς επιδρούν στην τραχηλική βλέννη, προκαλώντας αύξηση του ύψους των κυττάρων των ενδοτραχηλικών αδένων και του συνολικού αριθμού των ενδοτραχηλικών κρυπτών. Όσον αφορά τις διακυμάνσεις των ορμονών που συμβαίνουν στην εκκριτική φάση:

Η προγεστερόνη ακολουθεί συνεχή ανοδική πορεία και παράλληλα η LH και η FSH του πλάσματος μειώνονται. Εάν δεν επιτευχθεί γονιμοποίηση η FSH θα αρχίσει να αυξάνεται περίπου στο διάστημα δύο ημερών πριν από την επόμενη εμφάνιση της επόμενης εμμήνου ρύσεως.

Η αύξηση της FSH, είναι αποτέλεσμα της μειωμένης παραγωγής προγεστερόνης και οιστρογόνων από το εκφυλισμένο ωχρό σωματίο κατά την εκκριτική φάση (Hacker and Moore's, 2010, Hawkinset al , 2008, Ιωάννης Μ. Μπόντης, 2007, Asarian and Geary, 2006, Sherman and Koverman, 1975).



Εικόνα 14: Μεταβολές της FSH, LH, οιστραδιόλης και προγεστερόνης κατά τη διάρκεια του εμμηνορρυσιακού κύκλου. (Speroff, 1999)

A2.3 Οιστρογόνα

Σε αυτό το κεφάλαιο αναλύονται αποκλειστικά τα οιστρογόνα, τα οποία αποτελούν σημαντική παράμετρο και αντικείμενο μελέτης της παρούσας έρευνας. Επιπλέον περιγράφονται όλα τα υπάρχοντα δεδομένα σε πρόσφατες επιστημονικές έρευνες και βιβλιογραφίες σχετικά με τα οιστρογόνα, καθώς και την άμεση σχέση τους με την ευθραυστότητα των ερυθρών αιμοσφαιρίων και το οξειδωτικό στρες.

A2.3.1 Εισαγωγή

Τα οιστρογόνα είναι μια ομάδα στεροειδών χημικών ενώσεων, όπου συμμετέχουν στον οιστρικό κύκλο. Αποτελούν τις κύριες γυναικείες φυλετικές ορμόνες, συνεπώς καθορίζουν και τα δευτερογενή χαρακτηριστικά του γυναικείου φύλου. Βασικό χαρακτηριστικό των στεροειδών χημικών ενώσεων (και των οιστρογόνων) είναι η εύκολη πρόσβαση και διαπερατότητα της κυτταρικής μεμβράνης των κυττάρων αλληλοεπιδρώντας με οιστρογονικούς υποδοχείς στο εσωτερικό τους.

Τα οιστρογόνα παράγονται κυρίως από τα πρωτογενή ωοθυλάκια, το ωχρό σωματίο και τον πλακούντα. Σε μικρότερες ποσότητες, παράγονται από άλλους ιστούς όπως ο μαστός, το ήπαρ και τα επινεφρίδια. Τα οιστρογόνα προέρχονται από τα πρόδρομα ανδρογόνα, και μετατρέπονται με την αρωματοποίηση του Α-δακτυλίου (Gerschpacher et al,2011)

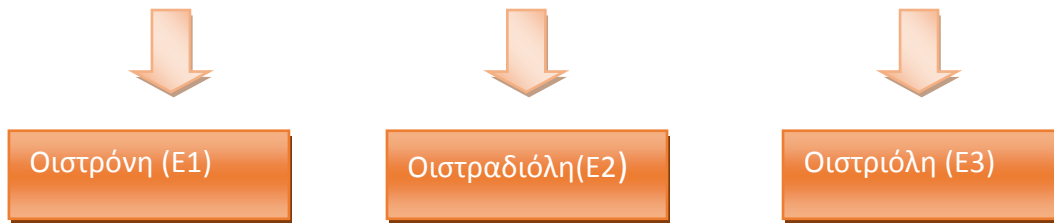
Η λέξη οιστρογόνο είναι σύνθετη και ετυμολογικά προέρχεται από τις λέξεις **οίστρος** και **γόνος**.

Η λέξη **οίστρος** αφορά την σεξουαλική επιθυμία που δημιουργείται στο γυναικείο φύλο την περίοδο της ωορρηξίας λόγω των οιστρογόνων.

Η λέξη **γόνος** αναφέρεται στην κυοφορήση του εμβρύου που είναι γόνος, η ένωση του ωαρίου με το σπερματοζωάριο το οποίο χωρίς την δράση των οιστρογόνων δεν θα μπορούσε να δημιουργηθεί.

A2.3.2 Είδη οιστρογόνων

Μέσα στον οργανισμό, τα οιστρογόνα παράγονται από ανδρογόνα μέσω της δράσης των ενζύμων. Τα τρία κύρια φυσικά οιστρογόνα στις γυναίκες είναι τα εξής:



Οιστρόνη (E1)

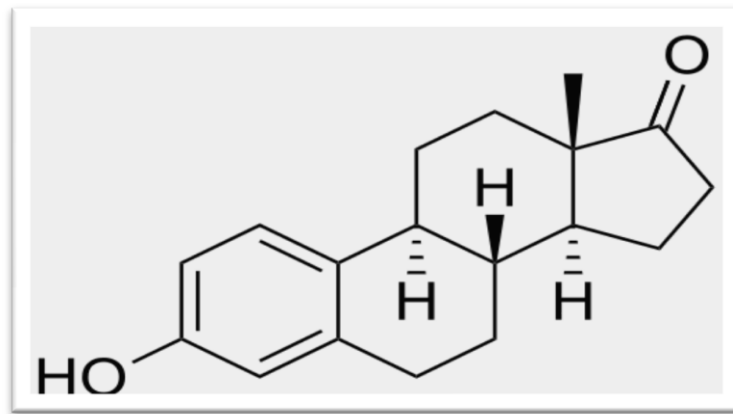
Η οιστρόνη βιοσυντίθεται από την μετατροπή της ανδροστενδιόνης κυρίως στο φλοιό των επινεφριδίων.

Η οιστρόνη κυριαρχεί στην περίοδο της προ-εμμηνόπαυσης και της εμμηνόπαυσης αντικαθιστώντας την δράση της οιστραδιόλης, για αυτό ονομάζεται και το οιστρογόνο της εμμηνόπαυσης. Με την αύξηση της οιστρόνης και την μείωση της οιστραδιόλης στο στάδιο της εμμηνόπαυσης, ο οργανισμός είναι περισσότερο ευάλωτος σε ασθένειες, καθώς μειώνονται τα ποσοστά και οι προστατευτικές ιδιότητες της οιστραδιόλης. Επιπλέον, αυξημένα επίπεδα οιστρόνης χωρίς ταυτόχρονα αυξημένα επίπεδα προγεστερόνης, έχουν συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο για κακοήθειες του ενδομητρίου.

Όσον αφορά τη φυσιολογική της έκκριση στον εμμηνορρυσιακό κύκλο, η οιστρόνη βρίσκεται φυσιολογικά ασφαλώς σε μικρότερα επίπεδα από την οιστραδιόλη αλλά ακολουθεί τις ίδιες διακυμάνσεις με την οιστραδιόλη (σε μικρότερο βαθμό), όπως αναφέρεται παρακάτω.

Αξίζει να σημειωθεί ότι, σύμφωνα με πρόσφατη έρευνα τα αυξημένα επίπεδα οιστρόνης σε συνδυασμό με αυξημένα επίπεδα οιστραδιόλης σχετίζονται με αυξημένο πολλαπλασιασμό των κυττάρων, κυρίως της οιστραδιόλης που διεγείρει τον πολλαπλασιασμό κακοηθών κυττάρων του μαστού. Συνεπώς, έχουν μεγάλη σημασία για την κατανόηση των μηχανισμών των κακοήθων όγκων του μαστού (Zhang et al, 2012).

Η χημική δομή της οιστρονης (E1) : Η οιστρόνη έχει 1 υδροξύλιο (-OH-) ενωμένα με τον Α-δακτύλιο και μια κετονομάδα (=O) ενωμένη με τον Δ-δακτύλιο. Γι' αυτό τον λόγο χαρακτηρίζεται και ως οιστρόνη E₁, λόγω του ενός υδροξυλίου που έχει το μόριό της (Εικόνα 15).



Εικόνα 15: Χημική δομή της οιστρονης

Οιστραδιόλη (E2)

Η οιστραδιόλη ή 17-β οιστραδιόλη είναι το κυριότερο οιστρογόνο στον οργανισμό της γυναίκας, συνεπώς με την μεγαλύτερη οιστρογονική δράση από την εμμηνοαρχή μέχρι την εμμηνόπαυση και βιοσυντίθεται από την τεστοστερόνη. Η βιοσύνθεση της τεστοστερόνης και μετατροπής σε οιστραδιόλη επιτυγχάνεται μέσω μιας ενζυματικής διαδικασίας, την αρωματοποίηση (Hacker's and Moore,2010).

Όντας πολύ δραστική κατά την αναπαραγωγική ηλικία, συνεργατικά με την οιστριόλη σε μικρότερο βαθμό, δημιουργεί και αυτή κατάλληλο περιβάλλον υγρασίας στην περιοχή του αιδοίου για την σεξουαλική επαφή. Η κύρια δράση της οιστραδιόλης είναι η ανάπτυξη και ωρίμανση του αναπαραγωγικού συστήματος της γυναίκας. Πιο συγκεκριμένα αυξάνει το πάχος του βλεννογόνου του κόλπου, τις κολπικές και τραχηλικές εκκρίσεις. Αυτές οι εκκρίσεις προσελκύουν τα σπερματοζώαρια και τα ωθούν προς τη μήτρα με σκοπό τη γονιμοποίηση. Ωστόσο, η οιστραδιόλη ασκεί και ποικίλες δράσεις στον μεταβολισμό. Σε συνεργασία με τα υπόλοιπα οιστρογόνα παρέχουν προστατευτική δράση σε διάφορους νόσους (π.χ στεφανιαία νόσος), και αντιστεοπορωτική δράση. Σε έλλειψη οιστραδιόλης το κολπικό επιθήλιο γίνεται ατροφικό. Συμβάλλει στην ανάπτυξη των μαστών, του μυομητρίου και των σαλπίνγων. Συμβάλλει στην ωρίμανση των ωοκυττάρων και συμμετέχει στην πρόκληση ωοθυλακιορρηξίας ελαττώνοντας το πάχος του ωοθυλακίου.

Τα υπερβολικά επίπεδα οιστραδιόλης μαζί με την οιστρόνη προκαλούν πολλαπλασιασμό κακοηθών κυττάρων, και συνεπώς κακοήθη όγκο του μαστού. Άρα, είναι σημαντικό να κυμαίνεται σε φυσιολογικά επίπεδα και να υπάρχει ισορροπία στην παραγωγή.

Η οιστραδιόλη βρίσκεται στην ανώτερη τιμή της, κατά την αναπαραγωγική ηλικία έχοντας την μεγαλύτερη οιστρογονική δράση από τα υπόλοιπα οιστρογόνα. Επικρατεί έναντι αυτών τόσο σε ισχύ όσο και σε ποσοστό κυκλοφορίας στον ορό του αίματος. Συγκεκριμένα, έχει ογδόντα φορές μεγαλύτερη ισχύ από την οιστριόλη και δέκα φορές μεγαλύτερη ισχύ από την οιστρόνη και δρα στο ενδομήτριο

Επίπεδα οιστραδιόλης στον εμμηνορρυσιακό κύκλο

Κατά τη διάρκεια της παραγωγική φάσης, όπου αναπτύσσονται τα ωοθυλάκια, τα επίπεδα της οιστραδιόλης είναι σχετικά χαμηλά. Μια εβδομάδα περίπου πριν το στάδιο της ωορρηξίας τα επίπεδά της αρχίζουν να αυξάνονται, με αποκορύφωση των επιπέδων της, την 13^η με 14^η ημέρα, μια ημέρα πριν την αιχμή της LH στο μέσο του κύκλου.

Μετά την αποκορύφωση της οιστραδιόλης, λίγο πριν επέλθει στο στάδιο της ωορρηξίας, τα επίπεδα της παρουσιάζουν μια απότομη πτώση.

Κατά την εκκριτική φάση, όπου αναπτύσσεται το ωχρό σωματίο η οιστραδιόλη αυξάνεται σταδιακά περίπου 5 με 7 ημέρες μετά την ωορρηξία, ωστόσο χωρίς να φτάσει τα προηγούμενα υψηλά επίπεδα.

Τέλος, τα επίπεδά της μετά την 7^η ημέρα της εκκριτικής φάσης μειώνονται φθάνοντας στα αρχικά της επίπεδα που υπήρχαν κατά την έναρξη της έμμηνου ρύσεως ,και αμέσως μετά επέρχεται το στάδιο της εμμηνορρυσίας (*Hacker's and Moore,2010*).

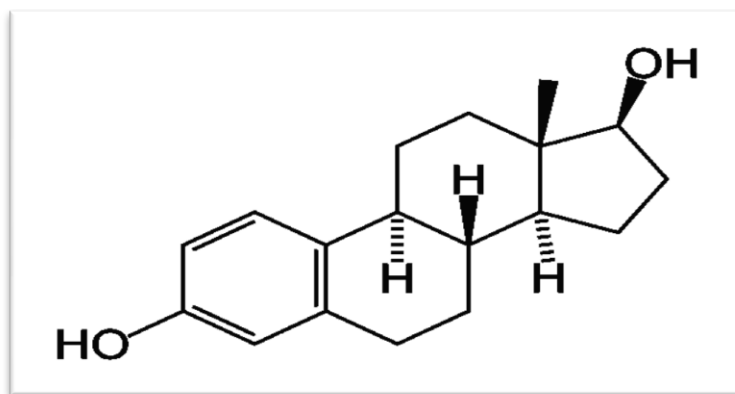
Κατά τη διάρκεια της πρώιμης ανάπτυξης των ωοθυλακίων, τα κυκλοφορούντα επίπεδα οιστραδιόλης είναι σχετικά χαμηλά. Περίπου 1 εβδομάδα πριν από την ωορρηξία, τα επίπεδα αρχίζουν να αυξάνονται, κατά την πρώτη αργά, τότε γρήγορα. Η μετατροπή της τεστοστερόνης σε οιστραδιόλη στο κύτταρο κοκκιωδών του θύλακα λαμβάνει χώρα μέσω μιας ενζυματικής διαδικασίας που ονομάζεται αρωματοποίηση. Τα επίπεδα φθάνουν γενικά ένα μέγιστο 1 ημέρα πριν την αιχμή της LH μέσω του κύκλου. Μετά από αυτή την κορυφή και πριν από την ωορρηξία, υπάρχει μια σημαντική και απότομη πτώση. Κατά τη διάρκεια της φάσης του ωχρού σωματίου, η οιστραδιόλη αυξάνεται σε ένα μέγιστο 5 έως 7 ημέρες μετά την ωορρηξία και επιστρέφει στην βασική γραμμή λίγο πριν την έμμηνο ρύση.

Η οιστραδιόλη λειτουργεί σε πολλές περιπτώσεις συνεργατικά τόσο με την οιστριόλη, όσο και με την οιστρόνη. Για αυτό το λόγο μεταβολές μίας κατηγορίας οιστρογόνων, επηρεάζει και την συμπεριφορά των υπολοίπων.

Τα επίπεδα της οιστραδιόλης κατά την έμμηνη ρύση βρίσκονται στα 50 pg/ml ενώ λίγο πριν την ωορρηξία ανεβαίνουν κατακόρυφα έως και 200 pg/ml. Στη συνέχεια, η κυκλοφορούμενη οιστραδιόλη μειώνεται σε χαμηλό ποσοστό μετά την

ωορρηξία έως ότου ελαττωθεί κατακόρυφα κατά την ωχρινική φάση για να ξεκινήσει εκ νέου ο επόμενος κύκλος.

Η χημική δομή της οιστραδιόλης (E2): αποτελείται από ένα υδροξύλιο (-OH-) ενωμένο με τον Δ-δακτύλιο και ένα υδροξύλιο (-OH-) ενωμένο με τον Α-δακτύλιο. Γι' αυτό τον λόγο χαρακτηρίζεται και ως οιστραδιόλη E₂, λόγω των δυο υδροξυλίων που έχει το μόριό της. (Εικόνα 16)

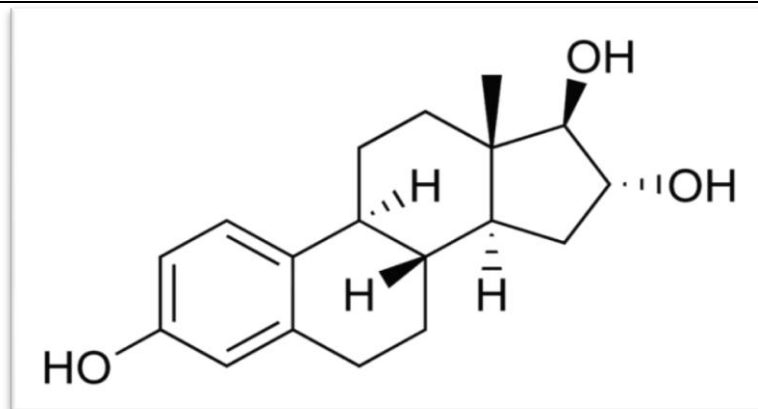


Εικόνα 16. Χημική δομή οιστραδιόλης

Οιστριόλη (E3)

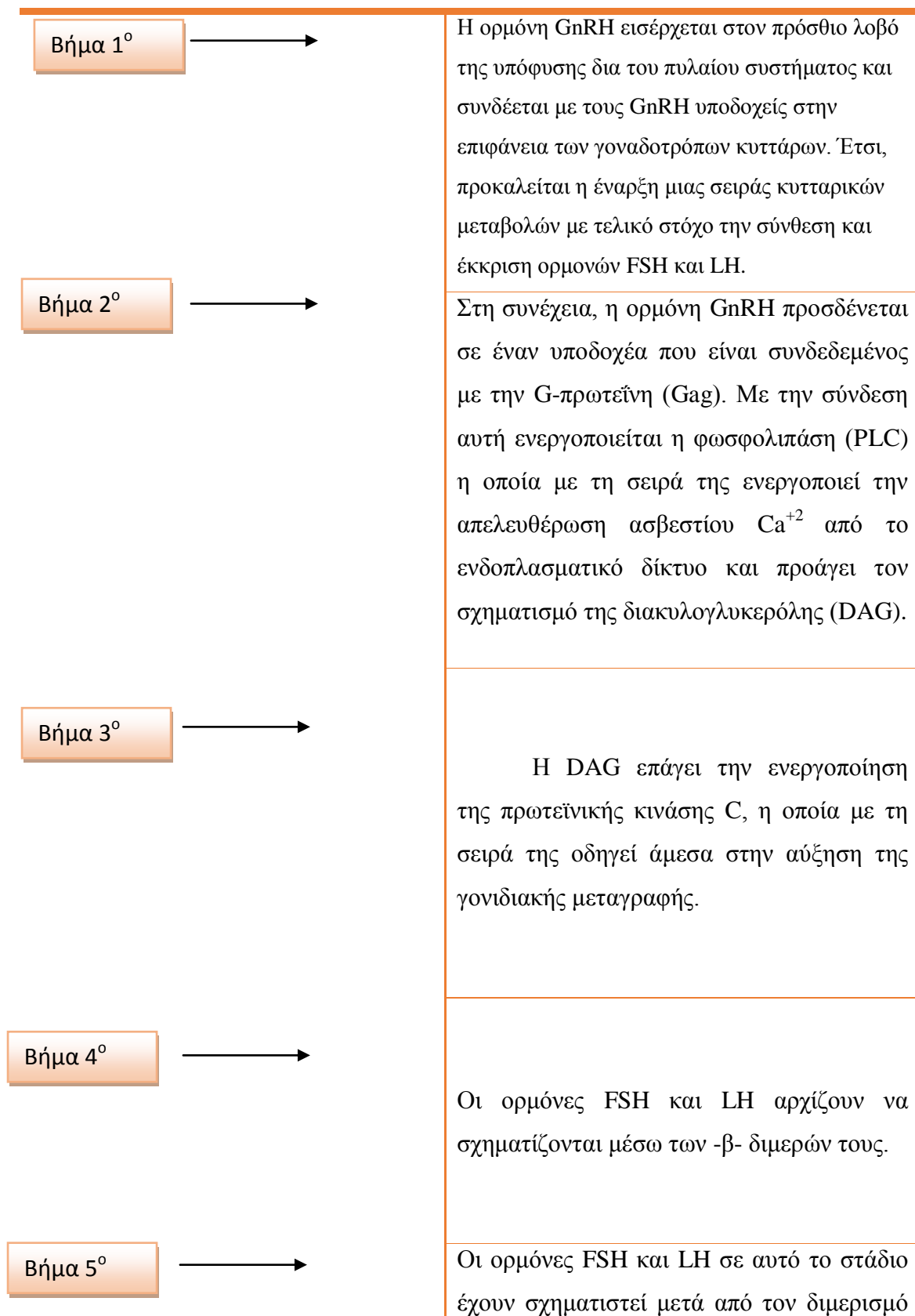
Η οιστριόλη δρα στον κόλπο, τον τράχηλο και το αιδοίο δημιουργώντας κατάλληλο περιβάλλον λίπανσης για την διεξαγωγή της σεξουαλικής επαφής σε μικρότερα ποσοστά απ' ό τι η οιστραδιόλη που αναλύεται παρακάτω. Επίσης, κυριαρχεί σε οιστρογονική ισχύ και σε επίπεδο κυκλοφορίας στον ορό του αίματος μόνο κατά την διάρκεια της κύησης, αντικαθιστώντας την οιστραδιόλη που βρίσκεται σε μικρότερα ποσοστά (Nelson et al 2009).

Η χημική δομή της οιστριόλης: Αποτελείται από δυο υδροξύλια (-OH-) ενωμένα με τον Δ-δακτύλιο και ένα υδροξύλιο (-OH-) ενωμένο με τον Α-δακτύλιο. Γι' αυτό τον λόγο χαρακτηρίζεται και ως οιστριόλη E₃, λόγω των τριών υδροξυλίων που έχει το μόριό της. (Εικόνα 17)



Εικόνα 17. Χημική δομή οιστριόλης

ΕΚΚΡΙΣΗ ΟΙΣΤΡΟΓΟΝΩΝ



Βήμα 6^ο



και την γλυκοζυλίωση τους με διαδικασίες που ρυθμίζονται από την ορμόνη GnRH.

Το ασβέστιο Ca^{+2} που έχει απελευθερωθεί στο 2^ο βήμα, προκαλεί την διάνοιξη των δαυλών ασβεστίου στην κυτταρική μεμβράνη και κατά συνέπεια την εξωκυττάρωση και την έκκριση των γοναδοτροπινών. Οι γοναδοτροπίνες με τη σειρά τους, μεταφέρονται μέσω της κυκλοφορίας του αίματος, στις ωθήκες ώστε να ενεργοποιήσουν την έκκριση των οιστρογόνων

Βιοσύνθεση οιστρογόνων

Η βιοσύνθεση όλων των στεροειδών ορμονών των ωοθηκών, ξεκινά από ένα βασικό γονικό μόριο, την χοληστερόλη. Όταν απαιτείται η σύνθεση από τον οργανισμό των ορμονών, η χοληστερόλη έχει την ιδιότητα να μετατρέπεται σε επιμέρους χημικές ενώσεις, με στόχο την υλοποίηση βιοσύνθεσης της απαιτούμενης στεροειδούς ορμόνης.

Αρχικά, η χοληστερόλη μετατρέπεται σε πρεγνενολόνη και η προγνενελόνη με τη σειρά της σε προγεστερόνη. Σε αυτό το στάδιο για να μετατραπεί η προγεστερόνη σε κύρια οιστρογόνα, απαιτείται ο σχηματισμός και η παραγωγή μεγάλων ποσοτήτων ανδρογόνων (ανδρικές φυλετικές ορμόνες).

Τα ανδρογόνα, αποτελούν πρόδρομοι των οιστρογόνων όπως έχει επισημανθεί. Για την βιοσύνθεση των οιστρογόνων απαιτούνται συγκεκριμένες κατηγορίες ανδρογόνων όπου είναι η δεϋδροεπιανδροστερόνη, η ανδροστενεδιόνη και τέλος η τεστοστερόνη. Αφού λοιπόν, γίνει η μετατροπή της προγεστερόνης στα παραπάνω είδη ανδρογόνων, στη συνέχεια επιτυγχάνεται η μετατροπή τους σε οιστρογόνα, και πιο συγκεκριμένα σε οιστραδιόλη και σε οιστρόνη. Η μετατροπή των ανδρογόνων σε οιστρογόνα πραγματοποιείται μέσω της δράσης ενός ενζύμου που είναι γνωστό ως αρωματάση.

Η κύρια πηγή και παραγωγή της αρωματάσης βρίσκεται στις ωοθήκες. Άλλη πηγή αρωματάσης βρίσκεται στον λιπώδη ιστό, που παράλληλα παράγει σε μικρότερο βαθμό ποσότητες οιστρογόνων, σε γυναίκες που βρίσκονται στο στάδιο της εμμηνόπαυσης.

Συγκεκριμένα είδη ανδρογόνων εκκρίνουν τα οιστρογόνα, και κάθε είδος ανδρογόνου συνθέτει συγκεκριμένο είδος οιστρογόνου. Αναλυτικότερα, Η οιστραδιόλη, το κύριο οιστρογόνο συντίθεται από την τεστοστερόνη. Κύριος πρόδρομος σύνθεσης της οιστρόνης, είναι η ανδροστενεδιόνη. Επιπροσθέτως, η οιστρόνη μπορεί να σχηματιστεί και από την οιστραδιόλη σε μικρές ποσότητες. Τέλος, η οιστριόλη, όπου βρίσκεται σε μικρότερες ποσότητες και αποτελεί το πιο αδύναμο από τα οιστρογόνα, σχηματίζεται και συντίθεται κυρίως από την οιστραδιόλη και την οιστρόνη.

Μεταβολισμός Οιστρογόνων

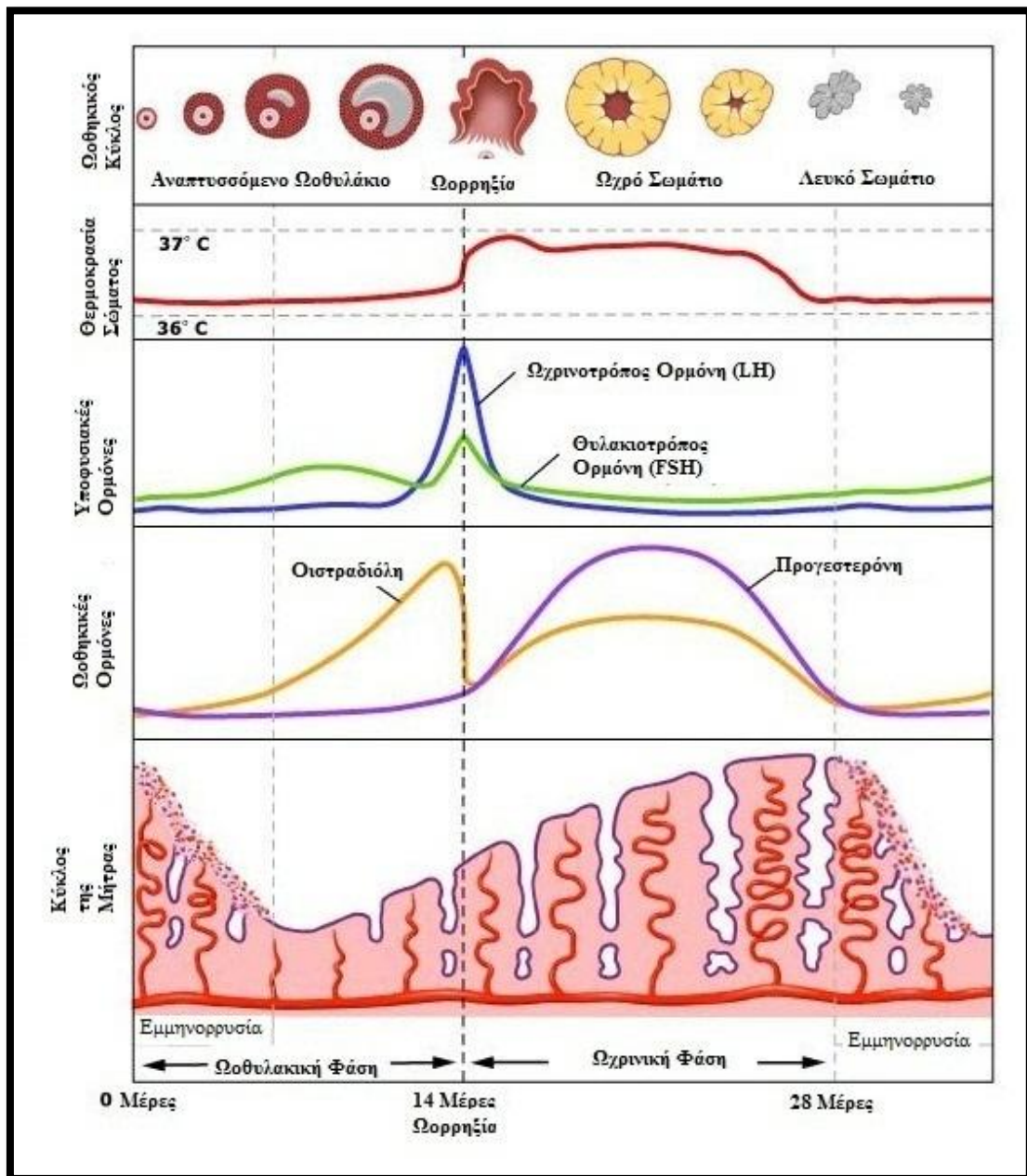
Κύριο όργανο μεταβολισμού των οιστρογόνων αποτελεί το ήπαρ, με την παραγωγή ειδικών ενζύμων. Η οιστραδιόλη κατά την διέλευσή της από το ήπαρ μεταβλίζεται σε οιστριόλη και οιστρόνη, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω. Από τον μεταβολισμό αυτό, μικρές ποσότητες της οιστριόλης και οιστρόνης, εισέρχονται στη κυκλοφορία του αίματος.

Επιπλέον, ο μεταβολισμός των οιστρογόνων από το ήπαρ, ελαττώνει τη βιολογική τους ισχύ και αυξάνει τη διαλυτότητά τους στη νεφρική απέκκριση και το νερό.

Η αποβολή των μεταβολικών παραγώγων των οιστρογόνων επιτυγχάνεται μέσω της χολής, από όπου επαναρροφούνται στη κυκλοφορία του αίματος.

Όσον αφορά, την απορρόφηση των οιστρογόνων, πραγματοποιείται από το έντερο.

Τέλος, η αποβολή από τον οργανισμό γίνεται σε ένα μικρό ποσοστό από τα κόπρανα και τα ούρα.



Εικόνα17: Συγκεντρωτικά, όλες οι μεταβολές του ευρύτερου αναπαραγωγικού συστήματος της γυναίκας που παρατηρούνται κατά τη διάρκεια ενός φυσιολογικού καταμήνιου κύκλου

A2.4 Οιστραδιόλη

Θεωρείται αναγκαίο σε αυτό το κεφάλαιο η επιμέρους ανάλυση της οιστραδιόλης. Όπως έχει ήδη αναφερθεί, η οιστραδιόλη έχει την μεγαλύτερη οιστρογονική ισχύ σε σχέση με τα υπόλοιπα οιστρογόνα κατά την περίοδο της αναπαραγωγικής ηλικίας της γυναίκας.

A2.4.1 Οιστραδιόλη στις γυναίκες

Στις γυναίκες η οιστραδιόλη έχει πολλαπλό και διαδραστικό ρόλο. Πιο συγκεκριμένα, επενδύει το γυναικείο αναπαραγωγικό σύστημα συμβάλλοντας στην σωστή ανάπτυξη του ιστού αναπαραγωγής κατά την προεφηβική και εφηβική ηλικία. Κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγικής ηλικίας, το μεγαλύτερο ποσοστό της οιστραδιόλης παράγεται στα κοκκώδη κύτταρα των ωοθυλακίων στις ωοθήκες των γυναικών.

Επίσης, ίσως από τις πιο σημαντικές λειτουργίες της οιστραδιόλης είναι η διέγερση του ωοθυλακίου με σκοπό να ωθήσει το ωάριο προς την σάλπιγγα (ωορρηξία) διατηρώντας ταυτόχρονα τα υπόλοιπα ωοκύτταρα στο εσωτερικό της ωοθήκης. Ωστόσο, εκτός από την δράση της στο αναπαραγωγικό σύστημα, επιτελεί και πολλαπλές δράσεις σε διάφορα όργανα, όπως είναι τα οστά.

Η οιστραδιόλη πρόκειται για την γυναικεία κύρια ορμόνη και μείωση των επιπέδων της επιφέρει σημαντικές σωματικές και ψυχολογικές διαταραχές του οργανισμού.

Τα επίπεδα της οιστραδιόλης στις γυναίκες κατά την περίοδο της ωορρηξίας κυμαίνονται από 150 έως 500 pg/ml ενώ σε περίπτωση που δεν υπάρξει γονιμοποίηση, τα επίπεδα πέφτουν με σκοπό την έναρξη της εμμήνου ρύσεως του επόμενου εμμηνορρυσιακού κύκλου.

A2.4.2 Οιστραδιόλη στους άντρες

Η οιστραδιόλη υπάρχει και στους άντρες, ωστόσο βρίσκεται σε χαμηλά επίπεδα σε σύγκριση με τα επίπεδα στις γυναίκες που βρίσκονται σε αναπαραγωγική περίοδο. Η παραγωγή της οιστραδιόλης, επιτελείται στους όρχεις και εξαρτάται από την κύρια ορμόνη των αντρών, την τεστοστερόνη, η οποία μεταβολίζεται για την δημιουργία ενός ενεργού προϊόντος οιστραδιόλης. Σκοπός της οιστραδιόλης στους άντρες είναι η ανάπτυξη και η ωρίμανση του σπέρματος κατά την προεφηβική και εφηβική ηλικία. Επιπλέον, στους άντρες αναπαραγωγικής ηλικίας σε συνδυασμό με την τεστοστερόνη ενισχύει την σεξουαλική επιθυμία και παράλληλα βοηθά στη διατήρηση της στύσης κατά την σεξουαλική επαφή.

Όσον αφορά, σε αγόρια στο στάδιο της εφηβείας, η οιστραδιόλη παρουσιάζει αυξημένα ποσοστά διότι συμμετέχει ενεργά στην ανάπτυξη ενός αγοριού από ορμονικής διάστασης, με αποτέλεσμα την προετοιμασία του σώματος και της φυσιολογίας του για την ενηλικίωση (Klein et al, 1998).

Τα επίπεδα της οιστραδιόλης στους άνδρες αναπαραγωγικής ηλικίας κυμαίνονται από 14 έως 55 pg/ml. Σε περιπτώσεις ελάττωσης της οιστραδιόλης, η σεξουαλική ορμή των ανδρών μειώνεται ενώ σε περιπτώσεις αύξησης της οιστραδιόλης, παρουσιάζεται γυναικομαστία, μείωση της τριχοφυΐας και δυσκολία διατήρησης της στύσης.

A2.4.3 Οιστραδιόλη στην ψυχολογία

Η οιστραδιόλη επίσης διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ψυχολογία και την ευεξία της γυναίκας. Φυσιολογικά ποσοστά οιστραδιόλης, προσδίδουν μια καλή διάθεση καθώς και σεξουαλική επιθυμία, αντίθετα χαμηλά ποσοστά οιστραδιόλης προκαλούν κακή διάθεση, έντονες αντιδράσεις και δυσφορία. Όπως είναι λογικό, οι μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, λόγω απώλειας οιστραδιόλης και επικράτηση οιστρονής έχουν συχνά τάσεις κακής ψυχολογίας.

Όταν τα επίπεδα της οιστραδιόλης είναι φυσιολογικά στις γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας, διατηρείται η καλή διάθεση, η σεξουαλική επιθυμία και η ευεξία, ενώ όταν το επίπεδο της είναι χαμηλό, κυρίως κατά την έμμηνη ρύση προκαλείται εκνευρισμός, δυσφορία και κακή διάθεση. Πρόσφατες μελέτες, έδειξαν

ότι η εξωγενής χορήγηση οιστραδιόλης σε διάφορες φάσεις της ηλικίας επηρεάζει θετικά ή αρνητικά την διάθεση μιας γυναίκας, που έχει υποστεί ένα ψυχοκοινωνικό στρες. Πιο συγκεκριμένα, σε γυναίκες που βρίσκονται λίγο πριν το μεταβατικό στάδιο της εμμηνόπαυσης και βιώνουν συνθήκες ψυχολογικού στρες, η αγωγή και χορήγηση οιστραδιόλης επιφέρει θετικές αλλαγές στην ψυχολογία και την διάθεση τους (Dumas et al, 2012).

Σε γυναίκες που έχουν μεταβεί μόνιμα στο στάδιο της εμμηνόπαυσης και βρίσκονται σε μεγάλη ηλικία, η χορήγηση οιστραδιόλης δεν επιφέρει αλλαγές στην διάθεση τους, αλλά αντιθέτως μπορεί να εντείνει την αρνητική διάθεση. Χαρακτηριστική είναι η έρευνα του Newhouse και συν. , όπου παρατήρησαν ότι η αγωγή οιστραδιόλης σε μη καταθλιπτικές γυναίκες, οδήγησε σε αυξημένη αρνητική διάθεση μετά από ένα ψυχοκοινωνικό στρες (Newhouse et al, 2010).

Αρα, συμπεραίνοντας γίνεται κατανοητός ο ρόλος που διαδραματίζει η οιστραδιόλη στην ψυχολογία, όπου ανάλογα την ηλικία και την φάση στην οποία βρίσκεται μια γυναίκα, εκδηλώνει διαφορετικά συναισθήματα και αλλαγές στην διάθεση.

A2.4.4 Οιστραδιόλη στη παχυσαρκία

Η οιστραδιόλη έχει καθοριστικό ρόλο και στην παχυσαρκία ενός ατόμου. Αυξημένα ή μειωμένα επίπεδα οιστραδιόλης μπορεί να προκαλέσουν αρνητικά αποτελέσματα στον μεταβολισμό και τον σχηματισμό λίπους, με αποτέλεσμα το αυξημένο βάρος. Βέβαια, αξίζει να σημειωθεί ότι η επίδραση της διαφέρει ανάλογα την περίοδο που βρίσκεται ένα άτομο, π.χ. η εφηβεία, καθώς η εγκυμοσύνη και εμμηνόπαυση για τις γυναίκες.

Επιπλέον, με τη δράση της οιστραδιόλης στο μεταβολισμό συνεπάγονται αλλαγές της διατροφικής συμπεριφοράς του οργανισμού, την διαμόρφωση του σωματοτύπου και την κατανομή του λίπους στον οργανισμό μιας γυναίκας. Για παράδειγμα, συμβάλλει στον πολλαπλασιασμό των λιποκυττάρων στους γλουτούς και στα κάτω άκρα, ενώ αντίθετα στην περιοχή της κοιλιάς μειώνει τον αριθμό των λιποκυττάρων.

Επιστημονικά αποδεδειγμένα, η επίδραση της οιστραδιόλης οφείλεται στην άμεση σχέση της δράση της με την ορεξιογόνο νευροορμόνη του εγκεφάλου, την μελανοκορτίνη. Η οιστραδιόλη μπορεί να μειώσει τα επίπεδα της μελανοκορτίνης με αποτέλεσμα την μείωση διάθεσης για όρεξη, ή και το αντίστροφο.

Σύμφωνα με πρόσφατη έρευνα από τον Roerke, η οιστραδιόλη συμμετέχει και έχει ανορεξιογόνες δράσεις στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα (ΚΝΣ) και άμεση επίδραση στον υποθάλαμο. Ο Roerke στο πειράμα του πραγματοποίησε ενδροκρανική έγχυση οιστραδιόλης σε πρόβατα και ποντίκια, όπου το τελικό αποτέλεσμα οδήγησε στην ανορεξία των ζώων, υποδεικνύοντας την άμεση σχέση της οιστραδιόλης με τον υποθάλαμο (Roerke, 2009).

Επιπρόσθετα, άλλη μια έρευνα υποδηλώνει, ότι τα υψηλά επίπεδα της οιστραδιόλης κατά τη διάρκεια της εμμήνου ρύσεως ή του οίστρου ή της εγκυμοσύνης οδηγούν σε μειωμένη πρόσληψη τροφής και τη συσσώρευση λίπους. Σε αντίθεση, η ωοθηκεκτομή, σε συνδυασμό με αντί-οιστρογόνο θεραπεία, στο στάδιο εμμηνόπαυσης οδηγούν στην αύξηση πρόσληψης της τροφής και μεγαλύτερης ποσότητας γεύματος, με αποτέλεσμα την διατήρηση του βάρους κυρίως γύρω από την κοιλιά. [Rodrigo P.A. Barros et al, 2011]

Συμπεραίνοντας, οι παραπάνω έρευνες αποδεικνύουν την πολύπλοκη δράση της οιστραδιόλης και τις επιπτώσεις ανάλογα με την φάση που βρίσκεται ένα άτομο, κυρίως των γυναικών. Σε φυσιολογικές συνθήκες έχει συσχετιστεί ότι τα αυξημένα ποσοστά οιστραδιόλης έχουν ως αποτέλεσμα την αύξηση βάρους και πιθανώς την εκδήλωση παχυσαρκίας (Klein et al, 1998). Επιπρόσθετα, επιστημονικές μελέτες έχουν δείξει ότι οι συγκεντρώσεις οιστρογόνων στον ορό σχετίζονται άμεσα με το δείκτη μάζας σώματος (ΔΜΣ) σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (Karim et al, 2009).

Ωστόσο, ανάλογα την περίοδο που διανύει ένα άτομο μια αύξηση ή μείωση επιπέδων οιστραδιόλης μπορούν να προκαλέσουν παχυσαρκία ή ανορεξία.

A2.4.5 Η οιστραδιόλη στην εγκυμοσύνη

Τα οιστρογόνα, κατά την διάρκεια του εμμηνορρυσιακού κύκλου δημιουργούν το κατάλληλο περιβάλλον για την γονιμοποίηση του ωαρίου.

Με την επίτευξη γονιμοποίησης του ωαρίου, οι ωθήκες εκκρίνουν μεγαλύτερη ποσότητα οιστραδιόλης, με ανοδικές εκκρίσεις έως και τριακόσιες φορές παραπάνω απ' το φυσιολογικό μέχρι το τέλος της εγκυμοσύνης.

Η αυξημένη ποσότητα οιστραδιόλης στον οργανισμό ενισχύει τη ροή του αίματος στα όργανα του σώματος, αυξάνει την κυκλοφορία και συντελεί στην ανάπτυξη και αύξηση της μήτρας και του πλακούντα.

Επίσης, η οιστραδιόλη βοηθά και στην έκκριση σημαντικών ουσιών, όπως είναι η μελανίνη, όπου είναι υπεύθυνη για την κατακράτηση υγρών στα άκρα.

Αξίζει να σημειωθεί, ότι η μελανίνη μπορεί να ευθύνεται σ' ένα βαθμό και για τις ναυτίες που προκαλούνται σε ορισμένες περιπτώσεις κατά τη διάρκεια μιας εγκυμοσύνης, εξαιτίας της απότομης και πολύ μεγάλης αύξησής της.

Το ενδομήτριο, επίσης, γίνεται παχύτερο και εμπλουτίζεται με θρεπτικά συστατικά. Έτσι, το γονιμοποιημένο ωάριο έχει όλα τα απαραίτητα συστατικά, το κατάλληλο περιβάλλον και την υποστήριξη που χρειάζεται για να αναπτυχθεί. Επιπρόσθετα, τα υψηλά επίπεδα της οιστραδιόλης κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης σχετίζονται με την εμφάνιση βλέννας όπου το σπερματοζωάριο μπορεί να επιβιώσει για αρκετές ημέρες. Περίπου τη 10^η ημέρα, οι ωθήκες μειώνουν αδρά την παραγωγή οιστρογόνων, όπου στο στάδιο αυτό σημαντικό ρόλο πλέον στην συντήρηση και ανάπτυξη του εμβρύου αναλαμβάνει ο πλακούντας

A2.4.6 Οιστραδιόλη στην εξωσωματική γονιμοποίηση

Όπως έχει αναφερθεί, η οιστραδιόλη αποτελεί την κύρια θηλυκή ορμόνη. Η υπογονιμότητα σε μια γυναίκα κυρίως οφείλεται σε ορμονικές διαταραχές, που έχουν ως αποτέλεσμα τη μη έκκριση των απαιτούμενων ποσοστών των ορμονών, με συνέπεια την αδυναμία του οργανισμού να δημιουργήσει ένα κατάλληλο περιβάλλον για γονιμοποίηση. Επιπλέον, μπορεί να οφείλεται και σε ατροφία ή δυσλειτουργία των οργάνων του γεννητικού συστήματος. Εάν με χορήγηση φαρμάκων ή οποιοδήποτε άλλων διορθωτικών κινήσεων δεν επιτυγχάνεται λύση του προβλήματος, τότε συνιστάται η εξωσωματική γονιμοποίηση.

Η εξωσωματική γονιμοποίηση (in vitro fertilization) είναι μια τεχνητή υποβοηθούμενη διαδικασία γονιμοποίησης, όπου πραγματοποιείται εκτός του οργανισμού. Συνοπτικά, η διαδικασία ξεκινά με τα ωάρια να συλλέγονται από τις ωοθήκες. Στη συνέχεια γονιμοποιούνται με το σπέρμα δότη με ‘καλλιέργεια’ έξω από το σώμα. Αφού ολοκληρωθεί η διαδικασία αφήνονται να ωριμάσουν για αρκετές ημέρες, και στη συνέχεια εκ νέου εμφυτεύεται στη μήτρα.

Η οιστραδιόλη διαδραματίζει εξέχοντα ρόλο στην επιτυχία της εξωσωματικής γονιμοποίησης. Τα επίπεδα οιστραδιόλης στο σώμα έχουν μια σημαντική επίδραση στη γονιμότητα ελέγχοντας τα επίπεδα της ωοθυλακιοτρόπου ορμόνης (FSH), των αριθμό και την ποιότητα των ωαρίων κ.α. Δεδομένου ότι τα επίπεδα οιστραδιόλης επηρεάζουν άμεσα το απόθεμα των ωαρίων και την αποτελεσματικότητα της ωορρηξίας στην διέγερση φαρμάκων, είναι σαφές ότι η οιστραδιόλη και η επιτυχία της εξωσωματικής γονιμοποίησης συνδέονται άμεσα, με την επιτυχία ή αποτυχία της διαδικασίας.

Τα αυξημένα επίπεδα οιστραδιόλης προϋποθέτουν χαμηλά ποσοστά επιτυχίας, και εν συνεχεία προβλήματα στην εγκυμοσύνη. Σε αντίθεση τα φυσιολογικά επίπεδα προσδίδουν σημαντικά ποσοστά επιτυχίας.

A2.4.7 Νέες Προσεγγίσεις Οιστραδιόλης

Η οιστραδιόλη μέχρι και σήμερα δεν έχει αναλυθεί πλήρως όσον αφορά τη χρησιμότητα και τη δράση της, για αυτό το λόγο και αποτελεί και σημαντικό παράγοντα επιστημονικής έρευνας. Παρακάτω θα επισημανθούν κάποιες έρευνες που υποδηλώνουν τις πολλαπλές δράσεις και ιδιότητες της οιστραδιόλης.

Η οιστραδιόλη λόγω της πολλαπλής της δράσης και συνεισφοράς στον οργανισμό αποτελεί σημαντικό αντικείμενο μελέτης και επιστημονικής προσέγγισης. Στην παρούσα ενότητα αναφέρθηκαν αναλυτικά οι πληροφορίες σχετικά με την φυσιολογία, τις δράσεις, τους ρόλους και την συμμετοχή της στον οργανισμό του ανθρώπου.

Ωστόσο, τα τελευταία χρόνια συνέχεια αναδιπλώνονται ολοένα και περισσότερες πτυχές της, που καθιστούν αρκετά απαραίτητη την αναφορά ορισμένων επιστημονικών διαπιστευμένων άρθρων, με κύριο κομμάτι έρευνας την οιστραδιόλη.

Η οιστραδιόλη αυξάνεται κατά την ωορρηξία και στη συνέχεια εφόσον δεν υπάρξει γονιμοποίηση, αρχίζει να μειώνεται και ταυτόχρονα μειώνεται και η σεξουαλική επιθυμία. Κατά την εμμηνόπαυση η μείωση της οιστραδιόλης μπορεί να προκαλέσει εφιδρώσεις, εξάψεις και δυσκολία στον ύπνο.

A2.5. Οιστρογόνα και Ερυθροκύτταρα.

Η εκτενής προσέγγιση της παρούσας ερευνητικής εργασίας στα δυο αυτά συστατικά του οργανισμού πραγματοποιείται, αφενός γιατί αποτελεί το κύριο ερευνητικό αντικείμενο της εργασίας, αφετέρου σύμφωνα με επιστημονικές έρευνες καταγράφεται και διερευνάται μια άμεση σχέση μεταξύ τους.

Αρχικά, το 1986 παρατηρήθηκε ότι τα οιστρογόνα έχουν *in vitro* αντιοξειδωτική δράση στην υπεροξειδωση της φωσφολιπιδικής μεμβράνης των ερυθροκυττάρων σε ήπιες οξειδωτικές συνθήκες (Sugioka et al. 1987).

Σύμφωνα με περαιτέρω εργαστηριακά ευρήματα παρατηρήθηκε ότι τα οιστρογόνα επιτελούν αντιοξειδωτικό και αθηροπροστατευτικό ρόλο (Yagi & Komura 1986, Huber et al. 1990, Subbiah et al. 1993, Sack et al 1994, Arnal et al. 1996). Χαρακτηριστική είναι η επιστημονική έρευνα που διεξήχθη με χορήγηση αντισυλληπτικών σε γυναίκες κατά την διάρκεια του εμμηνορρυσιακού κύκλου και η καταγραφή πιθανών αλλαγών, όσον αφορά τα αντιοξειδωτικά μόρια και ένζυμα. Σε αυτή την έρευνα, με τη χρήση αντισυλληπτικών παρατηρήθηκε αύξηση επιπέδων στο πλάσμα της GSH-Px (Massafra et al, 2000), ενζύμου που χρησιμεύει ως φυσικό αντιοξειδωτικό μόριο (Massafra et al, 1997). Το εύρημα αυτό, αναδεικνύει τον πιθανό αντιοξειδωτικό ρόλο που διαδραματίζουν τα οιστρογόνα, κυρίως η οιστραδιόλη στη ρύθμιση, της παραγωγής GSH-Px (Massafra,et al., 2000). Παράλληλα σε αμμηνορρυσιακές γυναίκες, η θεραπεία με οιστραδιόλη (E_2) και όχι με προγεστερόνη, αποδείχτηκε ότι διεγείρει την GSH-Px των ερυθροκυττάρων (Massafra et al., 1996, Massafra et al., 1997).

Παράλληλα υπήρξε και αύξηση της ερυθροκυτταρικής δραστηριότητας. Μετέπειτα έρευνα που ακολούθησε με στόχο την εύρεση της σχέσης μεταξύ των οιστρογόνων και των ερυθροκυτταρικών ενζυμικών δραστηριοτήτων σε γυναίκες ηλικίας 20 έως 27 ετών, με φυσιολογικό καταμήνιο κύκλο επιβεβαίωσε μια σαφή θετική συσχέτιση μεταξύ οιστραδιόλης και της GSH-Px. (Massafra et al., 2000).

Έχει αποδειχτεί ότι η συχνότητα εμφάνισης στεφανιαία νόσου σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες είναι υψηλότερη σε σχέση με γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας. Αυτό, επισημαίνεται σύμφωνα με σχετικές έρευνες ότι

οφείλεται στην επίδραση των οιστρογόνων, όπου έχουν προστατευτικές ιδιότητες κατά της αθηροσκλήρωσης. Αντίθετα, οι γυναίκες που βρίσκονται στο στάδιο της εμμηνόπαυσης έχουν χαμηλά ποσοστά οιστρογόνων, με επικράτηση κυρίως της οιστρόνης. Έτσι, ο οργανισμός δεν διαθέτει προστατευτικά μέσα, με την εμφάνιση μιας πρόωρης στεφανιαίας νόσου να είναι πιθανή (Barrett-Connor E, Bush TL, 1991, Davis et al, 1994). Η αθηροπροστατευτική ιδιότητα των οιστρογόνων έχει διαπιστωθεί ότι οφείλεται από τους υποδοχείς του (κυρίως ERA) που εκφράζονται στα ενδοθηλιακά κύτταρα και στα μυϊκά κύτταρα των αγγείων (Chrousos GP, 1998, Pare G, Krust A, Karas RH, et al, 2002).

Σύμφωνα με τις παραπάνω επιστημονικές έρευνες παρατηρείται η άμεση σχέση και ο αντιοξειδωτικός ρόλος των οιστρογόνων σε συνδυασμό με την παράλληλη συνεργασία των αντιοξειδωτικών ενζύμων του ερυθροκυττάρου.

Παράλληλα, η δράση των οιστρογόνων φαίνεται να συμμετέχει σε μηχανισμούς άμυνας, εξισορρόπησης ή αντιμετώπισης διαφόρων νοσημάτων και ασθενειών.

Τα οιστρογόνα έχουν αναφερθεί ότι έχουν προστατευτικό ρόλο ενάντια σε πειραματική αυτοάνοση εγκεφαλομυελίτιδα, που παρατηρήθηκε σε μοντέλο ποντικού με σκλήρυνση κατά πλάκας. Βέβαια ακόμα δεν έχουν αναλυθεί πλήρως όλοι οι μοριακοί μηχανισμοί επίδρασης των οιστρογόνων, ωστόσο τα ευρήματα αυτής της έρευνας παρουσιάζουν πιθανή συμμετοχή και σχέση της ύπαρξης οιστραδιόλης με μειωμένα επίπεδα απελευθέρωσης ATP από τα ερυθροκύτταρα, με παράλληλη μείωση νιτρικού οξειδίου (NO) από τα ενδοθηλιακά κύτταρα (Suzanne Letourneau, 2010).

Μια ακόμα σημαντική επιστημονική έρευνα πραγματοποιήθηκε σε γυναίκες με προ εκλαμψία όπου αναδεικνύει την άμεση σχέση της οιστραδιόλης στην λειτουργία και επίδραση των ερυθροκυττάρων. Στην έρευνα αυτή παρατηρήθηκε ότι η βραχυπρόθεσμη ενδομυϊκή χορήγηση οιστραδιόλης παρουσιάζει αντιοξειδωτικές επιδράσεις στα ερυθροκύτταρα, μειώνοντας παράλληλα την πίεση του αίματος, συμμετέχοντας στην επαναφορά ισορροπίας του οργανισμού (Natasa Z. Djordjevic, 2010).

Τέλος, μια ακόμα *in vitro* έρευνα πραγματοποιήθηκε για να παρατηρηθεί η επίδραση της οιστραδιόλης στα ερυθροκύτταρα και τις τυχόν αλλαγές που προέκυψαν. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, η οιστραδιόλη δεν επηρέασε αρνητικά την λειτουργικότητα των ερυθροκυττάρων, αντιθέτως έπαιξε ένα προστατευτικό ρόλο

στην υπεροξειδωση των λιπιδίων που προκαλείται από το χρώμιο στα ερυθροκύτταρα. Συμπερασματικά, η οιστραδιόλη παρουσιάζει θετικά αποτελέσματα στην αντιοξειδωτική δράση των ερυθροκυττάρων *in vitro* (Krzysztof P. Rembacz et al, 2012).

Συμπερασματικά, τα οιστρογόνα δείχνουν να παρουσιάζουν πολλαπλές δράσεις και ρόλους στον οργανισμό. Παρατηρήθηκε ότι έχουν θετικές επιδράσεις σε πολλούς ιστούς και όργανα του σώματος, όπως είναι ο εγκέφαλος όπως επίσης και η χρήση τους ως θεραπεία για την καταπολέμηση διαφόρων ασθενειών και νοσημάτων. Σε σχέση με τα ερυθροκύτταρα παρατηρείται μια προστατευτική δράση, καθώς φαίνεται ότι αυξάνει τα επίπεδα των φυσικών αντιοξειδωτικών μορίων και ενζύμων πιθανά του πλάσματος και παράλληλα ελαττώνεται σε ένα βαθμό η ύπαρξη των ελευθέρων ριζών οξυγόνου. Επίσης, τα οιστρογόνα εμφανίζουν θετικές ιδιότητες στα ερυθροκύτταρα, δείχνοντας να παρατείνουν το οξειδωτικό στρες των ερυθροκυττάρων.

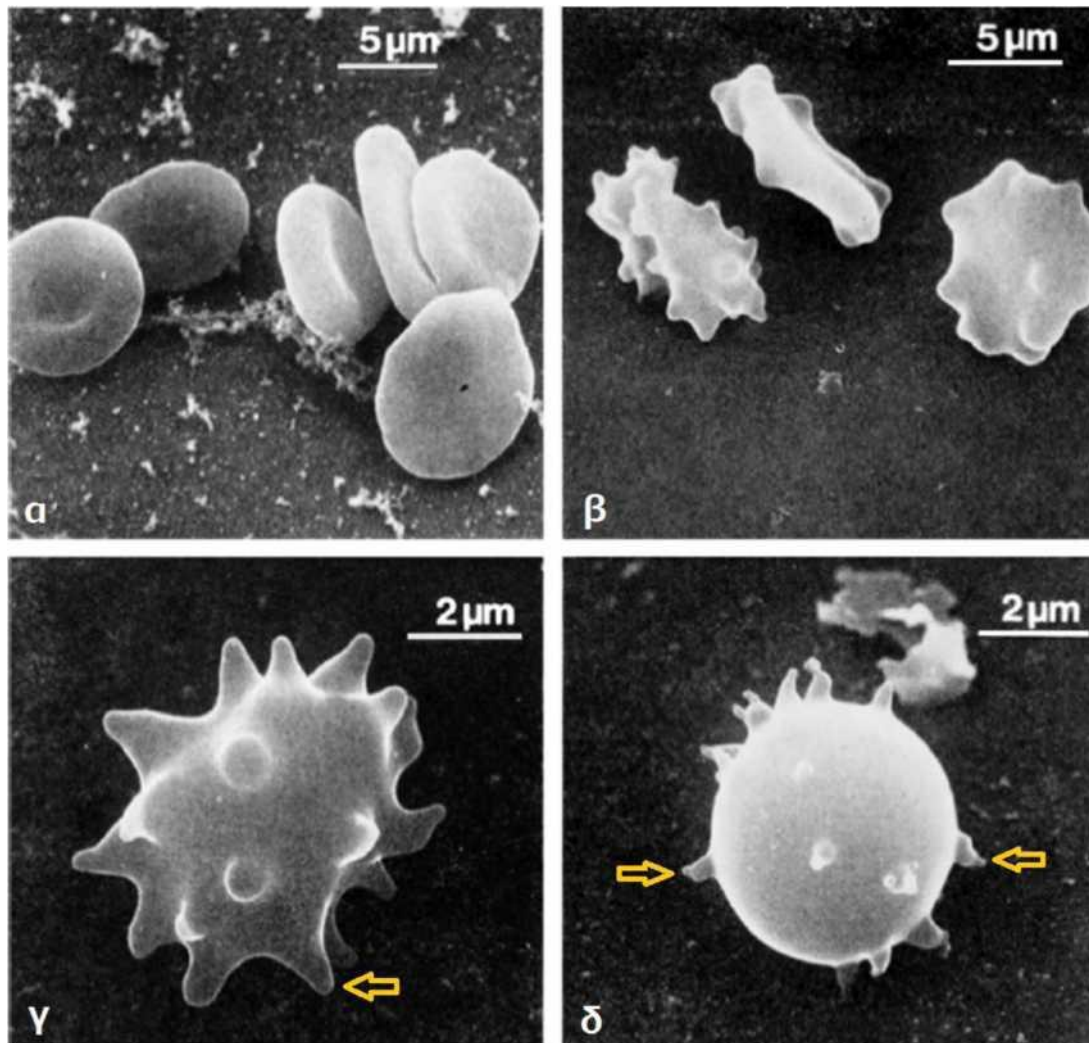
A3.Αποθηκευτική Βλάβη του Ερυθροκυττάρου

Η αποθήκευση των ερυθροκυττάρων οδήγησε σε ένα νέο ζήτημα, αυτό της ποιότητάς τους κατά τη διάρκεια και μετά την αποθήκευση. Ακόμα και με τα πολύ καλά αντιπηκτικά και συντηρητικά διαλύματα που είναι διαθέσιμα, τα ερυθροκύτταρα δεν παραμένουν στην ίδια κατάσταση, αλλά επηρεάζονται από τη διαδικασία και τις συνθήκες αποθήκευσής τους (Pavenski et al, 2012). Κατά την αποθήκευση παρατηρούνται μορφολογικές, βιοχημικές, μεταβολικές και λειτουργικές μεταβολές στα ερυθρά αιμοσφαίρια, οι οποίες χαρακτηρίζονται ως αποθηκευτικές βλάβες του ερυθροκυττάρου (red blood cell storage lesions). Οι αποθηκευτικές βλάβες είναι πολύπλευρες και περιλαμβάνουν μορφολογικές αλλαγές, αλλαγές στο μεταβολισμό και τη ρεολογία, απώλεια υδατανθράκων, λιπιδίων και πρωτεϊνών από τη μεμβράνη, απώλεια μεμβράνης, οξειδωση λιπιδίων και πρωτεϊνών (με αλλαγές στη δομή της πρωτεΐνης-ζώνης 3), επιδράσεις στη δέσμευση και μεταφορά O₂, συγκόλληση των ερυθρών αιμοσφαιρίων σε ενδοθηλιακά κύτταρα, μειωμένη διάρκεια ζωής των ερυθροκυττάρων, όπως και δευτερεύοντες κινδύνους λόγω συσσώρευσης καλίου, ενεργών πρωτεϊνών, λιπιδίων και μικροκυστιδίων, και λόγω βακτηριακών επιμολύνσεων (Hess et al, 2010). Κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης, ο μεταβολισμός γίνεται πιο αργός, έχουμε μείωση του ATP (adenosine 5'-triphosphate, αδενοσινο 5'-τριφωσφορικό οξύ), η γλυκόζη στο αποθηκευμένο αίμα καταναλώνεται και παρατηρείται οξέωση, με ταυτόχρονη ελάττωση των επιπέδων 2,3-DPG (2,3-diphosphoglycerate, 2,3-διφωσφογλυκερινικό οξύ). Λόγω της απενεργοποίησης της αντλίας νατρίου-καλίου (Na⁺/K⁺) (που είναι συνήθως παροδική), η συγκέντρωση καλίου εξωκυτταρικά αυξάνεται, ενώ ενδοκυτταρικά συσσωρεύεται νάτριο. Σαν αποτέλεσμα, έχουμε απώλεια μεμβράνης από το ερυθροκύτταρο (μέσω της μικροκυστιδιοποίησης), που οδηγεί σε αλλαγές στη ρεολογία. Η αλλοίωση αυτή των ερυθρών αιμοσφαιρίων έχει ως συνέπεια την αιμόλυση και τη δημιουργία μικροκυστιδίων (microvesicles/ microparticles), τα οποία ίσως συμβάλλουν σε επιπλοκές που σχετίζονται με τη μετάγγιση (Kim-Shapiro et al, 2011, D'Alessandro et al, 2010). Ορισμένες από αυτές τις βλάβες συμβαίνουν μόλις τις πρώτες ώρες της αποθήκευσης, όπως η μείωση του pH και η αύξηση του καλίου, ενώ άλλες συμβαίνουν ύστερα από ημέρες ή και εβδομάδες (D'Alessandro et al, 2010).

Όλες αυτές οι αλλαγές που παρατηρούνται, μπορούν να θέσουν σε κίνδυνο την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητα των μεταγγίσεων με μακροχρονίως αποθηκευμένα ερυθροκύτταρα (D'Alessandro et al, 2010). Οι παρατηρήσεις αυτές (σε μοριακό επίπεδο) υποστηρίζονται από πολλές μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί πάνω στις κλινικές επιπτώσεις, οι οποίες ίσως εμφανιστούν μετά από τέτοιες μεταγγίσεις. Αρκετές από αυτές καταδεικνύουν δυσμενή κλινικά αποτελέσματα σε ασθενείς που μεταγγίστηκαν με μακροχρόνια αποθηκευμένο αίμα, συσχετίζοντάς τα με τις ερυθροκυτταρικές βλάβες, και υποστηρίζουν πως η χρήση φρέσκου αίματος ίσως είναι προτιμότερη (Koch et al, 2008, Edgren et al, 2010, Weinberg et al, 2010). Παρόλα αυτά, υπάρχουν και μελέτες που αδυνατούν να προχωρήσουν σε τέτοιους συσχετισμούς (Klein et al, 2007, Klein et al, 2003). Έτσι, αν και οι συνιστώσες της αποθηκευτικής βλάβης έχουν περιγραφεί σε ιδιαίτερα ικανοποιητικό βαθμό, η κλινική σημασία αυτών των σχετικών με την αποθήκευση μεταβολών, παραμένει αβέβαιη (Hess et al, 2010, Vandromme et al, 2009, Kim-Shapiro et al, 2011, D'Alessandro et al, 2010).

Α3.1 Μορφολογικές μεταβολές

Το σχήμα των ερυθροκυττάρων κατά την αποθήκευση, έχει παρατηρηθεί πως αλλάζει γραμμικά με το χρόνο αποθήκευσης (Pavenski et al. 2012). Από λείοι, αμφίκυκλοι δίσκοι (*Εικόνα 18*), μετατρέπονται σταδιακά σε ελαφρώς ανώμαλους δίσκους (με εξογκώματα) (*Εικόνα 18*) και στη συνέχεια σε ιδιαίτερα έντονα ανώμαλες σφαίρες, που ονομάζονται σφαιροεχινοκύτταρα (*Εικόνα 18*) (Hess et al, 2010, Vandromme et al, 2009, Lion et al, 2010, Lockwood et al 2003). Η μετατροπή αυτή του σχήματος σχετίζεται με ρεολογικές μεταβολές, αυξημένο ιξώδες και μειωμένη κυκλοφορία στα τριχοειδή (Pavenski et al, 2012, Hess et al, 2010, Relevy et al, 2008).. Δίνει, επίσης, στα ερυθρά αιμοσφαίρια την τάση να συναθροίζονται, αυξάνοντας την πιθανότητα αποκλεισμού της μικροκυκλοφορίας, οδηγώντας πιθανώς σε ισχαιμία του ιστού (Vandromme et al, 2009)



Εικόνα 18: Η εξέλιξη της μορφολογίας ενός μέρους των ερυθροκυττάρων κατά την αποθήκευση. Τα ερυθροκύτταρα μετατρέπονται από λείοι αμφικόλιοι δίσκοι (α) σε εχινοκύτταρα (β) και στη συνέχεια γίνονται σφαιροεχινοκύτταρα, παίρνοντας σφαιροειδές σχήμα με προεξοχές (βέλη) (γ και δ). Οι τέσσερις εικόνες (α, β, γ, δ) προέρχονται από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. Στις εικόνες α και β το μήκος της γραμμής στην πάνω δεξιά γωνία αντιστοιχεί σε 5μm πραγματικών διαστάσεων, ενώ αντίστοιχα στις εικόνες γ και δ το μήκος της, αντιστοιχεί σε 2μm (Lion et al, 2010).

Παρόλα αυτά, η μεταβολή αυτή στη μορφολογία των ερυθροκυττάρων είναι σε γενικές γραμμές αναστρέψιμη με τη μέθοδο της αναζωογόνησης, διαδικασία που επιτυγχάνεται με θέρμανση των κυττάρων μέσα σε μίγμα θρεπτικών στοιχείων με ουδέτερο pH (Pavenski et al, 2012). Αναγκαία κρίνεται όμως, και η παράλληλη αύξηση της συγκέντρωσης του ATP και του 2,3- DPG (Hess et al 2010).

Μετά το στάδιο του σφαιροεχινοκυττάρου, τα ερυθροκύτταρα αρχίζουν να χάνουν μεμβράνη, μέσω της δημιουργίας μικροκυστιδίων από τις άκρες των «ακανθωτών» απολήξεων των μεμβρανικών ανωμαλιών (*Εικόνα 18, βέλη*). Η απώλεια μεμβράνης κάνει τα ερυθρά αιμοσφαίρια λιγότερο ελαστικά, ώστε δυσκολεύονται πλέον να περάσουν μέσα από στενά τριχοειδή (Pavenski et al, 2012) Οι αλλοιώσεις αυτές είναι μη αναστρέψιμες. Αν και τα μικροκυστίδια αυτά φαίνεται πως δημιουργούνται από τα ερυθροκύτταρα (αλλά και από άλλα κύτταρα του οργανισμού) μέσω μιας ελεγχόμενης διαδικασίας, οι λειτουργίες τους δεν είναι ακόμα απόλυτα γνωστές (Lion et al, 2010). Θεωρούνται, ίσως, αποτέλεσμα της φυσιολογικής διαδικασίας της ωρίμανσης και του κυτταρικού θανάτου (ερύπτωση ή ερυθρόπτωση), ο οποίος «αποκαλύπτεται» από τη μείωση της συγκέντρωσης του ATP κατά την αποθήκευση (Pavenski et al, 2012, Hess et al 2010). Μπορεί επίσης, να πρόκειται για ξεχωριστό μηχανισμό, μέσω του οποίου δημιουργούνται κυστίδια που μεταφέρουν και αποβάλλουν από το κύτταρο οξειδωμένα λιπίδια και κατεστραμμένες πρωτεΐνες (Hess et al, 2010, Salzer et al, 2008). Με την αποβολή των επιβλαβών ουσιών με τον τρόπο αυτό, αποτρέπεται η πιθανή πυροδότηση άλλων βλαβών ή η στόχευση των ερυθροκυττάρων από το ανοσοποιητικό σύστημα (πυροδότηση της εκκαθάρισης). Τα μικροκυστίδια είναι γενικά, κυστίδια πλούσια σε φωσφολιπίδια, μικρότερα από 0,5μm (Lion et al, 2010). Κυστίδια που συλλέχθηκαν από το υπερκείμενο αποθηκευμένων ερυθρών αιμοσφαιρίων, ανάλογα με το μέγεθός τους, φέρονται να έχουν διαφορετικές ιδιότητες. Ορισμένα είναι πλούσια σε οξειδωμένα λιπίδια, εκθέτουν φωσφατιδυλοσερίνη (phosphatidylserine, PS), η οποία φυσιολογικά βρίσκεται στην εσωτερική επιφάνεια της μεμβράνης, ή έχουν ανεπάρκεια πρωτεϊνών προσκολλημένων στον κυτταροσκελετό. Τα αρνητικά φορτισμένα λιπίδια που βρίσκονται πάνω στην επιφάνεια των κυστιδίων αυτών, μπορούν να τα κάνουν προφλεγμονώδη και προθρομβωτικά (Pavenski et al, 2012, Hess et al, 2010).

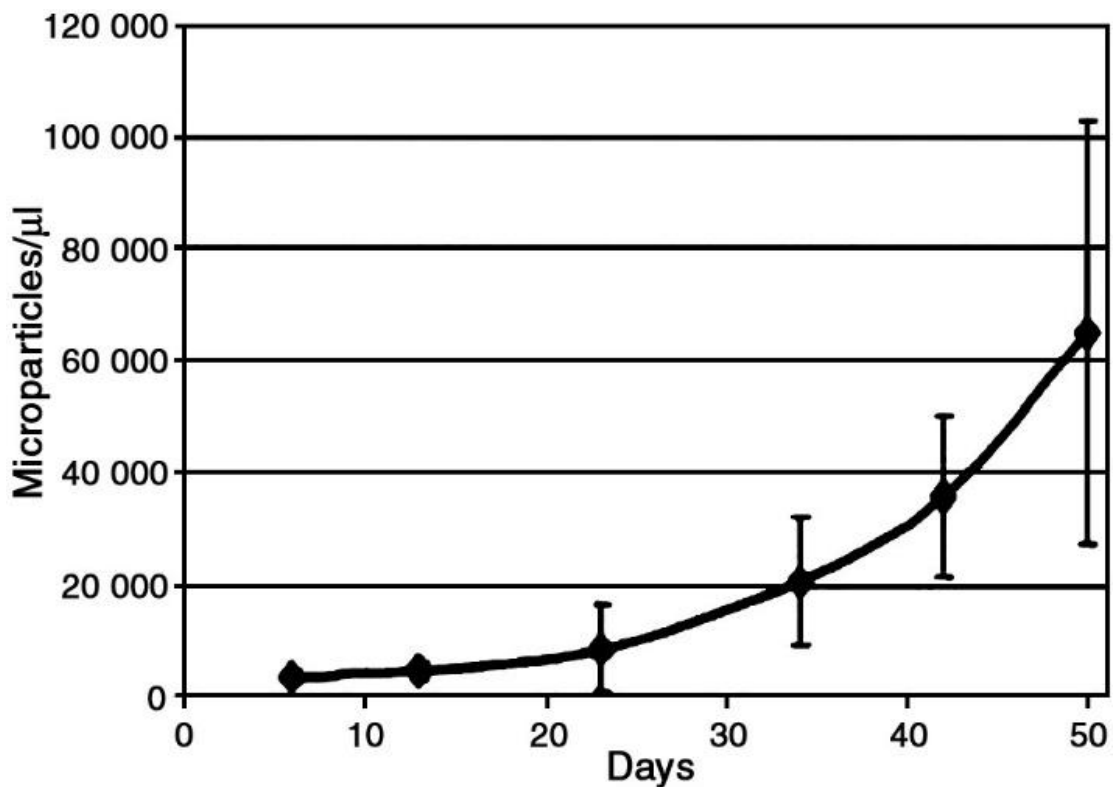
Η μείωση του ATP αποκαλύπτει την διαδικασία της ερύπτωσης. Αντιστρόφως, η προγραμματισμένη πορεία του κυτταρικού θανάτου των ερυθροκυττάρων, φυσιολογικά, κρατείται υπό έλεγχο με υψηλές συγκεντρώσεις ATP και GTP (Guanosine-5'-triphosphate, γουανοσίνη-5'-τριφωσφορικό οξύ) (Lang et al, 2008). Οι υψηλές συγκεντρώσεις ATP συντηρούν τη λειτουργία της αμινοφωσφολιπιδικής τρانشλοκάσης (aminophospholipid translocase), η οποία κρατάει την φωσφατιδυλοσερίνη (PS) στη φυσιολογική της θέση, στο

εσωτερικό των ερυθροκυττάρων. Έτσι, καταστέλλεται τουλάχιστον μία από τις μορφές της μικροκυστιδιοποίησης (microvesiculation). Οι υψηλές συγκεντρώσεις GTP είναι απαραίτητες για την καταστολή μιας τρανσγλουταμινάσης, που όταν ενεργοποιηθεί προκαλεί τυχαία συγκόλληση μεταξύ πρωτεϊνών. Όσο περνάει ο χρόνος, όλο και περισσότερα από τα αποθηκευμένα ερυθρά αιμοσφαίρια γίνονται ευπαθή προς αυτές τις διαδικασίες (Hess et al, 2010).

Η αλλαγή στο σχήμα και τη δομή κατά την αποθήκευση, όπως προαναφέρθηκε, συνδέεται με ρεολογικές αλλαγές, αυξημένο ιξώδες και μειωμένη κυκλοφορία στα συστήματα των τριχοειδών (Pavenski et al., 2012, Hess et al., 2010, Relevy et al., 2008). Τα αποθηκευμένα ερυθροκύτταρα έχουν μεγαλύτερο ολικό ιξώδες και η μειωμένη ροή τους μπορεί να παρουσιαστεί τόσο σε τεχνητά, όσο και σε φυσικά τριχοειδή. Η απώλεια της μεμβράνης μέσω της μικροκυστιδιοποίησης, οδηγεί σε σκληρότερα, λιγότερο εύκαμπτα κύτταρα, που δεν μπορούν να περάσουν με την ίδια ευκολία μέσα από τα τριχοειδή αγγεία (Pavenski et al., 2012). Τα ερυθρά αιμοσφαίρια μετά από αποθήκευση, διεισδύουν σε μικρότερο βάθος σε τεχνητά, λεπτά τριχοειδή και διαπερνούν λιγότερα μικροαγγεία, όπως παρατηρήθηκε σε ηλεκτρονική μικροσκόπηση. Η ερμηνεία αυτών των παρατηρήσεων δυσκολεύει, καθώς αυτές οι μορφολογικές αλλαγές είναι, σε μεγάλο βαθμό, αναστρέψιμες με αναζωογόνηση των ερυθροκυττάρων και αποτρέψιμες με χρήση σχετικά καλύτερων συστημάτων αποθήκευσης. Τα ερυθροκύτταρα φαίνεται πως μπορούν να αντισταθμίσουν τις επιπτώσεις της αποθήκευσης όταν το pH επιστρέψει σε φυσιολογικές τιμές και η συγκέντρωση του ATP φτάσει και παραμείνει στα αναγκαία και επιθυμητά επίπεδα (Hess et al., 2010).

Κάποιες μεταβολές όμως, είναι μη αναστρέψιμες. Η απώλεια μεμβράνης είναι μια τέτοια μεταβολή, καθώς αν συμβεί, το κύτταρο μπορεί να αναπληρώσει τη χαμένη μεμβράνη. Όσο παρατείνεται ο χρόνος της αποθήκευσης, τόσο περισσότερα μικροκυστίδια δημιουργούνται και συνεπώς, η απώλεια μεμβράνης διαρκώς αυξάνεται (*Εικόνα 18*). Όταν τα λευκά αιμοσφαίρια που υπάρχουν μέσα στο αποθηκευμένο αίμα σπάσουν, απελευθερώνουν ένζυμα που περιέχουν γλυκοσιδάσες, λιπάσες και πρωτεάσες. Τα ένζυμα αυτά επιτίθενται στην επιφάνεια των ερυθρών αιμοσφαιρίων, αφαιρώντας ανοσοπροστατευτικά σάκχαρα, αποαλκυλιωτικά λιπίδια και διασπώντας πρωτεΐνες (Hess et al., 2010, Sparrow et al, 2007). Η

λευκαφαίρεση πριν την αποθήκευση μπορεί να αποτελέσει λύση πρόληψης αυτών των βλαβών και να βελτιώσει την ποιότητα των προς αποθήκευση ερυθροκυττάρων, αυξάνοντας την μετά τη μετάγγιση επιβίωσή τους και μειώνοντας την αιμόλυση (Hess et al., 2012). Πολλές μελέτες υποστηρίζουν τη λευκαφαίρεση του αίματος που προορίζεται για αποθήκευση, έναντι της αποθήκευσης μη λευκαφαιρεμένου ολικού αίματος. Σε λευκαφαιρεμένα συμπυκνωμένα ερυθρά αιμοσφαίρια (ΣΕ), δε βρέθηκε αξιοσημείωτη παραμόρφωση στα ερυθροκύτταρα μετά από αποθήκευση 6 εβδομάδων (Vandromme et al., 2009, Raat et al, 2005).



Εικόνα 19: Η αύξηση της συγκέντρωσης των μικροκυστιδίων με το πέρασμα των ημερών, κατά την αποθήκευση των ερυθροκυττάρων σε CPD-SAGM, στους 4 C (Lion et al, 2010)

A3.2. Μεταβολικές - Βιοχημικές μεταβολές

Ενώ οι μορφολογικές και δομικές αλλαγές παρατηρούνται στην επιφάνεια των ερυθροκυττάρων, καθώς ο χρόνος της αποθήκευσης προάγεται, στο εσωτερικό των κυττάρων έχουμε μεταβολικές και βιοχημικές μεταβολές. Οι μεταβολικές αλλαγές που απαντώνται κατά την αποθήκευση των ερυθροκυττάρων είναι αυτές που έχουν μελετηθεί σε μεγαλύτερο βαθμό, και αφορούν μειώσεις σε ενζυμικές και ενεργειακές συγκεντρώσεις, οι οποίες επηρεάζουν τη λειτουργία των κυττάρων (Vandromme et al., 2009).

Ο καλύτερος μεταβολικός δείκτης για την *in vivo* ανάκτηση/ επιβίωση των ερυθροκυττάρων, θεωρείται πως είναι η συγκέντρωση του ATP σε αυτά, το οποίο (ATP) παράγεται μέσω της γλυκόλυσης (Pavenski et al., 2012, Vandromme et al., 2009). Η διαδικασία της γλυκόλυσης αποτελεί τη μοναδική πηγή ενέργειας για τα ερυθρά αιμοσφαίρια. Κατά την πραγματοποίησή της, έχουμε διάσπαση γλυκόζης προς δημιουργία ATP και, ως αποτέλεσμα, παραγωγή λακτικού οξέος και πρωτονίων. Τα πρωτόνια που συσσωρεύονται κάνουν το διάλυμα αποθήκευσης όλο και πιο όξινο, επιβραδύνοντας τη γλυκόλυση, μέσω της αναστολής της λειτουργίας της φωσφοφρουκτοκινάσης (phosphofruktokinase, PFK). Έτσι, με την πάροδο του χρόνου, η παραγωγή ATP κατά την αποθήκευση μειώνεται συνεχώς (Pavenski et al. 2012, Hess et al., 2010).

Η γλυκόλυση επηρεάζεται επίσης και από τη θερμοκρασία, καθώς σε θερμοκρασία 3°C πραγματοποιείται δέκα φορές πιο αργά, από ότι σε θερμοκρασία 25°C (Hess et al., 2010). Όταν τα ερυθροκύτταρα αποθηκεύονται σε CPD στους 4°C για 35 ημέρες, καταναλώνουν σχετικά λίγη γλυκόζη (περίπου 3mmol) και παράγουν 6mmol πρωτονίων, που μειώνουν το pH του διαλύματος. Ο μεταβολισμός τελικά σταματά όταν το pH στον ασκό φτάσει στο 6,4 (Pavneski et al., 2012). Έτσι, έχει καθιερωθεί η αποθήκευση των ερυθρών αιμοσφαιρίων σε θερμοκρασίες 1 - 6°C, ώστε να μην παγώνουν, κάτι που γίνεται στους -0,5°C, αλλά και να μην οδηγούνται σε ταχύτερη κατανάλωση και εξάντληση των αποθεμάτων θρεπτικών ουσιών, γεγονός που συμβαίνει σε αυξημένες θερμοκρασίες (Hess et al., 2010).

Από τη θερμοκρασία εξαρτάται και η λειτουργία της αντλίας Na^+/K^+ στη μεμβράνη των ερυθροκυττάρων, η οποία είναι εξαρτημένη και από τη συγκέντρωση ATP (Hess et al., 2010). Σε θερμοκρασία 4°C , η αντλία Na^+/K^+ απενεργοποιείται, έχοντας ως αποτέλεσμα εισροή Na^+ στα ερυθροκύτταρα και μεγάλη απώλεια K^+ στο διάλυμα αποθήκευσης (Lion et al., 2010, Bennet-Guerrero et al., 2007). Το K^+ δεν μπορεί να επανεισχωρήσει στο κύτταρο και έτσι η συγκέντρωση του καλίου στον εξωκυττάριο χώρο (στο μέσο αποθήκευσης του ασκού) αυξάνεται με ρυθμό περίπου 1mEq την ημέρα (Pavenski et al. 2012, Hess et al., 2010). Μετά τη μετάγγιση του αποθηκευμένου αίματος, συνήθως χρειάζονται 24 ώρες για την ανάκτηση της φυσιολογικής συγκέντρωσης Na^+ μέσα στο ερυθροκύτταρο, ενώ η ομαλοποίηση των επιπέδων του K^+ μπορεί να διαρκέσει έως και 5 ημέρες (Lion et al., 2010). Μετάγγιση μακροχρονίως αποθηκευμένων ερυθρών αιμοσφαιρίων, με υψηλές συγκεντρώσεις K^+ εξωκυτταρικά, εάν μεταγγιστούν με γρήγορο ρυθμό ροής σε κύρια αγγεία, ή χρησιμοποιηθούν σε ασθενείς με καρδιακά προβλήματα, ή και μετά από bypass (αορτοστεφανιαία παράκαμψη/ μπάι-πας), μπορούν να προκαλέσουν αρρυθμία ή και αιφνίδιο θάνατο (Pavenski et al. 2012, Hess et al., 2010). Επικίνδυνη χαρακτηρίζεται μια τέτοια μετάγγιση και σε νεογνά (Lion et al., 2010).

Τα ερυθρά αιμοσφαίρια συλλέγονται από φλεβικό αίμα, με pH περίπου 7,35 και αποθηκεύονται σε διάλυμα CPD, με pH 5,5 - 5,8. Το εναιώρημα που προκύπτει έχει pH γύρω στο 7,1, αν και το pH μπορεί να εξαρτάται, λίγο ή πολύ, από τη συγκέντρωση της Hb και τον όγκο του αίματος του δότη, αλλά και από την κατάσταση του δότη κατά την αιμοδοσία (εάν ήταν ήρεμος και ανέπνεε φυσιολογικά, προς αποφυγή υπεραερισμού) (Hess et al., 2010). Στο pH αυτό, η εξαρτώμενη από το pH αναστολή της φωσφοφρουκτοκινάσης, αυξάνει την ποσότητα της 6- φωσφορικής γλυκόζης (βασικό ενδιάμεσο που σχηματίζεται από τη γλυκόζη και το ATP κατά τη διάρκεια του μεταβολισμού της γλυκόζης), η οποία είναι διαθέσιμη για τη μετατροπή της φωσφορικής πεντόζης και τη διατήρηση της αντιοξειδωτικής γλουταθειόνης (glutathione, GSH) σε υψηλές συγκεντρώσεις (Hess et al., 2010). Έτσι, η αναστολή της φωσφοφρουκτοκινάσης καθυστερεί τη γλυκόλυση, που σε συνδυασμό με τη χαμηλή θερμοκρασία, οδηγούν σε περαιτέρω μείωση του pH. Αν το pH φτάσει στο 6,4 ο μεταβολισμός μειώνεται (Pavenski et al., 2012).

Η αποθήκευση του αίματος σε όξινο διάλυμα CPD ευνοεί την αποδόμηση του 2,3-DPG, κάτι που οδηγεί σε αρχική έκρηξη παραγωγής ATP, κατά τις πρώτες 10 ημέρες της αποθήκευσης (Pavenski et al. 2012, Hess et al., 2010). Το 2,3-DPG μέσα σε μία με δύο εβδομάδες μειώνεται σε μη ανιχνεύσιμα επίπεδα (Pavenski et al., 2012, Vandromme et al., 2009, Lion et al., 2010). Το 2,3-DPG είναι ο μεταβολίτης και ο ενζυμικός ρυθμιστής της Hb, που συνδέεται σε αυτή και ρυθμίζει τη συγγένειά της με το O₂ και κατ' επέκταση, την απελευθέρωση του O₂ στους ιστούς. Υψηλές συγκεντρώσεις 2,3-DPG ευνοούν την απελευθέρωση του οξυγόνου από την Hb, ενώ αντίθετα, χαμηλές συγκεντρώσεις αυξάνουν τη συγγένεια της Hb με το O₂, δηλαδή ουσιαστικά, δεν το αφήνει εύκολα να αποδεσμευθεί από αυτή. Έτσι, η εξαφάνιση του 2,3-DPG από τα ερυθροκύτταρα μειώνει την ικανότητα της Hb να μεταφέρει και να διανέμει O₂, κυρίως στους περιφερικούς ιστούς (Vandromme et al., 2009, Lion et al., 2010). Σε ερυθρά αιμοσφαίρια με έλλειψη του 2,3-DPG, η επαναφορά του σε φυσιολογικά επίπεδα πραγματοποιείται μέσα σε 72 ώρες από τη μετάγγισή τους, ενώ δε φαίνεται να έχει παρατηρηθεί κάποια μη αναστρέψιμη επίδραση στη λειτουργία των κυττάρων (Vandromme et al., 2009). Πιο συγκεκριμένα, ο ρυθμός ανάκτησης των φυσιολογικών επιπέδων 2,3-DPG μετά από μετάγγιση, τυπικά είναι 25-30% μετά από μια ώρα, 50% μετά από 24 ώρες και 100% μετά από 72 ώρες (Lion et al., 2010). Λαμβάνοντας υπ' όψιν την καθυστέρηση της πλήρους ανάκτησης της ιδανικής ενζυμικής λειτουργίας και της σωστής μεταφοράς και εναπόθεσης O₂ στον περιφερικό ιστό, η επιθυμητή αύξηση της διανομής O₂ μετά από μετάγγιση, δεν είναι άμεση, αλλά πιθανώς καθυστερεί μέχρι τα επίπεδα 2,3-DPG να ομαλοποιηθούν ενδοκυτταρικά (Vandromme et al., 2010).

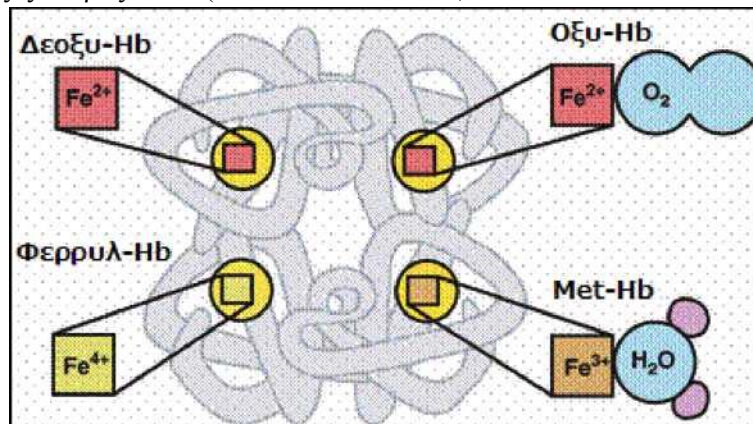
Το ATP δεν αποτελεί μόνο ενδοκυτταρική πηγή ενέργειας για το κύτταρο. Τελευταίες μελέτες το συνδέουν με αγγειοδιαστολή. Σε στρεσογόνες συνθήκες ή συνθήκες υποξίας, τα ερυθροκύτταρα εκκρίνουν ATP. Με τη σειρά του, το αγγειακό ενδοθήλιο εκκρίνει νιτρικό οξείδιο ή μονοξείδιο του αζώτου (nitric oxide, NO), το οποίο προκαλεί αγγειοδιαστολή (Pavenski et al., 2012, Vandromme et al., 2009, Raat et al., 2007). Όταν τα επίπεδα του ATP ελαττώνονται κατά την αποθήκευση, η ενεργή μεταφορά, οι αντιοξειδωτικές αντιδράσεις, η φωσφολιπιδική κατανομή στη μεμβράνη, αλλά και άλλες κυτταρικές λειτουργίες που απαιτούν ενέργεια, μειώνονται. Αυτό κάνει το κύτταρο πιο ευαίσθητο και ευπαθές σε ένα στρεσογόνο περιβάλλον. Μελέτες έχουν δείξει πως σε διαστήματα αποθήκευσης άνω των

πέντε εβδομάδων, η μείωση του ATP ενδοκυτταρικά φτάνει το 60% (Vandromme et al., 2009, Raat et al., 2007). Αυξάνοντας τα ενδοκυτταρικά επίπεδα του ATP φαίνεται πως αυξάνεται η ικανότητα οξυγόνωσης, υποδηλώνοντας ότι η συγκέντρωση του ATP (και έμμεσα ο χρόνος αποθήκευσης), επηρεάζει την ικανότητα μεταφοράς και διανομής O₂ (Vandromme et al., 2009, Raat et al., 2005).

Σε καταστάσεις στρες ή υποξίας, τα ερυθροκύτταρα αποκρίνονται με έκκριση ATP, που οδηγεί στην έκκριση NO από το ενδοθήλιο των αγγείων, προκαλώντας αγγειοδιαστολή, για να καλυφθούν οι ανάγκες σε O₂ (Pavenski et al., 2012, Vandromme et al., 2009, Lion et al., 2010, Raat et al., 2007). Το NO αντιδρά με την Hb, νιτροζυλιώνοντας (nitrosylate) την β-93 Cys (β-93 cysteine, β-93 κυστεΐνη), οδηγώντας έτσι στην παραγωγή SNO-Hb (S-nitrosothiol-haemoglobin). Όταν η SNO-Hb αποξυγονώνεται (deoxygenated), ελευθερώνει NO γρηγορότερα, πιθανώς επιτρέποντάς του να ασκήσει την επίδρασή του στο ενδοθήλιο [3]. Η παρατήρηση πως η SNO-Hb αυξάνεται στην αρτηριακή ροή και μειώνεται στη φλεβική, οδήγησε στη βάσιμη υπόθεση πως η SNO-Hb εμπλέκεται στην παραγωγή NO από τα ερυθροκύτταρα (Lion et al., 2010). Αν και κάποιες έρευνες διαφωνούν με την υπόθεση αυτή (Isbell et al., 2008), υπάρχει σχετική ομοφωνία στο ότι η SNO-Hb παίζει σημαντικό ρόλο στη δημιουργία NO από τα ερυθρά αιμοσφαίρια. Την ίδια στιγμή, υπάρχουν σαφείς αποδείξεις πως τα επίπεδα της SNO-Hb μειώνονται ραγδαία κατά τις πρώτες ημέρες της αποθήκευσης (μόλις την 3^η ημέρα τα επίπεδά της είναι πλέον μη ανιχνεύσιμα (Pavenski et al., 2012) και πως η μείωση αυτή της SNO-Hb σχετίζεται με απώλεια της αγγειοδιασταλτικής δραστηριότητας των αποθηκευμένων ερυθροκυττάρων, κάτι που αποτελεί απάντηση στη μειωμένη pO₂ (πίεση O₂). Η SNO-Hb, παρόλα αυτά, επανέρχεται σε φυσιολογικά επίπεδα στην κυκλοφορία μόλις μερικές ώρες μετά τη μετάγγιση. Επίσης, φαίνεται πως η συμμετοχή της SNO-Hb δεν είναι απαραίτητη για την εξαρτώμενη από τα ερυθροκύτταρα υποξική αγγειοδιαστολή (Yoshida et al., 2010).

Α3.3. Οξειδωτική βλάβη

Κατά την αποθήκευση, η οξειδωτική βλάβη σε λιπίδια και πρωτεΐνες συμβάλλει σε βλάβες στα ερυθροκύτταρα (Pavenski et al., 2012, Hess et al., 2010). Τα ερυθρά αιμοσφαίρια που συλλέγονται από φλεβικό αίμα έχουν περίπου 75% κορεσμό σε O_2 . Μόρια O_2 φεύγουν συνεχώς από τα σιδηρούχα (Fe^{2+}) μόρια Hb (Εικόνα 20), μπαίνουν στο διάλυμα και στη συνέχεια συνδέονται με άλλα μόρια Hb. Μερικές φορές, το O_2 κατά τον αποχωρισμό του παίρνει μαζί του ηλεκτρόνια από την αίμη, μετατρέποντας την Hb στην οποία προσδένονται, σε σιδηρική/ τρισθενή (Fe^{3+}) μεθαιμοσφαιρίνη (methemoglobin, met-Hb) (Εικόνα 20) και παράγοντας ρίζες υπεροξειδίου (Pavenski et al., 2012).



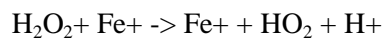
Εικόνα 20: Διαφορετικές καταστάσεις οξείδωσης του σιδήρου της αίμης. Καθεμιά από τις τέσσερις αλυσίδες σφαιρίνης του μορίου της Hb περιέχει μια ομάδα αίμης με ένα άτομο σιδήρου στο κέντρο του. Η οξείδωση της Hb μπορεί να περιλαμβάνει αλλαγές στην οξειδωτική κατάσταση του σιδήρου και συνεπώς, μετατροπές στη συνδεσιμότητά του. Η σιδηρούχα μορφή (Fe^{2+} , κόκκινο χρώμα) επιτρέπει τη σύνδεση του οξυγόνου (O_2) στη δεοξυαιμοσφαιρίνη (δεοξυ-Hb) (μορφή T) σε φυσιολογικές συνθήκες. Η προκύπτουσα οξυγονωμένη Hb (οξυ-Hb) (μορφή R) μπορεί να οξειδωθεί σε μεθαιμοσφαιρίνη (met-Hb), στην οποία ο σίδηρος της αίμης βρίσκεται στη σιδηρική του μορφή (Fe^{3+} , καφέ χρώμα). Η met-Hb μπορεί να δεσμεύσει νερό (H_2O), όχι όμως O_2 κάτω από φυσιολογικές συνθήκες. Η φερρυλική μορφή (Fe^{4+} , πράσινο χρώμα) (φερρυλ-Hb) μπορεί να αποκτηθεί μετά από οξείδωση της Hb με υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2) και μπορεί να οδηγήσει σε μετουσίωση της Hb (Kanias et al., 2010).

Σε φυσιολογικές καταστάσεις, η δισμουτάση του υπεροξειδίου (superoxide dismutase, SOD) και η ρεδοκτάση της μεθαιμοσφαιρίνης (ενζυματικοί εκκαθαριστές που δρουν καταλύοντας τη διάσπαση των οξειδωτικών και των ελεύθερων ριζών), που βρίσκονται στα

ερυθρά αιμοσφαίρια, επιδιορθώνουν γρήγορα το πρόβλημα. Παρόλα αυτά, όσο αυξάνεται ο χρόνος αποθήκευσης, η ροή μέσω της γλυκολυτικής οδού μειώνεται και η συγκέντρωση της γλουταθειόνης (ένας σημαντικός συμπαράγοντας των αντιδράσεων αυτών, επίσης ενζυμικός εκκαθαριστής) ελαττώνεται. Έτσι, οι βλάβες εξακολουθούν να υφίστανται, καθώς αυξάνονται οι πιθανότητες ρίζες υπεροξειδίου και νερό να συναντηθούν παρουσία ελεύθερου σιδήρου ή αίμης, ώστε μέσω της αντίδρασης Fenton (*Αντιδράσεις 1 & 2*) να δημιουργηθούν ρίζες υδροξυλίου και ιόντα υπεροξειδίου (Huling et al., 2011, Hwang et al., 2010).



Αντίδραση 1



Αντίδραση 2

Οι ρίζες υδροξυλίου και τα ιόντα υπεροξειδίου που προκύπτουν, μπορούν να προκαλέσουν με τη σειρά τους, λιπόλυση φωσφολιπιδίων, υπεροξειδωση λιπιδίων και βλάβες σε υδατάνθρακες και πρωτεΐνες. Οι βλάβες που παρατηρούνται, μπορεί να είναι ακίνδυνες, όπως η οξειδωτική δέσμευση της γλυκόζης στην Hb προς δημιουργία γλυκοζυλιωμένης Hb (hemoglobin A1c, HbA1c), ή και πιο σοβαρές, όπως οι οξειδωτικές βλάβες στην πρωτεΐνη-ζώνη-3, που οδηγούν σε σχηματισμό νεοαντιγόνων και εκκαθάριση ερυθρών αιμοσφαιρίων (Pavenski et al., 2012, Hess et al., 2010). Οξειδωτικές βλάβες στα λιπίδια έχουν ως πιθανά αποτελέσματα το σύνδρομο οξείας βλάβης των πνευμόνων από μετάγγιση (transfusion related acute lung injury, TRALI) και θρομβωτικά επεισόδια (Pavenski et al., 2012, Hess et al., 2010, Dotis et al., 2009). Εκτός από τα οξειδωμένα λιπίδια στα ερυθροκύτταρα, τα μικροκυστίδια που δημιουργούνται για την απομάκρυνσή τους, συμβάλλουν επίσης σε μεγάλο βαθμό στον κίνδυνο θρομβωτικών επεισοδίων μετά τη μετάγγιση (Hess et al., 2010).

Παρόλα αυτά, συνήθως, όλες αυτές οι οξειδωτικές μεταβολές συμβαίνουν στα αποθηκευμένα ερυθροκύτταρα σε μικρότερο βαθμό από ότι σε κύτταρα μέσα στον οργανισμό, λόγω της χαμηλότερης θερμοκρασίας. Επίσης, καθώς η αποθήκευση των ερυθροκυττάρων διαρκεί έως 42 ημέρες σε CPD-SAGM, διάστημα μικρό σε σχέση με το

χρόνο ζωής τους στον οργανισμό, που είναι 120 ημέρες, το οξειδωτικό στρες που συσσωρεύεται κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης θεωρείται πως είναι σχετικά μικρό. Το πρόβλημα όμως φαίνεται πως έγκειται στο γεγονός, ότι όλο αυτό το φορτίο στρες μεταφέρεται στον οργανισμό συσσωρευμένο και όλο μαζί κατά τη μετάγγιση, και σε περίπτωση μαζικής μετάγγισης μάλιστα, επαναλαμβανόμενα (Hess et al., 2010).

A3.4. Μεταφορά και απελευθέρωση οξυγόνου

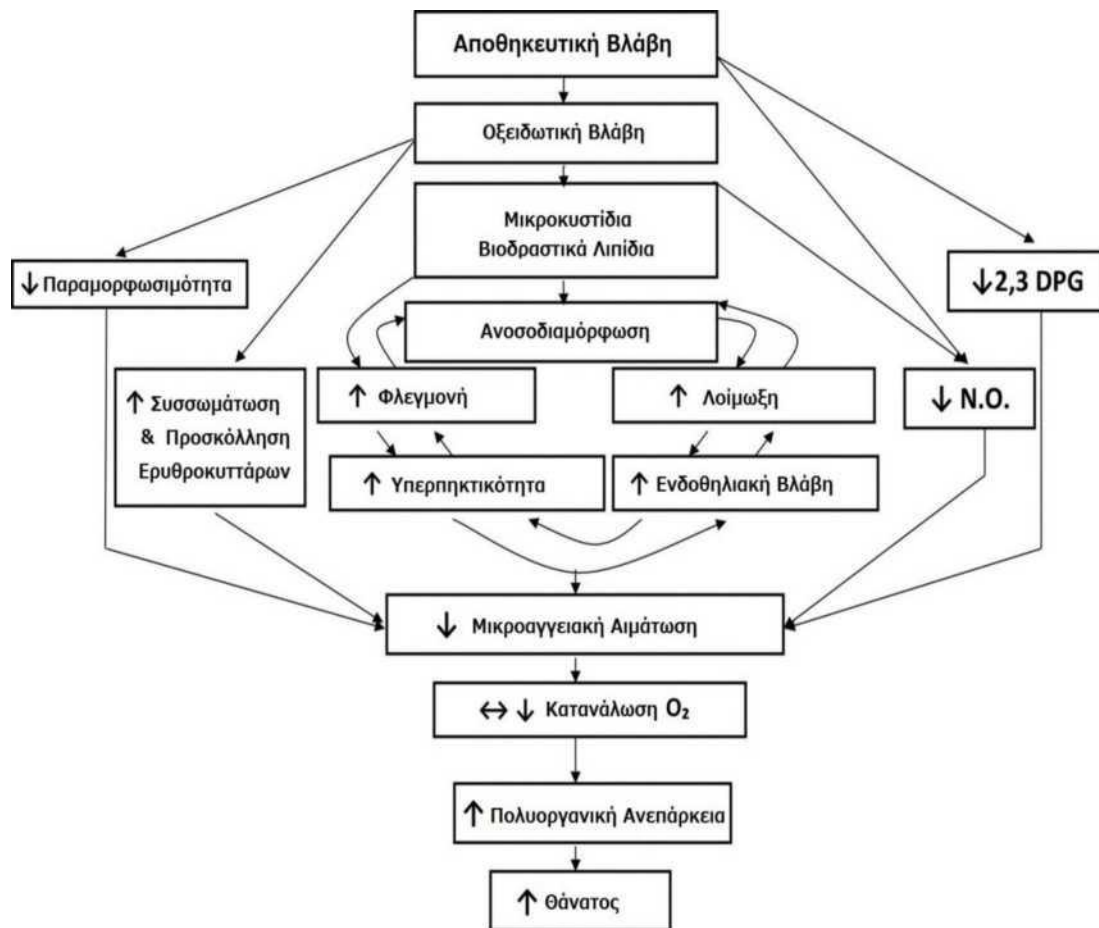
Μια από τις κύριες λειτουργίες των ερυθρών αιμοσφαιρίων είναι να μεταφέρουν O_2 από τους πνεύμονες στους ιστούς. Το O_2 περνά από τις κυψελίδες μέσα στα πνευμονικά τριχοειδή, δεσμεύεται στην Hb των ερυθροκυττάρων, διαλύεται στο πλάσμα και μεταφέρεται μέσω της κυκλοφορίας του αίματος στο δίκτυο των τριχοειδών αγγείων, όπου αποδεσμεύεται από την Hb και διαπερνώντας τα τοιχώματα των τριχοειδών, των προτριχοειδικών αρτηριδίων και των τριχοειδών φλεβίων, φτάνει στα κύτταρα των ιστών. Για να διατηρηθεί η ικανοποιητική αιμάτωση του δικτύου των τριχοειδών, το ερυθροκύτταρο θα πρέπει να είναι ικανό να παραμορφώνεται συνεχώς σε φυσιολογικά υψηλές τιμές αιματοκρίτη (hematocrit, Hct), κάτω από διάφορες καταστάσεις και σε αγγεία με διαμέτρους από 3-8 μm (τριχοειδή) έως 50-100 μm (αρτηρίδια και φλεβίδια). Η διατήρηση της ικανότητας των ερυθροκυττάρων να παραμορφώνονται σε τέτοιες περιπτώσεις είναι επομένως κρίσιμη για τη σωστή λειτουργία των ερυθροκυττάρων, και συνεπώς για τη μεταφορά και διανομή του O_2 (Bennet-Guerrero et al., 2007).

Τα ερυθρά αιμοσφαίρια μπορούν επίσης να «αντιληφθούν» την κατάσταση οξυγόνωσης των τοπικών ιστών και να ρυθμίσουν έτσι τη μεταφορά και την απελευθέρωση O_2 , ρυθμίζοντας την τοπική κυκλοφορία του αίματος στο δίκτυο των τριχοειδών, μέσω τριών πιθανών μηχανισμών στους οποίους μεσολαβεί το NO. Οι τρεις αυτοί μηχανισμοί είναι οι εξής: α) απελευθέρωση ATP, ώστε να προκληθεί η παραγωγή NO από τα ενδοθηλιακά κύτταρα των τοιχωμάτων των αγγείων, β) απελευθέρωση NO από SNO-Hb, μετά από αποξυγόνωση της Hb, και γ) μετατροπή των νιτρικών (NO^{2-}) που βρίσκονται στην κυκλοφορία σε NO, από τη δεοξυαιμοσφαιρίνη (δεοξυ-Hb) (Εικόνα 20). Τα αγγεία διαστέλλονται ανταποκρινόμενα στην απελευθέρωση του NO, μεταβάλλοντας το ρυθμό της

κυκλοφορίας του αίματος. Έτσι, οποιαδήποτε μεταβολή στους μηχανισμούς αυτούς μπορεί να προκαλέσει προβλήματα στην οξυγόνωση, αν και λόγω της πολυπλοκότητας και της συμμετοχής πολλών διαφορετικών μηχανισμών στις διαδικασίες αυτές, οι αλλαγές που επέρχονται επηρεάζουν ελάχιστα ή και καθόλου την τελική μεταφορά του O_2 και την οξυγόνωση (Yoshida et al., 2010).

Κάτω από φυσιολογικές συνθήκες το 2,3-DPG βρίσκεται μέσα στα ερυθροκύτταρα με αναλογία λίγο πάνω από ένα μόριο 2,3-DPG για κάθε τετραμερές Hb. Στη δεοξυαιμοσφαιρίνη, η κεντρική κοιλότητα που φυσιολογικά παρατηρείται στη μορφολογία του τετραμερούς μεγαλώνει, επιτρέποντας στο 2,3-DPG να εισέλθει σε αυτό και να σταθεροποιήσει τη δεόξυ μορφή της (δεόξυ-Hb). Η διαδικασία αυτή με τη σειρά της μεταβάλλει την ισορροπία της δέσμευσης του O_2 , αυξάνοντας το P50 (Hess et al., 2010). Άρα, καθώς το 2,3-DPG χάνεται κατά την αποθήκευση, το P50 μειώνεται, κάτι που σημαίνει πως το O_2 συνδέεται πιο ισχυρά και άρα αποδεσμεύεται δυσκολότερα ώστε να διατεθεί προς οξυγόνωση ιστών και οργάνων. Το γεγονός αυτό αποτελεί επιχείρημα που υπερασπίζεται τη σύνδεση των μειωμένων τιμών P50 με επιπλοκές στη μεταφορά O_2 . Πιθανότατα κάτι τέτοιο ισχύει σε περιπτώσεις χαμηλών συγκεντρώσεων Hb ή σε ιστούς με κακή αιμάτωση. Παρόλα αυτά, φαίνεται πως η επίδραση της μεταβολής του P50 είναι αμελητέα στις περισσότερες καταστάσεις ή ακόμα και μηδαμινή (Hess et al., 2010).

Ερυθροκύτταρα που έχουν υποστεί βλάβες φέρονται να προσκολλούνται στα ενδοθηλιακά κύτταρα, μια διαδικασία που είναι πιο εμφανής σε ασθενείς με δρεπανοκυτταρική αναιμία. Παρομοίως, αλλά σε μικρότερη έκταση, τέτοιου είδους συγκόλληση παρατηρείται και στα αποθηκευμένα ερυθροκύτταρα. Όμως, παρόλο που η συγκόλληση κατά την αποθήκευση είναι ελαττωμένη, ο συνδυασμός της μετάγγισης αποθηκευμένων ερυθροκυττάρων με άλλες φλεγμονώδεις καταστάσεις, που μπορεί να εμφανιστούν στους μεταγγιζόμενους ασθενείς, ίσως να έχει ανεπιθύμητα αποτελέσματα (Εικόνα 21) (Hess et al., 2010).



Εικόνα 21: Αλληλεπιδράσεις μεταξύ των ερυθροκυττάρων του δότη και του μεταγγιζόμενου, μετά από μετάγγιση με αποθηκευμένα ερυθρά αιμοσφαίρια που έχουν υποστεί αποθηκευτικές βλάβες. Απεικονίζονται οι επιπτώσεις της αποθηκευτικής βλάβης στους αλληλοσυνδεόμενους μηχανισμούς της μεταφοράς O_2 , της ρεολογίας των ερυθροκυττάρων, της φυσιολογίας τους και τις ανοσολογικής απόκρισής τους (Doctor et al., 2012).

A3.5 Επιμολύνσεις

Οι επιμολύνσεις οι οποίες πιθανά παρατηρούνται στα αποθηκευμένα ερυθροκύτταρα, είναι ένα κομμάτι των αποθηκευτικών βλαβών που έχει μείνει στο περιθώριο, κυρίως τα τελευταία χρόνια. Αυτό βέβαια, έχει συμβεί λόγω της πολύ καλής αντισηψίας και των άριστων συνθηκών αιμοδοσίας-αιμοληψίας, καθώς και των άρτιων συστημάτων λήψης και αποθήκευσης, που έχουν περιορίσει σε πολύ μεγάλο βαθμό το πρόβλημα, επιτρέποντας στους ερευνητές να στρέψουν το ενδιαφέρον τους σε ανεξερεύνητες πτυχές της αιμοδοσίας και των αποθηκευτικών βλαβών. Παρόλα αυτά, οι μολύνσεις που μεταφέρονται μέσω του αποθηκευμένου αίματος συνεχίζουν να είναι ένα σημαντικό ζήτημα για την υγεία του μεταγγιζόμενου (Kuehnert et al., 2001, Wagner et al., 2004).

Από την εποχή που το αίμα αποθηκευόταν σε γυάλινα μπουκάλια, είχαν παρατηρηθεί περιπτώσεις σήψης λόγω επιμολύνσεων. Με τη χρήση των κλειστών, στείρων συστημάτων λήψης και αποθήκευσης του αίματος, η παρατήρηση τέτοιων περιπτώσεων έχει μειωθεί δραστικά, δεν έχει όμως εξαληφθεί. Ακόμα και μετά την εισαγωγή των πλαστικών ασκών, η μετάδοση βακτηρίων έχει παραμείνει σχετικά σταθερή, σε αντίθεση με την αξιοσημείωτη μείωση που παρατηρήθηκε σε μετάδοση ιών, όπως ο HIV (ιός της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας, human immunodeficiency virus), ο HBV (ιός της ηπατίτιδας B, hepatitis B virus) και ο HCV (ιός της ηπατίτιδας C, hepatitis C virus), λόγω του διεξοδικού ελέγχου για ιούς που πλέον πραγματοποιείται. Επί του παρόντος, τα περιστατικά βακτηριακής σήψης αποτελούν μεγαλύτερη απειλή από τους μεταδιδόμενους, μέσω της μετάγγισης, ιούς (Kuehnert et al., 2001, Wagner et al., 2004).

Ο Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA) αναφέρει πως η βακτηριακή σήψη μετά από μετάγγιση είναι η τρίτη πιο συχνή αιτία, σχετιζόμενου με μετάγγιση, θανάτου (Niu et al., 2006). Εδώ όμως, πρέπει να σημειωθεί, ότι οι περισσότερες περιπτώσεις βακτηριακής μόλυνσης αφορούν μετάγγιση αιμοπεταλίων και όχι μετάγγιση ερυθρών αιμοσφαιρίων, καθώς η θερμοκρασία δωματίου στην οποία διατηρούνται τα αιμοπετάλια αποτελεί ευνοϊκό περιβάλλον ανάπτυξης για πολλά βακτήρια (Wagner et al., 2004, Niu et al., 2006). Θανατηφόρα περιστατικά έχουν αναφερθεί να συμβαίνουν σε μία στις 50.000 - 500.000 μονάδες αιμοπεταλίων, ενώ στις μονάδες ΣΕ το ποσοστό ανέρχεται σε μία στις 8.000.000 μονάδες (Wagner et al., 2004).

Τα αποθηκευμένα ερυθροκύτταρα μπορούν να αποτελέσουν το υπόστρωμα για την ανάπτυξη κάποιων βακτηρίων, τα οποία, δεδομένων κατάλληλων συνθηκών, μπορούν να πολλαπλασιαστούν μέχρι να φτάσουν τον αριθμό των 10^8 βακτηρίων περίπου, αριθμός που είναι ικανός να προκαλέσει σηπτικό επεισόδιο στον ασθενή που θα μεταγγιστεί με τον ασκό. Ένα βακτήριο διαιρείται συνήθως μία φορά την ημέρα, άρα τυπικά χρειάζονται τουλάχιστον 19 ημέρες για να δημιουργηθούν 10^8 μικροοργανισμοί (Hess et al., 2010). Τα περισσότερα όμως βακτήρια δεν αντέχουν στις χαμηλές θερμοκρασίες αποθήκευσης των ερυθρών αιμοσφαιρίων και δεν επιβιώνουν. Γι' αυτό και το μεγαλύτερο ποσοστό, περίπου 80%, των περιπτώσεων σήψεως που αναφέρονται αφορούν ψυχρόφιλους μικροοργανισμούς, ή μικροοργανισμούς ικανούς να ζουν και να αναπτύσσονται σε συνθήκες ψυγείου (Hess et al., 2010, Wagner et al., 2004). Οι μικροοργανισμοί που εμπλέκονται πιο συχνά σε περιστατικά σήψης από μετάγγιση ΣΕ είναι οι: *Yersinia enterocolitica* (46%), *Pseudomonas spp.* (25%), *Serratia spp.* (11%), με όλους τους υπόλοιπους μικροοργανισμούς να καταλαμβάνουν το ποσοστό του 18% (Wagner et al., 2004).

Γενικά, οι κατά Gram αρνητικοί μικροοργανισμοί εμφανίζουν μεγάλο ποσοστό μόλυνσης ερυθροκυττάρων και έχουν το μεγαλύτερο ποσοστό περιστατικών σήψης που οδήγησαν σε θάνατο, τόσο σε μεταγγίσεις ερυθρών αιμοσφαιρίων, όσο και αιμοπεταλίων (Kuehnert et al., 2001). Ένας μικροοργανισμός που έχει συνδεθεί με θανατηφόρα περιστατικά σήψης από ασκό ερυθροκυττάρων, είναι η *Klebsiella pneumoniae*, η οποία, αν και είναι σπάνια στα αποθηκευμένα ερυθροκύτταρα (αλλά πιο συχνή σε ασκούς αιμοπεταλίων), όταν εμφανίζεται έχει ως συχνότερη κατάληξη θανατηφόρα σήψη (Wagner et al., 2004, Niu et al., 2006). Για την *Yersinia enterocolitica*, οι ασκοί ερυθρών αιμοσφαιρίων αποτελούν ιδανικό

περιβάλλον, καθώς για να αναπτυχθεί χρησιμοποιεί κιτρικά άλατα και χρειάζεται πηγή σιδήρου, που οι ασκοί της παρέχουν σε αφθονία (Wagner et al., 2004). Υπάρχουν, όμως, ενδείξεις από μελέτες πως η λευκαφαίρεση πριν την αποθήκευση έχει την ικανότητα να εμποδίσει την ανάπτυξή της σε θερμοκρασίες 1-6°. Πλέον, η αποτελεσματικότητα της λευκαφαίρεσης σε αυτό το ζήτημα θεωρείται επιβεβαιωμένη (Wagner et al., 2004, Antonellou et al., 2012).

Όπως είναι αναμενόμενο, αντιδράσεις από μολυσμένες μονάδες ΣΕ και αιμοπεταλίων έχουν σχετιστεί άμεσα με τον παρατεταμένο χρόνο αποθήκευσης (Kuehnert et al., 2001). Για την αποτροπή σηπτικών αντιδράσεων, η τήρηση όλων των πρωτοκόλλων που αφορούν την αποθήκευση και όλες τις παραμέτρους της, είναι απαραίτητη. Όμως βάρος πρέπει να δοθεί και στην πρόληψη της μόλυνσης, πηγές της οποίας μπορεί να είναι το δέρμα, το περιβάλλον, τα υλικά, ή και το ίδιο το αίμα, και κυρίως στην ανάπτυξη και υιοθέτηση νέων μεθόδων επεξεργασίας, ανίχνευσης και αναφοράς, που να συμπεριλαμβάνουν και τις βακτηριακές μολύνσεις (Wagner et al., 2004, Niu et al., 2006).

A3.6 Πρωτόκολλα

Το πρωτόκολλο για την αποθήκευση ερυθρών αιμοσφαιρίων που χρησιμοποιείται ευρύτερα σήμερα, ορίζει ως μέγιστο χρόνο αποθήκευσης τις 42 ημέρες, με το αίμα να συλλέγεται σε ασκούς με αντιπηκτικό διάλυμα (τυπικά CPD). Τα ΣΕ προετοιμάζονται με αφαίρεση του πλάσματος και, σε ορισμένες περιπτώσεις, λευκαφαίρεση. Το παράγωγο αποθηκεύεται σε θερμοκρασία 2° C έως 6° C, σε ελαφρώς υπέρτονο διάλυμα, συνηθέστερα το συντηρητικό διάλυμα SAGM (376 mOsm/L) (Hess et al., 2006, D'Alessandro et al., 2010).

Οι προϋποθέσεις που πρέπει να πληρούνται ώστε να εγκριθεί ένα συντηρητικό διάλυμα και το αίμα στο οποίο προστίθεται να θεωρείται κατάλληλο προς μετάγγιση, βασίζονται σε δύο παραμέτρους. Η πρώτη παράμετρος είναι το επίπεδο της αιμόλυσης. Στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής το όριο ορίστηκε στο 1% αιμόλυση, ενώ στην Ευρώπη ορίζεται πως η αιμόλυση δεν πρέπει να ξεπερνά το 0,8% (Hess et al., 2009). Πρόσφατα όμως, ο οργανισμός FDA πρόσθεσε έναν ακόμη όρο, όσον αφορά την αιμόλυση, τον «κανόνα του 95/95». Σύμφωνα με αυτόν, πρέπει το 95% των μονάδων ΣΕ να πληρούν τις καθορισμένες προϋποθέσεις, και να το αποδεικνύουν με 95% στατιστική ακρίβεια (Hess et al., 2009). Η δεύτερη παράμετρος αφορά την επιβίωση/ ανάκτηση των ερυθρών αιμοσφαιρίων του δότη μέσα στην κυκλοφορία του δέκτη, 24 ώρες μετά τη μετάγγιση. Ο δείκτης επιβίωσης πρέπει να είναι πάνω από 75%. Αυτό υπολογίζεται μέσω της μέτρησης της ημιζωής των ερυθροκυττάρων, τα οποία σημάνθηκαν πριν τη μετάγγιση με Cr^{51} . Παρόλα αυτά, οι όροι αυτοί είναι γενικοί και αρκετά εύκολα μπορούν να επηρεαστούν από τη βιολογική μεταβλητότητα μεταξύ των δοτών, δεδομένου ότι αίμα από διαφορετικούς δότες έχει διαφορετική αντοχή στις συνθήκες της αποθήκευσης (D'Alessandro et al., 2010).

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

B.1. Αντιδραστήρια – Συσκευές και Όργανα

Σε αυτό το κεφάλαιο, περιγράφονται τα υλικά και όργανα που χρησιμοποιήθηκαν για τη διεξαγωγή της ερευνητικής εργασίας, που πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Αιματολογίας-Αιμοδόσιας, Τμήμα Ιατρικών Εργαστηρίων, Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Αθηνών.

Επιπλέον, αναλύονται οι μέθοδοι που ακολούθησαν για τη διεξαγωγή των αποτελεσμάτων.

ΔΙΑΛΥΜΑΤΑ-ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

<u>Για αιματολογικό αναλυτή NIHON KOHDEN, CELTA CE:</u>	
i)	Αντιδραστήριο λύσης RBC's MEDILYSE™ 5P, MEDICON 500ml (LOT.0426 2013 04)
ii)	Αντιδραστήριο λύσης RBC's MEDILYSE™, MEDICON 500ml (LOT.0323 2013 03)
iii)	Διάλυμα απολύμανσης MEDICLEAN™ 5P, MEDICON 1 Lt (LOT.1221 2013 06)
iv)	Διάλυμα απολύμανσης MEDICLEAN™, MEDICON 1Lt (LOT.1216 2013 06)
<u>Για αιματολογικό αναλυτή BC-3000 Plus, MINDRAY AUTO</u>	
i)	Αντιδραστήριο λύσης RBC's CyMet III Diff(Cyanide free), J.T BAKER 1Lt (LOT.1132200020)
<u>Για μέθοδο FRAP (αντιοξειδωτική ικανότητα πλάσματος)</u>	
i)	1) Διάλυμα οξικού οξέος (300mM),ph 3,6 (τελικός όγκος 16ml) 3,1gr τριένυδρο οξικό νάτριο (CH ₃ COON _a .3H ₂ O), όπου διαλύεται σε 16ml οξικού οξέος και ογκομετρούνται σε τελικό όγκο 1Lt με δις απεσταγμένο νερό. 2) HCL 37% με M.W 34.46 και 12.07M (αραίωση 1:10 για να γίνει 1.2M) Stock διάλυμα TPTZ (10x) 100mM ή 2,4,6-tripyridyl-s-triazine με M.W 312.34. Γίνεται προσθήκη 0,312gr σε 10ml ddH ₂ O. 3) Stock FeCl₃(10x) με M.W 270.30 και 200Mm(0,54gr σε 10ml ddH ₂ O) 4) Uricase (stock 10x-10 U/ml) Γίνεται αραίωση του Stock 1:10 με PBS και από αυτό προσθήκη 0,05μl για κάθε δείγμα (0,005U/δείγμα)
<u>Για βιοχημικό αναλυτή Hitachi 902</u>	
<u>Μάρτυρες</u>	
i)	vPrecinorm U plus 1 (LOT 12149435)
ii)	C.f.a.s 1 (LOT 10759350)
iii)	C.f.a.s Lipids (LOT 12172623)

ΣΥΣΚΕΥΕΣ- ΟΡΓΑΝΑ

ΣΥΣΚΕΥΕΣ-ΟΡΓΑΝΑ		ΕΤΑΙΡΕΙΑ
i)	Vortex με 2 ταχύτητες manual και continuous, max 40Hz	VELP SCIENTIFICA
ii)	Αναδευτήρας δοκιμαστικών σωληναρίων	GFL 3005
iii)	Αιματολογικός αναλυτής, BC-3000 PLUS	MINDRAY AUTO
iv)	Αιματολογικός αναλυτής , NIHON KOHDEN	CELTA CE
v)	Εκτυπωτής αιματολογικού αναλυτή, LQ-300	EPSON
vi)	Ηλεκτρονικό Πεχάμετρο, CONSORT C860	
vii)	Ηλεκτρονικό πιεσόμετρο χειρός, διαμέτρον 13,5-19,5 cm	OMRON
viii)	Αναδευτήρας σωληναρίων αίματος	APELAB J.C MONTAGNE
ix)	Φυγόκεντρος max 6000 rpm, ECONO SPIN	SORVAL INSTRUMENT
x)	Φωτόμετρο LKB BIOCHROM	NAVASPECT
xi)	Μικροσκόπιο	NIKON ECLIPSE E400
xii)	Καταψύκτης	
xiii)	Βαθεία κατάψυξη	LIEBHERR
xiv)	Αποστειρωμένα ποτήρια ζέσεως	BOMEX
xv)	Αποστειρωμένοι ογκομετρικοί κύλινδροι	DAGRA GDR

xvi) Χρονόμετρο max 1h	STARGER
xvii) Κίτρινος κάδος εργαστηριακών αποβλήτων	
xviii) Περιχειρίδα	
xix) Στατώ	
xx) Λαβίδα	
xxi) Αυτόματες Πιπέτες	
i) Αυτόματη πιπέτα 1000 μl, HUAWEI ii) Αυτόματη πιπέτα 2-20 μl, NICHIRYO NICHIPET EXII iii) Αυτόματη πιπέτα 20-200 μl, NICHIRYO NICHIPET EX plus iv) Αυτόματη πιπέτα 20-200 μl, MICROLIT v) Αυτόματη πιπέτα 2-20 μl, PLURIPET KARTELL vi) Αυτόματη πιπέτα 0,5-5 ml, SOCOREX SWISS vii) Αυτόματη πιπέτα 0,1-2,5 μl, HIRSCHMANN LABORGERATE	

B.1.2 ΧΡΩΣΕΙΣ

- i) Giemsa
- ii) May- Grunwald

B.2 Μέθοδοι

Στη παρούσα μελέτη, πραγματοποιήθηκαν διάφοροι μέθοδοι κυρίως αιματολογικής προσέγγισης, για την ανάλυση και εξαγωγή αποτελεσμάτων.

Στο στάδιο υλοποίησης των εργαστηριακών μεθόδων, συμμετείχαν εθελόντριες γυναίκες, οι οποίες πληρούσαν διάφορα κριτήρια και προϋποθέσεις, σύμφωνα με το πρωτόκολλο της αιμοδοσίας.

Οι εργαστηριακές μέθοδοι που πραγματοποιήθηκαν είναι οι εξής:

- Προσδιορισμός Ομάδας αίματος κατά ABO
- Προσδιορισμός Αντιγόνου D , του συστήματος Rhesus
- Οσμωτική αντίσταση των Ερυθροκυττάρων
 - Υπολογισμός Μέσης Ερυθροκυτταρικής Ευθραυστότητας (MCF)
- Προσδιορισμός Ελεύθερης Αιμοσφαιρίνης Πλάσματος
- Επίστρωση Αίματος σε αντικειμενοφόρο πλάκα
- Μικροσκόπηση
- Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής ικανότητας πλάσματος (FRAP)

Διαδικασία προσέγγισης αιμοδοτών

Το πρώτο στάδιο, αποτελεί η διαδικασία προσέγγισης γυναικών αιμοδοτριών. Ύστερα από συζήτηση και ενημέρωση σχετικά με το αντικείμενο της μελέτης κυρίως στο χώρο του Ανώτατου Εκπαιδευτικού Ιδρύματος Αθηνών, οι γυναίκες που ήθελαν να συμμετέχουν κατέγραψαν τα στοιχεία τους (Ονοματεπώνυμο, τηλέφωνο, e-mail) σε ένα ειδικά διαμορφωμένο έντυπο.

Στη συνέχεια, έπειτα από συμφωνία της συμμετέχουσας ακολουθούσε η διαδικασία της επικοινωνίας για τον ορισμό ημερομηνίας της αιμοληψίας.

Διαδικασία αιμοληψίας

Αρχικά, η συμμετέχουσα εισερχόταν σε ένα ειδικά διαμορφωμένο χώρο υποδοχής των υποψηφίων για τη παρούσα μελέτη.

Στη συνέχεια, η αιμοδότρια συμπλήρωνε 3 ειδών έγγραφα:

- Φυλλάδιο της Αιμοδοσίας (σύμφωνα με το πρωτόκολλο της Αιμοδοσίας)

- Ερωτηματολόγιο (διατροφικές συνήθειες, ημέρα εμμηνορυσιακού κύκλου κ.τ.λ)
- Έγγραφο συγκατάθεσης συμμετοχής της στην ερευνητική εργασία (παράρτημα)

Αμέσως μετά, αφού αξιολογήθηκαν τα αποτελέσματα των εγγράφων που δόθηκαν στην υποψήφια αιμοδότρια και θεωρήθηκαν ότι δεν επηρεάζουν τη παρούσα μελέτη, ακολούθησε η διαδικασία αιμοληψίας.

Η διαδικασία πραγματοποιούνταν σε άλλο χώρο, ειδικά διαμορφωμένο για την αιμοληψία.

Τα στάδια της αιμοληψίας που ακολούθησαν είναι τα εξής:

- Τοποθέτηση εθελόντριας αιμοδότριας στην ειδική καρέκλα αιμοληψίας και περίδεση του βραχίονα
- Ψηλάφηση της μέσης βασιλικής φλέβας
- Έπειτα από τον εντοπισμό του κατάλληλου σημείου παρακέντησης, ακολουθεί η αντισηψία της περιοχής με χρήση οινόπνευματος και βαμβακιού
- Πριν την εισαγωγή της σύριγγας γινόταν προσεκτική αφαίρεση του αέρα από τη σύριγγα
- Εισαγωγή της πάνω πλευράς του αυλού της βελόνας στη φλέβα και λήψη 12.5 ml ολικού αίματος.
- Διανομή ολικού αίματος στις κατάλληλες αναλογίες που απαιτούν τα σωληνάρια αιμοληψίας.

Τα σωληνάρια που χρησιμοποιήθηκαν για τη κάθε εθελόντρια αιμοδότρια ήταν συνολικά 4. Αναλυτικότερα:

- i) Σωληνάριο αιμοληψίας με EDTA, 2.0 mL (x2)
- ii) Σωληνάριο αιμοληψίας με κιτρικά άλατα, 2.7 ml
- iii) Σωληνάριο αιμοληψίας χωρίς αντιπηκτικό (πήγμα), 6.0 mL

- Συνεχής ανάδευση των σωληναρίων με τη χρήση ανακινούμενου αναδευτήρα, για την προετοιμασία ανάλυσής τους, στον αιματολογικό αναλυτή.

B2.1 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΟΜΑΔΑΣ ΑΙΜΑΤΟΣ ΚΑΤΑ ABO (AABB Manual, 2012)

Δείγμα

Η εκτέλεση των δοκιμασιών προσδιορισμού ομάδας αίματος κατά ABO πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση γυάλινων πλακών, σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή των αντιδραστηρίων.

Μερικοί κατασκευαστές συνιστούν την εκτέλεση των δοκιμασιών στις πλάκες με ολικό αίμα, ενώ άλλοι απαιτούν τη χρήση εναιωρήματος ερυθροκυττάρων προετοιμασμένα σε φυσιολογικό ορό, ορό αίματος ή πλάσμα.

Στη παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκε ολικό αίμα.

Αντιδραστήρια

Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή είναι τα εξής:

- Αντι-A
- Αντι-B
- Αντι-A,B (προαιρετικό)

Διαδικασία

- I) Τοποθετείται μια σταγόνα Αντι-A πάνω σε μια καθαρή, επισημασμένη από το χειριστή, γυάλινη πλάκα.
- II) Τοποθετείται μια σταγόνα Αντι-B πάνω σε μια ξεχωριστή καθαρή, επισημασμένη από το χειριστή, γυάλινη πλάκα.
- III) Τοποθετείται μια σταγόνα Αντι A-B πάνω σε μια τρίτη πλάκα σε περίπτωση που έπρεπε να γίνουν



παράλληλες δοκιμασίες με αυτό το αντιδραστήριο.

- IV) Προστίθεται σε κάθε σταγόνα του αντιδραστηρίου πάνω στις πλάκες μια σταγόνα, καλώς ανακινημένου ολικού αίματος των προς εξέταση ερυθροκυττάρων.

Για την ακριβή συγκέντρωση κυττάρων ακολουθούνται οι οδηγίες του κατασκευαστή, του αντιδραστηρίου.

- V) Η ανάμειξη των αντιδραστηρίων με τα ερυθροκύτταρα επιτεύχθηκε με τη χρήση ενός καθαρού στικ εφαρμογής για κάθε αντιδραστήριο. Το μείγμα απλώθηκε σε μια περιοχή περίπου 20-40 χιλιοστά (mm).
- VI) Η πλάκα τοποθετείται σε ήπια κλίση συνεχόμενα για 2 λεπτά.
- VII) Ερμηνεία και ανάγνωση αποτελεσμάτων.

Ερμηνεία

- I) Η έντονη συγκόλληση των ερυθροκυττάρων στη παρουσία οποιουδήποτε αντιδραστηρίου για τον προσδιορισμό κατά ABO αποτελεί **ΘΕΤΙΚΟ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ**.
- II) Το ελαφρύ εναιώρημα ερυθροκυττάρων, έπειτα από δυο λεπτά αποτελεί **ΑΡΝΗΤΙΚΟ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ**.
- III) Σε δείγματα που παρελήφθησαν από τους ίδιους τους ασθενείς ή σε αμφισβητούμενα αποτελέσματα πραγματοποιήθηκε επανέλεγχος.

Κίνδυνοι

Η τεχνική κατά ABO προκαλεί μεγάλο κίνδυνο έκθεσης σε μολυσματικά δείγματα. Για αυτό το λόγο, το πρωτόκολλο πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τα μέτρα ασφαλείας του εγχειριδίου διαδικασιών του κτιρίου.

Η εξέταση δεν είναι κατάλληλη για τον εντοπισμό αντισωμάτων κατά ABO στον ορό ή στο πλάσμα του αίματος.

B2.2 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ RHESUS (AABB Manual, 2012)

Προσδιορισμός Rh (D) τύπου- Δοκιμασία πλάκας

Δείγμα

Για τον προσδιορισμό Rh(D) τύπου μπορούν να χρησιμοποιηθούν ερυθροκύτταρα από πήγμα ή ολικό αίμα με αντιπηκτικό.

Στη παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκε ολικό αίμα με αντιπηκτικό.

Αντιδραστήρια

Στη συσκευασία του αντιδραστηρίου αναγράφεται ότι είναι κατάλληλο για τη δοκιμασία πλάκας. Οι οδηγίες του κατασκευαστή ανέγραφαν τον τύπο του μάρτυρα που χρησιμοποιήθηκε για το αντιδραστήριο.



Το αντιδραστήριο που χρησιμοποιήθηκε σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή είναι :

- Αντι –D

Κίνδυνοι

Η τεχνική προσδιορισμού Rh (D) τύπου προκαλεί μεγάλο κίνδυνο έκθεσης σε μολυσματικά δείγματα. Η επώαση του μείγματος της αντίδρασης μπορεί να προκαλέσει συναθροίσεις ερυθροκυττάρων, με συνέπεια τα ψευδώς θετικά αποτελέσματα. Για την αντιμετώπιση του κινδύνου έκθεσης σε μολυσματικά δείγματα, το πρωτόκολλο πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τα μέτρα ασφαλείας του εγχειριδίου διαδικασιών του κτιρίου.

Οι τεχνικές για την έκφραση του D-weak δεν μπορούν να πραγματοποιηθούν σε δοκιμασία πλάκας.

B2.3 ΕΠΙΧΡΙΣΜΑ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ

(Clinical Hematology, principles, procedures and correlations, 1998)

Η τεχνική επιχρίσματος περιφερικού αίματος αποτελεί βασική διαγνωστική μέθοδος για την εύρεση και μελέτη διαφόρων νοσημάτων.

Πρόκειται για την επίστρωση σε αντικειμενοφόρο πλάκα μικρής ποσότητας ολικού αίματος (με EDTA) και μελέτη των έμμορφων και άμορφων συστατικών του αίματος. Αμέσως μετά την τεχνική επιχρίσματος ακολουθούν τα στάδια της χρώσης της αντικειμενοφόρου πλάκας και η μελέτη του, με τη χρήση μικροσκοπίου.

Διαδικασία

- i) Τοποθετείται μια καθαρή αντικειμενοφόρος πλάκα σε επίπεδη, σταθερή επιφάνεια.
- ii) Γίνεται λήψη μίας σταγόνας από ολικό αίμα (με αντιπηκτικό EDTA) με τη διάμετρο της σταγόνας να είναι 2 με 3 χιλιοστά, όπου τοποθετείται στην αντικειμενοφόρο πλάκα περίπου στο $\frac{1}{4}$ της ίντσας από το άκρο της.
(Υπ. Το αντιπηκτικό του αίματος θα πρέπει να είναι καλά αναμειγμένο πριν τη μεταφορά του).
- iii) Αμέσως μετά, χρησιμοποιείται το αντίθετο χέρι γραφής για τη σταθεροποίηση της αντικειμενοφόρου πλάκας. Η σταθεροποίηση θα πρέπει να γίνεται στο άκρο της αντικειμενοφόρου πλάκας, απέναντι από τη σταγόνα αίματος.
- iv) Πάνω από την επίπεδη αντικειμενοφόρο πλάκα, τοποθετείται μια πανομοιότυπη υπό γωνία 25° με 35° μοιρών και πραγματοποιείται κίνηση προς τα πίσω, προς τη σταγόνα αίματος.
- v) Αφήνεται η σταγόνα αίματος να εξαπλωθεί κατά μήκος του πίσω άκρου της αντικειμενοφόρου πλάκας.
- vi) Με μια γρήγορη κίνηση προς τα εμπρός αφήνεται η δεύτερη αντικειμενοφόρος πλάκα, ακολουθώντας ομαλή και ταχεία διαδρομή σε όλη την επιφάνεια της επίπεδης, διατηρώντας την ίδια γωνία και ασκώντας πολύ μικρή πίεση.

Εάν η γωνία είναι κατάλληλη και το μέγεθος της σταγόνας όπως ορίζεται, η ταχύτητα της διαδρομής θα είναι μετρίως γρήγορη και το αίμα θα πρέπει να βρίσκεται μεταξύ $\frac{1}{2}$ και $\frac{3}{4}$ της διαδρομής.

vii) Στέγνωμα της αντικειμενοφόρου πλάκα σε θερμοκρασία δωματίου για μερικά λεπτά.

Για συντομότερη διαδικασία μπορεί να χρησιμοποιηθεί ηλεκτρικός ανεμιστήρας ή φυσητήρας με δροσερό αέρα.

viii) Τέλος, αναγράφεται στο παχύτερο άκρο της επίπεδης πλάκας το όνομα του ασθενή ή ο αριθμός δείγματος και η ημερομηνία εξέτασης.

B2.4 ΧΡΩΣΗ MAY GRUNWALD-GIEMSA (AABB Manual, 2012)

Η χρώση May-Grunwald-Giemsa χρησιμοποιείται κυρίως για τα **επιχρίσματα αίματος και μυελού των οστών**.

Στη παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκε για επιχρίσματα αίματος.

Περιλαμβάνει ένα μείγμα χρωστικών:

- Μπλέ του μεθυλενίου: Βάφει μπλε τα όξινα συστατικά του κυττάρου
- Κυανό (azure): Βάφει κόκκινα και μωβ τα βασικά κυτταρικά συστατικά
- Εωζίνη (ηωσίνη): Βάφει πορτοκαλί-κόκκινα τα αλκαλικά συστατικά του κυττάρου.

Αυτή η χρώση χαρακτηρίζεται ως πανοπτική, επειδή βάφει όλα τα κυτταρικά συστατικά. Σημαντική παράμετρος για την αποτελεσματική χρήση της χρώσης είναι το pH, το οποίο κυμαίνεται μεταξύ 6.5 και 6.8.

Υλικά

- Επίχρισμα κυττάρων αίματος
- ειδικά δοχεία χρώσης
- χρώση May-Grunwald
- χρώση Giemsa,
- Μεθανόλη
- απεσταγμένο νερό (a.d.H₂O)

Μέθοδος

- i) Μονιμοποίηση με μεθανόλη για 5 min.
- ii) Απόρριψη περίσσειας με απεσταγμένο νερό
- iii) Χρώση May-Grunwald για 4 min
- iv) Απόρριψη περίσσειας με απεσταγμένο νερό
- v) Χρώση Giemsa για 15 min (5 ml χρωστικής Giemsa σε 50 ml απεσταγμένο νερό στο δοχείο χρώσης)
- vi) Απόρριψη περίσσειας με απεσταγμένο νερό

- vii) Έκπλυση με άφθονο νερό
- viii) Στέγνωμα σε θερμοκρασία δωματίου
- ix) Μικροσκόπηση

Αποτελέσματα

Στη χρώση αυτή βάφονται μπλέ το RNA, το κυτταρόπλασμα και οι πυρηνίσκοι. Το DNA και τα πρωτογενή κοκκία βάφονται κόκκινα και μωβ, καθώς και πορτοκαλί-κόκκινα η αιμογλοβίνη και τα εωζινοφιλικά κοκκία.

B2.5 ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΗΣΗ

Όταν οι αντικειμενοφόρες πλάκες έχουν βαφτεί με τη χρωστική May-Grunwald και Giemsa, δίνεται η δυνατότητα μικροσκόπησής τους και μελέτης των έμμορφων στοιχείων του αίματος.

Αρχικά, τοποθετείται η αντικειμενοφόρος πλάκα στη τράπεζα του μικροσκοπίου. Με τη ρύθμιση του μακρομετρικού και μικρομετρικού κοχλίου δημιουργείται το κατάλληλο πεδίο για τη μελέτη και ανάλυση της αντικειμενοφόρου πλάκας.

Πρώτα χρησιμοποιείται η μεγέθυνση 10x και στη συνέχεια αυξάνεται η μεγέθυνση σε 40x. Οι φακοί 10x και 40x χρησιμοποιούνται για τη παρατήρηση του εξεταζόμενου βιολογικού υγρού.

Στη παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκε η μεγέθυνση 100x (καταδυτικός φακός) για τη πλήρη ανάλυση της μορφολογίας των ερυθροκυττάρων και τη συσχέτιση με τα αποτελέσματα της γενικής αίματος που πραγματοποιήθηκαν από τον αιματολογικό αναλυτή του εργαστηρίου.

B2.6 ΟΣΜΩΤΙΚΗ ΕΥΘΡΑΥΣΤΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΩΝ

Για τη δημιουργία των διαλυμάτων (NaCl και wfi), πραγματοποιήθηκαν οι παρακάτω αραιώσεις, με τελικό όγκο **250ml**.

Συγκέντρωση (%)	Τελικός όγκος (ml)	Όγκος από 0,9% (ml)	Όγκος D.W. (ml)
0,2	250ml	55,56	194,44
0,3	250ml	83,33	166,67
0,35	250ml	97,22	152,78
0,38	250ml	105,56	144,44
0,4	250ml	111,11	138,89
0,43	250ml	119,45	130,55
0,45	250ml	125,00	125,00
0,5	250ml	138,89	111,11
0,7	250ml	194,45	55,55
0,9	250ml	250,00	0,00

Διαδικασία

- i) Με τη χρήση διαλύματος 0.9% NaCl και wfi δημιουργήθηκαν συγκεντρώσεις διαλυμάτων, οι οποίες σύμφωνα με το παρακάτω πίνακα είναι:

0%	0.2%	0.3%	0.35%	0.38%	0.4%	0.43%	0.45%	0.5%	0.7%	0.9%
-----------	-------------	-------------	--------------	--------------	-------------	--------------	--------------	-------------	-------------	-------------

- ii) Σε δοκιμαστικούς σωλήνες προστέθηκαν 2.5ml του κάθε διαλύματος (με βάση τον παραπάνω πίνακα)
- iii) Προσθήκη 25μl ολικού αίματος
- iv) Ήπια ανακίνηση του κάθε δείγματος με Vortex
- v) Επώαση για 15 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου (27⁰c)
- vi) Φυγοκέντρηση δειγμάτων σε 1.500rpm, για 5 λεπτά.
- vii) Φωτομέτρηση δειγμάτων στα 540nm και καταγραφή της απορρόφησης, σε ειδικά διαμορφωμένο έντυπο.

- viii) Ο υπολογισμός της οσμωτικής ευθραυστότητας των ερυθροκυττάρων στις διαφορετικές συγκεντρώσεις των διαλυμάτων, υπολογίστηκε με βάση τον παρακάτω μαθηματικό τύπο:

$$\frac{\text{OD Εξεταστέου}}{\text{OD με 100\% αιμόλυση}} \times 100$$

B2.6 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΛΕΥΘΕΡΗΣ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗΣ ΠΛΑΣΜΑΤΟΣ

(AABB Manual, 2012)

Διαδικασία

- i) Πραγματοποιείται φυγοκέντρηση(6000rpm για 5min) ολικού αίματος (με EDTA) για τον διαχωρισμό και τη λήψη του πλάσματος.
- ii) Σε δοκιμαστικό σωλήνα, γίνεται προσθήκη του πλάσματος με αρραίωση 1/10 (200μl πλάσμα σε 1800μl σε 1800μl ad.H₂O)
- iii) Επώαση των δειγμάτων για 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου(27⁰c).
- iv) Φωτομέτρηση των δειγμάτων σε απορροφήσεις OD 380, 415 και 450nm και καταγραφή της απορρόφησης, σε ειδικά διαμορφωμένο έντυπο.

ΔΕΙΓΜΑ	OD 380	OD 415	OD 450
--------	--------	--------	--------

- v) Ο υπολογισμός της ελεύθερης αιμοσφαιρίνης, υπολογίστηκε με βάση τον παρακάτω μαθηματικό τύπο:

$$2x OD_{415} - OD_{380} - OD_{450}$$

B2.7 ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΔΕΙΚΤΗ ΜΑΖΑΣ ΣΩΜΑΤΟΣ (BMI)

Ο δείκτης μάζας σώματος ή δείκτης Quetelet αποτελεί ένα μέτρο υπολογισμού της μάζας του σώματος. Δημιουργήθηκε από τον Adolphe Quetelet το 1832.

Πρόκειται για μια γενική ιατρική ένδειξη, όπου υπολογίζεται ο βαθμός παχυσαρκίας ενός ατόμου. Επιπλέον, αποτελεί διαγνωστικό εργαλείο σε πιθανά προβλήματα υγείας ενός ατόμου, που αφορούν το δείκτη μάζας σώματός του.

Ωστόσο δεν αποτελεί αξιόπιστη μέθοδο, διότι η σχέση λίπους- μυϊκού βάρους διαφέρει από άτομο σε άτομο. Για την ακρίβεια των μετρήσεων απαιτούνται εξειδικευμένες τεχνικές και μέθοδοι.

Ο BMI υπολογίζεται ως εξής: Η μάζα σώματος m (σε κιλά) διαιρείται με το ύψος l (σε μέτρα) στο τετράγωνο σύμφωνα με τον τύπο:

Ο μαθηματικός τύπος για την εύρεση του BMI είναι:

$$BMI = \frac{\text{μάζα (kg)}}{\{\text{Ύψος (m)}\}^2}$$

Ερμηνεία αποτελέσματος

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ	BMI ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ	ΚΙΝΔΥΝΟΣ ΓΙΑ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΥΓΕΙΑΣ
ΛΙΠΟΒΑΡΗΣ	<18,5	ΑΥΞΗΜΕΝΟΣ
ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟ ΒΑΡΟΣ	18,5-24,9	ΕΛΑΧΙΣΤΟΣ
ΥΠΕΡΒΑΡΟΣ	25-29,9	ΑΥΞΗΜΕΝΟΣ
ΠΑΧΥΣΑΡΚΟΣ ✓ ΤΥΠΟΥ Ι ✓ ΤΥΠΟΥ ΙΙ ✓ ΤΥΠΟΥ ΙΙΙ	30-34,9 35-39,9 >40	ΥΨΗΛΟΣ ΠΟΛΥ ΥΨΗΛΟΣ ΥΠΕΡΒΟΛΙΚΑ ΥΨΗΛΟΣ

Υπ. Για άτομα ηλικίας 65 ετών και άνω διαφοροποιείται το εύρος των τιμών, όπου αναγράφονται στον πίνακα.

(WHO (2000) Obesity: Preventing and Managing the Global Epidemic: Report of a WHO Consultation on Obesity)

B2.8 FRAP- Αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος (Benzie & Stray1999)

Αρχή μεθόδου

α) Με τη μέθοδο FRAP μετρήθηκε η ικανότητα αναγωγής του συμπλόκου Fe^{3+} - TPTZ σε Fe^{2+} -TPTZ από τα αντιοξειδωτικά συστατικά του πλάσματος. Η αναγωγή του συμπλόκου τρισθενούς σιδήρου-τριπυριδυλοτριαζίνη (Fe^{3+} - TPTZ) σε σύμπλοκο δισθενούς σιδήρου-τριπυριδυλοτριαζίνη (Fe^{2+} -TPTZ) επιτυγχάνεται σε χαμηλό pH, και η αναγωγή αυτή προσδίδει μια έντονη αλλαγή του χρώματος από **χρυσίζων** σε **έντονο μπλε**.

Η αλλαγή της απορρόφησης μετριέται με τη χρήση φωτόμετρου, σε μήκος κύματος 593nm.

β) Με τη μέθοδο FRAP μετρήθηκε επίσης το ποσοστό συμμετοχής του ουρικού οξέος και των υπόλοιπων αντιοξειδωτικών συστατικών, στην αναγωγική ικανότητα του πλάσματος. Για τη μέτρηση αυτή χρησιμοποιήθηκε το ένζυμο ουρικήαση, το οποίο υδρολύει το ουρικό οξύ.

Πρόκειται για μη ειδική, κινητική αντίδραση, όπου υπό τις αναγωγικές συνθήκες της αντίδρασης τρισθενούς σιδήρου θα οδηγήσει στη δημιουργία ιόντων Fe^{2+} .

Η αλλαγή στην απορρόφηση σχετίζεται άμεσα με συνολική αναγωγική ικανότητα των αντιοξειδωτικών (ως δότες ηλεκτρονίων), με τα αντιοξειδωτικά που υπάρχουν στο μίγμα της αντίδρασης.

Πειραματική διαδικασία

- A) Για την μέτρηση των επιπέδων συνολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας του πλάσματος:
- i) Φυγοκέντρηση ολικού αίματος σε 3000rpm για 10min, για τον διαχωρισμό και τη λήψη πλάσματος.
 - ii) Μεταφορά πλάσματος σε eppendorf και παραμονή του σε βαθεία κατάψυξη (-80°C), (εάν η μέθοδος πραγματοποιηθεί την ίδια ημέρα, παραλείπεται αυτό το βήμα)
 - iii) Φυγοκέντρηση πλάσματος σε 3000rpm για 10 min
 - iv) Λήψη ποσότητας πλάσματος από το υπερκείμενο

- v) Σε 2,4ml αντιδραστηρίου FRAP προστίθενται 80μl πλάσμα.
 - vi) Ανάδευση δείγματος με χρήση vortex
 - vii) Επώαση για 4min στους 37⁰c σε υδατόλουτρο.
 - viii) Φωτομέτρηση των δειγμάτων σε απορρόφηση 593nm και καταγραφή της απορρόφησης, σε ειδικά διαμορφωμένο έντυπο.
- B) Για την μέτρηση του ποσοστού συμμετοχής του ουρικού οξέος και των υπολοίπων αντιοξειδωτικών συστατικών:
- i) Φυγοκέντρηση ολικού αίματος σε 3000rpm για 10min, για τον διαχωρισμό και τη λήψη πλάσματος.
 - ii) Μεταφορά πλάσματος σε eppendorf και παραμονή του σε βαθεία κατάψυξη (-80⁰c), (εάν η μέθοδος πραγματοποιηθεί την ίδια ημέρα, παραλείπεται αυτό το βήμα)
 - iii) Φυγοκέντρηση πλάσματος σε 3000rpm για 10 min
 - iv) Λήψη ποσότητας πλάσματος από το υπερκείμενο
 - v) Σε 80μl πλάσμα προστίθενται 0,5μl ουρικής stock
 - vi) Ανάδευση δείγματος με χρήση vortex
 - vii) Επώαση για 20-25min σε θερμοκρασία δωματίου.
 - viii) Σε 2,4ml αντιδραστηρίου FRAP προστίθενται 80μl πλάσμα (το πλάσμα περιέχει ήδη την ουρική)
 - ix) Ανάδευση δείγματος με χρήση vortex
 - x) Επώαση για 4min στους 37⁰c σε υδατόλουτρο.
 - xi) Φωτομέτρηση των δειγμάτων σε απορρόφηση 593nm και καταγραφή της απορρόφησης, σε ειδικά διαμορφωμένο έντυπο.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα μελέτη τέθηκαν κάποια κριτήρια για όποια γυναίκα ήθελε να συμμετάσχει, τα οποία έπρεπε να πληρούνται.

Αρχικά, συμμετείχαν γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας, με μέσο όρο ηλικίας τα 21,8 έτη.

Επιπλέον, επειδή η τιμή της οιστραδιόλης, έχει διαφορετική διακύμανση, ανάλογα με την φάση του εμμηνορυσιακού κύκλου της γυναίκας, οι συμμετέχουσες, στην παρούσα έρευνα, βρίσκονταν μεταξύ 3^{ης} έως και 6^{ης} ημέρας.

Τέλος, όλες οι συμμετέχουσες, έπρεπε να τηρούν τις προϋποθέσεις αιμοδοσίας. Δηλαδή, η τιμή της αιμοσφαιρίνης (Hb) έπρεπε να είναι πάνω 12,5 g/dl, η τιμή του Αιματοκρίτη (Hct) να είναι πάνω από 36%, η συστολική πίεση να είναι μεταξύ 100-180mmHg, η διαστολική να είναι μεταξύ 50-100mmHg και το βάρος της συμμετέχουσας να είναι μεγαλύτερο από 50 kg.

Όσες συμμετέχουσες, δεν τηρούσαν τα παραπάνω κριτήρια απορρίπτονταν εξαρχής από την μελέτη.

1. Δημογραφικά στοιχεία.

Στην παρούσα μελέτη συμμετείχαν γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας, με μέσο όρο ηλικίας τα 21,8 έτη. Το εύρος της ηλικίας των συμμετεχόντων ήταν από 18 έως 47 έτη. Οι περισσότερες άνηκαν στην ηλικιακή ομάδα μεταξύ 18-31 έτη, με εξαίρεση δύο γυναίκες 47 και 40 έτη.

Επιπλέον, επειδή η τιμή της οιστραδιόλης, έχει διαφορετική διακύμανση, ανάλογα με την φάση του εμμηνορρυσιακού κύκλου της γυναίκας, οι συμμετέχουσες, στην παρούσα έρευνα, βρίσκονταν μεταξύ 3^{ης} έως και 6^{ης} ημέρας. Συγκεκριμένα, 33 γυναίκες βρίσκονταν στην 3^η ημέρα, 23 στην 4^η ημέρα, 25 στην 5^η ημέρα και 19 στην 6^η ημέρα.

2. Κλινική εικόνα.

Στις εθελόντριες της έρευνας, πριν την δειγματοληψία, έγινε έλεγχος της διαστολικής και συστολικής πίεσης καθώς και των σφυγμών, με ηλεκτρονικό πιεσόμετρο. Επιπλέον, υπολογίστηκε ο δείκτης μάζας σώματος (BMI), από τα στοιχεία που συμπλήρωσαν στο ερωτηματολόγιο.

Τα φυσιολογικά επίπεδα διαστολικής και συστολικής πίεσης, όπως ορίζονται από το Εθνικό Ινστιτούτο Υγείας των Η.Π.Α. είναι τα ακόλουθα:

Κατηγορίες	Συστολική	Διαστολική
Φυσιολογική	<120 mmHg	<80 mmHg
Προϋπέρταση	120 – 139 mmHg	80 – 89 mmHg
ΥΠΕΡΤΑΣΗ		
Υπέρταση σταδίου 1	140 – 159 mmHg	90 – 99 mmHg
Υπέρταση σταδίου 2	>160 mmHg	>100 mmHg

Τιμές αναφοράς Αρτηριακής Πίεσης

(Πηγή: National Institute of Health, USA, 2003)

Ο μέσος όρος της διαστολικής πίεσης των συμμετεχόντων ήταν 116,9 mmHg ενώ της συστολικής ήταν 78,1 mmHg.

Ο Δείκτης Μάζας Σώματος (BMI) υπολογίστηκε με τον τύπο,

$$\Delta\text{ΜΣ} = \text{Βάρος} / \text{ύψος}^2$$

Η κατηγοριοποίηση του ΔΜΣ γίνεται ως εξής:

Τιμή ΔΜΣ	Χαρακτηρισμός
<18,5	Λιποβαρές άτομο
18,5 – 24,9	Φυσιολογικό άτομο
25 -29,9	Υπέρβαρο άτομο
>30	Παχύσαρκο άτομο

Στην μελέτη μας, η μέση τιμή του ΔΜΣ, είναι 23,6. Το εύρος τιμής ήταν μεταξύ 18,8 έως 43,7. Συγκεκριμένα, 5 γυναίκες χαρακτηρίστηκαν παχύσαρκες, 12 χαρακτηρίστηκαν υπέρβαρες και 5 λιποβαρείς. Οι υπόλοιπες 78 χαρακτηρίστηκαν φυσιολογικού βάρους.

3. Αιματολογικός Έλεγχος.

Ο αιματολογικός έλεγχος ουσιαστικά περιλαμβάνει τη γενική εξέταση αίματος η οποία πραγματοποιείται στον αυτόματο αιματολογικό αναλυτή. Η τελευταία αποτελεί μία τόσο ποσοτική όσο και μορφολογική μελέτη των έμμορφων συστατικών του αίματος. Για την καλύτερη κατανόηση των αποτελεσμάτων κρίθηκε σκόπιμη η διάκρισή της σε τρία επιμέρους τμήματα:

3.1 Λευκά Αιμοσφαίρια

Τα λευκά αιμοσφαίρια ή λευκοκύτταρα αποτελούν ένα ετερογενές σύνολο κυτταρικών πληθυσμών του αίματος. Μεταξύ αυτών συγκαταλέγονται τα εξής:

- 1) Πολυμορφοπύρρηνα (ουδετερόφιλα, βασεόφιλα, ηωσινόφιλα)
- 2) Μεγάλα μονοπύρρηνα και μακροφάγα και
- 3) Λεμφοκύτταρα

Η αποστολή και ο ρόλος όλων αυτών των κυττάρων είναι η άμυνα του οργανισμού. Τα ποσοστά τους στο αίμα αυξάνονται ($>11.000/\mu\text{L}$) σε:

- I. Λοιμώξεις από κόκκους, βακτηρίδια και μύκητες (όχι σε ιογενείς),
- II. Φλεγμονώδεις νεκρώσεις (έμφραγμα μυοκαρδίου, αγγειίτιδες)
- III. Μεταβολικές διαταραχές δηλαδή δηλητηριάσεις, ουρική αρθρίτιδα, οξέωση, ουραιμία, θεραπεία με κορτιζόνη, οξείες αιμορραγίες, μυελουπερπλαστικά σύνδρομα (λευχαιμίες) και σε κακοήθεις νεοπλασίες.

Τα ποσοστά αυτών των κυττάρων στο αίμα ελαττώνονται ($<4.000/\mu\text{l}$) σε:

- I. Λοιμώξεις (ιογενείς λοιμώξεις, τύφος, βαριά φυματίωση, ελονοσία, kala-azar)
- II. Αυτοάνοσα νοσήματα όπως ο συστηματικός ερυθρηματώδης λύκος, και
- III. Θεραπείες με αντιφλεγμονώδη, αντιθυρεοειδικά, αντιεπιληπτικά κ.α. φάρμακα.

Κάτω από τα $1.500/\mu\text{l}$ ουδετερόφιλα συγκεκριμένα, έχουμε τη λεγόμενη **ουδετεροπενία**, μια λευκοπενία που αυξάνει πολύ την πιθανότητα ανάπτυξης σοβαρών λοιμώξεων (λόγω απουσίας αμυντικών μηχανισμών), επικίνδυνων για τη ζωή, ακόμα και από κοινά μικρόβια.

Οι τιμές αναφοράς που ορίζονται από τον αιματολογικό αναλυτή που αξιολογήθηκαν τα δείγματα είναι οι ακόλουθες:

$$4.000 - 9.000 /mm^3 \text{ (ή } 4 - 9 \times 10^9 /L)$$

Στην συγκεκριμένη ερευνητική εργασία, ο αιματολογικός αναλυτής που χρησιμοποιήθηκε έκανε την εξής ανάλυση λευκών αιμοσφαιρίων:

3.1.1 Συνολικός Αριθμός Λευκών Αιμοσφαιρίων (WBCs)

Στις εθελόντριες βρέθηκε μέσος όρος τιμών 6.9 με τυπική απόκλιση +/-1.5.

3.1.2 Κοκκιοκύτταρα (GRAN)

Τα κοκκιοκύτταρα αντιστοιχούν στο 40-70% των λευκών αιμοσφαιρίων του περιφερικού αίματος. Το υπόλοιπο αντιστοιχεί στα λεμφοκύτταρα και τα μονοπύρηνια. Ανήκουν στο σύστημα των φαγοκυττάρων. Αποκαλούνται και μικροφάγα, σε αντιδιαστολή με τα μακροφάγα, που προέρχονται από τα μονοπύρηνια. Παράγονται στον ερυθρό μυελό των οστών και στη συνέχεια αποδεσμεύονται στην κυκλοφορία. Το όνομά τους οφείλεται στην παρουσία κοκκίων στο κυτταρόπλασμά τους. Ανάλογα με τη συμπεριφορά των κοκκίων τους στις διάφορες χρώσεις, διακρίνονται σε ουδετερόφιλα, βασεόφιλα και ηωσινόφιλα.

Τα κοκκιοκύτταρα συνηθίζεται να αποκαλούνται και **πολυμορφοπύρηνια**, καθώς ο πυρήνας τους συνήθως είναι κατατετμημένος και εμφανίζει διάφορα σχήματα. Όταν γίνεται αναφορά σε πολυμορφοπύρηνια, συνηθίζεται να εννοούνται τα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρηνια, που είναι και τα περισσότερα σε αριθμό.

3.1.2.1 Ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρηνια

Τα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρηνια έχουν μικρό χρόνο ζωής στο αίμα (4 έως 10 ώρες) και σύντομα μεταναστεύουν στους ιστούς, διερχόμενα μέσα από το τοίχωμα των αγγείων. Διακρίνεται μια κεντρική αποθήκη πολυμορφοπυρήνων στο μυελό των οστών και μια περιφερική αποθήκη πολυμορφοπυρήνων προσκολλημένων στο τοίχωμα των μικρών αγγείων. Ελκύονται ταχύτατα από την παρουσία χημειοτακτικών παραγόντων στο χώρο της φλεγμονής, όπου και ασκούν την φαγοκυτταρική τους δράση. Στους ιστούς επιβιώνουν για 1 έως 2 ημέρες ακόμα. Λόγω του μικρού τους μεγέθους, δεν είναι ικανά να φαγοκυτταρώσουν μικρόβια ή σωματίδια μεγάλου

μεγέθους, έργο που αναλαμβάνουν τα μακροφάγα. Τα νεκρά ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρηννα, μαζί με μικρόβια και ιστικά υπολείμματα συνιστούν το *πύον*.

Η ελάττωση του αριθμού των ουδετερόφιλων ονομάζεται ουδετεροπενία και καθιστά τον οργανισμό ευάλωτο στην ανάπτυξη λοιμώξεων. Αποτελεί συχνή παρενέργεια των χημειοθεραπευτικών σχημάτων έναντι των κακοήθων νεοπλασιών. Η αύξηση του αριθμού των ουδετερόφιλων είναι συχνή σε οξείες μικροβιακές λοιμώξεις, όπως η πνευμονία ή η αμυγδαλίτιδα. Στις περιπτώσεις αυτές, παρατηρείται παράλληλα και αύξηση των άωρων μορφών των ουδετεροφίλων (των ραβδοκυρήνων). Η όλη εικόνα χαρακτηρίζεται και με τον όρο *«στροφή του λευκοκυτταρικού τύπου προς τα αριστερά»*. Επίσης, πολλά κληρονομικά νοσήματα (κληρονομικές ανοσοανεπάρκειες) διαταράσσουν τη λειτουργικότητα των ουδετεροφίλων και καθιστούν τον οργανισμό ευπρόσβλητο σε μικροβιακές λοιμώξεις.

3.1.2.2 Ηωσινόφιλα

Τα ηωσινόφιλα αποτελούν περίπου το 2 έως 5% των λευκών αιμοσφαιρίων. Εμφανίζουν δίλοβο πυρήνα και περιορισμένη φαγοκυτταρική δραστηριότητα. Συμβάλλουν στην άμυνα του οργανισμού έναντι των παρασίτων, τα οποία λόγω του μεγέθους τους, είναι αδύνατον να φαγοκυτταρωθούν και θα πρέπει να θανατωθούν εξωκυττάρια. Προσηλώνονται στα παράσιτα μέσω των ανοσοσφαιρινών ή του συμπληρώματος και στη συνέχεια απελευθερώνουν τα κυτταροπλασματικά τους κοκκία. Η αύξηση των ηωσινοφίλων (ηωσινοφιλία) παρατηρείται σε παρασιτικά νοσήματα και σε νοσήματα αλλεργικής ή αυτοάνοσης αιτιολογίας. Τα ηωσινόφιλα συναθροίζονται στους ιστούς και εξαιτίας της παραγωγής αντισωμάτων IgE στα σημεία υπερευαισθησίας αλλεργικού τύπου (άμεσης υπερευαισθησίας). Η χορήγηση κορτικοστεροειδών ελαττώνει τα ηωσινόφιλα (ηωσινοπενία).

3.1.2.3 Βασεόφιλα

Τα βασεόφιλα αποτελούν περίπου το 1% των λευκών αιμοσφαιρίων. Παρουσιάζουν ομοιότητα στη λειτουργία με τα σιτευτικά κύτταρα των ιστών (συνώνυμα: μαστοκύτταρα, ιστιοκύτταρα). Περιέχουν κοκκία ισταμίνης, την οποία εκκρίνουν, όταν διεγερθούν από κάποιο αλλεργιογόνο ή αντιγόνο παρασίτου. Διαθέτουν υψηλής συγγένειας υποδοχείς για IgE αντισώματα και κατ' αυτήν την

αλληλεπίδραση (αντιγόνου - IgE αντισώματος) διεγείρονται τα βασεόφιλα κοκκιοκύτταρα και τα βασεόφιλα των ιστών, με αποτέλεσμα την παραγωγή δραστικών μεσολαβητών της υπερευαισθησίας αλλεργικού τύπου. Συμμετέχουν στην παθογένεια πολλών αλλεργικών νοσημάτων. Γενικότερα, για τα κοκκιοκύτταρα, στο σύνολό τους, ορίζεται ένα εύρος τιμών αναφοράς μεταξύ 55% έως 65%.

Τα δείγματα που εξετάστηκαν παρουσίασαν μέση τιμή 4.3 με τυπική απόκλιση +/-1.3.

3.1.3 Λεμφοκύτταρα (LYM)

Τα λεμφοκύτταρα αποτελούν μια ομάδα σφαιρικών κυττάρων με παρόμοια μορφολογικά χαρακτηριστικά. Στους ενήλικες και στα παιδιά αποτελούν το δεύτερο σε αριθμό τύπο λευκοκυττάρων στο περιφερικό αίμα και ο αριθμός τους αυξάνεται σε ιογενείς λοιμώξεις.

Τα λεμφοκύτταρα ταξινομούνται σε διάφορες ομάδες ανάλογα με τα χαρακτηριστικά αντιγόνα επιφανείας τους (δείκτες), τα οποία εντοπίζονται με τη βοήθεια ανοσοϊστοχημικών μεθόδων. Τα λεμφοκύτταρα έχουν ποικίλους λειτουργικούς ρόλους, όλοι από τους οποίους σχετίζονται με τους ανοσολογικούς αμυντικούς μηχανισμούς ενάντια σε μικροοργανισμούς, ξένα μακρομόρια και καρκινικά κύτταρα.

Τα λεμφοκύτταρα με διάμετρο 6 έως 8μm είναι γνωστά ως μικρά λεμφοκύτταρα. Στο περιφερικό αίμα υπάρχει επίσης ένας μικρός αριθμός από μεσαίου μεγέθους λεμφοκύτταρα και μεγάλα λεμφοκύτταρα με διάμετρο έως και 18 μm. Τα μεγάλα λεμφοκύτταρα αποτελούν περίπου το 3% των λεμφοκυττάρων του περιφερικού αίματος και αντιπροσωπεύουν κύτταρα που έχουν ενεργοποιηθεί από αντιγόνα και είναι καθ' οδόν προς τους διάφορους ιστούς.

3.1.3.1 Κυτταρολογία

Τα μικρά λεμφοκύτταρα που επικρατούν στο περιφερικό αίμα, έχουν σφαιρικό πυρήνα μερικές φορές με εντομή και συμπυκνωμένη χρωματίνη, κάτι που αποτελεί τυπικό χαρακτηριστικό κυττάρων με μικρή βιοσυνθετική δραστηριότητα. Στα επιχρίσματα του αίματος ο πυκνοχρωματικός πυρήνας διευκολύνει την αναγνώριση των λεμφοκυττάρων. Το πυρήνιο δεν είναι ορατό και αναγνωρίζεται μόνο σε φωτογραφίες ηλεκτρονικού μικροσκοπίου διέλευσης. Επίσης τα μικρά λεμφοκύτταρα έχουν μικρή ποσότητα κυτταροπλάσματος, που εμφανίζεται σαν ένας λεπτός δακτύλιος γύρω από τον πυρήνα και είναι ελαφρά βασεόφιλο λόγω της ύπαρξης ενός σχετικά μεγάλου αριθμού ελεύθερων ριβοσωμάτων. Η ποσότητα του κυτταροπλάσματος εξαρτάται από την κατάσταση ενεργοποίησης του λεμφοκυττάρου.

Σε φωτογραφίες ηλεκτρονικού μικροσκοπίου διέλευσης, το κυτταρόπλασμα των μικρών λεμφοκυττάρων περιέχει έναν μικρό αριθμό αζουρόφιλων κοκκίων, μια στοιχειώδη συσκευή Golgi, λίγα μιτοχόνδρια, ελάχιστη ποσότητα ενδοπλασματικού δικτύου και μερικές φορές μικρά αθροίσματα γλυκογόνου. Στο σαρωτικό ηλεκτρονικό μικροσκόπιο η κυτταρική μεμβράνη του λεμφοκυττάρου παρουσιάζει μικρές κυτταροπλασματικές προσεκβολές, που έχουν την εμφάνιση μικρολαχνών και είναι περισσότερες στα Β λεμφοκύτταρα.

Ο ρόλος του μεγέθους των λεμφοκυττάρων ως προς τη λειτουργία τους δεν είναι ξεκάθαρος και η παραδοσιακή αυτή ταξινόμηση των λεμφοκυττάρων σε σχέση με το μέγεθός τους δεν χρησιμοποιείται πλέον. Η πρόοδος που έχει επιτελεστεί ως προς τη κατανόηση των ανοσολογικών λειτουργιών των λεμφοκυττάρων, συνετέλεσε στην διάκριση δύο κύριων κατηγοριών, των Β και Τ λεμφοκυττάρων, τα οποία επιτελούν διαφορετικές αλλά συσχετιζόμενες λειτουργίες στο ανοσοποιητικό σύστημα.

3.1.3.2 Λειτουργία

Τα Β-λεμφοκύτταρα παράγουν εξειδικευμένα αντισώματα ενάντια σε εισβολείς-μικροοργανισμούς (**χυμική ανοσία**). Υπάρχουν επίσης δύο κύριες κατηγορίες Τ-λεμφοκυττάρων, τα Τ-βοηθητικά λεμφοκύτταρα, τα οποία απελευθερώνουν σηματοδοτικά μόρια για τη προσέλκυση των Β-λεμφοκυττάρων και τα Τ-κυτταροτοξικά λεμφοκύτταρα (**κυτταρική ανοσία**), τα οποία εκκρίνουν τοξικές ουσίες για τη θανάτωση των κυττάρων που έχουν προσβληθεί από ιούς, των

νεοπλασματικών κυττάρων ή των ξένων μοσχευμάτων. Επιπλέον, τα λεμφοκύτταρα εκκρίνουν ένα μεγάλο αριθμό σηματοδοτικών μορίων (λεμφοκίνες ή κυτοκίνες) που επηρεάζουν τη συμπεριφορά των Β και Τ λεμφοκυττάρων και παίζουν σημαντικό ρόλο στο συγχρονισμό και στη ρύθμιση των διαφόρων ανοσολογικών μηχανισμών του οργανισμού.

3.1.3.3 Χρόνος ζωής

Ο χρόνος ζωής των λεμφοκυττάρων ποικίλλει. Σε κάποια, ο χρόνος ζωής τους διαρκεί μόνο λίγες ημέρες, ενώ άλλα επιζούν στο περιφερικό αίμα για πολλά χρόνια. Τα λεμφοκύτταρα αποτελούν το μόνο τύπο λευκοκυττάρων που είναι δυνατόν να επιστρέψουν από τους ιστούς, μέσω της διαπίδυσης, πίσω στο περιφερικό αίμα.

3.1.3.4 Πλασματοκύτταρα

Τα πλασματοκύτταρα αποτελούν την τελική μορφή διαφοροποίησης των Β-λεμφοκυττάρων και συνθέτουν **ανοσοσφαιρίνες**. Ενώ στο μυελό των οστών αποτελούν ένα μικρό μέρος, είναι πολυάριθμα στους σπληνικούς ιστούς και στα εξειδικευμένα λεμφικά όργανα. Στο περιφερικό αίμα των υγιών ατόμων δεν κυκλοφορούν πλασματοκύτταρα.

Είναι μεγάλα κύτταρα με έκκεντρα τοποθετημένο σφαιρικό ή ωοειδή πυρήνα με «τροχοειδή» διάταξη της χρωματίνης. Η κατανομή αυτή υποδηλώνει ενεργό μεταγραφή πρωτεϊνών. Το κυτταρόπλασμα είναι έντονα βασεόφιλο λόγω του μεγάλου αριθμού ριβοσωμικού RNA στο άφθονο αδρό ενδοπλασματικό δίκτυο, το οποίο απαιτείται για την παραγωγή των ανοσοσφαιρινών. Στα ιστολογικά παρασκευάσματα διακρίνεται η θέση της καλά αναπτυγμένης συσκευής Golgi ως παραπυρηνική άλως που εκτοπίζει τον πυρήνα.

Ως προς τα λεμφοκύτταρα, τα δείγματα της έρευνας, παρουσίασαν μέσο όρο τιμών 2.0 με τυπική απόκλιση +/-0.6. Σε κανένα από τα δείγματα που εξετάστηκαν δεν βρέθηκε υψηλή τιμή λεμφοκυττάρων, τέτοια ώστε να παρουσιαστεί αναστροφή του λευκοκυτταρικού τύπου (δεξιόστροφη).

Όλα τα δείγματα, ανεξαιρέτως, παρουσίασαν φυσιολογικό λευκοκυτταρικό τύπο.

3.2 Ερυθρά Αιμοσφαίρια

Τα ερυθρά αιμοσφαίρια αποτελούν περίπου το 40% του συνολικού όγκου του αίματος. Τα ερυθρά αιμοσφαίρια περιέχουν **αιμοσφαιρίνη**, μια πρωτεΐνη που είναι υπεύθυνη για το κόκκινο χρώμα του αίματος και επιτρέπει την μεταφορά του οξυγόνου από τους πνεύμονες σε όλους τους ιστούς του σώματος. Τα κύτταρα χρησιμοποιούν το οξυγόνο για την παραγωγή ενέργειας ικανοποιώντας τις ανάγκες του οργανισμού, ελευθερώνοντας το διοξείδιο του άνθρακα ως «άχρηστο» υποπροϊόν, το οποίο και μεταφέρεται από τους ιστούς προς τους πνεύμονες. Όταν ο αριθμός των ερυθρών είναι χαμηλός (αναιμία), η μεταφορά του οξυγόνου είναι λιγότερη και παρουσιάζεται κούραση και αδυναμία στον οργανισμό ενώ όταν ο αριθμός των ερυθρών είναι σημαντικά αυξημένος (πολυκυτταραιμία), τότε το αίμα γίνεται πιο πηχτό και μπορεί να δημιουργηθούν θρομβώσεις αυξάνοντας την πιθανότητα εμφραγμάτων και εγκεφαλικών.

Το φυσιολογικό εύρος τιμών για τα ερυθρά αιμοσφαίρια είναι 3.8 έως 5.3x 10⁶/L. Τα δείγματα που εξετάστηκαν είχαν μέση τιμή 4.5x10⁶/L με τυπική απόκλιση +/-0.5. Μόλις το 4% των δειγμάτων είχε τιμές μεγαλύτερες των μέγιστων αποδεκτών (ήτοι>5.3x10⁶/L) ενώ ένα αντίστοιχο 2% είχε τιμές οριακά μικρότερες των ελάχιστων αποδεκτών τιμών. Τα αποτελέσματα αυτά κρίνονται αναμενόμενα, καθώς τα δείγματα αφορούσαν γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας που είχαν έμμηνο ρύση και κατά πάσα πιθανότητα χαμηλό αριθμό ερυθρών αιμοσφαιρίων εξαιτίας της εμμήνου ρύσεως.

3.3 Αιμοσφαιρίνη

Η αιμοσφαιρίνη αποτελεί πρωτεϊνική ένωση του αίματος και συστατικό των ερυθρών αιμοσφαιρίων. Σημαντικός είναι ο ρόλος της αιμοσφαιρίνης στη μεταφορά του οξυγόνου. Στους πνεύμονες γίνεται σύνδεση του οξυγόνου με την αιμοσφαιρίνη και το αίμα που έχει κορεστεί από οξυγόνο είναι ζωηρό κόκκινο και λέγεται αρτηριακό αίμα. Αυτό καθώς φτάνει στα λεπτά τριχοειδή αγγεία διασπάται σε αιμοσφαιρίνη και οξυγόνο, το οποίο μεταφέρεται στους ιστούς, με αποτέλεσμα το αίμα να λαμβάνει ένα σκούρο χρώμα (φλεβικό αίμα).

Η πτώση της αιμοσφαιρίνης του αίματος διαταράσσει την προσφορά οξυγόνου στους ιστούς. Το ανθρώπινο σώμα έχει ισχυρούς προστατευτικούς μηχανισμούς έναντι των δυσμενών αποτελεσμάτων της πτώσης της αιμοσφαιρίνης και εξαιτίας του φαινομένου αυτού, στα αρχικά στάδια και σε μικρού βαθμού πτώση της αιμοσφαιρίνης, δεν υπάρχουν συμπτώματα.

Συγκεκριμένα, η διαταραγμένη προσφορά οξυγόνου στα κύτταρα αντιρροπείται κυρίως μέσω μεταβολών στην καμπύλη διάστασης οξυγόνου και αιμοσφαιρίνης με την μεσολάβηση του μειωμένου PH ή του αυξημένου διοξειδίου του άνθρακα που παράγεται κατά τον διαταραγμένο μεταβολισμό (φαινόμενο BOHR). Περαιτέρω προστασία της απόδοσης αίματος επιτυγχάνεται μέσω της διαφυγής αίματος από επιφανειακά όργανα όπως το δέρμα σε ζωτικά σπλάγχνα όπως η καρδιά και ο εγκέφαλος. Σε περίπτωση απώλειας ερυθρών λόγω αιμορραγίας κινητοποιούνται συμπληρωματικοί μηχανισμοί, όπως κατακράτηση ούρων και αγγειοσύσπαση. Όταν, ωστόσο, η πτώση της αιμοσφαιρίνης είναι σημαντική, εμφανίζονται συμπτώματα όπως πτώση του αιματοκρίτη, ζάλη, εύκολη κόπωση, δύσπνοια, αίσθημα ταχυκαρδίας, απώλεια αντοχής, λιποθυμική τάση η οποία μπορεί να φτάσει εως και λιποθυμικό επεισόδιο.

Κάθε νόσημα ή παθολογικός παράγοντας που προκαλεί ελάττωση των ερυθρών αιμοσφαιρίων ή ελάττωση της φυσιολογικής συγκέντρωσης της αιμοσφαιρίνης, προκαλεί ποικιλία νοσημάτων, ο κατάλογος των οποίων είναι μακροσκελής. Για παράδειγμα, η χρόνια νεφρική ανεπάρκεια προκαλεί μείωση της παραγωγής της ερυθροποιητίνης και των ερυθρών αιμοσφαιρίων και πτώση της αιμοσφαιρίνης. Χρόνια νοσήματα που προκαλούν βλάβη στο μυελό των οστών, όπου παράγονται τα ερυθρά αιμοσφαίρια έχουν ως αποτέλεσμα χαμηλή αιμοσφαιρίνη (π.χ. καρκινώματα,

χρόνιες φλεγμονές, λευχαιμίες). Η έλλειψη σιδήρου είναι η πιο συχνή αιτία που προκαλεί μειωμένη παραγωγή αιμοσφαιρίνης.

Η ασφαλής διερεύνηση ορισμένων περιπτώσεων χαμηλής αιμοσφαιρίνης μπορεί να απαιτεί πολύπλοκο εργαστηριακό έλεγχο ή και εισαγωγή στο νοσοκομείο. Τα ευρήματα από τη σωστή ιατρική εξέταση, έχουν κομβικό ρόλο στην ορθή διαφορική διάγνωση και θεραπεία.

Οι φυσιολογικές τιμές για την αιμοσφαιρίνη καλύπτουν το εύρος τιμών από 12 έως 16 g/dL. Ο μέσος όρος των δειγμάτων από τις εθελόντριες αιμοδότριες ήταν 13,50 g/dL με τυπική απόκλιση +/-0,80. Η διακύμανση εντός του φυσιολογικού εύρους τιμών είναι αναμενόμενο, εξαιτίας του ότι η τιμή της αιμοσφαιρίνης, ήταν μια από τις προϋποθέσεις συμμετοχής στην έρευνα.

3.4 Αιματοκρίτης

Ο αιματοκρίτης είναι μια εξέταση αίματος που μετρά το ποσοστό του όγκου του ολικού αίματος που αποτελείται από ερυθρά αιμοσφαίρια. Τα φυσιολογικά όρια κυμαίνονται ανάλογα με τη μέθοδο μέτρησης που χρησιμοποιεί το εργαστήριο και την γενετική κατασκευή του ατόμου. Γενικώς πάντως οι φυσιολογικές διακυμάνσεις είναι στους άνδρες 40.7 έως 50.3% και στις γυναίκες 36.1 έως 44.3%.

Όταν ο αιματοκρίτης είναι εκτός των γενικών αυτών ορίων και των ορίων αναφοράς, που δίνει το εργαστήριο μέτρησης, το άτομο πάσχει από χαμηλό αιματοκρίτη. Παροδική, μικρή πτώση του αιματοκρίτη προκαλείται από τις ιώσεις, την κόπωση, το stress, την αϋπνία. Μεγαλύτερες ή πιο σταθερές μειώσεις προκαλούν οι εξής κατηγορίες νοσημάτων και καταστάσεων:

- I. Αναιμία
- II. Κατάκλιση
- III. Υπερφόρτωση με υγρά
- IV. Διατροφικές ανεπάρκειες
- V. Ορμονικές διαταραχές
- VI. Λήψη φαρμάκων
- VII. Κύηση

Η αναιμία είναι η πιο συνήθης πάθηση που προκαλεί πτώση του αιματοκρίτη. Ενίοτε δεν πρόκειται για αληθή αναιμία, αλλά για φορεία στίγματος αναιμίας, που

προκαλεί μικρή πτώση του αιματοκρίτη. Στην κατάσταση της αναιμίας υπάρχει πτώση της μάζας των ερυθρών αιμοσφαιρίων που κυκλοφορούν στο αίμα, με αποτέλεσμα την ελάττωση της συγκέντρωσης της αιμοσφαιρίνης του αίματος και του αιματοκρίτη.

Τα ερυθρά αιμοσφαίρια παράγονται στο μυελό των οστών, μετά από την επίδραση της *ερυθροποιητίνης*, ορμόνης που εκκρίνεται στο νεφρό. Μία μικρή ποσότητα ερυθροποιητίνης παράγεται από τα κύτταρα του ήπατος. Ο μυελός των οστών κάτω από την επίδραση της ερυθροποιητίνης και μόνο επί παρουσίας θρεπτικών ουσιών όπως σιδήρου, βιταμίνης B12 και φυλλικού οξέως, παράγει τα ερυθρά αιμοσφαίρια τα οποία απελευθερώνει στο αίμα. Το γερασμένο ερυθρό αιμοσφαίριο καταστρέφεται στο δικτυοενδοθηλιακό σύστημα και ιδιαίτερα στο σπλήνα.

Τα ερυθρά αιμοσφαίρια είναι απαραίτητα για την μεταφορά του οξυγόνου στους ιστούς, μέσω του αίματος. Η βαθμιαία εγκατάσταση αναιμίας δίνει συχνά στον οργανισμό τον απαιτούμενο χρόνο για να κινητοποιήσει τους εγγενείς αντιρροπιστικούς του μηχανισμούς με αποτέλεσμα τα συμπτώματα να εμφανίζονται μόνο όταν η αναιμία γίνει βαριά, ιδίως μάλιστα εάν πρόκειται για μη ηλικιωμένο άτομο. Σε περίπτωση που υπάρχουν συμπτώματα εμφανίζεται ζάλη, εύκολη κόπωση, δύσπνοια, αίσθημα ταχυκαρδίας, απώλεια αντοχής, αδυναμία συγκέντρωσης και λιποθυμική τάση.

Κάθε νόσημα ή παθολογικός παράγοντας που προκαλεί ελάττωση του ρυθμού παραγωγής των ερυθρών αιμοσφαιρίων ή ελάττωση του μέσου όρου ζωής των ερυθρών αιμοσφαιρίων έχει ως αποτέλεσμα αναιμία. Παρά το γεγονός ότι η έλλειψη σιδήρου αποτελεί το πιο συχνό αίτιο αναιμίας - ιδιαίτερα μάλιστα στις γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας που χάνουν μεγάλα ποσά αίματος κατά την έμμηνου ρύση οπότε ο μυελός των οστών δεν έχει αρκετό σίδηρο για να «φτιάξει» ερυθρά αιμοσφαίρια.

Η αναιμία μπορεί να προκληθεί από βλάβη σε οποιοδήποτε σημείο του κύκλου της ερυθροποίησης. Έτσι, για παράδειγμα, η χρόνια νεφρική ανεπάρκεια προκαλεί μείωση της παραγωγής της ερυθροποιητίνης και αναιμία. Χρόνια νοσήματα που προκαλούν βλάβη στο μυελό των οστών, όπως καρκινώματα, χρόνιες φλεγμονές και λευχαιμίες, έχουν ως αποτέλεσμα αναιμία. Νοσήματα που εφοδιάζουν τον μυελό των οστών με άλλες ανεπαρκείς ωφέλιμες ουσίες εκτός του σιδήρου, όπως η έλλειψη B12

και φυλλικού οξέως έχουν ως αποτέλεσμα εμφάνιση αναιμίας. Νοσήματα που προκαλούν αιμόλυση και αυξημένη καταστροφή των ερυθρών αιμοσφαιρίων όπως κληρονομικές θαλασσαιμίες και δρεπανοκυτταρικά σύνδρομα οδηγούν σε αναιμία. Νοσήματα που προκαλούν απώλεια ερυθρών λόγω αιμορραγίας όπως είναι η γαστρορραγία έχουν ως αποτέλεσμα πάλι την εμφάνιση αναιμίας.

Κατά την εξέταση των δειγμάτων της έρευνας, ο μέσος όρος που προέκυψε ήταν 39,2% με τυπική απόκλιση +/-2,4 και εντός του φυσιολογικού εύρους τιμών. Το 4% των επεξεργασθέντων δειγμάτων είχε τιμή λίγο μικρότερη της ελάχιστης αποδεκτής (36%) ενώ δεν υπήρχε τιμή μεγαλύτερη της ανώτερης φυσιολογικής (48%). Η τιμή του αιματοκρίτη ήταν και αυτή, κριτήριο επιλογής της υποψήφιας συμμετέχουσας στην έρευνα, ως εκ τούτου οι τιμές ήταν αναμενόμενες.

3.5 Ερυθροκυτταρικοί Δείκτες

Οι Ερυθροκυτταρικοί Δείκτες περιλαμβάνουν, στο σύνολό τους, τέσσερις επιμέρους δείκτες που μας δίνουν επιπλέον πληροφορίες σχετικά με τα ερυθροκύτταρα και μπορούν να υπολογιστούν με ακρίβεια γνωρίζοντας τις τιμές για:

- I. Τον συνολικό αριθμό των ερυθροκυττάρων (RBCs)
- II. Την αιμοσφαιρίνη (Hb) και
- III. Τον αιματοκρίτη (Hct).

3.5.1 Μέσος Όγκος Ερυθροκυττάρων (MCV – Mean Corpuscular Volume)

Εκφράζει τη μέση τιμή του όγκου των ερυθρών αιμοσφαιρίων. Δηλαδή το “πόσο μεγάλα” είναι τα ερυθροκύτταρα. Ο δείκτης MCV είναι χρήσιμος στο διαχωρισμό των αναιμιών. Αυξάνεται στις μεγαλοβλαστικές αναιμίες και στα μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα ενώ αντίστοιχα ελαττώνεται στις σιδηροπενικές αναιμίες, στις θαλασσαιμίες (μεσογειακές) και στις αναιμίες των χρόνιων παθήσεων.

Οι φυσιολογικές τιμές κυμαίνονται από 80 έως 100 fL και υπολογίζεται σύμφωνα με τον τύπο:

$$MCV = Hct (\%) / RBC (10^6 / \mu L) \times 10$$

Ο μέσος όρος των δειγμάτων της έρευνας ήταν 88 fL με τυπική απόκλιση +/- 6,1. Μόλις 4% των δειγμάτων είχε τιμή μικρότερη των 80 fL που ήταν και η ελάχιστη

φυσιολογική ενώ κανένα εκ των δειγμάτων που εξετάστηκαν δεν εμφάνισε τιμή που να υπερβαίνει την ανώτατη αποδεκτή (ήτοι 100 fL).

3.5.2 Μέση Περιεκτικότητα Αιμοσφαιρίνης ανά Ερυθροκύτταρο (MCH–Mean Corpuscular Haemoglobin)

Εκφράζει τη μέση ποσότητα αιμοσφαιρίνης που περιέχεται σε κάθε ερυθρό αιμοσφαίριο. Αυξάνεται και ελαττώνεται στις ίδιες καταστάσεις με τον δείκτη MCV. Οι φυσιολογικές τιμές για το συγκεκριμένο δείκτη είναι μεταξύ 27 και 32 pg.

Η μέση τιμή των δειγμάτων της έρευνας ήταν 30,3 pg με τυπική απόκλιση +/- 2,5pg. Το 6% των δειγμάτων είχε τιμή μικρότερη των 27 pg που ήταν και η ελάχιστη φυσιολογική ενώ το 22% ξεπέρασε ελάχιστα την ανώτατη φυσιολογική τιμή για το συγκεκριμένο δείκτη.

3.5.3 Μέση Πυκνότητα Αιμοσφαιρίνης (MCHC – Mean Corpuscular Haemoglobin Concentration)

Με αυτόν τον δείκτη περιγράφεται η μέση συγκέντρωση της αιμοσφαιρίνης εντός των ερυθρών αιμοσφαιρίων. Αυξάνεται στην αφυδάτωση και στην κληρονομική σφαιροκυττάρωση ενώ ελαττώνεται στην υπερ-υδάτωση, στις σιδηροπενικές αναιμίες και στις θαλασσαιμίες. Οι φυσιολογικές τιμές του δείκτη καλύπτονται από το εύρος τιμών 32 εως 36 g/dL.

Ο μέσος όρος των τιμών των δειγμάτων κυμάνθηκε ελαφρώς χαμηλότερα από την ελάχιστη φυσιολογική τιμή και ήταν 34,40g/dL με τυπική απόκλιση +/-1.10. Κανένα δείγμα δεν παρουσίασε τιμή μικρότερη της ελάχιστης φυσιολογικής τιμής (32 g/dL). Αντιθέτως μόλις το 7%, παρουσίασε λίγο μεγαλύτερη τιμή, από την ανώτατη φυσιολογική (36g/dL), γεγονός που εξηγείται επίσης από την έμμηνο ρύση, στην οποία βρίσκονταν όλες οι συμμετέχουσες, δεδομένης της φυσιολογικής αιμοσφαιρίνης, που είχαν εξαρχής, για τη συμμετοχή στην έρευνα.

3.5.4 Εύρος κατανομής του όγκου των ερυθροκυττάρων, RDW (Red Cell Distribution Width)

Εκφράζει την ετερογένεια των ερυθροκυττάρων και δεν πρέπει να ταυτίζεται με την έννοια της ανισοκυττάρωσης. Εκφράζεται σε ποσοστιαίες τιμές και φυσιολογικά κυμαίνεται από 10 έως 16.5%. Ο μέσος όρος των δειγμάτων ήταν 12.7% με τυπική απόκλιση +/-0,8%. Κανένα από τα δείγματα δεν βρέθηκε εκτός του φυσιολογικού εύρους τιμών.

3.6 Αιμοπετάλια

Τα αιμοπετάλια (PLTs) είναι τα μικρότερα από τα έμμορφα στοιχεία του αίματος. Είναι γνωστά και ως θρομβοκύτταρα, επειδή η βασική αποστολή τους είναι η εξασφάλιση της πρωτογενούς **αιμόστασης**. Τα PLTs διαδραματίζουν ιδιάζοντα ρόλο κατά την αρχική αιμόσταση, την πήξη και το σχηματισμό του αιμοπεταλιακού θρόμβου, υπό την προϋπόθεση βέβαια ότι είναι φυσιολογικά τόσο σε ποσοτικό όσο και σε μορφολογικό επίπεδο. Είναι μικρά, άχρωμα και διαφόρου σχήματος σωματίδια. Επιπρόσθετα, τα θρομβοκύτταρα είναι απύρνηνα, δεν περιέχουν DNA, αποτελούνται μόνο από βασεόφιλο κυτταρόπλασμα με μικρά κοκκία στο κέντρο του κυττάρου και βάφονται από συνήθεις αιματολογικές χρωστικές με χρώμα ανοικτό κυανό ενώ τα κοκκία αυτών είναι πιο σκούρα. Οι φυσιολογικές τιμές των αιμοπεταλίων κυμαίνονται από 120 έως 380x10³/L.

Ο μέσος όρος των δειγμάτων που εξετάστηκαν βρέθηκε να είναι εντός των φυσιολογικών ορίων, δηλαδή 303x10³ με τυπική απόκλιση +/-69,7x10³. Κανένα από τα δείγματα δεν είχε τιμές μικρότερες της ελάχιστης ενώ μόλις το 6% των δειγμάτων ξεπέρασε τη μέγιστη φυσιολογική τιμή, αλλά κατά την μικροσκόπηση δεν βρέθηκε κάποιο λάθος.

3.6.1 Αιμοπεταλιακοί Δείκτες

Παρόμοια με τα αιμοπετάλια, ο αιματολογικός αναλυτής υπολογίζει για τα αιμοπετάλια τρεις ειδικούς δείκτες που καλούνται αιμοπεταλιακοί δείκτες. Οι δείκτες αυτοί δίνουν πληροφορίες για το μέγεθος και την ποικιλότητα των αιμοπεταλίων.

3.6.1.1 Αιμοπεταλιοκρίτης (PCT)

Είναι το αντίστοιχο του αιματοκρίτη. Είναι, δηλαδή, το ποσοστό των αιμοπεταλίων μέσα στο αίμα. Υπολογίζεται από το ιστόγραμμα των αιμοπεταλίων σύμφωνα με την σχέση:

$$Hct = V/Vt \times 100$$

Όπου V ο συνολικός όγκος των αιμοπεταλίων και Vt ο όγκος του δείγματος που απορροφήθηκε από τον αναλυτή.

Οι φυσιολογικές τιμές του PCT είναι μεταξύ 0.1% έως 1%. Ο μέσος όρος των τιμών των δειγμάτων της έρευνας ήταν 0.24 % με τυπική απόκλιση +/-0.9%. Κανένα από τα δείγματα δεν βρέθηκε εκτός του φυσιολογικού εύρους τιμών.

3.6.1.2 Εύρος Κατανομής Αιμοπεταλίων (PDW)

Προσδιορίζεται κατά τρόπο παρόμοιο με εκείνο του RDW. Αποτελεί το εμβαδόν της κατανομής που περικλείει το 20% αυτής (όταν η κορυφή περικλείει το 100%) και υπολογίζεται σε ποσοστιαίες μονάδες. Το φυσιολογικό εύρος τιμών είναι 12% έως 20%.

Ο μέσος όρος των τιμών των δειγμάτων σε αυτήν την περίπτωση ήταν 17.0% με τυπική απόκλιση +/-0.6. Κανένα από τα δείγματα δεν βρέθηκε εκτός του φυσιολογικού εύρους τιμών.

3.6.1.3 Μέσος Όγκος Αιμοπεταλίων (MPV)

Ο μέσος όγκος των αιμοπεταλίων μετρείται σε fL και υπολογίζεται από τον παρακάτω τύπο:

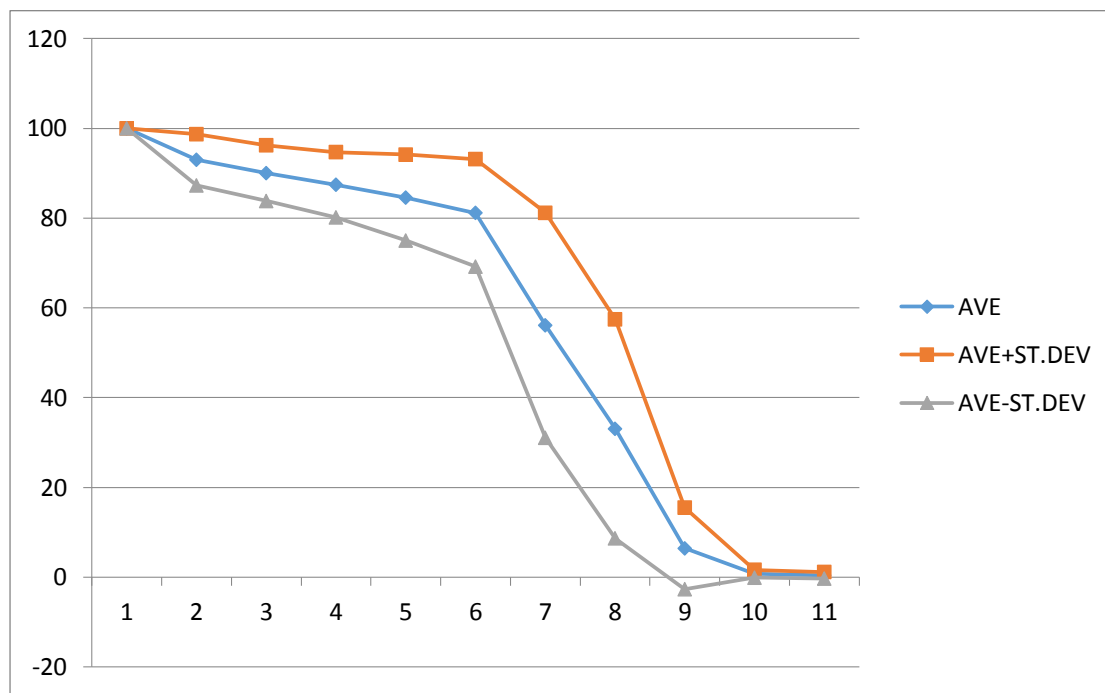
$$MPV = \frac{PCT (\%)}{PLT (\frac{10^3}{L})} \times 1000$$

Το φυσιολογικό εύρος τιμών είναι 5fL έως 10fL. Ο μέσος όρος των τιμών των δειγμάτων ήταν 7,9 fL με τυπική απόκλιση +/-1.3. Το 4% των δειγμάτων εντοπίστηκαν εκτός της ανώτερης φυσιολογικής τιμής και μόλις 2% κάτω από το κατώτερη φυσιολογική τιμή, κάτι το οποίο υπολογίζεται ότι οφείλεται σε συστηματικά λάθη του αυτόματου αιματολογικού αναλυτή.

4. Ωσμωτική Αντίσταση Ερυθροκυττάρων

Τα δείγματα των εθελοντριών αιμοδοτριών υποβλήθηκαν στη δοκιμασία της Ωσμωτικής ευθραυστότητας με στόχο την εύρεση της συγκέντρωσης NaCl στην οποία τα ερυθροκύτταρα των εθελοντριών λύνονταν.

Όπως περιγράφεται αναλυτικά στο Κεφάλαιο «Υλικά και Μέθοδοι», τα δείγματα αίματος με αντιπηκτικό (σε σωληνάριο γενικής αίματος) δοκιμάστηκαν ως προς την ωσμωτική ευθραυστότητά τους σε δέκα (10) διαφορετικούς δοκιμαστικούς σωλήνες σε συγκεντρώσεις NaCl από 0,1% έως 0,9%. Για το σύνολο των δειγμάτων της έρευνας κατασκευάστηκε πρότυπη καμπύλη περιγραφής της ωσμωτικής ευθραυστότητας σύμφωνα με τη ν οποία παρουσιάζονται τα εξής αποτελέσματα:



Διάγραμμα 1. Ποσοστό αιμόλυσης σε σχέση με τη συγκέντρωση NaCl.

5. Υπολογισμός Ελεύθερης Αιμοσφαιρίνης πλάσματος

Για την μέτρηση της ελεύθερης αιμοσφαιρίνης σε κάθε δείγμα χρειάστηκε να απομακρυνθεί το πλάσμα από τα δείγματα αίματος των αιμοδοτριών. Τα δείγματα αραιώθηκαν με απεσταγμένο νερό και φωτομετρήθηκαν σε απορροφήσεις 380 nm, 415 nm και 450 nm. Στο τέλος αυτών των μετρήσεων, υπολογίστηκε η ελεύθερη αιμοσφαιρίνη του πλάσματος σύμφωνα με τον τύπο που αναφέρεται στο κεφάλαιο των υλικών και μεθόδων.

Τα αποτελέσματα από αυτή την μέτρηση για την ελεύθερη αιμοσφαιρίνη του πλάσματος ήταν τα εξής:

- ◆ Ο μέσος όρος της ελεύθερης αιμοσφαιρίνης του πλάσματος που βρέθηκε ήταν 0,075 mg/dl
- ◆ Το εύρος τιμών αναφοράς για τα δείγματα ήταν 0,010-0,413mg/dl
- ◆ Η τυπική απόκλιση που βρέθηκε για τα δείγματα ήταν +/-0.065

6. Βιοχημικός και Ορμονολογικός Έλεγχος

6.1 Βιοχημικός Έλεγχος

Στο σύνολο των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε πλήρης Βιοχημικός έλεγχος. Συγκεκριμένα μετρήθηκαν η Χοληστερόλη (CHOL), ο Σίδηρος (Fe), το Ουρικό Οξύ (UA), τα Τριγλυκερίδια (TG) και η Λιποπρωτεΐνη Υψηλής Πυκνότητας (HDL) και επιπλέον υπολογίστηκαν η Πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (VLDL), η Λιποπρωτεΐνη Χαμηλής Πυκνότητας (LDL) και ο λόγος της HDL προς την LDL. Οι τιμές φαίνονται στον παρακάτω πίνακα:

	FE	TG	CHOL	HDL	UA	VLDL	LDL	HDL/LDL
1	117,1	40	136	72,6	2,72	8	60,68	1,20
2	65,2	101	186	49,6	4,76	20,2	131,64	0,38
3	54,1	58	173	102,6	3,92	11,6	66,48	1,54
4	62,4	77	168	57,1	2,91	15,4	107,99	0,53
5	53	59	207	102,4	2,51	11,8	102,09	1,00
6	154,7	57	130	60,3	3,85	11,4	65,85	0,92
7	40,3	42	157	59,4	4,13	8,4	93,47	0,64
8	116,6	123	163	55,2	3,35	24,6	104,45	0,53
9	115,5	76	182	55,3	4,02	15,2	122,68	0,45
10	46,4	50	172	94,7	2,83	10	74,47	1,27

11	52,5	52	143	48,4	5,46	10,4	89,14	0,54
12	57,4	183	180	59,7	3,1	36,6	117,2	0,51
13	59,6	75	174	65,3	3,76	15	104,94	0,62
14	50,8	55	147	73,7	2,87	11	70,43	1,05
15	54,7	115	249	69,5	3,09	23	176,41	0,39
16	55,8	87	195	63,9	2,85	17,4	128,25	0,50
17	102,7	67	188	66,2	3,96	13,4	117,84	0,56
18	84,5	53	168	62	4,23	10,6	101,77	0,61
19	138,7	55	175	78,1	3,68	11	93,22	0,84
20	43,1	47	148	81,6	5,6	9,4	60,8	1,34
21	51,3	51	139	57,1	3,88	10,2	78,02	0,73
22	77,9	127	194	91,5	3,37	25,4	99,13	0,92
23	98,9	49	156	83,1	3,86	9,8	69,04	1,20
24	38,1	51	161	54,3	2,42	10,2	104,28	0,52
25	109,9	97	195	74,2	3,16	19,4	117,64	0,63
26	37	65	161	52,9	3,51	13	104,59	0,51
27	70,1	113	222	62,7	4,61	22,6	154,69	0,41
28	134,8	51	183	81,5	3,82	10,2	97,68	0,83
29	84,5	90	189	64,2	1,42	18	123,38	0,52
30	122,1	57	173	74,6	3,92	11,4	94,48	0,79
31	114,3	78	150	55,4	3,43	15,6	91,17	0,61
32	69	63	187	86,3	4,11	12,6	96,59	0,89
33	49,7	62	163	55,8	4,12	12,4	103,08	0,54
34	56,3	83	151	51,6	2,87	16,6	96,53	0,53
35	44,2	67	211	107,9	3,06	13,4	100,04	1,08
36	32,6	199	164	125	4,9	39,8	34,1	3,67
37	93,9	82	193	77,2	4,28	16,4	111,52	0,69
38	63,5	47	181	62,2	3,07	9,4	115,73	0,54
39	81,7	173	183	60,2	4,13	34,6	118,67	0,51
40	101,1	40	168	94,7	2,81	8	70,49	1,34
41	27,6	83	178	75,6	4,76	16,6	97,64	0,77
42	14,3	37	156	65,4	3,08	7,4	87,52	0,75
43	60,7	84	183	50,7	4,83	16,8	127,47	0,40
44	92,8	37	189	76,9	3,87	7,4	108,23	0,71
45	91,7	65	182	63	4,66	13	114,34	0,55
46	90,6	33	185	116,6	3,57	6,6	64,83	1,80
47	53,6	93	177	46	3,63	18,6	127,37	0,36
48	134,2	72	201	67,4	3,81	14,4	129,79	0,52
49	98,9	39	173	82,2	2,6	7,8	88,2	0,93
50	52,5	563	206	29,8	7,1	112,6	169,1	0,18
51	91,7	63	177	51,7	3,74	12,6	121,56	0,43
52	63	42	158	52,5	2,92	8,4	102,58	0,51
53	87,8	71	239	77,2	4,29	14,2	157,51	0,49
54	155	38	135	58,2	3,93	7,6	72,87	0,80

55	122	72	143	42,1	4,53	14,4	96,37	0,44
56	104	124	254	59,7	4,64	24,8	189,66	0,31
57	53	95	188	61,3	4,45	19	122,25	0,50
58	65,7	70	199	58,8	2,7	14	137,5	0,43
59	37,5	78	188	71,5	4,87	15,6	111,63	0,64
60	70,1	91	184	66,6	3,13	18,2	114,27	0,58
61	132	96	174	66,3	1,63	19,2	106,07	0,63
62	95,6	36	142	65,8	3,01	7,2	73,19	0,90
63	141	68	234	85	3,73	13,6	145,27	0,59
64	103,3	91	185	64	4,99	18,2	116,01	0,55
65	65,7	81	186	75,8	4,02	16,2	106,18	0,71
66	21	71	185	60,3	2,7	14,2	122	0,49
67	66,2	50	154	50,7	4,21	10	99,09	0,51
68	50,8	65	196	63,6	3,06	13	129,34	0,49
69	24,8	72	184	81,4	3,63	14,4	98,97	0,82
70	67,4	67	188	60,6	3,56	13,4	123,84	0,49
71	97,8	70	175	60,3	4,27	14	110,43	0,55
72	68,5	84	189	42,5	3,37	16,8	143,13	0,30
73	150,8	53	169	74,3	3,17	10,6	91,53	0,81
74	55,2	74	207	47,2	3,61	14,8	156,19	0,30
75	54,7	40	198	59	3,23	8	135,77	0,43
76	100	254	246	90,6	3,11	50,8	152,29	0,59
77	59,1	73	156	75,6	4,38	14,6	76,02	0,99
78	38,6	66	243	79,4	2,97	13,2	160,63	0,49
79	105	115	196	59,3	3,56	23	133,14	0,45
80	43,6	43	155	75,2	4,16	8,6	75,64	0,99
81	74,6	77	161	69,9	3,13	15,4	87,97	0,79
82	77,9	97	176	70,1	4,54	19,4	101,36	0,69
83	37,5	48	156	73,6	3,75	9,6	78,65	0,94
84	87,3	100	111	55	3,56	20	52,44	1,05
85	76,1	56	98	67	3,12	11,2	27,88	2,40
86	54,5	76	123	78	3,43	15,2	41,57	1,88
87	42,1	87	145	84	2,98	17,4	58,02	1,45
88	37,9	99	132	69	3,12	19,8	59,88	1,15
89	22,8	87	110	76	3,14	17,4	30,86	2,46
90	87,1	65	103	72	2,53	13	28,47	2,53
91	90,1	45	98	69	3,17	9	25,83	2,67
92	67,2	75	90	78	2,43	15	9,57	8,15
93	55,6	91	99	81	2,41	18,2	15,59	5,20
94	40,4	45	92	80	3,02	9	8,98	8,91
95	37,5	55	96	80	4,43	11	11,57	6,91
96	32,5	46	90	67	3,14	9,2	19,86	3,37
97	29,6	76	93	73	3,18	15,2	16,82	4,34
98	34,5	80	80	63	2,98	16	14,02	4,49

99	40,1	77	83	55	2,97	15,4	25,03	2,20
100	34,4	81	122	93	2,46	16,2	26,54	3,50

Η μέση τιμή των μετρήσεων του Σιδήρου (Fe) ήταν 72,2 και το εύρος τιμών διακυμάνθηκε από 14,3 – 155. Η σταθερή απόκλιση ήταν 33,2.

Οι τιμές των Τριγλυκεριδίων (TG) διακυμάνθηκαν μεταξύ 33 – 563 και η μέση τιμή βρέθηκε 80. Η τυπική απόκλιση ήταν 59,6.

Η Χοληστερόλη (CHOL) είχε εύρος τιμών 80 – 254, με μέση τιμή 166,8 και τυπική απόκλιση 38.

Η Λιποπρωτεΐνη Υψηλής Πυκνότητας (HDL) είχε ένα εύρος τιμών από 29,8 έως 125, με μέση τιμή 69,1 και τυπική απόκλιση 15,8.

Τέλος, στο Ουρικό Οξύ (UA) βρέθηκε εύρος τιμών 1,42 – 7,1, μέση τιμή 3,6 και τυπική απόκλιση 0,8.

6.2 Ορμονολογικός Έλεγχος

Στα δείγματα πραγματοποιήθηκε Ορμονολογικός Έλεγχος με βασικότερη μέτρηση την τιμή της Οιστραδιόλης. Οι τιμές που βρέθηκαν ήταν οι αναμενόμενες ως προς το εύρος, δεδομένου ότι τα δείγματα παρελήφθησαν μεταξύ της 3^{ης} και 6^{ης} ημέρας του εμμηνορυσιακού κύκλου, ημέρες στις οποίες η τιμή της Οιστραδιόλης (E2) βρίσκεται σε ανοδική φάση. Επιπλέον, η ημέρα του κύκλου, που βρισκόταν η κάθε συμμετέχουσα έδωσε επιπλέον διακύμανση στην τιμή.

1	34	12	29	23	48	34	40	45	41
2	46	13	31	24	47	35	54	46	55
3	49	14	83	25	39	36	24	47	37
4	26	15	57	26	54	37	36	48	52
5	60	16	37	27	23	38	18	49	35
6	47	17	33	28	45	39	48	50	36
7	40	18	30	29	28	40	68	51	53
8	40	19	31	30	28	41	35	52	53
9	34	20	66	31	35	42	37	53	27
10	49	21	43	32	67	43	44	54	33
11	38	22	37	33	40	44	35	55	50

56	62	65	34	74	45	83	49	92	30
57	43	66	68	75	55	84	29	93	50
58	54	67	43	76	13	85	81	94	28
59	37	68	45	77	44	86	38	95	57
60	45	69	31	78	59	87	45	96	37
61	49	70	40	79	48	88	62	97	37
62	47	71	24	80	33	89	30	98	36
63	27	72	45	81	49	90	30	99	56
64	29	73	72	82	36	91	51	100	23

Πίνακας 2 Τιμές μέτρησης Οιστραδιόλης E2, σε pg/ml

Το εύρος τιμών ήταν μεταξύ 13 – 83 pg/ml και η μέση τιμή βρέθηκε 42,5. Η τυπική απόκλιση βρέθηκε 13,1.

7. Ολική Αντιοξειδωτική Ικανότητα

Η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος υπολογίστηκε με την μέθοδο FRAP, κατά την οποία έχουμε την αναγωγή του συμπλόκου Fe^{3+} -TPTZ σε Fe^{2+} -TPTZ από τα αντιοξειδωτικά συστατικά του πλάσματος. Επιπλέον, με τη μέθοδο FRAP, μετρήθηκε το ποσοστό συμμετοχής του ουρικού οξέος και των υπόλοιπων αντιοξειδωτικών συστατικών, στην αναγωγική ικανότητα του πλάσματος, με την χρήση του ενζύμου Ουρικήση.

Αρχικά, βρέθηκε η Συνολική Αντιοξειδωτική Ικανότητα (TAC) με εύρος τιμών μεταξύ 311 – 945 mM με μέση τιμή τα 590 mM και τυπική απόκλιση 123 mM.

Στην συνέχεια, βρέθηκε η Αντιοξειδωτική Ικανότητα χωρίς την συμμετοχή του Ουρικού Οξέως με εύρος τιμών μεταξύ 97 – 399 mM, μέση τιμή τα 222 mM και τυπική απόκλιση τα 63 mM.

Τέλος, υπολογίστηκε η Αντιοξειδωτική Ικανότητα του πλάσματος αφαιρώντας τις παραπάνω τιμές για το κάθε δείγμα και βρέθηκε εύρος τιμών από 123 mM έως 729 mM, μέση τιμή τα 368 mM και τυπική απόκλιση 118 mM.

8. Ομάδες Αίματος

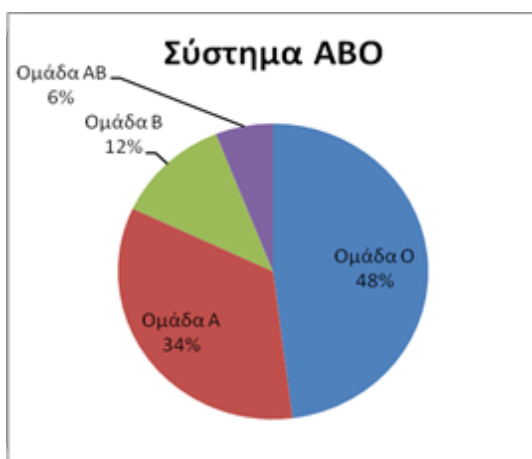
Σε όλα τα δείγματα πραγματοποιήθηκε έλεγχος της ομάδας αίματος, στα κυριότερα συστήματα, το σύστημα ABO και το σύστημα Rhesus.

8.1. Σύστημα ABO

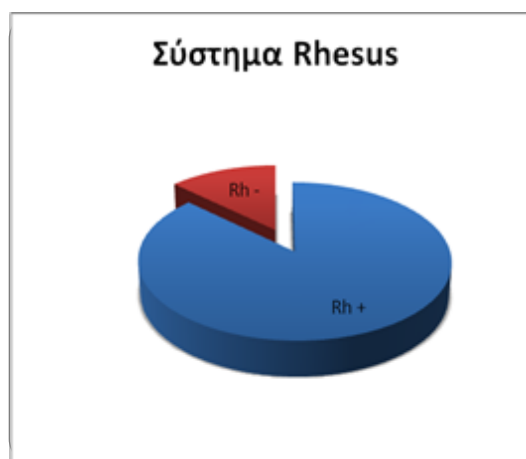
Ο έλεγχος για την ομάδα αίματος, στο σύστημα ABO, έδειξε ότι το 48% των δειγμάτων ανήκει στην ομάδα O, το 34% στην ομάδα A, το 12% στην ομάδα B και το 6% στην ομάδα AB.

8.2 Σύστημα Rhesus

Η συντριπτική πλειοψηφία των δειγμάτων, κατά τον έλεγχο της ομάδας Rhesus, βρέθηκε θετικό. Συγκεκριμένα το 87% των δειγμάτων ήταν θετικό κατά Rhesus και το 13% ήταν αρνητικό.



Εικόνα 2 Σύστημα ABO

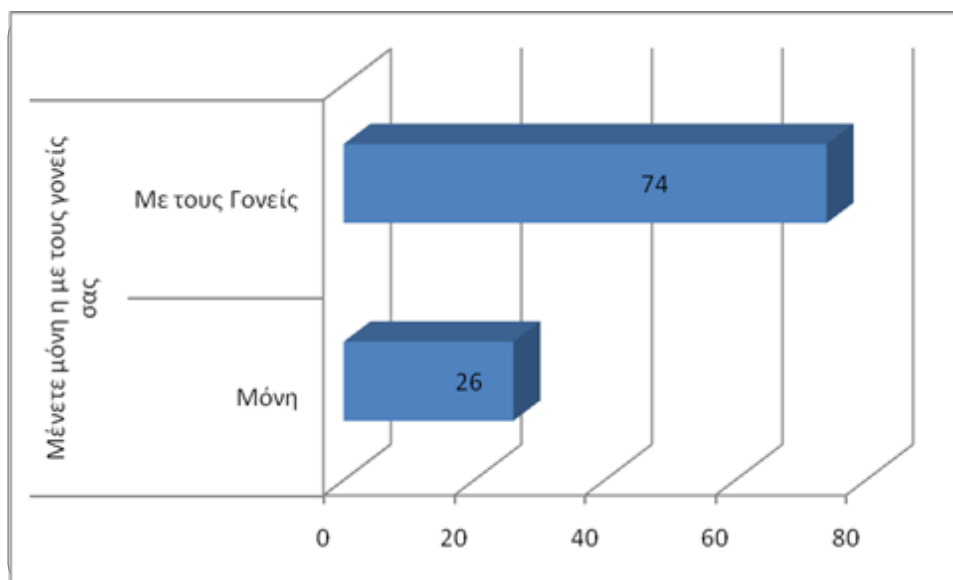


Εικόνα 3 Σύστημα Rhesus

9. Καθημερινές συνήθειες

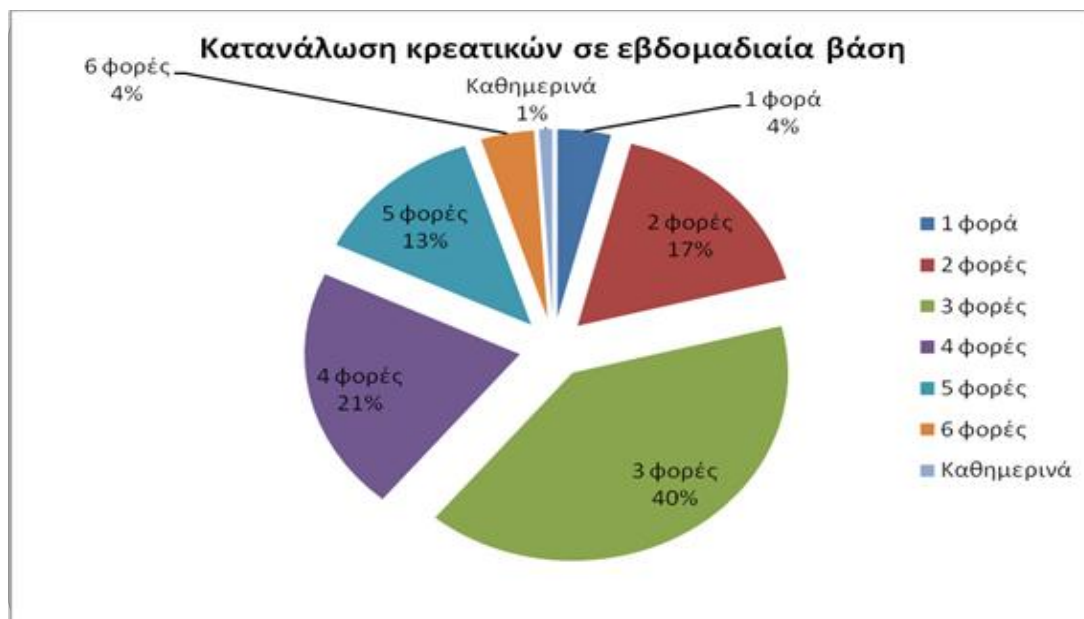
Όλες οι συμμετέχουσες συμπλήρωσαν ατομικό ερωτηματολόγιο, με ερωτήσεις που αφορούσαν τον τρόπο ζωής τους αλλά και τις συνήθειες τους. Αυτό μαζί με την προσωπική συνέντευξη, κατά την δειγματοληψία, βοήθησε στο σχηματισμό πλήρους Ιατρικού Ιστορικού για την κάθε αιμοδότρια ξεχωριστά.

9.1. Ερώτηση 1η : Μένετε μόνες ή με τους γονείς σας;



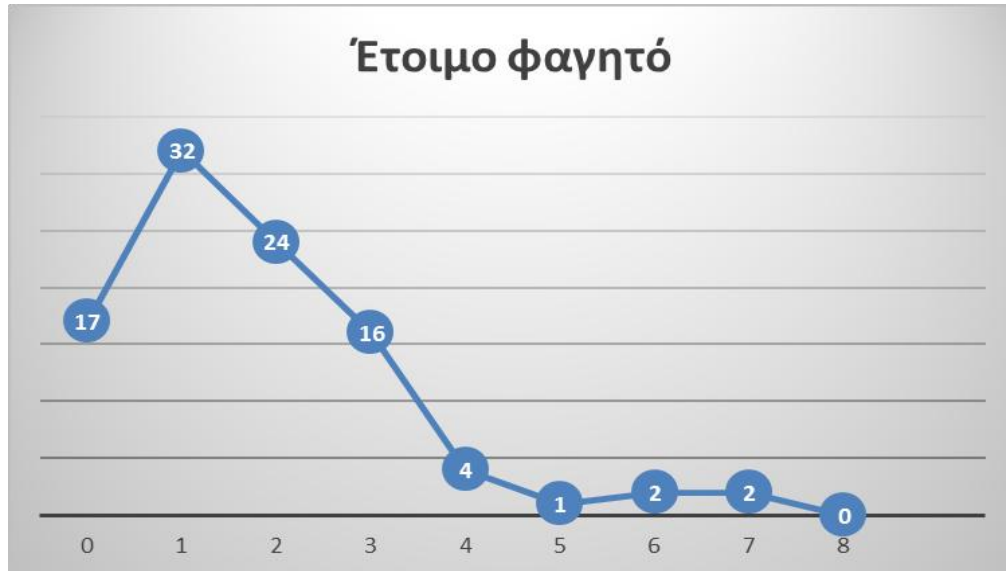
Το 74% των αιμοδοτριών διέμενε με τους γονείς της ή με την οικογένεια της γενικότερα. Το υπόλοιπο 26% δεν έμενε με κάποιο μέλος της οικογενείας τους, αλλά διέμενε μόνο του.

9.2 Ερώτηση 2η : Πόσο συχνά εντάσσετε το κρέας στη διατροφή σας σε εβδομαδιαία βάση;



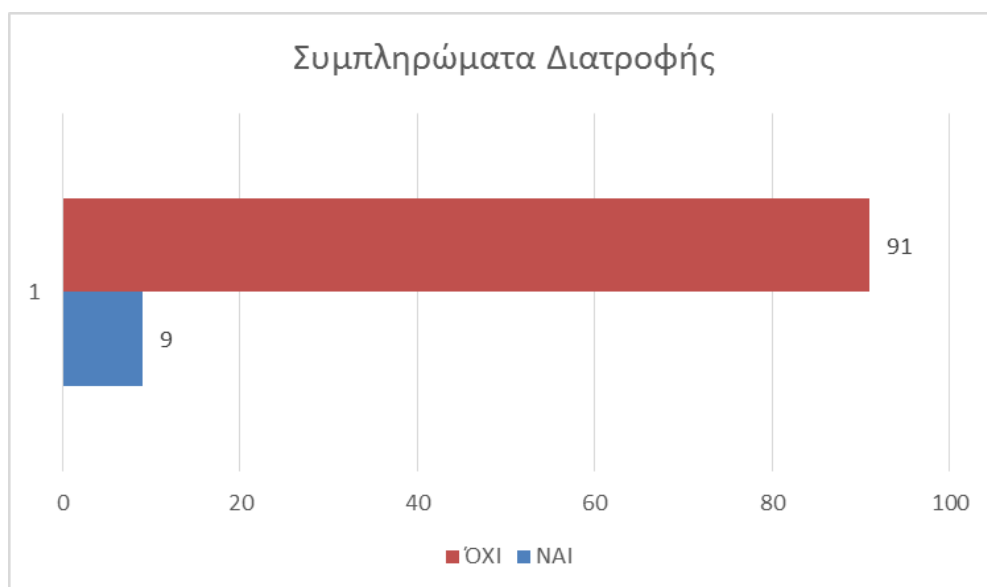
Το 40% των αιμοδοτριών ενέτασαν το κρέας στην διατροφή τους σχετικά συχνά(3φορές), το 21% αρκετά συχνά και το 13% πολύ συχνά, ενώ 4% πάρα πολύ συχνά και 1% σε καθημερινή βάση. Αντιθέτως, το 17% ενέτασε το κρέας στην διατροφή του σπάνια (2 φορές) και 4% πολύ σπάνια, δηλαδή 1 φορά σε εβδομαδιαία βάση.

9.3 Ερώτηση 3η: Πόσο συχνά τρέφεστε με έτοιμο φαγητό σε εβδομαδιαία βάση;



Το 32% τρέφεται τουλάχιστον 1 φορά την εβδομάδα με έτοιμο φαγητό, το 24% λίγο συχνότερα (2 φορές) και 16% αρκετά συχνά (3 φορές). Επιπλέον, το 9% τρέφεται πολύ συχνά έως και καθημερινά με έτοιμο φαγητό. Αντιθέτως, το 17% δεν τρέφεται ποτέ με έτοιμο φαγητό.

9.4 Ερώτηση 4η: Χρησιμοποιείτε συμπληρώματα διατροφής;



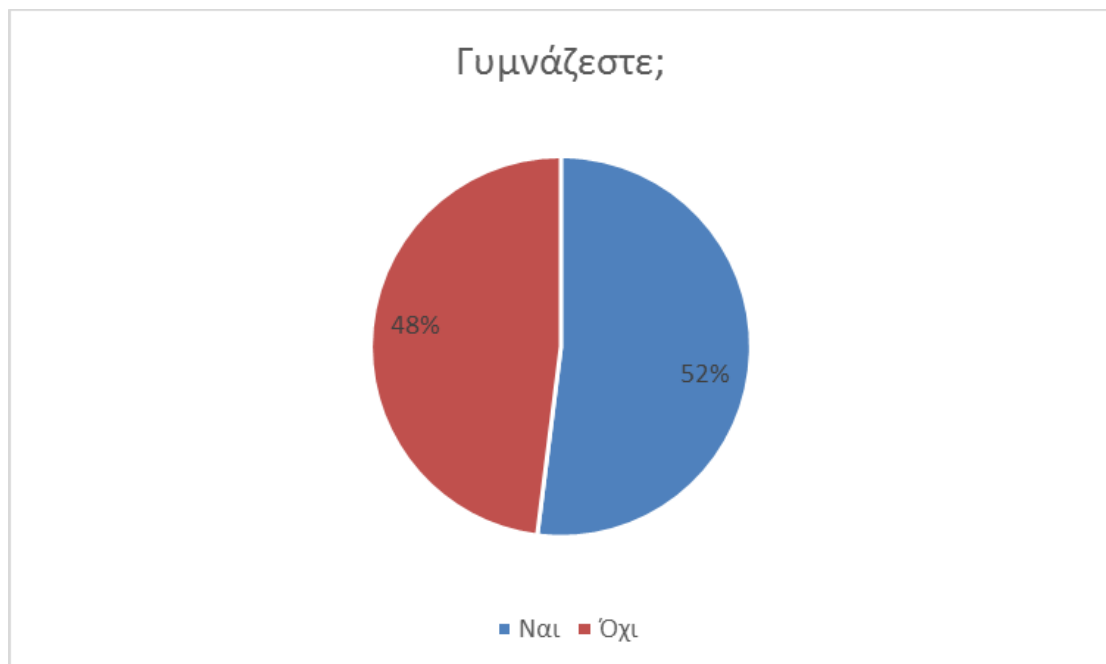
Το 91% των συμμετεχουσών δεν χρησιμοποιεί συμπληρώματα διατροφής και μόλις το 9% δήλωσε ότι χρησιμοποιεί κάποιου είδους συμπλήρωμα.

9.5 Ερώτηση 5η: Είστε αθλήτρια;



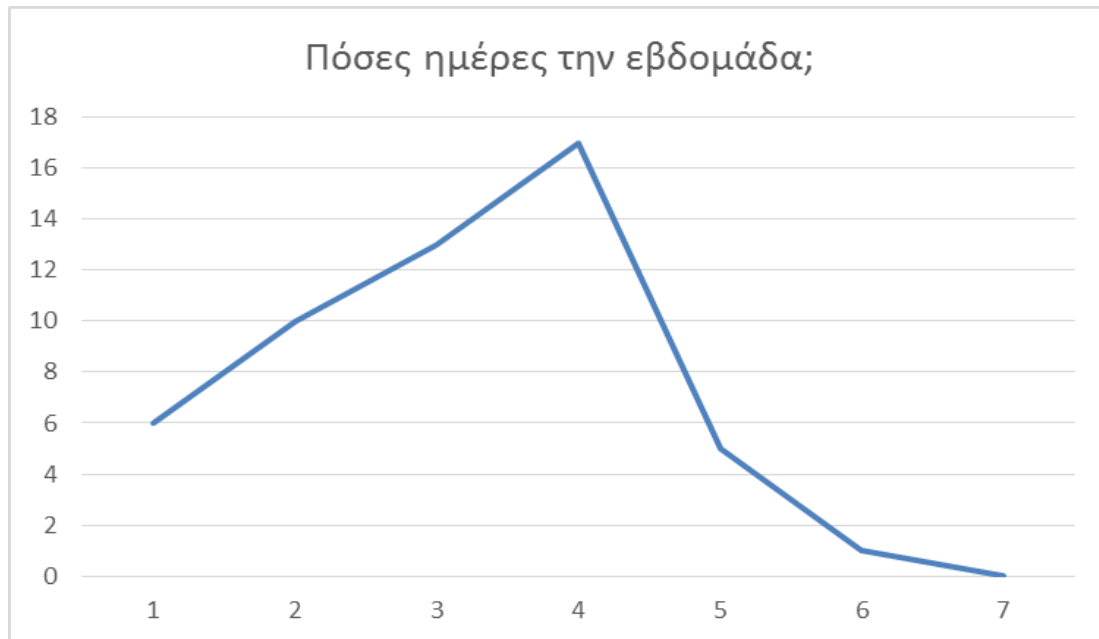
Μόλις 7% των αιμοδοτριών δήλωσε ότι είναι αθλήτρια και το συντριπτικό 93% δήλωσε ότι δεν είναι.

9.6.1 Ερώτηση 6η :Γυμνάζεστε;



Αντίθετα με το γεγονός ότι το μεγαλύτερο μέρος των αιμοδοτριών δεν δήλωνε αθλήτρια, το 52% γυμναζόταν, με κάποιο είδους άσκησης και το 48% δήλωσε ότι δεν ασκείται καθόλου.

9.6.2 Ερώτηση 7η: Αν ΝΑΙ, πόσο συχνά κάνετε γυμναστική σε εβδομαδιαία βάση;



Από τις 52 αιμοδότριες, που απάντησαν θετική στην προηγούμενη ερώτηση, αν γυμνάζονται, οι 17 γυμνάζονται 4 φορές την εβδομάδα (32,7%), 13 από αυτές γυμνάζονται 3 φορές την εβδομάδα (25%), 10 γυμνάζονται 2 φορές την εβδομάδα (19,2%) και 6 γυμνάζονται 1 φορά την εβδομάδα (11,5%). Αντιθέτως, 5 συμμετέχουσες (9,6%) γυμνάζονται 5 φορές την εβδομάδα και 1 αιμοδότρια (1,9%) γυμνάζεται σχεδόν καθημερινά, δηλαδή 6 φορές την εβδομάδα.

9.7 Ερώτηση 8η: Είστε καπνίστρια;



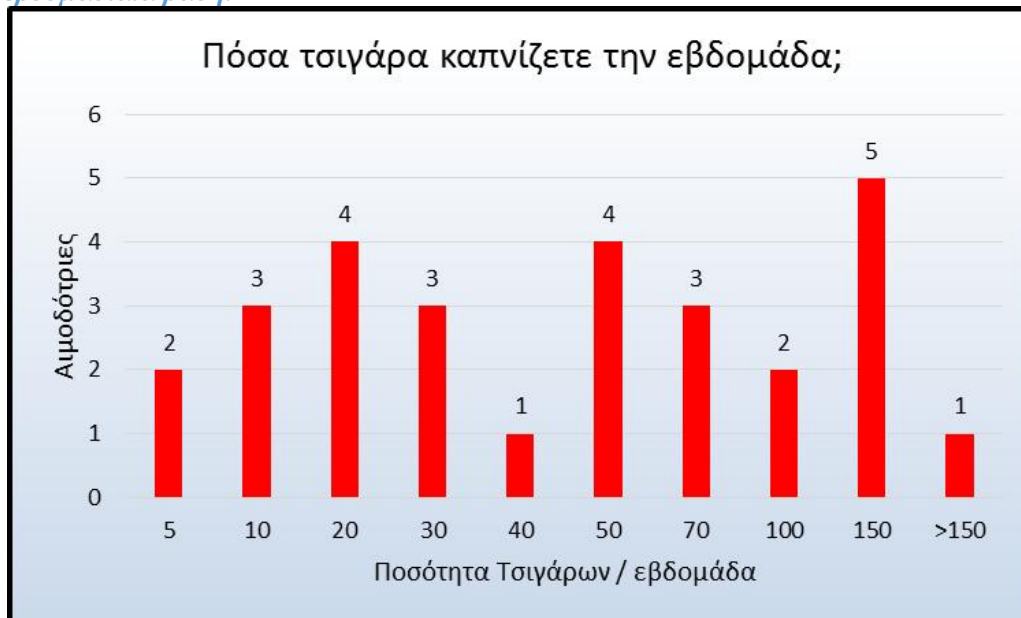
Στα θετικά της παρούσας έρευνας, είναι ότι το 72% των αιμοδοτριών, δεν ανήκει στην κατηγορία των καπνιστών και μόλις το 28% δηλώνει καπνίστρια.

9.8 Ερώτηση 9η: Αν ΝΑΙ, πόσα χρόνια είστε καπνίστρια;



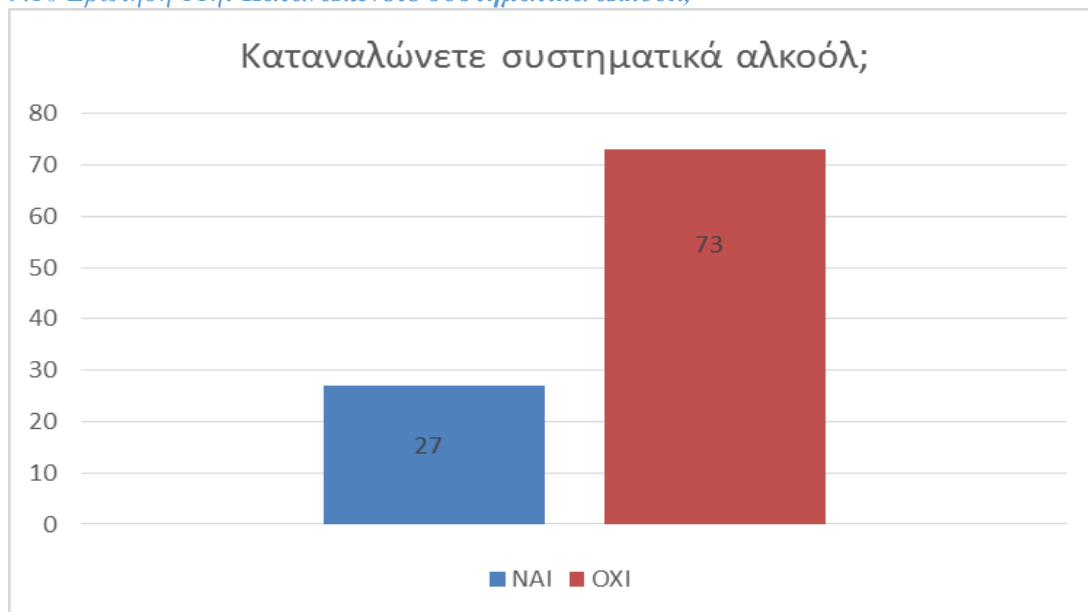
Από το σύνολο των αιμοδοτριών που απάντησαν θετικά στην ερώτηση περί καπνίσματος, 5 από αυτές καπνίζουν 4 χρόνια, 4 καπνίζουν 3 χρόνια και ομοίως 4 συμμετέχουσες καπνίζουν 2 χρόνια. Επιπλέον, 3 από αυτές καπνίζουν 5,6,9 και 10 χρόνια αντίστοιχα και από 1 αιμοδότρια καπνίζει 7 και 8 χρόνια και 1 καπνίζει 1 χρόνο.

9.9 Ερώτηση 10η: Προσδιορίστε τον αριθμό των τσιγάρων που καταναλώνετε σε εβδομαδιαία βάση.



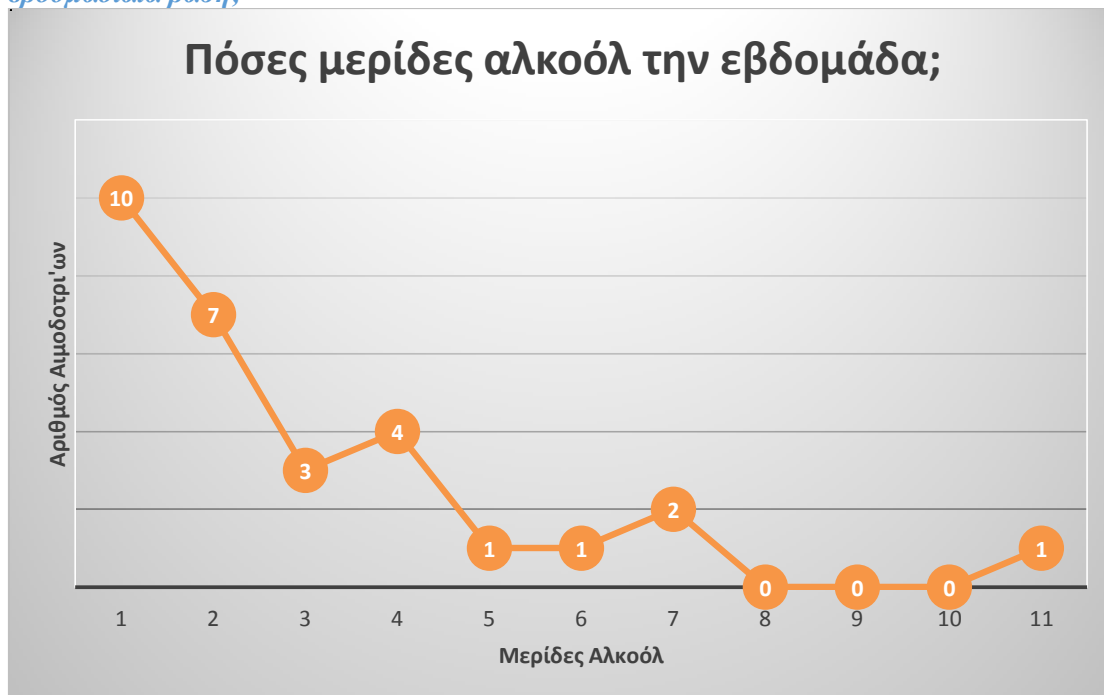
Επιπλέον, όσες από τις συμμετέχουσες απάντησαν θετικά, στην ερώτηση περί καπνίσματος, κλήθηκαν να προσδιορίσουν κατά προσέγγιση τον αριθμό των τσιγάρων που καπνίζουν σε εβδομαδιαία βάση. Από το σύνολο των 28 καπνιστριών, 15 καπνίζουν πάνω από 50 τσιγάρα την εβδομάδα και οι υπόλοιπες 13 καπνίζουν από 5 έως 40 τσιγάρα την εβδομάδα.

9.10 Ερώτηση 11η: Καταναλώνετε συστηματικά αλκοόλ;



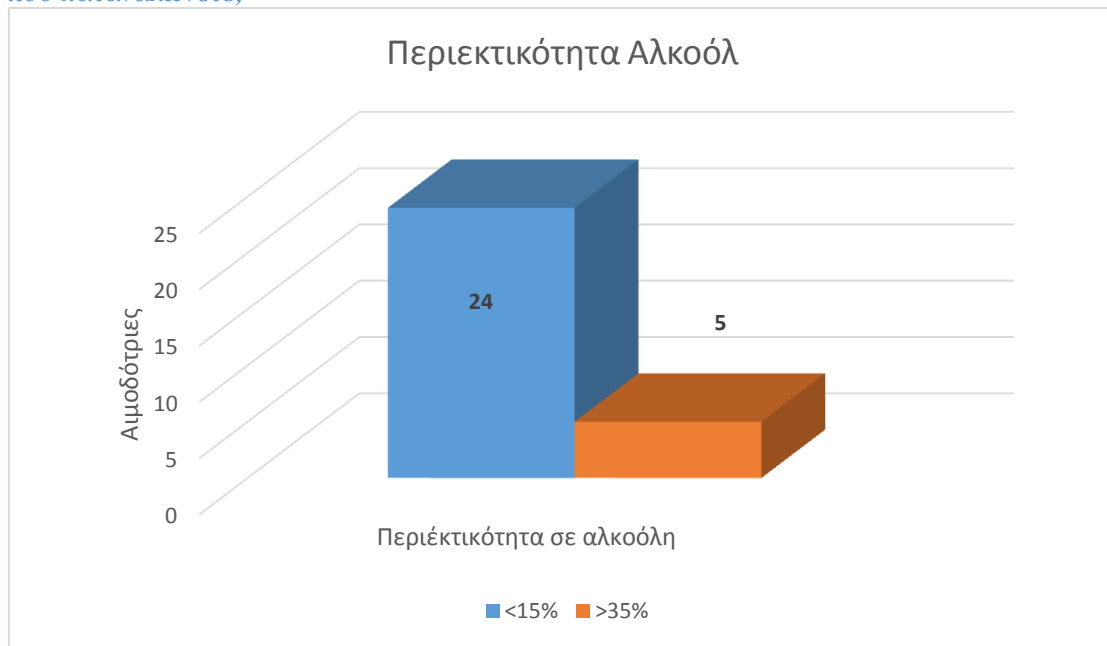
Ανάλογα αποτελέσματα με το κάπνισμα, βρέθηκαν και στην ερώτηση περί κατανάλωσης αλκοόλ. Συγκεκριμένα το 73% δεν καταναλώνει συστηματικά αλκοόλ, ενώ το 27 % απάντησε θετικά στην συγκεκριμένη ερώτηση.

9.11 Ερώτηση 12η: Αν ΝΑΙ, πόσες μερίδες αλκοόλ (ποτά) καταναλώνετε κατά μέσο όρο σε εβδομαδιαία βάση;



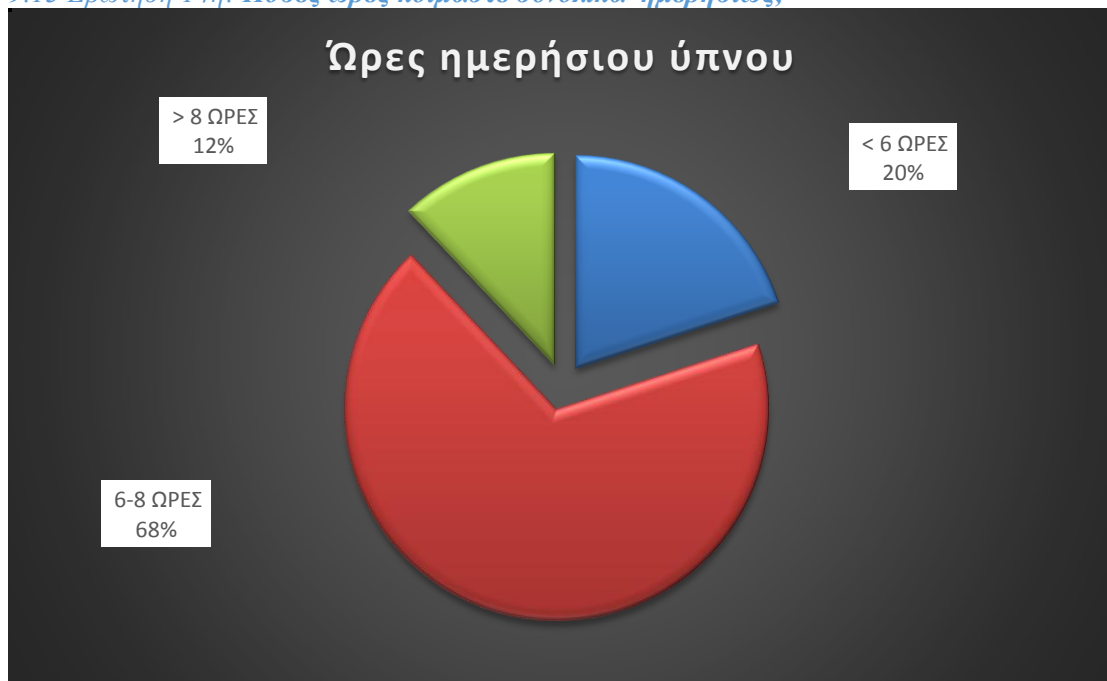
Οι αιμοδότριες, που απάντησαν θετικά στην ερώτηση καταναλώνουν συστηματικά αλκοόλ, κλήθηκαν να ορίσουν την εβδομαδιαία ποσότητα αλκοόλ που καταναλώνουν. Οι περισσότερες (20) απάντησαν ότι καταναλώνουν αλκοόλ 1-3 φορές την εβδομάδα. Οι υπόλοιποι δήλωσαν ότι καταναλώνουν περισσότερες μερίδες αλκοόλ την εβδομάδα. Αξιοσημείωτο, το γεγονός ότι 1 συμμετέχουσα κατανάλωνε πάνω από 10 μερίδες αλκοόλ την εβδομάδα.

9.12 Ερώτηση 13η: *Αν ΝΑΙ, τι περιεκτικότητα σε αλκοόλη έχουν κατά μέσο όρο τα ποτά που καταναλώνετε;*



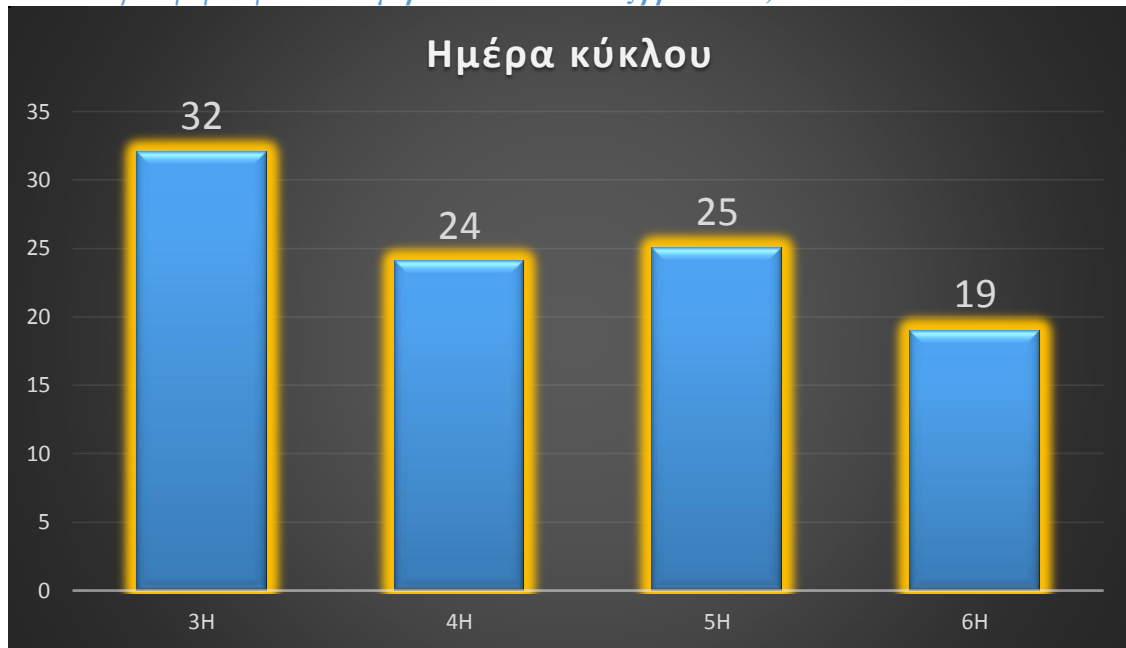
Οι περισσότερες αιμοδότριες, οι οποίες κατανάλωναν μερίδες αλκοόλ, συνήθιζαν να καταναλώνουν ποτέ με χαμηλή περιεκτικότητα σε αλκοόλη. Μόνο 5 αιμοδότριες, κατανάλωναν ποτέ με μεγάλη, περιεκτικότητα σε αλκοόλη.

9.13 Ερώτηση 14η: *Πόσες ώρες κοιμάστε συνολικά ημερησίως;*



Οι αιμοδότριες απάντησαν στην ερώτηση των ωρών που κοιμούνται ημερησίως. Το 68%, απάντησε ότι κοιμόταν 6 ως 8 ώρες την ημέρα. Το 12% ότι κοιμόταν πάνω από 8 ώρες ημερησίως. Αντιθέτως, 20% των συμμετέχουσων, απάντησαν ότι κοιμόταν λιγότερο από 6 ώρες.

9.14 Ερώτηση 15η: Σε ποια μέρα του κύκλου σας βρίσκεστε;



Τέλος, οι αιμοδότριες, όπως είπαμε εξαρχής, βρίσκονταν μεταξύ 3^{ης} έως και 6^{ης} ημέρας του κύκλου τους. Συγκεκριμένα, 32 βρίσκονταν στην 3^η ημέρα του κύκλου τους, 24 στην 4^η ημέρα, 25 στην 5^η και 19 στην 6^η ημέρα του εμμηνορυσιακού τους κύκλου. Η διακύμανση των αιμοδοτριών ως προς την ημέρα του κύκλου, κρίθηκε πολύ ικανοποιητική.

10. Στατιστική επεξεργασία.

Η στατιστική επεξεργασία όλων των αποτελεσμάτων έγινε με το στατιστικό πακέτο SPSS version 19. Αρχικά, συσχετίσαμε όλες τις τιμές μεταξύ τους και καταλήξαμε ότι στατιστικά σημαντικές βρέθηκαν οι παρακάτω τιμές, κατά Pearson:

	Συσχετιζόμενη Μέτρηση	r	p
Διαστολική πίεση	Ηλικία	0,237	0,017
	Συστολική	0,563	0,0001
	Σφυγμοί	0,306	0,002
	Λευκά Αιμοσφαίρια (WBC)	0,227	0,023
	Λεμφοκύτταρα (LY)	0,277	0,005
	Αιμοπετάλια (PLT)	0,247	0,013
	Αιματοκρίτης (HCT)	0,225	0,025
	Χρόνια καπνίσματος	0,229	0,022

Η διαστολική πίεση βρέθηκε ανάλογη με όλες τις παραπάνω μετρήσεις αλλά στατιστικά σημαντική βρέθηκε η συσχέτισή της με την συστολική πίεση.

	Συσχετιζόμενη Μέτρηση	r	p
Συστολική πίεση	Ηλικία	0,329	0,001
	Αντιοξειδωτική Ικανότητα του πλάσματος (TAC-UA)	-0,243	0,015
	Διαστολική Πίεση	0,563	0,0001
	Σφυγμοί	0,315	0,001
	Λεμφοκύτταρα (LY)	0,246	0,014
	Αιμοπετάλια (PLT)	0,333	0,001
	Αιμοπεταλιοκρίτης (PCT)	0,233	0,020

Η συστολική πίεση βρέθηκε ανάλογη με την ηλικία, τους σφυγμούς, τον αριθμό των λεμφοκυττάρων, των αιμοπεταλίων και τον Αιμοπεταλιοκρίτη και αντιστρόφως ανάλογη με την Αντιοξειδωτική Ικανότητα του πλάσματος. Από αυτές τις συσχετίσεις, στατιστικά σημαντικές βρέθηκαν οι συσχετίσεις της Συστολικής πίεσης, με την ηλικία, με τους σφυγμούς και με τον αριθμό των Αιμοπεταλίων.

Ηλικία	Συσχετιζόμενη Μέτρηση	r	p
	Συστολική Πίεση	0,329	0,001
	Διαστολική Πίεση	0,237	0,017
	Τριγλυκερίδια (TG)	0,241	0,016
	Πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (VLDL)	0,241	0,016
	Κάπνισμα	-0,219	0,028
	Χρόνια καπνίσματος	0,400	0,001

Η ηλικία των αιμοδοτριών βρέθηκε ανάλογη με τη συστολική πίεση, τη διαστολική πίεση, τα Τριγλυκερίδια (TG) την Πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (VLDL) και τα χρόνια καπνίσματος και αντιστρόφως ανάλογη με τον αριθμό των καπνιστριών αιμοδοτριών. Βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση της ηλικίας με τα χρόνια καπνίσματος.

Δείκτης Μάζας Σώματος (BMI)	Συσχετιζόμενη Μέτρηση	r	p
	Λιποπρωτεΐνη Χαμηλής Πυκνότητας (LDL)	0,373	0,0001
	HDL/LDL	-0,356	0,0001
	Λευκά Αιμοσφαίρια (WBC)	0,200	0,045
	Κοκκιοκύτταρα (GRAN)	0,216	0,031
	Αιμοπετάλια (PLT)	0,27	0,007
	Αιμοπεταλιοκρίτης (PCT)	0,391	0,0001
	Μέσος Όγκος Αιμοπεταλίων (MPV)	0,471	0,001
	Μέση Περιεκτικότητα Αιμοσφαιρίνη ανά ερυθρό Αιμοσφαίριο (MCH)	-0,199	0,047
	Μέση Πυκνότητα Αιμοσφαιρίνης (MCHC)	-0,267	0,007
	Αιμοσφαιρίνη (Hb)	-0,233	0,02
	Τριγλυκερίδια (TG)	0,200	0,046
	Χοληστερόλη (Chol)	0,381	0,0001
	Πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (VLDL)	0,200	0,046
	Αλκοόλ	-0,219	0,028

Ο Δείκτης Μάζας Σώματος (BMI) βρέθηκε ανάλογος με την Λιποπρωτεΐνη Χαμηλής Πυκνότητας (LDL), τον αριθμό των Λευκών Αιμοσφαιρίων, τον αριθμό των Κοκκιοκυττάρων, τον αριθμό των Αιμοπεταλίων, τον Αιμοπεταλιοκρίτη, τον Μέσο όγκο Αιμοπεταλίων, τα Τριγλυκερίδια, την Χοληστερόλη και τις Πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (VLDL). Αντιθέτως βρέθηκε αντιστρόφως ανάλογος με τον λόγο Λιποπρωτεΐνης Υψηλής Πυκνότητας (HDL) προς Λιποπρωτεΐνη Χαμηλής Πυκνότητας (LDL), την Μέση Περιεκτικότητα Αιμοσφαιρίνη ανά ερυθρό Αιμοσφαίριο (MCH), την Μέση Πυκνότητα Αιμοσφαιρίνης (MCHC), την Αιμοσφαιρίνη (Hb) και την κατανάλωση αλκοόλ.

Στατιστικά σημαντική βρέθηκε η συσχέτιση του Δείκτη Μάζας Σώματος με την Λιποπρωτεΐνη Χαμηλής Πυκνότητας (LDL), τον λόγο της Λιποπρωτεΐνης Υψηλής Πυκνότητας (HDL) προς τη Λιποπρωτεΐνη Χαμηλής Πυκνότητας (LDL), τον Αιμοπεταλιοκρίτη (PCT), τον Μέσο Όγκο Αιμοπεταλίων (MPV), την μέση πυκνότητα Αιμοσφαιρίνης και την Χοληστερόλη (CHOL).

	Συσχετιζόμενη Μέτρηση	r	p
Αιμοσφαιρίνη	Ώρες Ύπνου	0,204	0,041
	Οιστραδιόλη (E2)	0,242	0,015
	Αιματοκρίτης (HCT)	0,870	0,0001
	Αριθμός Ερυθρών Αιμοσφαιρίων (RBC)	0,461	0,001
	Κάπνισμα	-0,225	0,024
	Χρόνια καπνίσματος	0,253	0,011
	Δείκτης Μάζας Σώματος	-0,233	0,020

Η Αιμοσφαιρίνη βρέθηκε ανάλογη με τις ώρες ύπνου, την τιμή της Οιστραδιόλης (E2), τον Αιματοκρίτη, τον Αριθμό Ερυθρών Αιμοσφαιρίων και τα χρόνια Καπνίσματος ενώ αντιστρόφως ανάλογη βρέθηκε με το κάπνισμα και το Δείκτη Μάζας Σώματος. Στατιστικά σημαντική βρέθηκε η συσχέτιση με τον Αιματοκρίτη και τον Αριθμό Ερυθρών Αιμοσφαιρίων, το οποίο ήταν και και αναμενόμενο.

	Συσχετιζόμενη Μέτρηση	r	p
Κατανάλωση κρέατος	Μέση Περιεκτικότητα Αιμοσφαιρίνη ανά ερυθρό Αιμοσφαίριο (MCH)	-0,241	0,015
	Μέση Πυκνότητα Αιμοσφαιρίνης (MCHC)	-0,294	0,003
	Έτοιμο φαγητό	0,242	0,015

Η κατανάλωση κρέατος βρέθηκε αντιστρόφως ανάλογη με την Μέση Περιεκτικότητα Αιμοσφαιρίνης ανα Ερυθρό Αιμοσφαίριο (MCH) καθώς και με την μέση πυκνότητα Αιμοσφαιρίνης (MCHC). Αντιθέτως βρέθηκε ανάλογη με την κατανάλωση έτοιμου φαγητού.

	Συσχετιζόμενη Μέτρηση	r	p
Κάπνισμα	Αριθμός Λευκών Αιμοσφαιρίων (WBC)	-0,226	0,024
	Αιμοσφαιρίνη (Hb)	-0,225	0,024
	Λιποπρωτεΐνη Υψηλής Πυκνότητας (HDL)	0,236	0,018
	Έτοιμο φαγητό	-0,224	0,025

Το κάπνισμα βρέθηκε ανάλογο με την Λιποπρωτεΐνη Υψηλής Πυκνότητας (HDL) και αντιστρόφως ανάλογο με τον Αριθμό Λευκών Αιμοσφαιρίων , την Αιμοσφαιρίνη και την κατανάλωση έτοιμου φαγητού.

	Συσχετιζόμενη Μέτρηση	r	p
Χρόνια Καπνίσματος	Hb	0,253	0,011
	HCT	0,223	0,026
	HDL	-0,203	0,043

Τα χρόνια Καπνίσματος βρέθηκαν ανάλογα με την Αιμοσφαιρίνη και τον Αιματοκρίτη και αντιστρόφως ανάλογα με την Λιποπρωτεΐνη Υψηλής Πυκνότητας (HDL).

	Συσχετιζόμενη Μέτρηση	r	p
Μόνη ή με τους γονείς?	Χοληστερόλη (CHOL)	0,294	0,003
	Λιποπρωτεΐνη Χαμηλής Πυκνότητας (LDL)	0,293	0,003
	HDL/LDL	-0,241	0,016
	Αλκοόλ	0,204	0,041

Η κατάσταση διαβίωσης βρέθηκε ανάλογη με την Χοληστερόλη και την Λιποπρωτεΐνη Χαμηλής Πυκνότητας καθώς και με την κατανάλωση αλκοόλ. Αντιθέτως βρέθηκε αντιστρόφως ανάλογη με τον λόγο της Λιποπρωτεΐνη Υψηλής Πυκνότητας (HDL) προς την Λιποπρωτεΐνη Χαμηλής Πυκνότητας (LDL). Με την Χοληστερόλη και την Λιποπρωτεΐνη Χαμηλής Πυκνότητας βρέθηκε και στατιστικά σημαντική συσχέτιση.

	Συσχετιζόμενη Μέτρηση	r	p
Οιστραδιόλη (E2)	Hb	0,242	0,015
	HCT	0,234	0,019
	RBC	0,200	0,046

Η τιμή της Οιστραδιόλης βρέθηκε ανάλογη με αυτή της Αιμοσφαιρίνης (Hb), του Αιματοκρίτη (Hct) και με τον αριθμό των ερυθρών αιμοσφαιρίων (RBC).

	Συσχετιζόμενη Μέτρηση	r	p
MCF	Αιμοπετάλια (PLT)	-0,260	0,009
	Αιμοπεταλιοκρίτης (PCT)	-0,386	0,0001
	Μέσος Όγκος Αιμοπεταλίων (MPV)	-0,351	0,0001
	Μέσος όγκος Ερυθρών (MCV)	0,241	0,016
	Μέση Περιεκτικότητα Αιμοσφαιρίνη ανά ερυθρό Αιμοσφαίριο (MCH)	0,310	0,002
	Μέση Πυκνότητα Αιμοσφαιρίνης (MCHC)	0,231	0,021
	Εύρος Κατανομής όγκου Ερυθρών (RDW)	-0,216	0,031
	Αριθμός Ερυθρών Αιμοσφαιρίων (RBC)	-0,214	0,033

	Ώρες Ύπνου	0,219	0,028
	Δείκτης Μάζας Σώματος (BMI)	-0,230	0,021

Το MCF βρέθηκε ανάλογο με τον Μέσο όγκο Ερυθρών (MCV), την Μέση Περιεκτικότητα Αιμοσφαιρίνη ανά ερυθρό Αιμοσφαίριο (MCH), με την οποία βρέθηκε και στατιστικά σημαντική συσχέτιση, την Μέση Πυκνότητα Αιμοσφαιρίνης (MCHC) και τις ώρες ύπνου. Αντιθέτως βρέθηκε αντιστρόφως ανάλογο με τον Αριθμό των Αιμοπεταλίων, τον Αιμοπεταλιοκρίτη, τον Μέσο Όγκο Αιμοπεταλίων, το Εύρος Κατανομής όγκου των Ερυθρών Αιμοσφαιρίων, τον Αριθμό των Αιμοσφαιρίων και τον Δείκτη Μάζας Σώματος. Με τον Αιμοπεταλιοκρίτη, και τον Μέσο Όγκο Ερυθρών Βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση.

	Συσχετιζόμενη Μέτρηση	r	p
Ολική Αντιοξειδωτική Ικανότητα Πλάσματος	TAC-UA	0,329	0,001
	TAC UA	0,865	0,0001
	Ουρικό Οξύ (UA)	0,584	0,0001
	Μέση Περιεκτικότητα Αιμοσφαιρίνη ανά ερυθρό Αιμοσφαίριο (MCH)	-0,208	0,038
	Εύρος Κατανομής όγκου Ερυθρών (RDW)	0,213	0,033
	Αριθμός Ερυθρών Αιμοσφαιρίων (RBC)	0,247	0,013
	Τριγλυκερίδια (TG)	0,315	0,001
	Πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (VLDL)	0,315	0,001
	Μέρα Κύκλου	0,225	0,025
	Δείκτης Μάζας Σώματος (BMI)	0,205	0,04

Η Ολική Αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος βρέθηκε ανάλογη με την βιοχημική μέτρηση του Ουρικού Οξέως, το Εύρος Κατανομής Όγκου Ερυθρών, τον Αριθμό των Ερυθρών Αιμοσφαιρίων, τα Τριγλυκερίδια, τις Πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (VLDL), την ημέρα του κύκλου και το Δείκτη Μάζας Σώματος (BMI). Βρέθηκε αντιστρόφως ανάλογη με την Μέση Περιεκτικότητα Αιμοσφαιρίνη ανά ερυθρό Αιμοσφαίριο (MCH). Στατιστικά σημαντική συσχέτιση βρέθηκε με τα Τριγλυκερίδια και τις πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (VLDL).

	Συσχετιζόμενη Μέτρηση	r	p
Αντιοξειδωτική Ικανότητα χωρίς την συμμετοχή του Ουρικού Οξέως	Ολική Αντιοξειδωτική Ικανότητα (TAC)	0,329	0,001
	Συστολική πίεση	-0,243	0,015
	Σφυγμοί	-0,218	0,030
	Σίδηρος (Fe)	0,246	0,014

Η Αντιοξειδωτική Ικανότητα χωρίς την συμμετοχή του Ουρικού Οξέως βρέθηκε ανάλογη με την Ολική Αντιοξειδωτική Ικανότητα (TAC) και την βιοχημική μέτρηση του Σιδήρου (Fe). Αντιθέτως βρέθηκε αντιστρόφως ανάλογη με την συστολική πίεση και τον αριθμό των σφυγμών.

	Συσχετιζόμενη Μέτρηση	r	p
Ουρικό Οξύ (UA)	Ολική Αντιοξειδωτική Ικανότητα (TAC)	0,584	0,0001
	TAC UA	0,586	0,0001
	Κοκκιοκύτταρα (GRAN)	0,277	0,005
	Αιμοπετάλια (PLT)	0,239	0,017
	Αιμοπεταλιοκρίτης (PCT)	0,263	0,008
	Μέσος όγκος Ερυθρών (MCV)	-0,221	0,027
	Μέση Περιεκτικότητα Αιμοσφαιρίνη ανά ερυθρό Αιμοσφαίριο (MCH)	-0,268	0,007
	Αριθμός Ερυθρών Αιμοσφαιρίων (RBC)	0,233	0,02
	Τριγλυκερίδια (TG)	0,373	0,0001
	Χοληστερόλη (CHOL)	0,209	0,036
	Πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (VLDL)	0,373	0,001
	Λιποπρωτεΐνη Χαμηλής Πυκνότητας (LDL)	0,251	0,012
	HDL/LDL	-0,210	0,036
	Μέρα Κύκλου	0,252	0,012
	Δείκτης Μάζας Σώματος (BMI)	0,376	0,00001

Το Ουρικό Οξύ βρέθηκε ανάλογο με την Ολική Αντιοξειδωτική Ικανότητα, την οξειδωτική Ικανότητα χωρίς την συμμετοχή του ουρικού Οξέως, τον αριθμό των Κοκκιοκυττάρων, τον Αριθμό των Αιμοπεταλίων, τον Αιμοπεταλιοκρίτη, τον Αριθμό των Ερυθρών Αιμοσφαιρίων, τα Τριγλυκερίδια (TG), την Χοληστερόλη (CHOL), τις πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (VLDL), την λιποπρωτεΐνη Χαμηλής Πυκνότητας (LDL), την ημέρα του κύκλου και το Δείκτη Μάζας Σώματος. Αντιθέτως βρέθηκε αντιστρόφως ανάλογο με τον Μέσο όγκο Ερυθρών, την Μέση Περιεκτικότητα Αιμοσφαιρίνης ανά Ερυθρό Αιμοσφαίριο και τον λόγο της Λιποπρωτεΐνης Υψηλής Πυκνότητας (HDL) προς τη Λιποπρωτεΐνη Χαμηλής Πυκνότητας (LDL). Στατιστικά σημαντική συσχέτιση βρέθηκε με την Ολική Αντιοξειδωτική Ικανότητα του Πλάσματος (TAC), την οξειδωτική Ικανότητα χωρίς την συμμετοχή του ουρικού Οξέως, τον Αριθμό των Κοκκιοκυττάρων, τον Αιμοπεταλιοκρίτη, την Μέση Περιεκτικότητα Αιμοσφαιρίνη ανά ερυθρό Αιμοσφαίριο (MCH), τα Τριγλυκερίδια (TG), τις Πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (VLDL) και τον Δείκτη Μάζας Σώματος (BMI).

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η βιοσύνθεση των οιστρογόνων ξεκινάει στις ωοθήκες με ενζυματική τροποποίηση της χοληστερόλης (Brook and Marshall, 2001). Επειδή τα οιστρογόνα είναι υδρόφοβα μόρια αλληλεπιδρούν με την πρωτεΐνη sex hormone binding globulin και με αλβουμίνη για να μεταφερθούν με την κυκλοφορία του αίματος στα κύτταρα στόχους (Anderson, 1974). Λόγω της υδρόφοβης φύσης τους μικρά ποσά των ενδογενών οιστρογόνων αλληλεπιδρούν με λιποπρωτεΐνες της μεμβράνης του κυττάρου.

Είναι γνωστό, από το 1948, ότι τα ερυθρά αιμοσφαίρια μπορούν να μετατρέπουν την οιστρόνη σε άλλα συστατικά με διαφορετική βιολογική σημασία (Werthessen et al., 1948). Ο Migeon και οι συνεργάτες του το 1962 έδειξαν ότι τα ανθρώπινα ερυθρά αιμοσφαίρια στο κυτταρόσολιο τους έχουν το ένζυμο αφυδρογονάση 17 β της οιστραδιόλης. Το ένζυμο είναι εξαρτώμενο από το νουκλεοτίδιο τριφωσφοροπυριδίνη (triphosphopyridine nucleotide, TPN). Το ερυθροκυτταρικό ένζυμο αφυδρογονάση 17 β της οιστραδιόλης μπορεί να αλληλεπιδρά με το ένζυμο 6-φωσφορική αφυδρογονάση της γλυκόζης (G6PD) και να μετατρέπει την οιστρόνη σε οιστραδιόλη 17 β. Τα ερυθρά αιμοσφαίρια με έλλειψη του ένζυμου γλυκόζη 6 φωσφορική αφυδρογονάση έχει δείχτει ότι δε μπορούν να μετατρέψουν την οιστρόνη σε οιστραδιόλη 17 β (Migeon et al., 1962). Μελέτη αργότερα έδειξε ότι τα ερυθρά αιμοσφαίρια μπορούν να χαρακτηριστούν ως «μεταβολικός ιστών των στεροειδών» (Jacobsohn et al., 1975). Ο βιολογικός ρόλος του ενζύμου αφυδρογονάση 17 β της οιστραδιόλης καθώς και η παραγωγή του στα ερυθρά αιμοσφαίρια δεν είναι ακόμα γνωστός. Πιθανά το ένζυμο να εισέρχεται στα ερυθρά αιμοσφαίρια τα οποία να αποτελούν το μέσο μεταφοράς του (Jacobson and Hochberg, 1968).

Έχει διατυπωθεί η υπόθεση ότι η μετά από στεροποίηση η οιστραδιόλη μπορεί να πακεταριστεί και να μεταφερθεί μέσω μικρών κυστιδίων σε κύτταρα στόχους (Badeau et al., 2007; Badeau et al., 2009).

Δ1. Θετική συσχέτιση της οιστραδιόλης με αιμοσφαιρίνη

Η παρούσα μελέτη δείχνει για πρώτη φορά θετική συσχέτιση της τιμής της οιστραδιόλης *in vivo* με την τιμή της αιμοσφαιρίνης ($p < 0,015$). Πρόσφατη μελέτη της Lewerin και των συνεργατών της το 2014 έδειξε θετική συσχέτιση της τιμής της οιστραδιόλης σε δείγματα γερασμένων αντρών με τα επίπεδα της αιμοσφαιρίνης και πιθανά ενεργοποιεί ανεξάρτητα από την ερυθροποιητίνη την παραγωγή αιμοσφαιρίνης. Δεδομένα υποστηρίζουν ότι υπάρχει αλληλεπίδραση μεταξύ της οιστραδιόλης και της ομοιόστασης σιδήρου. Τα οιστρογόνα έχουν αρνητική επίδραση στην παραγωγή επιδίνης στο ήπαρ με αποτέλεσμα να υπάρχει περισσότερος διαθέσιμος σίδηρος για ερυθροποίηση (Ikeda et al., 2012). Εάν και η σχέση οιστραδιόλης και επιδίνης παραμένει ακόμη άγνωστη η τεστοστερόνη έχει βρεθεί να συμμετέχει στο μεταβολισμό σιδήρου μέσω επιδίνης. Η τεστοστερόνη μειώνει την επιδίνη του πλάσματος (Bachman et al., 2010). Σε γυναίκες με πολυκυστικές ωοθήκες που έχουν μειωμένα οιστρογόνα αλλά αυξημένη τεστοστερόνη έχει βρεθεί μειωμένη επιδίνη πλάσματος (Luque-Ramirez et al., 2011). Εάν και δε βρέθηκε στην παρούσα μελέτη στατιστικά σημαντική σχέση της οιστραδιόλης με την τιμή του σιδήρου η σχέση οιστραδιόλης με την αιμοσφαιρίνη πιθανά να δείχνει τη συμμετοχή της επιδίνης. Για περισσότερο ασφαλή συμπεράσματα έπρεπε να είχε μετρηθεί η τιμή της φεριττίνης αλλά δεν ήταν αντικείμενο της παρούσας μελέτης. Επίσης, θα μπορούσε να είχε συγκριθεί η τιμή της οιστραδιόλης σε αντρικό αίμα με την τιμή της φεριττίνης ή/και την αιμοσφαιρίνη για να δειχθεί με περισσότερη ασφάλεια η επίδραση της οιστραδιόλης στην αιμοποίηση. Ένας υποθετικός μηχανισμός της επίδρασης της οιστραδιόλης στην απορρόφηση σιδήρου ή στην απελευθέρωση σιδήρου από τα κύτταρα «αποθήκες» έχει περιγραφεί σε ποντίκια (Hou et al., 2012). Η μείωση της επιδίνης στα ηπατοκύτταρα πιθανά να δικαιολογείται από την αλληλεπίδραση της οιστραδιόλης στην γονιδιακή περιοχή έκφρασης της επιδίνης. Η οιστραδιόλη καταστέλλοντας τη μεταγραφή της επιδίνης θα αυξάνει την αποθήκευση σιδήρου στα ηπατοκύτταρα (Yang et al., 2012). Αυτή η διαθεσιμότητα σιδήρου θα μπορούσε να δικαιολογήσει και την θετική συσχέτιση της τιμής της οιστραδιόλης με την αιμοσφαιρίνη. Σε ποιο βαθμό η οιστραδιόλη μπορεί να αυξήσει την αιμοποίηση θέλει περισσότερη μελέτη. Η πρόσφατη μελέτη της Lewerin και των συνεργατών της το 2014 έδειξε ότι η διατήρηση της αιμοσφαιρίνης σε ηλικιωμένους άντρες εξαρτάται από την τιμή της οιστραδιόλης.

Έχει δειχθεί ότι ο λόγος Hb/MCHC σε ασθενείς με σοβαρή κληρονομική σφαιροκυττάρωση μειώνεται σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες που βρέθηκε να είναι 0,4 (Rocha et al., 2011). Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης δείχνουν όχι μόνο ότι συμφωνούν με την τιμή του λόγου Hb/MCHC που ήταν 0,39, με ένα εύρος 0,34-0,46, αλλά να σχετίζεται στατιστικά σημαντικά η τιμή του λόγου με την τιμή της οιστραδιόλης. Το εύρημα αυτό δικαιολογείται από την καλή τιμή της αιμοσφαιρίνης που παρουσιάζονται στα αποτελέσματα αλλά και από την καλή τιμή του MCHC. Φαίνεται ότι οι αιμοδότριες που είχαν τιμή οιστραδιόλης μεγαλύτερη να διατηρούν καλύτερα το χρώμα του ερυθροκυττάρου κάτι που επιβεβαιώθηκε και από την μικροσκόπηση.

Δ2. Θετική συσχέτιση της οιστραδιόλης με αιματοκρίτη και αριθμό ερυθρών αιμοσφαιρίων

Έχειδειχθεί ότι μειωμένα επίπεδα τεστοστερόνης σε άντρες αλλά και γυναίκες ηλικίας μεγαλύτερης από 65 έτη είναι δείκτης σοβαρής αναιμίας (Ferrucci et al., 2006). Δεν υπάρχει για την ώρα κάποιος γνωστός μηχανισμός με τον οποίο η οιστραδιόλη αυξάνει άμεσα τον αιματοκρίτη αλλά υπάρχουν μελέτες που υποστηρίζουν την επαγωγή της ερυθροποιητίνης, ανεξάρτητα από υποξία, με την επίδραση της οιστραδιόλης σε γυναίκες (Mukundan et al., 2002). Παλαιότερες μελέτες σε θηλυκούς αρουραίους, με ενδιάμεση αναιμία, έδειξαν ότι η χορήγηση οιστραδιόλης αύξησε τον αριθμό των δικτυοερυθροκυττάρων κατά 120% (Le Petit-Thevenin et al., 1991). Η παρούσα μελέτη έδειξε θετική συσχέτιση του αιματοκρίτη ($p < 0,019$) και του αριθμού των ερυθρών αιμοσφαιρίων ($p < 0,046$) με την τιμή της οιστραδιόλης. Υπάρχουν μελέτες που υποστηρίζουν ότι τα αντρογόνα μπορούν να επάγουν την ερυθροποίηση (Besä, 1994). Στη βιβλιογραφία δεν βρέθηκε μηχανισμός με τον οποίο η οιστραδιόλη μπορεί να επάγει την ερυθροποίηση. Έχει βρεθεί, όμως, ότι άντρες με υψηλά επίπεδα οιστραδιόλης είναι απίθανο να έχουν χαμηλά επίπεδα αιματοκρίτη και αριθμού ερυθρών αιμοσφαιρίων (Paller et al., 2012). Μελέτες σε ασθενείς που είχαν ως θεραπεία την οιστραδιόλη έδειξαν ότι είχαν και αυξημένο αιματοκρίτη (Dobs et al., 1999). Μελέτη *in vitro* σε αρουραίους έδειξε ότι η οιστραδιόλη μπορεί να αυξήσει τα επίπεδα όλων των κυττάρων του αίματος ύστερα από επίθεση του συμπληρώματος και έχει προστατευτικό ρόλο για το ήπαρ (Mladenovic et al., 2014). Η οιστραδιόλη προστατεύει τα κύτταρα του αίματος από το οξειδωτικό στρες άμεσα μειώνοντας την παραγωγή ελευθέρων ριζών οξυγόνου και την συγκέντρωση υπεροξειδίου του υδρογόνου (Wing et al., 2009; Djordjevic et al., 2010; Strom et al., 2014). Είναι πλέον σίγουρο ότι η εξωγενής επώαση της οιστραδιόλης στα ερυθροκύτταρα αρουραίων μπορεί να διατηρεί τα αντιοξειδωτικά δυναμικά του κυττάρου (καταλάση, υπεροξειδίου της δισμουτάσης, γλουταθειόνη κ.α) ή ακόμα και να καταστέλλει την παραγωγή ελευθέρων ριζών οξυγόνου (Mladenovic et al., 2014). Η αποφυγή της οξείδωσης και η επακόλουθη καταστροφή του κυττάρου γίνεται με καλή συνεργασία των ενδογενών και εξωγενών αντιοξειδωτικών. Ερυθροκύτταρα που επωάζονται με οιστραδιόλη μπορούν να αυξήσουν τη γλουταθειόνη πιθανά γιατί έχειδειχθεί ότι η οιστραδιόλη μπορεί να αυξήσει τους δεσμούς -SH (Dlugosz et al., 2009) δεσμοί με τους οποίους είναι εμπλουτισμένη η γλουταθειόνη. Συμπερασματικά η οιστραδιόλη μπορεί να δρα συνεργατικά με το ενδογενές αντιοξειδωτικό σύστημα του ερυθρού αιμοσφαιρίου και θα μπορούσε να είναι εάν εξωγενές αντιοξειδωτικό.

Πρόσφατη μελέτη (Scheidt et al., 2010) έδειξε την αλληλεπίδραση της οιστραδιόλης με τη λιπιδιακή διπλοστιβάδα των ερυθρών αιμοσφαιρίων επιβεβαιώνοντας ότι αυτά τα κύτταρα μπορεί να είναι οι μεταφορείς στεροειδών ορμονών. Η ύπαρξη πιθανά επιφάνειας από τα ερυθρά αιμοσφαίρια για μικρούς μεταβολίτες, η λιπόφιλη φύση αυτών των ορμονών ο αυξημένος αριθμός των ερυθροκυττάρων καθώς και η στενή επαφή τους στο αίμα πιθανά να αυξάνει την πιθανότητα τα στεροειδή και η οιστραδιόλη να μεταφέρονται από ερυθροκύτταρα. Η μελέτη των LePetit-Thevenin et al., 1991 έδειξε ότι το ποσό των οιστρογόνων στη λιπιδιακή στιβάδα των ερυθροκυττάρων σχετίζεται με τη γήρανση του κυττάρου και την

προστασία από την οξειδωση. Η αλληλεπίδραση της οιστραδιόλης στους αρουραίους μπορεί να μην είναι ειδική (del Mar Romero et al., 2012; Sodegard et al., 1982) αλλά σε ανθρώπινα ερυθρά αιμοσφαίρια είναι ειδική και γίνεται μέσω της πρωτεΐνης sex hormone binding globulin (Ritzen et al., 1971; Joseph et al., 1985). Η χοληστερόλη της μεμβράνης διαδραματίζει σπουδαίο ρόλο σε αυτή την αλληλεπίδραση αλλά θα πρέπει να λαμβάνονται σοβαρά υπόψη οι διαφορές της δομής των ερυθρών αιμοσφαιρίων μεταξύ αντρών και γυναικών (del Mar Romero et al., 2012) επειδή τα αντρικά ερυθροκύτταρα δεσμεύουν περισσότερο οιστραδιόλη *in vitro* σε σχέση με τα ερυθρά αιμοσφαίρια των γυναικών. Η παρατήρηση ότι η οιστραδιόλη δεσμεύεται σε μεγαλύτερο ποσό στην αντρική ερυθροκυτταρική μεμβράνη σε σχέση με τη γυναικεία ίσως να είναι ένα σημείο έρευνας για την Ιατρική των μεταγγίσεων επειδή οι μονάδες αίματος δεν μεταγγίζονται ανάλογα με το φύλο. Πάντως είναι γνωστό ότι η πλούσια σε λιπίδια διατροφή, μία συνήθεια των αντρών, τροποποιεί τη σύνθεση και δομή της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης (Vidgren et al., 1997; Katan et al., 1997), εκθέτει τον οργανισμό σε μεγάλα ποσά γλυκόζης και οξειδωτικούς παράγοντες που συνδέονται με το μεταβολικό σύνδρομο (Roberts et al., 2006) και την παχυσαρκία και έχει ως αποτέλεσμα την αλλαγή στη ρευστότητα και την παραμορφωσιμότητα του ερυθρού αιμοσφαιρίου. Οι άντρες είναι πιο ευαίσθητοι σε αυτές τις αλλαγές και δείχνουν γρήγορα και με βαθύτερη ένταση τις συνέπειες της δίαιτας πλούσιας σε λιπίδια (Tchoukalova et al., 2010; Lovejoy, and Sainsbury, 2009) ως προάγγελος της ανάπτυξης του μεταβολικού συνδρόμου (Melanson et al., 2009). *In vitro* μελέτη σε αρουραίους με έκθεση σε δίαιτα πλούσια σε λιπίδια αλλά κανονική σε πρωτεΐνες και υδατάνθρακες έδειξε ότι τα ερυθροκύτταρα μεταξύ των δύο φύλων είχαν περίπου την ίδια ικανότητα δέσμευσης οιστραδιόλης με τα ερυθρά αιμοσφαίρια των αρσενικών να υπερισχύουν (del Mar Romero et al., 2012). Ερυθροκύτταρα *in vitro* με λιγότερη χοληστερόλη έδειξε ότι δεσμεύουν λιγότερη οιστραδιόλη πιθανά γιατί αυτή η ορμόνη είναι λιπιδική (Jacobssohn et al., 1994). Επειδή τα ερυθροκύτταρα των αντρών είναι περισσότερο ευαίσθητα σε σχέση με αυτά των γυναικών στο οξειδωτικό στρες λόγω αυξημένων λιπιδίων μπορούν να δεσμεύουν περισσότερη και γρηγορότερα την οιστραδιόλη για να διαχειριστούν το οξειδωτικό στρες. (Penha-Silva et al., 2007).

Δ3. Δείκτης μάζας σώματος και επίπεδα οιστραδιόλης

Η παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκε σε γυναίκες (n=100) ηλικίας με μέσο όρο τα 21,8 έτη και δείκτη μάζας σώματος (BMI) μέσου όρου 23,3. Δε βρέθηκε στατιστική συσχέτιση της τιμής της ολικής οιστραδιόλης, με τον δείκτη BMI εν αντιθέσει, με προηγούμενες μελέτες που έδειξαν ότι ο BMI σχετίζεται με την ελεύθερη οιστραδιόλη και την τεστοστερόνη (Vandenput et al., 2010). Έχει βρεθεί στο παρελθόν ότι τα επίπεδα των στεροειδών ορμονών ενοχοποιούνται για την μείωση της μάζας σώματος σε ηλικιωμένους (Kaufman and Vermeulen, 2005). Αναλυτικότερα, η μείωση της ελεύθερης οιστραδιόλης μπορεί να ευθύνεται για μείωση του συνολικού βάρους των ηλικιωμένων κατά 0,5Kgr (Vandenput et al., 2010). Ενώ είναι γνωστό ότι τα ανδρογόνα ευθύνονται για την αύξηση της μυϊκής μάζας στους άντρες (Bhasin et al., 2001; Sattler et al., 2009) για τα οιστρογόνα και ειδικά για την ελεύθερη οιστραδιόλη δεν είναι ακόμα γνωστός μηχανισμός που ευθύνεται για την μείωση της μάζας σώματος.

Δ4. Ουρικό οξύ, ερυθρά, λευκά αιμοσφαίρια και αιμοπετάλια

Είναι πλέον γνωστό ότι το ουρικό οξύ είναι ένα ισχυρό αντιοξειδωτικό του οργανισμού αλληλεπιδρώντας με ελεύθερες ρίζες οξυγόνου σχηματίζοντας αλλαντοΐνη χωρίς ουρικήση (Yeldandi et al., 1992). Μελέτες έχουν δείξει ότι ύστερα από άσκηση αυξάνει τόσο το ουρικό οξύ και η αλλαντοΐνη στο πλάσμα όσο και στα ερυθρά αιμοσφαίρια (Kandar et al., In Press). Στη παρούσα μελέτη εάν και δε μετρήθηκε το ουρικό οξύ των ερυθρών αιμοσφαιρίων βρέθηκε ότι όσο αυξάνει (εντός των φυσιολογικών ορίων) το ουρικό οξύ διατηρείται και υψηλός ο αριθμός των ερυθροκυττάρων (r 0,233, p 0,02). Η παρατήρηση ότι οι γυναίκες που είχαν στις ανώτερες φυσιολογικές τιμές το ουρικό οξύ να διατηρούν καλό αριθμό ερυθροκυττάρων πιθανά να έχει να κάνει με την παραγωγή των ελευθέρων ριζών οξυγόνου που όπως είναι γνωστό αυξάνουν κατά τη γήρανση του ερυθροκυττάρου (Antonellou et al., 2012). Επιπλέον, έχει δείχτει ότι η χορήγηση αντιοξειδωτικών μπορεί να αυξάνει το ποσό του ουρικού οξέος σε αθλητές και αυτό με τη σειρά του να συνεργάζεται με το αντιοξειδωτικό δυναμικό του ερυθρού αιμοσφαιρίου (Jowko et al., 2014).

Στη παρούσα μελέτη φαίνεται μία στατιστική σημαντική συσχέτιση του ουρικού οξέος και των αιμοπεταλίων (r 0,239, p 0,017) και του αιμοπεταλιοκρίτη (r 0,263, p 0,008). Δεν υπάρχει σχετική βιβλιογραφία για αυτή τη συσχέτιση αλλά πιθανά το ουρικό οξύ να δρα αντιοξειδωτικά στα αιμοπετάλια και στα κοκκιοκύτταρα (r 0,277, p 0,005) που είναι και τα περισσότερα λευκά αιμοσφαίρια του οργανισμού. Πρόσφατα έχει δειχθεί ότι το ουρικό οξύ που εμπεριέχεται στο σάλιο μπορεί να προσφέρει αντιοξειδωτική δράση στα αιμοπετάλια και τα ερυθρά αιμοσφαίρια των ούλων (Ginsburg et al., 2013). Υπάρχει μία μελέτη που έδειξε ότι στις γυναίκες καθώς αυξάνει το ουρικό οξύ μπορεί να αιμοπετάλια να έχουν μεγαλύτερο μέγεθος με αποτέλεσμα να υπάρχει κίνδυνος για θρομβώσεις (Shimodaira et al., 2014). Είναι γνωστό ότι το ουρικό οξύ μπορεί να παράγεται συνεχώς στον ανθρώπινο οργανισμό ως τελικό προϊόν της αποικοδόμησης των πουρινών. Επειδή είναι ένας πολύ καλός αποδοτικός εκκαθαριστής των υψηλής δραστηριότητας ειδών οξυγόνου (ROS), δηλαδή ριζών υδροξυλίου, ανιόντων υπεροξειδίου, ατομικού οξυγόνου και οξειδωμένων ενδιάμεσων αίμης με το σίδηρο σε υψηλή οξειδωτική κατάσταση (+4 και +5), πιθανά το ουρικό οξύ να μπορεί να διασχίζει τις κυτταρικές μεμβράνες και να προσφέρει αντιοξειδωτική δράση. Αυτή η δράση του ουρικού ως ισχυρό αντιοξειδωτικό του πλάσματος επιβεβαιώνονται στην παρούσα μελέτη από τη μέτρηση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας του πλάσματος και την ισχυρή θετική συσχέτιση ανάμεσα στις δύο παραμέτρους (r 0,584, p 0,0001). Διασπώντας το ουρικό οξύ με εξωγενή ουρικήση στο πλάσμα των γυναικών βρέθηκε ότι τα αποτελέσματα συμφωνούν με την υπάρχουσα βιβλιογραφία (Bahari et al., 2014; Ramli et al., 2014; Otocka-Kmiecik et al., 2014; Nadri et al., 2014; Yuan et al., 2014; Mousaie et al., 2014; Wang et al., 2014) ότι το ουρικό οξύ συνεισφέρει περίπου κατά 60% στη συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος (r 0,586, p 0,0001).

Δ5. Λιπίδια και δείκτης μάζας σώματος

Στη παρούσα μελέτη δε βρέθηκαν αυξημένα τα επίπεδα των τριγλυκεριδίων, της χοληστερόλης, των πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, της χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης και του δείκτη μάζας σώματος αλλά βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση του ουρικού οξέος (σε φυσιολογικά όρια διακύμανσης) με τις παραπάνω παραμέτρους (p 0,0001, p 0,036, 0,001, p 0,012, p 00001 αντίστοιχα). Εξαίρεση αποτέλεσε μία αιμοδότρια που παρουσίασε πολύ αυξημένα λιπίδια. Υπάρχουν αρκετές αναφορές στη βιβλιογραφία για ανάλογες συσχετίσεις του ουρικού οξέος (με τριγλυκερίδια, χοληστερόλη κλπ) οι οποίες θα μπορούσαν να λειτουργήσουν ως βιοδείκτες μεταβολικού συνδρόμου, ειδικά σε περιπτώσεις που συνυπάρχει αυξημένος δείκτης μάζας σώματος (Sun et al., 2014; Chiou et al., 2010; Choi et al., 2007; Cirillo et al., 2006; Cohen et al., 2012; Yoo et al., 2005; Osgood et al., 2013; Lee et al., 2005). Είναι γνωστό ότι οι γυναίκες έχουν χαμηλότερα επίπεδα ουρικού οξέος σε σχέση με τους άντρες (Kuzuya et al., 2002; Ishizaka et al., 2005; Culleton et al., 1999) λόγω της επίδρασης των οιστρογόνων στην επαν-απορρόφηση του ουρικού. Τα μειωμένα επίπεδα ουρικού οξέος στις γυναίκες πιθανά να προσδίδουν μία ευπάθεια σε μεταβολικά νοσήματα (Sui et al., 2008; Chiou et al., 2010). Πιθανά το ουρικό οξύ να βρίσκεται σε υψηλά επίπεδα όταν αυξάνουν και τα λιπίδια του αίματος ως αντισταθμιστικός μηχανισμός για την καταπολέμηση της οξειδωσης.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Anderson, DC., 1974. Sex-hormone-binding globulin. *Clin. Endocrinol. (Oxf.)* 3, 69–96.
2. Annis AM, Glenister KM, Killian JJ, Sparrow RL. Proteomic analysis of supernatants of stored red blood cell products. *Transfusion*. 2005; 45: 1426-33.
3. Antonelou MH, Kriebardis AG, Papassideri IS. Aging and death signalling in mature red cells: from basic science to transfusion practice. *Blood Transfus* 2010; 8: 39-47.
4. Antonelou MH, Kriebardis AG, Stamoulis KE, Economou-Petersen E, Margaritis LH, Papassideri IS. Red blood cell aging markers during storage in citrate-phosphate- dextrose-saline-adenine-glucose-mannitol. *Transfusion* 2010; 50: 376-89.
5. Antonelou MH, Tzounakas VL, Velentzas AD, Stamoulis KE, Kriebardis AG, Papassideri IS. Effects of pre-storage leukoreduction on stored red blood cells signaling: A time-course evaluation from shape to proteome. *J Proteomics* 2012; in press.
6. Arnal J.F, et al ‘Nitric oxide and superoxide anion production during endothelial cell proliferation’. (1996) *Am. J Physiol*, 27.1(5p Pt 1): pc 1521-6
7. Bachman E, Feng R, Travison T, Li M, Olbina G, et al. (2010) Testosterone suppresses hepcidin in men: a potential mechanism for testosterone-induced erythrocytosis. *J Clin Endocrinol Metab* 95: 4743–4747.
8. Badeau, R.M., Metso, J., Tikkanen, M.J., Jauhiainen, M., 2007. High-density lipoprotein-associated 17beta-estradiol fatty acyl ester uptake by Fu5AH hepatoma cells: implications of the roles of scavenger receptor class B, type I and the low-density lipoprotein receptor. *Biochim. Biophys. Acta* 1771, 1329–1334.
9. Badeau, R.M., Metso, J., Wahala, K., Tikkanen, M.J., Jauhiainen, M., 2009. Human macrophage cholesterol efflux potential is enhanced by HDL-associated 17betaestradiol fatty acyl esters. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 116, 44–49.
10. Bahari EA, Zaaba NE, Haron N, Dasiman R, Amom Z. Antioxidant Activity Characterization, Phytochemical Screening, and Proximate Analysis of Cermela Hutan (*Phyllanthus gomphocarpus* Hook. F) Roots and Leaves.

Med Sci Monit Basic Res. 2014 Nov 7;20:170-5.

11. Barbara Young, James S.Lowe, Alan Stevens, John W .Heat, "Wheater's functional histology, a text and colour atlas", fifth edition, (p 359-364, 375-389), Churchill Livingstone Elsevier ,Philadelphia, (2006), ISBN-13: 9780443068508
12. Barrett-Connor E, Bush TL, "Estrogen and coronary heart disease in women" (1991). JAMA 265: 1861-1867.
13. Barry M. Sherman and Stanley G. Koverman, " Hormonal Characteristics of the human menstrual cycle throughout the reproductive life", The Journal of Clinical Investigation, (1975) Volume 55 p.699-706
14. Bennett-Guerrero E, Veldman TH, Doctor A, Telen MJ, Ortel TL, Reid TS, Mulherin MA, Zhu H, Buck RD, Califf RM, McMahon TJ. Evolution of adverse changes in stored RBCs. Proc Natl Acad Sci USA 2007; 104: 17063-8.
15. Benzie I.F. and Strain J.J "The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power": The FRAP assay, Anal Biochem,15;239 (1) ;70-6),(1996)
16. Berg CP, Engels IH, Rothbart A, Lauber K, Renz A, Schlosser SF, et al. Human mature red blood cells express caspase-3 and caspase-8, but are devoid of mitochondrial regulators of apoptosis. Cell Death Differ 2001; 8: 1197-206.
17. Besa EC. Hematologic effects of androgens revisited: an alternative therapy in various hematologic conditions. Semin Hematol. 1994;31:134–145.
18. Bhasin S, Woodhouse L, Casaburi R, Singh AB, Bhasin D, Berman N, Chen X, Yarasheski KE, Magliano L, Dzekov C, Dzekov J, Bross R, Phillips J, Sinha-Hikim I, Shen R & Storer TW. Testosterone dose–response relationships in healthy young men. American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism 2001 281 E1172–E1181.
19. Bosman GJ, Lasonder E, Groenen-Dopp YA, Willekens FL, Werre JM, Novotny VM. Comparative proteomics of erythrocyte aging in vivo and in vitro. J Proteomics 2010; 73: 396-402.
20. Bosman GJ, Lasonder E, Luten M, Roerdinkholder-Stoelwinder B, Novotny VM, Bos H, De Grip WJ. The proteome of red cell membranes and vesicles during storage in blood bank conditions. Transfusion 2008; 48: 827-35.
21. Bosman GJ, Werre JM, Willekens FL, Novotny VM. Erythrocyte ageing in vivo and in vitro: structural aspects and implications for transfusion. Transfus Med 2008; 18: 33547.

22. Brook, C., Marshall, N., 2001. *Essential Endocrinology*. Blackwell Science, Oxford Malden.
23. C. Massafra, D. Gioia, C De Felice, E Picciolini, V De Leo, M Bofinazi and A. Bernabei, ‘‘ Effects of estrogen and androgens on erythrocyte antioxidant superoxide dismutase, catalase and glytathione peroxidase activities during the menstrual cycle’’ , (2000), *Journal of Endocrinology* 167, p.447-452
24. Carson J. ,Grossman B. , Kleinman S. , Tinmouth A. , Marques M. , Fung M. , Holcomb J. ,Illoh O. ,Kaplan L. , Rao S. , Roback J. , Shandler A. ,Tobian A. Weinstein R. ,Djulgovic B. ,’’Red Blood Cell Transfusion: A Clinical Practice Guideline from the AABB.’’ , Fifteenth edition, (p:730-732, 739-741),United States , (2012), ISBN: 1-56395-196-7
25. Chen-Yan Zhang, Jiong Chen., Da-Chuan Yin, Sheng-Xiang Lin, ‘‘ The Contribution of 17beta-Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 1 to the Estradiol-Estrone Ratio in Estrogen-Sensitive Breast Cancer Cells’’ , (2012), *Plos One*, Volume 7(1): e29835
26. Chiou W-K, Wang M-H, Huang D-H, Chiu H-T, Lee Y-J, et al. (2010) The relationship between serum uric acid level and metabolic syndrome: differences by sex and age in Taiwanese. *J Epidemiol* 20: 219–224.
27. Choi HK, Ford ES (2007) Prevalence of the metabolic syndrome in individuals with hyperuricemia. *Am J Med* 120: 442–447.
28. Christian JA, Rebar AH, Boon GD, Low PS. Senescence of canine biotinylated erythrocytes: increased autologous immunoglobulin binding occurs on erythrocytes aged in vivo for 104 to 110 days. *Blood* 1993; 82: 3469-73.
29. Chrousos GP, Torpy DJ, Gold PW, et al, Interactions between the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and the female reproductive system: clinical implications. *Ann*,(1998) *International Medicine* 129: 229-240.
30. Cirillo P, Sato W, Reungjui S, Heinig M, Gersch M, et al. (2006) Uric acid, the metabolic syndrome, and renal disease. *J Am Soc Nephrol* 17: S165–S168.
31. Cluitmans JC, Hardeman MR, Dinkla S, Brock R, Bosman GJ. Red blood cell deformability during storage: towards functional proteomics and metabolomics in the Blood Bank. *Blood Transfus* 2012; 10 Suppl 2:s12-8.
32. Cohen E, Krause I, Fraser A, Goldberg E, Garty M (2012) Hyperuricemia and metabolic syndrome: lessons from a large cohort from Israel. *Isr Med Assoc J* 14:676–680.

33. Cooper GM. Structure of plasma membrane. Sinauer Associates 2000; The Cell 2nd edition a molecular approach.
34. Cosimo Massafra, Claudio De Feti e, Dino Gioia and Giuseppe Buonocore, "Variations in erythrocyte antioxidant glutathione peroxidase activity during the menstrual cycle", (1998) Blackwell Science Ltd., Clinical Endocrinology , 49. P 63-67
35. Culleton BF, Larson MG, Kannel WB, Levy D (1999) Serum uric acid and risk for cardiovascular disease and death: the Framingham Heart Study. Ann Intern Med 131: 7–13.
36. D'Alessandro A, Liunbruno G, Grazzini G, Zolla L. Red blood cell storage: the story so far. Blood Transfus 2010; 8: 82-8.
37. D'Amici GM, Rinalducci S, Zolla L. Proteomic analysis of RBC membrane protein degradation during blood storage. J Proteome Res 2007; 6: 3242-55.
38. Davis CE, Pajak A, Rywik S, et al, "Natural menopause and cardiovascular disease risk factors" (1994) . The Poland and US Collaborative Study on Cardiovascular Disease Epidemiology. Ann Epidemiol 4: 445-448.
39. del Mar Romero M, Fernández-López JA, Remesar X, Alemany M. Effects of sex and prior exposure to a cafeteria diet on the distribution of sex hormones and between plasma and blood cells. PLoS One. 2012;7(3):e34381. doi: 10.1371/journal.pone.0034381.
40. Diez-Silva M, Dao M, Han J, Lim CT, Suresh S. Shape and biomechanical characteristics of human red blood cells in health and disease. MRS Bull 2010; 35: 382-388.
41. Djordjević B, Savikin K, Zdunić G, Janković T, Vulić T, Oparnica C, Radivojević D. Biochemical properties of red currant varieties in relation to storage. Plant Foods Hum Nutr. 2010 Dec;65(4):326-32. doi: 10.1007/s11130-010-0195-z.
42. Djordjević NZ, Babić GM, Marković SD, Ognjanović BI, Štajn AŠ, Žikić RV, Saičić ZS. The antioxidative effect of estradiol therapy on erythrocytes in women with preeclampsia. Reprod Toxicol 2010;29:231-6. doi: 10.1016/j.reprotox.2009.11.004
43. Dlugosz A, Roszkowska A, Zimmer M. Oestradiol protects against the harmful effects of fluoride more by increasing thiol group levels than scavenging hydroxyl radicals. Basic Clin Pharmacol Toxicol 2009;105:366-73. doi:10.1111/j.1742-7843.2009.00411.x

44. Dobs AS, MeikleAW, Arver S, Sanders SW, Caramelli KE, Mazer NA. Pharmacokinetics, efficacy, and safety of a permeation-enhanced testosterone transdermal system in comparison with bi-weeklyinjections of testosterone enanthate for the treatment of hypogonadal men. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84:3469–3478.
45. Doctor A, Spinella P. Effect of processing and storage on red blood cell function in vivo. *Semin Perinatol* 2012; 36: 248-59.
46. Donadee C, Raat NJ, Kanas T, Tejero J, Lee JS, Kelley EE, Zhao X, Liu C, Reynolds H, Azarov I, Frizzell S, Meyer EM, Donnenberg AD, Qu L, Triulzi D, Kim-Shapiro DB, Gladwin MT. Nitric oxide scavenging by red blood cell microparticles and cell-free hemoglobin as a mechanism for the red cell storage lesion. *Circulation* 2011; 124: 465-76.
47. Dotis J, Stampouli S, Violaki A, Vogiatzi L, Mitroudi M, Ekonomou M, Kotsiou M. Transfusion related acute lung injury (TRALI). *Paediatr N Gr* 2009; 21: 336-339.
48. Dumaswala UJ, Wilson MJ, Wu YL, et al. Glutathione loading prevents free radical injury in red blood cells after storage. *Free Radic Res* 2000; 33: 517-29.
49. Dumont LJ, Yoshida T, AuBuchon JP. Anaerobic storage of red blood cells in a novel additive solution improves in vivo recovery. *Transfusion* 2009; 49: 458-64.
50. Duplantic D.,Kukoc-Modum L., Modum D., Radic N.”Simple and rapid method for the determination of uric acid-independent antioxidant capacity.” *Molecules* 17;16 (8):7058-68), (2011)
51. E.Anne Stiene-Martin, Cheryl A.Lotspeich-Steininger, John A. Koepke,”Clinical Hematology, principles, procedures and correlations”, second edition,(p:20-22) Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia,(1998), ISBN: 0-397-55321-8
52. Edgren G, Kamper-J0rgensen M, Eloranta S, Rostgaard K, Custer B, Ullum H, Murphy EL, Busch MP, Reilly M, Melbye M, Hjalgrim H, Nyren O. Duration of red blood cell storage and survival of transfused patients (CME). *Transfusion* 2010; 50: 1185-95.
53. Ferrucci L, Maggio M, Bandinelli S, Basaria S, Lauretani F, Ble A, Valenti G, Ershler WB, Guralnik JM, Longo DL. Low testosterone levels and the risk of anemia in older men and women. *Arch Intern Med.* 2006;166:1380–

1388.

54. Ficarra S, Tellone E, Giardina B, Scatena R, Russo A, Misiti F, Clementi ME, Colucci D, Bellocco E, Lagana G, Barreca D, Galtieri A. Derangement of erythrocytic AE1 in beta- thalassemia by caspase 3: pathogenic mechanisms and implications in red blood cell senescence. J Membr Biol 2009; 228: 43-9.
55. Foller M, Huber SM, Lang F. Erythrocyte programmed cell death. IUBMB Life 2008; 60: 661-8.
56. Ghashghaeinia M, Cluitmans JC, Akel A, Dreischer P, Toulany M, Koberle M, Skabytska Y, Saki M, Biedermann T, Duszenko M, Lang F, Wieder T, Bosman GJ. The impact of erythrocyte age on eryptosis. Br J Haematol 2012; 157: 606-14.
57. Ginsburg I, Kohen R, Shalish M, Varon D, Shai E, Koren E. The oxidant-scavenging abilities in the oral cavity may be regulated by a collaboration among antioxidants in saliva, microorganisms, blood cells and polyphenols: a chemiluminescence-based study. PLoS One. 2013 May 2;8(5):e63062. doi: 10.1371/journal.pone.0063062.
58. Gladwin MT, Kim-Shapiro DB. Storage lesion in banked blood due to hemolysis- dependent disruption of nitric oxide homeostasis. Curr Opin Hematol 2009; 16: 515-23.
59. Gov N, Cluitmans J, Sens P, Bosman GJCGM. Cytoskeletal Control of Red Blood Cell Shape: Theory and Practice of Vesicle Formation. Adv in Plan Lip Bil and Lipos 2009; 10.
60. Grazzini G, Vaglio S. Red blood cell storage lesion and adverse clinical outcomes: post hoc ergo propter hoc? Blood Transfus 2012; 10 Suppl 2:s4-6.
61. Greenwalt TJ, Bryan DJ, Dumaswala UJ. Erythrocyte membrane vesiculation and changes in membrane composition during storage in citrate-phosphate-dextrose- adenine-1. Vox Sang 1984; 47: 261-70.
62. Hacker and Moore's, 'Essentials of Obstetrics and Gynecology', fifth edition, (p.65-71, 73, 85-86), Saunders Elsevier Inc, Philadelphia, (2010), ISBN: 978-0-8089-2416-6
63. Harboe M. a method for the termination of hemoglobin in plasma by near-ultraviolet spectrophotometry. Clin Lab Invent 11(1):66-70, 195
64. Hess JR, Grazzini G. Blood proteomics and transfusion safety. J Proteomics 2010; 73: 365-7.
65. Hess JR, Schmidt PJ. The first blood banker: Oswald Hope Robertson.

- Transfusion 2000; 40: 110-3.
66. Hess JR, Sparrow RL, van der Meer PF, Acker JP, Cardigan RA, Devine DV. Red blood cell hemolysis during blood bank storage: using national quality management data to answer basic scientific questions. Transfusion 2009; 49: 2599-603.
 67. Hess JR. An update on solutions for red cell storage. Vox Sang 2006; 91: 13-9.
 68. Hess JR. Red cell changes during storage. Transfus Apher Sci 2010; 43: 51-9.
 69. Hess JR. Red cell storage. J Proteomics 2010; 73: 368-73.
 70. Hogman CF, de Verdier CH, Ericson A, et al. Effects of oxygen on red cells during liquid storage at +4 degrees C. Vox Sang 1986; 51: 27-34.
 71. Hogman CF, de Verdier CH, Ericson A, Hedlund K, Sandhagen B. Studies on the mechanism of human red cell loss of viability during storage at +4 degrees C in vitro. I. Cell shape and total adenylate concentration as determinant factors for posttransfusion survival. Vox Sang 1985; 48: 257-68.
 72. Hornig R, Lutz HU. Band 3 protein clustering on human erythrocytes promotes binding of naturally occurring anti-band 3 and anti-spectrin antibodies. Exp Gerontol 2000; 35: 1025-44.
 73. Hou Y, Zhang S, Wang L, et al. Estrogen regulates iron homeostasis through governing hepatic hepcidin expression via an estrogen response element. Gene. 2012;511:398–403.
 74. Huling SG, Hwang S, Fine D, Ko S. Fenton-like initiation of a toluene transformation mechanism. Water Res 2011; 45: 5334-42.
 75. Hwang S, Huling SG, Ko S. Fenton-like degradation of MTBE: Effects of iron counter anion and radical scavengers. Chemosphere 2010; 78: 563-8.
 76. Isbell TS, Sun CW, Wu LC, Teng X, Vitturi DA, Branch BG, Kevil CG, Peng N, Wyss JM, Ambalavanan N, Schwiebert L, Ren J, Pawlik KM, Renfrow MB, Patel RP, Townes TM. SNO-hemoglobin is not essential for red blood cell-dependent hypoxic vasodilation. Nat Med 2008; 14: 773-7.
 77. Ishizaka N, Ishizaka Y, Toda E-I, Nagai R, Yamakado M (2005) Association between serum uric acid, metabolic syndrome, and carotid atherosclerosis in Japanese individuals. Arterioscler Thromb Vasc Biol 25: 1038–1044.
 78. Jacobsohn GM, Siegel ET, Jacobsohn MK. 17 Beta-estradiol transport and metabolism in human red blood cells. J Clin Endocrinol Metab. 1975 Feb;40(2):177-85.
 79. Jacobsohn MK, Bauder S, Pine SR, Jacobsohn GM. Cholesterol limits

- estrogen uptake by liposomes and erythrocyte membranes. *Biochim Biophys Acta*. 1994 Oct 12;1195(1):131-40.
80. Joseph DR, Hall SH, French FS (1985) Identification of complementary DNA clones that encode rat androgen binding protein. *J Androl* 6: 392–395.
 81. Jówko E, Długolecka B, Makaruk B, Cieśliński I. The effect of green tea extract supplementation on exercise-induced oxidative stress parameters in male sprinters. *Eur J Nutr*. 2014 Aug 14.
 82. Julie A. Dumas, Kimberly M. Albert, Magdalena R. Naylor, Cynthia K. Sites, Chawki Benkelfat, and Paul A. Newhouse, ‘‘ The Effects of Age and Estrogen on Stress Responsivity in Older Women ‘’, 2012, 20(9): 734–743
 83. Jy W, Bidot C Jr, Johansen ME, Horstman L, Shariatmadar S, Ricci M, et al. Red-cell microparticles released from stored packed cells: Possible contributing factor to adverse responses to transfusion. Presented, 52nd American Society of Hematology Annual Meeting; Orlando, FL. *Blood* 2010; 116: 154.
 84. Jy W, Ricci M, Shariatmadar S, Gomez-Marin O, Horstman LH, Ahn YS. Microparticles in stored red blood cells as potential mediators of transfusion complications. *Transfusion* 2011; 51: 886-93.
 85. K O Klein, ‘‘Isoflavones, Soy-based Infant Formulas and Relevance to Endocrine Function,’’ *Nutrition Reviews*, July 1998, Vol 56, No 7, p. 193-204.
 86. Kand’ár R, Stramová X, Drábková P, Křenková J. A monitoring of allantoin, uric acid, and malondialdehyde levels in plasma and erythrocytes after a 10-minute running activity. *Physiol Res*. 2014 Aug 26.
 87. Kanias T, Acker JP. Biopreservation of red blood cells--the struggle with hemoglobin oxidation. *FEBS J* 2010; 277: 343-56.
 88. Kanias T, Gladwin MT. Nitric oxide, hemolysis, and the red blood cell storage lesion: interactions between transfusion, donor, and recipient. *Transfusion* 2012; 52: 1388-92
 89. Katan MB, Deslypere JP, van Birgelen AP, Penders M, Zegwaard M (1997) Kinetics of the incorporation of dietary fatty acids into serum cholesteryl esters, erythrocyte membranes, and adipose tissue: an 18-month controlled study. *J Lipid Res* 38: 2012–2022.
 90. Katsuaki Sugioka, Yasuko Shimosegawa+ and Minoru Nakano, ‘‘ Estrogens as natural antioxidants of membrane phospholipid peroxidation ‘’, (1987),

Elsevier Science Publishers B. V. (Biomedical Division), Volume 210, number 1, p 37-39

91. Kaufman JM & Vermeulen A. The decline of androgen levels in elderly men and its clinical and therapeutic implications. *Endocrine Reviews* 2005 26 833–876.
92. Kay MMB, Flowers N, Goodman J, Bosman G. Alteration in membrane protein band 3 associated with accelerated erythrocyte aging. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 5834-8.
93. Kay MMB, Goodman SR, Sorensen K. Senescent cell antigen is immunologically related to band 3. *Proc Natl Acad Sci USA* 1983; 80: 1631-5.
94. Kay MMB, Wyant T, Goodman J. Autoantibodies to band 3 during aging and disease in aging interventions. *Ann NY Acad Sci* 1994; 719: 419-47.
95. Kay MMB. Localization of senescent cell antigen on band 3. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984; 81: 5753-7.
96. Kim-Shapiro DB, Lee J, Gladwin MT. Storage lesion: role of red blood cell breakdown. *Transfusion* 2011; 51: 844-51.
97. Klein HG, Spahn DR, Carson JL. Red blood cell transfusion in clinical practice. *Lancet* 2007; 370: 415-26.
98. Klein HG. Getting older is not necessarily getting better. *Anesthesiology* 2003; 98: 807-8.
99. Koch CG, Li L, Sessler DI, Figueroa P, Hoeltge GA, Mihaljevic T, Blackstone EH. Duration of red-cell storage and complications after cardiac surgery. *N Engl J Med* 2008; 358: 1229-39.
100. Kralj-Iglic V, Iglic A, Bobrowska-Hagerstrand M, Hagerstrand H. Tethers connecting daughter vesicles and parent red blood cell may be formed due to ordering of anisotropic membrane constituents. *Coll and Surf A* 2001; 179: 57-64.
101. Kriebardis AG, Antonelou MH, Stamoulis KE, Economou-Petersen E, Margaritis LH, Papassideri IS. Progressive oxidation of cytoskeletal proteins and accumulation of denatured hemoglobin in stored red cells. *J Cell Mol Med* 2007; 11: 148-55.
102. Kriebardis AG, Antonelou MH, Stamoulis KE, Economou-Petersen E, Margaritis LH, Papassideri IS. Storage-dependent remodeling of the red blood cell membrane is associated with increased immunoglobulin G binding, lipid raft rearrangement, and caspase activation. *Transfusion* 2007; 47: 1212-20.

103. Kriebardis AG, Antonelou MH, Stamoulis KE, Economou-Petersen E, Margaritis LH, Papassideri IS. RBC-derived vesicles during storage: ultrastructure, protein composition, oxidation, and signaling components. Transfusion 2008; 48: 1943-53.
104. Krzysztof P. Rembacz, Ewa Sawicka and Anna Dlucoasz, "Role of estradiol in Chromium-induced oxidative stress", *Acta Poloniae Pharmaceutica n Drug Research*, (2012), Vol. 69 No. 6 pp. 1372-1379
105. Kuehnert MJ, Roth VR, Haley NR, Gregory KR, Elder KV, Schreiber GB, Arduino MJ, Holt SC, Carson LA, Banerjee SN, Jarvis WR. Transfusion-transmitted bacterial infection in the United States, 1998 through 2000. Transfusion 2001; 41: 1493-9.
106. Kuzuya M, Ando F, Iguchi A, Shimokata H (2002) Effect of aging on serum uric acid levels: longitudinal changes in a large Japanese population group. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 57: M660–M664.
107. Lang E, Qadri SM, Lang F. Killing me softly - suicidal erythrocyte death. Int J Biochem Cell Biol 2012; 44: 1236-43.
108. Lang F, Gulbins E, Lerche H, Huber SM, Kempe DS, Foller M. Eryptosis, a window to systemic disease. Cell Physiol Biochem 2008; 22: 373-80.
109. Lang F, Qadri SM. Mechanisms and significance of eryptosis, the suicidal death of erythrocytes. Blood Purif 2012; 33: 125-30.
110. Learoyd P. A short history of blood transfusion. *NBS-Scientific & Technological Training (STT)* 2006; 042: 1-18.
111. Lee J, Sparrow D, Vokonas PS, Landsberg L, Weiss ST (1995) Uric acid and coronary heart disease risk: evidence for a role of uric acid in the obesity-insulin resistance syndrome. The Normative Aging Study. *Am J Epidemiol* 142: 288–294.
112. Leon Speroff, Robert H. Glass, Nathan G. Kase, "Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility", sixth edition, Lippincott Williams & Wilkins, (1999)
113. LePetit-Thevenin J, Lérique B, Nobili O, Boyer J (1991) Estrogen modulates phospholipid acylation in red blood cells: relationship to cell aging. *Am J Physiol* 261: C423–C427.
114. Lewerin C, Nilsson-Ehle H, Jacobsson S, Johansson H, Sundh V, Karlsson MK, Lorentzon M, Barrett-Connor E, Vandenput L, Ohlsson C,

- Mellström D. Serum estradiol associates with blood hemoglobin in elderly men: the MrOS Sweden study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014 Jul;99(7):2549-56. doi: 10.1210/jc.2013-4111.
115. Lion N, Crettaz D, Rubin O, Tissot JD. Stored red blood cells: a changing universe waiting for its map(s). *J Proteomics* 2010; 73: 374-85.
116. Lockwood WB, Hudgens RW, Szymanski IO, Teno RA, Gray AD. Effects of rejuvenation and frozen storage on 42-day-old AS-3 RBCs. *Transfusion* 2003; 43: 1527-32.
117. Lori Asarian and Nori Geary, ‘Modulation of appetite by gonadal steroids hormones’, *Philosophical Transactions of the Royal Society*, (2006), 361, p.1251–1263
118. Lovejoy JC, Sainsbury A (2009) Sex differences in obesity and the regulation of energy homeostasis. *Obes Rev* 10: 154–167.
119. Low PS, Westfall MA, Allen DP, Appell KC. Characterization of the reversible conformational equilibrium of the cytoplasmic domain of erythrocyte membrane band-3 *J Biol Chem* 1984; 259: 13070-6.
120. Luque-Ramirez M, Alvarez-Blasco F, Alpanes M, Escobar-Morreale HF (2011) Role of decreased circulating hepcidin concentrations in the iron excess of women with the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 96: 846–852.
121. Lutz HU, Flepp R, Stringaro-Wipf G. Naturally occurring autoantibodies to exoplasmic and cryptic regions of band 3 protein, the major integral membrane protein of human red blood cells. *J Immunol* 1984; 133: 2610-8.
122. Lutz HU, Nater M, Stammers P. Naturally occurring anti-band 3 antibodies have a unique affinity for C3. *Immunology* 1993; 80: 191-6.
123. Lutz HU, Stammers P, Fasler S. How naturally occurring anti-band 3 antibodies stimulate C3b deposition to senescent and oxidatively stressed red blood cells. *Biomed Biochim Acta* 1990; 49: S224-9.
124. Lutz HU, Stammers P, Koch D, Taylor RP. Opsonic potential of C3b-anti-band 3 complexes when generated on senescent and oxidatively stressed red cells or in fluid phase. *Adv Exp Med Biol* 1991; 307: 367-76.
125. Lutz HU, Stringaro-Wipf G. Senescent red cell-bound IgG is attached to band 3 protein. *Biomedica Biochimica Acta* 1983; 42: 117-21.
126. Madge HM. On transfusion of blood. *Br Med J* 1874; 1: 42-4.

127. Mandal D, Baudin-Creuzat V, Bhattacharyya A, Pathak S, Delaunay J, Kundu M, et al. Caspase 3-mediated proteolysis of the N-terminal cytoplasmic domain of the human erythroid anion exchanger 1 (Band 3). *J Biol Chem* 2003; 278: 52551-8.
128. Mandal D, Mazumder A, Das P, Kundu M, Basu J. Fas-, caspase 8-, and caspase 3- dependent signaling regulates the activity of the aminophospholipid translocase and phosphatidylserine externalization in human erythrocytes. *J Biol Chem* 2005; 280: 39460-7.
129. Mandal D, Moitra PK, Saha S, Basu J. Caspase 3 regulates phosphatidylserine externalization and phagocytosis of oxidatively stressed erythrocytes. *FEBS Lett* 2002; 513: 184-8.
130. Mannu F, Arese P, Cappellini MD, Fiorelli G, Cappadoro M, Giribaldi G, Turrini F. Role of hemichrome binding to erythrocyte membrane in the generation of band-3 alterations in beta-thalassemia intermedia erythrocytes. *Blood* 1995; 86: 2014-20.
131. Marion Gerschpacher, Nikola Getoff, Johannes Hartmann, Heike Schittl, Iren Danielova, Shaobin Ying, Johannes C. Huber and Ruth M. Quint, ‘‘ Electron emission and product analysis of estrone:progesterone interactions studied by experiments in vitro’’, (2011), *Gynecol Endocrinol*, 27(7): p 496–503
132. Mary L. Turgeon and Associates, ‘‘Clinical Hematology, Theory and Procedures’’, Fifth edition, (p:20), Lipincott Williams and Wilkins, Boston, Massachusetts and St. Petersburg, Florida, (2012), ISBN: 978-1-60831-076-0
133. McCarthy DM, Skacel P, Raja K, Martin F, Peters T, Goldman JM. Granulocytic cryopreservation: further studies on the pathogenesis of impaired cellular function. *Br J Haematol* 1984; 56: 45-54.
134. Melanson EL, Astrup A, Donahoo WT (2009) The relationship between dietary fat and fatty acid intake and body weight, diabetes, and the metabolic syndrome. *Ann Nutr Metab* 55: 229–243
135. Michael P. Mullen, Dara J. Cooke and Mark A. Crow, ‘‘ Structural and Functional Roles of FSH and LH as Glycoproteins Regulating Reproduction in Mammalian Species’’, (2013), licensee InTech, Chapter 8, p 155-180
136. Migeon CJ, Lescure OL, Zinkham WH, Sidbury JB. *IN VITRO*

- INTERCONVERSION OF 16-C-ESTRONE AND 16-C-ESTRADIOL-17beta BY ERYTHROCYTES FROM NORMAL SUBJECTS AND FROM SUBJECTS WITH A DEFICIENCY OF RED CELL GLUCOSE-6-PHOSPHATE DEHYDROGENASE ACTIVITY. *J Clin Invest.* 1962 Nov;41(11):2025-35.
137. Miura AB. History of blood transfusion--development and future of blood transfusion in Japan. *Nihon Rinsho* 1997; 55: 2189-94.
138. Mladenović J, Ognjanović B, Dorđević N, Matić M, Knežević V, Stajn A, Saičić Z. Protective effects of oestradiol against cadmium-induced changes in blood parameters and oxidative damage in rats. *Arh Hig Rada Toksikol.* 2014 Mar 1;65(1):37-46. doi: 10.2478/10004-1254-65-2014-2405.
139. Mousaie A, Valizadeh R, Naserian AA, Heidarpour M, Mehrjerdi HK. Impacts of Feeding Selenium-Methionine and Chromium-Methionine on Performance, Serum Components, Antioxidant Status, and Physiological Responses to Transportation Stress of Baluchi Ewe Lambs. *Biol Trace Elem Res.* 2014 Nov 4.
140. Mukundan H, Resta TC, Kanagy NL. 17b-estradiol decreases hypoxic induction of erythropoietin gene expression. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2002;283:R496–R504.
141. Muller H, Lutz HU. Binding of autologous IgG to human red blood cells before and after ATP-depletion. Selective exposure of binding sites (autoantigens) on spectrin-free vesicles. *Biochim Biophys Acta* 1983; 729: 249-57.
142. Nadri MH, Salim Y, Basar N, Yahya A, Zulkifli RM. Antioxidant activities and tyrosinase inhibition effects of phaleria macrocarpa extracts. *Afr J Tradit Complement Altern Med.* 2014 Apr 3;11(3):107-11.
143. Natasa Z. Djordjevic, Goran M. Babic, Snezana D. Markovic, Branka I. Ognjanovic, Andras S. Stajn, Zorica S. Saisic, "The oxidative effect of estradiol therapy on erythrocytes in women with proclampsia", *Reproductive Toxicology*, 2009 Elsevier Inc. , (2010), (29) p. 231-236.
144. Newhouse PA, et al. Estrogen treatment impairs cognitive performance after psychosocial stress and monoamine depletion in postmenopausal women. *Menopause.* (2010) ; 17(4):860–873.
145. Niu MT, Knippen M, Simmons L, Holness LG. Transfusion-transmitted *Klebsiella pneumoniae* fatalities, 1995 to 2004. *Transfus Med*

- Rev 2006; 20: 149-57.
146. Ogunro PS, Bolarinde AA, Owa OO, Salawu AA, Oshodi AA. Antioxidant status and reproductive hormones in women during reproductive, perimenopausal and postmenopausal phase of life. *Afr J Med Med Sci.* 2014 Mar;43(1):49-57.
 147. Osgood K, Krakoff J, Thearle M (2013) Serum uric acid predicts both current and future components of the metabolic syndrome. *Metab Syndr Relat Disord* 11: 157–162.
 148. Otocka-Kmiecik A, Lewandowski M, Szkudlarek U, Nowak D, Orłowska-Majdak M. Aerobic Training Modulates the Effects of Exercise-Induced Oxidative Stress on PON1 Activity: A Preliminary Study. *Scientific World Journal.* 2014;2014:230271.
 149. Paller CJ, Shiels MS, Rohrmann S, Menke A, Rifai N, Nelson WG, Platz EA, Dobs AS. Association between sex steroid hormones and hematocrit in a nationally representative sample of men. *J Androl.* 2012 Nov-Dec;33(6):1332-41. doi: 10.2164/jandrol.111.015651.
 150. Pare G, Krust A, Karas RH, et al, 2002 Estrogen receptor- alpha mediates the protective effects of estrogen against vascular injury. *Circ Res* 90: 1087-1092
 151. Pasini EM, Kirkegaard M, Mortensen P, Lutz HU, Thomas AW, Mann M. In-depth analysis of the membrane and cytosolic proteome of red blood cells. *Blood* 2006; 108: 791-801.
 152. Pasini EM, Lutz HU, Mann M, Thomas AW. Red blood cell (RBC) membrane proteomics-- Part I: Proteomics and RBC physiology. *J Proteomics.* 2010; 73: 403-20.
 153. Pasini EM, Lutz HU, Mann M, Thomas AW. Red blood cell (RBC) membrane proteomics- Part II: Comparative proteomics and RBC pathophysiology. *J Proteomics* 2010; 73: 421
 154. Pasini EM, Mann M, Thomas AW. Red blood cell proteomics. *Transfus Clin Biol* 2010; 17: 151-64.
 155. Pavenski K, Saidenberg E, Lavoie M, Tokessy M, Branch DR. Red blood cell storage lesions and related transfusion issues: a Canadian Blood Services research and development symposium. *Transfus Med Rev* 2012; 26: 68-84.
 156. Penha-Silva N, Firmino CB, de Freitas Reis FG, da Costa Huss JC,

- de Souza TM, de Freitas MV, Netto RC. Influence of age on the stability of human erythrocyte membranes. *Mech Ageing Dev.* 2007 Jul-Aug;128(7-8):444-9.
157. Prenni JE, Avery AC, Olver CS. Proteomics: a review and an example using the reticulocyte membrane proteome. *Vet Clin Pathol* 2007; 36: 13-24.
158. Queloz PA, Thadikkaran L, Crettaz D, Rossier JS, Barelli S, Tissot JD. Proteomics and transfusion medicine: future perspectives. *Proteomics* 2006; 6: 5605-14.
159. Raat NJ, Ince C. Oxygenating the microcirculation: the perspective from blood transfusion and blood storage. *Vox Sang* 2007; 93: 12-8.
160. Raat NJ, Verhoeven AJ, Mik EG, Gouwerok CW, Verhaar R, Goedhart PT, de Korte D, Ince C. The effect of storage time of human red cells on intestinal microcirculatory oxygenation in a rat isovolemic exchange model. *Crit Care Med* 2005; 33: 39-45.
161. Ramli NS, Ismail P, Rahmat A. Influence of Conventional and Ultrasonic-Assisted Extraction on Phenolic Contents, Betacyanin Contents, and Antioxidant Capacity of Red Dragon Fruit (*Hylocereus polyrhizus*). *ScientificWorldJournal.* 2014;2014:964731.
162. Relevy H, Koshkaryev A, Manny N, Yedgar S, Barshtein G. Blood banking-induced alteration of red blood cell flow properties. *Transfusion* 2008; 48: 136-46.
163. Ritzen EM, Nayfeh SN, French FS, Dobbins MC (1971) Demonstration of androgen-binding components in rat epididymis cytosol and comparison with binding components in prostate and other tissues. *Endocrinology* 89: 143–151.
164. Roback JD, Neuman RB, Quyyumi A, Sutliff R. Insufficient nitric oxide bioavailability: a hypothesis to explain adverse effects of red blood cell transfusion. *Transfusion* 2011; 51: 859-66.
165. Roback JD. Vascular effects of the red blood cell storage lesion. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2011; 2011: 475-9.
166. Roberts CK, Barnard RJ, Sindhu RK, Jurczak M, Ehdaie A, et al. (2006) Oxidative stress and dysregulation of NAD(P)H oxidase and antioxidant enzymes in diet-induced metabolic syndrome. *Metabolism* 55: 928–934.
167. Rocha S, Costa E, Rocha-Pereira P, Ferreira F, Cleto E, Barbot J,

- Quintanilha A, Belo L, Santos-Silva A. Complementary markers for the clinical severity classification of hereditary spherocytosis in unsplenectomized patients. *Blood Cells Mol Dis*. 2011 Feb 15;46(2):166-70. doi: 10.1016/j.bcmed.2010.11.001.
168. Rodrigo P.A. Barros and Jan-Ake Gustafsson, ‘‘ Estrogen Receptors and the Metabolic Network ‘‘ *Cell Metabolism* 14, (2011), p.289-298
169. Roksana Karim, Wendy J. Mack, Howard N. Hodis, Subir Roy, and Frank Z. Stanczyk, ‘‘ Influence of Age and Obesity on Serum Estradiol, Estrone, and Sex Hormone Binding Globulin Concentrations following Oral Estrogen Administration in Postmenopausal Women ‘‘, *Journal of Clinical Endocrinol Metabolism* ‘‘, (2009), 94(11): 4136–4143.
170. Rous P, Turner JR. The preservation of living red blood cells in vitro: I. methods of preserevation. *J Exp Med* 1916; 23: 219-37.
171. Rous P, Turner JR. The preservation of living red blood cells in vitro: II. the transfusion of kept cells. *J Exp Med* 1916; 23: 239-48.
172. Sack M.N, D.J Rader and R.O Cannon , 3rd, ‘‘Oestrogen and inhibition of oxidation of low-density lipoproteins in postmenopausal women,(1994) *Lancet*. 343(8892):p.269-70
173. Salzer U, Zhu R, Luten M, Isobe H, Pastushenko V, Perkmann T, Hinterdorfer P, Bosman GJ. Vesicles generated during storage of red cells are rich in the lipid raft marker stomatin. *Transfusion* 2008; 48: 451-62.
174. Sattler FR, Castaneda-Sceppa C, Binder EF, Schroeder ET, Wang Y, Bhasin S, Kawakubo M, Stewart Y, Yarasheski KE, Ulloor J, Colletti P, Roubenoff R & Azen SP. Testosterone and growth hormone improve body composition and muscle performance in older men. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2009 94 1991–2001
175. Scheidt HA, Badeau RM, Huster D (2010) Investigating the membrane orientation and transversal distribution of 17b-estradiol in lipid membranes by solid-state NMR. *Chem Phys Lipids* 163: 356–361.
176. Shannon M. Hawkins and Martin M. Matzuk, ‘‘Menstrual Cycle: Basic Biology’’, National Institutes of Health (NIH), *Ann N Y Acad Sci*. (2008) ; 1135: p.10–18
177. Shimodaira M1, Niwa T, Nakajima K, Kobayashi M, Hanyu N, Nakayama T. Gender differences in the relationship between serum uric acid and mean platelet volume in a Japanese general population. *Platelets*.

- 2014;25(3):202-6. doi: 10.3109/09537104.2013.790013.
178. Sivan Vadakkadath Meethal, Tianbing Lin, Hsien W.Chan, Erika Ginsburg, Andrea C. Wilson, Danielle N.Gray, Richard L.Bowen, Barbara K. Vondenhaar and Graig S. Atwood, ‘ Identification of a regulatory loop for the synthesis of neurosteroids: a steroidogenic acute regulatory protein-dependent mechanism involving hypothalamic-pituitary –gonadal axis receptors, (2009), *Journal of Neurochemistry (JNC)*, 110, p1014-1027
179. Sodegard R, Backstrom T, Shanbhag V, Carstensen H (1982) Calculation of free and bound fractions of testosterone and estradiol-17b to human plasma proteins at body temperature. *J Steroid Biochem* 16: 801–810
180. Sparrow RL, Veale MF, Healey G, Payne KA. Red blood cell (RBC) age at collection and storage influences RBC membrane-associated carbohydrates and lectin binding. *Transfusion* 2007; 47: 966-8.
181. Stapley R, Owusu BY, Brandon A, Cusick M, Rodriguez C, Marques MB, Kerby JD, Barnum SR, Weinberg JA, Lancaster JR Jr, Patel RP. Erythrocyte storage increases rates of NO- and nitrite scavenging: implications for transfusion-related toxicity. *Biochem J* 2012; 446: 499-508.
182. Strom JO, Theodorsson A, Theodorsson E. Mechanisms of estrogens’ dose-dependent neuroprotective and neurodamaging effects in experimental models of cerebral ischemia. *Int J Mol Sci* 2011;12:1533-62. doi: 10.3390/ijms12031533
183. Sturgis CC. The history of blood transfusion. *Bull Med Libr Assoc* 1942; 30: 105-112.
184. Subbiah, M.T et al, ‘Antioxidant potential of specific estrogens on lipid peroxidation’ (1993), 77(4): p.1095-7
185. Sugawara A, Nollet KE, Yajima K, Saito S, Ohto H. Preventing platelet-derived microparticle formation--and possible side effects--with prestorage leukofiltration of whole blood. *Arch Pathol Lab Med* 2010; 134: 771-5.
186. Sui X, Church TS, Meriwether RA, Lobelo F, Blair SN (2008) Uric acid and the development of metabolic syndrome in women and men. *Metabolism* 57: 845–852.
187. Sun D, Li S, Zhang X, Fernandez C, Chen W, Srinivasan SR, Berenson GS. Uric Acid is associated with metabolic syndrome in children and adults in a community: the bogalusa heart study. *PLoS One*. 2014 Oct

- 24;9(10):e89696. doi: 10.1371/journal.pone.0089696.
188. Suzanne Letourneau, Luiza Hernandez, Andrea N. Faris, Dana M. Spence,” Evaluating the effects of estradiol on endothelial nitric oxide stimulated by erythrocyte-derived ATP using a microfluidic approach”, (2010), Springer- Verlag, *Anal Bioanal Chem* 397: p.3369-3375
189. Svelc T, Svetina S. Stress-free state of the red blood cell membrane and the deformation of its skeleton. *Cell Mol Biol Lett* 2012; 17: 217-27.
190. Svetina S. Red blood cell shape and deformability in the context of the functional evolution of its membrane structure. *Cell Mol Biol Lett* 2012; 17: 171-81.
191. Tchoukalova YD, Koutsari C, Votruba SB, Tchkonina T, Giorgadze N, et al. (2010) Sex- and depot-dependent differences in adipogenesis in normal-weight humans. *Obesity* 18: 1875–1880.
192. Troy A. Roepke, “ Oestrogen Modulates Hypothalamic Control of Energy Homeostasis Through Multiple Mechanisms “, *Journal of Neuroendocrinol.*,(2009) 21(2): p.141–150
193. Vandenput L, Mellström D, Karlsson MK, Orwoll E, Labrie F, Ljunggren O, Ohlsson C. Serum estradiol is associated with lean mass in elderly Swedish men. *Eur J Endocrinol.* 2010 Apr;162(4):737-45. doi: 10.1530/EJE-09-0696.
194. Vandromme MJ, McGwin G Jr, Weinberg JA. Blood transfusion in the critically ill: does storage age matter? *Scand J Trauma Resusc Emerg Med* 2009; 17: 35.
195. Vettore L, De Matteis MC, Zampini P. A new density gradient system for the separation of human red blood cells. *Am J Hematol* 1980; 8: 291-7.
196. Vidgren HM, Agren JJ, Schwab U, Rissanen T, Hanninen O, et al. (1997) Incorporation of n-3 fatty acids into plasma lipid fractions, and erythrocyte membranes and platelets during dietary supplementation with fish, fish oil, and docosahexaenoic acid-rich oil among healthy young men. *Lipids* 32: 697–705.
197. Wagner GM, Chiu DT, Qju JH, Heath RH, Lubin BH. Spectrin oxidation correlates with membrane vesiculation in stored RBCs. *Blood* 1987; 69: 1777-81.
198. Wagner SJ. Transfusion-transmitted bacterial infection: risks, sources and interventions. *Vox Sang* 2004; 86: 157-63.

199. Wang Y, Yago T, Zhang N, Abdisalaam S, Alexandrakis G, Rodgers W, McEver RP. Cytoskeletal regulation of CD44 membrane organization and interactions with E-selectin. *J Biol Chem.* 2014 Oct 30. pii: jbc.M114.600767.
200. Weinberg JA, McGwin G Jr, Vandromme MJ, Marques MB, Melton SM, Reiff DA, Kerby JD, Rue LW 3rd. Duration of red cell storage influences mortality after trauma. *J Trauma* 2010; 69: 1427-31.
201. Werthessen NT, Baker CF, Borci B. The Presence of an Alcoholic, Ketonic Derivative of Estrone in Human and Rabbit Blood. *Science.* 1948 Jan 16;107(2768):64-6.
202. Wing LY, Chen YC, Shih YY, Cheng JC, Lin YJ, Jiang MJ. Effects of oral estrogen on aortic ROS-generating and scavenging enzymes and atherosclerosis in apoE-deficient mice. *Exp Biol Med* 2009;234:1037-46. doi: 10.3181/0811-RM-332
203. Yagi K and S. Komura, ‘‘Inhibitory effect of female hormones on lipid peroxidation’’, (1986), 13(6): p. 1051-5
204. Yang Q, Jian J, Katz S, Abramson SB, Huang X. 17-Estradiol inhibits iron hormone hepcidin through an estrogen responsive element half-site. *Endocrinology.* 2012;153:3170–3178.
205. YELDANDI AV, PATEL YD, LIAO M, KAO FT, RAO MS, REDDY JK, LE BEAU MM: Localization of the human urate oxidase gene (UOX) to 1p22. *Cytogenet Cell Genet* 61: 121-122, 1992.
206. Yoo TW, Sung KC, Shin HS, Kim BJ, Kim BS, et al. (2005) Relationship between serum uric acid concentration and insulin resistance and metabolic syndrome. *Circ J* 69: 928–933.
207. Yoshida T, AuBuchon JP, Dumont LJ, Gorham JD, Gifford SC, Foster KY, Bitensky MW. The effects of additive solution pH and metabolic rejuvenation on anaerobic storage of red cells. *Transfusion* 2008; 48: 2096-105.
208. Yoshida T, AuBuchon JP, Tryzelaar L, Foster KY, Bitensky MW. Extended storage of red blood cells under anaerobic conditions. *Vox Sang* 2007; 92: 22-31.
209. Yoshida T, Shevkoplyas SS. Anaerobic storage of red blood cells. *Blood Transfus* 2010; 8: 220-36.
210. Yu B, Lei C, Baron DM, Steinbicker AU, Bloch KD, Zapol WM.

- Diabetes augments and inhaled nitric oxide prevents the adverse hemodynamic effects of transfusing syngeneic stored blood in mice. Transfusion 2012; 52: 1410-22.
211. Yu B, Raheer MJ, Volpato GP, Bloch KD, Ichinose F, Zapol WM. Inhaled nitric oxide enables artificial blood transfusion without hypertension. Circulation 2008; 117: 1982
212. Yuan L, Gu X, Yin Z, Kang W. Antioxidant activities in vitro and hepatoprotective effects of nelumbo nucifera leaves in vivo. *Afr J Tradit Complement Altern Med.* 2014 Apr 3;11(3):85-91.
213. Zolla L, D'Alessandro A. Shaking hands with the future through omics application in transfusion medicine and clinical biochemistry. Blood Transfus 2012; 10 Suppl 2:s1-3.
214. Γεώργιος Μ. Ιατράκης “Βιβλίο Γυναικολογίας”, δεύτερη έκδοση, (p. 81-84) Εκδόσεις ΔΕΣΜΟΣ, Αθήνα (2012), ISBN: 978-960-99863-4-2
215. Hajdu SI. Blood transfusion from antiquity to the discovery of the Rh factor. *Ann Clin Lab Sci* 2003; 33: 471-3.
216. Ιωάννης Ν. Μπόντης “ Βασικές Γνώσεις Μαιευτικής & Γυναικολογίας”, δεύτερη έκδοση,(p.41-49) University Studio Press, Θεσσαλονίκη (2007), ISBN: 960-12-1126-8.