



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΠΡΟΝΟΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΜΕ ΘΕΜΑ:

*“Η χρήση των φυσικών αντιοξειδωτικών στα πακεταρισμένα
ερυθρά αιμοσφαίρια κατά τη μετάγγιση.”*

*“Natural antioxidant in stored packed red blood cells for
transfusion.”*

Κώτσινας Θωμάς

Εισηγητής: Αναστάσιος Κριεμπάρδης

Επίκουρος Καθηγητής

Αθήνα, Ιούλιος 2018

Περίληψη:

Η χρήση των αντιοξειδωτικών συμβάλει στην καλή λειτουργία του ανθρώπινου οργανισμού όπως επίσης και στην καταπολέμηση βλαβερών ουσιών που μπορεί να προκαλέσουν σημαντικά προβλήματα στη λειτουργία του ανθρώπινου σώματος. Μέσα από την παρούσα εργασία γίνεται αναφορά σε κάποια από τα βασικά χαρακτηριστικά του αίματος, καθώς και στην ιστορία της μετάγγισης. Μετά από τη βιβλιογραφική ανασκόπηση παρουσιάζονται συνοπτικά κύριες μελέτες, στον τομέα της χρήσης φυσικών αντιοξειδωτικών σε πακεταρισμένα ερυθρά αιμοσφαίρια που προορίζονται για μετάγγιση. Τα κύρια άρθρα που μελετώνται ερευνούν κατά σειρά:

- 1) Τη σχέση της οξειδωτικής ευαισθησίας του ερυθροκυττάρου και της δραστηριότητας της ανθρακικής ανυδράσης στο αποθηκευμένο ανθρώπινο αίμα: επίδραση ορισμένων φαινολικών ενώσεων.
- 2) Τη χρήση των φυσικών αντιοξειδωτικών που βελτιώνει την «επιβίωση» των ερυθρών αιμοσφαιρίων σε μη λευκαφαιρεμένα δείγματα αίματος (ασκούς αιμοδοσίας).
- 3) Την επιβίωση ερυθρών αιμοσφαιρίων μετά τη μετάγγιση: διεργασίες και συνέπειες.
- 4) Την Βιοδιατήρηση των ερυθρών αιμοσφαιρίων.
- 5) Την Ευαισθησία των ερυθροκυττάρων στην οξείδωση κατά την αποθήκευση του αίματος: επιδράσεις της μελατονίνης και της προποφύλης.

Λέξεις κλειδιά: Αίμα, ερυθρά αιμοσφαίρια, μετάγγιση αίματος, αντιοξειδωτικά

Abstract:

The use of antioxidants contributes to the well being of human body as well as to the fight against harmful substances that can cause significant changes in the health. In this work we are called upon to understand the main characteristics of blood as well as to go back to the history of blood transfusion and to study its evolution and methods. Through a bibliographic review, we will present a brief description of the main studies, about the use of natural antioxidants in packed red blood cells during transfusion procedures. The main articles studied investigate in the following order:

- 1) The relationship of oxidative sensitivity of erythrocyte cells and carbonic anhydrase activity to stored human blood: effect of certain phenolic compounds.
- 2) The use of natural antioxidants that improve the "survival" of red blood cells in non-leukoreduced blood samples (blood bags).
- 3) The survival of red blood cells after transfusion: processes and consequences.
- 4) The bio-maintenance of red blood cells.
- 5) The sensitivity of erythrocytes to oxidation during blood storage: effects of melatonin and propofol.

Keywords: Blood, red blood cells, blood transfusion, antioxidants

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΟΡΙΣΜΟΙ	7
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 : ΓΕΝΙΚΑ ΠΕΡΙ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ.....	9
1.1 Συστατικά του αίματος.....	10
1.1.1 Ερυθρά αιμοσφαίρια.....	10
1.1.2 Αιμοπετάλια ή θρομβοκύτταρα.....	10
1.1.3 Λευκά αιμοσφαίρια	12
1.1.4 Πλάσμα.....	11
1.2 Τα έμμορφα συστατικά του αίματος	11
1.3 Οι ομάδες αίματος	12
1.3.1 Σύστημα ABO	12
1.3.2 Το σύστημα Ρέζους	12
1.3.3 Συμβατότητα και Ασυμβατότητα	13
1.3.4 Επιλογή παραγώγων για τη μετάγγιση κατά ABO.....	13
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΜΟΡΦΕΣ ΕΡΥΘΡΩΝ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΩΝ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΝΤΑΙ ΚΑΤΑ ΤΗ ΜΕΤΑΓΓΙΣΗ	14
2.1 Ολικό αίμα.....	14
2.2 Συμπυκνωμένα ερυθρά (ΣΕ)	15
2.3 Λευκαφαιρεμένα συμπυκνωμένα ερυθρά (Λ-ΣΕ).....	15
2.4 Ακτινοβολημένα συμπυκνωμένα ερυθρά (Α-ΣΕ)	16
2.5 Πλυμένα συμπυκνωμένα ερυθρά (Π-ΣΕ).....	16
2.6 Κατεψυγμένα συμπυκνωμένα ερυθρά (Κ-ΣΕ)	17
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΦΥΣΙΚΑ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ ΣΤΑ ΕΡΥΘΡΑ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΑ	17
3.1 Η Οξείδωση των κυττάρων	17
3.2 Οι ελεύθερες ρίζες.....	18
3.3 Η έννοια των αντιοξειδωτικών.....	19
3.4 Ανθρώπινα ερυθρά αιμοσφαίρια ως φυσικό φλαβονοειδές	20

3.5 Προστατευτική δράση των φλαβονοειδών κατά της αιμόλυσης ερυθρών αιμοσφαιρίων από ελεύθερες ρίζες.....	22
3.6 Ενεργοποίηση του οξειδοαναγωγικού συστήματος της μεμβράνης ερυθροκυττάρων με ρεσβερατρόλη.....	25
3.7 Χαρακτηριστικά της ρεσβερατρόλης και τηςζίνης στην αντιοξειδωτική ικανότητα και ευαισθησία στην οξείδωση των ερυθρών αιμοσφαιρίων στο αποθηκευμένο ανθρώπινο αίμα κατά τρόπο που εξαρτάται από το χρόνο	26
3.8 Αντιοξειδωτικά του αίματος και υπεροξείδωση λιπιδίων ερυθροκυττάρων	29
3.9 Το ασκορβικό οξύ και η αντιοξειδωτική του δράση	30
3.10 Η Βιταμίνη Ε.....	31
3.11 Η βιταμίνη Ε προστατεύει τα ερυθρά αιμοσφαίρια από την επαγόμενη από την οξειδωτική βλάβη κατά την αποθήκευση.....	32
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 : ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΤΩΝ ΣΧΕΤΙΚΩΝ ΜΕΛΕΤΩΝ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	36
4.1 Τρέχοντα θέματα σχετικά με τη μετάγγιση των πακεταρισμένων ερυθρών αιμοσφαιρίων.....	36
4.2 Η σχέση της οξειδωτικής ευαισθησίας των κυττάρων του ερυθροκυττάρου και της δραστηριότητας της ανθρακικής ανυδράσης στο αποθηκευμένο ανθρώπινο αίμα: επίδραση ορισμένων φαινολικών ενώσεων.....	36
4.3 Η χρήση των φυσικών αντιοξειδωτικών βελτιώνει την «επιβίωση» των ερυθρών αιμοσφαιρίων σε μη λευκαφαιρεμένα δείγματα αίματος	37
4.4 Η επιβίωση ερυθρών αιμοσφαιρίων μετά τη μετάγγιση: διεργασίες και συνέπειες.....	38
4.5 Βιοδιατήρηση των ερυθρών αιμοσφαιρίων.....	40
4.6 Ευαισθησία των ερυθροκυττάρων στην οξείδωση κατά την αποθήκευση του αίματος: επιδράσεις της μελατονίνης και της προποφόλης	41
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	42
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....	45

ΟΡΙΣΜΟΙ

Ως αντιοξειδωτικό, ορίζεται ένα μόριο που αναστέλλει την οξείδωση άλλων μορίων. Η οξείδωση είναι μια χημική αντίδραση που μπορεί να παράγει ελεύθερες ρίζες, οδηγώντας σε αλυσιδωτές αντιδράσεις που μπορεί να βλάψουν τα κύτταρα. Συνεπώς τα αντιοξειδωτικά σταματούν αυτές τις αλυσιδωτές αντιδράσεις. Ο όρος "αντιοξειδωτικό" χρησιμοποιείται κυρίως για δύο διαφορετικές ομάδες ουσιών: βιομηχανικές χημικές ουσίες που προστίθενται σε προϊόντα για την πρόληψη της οξείδωσης και φυσικές χημικές ουσίες που βρίσκονται σε τρόφιμα και ιστούς του σώματος που λέγεται ότι έχουν ωφέλιμες επιπτώσεις στην υγεία.

Μετάγγιση ορίζεται η διαδικασία μεταφοράς αίματος ή προϊόντων αίματος από ένα άτομο (δότης), σε κυκλοφορία αίματος άλλου ατόμου (παραλήπτης). Προϋπόθεση για την επιτυχία της μετάγγισης είναι η συμβατότητα του αίματος του λήπτη και του δότη. Εκτός από την πλήρη μετάγγιση αίματος, γίνεται και μετάγγιση μεμονωμένων συστατικών του αίματος, αφού προηγουμένως χωριστεί στα συστατικά του σύμφωνα με ειδική διαδικασία. Κατ' αυτόν τον τρόπο αυξάνεται η αποδοτικότητα της διαδικασίας, επειδή ο λήπτης δέχεται τα απαραίτητα συστατικά που έχει ανάγκη.

Ως πακεταρισμένα ερυθρά αιμοσφαίρια, γνωστά και ως συμπυκνωμένα ερυθρά, ορίζουμε το προϊόν κλασμάτωσης του αίματος κατά το οποίο έχουμε αφαιρέσει από το πλήρες αίμα το πλάσμα. Το χρησιμοποιούμε σε άτομα που χρειάζονται μετάγγιση γιατί εμφανίζουν αναιμία και δεν έχουν ικανοποιητικές ποσότητες μεταφορέων οξυγόνου.

Η εξέλιξη της αιμοδοσίας και της μετάγγισης αίματος

Για να φτάσουμε στη σημερινή "Μετάγγιση Αίματος", χρειάστηκαν πολλές προσπάθειες, επιτυχίες και ανεπιτυχίες. Από τους αρχαίους χρόνους πολλοί λαοί αποδώσανε στο αίμα μαγικές ή θεραπευτικές ιδιότητες.

Η πρώτη καθορισμένη και λεπτομερής περιγραφή της τεχνικής της μετάγγισης έγινε από τον Γερμανό χημικό A.Libanius (1615). Η ανακάλυψη της κυκλοφορίας του αίματος από τον Harvey (1628) αποτελεί σταθμό για τη μετάγγιση.

Από τότε πολλοί δοκίμασαν μεταγγίσεις αίματος κυρίως από ζώα σε ανθρώπους και από άνθρωπο σε άνθρωπο, και από αρτηρία σε φλέβα. Η τιμή της πρώτης πραγματικής

μετάγγισης αίματος από άνθρωπο σε άνθρωπο ανήκει στο Major ο οποίος δεν έκανε απ' ευθείας μετάγγιση, αλλά συνέλεξε το αίμα για την μετάγγιση σε δοχείο.

Τα αποτελέσματα όμως δεν ήταν πάντοτε ικανοποιητικά και εξακολούθησαν να εμφανίζονται συμβάντα, συχνά θανατηφόρα που σήμερα γνωρίζουμε ότι οφείλονταν, εκτός από την άγνοια της ασηψίας, σε θρόμβωση και κυρίως σε ασυμβατότητα.

Ο σημαντικότερος σταθμός στην ιστορία της μετάγγισης υπήρξε η ανακάλυψη των ομάδων αίματος από τον Landsteiner το 1900. Τα συμβάντα που παρατηρούνται αποδίδονται σε αιμόλυση του χορηγούμενου ασύμβατου, δηλαδή άλλης ομάδας αίματος, από τις συγκολλητίνες του δέκτη. Γι' αυτή την ανακάλυψη ο Landsteiner τιμήθηκε το 1930 με το βραβείο Nobel.

Την ανακάλυψη των ομάδων του συστήματος ABO ακολούθησε η ανακάλυψη του συστήματος rhesus και σειράς άλλων συστημάτων ομάδων αίματος ώστε σήμερα, εκτός από τα κύρια συστήματα, να υπάρχει και σειρά από σπάνια αντιγόνα, πολλά από τα οποία είναι καθαρά ατομικά αντιγόνα. Ο επόμενος σταθμός στην ιστορία της μετάγγισης ήταν το 1914 όταν με τις ταυτόχρονες εργασίες των Hustin (Βρυξέλλες), Acot (Μπουένος Άϊρες) και Lewisohn (Νέα Υόρκη), χρησιμοποιήθηκαν τα κιτρικά άλατα ως αντιπηκτικό διάλυμα.

Η προσθήκη γλυκόζης στο αντιπηκτικό διάλυμα συμβάλλει στην επιβίωση των ερυθρών αιμοσφαιρίων για 21 ημέρες. Στη συνέχεια διαπιστώνεται ότι η ψύξη επιβραδύνει την αλλοίωση των ερυθρών αιμοσφαιρίων. Η διατήρηση του αίματος σε ψυγείο επηρέασε αποφασιστικά την όλη οργάνωση της Αιμοδοσίας. Το αίμα είναι πια δυνατό να συλλέγεται, να διατηρείται και να χρησιμοποιείται σε ώρα ανάγκης.

Το 1916 η πρώτη μετάγγιση αίματος στην Ελλάδα πραγματοποιήθηκε στην Πολυκλινική Αθηνών από τον καθηγητή Σπ. Οικονόμου που είχε παρακολουθήσει στο Montpellier της Γαλλίας σχετικές εργασίες. Το 1926 ο Βρετανικός Ερυθρός Σταυρός εγκαθιδρύει την πρώτη υπηρεσία αιμοδοσίας στον κόσμο. Το 1935 ο Μαθιός Μακκάς ίδρυσε την Οργάνωση Αιμοδοσίας του Ελληνικού Ερυθρού Σταυρού. Ο οργανισμός αυτός για πολλά χρόνια κράτησε το βάρος της αιμοδοσίας αναγκασμένος να στηρίζεται σε αμειβόμενους αιμοδότες. Το 1937 ο παράγοντας Rh ανακαλύπτεται στο αίμα πιθήκου, από όπου πήρε και το όνομά του.

Το 1939 γίνεται η πρώτη μετάγγιση συντηρημένου αίματος στην Ελλάδα στις 30 Νοέμβρη στο Λαϊκό Νοσ/μείο από τον Μ. Παϊδούση. Έτσι το 1952 δημιουργείται η Εθνική Υπηρεσία Αιμοδοσίας στο Υπουργείο Υγείας και Πρόνοιας. Ιδρύονται τέσσερα Περιφερειακά Κέντρα Αιμοδοσίας Α΄ Ιπποκράτειο και Λαϊκό Νοσοκομείο Αθηνών, με διευθυντή τον Ιππ.Τσεβρένη. Β΄ Νοσοκομείο Αθηνών "Β.Παύλος" με διευθυντή τον Μ. Παιδούση. Γενικό Νοσοκομείο Νίκαιας Πειραιά με διευθυντή τον Ηλία

Πολίτη και το Κέντρο Αιμοδοσίας Θεσσαλονίκης με διευθυντή τον Ν.Βαφειάδη.

Το έτος 1956 αποτελεί σταθμό για την θεραπευτική αντιμετώπιση των αιμορροφιλικών ασθενών της χώρας διότι παρασκευάζεται από το Κέντρο Αιμοδοσίας του Ιπποκρατείου το μόνο κατ' εκείνη την εποχή θεραπευτικό γι αυτούς μέσο, το "πρόσφατα κατεψυγμένο πλάσμα". Χάρη σε αυτό το πλάσμα πραγματοποιείται ήδη το 1957 η πρώτη επιτυχής χειρουργική επέμβαση σε αιμορροφιλικό ασθενή.

Το 1959 ο Max Perutz του Πανεπιστημίου Cambridge ανακαλύπτει τη μοριακή σύνθεση της αιμοσφαιρίνης. Λόγω της αναγκαιότητας συστηματικής παρακολούθησης και αντιμετώπισης αυτών των ασθενών δημιουργείται το έτος 1960 με Υπουργική απόφαση ο πρώτος και μοναδικός Σταθμός Αιμορροφιλικών Ασθενών της χώρας, ο οποίος εντάσσεται στο Κέντρο Αιμοδοσίας του Ιπποκρατείου Νοσοκομείου. Το 1962_ αναπτύσσεται ο πρώτος αντιαιμοφιλικός παράγοντας, όπου εδωρήθη στο Κέντρο Αιμοδοσίας του Ιπποκρατείου. Το 1964 η πλασμαφαίρεση χρησιμοποιείται ως μέσο συλλογής πλάσματος. Το 1965 ο Baruch Samuel Blumberg αναγνώρισε ένα ιϊκό συστατικό που ονόμασε αντιγόνο Australia, επειδή απομονώθηκε σε Αυστραλό και πρόκειται για το αντιγόνο του ιού της ηπατίτιδας Β. Το 1967 η Rh ανοσοσφαιρίνη βγαίνει στο εμπόριο. Το 1971 αρχίζει η εξέταση αιμοδοτών για ηπατίτιδα Β. Το 1985 το πρώτο τεστ ανίχνευσης του HIV στις τράπεζες αίματος. Το 1990 Ανίχνευση HCV. Το 1993 Ανίχνευση HTLV-1. Συνεπώς στις αρχές 21ου αιώνα η επιστημονική έρευνα έχει καταστήσει την αιμοδοσία ασφαλή διαδικασία.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 : ΓΕΝΙΚΑ ΠΕΡΙ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ

Το αίμα είναι ένας αρκετά πολύπλοκος ιστός που αποτελείται από ένα υγρό μέρος και διάφορα είδη κυττάρων του αίματος. Υπάρχουν οκτώ διαφορετικοί τύποι αίματος (ομάδες αίματος), από τους οποίους καθορίζεται η συμβατότητα μεταξύ του δότη και του δέκτη.

Ο μέσος ενήλικας διαθέτει μεταξύ τεσσάρων και πέντε λίτρων αίματος (σχεδόν δέκα μονάδες). Μία μονάδα αίματος (σαν αυτή που δίνεται σε μία απλή αιμοδοσία) ζυγίζει περίπου 450 ml, ποσότητα η οποία δεν γίνεται αισθητή αφού αναπληρώνεται γρήγορα από τον οργανισμό του υγιούς αιμοδότη.

1.1 Συστατικά του αίματος

Το αίμα είναι ένας ζωντανός ιστός που βρίσκεται σε ρευστή κατάσταση και αποτελείται από μεγάλη ποικιλία συστατικών και διαλυμένων χημικών ουσιών, στις οποίες περιλαμβάνονται, υδατάνθρακες, πρωτεΐνες, ορμόνες και αέρια όπως οξυγόνο, διοξείδιο του άνθρακα και άζωτο. Το αίμα αποτελεί το 7% του βάρους του ανθρώπινου σώματος και κατά συνέπεια, ο μέσος ενήλικας έχει συνολικό όγκο αίματος περίπου 5 λίτρα.

Είναι το μέσο μεταφοράς πολλών χρήσιμων και απαραίτητων στοιχείων για τη φυσιολογική λειτουργία του οργανισμού μας και αποτελείται από κύτταρα (έμμορφα συστατικά) τα οποία αιωρούνται μέσα σε ένα κιτρινωπό υγρό, που ονομάζεται πλάσμα. Τα έμμορφα συστατικά του αίματος είναι τα ερυθρά αιμοσφαίρια, τα λευκά αιμοσφαίρια και τα αιμοπετάλια.

1.1.1 Ερυθρά αιμοσφαίρια

Είναι ο πιο πολυπληθής τύπος κυττάρου του αίματος και ο βασικός μηχανισμός για τη μεταφορά οξυγόνου στα σπονδυλωτά, μέσω της αιμοσφαιρίνης στην οποία οφείλεται και το κόκκινο χρώμα του αίματος. Τα κύτταρα αυτά προσλαμβάνουν το οξυγόνο από τους πνεύμονες και το μεταφέρουν στους διάφορους ιστούς και στα κύτταρα. Από εκεί παραλαμβάνουν το διοξείδιο του άνθρακα, το οποίο αποβάλλεται κατά την επιστροφή τους στους πνεύμονες. Με αυτό τον τρόπο εξασφαλίζεται η βιωσιμότητα των κυττάρων, των ιστών και των οργάνων μας και σε τελική ανάλυση η ίδια η ζωή.

Στον άνθρωπο, τα ώριμα ερυθρά αιμοσφαίρια είναι ελαστικοί αμφίκυκλοι δίσκοι, απουσία πυρήνα και παράγονται στο μυελό των οστών σε πρόδρομες μορφές.

1.1.2 Αιμοπετάλια ή θρομβοκύτταρα

Είναι μικροσκοπικά κύτταρα, δισκοειδή, διάφανα, θραύσματα μεγακαρυοκυττάρων που έχουν πολύ σημαντικό ρόλο στη διαδικασία πήξης του αίματος. Μέσω μιας πολύπλοκης διαδικασίας, συμμετέχουν στην αιμόσταση σχηματίζοντας τον αιμοστατικό αιμοπεταλιακό θρόμβο που φράζει το σημείο τραυματισμού ενός αγγείου, σταματώντας έτσι την αιμορραγία. Απελευθερώνουν πολλούς αυξητικούς παράγοντες, που παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στην επιδιόρθωση και την αναγέννηση συνδετικών ιστών, ενώ άλλοι σχετίζονται με την επούλωση. Τέλος έχουν διάρκεια ζωής 5-9 μέρες στην κυκλοφορία του αίματος.

1.1.3 Λευκά αιμοσφαίρια

Τα λευκά αιμοσφαίρια είναι κύτταρα του αίματος που έχουν το ρόλο της προστασίας – άμυνας του οργανισμού, έναντι λοιμώξεων από παθογόνους μικροοργανισμούς. Υπάρχουν πέντε κύριοι τύποι λευκών αιμοσφαιρίων που κατατάσσονται σύμφωνα με την ύπαρξη κοκκίων στο κυτταρόπλασμα σε 2 κατηγορίες, τα Μονοπύρρηνα που περιλαμβάνουν τα Μονοκύτταρα και τα Λεμφοκύτταρα και τα Κοκκιοκύτταρα που περιλαμβάνουν τα Ηωσινόφιλα, τα Βασεόφιλα, και τα Ουδετερόφιλα. Παράγονται στο μυελό των οστών και ζούνε στην κυκλοφορία 3-4 ημέρες.

1.1.4 Πλάσμα

Το πλάσμα του αίματος είναι υγρό που αποτελεί τη βάση του συνδετικού ιστού του κυκλοφορικού συστήματος. Αποτελεί το 55% του όγκου του αίματος. Είναι ένα υποκίτρινο υγρό και αποτελείται κατά 91,5% από νερό. Μεταφέρει μέσω της κυκλοφορίας, διάφορες θρεπτικές ουσίες στα κύτταρα και ταυτόχρονα προσλαμβάνει και μεταφέρει προϊόντα που πρέπει να αποβληθούν μέσω της απέκκρισης στα διάφορα όργανα (συκώτι, νεφρούς, πνεύμονες). Διαδραματίζει επίσης, σε συνεργασία με τα αιμοπετάλια, σημαντικό ρόλο στη διαδικασία της πήξης του αίματος.

1.2 Τα έμμορφα συστατικά του αίματος

Στα έμμορφα συστατικά του αίματος συμπεριλαμβάνονται τα παραπάνω με εξαίρεση το πλάσμα. Η λέμφος η οποία κυκλοφορεί μέσα στα αγγεία του λεμφικού συστήματος και είναι υγρό υποκίτρινο, που μοιάζει με το πλάσμα του αίματος. Αποτελείται από πλάσμα και από λεμφοκύτταρα. Το πλάσμα της λέμφου έχει περίπου την ίδια σύνθεση με το πλάσμα του αίματος.

1.3 Οι ομάδες αίματος

Η ομάδα αίματος (ή τύπος αίματος) είναι μια ταξινόμηση του αίματος βασισμένη στην παρουσία ή απουσία κληρονομούμενων αντιγονικών συστατικών στην επιφάνεια των ερυθροκυττάρων. Αυτά τα αντιγόνα, που ανήκουν στο σύστημα αντιγόνου ABO μπορεί να είναι πρωτεΐνες, υδατάνθρακες, γλυκοπρωτεΐνες, γλυκολιπίδια ανάλογα με το σύστημα ταξινόμησης. Κάποια από αυτά τα αντιγόνα μπορεί να παρουσιάζονται και στην επιφάνεια

άλλων τύπων κυττάρων σε πολλούς ιστούς. Αρκετά από αυτά τα αντιγόνα των ερυθροκυττάρων μπορεί να προέρχονται από ένα αλληλίο (ή πολύ στενά συνδεδεμένα γονίδια) και αποτελούν ένα σύστημα ομάδας αίματος. Από τη Διεθνή Εταιρεία Μετάγγισης Αίματος αναγνωρίζονται σήμερα συνολικά 30 περίπου συστήματα ομάδων αίματος.

1.3.1 Σύστημα ABO

Το σύστημα ABO καθορίζει αν η ομάδα αίματος είναι A, B, AB ή O. Η ομάδα αίματος προσδιορίζεται από την ύπαρξη των αντιγόνων στην επιφάνεια των ερυθρών αιμοσφαιρίων και των αντίστοιχων αντισωμάτων στο πλάσμα.

Το σύστημα ABO είναι το πλέον σημαντικό σύστημα ομάδων αίματος του συστήματος σε μετάγγιση αίματος ανθρώπου. Οι αντι-A και αντι-B ανοσοσφαιρίνες είναι συνήθως ανοσοσφαιρίνη M (IgM). Τα ABO IgM αντισώματα παράγονται κατά τα πρώτα χρόνια της ζωής από την ευαισθητοποίηση σε περιβαλλοντικές ουσίες, όπως τρόφιμα, βακτήρια και ιούς. Το αντιγόνο O στο σύστημα ABO ορθά ονομάζεται 0 (μηδέν). Η ανακάλυψή του έγινε από τον Αυστριακό ιατρό Καρλ Λαντστάινερ.

1.3.2 Το σύστημα Ρέζους

Το σύστημα RHESUS αποτελείται από πέντε υποκατηγορίες αντιγόνων, τα D, C, c, E, e. Το αντιγόνο D καθορίζει αν η ομάδα αίματος είναι Rh (+) ή Rh (-). Όταν κάποιος φέρει το αντιγόνο D στην επιφάνεια των ερυθρών αιμοσφαιρίων χαρακτηρίζεται σαν ρέζους θετικός (Rh+). Αντίθετα, απουσία του αντιγόνου D χαρακτηρίζεται σαν ρέζους αρνητικός (Rh-). Έτσι κάθε άνθρωπος ανήκει σε μία από τις οκτώ ομάδες αίματος.

1.3.3 Συμβατότητα και Ασυμβατότητα

Δεν είναι όλες οι ομάδες αίματος συμβατές μεταξύ τους. Αυτό οφείλεται στα διαφορετικά αντισώματα που έχει κάθε άνθρωπος ανάλογα με την ομάδα αίματος του. Έτσι ενώ όσοι έχουν ομάδα αίματος A έχουν στο πλάσμα τους φυσικά αντισώματα αντι-B, η ομάδα B έχει αντι-A αντισώματα και η ομάδα O έχει αντι-A και αντι-B αντισώματα.

Έτσι, για παράδειγμα, εάν ένας ασθενής με ομάδα αίματος Β πάρει αίμα ομάδας Α, τα αντι-Α αντισώματα που έχει στο πλάσμα του θα καταστρέψουν τα ερυθρά Α της μονάδας αίματος που πήρε, γεγονός που μπορεί να οδηγήσει σε σοβαρές αντιδράσεις μέχρι και θάνατο.

Όσοι έχουν ομάδα αίματος Ο θεωρούνται ως “πανδότες”. Τα ερυθρά αυτών των ανθρώπων δεν έχουν το Α και Β αντιγόνο και για αυτό το αίμα τους μπορεί να δοθεί σε οποιονδήποτε ασθενή ανεξαρτήτως της ομάδας του.

Αντίθετα όσοι έχουν ομάδα αίματος ΑΒ⁺ είναι γνωστοί ως “πανδέκτες”. Αυτοί δεν έχουν στο πλάσμα τους κανέναν από τα φυσικά αντισώματα ούτε το αντι-Α ούτε το αντι-Β και μπορούν να πάρουν αίμα από όλες τις ομάδες.

Μερικές φορές ένας άνθρωπος μπορεί να γεννηθεί με ένα σπάνιο αντιγόνο στα ερυθρά αιμοσφαίρια του, ή χωρίς ένα αντιγόνο που υπάρχει στους περισσότερους ανθρώπους. Αυτές οι διαφορές αναφέρονται σαν σπάνιες ομάδες αίματος και είναι δύσκολο να βρεθούν μονάδες αίματος που να ταιριάζουν (να είναι συμβατές) έτσι ώστε να μπορούν να μεταγγιστούν αυτοί οι άνθρωποι εφόσον το χρειαστούν.

1.3.4 Επιλογή παραγώγων για τη μετάγγιση κατά ΑΒΟ

Οι ασθενείς πρέπει να μεταγγίζονται με παράγωγα της ίδιας ΑΒΟ ομάδας. Όταν αυτό δεν είναι δυνατόν επιλέγονται συμβατά ως προς ΑΒΟ παράγωγα. Ερυθροκύτταρα ομάδας Ο πρέπει να μεταγγίζονται σε άτομα της ίδιας ομάδας. Μόνο σε εξαιρετικά επείγουσες περιπτώσεις, στις οποίες η ομάδα του ασθενούς δεν είναι γνωστή ή υπάρχει έλλειψη της ομάδας του ασθενούς, χορηγούνται ερυθρά σε άτομα άλλων ομάδων. Σε αυτές τις περιπτώσεις, μόλις γνωστοποιηθεί η ομάδα του ασθενούς, πρέπει η μετάγγιση να συνεχίζεται με ερυθρά της ομάδας του. Κατά τον ίδιο τρόπο το ΑΒ πλάσμα, παρόλο ότι ο οποιοσδήποτε ασθενής μπορεί να μεταγγισθεί με πλάσμα ΑΒ, πρέπει να χρησιμοποιείται με φειδώ, διότι η συχνότητα δοτών της ομάδας αυτής είναι <5%, συνεπώς η διαθεσιμότητα είναι περιορισμένη.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΜΟΡΦΕΣ ΕΡΥΘΡΩΝ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΩΝ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΝΤΑΙ ΚΑΤΑ ΤΗ ΜΕΤΑΓΓΙΣΗ

Η σύγχρονη τεχνολογική πρόοδος επιτρέπει το διαχωρισμό του ολικού αίματος σε παράγωγα, με τα οποία μπορεί κανείς να εξειδικεύσει τη μεταγγισιοθεραπεία, αντικαθιστώντας στον κάθε ασθενή το στοιχείο που λείπει. Από μια μονάδα ολικού αίματος παράγονται:

- α) συμπυκνωμένα ερυθρά (ΣΕ),
- β) συμπυκνωμένα αιμοπετάλια (ΣΑ) και
- γ) κατεψυγμένο πλάσμα (ΚΠ).

Με απόψυξη του (ΚΠ) παρασκευάζεται το κρυσταλλικό (ΚΙ) και το υπόλοιπο πλάσμα μπορεί να καταψυχθεί πάλι και να χρησιμοποιηθεί για κλασματοποίηση και παρασκευή διαφόρων πρωτεϊνών, όπως λευκωματίνης, ανοσοσφαιρινών, αλλά όχι παραγόντων πήξεως. Εάν δεν αφαιρεθεί το (ΚΙ), από το πλάσμα με κλασματοποίηση, παρασκευάζονται και οι παράγοντες πήξης.

Πολλοί θεωρούν ότι ο ασθενής που αιμορραγεί, πρέπει να αντιμετωπισθεί με χορήγηση ολικού αίματος, αφού αυτό χάνει. Το συντηρημένο (ΟΑ), όμως δεν είναι ισοδύναμο με το αίμα, που χάνει ο ασθενής, γιατί μετά τη συντήρηση για 24-48 ώρες στους 1-6 °C, τα αιμοπετάλια και τα πολυμορφοπύρρηνα λευκά, δεν είναι βιώσιμα και μαζί με ινίδια ινικής δημιουργούν μικροσυσσωματώματα.

Αντίθετα, τα λεμφοκύτταρα διατηρούνται βιώσιμα σε όλη τη διάρκεια της συντήρησης. Επίσης, ορισμένοι από τους παράγοντες πήξεως καταστρέφονται (V και VIII) και έτσι το συντηρημένο αίμα δε συμβάλλει αποτελεσματικά στην αιμόσταση, αλλά αντικαθιστά μόνο τα ερυθρά που χάνει ο ασθενής.

Η μεταγγισιοθεραπεία με τη χρήση παραγώγων έχει σημαντικά πλεονεκτήματα. Μειώνει τον κίνδυνο κυκλοφορικής επιβάρυνσης, τον κίνδυνο ευαισθητοποίησης σε πρωτεΐνες του πλάσματος και σε κυτταρικά αντιγόνα και διευκολύνει την αντιμετώπιση περισσοτέρων του ενός ασθενών από μια μονάδα (ΟΑ).

2.1 Ολικό αίμα

Μια μονάδα ολικού αίματος έχει όγκο =515 ml +50 ml με Hct 36-40%. Διατηρείται στους 1-6°C για διάστημα 35 έως 42 ημερών, ανάλογα με το αντιπηκτικό-συντηρητικό (CPDA-1, 35 ημερών., AS-1, 42 ημερών). Δεν προσφέρει παράγοντες πήξης και τα αιμοπετάλια που περιέχονται, δεν είναι λειτουργικά.

Χρησιμοποιείται πρακτικά μόνο σε νεογνά για αφαιμαξομετάγγιση και στην παιδιατρική καρδιοχειρουργική. Θα είχε ίσως ένδειξη και σε ασθενή με οξεία αιμορραγία (απώλεια >25% του όγκου αίματος), αλλά δεν είναι συνήθως διαθέσιμο σε ικανές ποσότητες, γιατί έχει καθιερωθεί ο διαχωρισμός σε παράγωγα. Έτσι πλέον, στις μέρες μας, είναι σπάνια η χρήση του και προτιμάται η χορήγηση των συστατικών του.

2.2 Συμπυκνωμένα ερυθρά (ΣΕ)

Μια μονάδα (ΣΕ), με προσθετικό διάλυμα, έχει όγκο 300-330 ml και Hct=60%. Μια μονάδα με CPDA-1, χωρίς προσθετικό διάλυμα, έχει όγκο 250-300 ml με Hct=70-75%. Τα (ΣΕ) στερούνται παραγόντων πήξεως και αιμοπεταλίων.

Η χορήγηση (ΣΕ) ενδείκνυται στην αντιμετώπιση οξείας και χρόνιας αναιμίας, εφόσον ο ασθενής δεν έχει επαρκή δυνατότητα και όταν ο ασθενής δεν έχει επαρκή δυνατότητα μεταφοράς O₂ στους ιστούς. Αν εκτός από αύξηση της ικανότητας μεταφοράς O₂, ο ασθενής χρειάζεται αύξηση του κυκλοφορούντος όγκου αίματος, χορηγούνται εκτός από (ΣΕ), κολλοειδή ή κρυσταλλοειδή διαλύματα. Στον ενήλικο ασθενή, μια μονάδα (ΣΕ) θα αυξήσει τον Hct κατά 3% και την Hb κατά 1g. Εν τούτοις, δεδομένου ότι:

A) ο όγκος της μονάδος ολικού αίματος έχει μια διακύμανση από 400-500 ml

B) ο Hct διαφέρει από αιμοδότη σε αιμοδότη (38-50%)

Γ) το βάρος του ασθενούς και συνεπώς ο όγκος αίματος ποικίλλει,
το αποτέλεσμα μιας μετάγγισης (ΣΕ) δεν είναι εύκολα προβλέψιμο.

2.3 Λευκαφαιρεμένα συμπυκνωμένα ερυθρά (Λ-ΣΕ)

Παράγονται όταν μέσω διαδικασίας φιλτραρίσματος απομακρύνεται η πλειοψηφία των λευκοκυττάρων.

Η λευκαφαίρεση μπορεί να γίνει με δύο τρόπους. Είτε μερικές ώρες μετά την αιμοληψία και πριν το διαχωρισμό του ολικού αίματος σε ερυθρά, πλάσμα και αιμοπετάλια (λευκαφαίρεση πριν την αποθήκευση, pre-storage leucodepletion), είτε πριν από τη μετάγγιση με ειδικά εργαστηριακά φίλτρα.

Αξίζει να σημειωθεί ότι τουλάχιστον 10 δυτικές χώρες έχουν ήδη εισαγάγει τη λευκαφαίρεση σε όλη την ποσότητα του αίματος που συλλέγεται (καθολική λευκαφαίρεση). Σύμφωνα με τις οδηγίες του Συμβουλίου της Ευρώπης κάθε μονάδα θα πρέπει να περιέχει 1×10^6 λευκοκύτταρα.

2.4 Ακτινοβολημένα συμπυκνωμένα ερυθρά (Α-ΣΕ)

Το προϊόν προκύπτει από την ακτινοβόληση των συμπυκνωμένων ή λευκαφαιρεμένων ερυθρών με 2.500 c Gy. Στόχος η πρόληψη του TA- GVHD που προκαλείται όταν ανοσοδραστικά λεμφοκύτταρα του δότη εγκαθίστανται και προκαλούν ανοσολογική αντίδραση έναντι του λήπτη.

Η μόνη ανεπιθύμητη ενέργεια των Α-ΣΕ είναι η υπερκαλιαιμία, λόγω αυξημένης απελευθέρωσης καλίου από τα ερυθρά. Το γεγονός αυτό δεν προκαλεί προβλήματα σε ενήλικες ασθενείς, ενώ αντίθετα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη στις ενδομήτριες μεταγίσεις και τις αφαιμαξομεταγίσεις νεογνών.

Τα ΣΕ μπορεί να ακτινοβοληθούν μέχρι 14 ημέρες από τη συλλογή τους, και να φυλαχθούν για άλλες 14 ημέρες μετά την ακτινοβόληση. Συνιστάται η ακτινοβόληση να πραγματοποιείται αμέσως πριν τη μετάγγιση για έμβρυα, νεογνά, και παιδιά, ενώ επιπλέον μερικά κέντρα πλένουν τα Α-ΣΕ που πρόκειται να μεταγγισθούν σε αυτούς τους ασθενείς.

2.5 Πλυμένα συμπυκνωμένα ερυθρά (Π-ΣΕ)

Το πλύσιμο των ερυθρών με φυσιολογικό ορό που γινόταν παλαιότερα και για μείωση των λευκών, σήμερα έχει ως κύριο στόχο την απομάκρυνση του πλάσματος. Υπάρχουν αυτοματοποιημένες συσκευές για τη διαδικασία αυτή, αλλά στην Ελλάδα το πλύσιμο γίνεται ως επί το πλείστον με το χέρι. Επειδή η μονάδα παραβιάζεται για να προστεθεί ο φυσιολογικός ορός και η στειρότητα μπορεί να μη διατηρηθεί, οι μονάδες αυτές πρέπει να μεταγγίζονται εντός 24 ωρών. Στην Ελλάδα είχαν κυκλοφορήσει συστήματα ασκών με ενσωματωμένο έναν ασκό, που περιέχει φυσιολογικό ορό και έτσι το σύστημα παρέμενε κλειστό και η στειρότητα διατηρούνταν, αλλά δεν είναι πια διαθέσιμα.

Το πλύσιμο, για απομάκρυνση του πλάσματος, ενδείκνυται στις περιπτώσεις ασθενών με αλλεργικές αντιδράσεις ενώ είναι απαραίτητο για τους ασθενείς με έλλειψη IgA ανοσοσφαιρίνης, στους οποίους ακόμη και ίχνη πλάσματος είναι δυνατόν να προκαλέσουν

αναφυλακτική αντίδραση, ενίοτε θανατηφόρα. Ακόμη, προκειμένου για αφαιμαξομετάγγιση νεογνών, όταν το διαθέσιμο αίμα είναι ηλικίας άνω των 5 ημερών, είναι σκόπιμο να αφαιρεθούν τα αυξημένα επίπεδα K^+ με πλύσιμο ερυθρών.

2.6 Κατεψυγμένα συμπυκνωμένα ερυθρά (Κ-ΣΕ)

Η κατάψυξη ερυθρών εισήχθη σχεδόν πριν από 50 χρόνια και με την ανακάλυψη της γλυκερόλης, ως κρυοπροστατευτικού παράγοντα, διαδόθηκε στη δεκαετία του 60' και 70'. Η κατάψυξη πρέπει να γίνει εντός 6 ωρών από την αιμοληψία και η συντήρηση μπορεί να γίνει, είτε σε μηχανικό καταψύκτη -85 C° με υψηλή συγκέντρωση γλυκερόλης (40%), είτε στο υγρό άζωτο -196 C° με χαμηλή συγκέντρωση (20%) γλυκερόλης. Στις δυο αυτές περιπτώσεις τα ερυθρά μπορούν να συντηρηθούν μέχρι 10 χρόνια. Κατά την απόψυξη απαιτείται απομάκρυνση της γλυκερόλης, που γίνεται με αυτοματοποιημένες φυγοκέντρους, ενώ για τα κατεψυγμένα με χαμηλή συγκέντρωση γλυκερόλης, μπορεί να γίνει και με απλή φυγοκέντρωση και πλύσιμο. Στη δεκαετία του 70' τα κατεψυγμένα ερυθρά, λόγω του ότι δεν περιείχαν λευκά και πλάσμα, ήταν το κατεξοχήν παράγωγο για πρόληψη ευαισθητοποίησης σε αντιγόνα λευκών (HLA), όπως σε νεφροπαθείς πριν τη μεταμόσχευση νεφρού, καθώς και σε άτομα που στερούνταν IgA ανοσοσφαιρίνης για πρόληψη αναφυλακτικών αντιδράσεων. Είχε ακόμη θεωρηθεί, ότι είχαν μειωμένη πιθανότητα μετάδοσης ηπατίτιδας και τέλος είχαν σκοπό να δημιουργήσουν με αυτά, αποθέματα αίματος για χρήση σε περιόδους έλλειψης. Οι τεχνολογικές όμως εξελίξεις που ακολούθησαν, μείωσαν σημαντικά το ενδιαφέρον για τα κατεψυγμένα ερυθρά, τα οποία σήμερα έχουν ελάχιστες εφαρμογές.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΦΥΣΙΚΑ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ ΣΤΑ ΕΡΥΘΡΑ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΑ

3.1 Η Οξειδωση των κυττάρων

Οξειδωση ονομάζεται η καταστροφή των κυττάρων από τις ελεύθερες ρίζες που βρίσκονται στον οργανισμό μας. Το οξειδωτικό στρες αντανακλά μια ανισορροπία μεταξύ της συστηματικής εκδήλωσης των δραστικών ειδών οξυγόνου και της ικανότητας ενός βιολογικού συστήματος να αποτοξινώνει εύκολα τα δραστικά ενδιάμεσα ή να αποκαθιστά τη

ζημία που προκύπτει. Οι διαταραχές στην κανονική κατάσταση οξειδοαναγωγής των κυττάρων μπορούν να προκαλέσουν τοξικές επιδράσεις μέσω της παραγωγής υπεροξειδίων και ελεύθερων ριζών που βλάπτουν όλα τα συστατικά του κυττάρου, συμπεριλαμβανομένων των πρωτεϊνών, των λιπιδίων και του DNA. Το οξειδωτικό στρες από τον οξειδωτικό μεταβολισμό προκαλεί βλάβη της βάσης, καθώς και θραύσεις των κλώνων στο DNA. Η βλάβη της βάσης είναι ως επί το πλείστον έμμεση και προκαλείται από τα δραστικά είδη οξυγόνου (ROS) που δημιουργούνται, όπως O₂(υπεροξειδική ρίζα), OH (ρίζα υδροξυλίου) και H₂O₂ (υπεροξείδιο του υδρογόνου). Περαιτέρω, ορισμένα δραστικά οξειδωτικά είδη δρουν ως κυτταρικοί αγγελιοφόροι σε σηματοδότηση οξειδοαναγωγής. Έτσι, το οξειδωτικό στρες μπορεί να προκαλέσει διαταραχές στους φυσιολογικούς μηχανισμούς κυτταρικής σηματοδότησης.

Χημικά, το οξειδωτικό στρες συνδέεται με την αυξημένη παραγωγή οξειδωτικών ειδών ή με σημαντική μείωση της αποτελεσματικότητας των αντιοξειδωτικών αμυντικών συστατικών, όπως η γλουταθειόνη. Οι επιδράσεις του οξειδωτικού στρες εξαρτώνται από το μέγεθος αυτών των αλλαγών, με ένα κύτταρο να είναι σε θέση να ξεπεράσει τις μικρές διαταραχές και να ανακτήσει την αρχική του κατάσταση. Ωστόσο, πιο σοβαρό οξειδωτικό στρες μπορεί να προκαλέσει κυτταρικό θάνατο, ακόμη και μέτρια οξείδωση μπορεί να προκαλέσει απόπτωση, ενώ πιο έντονες οξειδωτικές δράσεις μπορεί να προκαλέσουν νέκρωση.

Η παραγωγή δραστικών ειδών οξυγόνου αποτελεί μια ιδιαίτερα καταστρεπτική πλευρά του οξειδωτικού στρες. Τέτοια είδη περιλαμβάνουν ελεύθερες ρίζες και υπεροξείδια. Μερικά από τα λιγότερο δραστικά από αυτά τα είδη (όπως το υπεροξείδιο) μπορούν να μετατραπούν με αντιδράσεις οξειδοαντίδρασης με μέταλλα ή άλλες ενώσεις κυκλοοξειδωσης (συμπεριλαμβανομένων κινονών) σε πιο επιθετικά ριζικά είδη που μπορούν να προκαλέσουν εκτεταμένη κυτταρική βλάβη. Οι περισσότερες μακροπρόθεσμες επιπτώσεις προκαλούνται από βλάβες στο DNA. Οποιαδήποτε ζημία στα κύτταρα επιδιορθώνεται συνεχώς. Ωστόσο, κάτω από τα υψηλά επίπεδα οξειδωτικού στρες που προκαλούν νέκρωση, η βλάβη προκαλεί εξάντληση της ATP, αποτρέποντας τον ελεγχόμενο αποπτωτικό θάνατο και προκαλώντας την νέκρωση του κυττάρου.

3.2 Οι ελεύθερες ρίζες

Είναι τα μόρια που έχουν χάσει τα ζωτικής σημασίας κομμάτια τους, για την ακρίβεια ένα από τα ηλεκτρικά φορτισμένα ηλεκτρόνια που περιφέρονται γύρω τους σε ζεύγη. Προκειμένου να επανακτήσουν την ηλεκτρική τους ισορροπία ψάχνουν να βρουν και

να αποσπάσουν ηλεκτρόνια από τα γειτονικά μόρια. Με τον τρόπο αυτό δημιουργούν μοριακό χάος.

Αν αποσπάσει ηλεκτρόνιο από κάποιο λιπαρό οξύ, τότε η ελεύθερη ρίζα πυροδοτεί μία καταστροφική αλυσιδωτή αντίδραση που διασπά τις μεμβράνες, οδηγώντας στην αποσύνθεση των κυττάρων. Αν η ελεύθερη ρίζα αποσπάσει κάποια κομμάτια από πρωτεΐνη, καταστρέφει την ικανότητα της να λειτουργήσει φυσιολογικά. Αν προσβάλει το DNA του κυττάρου και ιδιαίτερα τα μικροσκοπικά εργοστάσια παραγωγής ενέργειας του κυττάρου, που ονομάζονται μιτοχόνδρια, προκαλεί μεταλλάξεις που το κάνουν να μη συμπεριφέρεται φυσιολογικά.

Οι βλάβες που προκαλούνται από τις ελεύθερες ρίζες συσσωρεύονται, αποδυναμώνουν, εξασθενούν και σκοτώνουν τα κύτταρα. Το σώμα μας αποτελείται από 60 τρισεκατομμύρια κύτταρα. Η υγεία μας, η ζωτικότητα, η ζωή μας εξαρτάται από τη ζωτική κατάσταση των κυττάρων που αποτελούν το σώμα.

3.3 Η έννοια των αντιοξειδωτικών

Αντιοξειδωτικό είναι ένα μόριο που είναι ικανό να εμποδίσει την οξείδωση άλλων μορίων αλλά και να βοηθήσει στην επούλωση των είδη οξειδωμένων. Οξείδωση είναι μια χημική αντίδραση που μεταφέρει ηλεκτρόνια από μια ουσία σε ένα μέσο οξείδωσης. Οι αντιδράσεις οξείδωσης μπορούν να παράγουν ελεύθερες ρίζες οι οποίες ξεκινούν αλυσιδωτές αντιδράσεις στα κύτταρα και έτσι προκαλείται προβληματική γονιδιακή αντιγραφή, πρωτεϊνική έκφραση, δραστηριότητα ενζύμων, αυξημένη οξείδωση στα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, προβληματικός μεταβολισμός υδατανθράκων οδηγώντας τελικά τα κύτταρα σε βλάβες ή θάνατο. Τα αντιοξειδωτικά τερματίζουν αυτές τις αλυσιδωτές αντιδράσεις απεργοποιώντας τις ελεύθερες ρίζες. Ελεύθερες ρίζες είναι άτομα ή μόρια που έχουν ένα ή περισσότερα ελεύθερα ηλεκτρόνια (αντί τα ηλεκτρόνια να είναι σε ζεύγη).

Η ανισορροπία αυτή οδηγεί στην υψηλή δραστηριότητα των ελεύθερων ριζών. Όταν αυτές σχηματίζονται (λόγω της φυσιολογικής χρήσης του οξυγόνου από τα κύτταρα του οργανισμού), επιτίθενται σε μεμβράνες και ιστούς. Οι ελεύθερες ρίζες υπάρχουν και στο περιβάλλον, τα τρόφιμα, τον αέρα, τον ήλιο, το κάπνισμα, τα φυτοφάρμακα, τα συντηρητικά, τα καλλυντικά, τη βενζίνη. Παρόλο που η οξείδωση είναι σημαντική για τη ζωή μπορεί παράλληλα να βλάπτει. Προβλήματα που μπορεί να προκύψουν από τις ελεύθερες ρίζες είναι στην καρδιά, στα οστά, στο συνδετικό ιστό, στους μύες. Προκαλούνται επίσης απ αυτές διαβήτης, αρτηριοσκλήρωση, καρκίνος, νευρολογικές διαταραχές, μειωμένο αμυντικό

σύστημα, γήρας και άλλα. Αντιοξειδωτικά μπορεί να είναι φυτοχημικά, βιταμίνες, μεταβολίτες, ένζυμα, μέταλλα και άλλα θρεπτικά συστατικά.

Ο οργανισμός, λόγω της φυσιολογικής χρήσης του οξυγόνου από τα κύτταρα, παράγει ελεύθερες ρίζες. Παράλληλα όμως, ως άμυνα αυτού, παράγει και αντιοξειδωτικά τα οποία είναι είτε λιποδυσολυτικά είτε υδατοδυσολυτικά και έτσι βρίσκονται σε αντίστοιχες περιοχές των κυττάρων. Ο κυτταρικός αντιοξειδωτικός μηχανισμός άμυνας κατατάσσεται σε πρωτογενή και σε δευτερογενή. Στον πρωτογενή τα αντιοξειδωτικά επιδρούν άμεσα στις επιβλαβείς ελεύθερες ρίζες ενώ στον δευτερογενή καταναλώνονται οι μηχανισμοί επισκευής πρωτεϊνών, λιπιδίων και DNA, επισκευάζονται δηλαδή τα ήδη κατεστραμμένα (λιπίδια και πρωτεΐνες). Παραδείγματα αντιοξειδωτικών είναι συστατικά όπως οι βιταμίνες C, E, τα καροτενοειδή, θειόλες, ουμπικινόλες, φλαβονοειδή, πολυφαινόλες και άλλα καθώς και τα ένζυμα του οργανισμού όπως η καταλάση, η υπεροξειδική δισμουτάση και η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης.

3.4 Ανθρώπινα ερυθρά αιμοσφαίρια ως φυσικό φλαβονοειδές

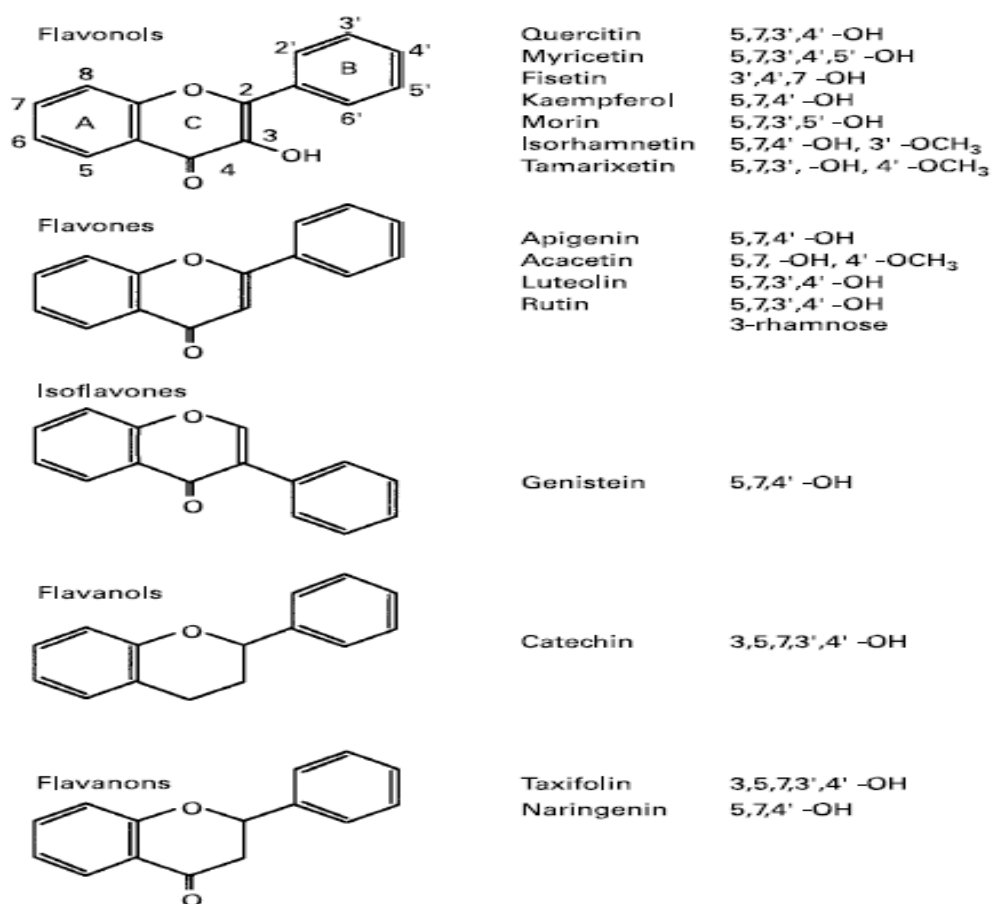
Η κερσετίνη απορροφάται ταχέως και έντονα από ανθρώπινα ερυθρά αιμοσφαίρια (RBC) μέσω ενός παθητικού μηχανισμού διάχυσης, ο οποίος οδηγείται από σύνδεση φλαβονοειδών με την αιμοσφαιρίνη και οδηγεί σε σχεδόν ποσοτική συσσώρευση του φλαβονοειδούς. Τα απαλλαγμένα από αιμοσφαιρίνη ερυθρά αιμοσφαίρια (ghosts) συσσωρεύουν την κερσετίνη αποκλειστικά στο κλάσμα της μεμβράνης (Εικόνα 1).

Η κυτταρο-συγγενής κερσετίνη είναι βιολογικά ενεργή και θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ποσοτικά για να υποστηρίξει τη μείωση των εξωκυτταρικών οξειδωτικών που προκαλούνται από μια οξειδοαναγωγή της μεμβράνης. Πρόσθετες πειραματικές αποδείξεις αποκάλυψαν ότι η πρόσληψη κβερκετίνης μειώθηκε παρουσία αλβουμίνης και ότι, κάτω από αυτές τις συνθήκες, η ποσότητα της κυτταρο-συγγενής κερσετίνης ενισχύεται αυξάνοντας τον αριθμό RBC. (Sudip Chaudhuri et al. (2007))

Η απελευθέρωση κερσετίνης από προ-φορτωμένο με φλαβονοειδή RBC παρατηρήθηκε μόνο παρουσία λευκωματίνης (ή σε ανθρώπινο πλάσμα) και αυτή η απόκριση αναστέλλεται σταδιακά κατά την επώαση σε διαλύματα που περιέχουν λευκωματίνη προηγουμένως εκτεθειμένη σε αυξανόμενες συγκεντρώσεις κβερκετίνης και καθαρισμένη από το μη συνδεδεμένο κλάσμα του φλαβονοειδούς.

Επιπλέον, η έκθεση σε προ-κεκορεσμένη λευκωματίνη προερχόμενη από κερσετίνη προήγαγε τη συσσώρευση του φλαβονοειδούς σε φρέσκα RBC και αυτή η απόκριση ήταν άμεση συνάρτηση της έκτασης του κορεσμού της αλβουμίνης. Αυτά τα αποτελέσματα, που υποδηλώνουν ροή κερσετίνης από αλβουμίνη προς αιμοσφαιρίνη και αντιστρόφως, είναι συνεπή με την πιθανότητα ότι τα ανθρώπινα RBC παίζουν κεντρικό ρόλο στην κατανομή και τη βιοδιαθεσιμότητα των κυκλοφορούντων φλαβονοειδών (Εικόνα 1).

Τα ανθρώπινα RBC συσσωρεύουν μεγάλες ποσότητες κερσετίνης και, σύμφωνα με αυτά τα ευρήματα, τα αποτελέσματα που αναφέρθηκαν στην παρούσα μελέτη αποδεικνύουν ότι έως και 85% της αρχικής ποσότητας φλαβονοειδούς (50 mM) απορροφάται από τα κύτταρα μετά από μόνο 5 λεπτά της επώασης. (Fiorani M. et al., (2003)



Εικόνα 1: ισοφλαβονοειδή στα ερυθρά αιμοσφαίρια (Sudip Chaudhuri et al., 2007)

3.5 Προστατευτική δράση των φλαβονοειδών κατά της αιμόλυσης ερυθρών αιμοσφαιρίων από ελεύθερες ρίζες

Στην παρούσα μελέτη μελετήθηκε η αντιοξειδωτική επίδραση των καθαρών φλαβονοειδών παρουσία AAPH, το οποίο είναι η αζωένωση 2,2'-azobis (2-amidino-propane) dihydrochloride. Ουσιαστικά είναι μια χημική ένωση που χρησιμοποιείται για τη μελέτη χημείας της οξειδωσης και χρησιμεύει σαν "γεννήτρια" παραγωγής ελεύθερων ριζών. Εκκινεί αντιδράσεις οξειδωσης μέσω μηχανισμών πυρηνόφιλων και ελεύθερων ριζών. Η ρουτίνη είχε ως αποτέλεσμα 42,5% αναστολή της αιμόλυσης σε συγκέντρωση 10 $\mu\text{g/mL}$, επιδεικνύοντας το υψηλότερο ποσοστό παρεμπόδισης της αιμόλυσης μεταξύ των δοκιμασμένων φλαβονοειδών. Η αιμόλυση μειώθηκε κατά δόσοεξαρτώμενο τρόπο από την παρουσία φλαβονοειδών. Η ρουτίνη προσελκύει ρίζες υπεροξειδίου. Μελέτες των αντιδράσεων ρουτίνης και ερυθρών αιμοσφαιρίων έδειξαν ότι η ρουτίνη δεν μπορεί να αποτρέψει τη βλάβη της μεμβράνης και την αιμόλυση από πριμακίνη, αλλά μπορεί να εμποδίσει σημαντικά την οξειδωση της αιμοσφαιρίνης και τη μετατροπή της σε μεθαιμοσφαιρίνη. (Asgary S. et al., 2005)

Ο ακριβής μηχανισμός δράσης της ρουτίνης δεν έχει ακόμη καθοριστεί. Είναι ακόμη άγνωστο αν η ρουτίνη μπορεί να αντιδράσει με ενδοκυτταρικά οξειδωτικά και να εμποδίσει την οξειδωση της αιμοσφαιρίνης. Η ρουτίνη παρουσίασε επίσης μια σειρά άλλων φαρμακολογικών χαρακτηριστικών, όπως η μείωση της διαπερατότητας και της ευθραυστότητας των τριχοειδών αγγείων, των αντιπλεγμονωδών και αντικαρκινικών ιδιοτήτων και η προστασία από τις ακτίνες X σε ποντίκια, τα οποία συμφωνούν με τις αντιοξειδωτικές ιδιότητες της. Μελέτες των επιπτώσεων των φλαβονοειδών έδειξαν ότι η κουρεστίνη, η ρουτίνη και η καμπεφερόλη αναστέλλουν τη γλυκοζυλίωση κατά 52%, 37% και 15% αντίστοιχα. Αυτό είναι ένα σημαντικό αποτέλεσμα, ενόψει των αποτελεσμάτων των μελετών που δείχνουν ότι τα φλαβονοειδή αποθηκεύονται στα ερυθρά αιμοσφαίρια.

Στην παρούσα μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης των καθαρών φλαβονοειδών, η μορίνη αναστέλλει την αιμόλυση κατά 40,5% στην υψηλότερη δοκιμασμένη συγκέντρωση (10 $\mu\text{g/mL}$) και ο ρυθμός αναστολής μειώθηκε σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις. Σε άλλη μελέτη, δείχθηκε ότι η μορίνη μπορεί να αναστείλει την αιμόλυση κατά 50% σε συγκέντρωση 100 $\mu\text{g/mL}$, αποτέλεσμα που επιβεβαιώνεται και στην παρούσα μελέτη.

Η καθαρή κερσετίνη ανέστειλε την αιμόλυση κατά 35,5% στην υψηλότερη συγκέντρωση (10 $\mu\text{g/mL}$), κατατάσσοντας την τρίτη μεταξύ των φλαβονοειδών που ελέγχθηκαν για αναστολή της αιμόλυσης. Όπως φαίνεται στον Πίνακα 1, η κερσετίνη μείωσε την αιμόλυση

με δοσοεξαρτώμενο τρόπο. Επιπροσθέτως, έχει δειχθεί ότι απουσία AAPH, τα σχετικά υδρόφοβα φλαβονοειδή, κερκετίνη και μορίνη προκαλούν την οξειδωση της οξυαιμοσφαιρίνης σε μεθαιμοσφαιρίνη. Ωστόσο, αυτή η οξειδωση δεν προκάλεσε αιμόλυση. Αρκετές μελέτες έχουν αναφερθεί στην κουρσετίνη ως αντιοξειδωτικό συστατικό ικανό να εμποδίσει την οξειδωση λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας και τη συσσωμάτωση αιμοπεταλίων, κρίσιμους παράγοντες που εμποδίζουν τον σχηματισμό αθηροσκληρωτικών πλακών οι οποίες προδιαθέτουν τα άτομα σε έμφραγμα του μυοκαρδίου.

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης επαναβεβαίωσαν τις αντιοξειδωτικές ιδιότητες της κερσετίνης. Η καφεφερόλη ανέστειλε την υπεροξειδωση των λιπιδίων και την αιμόλυση κατά 26,9% στη μεγαλύτερη συγκέντρωση (10 $\mu\text{g/mL}$). Οι μειωμένες συγκεντρώσεις καμπερολίνης οδήγησαν σε χαμηλότερα ποσοστά παρεμπόδισης της αιμόλυσης.

Άλλες μελέτες έχουν δείξει ότι η από του στόματος κατανάλωση αντιοξειδωτικών βιοφλαβονοειδών στα ζώα είναι αποτελεσματική στην πρόληψη οξειδωτικών πιέσεων που βλάπτουν τα ερυθρά αιμοσφαίρια. Παλαιότερες μελέτες έχουν δείξει ότι η επαγόμενη από AAPH αιμόλυση στα ερυθρά αιμοσφαίρια αναστέλλεται αποτελεσματικά από τα φυσικά αντιοξειδωτικά.

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης έδειξαν μια άμεση σχέση μεταξύ της συγκέντρωσης του δοκιμασμένου φλαβονοειδούς και του αντιοξειδωτικού του αποτελέσματος. Δεδομένου ότι αυτές οι επιδράσεις παρατηρήθηκαν επίσης σε αποδεκτά επίπεδα με πολύ χαμηλότερες συγκεντρώσεις φλαβονοειδών, μπορεί να είναι δυνατή η χρήση τους στο κλινικό περιβάλλον με ελάχιστες παρενέργειες (αφού έχουν πραγματοποιηθεί *in vivo* και έχουν πραγματοποιηθεί τοξικολογικές δοκιμές). Οι σουλφυδρλικές ομάδες πρωτεΐνης (-SH) διαδραματίζουν ζωτικό ρόλο στη διατήρηση της σταθερότητας της κυτταρικής μεμβράνης. Υπό οξειδωτικό στρες, οι ομάδες -SH προστατεύουν τις κυτταρικές δομές έναντι των ελεύθερων ριζών υποβάλλοντας σε οξειδωση και σχηματίζοντας δισουλφιδικούς δεσμούς. Εάν οι αντιοξειδωτικές ενώσεις αποδειχθούν αποτελεσματικές στην προστασία ομάδων -SH από την οξειδωση, είναι πιθανό να αυξήσουν την κυτταρική αντίσταση στο οξειδωτικό στρες. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης έδειξαν ότι η μορίνη, καμπεφερόλη και κερσετίνη αύξησαν τις ομάδες -SH (Πίνακας 2).

Υπό το πρίσμα των αποτελεσμάτων των τρεχουσών και παρόμοιων μελετών επί των φλαβονοειδών, οι ουσίες αυτές μπορούν να παρέχουν ευεργετικά αποτελέσματα στην πρόληψη οξειδωτικής βλάβης σε μεμβράνες. Μπορούν επίσης να είναι χρήσιμα στην πρόληψη ή τη θεραπεία άλλων καταστάσεων ασθένειας στις οποίες παίζει ρόλο η

υπεροξειδωση λιπιδίων. Απαιτούνται περαιτέρω μελέτες για την εξεύρεση νέων αντιοξειδωτικών ουσιών και για την εκτίμηση των αποτελεσμάτων και των μηχανισμών δράσης τους.

Πίνακας 1: Επίδραση φλαβονοειδών σε αιμόλυση ερυθρών αιμοσφαιρίων. (S Asgary et al., 2005)

<i>Flavonoid</i>	<i>Συγκέντρωση (μg/mL)</i>	<i>Αναστολείς Αιμόλυσης (%)</i>
<i>Καμπεφαρόλη</i>	10	26,9
	5	11,2
	0,5	0,6
<i>Κουρσετίνη</i>	10	35,5
	5	16,7
	0,5	7,1
<i>Μουρίνη</i>	10	40,5
	5	28,4
	0,5	21,1
<i>Ρουτίνη</i>	10	42,5
	5	34,6
	0,5	23,4

Πίνακας 2: Επίδραση των φλαβονοειδών στην ικανότητα -SH των μεμβρανών των ερυθρών αιμοσφαιρίων. (S Asgary et al., 2005)

	ΠΡΩΤΕΙΝΗ(MMOL/MG)	-SH ΧΩΡΗΤΙΚΟΤΗΤΑ (%)
CONTROL (ΧΩΡΙΣ ΤΕΤΡΑΘΙΟΝΗ)	507±22	100
ΤΕΤΡΑΘΙΟΝΗ	296±15	58,4
ΤΕΤΡΑΘΙΟΝΗ ΚΑΙ ΜΟΥΡΙΝΗ	430±14	84,8
ΤΕΤΡΑΘΙΟΝΗ ΚΑΙ ΚΑΜΠΕΦΑΡΟΛΗ	235±	66,1
ΚΑΙ ΚΟΥΡΣΕΤΙΝΗ	295±12	58,2
ΚΑΙ ΡΟΥΤΙΝΗ	414±9	81,7

3.6 Ενεργοποίηση του οξειδοαναγωγικού συστήματος της μεμβράνης ερυθροκυττάρων με ρεσβερατρόλη

Η ρεσβερατρόλη είναι μια φυσική πολυφαινολική ένωση φυτοαλεξίνης που βρίσκεται σε μεγάλο βαθμό στο δέρμα των σταφυλιών και είναι γνωστή για την παρουσία της στο κόκκινο κρασί. Η δομή που βασίζεται σε στιλβένια έχει δύο φαινολικούς δακτυλίους συνδεδεμένους με διπλό δεσμό στυρολίου, ο οποίος επιτρέπει στους *cis* και *trans* προσανατολισμούς να παράγουν 3,4', 5-τριυδροξυστυλβένιο. Ισχυρές ενδείξεις υποδηλώνουν ότι η ρεσβερατρόλη μπορεί να διαδραματίσει σημαντικό ρόλο στην πρόληψη ανθρώπινων ασθενειών όπως ο καρκίνος, οι καρδιαγγειακές παθήσεις τον διαβήτη και τη γήρανση. Πολλές από τις βιολογικές δράσεις αυτής της πολυφαινόλης έχουν αποδοθεί στις αντιοξειδωτικές της ιδιότητες. (Syed Ibrahim Rizvi et al., 2010)

Μελέτες δείχνουν ότι τα ανθρώπινα ερυθροκύτταρα περιέχουν ένα σύστημα οξειδοαναγωγής μεμβράνης πλάσματος (PMRS), το οποίο μεταφέρει ηλεκτρόνια από ενδοκυτταρικούς δότες (NADH και / ή ασκορβικό (ASC)) σε εξωκυτταρικούς δέκτες, αν και ο φυσιολογικός αποδέκτης είναι ακόμη ασαφής.

Υπάρχουν στοιχεία ότι το ενδοκυτταρικό ASC δίνει ηλεκτρόνια σε εξωκυτταρικές ελεύθερες ρίζες ασκορβικού (AFRs) μέσω του PMRS, το οποίο περιλαμβάνει μια αναγωγή AFR. Ένα τέτοιο σύστημα οξειδοαναγωγής επιτρέπει στα κύτταρα να αντισταθμίζουν αποτελεσματικά τις οξειδωτικές διεργασίες και έτσι εμποδίζουν την εξάντληση της εξωκυτταρικής ASC. Πρόσφατα, δείχθηκε ότι το PMRS, μαζί με την αναγωγή AFR, είναι ένας αντισταθμιστικός / προστατευτικός μηχανισμός που λειτουργεί για να διατηρεί το επίπεδο ASC στο πλάσμα και έτσι να ελαχιστοποιεί το οξειδωτικό στρες κατά τη διάρκεια της γήρανσης.

Προτάθηκε ότι η ενεργοποίηση της οξειδοορεδοκτάσης της μεμβράνης του ερυθροκυττάρου (PMOR) από μερικές πολυφαινόλες αποτελεί ένα μηχανισμό όπου οι ενώσεις αυτές προκαλούν την αντιοξειδωτική τους δράση και προάγουν ευεργετικά αποτελέσματα, αλλά η μελέτη ήταν ελλιπής επειδή βασίστηκε μόνο στην ενεργοποίηση του PMOR και είναι πλέον σαφές ότι το PMOR αποτελεί μέρος ενός συστήματος φορέων ηλεκτρονίων που συλλογικά αναφέρεται ως PMRS. Στην PMRS, η αναγωγή AFR παίζει σημαντικό ρόλο στη μεταφορά ηλεκτρονίων σε εξωκυτταρικά AFRs, το πρώτο προϊόν οξείδωσης του ASC, και μειώνει τα AFRs πίσω στην ASC. Επομένως, η σωστή λειτουργία του PMRS διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ανακύκλωση του ασκορβικού. Στην παρούσα

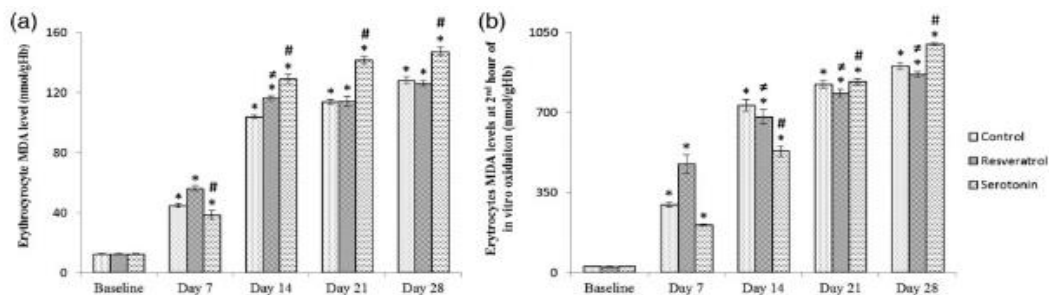
μελέτη παρουσιάζονται στοιχεία που αποδεικνύουν ότι τα ερυθροκύτταρα λαμβάνουν ρεσβερατρόλη και κβερκετίνη και όταν βρίσκονται μέσα στο κύτταρο, αυτές οι πολυφαινόλες μπορούν να δώσουν ηλεκτρόνια σε εξωκυτταρικούς δέκτες ηλεκτρονίων μέσω της PMRS και AFR αναγωγάσης των ερυθροκυττάρων. Χρησιμοποιήθηκε η κουρσετίνη, μια καλά μελετημένη πολυφαινόλη ως θετικό έλεγχο για τη σύγκριση της επίδρασης της ρεσβερατρόλης στο PMRS.

3.7 Χαρακτηριστικά της ρεσβερατρόλης και της σεροτονίνης στην αντιοξειδωτική ικανότητα και ευαισθησία των ερυθρών αιμοσφαιρίων στην οξείδωση στο αποθηκευμένο ανθρώπινο αίμα κατά τρόπο που εξαρτάται από το χρόνο

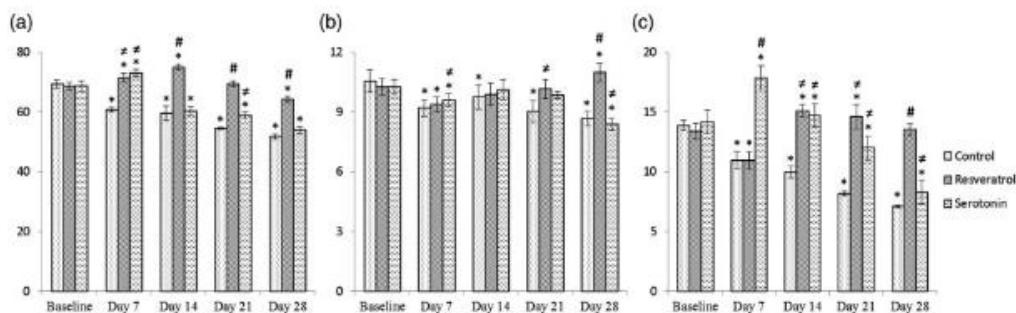
Σύμφωνα με τελευταίες έρευνες μελετήθηκε η επίδραση της ρεσβερατρόλης και της σεροτονίνης στην κατάσταση της αντιοξειδωτικής άμυνας και στις οξειδωτικές μεταβολές των ερυθροκυττάρων που αλλάζουν τις φυσικοχημικές λειτουργίες των τους (Εικόνα 2). Επίσης μελετήθηκαν τα προστατευτικά αποτελέσματα τους στη δραστικότητα του ενζύμου CA, το οποίο έχει σημαντικό ρόλο όπως στην ισορροπία του pH και των ιόντων στο σώμα. Οι αλλοιώσεις που συμβαίνουν κατά την αποθήκευση, επιφέρουν μη αναστρέψιμες βλάβες αφού μειώνουν την επιβίωση των ερυθρών μετά τη μετάγγιση. Οι πιο σημαντικές αλλαγές που τα επηρεάζουν κατά την αποθήκευση τους είναι η αύξηση των επιπέδων υπεροξειδωσίας των λιπιδίων και η μείωση των ενζύμων που παίζουν ρόλο στο αντιοξειδωτικό μηχανισμό, όπως το SOD, CAT και GSH-Px. Επιπρόσθετα υπάρχουν αλλαγές στη δομή των ερυθρών όπως η αύξηση ή η παραμόρφωση της κυτταρικής τους μεμβράνης, αλλαγή στις συγκεντρώσεις της αιμοσφαιρίνης και ίσως στην οσμωτική τους ευθραστότητα. (Syed Ibrahim Rizvi et al., 2010).

Τα περισσότερα απ' αυτά τα μη αναστρέψιμα γεγονότα, συμβαίνουν ως αποτέλεσμα του μακροχρόνιου οξειδωτικού στρες, κάτω από λανθασμένες συνθήκες αποθήκευσης. Ένας από τους σημαντικότερους λόγους εμφάνισης και αύξησης του οξειδωτικού στρες είναι η μειωμένη αντιοξειδωτική ικανότητα των πακεταρισμένων ερυθροκυττάρων, που καταλήγει σε εξασθένιση της κυτταρικής μεμβράνης και κατ' επέκταση στον κυτταρικό θάνατο αφού προσβάλλονται στα λιπίδια και της πρωτείνες της μεμβράνης. Τα κύτταρα διαθέτουν ενζυμικούς και μη ενζυμικούς μηχανισμούς κατά του οξειδωτικού στρες. Ωστόσο οι ερευνητές κάνουν λόγο πως οι αλλαγές αυτές μπορούν να γίνουν και κάτω από ευνοϊκές συνθήκες.

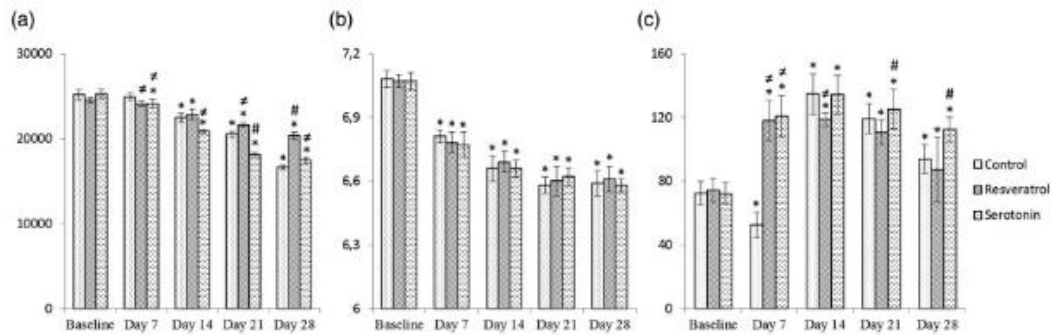
αυξάνεται με την πάροδο του χρόνου κατά την αποθήκευση των ερυθρών. Η κατάσταση αυτή μπορεί να οφείλεται στο GSH-Px που καθαρίζει το υπεροξείδιο του υδρογόνου σε χαμηλά επίπεδα συγκεντρώσεων, κάτι που σύμφωνα με τη μελέτη δείχνει ότι η δραστηριότητα του μειώνεται συναρτήσει του χρόνου αποθήκευσης. Όμως η προσθήκη ρεσβερατρόλης και σεροτονίνης έδειξε πως αύξησε τη δραστηριότητα της GSH-Px κατά τη διάρκεια των 2 πρώτων εβδομάδων. Τα CAT και NADPH προστατεύουν τα ερυθρά από οξεία και υψηλή εξωγενή συγκέντρωση υπεροξειδίου του υδρογόνου, ενώ η GSH προστατεύει στην χαμηλή ενδογενή συγκέντρωση του.



Εικόνα 3: Επίδραση της ρεσβερατρόλης και της σεροτονίνης στα επίπεδα μαλονιοδιαλδεΐδης στα ερυθρά αιμοσφαίρια. (Huyut et al., 2017)



Εικόνα 4: Προστατευτικές επιδράσεις ρεσβερατρόλης και σεροτονίνης στην δραστηριότητα υπεροξειδάσης γλουταθεινής και καταλάσης και επίπεδα γλουταθεινής σε ερυθρά αιμοσφαίρια. (Huyut et al., 2017)



Εικόνα 5: Προστατευτικές επιδράσεις της ρεσβερατρόλης και της σεροτονίνης στη συνολική δραστικότητα καρβονικής ανυδράσης στα ερυθρά αιμοσφαίρια, καθώς και στο pH και το pO_2 σε πλήρες αίμα. (Huyut et al., 2017)

Καταληκτικά, η μελέτη έδειξε ότι η αντιοξειδωτική ικανότητα των ερυθρών αιμοσφαιρίων είναι εξασθενημένη εξαιτίας της αυξανόμενης ευαισθησίας στην οξείδωση και στη μείωση των επιπέδων της GSH και GSH-Px, καθώς και της δραστικότητας του CAT και της συγκέντρωσης GSH, με χρονοεξαρτώμενο τρόπο (Εικόνα 5). Επιπλέον η μείωση του GSH-Px και της δραστικότητας του CAT και GSH στα ερυθρά, σχετίζονται αρνητικά με την ενεργότητα του ενζύμου CA, το pH και τη συγκέντρωση του διοξειδίου του άνθρακα, μειώνοντας έτσι την ευαισθησία της οξείδωσης των ερυθρών. Για το λόγο αυτό προστέθηκαν μικρές ποσότητες ρεσβερατρόλης στα πακεταρισμένα ερυθρά ώστε να συμβάλλει θετικά στην διάρκεια ζωής τους. Ωστόσο η δόση της ρεσβερατρόλης που θα προστεθεί, πρέπει να προσαρμόζεται αναλόγως, καθώς απαιτούνται λεπτομερέστερες μελέτες για τον προσδιορισμό του μηχανισμού με τον οποίο η σεροτονίνη αυξάνει την ευαισθησία κατά την οξείδωση.

3.8 Αντιοξειδωτικά του αίματος και υπεροξείδωση λιπιδίων ερυθροκυττάρων

Πρόκειται για τη σχέση μεταξύ παρατεταμένης άσκησης, οξειδωτικού στρες και προστατευτικής ικανότητας του αντιοξειδωτικού αμυντικού συστήματος.

Σε έρευνα που έχει γίνει δείγματα φλεβικού αίματος συλλέχθηκαν από επτά εκπαιδευμένους αθλητές πριν και μέχρι 120 ώρες μετά την ολοκλήρωση ενός μισού μαραθωνίου για μετρήσεις αντιοξειδωτικών του αίματος, αντιοξειδωτικών ενζύμων και δείκτες υπεροξείδωσης λιπιδίων. (Huyut et.al., 2018)

Η δραστικότητα της κρεατίνης κινάσης (CK), που αποτελεί δείκτη μυϊκής βλάβης, αυξήθηκε ($P < 0,05$) σε μέγιστο 24 ώρες μετά τον αγώνα, αλλά αυτό δεν συνοδεύτηκε από αλλαγές στα συζευγμένα διένια και στις δραστικές ουσίες του θειοβαρβιτουρικού οξέος (TBARS) της υπεροξειδωσής των λιπιδίων.

Μία αύξηση ($P < 0,05$) στη συγκέντρωση χοληστερόλης στο πλάσμα (4%) αμέσως μετά τον αγώνα ήταν παρόμοια με την αλλαγή στον όγκο πλάσματος (6%). Ωστόσο, οι παροδικές αυξήσεις ($P < 0,05$) αμέσως μετά από τις συγκεντρώσεις στο πλάσμα του ουρικού οξέος (24%), της βιταμίνης A (18%) και της βιταμίνης C (34%) αντισταθμίστηκαν μόνο εν μέρει από τις μετατοπίσεις υγρών.

Η άμεση αύξηση της αύξησης της α - και γ -τοκοφερόλης δεν ήταν στατιστικά σημαντική. Οι δραστικότητες ενζύμου των αντιοξειδωτικών ερυθροκυττάρων δεν επηρεάστηκαν από την άσκηση, αλλά οι συγκεντρώσεις γ - και α -τοκοφερόλης προοδευτικά αυξήθηκαν ($P < 0.001$ και $P < 0.05$, αντιστοίχως) έως 48 ώρες μετά την αγωγή.

Παραδόξως, 24 ώρες μετά την επιδείνωση της ευαισθησίας του ερυθροκυττάρου στην υπεροξειδωση *in vitro* είχε συγκέντρωση ($P < 0,01$). Αυτή η αυξημένη ευαισθησία στην υπεροξειδωση διατηρήθηκε ακόμη και στις 120 ώρες και δεν αντιστοιχούσε σε αλλαγές στην ηλικία του πληθυσμού ερυθροκυττάρων.

Μία μείωση ($P < 0.001$) της ολικής γλουταθειόνης ερυθροκυττάρων αμέσως μετά τον ημιμαραθώνα οφειλόταν κυρίως στη μείωση της ανηγμένης μορφής της (GSH). Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι όταν εκπαιδευμένοι αθλητές διατρέχουν μια συγκριτικά μικρή απόσταση επαρκή για να προκαλέσουν κάποιο βαθμό μυϊκής βλάβης αλλά δεν επαρκούν για να προκαλέσουν αύξηση των δεικτών πλάσματος της υπεροξειδωσής λιπιδίων, εμφανίζονται σημαντικές αλλοιώσεις στην κατάσταση των αντιοξειδωτικών συστατικών των ερυθροκυττάρων.

Αμέσως μετά την καταμέτρηση του ερυθροκυττάρου, ο αιματοκρίτης και η ολική αιμοσφαιρίνη είχαν αυξηθεί σημαντικά ($P < 0,05$) σε σύγκριση με την τιμή προαγωγής I-h. Μέσα σε 24 ώρες, αυτοί οι δείκτες ήταν κάτω από τις τιμές και παρέμειναν έτσι για το υπόλοιπο του πειράματος. Αυτές οι μεταβολές δεν οφείλονται σε σημαντικές μεταβολές στο μέγεθος ή την περιεκτικότητα σε αιμοσφαιρίνη των ερυθροκυττάρων, αλλά αντικατοπτρίστηκαν από παρόμοιες και σημαντικές μεταβολές στον όγκο του πλάσματος. (Gamy G. et al., 1990)

3.9 Το ασκορβικό οξύ και η αντιοξειδωτική του δράση

Η χημική δομή του L-ασκορβικού οξέος (βιταμίνη C) έγινε γνωστή από τις εργασίες του Szent Georgi το 1928 και του King και Waugh το 1932. Η αναγωγική μορφή της βιταμίνης C, δηλαδή το L-ασκορβικό οξύ είναι ένα σακχαρικό οξύ και κατατάσσεται στα μονοσάκχαρα. Πολλά ζώα έχουν την ικανότητα να βιοσυνθέτουν τη βιταμίνη C, όμως ο άνθρωπος, τα ινδικά χοιρίδια και ο πίθηκος δεν μπορούν να τη βιοσυνθέσουν, επειδή τους λείπει το ένζυμο οξειδάση της γουλονολακτόνης (gulonolactone oxidase), που καταλύει την τελευταία αντίδραση της βιοσύνθεσης του ασκορβικού οξέος από γλυκόζη 246. Για το λόγο αυτό θα πρέπει να την προσλαμβάνεται με την τροφή. (Asoke G. Dutta et al.,2005)

Πλήρης έλλειψη ή πολύ χαμηλά επίπεδα βιταμίνης C στην τροφή του ανθρώπου, δημιουργούν την πάθηση σκορβούτο. Οι συνηθισμένες απαιτήσεις πρόσληψης ασκορβικού οξέος που δίνονται από την Food and Nutrition Board of the National Academy of Sciences (1989), είναι 60mg/ημέρα. Σε ειδικές όμως περιπτώσεις τα επίπεδα αυτά είναι αυξημένα. Έτσι στην εγκυμοσύνη των γυναικών είναι 70mg/ημέρα, στη γαλουχία 95mg/ημέρα και στους καπνιστές 100mg/ημέρα.

Το ασκορβικό οξύ είναι δότης ηλεκτρονίων (αναγωγικό αντιδραστήριο) και μπορεί να προμηθεύσει ηλεκτρόνια, τόσο σε ένζυμα, όσο και σε οξειδωτικές ενώσεις. Με αυτόν τον τρόπο ανάγει το υπεροξειδίο, τις υδροξυλικές ρίζες, το υποχλωριώδες οξύ και άλλες δραστικές μορφές οξυγόνου που βρίσκονται μέσα και έξω από τα κύτταρα.

Στο κυτόπλασμα το ασκορβικό και η GSH παρουσιάζουν συνεργιστική δράση για να προστατεύσουν το κύτταρο από οξειδωτικές βλάβες. Έξω από τα κύτταρα το ασκορβικό οξύ (A-H) πιθανόν να δρα σε συνδυασμό με τη λιποδιαλυτή βιταμίνη E (E-OH), η οποία βρίσκεται στις κυτταρικές μεμβράνες και τις προστατεύει από τη λιπιδική υπεροξειδωση εξουδετερώνοντας τις ελεύθερες ρίζες. Ένα πιθανό πρόβλημα με το μοντέλο αυτό είναι ότι η λιποδιαλυτή βιταμίνη E και η υδατοδιαλυτή βιταμίνη C βρίσκονται σε διαφορετικές συγκεντρώσεις. Έχει όμωςδειχθεί ότι στις μεμβράνες η φαινολική υδροξυλική ομάδα της βιταμίνης E βρίσκεται στο ενδιάμεσο, μεταξύ της μεμβράνης και της υδατικής φάσης, όπως συμβαίνει και με τις πολικές κεφαλές των φωσφολιπιδίων. Με τον ίδιο τρόπο η βιταμίνη E προστατεύει και τις LDL από την λιπιδική υπεροξειδωση και με τον τρόπο αυτό συμβάλλει στην πρόληψη του σχηματισμού αθηρωματικών πλακών.

3.10 Η Βιταμίνη E

Η βιταμίνη E ανακαλύφθηκε το 1922 από τους Evans και Bishop. Το όνομα τοκοφερόλη δόθηκε αργότερα, μετά από την παρατήρηση ότι η έλλειψή της από τη διατροφή των επίμυων, δημιούργησε τέτοιες συνθήκες, ώστε ο θηλυκός επίμυς που κυοφορούσε

απορροφούσε τα έμβρυά του ως εσωτερική αποβολή. Έτσι, διαπιστώθηκε η σημαντικότητα της βιταμίνης στη διατήρηση της κυοφορίας.

Η βιταμίνη Ε είναι απαραίτητο συστατικό της διατροφής όχι μόνο των ζώων αλλά και των ανθρώπων. Όμως μέχρι σήμερα δεν έχει αποδειχθεί αν και κατά πόσο επηρεάζει τη γονιμότητα στον άνθρωπο.

Η φυσική βιταμίνη Ε είναι μία ομάδα λιποδιαλυτών ενώσεων με αντιοξειδωτική δράση που αποτελείται από τέσσερες τοκοφερόλες (α, β, γ, δ,) και τέσσερες τοκοτριενόλες (α, β, γ, δ,). Μία από τις ενώσεις αυτές, η α-τοκοφερόλη, είναι περισσότερο διαδομένη στη φύση και έχει τη μεγαλύτερη βιολογική και αντιοξειδωτική δράση (Graham W. et al., 1983). Η φυσιολογική σπουδαιότητά της ως αντιοξειδωτική ένωση αναγνωρίστηκε τα τελευταία 50 χρόνια. Έτσι σήμερα περισσότερο αναφέρεται ως αντιοξειδωτική ένωση παρά ως βιταμίνη. Και αυτό επειδή οι περισσότερες βιταμίνες είναι συνένζυμα ενζυμικών αντιδράσεων, γεγονός που δεν ισχύει για τη βιταμίνη Ε και επιπλέον η έλλειψη της βιταμίνης Ε στον άνθρωπο δεν προκαλεί άμεσα κάποια ασθένεια με εμφανή συμπτώματα, όπως συμβαίνει με τις άλλες βιταμίνες. Οι φυσιολογικές τιμές της για τον άνθρωπο είναι 25-30 μmol/l. Οι επιδράσεις από τη μη λήψη της κατάλληλης ποσότητας εμφανίζονται μετά από μεγάλο χρονικό διάστημα, συνήθως δεκαετίες, και συνδέονται με εκφυλιστικές ασθένειες, όπως ο καρκίνος ή η αθηροσκλήρωση κ.λπ. Πολλά εργαστήρια, ασχολούνται με την αντιοξειδωτική δράση της βιταμίνης Ε και τον προστατευτικό της ρόλο στη λιπιδική υπεροξειδωση των ιστών και των λιποπρωτεϊνών. Από καιρό όμως έχει αναγνωριστεί, ότι οι αντιοξειδωτικές δράσεις των διάφορων μορφών βιταμίνης-Ε δεν είναι σύμφωνες με τις βιολογικές της δράσεις.

In vitro π.χ. η RRR-γ-τοκοφερόλη παρουσιάζει το 50% της αντιοξειδωτικής δράσης της RRR-α-τοκοφερόλης, ενώ *in vivo* έχει μόνο το 10%. Από τις παρατηρήσεις αυτές έχει διατυπωθεί η υπόθεση ότι εκτός από την αντιοξειδωτική δράση οι διάφορες μορφές της βιταμίνης Ε μπορεί να έχουν μία πιο συγκεκριμένη φυσιολογική λειτουργία. Είναι γνωστό ότι η α-τοκοφερόλη είναι ένας ισχυρός αναστολέας της πρωτεϊνικής κίνησης C και της φωσφολιπάσης A, χωρίς όμως να είναι ακόμα σαφής η σημασία αυτής της αναστολής.

Με απόφαση του Παγκόσμιου Οργάνισμού Υγείας (Π.Ο.Υ.) (World Health Organization) η αναφορά στη βιταμίνη Ε, όπως εξάλλου γίνεται και με άλλες βιταμίνες, θα πρέπει να συνοδεύεται και από τη χημική της δομή για να υπάρχει απόλυτη συμβατότητα στην ερμηνεία των οποιονδήποτε παρατηρήσεων που σχετίζονται με αυτή. Συνεπώς η βιταμίνη Ε προστατεύει τα ερυθρά αιμοσφαίρια έναντι του οξειδωτικού στρες που λαμβάνει χώρα κατά την αποθήκευσή τους.

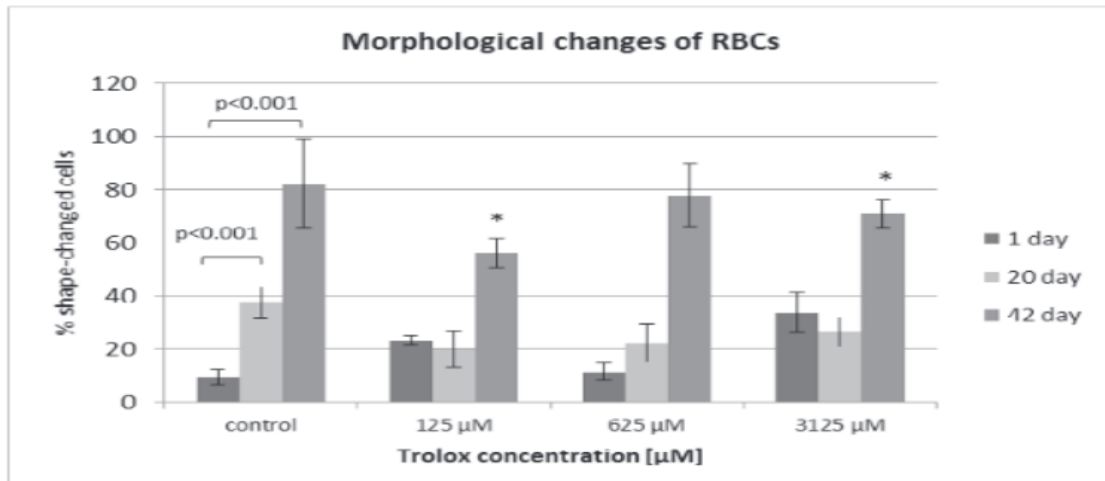
3.11 Η βιταμίνη Ε προστατεύει τα ερυθρά αιμοσφαίρια από την επαγόμενη από την οξειδωτική βλάβη κατά την αποθήκευση

Σύμφωνα με τελευταίες μελέτες, το σκεπτικό για τη χρήση μαννιτόλης έναντι του Trolox ήταν ότι το πρώτο είναι συστατικό σχεδόν όλων των ερυθρών. Ενώ η σημασία της μαννιτόλης ως σταθεροποιητή της μεμβράνης των ερυθρών έχει γίνει γενικά αποδεκτή, ο ρόλος της έναντι στην προστασία από τις οξειδώσεις παραμένει άγνωστη. Έτσι λοιπόν ο στόχος ήταν η σύγκριση της επίδρασης των προστατευτικών ικανοτήτων της μαννιτόλης και του Trolox (Adam Antosik et al., 2018). Η προστασία ήταν πιο εμφανής με το Trolox, αφού κατά την 20^η ημέρα υπήρχε μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα έναντι της προοδευτικής αιμόλυσης και οξείδωσης (Εικόνα 6). Η μανιτόλη μπορεί να μειώσει την αιμόλυση εξισορροπώντας την ωσμωτική επίδραση των μην διαπερατών ενδοκυτταρικών διαλυμάτων, όμως το Trolox ενδέχεται να καταστείλει το οξειδωτικό στρες αποτελεσματικότερα. Η αποθήκευση σε ψυγείο για τέσσερις εβδομάδες ανέστειλαν την αιμόλυση έως και 85% (Πίνακας 3).

Η διαδικασία αυτή έχει ως αποτέλεσμα όμως να υπάρχουν προϊόντα κατακερματισμένων ερυθρών αιμοσφαιρίων τα οποία συνοδεύονται με αύξηση συγκέντρωσης της ελεύθερης αιμοσφαιρίνης στον ασκό, η οποία παράγει ανιόντα υπεροξειδίου όπου αναγνωρίστηκαν ως σημαντικές πηγές δραστικών ειδών οξυγόνου. Η καταστροφή του ανιόντος υπεροξειδίου παράγει υπεροξείδιο του υδρογόνου με τη σειρά του και η παρουσία μεταβατικών μετάλλων μπορεί να παράξει ελεύθερες ρίζες υδροξυλίου μέσω της αντίδρασης Fenton. Ο σίδηρος απελευθερώνεται από την αιμοσφαιρίνη σε μη πρωτεϊνική μορφή (ελεύθερος σίδηρος) όταν τα ερυθρά αιμοσφαίρια εκτίθενται σε οξειδωτικό στρες ή και κατά τη φυσιολογική γήρανση τους.

Πίνακας 3: Το όριο τοξικότητας των ερυθρών αιμοσφαιρίων (ανάλογο βιταμίνης Ε). (Adam Antosik et al., 2018)

ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ TROLOX ΣΤΗ ΜΟΝΑΔΑ RBC, MMOL/L	TROLOX, G/RBC ΜΟΝΑΔΑ	TROLOX, G/ 10 RBC ΜΟΝΑΔΑ	ΟΠΟΙΑΔΗΠΟΤ ΜΟΡΦΗ Α-ΤΟΚΟΦΕΡΟΛΗΣ ΣΕ ΕΝΗΛΙΚΕΣ	ΟΠΟΙΑΔΗΠΟΤΕ ΜΟΡΦΗ Α-ΤΟΚΟΦΕΡΟΛΗΣ ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ
0,125	0,008	0,08	1600 IU/ημέρα	400-3200 IU/ημέρα.
0,625	0,041	0,41	1g/ημέρα	0,25-2g/ημέρα
3,125	0,203	2,03		



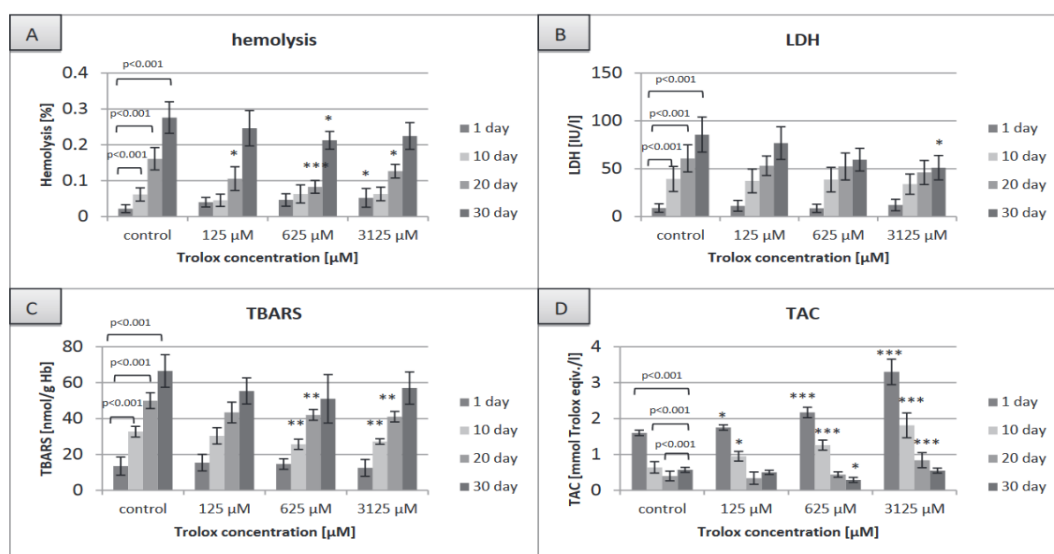
Εικόνα 6: Μορφολογικές μεταβολές των αποθηκευμένων RBCs στο SAGM με διαφορετικές συγκεντρώσεις Trolox. (Adam Antosik et al., 2018.)

Η LDH (γαλακτική αφυδρογονάση) ,είναι το κυτταροπλασματικό ένζυμο που καταλύει την αντιστρεπτή μετατροπή του γαλακτικού οξέος σε πυροσταφυλικό οξύ στον κύκλο της γλυκολύσεως. Το ένζυμο αυτό βρίσκεται σε πολλούς ιστούς, συνεπώς κάθε καταστροφή κυττάρων σ' αυτούς συνοδεύεται από αύξηση των επιπέδων του ενζύμου. Η διαρροή LDH σε ένα ερυθρό μπορεί να συμβεί μέσω της λύσης της μεμβράνης (λύση ερυθρού με συνακόλουθη απελευθέρωση LDH και αιμοσφαιρίνης). Μια υπερβολική απελευθέρωση LDH στο τέλος της περιόδου αποθήκευσης θα μπορούσε επίσης να συσχετιστεί εξαφάνιση των ενδοκυτταρικών πλούσιων σε ενέργεια νουκλεοτιδίων (ATP). Η αυξημένη απώλεια ενέργειας που προκύπτει στην αποθήκευση των ερυθρών 2-4 εβδομάδων, μπορεί να οδηγήσει σε ανεπερακή φωσφορυλίωση των πρωτεϊνών της μεμβράνης, με αποτέλεσμα να επιφέρει σοβαρή μείωση της μηχανικής σταθερότητας της με αυξημένη διαπερατότητα.

Τα αποτελέσματα έδειξαν πως το Trolox με δοσοεξαρτώμενο τρόπο αναστέλλει την διαρροή που προκαλείται από την αποθήκευση της LDH. Επιπλέον προστατεύεται από την υπεροξειδωση των λιπιδίων και σε μικροτερο βαθμό από την εξάντληση της GSH. Αντίθετα η συμπλήρωση της μαννιτόλης στα ερυθρά προστατεύει σε μεγάλα χρονικά διαστήματα αποθήκευσης από την διαρροη LDH. Επιπλέον τα ερυθρά που περιέχουν μαννιτόλη αύξησε σημαντικά τη διαπερατότητα της μεμβράνης ,όπως φαίνεται από την απλευθέρωση της LDH μετά από μεγάλο χρονικό διάστημα αποθήκευσης (Εικόνα 7). Η μαννιτόλη πιστεύεται ότι μειώνει την αιμόλυση και προστατεύει την αποδόμηση της κυτταρικής μεμβράνης των

ερυθρών στους ασκούς, μπορεί να προκαλέσει αλλαγές της μεμβράνης αλλά οι ακριβείς μηχανισμοί προστασίας παραμένουν άγνωστοι. Έχει αναγνωρισθεί ως ένας κλασικός καταστολέας ελεύθερων ριζών του υδροξυλίου σε διάφορα συστήματα, καθώς έρευνες έχουν δείξει πως συγκριτικά με άλλα αντιοξειδωτικά, έχει πολύ μεγαλύτερη ικανότητα στο να απενεργοποιεί ρίζες υδροξυλίου, που παράγονται από τον σίδηρο, τον ασκορβικό εστέρα, την αντίδραση Fenton, παρά προς ρίζες υπεροξυλίου ή υπεροξυνιτρίτη. Το Trolox έχει αναφερθεί πως αντιμετωπίζει αποτελεσματικά μια μεγάλη ποικιλία από ελεύθερες ρίζες, συμπεριλαμβανομένης της υδροξυλικής ρίζας και των προϊόντων που προέρχονται από επιδράσεις του υδροξειδίου.

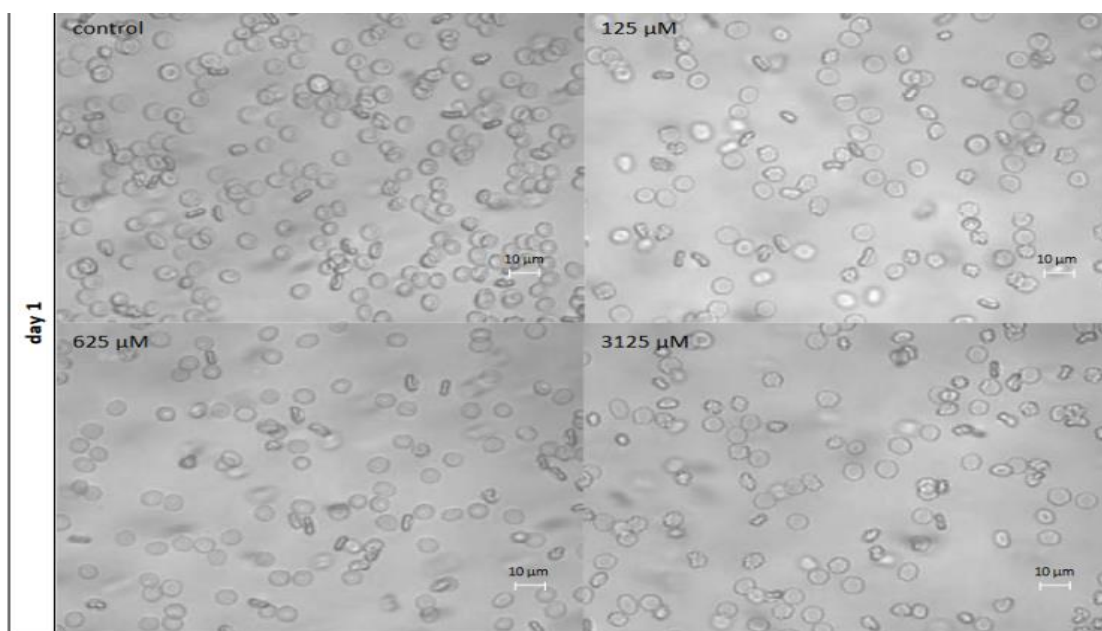
Παρόμοια με την α-τοκοφερόλη, το Trolox είναι κατά κύριο λόγο αλυσιδωτός αντιοξειδωτικός παράγοντας. Η αντιοξειδωτική ισχύς του δεν σχετίζεται μόνο με τη δομή του, αλλά και με την ικανότητα να αλληλεπιδρά και να διεισδύει στις λιπιδικές διπλοστοιβάδες, καθώς στερείται της μακράς αλυσίδας λιπαρών οξέων. Αναμένεται να λειτουργεί ως αντιοξειδωτικό λόγω της ικανότητας του να προσφέρει ένα μόριο υδρογόνου από την υδροξυλομάδα στη ρίζα του υπεροξυλίου μετατρέποντας το σε υδρουπεροξειδίο λιπιδίου και ρίζα κινόνης, τερματίζοντας έτσι την αλυσιδωτή αντίδραση.



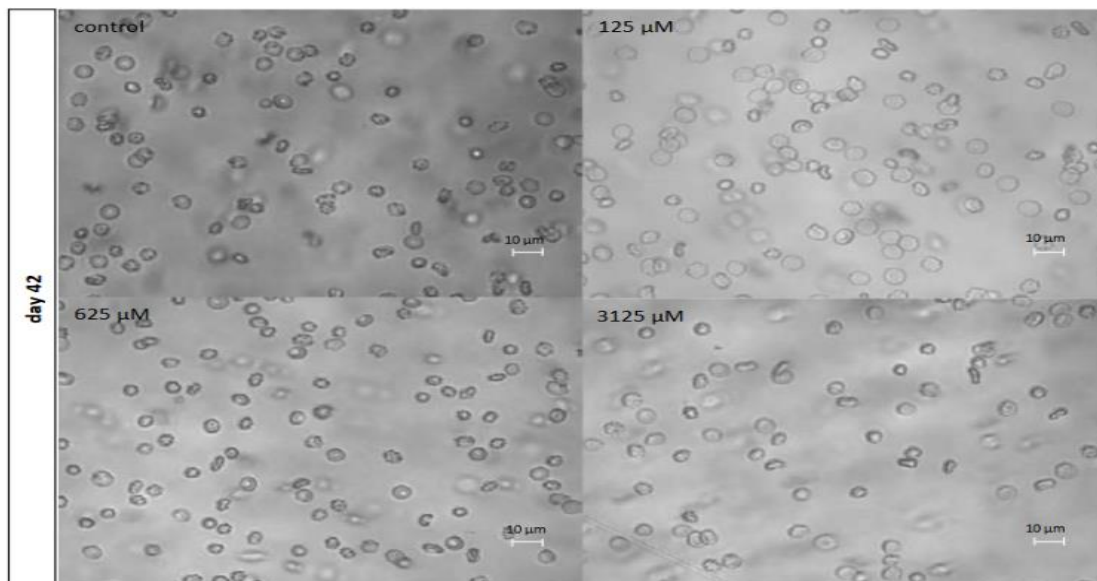
Εικόνα 7: Ο βαθμός αιμόλυσης (A), εξωκυτταρικής δραστηριότητας LDH (B), συγκέντρωσης TBARS (C) και TAC στο υπερκείμενο υγρό (D) των RBC αποθηκεύονται σε SAGM (έλεγχος) ή σε SAGM συμπληρωμένο με διαφορετικές συγκεντρώσεις Trolox. (Adam Antosik et al., 2018.)

Σύμφωνα με την έρευνα, τα CPD διατηρημένα ερυθρά συμπεριλήφθηκαν για να κατανοηθεί καλύτερα το προστατευτικό δυναμικό των αντιοξειδωτικών SAGM-trolox. Είχαν σημαντικά χαμηλότερη αιμόλυση, διαρροή LDH και λιπιδικής υπεροξειδάσης σε συγκριτικά

με τα ερυθρά που αποθηκεύτηκαν μόνο με SAGM. Το Trolox δεν είχε επιβλαβείς επιδράσεις στη μορφολογία των ερυθρών (Εικόνες 8,9). Σε σύγκριση με άλλες λιποδιαλυτές βιταμίνες, η τοξικότητα της βιταμίνης E είναι χαμηλή. Συμπερασματικά η σύγκριση έδειξε πως το Trolox φάνηκε να είναι ανώτερο από τη μαννιτόλη για την προστασία των ερυθρών έναντι του οξειδωτικού στρες. Θεωρείται καλό υποψήφιο για να μελετηθεί περαιτέρω ως πρόσθετο συστατικό του χρησιμοποιούμενου AS, όπως επίσης υπάρχουν πολλά ευεργετικά αποτελέσματα στα ερυθρά από τη συμπλήρωση διαλυμάτων αντιοξειδωτικών ανάλογα της βιταμίνης E τα οποία αλληλεπιδρούν με την μεμβράνη τους.



Εικόνα 8: εικόνες των αποθηκευμένων RBCs που διατηρούνται στο SAGM παρουσία Trolox και απουσία αντιοξειδωτικού. Οι εικόνες ελήφθησαν κατά την ημέρα 1 και την ημέρα 42. (Adam Antosik et al., 2018.)



Εικόνα 9: εικόνες των αποθηκευμένων RBCs που διατηρούνται στο SAGM παρουσία Trolox και απουσία αντιοξειδωτικού. Οι εικόνες ελήφθησαν κατά την ημέρα 1 και την ημέρα 42. (Adam Antosik et al., 2018.)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΤΩΝ ΣΧΕΤΙΚΩΝ ΜΕΛΕΤΩΝ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

4.1 Τρέχοντα θέματα σχετικά με τη μετάγγιση των πακεταρισμένων ερυθρών αιμοσφαιρίων.

Τα ερυθρά αιμοσφαίρια σαφώς αλλοιώνονται κατά την αποθήκευσή τους ποικιλοτρόπως. Μπορεί να μεταβληθεί το σχήμα τους, να μετατραπούν σε οξειδωτικά, να χάσουν DPG, ATP καθώς και μέρη της κυτταρικής τους μεμβράνης (A.B. Zimrin and J. R. Hess, 2008). Κάποια μπορεί να καταστραφούν εντελώς, καθώς επίσης να μην μπορούν να περάσουν στην κυκλοφορία.

Ενώ στο ανθρώπινο σώμα υπάρχουν μηχανισμοί για την εκκαθάριση γηρασμένων ερυθρών αιμοσφαιρίων από την κυκλοφορία, οξειδωτικών φορτίων, μη φυσιολογικών κυττάρων, καθώς και κυτταρικών θραυσμάτων, τα οποία σχετίζονται με τη μετάγγιση και ειδικότερα με τη μαζική μετάγγιση, μπορούν να υπάρξουν παθολογικές επιπτώσεις. Από τις κυριότερες είναι η ανάπτυξη βακτηρίων, η οποία αυξάνεται με τον παρατεταμένο χρόνο αποθήκευσης.

Από την άλλη πλευρά όμως, η αποθήκευση του αίματος επιτρέπει τη δυνατότητα χρησιμοποίησης του σε καταστάσεις χειρουργικών επεμβάσεων, ή ασθενών που μεταγγίζονται συχνά, τροφοδοτώντας τα νοσοκομεία με μια πληθώρα ασκών ειδικούς για την εκάστοτε περίπτωση. Έτσι η αποθήκευση των ασκών μεγιστοποιείται ώστε ο παραλήπτης να μπορεί να λάβει σε περισσότερο από 99% συμβατό αίμα γι' αυτόν. Ενώ τα ερυθρά μπορούν να αποθηκευτούν το ανώτερο για τρεις εβδομάδες, η ανασκόπηση των ερευνών

δείχνει πως τα ποσοστά της αλλοίωσης τους μπορεί να φτάσει και το 30%. Το συμπέρασμα των ερευνών αυτών είναι πως δεν υπάρχει ανάγκη για την άμεση αλλαγή στην πρακτική της μετάγγισης, αλλά στο μέλλον θα πρέπει να υπάρξουν περαιτέρω μελέτες καθώς και νέα υλικά τα οποία θα παρατείνουν τη ζωή και την ποιότητα των ερυθρών κατά τη συντήρησή τους.

4.2 Η σχέση της οξειδωτικής ευαισθησίας των κυττάρων του ερυθροκυττάρου και της δραστηριότητας της ανθρακικής ανυδράσης στο αποθηκευμένο ανθρώπινο αίμα: επίδραση ορισμένων φαινολικών ενώσεων.

Στο άρθρο τους γύρω από τη σχέση της οξειδωτικής ευαισθησίας των κυττάρων του ερυθροκυττάρου και την ανθρακική ανυδράση στο αποθηκευμένο ανθρώπινο αίμα του Huyut, αξιολογούν την προσθήκη ουσιών που θα μπορούσαν να προστατεύσουν την αντιοξειδωτική ικανότητα στο αποθηκευμένο αίμα, εξαιτίας των ποικίλων τροποποιήσεων που παρατηρούνται με την αύξηση του οξειδωτικού στρες κατά την αποθήκευση των ερυθροκυττάρων. Στο πλαίσιο αυτό ερευνήθηκαν οι επιδράσεις της ρεσβερατρόλης, του ταννικού οξέος και του καφεϊκού οξέος στην υπεροξείδωση των λιπιδίων και στην αντιοξειδωτική ικανότητα των ερυθροκυττάρων στο αποθηκευμένο αίμα (Huyut et.al, 2016).

Συμπερασματικά αυτή η μελέτη κατέδειξε ότι η υπεροξείδωση των λιπιδίων και η ευαισθησία τους στην οξείδωση αυξήθηκε ενώ η αντιοξειδωτική ικανότητα μειώθηκε στα ερυθρά αιμοσφαίρια του αποθηκευμένου αίματος ανάλογα με το χρόνο. Ωστόσο, το καφεϊκό οξύ, η ρεσβερατρόλη και το ταννικό οξύ εμπόδισαν μερικώς την υπεροξείδωση λιπιδίων. Επίσης, στα ερυθρά αιμοσφαίρια μειώθηκε η ευαισθησία στην οξείδωση τους προστατεύοντας τα αντιοξειδωτικές ενζυμικές δραστηριότητες όπως οι GSH-Px, η καταλάση και η GSH. Επιπλέον, το καφεϊκό οξύ και η ρεσβερατρόλη παρεμπόδισαν μερικώς την ενεργότητα του CA και το pH άλλαζε ανάλογα με το χρόνο, καταδεικνύοντας το γιατί η ρεσβερατρόλη και το καφεϊκό οξύ μπορούν να αποτρέψουν πιο αποτελεσματικά την υπεροξείδωση των λιπιδίων στα RBC. Επίσης, επειδή οι φαινολικές ενώσεις είναι ικανές να απομακρύνουν τις ελεύθερες ρίζες που σχηματίζονται στο αποθηκευμένο αίμα ανάλογα με το χρόνο, η ρεσβερατρόλη, το ταννικό οξύ και το καφεϊκό οξύ μπορούν να αυξήσουν τη δραστηριότητα GSH, GSH-Px και καταλάσης.

Οι μελετητές καταλήγουν ότι απαιτούνται *in vitro* μελέτες για να εξηγηθούν οι μοριακές επιδράσεις της ρεσβερατρόλης, του καφεϊκού οξέος και του ταννικού οξέος στην αύξηση των ενεργειών GSH-Px, GSH και της καταλάσης των ερυθροκυττάρων.

Με βάση αυτά τα αποτελέσματα, θεωρείται ότι η ρεσβερατρόλη, το καφεϊκό οξύ και το ταννικό οξύ μπορεί να συμβάλλουν θετικά στην επέκταση της διάρκειας ζωής του αποθηκευμένου αίματος και στη διατήρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας στα ερυθρά αιμοσφαίρια.

4.3 Η χρήση των φυσικών αντιοξειδωτικών βελτιώνει την «επιβίωση» των ερυθρών αιμοσφαιρίων σε μη λευκαφαιρεμένα δείγματα αίματος

Η δεύτερη μελέτη των Kucherenko και Bernhardt,(2015) διερευνά το κατά πόσο η χρήση των φυσικών αντιοξειδωτικών βελτιώνει την «επιβίωση» των ερυθρών αιμοσφαιρίων σε μη λευκαφαιρεμένα δείγματα αίματος (ασκούς αιμοδοσίας). Η οξειδωτική βλάβη θεωρείται ένας από τους κύριους παράγοντες που συμβάλλουν στην ανάπτυξη βλαβών κατά την αποθήκευση. Η οξείδωση των λιπιδίων και των μεμβρανών των πρωτεϊνών έχει ως αποτέλεσμα μεταβολές στα επίπεδα των κατιόντων που επηρεάζουν την κυτταρική επιβίωση. Για το λόγο αυτό η μελέτη τους χρησιμοποιεί τα φυσικά αντιοξειδωτικά και τους αναστολείς των καναλιών των ιόντων L-καρνοσίνη, σπερμίνη, φλορετίνη καθώς και τα μείγματα αυτών, για να παραταθεί η «επιβίωση» των ερυθρών αιμοσφαιρίων.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το μείγμα καρνοσίνης (20 mM), σπερμίνης (20 μM) και φλορετίνης (100 μM) αντιδρά αποτελεσματικά στην έκθεση φωσφατιδυλσερίνης (PS), συσσώρευση Ca²⁺ και αιμόλυση ερυθρών αιμοσφαιρίων σε δείγματα με χαμηλό αιματοκρίτη μετά από 36 ημέρες αποθήκευσης ,καθώς και μετά από 1 ημέρα επώασης μετά την αποθήκευση κυττάρων σε φυσιολογικό αλατούχο διάλυμα. Επιπλέον, παρατηρήθηκε μια ελαφρά αλλά σημαντική μείωση της έκθεσης σε PS σε δείγματα μη λευκαφαιρεμένα με αυξημένο αιματοκρίτη μετά από 36 ημέρες αποθήκευσης.

Συμπερασματικά η μελέτη κατέληξε ότι η χρήση του μείγματος των φυσικών αντιοξειδωτικών (καρνοσίνη, σπερμίνη και φλορετίνη) ,ως πρόσθετο στο διάλυμα συντήρησης αίματος, παρέχει καλύτερη αποθήκευση των ερυθρών και παρατείνει την επιβίωση τους.

4.4 Η επιβίωση ερυθρών αιμοσφαιρίων μετά τη μετάγγιση: διεργασίες και συνέπειες

Σε μελέτη γύρω από τις διεργασίες και συνέπειες στην επιβίωση ερυθρών αιμοσφαιρίων μετά τη μετάγγιση ο Bosman (2013) σημειώνει ότι τα διαθέσιμα σημερινά δεδομένα δηλώνουν ότι οι προσπάθειες για τη βελτίωση της ποιότητας των προϊόντων των τραπεζών

αίματος των ερυθρών αιμοσφαιρίων (RBC) θα πρέπει να επικεντρωθούν στην πρόληψη της απομάκρυνσης ενός σημαντικού κλάσματος των μεταγγιζόμενων ερυθρών αιμοσφαιρίων που λαμβάνει χώρα μέσα στις πρώτες ώρες μετά τη μετάγγιση καθώς και την ελαχιστοποίηση της αλληλεπίδρασης των μεταγγιζόμενων ερυθρών αιμοσφαιρίων με το ανοσοποιητικό σύστημα του ασθενούς. Αυτά τα θέματα είναι σημαντικά για τη μείωση του αριθμού και της σημαντικότητας των επιβλαβών παρενεργειών των μεταγγίσεων, όπως η παραγωγή αλλοαντισωμάτων και αυτοαντισωμάτων, και η συσσώρευση σιδήρου, ειδικά σε ασθενείς που εξαρτώνται άμεσα από τη μετάγγιση.

Επομένως, είναι σημαντικό όχι μόνο να αξιολογούνται οι κλασικές παράμετροι για τον ποιοτικό έλεγχο κατά την αποθήκευση των ερυθρών αιμοσφαιρίων, αλλά να προσδιορίζονται οι παράμετροι που προβλέπουν την επιβίωση, τη λειτουργία και τη συμπεριφορά των ερυθρών αιμοσφαιρίων στον ασθενή μετά τη μετάγγιση. Αυτές οι παράμετροι είναι πιθανό να προκύψουν από την αποσαφήνιση των μηχανισμών που υποκρύπτουν τη φυσιολογική γήρανση ερυθρών αιμοσφαιρίων *in vivo* και που οδήγησαν στην παραγωγή αντιγόνων σε κύτταρα που είναι σε γήρανση και στη συσσώρευση κατεστραμμένων μορίων σε κυστίδια.

Επίσης, η μελέτη των σχετιζόμενων με την παθολογία των μηχανισμών των ερυθρών αιμοσφαιρίων, όπως αυτές που συναντώνται σε διάφορες αιμοσφαιρινοπάθειες και μεμβρανοπάθειες, μπορεί να βοηθήσει στην αποσαφήνιση των μηχανισμών που υποκρύπτουν μια αύξηση που σχετίζεται με την αποθήκευση και την ευαισθησία σε συνθήκες φυσιολογικού στρες. Πρόσφατα δεδομένα υποδεικνύουν ότι ένας συνδυασμός νέων προσεγγίσεων *in vitro* για τη μίμηση της συμπεριφοράς των ερυθρών αιμοσφαιρίων *in vivo*, η αυξανόμενη γνώση των δικτύων σηματοδότησης που ρυθμίζουν τη δομή και λειτουργία των ερυθρών αιμοσφαιρίων και το ταχέως αναπτυσσόμενο σύνολο πρωτεϊνικών και μεταβολικών δεδομένων, θα βοηθήσουν στην ταυτοποίηση της αποθήκευσης με συσχετισμένες διαδικασίες που ελέγχουν την επιβίωση τους μετά τη μετάγγιση.

Η επισκόπηση του πραγματεύεται τη διαθέσιμη γνώση σχετικά με τη μοριακή δομή, τη λειτουργία και το μεταβολισμό της γήρανσης του ερυθροκυττάρου στο υγιές άτομο και σύμφωνα με τα διαθέσιμα δεδομένα σήμερα δείχνουν ότι ούτε οι γνώσεις μας για την ταυτότητα των μορίων που σηματοδοτούν την απομάκρυνση των φυσιολογικά ηλικιωμένων ερυθροκυττάρων, ούτε η ταυτότητα των μηχανισμών με τους οποίους παράγονται, έχουν προχωρήσει πολύ τις τελευταίες δύο δεκαετίες.

Μια αξιοσημείωτη εξαίρεση είναι η ενσωμάτωση σχηματισμού κυστιδίων στη διαδικασία γήρανσης *in vivo*. Αυτό συμβαίνει παρά την έντονη αύξηση του αριθμού των φαινομένων που περιγράφονται για να συνοδεύουν ειδικά τη γήρανση των ερυθροκυττάρων *in vitro*. Η πρόσφατη αύξηση του αριθμού των δεδομένων σχετικά με την παρουσία και τη

δραστηριότητα των σηματοδοτικών οδών που ρυθμίζουν τη λειτουργία, τη μορφολογία και το μεταβολισμό των ερυθροκυττάρων, που προκύπτουν ως επί το πλείστον από την έρευνα που επικεντρώνεται στις ασθένειες, ανοίγει νέες δυνατότητες για την εξάλειψη των μηχανισμών που εμπλέκονται στη γήρανση των ερυθροκυττάρων *in vivo* καθώς και *in vitro*.

Όσον αφορά το τελευταίο, όλα τα δεδομένα δείχνουν ότι η αποθήκευση μπορεί να είναι το καλύτερο διαθέσιμο μοντέλο για τη μελέτη της γήρανσης των ερυθροκυττάρων, αλλά δεν υποστηρίζουν τη θεωρία ότι η αποθήκευση στην τράπεζα αίματος είναι μια επιταχυνόμενη μορφή φυσιολογικής γήρανσης ή παθολογικής μορφής γήρανσης *in vivo*.

Αυτό υποστηρίζει τη δήλωση ότι εξακολουθεί να υπάρχει κακή κατανόηση της βλάβης αποθήκευσης και της επίδρασής της στην απόδοση των ερυθροκυττάρων, καταλήγοντας στην ανάγκη δημιουργίας μιας πειραματικής πλατφόρμας για τη διερεύνηση των μηχανισμών που ευθύνονται για την επικίνδυνη και γρήγορη αφαίρεση ενός σημαντικού κλάσματος των ερυθροκυττάρων της τράπεζας αίματος αμέσως μετά τη μετάγγιση.

4.5 Βιοδιατήρηση των ερυθρών αιμοσφαιρίων

Οι Tamir Kanias, Jason P. Acker. (2010) μελέτησαν τη βιοδιατήρηση των ερυθρών αιμοσφαιρίων με την περιγραφή ορισμένων από τις κύριες οδούς που συνδέουν την οξειδωση της αιμοσφαιρίνης και την κυτταρική βλάβη κατά τη διάρκεια της *Ex vivo* συντήρησης των ερυθρών αιμοσφαιρίων.

Μετά από ανασκόπηση των κυριότερων παραδοσιακών μεθόδων συντήρησης (κρυοσυντήρηση), η έρευνα καταλήγει ότι ο μόνος τρόπος για την επιτυχή διατήρηση της αιμοσφαιρίνης για εφαρμογές μετάγγισης βρίσκεται στο φυσικό της περιβάλλον, τα ερυθρά αιμοσφαίρια. Η ικανότητά διατήρησης υπό διάφορες συνθήκες (υποθερμικές, κατεψυγμένες ή ξηρές), υπαγορεύεται σε μεγάλο βαθμό από την οξειδωτική κατάσταση της αιμοσφαιρίνης. Η επιτυχία στη διατήρηση των ερυθρών μέσω υποθερμικής ή κατεψυγμένης αποθήκευσης βασίζεται, τουλάχιστον εν μέρει, στη διατήρηση της αιμοσφαιρίνης.

Η αποτυχία να σταθεροποιηθούν τα ερυθρά στην ξηρά κατάσταση ή να δημιουργήσουμε βασική αιμοσφαιρίνη, έχει επηρεαστεί από την αδυναμία μας να αποφύγουμε επαγόμενη της οξειδωτική βλάβη.

Παρά τις επιτυχίες της, η υποθερμική αποθήκευση των ερυθρών αιμοσφαιρίων απέχει πολύ από το να είναι τέλεια. Διάφορες παράμετροι, όπως η μείωση της ATP και του 2,3-

διφωσφογλυκερίνικου οξέος, επηρεάζουν την ποιότητα και τη διάρκεια ζωής των μονάδων ερυθρών.

Δύο δεκαετίες έχουν περάσει από τότε που ο Wolfe έθεσε την ανησυχία του για αιμοσφαιρίνη και οξειδωτικά βλάβες μεμβράνης κατά την υποθερμική αποθήκευση των ερυθρών.

Ωστόσο, αυτό το ζήτημα έχει σχεδόν αγνοηθεί στις μελέτες για τις αλλοιώσεις αποθήκευσης. Λαμβάνοντας υπόψη το γεγονός ότι τα ερυθρά αποθηκεύονται κυρίως για την αιμοσφαιρίνη, είναι σχεδόν παράδοξο να παραβλέπεται η συμβολή τους στις αλλοιώσεις αποθήκευσης. Μία καλύτερη κατανόηση των βλαβών της αποθήκευσης των ερυθροκυττάρων μπορεί να επιτευχθεί με περαιτέρω διερεύνηση του ρόλου που παίζει η οξείδωση της αιμοσφαιρίνης στη διαμεσολάβηση της κυτταρικής βλάβης.

Αυτό θα απαιτούσε νέες δοκιμασίες στην τρέχουσα παρακολούθηση της ποιότητας των ερυθρών. Τέτοιες δοκιμασίες θα επέτρεπαν την παρακολούθηση αλλαγών στο μόριο της αιμοσφαιρίνης καθόλη την αποθήκευση συμπεριλαμβανομένης της αυτοοξειδώσεως, της απελευθέρωσης ROS, των οξειδωτικών αλληλεπιδράσεων με την κυτταρική μεμβράνη, καθώς και πιθανών αλληλεπιδράσεων με τα θρεπτικά πρόσθετα.

Επομένως οι μελέτες των παθολογιών αιμοσφαιρίνων προσφέρουν μία ανεκτίμητη επιλογή αναλύσεων που μπορούν εύκολα να χρησιμοποιηθούν στον τομέα της συντήρησης ερυθρών.

4.6 Ευαισθησία των ερυθροκυττάρων στην οξείδωση κατά την αποθήκευση του αίματος: επιδράσεις της μελατονίνης και της προποφύλης

Τέλος το άρθρο των Şekeroğlu, Huyut και Him (2012) μελετά την ευαισθησία των ερυθροκυττάρων στην οξείδωση κατά την αποθήκευση του αίματος και συγκεκριμένα τις επιδράσεις της μελατονίνης και της προποφύλης στην υπεροξείδωση των λιπιδίων και την αντιοξειδωτική ικανότητα των ερυθροκυττάρων σε πακεταρισμένα ερυθρά αιμοσφαίρια.

Όπως κατέδειξαν οι μετρήσεις στην ομάδα ελέγχου, αυξήθηκαν τα επίπεδα μαλονιοδιαλδεϋδης στα ερυθρά καθώς και η ευαισθησία, ενώ στην *in vitro* οξείδωση μειώθηκαν τα επίπεδα της γλουταθειόνης, της υπεροξειδάσης γλουταθειόνης και της υπεροξειδικής δισμουτάσης. Η μελατονίνη παρεμπόδισε τη συσσώρευση μαλονιοδιαλδεϋδης στα ερυθρά και διατηρούσε τα επίπεδα της γλουταθειόνης, της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης και της υπεροξειδικής δισμουτάσης. Η προποφύλη διατηρούσε επίπεδα της

γλουταθειόνης και της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης αλλά δεν επηρέασε τις δραστηριότητες της καταλάσης και της υπεροξειδικής δισμουτάσης.

Συμπερασματικά η μελέτη απέδειξε ότι η μελατονίνη στο αποθηκευμένο αίμα θα μπορούσε να αποτρέψει την υπεροξείδωση των λιπιδίων και να αυξήσει την αντίσταση των ερυθροκυττάρων στην *in vitro* οξείδωση, ενώ η προποφόλη δεν παρουσίασε τέτοια αποτελέσματα.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Adam Antosik, Kamila Czubak, Natalia Cichon, Pawel Nowak, Halina Zbikowska. (2018). *Vitamin E Analogue Protects Red Blood Cells against Storage-Induced Oxidative Damage*.
<https://www.karger.com/Article/Pdf/486605>
2. American Association of Blood Banks (AABB). (2012). *Standards for blood banks and transfusion services, 29th Edition*.
3. American Association of Blood Banks (AABB). (2014). *Standards for blood banks and transfusion services, 29th Edition*.
4. Bosman, Giel. (2013). *Survival of red blood cells after transfusion: processes and consequences*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC386658>
5. Gamy G. Duthie, John D. Robertson, Ronald J. Maughan, and Philip C. Morrice., (1990). *Blood Antioxidant Status and Erythrocyte Lipid Peroxidation following Distance Running*.
6. Graham W. Burton, Anne Joyce, and Keith U. Ingold. (1983). *Is Vitamin E the Only Lipid-Soluble, Chain-Breaking Antioxidant in Human Blood Plasma and Erythrocyte Membranes*.
7. Halina Malgorzata Zbikowska, Adam Antosik, Magdalena Szejka, Michal Bijak, Alicja Klaudia Olejnik, Joanna Saluk & Pawel Nowak. (2013). *Does quercetin protect human red blood cell membranes against γ -irradiation*. <https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1179/1351000213Y.0000000074?needAccess=true>
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22261093>
8. Huyut Z., Sekeroglu M., Cokluk E. (2018) *Actions of resveratrol and serotonin added to stored bloods on lipid peroxidation and oxidative DNA damage*. <https://www.researchgate.net/publication/324512617> Actions of resveratrol and serotonin added to stored bloods on lipid peroxidation and oxidative DNA damage
9. Janet Rodríguez, Donato Di Pierro, Magda Gioia, Susanna Monaco, René Delgado, Massimiliano Coletta, Stefano Marini. (2006). *Effects of a natural extract from *Mangifera indica L.*, and its active compound, mangiferin, on energy state and lipid peroxidation of red blood cells*
10. Kucherenko Y.V. · Bernhardt I. (2015). *Natural Antioxidants Improve Red Blood Cell "Survival" in Non-Leukoreduced Blood Samples*.
<https://www.karger.com/Article/FullText/374012>

11. Kucherenko Yuliya V., Bernhardt Ingolf. *Natural Antioxidants Improve Red Blood Cell "Survival" in Non-Leukoreduced Blood Samples. Cell Physiol Biochem.* <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25871329>.
12. Luisa Tesoriere, Daniela Butera, Mario Allegra, Marco Fazzari, And Maria A. Livrea. (2005). *Distribution of Betalain Pigments in Red Blood Cells after Consumption of Cactus Pear Fruits and Increased Resistance of the Cells to ex Vivo Induced Oxidative Hemolysis in Humans.*
13. Mara Fiorani and Augusto Accorsi. (2005). *Dietary flavonoids as intracellular substrates for an erythrocyte trans-plasma membrane oxidoreductase activity .*
14. Mara Fiorani, Augusto Accorsi & Orazio Cantoni. (2003). *Human Red Blood Cells as A Natural Flavonoid Reservoir*
15. Nandita Singh, P.S. Rajini,. (2008). *Antioxidant-mediated protective effect of potato peel extract in erythrocytes against oxidative damage.*
16. S Asgary, GH Naderi, N Askari . (2005). *Protective effect of flavonoids against red blood cell hemolysis by free radicals.* <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2716227/>
17. Sabyasachi Biswas, Jharna Bhattacharyya and Asoke G. Dutta. (2005). *Oxidant induced injury of erythrocyte – Role of green tea leaf and ascorbic acid.*
18. Sekeroglu, Huyut Z., Him A., (2012). *The susceptibility of erythrocytes to oxidation during storage of blood: effects of melatonin and propofol.*
19. Sudip Chaudhuri, Anwesha Banerjee, Kaushik Basu, Bidisa Sengupta , Pradeep K. Sengupta,. (2007). *Interaction of flavonoids with red blood cell membrane lipids and proteins: Antioxidant and antihemolytic effects.*
20. Sudip Chaudhuri, Anwesha Banerjee, Kaushik Basu, Pradeep K. Sengupta. (2007). *Interaction of flavonoids with red blood cell membrane lipids and proteins: Antioxidant and antihemolytic effects.* https://www.researchgate.net/publication/6564482_Interaction_of_flavonoids_with_red_blood_cell_membrane_lipids_and_proteins_Antioxidant_and_antihemolytic_effects
21. Syed Ibrahim Rizvi, Kanti Bhooshan Pandey. (2010). *Activation of the erythrocyte plasma membrane redox system by resveratrol: a possible mechanism for antioxidant properties.*
22. Tamir Kaniias, Jason P.Acker.(2010) *Biopreservation of red blood cells – the struggle with hemoglobin oxidation.* <https://febs.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1742-4658.2009.07472.x>
23. Toshiki Nagakubo, Takuto Kumano, Yoshiteru Hashimoto, Michihiko Kobayashi. (2018). *Hemoglobin catalyzes CoA degradation and thiol addition to flavonoids.* <https://www.nature.com/articles/s41598-018-19585-7#Sec14>
24. World Health Organization, (2012). *Blood donor selection: guidelines on assessing donor suitability for blood donation, World Health Organization Publications.*

25. Xini, Chrysanthi, (2017). *Quality Assurance Systems in blood donation: Theory and Act*. Master Thesis . TEI of Athens.
26. Zubeyir Huyut, Mehmet Ramazan Sekeroglu, Hamit Hakan Alp, Erdem Cokluk, Ragip Balahoroglu. (2018). <https://www.pubfacts.com/detail/29283199/Synthesis-and-investigation-of-the-conversion-reactions-of-pyrimidine-thiones-with-nucleophilic-reag>
27. Zubeyir Huyut, Mehmet Ramazan Sekeroglu, Hamit Hakan Alp, Erdem Cokluk, Ragip Balahoroglu. (2017). *Characteristics of resveratrol and serotonin on antioxidant capacity and susceptibility to oxidation of red blood cells in stored human blood in a time-dependent manner*.<http://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/0300060517725450>
28. Zübeyir Huyut, Mehmet Ramazan Şekeroğlu, Ragip Balahoroğlu, Tahsin Karakoyun, and Erdem Çokluk. (2016). *The Relationship of Oxidation Sensitivity of Red Blood Cells and Carbonic Anhydrase Activity in Stored Human Blood: Effect of Certain Phenolic Compounds*. *BioMed Research International Volume* <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2016/3057384/>
29. A.B. Zimrin, J. R. Hess. (2008). *Current issues relating to the transfusion of stored red blood cells*. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1423-0410.2008.01117.x>
30. Δαρβίρη Χ., (2009), Μεθοδολογία της έρευνας στο χώρο της υγείας. Εκδόσεις Πασχαλίδη Ε.Π.Ε., Αθήνα, εκδόσεις Παρισιάνου Α.Ε. Αθήνα.Ελληνική Αιματολογική Εταιρεία, (2010). *Μετάγγιση Ερυθρών Αιμοσφαιρίων: Κατευθυντήριες Οδηγίες*. Αθήνα
31. Ελληνική Αιματολογική Εταιρεία. (2017). “Κατευθυντήριες Οδηγίες Μετάγγισης Αίματος και Παραγώγων του. Αθήνα.
32. Καλλινίκου-Μανιάτη, Α., (2001). *Ιατρική των μεταγγίσεων*. Επιστημονικές
33. Κουτσούμπα, Α., Μαθιανάκη Ε. (2012). *Το σύστημα αιμοδοσίας στην Ελλάδα*. Πτυχιακή Εργασία, ΤΕΙ Καλαμάτας.
34. Πάγκαλης Γ. (2008). *Αιματολογία στην κλινική πράξη*. Εκδόσεις Πασχαλίδης. Αθήνα
35. Τζιμογιάννη-Ιωαννίδου Α. ,Δρ Γεώργιος Μπόλλας.(2005). *Αιμοδοσία* .Εκδοσεις Νέες τεχνολογίες.
36. Φεσληκίδη Ε.Θεοχάρη. (2009) . *Μελέτη των μηχανισμών Αντιοξειδωτικών στην οξείδωση των λιποπρωτεϊνών*. Διδακτορική διατριβή, Ιατρική σχολή Αριστοτέλειου πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης.
37. Χαλεβελάκης Γ. (1991).*Αιμοσφαιρινοπάθειες*. Αθήνα.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ