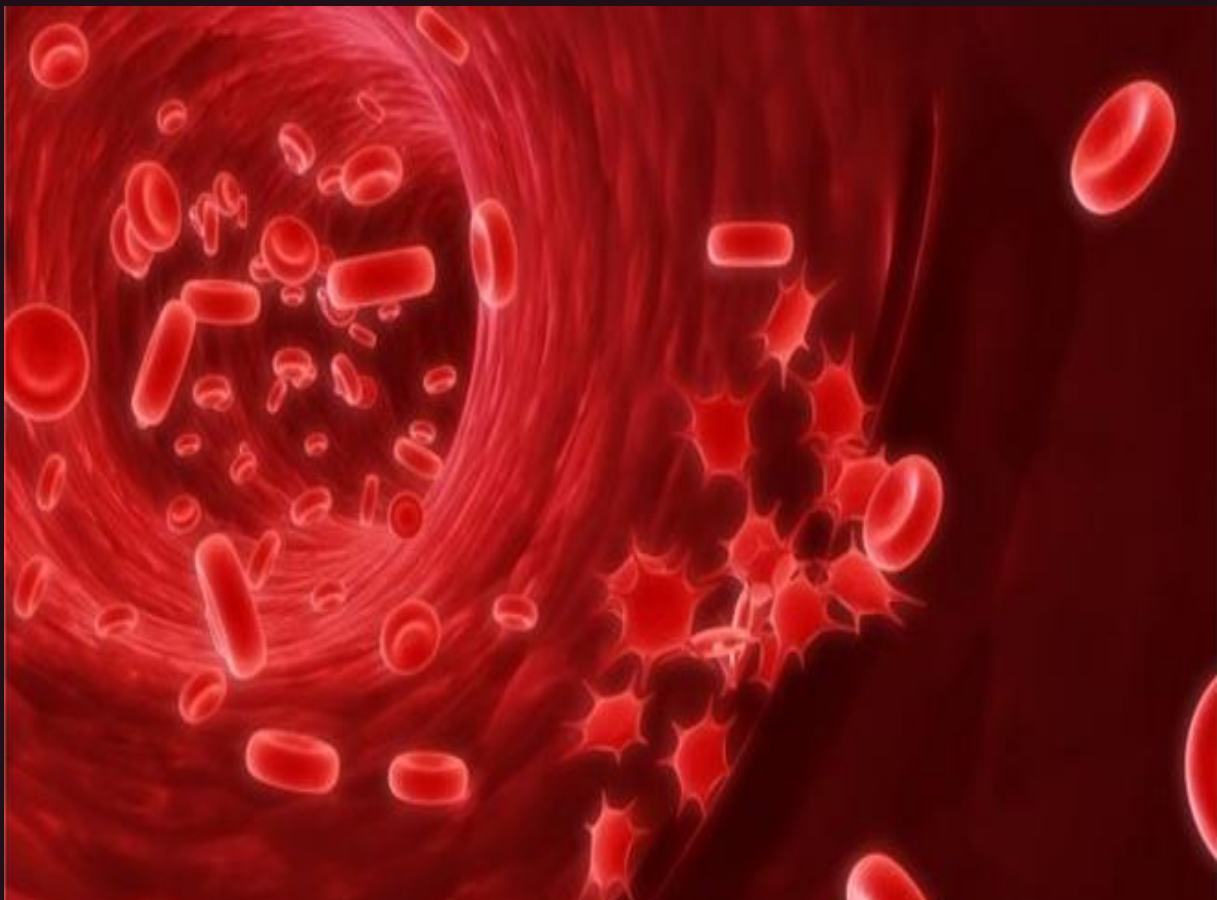


ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΑΘΗΝΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΠΡΟΝΟΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΩΝ

**ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ  
ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗΣ ΣΗΜΑΣΙΑΣ ΓΙΑ ΤΗ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ  
ΣΥΜΠΥΚΝΩΜΕΝΩΝ ΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΩΝ**



**Κυριακή Γεωργιάδη** 09004

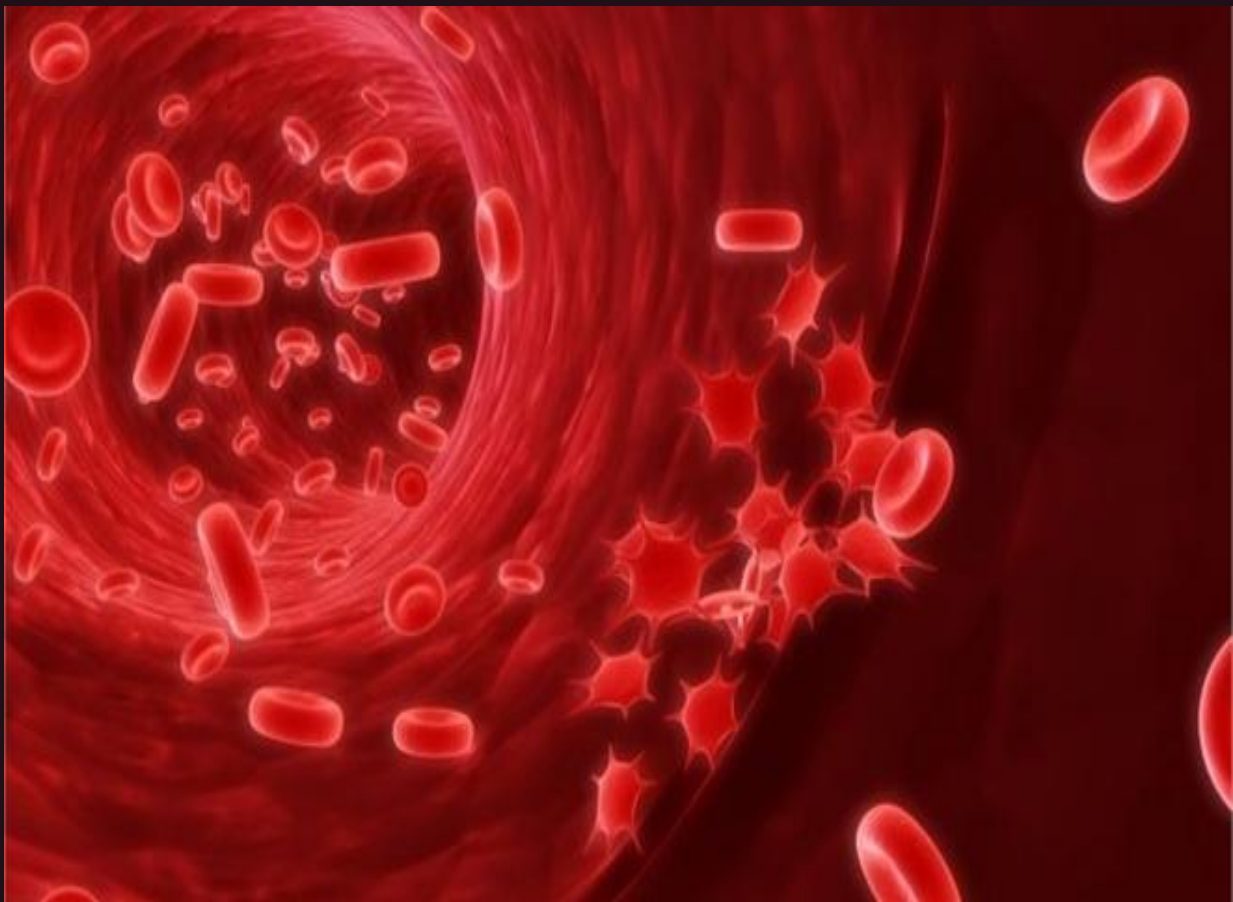
**Βασίλειος Μπαλωμένος** 09021

Εισηγητής: Αναστάσιος Κριεμπάρδης  
Καθηγητής Εφαρμογών Αιματολογίας – Αιμοδοσίας

Αθήνα, Νοέμβριος 2013

*TECHNOLOGICAL EDUCATIONAL INSTITUTE OF ATHENS  
FACULTY OF HEALTH AND CARING PROFESSIONS  
DEPARTMENT OF MEDICAL LABORATORIES*

**DETECTING ERYTHROCYTE INDICATORS OF  
PATHOLOGICAL IMPORTANCE FOR PACKED RED  
BLOOD CELLS STORAGE**



**Kyriaki Georgiadi** 09004  
**Vassilios Balomenos** 09021

Supervisor: Anastasios Kriebardis  
Lecturer of Haematology and Transfusion Medicine

Athens, November 2013





*Στους γονείς μας...*

*Για την απεριόριστη υποστήριξη και κατανόηση...*

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε στο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Αθήνας (ΤΕΙ Αθήνας) υπό την επίβλεψη του κ. Αναστάσιου Κριεμπάρδη, Καθηγητή εφαρμογών Αιματολογίας – Αιμοδοσίας.

Θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε τον εισηγητή μας που υπήρξε μέντορας και υποστηρικτής των προσπαθειών μας καθ' όλη τη διάρκεια της συνεργασίας μας αλλά και όλες τις εθελόντριες αιμοδότριες που συμμετείχαν και ήταν ο ακρογωνιαίος λίθος για την υλοποίηση αυτής της έρευνας.

Επίσης, ιδιαίτερες ευχαριστίες οφείλουμε στους: Παναγιώτη Λιόλιο, εκπαιδευτικό, για την διόρθωση του κειμένου, Παναγιώτη Μαλλή, Μεταπτυχιακό φοιτητή, για την πολύτιμη βοήθειά του στη συγγραφή αυτής της εργασίας και Μαρία Παλαιοπούλου, φοιτήτρια Ιατρικών Εργαστηρίων, για την συμβολή της στις εργαστηριακές δοκιμές.

Ευχαριστούμε, τέλος, τους Καριοφύλλη Καραμπέρη και Θεόδωρο Πουλογιαννόπουλο.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

**ΕΙΣΑΓΩΓΗ:** Η οιστραδιόλη ( $E_2$ ), μία υποκατηγορία των οιστρογόνων, έχει δειχθεί ότι προσδίδει αντιοξειδωτικές ιδιότητες στη φωσφολιπιδιακή μεμβράνη των ερυθροκυττάρων αυξάνοντας την ανθεκτικότητά τους σε καταστάσεις στρες ή μηχανικής πίεσης.

**ΣΚΟΠΟΣ:** Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η μελέτη ερυθροκυττάρων από γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας για να δειχθεί πιθανά ότι είναι ποιοτικότερα από αυτά των αντρών.

**ΥΛΙΚΑ & ΜΕΘΟΔΟΙ:** Στην παρούσα μελέτη, 50 υγιείς εθελόντριες 18 έως 25 ετών βάρους  $>50\text{Kg}$  και φυσιολογικής αρτηριακής πίεσης αιμοδότησαν ποσότητα αίματος  $12\text{mL}$ . Οι αιμοδότριες, αξιολογήθηκαν για τον τρόπο ζωής τους μέσα από το ερωτηματολόγιο καθημερινών συνηθειών καθώς και για αιματολογικές και ερυθροκυτταρικές παραμέτρους. Ταυτόχρονα, πραγματοποιήθηκε η δοκιμασία οσμωτικής ευθραυστότητας των ερυθροκυττάρων καθώς και η δοκιμασία μέτρησης της ελεύθερης αιμοσφαιρίνης πλάσματος.

**ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ:** Οι περισσότερες από τις μεταβλητές που εξετάστηκαν βρέθηκαν εντός των φυσιολογικών ορίων με εξαίρεση τις τιμές της αιμοσφαιρίνης (46% των τιμών ήταν  $<12\text{g/dL}$ ) και των αιμοπεταλίων (18% των τιμών ήταν  $>380 \times 10^3/\text{L}$ ). Η δοκιμασία της οσμωτικής ευθραυστότητας έδειξε ότι τα ερυθροκύτταρα των εθελοντριών αιμοδοτριών άντεχαν περισσότερο στη μηχανική λύση. Τα ερυθρά αιμοσφαίρια παρουσίασαν ανθεκτικότητα στη λύση μέχρι και σε διάλυμα συγκέντρωσης 0,4% NaCl ανεξαρτήτως του τρόπου ζωής τους. Όσον αφορά τον τρόπο ζωής των εθελοντριών, τόσο το κάπνισμα όσο και η κατανάλωση αλκοόλ φαίνεται πως δεν επηρεάζουν τη δράση των οιστρογόνων ως προς την αύξηση της αντοχής των ερυθρών αιμοσφαιρίων.

**ΣΥΖΗΤΗΣΗ:** Οι δοκιμασίες που έγιναν στην παρούσα μελέτη δείχνουν την πιθανή εμπλοκή της οιστραδιόλης και των οιστρογόνων στην αντοχή των ερυθροκυττάρων. Ταυτόχρονα, ο μη ενδεδειγμένος τρόπος ζωής δεν μπορεί να αποκλειστεί πλήρως ως παράγοντας μεταβολής της δράσης της οιστραδιόλης στα ερυθροκύτταρα.



## ABSTRACT

**INTRODUCTION:** Estradiol (E<sub>2</sub>), an estrogens' subcategory, has been shown to give antioxidant properties to the phospholipid membrane of erythrocytes, augmenting their resistance under stress or mechanical pressure.

**PURPOSE:** The purpose of this project was to study erythrocytes from women of reproductive age so that it could be shown that they have possibly better quality from those of men.

**MATERIALS & METHODS:** At this study, 50 healthy female volunteers aged 18 to 25, weighting >50Kg and experiencing normal blood pressure, donated 12mL of blood. The blood donors were evaluated for their lifestyle via an ordinary habits questionnaire as well as for hematological and erythrocytes' parameters. Meanwhile, tests for osmotic fragility and free-plasma hemoglobin were run.

**RESULTS:** Most of the variants tested were found inside the normal ranges except for the values of hemoglobin (46% of the values were <12g/dL) and platelets (18% of the values were >380x10<sup>3</sup>/L). The osmotic fragility test showed that the volunteers' red blood cells resisted more to mechanical lysis. The erythrocytes showed resistance to lysis up to a solution with concentration 0.4% NaCl independently from the volunteers' lifestyle. As far as the lifestyle is concerned, both smoking and alcohol consumption do not seem to interfere to the estrogens' activity concerning the augmentation of the erythrocyte's resistance.

**DISCUSSION:** The tests that were run in this study indicate a possible interference of estradiol (and estrogens) to the erythrocytes' resistance. Meanwhile, an improper way of living cannot be completely disqualified as an alternative factor of estradiol's activity concerning the erythrocytes.

## ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ

ATP: Τριφωσφορική Αδενοσίνη

NO: Μονοξείδιο του αζώτου

Ca<sup>+2</sup>: Άτομο ασβεστίου

cGMP: Κυκλική Μονοφωσφορική Γουανοσίνη

GMP: Μονοφωσφορική Γουανοσίνη

SaRBCs: Γηρασμένα ερυθροκύτταρα σε ασκό αιμοδοσίας

SNO-Hb: Αζωτοποιημένη με θείο αιμοσφαιρίνη

## ABBREVIATIONS

ATP: Adenosine Triphosphate

NO: Nitric oxide

Ca<sup>+2</sup>: Calcium

cGMP: Cyclic Monophosphate Guanosine

GMP: Monophosphate Guanosine

SaRBCs: Storage aged Red Blood cells

SNO-Hb: S-nitrosolihemoglobin

## ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ

<b>1. ΓΕΝΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ</b>	<b>1</b>
<b>2. ΕΜΜΗΝΟΡΡΥΣΙΑΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ</b>	<b>2</b>
2.1 Εισαγωγή	2
2.2 Φυσιολογία	2
2.2.1 Ορμονική δραστηριότητα	2
2.2.1.1 Ορμόνη GnRH	3
2.2.1.2 Ορμόνη LH	3
2.2.1.3 Ορμόνη FSH	3
2.2.1.4 Δράση ορμονών	4
2.2.2 Επιμέρους κύκλοι	5
2.2.2.1 Ωοθηκικός κύκλος	5
I. Ωοθυλακική φάση	5
II. Ωορρηκτική φάση	6
III. Ωχρινική φάση	8
2.2.2.2 Ενδομητρικός κύκλος	9
I. Εμμηνορρυσιακή φάση	9
II. Παραγωγική φάση	10
III. Εκκριτική φάση	10
<b>3. ΟΙΣΤΡΟΓΟΝΑ</b>	<b>12</b>
3.1 Εισαγωγή	12
3.2 Είδη οιστρογόνων	12
3.2.1 Οιστριόλη (E <sub>3</sub> )	13
3.2.2 Οιστραδιόλη (E <sub>2</sub> )	13
3.2.3 Οιστρόνη (E <sub>1</sub> )	14
3.3 Έκκριση οιστρογόνων	15
3.4 Βιοσύνθεση οιστρογόνων	17
3.5 Μεταβολισμός οιστρογόνων	18
3.6 Οιστραδιόλη	18
3.6.1 Οιστραδιόλη στις γυναίκες	18
3.6.2 Οιστραδιόλη στους άνδρες	19
3.6.3 Οιστραδιόλη στην εγκυμοσύνη	19
3.6.4 Οιστραδιόλη στην ψυχολογία	20
3.6.5 Οιστραδιόλη στην παχυσαρκία	20
<b>4. ΟΙΣΤΡΟΓΟΝΑ &amp; ΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΑ</b>	<b>22</b>
<b>5. ΣΙΔΗΡΟΣ &amp; ΑΠΟΘΗΚΕΥΤΙΚΗ ΒΛΑΒΗ</b>	<b>24</b>
5.1 Εισαγωγή	24
5.2 Ρόλος σιδήρου	24
5.3 Διατροφικός σίδηρος	26
5.4 Απορρόφηση σιδήρου	26
5.4.1 Αιμικός σίδηρος	26
5.4.2 Μη αιμικός σίδηρος	26
5.4.3 Σίδηρος στις γυναίκες	29
5.4.4 Σίδηρος στους άνδρες	29
5.5 Αποθηκευτική βλάβη και συσχέτιση με Fe	29

<b>6. ΝΟ &amp; ΑΠΟΘΗΚΕΥΤΙΚΗ ΒΛΑΒΗ</b>	<b>33</b>
6.1 Παραγωγή ΝΟ	33
6.2 Δράση ΝΟ	33
6.3 Αποθηκευτική βλάβη και συσχέτιση με ΝΟ	33
6.3.1 Μοντέλο 1 <sup>ο</sup>	34
6.3.2 Μοντέλο 2 <sup>ο</sup>	34
6.3.3 Μοντέλο 3 <sup>ο</sup>	35
6.3.4 Μοντέλο 4 <sup>ο</sup>	35

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΥΛΙΚΑ & ΜΕΘΟΔΟΙ**

<b>ΕΙΣΑΓΩΓΗ</b>	<b>39</b>
<b>1. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΟΜΑΔΑΣ ΑΙΜΑΤΟΣ ΚΑΤΑ ΑΒΟ</b>	<b>40</b>
1.1 Δείγμα	40
1.2 Αντιδραστήρια	40
1.3 Διαδικασία	40
1.4 Ερμηνεία	41
<b>2. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ RHESUS</b>	<b>41</b>
2.1 Προσδιορισμός Rh(D) τύπου – Δοκιμασία Πλάκας	41
2.1.1 Δείγμα	41
2.1.2 Αντιδραστήρια	42
2.1.3 Κίνδυνοι	42
2.1.4 Διαδικασία	42
2.1.5 Ερμηνεία	43
2.2 Προσδιορισμός RH(D) Τύπου – Δοκιμασία Σωλήνα	43
2.2.1 Δείγμα	43
2.2.2 Διαδικασία	44
2.2.3 Ερμηνεία	44
2.3 Έλεγχος για D-weak	45
2.3.1 Αρχή Μεθόδου	45
2.3.2 Δείγμα	45
2.3.3 Αντιδραστήρια	45
2.3.4 Διαδικασία	46
2.3.5 Ερμηνεία	46
<b>3. ΟΣΜΩΤΙΚΗ ΑΝΤΙΣΤΑΣΗ ΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΩΝ</b>	<b>47</b>
3.1 Βήματα	47
<b>4. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΕΛΕΥΘΕΡΗΣ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗΣ ΠΛΑΣΜΑΤΟΣ</b>	<b>48</b>
4.1 Βήματα	48
<b>5. ΕΠΙΣΤΡΩΣΗ ΑΙΜΑΤΟΣ</b>	<b>49</b>
<b>6. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΒΜΙ</b>	<b>49</b>
6.1 Τύπος	49
6.2 Ερμηνεία αποτελέσματος	49

**ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ**

<b>ΕΙΣΑΓΩΓΗ</b>	<b>50</b>
<b>1. ΑΡΗΤΗΡΙΑΚΗ ΠΙΕΣΗ</b>	<b>51</b>
<b>2. ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ</b>	<b>53</b>
2.1 Λευκά Αιμοσφαίρια	53
2.1.1 Συνολικός Αριθμός Λευκών Αιμοσφαιρίων (WBCs)	54
2.1.2 Κοκκιοκύτταρα (GRAN)	54
2.1.2.1 Ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρρηνα	55
2.1.2.2 Ηωσινόφιλα	55
2.1.2.3 Βασεόφιλα	56
2.1.3 Λεμφοκύτταρα (LYM)	56
2.1.3.1 Κυτταρολογία	57
2.1.3.2 Λειτουργία	58
2.1.3.3 Χρόνος ζωής	58
2.1.3.4 Πλασματοκύτταρα	58
2.1.4 Ελάχιστη Ανασταλτική Αραιώση (MID)	59
2.2 Ερυθρά Αιμοσφαίρια	60
2.3 Αιμοσφαιρίνη	60
2.4 Αιματοκρίτης	62
2.5 Ερυθροκυτταρικοί Δείκτες	64
2.5.1 Μέσος Όγκος Ερυθροκυττάρων (MCV)	64
2.5.2 Μέση Περιεκτικότητα Αιμοσφαιρίνης ανά Ερυθροκύτταρο	65
2.5.3 Μέση Πυκνότητα Αιμοσφαιρίνης (MCHC)	65
2.5.4 Εύρος κατανομής του όγκου των ερυθροκυττάρων (RDW)	66
2.6 Αιμοπετάλια	66
2.6.1 Αιμοπεταλιακοί Δείκτες	66
2.6.1.1 Αιμοπεταλιοκρίτης (PCT)	67
2.6.1.2 Εύρος Κατανομής Αιμοπεταλίων (PDW)	67
2.6.1.3 Μέσος Όγκος Αιμοπεταλίων (MPV)	67
<b>3. ΟΣΜΩΤΙΚΗ ΕΥΘΡΑΥΣΤΟΤΗΤΑ</b>	<b>68</b>
3.1 Κατασκευή Πρότυπης Καμπύλης	68
3.2 Επεξήγηση Πρότυπης Καμπύλης & Αποτελεσμάτων	68
<b>4. ΜΕΤΡΗΣΗ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗΣ</b>	<b>72</b>
<b>5. ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΟ</b>	<b>73</b>

**ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΣΥΖΗΤΗΣΗ**

Συζήτηση	89
Συμπέρασμα	93

**ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

### 1. ΓΕΝΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

Η παρούσα εργασία είχε σκοπό την ανίχνευση δεικτών στα ερυθροκύτταρα ή το πλάσμα γυναικών, οι οποίες πληρούσαν τα κριτήρια αιμοδοσίας<sup>1</sup>.

Ύστερα από ενημέρωση των υποψηφίων δοτών, δινόταν το ερωτηματολόγιο της αιμοδοσίας (Παράρτημα 1 – Κεφάλαιο «Υλικά & Μέθοδοι»), το ερωτηματολόγιο σχετικά με τις καθημερινές συνήθειες (Παράρτημα 2 - Κεφάλαιο «Υλικά & Μέθοδοι») καθώς και το έντυπο συγκατάθεσης (Παράρτημα 3 - Κεφάλαιο «Υλικά & Μέθοδοι»)

Θεωρήθηκε απαραίτητη η ημερομηνία ωορρηξίας κάθε αιμοδότριας διότι τα επίπεδα των οιστρογόνων ποικίλλουν τόσο ανάμεσα στις αιμοδότριες όσο και ανάλογα με την ημέρα του κύκλου. [Sugioka και συν. 1987]

Πρόσφατες έρευνες έχουν δείξει ότι η οιστραδιόλη E<sub>2</sub> επηρεάζει θετικά την αντιοξειδωτική άμυνα του ερυθρού αιμοσφαιρίου σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε σε υγιείς εμμηνορρυσιακές γυναίκες 20-27 ετών και έδειξε ότι προσδίδει αντιοξειδωτικές ιδιότητες στην φωσφολιπιδική μεμβράνη των ερυθρών αιμοσφαιρίων. [Massafra και συν.]

---

<sup>1</sup>Συστολική πίεση 110-180 mmHg, Διαστολική πίεση 50-100 mmHg, Βάρος μεγαλύτερο από 50 kg.

## 2. ΕΜΜΗΝΟΡΡΥΣΙΑΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ

Η συγκεκριμένη πειραματική εργασία περιλαμβάνει ως εθελόντριες γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας 18 εως 25 ετών και γι' αυτό θα ήταν χρήσιμο να αναφερθούν και να αναλυθούν όλες οι διαδικασίες του εμμηνορρυσιακού κύκλου του γυναικείου φύλου. Μια τέτοια ανάλυση είναι όχι μόνο επιμορφωτική, αλλά βοηθά στην περαιτέρω κατανόηση της ορμονικής δραστηριότητας του εμμηνορρυσιακού κύκλου της γυναίκας, κάτι που αποτελεί το καθεαυτό αντικείμενο αυτής της πτυχιακής εργασίας.

### 2.1 Εισαγωγή

Το γυναικείο αναπαραγωγικό σύστημα είναι σχεδιασμένο έτσι ώστε να διεξάγει ποικίλες λειτουργίες όπως η παραγωγή των ωαρίων, η σύλληψη και η παραγωγή των ορμονών που ρυθμίζουν τον αναπαραγωγικό κύκλο αλλά και η τελική γονιμοποίηση, εμφύτευση και ανάπτυξη του ωαρίου.

Οι γυναίκες κατά την αναπαραγωγική ηλικία βιώνουν κύκλους ορμονικής δραστηριότητας που επαναλαμβάνονται σε διάστημα περίπου ενός μηνός. Με κάθε κύκλο το γυναικείο σώμα προετοιμάζεται για μια πιθανή εγκυμοσύνη ενώ κατά τη διάρκεια της εμμηνόπαυσης το αναπαραγωγικό σύστημα σταδιακά σταματά να παράγει τις απαραίτητες ορμόνες για τη σωστή διεξαγωγή του αναπαραγωγικού κύκλου.

### 2.2 Φυσιολογία

Ο καταμήνιος κύκλος αντανακλά μια σύνθετη αλληλεπίδραση μεταξύ του εγκεφάλου, του υποφυσιακού αδένου και της ωοθήκης. Περιλαμβάνει μια σειρά από «αλλαγές» στην διάθεση, την θερμοκρασία, τα τοιχώματα της μήτρας, τις ορμόνες και τον κύκλο του ωαρίου στις γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας. Αυτές οι «αλλαγές» επεξηγούνται αναλυτικά στα επόμενα υποκεφάλαια.

#### 2.2.1 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 εγκέφαλο και συγκεκριμένα στην υπόφυση. Η τρίτη τα οιστρογόνα, την προγεστερόνη και τα ανδρογόνα, ορισμένα από τα οποία παράγονται στην ωοθήκη.

#### 2.2.1.1 Ορμόνη GnRH

Η ορμόνη GnRH (Gonadotropin Releasing Hormone) είναι η ορμόνη απελευθέρωσης γοναδοτροπινών και ονομάζεται γοναδοεκλυτίνη. Η ορμόνη αυτή (σε αντίθεση με όλες τις άλλες) επηρεάζεται και από νευρικά ερεθίσματα. Ο υποθαλαμο-υποφυσιακο-ωοθηκικός άξονας ρυθμίζει τον εμμηνορρυσιακό κύκλο. Ο υποθάλαμος ασκεί τον μεγαλύτερο έλεγχο. Οι νευρώνες του υποθαλάμου συνθέτουν, αποθηκεύουν και απελευθερώνουν την ορμόνη GnRH. Μακριά πυλαία αγγεία μεταφέρουν την ορμόνη GnRH στην πρόσθια υπόφυση, όπου συνδέεται με υποδοχείς στην επιφάνεια των γοναδοτρόπων κυττάρων. Το αποτέλεσμα είναι η σύνθεση των ορμονών FSH και LH.

#### 2.2.1.2 Ορμόνη LH

Η ορμόνη LH (Luteinizing Hormone) είναι η ωχρινοτρόπος ορμόνη. Δρά πολλαπλά στο ωοθυλάκιο. Η πιο σημαντική από τις δράσεις της είναι η παραγωγή των στεροειδών ορμονών, των οιστρογόνων και της προγεστερόνης.

#### 2.2.1.3 Ορμόνη FSH

Η ορμόνη FSH (Follicular Stimulating Hormone) είναι η θυλακιοτρόπος ορμόνη. Προκαλεί την παραγωγή οιστρογόνων και προάγει την ωρίμανση των ωαρίων και την ωοθυλακιορρηξία.

\*GnRH: Γοναδοεκλυτίνη

\*\*FSH: Θυλακιοτρόπος ορμόνη

\*\*\*LH: Ωχρινοτρόπος ορμόνη

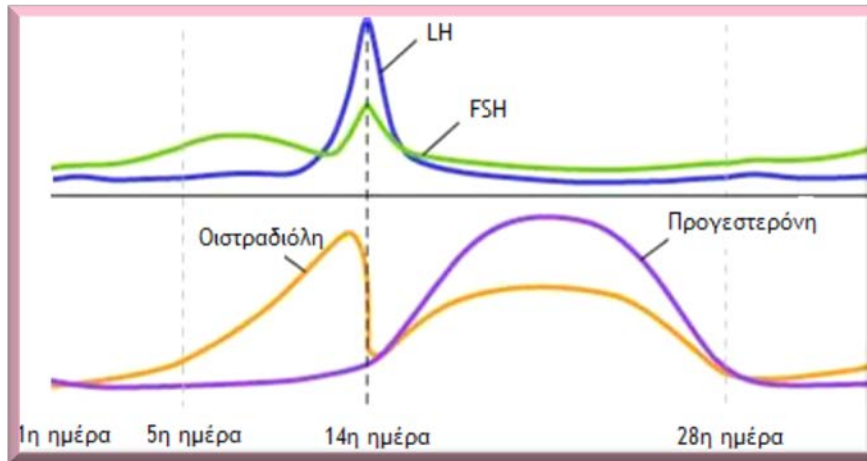
#### 2.2.1.4 Δράση ορμονών

Οι τροφικές ορμόνες FSH και LH διεγείρουν την ωοθήκη να συνθέσει και να εκκρίνει τα στεροειδή του φύλου **οιστρογόνα** και **προγεστερόνη**. Οι ωοθήκες επίσης, παράγουν πεπτίδια που ονομάζονται **ανασταλτίνες** και **ενεργοποιητίνες**. Μαζί, αυτά τα ωοθηκικά στεροειδή και πεπτίδια ασκούν ρύθμιση στον υποθάλαμο και την πρόσθια υπόφυση. Αυτή η πολύπλοκη αλληλεπίδραση είναι μοναδική ανάμεσα στα ενδοκρινικά συστήματα του σώματος καθώς ανακυκλώνει ένα μηνιαίο πρότυπο ορμονικών διακυμάνσεων. Επειδή η κυκλική έκκριση των οιστρογόνων και της προγεστερόνης ελέγχει κυρίως την ωρίμανση του ενδομητρίου, η έμμηνος ρύση αντανακλά αυτές τις κυκλικές αλλαγές στις ορμονικές εκκρίσεις. [Doufas και συν.2000]

Κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγικής ηλικίας της γυναίκας, η λειτουργία των ωοθηκών παρουσιάζει εναλλαγή φάσεων, οι οποίες επαναλαμβάνονται κυκλικά. Η κυκλική λειτουργία των ωοθηκών επαναλαμβάνεται κάθε εικοσιοκτώ περίπου ημέρες κατά μέσο όρο, που αποτελούν τον κύκλο της γυναίκας. Στο διάστημα αυτό παρατηρείται ωρίμανση του ωοθυλακίου η οποία συνήθως συμβαίνει στη μέση του κύκλου. [Doufas και συν.2000]

Στην αρχή κάθε νέου κύκλου (έναρξη της εμμήνου ρύσεως) έχουμε αυξημένη έκκριση των ορμονών FSH και LH, υπό την επίδραση της ορμόνης GnRH. Το ωοθυλάκιο που ωριμάζει, σταδιακά αρχίζει να παράγει αυξανόμενες μέρα με την ημέρα ποσότητες οιστρογόνων. Λίγο πριν το μέσο του κύκλου η παραγωγή οιστρογόνων, LH και FSH «εκτινάσσεται» απότομα. Η LH προκαλεί την ωοθυλακιόρρηξη. Μετά την ωοθυλακιόρρηξη αρχίζει η παραγωγή προγεστερόνης αλλά και των οιστρογόνων. Οι δυο αυτές ορμόνες οδηγούν σε μείωση της παραγωγής LH και FSH. [Doufas και συν.2000]

Προς το τέλος του κύκλου η παραγωγή οιστρογόνων και προγεστερόνης σχεδόν σταματά, οπότε μέσω της κυκλοφορίας του αίματος ο εγκέφαλος «αντιλαμβάνεται» ότι ο κύκλος ολοκληρώθηκε κι ένας νέος πρέπει να αρχίσει. Κατά αυτόν τον τρόπο, δίνει σήμα παραγωγής της GnRH και αυτή με τη σειρά της αυξάνει την παραγωγή FSH και LH για την διεξαγωγή ενός καινούργιου κύκλου.



**Εικόνα 1.1** Αναπαράσταση της ορμονικής δραστηριότητας κατά τη διάρκεια ενός καταμήνιου κύκλου [Πηγή: [www.visualphotos.com](http://www.visualphotos.com)]

### 2.2.2 Επιμέρους κύκλοι

Αν και οι εμμηνορρυσιακοί κύκλοι είναι κανονικοί κατά τη διάρκεια των αναπαραγωγικών χρόνων, το μήκος του εμμηνορυσιακού κύκλου μπορεί να ποικίλει ευρέως εξαιτίας διαταραχών στην νευρο-ενδοκρινική λειτουργία.

Κατά την διάρκεια των αρχικών αναπαραγωγικών χρόνων και κατά την προ-εμμηνοπαυσιακή περίοδο λαμβάνουν χώρα αξιοσημείωτες μεταβολές στη διάρκεια του καταμήνιου κύκλου. Ο συνήθης εμμηνορυσιακός κύκλος διαρκεί περίπου 28 ημέρες κατά μέσο όρο. Ο εμμηνορυσιακός κύκλος στην πραγματικότητα περιλαμβάνει κυκλικές αλλαγές σε 2 (δυο) όργανα: την **ωοθήκη** και την **μήτρα** και κατά συνέπεια κατά τη διάρκειά του θα λαμβάνουν χώρα 2 (δυο) κύκλοι: ο **ωοθηκικός κύκλος** και ο **ενδομητρικός κύκλος**. [Womenshealth.gov, 2007]

#### 2.2.2.1 Ωοθηκικός κύκλος

Ο ωοθηκικός κύκλος χωρίζεται στις εξής τρεις φάσεις:

##### I. Ωοθυλακική φάση

Η ωοθυλακική φάση του ωοθηκικού κύκλου είναι η πρώτη φάση του καταμήνιου κύκλου και ξεκινά με την έναρξη της εμμήνου ρύσεως.

Διαρκεί περίπου δεκατέσσερις ημέρες, από την 1<sup>η</sup> έως την 14<sup>η</sup> ημέρα του κύκλου, αλλιώς ονομάζεται θυλακιώδης ή θυλακική και είναι η πιο μεταβλητή του κύκλου. Σε αυτή την φάση διαδραματίζουν μεγάλο και σημαντικό ρόλο οι ορμόνες FSH και LH που απελευθερώνονται από την υπόφυση του εγκεφάλου και μέσω της κυκλοφορίας του αίματος φτάνουν στις ωοθήκες.

Τα επίπεδα της ορμόνης FSH έχουν ήδη αρχίσει να αυξάνουν προς το τέλος της ωχρινικής φάσης του προηγούμενου κύκλου ενώ σύντομα μετά την αύξηση και νωρίς κατά την ωοθυλακική φάση, τα επίπεδα της ορμόνης LH αυξάνουν, επίσης. Η αυξημένη έκκριση της ορμόνης FSH είναι σημαντική για την διέγερση και «επιστράτευση» μιας ομάδας 15 έως 20 ωαρίων από τις ωοθήκες, το καθένα από τα οποία εσωκλείεται στο δικό του «κέλυφος» που ονομάζεται **ωοθυλάκιο**. Μετά την έναρξη ανάπτυξης των ωοθυλακίων (θυλακιογένεση), τα κοκκιώδη κύτταρα των θυλακίων πυροδοτούν την παραγωγή του οιστρογόνου **οιστραδιόλη**. Καθώς η έκκριση των οιστρογόνων αυξάνει σταδιακά κατά την μεσο-θυλακική φάση, η έκκριση της ορμόνης FSH μειώνεται με αργούς ρυθμούς εξασφαλίζοντας έτσι προσεκτική ορμονική ισορροπία που επιτρέπει στο σώμα της γυναίκας να περιορίζει τον αριθμό των ωοθυλακίων που ωριμάζουν σε ωάρια. Τελικά, ένα από τα ωοθυλάκια σε μία από τις ωοθήκες επικρατεί και συνεχίζει να ωριμάζει. Αυτό το κυρίαρχο ωοθυλάκιο καταστέλλει την ανάπτυξη των υπόλοιπων ωοθυλακίων με αποτέλεσμα να συνεχίζει να αναπτύσσεται μόνο του με τελικό σκοπό την ωορρηξία και την γονιμοποίηση από τα σπερματοζωάρια. [Womenshealth.gov, 2007]

## II. Ωορρηκτική φάση

Η ωορρηκτική φάση ονομάζεται αλλιώς **ωορρηξία** και ξεκινά περίπου δεκατέσσερις ημέρες μετά την έναρξη της ωοθυλακικής φάσης, κατά την 14<sup>η</sup> ημέρα του καταμήνιου κύκλου. Βρίσκεται στο μέσο του καταμήνιου κύκλου με την επόμενη εμμηνόρροια να ξεκινά περίπου 14 μέρες μετά.

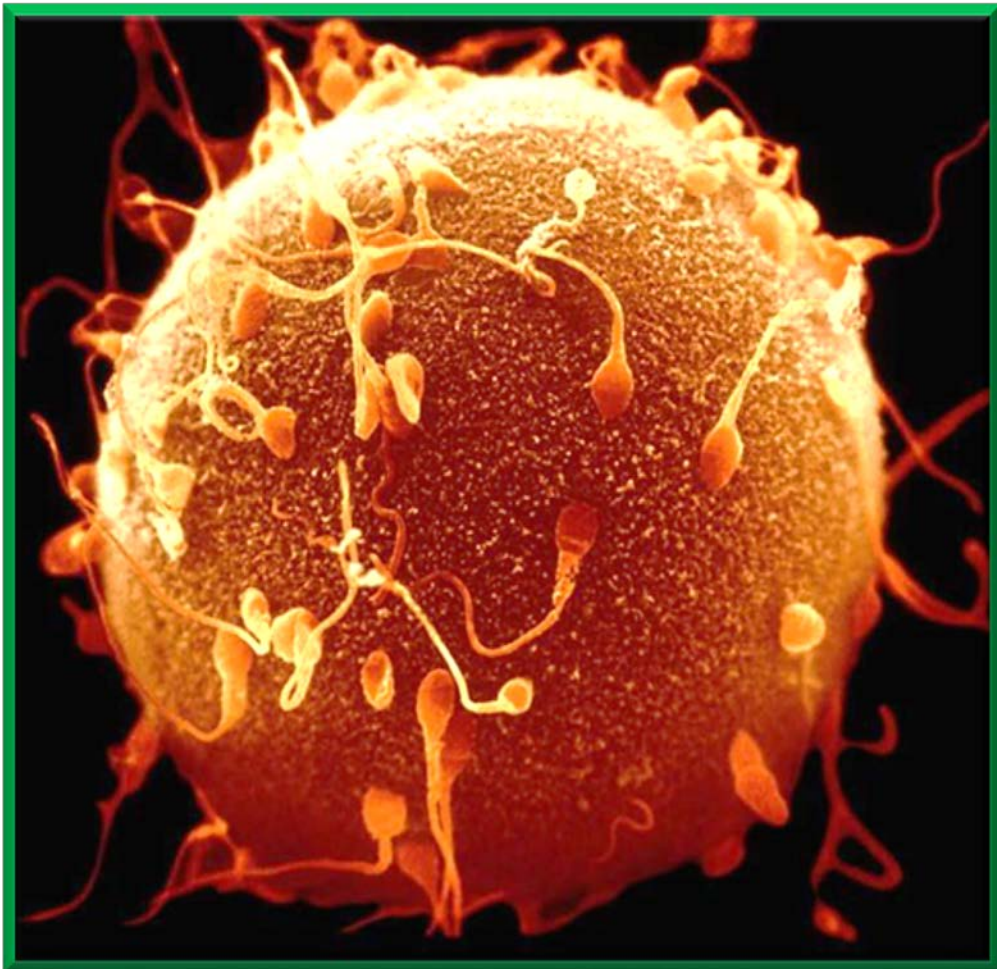
Κατά τη διάρκεια της φάσης της ωορρηξίας λαμβάνουν χώρα τα εξής:

1) Ακριβώς πριν την ωορρηξία, η θερμοκρασία του σώματος ανεβαίνει με αύξηση μέχρι 0,4°C. Η αύξηση στην έκκριση της οιστραδιόλης γίνεται πιο γρήγορη και προκαλεί «παλιρροιακό κύμα» ορμόνης LH, που έχει ως αποτέλεσμα

την απελευθέρωση του ωαρίου από την ωοθήκη με κατεύθυνση την σάλπιγγα όπου θα «ταξιδέψει» μέχρι την γονιμοποίηση.

2) Καθώς το ωάριο απελευθερώνεται, παγιδεύεται από προεξοχές και τριχοειδή που βρίσκονται στην άκρη της σάλπιγγας και με αυτό τον τρόπο μεταφέρεται στο εσωτερικό της.

3) Τελικά, η ποσότητα και η πυκνότητα της τραχηλικής βλέννης αυξάνεται αρκετά ενώ αν η γυναίκα έχει σεξουαλική επαφή κατά την φάση αυτή, η παχιά βλέννη παγιδεύει το σπέρμα, το θρέφει και το βοηθά να κινηθεί προς το ωάριο για να υπάρξει γονιμοποίηση.

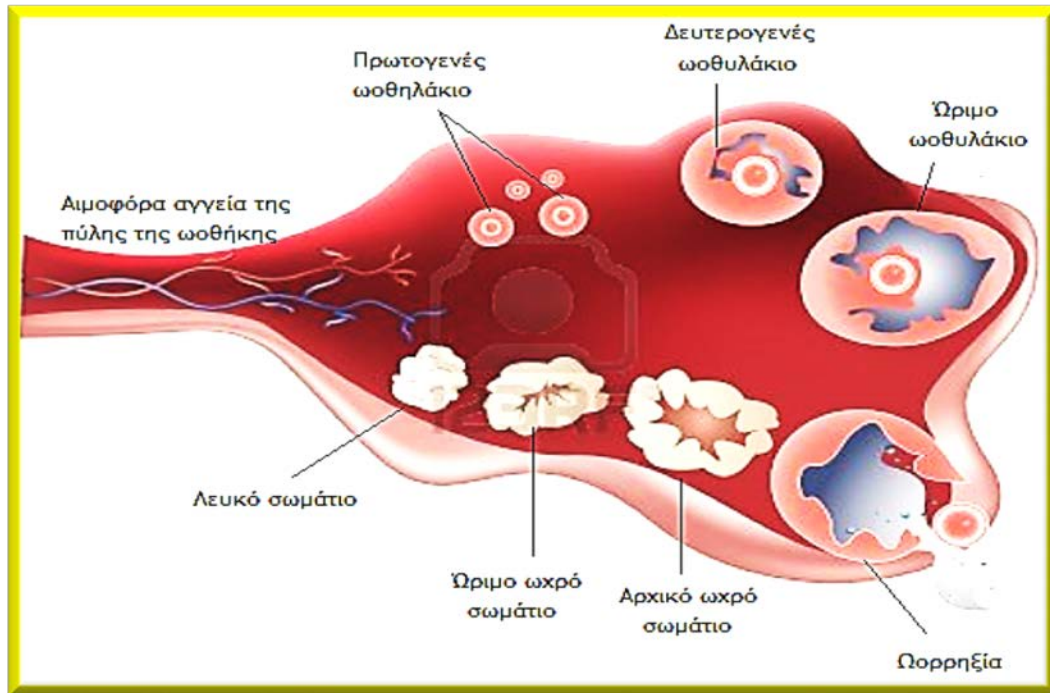


**Εικόνα 1.2** Η γονιμοποίηση του ωαρίου από σπερματοζώαρια  
μετά την διαδικασία της ωορρηξίας [Πηγή: [www.visualphotos.com](http://www.visualphotos.com)]

### III. Ωχρινική φάση

Η ωχρινική φάση αποτελεί την τελευταία φάση του εμμηνορρυσιακού κύκλου, αποτελεί το δεύτερο μισό του, έχει διάρκεια από την 15<sup>η</sup> έως την 28<sup>η</sup> περίπου ημέρα του καταμήνιου κύκλου και έπεται της ωορρηξίας. Μετά την ωορρηξία, θερμοκρασία του σώματος αρχίζει να κατεβαίνει σταδιακά μέχρι να επανέλθει στα φυσιολογικά επίπεδα. Το ωοθυλάκιο έχοντας απελευθερώσει το ωάριό του, μετατρέπεται σε μια νέα δομή που ονομάζεται **ωχρό σωματίο**. Τα εναπομείναντα κοκκιώδη κύτταρα του ωοθυλακίου μετατρέπονται ανατομικά και φυσιολογικά σε ωχρινικά κύτταρα και αρχίζουν να παράγουν μια προγεστίνη που ονομάζεται **προγεστερόνη** και προετοιμάζει την μήτρα για την εμφύτευση του γονιμοποιημένου ωαρίου.

Τα ήδη υψηλά επίπεδα προγεστερόνης και οιστρογόνων καταστέλλουν πλήρως το υποφυσιακό σύστημα του εγκεφάλου με αποτέλεσμα την πτώση των επιπέδων της FSH και της LH. Καθώς τα επίπεδα της ορμόνης LH μειώνονται, το ωχρό σωματίο που αποτελεί στόχο της ορμόνης, μειώνει ταχέως την παραγωγή των οιστρογόνων και της προγεστερόνης. Αυτή η μείωση προάγει την εκφύλιση του ενδομητρίου που οδηγεί σε αιμορραγία και οδηγεί στην εκ νέου έκκριση γοναδοτροπινών. Κατά αυτόν τον τρόπο, ξεκινά ο επόμενος καταμήνιος εμμηνορρυσιακός κύκλος. [Womenshealth.gov, 2007]



**Εικόνα 1.3** Η διαδικασία του ωοθηκικού κύκλου μέσα στην ωοθήκη της μήτρας [Πηγή: [www.cfc.com](http://www.cfc.com)]

#### 2.2.2.2 Ενδομητρικός κύκλος

Ο ενδομητρικός κύκλος χωρίζεται και αυτός όπως και ο ωοθηκικός σε τρεις φάσεις οι οποίες είναι οι εξής:

##### I. Εμμηνορρυσιακή φάση

Η εμμηνορρυσιακή φάση είναι γνωστή και ως έμμηνη ρύση και διαρκεί συνήθως τρεις έως επτά ημέρες περίπου.

Κατά τη διάρκεια της εμμήνου ρύσεως αποπίπτουν από την μήτρα το ωάριο που δεν γονιμοποιήθηκε, αίμα και βλέννη που προέρχονται από τα τοιχώματα της μήτρας όπου είχαν συσσωρευτεί για την πιθανή εμφύτευση, καθώς και η λειτουργική στοιβάδα του ενδομητρίου. Όλα αυτά τα στοιχεία είχαν σχηματιστεί στο βλεννογόνο της μήτρας κατά τη διάρκεια της εκκριτικής φάσης του προηγούμενου κύκλου.

## II. Παραγωγική φάση

Στο τέλος της εμμηνου ρύσεως της εμμηνορρυσιακής φάσης το ενδομήτριο είναι λεπτό και ισχαιμικό αφού έχει αποβάλλει όλα τα θρεπτικά συστατικά και το αίμα που υπήρχαν για την υποστήριξη του κύματος.

Συγκεκριμένα, το επιθήλιο στην αρχή είναι «χαμηλό» με κύτταρα κυλινδρικά και αδένες βραχείς, ευθείς και στενούς ενώ το στρώμα είναι συμπυκνωμένο. Το επιθήλιο προοδευτικά «μεγαλώνει», γίνεται υψηλότερο και οι αδένες βαθύτεροι, ευρύτεροι με ελικοειδή πορεία, ενώ αυξάνει και το πάχος του στρώματος. Στη δεύτερη εβδομάδα του κύκλου η παραγωγή των οιστρογόνων που εκκρίνονται από το αναπτυσσόμενο ωοθυλάκιο προκαλούν αναγέννηση του επιθηλίου και αύξηση του πάχους του ενδομητρίου. Η φάση αυτή καλείται επίσης και οιστρογονική φάση εξαιτίας της σημαντικής επίδρασης των οιστρογόνων. [Doufas και συν.2000]

## III. Εκκριτική φάση

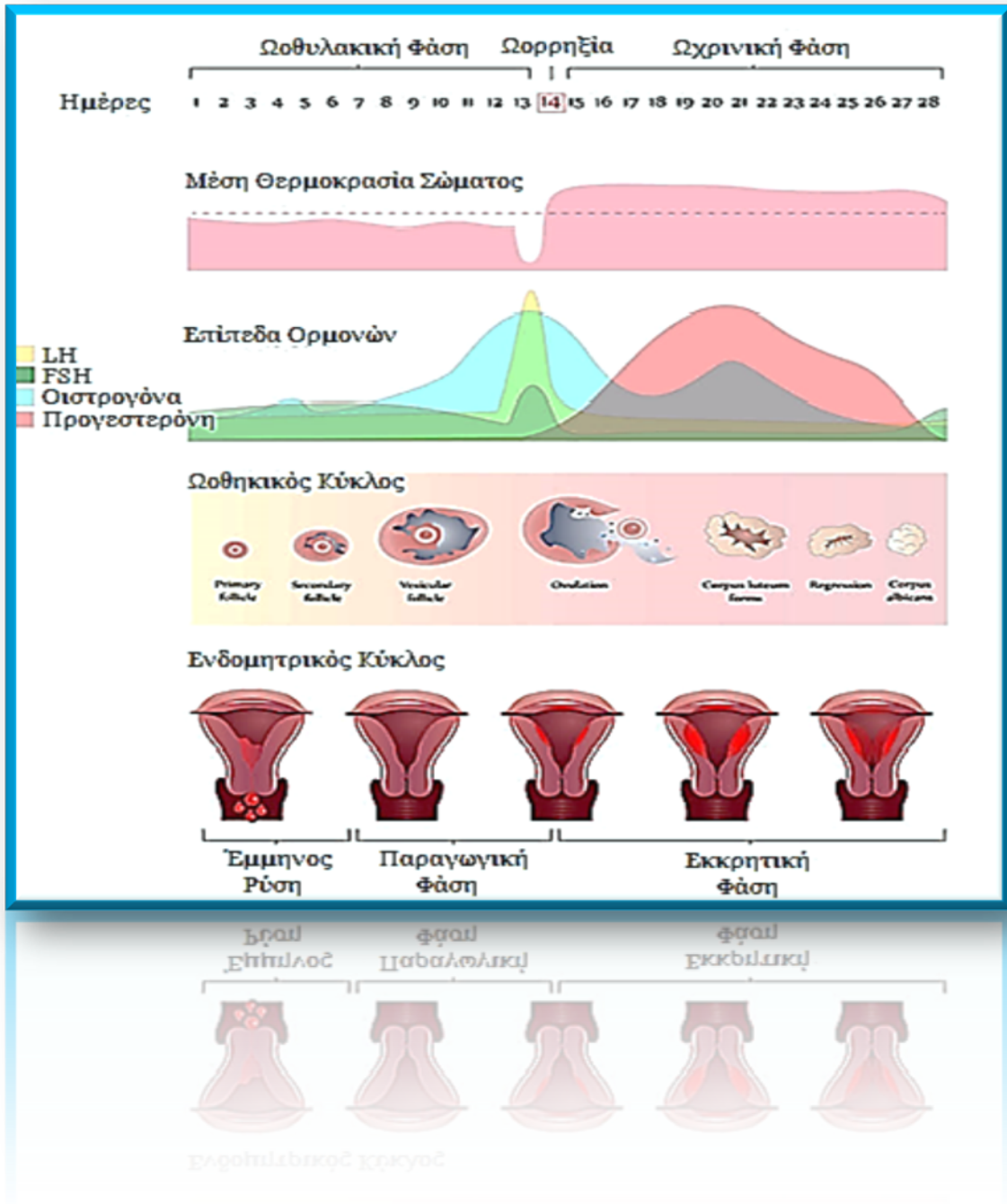
Η φάση αυτή περιλαμβάνει τις δύο τελευταίες εβδομάδες του κύκλου. Αρχίζει μετά την ωοθυλακιορρηξία και έχει σταθερή διάρκεια περί τις 14 +/- 2 ημέρες.

Υπό την επίδραση της προγεστερόνης που κυριαρχεί σε αυτή τη φάση του κύκλου, αλλά και των οιστρογόνων, οι ενδομητρικοί αδένες επιμηκύνονται, γίνονται πιο δαιδαλώδεις και ευρύτεροι. Η παρουσία της εκκριτικής δραστηριότητας είναι εμφανής στα επιθηλιακά κύτταρα, τα οποία παράγουν μεγάλες ποσότητες γλυκογόνου και άλλων ουσιών όπως πολυσακχαριτών και λιπιδίων. Το πάχος του στρώματος και η αιμάτωση του ενδομητρίου αυξάνονται, ενώ τα αρτηρίδια γίνονται περισσότερο ελικοειδή, με σκοπό να θρέψουν το στρώμα του ενδομητρίου εφ' όσον επιτευχθεί η σύλληψη. Η φάση αυτή ονομάζεται επίσης, ωχρινική και προγεστερονική φάση εξαιτίας της αυξημένης παραγωγής της ορμόνης προγεστερόνης. Η προ-εμμηνορρυσιακή ή ισχαιμική φάση πρακτικά αποτελεί μέρος της εκκριτικής φάσης και εμφανίζεται προς το τέλος της. [Womenshealth.gov, 2007]

Στην ισχαιμική φάση, δηλαδή δεκατρείς έως δεκατέσσερις ημέρες μετά την ωοθυλακιορρηξία, συστέλλονται οι ελικοειδείς αρτηρίες του ενδομητρίου, το λειτουργικό στρώμα γίνεται ωχρο και πτυχώνεται λόγω της ανοξίας και της αναιμίας.



Λίγο αργότερα, έπεται η αιμορραγία και η φάση της εμμήνου ρύσεως (εμμηνορρυσιακή φάση) αρχίζει εκ νέου.



**Εικόνα 1.4** Βήμα προς βήμα η διαδικασία του καταμήνιου εμμηνορρυσιακού κύκλου [Πηγή: [www.cfc.com](http://www.cfc.com)]

### 3. ΟΙΣΤΡΟΓΟΝΑ

Σε αυτό το κεφάλαιο αναλύονται όλα τα δεδομένα που υπάρχουν στην μέχρι τώρα βιβλιογραφία σχετικά με τα οιστρογόνα διότι όπως έχει προαναφερθεί στις γενικές πληροφορίες, πρόσφατες έρευνες αποδεικνύουν την άμεση σχέση τους με την «αντίσταση» των ερυθρών αιμοσφαιρίων στο οξειδωτικό στρες.

#### 3.1 Εισαγωγή

Τα οιστρογόνα είναι μια ομάδα στεροειδών χημικών ενώσεων, έτσι ονομαζόμενα για τον ρόλο τους στον οιστρικό κύκλο. Αποτελούν τις κύριες γυναικείες φυλετικές ορμόνες, γι' αυτό καθορίζουν και τα δευτερογενή χαρακτηριστικά του γυναικείου φύλου και όπως όλες οι στεροειδείς χημικές ενώσεις έτσι και τα οιστρογόνα διαπερνούν εύκολα την κυτταρική μεμβράνη των κυττάρων και αλληλεπιδρούν με οιστρογονικούς υποδοχείς στο εσωτερικό τους. 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.

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

Η λέξη **οἴστρος** αφορά την σεξουαλική επιθυμία που δημιουργείται στο γυναικείο φύλο την περίοδο της ωορρηξίας λόγω των οιστρογόνων, όπως θα δούμε αναλυτικά παρακάτω.

Η λέξη **γόνος** αναφέρεται στην κυοφόρηση του εμβρύου που είναι γόνος-ένωση του ωαρίου με το σπερματοζώαριο και το οποίο χωρίς την δράση των οιστρογόνων δεν θα μπορούσε να δημιουργηθεί.

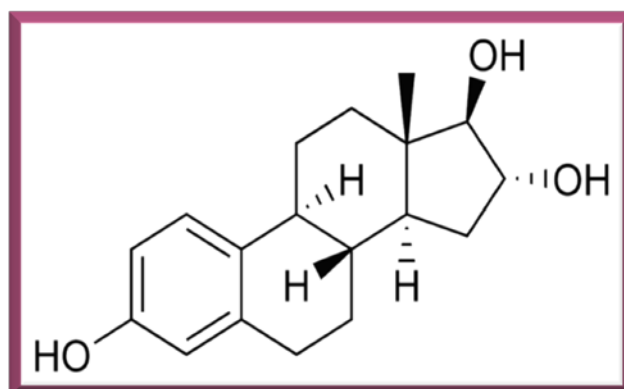
#### 3.2 Είδη οιστρογόνων

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

### 3.2.1 Οιστριόλη (E<sub>3</sub>)

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 και συν 2009].

Από χημικής δομής, η οιστριόλη έχει 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 E<sub>3</sub>, λόγω των τριών υδροξυλίων που έχει το μόριό της.



**Εικόνα 1.5** Χημική δομή της οιστριόλης [Πηγή: [www.galinos.gr](http://www.galinos.gr)]

### 3.2.2 Οιστραδιόλη (E<sub>2</sub>)

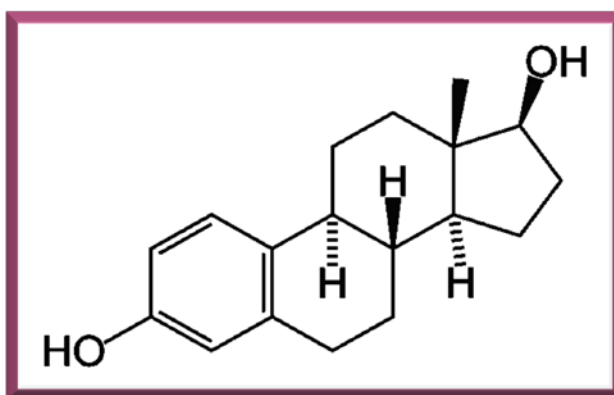
Η οιστραδιόλη είναι το κυριότερο οιστρογόνο στον οργανισμό της γυναίκας από την εμμηνοαρχή μέχρι την εμμηνόπαυση και βιοσυντίθεται από την τεστοστερόνη.

Η οιστραδιόλη είναι πολύ δραστική κατά την αναπαραγωγική ηλικία. Συνεργατικά με την οιστριόλη, δημιουργεί και αυτή κατάλληλο περιβάλλον υγρασίας στην περιοχή του αιδοίου για την σεξουαλική επαφή. Επιπροσθέτως, η οιστραδιόλη είναι υπεύθυνη για την έκκριση κολπικών και τραχηλικών υγρών που θα «τραβήξουν» τα σπερματοζώαρια και θα τα ωθήσουν προς την μήτρα με σκοπό

την γονιμοποίηση. Η οιστραδιόλη βρίσκεται στο «ζενίθ» της ισχύς 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 [Nelson και συν 2009].

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.

Από χημικής δομής, η οιστραδιόλη έχει 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 E<sub>2</sub>, λόγω των δυο υδροξυλίων που έχει το μόριό της.



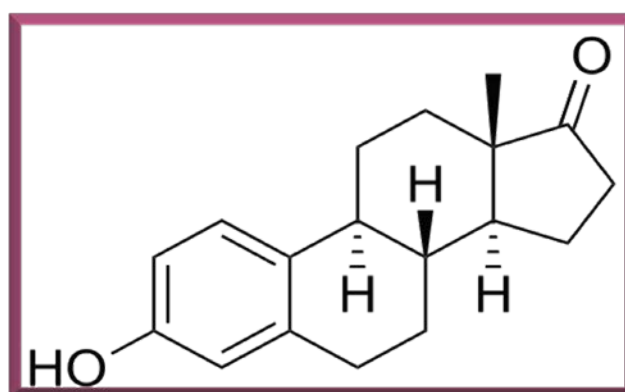
*Εικόνα 1.6* Χημική δομή της οιστραδιόλης [Πηγή: [www.galinos.gr](http://www.galinos.gr)]

### 3.2.3 Οιστρόνη (E<sub>1</sub>)

Η οιστρόνη βιοσυντίθεται από την μετατροπή της ανδροστενδιόνης κυρίως στον φλοιό των επινεφριδίων. Η λειτουργία της δεν είναι σαφώς κατανοητή και η βιβλιογραφία δεν μας προσφέρει πολλές πληροφορίες.

Η οιστρόνη κυριαρχεί στην περίοδο της προ-εμμηνόπαυσης και της εμμηνόπαυσης αντικαθιστώντας την δράση της οιστραδιόλης. Αυξημένα επίπεδα οιστρόνης χωρίς ταυτόχρονα αυξημένα επίπεδα προγεστερόνης, έχουν συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο για καρκίνο του ενδομητρίου [Nelson και συν 2009].

Από χημικής δομής, 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 E<sub>1</sub>, λόγω του ενός υδροξυλίου που έχει το μόριό της.



*Εικόνα 1.7* Χημική δομή της οιστρόνης [Πηγή: [www.galinos.gr](http://www.galinos.gr)]

### 3.3 Έκκριση Οιστρογόνων

#### 1<sup>ο</sup> Βήμα

Η ορμόνη GnRH εισέρχεται στον πρόσθιο λοβό της υπόφυσης δια του πυλαίου συστήματος και συνδέεται με τους GnRH υποδοχείς στην επιφάνεια των γοναδοτρόπων κυττάρων προκαλώντας έτσι την έναρξη μιας σειράς κυτταρικών γεγονότων που έχουν ως τελικό αποτέλεσμα τη σύνθεση και έκκριση των γοναδοτροπινών ορμονών FSH και LH.

## 2<sup>ο</sup> Βήμα

Η ορμόνη GnRH προσδένεται σε έναν υποδοχέα που είναι συνδεδεμένος με την G-πρωτεΐνη (Gag). Το αποτέλεσμα αυτής της σύνδεσης είναι η ενεργοποίηση της φωσφολιπάσης (PLC) η οποία με τη σειρά της ενεργοποιεί την απελευθέρωση ασβεστίου  $Ca^{+2}$  από το ενδοπλασματικό δίκτυο και προάγει τον σχηματισμό της διακυλογλυκερόλης (DAG).

## 3<sup>ο</sup> Βήμα

Η DAG επάγει την ενεργοποίηση της πρωτεϊνικής κινάσης C, η οποία με τη σειρά της οδηγεί άμεσα στην αύξηση της γονιδιακής μεταγραφής.

## 4<sup>ο</sup> Βήμα

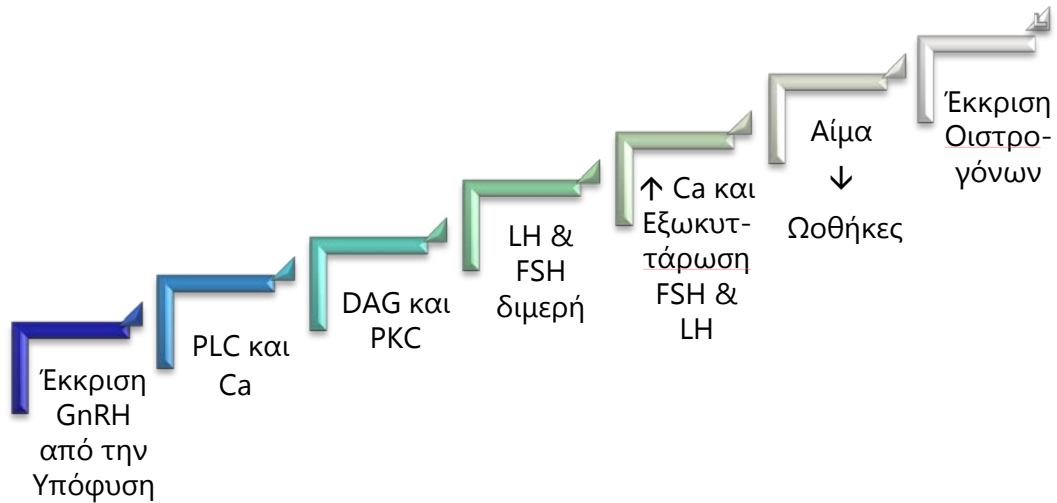
Οι ορμόνες FSH και LH αρχίζουν να σχηματίζονται μέσω των -β- διμερών τους. Οι -β- υποομάδες των διμερών καθορίζουν την ειδικότητα και την εξειδίκευση της κάθε ορμόνης με τρόπο μοναδικό για κάθε οργανισμό.

## 5<sup>ο</sup> Βήμα

Οι ορμόνες FSH και LH σε αυτό το στάδιο έχουν σχηματιστεί μετά από τον διμερισμό και την γλυκοζυλίωση τους με διαδικασίες που ρυθμίζονται από την ορμόνη GnRH.

## 6<sup>ο</sup> Βήμα

Το ασβέστιο  $Ca^{+2}$  που έχει απελευθερωθεί στο 2<sup>ο</sup> 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 ωοθήκες ώστε να ενεργοποιήσουν την έκκριση των οιστρογόνων.



**Εικόνα 1.8** Διαγραμματικά βήμα προς βήμα η διαδικασία έκκρισης των οιστρογόνων

### 3.4 Βιοσύνθεση οιστρογόνων

Η βιοσύνθεση των οιστρογόνων αρχίζει από τα κύτταρα του ωοθυλακίου, με την σύνθεση ανδροστενδίωνης από χοληστερόλη.

Η ανδροστενδίωνη είναι μία ορμόνη με μέτρια ανδρογενή δραστηριότητα, η οποία περνά τον βασικό υμένα και μπαίνει στα κύτταρα της κοκκιώδους στοιβάδας της ωοθήκης, όπου μετατρέπεται σε οιστρόνη και οιστραδιόλη, είτε άμεσα είτε έμμεσα μέσω της τεστοστερόνης. Το ένζυμο που είναι υπεύθυνο για αυτή την μετατροπή ονομάζεται **αρωματάση**. Εν συνεχεία, η χοληστερόλη μετατρέπεται σε πρεγνενολόνη και αυτή με τη σειρά της σε προγεστερόνη. Ακολουθεί ο σχηματισμός των ανδρογόνων από την προγεστερόνη και μετά την αρωματοποίηση των ανδρογόνων σχηματίζονται τα οιστρογόνα.

Από το σχηματισμό των οιστρογόνων μπορούν να παραχθούν προγεστερόνη και τεστοστερόνη. Η τεστοστερόνη είναι μια στεροειδής ορμόνη που ανήκει στην ομάδα των ανδρογόνων και εκκρίνεται από τους όρχεις των ανδρών και τις ωοθήκες των γυναικών ενώ η προγεστερόνη είναι η ορμόνη που παράγει ο οργανισμός για την δημιουργία «παχιάς» επένδυσης της μήτρας απαραίτητης για την ανάπτυξη του κήματος μετά από τη γονιμοποίηση.

### 3.5 Μεταβολισμός οιστρογόνων

Το ήπαρ με τα ειδικά του ένζυμα αποτελεί το κύριο μέρος μεταβολισμού των οιστρογόνων. Η οιστραδιόλη, η οποία κυριαρχεί στην αναπαραγωγική ηλικία, κατά την διέλευση της από το ήπαρ, μεταβολίζεται σε οιστριόλη και οιστρόνη, μέρος των οποίων εισέρχεται στην κυκλοφορία του αίματος.

Ο ηπατικός μεταβολισμός των οιστρογόνων ελαττώνει την βιολογική τους ισχύ και αυξάνει τη διαλυτότητά τους στη νεφρική απέκκριση και το νερό. Τα μεταβολικά παράγωγα των οιστρογόνων αποβάλλονται μέσω της χολής από όπου επαναρροφούνται στην κυκλοφορία του αίματος. Το μεγαλύτερο μέρος των οιστρογόνων απορροφάται σε μεγάλο βαθμό στο έντερο και μόνο ένα μικρό ποσοστό αυτών αποβάλλεται μέσω των κοπράνων.

Τα οιστρογόνα συνδέονται με πρωτεΐνες του πλάσματος και κυρίως με τη β-σφαιρίνη στο ήπαρ, όπου υδρολύουν τις γλυκουρονικές ενώσεις, ρυθμίζοντας με αυτόν τον τρόπο τη δράση τους. Η ημερήσια έκκριση των οιστρογόνων κυμαίνεται από 50 mg έως 340 mg. Κατά την διάρκεια του εμμηνορρυσιακού κύκλου φτάνει τα 4 mg έως 8 mg. Στη διάρκεια της εγκυμοσύνης ξεπερνά τα 1000 pg/ml ενώ στην εμμηνόπαυση δεν ξεπερνά τα 15 pg/ml. Τα οιστρογόνα αποβάλλονται τελικά μέσω των ούρων με τη μορφή γλυκουρονικών ενώσεων.

### 3.6 Οιστραδιόλη

Θεωρείται αναγκαίο σε αυτό το κεφάλαιο να αναλυθεί και να μελετηθεί η ορμόνη οιστραδιόλη μεμονωμένα και ξεχωριστά διότι όπως έχει ήδη αναφερθεί, η οιστραδιόλη είναι η ορμόνη που έχει την μεγαλύτερη οιστρογονική ισχύ σε σχέση με τα υπόλοιπα οιστρογόνα κατά την περίοδο της αναπαραγωγικής ηλικίας της γυναίκας, κάτι που η παρούσα εργασία πραγματεύεται.

#### 3.6.1 Οιστραδιόλη στις γυναίκες

Στις γυναίκες η οιστραδιόλη έχει πολύπλοκο και πολυδιάστατο ρόλο. Πιο συγκεκριμένα, επενδύει το γυναικείο αναπαραγωγικό σύστημα συμβάλλοντας στην σωστή ανάπτυξη του ιστού αναπαραγωγής κατά την προεφηβική και εφηβική ηλικία. 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.

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 εμμηνου ρύσεως του επόμενου εμμηνορρυσιακού κύκλου [Duma και συν.2005].

### 3.6.2 Οιστραδιόλη στους άνδρες

Η ορμόνη οιστραδιόλη υπάρχει και στους άνδρες και έχει και εκεί τον πιο σημαντικό ρόλο μετά την ορμόνη τεστοστερόνη. Η οιστραδιόλη στους άνδρες παράγεται από του όρχεις με σκοπό την ανάπτυξη και ωρίμανση του σπέρματος κατά την προεφηβική και εφηβική ηλικία. Στους άνδρες αναπαραγωγικής ηλικίας, παράλληλα με τη δράση της τεστοστερόνης, ενισχύει την σεξουαλική επιθυμία και βοηθά στην διατήρηση της στύσης κατά την σεξουαλική επαφή.

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 [Nelson και συν 2009].

### 3.6.3 Οιστραδιόλη στην εγκυμοσύνη

Όταν το ωάριο γονιμοποιηθεί οι ωοθήκες εκκρίνουν μεγαλύτερη ποσότητα οιστραδιόλης, που αυξάνεται 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.

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. Μετά τη δέκατη μέρα απ' τη γονιμοποίηση, οι ωοθήκες σταματούν την παραγωγή οιστραδιόλης και το ρόλο αυτό αναλαμβάνει ο πλακούντας [Duma και συν.2005].

Η οιστραδιόλη οδηγεί στην έκκριση μελανίνης, είναι υπεύθυνη για την κατακράτηση υγρών στα άκρα και 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.

#### 3.6.4 Οιστραδιόλη στην ψυχολογία

Η οιστραδιόλη στις γυναίκες παρουσιάζει φυσιολογικές διακυμάνσεις στη διάρκεια του κύκλου και της εγκυμοσύνης και κάθετη πτώση κατά την προεμμηνοπαυσιακή και εμμηνοπαυσιακή περίοδο.

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.

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 [Duma και συν.2005].

#### 3.6.5 Οιστραδιόλη στην παχυσαρκία

Στην παχυσαρκία η οιστραδιόλη επιδρά θετικά και αρνητικά. Η επίδραση αυτή γίνεται πιο εμφανής σε ορισμένες περιόδους της ζωής της γυναίκας όπως είναι η εφηβεία, η εγκυμοσύνη και η εμμηνόπαυση.

Πιο συγκεκριμένα, η οιστραδιόλη μειώνει την όρεξη καθώς ελαττώνει την ορεξιογόνο νευροορμόνη του εγκεφάλου. Επίσης, προκαλεί κατακράτηση άλατος και νερού. Η οιστραδιόλη, ακόμα, διαμορφώνει τον σωματότυπο και την κατανομή

του λίπους στον οργανισμό της γυναίκας συμβάλλοντας στον πολλαπλασιασμό των λιποκυττάρων στους γλουτούς και στα κάτω άκρα ενώ αντίθετα μειώνει τον αριθμό των λιποκυττάρων στην περιοχή της κοιλιάς. Τέλος, η ελάττωση της οιστραδιόλης κατά την εμμηνοπαυσιακή περίοδο προκαλεί αύξηση του βάρους [Duma και συν.2005].

#### 4. ΟΙΣΤΡΟΓΟΝΑ & ΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΑ

Τα οιστρογόνα, στο σύνολό τους, έχει βρεθεί ότι έχουν μία *in vitro* αντιοξειδωτική δράση όσον αφορά την υπεροξειδωση της φωσφολιπιδικής μεμβράνης των ερυθροκυττάρων [Sugioka και συν. 1987].

Τα εργαστηριακά ευρήματα αναδεικνύουν τόσο έναν αντιοξειδωτικό όσο και έναν αθηροπροστατευτικό ρόλο [Yagi & Komura 1986, Huber και συν. 1990, Subbiah και συν. 1993, Sack και συν. 1994, Arnal και συν. 1996]. Η σχέση μεταξύ των σεξουαλικών στεροειδών ορμονών και του αντιοξειδωτικού κυτταρικού ενζυμικού συστήματος έχει επίσης, διερευνηθεί. Σε παρατεταμένη χρήση αντισυλληπτικών παρατηρήθηκε αύξηση τόσο της GSH-Px\* όσο και της CAT ερυθροκυτταρικής δραστηριότητας [Capel και συν. 1981, Massafra και συν. 1993, Massafra και συν. 1996].

Σε αμμηνορρυσιακές γυναίκες, η θεραπεία με οιστραδιόλη (E<sub>2</sub>) και όχι με προγεστερόνη, αποδείχτηκε ότι διεγείρει την GSH-Px ερυθροκυτταρική δραστηριότητα [Massafra και συν. 1996, Massafra και συν. 1997].

Σε έρευνα που έγινε με στόχο την εύρεση της σχέσης αλληλεπίδρασης μεταξύ των οιστρογόνων και των ερυθροκυτταρικών ενζυμικών δραστηριοτήτων σε γυναίκες 20 έως 27 ετών με φυσιολογικό καταμήνιο κύκλο (28-30 ημέρες), [Massafra και συν. 2000] βρέθηκε σαφής θετική συσχέτιση μεταξύ της οιστραδιόλης (E<sub>2</sub>) και της GSH-Px.

Οι γυναίκες της έρευνας είχαν φυσιολογικό BMI\*\*, δεν κάπνιζαν, ακολουθούσαν μεσογειακή διατροφή, δεν έπαιρναν ναρκωτικά και δεν είχαν λάβει φαρμακευτική αγωγή για τους τελευταίους τέσσερις μήνες.

Για την καλύτερη κατανόηση των ευρημάτων τους, οι ερευνητές χώρισαν τον καταμήνιο κύκλο των μελετώμενων γυναικών σε δύο μεγάλες κατηγορίες:

- I. Την Ωοθυλακική και
- II. Την Ωχρινική

Έθεσαν σαν ημέρα 0 εκείνη την ημέρα όπου υπήρχε η κορύφωση της οιστραδιόλης (E<sub>2</sub>) λίγο πριν την ωοθυλακιορρηξία.

Σύμφωνα με τους ερευνητές, βρέθηκαν σημαντικές αλλαγές στην GSH-Px δραστηριότητα που εξαρτιόνταν από τον καταμήνιο κύκλο και δεν σχετιζόνταν με την ηλικία των ερυθροκυττάρων όπως απέδειξε η δραστηριότητα της πιρουβικής κινάσης (PK)\*\*\*. Οι υψηλότερες τιμές της ενζυμικής δραστηριότητας GSH-Px εντοπίστηκαν στο διάστημα μεταξύ του τέλους της ωοθυλακικής φάσης και της αρχής της ωχρινικής φάσης.

Τέλος, παρατηρήθηκε μία θετική συσχέτιση μεταξύ της οιστραδιόλης (E<sub>2</sub>) και των σημαντικών αλλαγών της GSH-Px χωρίς να υπάρχουν χρονικά κενά στη συγκεκριμένη σχέση.

*\*GSHPx: Υπεροξειδάση της γλουταθειόνης. Καταλύει την μείωση του υπεροξειδίου του υδρογόνου σε νερό καθώς και την ταυτόχρονη μετατροπή της μειωμένης γλουταθειόνης σε οξειδωμένη γλουταθειόνη. Προστατεύει τα οργανίδια του κυττοσολίου από τις ζημιολγόνες επιδράσεις των υδρο-υπεροξειδίων που δημιουργούνται κατά τον φυσιολογικό αερόβιο μεταβολισμό.*

*\*\*BMI: Body Mass Index. Μέτρηση για το ανθρώπινο σώμα βασιζόμενη στην ατομική μάζα και το ατομικό ύψος σύμφωνα με τον τύπο  $BMI = \frac{mass(kg)}{(height(m))^2}$  [A. Quetelet 1830-1850]*

*\*\*\*PK: Πιρουβική Κινάση. Μετρήθηκε η δραστηριότητά της ως δείκτης της ηλικίας των ερυθροκυττάρων [Grimes 2000]*

## 5. ΣΙΔΗΡΟΣ & ΑΠΟΘΗΚΕΥΤΙΚΗ ΒΛΑΒΗ

Σε αυτό το κεφάλαιο παρουσιάζονται αναλυτικά κάποιες γενικές πληροφορίες για τον σίδηρο και εξηγείται η συσχέτισή του με την αποθηκευτική βλάβη των ερυθροκυττάρων στον ασκό της αιμοδοσίας.

Ειδικά η παρούσα εργασία, η οποία αφορά γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας 18 έως 25 ετών, επιβάλλει πολύ καλή πληροφόρηση και γνώση για τους μηχανισμούς και την απορρόφηση εξειδικευμένα του σιδήρου διότι οι περισσότερες γενικές εξετάσεις αίματος στις γυναίκες που εξετάστηκαν έδειξαν εικόνα σιδηροπενικής αναιμίας, όπως σχολιάζεται και στα επόμενα κεφάλαια.

### 5.1 Εισαγωγή

Ο σίδηρος θεωρείται απαραίτητο ανόργανο στοιχείο για όλους τους έμβιους οργανισμούς, καθώς έχει σημαντικό ρόλο στο μεταβολισμό και αποτελεί απαραίτητη προσθετική ομάδα για εκατοντάδες ένζυμα και πρωτεΐνες. Στον ενήλικα άνθρωπο η φυσιολογική ποσότητα σιδήρου που βρίσκεται στον οργανισμό είναι περίπου 4 g, από τα οποία το 75% είναι δεσμευμένο στην αιμοσφαιρίνη, όπως αναφέρεται παρακάτω. Ο σίδηρος που βρίσκεται στον οργανισμό ανακυκλώνεται, όμως μικρή ποσότητα αποβάλλεται με τα ούρα, τα κόπρανα, την **έμμηνη ρύση** στις γυναίκες αλλά και μέσω του δέρματος. Αυτή η απώλεια αντισταθμίζεται με την απορρόφηση σιδήρου που προέρχεται από τη διατροφή στο λεπτό έντερο.

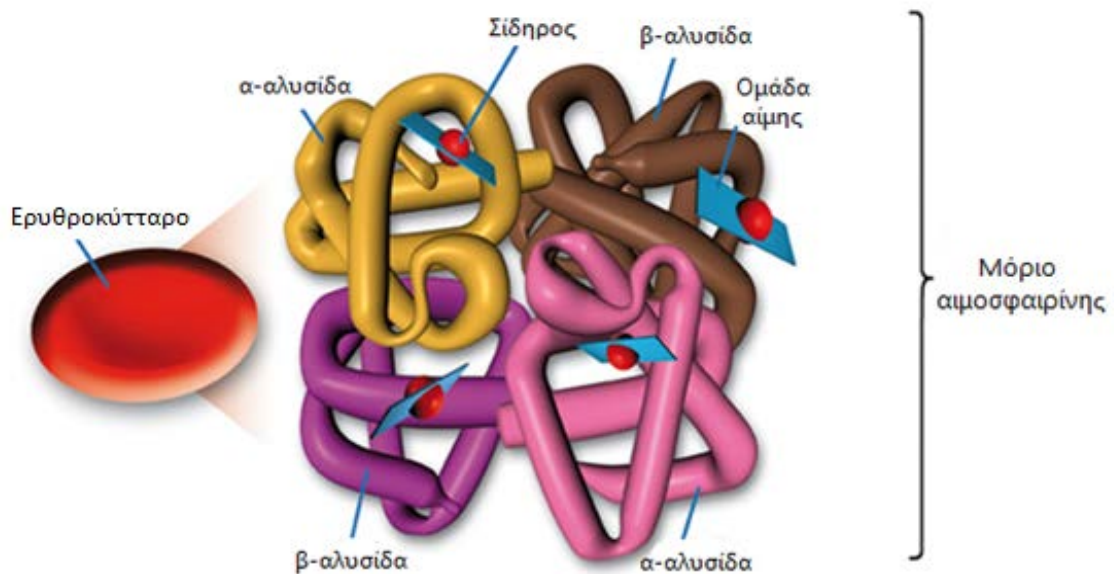
Η έλλειψη σιδήρου (σιδηροπενία) είναι η πιο κοινή διατροφική έλλειψη στις γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας. Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας, περίπου εξακόσιες με επτακόσιες εκατομμύρια γυναίκες παγκοσμίως πάσχουν από σιδηροπενία.

### 5.2 Ρόλος Σιδήρου

Ο σίδηρος προσλαμβάνεται από τον οργανισμό μέσω της τροφικής αλυσίδας και απορροφάται στο δωδεκαδάκτυλο και στο λεπτό έντερο. Έχει εξέχουσα σημασία και ρόλο στον ανθρώπινο οργανισμό και είναι απαραίτητο ανόργανο στοιχείο για όλες τις βιοχημικές αντιδράσεις. Αυξημένες ανάγκες σε σίδηρο υπάρχουν κατά την

διαδικασία της ανάπτυξης (στην προεφηβεία και στην εφηβεία), κατά την διάρκεια της εγκυμοσύνης αλλά και κατά την διάρκεια της γαλουχίας.

Σε βιολογικό επίπεδο, οι βασικές λειτουργίες του σιδήρου περιλαμβάνουν αντιδράσεις οξειδο-αναγωγής αλλά και αλλαγές στην κατάσταση οξειδωσής του και στην μεταφορά ηλεκτρονίων μέσα στον οργανισμό. Ο σίδηρος είναι το βασικό συστατικό της **αίμης**, ενός μορίου το οποίο υπάρχει σε μεγάλο αριθμό ενζύμων και πρωτεϊνών. Ο σίδηρος στην αίμη της αιμοσφαιρίνης και της μυοσφαιρίνης δρα ως μεταφορέας και ως αποθήκη οξυγόνου. Η αιμοσφαιρίνη δεσμεύει το μεγαλύτερο ποσοστό του σιδήρου στον ανθρώπινο οργανισμό. Ο σίδηρος επίσης βρίσκεται στα **κυτοχρώματα**, πρωτεΐνες που δρουν ως μεταφορέας ηλεκτρονίων στην οξειδωτική φωσφορυλίωση, την κύρια αντίδραση παραγωγής ενέργειας υπό την μορφή ATP. Κάθε ερυθρό αιμοσφαίριο περιλαμβάνει περίπου 270 εκατομμύρια μόρια αιμοσφαιρίνης.



**Εικόνα 1.9** Η δομή του μορίου της αιμοσφαιρίνης [Πηγή: [www.wikipedia.com](http://www.wikipedia.com)]

### 5.3 Διατροφικός σίδηρος

Οι κύριες πηγές διατροφικού σιδήρου είναι το κόκκινο κρέας, κυρίως το βοδινό, το ψάρι (πχ. τόνος και σολομός), τα στρείδια και το κρέας των πουλερικών και ιδίως το συκώτι. Προερχόμενος από αυτές τις πηγές, ο σίδηρος βρίσκεται ενωμένος με την ομάδα αίμης και σχεδόν το 25% του σιδήρου απορροφάται από τον ανθρώπινο οργανισμό. Άλλες διατροφικές πηγές σιδήρου είναι τα όσπρια, τα αποξηραμένα φρούτα, το σουσάμι, τα ενισχυμένα με σίδηρο δημητριακά και τα λαχανικά, όπως το σπανάκι.

Ο σίδηρος που δεν είναι ζωικής προέλευσης δημιουργεί χυλικά σύμπλοκα με ενώσεις στον αυλό του εντέρου και δεν απορροφάται εξίσου καλά. Η ποσότητα που εν τέλει θα απορροφηθεί από τον οργανισμό εξαρτάται από τις υπόλοιπες τροφές που καταναλώνονται στο ίδιο γεύμα. Τροφές που βελτιώνουν την απορρόφηση του σιδήρου είναι η βιταμίνη C και οι ζωικές πρωτεΐνες ενώ οι τροφές που περιέχουν ασβέστιο, τανίνες, πολυφαινόλες και φυτάτες, μειώνουν την απορρόφηση του σιδήρου από τον οργανισμό.

### 5.4 Απορρόφηση σιδήρου

#### 5.4.1 Αιμικός σίδηρος

Ο αιμικός σίδηρος βρίσκεται σε δισθενή μορφή ( $\text{Fe}^{+2}$ ). Η αίμη απελευθερώνεται από την αιμοσφαιρίνη και την μυοσφαιρίνη με την δράση πρωτεασών στο στομάχι και το λεπτό έντερο. Η αίμη συνδέεται με έναν ειδικό υποδοχέα στον αυλό του εντερικού επιθηλίου και προσλαμβάνεται από τα εντεροκύτταρα μέσω ενδοκυττάρωσης. Το τμήμα αυτό της αίμης καταβολίζεται στην συνέχεια από την οξυγενάση της αίμης και απελευθερώνεται ο σίδηρος από την αίμη. Πρέπει να σημειωθεί σε αυτό το σημείο ότι όσο ο αιμικός σίδηρος είναι συνδεδεμένος με την αίμη είναι προστατευμένος από τη δράση παραγόντων που αναστέλλουν την απορρόφηση του [Hurrell και συν. 2000].



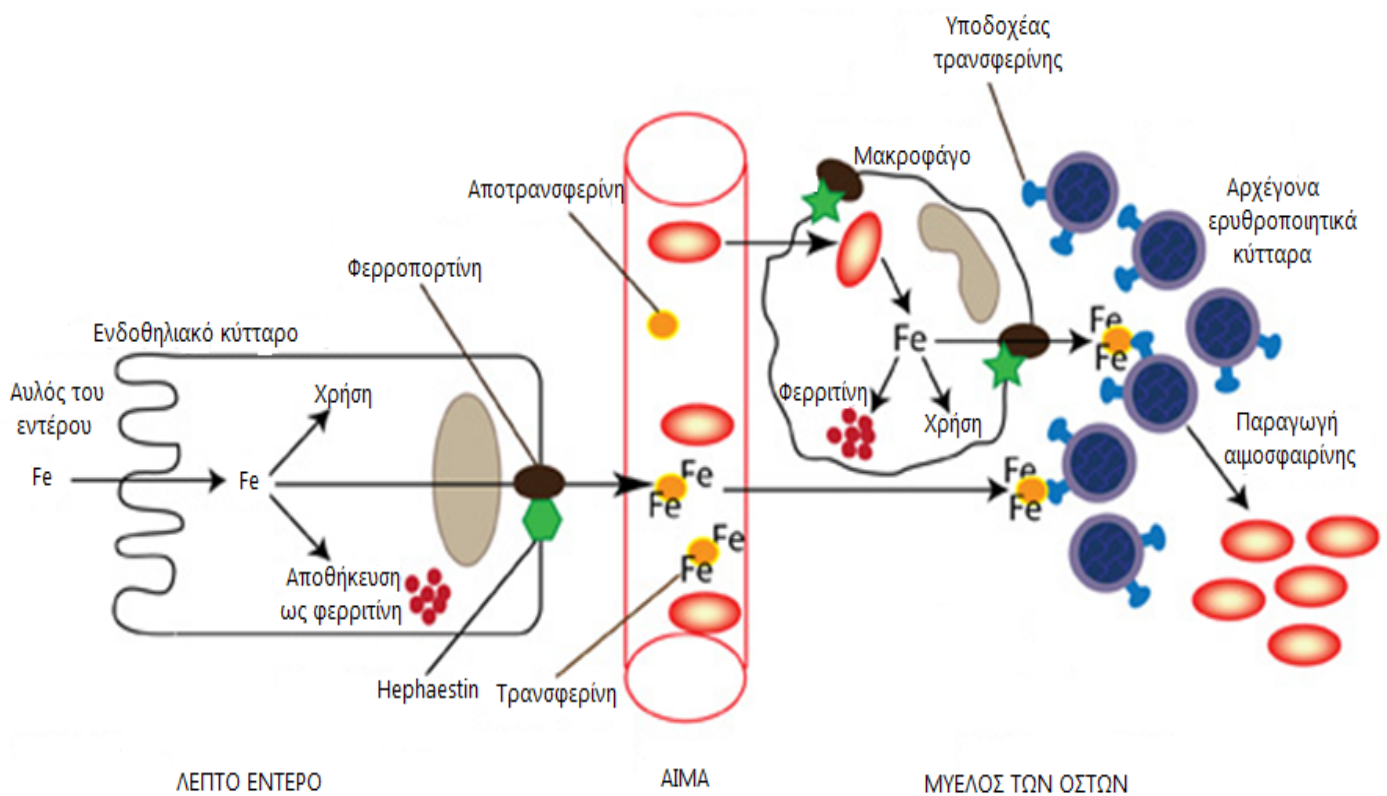
#### 5.4.2 Μη αιμικός σίδηρος

Ο μη αιμικός σίδηρος είναι αυτός που λαμβάνουμε διατροφικά, είναι τρισθενής ( $\text{Fe}^{+3}$ ) και για να απορροφηθεί από τον οργανισμό πρέπει να γίνει δισθενής ( $\text{Fe}^{+2}$ ). Όταν ο μη αιμικός σίδηρος προχωρά στον γαστρεντερικό σωλήνα, επιδέχεται την επίδραση των γαστρικών εκκρίσεων που περιλαμβάνουν το υδροχλωρικό οξύ και την πρωτεάση *πεψίνη*. Με την δράση των παραγόντων αυτών, ο σίδηρος απελευθερώνεται από τα συστατικά των τροφών από τα οποία προέρχεται. Σε αυτή τη φάση ο σίδηρος είναι τρισθενής ( $\text{Fe}^{+3}$ ) και όσο το PH παραμένει όξινο, ο σίδηρος είναι διαλυτός. Προχωρώντας στο δωδεκαδάκτυλο, όπου υπάρχει αλκαλικό PH ο τρισθενής σίδηρος μετατρέπεται σε μορφή δισθενούς σιδήρου ( $\text{Fe}^{+2}$ ) μετά την σύνδεσή του με την πρωτεΐνη *αποτρανσφερίνη*. Ο σίδηρος με αυτή τη μορφή απορροφάται από τα κύτταρα του εντερικού επιθηλίου και μεταφέρεται στο εσωτερικό του εντεροκυττάρου.

Το ποσοστό του σιδήρου που απορροφάται ανέρχεται στο 5 έως 10% της λαμβανόμενης μέσω της τροφής ποσότητας. [Stipanuk και συν. 2000]. Μετά την απορρόφηση και τη μεταφορά του σιδήρου στα εντεροκύτταρα, ένα μέρος αποθηκεύεται στα ίδια τα εντεροκύτταρα με τη μορφή *φερριτίνης* και ένα μέρος χρησιμοποιείται από τον οργανισμό για την διεξαγωγή διάφορων βιοχημικών αντιδράσεων. Ο σίδηρος που βρίσκεται ενσωματωμένος στη φερριτίνη του εντερικού κυττάρου, δεν κινητοποιείται εύκολα από τη στιγμή που αποθηκεύεται.

Ορισμένες ουσίες γνωστές ως υποκαταστάτες, συνδέονται με το σίδηρο και είτε προάγουν είτε εμποδίζουν την απορρόφησή του. Η πορεία του σιδήρου που είναι συνδεδεμένος με αυτές, εξαρτάται από τη διαλυτότητα του συμπλόκου και το βαθμό σύνδεσης του σιδήρου με το σύμπλοκο. Αν το σύμπλοκο του σιδήρου με τις ουσίες αυτές είναι διαλυτό στο εντερικό PH και ο σίδηρος είναι ασθενώς συνδεδεμένος, μπορεί να απελευθερωθεί από αυτό το σύμπλοκο και άρα να απορροφηθεί. Στην αντίθετη περίπτωση, αν το σύμπλοκο είναι αδιάλυτο στο εντερικό PH και ο σίδηρος είναι στενά συνδεδεμένος με το σύμπλοκο, τότε αδυνατεί να απελευθερωθεί και άρα να απορροφηθεί, κι έτσι ο σίδηρος αποβάλλεται μέσω των κοπράνων [Groff και συν. 2000].

Εν συνεχεία, ο σίδηρος απελευθερώνεται από το εσωτερικό του λεπτού εντέρου μέσω μιας διαμεμβρανικής πρωτεΐνης φερροπορτίνης. Ο σίδηρος θα συνδεθεί στη συνέχεια στους υποδοχείς της πρωτεΐνης τρανσφερίνης και θα μεταφερθεί στην κυκλοφορία του αίματος. Μετά από αυτή τη διαδικασία, ο σίδηρος εισέρχεται στα μακροφάγα κύτταρα, όπου ένα μέρος πάλι αποθηκεύεται με την μορφή φερριτίνης και ένα μέρος χρησιμοποιείται από τα κύτταρα για την διεξαγωγή των αντιδράσεων. Με την δράση της φερροπορτίνης ο σίδηρος εξέρχεται από τα μακροφάγα κύτταρα, συνδέεται με την τρανσφερίνη η οποία τον μεταφέρει στον μυελό των οστών. Εκεί, ο σίδηρος συνδέεται στους υποδοχείς των αρχέγονων ερυθροποιητικών κυττάρων, παράγεται η αιμοσφαιρίνη, και αποτελεί μέρος των συστατικών της, όπως είχε προαναφερθεί στην εικόνα 1.9.



**Εικόνα 2.1** Διαδικασία απορρόφησης του σιδήρου από το λεπτό έντερο [Πηγή: [www.wikipedia.com](http://www.wikipedia.com)]

#### 5.4.3 Σίδηρος στις γυναίκες

Ειδικά στην περίπτωση του γυναικείου φύλου, ο σίδηρος είναι κάτι παραπάνω από απαραίτητο στοιχείο που πρέπει να προσλαμβάνεται. Οι γυναίκες καθ' όλη την διάρκεια της ζωής τους έχουν συνεχή ανάγκη από σίδηρο. Κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγικής ηλικίας, λόγω του αυξημένου ρυθμού λειτουργίας του αναπαραγωγικού συστήματος, αποβάλλεται μεγάλη ποσότητα αίματος λόγω της εμμήνου ρύσεως, κατά συνέπεια και αιμοσφαιρίνη άρα και σίδηρος. Κατά την διάρκεια της εγκυμοσύνης και τη γαλουχία, χάνονται μεγάλα ποσοστά σιδήρου λόγω της ανάγκης του εμβρύου να τραφεί από το σώμα της μητέρας. Οι ημερήσιες ανάγκες σε σίδηρο για τις γυναίκες είναι 15 έως 20 μg ενώ οι τιμές αναφοράς κυμαίνονται από 37 έως 145 mg.

#### 5.4.4 Σίδηρος στους άνδρες

Στην περίπτωση του ανδρικού φύλου, λόγω της απουσίας εμμήνου ρύσεως, δεν χάνονται τόσο μεγάλα ποσοστά αίματος και κατά συνέπεια αιμοσφαιρίνης άρα και σιδήρου. Επομένως, πολλές φορές ο σίδηρος συγκεντρώνεται στον οργανισμό των ανδρών σε μεγαλύτερα ποσοστά από το φυσιολογικό και μπορεί να γίνει τοξικός. Αυτός είναι ο λόγος που στατιστικά οι άνδρες έχουν υψηλότερο αιματοκρίτη από τις γυναίκες και αρκετές φορές τιμές έξω από το εύρος των τιμών αναφοράς. Σε αυτές τις περιπτώσεις συνίσταται η αφαίμαξη (λόγω τοξικότητας και δηλητηρίασης του αίματος και των παραγώγων του εξαιτίας της υπερφόρτωσης με σίδηρο) ή η τακτική αιμοδοσία. Οι ημερήσιες ανάγκες σε σίδηρο για τους άνδρες είναι 10 έως 15 μg ενώ οι τιμές αναφοράς κυμαίνονται από 60 έως 160 mg.

#### 5.5 Αποθηκευτική βλάβη και συσχέτιση με Fe

Σύμφωνα με την βιβλιογραφία, σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε από την Αμερικανική Αιματολογική Εταιρία στο πανεπιστήμιο Columbia στην Νέα Υόρκη τον Αύγουστο του 2011, η μετάγγιση αίματος με γηρασμένα ερυθροκύτταρα συνδέεται με την εμφάνιση ανεπιθύμητων συμβάντων μετά την μετάγγιση. Η σχέση μεταξύ της διάρκειας αποθήκευσης των ερυθρών αιμοσφαιρίων και της ποσοστιαίας αύξησης των σοβαρών μολύνσεων, της σήψης και της θνησιμότητας είναι άρρηκτη.

[Eldad και συν. 2011]

Πιο συγκεκριμένα, εξετάστηκαν δεκατέσσερις ενήλικοι υγιείς εθελοντές αιμοδότες, όπου κάθε εθελοντής αιμοδότησε δυο αυτόλογες μονάδες αίματος, οι οποίες λευκαφαιρέθηκαν και κατόπιν αποθηκεύτηκαν όλες στις ίδιες συνθήκες. Στη συνέχεια, κάθε εθελοντής μεταγγίστηκε με μία αυτόλογη μονάδα αίματος «φρέσκια», η οποία είχε αποθηκευτεί 3 έως 7 ημέρες και με μία αυτόλογη μονάδα αίματος «παλιά», η οποία είχε αποθηκευτεί 40 έως 42 ημέρες. Όλες οι μεταγγίσεις έλαβαν χώρα στις έντεκα το πρωί, με ρυθμό αιμοδότησης 150 ml/ώρα ενώ όλοι οι αιμοδότες προμηθεύτηκαν το ίδιο φαγητό. Από κάθε αιμοδότη λήφθηκαν δείγματα αίματος ενενήντα λεπτά πριν την μετάγγιση και σε μηδέν, μια, δυο, τέσσερις, εικοσιτέσσερις και εβδομήντα δύο ώρες μετά την μετάγγιση.

Από τους δεκατέσσερις αιμοδότες, οι έντεκα ήταν άνδρες και οι τρεις ήταν γυναίκες. Όλα τα δείγματα από τις φλεβοπαρακεντήσεις διατηρήθηκαν στο ψυγείο στους -80°C έτσι ώστε να γίνουν οι ίδιες δοκιμασίες στον ίδιο χρόνο και χώρο ώστε να εξασφαλιστούν ίδιες συνθήκες.

Τα κριτήρια με βάση τα οποία επιλέχθηκαν οι αιμοδότες της έρευνας ήταν τα παρακάτω:

➤ Κριτήρια ένταξης:

Οι αιμοδότες έπρεπε να είναι 18 έως 60 ετών με βάρος για τους άνδρες μεγαλύτερο των 60 kg και για τις γυναίκες μεγαλύτερο των 70 kg. Επίσης, οι άνδρες έπρεπε να είναι άνω του 1.55 cm και οι γυναίκες άνω του 1.65 cm με αιμοσφαιρίνη μεγαλύτερη από 13.3 g/dL.

➤ Κριτήρια αποκλεισμού:

Όλοι οι αιμοδότες με συστολική πίεση μικρότερη των 90 mmHg και διαστολική πίεση μικρότερη των 50 mmHg αποκλείονταν από την έρευνα. Επίσης, αποκλείονταν οι εθελοντές με παλμούς λιγότερους από 50 ανά λεπτό και περισσότερους από 100 ανά λεπτό. Τέλος, στην έρευνα δεν εσωκλείονταν αιμοδότες με θερμοκρασία άνω των 37.5°C, με πιθανότητα λοίμωξης και σε κατάσταση εγκυμοσύνης ή γαλουχίας.

Αξιολογώντας τα αποτελέσματα, παρατηρήθηκε ότι δεν υπήρχαν αντιδράσεις μετά την μετάγγιση (αναφυλαξία, σπασμοί, πυρετός) σε κανέναν από τους αιμοδότες ούτε στην μετάγγιση «φρέσκων» ερυθροκυττάρων ούτε στην μετάγγιση «παλιών». Επίσης, δεν αποδείχτηκε καμία σημαντική αλλαγή σε βασικούς μεταβολικούς παράγοντες (νάτριο, κάλλιο, γλυκόζη, κρεατινίνη, ουρία) εκτός του ασβεστίου στο οποίο παρατηρήθηκε μείωση μετά την μετάγγιση γηρασμένων ερυθροκυττάρων τέσσερις ώρες μετά την μετάγγιση.

Όσον αφορά τις εξετάσεις αίματος, τέσσερις ώρες μετά την μετάγγιση παρατηρήθηκε αύξηση στην αιμοσφαιρίνη κατά 0.22 g/dL και 0.34 g/dL στην μετάγγιση φρέσκων και γηρασμένων ερυθροκυττάρων αντίστοιχα και εικοσιτέσσερις ώρες μετά την μετάγγιση η αύξηση ήταν 0.82 g/dL και 0.89 g/dL για την μετάγγιση φρέσκων και γηρασμένων ερυθροκυττάρων αντίστοιχα. Στα λευκά αιμοσφαίρια δεν υπήρχαν σημαντικές αλλαγές, το ίδιο και για τα ουδετερόφιλα και τα αιμοπετάλια.

Όσον αφορά τους παράγοντες ηπατικής λειτουργίας (ασπαρτική αμινοτρανσφεράση, αλκαλική φωσφατάση, αλβουμίνη) τα αποτελέσματα δεν έδειξαν διαφορές μετά την μετάγγιση φρέσκων και γηρασμένων ερυθροκυττάρων. Στην χολερυθρίνη του ορού, παρ' όλα αυτά υπήρξε μικρή αύξηση σε τρεις από τους δεκατέσσερις αιμοδότες.

Όσον αφορά τον σίδηρο του ορού, παρ' όλο που καμία αλλαγή δεν παρατηρήθηκε μετά την μετάγγιση φρέσκων ερυθροκυττάρων, οι μεταγγίσεις με παλιά ερυθροκύτταρα οδήγησε σε σημαντική αύξηση του σιδήρου του ορού κατά 162 μg/dL τέσσερις ώρες μετά την μετάγγιση σε δεκατρείς από τους δεκατέσσερις αιμοδότες. Επιπρόσθετα, μετά την μετάγγιση με γηρασμένα ερυθροκύτταρα, τα επίπεδα της φερριτίνης του ορού αυξήθηκαν στα 15.5 g/dL.

Σημαντική αλλαγή της τάξης των 3.2 μM παρατηρήθηκε, επίσης, στα επίπεδα του μη-συνδεδεμένου σιδήρου δυο ώρες μετά την μετάγγιση με γηρασμένα ερυθροκύτταρα.

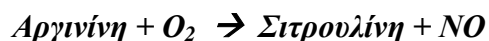
Τέλος, μετά από καλλιέργεια του αίματος παρατηρήθηκε ότι μόνο στις καλλιέργειες του αίματος από γηρασμένα ερυθροκύτταρα υπήρξαν αποικίες του βακτηρίου *Escherichia coli*, γεγονός το οποίο η βιβλιογραφία συνδέει με την αύξηση του μη συνδεδεμένου σιδήρου μετά την μετάγγιση με γηρασμένα ερυθροκύτταρα [Hod και συν.2010].

Αυτά τα αποτελέσματα παρέχουν στοιχεία που αποδεικνύουν τις διαφορές στην επίδραση της μετάγγισης με «φρέσκα» και «παλιά» ερυθροκύτταρα στους μεταγγιζόμενους ασθενείς και τον αυξημένο κίνδυνο λοίμωξης μετά από μετάγγιση με γηρασμένα ερυθροκύτταρα [Eldad και συν. 2011].

## 6. -NO- & ΑΠΟΘΗΚΕΥΤΙΚΗ ΒΛΑΒΗ

### 6.1 Παραγωγή NO

Το μονοξείδιο του αζώτου ή αλλιώς NO αποτελεί ανόργανη ένωση που προκύπτει από την συνένωση ενός μορίου N<sub>2</sub> και O<sub>2</sub> με τριπλό ομοιοπολικό δεσμό. Το NO παράγεται εντός των ενδοθηλιακών κυττάρων ως προϊόν της αντίδρασης:



Για την κατάλυση της προαναφερθείσας αντίδρασης απαιτείται η NO συνθάση, ένα ένζυμο απαραίτητο για την σύνθεση του NO.

### 6.2 Δράση NO

Το NO δρα με παρακρινή τρόπο μέσω διάχυσης στα κύτταρα των υποκείμενων μαλακών ιστών. Κατόπιν της διάχυσης, ενεργοποιεί τη γουανυλική κυκλάση, ένα ένζυμο που συμβάλλει στη μετατροπή του GMP σε cGMP, με τελικό στόχο την αγγειοδιαστολή και τη χαλάρωση των υποκείμενων μαλακών ιστών σύμφωνα με την αντίδραση:



Η δράση του NO του προσδίδει έναν ρόλο-κλειδί τόσο στον αγγειακό τόνο όσο και στη ροή του αίματος.

### 6.3 Αποθηκευτική βλάβη & συσχέτιση με NO

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η αποθηκευτική βλάβη των ερυθροκυττάρων χαρακτηρίζεται ως αμελητέα μετά το πέρας μέχρι πέντε ημερών. Ταυτόχρονα, όσο πιο κοντά βρισκόμαστε στο αποθηκευτικό όριο των σαράντα-δύο ημερών, τόσο αυξάνονται οι δηλητηριώδεις επιδράσεις του αίματος στο μεταγγιζόμενο. Με αφορμή τα παραπάνω, οι Tinmouth και συν. (2006) και Wang και συν. (2012) εξέτασαν συστηματικά έρευνες που μελέτησαν τη σχέση μεταξύ των ερυθροκυττάρων και των συμβάντων μετάγγισης. Η μετά-ανάλυση που πραγματοποίησαν οι Tinmouth και Wang σχετικά με τα δυσμενή συμβάντα μετάγγισης έδειξαν ότι ο λήπτης που μεταγγιζόταν με saRBCs (storage-aged red blood cells) παρουσίαζε χειρότερα αποτελέσματα μετά την μετάγγισή του.

Ο ρόλος των ερυθροκυττάρων στην κυκλοφορία, εκτός της μεταφοράς  $O_2$  και  $CO_2$ , έγκειται στη συμμετοχή τους στην υποξική αγγειοδιαστολή. Ως υποξική αγγειοδιαστολή ορίζουμε εκείνη τη διαδικασία κατά την οποία ρυθμίζεται η τοπική ροή του αίματος, κατά το δοκούν, ώστε να διαχέεται και να παρέχεται οξυγόνο στους περισσότερο υποξικούς ιστούς. Η συγκεκριμένη διαδικασία, αν και δεν είναι πλήρως κατανοητή σε επίπεδο βιοχημείας, μπορεί να συνδεθεί με τη σύνθεση, την παραγωγή και τα επίπεδα του μονοξειδίου του αζώτου. Σε περίπτωση που επιτευχθεί συσχέτιση μεταξύ της υποξικής αγγειοδιαστολής και των saRBCs τότε θα ήταν εφικτή η ερμηνεία της σύνδεσης της αποθηκευτικής βλάβης των ερυθροκυττάρων με τα ανεπιθύμητα συμβάντα κατά τη μετάγγιση.

Στην προσπάθεια συσχέτισης της υποξικής αγγειοδιαστολής με τα saRBCs οι ερευνητές δημιούργησαν τέσσερα διαφορετικά μοντέλα που προσομοιάζουν τον πιθανό μηχανισμό υπό των οποίων συνδέονται η υποξική αγγειοδιαστολή και τα saRBCs.

#### 6.3.1 Μοντέλο 1<sup>ο</sup>

Όπως έχει δείξει ο Ignarro και συν. (1981) η S-αζωτοποίηση της αιμοσφαιρίνης (σύμπλοκο SNO-Hb) είναι μία διαδικασία που μπορεί να παράγει μία δεξαμενή NO εντός των ερυθροκυττάρων έτοιμη να διαχυθεί σε οποιοδήποτε υποξικό περιβάλλον. Ταυτόχρονα, η S-αζωτοποίηση της αιμοσφαιρίνης φαίνεται να μειώνεται κατά την αποθήκευση [Singel και συν, 2000].

#### 6.3.2 Μοντέλο 2<sup>ο</sup>

Σύμφωνα με έρευνες του Huang και συν. (2005) οι αζωτούχες ενώσεις, που βρίσκονται σε υψηλές συγκεντρώσεις στο πλάσμα, μπορούν να μετατραπούν σε μονοξείδιο του αζώτου μέσω της αιμοσφαιρίνης. Σε αυτό το μοντέλο, η αποξυγονοποιημένη αιμοσφαιρίνη που βρίσκεται σε μεγάλες συγκεντρώσεις στους υποξικούς ιστούς, δεσμεύει τις αζωτούχες ενώσεις και ένα πρωτόνιο ώστε να παράξει μονοξείδιο του αζώτου και μεθαιμοσφαιρίνη. Εάν η αποθήκευση του αίματος διαφοροποιούσε τη δράση της αναγωγάσης των νιτροδών της αιμοσφαιρίνης, αυτή η πηγή μονοξειδίου του αζώτου θα διακόπτονταν.



Ανεξαρτήτως των δύο μοντέλων, το μονοξειδίο του αζώτου πρέπει να διαχέεται από τα ερυθροκύτταρα στους μαλακούς μύες ώστε να προκαλείται αγγειοδιαστολή.

### 6.3.3 Μοντέλο 3<sup>ο</sup>

Το μοντέλο αυτό που πιθανώς εξηγεί τη σχέση μεταξύ της μειωμένης παραγωγής μονοξειδίου του αζώτου και των γηρασμένων ερυθροκυττάρων – saRBCs αφορά το ATP. Η απελευθέρωση του ενεργειακού νομίσματος από τα ερυθροκύτταρα αφορά μία διαδικασία διέγερσης της παραγωγής του NO εντός του ενδοθηλίου και πιθανώς υπόκειται σε βλάβες κατά την αποθήκευση των ερυθροκυττάρων σύμφωνα με τους Ellsworth και συν. (2000, 2004, 1995), Sprague και συν. (1996) και Zhu και συν. (2011).

### 6.3.4 Μοντέλο 4<sup>ο</sup>

Σαν εναλλακτικός μηχανισμός που θα μπορούσε να υποδεικνύει μειωμένη αγγειοδιαστολή ύστερα από μετάγγιση θεωρήθηκε η παραγωγή ενός ανασταλτικού παράγοντα από τα εγγεόμενα, κατά τη μετάγγιση, saRBCs [Roback et al, 2011] [Chen et al, 2008]. Αυτός ο ανασταλτικός παράγοντας αφορά τη διακοπή της φυσιολογικής εκπομπής μονοξειδίου του αζώτου μεταξύ:

- 1) Ενδογενών ερυθροκυττάρων
- 2) Ενδοθηλίου και
- 3) Υποκείμενων μαλακών ιστών

Αυτός ο μηχανισμός παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον καθώς θα μπορούσε να επιτραπεί σε μικρό όγκο γηρασμένων ερυθροκυττάρων να εμποδίζει, σε ευρύ φάσμα, την υποξική αγγειοδιαστολή. Η παρεμπόδιση της παραγωγής NO θα μπορούσε να οφείλεται σε μία ποικιλία παραγόντων μεταξύ των οποίων είναι:

1) Η ελεύθερη αιμοσφαιρίνη που απελευθερώνεται στο πλάσμα εξαιτίας της αιμόλυσης: σύμφωνα με ερευνητικά όσο και κλινικά δεδομένα, η ελεύθερη, στο πλάσμα, αιμοσφαιρίνη είναι ικανή να εξαφανίσει, σχεδόν στην πλειονότητά του, το μονοξειδίο του αζώτου. [Relter και συν, 2002] [Rother και συν, 2005].

- 2) Η φυσιολογική αιμοσφαιρίνη (normal Hb) και
- 3) Άλλοι παράγοντες οι οποίοι βρίσκονται έγκλειστοι στα μικροκυστίδια

των ερυθροκυττάρων (erythrocytes microparticles).

*Σημείωση:*

*Πιθανώς τα μικροκυτίδια των ερυθροκυττάρων είναι ιδιαίτερος σημαντικά καθώς ρέουν πιο κοντά στο ενδοθήλιο απ' ό τι στα άθικτα ερυθρά, φέρνοντας ταυτόχρονα και την αιμοσφαιρίνη πιο κοντά στο σημείο σύνθεσης του μονοξειδίου του αζώτου με αποτέλεσμα να επιτείνεται ο αποδεκατισμός του NO σχεδόν αμέσως μετά τη μετάγγιση.*

Παρόλο που τα ανέπαφα saRBCs θα μπορούσαν, θεωρητικά, να εμπλακούν στην καταλύσιμη από το μονοξείδιο του αζώτου αγγειοδιαστολή, υπάρχουν ελάχιστα δεδομένα για να στηριχτεί αυτός ο μηχανισμός.

Με αφορμή αυτές τις προτάσεις μοντέλων, οι Alexander και συν. (2012) χρησιμοποίησαν ένα ex-vivo σύστημα όπου η εξαρτώμενη από το ενδοθήλιο και υποβοηθούμενη από το μονοξείδιο του αζώτου αγγειοδιαστολή θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ερευνητικά και να παρακολουθηθεί εις βάθος. Ο στόχος αυτού του εγχειρήματος ήταν να μελετηθεί και να προσδιοριστεί ο αντίκτυπος των φρέσκων ερυθροκυττάρων έναντι των γηρασμένων όσον αφορά την αγγειοδιαστολή.

Το ίδιο μοντέλο είχε χρησιμοποιηθεί από τους Crawford και συν. (2006) ώστε να επισημανθούν οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των ερυθροκυττάρων και του αγγειακού συστήματος και να παρουσιαστεί ο τρόπος με τον οποίο, το παραγόμενο εκ των ερυθροκυττάρων ATP μαζί με την καταλύσιμη από την δεσοξυ-αιμοσφαιρινική παραγωγή του μονοξειδίου του αζώτου, διεγείρουν την αγγειοδιαστολή.

Κάνοντας χρήση του συγκεκριμένου μοντέλου, οι Alexander και συν. (2012) εστίασαν στο να προσδιορίσουν εάν τα γηρασμένα ερυθροκύτταρα μπορούν να αλληλεπιδράσουν με τις φυσιολογικές, υποβοηθούμενες από το μονοξείδιο του αζώτου, αγγειοδιαστολικές δραστηριότητες καθώς επίσης και σε ποιο βαθμό η ανασταλτική επίδραση υποβοηθείται από ουσίες, όπως η αιμοσφαιρίνη, που απελευθερώνονται από τα γηρασμένα ερυθροκύτταρα εντός του ασκού, ή από έναν εναλλακτικό μηχανισμό.

Για να φτάσουν στα αποτελέσματά τους, οι Alexander και συν. (2012) επέλεξαν εθελοντές με βάση το ιατρικό ιστορικό τους και την τότε κατάσταση υγείας τους. Ύστερα από την αιμοδότηση εθελοντών σε ασκό αιμοδοσίας 500 mL, οι τελευταίοι φυλάχθηκαν σε ηλεκτρονικά ελεγχόμενο ψυγείο στους 2°C έως 6°C για χρονικό διάστημα έως σαράντα δύο ημερών. Τα δείγματα ακολούθως χρησιμοποιούνταν για την επίτευξη της ex vivo «χαλάρωσης» της αορτής. Οι αορτές προερχόταν από αρουραίους που ευθανατώθηκαν και κατόπιν προσεκτικής απομόνωσης και καθαρισμού τους από το περιττό λίπος, διατηρήθηκαν σε φυσιολογικό ορό.

Προτού προσπαθήσουν να προσδιορίσουν το ποσοστό χαλάρωσης της αορτής, τα δείγματα αίματος προετοιμάστηκαν με φυγοκέντρηση στα 5000 x g για πέντε λεπτά και ακολούθως αφαιρέθηκε το υπερκείμενο προτού ακολουθήσει πλύσιμο των ερυθρών επί τρεις φορές. Τέλος, για την επίτευξη ακρίβειας στον προσδιορισμό του ποσοστού «χαλάρωσης» της αορτής, τοποθετήθηκαν αορτικοί δακτύλιοι κατά τρόπο ώστε να μην διεγείρουν ή να αναστέλλουν την αγγειοδιαστολή.

Σύμφωνα με τα ερευνητικά δεδομένα των Alexander και συν (2006), οι αορτικοί δακτύλιοι με την παρουσία φρέσκου αίματος (ημέρας 0) εμφάνισαν ποσοστό «χαλάρωσης» έως και 60% κατόπιν προσθήκης ποσότητας μεταχολίνης (ουσία που προάγει την αγγειοδιαστολή ελεγχόμενα ανάλογα με την ποσότητα και την συγκέντρωση στην οποία προστίθεται) σε αντίθεση με την παρουσία οριακά διατηρημένου αίματος (Ημέρα 42) όπου δεν εμφανίστηκε αξιοσημείωτη αορτική «χαλάρωση» ακόμη και μετά την προσθήκη πολύ υψηλών συγκεντρώσεων μεταχολίνης. Έτσι, κατέληξαν στην θέση ότι καθώς ο χρόνος αποθήκευσης των ερυθροκυττάρων παρατεινόταν, η μέγιστη «χαλάρωση» μειωνόταν δραματικά, με το αίμα ημέρας 42 να εμφανίζει μέγιστο ποσοστό αορτικής «χαλάρωσης» περίπου 11.3%. Συγκρίνοντας ταυτόχρονα το αίμα ημέρας 0 με αίμα που είχε αποθηκευθεί από εικοσιοκτώ έως σαράντα δύο ημέρες, παρατηρήθηκε μεγαλύτερη αναστολή της αγγειοδιαστολής.

Τόσο οι Alexander και συν. (2012) όσο και άλλοι ερευνητές πρότειναν μία υπόθεση για να εξηγήσουν πως οι αποθηκευμένοι ασκοί αιμοδοσίας μπορούν να

προκαλέσουν δηλητηριώδη αποτελέσματα σε μεταγγιζόμενους ασθενείς, με την οποία κατάφεραν να καταρρίψουν την υπόθεση περί ανεπαρκούς βιο-διαθεσιμότητας του μονοξειδίου του αζώτου όπως αυτή τέθηκε από τους Roback και συν. (2011), Glynn και συν. (2010), Kanias και συν (2012) και Spanella και συν. (2011).

Αυτή η υπόθεση θεμελιώνει το γεγονός ότι τόσο οι αλλαγές που λαμβάνουν χώρα εντός των ασκών αιμοδοσίας κατά την αποθήκευση όσο και οι παθολογικές διαδικασίες στον μεταγγιζόμενο, μπορούν ανεξάρτητα η μία από την άλλη να ρυθμίσουν τα τοπικά επίπεδα μονοξειδίου του αζώτου. Συνολικά, το άθροισμα αυτών των παραγόντων καθορίζει τη βιο-διαθεσιμότητα του μονοξειδίου του αζώτου το οποίο με τη σειρά του ελέγχει την αγγειοδιαστολή και τη ροή του αίματος.

Όταν η βιο-διαθεσιμότητα του NO μειωθεί κάτω από ένα κρίσιμο σημείο, η τοπική ροή αίματος και η διανομή O<sub>2</sub> είναι ανεπαρκής για να καλυφθούν οι απαιτήσεις των ιστών, οδηγώντας σε επιπλοκές τερματισμού της λειτουργίας συγκεκριμένων οργάνων. Πρόσφατες έρευνες των Kanias και συν. (2012) και Yu και συν. (2012) επιβεβαιώνουν τον «διττό» μηχανισμό ώστε να εξηγηθούν τα ανεπιθύμητα συμβάντα που προκαλούνται κατόπιν μετάγγισης πολυκαιρισμένου αίματος.

## ΥΛΙΚΑ & ΜΕΘΟΔΟΙ

### **ΕΙΣΑΓΩΓΗ**

Σε αυτό το κεφάλαιο περιγράφονται συνοπτικά όλες οι εργαστηριακές μέθοδοι που εκτελέστηκαν με στόχο την εξαγωγή αξιόπιστων αποτελεσμάτων.

Οι εθελόντριες αιμοδότες αιμοδοτούν αίμα ποσότητας περίπου 12 ml. Το πρώτο σωληνάριο περιείχε κιτρικά άλατα, το δεύτερο EDTA (x2) και το τρίτο σωληνάριο ήταν χωρίς αντιπηκτικό.

Αμέσως μετά την αιμοληψία, διεξάχθηκε γενική εξέταση αίματος, ελέγχθηκε διπλή φορά ο αιματοκρίτης με την εξέταση του μικροαιματοκρίτη (ο μικροαιματοκρίτης ήταν 2% υψηλότερος από τον αιματοκρίτη λόγω του ποσοστού παγιδευμένου πλάσματος), η αιμοσφαιρίνη και η ποσότητα των λευκών αιμοσφαιρίων μαζί με τα αιμοπετάλια.

Πριν από κάθε πείραμα έγινε αμέσως φυγοκέντρηση σε όλα τα δείγματα (εκτός από το δεύτερο σωληνάριο με EDTA), απομάκρυνση του υπερκειμένου και αποθήκευση των υπερκειμένων στους  $-80^{\circ}\text{C}$ .

Την ίδια μέρα στο δείγμα με EDTA (και λίγος ορός για την ανάστροφη διαδικασία ομάδας αίματος) πραγματοποιήθηκαν οι δοκιμασίες που αναφέρονται παρακάτω.

Συνοπτικά οι εργαστηριακές μέθοδοι που εκτελέστηκαν είναι οι κάτωθι:

1. Προσδιορισμός Ομάδας Αίματος κατά ABO
2. Προσδιορισμός Αντιγόνου D του Συστήματος Rhesus
3. Ωσμωτική Αντίσταση Ερυθροκυττάρων
4. Υπολογισμός Ελεύθερης Αιμοσφαιρίνης Πλάσματος
5. Επίστρωση σε αντικειμενοφόρο πλάκα

## 1. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΟΜΑΔΑΣ ΑΙΜΑΤΟΣ ABO (AABB manual 2012)

### 1.1 Δείγμα

Προτού εκτελεστούν οι δοκιμασίες στις πλάκες, ακολουθήθηκαν οι 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.

### 1.2 Αντιδραστήρια

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να χρησιμοποιηθούν σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν ήταν τα εξής:

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

### 1.3 Διαδικασία

I. Τοποθετήθηκε μια σταγόνα Αντι-A πάνω σε μία καθαρή, επισημασμένη από το χειριστή, γυάλινη πλάκα.

II. Τοποθετήθηκε μια σταγόνα Αντι-B πάνω σε μία ξεχωριστή καθαρή, επισημασμένη από το χειριστή, γυάλινη πλάκα.

III. Τοποθετήθηκε μια σταγόνα Αντι-A,B πάνω σε μία τρίτη πλάκα σε περίπτωση που έπρεπε να γίνουν παράλληλες δοκιμασίες με αυτό το αντιδραστήριο ή σε μία μονή, καθαρή, επισημασμένη πλάκα.

IV. Προστέθηκε σε κάθε σταγόνα του αντιδραστηρίου πάνω στις πλάκες μια σταγόνα καλώς ανακινημένου εναιωρήματος (σε φυσιολογικό ορό, ορό αίματος ή πλάσμα) των προς εξέταση ερυθροκυττάρων.

Ακολουθήθηκαν οι οδηγίες του κατασκευή του αντιδραστηρίου για την ακριβή συγκέντρωση κυττάρων που θα χρησιμοποιηθεί.

V. Αναμίχθηκαν καλά τα αντιδραστήρια μαζί με τα ερυθροκύτταρα, χρησιμοποιώντας ένα καθαρό στικ εφαρμογής για κάθε αντιδραστήριο. Το μείγμα απλώθηκε σε μία περιοχή περίπου 20-40 χιλιοστά (mm).

VI. Η πλάκα τοποθετήθηκε με κλίση από τη μια άκρη στην άλλη συνεχόμενα για δυο λεπτά. Η πλάκα δεν πρέπει να τοποθετείται πάνω σε μία ζεστή επιφάνεια κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου.

#### 1.4 Ερμηνεία

I. Έντονη συγκόλληση των ερυθροκυττάρων στην παρουσία οποιουδήποτε αντιδραστηρίου για τον προσδιορισμό κατά ABO συντελεί σε **θετικό αποτέλεσμα**.

II. Ελαφρύ εναιώρημα ερυθροκυττάρων μετά το πέρας δυο λεπτών συντελεί **αρνητικό αποτέλεσμα**.

III. Δείγματα που έδωσαν ασθενείς ή αμφισβητούμενες αντιδράσεις έπρεπε να επανελεγχθούν.

Η εξέταση με πλάκες ενέχει μεγαλύτερο κίνδυνο έκθεσης σε μολυσματικά δείγματα. Ακολουθήθηκαν τα μέτρα ασφαλείας που αναγράφονται λεπτομερώς στο εγχειρίδιο διαδικασιών του κτιρίου. Η εξέταση με πλάκες δεν είναι κατάλληλη για τον εντοπισμό αντισωμάτων κατά ABO στον ορό ή στον πλάσμα.

## 2. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ RHESUS (AABB Manual 2012)

### 2.1 Προσδιορισμός Rh(D) τύπου – Δοκιμασία Πλάκας

#### 2.1.1 Δείγμα

Ερυθροκύτταρα από πήγμα ή αίμα με αντιπηκτικό μπορούν να χρησιμοποιηθούν. Τα ερυθροκύτταρα εναιωρήθηκαν σε αυτόλογο ορό, πλάσμα ή φυσιολογικό ορό. Οι δοκιμασίες πλάκας έδωσαν εξαιρετικά αποτελέσματα με υψηλές συγκεντρώσεις ερυθροκυττάρων σε αντίθεση με τους δοκιμαστικούς σωλήνες.

### 2.1.2 Αντιδραστήρια

Στο αντιδραστήριο αντι-D αναγράφεται ειδικά ότι είναι κατάλληλο για δοκιμασία σε πλάκα. Οι οδηγίες του κατασκευαστή ανέγραφαν τον τύπο του μάρτυρα που χρησιμοποιήθηκε για το αντιδραστήριο.

### 2.1.3 Κίνδυνοι

Οι δοκιμασίες πλάκας ενέχουν ένα μεγαλύτερο κίνδυνο έκθεσης σε βιολύματα. Τα μέτρα ασφαλείας που αναγράφονται λεπτομερώς στο εγχειρίδιο διαδικασιών του κτιρίου ακολουθήθηκαν επακριβώς. Η επώαση του μείγματος της αντίδρασης μπορεί να προκαλέσει συναθροίσεις ερυθροκυττάρων και να παρερμηνευθούν ως συγκολλήσεις. Οι δοκιμασίες για την έκφραση του D-weak δεν μπορούν να πραγματοποιηθούν σε δοκιμασία πλάκας.

### 2.1.4 Διαδικασία

I. Προθερμάνθηκαν οι γυάλινες πλάκες πάνω σε θερμαντήρα από 40 έως 50°C πριν τις δοκιμασίες.

II. Τοποθετήθηκε μια σταγόνα αντι-D πάνω σε μία καθαρή, επισημασμένη από τον χειριστή, πλάκα.

III. Τοποθετήθηκε μια σταγόνα κατάλληλου μάρτυρα πάνω στη δεύτερη επισημασμένη πλάκα. Ακολουθήθηκαν οι οδηγίες του κατασκευαστή για το αντιδραστήριο του μάρτυρα. Για δοκιμασίες που χρησιμοποιούν χαμηλής πρωτεΐνης αντι-D, ένα αρνητικό αποτέλεσμα στη δοκιμασία πλάκας με αντι-A ή αντι-B συνιστά την αντίδραση του μάρτυρα.

IV. Σε κάθε πλάκα, προστέθηκαν δυο σταγόνες ενός καλά-αναμιγμένου 40 έως 50% εναιωρήματος ερυθροκυττάρων σε ορό ή πλάσμα.

V. Χρησιμοποιήθηκε ένα καθαρό στικ εφαρμογής για να αναμιχθεί εκτενώς το μίγμα εναιωρήματος και αντιδραστηρίου σε μία περιοχή περίπου 20 έως 40 χιλιοστών.



VI. Τοποθετήθηκαν οι πλάκες πάνω στο θερμαντήρα και τοποθετήθηκαν με κλίση ενώ συνεχώς παρακολουθούνταν η συγκόλληση. Το μίγμα ελέγχθηκε για μακροσκοπική συγκόλληση και διαβάστηκε εντός δυο λεπτών.

### 2.1.5 Ερμηνεία

I. Συγκόλληση με το αντι-D και καθόλου συγκόλληση με την σταγόνα του μάρτυρα συνιστά ένα θετικό αποτέλεσμα για τη δοκιμασία και δείχνει ότι τα ερυθροκύτταρα είναι D θετικά.

II. Καθόλου συγκόλληση είτε με το αντι-D είτε με το μάρτυρα δείχνει ότι τα ερυθροκύτταρα είναι D αρνητικά. Ελέγχοντας με μία έμμεση αντισφαιρινική διαδικασία (Μέθοδος 2-15) ανιχνεύθηκε η αδύναμη έκφραση του D που δεν ανιχνεύεται με τη δοκιμασία πλάκας.

III. Εάν η συγκόλληση παρατηρηθεί στην πλάκα του μάρτυρα, τα αποτελέσματα της δοκιμασίας αντι-D δεν θα πρέπει αν ερμηνευθούν ως θετικά χωρίς περαιτέρω έλεγχο.

IV. Το στέγνωμα γύρω από τις άκρες του μίγματος δεν πρέπει να μπερδευτεί με συγκολλήσεις.

## 2.2 Προσδιορισμός RH(D) Τύπου – Δοκιμασία Σωλήνα

### 2.2.1 Δείγμα

Χρησιμοποιήθηκαν ερυθροκύτταρα από πήγμα ή αίμα με αντιπηκτικό. Τα ερυθροκύτταρα εναιωρήθηκαν σε αυτόλογο ορό, πλάσμα, ή φυσιολογικό ορό, πλύθηκαν και επαναιωρήθηκαν σε φυσιολογικό ορό.

### 2.2.2 Διαδικασία

I. Τοποθετήθηκε μια σταγόνα αντι-D σε καθαρό, επισημασμένο από τον χειριστή, δοκιμαστικό σωλήνα.

II. Τοποθετήθηκε μια σταγόνα του κατάλληλου μάρτυρα σε δεύτερο, επισημασμένο από τον χειριστή, δοκιμαστικό σωλήνα.

III. Προστέθηκε μια σταγόνα από ένα 2 έως 5% εναιώρημα ερυθροκυττάρων σε φυσιολογικό ορό, ορό αίματος ή πλάσμα. Εναλλακτικά, ένα ανάλογο ποσό προς εξέταση ερυθροκυττάρων μεταφέρθηκε σε κάθε σωλήνα με ένα καθαρό στικ εφαρμογής.

IV. Τα συστατικά αναμίχθηκαν απαλά και φυγοκεντρήθηκαν για τον χρόνο και στην ταχύτητα που προσδιορίζεται από τον κατασκευαστή.

V. Τα ερυθροκύτταρα επαναιωρήθηκαν απαλά και εξετάστηκαν για συγκόλληση. Εάν τα ερυθροκύτταρα μεταφέρθηκαν με στικ εφαρμογής, η προσθήκη μιας ακόμη σταγόνας φυσιολογικού ορού θα βοηθούσε στην επαναιώρηση των κυττάρων.

VI. Αξιολογήθηκαν οι αντιδράσεις και καταγράφηκε η δοκιμασία και τα αποτελέσματα του μάρτυρα.

#### *Σημείωση:*

*Η προσθήκη του αντιδραστηρίου στον σωλήνα πριν την προσθήκη του εναιωρήματος ερυθροκυττάρων χρησιμεύει σαν οπτικός έλεγχος για την παρουσία του αντι-D ώστε να αποκλειστούν ψευδώς-θετικές αντιδράσεις προκαλούμενες από την αποτυχία προσθήκης του αντιδραστηρίου.*

### 2.2.3 Ερμηνεία

I. Συγκόλληση στον σωλήνα αντι-D, συνδυαζόμενη με ένα ελαφρύ εναιώρημα στον σωλήνα του μάρτυρα, έδειξε ότι τα ερυθροκύτταρα είναι D θετικά.

II. Καθόλου συγκόλληση στα ερυθροκύτταρα και στον σωλήνα του αντι-D και στον σωλήνα του μάρτυρα είναι αρνητικό αποτέλεσμα. Ένα δείγμα από τον ασθενή χαρακτηρίζεται σαν D αρνητικό σε αυτό το σημείο. Σύμφωνα με τα πρότυπα του AABB σχετικά με τις Τράπεζες Αίματος και τις Υπηρεσίες Μετάγγισης απαιτείται το αίμα δοτών και νεογνών, που οι μητέρες τους χαρακτηρίστηκαν ως Rh εναιωρητοποιημένες, να ελεγχθεί για την παρουσία του αντιγόνου D-weak.

III. Συγκόλληση στον σωλήνα του μάρτυρα ακυρώνει τη δοκιμασία. Μέθοδοι για την απόρριψη του IgM ή του IgG αντισώματος από τα ερυθροκύτταρα μπορεί να απαιτηθούν (Μέθοδοι 2-17 έως 2-21).

## 2.3 Έλεγχος για D-weak

### 2.3.1 Αρχή Μεθόδου

Μερικά αντιγόνα D-weak αναγνωρίζονται μόνο από την έμμεση αντισφαιρινική δοκιμασία. Σύμφωνα με τα πρότυπα του AABB για τις Τράπεζες Αίματος και τις Υπηρεσίες Μετάγγισης απαιτείται η ανίχνευση του αντιγόνου D-weak όταν τιτλοδοτούνται μονάδες αίματος δοτών, αλλά δεν είναι απαραίτητο για προ-μεταγγισιακό έλεγχο των δειγμάτων των ασθενών.

### 2.3.2 Δείγμα

Ακολουθούνται οι οδηγίες του κατασκευαστή

### 2.3.3 Αντιδραστήρια

Κάθε αντι-D αντιδραστήριο δεν είναι κατάλληλο για τη δοκιμασία του D-weak. Ακολουθήθηκαν οι οδηγίες του εγχειριδίου του κατασκευαστή για τις διαδικασίες των δειγμάτων και τους κατάλληλους μάρτυρες.

Χρησιμοποιήθηκαν:

- ◆ Αντι-ανθρώπινη σφαιρίνη, είτε πολύ-ειδική είτε αντι-IgG
- ◆ IgG μάρτυρες.

### 2.3.4 Διαδικασία

I. Εάν μία δοκιμασία σωλήνα πραγματοποιήθηκε για την άμεση δοκιμασία του αντι-D, ο ίδιος σωλήνας μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη δοκιμασία του D-weak εάν χρησιμοποιήθηκε το κατάλληλο αντιδραστήριο.

II. Τοποθετήθηκε μια σταγόνα του αντι-D σε έναν καθαρό, επισημασμένο από τον χειριστή, δοκιμαστικό σωλήνα.

III. Τοποθετήθηκε μια σταγόνα του κατάλληλου μάρτυρα σε έναν δεύτερο, επισημασμένο από τον χειριστή, δοκιμαστικό σωλήνα.

IV. Σε κάθε σωλήνα, προστέθηκε μια σταγόνα από εναιώρημα ερυθροκυττάρων σε φυσιολογικό ορό 2 έως 5%.

V. Αναμίχθηκαν και επώαστηκαν οι δοκιμαστικοί σωλήνες και οι μάρτυρες σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή του αντιδραστηρίου. Αυτό είναι τυπικά δεκαπέντε έως τριάντα λεπτά στους 37°C.

VI. Το μίγμα φυγοκεντρήθηκε και ύστερα ακολούθησε επώαση επαναιωρώντας τα ερυθροκύτταρα και εξετάζοντας για πιθανή συγκόλληση.

VII. Τα ερυθροκύτταρα πλύθηκαν τουλάχιστον τρεις φορές με τον φυσιολογικό ορό.

VIII. Έγινε προσθήκη αντισφαιρινικού ορού σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή.

IX. Έγινε απαλή ανάμιξη και φυγοκέντρωση σύμφωνα με τον βαθμονομημένο χρόνο περιστροφής για τη φυγοκέντρωση.

X. Το μίγμα επαναιωρήθηκε απαλά και εξετάστηκε για συγκόλληση. Τα αποτελέσματα καταγράφηκαν και αξιολογήθηκαν.

XI. Προστέθηκαν IgG μάρτυρες για να επιβεβαιωθεί η εγκυρότητα των αποτελεσμάτων της αρνητικής αντισφαιρινικής δοκιμασίας.

### 2.3.5 Ερμηνεία

I. Συγκόλληση στον σωλήνα αντι-D, συνδυαζόμενη με ελαφρύ εναιώρημα στο σωλήνα του μάρτυρα, δείχνει ότι τα ερυθροκύτταρα είναι D θετικά. Είναι λάθος να αναφέρονται τα αποτελέσματα σαν D<sub>u</sub> θετικά ή D αρνητικά – D<sub>u</sub> θετικά.

II. Καθόλου συγκόλληση στα ερυθροκύτταρα και στους δύο σωλήνες είναι αρνητικό αποτέλεσμα για τη δοκιμασία.

III. Είναι επιτρεπτό να χρησιμοποιηθεί μία άμεση αντισφαιρινική δοκιμασία στα εξεταζόμενα κύτταρα ως μάρτυρα, αλλά μία αντισφαιρινική δοκιμασία με ένα μάρτυρα Rh ή μάρτυρα αλβουμίνης είναι προτιμότερο γιατί βεβαιώνει ότι όλοι οι παράγοντες των αντιδραστηρίων που μπορούν να προκαλέσουν ένα ψευδώς-θετικό αποτέλεσμα παρίστανται.

IV. Συγκόλληση σε οποιαδήποτε φάση στο μάρτυρα ακυρώνει τη δοκιμασία, και δεν γίνεται καμία ερμηνεία. Η απόρριψη των IgG από τα ερυθροκύτταρα μπορεί να φανεί χρήσιμη (Μέθοδοι 2-20 & 2-21).

### 3. ΩΣΜΩΤΙΚΗ ΑΝΤΙΣΤΑΣΗ ΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΩΝ [Kraus και συν., 1997]

#### 3.1 Βήματα

I. Φτιάχτηκαν συγκεντρώσεις διαλυμάτων από 0.9% NaCl σύμφωνα με τον παρακάτω πίνακα:

0,00%	0,10%	0,20%	0,25%	0,30%	0,35%	0,40%	0,45%	0,50%	0,55%	0,60%	0,65%	0,70%	0,80%	0,90%
-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

II. Σε δοκιμαστικούς σωλήνες προστέθηκαν 2.5ml κάθε διαλύματος και 25μl ολικού αίματος.

III. Πραγματοποιήθηκε ήπια ανακίνηση (Vortex) με προσοχή.

IV. Ακολούθηθηκε επώαση για δεκαπέντε λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου.

V. Τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν στις χίλιες πεντακόσιες στροφές για δεκαπέντε λεπτά.

VI. Τα δείγματα φωτομετρήθηκαν με φωτόμετρο στα 540 nm. Μετρήθηκε και η απορρόφηση καθώς και η διαπερατότητα του κάθε δείγματος.

VII. Υπολογίστηκε η αντίσταση του ερυθροκυττάρου σε διαφορετικές συγκεντρώσεις οσμωτικών διαλυμάτων σύμφωνα με τον μαθηματικό τύπο:

$$OD \text{ εξεταστέου} / OD \text{ με } 100\% \text{ αιμόλυση} \times 100$$

VIII. Κατασκευάστηκε η πρότυπη καμπύλη.

#### Απορροφήσεις

Δείγμα	0,0%	0,10%	0,20%	0,25%	0,30%	0,35%	0,40%	0,45%	0,50%	0,55%	0,60%	0,65%	0,70%	0,80%	0,90%

#### Διαπερατότητα

Δείγμα	0,0%	0,10%	0,20%	0,25%	0,30%	0,35%	0,40%	0,45%	0,50%	0,55%	0,60%	0,65%	0,70%	0,80%	0,90%

#### 4. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΕΛΕΥΘΕΡΗΣ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗΣ ΠΛΑΣΜΑΤΟΣ

[Harboe και συν 1959]

##### 4.1 Βήματα

I. Αραιώθηκαν τα πλάσματα των δειγμάτων με αραιώση 1/10 (200μl πλάσμα σε 1800μl ad.H<sub>2</sub>O).

II. Επώαστηκαν τα δείγματα για τριάντα λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου.

III. Μετρήθηκαν οι απορροφήσεις των δειγμάτων σε απορροφήσεις OD 380, 415 και 450nm.

IV. Υπολογίστηκε η ελεύθερη αιμοσφαιρίνη σύμφωνα με τον μαθηματικό τύπο:

$$2 \times OD_{415} - OD_{380} - OD_{450}$$

Δείγμα	OD 380	OD 415	OD 450

## 5. ΕΠΙΣΤΡΩΣΗ ΑΙΜΑΤΟΣ

Σε αντικειμενοφόρες πλάκες επιστρώθηκε το αίμα από κάθε αιμοδότρια με την βοήθεια καλυπτρίδας με σκοπό την κατασκευή της «ουράς». Στη συνέχεια, το παρασκεύασμα παρέμεινε σε θερμοκρασία δωματίου για πέντε έως δέκα λεπτά για την ξήρανση και το στέγνωμά του.

## 6. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ BMI

Ο Δείκτης Μάζας Σώματος είναι ένα μέτρο υπολογισμού της μάζας σώματος. Η μέθοδος αναπτύχθηκε από τον Adolphe Quételet. Επειδή ο BMI αποδίδει μια γενική τιμή, δέχεται συχνά αρνητική κριτική ως προς την ακρίβειά του. Η σχέση λίπους-μυϊκού ιστού και η συνολική κατασκευή του εκάστοτε ατόμου δεν αντικατοπτρίζεται στο BMI.

### 6.1 Τύπος

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

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

### 6.2 Ερμηνεία αποτελέσματος

Εάν ο BMI κυμαίνεται μεταξύ 16 και 17, το άτομο θεωρείται μετρίως λιποβαρές. Εάν η τιμή βρίσκεται μεταξύ του 17 και του 18.5, το άτομο θεωρείται ελαφρώς λιποβαρές. Το φυσιολογικό εύρος κυμαίνεται μεταξύ 18.5 έως 25.

Εάν ο BMI κυμαίνεται μεταξύ 25 και 30, το άτομο θεωρείται ελαφρώς υπέρβαρο. Μετρίως υπέρβαρος (παχύσαρκος) θεωρείται κάποιος, όταν ο BMI κυμαίνεται μεταξύ 30 και 35. Υπερβολικά υπέρβαρα θεωρούνται τα άτομα με BMI άνω του 35.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### *ΕΙΣΑΓΩΓΗ*

Για τη συμμετοχή των εθελοντριών αιμοδοτριών στη συγκεκριμένη έρευνα τέθηκαν κριτήρια αιμοδοσίας τα οποία θα έπρεπε να πληρούν.

Τα κριτήρια αφορούσαν την ασφάλεια της αιμοδότριας καθώς και ιδιαίτερα σημαντικούς δείκτες του αιματολογικού ελέγχου όπως η αιμοσφαιρίνη. Ως προς την ασφάλεια της αιμοδότριας, τα κριτήρια αφορούσαν την ηλικία και το βάρος, θέτοντας ως ελάχιστα τα πενήντα κιλά βάρους και το δέκατο έβδομο έτος ηλικίας. Όσον αφορά τους αιματολογικούς δείκτες, ιδιαίτερα έμφαση δόθηκε στην αιμοσφαιρίνη (Hb) όπου ως ελάχιστη αποδεκτή τιμή ορίστηκαν τα 12.5 g/dL.

Εν τέλει, τα κριτήρια δεν κατέστη δυνατόν να τηρηθούν πλήρως διότι υπήρξε πρόβλημα στην τιμή της αιμοσφαιρίνης. Το γεγονός ότι οι γυναίκες – δότριες της παρούσας εργασίας ήταν αναπαραγωγικής ηλικίας, όπως ήταν φυσικό και όπως εξηγήθηκε και στο κεφάλαιο με τον σίδηρο και την αποθηκευτική βλάβη, επηρέασε αρκετά την τιμή της αιμοσφαιρίνης στις μετρήσεις του αιματολογικού αναλυτή. Πλην ελάχιστων εξαιρέσεων, οι τιμές της αιμοσφαιρίνης του αίματος ήταν κάτω του επιθυμητού εύρους (<12.5g/dl). Προκειμένου να υπάρχουν οι προϋποθέσεις για την επίτευξη αυτής της ερευνητικής εργασίας, αποφασίστηκε από κοινού με τον εισηγητή, ο ορισμός της ηλικίας, του βάρους και της αρτηριακής πίεσης να αποτελέσουν μοναδικά κριτήρια για τη συμμετοχή των εθελοντριών αιμοδοτριών.



## 1. ΑΡΤΗΡΙΑΚΗ ΠΙΕΣΗ

Στις εθελόντριες της έρευνας, πριν την αιμοληψία για την απαραίτητη ποσότητα αίματος με σκοπό τη διεξαγωγή των δοκιμασιών, έγινε έλεγχος της διαστολικής και συστολικής αρτηριακής πίεσης καθώς και των σφυγμών τους με ηλεκτρονικό πιεσόμετρο.

Τα φυσιολογικά επίπεδα διαστολικής και συστολικής πίεσης όπως ορίζονται από το Εθνικό Ινστιτούτο Υγείας (N.I.H) των ΗΠΑ είναι τα ακόλουθα:

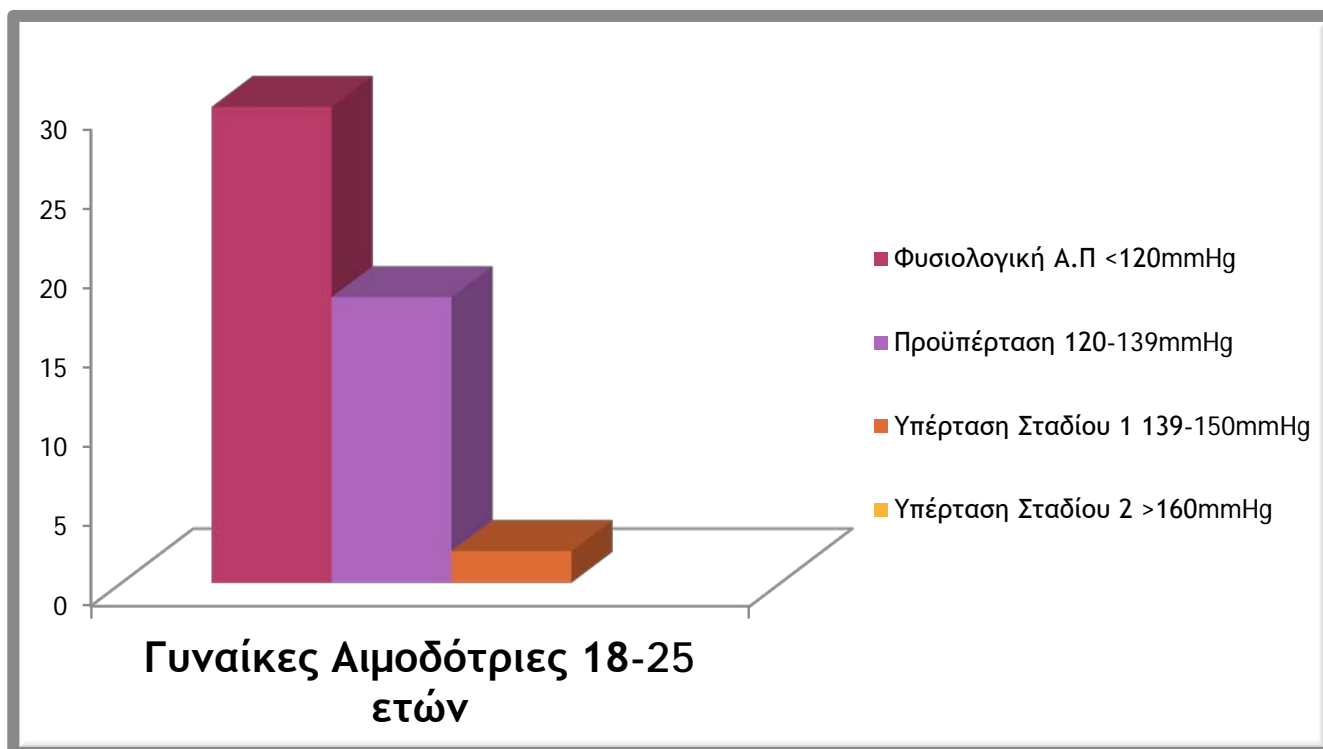
### ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΑΡΤΗΡΙΑΚΗΣ ΠΙΕΣΗΣ

ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ	ΣΥΣΤΟΛΙΚΗ		ΔΙΑΣΤΟΛΙΚΗ
Φυσιολογική	< 120	και	< 80
Προϋπέρταση	120 - 139	ή	80 - 89
<b>ΥΠΕΡΤΑΣΗ</b>			
Υπέρταση σταδίου 1	140 - 159	ή	90 - 99
Υπέρταση σταδίου 2	≥ 160	ή	≥ 100

**Εικόνα 2.2** Τιμές αναφοράς αρτηριακής πίεσης

[Πηγή: [www.medweb.gr](http://www.medweb.gr), Δεδομένα National Institute of Health, USA, 2003]

Στις πενήντα εθελόντριες που συμμετείχαν, ο μέσος όρος της διαστολικής πίεσης ήταν 116 mmHg ενώ της συστολικής πίεσης ήταν 78 mmHg.



*Διάγραμμα 1* Αρτηριακή πίεση γυναικών αιμοδοτών 18 έως 25 ετών

Σε σύνολο πενήντα εθελοντριών αιμοδοτριών, το 60% των συμμετεχουσών είχε αρτηριακή πίεση εντός των φυσιολογικών ορίων, όπως αυτά ορίζονται από το Εθνικό Ινστιτούτο Υγείας των ΗΠΑ. Αντίστοιχα, το 18% των εθελοντριών είχε προϋπέρταση\* με καταγεγραμμένες τιμές από 121 mmHg έως 131 mmHg για τη διαστολική αρτηριακή πίεση και 80 mmHg έως 90 mmHg για τη συστολική αρτηριακή πίεση.

Τέλος, μόλις το 4% των αιμοδοτριών παρουσίασε Υπέρταση Σταδίου 1 με τιμές διαστολικής πίεσης 144 mmHg – 148 mmHg και συστολικής 100 mmHg.

\*Προϋπέρταση: Η συστολική πίεση είναι μεταξύ 120 και 139 mmHg και/ή η διαστολική μεταξύ 80 και 89 mmHg

## 2. ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

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:

### 2.1 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/μL) 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/μl) σε:

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

Κάτω από τα 1.500/μl 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:

$$4.000 - 11.000 /mm^3 \text{ (ή } 4 - 11 \times 10^9 /L)$$

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

#### 2.1.1 Συνολικός Αριθμός Λευκών Αιμοσφαιρίων (WBCs)

Στις πενήντα εθελόντριες βρέθηκε μέσος όρος τιμών ήταν 7.6 με τυπική απόκλιση +/-1.98. Από το σύνολο των πενήντα δειγμάτων το 22% βρέθηκε να έχει τιμές  $>9 \times 10^9/L$  ενώ κανένα δείγμα δεν βρέθηκε να έχει τιμή μικρότερη της ελάχιστης αποδεκτής με βάση τα φυσιολογικά όρια.

#### 2.1.2 Κοκκιοκύτταρα (GRAN)

Τα κοκκιοκύτταρα αντιστοιχούν στο 40-70% των λευκών αιμοσφαιρίων του περιφερικού αίματος. Το υπόλοιπο αντιστοιχεί στα λεμφοκύτταρα και τα μονοπύρρηνα. Ανήκουν στο σύστημα των φαγοκυττάρων. Αποκαλούνται και μικροφάγα, σε αντιδιαστολή με τα μακροφάγα, που προέρχονται από τα μονοπύρρηνα. 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 *πολυμορφοπύρρηνα*, καθώς ο πυρήνας τους συνήθως είναι κατατετμημένος και εμφανίζει διάφορα σχήματα. Όταν γίνεται αναφορά σε πολυμορφοπύρρηνα, συνηθίζεται να εννοούνται τα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρρηνα, που είναι και τα περισσότερα σε αριθμό.

### 2.1.2.1 Ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρρηνα

Τα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρρηνα 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 πολυμορφοπύρρηνα, 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 ραβδοπυρήνων). 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.

### 2.1.2.2 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).

### 2.1.2.3 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. [*panacea.med.uoa.gr – Πρότυπο Ασκληπιακό Πάρκο Ιατρικής Αθηνών – Λευκά Αιμοσφαίρια*]

Γενικότερα, για τα κοκκιοκύτταρα, στο σύνολό τους, ορίζεται ένα εύρος τιμών αναφοράς μεταξύ 55% έως 65%.

Τα δείγματα που εξετάστηκαν παρουσίασαν μέση τιμή 5.1 με τυπική απόκλιση +/-1.63. Σχεδόν το 50% των δειγμάτων είχε τιμές μικρότερες της ελάχιστης αποδεκτής (ήτοι 5.5) ωστόσο η πλειοψηφία των τιμών αυτών ήταν οριακά μικρότερες του ελάχιστου ορίου. Αντίστοιχα, ένα ποσοστό της τάξης του 18% είχε τιμές οριακά μεγαλύτερες της μέγιστης αποδεκτής τιμής (ήτοι 6.5).

### 2.1.3 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.

### 2.1.3.1 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.

#### 2.1.3.2 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.

#### 2.1.3.3 Χρόνος ζωής

Ο χρόνος ζωής των λεμφοκυττάρων ποικίλλει. Σε μερικά, 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.

#### 2.1.3.4 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 στηρικτικούς 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 1.9 με τυπική απόκλιση  $\pm 0.57$ . 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.

#### 2.1.4 Ελάχιστη Ανασταλτική Αραίωση (MID–Minimum Inhibitory Dilution)

Η Ελάχιστη Ανασταλτική Αραίωση (MID) αποτελεί έναν σπάνια εμφανιζόμενο δείκτη κατά την εξέταση της γενικής αίματος. Αυτός ο δείκτης περιγράφει ποσοτικά σπάνια κύτταρα καθώς και έναν αριθμό προγονικών κυττάρων των λευκών αιμοσφαιρίων. Σε περιπτώσεις φυσιολογικού αριθμού λευκών αιμοσφαιρίων δεν είναι ιδιαίτερα αξιολογίσimos. Αντίθετα, σε περιπτώσεις χαμηλού αριθμού λευκών αιμοσφαιρίων, ο δείκτης MID ενδεχομένως να αναδεικνύει βλάβη στο μυελό των οστών (απαραίτητη κρίνεται η διενέργεια επιπρόσθετων δοκιμασιών για την επιβεβαίωση της ένδειξης σχετικά με τον μυελό των οστών).

Η Ελάχιστη Ανασταλτική Αραίωση (MID) πολλές φορές αφορά στην Ελάχιστη Ανασταλτική Συγκέντρωση (γνωστή και ως MIC). Γενικά, θεωρείται ως μία εκ των βασικότερων παραμέτρων εργαστηριακού υπολογισμού της δράσης ενός αντι-μικροβιακού στελέχους έναντι ενός οργανισμού. Η τιμή της Ελάχιστης Ανασταλτικής Συγκέντρωσης μπορεί να υπολογιστεί είτε σε άγαρ είτε σε ζωμό (broth dilution) ενώ ένα ευρέως γνωστό δοκιμαστικό τεστ αποτελεί το E-Test strip. Ένα τέτοιο τεστ περιλαμβάνει ένα, προκαθορισμένης συγκέντρωσης, συστατικό διαφορετικών αντι-μικροβιακών στελεχών που εμβολιάζεται σε άγαρ και κατόπιν επωάζεται.

Με βάση τις βιβλιογραφικές αναφορές, το εύρος τιμών για την Ελάχιστη Ανασταλτική Αραιώση (MID) ορίζεται μεταξύ 0.15 έως  $0.7 \times 10^9/L$ . Ο μέσος όρος των τιμών των δειγμάτων της έρευνας κυμάνθηκε εντός του φυσιολογικού εύρους τιμών και ήταν  $0.5 \times 10^9/L$  με τυπική απόκλιση  $\pm 0.25$ .

## 2.2 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. [[www.lifelinecordblood.com](http://www.lifelinecordblood.com)]

Το φυσιολογικό εύρος τιμών για τα ερυθρά αιμοσφαίρια είναι 3.8 έως  $5.3 \times 10^6/L$ . Τα δείγματα που εξετάστηκαν είχαν μέση τιμή  $4.48 \times 10^6/L$  με τυπική απόκλιση  $\pm 0.43$ . Μόλις το 6% των δειγμάτων είχε τιμές μεγαλύτερες των μέγιστων αποδεκτών (ήτοι  $> 5.3 \times 10^6/L$ ) ενώ ένα αντίστοιχο 6% είχε τιμές οριακά μικρότερες των ελάχιστων αποδεκτών τιμών. Τα αποτελέσματα αυτά κρίνονται αναμενόμενα μεν, αισιόδοξα δε, καθώς τα δείγματα αφορούσαν γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας 18 έως 25 ετών που είχαν έμμηνο ρύση και κατά πάσα πιθανότητα χαμηλό αριθμό ερυθρών αιμοσφαιρίων λόγω της αποβολής μεγάλων ποσοτήτων αίματος κατά την περίοδο της εμμήνου ρύσεως.

## 2.3 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 αντιροπείται 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 σπλάγγνα 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 έως 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 κυμάνθηκε ελαφρώς χαμηλότερα από την ελάχιστη φυσιολογική τιμή καθώς ήταν 12.01 g/dL με τυπική απόκλιση  $\pm 1.27$ . Σχεδόν τα μισά από τα δείγματα που εξετάστηκαν (23 στα 50) είχαν τιμή αιμοσφαιρίνης μικρότερη από την ελάχιστη φυσιολογική (δηλαδή  $<12$  g/dL) ενώ κανένα εκ των δειγμάτων δεν ξεπέρασε τη μέγιστη φυσιολογική τιμή για την αιμοσφαιρίνη.

#### 2.4 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 στρες και 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 έμμηνο 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 37.5% με τυπική απόκλιση  $\pm 3.28$  και εντός του φυσιολογικού εύρους τιμών. Το 24% των επεξεργασθέντων δειγμάτων είχε τιμή μικρότερη της ελάχιστης αποδεκτής ενώ ταυτόχρονα το 8% εμφάνισε τιμή αιματοκρίτη μεγαλύτερη των φυσιολογικών. Το ποσοστό των δειγμάτων που είχε χαμηλό αιματοκρίτη θα μπορούσε να ερμηνευτεί, όμοια με την αιμοσφαιρίνη, από την έμμηνο ρύση και την αποβολή αίματος που τη συνοδεύει.

## 2.5 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).

### 2.5.1 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 84.7 fL με τυπική απόκλιση +/-9.48. Το 16% 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).

#### 2.5.2 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 26.8 pg με τυπική απόκλιση +/-3.69. Το 40% των δειγμάτων είχε τιμή μικρότερη των 27 pg που ήταν και η ελάχιστη φυσιολογική ενώ μόλις το 2% ξεπέρασε την ανώτατη φυσιολογική τιμή για το συγκεκριμένο δείκτη.

#### 2.5.3 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 έως 36 g/dL.

Ο μέσος όρος των τιμών των δειγμάτων κυμάνθηκε ελαφρώς χαμηλότερα από την ελάχιστη φυσιολογική τιμή και ήταν 31.87 g/dL με τυπική απόκλιση +/-1.25. Το 60% των δειγμάτων παρουσίασε τιμές μικρότερες της ελάχιστης φυσιολογικής τιμής. Ταυτόχρονα, κανένα δείγμα δεν είχε τιμή μεγαλύτερη της μέγιστης φυσιολογικής.

#### 2.5.4 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 12.58% με τυπική απόκλιση +/-1. Κανένα από τα δείγματα δεν βρέθηκε εκτός του φυσιολογικού εύρους τιμών.

### 2.6 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, άχρωα και διαφόρου σχήματος σωματίδια. Επιπρόσθετα, τα θρομβοκύτταρα είναι απύρρηνα, 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  $380 \times 10^3/L$ .

Ο μέσος όρος των δειγμάτων που εξετάστηκαν βρέθηκε να είναι εντός των φυσιολογικών ορίων, δηλαδή  $316 \times 10^3$  με τυπική απόκλιση +/-111.1. Κανένα από τα δείγματα δεν είχε τιμές μικρότερες της ελάχιστης ενώ το 18% των δειγμάτων ξεπέρασε τη μέγιστη φυσιολογική τιμή. Αυτό το γεγονός υποθέτεται ότι οφείλεται σε συστηματικά λάθη του αυτόματου αιματολογικού αναλυτή.

#### 2.6.1 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.



### 2.6.1.1 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 0.258 % με τυπική απόκλιση +/-0.12. Κανένα από τα δείγματα δεν βρέθηκε εκτός του φυσιολογικού εύρους τιμών.

### 2.6.1.2 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 17.4% με τυπική απόκλιση +/-0.6. Κανένα από τα δείγματα δεν βρέθηκε εκτός του φυσιολογικού εύρους τιμών.

### 2.6.1.3 Μέσος Όγκος Αιμοπεταλίων (MPV)

Ο μέσος όγκος των αιμοπεταλίων μετριέται 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 8.5 fL με τυπική απόκλιση +/-1.95. Το 10% των δειγμάτων εντοπίστηκαν εκτός της ανώτερης φυσιολογικής τιμής, κάτι το οποίο υπολογίζεται ότι οφείλεται σε συστηματικά λάθη του αυτόματου αιματολογικού αναλυτή.

### 3. ΟΣΜΩΤΙΚΗ ΕΥΘΡΑΥΣΤΟΤΗΤΑ

Τα δείγματα των εθελοντριών αιμοδοτριών υποβλήθηκαν στη δοκιμασία της οσμωτικής 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 οσμωτική 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 οσμωτικής ευθραυστότητας σύμφωνα με την οποία παρουσιάζονται τα εξής αποτελέσματα:

#### 3.1 Κατασκευή Πρότυπης Καμπύλης

Για το σύνολο των πενήντα δειγμάτων που εξετάστηκαν υπολογίστηκε ο μέσος όρος των απορροφήσεων τους για κάθε διάλυμα συγκεκριμένης συγκέντρωσης NaCl. Σύμφωνα με τους μέσους όρους που καταγράφηκαν, υπολογίστηκε και η τυπική απόκλιση των δειγμάτων για την κάθε συγκέντρωση NaCl στους δοκιμαστικούς σωλήνες. Η κατασκευή της πρότυπης καμπύλης έγινε με την ταυτόχρονη εμφάνιση, διαγραμματικά των:

- (i) μέσων όρων των απορροφήσεων των δειγμάτων για την κάθε συγκέντρωση NaCl,
- (ii) του αθροίσματος των μέσων όρων των απορροφήσεων με την τυπική απόκλιση των δειγμάτων για κάθε συγκέντρωση NaCl και
- (iii) της διαφοράς των μέσων όρων των απορροφήσεων με την τυπική απόκλιση των δειγμάτων πάλι για κάθε συγκέντρωση NaCl.

#### 3.2 Επεξήγηση Πρότυπης Καμπύλης & Αποτελεσμάτων

Για την καλύτερη κατανόηση της πρότυπης καμπύλης καθώς και των αποτελεσμάτων αυτής, κρίνεται αναγκαίος ο διαχωρισμός των δειγμάτων σε τρεις κατηγορίες: (I) από 0,1% - 0,35% NaCl, (II) 0,4% NaCl και (III) 0,45 - 0,9% NaCl.

### I. 0.1% – 0.35% NaCl

Σε αυτό το εύρος συγκέντρωσης NaCl παρατηρήθηκε μία σταθερή μείωση της απορρόφησης των δειγμάτων που εξετάστηκαν. Όσο αυξανόταν η συγκέντρωση NaCl διαδοχικά από 0.1% σε 0.35% με την ενδιάμεση παρεμβολή δύο συγκεντρώσεων (0.2% και 0.3%), η απορρόφηση των δειγμάτων μειωνόταν με αργό ρυθμό καταγράφοντας τιμές απορρόφησης σχεδόν 100% παρόλο που μεταβαλλόταν η συγκέντρωση NaCl. Ο μέσος όρος των απορροφήσεων για τις αντίστοιχες συγκεντρώσεις ήταν:

%NaCl	0	0.1	0.2	0.25	0.3	0.35
AVE	100	99.5	100.7	98.7	92.2	88

#### *Σημειώσεις:*

1. Η υπέρβαση της τιμής 100 όσον αφορά την απορρόφηση των δειγμάτων στη συγκέντρωση 0,2%NaCl αυτή αποδίδεται στην μηχανική φθορά στην οποία υπόκεινται τα ερυθροκύτταρα κατά την επεξεργασία των δειγμάτων καθώς επίσης σε πιθανότητες κακού πιπεταρίσματος κάποιων δειγμάτων.

2. Περίπου 1-2 δείγματα ήταν σταθερά εκτός των αναμενόμενων τιμών σε όλες τις συγκεντρώσεις NaCl από 0,1% – 0,35%

Παρατηρείται μία αργή μεν, σταθερή δε μείωση της απορρόφησης των δειγμάτων όπως ακριβώς αναμενόταν κατά τη δοκιμασία της οσμωτικής ευθραυστότητας.

### II. 0.4% NaCl

Σε αυτή τη συγκέντρωση NaCl παρατηρήθηκε η κάθετη πτώση της απορρόφησης των δειγμάτων που δοκιμάστηκαν. Σχεδόν το σύνολο των δειγμάτων παρουσίασαν μεταβολή στην τιμή της απορρόφησης από τιμές μεγαλύτερες της μονάδας (+1) σε τιμές της τάξης του 10<sup>-2</sup> (0.01).

Η απότομη καμπή του διαγράμματος φανερώνει την αντοχή των ερυθροκυττάρων των εθελοντριών αιμοδοτριών μέχρι και σε συγκεντρώσεις 0,4% NaCl. Το σύνολο των δειγμάτων που εξετάστηκαν παρουσίασε παρόμοια απότομη αλλαγή τιμών απορρόφησης ακολουθώντας το ίδιο εύρος αλλαγής, από τιμές της τάξης του 101 σε τιμές της τάξης του 10-1 έως 10-2. Δίνοντας μέσο όρο της τάξης του 4.3

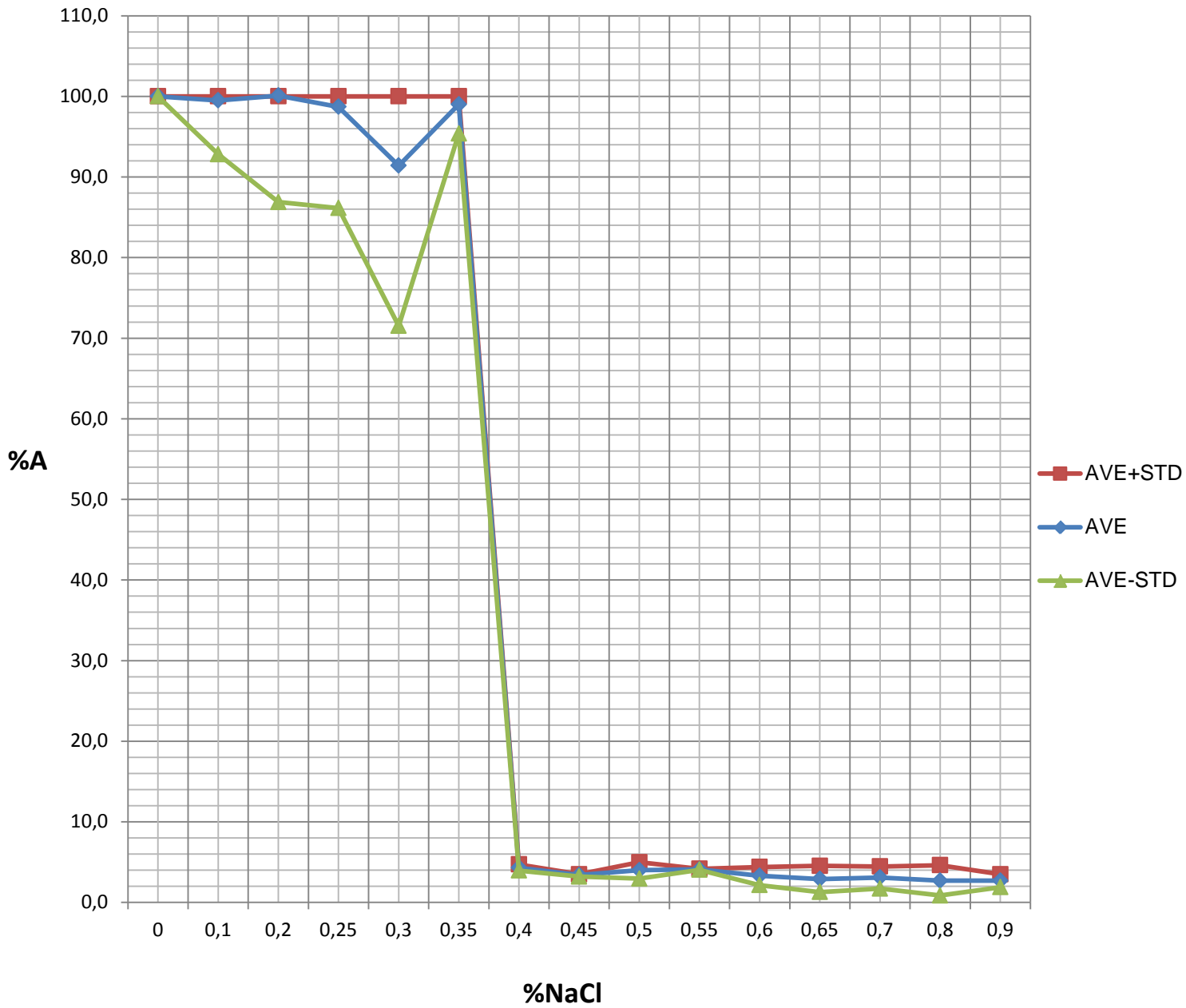
Ο αριθμός των εθελοντριών που υποβλήθηκαν στη δοκιμασία της οσμωτικής ευθραυστότητας κρίνεται επαρκής για τη φερεγγυότητα των αποτελεσμάτων και η ταυτόχρονη ομοιόμορφη συμφωνία των δειγμάτων στη συγκέντρωση 0,4% NaCl έρχεται σε πρώτη φάση να επιβεβαιώσει το γεγονός ότι τα γυναικεία ερυθροκύτταρα εθελοντριών ηλικίας 18 έως 25 ετών φαίνεται να παραμένουν άθικτα μέχρι και σε συγκέντρωση 0.4% NaCl.

### III. 0.45% - 0.9% NaCl

Αυτή η σειρά συγκεντρώσεων NaCl αποτελεί την ευρύτερη από τις τρεις υποκατηγορίες που δημιουργήθηκαν με στόχο την καλύτερη κατανόηση της πρότυπης καμπύλης. Σε αυτό το εύρος, τα εξεταζόμενα δείγματα έδωσαν σχεδόν μηδενικές τιμές απορρόφησης ενώ, συγχρόνως, ήταν εντελώς διαυγή με μια μικρή ποσότητα ιζήματος οφειλόμενη στα ερυθροκύτταρα που είχαν καθιζάνει κατόπιν φυγοκέντρησης που προηγήθηκε των μετρήσεων στο φωτόμετρο. Αντίστοιχα, οι μέσοι όροι των απορροφήσεων των δειγμάτων για τις συγκεντρώσεις NaCl ήταν οι εξής:

%NaCl	0.45	0.5	0.55	0.6	0.65	0.7	0.8	0.9
AVE	3.4	4.0	4.1	3.3	2.9	3.1	2.7	2.7

## Ωσμωτική Ευθραυστότητα



Διάγραμμα 2 Ποσοστό της αιμόλυσης σε σχέση με την συγκέντρωση Χλωριούχου Νατρίου (NaCl)

#### **4. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΕΛΕΥΘΕΡΗΣ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗΣ ΠΛΑΣΜΑΤΟΣ**

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 0.064 mg/dl
- ◆ Το εύρος τιμών αναφοράς για τα δείγματα ήταν 0.001 εως 0.160 mg/dl
- ◆ Η τυπική απόκλιση που βρέθηκε για τα δείγματα ήταν +/-0.037

## 5. ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΟ

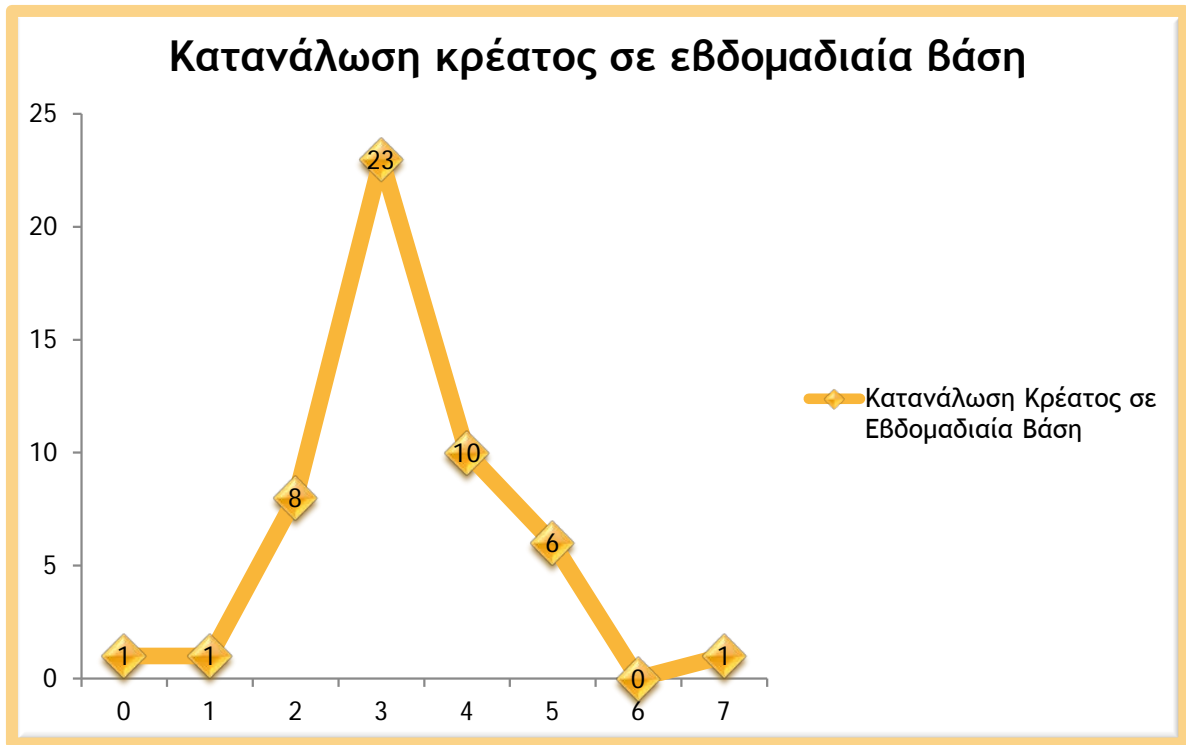
**Ερώτηση 1η:** Μένετε μόνες ή με τους γονείς σας;



*Διάγραμμα 3* Ερώτηση για την κατάσταση διαμονής των εθελοντριών αιμοδοτών

Σε σύνολο 50 αιμοδοτριών που ήταν και το δείγμα της έρευνας παρατηρείται ότι τα 2/3 (34 γυναίκες) έμεναν με τους γονείς τους ενώ το υπόλοιπο 1/3, δηλαδή 16 γυναίκες, απάντησαν πως έμεναν μόνες τους.

**Ερώτηση 2η:** Πόσο συχνά εντάσσετε την κατανάλωση κρέατος σε εβδομαδιαία βάση;



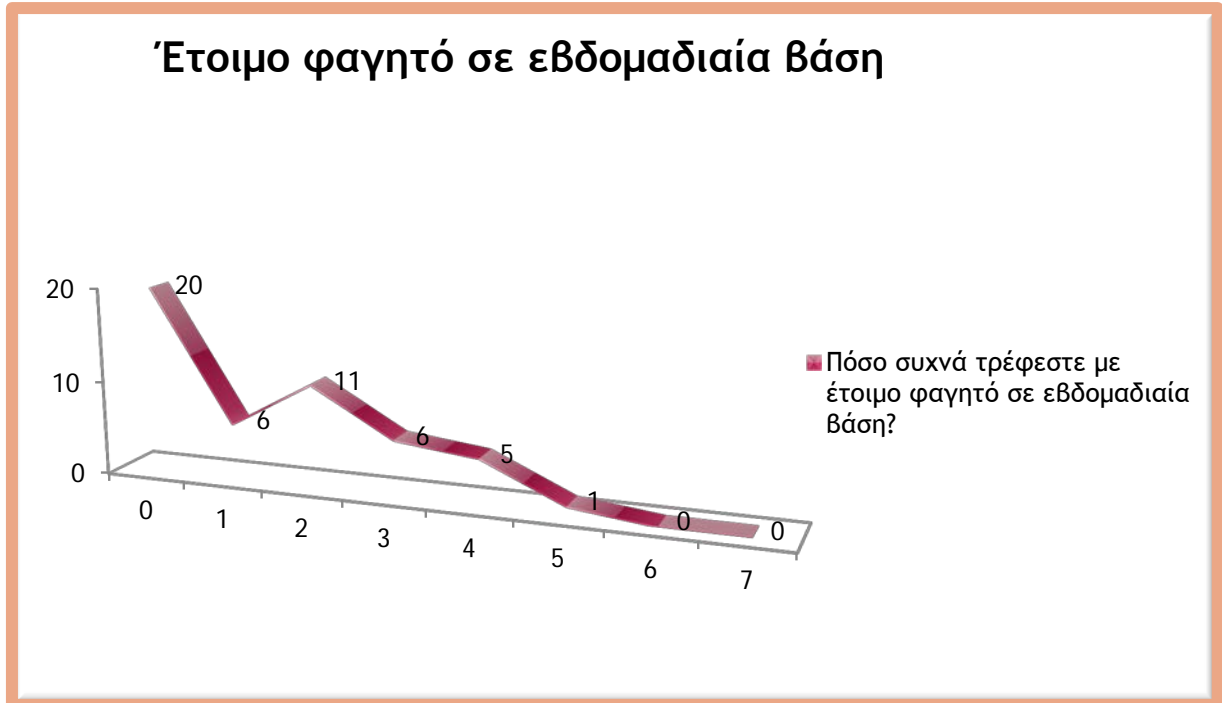
**Διάγραμμα 4** Ερώτηση για την κατανάλωση κρέατος των εθελοντριών αιμοδοτών σε εβδομαδιαία βάση

Στο ίδιο δείγμα (50 γυναίκες), οι ερωτηθείσες απάντησαν πως ενέτασσαν το κρέας στη διατροφή τους από δύο έως τέσσερις φορές την εβδομάδα.

Πιο συγκεκριμένα, οκτώ γυναίκες δήλωσαν πως το εντάσσουν δύο φορές, είκοσι-τρεις γυναίκες το εντάσσουν τρεις φορές ενώ δέκα γυναίκες το εντάσσουν τέσσερις φορές. Σε ποσοστιαίες μονάδες >65% καλύπτουν το εύρος από δύο έως τέσσερις φορές εβδομαδιαία κατανάλωση κρέατος.



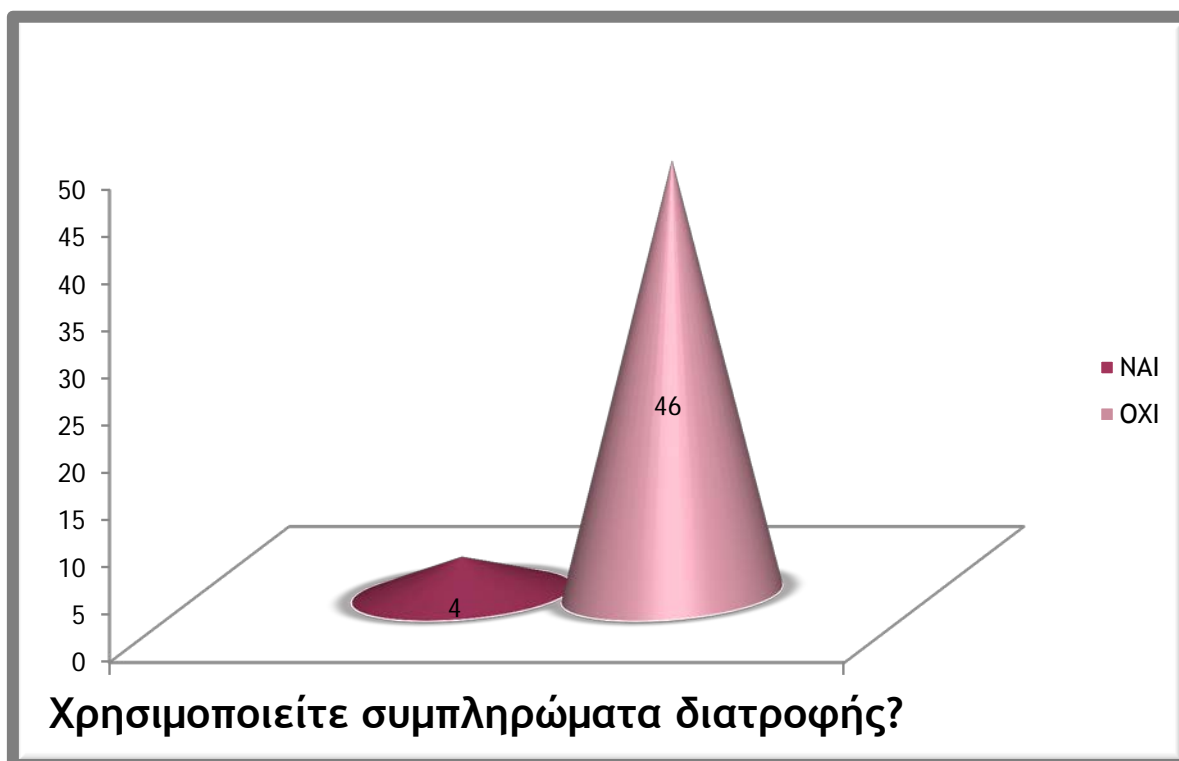
**Ερώτηση 3η:** Πόσο συχνά τρέφεστε με έτοιμο φαγητό σε εβδομαδιαία βάση;



*Διάγραμμα 5* Ερώτηση για την κατανάλωση έτοιμου φαγητού των εθελοντριών σε εβδομαδιαία βάση

Στην ερώτηση που αφορούσε την κατανάλωση έτοιμου φαγητού το 75% των ερωτηθεισών (37 γυναίκες) αποκρίθηκε πως τρέφεται με έτοιμο φαγητό (τυποποιημένο φαγητό, πίτσα κλπ.) το μέγιστο δύο φορές την εβδομάδα. Αυτή η ένδειξη ήταν ιδιαίτερα ενθαρρυντική ως προς τους αποτρεπτικούς παράγοντες διατροφής στο διαιτολόγιο του δείγματος που μελετήθηκε.

**Ερώτηση 4η:** Χρησιμοποιείτε συμπληρώματα διατροφής;

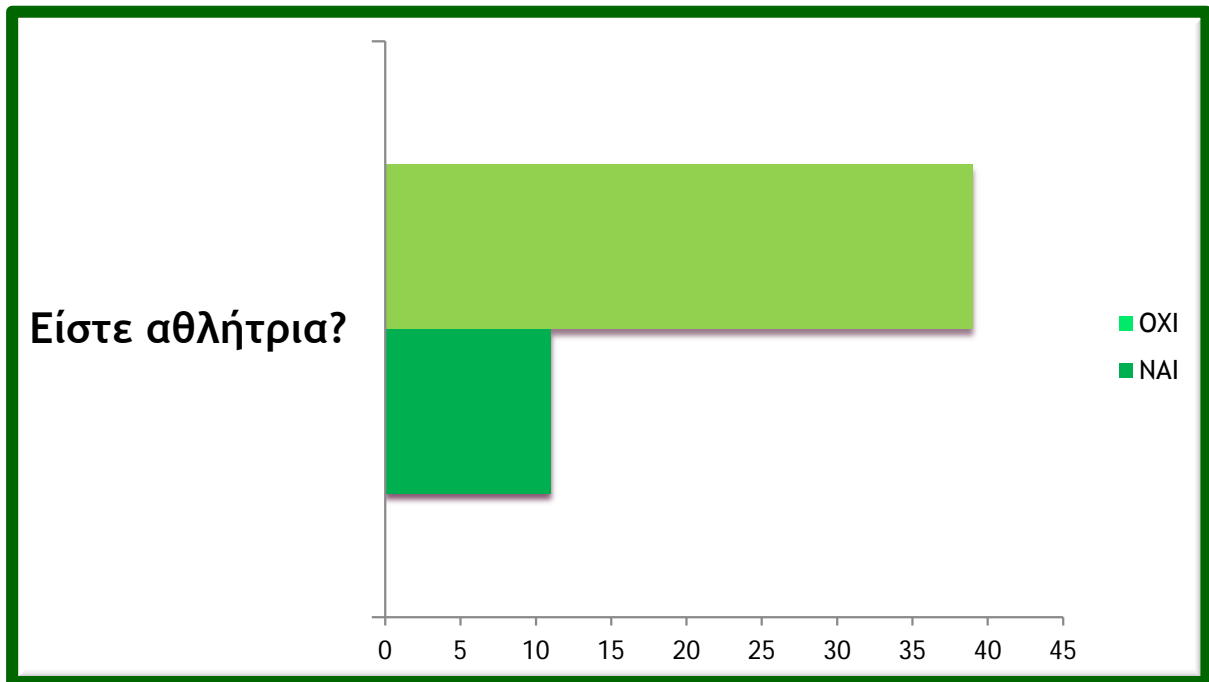


*Διάγραμμα 6* Ερώτηση για την κατανάλωση ή μη συμπληρωμάτων διατροφής

Η επόμενη ερώτηση του ερωτηματολογίου αφορούσε τη χρήση συμπληρωμάτων διατροφής από τις γυναίκες που αποτέλεσαν το δείγμα. Από το διάγραμμα 5 φαίνεται πως η συντριπτική πλειοψηφία απάντησε ότι δεν χρησιμοποιεί συμπληρώματα διατροφής.

Παρόλα αυτά, δεν είναι γνωστός ο λόγος για τον οποίο οι γυναίκες αιμοδότεριες της έρευνας δεν έπαιρναν συμπληρώματα διατροφής.

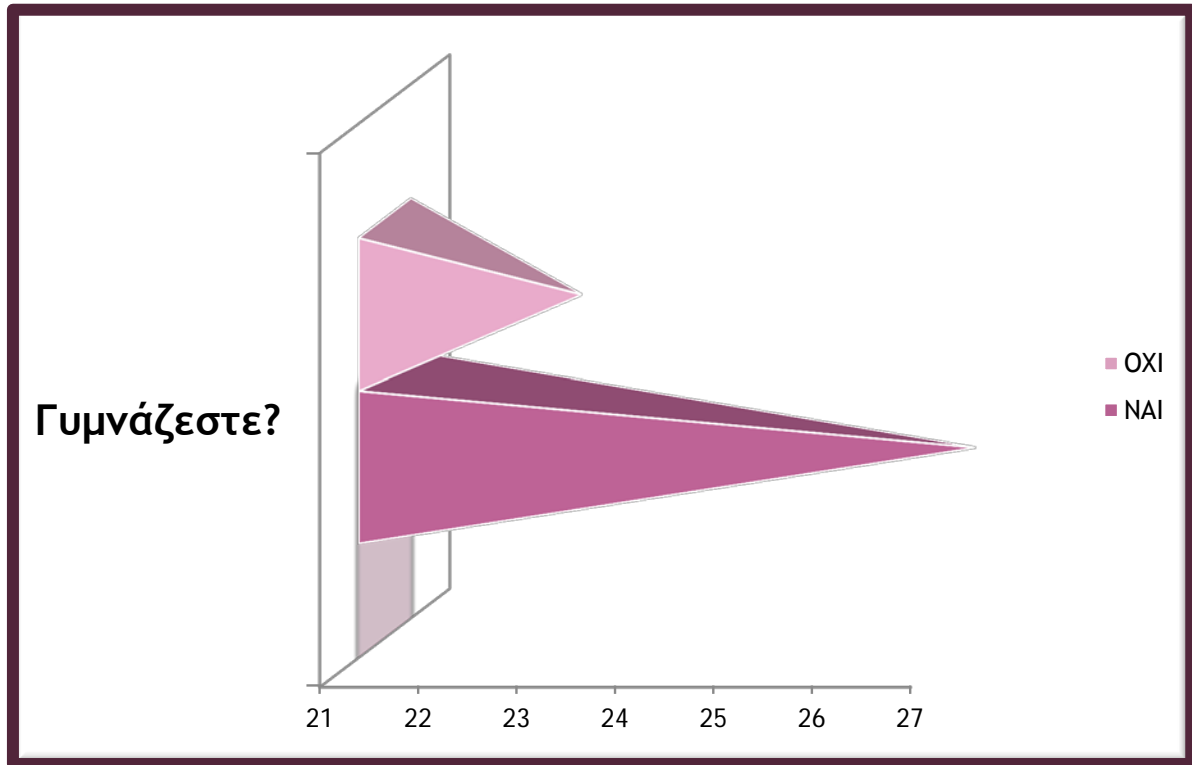
**Ερώτηση 5η:** Είστε αθλήτρια;



*Διάγραμμα 7* Ερώτηση ενασχόλησης ή μη των αιμοδοτριών με τον αθλητισμό

Ακόλουθα στο ερωτηματολόγιο, οι γυναίκες του δείγματος κλήθηκαν να απαντήσουν εάν είναι ενεργές αθλήτριες, δηλαδή εάν ασχολούνται σε επαγγελματικό επίπεδο με οποιοδήποτε άθλημα. Σε μία αναλογία 4:1 οι ερωτηθείσες αποκρίθηκαν ότι δεν αθλούνται. Μόνο δώδεκα από τις πενήντα γυναίκες του δείγματος δήλωσαν πως αθλούνται επαγγελματικά.

**Ερώτηση 6η:** Γυμνάζεστε;



**Διάγραμμα 8** Ερώτηση σχετικά με την ενασχόληση με την γυμναστική

Στην ερώτηση σχετικά με το αν οι γυναίκες της παρούσας εργασίας γυμνάζονται, τα αποτελέσματα ήταν ισορροπημένα. Σε μία αναλογία 55% εως 45% οι ερωτηθείσες απάντησαν πως αθλούνται.

Προκειμένου να ποσοτικοποιηθούν τα αποτελέσματα σε εβδομαδιαία βάση όσον αφορά τη γυμναστική των γυναικών του δείγματος, τέθηκε ακόμα μία ερώτηση σχετικά με τη συχνότητα εκγύμνασης σε εβδομαδιαία βάση.

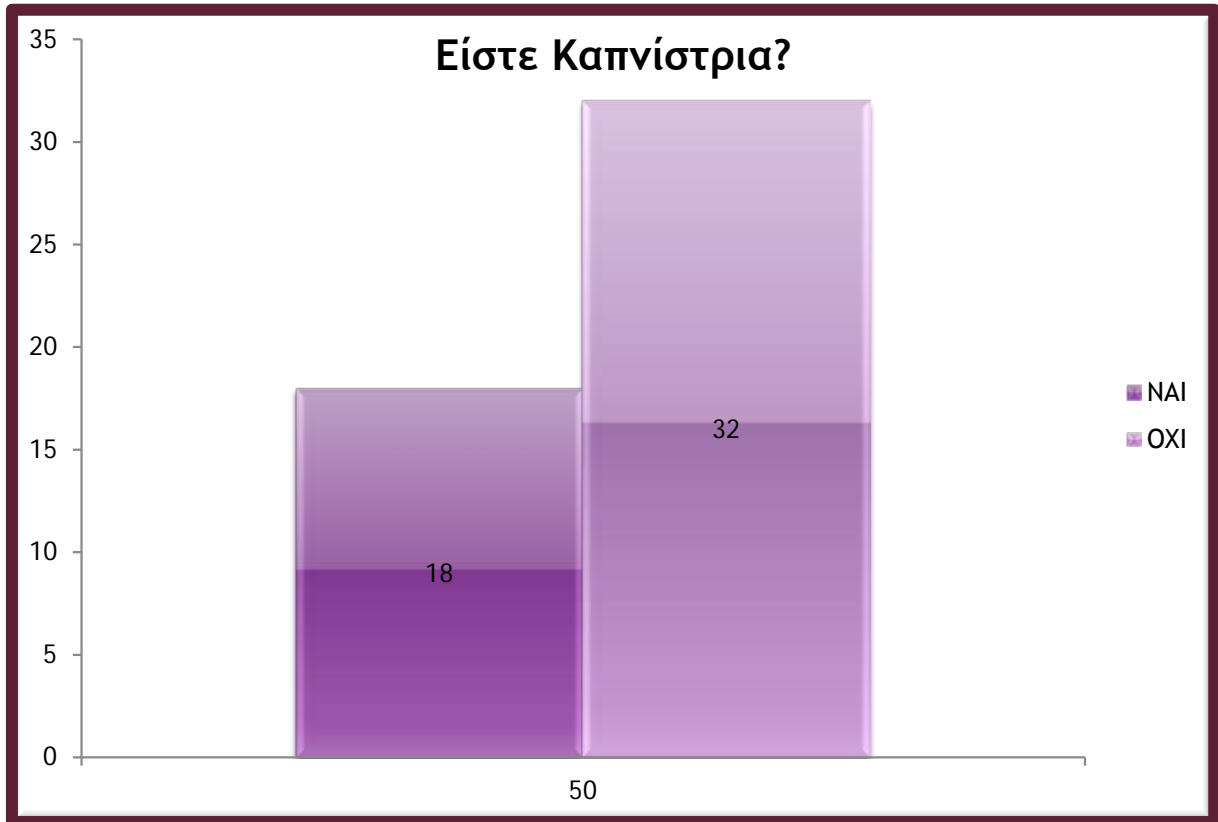
**Ερώτηση 7η:** Αν γυμνάζεστε, πόσο συχνά κάνετε γυμναστική σε εβδομαδιαία βάση;



**Διάγραμμα 9** Ερώτηση για την συχνότητα εκγύμνασης σε εβδομαδιαία βάση

Σύμφωνα με το διάγραμμα 8 γίνεται αντιληπτό πως παρά το γεγονός ότι η οριακή πλειοψηφία των γυναικών του δείγματος γυμνάζεται, αυτό συμβαίνει το μέγιστο δύο έως και τρεις την εβδομάδα. Από τις 27 γυναίκες που δήλωσαν ότι γυμνάζονται, ποσοστό >70% έκανε γνωστό πως γυμνάζεται δύο έως τρεις φορές την εβδομάδα.

**Ερώτηση 8η: Είστε Καπνίστρια;**

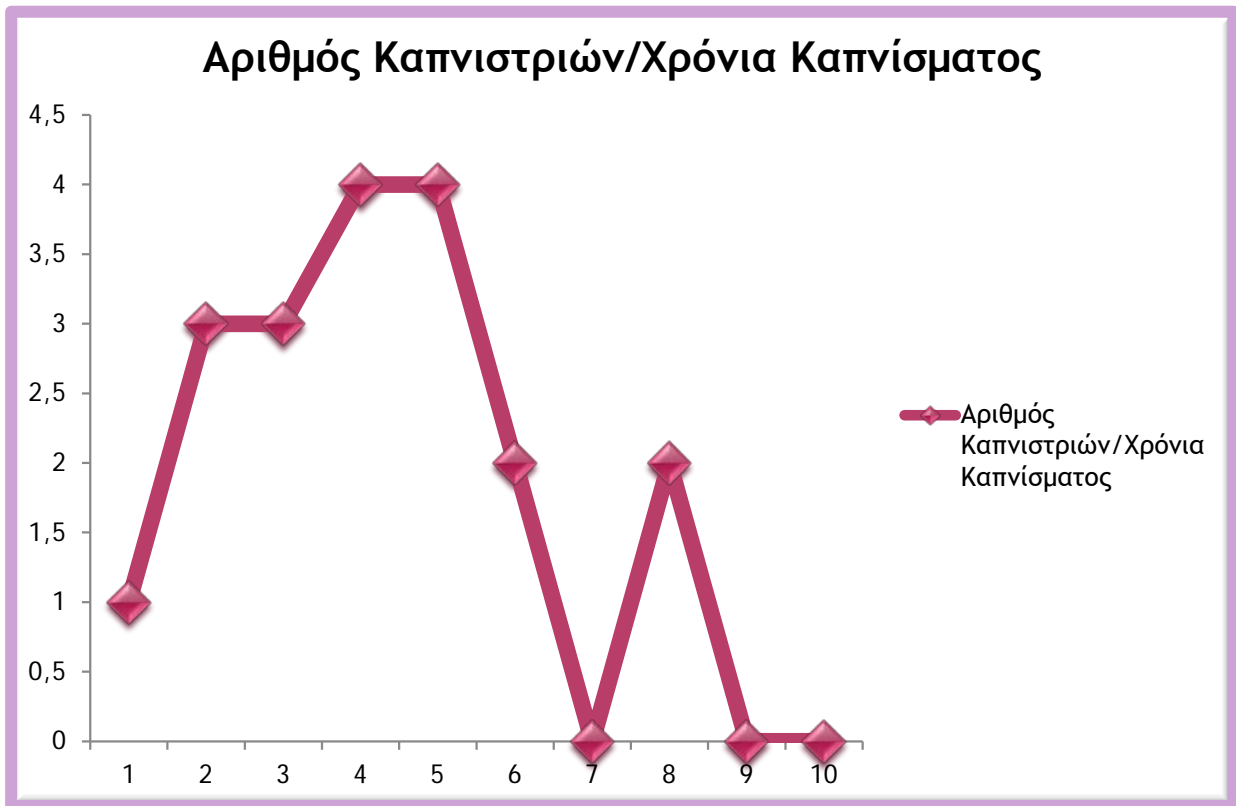


*Διάγραμμα 10* Ερώτηση σχετικά με το κάπνισμα

Στο ερωτηματολόγιο, ακόλουθα, τέθηκε ερώτηση σχετικά με το αν οι γυναίκες του δείγματος καπνίζουν ή όχι. Τριάντα δυο γυναίκες από το δείγμα απάντησαν ότι δεν καπνίζουν ενώ σχεδόν οι υποδιπλάσιες (18) δήλωσαν πως καπνίζουν. Για να βγουν χρήσιμα συμπεράσματα σχετικά με εκείνες τις γυναίκες που δήλωσαν ότι καπνίζουν τέθηκαν ακόμα δύο ερωτήσεις:

- (i) σχετικά με το πόσα χρόνια καπνίζουν και
- (ii) πόσα τσιγάρα καπνίζουν σε εβδομαδιαία βάση

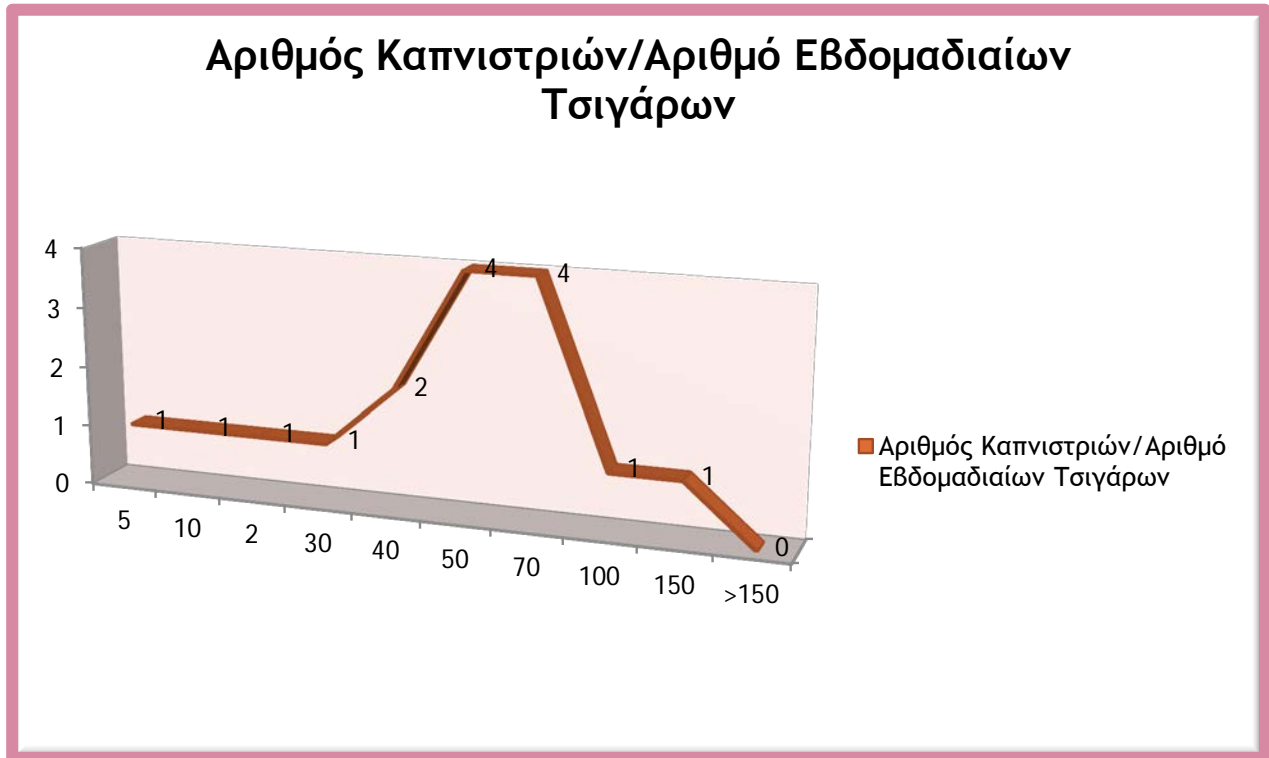
**Ερώτηση 9<sup>η</sup>:** Εάν καπνίζετε, πόσα χρόνια είστε καπνίστρια;



*Διάγραμμα 11* Ερώτηση για τα χρόνια καπνίσματος

Στο διάγραμμα 10 ως μέγιστη τιμή ετών τέθηκαν (στον άξονα χχ') τα δέκα έτη. Σχεδόν το 1/2 των ερωτώμενων αποκρίθηκε πως ήταν καπνίστρια τουλάχιστον για 4 έως 5 χρόνια. Να σημειωθεί πως όλες οι ερωτηθείσες ήταν άνω των δεκαοκτώ ετών οπότε το ελάχιστο δυνατό έτος εκκίνησης καπνίσματος, σύμφωνα με το διάγραμμα, ορίζεται το 14ο έτος ηλικίας. Να αναφερθεί, επίσης ότι μόλις το 1/9 των γυναικών του δείγματος δήλωσε πως καπνίζει για οκτώ χρόνια.

**Ερώτηση 10<sup>η</sup>:** Εάν καπνίζετε, πόσα τσιγάρα καπνίζετε σε εβδομαδιαία βάση;



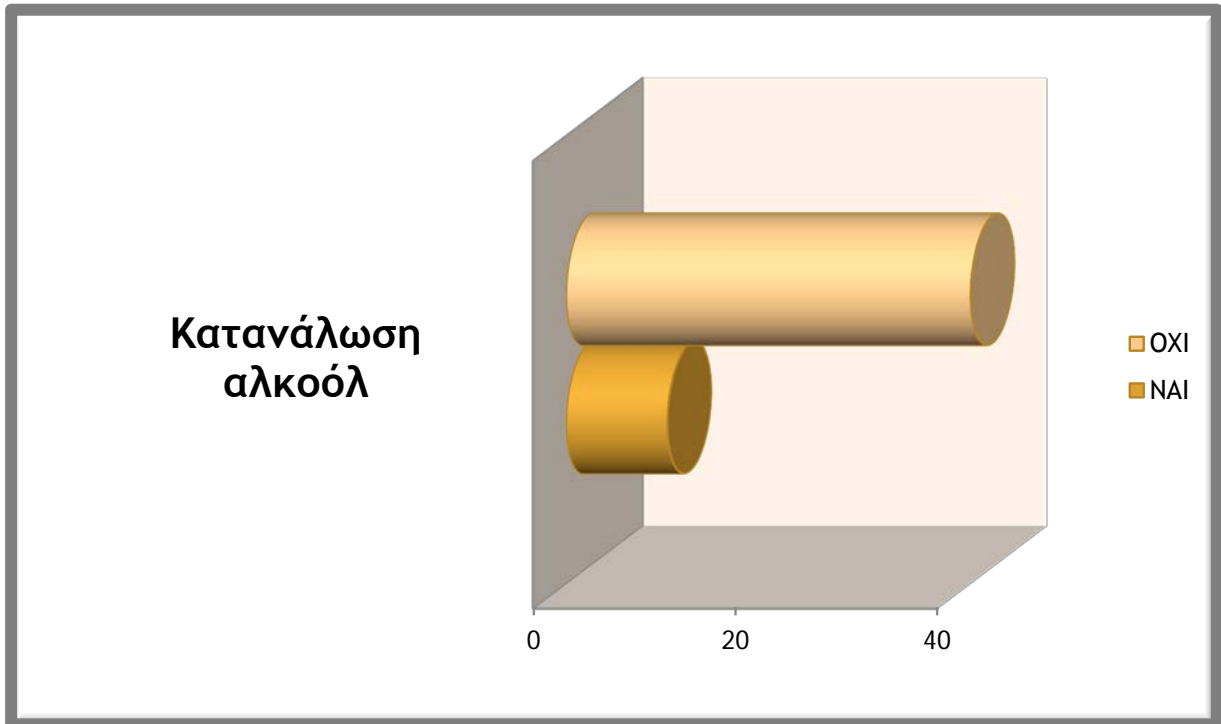
*Διάγραμμα 12* Ερώτηση για την συχνότητα των τσιγάρων σε εβδομαδιαία βάση

Στην ερώτηση περί ποσότητας τσιγάρων σε εβδομαδιαία βάση (από τις γυναίκες που δήλωσαν ότι καπνίζουν) λήφθηκαν απαντήσεις σε όλο το εύρος των δυνατών απαντήσεων, δηλαδή από 5 έως 150 τσιγάρα την εβδομάδα.

Ωστόσο, κρίνεται σκόπιμο να επισημανθεί πως η πλειοψηφία των απαντήσεων περιορίζεται στο εύρος μεταξύ 50 έως 70 τσιγάρων σε εβδομαδιαία βάση, ποσότητα που μεταφράζεται σε 7 έως 10 τσιγάρα ημερησίως.



**Ερώτηση 11η:** Καταναλώνετε συστηματικά αλκοόλ;



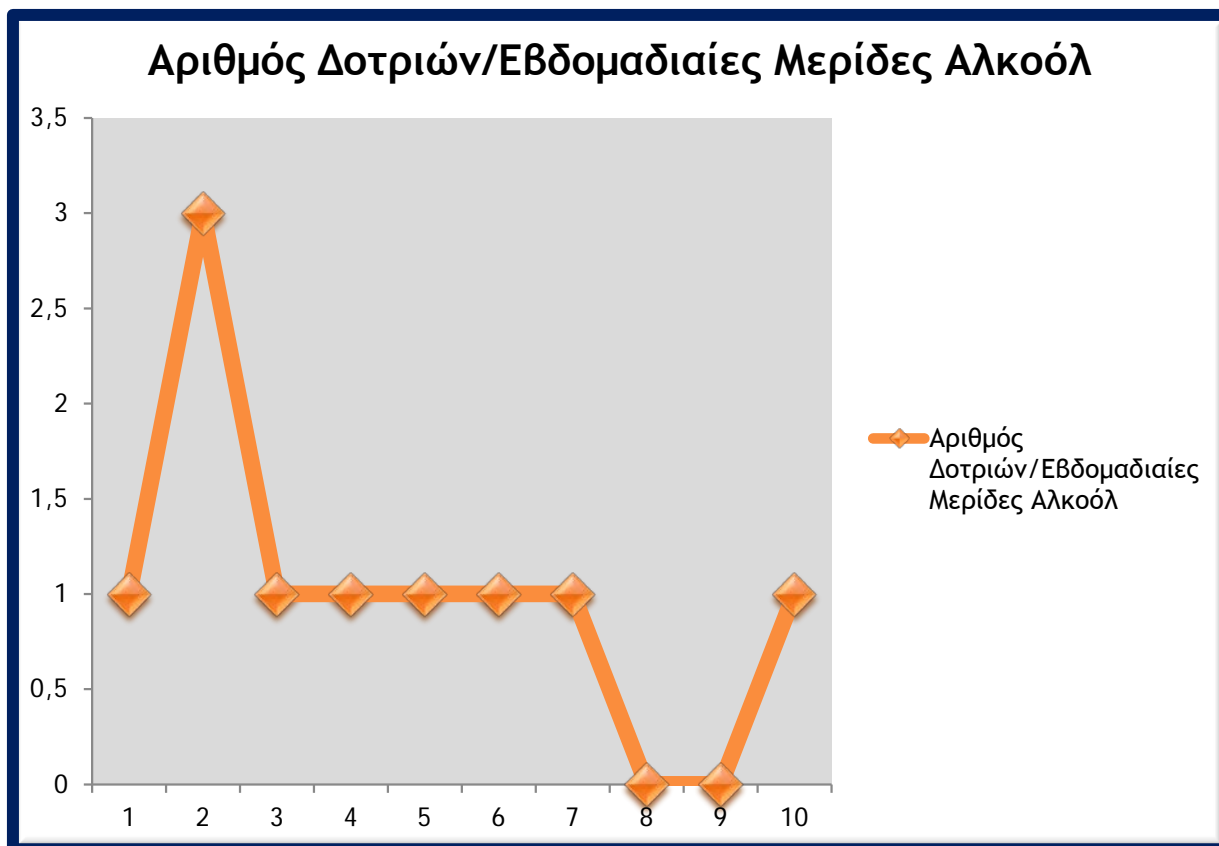
*Διάγραμμα 13* Ερώτηση σχετικά με την κατανάλωση ή όχι αλκοόλ

Το ερωτηματολόγιο έθεσε ερωτήσεις σχετικά με τη συστηματική κατανάλωση αλκοόλ. Η συντριπτική πλειοψηφία των ερωτώμενων (42) δήλωσε πως δεν καταναλώνει συστηματικά αλκοόλ. Παρόλα αυτά, τέθηκαν συμπληρωματικές ερωτήσεις σχετικά με εκείνες τις γυναίκες του δείγματος που δήλωσαν ότι καταναλώνουν συστηματικά αλκοόλ:

(i) σχετικά με την ποσότητα (μερίδες) αλκοόλ που καταναλώναν οι γυναίκες του δείγματος σε εβδομαδιαία βάση και

(ii) σχετικά με την περιεκτικότητα σε αλκοόλη των ποτών που καταναλώναν.

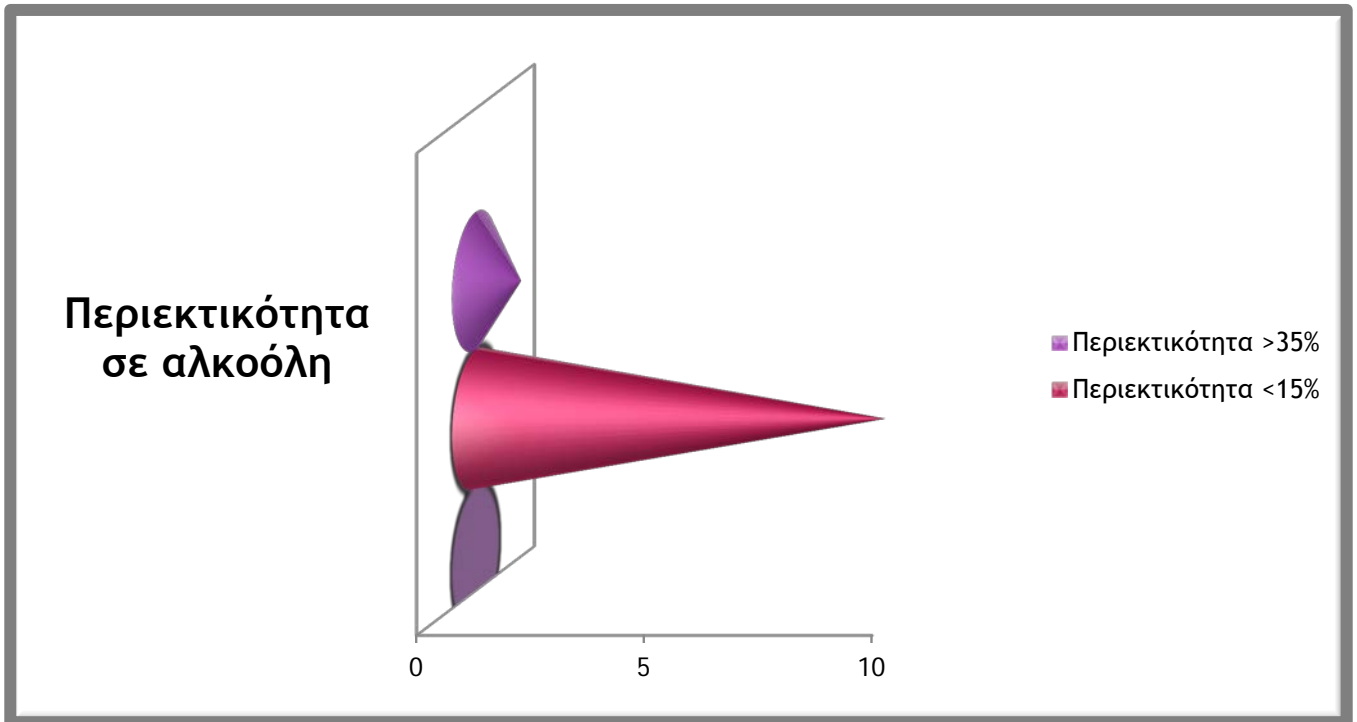
**Ερώτηση 12η:** Εάν καταναλώνετε αλκοόλ, πόσες μερίδες (ποτά) καταναλώνετε σε εβδομαδιαία βάση;



*Διάγραμμα 14* Ερώτηση σχετικά με τις μερίδες αλκοόλ εβδομαδιαίως

Στον άξονα (χχ') τέθηκε σαν μέγιστη τιμή οι δέκα μερίδες (ποτά) σε εβδομαδιαία βάση. Παρατηρούνται απαντήσεις σε όλο το εύρος των δυνατών απαντήσεων από μια μερίδα έως δέκα μερίδες σε εβδομαδιαία βάση. Η πλειοψηφία των απαντήσεων, όμως, εντοπίζεται στις δύο μερίδες (ποτά) ανά εβδομάδα.

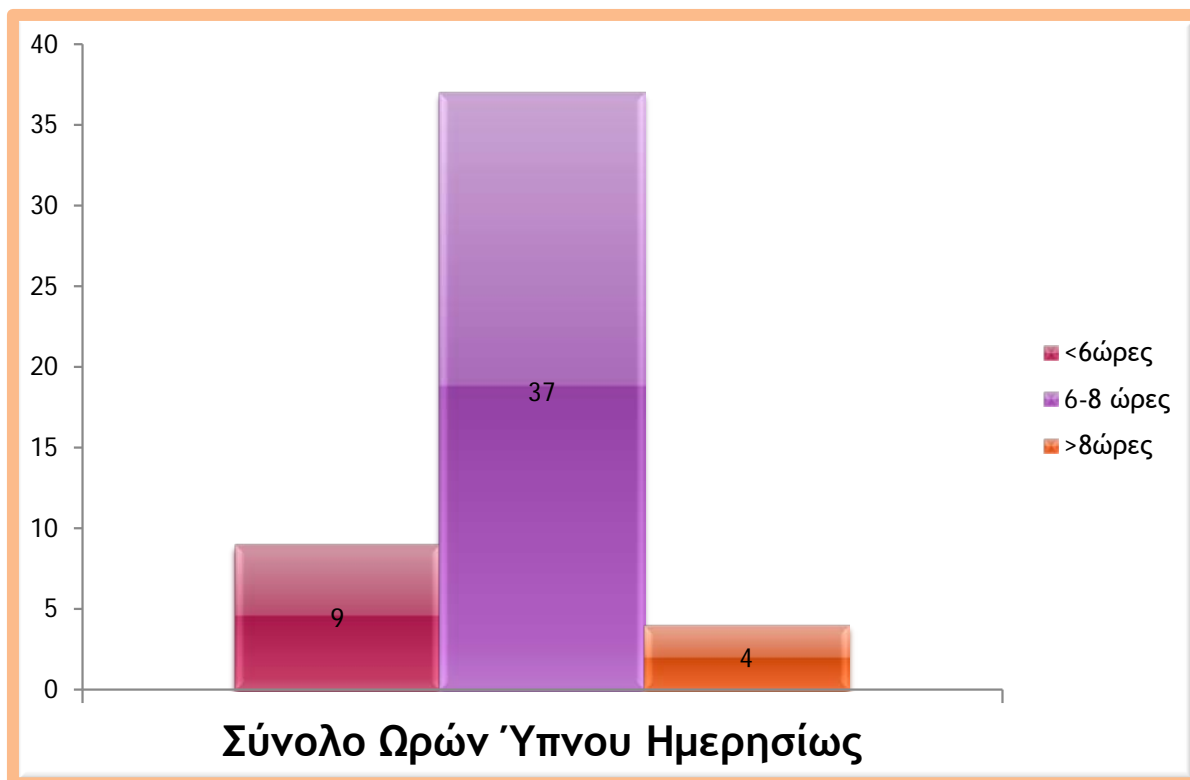
**Ερώτηση 13η:** Εάν καταναλώνετε αλκοόλ, τι περιεκτικότητα σε αλκοόλη έχουν τα ποτά που καταναλώνετε;



*Διάγραμμα 15* Ερώτηση σχετικά με την περιεκτικότητα σε αλκοόλη

Ως προς την ερώτηση σχετικά με την περιεκτικότητα σε αλκοόλη των ποτών που οι γυναίκες του δείγματος κατανάλωναν, τα ευρήματα δείχνουν σαφή προτίμηση των καταναλωτριών σε ποτά περιεκτικότητας <15% όπως είναι το κρασί και η μύρα. Μόνο ένα μικρό ποσοστό της τάξης του 5% από τις γυναίκες που δήλωσαν ότι καταναλώνουν συστηματικά αλκοόλ, δήλωσαν πως προτιμούν ποτά περιεκτικότητας >15% όπως πχ. τζιν, βότκα, ουίσκι.

**Ερώτηση 14η:** Πόσες ώρες κοιμάστε ημερησίως (συμπεριλαμβανομένου του μεσημεριανού ύπνου);



*Διάγραμμα 16* Ερώτηση σχετικά με τις ώρες ύπνου ημερησίως

Στο διάγραμμα 15 αναπαριστώνται οι γυναίκες του δείγματος που δήλωσαν ότι κοιμούνται <6 ώρες, αυτές που κοιμούνται από 6 έως 8 ώρες και αυτές που κοιμούνται >8 ώρες.

Στην ερώτηση του ερωτηματολογίου σχετικά με τις ώρες ύπνου που κοιμόνταν οι γυναίκες του δείγματος, τα ευρήματα συνέκλιναν προς το διάστημα μεταξύ 6 έως 8 ώρες την ημέρα. Μόλις το 18% δήλωσε ότι κοιμάται <6 ώρες ενώ το 8% δήλωσε πως κοιμάται >8 ώρες.

**Ερώτηση 15η:** Σε ποια μέρα του εμμηνορρυσιακού κύκλου (περίοδος) βρίσκεστε;



*Διάγραμμα 17* Ερώτηση σχετικά με την ημέρα του καταμήνιου κύκλου

Για την ερώτηση σχετικά με την ημέρα του εμμηνορρυσιακού κύκλου (περίοδος) που βρίσκονταν την ημέρα της αιμοληψίας οι γυναίκες του δείγματος, πραγματοποιήθηκαν τα εξής:

(i) στον άξονα χχ' τέθηκαν όλες οι μέρες του κύκλου (θεωρείται ότι ο εμμηνορρυσιακός κύκλος διαρκεί 30 ημέρες)

(ii) στον άξονα ψψ' βρίσκονται οι αιμοδότριες (σε ποσότητα) που βρίσκονταν στην ίδια ημέρα περιόδου.

Καθώς οι απαντήσεις καλύπτουν πλήρως όλο σχεδόν το εύρος των δυνατών απαντήσεων κρίνεται σκόπιμο να χωριστεί ο εμμηνορρυσιακός κύκλος σε επιμέρους δύο τμήματα:

(i) ωοθυλακική φάση που καλύπτει από την ημέρα 0 (ημέρα έναρξης της εμμήνου ρύσεως) έως και τη 15<sup>η</sup> ημέρα (ημέρα ωορρηξίας) και

(ii) ωχρινική φάση που καλύπτει από την 16<sup>η</sup> ημέρα έως και την 30<sup>η</sup> ημέρα.

Το 66% των ερωτηθεισών βρισκόταν στην ωοθυλακική φάση ενώ το 33% βρισκόταν στην ωχρινική φάση.

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Είναι πλέον γνωστό ότι κάποιες από τις αντιδράσεις, μη ανοσολογικού τύπου, από τη μετάγγιση είναι αυτές που σχετίζονται με την αποθηκευτική βλάβη του ερυθρού αιμοσφαιρίου. Η αποθηκευτική βλάβη των ερυθροκυττάρων είναι το πλήθος των βιοχημικών, μορφολογικών, κυτταρικών, μηχανικών και μεμβρανικών μεταβολών που υφίστανται τα ερυθροκύτταρα στο κλειστό περιβάλλον του ασκού αιμοδοσίας όπου και συντηρούνται. Προηγούμενες μελέτες μας έχουν δείξει ότι υπάρχει διαφορετικό αιματολογικό και βιοχημικό πρότυπο στους αιμοδότες. Επειδή σχεδόν θεωρείται βέβαιο ότι τα οιστρογόνα προστατεύουν την ερυθροκυτταρική μεμβράνη, η παρούσα εργασία διαπραγματεύεται το κυτταροβιολογικό πρότυπο των αιμοδοτριών που πληρούν τα κριτήρια της αιμοδοσίας. Αφού προηγουμένως αναλύθηκαν τα ευρήματα αυτής της έρευνας, κρίνεται σκόπιμη η σύγκριση ή/και συσχέτισή τους με τη διεθνή βιβλιογραφία.

Όπως έχει προαναφερθεί, η Οιστραδιόλη ( $E_2$ ) επηρεάζει με θετικό τρόπο την αντιοξειδωτική άμυνα του ερυθρού αιμοσφαιρίου και σχετικές έρευνες έχουν δείξει ότι προσδίδει αντιοξειδωτικές ιδιότητες στην φωσφολιπιδιακή μεμβράνη του ερυθροκυττάρου [Massafra και συν. 1997]. Σε αυτήν την έρευνα, έγινε προσπάθεια συσχέτισης του τρόπου ζωής (κάπνισμα, κατανάλωση αλκοόλ κλπ) των αιμοδοτριών με τις ημέρες του κύκλου που βρίσκονταν κατά την αιμοληψία. Αυτό πιθανώς επηρέαζε έμμεσα τις τιμές της οιστραδιόλης.

Αρχικά, η προσπάθεια συσχέτισης εστιάστηκε στο κάπνισμα. Το κάπνισμα συνεχίζει να αποτελεί ένα τεράστιο πρόβλημα που μαστιίζει όλες τις κοινωνίες ειδικά τις γυναίκες, αφού επηρεάζει το μεταβολισμό της οιστραδιόλης καθώς και όλα τα πιθανά αποτελέσματα εντός του οργανισμού στα οποία επιδρά η οιστραδιόλη. Σύμφωνα με τον Tansavatdi και συν. 2004, πολλά από τα έμμεσα αποτελέσματα του καπνίσματος προέρχονται από την ικανότητα των παραπροϊόντων να τροποποιούν μία ποικιλία από φάρμακα, ένζυμα και ορμόνες. Τα αποτελέσματα πολλών εργασιών *in vitro* έχουν ενοχοποιήσει τα συστατικά ενός τσιγάρου όσον αφορά την παραγωγή και τον μεταβολισμό των οιστρογόνων στο σύνολό τους.

Σε μερικές περιπτώσεις όπως η οστεοπόρωση και ο ενδομήτριος καρκίνος φαίνεται πως το κάπνισμα εξασθενεί τη δράση των οιστρογόνων. Αντίθετα, σε περιπτώσεις όπως ο καρκίνος του μαστού, η εν τω βάθη θρομβοφλεβίτιδα και οι καρδιοπάθειες, δεν υπάρχουν επαρκή ερευνητικά στοιχεία ώστε να συσχετιστεί το κάπνισμα με τα οιστρογόνα.

Στην παρούσα έρευνα, μέσω της δοκιμασίας της οσμωτικής ευθραυστότητας στο αίμα των εθελοντριών αιμοδοτριών έγινε προσπάθεια απάντησης στο ερώτημα εάν το κάπνισμα αναστέλλει τη δράση της οιστραδιόλης και κατ' επέκταση επηρεάζει την αντοχή των ερυθροκυττάρων σε οσμωτικά διαλύματα. Το 1/3 των εθελοντριών αιμοδοτριών που συμμετείχαν στην έρευνα αυτή ήταν καπνίστριες και ταυτόχρονα αναλύθηκε η συμπεριφορά των ερυθροκυττάρων των συγκεκριμένων αιμοδοτριών κατά τη δοκιμασία της οσμωτικής ευθραυστότητας λαμβάνοντας υπόψη μόνο το κάπνισμα χωρίς κάποιον άλλο συνδυαστικό παράγοντα όσον αφορά τον τρόπο ζωής των εθελοντριών. Πράγματι, στην ανάλυση των δεδομένων, το 50% από τις καπνίστριες εμφάνισαν απόκλιση από τα δείγματα των μη-καπνιστριών εθελοντριών για τη συγκέντρωση 0,4% NaCl στην οποία τα ερυθροκύτταρα των εθελοντριών καταστρέφονταν. Παρ' όλα αυτά, πρέπει να σημειωθεί πως λαμβάνοντας υπόψη μόνο τον κάπνισμα όσον αφορά τον τρόπο ζωής καθώς και τον μικρό αριθμό δειγμάτων που συλλέχθηκαν, δεν είναι δυνατή η άμεση συσχέτιση του καπνίσματος με την αντοχή των ερυθροκυττάρων υπό πίεση. Ένα μέρος των δεδομένων δείχνει να συμφωνεί με τα ευρήματα του Tansavatdi και συν. 2004 ωστόσο η συγκεκριμένη έρευνα πρέπει να περιοριστεί μόνο στη διατύπωση υποθέσεων και εικασιών σχετικά με το συγκεκριμένο ζήτημα.

Ανεξάρτητα από την επίδραση του καπνίσματος στη δράση της οιστραδιόλης, σε αυτή την έρευνα έγινε προσπάθεια συσχέτισης και της κατανάλωσης αλκοόλ από τις εθελόντριες αιμοδότριες.

Είναι γνωστό πως πολλές μελέτες έχουν καταδείξει τη συσχέτιση των οιστρογόνων, στο σύνολό τους, με τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού καθώς και με την κατανάλωση αλκοόλ.

Σύμφωνα με μελέτη των Ferraroni και συν. 2002 που συγκέντρωσε τα δεδομένα 53 διαφορετικών μελετών, για κάθε αλκοολούχο ποτό που κατανάλωνε μία



γυναίκα, ο κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου του μαστού αυξανόταν κατά 7%. Ταυτόχρονα, οι γυναίκες που κατανάλωναν από δύο έως τρία αλκοολούχα ποτά ημερησίως, ο κίνδυνος εμφάνισης του συγκεκριμένου τύπου καρκίνου εκτινασσόταν στο 20%. Το αλκοόλ μπορεί να επηρεάσει τον τρόπο με τον οποίο ο γυναικείος οργανισμός μεταβολίζει τα οιστρογόνα (τον τρόπο με τον οποίο τα οιστρογόνα δρουν στον οργανισμό) προκαλώντας αύξηση των επιπέδων των οιστρογόνων στο αίμα [Key TJ και συν. 2011]. Αυτά τα υψηλά επίπεδα οιστρογόνων στο αίμα μπορούν να αυξήσουν με τη σειρά τους τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού [Willett WC και συν. 2010, Key και συν. 2011 & Hunter TJ και συν. 1996]. Ακόμη, η κατανάλωση αλκοόλ μπορεί να μειώσει τη συγκέντρωση του φυλλικού οξέος στο αίμα. Το φυλλικό οξύ διαδραματίζει έναν πολύ σημαντικό ρόλο τόσο στην αντιγραφή όσο και στην επιδιόρθωση του DNA.

Μέσα από το ερωτηματολόγιο που δόθηκε στις υποψήφιες αιμοδότριες, τέθηκαν ερωτήσεις όχι μόνο όσον αφορά την κατανάλωση ή μη αλκοόλ αλλά και της συγκέντρωσης αλκοόλ που είχαν τα ποτά που κατανάλωναν. Τα δείγματα από εκείνες τις εθελόντριες αιμοδότριες που κατανάλωναν αλκοόλ αναλύθηκαν κατά τη δοκιμασία της οσμωτικής ευθραυστότητας με στόχο την εξεύρεση συσχέτισης μεταξύ της κατανάλωσης αλκοόλ και της δράσης της οιστραδιόλης. Πράγματι, το 1/5 των εθελοντριών που συμμετείχαν στην έρευνα, κατανάλωναν αλκοόλ χαμηλής περιεκτικότητας σε αλκοόλη. Τα ευρήματα της δοκιμασίας της οσμωτικής ευθραυστότητας για αυτές τις αιμοδότριες, πλην ελαχίστων εξαιρέσεων δεν έδειξαν πως η κατανάλωση αλκοόλ επηρεάζει τη δράση της οιστραδιόλης. Τα ερυθροκύτταρα αυτής της κατηγορίας των εθελοντριών δεν έδειξαν διαφορά κατά τη δοκιμασία της οσμωτικής ευθραυστότητας σε σχέση με τα ερυθροκύτταρα των εθελοντριών που δεν κατανάλωναν αλκοόλ.

Παρά τα ευρήματα, κρίνεται σκόπιμη η επισήμανση των εξής στοιχείων:

(i) Το δείγμα της έρευνας δεν ήταν μεγάλο με αποτέλεσμα να μην είναι δυνατή η εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων σχετικά με την συγκεκριμένη υπόθεση

(ii) Δεν είναι δυνατόν να είναι γνωστό το εάν η χρόνια ή η παροδική κατανάλωση αλκοόλ διαφοροποιεί τα ευρήματα ερευνών όπως αυτή τόσο βραχυπρόθεσμα όσο και μακροπρόθεσμα και

(iii) Για να είναι δυνατή η εξαγωγή ασφαλών και τεκμηριωμένων συμπερασμάτων κρίνεται απαραίτητη η εξέταση της ποσότητας φυλλικού οξέος στο αίμα εθελοντριών αιμοδοτριών που καταναλώνουν αλκοόλ και σε μία ενδεχόμενη λεπτομερή προσέγγιση του ζητήματος η εξέταση των γονιδίων BRCA<sub>1</sub>, BRCA<sub>2</sub> που έχουν συσχετιστεί με τον καρκίνο του μαστού.

Τέλος, στην παρούσα μελέτη έγινε προσπάθεια συσχέτισης της ημέρας του κύκλου με τα επίπεδα της οιστραδιόλης και τη δράση της όσον αφορά την αντοχή των ερυθρών αιμοσφαιρίων όταν τα τελευταία βρίσκονται σε υπότονο διάλυμα.

Σύμφωνα με την υπάρχουσα βιβλιογραφία, ο εμμηνορρυσιακός κύκλος της γυναίκας χωρίζεται σε τρεις επιμέρους φάσεις: (i) την ωθηλακική φάση, (ii) την ωορρηκτική φάση και (iii) την ωχρινική φάση. Μέσα από το ερωτηματολόγιο που δόθηκε στις εθελόντριες αιμοδότριες καταγράφηκε η ημέρα του κύκλου στην οποία βρίσκονταν την ημέρα της αιμοληψίας. Με βάση τα δεδομένα που συλλέχθηκαν, 7 στις 50 εθελόντριες αιμοδότριες βρίσκονταν στο εύρος ημερών από την 11<sup>η</sup> έως την 17<sup>η</sup> ημέρα κύκλου όπου και τα επίπεδα της οιστραδιόλης βρίσκονται στη μέγιστη τιμή τους. Μέσα από τη δοκιμασία της οσμωτικής ευθραυστότητας έγινε ανάλυση των δεδομένων γι' αυτές τις αιμοδότριες ώστε να παρατηρηθεί εάν τα επίπεδα οιστραδιόλης επηρεάζουν τη δράση της στα ερυθροκύτταρα. Τα δεδομένα της δοκιμασίας δείχνουν ότι πιθανώς τα επίπεδα της οιστραδιόλης δεν επηρέασαν και την αντοχή των ερυθροκυττάρων. Ανεξάρτητα από την ημέρα του κύκλου στην οποία βρισκόταν κάθε αιμοδότρια, δεν μεταβαλλόταν η δράση της οιστραδιόλης, που επαγωγικά αναδεικνύει την πιθανή ποιοτική και όχι ποσοτική δράση της οιστραδιόλης.

Στην περίπτωση που ισχύει αυτή η υπόθεση, τότε ενισχύεται η πιθανότητα ότι το αίμα γυναικών αναπαραγωγικής ηλικίας είναι ανθεκτικότερο κατά την αποθήκευσή του σε ασκό αιμοδοσίας απ' ότι το αντίστοιχο αντρικό συγκρίνοντας τα αποτελέσματα της οσμωτικής ευθραυστότητας της παρούσας μελέτης με εκείνα των Τσουμπέλη και συν. 2013 σε άντρες αντίστοιχης ηλικίας.

## *Συμπέρασμα*

Τα δεδομένα της παρούσας εργασίας δείχνουν πιθανή εμπλοκή της οιστραδιόλης και των οιστρογόνων γενικότερα στην αντοχή των ερυθροκυττάρων κατά την αποθήκευσή τους σε ασκό αιμοδοσίας. Τόσο ο τρόπος ζωής όσο και τα επίπεδα της οιστραδιόλης στο αίμα εθελοντριών αιμοδοτριών σε αναπαραγωγική ηλικία χρήζει περαιτέρω διερεύνησης με στόχο την επιβεβαίωση αυτών των αρχικών δεδομένων που προέκυψαν από αυτήν την μελέτη. Θεωρείται κρίσιμη η μελέτη των γυναικών που βρίσκονται στην εμμηνόπαυση για να αποσαφηνιστεί πλήρως ο ρόλος των οιστρογόνων στην προστασία της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης. Η λήψη περισσότερων δειγμάτων αίματος καθώς και η ποσοτική μέτρηση των επιπέδων της οιστραδιόλης στο αίμα γυναικών σε αναπαραγωγική ηλικία κρίνονται ιδιαίτερος σημαντικά. Τέλος, η ποικιλομορφία των αιμοδοτριών ως προς την ημέρα του κύκλου ή/και η λήψη αίματος σε κάθε φάση του εμμηνορρυσιακού κύκλου σε κάθε αιμοδότρια θεωρείται βέβαιο πως θα δώσει λεπτομερή στοιχεία σχετικά με τις υποθέσεις που τέθηκαν κατά την εκπόνηση της παρούσας εργασίας.

Επιλογικά, αναφέρεται ότι χρήζει περαιτέρω διερεύνησης, από αιματολογικής σκοπιάς, η χαμηλή αιμοσφαιρίνη και αιματοκρίτης των γυναικών σε αυτή τη μελέτη καθώς τόσο η διατροφή (που πιθανώς να είναι πτωχή σε σίδηρο) όσο και ο εμμηνορρυσιακός κύκλος ενδέχεται να είναι υπεύθυνοι για την αιματολογική εικόνα που παρουσίασαν οι εθελόντριες αιμοδότριες.

## Παράρτημα 1



Εθνικό και Καποδιστριακό  
Πανεπιστήμιο  
Αθήνας

Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό  
Ίδρυμα Αθήνας



Σχολή Θετικών Επιστημών  
Τμήμα Βιολογίας  
Τομέας Κυτταρικής Βιολογίας και Βιοφυσικής  
Παπασιδέρη Ισιδώρα

Σχολή Επαγγελματιών Υγείας και Πρόνοιας  
Τμήμα Ιατρικών Εργαστηρίων  
Τομέας Κυττάρων και Αντίδρασης  
Κριεμπάρδης Αναστάσιος

Επώνυμο: \_\_\_\_\_  
Όνομα: \_\_\_\_\_

Αρτηριακή Πίεση: \_\_\_\_\_ Σφυγμοί: \_\_\_\_\_  
Αιμοσφαιρίνη: \_\_\_\_\_

### Ιατρικό ιστορικό

	Ναι	Όχι
• Έχετε δώσει αίμα άλλη φορά;		
• Πότε δώσατε τελευταία φορά;		
• Έχετε ποτέ αποκλειστεί από αιμοδοσία;		
• Κάνετε επικίνδυνο επάγγελμα ή έχετε κάποιο επικίνδυνο χόμπι; (π.χ. οδήγηση φορτηγών, καταδύσεις)		
• Είχατε προβλήματα υγείας παλαιότερα;		
• Είχατε ποτέ;		
Ίκτερο		
Σύφιλη		
Ελονοσία		
Φυματίωση		
Ρευματοειδή αρθρίτιδα		
Καρδιοπάθεια		
Προκάρδιους πόνους		
Υπέρταση		
Σπασμούς (ως ενήλικας )		
Λιποθυμίες		
Παθήσεις στομάχου		
Έλκος		
Άλλες εγχειρήσεις		
Παθήσεις των νεφρών		
Διαβήτη		
Αλλεργία		
Αναιμία		
Άλλα νοσήματα		
Αν ναι, σημειώστε ποιο:		
• Μεταδοτικό νόσημα στο περιβάλλον σας (οικογένεια, δουλειά)		

• Λήψη φαρμάκων		
• Τις τελευταίες μέρες ήπιατε ασπιρίνη ή φαρμακευτικά προϊόντα που περιείχαν ασπιρίνη;		
• Γεννηθήκατε ή ζήσατε ή και ταξιδέψατε στο εξωτερικό;		
• Χάσατε βάρος – έχετε πυρετό ή αδένες διογκωμένους;		
• Έχετε υποστεί ποτέ μεταμόσχευση κερατοειδούς ή σκληρού χιτώνα στο μάτι σας;		
• Έχετε ακούσει ότι στην οικογένεια σας υπάρχει κίνδυνος εμφάνισης την νόσου Creutzfeldt-Jakob (νόσος τρελών αγελάδων);		
• Λήψη εκχυλισμάτων αυξητικής ορμόνης;		
Κάνατε :		
i. Εξαγωγή ή θεραπεία δοντιού την τελευταία εβδομάδα;		
ii. Εμβόλια την τελευταία εβδομάδα;		
iii. Εγχείρηση ή εξετάσεις τον χρόνο που πέρασε;		
iv. Μετάγγιση αίματος τον χρόνο που πέρασε;		
v. Τατουάζ ή τρύπημα αυτιών ή βελονισμό;		
vi. Τρυπηθήκατε από βελόνα σύριγγας;		
vii. Κάποια πληγή ή αμυχή του δέρματος σου ή βλεννογόνο του στόματος σας ήρθε σε επαφή με ξένο αίμα;		
viii. Μήπως μέσα στο χρόνο που πέρασε ήσατε έγγυος ;		

### Προσοχή

#### ΠΟΙΟΣ ΔΕΝ ΠΡΕΠΕΙ ΝΑ ΔΩΣΕΙ ΑΙΜΑ

1. Όποιος έχει έστω και μία ομοφυλοφιλική σχέση από το 1977.
2. Όποιος έχει κάνει κάποτε ενδοφλέβια χρήση ναρκωτικών.
3. Όποιος είχε πολλούς συντρόφους χωρίς τη συστηματική χρήση προφυλακτικών μέσων, κατά την τελευταία δεκαετία.
4. Οι ερωτικοί σύντροφοι πολυμεταγγιζόμενων ατόμων.
5. Όποιος είχε τους τελευταίους 12 μήνες σεξουαλική επαφή με σύντροφο που πληρωνόταν είτε με χρήματα είτε με ναρκωτικά για να κάνει σεξ.
6. Γενικά όποιος νομίζει ότι υπάρχει πιθανότητα να έχει εκτεθεί στον ιό που προκαλεί AIDS.

Ο ενεργήσαν την εξέταση  
Ο Υπεύθυνος  
(υπογραφή)

Δέχομαι την αιμοληψία, απάντησα ειλικρινά στις ερωτήσεις και έλαβα γνώση των αναφερόμενων πληροφοριών. Βεβαιώνω ότι το αίμα μου, είναι στην διάθεση της Υπηρεσίας Αιμοδοσίας για κάθε ασθενή που το χρειάζεται.

Ο Αιμοδότης  
(υπογραφή)

## Παράρτημα 2

### ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΟ

Παρακαλούμε όπως απαντήσετε στις ερωτήσεις συμπληρώνοντας τα κουτάκια με ✓

#### Ερώτηση 1<sup>η</sup>

Μένετε μόνη ή με τους γονείς σας?

Μόνη  Με τους γονείς μου

#### Ερώτηση 2<sup>η</sup>

Πόσο συχνά εντάσσετε το κρέας στη διατροφή σας σε εβδομαδιαία βάση?

0  1  2  3  4  5  6  7

#### Ερώτηση 3<sup>η</sup>

Πόσο συχνά τρέφεστε με έτοιμο φαγητό σε εβδομαδιαία βάση?

0  1  2  3  4  5  6  7

#### Ερώτηση 4<sup>η</sup>

Χρησιμοποιείτε συμπληρώματα διατροφής?

Ναι  Όχι

#### Ερώτηση 5<sup>η</sup>

Είστε αθλήτρια?

Ναι  Όχι

#### Ερώτηση 6<sup>η</sup>

Γυμνάζεστε?

Ναι  Όχι

#### Ερώτηση 7<sup>η</sup>

Αν ΝΑΙ, πόσο συχνά κάνετε γυμναστική σε εβδομαδιαία βάση?

1  2  3  4  5  6  7

#### Ερώτηση 8<sup>η</sup>

Είστε καπνίστρια?

Ναι  Όχι

Ερώτηση 9<sup>η</sup>

Αν ΝΑΙ, πόσα χρόνια είστε καπνίστρια?

1  2  3  4  5  6  7  8  9  10

Ερώτηση 10<sup>η</sup>

Προσδιορίστε τον αριθμό των τσιγάρων που καταναλώνετε σε εβδομαδιαία βάση:

5  10  20  30  40  50  70  100  150  >150

Ερώτηση 11<sup>η</sup>

Καταναλώνετε συστηματικά αλκοόλ?

Ναι  Όχι

Ερώτηση 12<sup>η</sup>

Αν ΝΑΙ, πόσες μερίδες αλκοόλ (ποτά) καταναλώνετε κατά μέσο όρο σε εβδομαδιαία βάση?

1  2  3  4  5  6  7  8  9  10  11  12  
 13  14  15  16  17  18  19  20  >20

Ερώτηση 13<sup>η</sup>

Αν ΝΑΙ, τι περιεκτικότητα σε αλκοόλη έχουν κατά μέσο όρο τα ποτά που καταναλώνετε?

Μικρότερη από 15% (κρασί/μπύρα)  Μεγαλύτερη από 35% (ουίски/βότκα)

Ερώτηση 14<sup>η</sup>

Πόσες ώρες κοιμάστε συνολικά ημερησίως?  
(Συμπεριλαμβάνεται και ο μεσημεριανός ύπνος)

Λιγότερο από 6 ώρες  6-8 ώρες  Πάνω από 8 ώρες

Ερώτηση 15<sup>η</sup>

Σε ποια ημέρα του εμμηνορυσιακού κύκλου (περίοδος) βρίσκεστε σήμερα?

1<sup>η</sup>  4<sup>η</sup>  7<sup>η</sup>  10<sup>η</sup>  13<sup>η</sup>  16<sup>η</sup>  19<sup>η</sup>  22<sup>η</sup>  25<sup>η</sup>  28<sup>η</sup>  31<sup>η</sup>  
 2<sup>η</sup>  5<sup>η</sup>  8<sup>η</sup>  11<sup>η</sup>  14<sup>η</sup>  17<sup>η</sup>  20<sup>η</sup>  23<sup>η</sup>  26<sup>η</sup>  29<sup>η</sup>  32<sup>η</sup>  
 3<sup>η</sup>  6<sup>η</sup>  9<sup>η</sup>  12<sup>η</sup>  15<sup>η</sup>  18<sup>η</sup>  21<sup>η</sup>  24<sup>η</sup>  27<sup>η</sup>  30<sup>η</sup>  33<sup>η</sup>

ΥΨΟΣ:

ΒΑΡΟΣ:

ΣΑΣ ΕΥΧΑΡΙΣΤΟΥΜΕ  
ΓΙΑ ΤΗ ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΑΣ

### Παράρτημα 3



Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο  
Αθήνας

Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό  
Ίδρυμα  
Αθήνας



Σχολή Θετικών Επιστημών  
Τμήμα Βιολογίας  
Τομέας Κυτταρικής Βιολογίας και Βιοφυσικής  
Παπασιδέρη Ισιδώρα

Σχολή Επαγγελματιών Υγείας και Πρόνοιας  
Τμήμα Ιατρικών Εργαστηρίων  
Τομέας Κυττάρων και Αντίδρασης  
Κριεμπάρδης Αναστάσιος

Κωδικός Αιμοδότηρας:

#### ΕΓΓΡΑΦΟ ΣΥΓΚΑΤΑΘΕΣΗΣ ΑΙΜΟΔΟΤΡΙΑΣ

Επώνυμο: \_\_\_\_\_

Όνομα: \_\_\_\_\_

Ηλικία: \_\_\_\_\_

Τηλέφωνο : \_\_\_\_\_

Email: \_\_\_\_\_

Αιματοκρίτης \_\_\_\_\_

Αιμοσφαιρίνη \_\_\_\_\_

MCV \_\_\_\_\_

MCH \_\_\_\_\_

MCHC \_\_\_\_\_

Έχετε έλλειψη G6PD: \_\_\_\_\_

Δίνω τη συγκατάθεσή μου για τη χρησιμοποίηση των προαναφερόμενων στοιχείων καθώς και μικροποσότητας από δείγμα αίματος (121), που θα χρησιμοποιηθεί για επιστημονική έρευνα από ερευνητική ομάδα του Παν/μίου Αθηνών (Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βιολογίας Κυττάρου & Βιοφυσικής, Υπεύθυνη Αναπλ. Καθ. Ισιδώρα Παπασιδέρη) και του ΤΕΙ Αθηνών (Τμήμα Ιατρικών Εργαστηρίων, Υπεύθυνος Καθ. Εφαρμογών Αναστάσιος Κριεμπάρδης), με σκοπό την κατανόηση της παθοφυσιολογίας του ερυθροκυττάρου. Στη παρούσα έρευνα θα τηρηθεί αυστηρά η ανωνυμία. Σε περίπτωση που επιλεγώ, δέχομαι να αιμοδοτήσω διατηρώντας όμως ακέραιο το δικαίωμά μου να αποχωρήσω από αυτή την έρευνα οποιαδήποτε στιγμή το θελήσω.

Υπογραφή Αιμοδότη

Υπογραφή Λήπτη Αίματος

Υπογραφή Υπευθύνου

Όνοματεπώνυμο

Κυριακή Γεωργιάδη  
Βασίλης Μπαλωμένος

Αναστάσιος Κριεμπάρδης



## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Alexander, J.S. and Y. Wang, Therapeutic potential of Schisandra chinensis extracts for treatment of hypertension. Introduction to: 'antihypertensive effect of gomisin A from Schisandra chinensis on angiotensin II-induced hypertension via preservation of nitric oxide bioavailability' by Park et al. Hypertens Res, 2012. 35(9): p. 892-3.
2. Alexander et al. Red blood cells stored for increasing periods produce progressive impairments in nitric oxide-mediated vasodilation. Transfusion 2012 December 1<sup>st</sup>
3. Arnal, J.F., et al., Nitric oxide and superoxide anion production during endothelial cell proliferation. Am J Physiol, 1996. 271(5 Pt 1): p. C1521-6.
4. Capel, I.D., et al., The effect of prolonged oral contraceptive steroid use on erythrocyte glutathione peroxidase activity. J Steroid Biochem, 1981. 14(8): p. 729-32.
5. Chen, K., R.N. Pittman, and A.S. Popel, Nitric oxide in the vasculature: where does it come from and where does it go? A quantitative perspective. Antioxid Redox Signal, 2008. 10(7): p. 1185-98.
6. Crawford, J.H., et al., Hypoxia, red blood cells, and nitrite regulate NO-dependent hypoxic vasodilation. Blood, 2006. 107(2): p. 566-74.
7. Dumma, S.L., et al., Estrogen-related mood disorders: reproductive life cycle factors. Advances in Nursing Science, 2005. 28(4): p. 364-75.
8. Doufas, A.G., Mastorakos, G., The Hypothalamic-thyroid axis and the female reproductive system. Ann, N, Y, Acad Sci., 2000. 900: p. 65-76.
9. Ellsworth, M.L., The red blood cell as an oxygen sensor: what is the evidence? Acta Physiol Scand, 2000. 168(4): p. 551-9.
10. Ellsworth, M.L., Red blood cell-derived ATP as a regulator of skeletal muscle perfusion. Med Sci Sports Exerc, 2004. 36(1): p. 35-41.
11. Ellsworth, M.L., et al., The erythrocyte as a regulator of vascular tone. Am J Physiol, 1995. 269(6 Pt 2): p. H2155-61.

12. Ferraroni et al. Alcohol, tobacco and breast cancer – collaborative reanalysis of individual data from 53 epidemiological studies, including 58.515 women with breast cancer and 95.067 women without the Disease, *British Journal of Cancer* (2002) 87, 1234 – 1245
13. Glynn, S.A., The red blood cell storage lesion: a method to the madness. *Transfusion*, 2010. 50(6): p. 1164-9.
14. Grimes, S.M. and H.C. Ngwang, Methodology for studying oxidation of organic species in solution. *J AOAC Int*, 2000. 83(3): p. 584-7.
15. Groff, J.Y., et al., Decision making, beliefs, and attitudes toward hysterectomy: a focus group study with medically underserved women in Texas. *J Womens Health Gen Based Med*, 2000. 9 Suppl 2: p. S39-50.
16. Hod, E.A., et al., Transfusion of red blood cells after prolonged storage produces harmful effects that are mediated by iron and inflammation. *Blood*, 2010. 115(21): p. 4284-92.
17. Huang, K.T., et al., Superoxide determines nitric oxide uptake rate by vascular smooth muscle cells. *FEBS Lett*, 2005. 579(20): p. 4349-54.
18. Hurrell, R.F., et al., An evaluation of EDTA compounds for iron fortification of cereal-based foods. *Br J Nutr*, 2000. 84(6): p. 903-10.
19. Ignarro, L.J., et al., Selective alterations in responsiveness of guanylate cyclase to activation by nitroso compounds during enzyme purification. *Biochim Biophys Acta*, 1981. 673(4): p. 394-407.
20. Kaniyas, T. and M.T. Gladwin, Nitric oxide, hemolysis, and the red blood cell storage lesion: interactions between transfusion, donor, and recipient. *Transfusion*, 2012. 52(7): p. 1388-92.
21. Key, T.J., Endogenous oestrogens and breast cancer risk in premenopausal and postmenopausal women. *Steroids*, 2011. 76(8): p. 812-5.
22. Massafra, C., et al., Changes in the erythrocyte antioxidant enzyme system during transdermal estradiol therapy for secondary amenorrhea. *Gynecol Endocrinol*, 1996. 10(3): p. 155-8.
23. Massafra, C., et al., Effects of estradiol and medroxyprogesterone-acetate treatment on erythrocyte antioxidant enzyme activities and malondialdehyde plasma levels in amenorrhic women. *J Clin Endocrinol Metab*, 1997. 82(1): p. 173-5.

24. Massafra, C., et al., Variations in erythrocyte antioxidant glutathione peroxidase activity during the menstrual cycle. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 1998. 49(1): p. 63-7.
25. Massafra, C., et al., Effects of estrogens and androgens on erythrocyte antioxidant superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities during the menstrual cycle. *J Endocrinol*, 2000. 167(3): p. 447-52.
26. Nelson, L.R. and Bulun, S.E., Estrogen production and action. *J. Am. Acad Dermatol*, 2009. 45(3): p. 116-24.
27. Reiter, C.D., et al., Cell-free hemoglobin limits nitric oxide bioavailability in sickle-cell disease. *Nat Med*, 2002. 8(12): p. 1383-9.
28. Roback, J.D., et al., Insufficient nitric oxide bioavailability: a hypothesis to explain adverse effects of red blood cell transfusion. *Transfusion*, 2011. 51(4): p. 859-66.
29. Rother, R.P., et al., The clinical sequelae of intravascular hemolysis and extracellular plasma hemoglobin: a novel mechanism of human disease. *JAMA*, 2005. 293(13): p. 1653-62.
30. Sack, M.N., D.J. Rader, and R.O. Cannon, 3rd, Oestrogen and inhibition of oxidation of low-density lipoproteins in postmenopausal women. *Lancet*, 1994. 343(8892): p. 269-70.
31. Singel DJ. Chemical physiology of blood flow regulation by red blood cells: the role of nitric oxide and S-nitrosohemoglobin. *Annu Rev Physiol* 2005;67:99-145
32. Sprague, R.S., et al., ATP: the red blood cell link to NO and local control of the pulmonary circulation. *Am J Physiol*, 1996. 271(6 Pt 2): p. H2717-22.
33. Stipanuk MH (2000) Biochemical and physiological aspects of human nutrition. Saunders, Philadelphia
34. Subbiah, M.T., et al., Antioxidant potential of specific estrogens on lipid peroxidation. *J Clin Endocrinol Metab*, 1993. 77(4): p. 1095-7.
35. Sugioka K., Shimosegawa Y., Nakano M. (1987) Estrogens as natural antioxidants of membrane phospholipid peroxidation. *FEBS Lett*. 1987 p: 37-39.
36. Tansavatdi, K., B. McClain, and D.M. Herrington, The effects of smoking on estradiol metabolism. *Minerva Ginecol*, 2004. 56(1): p. 105-14.
37. Tinmouth, A., et al., Clinical consequences of red cell storage in the critically ill. *Transfusion*, 2006. 46(11): p. 2014-27.

38. Wang, Y.H., et al., Nitric oxide participates in cold-inhibited *Camellia sinensis* pollen germination and tube growth partly via cGMP in vitro. *PLoS One*, 2012. 7(12): p. e52436.
39. Yagi, K. and S. Komura, Inhibitory effect of female hormones on lipid peroxidation. *Biochem Int*, 1986. 13(6): p. 1051-5.
40. Yu, B., et al., Diabetes augments and inhaled nitric oxide prevents the adverse hemodynamic effects of transfusing syngeneic stored blood in mice. *Transfusion*, 2012. 52(7): p. 1410-22.
41. Zhu, H.J., et al., Effects of liandou qingmai recipe (see text) on endothelin-1, nitric oxide, interleukin-6 and interleukin-10 levels in patients with coronary heart disease. *J Tradit Chin Med*, 2011. 31(3): p. 173-7.
42. <http://www.womenshealth.gov>, Menstruation and Menstrual cycle, 2007