



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΠΡΟΝΟΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ
ΤΙΤΛΟΣ ΘΕΜΑΤΟΣ: Ο ρόλος των αιμοπεταλίων στην παθογένεση της
Έλκυσιας.



Όνομα φοιτήτριας:
Κουτρόλλι Αρίσα

Ονόματα Εισηγητών:
Δρ. Βογιατζάκη Χρυσάνθη Δρ. Τσουμάνη Μαρία

Αθήνα 2022



FACULTY OF HEALTH AND CARE SCIENCES
DEPARTMENT OF BIOMEDICAL SCIENCES
DIVISION: MEDICAL LABORATORY

UNDER GRADUATE THESIS

Title: The role of platelets in the pathogenesis of Malaria.



Name of student:
Koutrolli Arisa

Name of supervisors:
Dr. Voyiatzaki Chrysanthi Dr. Tsoumani Maria

Athens 2022



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΠΡΟΝΟΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

**Τίτλος προπτυχιακής διπλωματικής εργασίας:
Ο ρόλος των αιμοπεταλίων στην παθογένεση της Ελονοσίας.**

Μέλη Εξεταστικής Επιτροπής συμπεριλαμβανομένων και των Εισηγητών

Η πτυχιακή/διπλωματική εργασία εξετάστηκε επιτυχώς από την κάτωθι Εξεταστική Επιτροπή:

A/a	ΟΝΟΜΑ ΕΠΩΝΥΜΟ	ΒΑΘΜΙΑΔΑ/ΔΙΟΤΗΤΑ	ΨΗΦΙΑΚΗ ΥΠΟΓΡΑΦΗ
1	Δρ Βογιατζάκη Χρυσάνθη	Επίκουρη Καθηγήτρια Τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών	
2	Δρ Τσουμάνη Μαρία	Ακαδημαϊκή Υπότροφος Τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών	
3	Δρ Χανιώτης Δημήτριος	Καθηγητής Τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών	



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΠΡΟΝΟΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Η κάτωθι υπογεγραμμένη Κουτρόλλι Αρίσα του Χαϊρέτ, με αριθμό μητρώου 62117109 φοιτήτρια του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής της Σχολής Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας του Τμήματος των Βιοϊατρικών Επιστημών, δηλώνω υπεύθυνα ότι:

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

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

Η Δηλούσα
Κουτρόλλι Αρίσα

Ευχαριστίες

Με την ολοκλήρωση της παρούσας προπτυχιακής διπλωματικής εργασίας θα ήθελα να ευχαριστήσω από καρδιάς τις καθηγήτριές μου κα Βογιατζάκη Χρυσάνθη και κα Τσουμάνη Μαρία για την εμπιστοσύνη που μου έδειξαν. Επίσης θα ήθελα να τις ευχαριστήσω για όλες τις υποδείξεις και συμβουλές τους με σκοπό την ολοκλήρωση και τελειοποίηση αυτής της διπλωματικής μου εργασίας. Επιπλέον, ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να απευθύνω στον καθηγητή κο Χανιώτη Δημήτριο, ως μέλος της εξεταστικής επιτροπής, ο οποίος αφιέρωσε τον χρόνο του προκειμένου να πραγματοποιηθεί η εξέταση της διπλωματικής μου εργασίας.

Πίνακας περιεχομένων

Συντμήσεις:	9
Περίληψη:.....	11
Κεφάλαιο 1 ^ο : Ελονοσία.....	13
Κεφάλαιο 1.1: Κύκλος ζωής <i>Plasmodium</i> spp.	13
Κεφάλαιο 1.2: Η παθογένεση της ελονοσίας.	14
Κεφάλαιο 1.3: Τα διάφορα είδη <i>Plasmodium</i> spp. που μολύνουν τον άνθρωπο.	15
Κεφάλαιο 1.3.1: <i>P.falciparum</i>	16
Κεφάλαιο 1.3.2: <i>P. vivax</i>	18
Κεφάλαιο 1.3.3: <i>P.ovale</i>	19
Κεφάλαιο 1.3.4: <i>P.malariae</i>	19
Κεφάλαιο 1.3.5: <i>P. knowlesi</i>	20
Κεφάλαιο 1.4: Η συσχέτιση του DARC με την ελονοσία.....	20
Κεφάλαιο 1.5: Σπλήνας και ελονοσία.	21
Κεφάλαιο 1.5.1: Σπλήνας – Οξεία ελονοσία.	22
Κεφάλαιο 1.5.2: Σπλήνας – Χρόνια ελονοσία.....	22
Κεφάλαιο 1.6: Εγκεφαλική ελονοσία – CM.....	23
Κεφάλαιο 1.6.1: Κλινικές εκδηλώσεις CM στα παιδιά και στους ενήλικες.....	23
Κεφάλαιο 1.6.2: Παθογένεση της CM.	24
Κεφάλαιο 2 ^ο : PLTs.....	25
Κεφάλαιο 2.1: Η δημιουργία των PLTs.	26
Κεφάλαιο 2.2: PLTs και Ανοσοποιητικό σύστημα.	26
Κεφάλαιο 2.2.1: PLTs και έμφυτες ανοσοαποκρίσεις.	27
Κεφάλαιο 2.2.2: PLTs και επίκτητες ανοσοαποκρίσεις.	28
Κεφάλαιο 3 ^ο : PLTs Αιμοπετάλια στην εξέλιξη της ελονοσίας.	29
Κεφάλαιο 3.1: PLTs και περιορισμός της ελονοσίας.	30
Κεφάλαιο 3.1.1: Ο υποδοχέας CD36 στην ελονοσία.	31
Κεφάλαιο 3.1.2: Ο PF4 στην ελονοσία.	33

Κεφάλαιο 3.2: Η θρομβοκυτταροπενία κατά την ελονοσία.	38
Κεφάλαιο 3.3: Ο ρόλος της αναλογίας PLTs:RBCs κατά την εισβολή του <i>P.falciparum</i> στα RBCs.	39
Κεφάλαιο 3.4: PLTs – Ενδοθηλιακά κύτταρα – Ελονοσία.	42
Κεφάλαιο 3.4.1: Ο παράγοντας VWF στην ελονοσία.....	42
Κεφάλαιο 3.4.2: Δράση ADAMTS13 έναντι του UL-VWF στην ελονοσία.....	43
Κεφάλαιο 3.4.3: Ο καταρράκτης της πήξης στην ελονοσία.....	43
Κεφάλαιο 3.4.4: Η οδός της πρωτεΐνης C στην ελονοσία.....	44
Κεφάλαιο 3.5: Τα PLTs και η συσχέτιση με τον μηχανισμό APR.....	45
Συζητήσεις – Συμπεράσματα:	47
Βιβλιογραφία:.....	49

Συντμήσεις:

APR: Acute Phase Response – Απόκριση Οξείας Φάσης

CD36: Cluster Determinant 36 – Σύμπλεγμα διαφοροποίησης 36

CM: Cerebral Malaria - Εγκεφαλική Ελονοσία

CR1: Complement Receptor 1 - Υποδοχέας συμπληρώματος 1

CSA: Chondroitin Sulfate A - Θεϊκή χονδροϊτίνη A

CXCR3: CXC Chemokine Receptor 3 –

CXC υποδοχέας χημειοκίνης 3

DARC: Duffy Antigen Receptor for Chemokines – Αντιγονικός υποδοχέας για χημειοκίνες

DBP: Duffy Binding Protein – Συνδετική πρωτεΐνη Duffy

EPCR: Endothelial Protein C Receptor – Υποδοχέας της ενδοθηλιακής πρωτεΐνης C

ICAM-1: Intercellular Adhesion Molecule 1 - Μόριο ενδοκυτταρικής προσκόλλησης 1

IL-1β : Interleukin-1β - Ιντερλευκίνης-1 βήτα

KAHRP: Knob-Associated Histidine-Rich Protein - Πρωτεΐνη Knob πλούσια σε ιστιδίνη

LFA-1: Lymphocyte Function-associated Antigen 1 - Αντιγόνο σχετιζόμενο με τη λειτουργία των λεμφοκυττάρων 1

LPS: Lipopolysaccharides - Λιποπολυσακχαρίτης

PF4: Platelet Factor 4 – Παράγοντας Αιμοπεταλίων 4

PfEMP1: Plasmodium falciparum Erythrocyte Membrane Protein 1- Μεμβρανική Πρωτεΐνη 1 των Ερυθροκυττάρων

PLT: Platelet, Αιμοπετάλιο

RBC: Red Blood Cell – Ερυθρό Αιμοσφαίριο

RIFIN: Repetitive Interspersed- Επαναλαμβανόμενες διάσπαρτες οικογένειες πολυπεπτιδίων

SAA: Amyloids A - Αμυλοειδή A

SAP: Amyloids P - Αμυλοειδή P

STEVOR: Subtelomeric Variable Open Reading - Υποτελομερές μεταβλητό ανοικτό πλαίσιο ανάγνωση

SURFIN: Surface-associated Interspersed

TGF-β: Transforming Growth Factor- β – Αυξητικός παράγοντας μετασχηματισμού β

TLRs: Toll-Like Receptors - υποδοχείς τύπου Toll

TSP: Thrombospondin – Θρομβοσπονδίνη

WBCs: White Blood Cells – Λευκά αιμοσφαίρια

Περίληψη:

Μια από τις κύριες λειτουργίες του αίματος είναι η διατήρηση της ομοιόστασης στους ιστούς και η ελαχιστοποίηση των βλαβών που μπορεί να επέλθουν ύστερα από τη λύση της συνέχειας του δέρματος - των αγγείων. Αυτό επιτυγχάνεται μέσω της αιμόστασης που είναι μια φυσιολογική διαδικασία και επιτρέπει τον σχηματισμό θρόμβου στο σημείο της βλάβης του αγγείου, με στόχο την αποφυγή περαιτέρω απώλειας αίματος Ένας από τους παράγοντες που συμμετέχει στις παραπάνω λειτουργίες είναι τα αιμοπετάλια (PLTs), τα οποία διαδραματίζουν ουσιαστικό ρόλο και σε άλλους μηχανισμούς των ανθρωπίνων λειτουργιών, με θετικές ή αρνητικές συνέπειες. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον φαίνεται να έχει η συμμετοχή των PLTs στην ελονοσία, νόσος που χαρακτηρίζεται ως παγκόσμιο υγειονομικό πρόβλημα.

Η ελονοσία είναι μια παρασιτική λοίμωξη που οφείλεται στα παράσιτα του γένους *Plasmodium* και μεταδίδεται από τα κουνούπια Anopheles. Η παρασιτική αυτή λοίμωξη οδηγεί σε νόσο που μπορεί να χαρακτηριστεί ως παγκόσμια απειλή για την υγεία. Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (ΠΟΥ) το 2018 ανακοίνωσε πως περίπου 228 εκατομμύρια άνθρωποι προσβλήθηκαν από το παράσιτο και καταγράφηκαν 405.000 θάνατοι παγκοσμίως. Η Αφρική αποτελεί την πιο ενδημική περιοχή και κατά συνέπεια παρουσιάζει τη μεγαλύτερη θνητότητα.

Ο κύκλος ζωής του παρασίτου είναι περίπλοκος και αυτό δυσχεραίνει την προσπάθεια περιορισμού και εξάλειψης της νόσου. Τα τελευταία χρόνια στο μικροσκόπιο των ερευνών βρίσκονται τα PLTs, που φαίνεται να έχουν πολυπαραγοντικό ρόλο συμβάλλοντας είτε θετικά είτε αρνητικά στην εξέλιξη της ελονοσίας. Κατά τη διάρκεια της λοίμωξης τα PLTs εκκρίνουν τον παράγοντα αιμοπεταλίων 4 (PF4), ο οποίος σε συνεργασία με τον αντιγονικό υποδοχέα για χημειοκίνες (DARC) εισβάλλει στα μολυσμένα ερυθρά αιμοσφαίρια (RBCs) και σκοτώνει τα ενδοερυθροκυτταρικά παράσιτα. Τα PLTs, από την άλλη πλευρά μπορούν να ασκήσουν και προ-φλεγμονώδη δράση, με αποτέλεσμα να συσσωρεύονται και να προκαλούν μια σειρά επιπλοκών που είναι κρίσιμες για τη ζωή. Ένα από τα πρώτα σημάδια λοίμωξης από ελονοσία είναι η μείωση της συγκέντρωσης των PLTs στο περιφερικό αίμα, που κλινικά αναφέρεται ως θρομβοκυτταροπενία. Για το λόγο αυτό, οι μηχανισμοί δράσης των PLTs κατά τη διάρκεια της μόλυνσης, έχουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον, με την επιστημονική κοινότητα να στοχεύει στον προστατευτικό τους ρόλο, με σκοπό τον έλεγχο της παρασιταϊμίας.

Abstract:

Blood plays an important role in regulating the body's systems and maintaining hemostasis. Hemostasis is the mechanism that leads to cessation of bleeding from a blood vessel. It is a process that involves multiple interlinked steps. Platelets play pivotal role in hemostasis, a process which is well-investigated. When a vascular injury occurs, circulating platelets are arrested at the site of damage, where they are activated and aggregate to form hemostatic thrombi, thus preventing further bleeding. Apart from hemostasis platelets have multifactorial roles in the pathogenesis of malaria, which is characterized as a global health problem.

Malaria is a parasitic infection, caused by parasites of the genus Plasmodium and transmitted by Anopheles mosquitoes. This parasitic infection leads to an acute life-threatening disease and can be described as a global health threat. In 2018, the World Health Organization (WHO) announced that approximately 228 million people were infected with the parasite and were recorded 405,000 deaths worldwide, with Africa being the most endemic region as well as having the highest mortality.

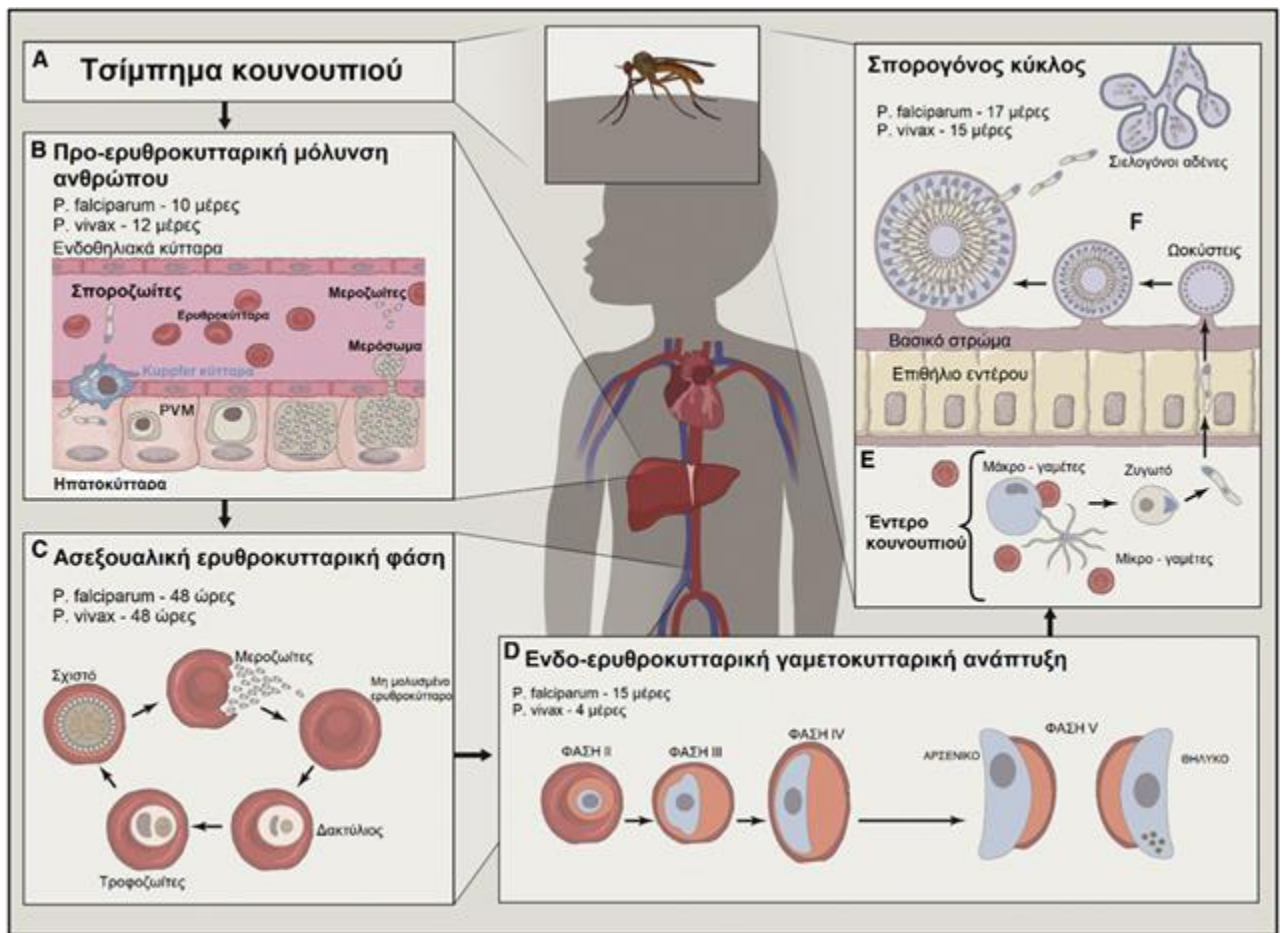
The life cycle of the parasite is complex and this makes it difficult to reduce and eliminate the disease. During infection, platelet factor 4 (PF4) is released by platelets and in conjunction with the duffy antigen receptor for chemokines (DARC) invades into infected red blood cells (RBCs), in order to kill intracellular parasites. On the other hand, platelets can also exert pro-inflammatory effect, accumulate and cause a number of complications that are critical to the patient's life. One of the first signs of malaria infection is a decrease in the concentration of platelets in the blood, which is clinically referred as thrombocytopenia. The underlying mechanisms of the involvement of platelets during infection are of particular interest, thus researchers have focused on protective role in order to manage the malaria.

Κεφάλαιο 1^ο: Ελονοσία.

Η ελονοσία είναι ένα παρασιτικό νόσημα τροπικών και υποτροπικών περιοχών. Χαρακτηρίζεται ως μια από τις πιο θανατηφόρες ασθένειες που πλήττουν τον ανθρώπινο πληθυσμό και εντοπίζεται σε 91 χώρες παγκοσμίως.[1] Τα παράσιτα της ελονοσίας είναι μονοκύτταροι ευκαρυωτικοί οργανισμοί που μεταδίδονται μέσω του δαγκώματος ενός μολυσμένου κουνουπιού *Anopheles* και εισάγονται στον ξενιστή. Ωστόσο, υπάρχουν και άλλες οδοί μετάδοσης, όμως λιγότερο συνηθισμένες, όπως είναι η διαπλακουντιακή μετάδοση από τη μητέρα στο έμβρυο και οι λανθασμένοι χειρισμοί κατά τη διάρκεια της μετάγγισης αίματος.[2]

Κεφάλαιο 1.1: Κύκλος ζωής *Plasmodium spp.*

Το *Plasmodium spp.* διαθέτει ένα σύνθετο κύκλο ζωής που εναλλάσσεται μεταξύ θηλυκών κουνουπιών του γένους *Anopheles* και σπονδυλωτών ξενιστών με στόχο το σχηματισμό μοναδικών μορφών ζωοειδών που εισβάλουν σε διαφορετικούς τύπους κυττάρων σε συγκεκριμένα στάδια. (ΕΙΚΟΝΑ 1)



ΕΙΚΟΝΑ 1: Κύκλος ζωής *Plasmodium spp.*

(A) Μόλυνση ανθρώπου από τσίμπημα κουνουπιού, μολυσμένου από το *Plasmodium spp.*

- (B) Προ-ερυθροκυτταρική σχιζογονία
 - (C) Ερυθροκυτταρική σχιζογονία
 - (D) Ανάπτυξη γαμετοκυττάρων στο μυελό των οστών
 - (E) Δημιουργία ζυγωτού στο έντερο επόμενου προσβεβλημένου από το παράσιτο κουνουπιού.
 - (F) Ρήξη ωοκύστεις και απελευθέρωση σποροζωιτών στην κυκλοφορία του αίματος.
- ΑΝΑΔΗΜΟΣΙΕΥΣΗ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΗΓΗ [2]**

Ο κύκλος της ελονοσίας ξεκινάει όταν από ένα θηλυκό κουνούπι του γένους *Anopheles*, το οποίο με έγχυση εναποθέτει σποροζωίτες στο χόριο του ξενιστή. Έπειτα οι κινητοί σποροζωίτες εισέρχονται στα αγγεία και μεταφέρονται στο ήπαρ, όπου εξέρχονται από τα κολποειδή μέσω των κυττάρων *Kupffer* ή των ενδοθηλιακών κυττάρων και φτάνουν στα ηπατοκύτταρα. Μέσα στα ηπατοκύτταρα σχηματίζουν μια μεμβράνη κενού (PVM) και υποβάλλονται σε σχιζογονία έως ότου μετατραπούν στις αναπαραγωγικές εξωερυθροκυτταρικές μορφές και απελευθερωθούν οι δεκάδες χιλιάδες θυγατρικοί μεροζωίτες στο αγγειακό σύστημα. Ακολούθως οι μεροζωίτες εισβάλλουν στα RBCs και ξεκινούν έναν κύκλο ασεξουαλικής σχιζογονίας, στην κυκλοφορία του αίματος. Ένα ποσοστό μεροζωιτών μετασχηματίζεται μέσα στα RBCs σε αρσενικά και θηλυκά γαμετοκύτταρα. Σε μια περίοδο 15 ημερών, τα γαμετοκύτταρα απομονώνονται και αναπτύσσονται εντός του μυελού των οστών και μόλις ωριμάσουν, εισέρχονται στην περιφερειακή κυκλοφορία με στόχο την κατάποση από ένα άλλο κουνούπι. Στο νέο κουνούπι που έχει μολυνθεί, αυτά εμφανίζονται ως εξωκυτταρικά αρσενικά και θηλυκά γαμετοκύτταρα. Επέρχεται το ζευγάρι τους που συμβαίνει με τη σύντηξη μικρο- και μακρο- γαμετών ώστε να σχηματιστεί το ζυγωτό, το οποίο μετασχηματίζεται σε 24 ώρες σε ωοκινέτη. Ο ωοκινέτης έπειτα, μεταναστεύει μέσω του επιθηλίου του κουνουπιού για να γίνει ωοκύστη. Με τον κύκλο να ολοκληρώνεται όταν η ωοκύστη υφίσταται ρήξη και οι κινητοί σποροζωίτες απελευθερώνονται στο περιφερικό αίμα και περνούν στους σιελογόνους αδένες, όπου μπορούν να εγχυθούν στον επόμενο ανθρώπινο ξενιστή.[2] Σε ορισμένα είδη, όπως το *P. vivax*, ένα κλάσμα των παρασίτων μέσα στα ηπατοκύτταρα δεν αναπαράγονται αμέσως μετά την εισβολή αλλά, αντ' αυτού, παραμένουν αδρανή και ονομάζονται υποζωίτες. Η ενεργοποίηση των υποζωιτών εβδομάδες ή μήνες μετά το μολυσματικό τσίμπημα του κουνουπιού μπορεί να οδηγήσει σε υποτροπές της νόσου.[3]

Κεφάλαιο 1.2: Η παθογένεση της ελονοσίας.

Στην ελονοσία χαρακτηριστική είναι η ενδοαγγειακή λοίμωξη, όπου τα συμπτώματα της εντοπίζονται με την εμφάνιση μολυσμένων RBCs στην κυκλοφορία των ξενιστών και εν συνεχεία την καταστροφή τους και απελευθέρωση των παρασίτων. Οι περίοδοι επώασης είναι συνήθως 10-14 ημέρες για *P. falciparum* ή *P. knowlesi*, 2-3 εβδομάδες για *P. vivax* και *P. ovale*, και 18 ημέρες ή και περισσότερο για *P. malariae*. Ωστόσο μπορεί να υπάρξει παραλλαγή, παραδείγματος χάριν ορισμένα στελέχη του *P. vivax* μπορεί να εμφανίσουν περίοδο αρχικής επώασης 3-6 μηνών. Ακόμη, περιγράφονται πυρετικοί παροξυσμοί σε διαστήματα που αντιστοιχούν στο μήκος του ερυθροκυτταρικού κύκλου των

μολυσματικών ειδών, δηλαδή πυροδοτούνται κατά την ερυθροκυτταρική φάση του πλασμοδίου και την απελευθέρωση των παρασίτων στο περιφερικό αίμα.[4]

Πίνακας 1: Τύποι πυρετού με βάση το υπεύθυνο πλασμώδιο.[4]

Είδος πλασμοδίου	Τύπος πυρετού		
	Καλοήθης τριταίος	Κακοήθης τριταίος	Τεταρταίος
<i>P. vivax</i>	√		
<i>P. ovale</i>	√		
<i>P. falciparum</i>		√	
<i>P. malariae</i>			√

Τριταίος: πυρετικοί παροξυσμοί κάθε 48 ώρες.

Τεταρταίος: πυρετικοί παροξυσμοί κάθε 72 ώρες

Τα παράσιτα της ελονοσίας προκαλούν απελευθέρωση ορισμένων κυτταροκινών, φαίνεται λοιπόν να σχετίζεται με την απελευθέρωση της ιντερφερόνης γάμμα (INF-γ), του παράγοντα νέκρωσης όγκου (TNF), της ιντερλευκίνης-1 βήτα (IL-1β) και της ιντερλευκίνης-6 (IL-6). Η απελευθέρωση των κυτταροκινών ως απάντηση σε συγκεκριμένα παρασιτικά αντιγόνα και άλλα τμήματα του παρασίτου που είναι υπό την μορφή λιπιδίου ή πρωτεΐνης αφορούν άμεσα την παθογένεση της νόσου. Παρατηρείται ένα φαινόμενο κατά το οποίο μη μολυσμένα RBCs συνδέονται με ένα μολυσμένο RBC και εμφανίζεται σχηματισμός σε μορφή ροζέτας. Το φαινόμενο αυτό βρέθηκε να σχετίζεται με τη σοβαρή ελονοσία και εντοπίζεται σε όλα τα είδη *Plasmodium* που έχουν μελετηθεί μέχρι τώρα. Επιπλέον, η συσσώρευση πολλών συστάδων μολυσμένων RBCs σε τριχοειδή ζωτικά όργανα όπως ο εγκέφαλος, ο πλακούντας, οι πνεύμονες και οι νεφροί, αποτελεί χαρακτηριστικό γνώρισμα της νόσου και οδηγεί στη διακοπή της λειτουργίας των οργάνων αυτών.[5]

Η αναιμία είναι ένα ακόμη κοινό χαρακτηριστικό της ελονοσίας, πολυπαραγοντικής συνήθως προέλευσης με την απώλεια RBCs ως την κύρια αιτία σε οξείες λοιμώξεις καθώς ο σπλήνας φιλτράρει τόσο τα μολυσμένα όσο και τα κατεστραμμένα μη μολυσμένα RBCs. Έτσι μπορεί να εμφανίζεται ενδοαγγειακή αιμόλυση σε ένα βαθμό που μπορεί να είναι μεγάλης έκτασης. Φαίνεται επίσης να υπάρχει καταστολή του μυελού των οστών και δυσερυθροποίηση.[5]

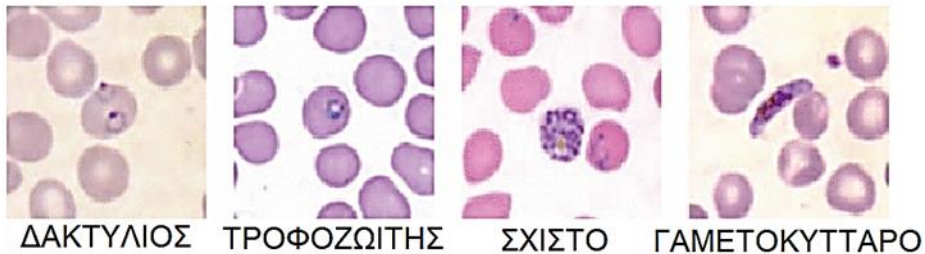
Κεφάλαιο 1.3: Τα διάφορα είδη *Plasmodium spp.* που μολύνουν τον άνθρωπο.

Από τα 120 είδη *Plasmodium*, ορισμένα είδη μπορούν να μολύνουν ερπετά, πουλιά ή θηλαστικά όπως τρωκτικά ή πιθήκους, εκτός του ανθρώπου, και όλα έχουν παρόμοιους κύκλους ζωής. Όσον αφορά το ανθρώπινο είδος, η ελονοσία προκαλείται από έξι είδη παρασίτων που ανήκουν στο γένος *Plasmodium*: *P.falciparum*, *P.vivax*, *P. ovale curtisi* και *P.ovale wallikeri*, *P.malariae*, *P.knowlesi*.

Κεφάλαιο 1.3.1: *P.falciparum*.

Το *P. falciparum* τροποποιεί την επιφάνεια των μολυσμένων RBCs απομακρύνοντας έτσι το παράσιτο από την κυκλοφορία για σχεδόν το ήμισυ του ασεξουαλικού κύκλου ζωής. Το παράσιτο εμφανίζεται σε τέσσερα στάδια στο περιφερικό αίμα, αυτά τα στάδια προσδιορίζονται με βάση την εμφάνιση τους στο κυτταρόπλασμα των RBCs και τις χρωματίνες τους. Παίρνουν διαφορετικές μορφές, όπως δακτυλοειδή, τροφοζώιτη, σχιστού και γαμετοκυττάρου, ανάλογα με το είδος και το στάδιο του παρασίτου. **(ΕΙΚΟΝΑ 2)** Η σύνδεση των μολυσμένων RBCs μπορεί να πραγματοποιηθεί με το ενδοθήλιο, τα PLTs ή τα μη μολυσμένα RBCs με τη βοήθεια της μεμβρανικής πρωτεΐνης 1 των ερυθροκυττάρων (PfEMP1).[6]

ΕΠΙΧΡΙΣΜΑ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ

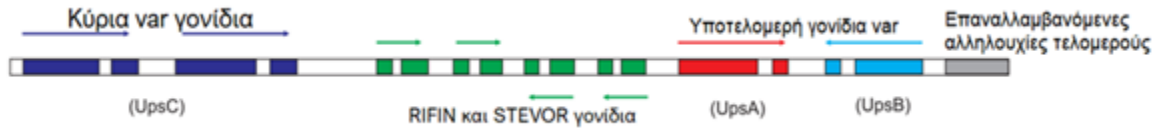


ΕΙΚΟΝΑ 2: *P.falciparum*: Στάδια που εντοπίζονται στο περιφερικό αίμα. **ΑΝΑΔΗΜΟΣΙΕΥΣΗ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΗΓΗ.[7]**

Η PfEMP1 είναι μια οικογένεια πρωτεϊνών υψηλού μοριακού βάρους (περίπου 200-450 kD), που βρίσκεται στην επιφάνεια της μεμβράνης των μολυσμένων από το *P. falciparum* RBCs. Η PfEMP1 εξάγεται από το παράσιτο, εκφράζεται σε συστάδες και λειτουργεί ως μεσολαβητής στην προσκόλληση σε διάφορους υποδοχείς που εκφράζονται στα RBCs, στα PLTs, στο επενδυτικό ενδοθήλιο του μικροαγγειακού συστήματος. Οι PfEMP1s κωδικοποιούνται από την οικογένεια γονιδίων var και χαρακτηρίζεται ως κείρας σημασίας στην παθογένεση της ελονοσίας.[6]

Όσον αφορά την οικογένεια γονιδίων var, κωδικοποιεί πρωτεΐνες 200-350 kDa που διαθέτουν ιδιότητες αντιγονικά παραλλαγμένων μορίων προσκόλλησης. Υπάρχουν περίπου 60 αντίγραφα των γονιδίων var ανά γονιδίωμα παρασίτων και είναι διαφορετικά εντός και μεταξύ κλώνων παρασίτων, πράγμα που του προσδίδει τεράστια ποικιλομορφία. Αποτελούνται από δύο εξόνια, όπου το πρώτο κωδικοποιεί το εξωκυττάριο τμήμα των πρωτεϊνών, ενώ το δεύτερο κωδικοποιεί τη βραχεία διαμεμβρανική περιοχή και το

ενδοκυτταρικό τμήμα. Τα γονίδια var στις κεντρικές περιοχές των χρωμοσωμάτων μπορούν να υπάρχουν είτε μεμονωμένα είτε σε ομάδες που είναι διατεταγμένες σε παράλληλες συστοιχίες με τρία έως επτά γονίδια var. Κάθε άκρο χρωμοσώματος περιέχει ένα έως τρία γονίδια var που ακολουθούνται από μια ομάδα οικογενειών RIFIN, STEVOR και άλλων γονιδίων.[8] **(ΕΙΚΟΝΑ 3)**

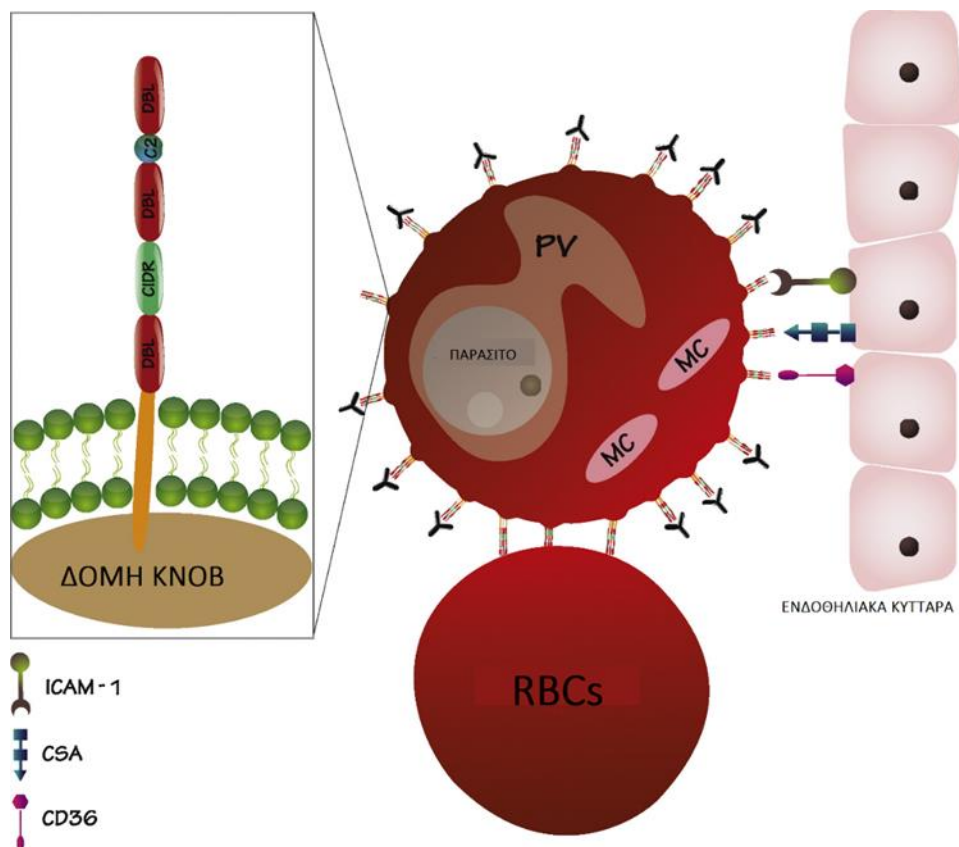


ΕΙΚΟΝΑ 3: Σχηματική αναπαράσταση των γονιδίων var, rif και stevor στο χρωμόσωμα 3 του *P.falciparum*. **ΑΝΑΔΗΜΟΣΙΕΥΣΗ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΗΓΗ[8]**

Το *P. falciparum* χαρακτηρίζεται ως ένα από τα πιο θανατηφόρα παράσιτα στη γη που προκαλεί την ελονοσία του ανθρώπου, με κεντρικό στοιχείο της παθογονικότητας και της νοσηρότητας του παρασίτου να είναι η αλλαγή της γονιδιακής έκφρασης των γονιδίων var. Η αλλαγή αυτή είναι μια διαδικασία που ακολουθεί ο μολυσματικός οργανισμός προκειμένου να επιβιώσει και καλείται αντιγονική παραλλαγή. Έτσι το παράσιτο καταφέρνει να ξεφεύγει από το ανοσοποιητικό σύστημα του ξενιστή και έχει την δυνατότητα να προκαλέσει επαναμόλυνση λόγω της υψηλής αντιγονικής μεταβλητότητας του. Η ρύθμιση της έκφρασης του γονιδίου *Plasmodium* var είναι ελάχιστα κατανοητή, με αποτέλεσμα ο πολύπλοκος κύκλος ζωής του *Plasmodium* και το αμοιβαία αποκλειστικό μοτίβο έκφρασης var γονιδίων να καθιστούν αυτήν την ασθένεια δύσκολη στο να ελεγχθεί. [6]

Ανεξάρτητα από τη μεταβλητότητα της νόσου, η προσωρινή απομάκρυνση του παρασίτου από την κυκλοφορία μέσω της δέσμευσης της επιφάνειας των RBCs συμβαίνει κατά τη διάρκεια κάθε ανθρώπινης λοίμωξης για το ήμισυ του ασεξουαλικού κύκλου ζωής. Επομένως, σε μια λοίμωξη χαμηλού παρασιτικού φορτίου στην οποία ένα μόνο δάγκωμα κουνουπιών έχει εισαγάγει ένα μοναδικό είδος του παρασίτου, οι ασθενείς μπορεί να παρουσιάσουν αρνητικά επιχρίσματα περιφερικού αίματος. Αυτό μπορεί να ισχύει ιδιαίτερα για τους ταξιδιώτες ή τους κατοίκους χαμηλών ενδημικών περιοχών. Σε εξαιρετικά ενδημικές περιοχές ωστόσο, οι ασθενείς που έρχονται σε επαφή επανειλημμένα με το παράσιτο, μπορούν να παρουσιάσουν συνεχή πυρετό και ταυτόχρονα θετικό επίχρισμα περιφερικού αίματος κατά τις πρώτες δεκαετίες της ζωής.[9]

Όταν το παράσιτο εισβάλλει στο RBC, τροποποιεί την μορφολογία του με σκοπό να μπορεί έπειτα να προσκολλάται. Η PfEMP1 αποδείχθηκε ότι είναι ένα βασικό μόριο, μέσα από το οποίο επιτυγχάνεται η κυτταρική προσκόλληση των μολυσμένων RBCs τόσο με μη μολυσμένα κύτταρα, σχηματίζοντας ροζέτες, όσο και με το ενδοθήλιο. Οι μεταβλητές εξωκυττάρειες περιοχές της PfEMP1 έχουν την ικανότητα να δεσμεύονται σε μια ποικιλία υποδοχέων ξενιστών όπως το σύμπλεγμα διαφοροποίησης 36 (CD36), το μόριο ενδοκυτταρικής προσκόλλησης 1 (ICAM-1), η θρομβοσποδίνη (TSP), ο υποδοχέας συμπληρώματος-1 (CR1) και η θειική χονδροϊτίνη A (CSA).[6] **(ΕΙΚΟΝΑ 4)**



ΕΙΚΟΝΑ 4 : Η PfEMP1 προκαλεί προσκόλληση του μολυσμένου RBC. Η PfEMP1 εκφράζεται από το παράσιτο της ελονοσίας *P.falciparum* στις προεκβολές που σχηματίζονται στην επιφάνεια των μολυσμένων ερυθροκυττάρων. Οι μεταβλητές εξωκυτταρικές περιοχές DBL και CIDR προκαλούν προσκόλληση μέσω σύνδεσης σε αρκετούς ενδοθηλιακούς υποδοχείς όπως CD36, ICAM1 και CSA. Επιπλέον, η PfEMP1 προκαλεί προσκόλληση σε μη μολυσμένα ερυθροκύτταρα που σχηματίζουν ροζέτες. **ΑΝΑΔΗΜΟΣΙΕΥΣΗ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΗΓΗ [6]**

Εξαιρετικά ενδιαφέρον εύρημα αποτελεί το γεγονός ότι σε ορισμένες αιμοσφαιρινοπάθειες επηρεάζεται η προσκόλληση της PfEMP1, προσδίδοντας αντίσταση στις διάφορες εκδηλώσεις της νόσου. Για παράδειγμα, τα μολυσμένα RBCs που φέρουν την αιμοσφαιρίνη C (HbC) φάνηκε να εμφανίζουν ανώμαλο σχηματισμό και μειωμένα μόρια της PfEMP1 στην επιφάνειά τους. Οδηγώντας έτσι στην μειωμένη ικανότητά τους να σχηματίζουν ροζέτες και να δεσμεύουν CD36 και ICAM1.[6]

Κεφάλαιο 1.3.2: *P. vivax*.

Το *P.vivax* είναι το πιο κοινό παράσιτο της ελονοσίας που προκαλεί κλινική νόσο εκτός της Αφρικής. Σε αντίθεση με το *P.falciparum*, αλλά όπως όλα τα άλλα παράσιτα της ελονοσίας του ανθρώπου, το *P.vivax* δεν εμφανίζει παρατεταμένη περίοδο δέσμευσης

κατά τη διάρκεια της μόλυνσης. Έτσι μπορούμε να συμπεράνουμε πως η μεταφορά του στον σπλήνα είναι πιο άμεση και η μικροσκοπική παρατήρηση του παρασίτου σε ένα επίχρισμα περιφερικού αίματος κατά τη διάρκεια της μόλυνσης συχνότερη. Χαρακτηριστικό γνώρισμα του *P.vivax* είναι η παρουσία δακτυλιοειδών μορφών, ενώ εισβολή του στα RBCs γίνεται κυρίως παρουσία του αντιγόνου Duffy. Εμφανίζεται χαμηλότερο επίπεδο παρασιταϊμίας από αυτό που παρατηρείται στην *P.falciparum*, λόγω της ιδιαιτερότητας του παρασίτου να προσβάλλει κυρίως τα δικτυοερυθροκύτταρα και λιγότερο τα ώριμα RBCs. Σε ένα επίχρισμα περιφερικού αίματος τα μολυσμένα κύτταρα εμφανίζονται μεγαλύτερα από τα υπόλοιπα κύτταρα, ενώ ταυτόχρονα παρατηρούνται χαρακτηριστικές κουκίδες του Schuffner στα μολυσμένα RBCs οι οποίες είναι κοινές και στην μόλυνση από το *P.ovale*. [9]

Όσον αφορά την κλινική εικόνα των ασθενών, αυτή είναι σχεδόν όμοια με άλλες λοιμώξεις από την ελονοσία. Σε αντίθεση με τα *P.falciparum* και *P.malariae*, τα *P.vivax* και *P.ovale* μπορεί να «ξαναεμφανιστούν» αφού υπάρχουν υπό τη μορφή των υπνοζωιτών. Οι υπνοζωίτες μπορούν να χαρακτηριστούν ως οι ήρεμες μορφές που υπάρχουν για μήνες έως χρόνια στο ήπαρ και από μία μόνο έκθεση σε σποροζωίτες μπορούν να απελευθερώνουν μεροζωίτες. Έτσι, ο κλινικός συγχρονισμός μιας ασθένειας θα μπορούσε να συμβάλει στην διαφορική διάγνωση μεταξύ αυτών των οργανισμών. [9]

Κεφάλαιο 1.3.3: *P.ovale*.

Το *P.ovale* φαίνεται ότι διαθέτει δύο ξεχωριστά είδη (*P.ovale curtisi* και *P.ovale wallikeri*), τα οποία διαφέρουν μόνο στις γενετικές αλληλουχίες και με το *P.ovale wallikeri* να έχει μικρότερη λανθάνουσα περίοδο. Η δυνατότητα διάκρισης μεταξύ των δυο ειδών είναι σχεδόν αδύνατη, ωστόσο παρουσιάζονται με τα ίδια κλινικά συμπτώματα και ανταποκρίνονται στην ίδια θεραπεία. Αν και το *P.vivax* έχει παρόμοια συμπεριφορά με το *P.ovale*, το δεύτερο δεν απαιτεί το αντιγόνο της ομάδας αίματος Duffy για να εισβάλει στα RBCs. Κατά την μικροσκοπική παρατήρηση στο επίχρισμα περιφερικού αίματος, ο τροφοζωΐτης του *P.ovale* εντοπίζεται υπό την χαρακτηριστική μορφή κομήτη, εικόνες κατατοπιστικές που συμβάλουν στη διάγνωση. Ο κύκλος ζωής του παρασίτου και συγκεκριμένα τα στάδια του δακτυλίου, των σχιστών και των γαμετοκυττάρων του *P.ovale* είναι παρόμοια με του *P.vivax*. [9]

Κεφάλαιο 1.3.4: *P.malariae*.

Το *P.malariae* είναι η πιο καλοήθης μορφή λοίμωξης από ελονοσία και έχει πολλά διαφορετικά κλινικά χαρακτηριστικά. Οι ασθενείς εμφανίζουν πυρετό κάθε 72 ώρες κατά τη διάρκεια μιας λοίμωξης λόγω του μεγαλύτερου κύκλου ζωής των παρασίτων. Ο αριθμός των μεροζωϊτών που παράγονται με κάθε ρήξη του σχιστού είναι μικρότερος και, επομένως, οι παρασιταϊμίες είναι γενικά χαμηλότερες σε αυτούς τους ασθενείς σε σύγκριση με άλλους τύπους ελονοσίας. Αυτός ο μακρύς κύκλος ζωής και το χαμηλό επίπεδο μόλυνσης οδηγούν σε πιο ισχυρή ανοσοαπόκριση. Έτσι, η *P.malariae* θεωρείται

συχνά ότι προκαλεί χρόνια ελονοσία που μπορεί να διαρκέσει δεκαετίες. Ένα μοναδικό αποτέλεσμα της *P.malariae*. είναι η εναπόθεση ανοσοσυμπλεγμάτων στους νεφρούς που μπορούν να οδηγήσουν σε νεφρίτιδα. Στο επίχρισμα περιφερικού αίματος, το παράσιτο δείχνει την κλασική και διαγνωστική ταινιοειδή μορφή καθώς και ένα σχιστό με λίγους μεροζώιτες και ένα κεντρικό σφαιρίδιο χρωστικής (χρυσού χρώματος) σε μορφή «μαργαρίτας».[9]

Κεφάλαιο 1.3.5: *P. knowlesi*.

Η κατανομή του *P.knowlesi* είναι περιορισμένη και εντοπίζεται κυρίως στη Μαλαισία, την Ινδονησία και το Βόρνεο. Οι λοιμώξεις του *P.knowlesi* προκαλούν ένα φάσμα ασθενειών και είναι δυνητικά θανατηφόρες, αλλά αν εντοπιστούν αρκετά νωρίς, οι λοιμώξεις στον άνθρωπο μπορούν να αντιμετωπιστούν εύκολα. Απαιτείται έκθεση σε κουνούπια που τρέφονται με μακάκους μακράς ουράς (*M. fascicularis*) και χοίρους (*Macaca nemestrina*), καθώς δεν έχει αναφερθεί μετάδοση από άνθρωπο σε άνθρωπο (μέσω κουνουπιών).[9]

In vitro εργασία έχει δείξει ότι τα παράσιτα προτιμούν νεαρά RBCs, αλλά μπορεί, με την πάροδο του χρόνου, να προσαρμοστούν για να μολύνουν τα μεγαλύτερα ανθρώπινα RBCs. Η ασθένεια εμφανίζεται όπως σε άλλους τύπους ελονοσίας με πυρετό, ρίγη και πονοκέφαλο με ασυνήθιστα χαρακτηριστικά όπως ναυτία, έμετος, μυαλγία, αρθραλγία, συμπτώματα του ανώτερου αναπνευστικού και ίκτερος.[9]

Αν και σπάνιες, έχουν σημειωθεί θανατηφόρες επιπλοκές του *P.knowlesi* και σε μεγαλύτερη συχνότητα από ό, τι στα *P.vivax*. και *P.falciparum*. αναλογικά λόγω της νέας εμφάνισης στον άνθρωπο και της απουσίας επαρκούς χρόνου για την προσαρμοστικότητα του ανθρώπου.[9]

Κεφάλαιο 1.4: Η συσχέτιση του DARC με την ελονοσία.

Ο υποδοχέας αντιγόνου Duffy για χημειοκίνη (DARC) είναι ένας μη ειδικός υποδοχέας που αλληλοεπιδρά με αρκετές προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες. Έχει ομολογία με την υπερ-οικογένεια υποδοχέων που συνδέονται με την πρωτεΐνη G, η οποία ενεργοποιείται σε φλεγμονώδεις και προ-φλεγμονώδεις καταστάσεις. Στην ελονοσία, ο υποδοχέας DARC θεωρείται ένας κρίσιμος υποδοχέας που συμμετέχει στην είσοδο του παρασίτου στα κύτταρα στόχους. Αυτή η διαδικασία επιτυγχάνεται μέσω αλληλεπίδρασης της συνδετικής πρωτεΐνης Duffy (DBP) και του DARC.[10]

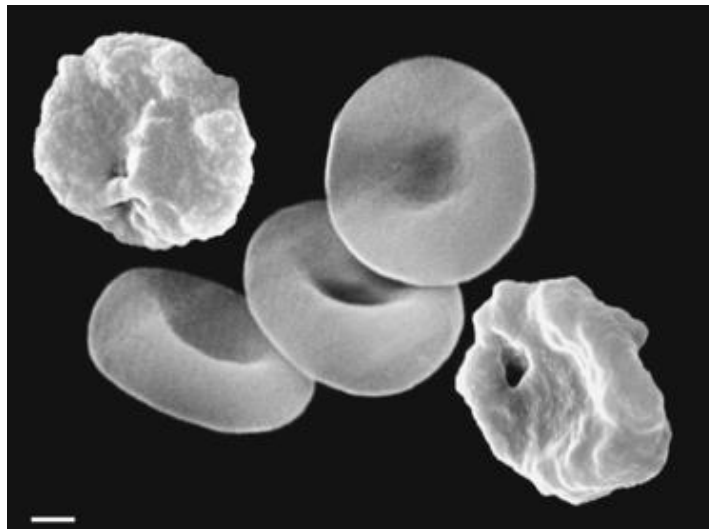
Ο υποδοχέας DARC ανήκει στην αντιγονική ομάδα αίματος Duffy ως δέκτης πολλών χημειοκινών και έχει μεγάλη κλινική σημασία σε πολλές ασθένειες. Έχει τη δυνατότητα να ρυθμίζει τις ποσότητες τοξικών χημειοκινών σε παθολογικές καταστάσεις. Η ρυθμιστική αυτή ικανότητα του υποδοχέα έχει αμφισβητηθεί και θεωρείται ότι μάλλον μεσολαβεί στην διακυττάρωση χημειοκινών και εν συνεχεία στην κατακράτηση ή αλλιώς στην αποθήκευσή τους στο εσωτερικό των κυττάρων. Επιπροσθέτως συμμετέχει στη

μετανάστευση ουδετερόφιλων σε φλεγμονώδεις περιοχές καθώς και στον τρόπο που επιδρούν οι προ φλεγμονώδεις χημειοκίνες στα ενδοθηλιακά κύτταρα.[10]

Για τη λοίμωξη από το *Plasmodium*, απαιτούνται συγκεκριμένες αλληλεπιδράσεις μεταξύ των RBCs του ξενιστή και των παρασίτων κατά το ασεξουαλικό στάδιο. Παραδείγματος χάρη, για το *P.vivax* η κρίσιμη αλληλεπίδραση είναι αυτή μεταξύ της DBP και του υποδοχέα DARC στα δικτυοερυθροκύτταρα. Επομένως αυτή η παρατήρηση μας οδηγεί στο συμπέρασμα πως άτομα DARC (-), δηλαδή άτομα που δεν διαθέτουν στην επιφάνεια των RBCs τους τον υποδοχέα DARC, είναι ανθεκτικά σε πιθανή μόλυνση από το *P.vivax*. Καθώς επίσης και άτομα που είχαν παλαιότερα νοσήσει μπορεί να κατέχουν αντισώματα αντι-DBP που αναστέλλουν την αλληλεπίδραση DBP-DARC και έτσι προστατεύονται σε περίπτωση που ξαναέρθουν σε επαφή με το παράσιτο. [11]

Κεφάλαιο 1.5: Σπλήνας και ελονοσία.

Ο ανθρώπινος σπλήνας ως βασικό όργανο του ανοσοποιητικού συστήματος και λόγω της χαρακτηριστικής δομής που διαθέτει μπορεί να ελέγχει την ποιότητα των RBCs. Ο όρος ποιότητα των ερυθρών σχετίζεται με το πόσο εύκαμπτα είναι τα RBCs και την τροποποίηση της μεμβράνης τους ή του κυτταροπλάσματος σε παθολογικές καταστάσεις. Για παράδειγμα τα ανώμαλα RBCs περιέχουν άκαμπτα έγκλειστα τμήματα, όπως τα σωμάτια Howell – Jolly, με αποτέλεσμα να μην μπορούν να περάσουν εύκολα από τις σχισμές και να οδηγούν σε παθολογικές καταστάσεις όπως η σπληνομεγαλία. **(ΕΙΚΟΝΑ 5)**



ΕΙΚΟΝΑ 5: Μικρογραφία σάρωσης φυσιολογικού RBC και μολυσμένου από το *P.falciparum* RBC. Τα τρία φυσιολογικά RBCs στο κέντρο φαίνονται κανονικά και λεία και έχουν αμφίκυρτη δομή. Αντίθετα, τα δύο περιφερειακά μολυσμένα RBCs έχουν ακανόνιστη και τραχιά επιφάνεια και έχουν χάσει την αμφίκυρτη δομή τους. (Κλίμακα παρατήρησης = 1 μm .) **ΑΝΑΔΗΜΟΣΙΕΥΣΗ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΗΓΗ [12]**

Αποτελείται από τον λευκό πολφό που σχετίζεται με την χυμική ανοσοαπόκριση, καθώς βρίσκεται κυρίως από T και B λεμφοκύτταρα και τον ερυθρό πολφό που περιέχει μακροφάγα, RBCs και λίγα λεμφοκύτταρα. Ο ερυθρός πολφός ασκεί ένα μοναδικό και λεπτομερή έλεγχο στην ακεραιότητα της επιφάνειας και στις βιοφυσικές ιδιότητες των RBCs, με σκοπό είτε να παραμείνουν στην κυκλοφορία είτε να απορριφθούν. Μεταξύ του ερυθρού και του λευκού πολφού υπάρχει η διάχυτη ζώνη που περιέχει ένα εύρος ανοσοκυττάρων και στρωματικών κυττάρων που συμβάλλουν στον έλεγχο του περιφερικού αίματος. Τα γερασμένα RBCs ή εκείνα που έχουν υποστεί βλάβες συγκρατούνται από τον σπλήνα και υποβάλλονται σε φαγοκυττάρωση από τα μακροφάγα που υπάρχουν στην περιοχή. Στην περίπτωση της ελονοσίας παρατηρούνται τροποποιήσεις στα μολυσμένα RBCs, με το σπλήνα να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεση της νόσου, εμφανίζοντας προστατευτικό ή επιβλαβή ρόλο τόσο στην οξεία όσο και στη χρόνια ελονοσία.[13]

Κεφάλαιο 1.5.1: Σπλήνας – Οξεία ελονοσία.

Κατά τη διάρκεια της οξείας ελονοσίας ο ανθρώπινος σπλήνας αντιλαμβάνεται αλλαγές στα μολυσμένα RBCs. Για να καταφέρει το παράσιτο να επιβιώσει και να πολλαπλασιαστεί στο εσωτερικό του RBC, ακολουθεί μια σειρά τροποποιητικών ενεργειών. Οι αλλαγές αυτές μπορεί να είναι, μεταβολές στην αναλογία της επιφάνειας προς τον όγκο των RBCs και αλληλεπιδράσεις μεταξύ πρωτεϊνών των παρασίτων και του κυτταροσκελετού των RBCs, όπου προκαλείται ακαμνία της μεμβράνης. Επιπλέον, οι παραμορφώσεις των RBCs σχετίζονται άμεσα με το στάδιο στο οποίο βρίσκεται το παράσιτο, με χαρακτηριστικό παράδειγμα τα RBCs που έχουν μολυνθεί από τις ώριμες μορφές του παρασίτου. Οι ειδικές αυτές διαμορφώσεις στα μολυσμένα RBCs συμβάλουν στη μηχανική κατακράτηση τους στον ερυθρό πολφό, με αποτέλεσμα να μειώνεται σημαντικά το παρασιτικό φορτίο οδηγώντας ταυτόχρονα σε σπληνομεγαλία και αναιμία. Παρόλο που αυτός ο μηχανισμός συμβάλει στο περιορισμό της νόσου, επιβαρύνει περισσότερο το έμφυτο ανοσοποιητικό σύστημα, με ορισμένες φορές να εμφανίζονται επιπλοκές όπως η παθολογική ρήξη του σπλήνα καθώς και φαινόμενα απόφραξης του.[13]

Σύμφωνα με αρκετές παρατηρήσεις, φαίνεται πως ο σπλήνας συμβάλει άμεσα στην παθογένεια της οξείας ελονοσίας, με βασικό μεταθανάτιο χαρακτηριστικό τη συγκέντρωση πολλών μολυσμένων RBCs στην περιοχή του ερυθρού πολφού, καθώς αυτά είναι επιρρεπή στη φαγοκυττάρωση από τα μακροφάγα. [13]

Κεφάλαιο 1.5.2: Σπλήνας – Χρόνια ελονοσία.

Ο ρόλος του σπλήνα στη χρόνια ελονοσία είναι πολύπλοκος και δεν υπάρχουν πάρα πολλά στοιχεία που να έχει διερευνηθεί ο ρόλος του. Ωστόσο σε μια μελέτη που πραγματοποιήθηκε στη Γκάνα, διαπιστώθηκε ότι σε δείγματα αίματος παιδιών κάτω των πέντε ετών που έπασχαν από ελονοσία, η χρόνια μεταφορά παρασίτων στον σπλήνα οδήγησε σε αναιμία και σπληνομεγαλία. Αυτό μπορεί να αντικατοπτρίζει οποιονδήποτε

συνδυασμό μακροχρόνιας συσσώρευσης RBCs στον σπλήνα, αυξημένης ερυθροφαγοκυττάρωσης ή αυξημένης ανοσοαντιδραστικότητας.[13]

Κεφάλαιο 1.6: Εγκεφαλική ελονοσία – CM.

Μια από τις πιο συχνές ασθένειες του κεντρικού νευρικού συστήματος στις τροπικές περιοχές είναι η εγκεφαλική ελονοσία (Cerebral Malaria - CM). Προκαλείται ύστερα από μόλυνση με το *P. falciparum* και μπορεί να είναι θανατηφόρος, ενώ άτομα τα οποία επιβιώνουν συνήθως υποφέρουν από επίμονα νευρολογικά ελλείματα. Ο όρος αναφέρετε σε μια διάχυτη εγκεφαλοπάθεια που χαρακτηρίζεται από επιληπτικές κρίσεις και απώλεια συνείδησης. Το ποσοστό θνησιμότητας που σχετίζεται με την CM φαίνεται να είναι υψηλότερο σε ασθενείς που εμφανίζουν δυσλειτουργία πολλών οργάνων σε σχέση με ασθενείς με καθαρή CM. Επιπλέον, έχει αποδειχθεί ότι τα κλινικά χαρακτηριστικά της CM διαφέρουν μεταξύ παιδιών και ενηλίκων, χωρίς βέβαια να είναι απολύτως σαφείς οι λόγοι που σχετίζονται με αυτές τις διαφορές.[14]

Κεφάλαιο 1.6.1: Κλινικές εκδηλώσεις CM στα παιδιά και στους ενήλικες.

Ένα κλινικό χαρακτηριστικό της CM είναι το κώμα. Σε ενδημικές περιοχές ελονοσίας της Υποσαχάριας Αφρικής, το κώμα εμφανίζεται ξαφνικά στα παιδιά μετά από επιληπτικές κρίσεις και η συνείδηση ανακτάται συνήθως άμεσα, μέσα σε 24 - 48 ώρες. Σε μια μελέτη που πραγματοποιήθηκε στη Κένυα, όπου τα παιδιά υποβλήθηκαν σε ηλεκτροεγκεφαλογράφημα, διαπιστώθηκε πως ένα στα δυο εμφάνισαν επιληπτική κρίση. Κατά την ελονοσία, οι επιληπτικές κρίσεις δεν φαίνεται να σχετίζονται με πυρετό διαταραχές ηλεκτρολυτών και κατανάλωση φαρμάκων. Παρόλο που δεν είναι ακόμη σαφής η αιτία εμφάνισής των επιληπτικών κρίσεων, προτείνεται πως η δέσμευση των παρασίτων στον εγκέφαλο, οι φλεγμονώδεις μεσολαβητές ή οι μεταβολικοί παράγοντες ενδέχεται να είναι εκείνοι που ευθύνονται. Στις συστηματικές επιπλοκές που εμφανίστηκαν περιλαμβάνονται η σοβαρή αναιμία, η υπογλυκαιμία, η υπονατρίαμια, ο ίκτερος και η μεταβολική οξέωση που παρουσιάζεται ως αναπνευστική αδυναμία. Επίσης, σε έναν μεγάλο ποσοστό παιδιών που έπασχαν από CM στην Αφρική παρατηρήθηκε αυξημένη ενδοκρανιακή πίεση, τα οποία είτε πέθαιναν είτε ανάρρωναν έχοντας όμως νευρολογικά προβλήματα. Όσον αφορά τα τις νευρολογικές επιπλοκές και συγκεκριμένα τα νευρικά ελλείματα, αυτά είναι συχνότερα στα παιδιά απ' ότι στους ενήλικες. Η μακροχρόνια παρακολούθηση παιδιών που επέζησαν από επεισόδιο CM αποκάλυψε διάφορες νευρολογικές ανεπιθύμητες ενέργειες, όπως αταξία, πάρεση, επίμονη φλοιώδης τύφλωση, επιληψία, κώφωση, ημιπληγία, σοβαρή εγκεφαλική παράλυση, γνωστικές διαταραχές και γλωσσικά ελλείματα. Οι περισσότερες από αυτές τις ανεπιθύμητες ενέργειες συνήθως επιλύονται σε διάστημα 6 μηνών ενώ άλλες απαιτούν μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, μπορεί ακόμη και να μην βελτιωθούν πότε. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελούν οι γνωστικές διαταραχές που φαίνεται να επιμένουν χρόνια μετά από το επεισόδιο CM. Μια άλλη επιπλοκή που εμφανίζεται στην CM είναι η αμφιβληστροειδοπάθεια, όπου πραγματοποιείται άμεση και έμμεση οφθαλμοσκόπηση και

διαπιστώνεται η παρουσία λεύκανσης του αμφιβληστροειδούς, αποχρωματισμός του αμφιβληστροειδούς και αιμορραγίες του. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον αποτελεί η διαπίστωση ότι η λεύκανση του αμφιβληστροειδούς και ο αποχρωματισμός των εστιακών αγγείων εμφανίζονται μόνο στην CM. Τα σημάδια της αμφιβληστροειδοπάθειας της ελονοσίας συνήθως υποχωρούν εντός 4 εβδομάδων, χωρίς να αφήνουν τυχόν συνέπειες στην υγεία του ασθενή. Στην CM παρατηρείται δέσμευση μολυσμένων από το παράσιτο και από αιμοσφαιρινοποιημένων RBCs στα αγγεία του αμφιβληστροειδή, παθολογική κατάσταση που θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως προγνωστικός και διαγνωστικός δείκτης για την CM.[14]

Ενώ η CM εκδηλώνεται σε μεγάλο βαθμό στο κεντρικό νευρικό σύστημα στα παιδιά, είναι κυρίως μια πολυοργανική δυσλειτουργία στους ενήλικες, με τους ασθενείς συνήθως να εμφανίζουν πυρετό, πονοκέφαλο, αδιαθεσία, πόνο στις αρθρώσεις και σε όλο το σώμα, παραλήρημα και μπορεί να οδηγηθούν στο κώμα μετά από μερικές μέρες ασθένειας. Το κώμα αναπτύσσεται σταδιακά στους ενήλικες και ακολουθεί αποπροσανατολισμός, υπνηλία ή γενικευμένες κρίσεις. Η ανάκτηση από κώμα είναι επίσης πιο αργή από ό, τι στα παιδιά, αλλά συμβαίνει εντός 48 ωρών. Σχετικά με τις επιπτώσεις των επιληπτικών κρίσεων, αυτές ποικίλουν μεταξύ των ενηλίκων ασθενών άλλα είναι λιγότερο συχνές απ' ό,τι στα παιδιά. Αν και οι νευρολογικές συνέπειες είναι λιγότερο συχνές σε σχέση με αυτές που εμφανίζονται στα παιδιά, στους ενήλικες συνήθως παρατηρούνται βλάβες του άνω κινητικού νευρώνα, παρατεταμένο βλέμμα προς τα πάνω, εστιακό νευρολογικό έλλειμμα, δυσμορφική δυσκαμψία, απώλεια ή απουσία αντανάκλαστικού του κερατοειδούς, ψύχωση, ημιπληγία. Τα χαρακτηριστικά της αμφιβληστροειδοπάθειας της ελονοσίας φαίνεται επίσης να είναι λιγότερο εμφανή σε ενήλικες με CM σε σύγκριση με τα παιδιά. Ωστόσο και στους ενήλικες έχουν καταγραφεί περιστατικά αιμορραγίας του αμφιβληστροειδούς, χωρίς αυτά να σχετίζονται άμεσα με την αυξημένη θνησιμότητα, περιστατικά λεύκανσης του αμφιβληστροειδούς, ενώ ο αποχρωματισμός των αιμοφόρων αγγείων, που είναι ένα κύριο χαρακτηριστικό της αμφιβληστροειδοπάθειας της παιδικής ελονοσίας, δεν εντοπίστηκε σε μελέτες που αφορούσαν την CM ενηλίκων.[14]

Κεφάλαιο 1.6.2: Παθογένεση της CM.

Η CM είναι ένα πολύπλοκο κλινικό σύνδρομο. Ύστερα από τη μόλυνση από το *P.falciparum* ακολουθεί ο ασεξουαλικός πολλαπλασιασμός των παρασίτων και η κυτταρική τους προσκόλληση στα αγγεία του εγκεφάλου. Τα μολυσμένα RBCs που προσκολλώνται στα ενδοθηλιακά κύτταρα του εγκεφάλου, δεσμεύονται έπειτα σε τριχοειδή αγγεία τα οποία παρέχουν οξυγόνο και θρεπτικά συστατικά στον εγκέφαλο. Έτσι επιτυγχάνεται και η στρατολόγηση άλλων μολυσμένων RBCs και μη στα αγγεία του εγκεφάλου, συμβάλλοντας έτσι στην παθογένεση της CM. Επομένως, με την απόφραξη της φυσιολογικής ροής του αίματος διαφόρων ιστών, ακολουθεί η υποξία και η μειωμένη αιμάτωση των ιστών, μια διαδικασία που προωθεί τον περαιτέρω πολλαπλασιασμό των παρασίτων και την αδυναμία της κάθαρσης του σπλήνα. Μετά την κυτταρική προσκόλληση ακολουθούν και άλλα γεγονότα που συμβάλουν στη παθογένεση της CM.

Αυτά περιλαμβάνουν διαταραχή του αιματοεγκεφαλικού φραγμού, ενεργοποίηση ενδοθηλιακών κυττάρων και απόπτωση τους, ενεργοποίηση PLTs και απόπτωση τους, νευροφλεγμονή, καθώς και οξειδωτικό στρες.[14]

Κεφάλαιο 1.6.2.1: Ενεργοποίηση και απόπτωση των PLTs.

Πολλές είναι οι αναφορές που τονίζουν πως τα PLTs συνδράμουν σε μεγάλο βαθμό στην παθογένεση της CM. Σε μια μελέτη που πραγματοποιήθηκε, εντοπίστηκε αυξημένη συσσώρευση των PLTs στην περιοχή της μόλυνσης. Ύστερα από χρώση των πασχόντων τμημάτων του εγκεφάλου για συγκεκριμένους δείκτες των PLTs, διαπιστώθηκε πως στα αγγεία του εγκεφάλου παιδιών που πέθαιναν από ελονοσία συγκεντρώνονταν περισσότερα PLTs σε σύγκριση με εκείνα που πέθαιναν από μη CM ή σοβαρή ελονοσιακή αναιμία. Άλλες παρατηρήσεις από ηλεκτρονική μικροσκόπηση εγκεφάλων που έπασχαν από ελονοσία, τόσο σε ποντίκια όσο και σε ανθρώπους, αποκάλυψαν επίσης πως σε τέτοιου είδους παθολογικές καταστάσεις τα PLTs συσσωρεύονται σημαντικά στη περιοχή της βλάβης. Η παρεμπόδιση της πρόσδεσης στο αντιγόνο σχετιζόμενο με τη λειτουργία των λεμφοκυττάρων 1 (LFA-1) των PLTs από μονοκλωνικά αντισώματα φαίνεται να περιορίζει τη συσσώρευση των PLTs και να είναι ευεργετική έναντι της νόσου. Η αυξημένη τοπική απελευθέρωση του TGF-β από τα α-κοκκία των PLTs στα αγγεία του εγκεφάλου φαίνεται να προκαλεί την απόπτωση του ενδοθηλίου. Η επαφή των PLTs με τα ενδοθηλιακά κύτταρα μέσω του TNF-α έχει επίσης προ-αποπτωτική δράση. Μια άλλη δοκιμή κατά την οποία αδρανοποιήθηκαν οι πρωτεΐνες CD41/61, ICAM-1 και CD40, οι οποίες συμμετείχαν στην αλληλεπίδραση PLTs – ενδοθηλίου, τόνισε την αισθητή μείωση της συσσώρευσης των PLTs και την καταστροφή του ενδοθηλίου. Λαμβάνοντας υπόψη τα παραπάνω εργαστηριακά ευρήματα, η συμμετοχή των PLTs στην παθογένεση της CM είναι αδιαμφισβήτητη. [14]

Άλλη ερευνητική μελέτη απέδειξε τη συμβολή των PLTs στην CM τα οποία προάγουν την προσκόλληση των RBCs και την απόφραξη των αγγείων έπειτα από την αγγειακή φλεγμονή που προκαλείται από τα μολυσμένα RBCs. Κατά την πειραματική μελέτη χρησιμοποιήθηκε ανθρώπινο πλάσμα πλούσιο σε PLTs και επώαστηκε με πλυμένα RBCs ελέγχου και με RBCs μολυσμένα με τροφοζώιτες. Η ενεργοποίηση των PLTs προσδιορίστηκε με μέτρηση της έκφρασης του ενεργοποιημένου υποδοχέα GPIIb/IIIa και της P-σελεκτίνης με χρήση κυτταρομετρίας ροής. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως τα PLTs που επώαστηκαν με τα πλυμένα RBCs ελέγχου δεν εμφάνισαν αύξηση στην ενεργοποίηση του υποδοχέα GPIIb/IIIa. Ωστόσο εκείνα που επώαστηκαν με τα μολυσμένα RBCs είχαν σημαντικά αυξημένη έκφραση της P-σελεκτίνης και του υποδοχέα GPIIb/IIIa.[15]

Κεφάλαιο 2^ο: PLTs

Τα PLTs είναι άφθονα αιμοποιητικά κύτταρα. Κατά μέσο όρο 100 δισεκατομμύρια PLTs παράγονται καθημερινά σε υγιείς ενήλικες και ρυθμίζονται από μια ορμόνη που ονομάζεται θρομβοποιητίνη. Αποτελούν τα μικρότερα κύτταρα του αίματος και έχουν

δισκοειδή σχήμα, με διαστάσεις περίπου 2,0-4,0 έως 0,5 μm, και μέσο όγκο 7-11 fl. Δεν διαθέτουν πυρήνα, προέρχονται από τα μεγακαρυοκύτταρα και παραμένουν στην κυκλοφορία του αίματος συνήθως για 10 ημέρες.[16]

Τα PLTs είναι κύτταρα που συμμετέχουν σε πολλές λειτουργικές διαδικασίες και εμπλέκονται σε πολλές παθολογικές διεργασίες. Για το λόγο αυτό αλλαγές στον συνολικό αριθμό τους και τον μέσο όγκο τους συχνά σχετίζεται με παθολογικές καταστάσεις. Πολλές από τις διαδικασίες στις οποίες συμμετέχουν αφορούν την αιμόσταση, τη θρόμβωση, τη απομάκρυνση του θρόμβου, τη συστολή και επισκευή των αγγείων. Εκτός όμως από το αγγειακό σύστημα, η συμβολή τους στη φλεγμονή, στην άμυνα του ξενιστή, καθώς και στην ανάπτυξη όγκου είναι εξίσου σημαντική. Μπορούν να χαρακτηριστούν ως μια άφθονη πηγή αντιμικροβιακών μορίων, όπου μέσω της παραγωγής διαφόρων ανοσοτροποποιητικών συστατικών και την αλληλεπίδραση τους με τα λευκά αιμοσφαίρια (WBCs) έχουν προστατευτικό ρόλο έναντι των λοιμωδών νοσημάτων.[16]

Κεφάλαιο 2.1: Η δημιουργία των PLTs.

Η παραγωγή PLTs από τα μεγακαρυοκύτταρα είναι μια συστηματική και ρυθμιζόμενη διαδικασία που συμβαίνει στο μυελό των οστών και σύμφωνα με πρόσφατες μελέτες μπορεί να πραγματοποιηθεί και στους πνεύμονες.[17] Κατά τη διάρκεια ενός φυσιολογικού κύκλου ζωής, περιορίζεται το μέγεθός τους και έτσι τα νεότερα έχουν μεγαλύτερο μέγεθος από τα αρχικά PLTs. Στο τέλος της ζωής τους μέσα στο αγγείο ή μετά από την πλήρη ενεργοποίηση και ενσωμάτωση τους προς σχηματισμό θρόμβου, απομακρύνονται από το αγγείο με τη βοήθεια των ουδετερόφιλων και των μακροφάγων και μεταφέρονται στον σπλήνα όπου και απομακρύνονται από τον οργανισμό.[18]

Ο πρωταρχικός ρόλος των PLTs στην κυκλοφορία είναι να βοηθήσουν στη διατήρηση της πρωτογενούς αιμόστασης και στη ροή του αίματος εντός του αγγείου. Κατά τη διακοπή της αγγειακής ακεραιότητας, τα PLTs προσκολλώνται στα σημεία του τραυματισμού, αποτρέποντας έτσι την υπερβολική αιμορραγία. Η διαδικασία πήξης του αίματος απαιτεί συντονισμένες αλληλεπιδράσεις μεταξύ των ενζύμων που προέρχονται από το πλάσμα, των συμπαραγόντων, των αναστολέων της πήξης του αίματος και των ενδοθηλιακών κυττάρων.[18]

Κεφάλαιο 2.2: PLTs και Ανοσοποιητικό σύστημα.

Πλέον, υπάρχουν άφθονα στοιχεία που επισημαίνουν πως τα PLTs όχι μόνο συμμετέχουν στην αιμόσταση και στην πήξη, αλλά λειτουργούν και ως ανοσοκύτταρα ξεκινώντας και επιταχύνοντας διάφορες αγγειακές φλεγμονώδεις καταστάσεις. Σε ορισμένες καταστάσεις δρουν προστατευτικά ενώ σε άλλες δυσχεραίνουν τον πάσχοντα οργανισμό. Αλληλοεπιδρούν με τα WBCs και τα αγγειακά ενδοθηλιακά κύτταρα είτε άμεσα μέσω μηχανισμών άμεσης επαφής με άλλα κύτταρα είτε έμμεσα μέσω μηχανισμών παραγωγής μορίων που μεσολαβούν στην ανοσολογική απόκριση.[19]

Έχουν εξέχοντα ρόλο τόσο στις ανοσολογικές αποκρίσεις όσο και στην αγγειακή απόφραξη καθώς είναι ενεργά κύτταρα σε καταστάσεις φλεγμονής. Τα κοκκία των PLTs περιέχουν πολλά μόρια φλεγμονής και προσκόλλησης που είτε απελευθερώνονται είτε εκφράζονται κατά την ενεργοποίηση. Τα PLTs μπορούν να αλληλεπιδρούν με ένα άθικτο φλεγμονώδες στρώμα ενδοθηλιακών κυττάρων και αυτές οι αλληλεπιδράσεις να προάγουν την προσκόλληση των PLTs και την απελευθέρωση περισσότερων φλεγμονωδών μορίων δημιουργώντας έναν κύκλο συνεχιζόμενης αγγειακής φλεγμονής. Συνεπώς, τα PLTs συμβάλλουν στην πρόοδο διαφόρων αγγειακών και φλεγμονωδών ασθενειών και μπορεί να εμπλέκονται άμεσα στην παθογένεση της CM.[15]

Κεφάλαιο 2.2.1: PLTs και έμφυτες ανοσοαποκρίσεις.

Η απόκριση οξείας φάσης (APR) είναι η πρώτη απάντηση σε μια λοίμωξη ή έναν αγγειακό τραυματισμό. Κατά την APR παράγονται πρωτεΐνες οξείας φάσης, όπως η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, τα αμυλοειδή A και P (SAA) και (SAP), οι πρωτεΐνες του συμπληρώματος και το ινωδογόνο από το ήπαρ. Οι πρωτεΐνες αυτές καταστρέφουν και αναστέλλουν τη δράση των μικροβίων, ασκούν προ-πηκτικά αποτελέσματα περιορίζοντας έτσι τη μόλυνση και παγιδεύοντας τα παθογόνα μέσα σε τοπικούς θρόμβους αίματος. Μελέτες έχουν δείξει πως τα PLTs είναι αυτά που ενεργοποιούν την APR. Η ιντερλευκίνη-1β (IL-1β), η ιντερλευκίνη-6 (IL-6) και η ιντερλευκίνη-8 (IL-8) είναι όλοι ισχυροί επαγωγείς του APR. Τα PLTs δεν αποτελούν άμεση πηγή IL-6 ή IL-8, αλλά αποτελούν κύρια πηγή IL-1β. Επομένως η ταυτόχρονη ενεργοποίηση των PLTs και της APR δρουν πλεονεκτικά στον περιορισμό μολύνσεων, με τον μηχανισμό αυτό να εμπλέκετε και στην ελονοσία.[19]

Οι υποδοχείς τύπου Toll (TLRs) είναι μια πολύ συντηρημένη οικογένεια υποδοχέων αναγνώρισης προτύπων, δεσμεύουν μόρια που έχουν χαρακτηριστική διαμόρφωση μοτίβου και σχετίζονται με παθογόνα που εκφράζονται ευρέως από πολλούς μολυσματικούς οργανισμούς. Με τον όρο πρότυπα γίνεται αναφορά σε μόρια όπως λιποπολυσακχαρίτης (LPS), το DNA των βακτηρίων, το DNA ή RNA των ιών και τα διάφορα συστατικά μυκήτων και παρασίτων. Τα PLTs εκφράζουν πολλά μέλη της οικογένειας TLR συμπεριλαμβανομένων των TLR1, TLR2, TLR4, TLR6, TLR8 και TLR9. Ο λιποπολυσακχαρίτης έχει μελετηθεί εκτενώς ως μόριο σύνδεσης των TLRs και συγκεκριμένα μηχανισμοί δράσης του μέσω των TLR4 των PLTs σε σήψη, που σχετίζεται με θρομβοκυτταροπενία και ενεργοποίηση των PLTs έχουν προκαλέσει ιδιαίτερο ενδιαφέρον στην επιστημονική κοινότητα. Παρόλο που το CD14 είναι πυρηνικός υποδοχέας που συμβάλει στην σηματοδότηση του LPS μέσω TLR4, φαίνεται πως μπορεί να μην εκφράζεται στα PLTs. Αυτό σημαίνει πως για να μπορούν τα PLTs να αποκρίνονται στους LPS θα πρέπει να λαμβάνουν πηγές διαλυτού CD14. Η σηματοδότηση των TLR4 των PLTs οδηγεί σε ενεργοποίηση των PLTs, στην έκκριση μικροσωματιδίων πλούσιων σε IL-1β και αλληλεπιδράσεις PLTs με άλλα κύτταρα παγιδεύοντας έτσι τα παθογόνα. Υπάρχουν και άλλοι TLR που δρουν στην ενεργοποίηση των PLTs,

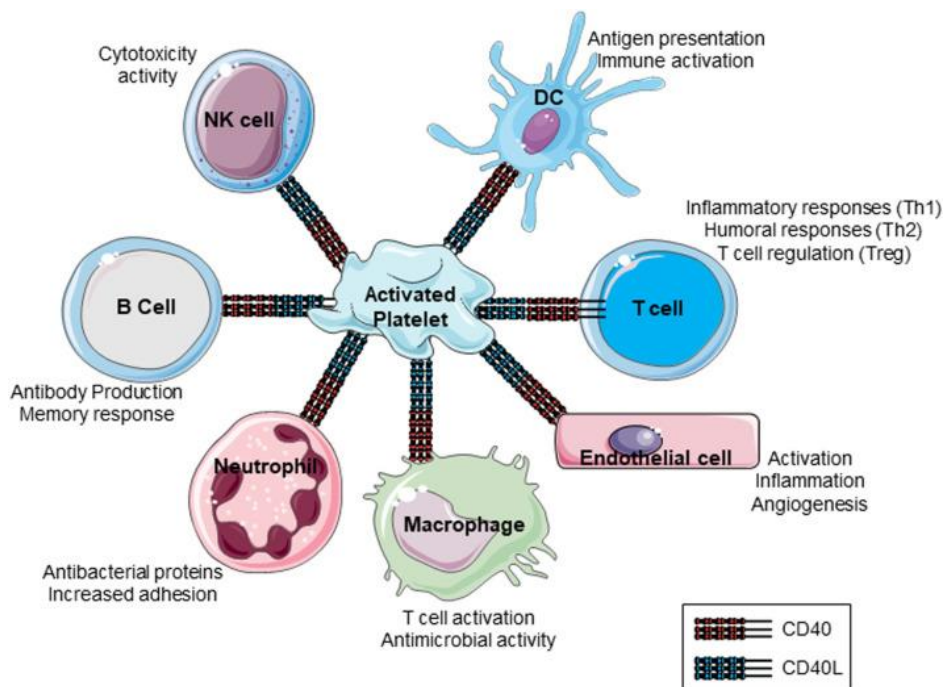
συμπεριλαμβανομένων των TLR9 και αντιγόνων CD36 που όμως ο ρόλος τους στην φλεγμονή δεν έχει πλήρως καθοριστεί.[19]

Τα μονοκύτταρα και τα ουδετερόφιλα είναι πολυάριθμα κύτταρα που ανήκουν στο έμφυτο ανοσοποιητικό σύστημα. Η αλληλεπίδραση μονοκυττάρων με τα PLTs αφορά την φαγοκυττάρωση τους από μονοκύτταρα εντός των θρόμβων και συμβαίνει μέσω της Ρ-σελεκτίνης (CD62P) των PLTs. Η Ρ-σελεκτίνη εκφράζεται στη μεμβράνη των PLTs και ύστερα από την ενεργοποίησή της τα WBCs ακινητοποιούνται στη περιοχή της βλάβης.[19]

Κεφάλαιο 2.2.2: PLTs και επίκτητες ανοσοαποκρίσεις.

Εκτός από την δράση των PLTs στις έμφυτες ανοσοαποκρίσεις, τα PLTs επηρεάζουν επίσης τις επίκτητες και αφορούν τη διακίνηση, ενεργοποίηση και διαφοροποίηση των T κυττάρων. Τα T κύτταρα διαιρούνται ευρέως σε CD8+ ή CD4+ κύτταρα. Τα CD4+ T κύτταρα, που ονομάζονται T βοηθητικά (Th) διαιρούνται περαιτέρω στους τύπους Th1, Th2 ή Th17 και χαρακτηρίζονται ανοσοαγωγείς, ενώ τα CD8+ T κύτταρα που ονομάζονται T κυτταροτοξικά (Tc) χαρακτηρίζονται ανοσοκατασταλτικά.[20]

Τα PLTs αποτελούν την κύρια πηγή έκκρισης διαλυτής CD40L, η οποία αποθηκεύεται στα α-κοκκία. Μπορεί να απελευθερώνεται υπό διαλυτή μορφή στο εξωκυττάριο περιβάλλον ή να εκφράζεται στην επιφάνεια των PLTs. Στόχος της CD40L είναι η ενίσχυση της αλληλεπίδρασης μεταξύ PLTs και άλλων κυττάρων, καθώς σχετίζεται με την ενεργοποίηση κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος που εκφράζουν CD40. Τα T κύτταρα μπορούν να ενεργοποιήσουν τα PLTs μέσω αλληλεπίδρασης CD40L / CD40 PLTs που οδηγεί στην απελευθέρωση RANTES των PLTs και στην περαιτέρω στρατολόγηση T-κυττάρων. Διαπιστώνεται πως η CD40L των PLTs αυξάνει την ανοσία των T-κυττάρων στην ιική πρόκληση και είναι απαραίτητη για τη βέλτιστη παραγωγή ανοσοσφαιρίνης G και παράλληλα επικρατεί η άποψη πως τα PLTs ενισχύουν τα σήματα που απαιτούνται για προσαρμοστική χυμική ανοσία. Συνοψίζονται οι διάφορες αλληλεπιδράσεις των CD40L των PLTs και CD40 με τα WBCs. **(ΕΙΚΟΝΑ 6)**



ΕΙΚΟΝΑ 6: Πλειοτροπικά αποτελέσματα με τα οποία η μεμβράνη των PLTs CD40 / CD40L μπορεί να ρυθμίσει τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος. Τα PLTs μπορούν να αλληλοεπιδράσουν με πολυάριθμα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος όπως τα Β-κύτταρα, τα Τ-κύτταρα, τα μακροφάγα, τα ουδετερόφιλα, ενδοθηλιακά κύτταρα, τα κύτταρα φυσικοί φονείς και τα δενδριτικά. Οι επικοινωνίες με αυτά τα κύτταρα μπορούν να προκαλέσουν μια σειρά ενεργειών που σχετίζονται άμεσα με το ανοσοποιητικό σύστημα. **ΑΝΑΔΗΜΟΣΙΕΥΣΗ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΗΓΗ [20]**

Επιπλέον, τα PLTs διαδραματίζουν κεντρικό ρόλο στην διατήρηση της ομοιόστασης των CD4+ και ρυθμίζει την διαφοροποίηση των κυττάρων Th σε υπότυπους μέσω του PF4. Τα ευρήματα αυτά αναδεικνύουν την βοηθητική συμπεριφορά των PLTs στη διατήρηση της βασικής ισορροπίας των κυττάρων. Παρόλο που είναι σαφές πως τα PLTs διαθέτουν καίριο ρόλο σε όλες τις φάσεις της ανοσοαπόκρισης, δεν είναι ακόμη ξεκάθαρος ο ρόλος τους. Επειδή τα Τ κύτταρα είναι κύριοι ρυθμιστές του ανοσοποιητικού συστήματος, η καλύτερη κατανόηση των αλληλεπιδράσεων PLTs και Τ-κυττάρων θα ενισχύσει σημαντικά το γνωστικό επίπεδο γύρω από το πεδίο των ανοσολογικών αποκρίσεων.[19]

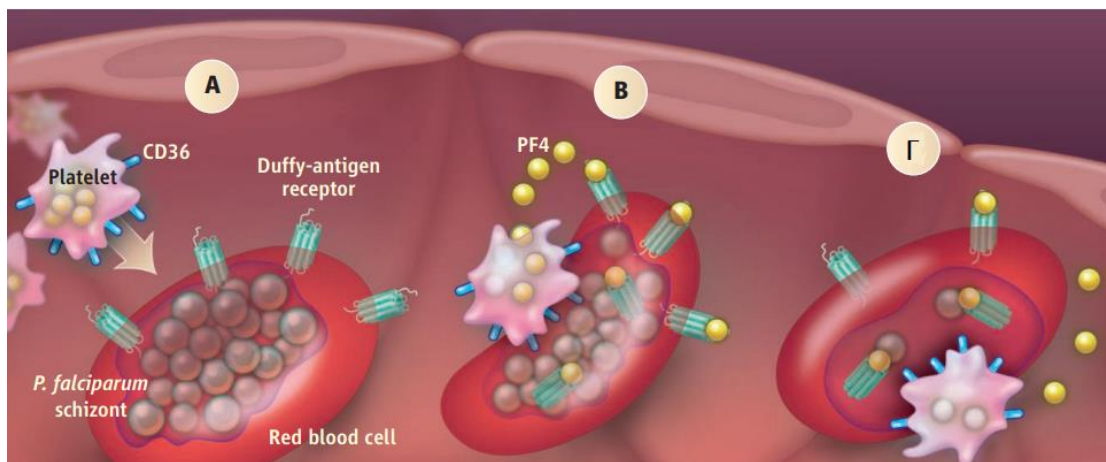
Κεφάλαιο 3^ο: PLTs Αιμοπετάλια στην εξέλιξη της ελονοσίας.

Τα PLTs συνδέονται με την παθογένεση φλεγμονωδών ασθενειών όπως η αθηροσκλήρωση, η ελονοσία, η απόρριψη μοσχεύματος και η ρευματοειδής αρθρίτιδα. Διαδραματίζουν διφορούμενο ρόλο στη λοίμωξη από ελονοσία. Μπορεί να συμβάλλουν στην προστασία του ξενιστή έναντι της νόσου ή να συμμετέχουν στην εξέλιξη της ασκώντας προ-φλεγμονώδεις δράσεις, ακόμη και στην αγγειακή απόφραξη.[21]

Τα PLTs παίζουν κρίσιμο ρόλο στην ενεργοποίηση της κυτταρικής προσκόλλησης των μολυσμένων RBCs στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Έχει διαπιστωθεί ότι τα PLTs συνδέονται με εξαιρετικά μεγάλα πολυμερή von Willebrand factor (VWF) που εκκρίνονται από τα ενεργοποιημένα ενδοθηλιακά κύτταρα, προωθώντας έτσι την συγκόλληση των κυττάρων και την αγγειακή απόφραξη. Τονίζετε πως τα PLTs συμβάλουν στην συσσώρευση των μολυσμένων RBCs, μια διαδικασία που ενισχύει την απόφραξη του μικροαγγειακού συστήματος. Εκτός από τη συμμετοχή τους στην απόφραξη των αγγείων, παίζουν επίσης σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη της φλεγμονής και στην ενεργοποίηση των ενδοθηλιακών κυττάρων, διαδικασίες εξίσου κρίσιμες για την παθογένεση της ελονοσίας. Σύμφωνα με τα παραπάνω δεδομένα ο ρόλος των PLTs στην παθογένεση της νόσου δείχνει να είναι επιβλαβής, ωστόσο τα PLTs μπορούν να δράσουν και ευεργετικά έναντι της μόλυνσης. [21]

Κεφάλαιο 3.1: PLTs και περιορισμός της ελονοσίας.

Όπως έχει ήδη αναφερθεί τα PLTs δρουν εξοντωτικά έναντι των παρασίτων της ελονοσίας, μέσω διάφορων μηχανισμών και της συμμετοχής συστατικών που ενισχύουν τη δράση αυτή. Τα PLTs μπορούν να συνδεθούν με μολυσμένα RBCs και να αναστέλλουν σημαντικά την ανάπτυξη του Plasmodium. Επιπλέον, φαίνεται απαραίτητη η παρουσία του υποδοχέα CD-36 των PLTs, η έκφραση του αντιγόνου Duffy των RBCs και ο παράγοντας-4 των PLTs (PF4) για την θανάτωση των παρασίτων. **(ΕΙΚΟΝΑ 7)**



ΕΙΚΟΝΑ 7: Μηχανισμός καταστροφής του *P.falciparum*. (A) Ενεργοποιημένα PLTs που περιέχουν τον PF4 συνδέονται με μολυσμένα RBCs που εκφράζουν τον υποδοχέα αντιγόνου Duffy. (B) Κατά τη σύνδεση απελευθερώνεται ο PF4 και συνδέεται με το αντιγόνο Duffy υποδοχέα στα ερυθρά αιμοσφαίρια. Η σύνδεση επιτυγχάνεται μέσω του CD36 στα PLTs και ενός υποδοχέα που εμφανίζει κατά τη προσβολή του RBC, πιθανώς η πρωτεΐνη μεμβράνης *P.falciparum* - 1 (PfEMP-1). (Γ) Το σύμπλεγμα υποδοχέα PF4-Duffy-αντιγόνου μετατοπίζεται στο κύτταρο, συσπειρώνεται με ενδοκυτταρικά παράσιτα και στη συνέχεια σκοτώνει τα παράσιτα. **ΑΝΑΔΗΜΟΣΙΕΥΣΗ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΗΓΗ[22]**

Πρόσφατα δεδομένα υποδηλώνουν ότι η σύνδεση των PLTs με τα μολυσμένα RBCs σχετίζεται άμεσα με τη προστασία από την σοβαρή ελονοσία. Μέσω της σύνδεσης PLTs - μολυσμένων RBCs επιτυγχάνεται η ενεργοποίηση των PLTs με ταυτόχρονη απελευθέρωση μορίων PF4, που λειτουργούν ως κύριοι παράγοντες θανάτωσης των παρασίτων. Τα δεδομένα in-vivo σε μοντέλα ποντικών, ενισχύουν αυτήν την υπόθεση καθώς έγινε σύγκριση μεταξύ ποντικών που είχαν πολύ χαμηλό αριθμό PLTs και ποντικών με επαρκεί αριθμό και φάνηκε ότι εκείνα που δεν διέθεταν PLTs είχαν αυξημένο ποσοστό θνησιμότητας σε αντίθεση με τα δεύτερα.[23]

Ύστερα από μια σειρά πειραματικών μελετών εξήχθη το συμπέρασμα πως τα PLTs σκοτώνουν άμεσα τα παράσιτα στην κυκλοφορία του αίματος των ασθενών με ελονοσία. Χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της ανοσοχρωματογραφίας σε δείγματα αίματος ασθενών, με σκοπό την ανίχνευση και ποσοτικοποίηση της συχνότητας των νεκρών ενδοερυθροκυτταρικών παρασίτων και την εμφάνιση ταυτόχρονα του παράγοντα PF4 κατά τόπους εντός των RBCs. Συγκεκριμένα εφαρμόστηκε η δοκιμασία TUNEL, κατά την οποία ανιχνεύεται η αποικοδόμηση του DNA σε αποπτωτικά κύτταρα και η επισήμανση μολυσμένων RBCs που περιέχουν τον παράγοντα PF4. Παρατηρήθηκαν μολυσμένα RBCs PF4+ και TUNEL+ σε όλα τα είδη Plasmodium, ενώ δεν παρατηρήθηκαν σήματα PF4 και επισήμανσης TUNEL σε εμπλουτισμένα εναιωρήματα μη μολυσμένων RBCs. [24]

Επιπλέον, έγιναν συγκρίσεις στις συχνότητες PF4+ και TUNEL+ των μολυσμένων RBCs όπου τα παράσιτα βρισκόνταν σε δυο διαφορετικά σεξουαλικά στάδια ωρίμανσης. Το A στάδιο περιελάμβανε τα νεαρά παράσιτα, δηλαδή εκείνα που βρισκόνταν υπό την μορφή δακτυλίου και το B στάδιο περιλάμβανε τα ώριμα παράσιτα υπό την μορφή τροφοζωιτών ή σχιστών. Στα δείγματα *P.vivax* τα παράσιτα PF4+ και TUNEL+ ώριμου σταδίου ήταν περισσότερα από ότι εκείνα που βρισκόνταν υπό την μορφή του δακτυλίου. Παρόμοια σημαντική διαφορά υπήρχε και για τα παράσιτα *P.malariae* αλλά όχι για τα *P.knowlesi*. Ενώ για δείγματα *P.falciparum* εντοπίστηκαν μόνο παράσιτα στο στάδιο του δακτυλίου. Συνολικά, τα δεδομένα αυτά φανερώνουν ότι ανεξαρτήτως είδος ένα σημαντικό ποσοστό Plasmodium υφίστανται ενδοερυθροκυτταρικό θάνατο υπό την παρουσία του PF4, πιθανότατα ως συνέπεια των κυτταροτοξικών δράσεων του PF4.[24]

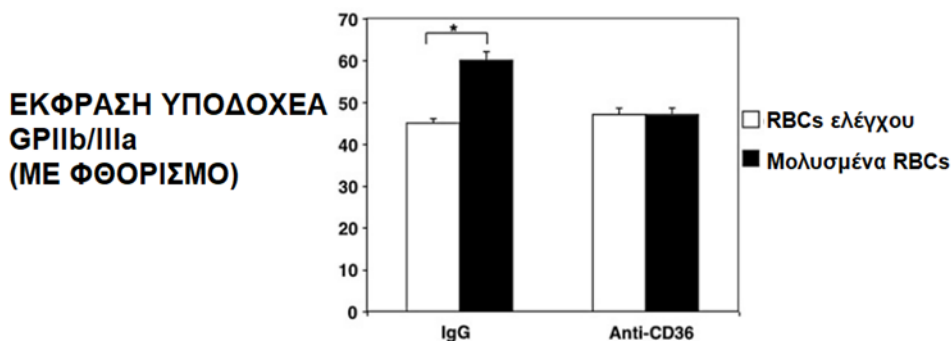
Κεφάλαιο 3.1.1: Ο υποδοχέας CD36 στην ελονοσία.

Ο υποδοχέας CD36 είναι μια διαμεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη 80 kD. Εντοπίζεται σε διάφορα είδη κυττάρων, όπως τα PLTs, τα ανοσοκύτταρα, τα λιποκύτταρα, κ.α. Οι λειτουργίες του CD36 αφορούν την απομάκρυνση της οξειδωμένης LDL από το πλάσμα, την επαγωγή απόπτωσης και τη δέσμευση RBCs που εμφανίζουν ανώμαλο σχήμα. Σχετικά με την ελονοσία όπου παρατηρείται τροποποίηση στα μολυσμένα RBCs, οι λειτουργίες του υποδοχέα CD36 είναι ποίκιλες, συμπεριλαμβανομένης της διαμεσολάβησης της απομόνωσης των παρασίτων στα όργανα του ξενιστή, της φαγοκυτταρικής δραστηριότητας έναντι των παρασίτων και της ρύθμισης της ανοσιακής απάντησης. Η έκφραση του υποδοχέα CD36 στα PLTs συσχετίζεται τόσο με τη σοβαρότητα της νόσου όσο και αντιστρόφως με την προστασία του εκτεθειμένου στη νόσο οργανισμού.[23]

Ορισμένες μελέτες υποδεικνύουν ότι τα PLTs μπορεί να συμβάλλουν στην ενεργοποίηση των ενδοθηλιακών κυττάρων που σχετίζονται με τη σοβαρή ελονοσία και τη μικροαγγειακή απόφραξη. Ο παράγοντας von Willebrand (vWF), επίσης, μπορεί να μεσολαβεί στην προσκόλληση των μολυσμένων RBCs στο εγκεφαλικό ενδοθήλιο μέσω της γεφύρωσης των PLTs, που με τη σειρά τους εξαρτώνται από τον CD36. Όσον αφορά τη συμμετοχή του στη συσσώρευση των PLTs στα μολυσμένα RBCs, αυτή η άποψη έχει τεκμηριωθεί μέσα από *in vitro* πειράματα, στα οποία χρησιμοποιήθηκε πλάσμα πλούσιο σε PLTs. Βέβαια σε ορισμένα από τα εργαστηριακά ευρήματα δεν παρατηρήθηκε η συσσώρευση αυτή, καθώς επίσης σε μεταθανάτιες μελέτες δεν καταγράφηκαν πολλά περιστατικά συγκέντρωσης των PLTs στα αγγεία του εγκεφάλου. [23]

Άλλη ερευνητική ομάδα εξήγαγε τα ίδια συμπεράσματα όσον αφορά τον υποδοχέα CD36, όταν εξέτασε τον ρόλο του CD36 σε συγκεκριμένο στέλεχος αναφοράς του *P.falciparum*. Στα πειράματα αυτά, χρησιμοποιήθηκε μια διαλυτή πρωτεΐνη CD36 σε καλλιέργειες μολυσμένων από το *P.falciparum* RBCs, υπό την παρουσία PLTs. Τότε καταγράφηκε μείωση της συχνότητας εμφάνισης του συμπλόκου PLTs – μολυσμένων RBCs και ταυτόχρονα δεν υπήρχε δυνατότητα των PLTs να συμβάλουν στην αναστολή της ανάπτυξης των παρασίτων. [25]

Σε μια ακόμη εργαστηριακή μελέτη επώαστηκαν PLTs τόσο με καθαρά κύτταρα ελέγχου όσο και με μολυσμένα RBCs που είχαν υποστεί προ επεξεργασία με θραύσματα Fab μη ειδικής IgG ή αντισώματα αντι- CD36. Όπως ήταν αναμενόμενο τα μολυσμένα RBCs αύξησαν σημαντικά την ενεργοποίηση των PLTs παρουσία IgG. Ωστόσο τα μολυσμένα RBCs δεν ενεργοποίησαν τα PLTs όταν είχε γίνει προ επεξεργασία με αντισώματα αντι-CD36. **(ΕΙΚΟΝΑ 8)** Συνολικά αυτά τα δεδομένα καταδεικνύουν ότι τα μολυσμένα RBCs μπορούν να διεγείρουν την ενεργοποίηση των PLTs μέσω ενός μηχανισμού που προκαλείται από τον CD36. [15]



ΕΙΚΟΝΑ 8: Τα μολυσμένα RBCs ενεργοποιούν τα PLTs μέσω του CD36. Τα ανθρώπινα PLTs επώαστηκαν με RBCs ελέγχου και με μολυσμένα RBCs παρουσία IgG ή CD36 ελέγχου αποκλείοντας θραύσματα αντισώματος Fab με την ενεργοποίηση των PLTs να προσδιορίζετε μέσω φθορισμού. **ΑΝΑΔΗΜΟΣΙΕΥΣΗ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΗΓΗ.[15]**

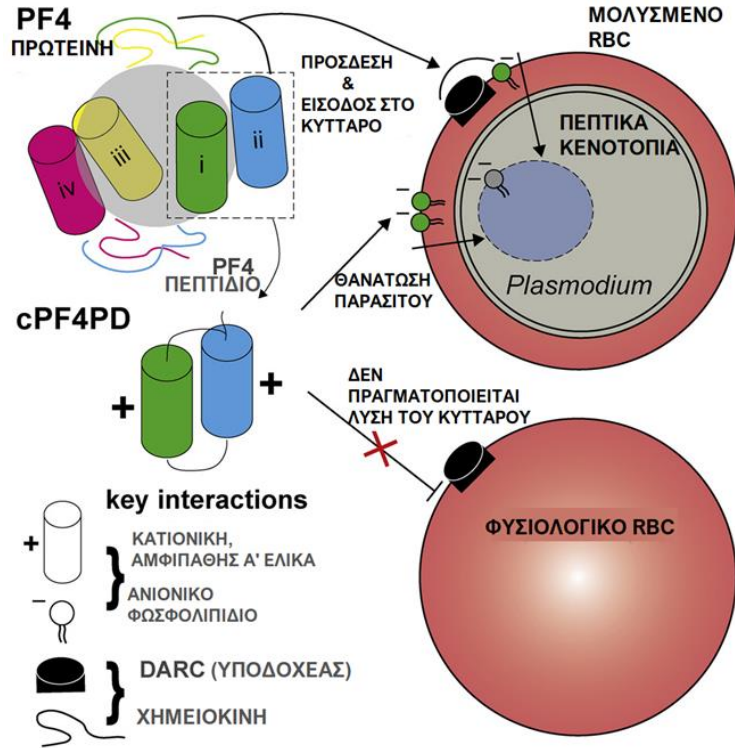
Κεφάλαιο 3.1.2: Ο PF4 στην ελονοσία.

Ο παράγοντας PLTs 4 (PF4) εμφανίζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον όσον αφορά το περιορισμό της ελονοσίας, καθώς μπορεί να αναστείλει σημαντικά την ανάπτυξη των παρασίτων. Είναι μια χημειοκίνη που διαθέτει μια περιοχή τύπου AMP στο καρβοξυτελικό της άκρο με αντιμικροβιακές ιδιότητες.[25] Η βασική συγκέντρωση του PF4 στο ανθρώπινο πλάσμα είναι 2-20 ng/ml, αλλά στην οξεία θρόμβωση έχει αναφερθεί ότι είναι αυξημένος 1000 φορές στα 5-10 µg/ml. Κατά τη διάρκεια της οξείας λοίμωξης από *P.falciparum*, οι συγκεντρώσεις του PF4 στο πλάσμα είναι σημαντικά αυξημένες από μια μέση συγκέντρωση ελέγχου 18 ng/ml σε μεγαλύτερη από 75 ng/ml, καταδεικνύοντας έναν δυνητικά σημαντικό ρόλο του PF4 στη μεσολάβηση των αγγειακών επιδράσεων στη μόλυνση από ελονοσία.[15]

Οι περιοχές τύπου AMP, συνολικά ονομάζονται αντιμικροβιακά πεπτίδια (antimicrobial peptides - AMPs), είναι πεπτίδια με αντιμικροβιακή δραστηριότητα και παράγονται από μια ευρεία ποικιλία οργανισμών. Το επικρατέστερο υποσύνολο των AMP έχει υψηλή περιεκτικότητα σε κατιονικά και υδρόφοβα αμινοξέα και μια δομή αμφιπαθούς α-έλικας. Αυτές οι χαρακτηριστικές ιδιότητες προσδίδουν την ικανότητα στις περιοχές αυτές να προσδέονται και να στοχεύουν σε αρνητικά φορτισμένες μικροβιακές μεμβράνες πάνω σε ουδέτερες μεμβράνες των υγιών ευκαρυωτικών κυττάρων, με αποτέλεσμα είτε να διαταράζουν τη μικροβιακή μεμβράνη, είτε να τη διαπεράσουν ώστε τα αντιμικροβιακά πεπτίδια να αποκτήσουν πρόσβαση στο κυτταρόπλασμα, όπου μπορούν να αναστείλουν τις ενδοκυτταρικές λειτουργίες του.[26]

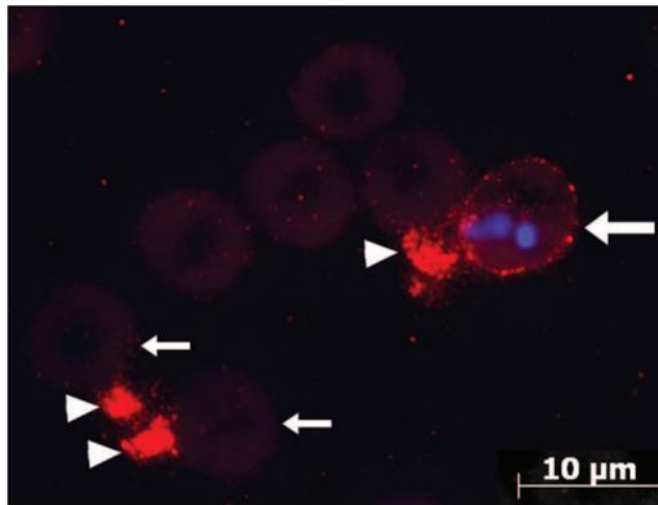
Τα μολυσμένα από το *Plasmodium* RBCs, εμφανίζουν στην επιφάνεια τους έναν παρόμοιο ανιονικό στόχο εξαιτίας των φωσφολιπιδικών προεκβολών με αρνητικά φορτισμένες ομάδες φωσφατιδυλοσερίνης πάνω στην εξωτερική επιφάνεια της μεμβράνης. Επομένως ο παράγοντας PF4 απελευθερώνεται σε υψηλές συγκεντρώσεις από τα ενεργοποιημένα PLTs κατά τη διάρκεια λοίμωξης από το *P.falciparum*. Μέσω της περιοχής τύπου AMP που υπάρχει στο καρβοξυτελικό του άκρο, προσκολλάτε πάνω στα μολυσμένα RBCs και είναι υπεύθυνο για την ενδογενή δράση έναντι του πλασμοδίου και τη θανάτωση του.[26]

Αρχικά, η ενεργοποίηση και η είσοδος του παράγοντα PF4 στα μολυσμένα RBCs, απαιτεί την αλληλεπίδραση με τον υποδοχέα DARC (αντιγόνο-Duffy υποδοχέα για τις χημειοκίνες) στην επιφάνεια των RBCs. Ύστερα από την είσοδο στα μολυσμένα RBCs ακολουθεί ο αντιελονοσιακός μηχανισμός δράσης του παράγοντα PF4, όπου πραγματοποιείται η διακοπή της λειτουργίας των πεπτικών κεντοπίων και ο κατακερματισμός του γενετικού υλικού του παρασίτου.[26] **(ΕΙΚΟΝΑ 9)**



ΕΙΚΟΝΑ 9: Λειτουργία του PF4 σε μολυσμένα και μη μολυσμένα RBCs. **ΑΝΑΔΗΜΟΣΙΕΥΣΗ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΗΓΗ** [26]

Σε ορισμένες πειραματικές μελέτες που πραγματοποιήθηκαν, εφαρμόστηκαν μέθοδοι έμμεσου ανοσοφθορισμού (IFA) με σκοπό την ανίχνευση του PF4. Ο παράγοντα PF4 εντοπίστηκε σε μολυσμένα RBCs τα οποία ήταν συνδεδεμένα με PLTs. **(ΕΙΚΟΝΑ 10)** Διαπιστώθηκε πως ο PF4 δεν ανιχνεύεται σε μη μολυσμένα RBCs τα οποία ήταν είτε δεσμευμένα είτε όχι με PLTs, αλλά ούτε σε καλλιέργειες μολυσμένων κυττάρων, από όπου απουσίαζαν τα PLTs.[25]



ΕΙΚΟΝΑ 10: Μικροσκόπιο ανοσοφθορισμού – Κλίμακα παρατήρησης 10μm Αλληλεπίδραση των PLTs και του PF4 με μολυσμένα από *P.falciparum* RBCs. Τα κύτταρα βάφτηκαν μπλε με Hoechst S769121, τα αντίσωμα για το PF4 ήταν κόκκινα. Τα βέλη δείχνουν PLTs δεσμευμένα με τα φθοριοχρώματα αντι-PF4 και μολυσμένα RBCs.
ΑΝΑΔΗΜΟΣΙΕΥΣΗ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΗΓΗ [25]

Ακολούθησε μια σειρά πειραματικών ενεργειών, μέσα από τις οποίες ενισχύθηκαν οι υποθέσεις που αφορούσαν το σημαντικό ρόλο που κατέχει ο PF4 κατά την ελονοσία. Χρησιμοποιήθηκε ανασυνδιασμένη ανθρώπινη πρωτεΐνη PF4 (rhPF4), για να γίνουν δοκιμές στα διάφορα στάδια του *P.falciparum*, όπου και παρατηρήθηκε αναστολή ανάπτυξης του παρασίτου. Κατά το ενδοερυθροκυτταρικό στάδιο ανάπτυξης, φάνηκε πως το παράσιτο ήταν εξαιρετικά ευαίσθητο στη δράση του rhPF4 κυρίως κατά την ώριμη φάση του τροφοζώιτη, σε αντίθεση με τη φάση της ανώριμης δακτυλιοειδής μορφής η οποία δεν επηρεάστηκε αισθητά. Έτσι φάνηκε πως το PF4 στοχεύει κυρίως τα μεταγενέστερα στάδια της ανάπτυξης των παρασίτων.[25]

Εκτός από το ρόλο του ως κλασική χημειοκίνη, ο PF4 διαθέτει επίσης αντιμικροβιακή δράση και μπορεί να σκοτώσει άμεσα έναν αριθμό παθογόνων βακτηρίων και μυκήτων, ενισχύοντας έτσι τις υποθέσεις που θέλουν τον PF4 να είναι το θανατηφόρο μόριο δράσης των PLTs.[25]

Μια ακόμη μελέτη η οποία πραγματοποιήθηκε από την Επιτροπή Έρευνας (Australian Research Council) και το Εθνικό Συμβούλιο Έρευνας για την Υγεία και την Ιατρική (National Health and Medical Research Council, Australia) της Αυστραλίας υπέδειξε πως το καρβοξυτελικό άκρο του παράγοντα PF4 σκοτώνει τα παράσιτα χωρίς να απαιτείται η παρουσία του DARC στην επιφάνεια των RBCs. Παράλληλα, διαπιστώθηκε πως η δέσμευση του παράγοντα PF4 στο DARC πιθανότατα αυξάνει τη συγκέντρωσή του στην κυτταρική επιφάνεια και στη συνέχεια τον ρυθμό εισόδου μέσα στο κύτταρο. Επίσης ανέφεραν πως το αμινοτελικό άκρο του PF4 περιλαμβάνει μια αλληλουχία χημειοκίνης, η οποία συνδέεται με τον DARC. Για το λόγο αυτό προχώρησαν σε πειράματα ώστε να αποδείξουν την δραστηριότητα έναντι του πλασμοδίου, χρησιμοποιώντας RBCs μολυσμένα από το *P.falciparum*, που είχαν στην επιφάνειά τους DARC. Δημιούργησαν τα πεπτίδια PF4P1–34 και PF4P35–70 που περιείχαν ή στερούσαν την χημειοκίνη αντίστοιχα, με σκοπό να ελέγξουν την λειτουργία τους. Έτσι αποδείχτηκε πως το καρβοξυτελικό άκρο του παράγοντα PF4 απαιτείται για τη δραστηριότητα έναντι του παρασίτου, με το αμινοτελικό άκρο να ενισχύει τη δραστηριότητα αυτή.[26]

Μετέπειτα προχώρησαν σε μια σειρά άλλων πειραμάτων για να αποδείξουν τυχόν εξάρτηση από τον DARC κατά τη λειτουργία του PF4. Εκεί τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ο παράγοντας PF4 είναι ενεργός έναντι των DARC-αρνητικών RBCs αλλά έχασε τη δραστηριότητα του στα DARC-θετικά RBCs.[26]

Σύμφωνα με όλα τα παραπάνω δεδομένα, ο παράγοντας PF4, ανεξαρτήτως της παρουσίας ή όχι του DARC, διαθέτει την ικανότητα μέσω του καρβοξυτελικού του άκρου να

δεσμεύεται στα μολυσμένα RBCs με έναν μηχανισμό που ενισχύεται από το αμινοτελικό του άκρο και με αυτόν τον τρόπο να στοχεύει στην θανάτωση του παρασίτου.[26]

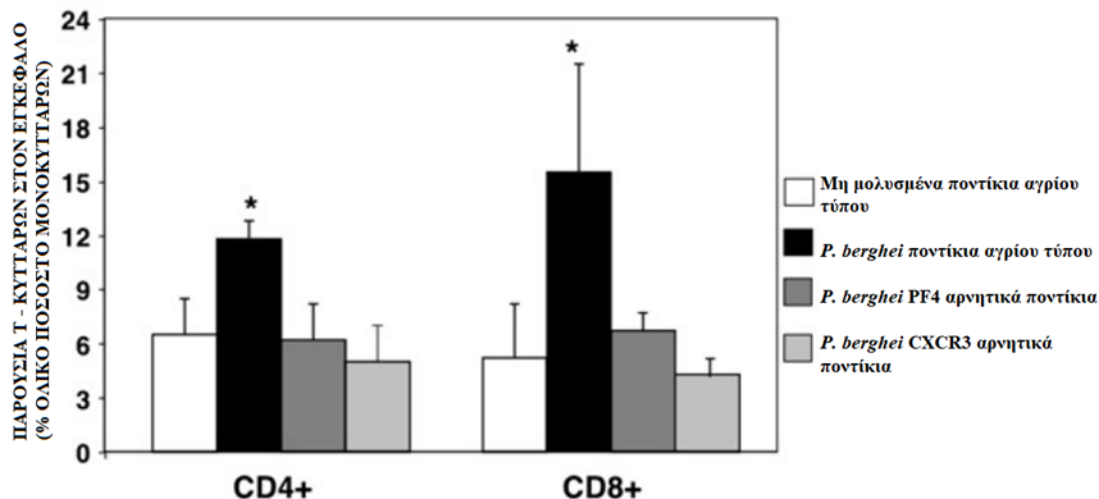
Κεφάλαιο 3.1.2.1: Ο PF4 βοηθάει στην ανάπτυξη της CM.

Φαίνεται πως ο PF4 δεν είναι απλώς ένας δείκτης ενεργοποίησης των PLTs, αλλά μπορεί να χαρακτηριστεί και ως μεσολαβητής της παθογένεσης της CM. Αυτό το συμπέρασμα εξήχθη ύστερα από μια ερευνητική μελέτη όπου χρησιμοποιήθηκαν ποντίκια αγρίου τύπου, ποντίκια PF4 αρνητικά και ποντίκια CXCR3 αρνητικά. Μόλυναν αυτά είδη ζώων εργαστηρίου με το *P.berghei*. και αξιολόγησαν την θνησιμότητά τους ύστερα από μερικές μέρες. Ο CXCR3 είναι ένας υποδοχέας χημειοκίνης των T κυττάρων και πιστεύεται πως είναι απαραίτητος για την ανάπτυξη της CM. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα ποντίκια αγρίου τύπου άρχισαν να πεθαίνουν μετά την 6 μέρα και την 10 μέρα μόνο το 30% επέζησαν. Στην περίπτωση των PF4 αρνητικών ποντικών διαπιστώθηκε μεγαλύτερη από το 60% επιβίωση την 10 μέρα, πράγμα που παρατηρήθηκε και στα CXCR3 αρνητικά ποντίκια. Έτσι τα δεδομένα δείχνουν μειωμένη θνησιμότητα από CM στα PF4 αρνητικά και CXCR3 αρνητικά ποντίκια. [15]

Κεφάλαιο 3.1.2.2: Ο CXCR3 βασικός μεσολαβητής στην CM.

Ο CXCR3 είναι ένας υποδοχέας χημειοκίνης που εκφράζεται σε μεγάλο βαθμό στα T κύτταρα και παίζει σημαντικό ρόλο στη διακίνηση και λειτουργία των T κυττάρων. Ο CXCR3 έχει χαρακτηριστεί ως βασικός μεσολαβητής της μετανάστευσης των T κυττάρων στον εγκέφαλο, κατά την CM. Πραγματοποιήθηκε πειραματική μελέτη για να προσδιοριστεί εάν ο PF4 συμβάλλει επίσης στη σημαντική αύξηση της απόκρισης του CXCR3 των T κυττάρων. Ύστερα από την απομόνωση σπληνών από ποντίκια αγρίου τύπου μη μολυσμένα, μολυσμένα και, ποντίκια PF4 αρνητικά επίσης μολυσμένα, προσδιορίστηκε η έκφραση του υποδοχέα CXCR3 των T κυττάρων με κυτταρομετρία ροής. Ο αριθμός των CXCR3 θετικών CD4+ και CD8+ T κυττάρων υπερδιπλασιάστηκε στα μολυσμένα με το *P.berghei* ποντίκια. Ωστόσο δεν υπήρχε αύξηση του υποδοχέα CXCR3 των T κυττάρων στα αρνητικά PF4 ποντίκια.[15]

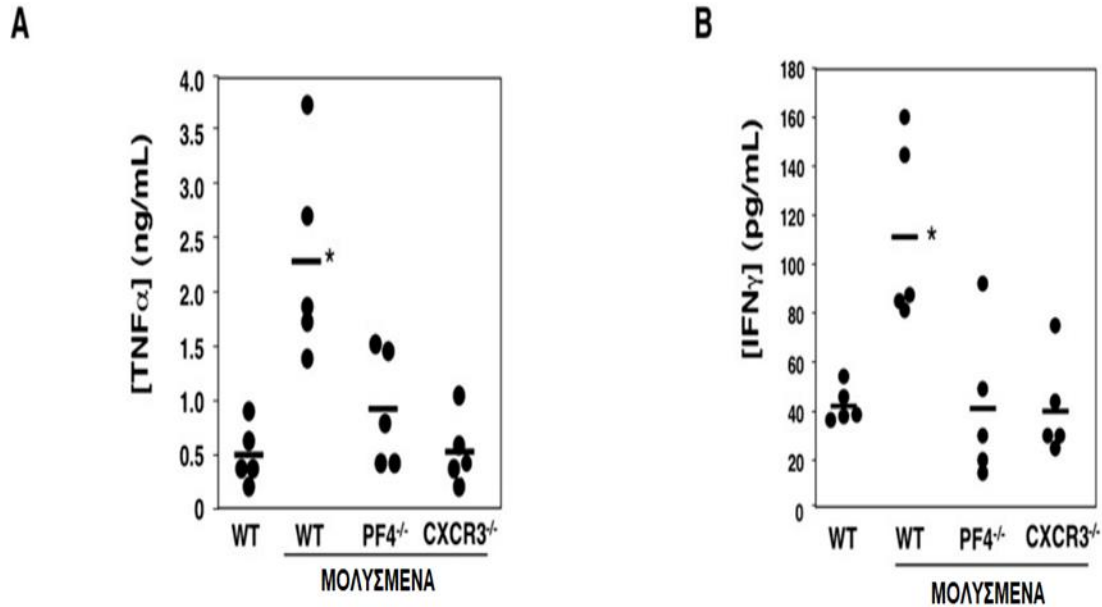
Η παρουσία T λεμφοκυττάρων στον εγκέφαλο είναι χαρακτηριστικό γνώρισμα στην παθογένεση της CM, μια άποψη που έπειτα τεκμηριώθηκε. Μετά το πέρας των πρώτων 5 ημερών από την αρχική μόλυνση, απομονώθηκαν μονοπύρηνια κύτταρα από τον εγκέφαλο και τα T κύτταρα ποσοτικοποιήθηκαν με σκοπό να επιβεβαιωθεί η παραπάνω άποψη. Τα CD4+ και CD8+ κύτταρα ήταν περίπου δυο φορές αυξημένα σε εγκεφάλους μολυσμένων ποντικών σε σύγκριση με τα μη μολυσμένα. Επιπροσθέτως ο αριθμός των T κυττάρων στον εγκέφαλο των PF4 αρνητικών ποντικών, δεν παρουσίασε σημαντική αύξηση. **(ΕΙΚΟΝΑ 11)** Τα παραπάνω δεδομένα καταδεικνύουν ότι η ενεργοποίηση των PLTs και η έκκριση του PF4 είναι σημαντικά βήματα που συμβάλλουν στην απόκριση των T κυττάρων στην CM.[15]



ΕΙΚΟΝΑ 11: Η έκφραση του PF4 αυξάνει τη διήθηση των T κυττάρων στον εγκέφαλο. Οι εγκέφαλοι απομονώθηκαν και τα T κύτταρα CD8 + και CD4 + προσδιορίστηκαν με φθορισμό. **ΑΝΑΔΗΜΟΣΙΕΥΣΗ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΗΓΗ.**[15]

Κεφάλαιο 3.1.2.3: Ο PF4 προκαλεί ανοσοδιέγερση που σχετίζεται με την CM.

Ο TNFα και ο TNFβ συνδέονται έντονα με την ανάπτυξη της CM, με τον TNFα να έχει πρόσφατα αποδειχθεί ότι ασκεί επιδράσεις στα εγκεφαλικά αγγεία που οδηγούν σε εγκεφαλική φλεγμονή και σε περαιτέρω εντοπισμό των PLTs. Για να προσδιοριστεί εάν ο PF4 μέσω της δράσης του αυξάνει τον TNF στο πλάσμα, μετρήθηκε ο TNFα σε ποντίκια αγρίου τύπου που δεν είχαν μολυνθεί από το παράσιτο και στα ποντίκια αγρίου τύπου, τα PF4 αρνητικά και τα CXCR3 αρνητικά που είχαν μολυνθεί από το *P.berghei*. Φάνηκε πως ο TNFα ήταν αυξημένος στο πλάσμα των μολυσμένων αγρίων ποντικών την ημέρα. 5, σε αντίθεση με τα *P. berghei* PF4 αρνητικά και CXCR3 αρνητικά ποντίκια όπου ο TNFα δεν ήταν αυξημένος. Με αποτέλεσμα να καταδεικνύεται η άποψη πως ο PF4 προάγει μια φλεγμονώδη απόκριση σε μια ενδεχόμενη μόλυνση από το *P.berghei*, συμπεριλαμβανομένου του αυξημένου TNFα. Ο IFNγ έχει επίσης συσχετιστεί με την CM και οι συγκεντρώσεις του στο πλάσμα αντικατόπτριζαν αυτές του TNFα. **(ΕΙΚΟΝΑ 12)**[15]



ΕΙΚΟΝΑ 12: Οι TNFα και IFNγ στο πλάσμα δεν αυξάνονται σε μολυσμένα PF4 αρνητικά ποντίκια. Το πλάσμα απομονώθηκε από ποντίκια αγρίου τύπου μη μολυσμένα και μολυσμένα με *P.berghei* την ημέρα 5. Οι συγκεντρώσεις προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο της ELISA. (A) TNFα και (B) IFNγ (n=5, *P<0,01 έναντι ποντικών αγρίου τύπου). **ΑΝΑΔΗΜΟΣΙΕΥΣΗ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΗΓΗ.[15]**

Κεφάλαιο 3.2: Η θρομβοκυτταροπενία κατά την ελονοσία.

Η θρομβοκυτταροπενία είναι συχνή ως εργαστηριακό εύρημα σε ασθενείς με ελονοσία. Αν και ο μηχανισμός της θρομβοκυτταροπενίας στην ελονοσία δεν είναι πλήρως γνωστός, η παρουσία της κατά την ελονοσία μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως πολύτιμο εργαλείο για τη διάγνωση της νόσου.[27]

Οι αιματολογικές αλλαγές είναι μερικές από τις πιο συχνές επιπλοκές στην ελονοσία και παίζουν σημαντικό ρόλο στην παθογένεση, με το χαμηλό αριθμό PLTs, WBCs και λεμφοκυττάρων είναι οι πιο σημαντικοί προγνωστικοί παράγοντες. Δεν έχει γίνει ακόμη κατανοητό τι ακριβώς οδηγεί στη μείωση του αριθμού των PLTs κατά τη διάρκεια της νόσου, με ορισμένους ερευνητές να υποθέτουν ότι το παράσιτο παράγει παράγοντες που μειώνουν την παραγωγή των PLTs από τα μεγακαρυοκύτταρα. Αυτό προστατεύει το παράσιτο από την κάθαρση που προκαλείται από τα PLTs ως μηχανισμός επιβίωσης. Άλλες μελέτες ανέφεραν πως οι διαταραχές της πήξης, η σπληνομεγαλία, οι αλλοιώσεις του μυελού των οστών, καταστροφή των PLTs που προκαλείται από αντισώματα οδηγούν στη θρομβοκυτταροπενία. Μια ακόμη υπόθεση υποδεικνύει τα αυτοαντισώματα ως υπεύθυνα, καθώς στοχεύουν κατά των γλυκοπρωτεϊνών IIb-IIIa και Ia-IIa των PLTs. Τέλος, μπορεί να συσχετίζεται ισχυρά με τα υψηλά επίπεδα ιντερλευκίνης 10 (IL-10). [27]

Είναι σημαντικό να διερευνηθούν περαιτέρω οι παραπάνω υποθέσεις, προκειμένου να αξιολογηθεί η σχέση μεταξύ θρομβοκυτταροπενίας και ελονοσίας.

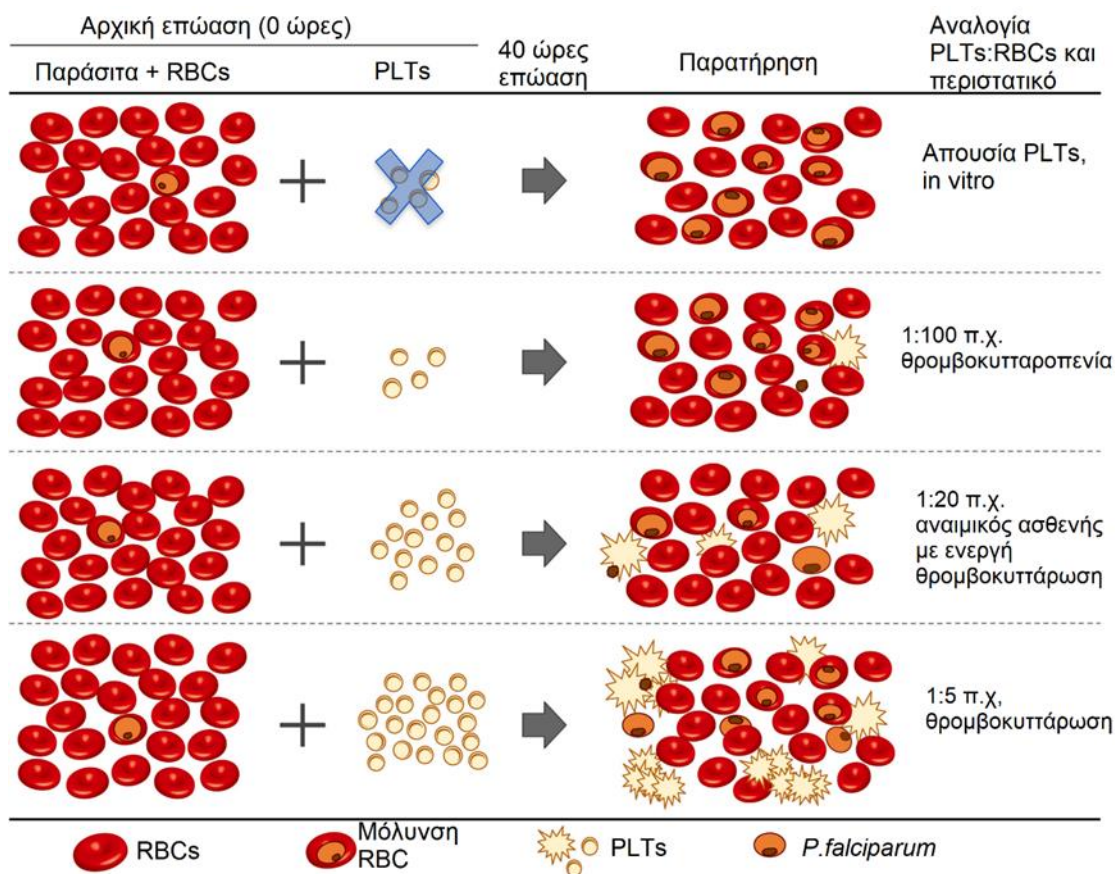
Κεφάλαιο 3.3: Ο ρόλος της αναλογίας PLTs:RBCs κατά την εισβολή του *P.falciparum* στα RBCs.

Μια ομάδα ερευνητών που αποτελούταν από τους Philaiphon Jongruamklang, Johan Rebetz, Rick Kapur, Kristina E. M. Persson, Martin L. Olsson, John W. Semple, Jill R. Storry διερεύνησαν την επίδραση στην εισβολή του *P.falciparum* σε αναλογίες PLTs:RBCs που αντικατοπτρίζουν ιδανικά τις φυσιολογικές συνθήκες σε ασθενείς με ελονοσία.[28]

Χρησιμοποίησαν στελέχη *P. falciparum* FCR3S1.2 και W2mef, τα οποία ύστερα από τις κατάλληλες διεργασίες βρίσκονταν είτε στο στάδιο του δακτυλίου, είτε στο στάδιο των σχιστών. Έλαβαν ανώνυμα δείγματα 1-2 ml RBCs της ομάδας αίματος O, από το Τμήμα Κλινικής Ανοσολογίας και Ιατρικής Μεταγίσεων του Lund της Σουηδίας. Τα κύτταρα αυτά προέρχονταν από συμπυκνωμένες μονάδες RBCs, τα οποία είχαν υποστεί κατεργασία προκειμένου να απομακρυνθούν πλήρως τα WBCs και ήταν ηλικίας μικρότερης της 1 εβδομάδας. Ομοίως χρησιμοποίησαν δείγματα ~ 5–10 ml PLTs, ηλικίας < 1 ημέρας, που είχαν υποστεί επίσης κατεργασία και ήταν καθαρά από WBCs, τα οποία προέρχονταν από δότες ομάδας αίματος O.[28]

Επομένως για να αξιολογηθεί η επίδραση των αναλογιών PLTs:RBCs τα παράσιτα προστέθηκαν στα φρέσκα RBCs και εν συνεχεία προστέθηκαν τα PLTs σε προκαθορισμένες αναλογίες. Έπειτα οι πλάκες των 96 θέσεων, που περιείχαν τα παράσιτα, τα PLTs και τα RBCs επώαστηκαν για διάστημα 40 ωρών και ακολούθησε η εκτίμηση της παρασιταιμίας τόσο με κυτταρομετρία ροής όσο και με μικροσκοπική ανάλυση. Μέσω των δεδομένων που λήφθηκαν από το κυτταρόμετρο προσδιορίστηκε το ποσοστό των παρασιταιμένων κυττάρων και υπολογίστηκε η αποτελεσματικότητα εισβολής σε σχέση με τον έλεγχο εισβολής χωρίς την παρουσία PLTs. Όσον αφορά την μικροσκοπική παρατήρηση, αυτή έγινε σε λεπτά επιχρίσματα αίματος, χρωματισμένα με Giemsa, όπου μετρήθηκαν τουλάχιστον 1000 RBCs ανά αντικειμενοφόρο πλάκα σε μεγέθυνση 1000x.[28]

Τα αποτελέσματα έδειξαν μια γραμμική σχέση μεταξύ μειωμένης εισβολής και αυξημένου αριθμού PLTs για τα στελέχη *P.falciparum* FCR3S1.2 και W2mef σε αναλογίες PLTs:RBCs που κυμαίνονται από 1:100 έως 1:20. Σε χαμηλότερες αναλογίες (1:10 – 1:2) τα PLTs δεν αύξησαν περαιτέρω την ανασταλτική δράση, παρόλα αυτά η αναστολή διατηρήθηκε. Συνολικά η παρουσία των PLTs στις καλλιέργειες είχε ανασταλτική επίδραση στην εισβολή και των δυο στελεχών *P.falciparum*.[28]



ΕΙΚΟΝΑ 13: Σχηματική αναπαράσταση της επίδρασης των PLTs κατά την εισβολή του *P. falciparum* στην καλλιέργεια σε συνδυασμό με κάποιο κλινικό περιστατικό.

Πρώτη σειρά: Καλλιέργεια απουσία των PLTs που οδηγεί σε εισβολή των *P. falciparum* στα RBCs μετά από 40 ώρες επώασης της καλλιέργειας

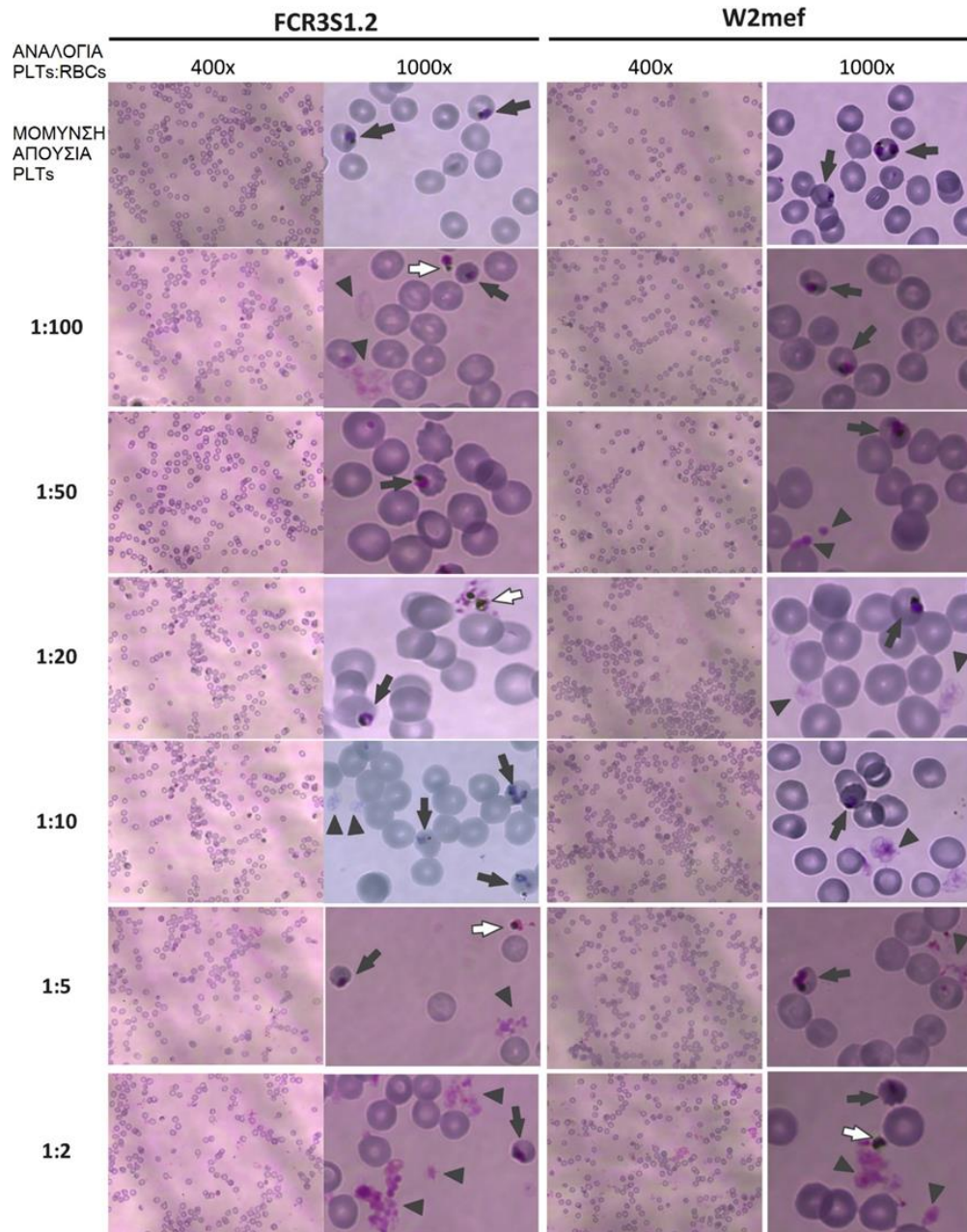
Δεύτερη σειρά: Αναλογία PLTs:RBCs 1:100 που αντιπροσωπεύει έναν θρομβοκυτταροπενικό ασθενή φαίνεται η μείωση στην ποσότητα των μολυσμένων RBCs στις 40 ώρες.

Τρίτη σειρά: Αναλογία PLTs:RBCs 1:20 που αντιπροσωπεύει έναν γενικά αναιμικό ασθενή με κάποια θρομβοκυττάρωση φαίνεται η αξιοσημείωτη μείωση της εισβολής και η παρουσία ορισμένων νεκρών παρασίτων.

Τέταρτη σειρά: Αναλογία PLTs:RBCs 1:5 που αντιπροσωπεύει έναν αναιμικό ασθενή με θρομβοκυττάρωση, φαίνεται κάπως μειωμένη η εισβολή αλλά υπάρχουν συσσωματωμένα PLTs και νεκρά παράσιτα. **ΑΝΑΔΗΜΟΣΙΕΥΣΗ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΗΓΗ.[28]**

Η μικροσκοπική αξιολόγηση σε αυτές τις αναλογίες PLTs:RBCs αποκάλυψε συσσωμάτωση PLTs και σύνδεση PLTs στα RBCs, αλλά όχι μόνο σε μολυσμένα RBCs. Παρατηρήθηκαν εξωκυττάρια παράσιτα στα λεπτά επιχρίσματα, σε όλες τις αναλογίες, με τα PLTs να είναι συνδεδεμένα με αυτά κυρίως όταν βρίσκονται σε χαμηλές αναλογίες. Σύμφωνα με τα ευρήματα των ερευνητών, είναι πιθανό τα ενεργοποιημένα PLTs να αναστείλουν την ανάπτυξη των παρασίτων και την εισβολή τους στα RBCs. Επίσης η

καταγραφή ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων με τη μέθοδο της κυτταρομετρίας ροής, όπου εξωκυττάρια παράσιτα συνδεδεμένα με PLTs μετριοούνται λανθασμένα ως μολυσμένα RBCs, δυσκόλεψαν σε μεγάλο βαθμό τις δοκιμές και την εξαγωγή έγκυρων αποτελεσμάτων. Έτσι η παρατήρηση των λεπτών επίχρισμάτων στις διάφορες αναλογίες διευκόλυνε τη μελέτη. **(ΕΙΚΟΝΑ 14)** Συνοπτικά, η μικροσκοπική παρατήρησης σε συνδυασμό με την κυτταρομετρία ροής έδειξε ότι τα PLTs ανέστειλαν την εισβολή του παρασίτου με δοσοεξαρτώμενο τρόπο.[28]



ΕΙΚΟΝΑ 14: Λεπτό επίχρισμα αίματος βαμμένο με χρώση Giemsa από διαφορετικές αναλογίες PLTs:RBCs. Τα μαύρα βέλη, οι αιχμές βελών και τα λευκά βέλη υποδεικνύουν

παράσιτα, PLTs και εξωκυττάρια παράσιτα, αντίστοιχα. **ΑΝΑΔΗΜΟΣΙΕΥΣΗ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΗΓΗ.[28]**

Κεφάλαιο 3.4: PLTs – Ενδοθηλιακά κύτταρα – Ελονοσία.

Το ενδιαφέρον πολλών ερευνητικών ομάδων έχει στραφεί τόσο στο ενδοθηλιακό σύστημα όσο και στα PLTs. Υπάρχουν εξαιρετικά σημαντικές ενδείξεις που αναφέρουν το κρίσιμο ρόλο που διαδραματίζουν στην παθογένεση της ελονοσίας, μέσω της αλληλεπίδρασής τους με διάφορα μόρια και μέσω της ενεργοποίησης διαφόρων μηχανισμών.

Κεφάλαιο 3.4.1: Ο παράγοντας VWF στην ελονοσία.

Ο παράγοντας von Willebrand (VWF), είναι μια μεγάλη γλυκοπρωτεΐνη του πλάσματος που συντίθεται εντός των ενδοθηλιακών κυττάρων και των μεγακαρυοκυττάρων. Κυκλοφορεί φυσιολογικά στο πλάσμα ως μια σειρά ετερογενών πολυμερών συμμετέχοντας ενεργά στη φυσιολογική αιμόσταση μέσω 2 οδών. Αρχικά, σε περιοχές όπου εμφανίζεται αγγειακός τραυματισμός, ο VWF συμμετέχει στην προσκόλληση των PLTs στο εκτεθειμένο κολλαγόνο. Επιπλέον, έχει προστατευτικό ρόλο καθώς δρα σαν μόριο φορέας για τον προ-πηκτικό παράγοντα VIII, εμποδίζοντας την πρόωρη πρωτεολυτική αποικοδόμηση και κάθαρση του παράγοντα. Ο VWF που παράγεται εντός των ενδοθηλιακών κυττάρων, είτε εκκρίνεται στο πλάσμα, είτε αποθηκεύεται σε ειδικά οργανίδια εντός των ενδοθηλιακών κυττάρων που ονομάζονται σώματα Weibel-Palade (WP). Τα αποθηκευμένα μόρια VWF είναι εμπλουτισμένα σε πολυμερή υψηλού μοριακού βάρους και εκκρίνονται μαζί με άλλα μόρια που υπάρχουν αποθηκευμένα στα σώματα WP, κατά την ενεργοποίηση των ενδοθηλιακών κυττάρων.[29]

Από μια σειρά μελετών που πραγματοποιήθηκε, φάνηκαν αυξημένα τα επίπεδα των αντιγόνων έναντι του VWF και του προπεπτιδίου-VWF (VWFpp) σε ασθενείς με σοβαρή *P.falciparum* ελονοσία. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον έχει η παρατήρηση των Hollestelle et al, οι οποίοι ανέφεραν πως σε παιδιά στην Γκάνα που έπασχαν από CM, η συγκέντρωση VWF ήταν τρεις φορές μεγαλύτερη σε σχέση με παιδιά που δεν εμφάνιζαν τη νόσο. Τριπλάσια αύξηση παρατηρήθηκε επίσης, στο προπεπτιδίο-VWF.[29]

Βέβαια, εκτός από αυτήν τη σειρά μελετών που αποδεικνύουν πως τα αυξημένα επίπεδα του αντιγόνου έναντι του VWF και του προπεπτιδίου-VWF έχουν άμεση σχέση με τη σοβαρή λοίμωξη από ελονοσία, εντοπίζεται και μια παθολογική συσσώρευση πολυμερών VWF (UL-VWF). Τα πολυμερή UL-VWF ενισχύουν σημαντικά την δέσμευση των PLTs σε σχέση με τα αντίστοιχα μονομερή και συνεπώς θεωρούνται πιο σημαντικά στη ρύθμιση της συσσωμάτωσης των PLTs. Επιπρόσθετα, σε ασθενείς με λοίμωξη από το *P. falciparum*, καταγράφεται ένα σημαντικό ποσοστό VWF που κυκλοφορεί στο πλάσμα, στην ενεργή του μορφή και διευκολύνει τη σύνδεση με τα PLTs μέσω του υποδοχέα GrIb. Ο GrIb είναι ένας ειδικός υποδοχέας για τον παράγοντα Von Willebrand μέσω του οποίου τα PLTs προσκολλώνται στο ενδοθήλιο. Η σύνδεση του συμπλόκου UL-VWF – PLTs στην επιφάνεια των ενεργοποιημένων ενδοθηλιακών κυττάρων προσελκύει τα μολυσμένα

RBCs, τα οποία συνδέονται με το σύμπλοκο αυτό μέσω της αλληλεπίδρασης PfEMP-1 και CD36 των PLTs.[29]

Έτσι από την συλλογή των παραπάνω δεδομένων, διαπιστώνεται ότι ο VWF μπορεί να διευκολύνει άμεσα την κυτταρική προσκόλληση των μολυσμένων RBCs στις επιφάνειες των ενδοθηλιακών κυττάρων. Ενώ ταυτόχρονα ρυθμίζει την προσκόλληση των WBCs και των μονοκυττάρων στα ενδοθηλιακά κύτταρα, καθώς επίσης ρυθμίζει την εξαγγείωση των WBCs. Τέλος, υπάρχουν μελέτες ποντικών που επισημαίνουν πως ο VWF μπορεί να σχετίζεται με τη ρύθμιση της διαπερατότητας του αιματεγκεφαλικού φραγμού, πράγμα εξαιρετικά ενδιαφέρον καθώς η δυσλειτουργία του αιματεγκεφαλικού φραγμού επηρεάζει άμεσα την παθογένεση της CM.[29]

Κεφάλαιο 3.4.2: Δράση ADAMTS13 έναντι του UL-VWF στην ελονοσία.

Ο ADAMTS13 είναι ένα ένζυμο και συγκεκριμένα μια μεταλλοπρωτεάση που διασπά τον παράγοντα VWF. Εκκρίνεται στο περιφερικό αίμα και υποβαθμίζει τα μεγάλα πολυμερή VWF, μειώνοντας τη δραστηριότητά τους. Στοχεύει σε έναν ειδικό πεπτιδικό δεσμό (Y1605 / M1606) εντός της περιοχής VWF A2 με αποτέλεσμα να αποτρέπει τη συσσώρευση πολυμερών UL-VWF στο φυσιολογικό πλάσμα. Παρόλο που οι μοριακοί μηχανισμοί που είναι υπεύθυνοι για την παρουσία UL-VWF σε ασθενείς με σοβαρή λοίμωξη από ελονοσία δεν έχουν καθοριστεί, αρκετές μελέτες στρέφουν το ενδιαφέρον τους προς τα επίπεδα του αντιγόνου και τη δραστηριότητα του ενζύμου ADAMTS13, όπου φαίνεται να υπάρχει αισθητή μείωση κατά την CM.[29]

Αρχικές έρευνες έχουν δείξει πως η δραστηριότητα του ADAMTS13 μπορεί επίσης να ανασταλεί στο πλάσμα σε παιδιά μολυσμένα με *P. falciparum*. Αν και δεν είναι ακόμη ευρέως γνωστή η φυσιολογική δραστηριότητα του ADAMTS13, έχουν περιγραφεί μερικοί πιθανοί αναστολής, όπως η θρομβίνη, η ιντερλευκίνη-6 (IL-6), θρομβοσπονδίνη-1 και ελεύθερη αιμοσφαιρίνη πλάσματος. Από τα παραπάνω, η ιντερλευκίνη-6 (IL-6) και η ελεύθερη αιμοσφαιρίνη πλάσματος, καταγράφονται σημαντικά αυξημένα σε παιδιά με CM. Όμως η αύξηση αυτή που παρατηρείται δεν είναι σε βαθμό τέτοιο που θα μπορούσε να αναστείλει τη δράση του ADAMTS13. Έτσι πιστεύεται πως η συσσώρευση μη φυσιολογικών πολυμερών UL-VWF σε ασθενείς με σοβαρή ελονοσία *P. falciparum* είναι συνδυασμός πολλών βιολογικών μηχανισμών. Μηχανισμοί όπως η έντονη οξεία ενεργοποίηση των ενδοθηλιακών κυττάρων και η απελευθέρωση UL-VWF από τα σώματα WP, συμπεριλαμβανομένων των σημαντικά μειωμένων επιπέδων αντιγόνων ADAMTS13 στο πλάσμα και της αναστολής της λειτουργικής δραστηριότητας του ADAMTS13, επηρεάζουν άμεσα τη παθογένεση της νόσου.[29]

Κεφάλαιο 3.4.3: Ο καταρράκτης της πήξης στην ελονοσία.

Ο καταρράκτης της πήξης του αίματος φαίνεται να ενεργοποιείται στην ελονοσία *P. falciparum*. Συγκεκριμένα, τα αυξημένα επίπεδα των συμπλοκών θρομβίνης-αντιθρομβίνης, των προϊόντων αποδόμησης ινώδους και των D-dimers στο πλάσμα

αποτελούν ενδείξεις που επιβεβαιώνουν τις υποθέσεις αυτές. Σε πολλές μελέτες το ενδιαφέρον έχει στραφεί προς τη συσχέτιση του βαθμού ενεργοποίησης της πήξης στην ελονοσία με της σοβαρότητας της νόσου και τα επίπεδα της παρασιταϊμίας. Ένα ακόμη στοιχείο που έχει παρατηρηθεί, αφορά τις μειωμένες τιμές που καταγράφονται στους αντιπηκτικούς παράγοντες, όπως η αντιθρομβίνη, η πρωτεΐνη C και η πρωτεΐνη S σε ασθενείς που πάσχουν. [29]

Αν και οι γνώσεις γύρω από τον μηχανισμό ενεργοποίησης του καταρράκτη της πήξης παραμένουν ελάχιστες, οι Francischetti et al διαπίστωσαν ότι ύστερα από επώαση μολυσμένων RBCs με μικροκυτταρικά ενδοθηλιακά κύτταρα in-vitro, επάγεται η έκφραση του ιστικού παράγοντα. Μάλιστα η έκφραση αυτή στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων, φάνηκε να είναι σημαντική μετά από επώαση με τις ώριμες μορφές των μολυσμένων RBCs.[29]

Μια άλλη σειρά πειραματικών εφαρμογών, κατά τις οποίες επώαστηκαν μολυσμένα RBCs με τη προθρομβίνη και τους παράγοντες πήξης Xa, Va, Ca²⁺, οδήγησαν στην παραγωγή θρομβίνης in vitro. Ομοίως κατά την επώαση των μολυσμένων RBCs με τους παράγοντες VIIIa, IXa, Ca²⁺ και X παρατηρήθηκε επίσης παραγωγή του παράγοντα Xa. Όταν όμως τα μολυσμένα RBCs αντικαταστάθηκαν από φυσιολογικά RBCs και ακολουθήθηκαν οι ίδιες πειραματικές εφαρμογές, δεν εντοπίστηκε παραγωγή θρομβίνης ή του παράγοντα Xa in vitro. Έτσι διαπιστώθηκε πως η μόλυνση από *P.falciparum* μπορεί να προάγει τη διαδικασία της πήξης.[29]

Επομένως, φαίνεται πως η δυσλειτουργία των αιμοστατικών μηχανισμών μπορεί να διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στην παθογένεση της ελονοσίας, με τον βαθμό της αιμοστατικής δυσλειτουργίας να αναφέρεται πως σχετίζεται με τη σοβαρότητα της νόσου και με τα επίπεδα της παρασιταϊμίας στο περιφερικό αίμα.[29]

Κεφάλαιο 3.4.4: Η οδός της πρωτεΐνης C στην ελονοσία.

Η πρωτεΐνη C χαρακτηρίζεται ως φυσικός αναστολέας της πήξης του αίματος. Μειώνει την δράση των παραγόντων πήξης αποφεύγοντας την ανεξέλεγκτη επέκταση των θρόμβων. Συγκεκριμένα ενεργοποιείται ως απόκριση στην υπερβολική παραγωγή θρομβίνης κατά το σχηματισμό των θρόμβων. Η ενεργοποίηση της πρωτεΐνης C πραγματοποιείται από το σύμπλοκο θρομβίνης – θρομβομοντουλίνης, επιταχύνεται με την παρουσία του υποδοχέα EPCR, ο οποίος δεσμεύει τη πρωτεΐνη C με υψηλή συγγένεια και την παρουσιάζει με σκοπό την μετέπειτα βέλτιστη ενεργοποίηση της από το σύμπλοκο. Η ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C, σε συνδυασμό με την πρωτεΐνη S, που λειτουργεί ως συμπαράγοντάς της, περιορίζει την περαιτέρω παραγωγή θρομβίνης μέσω της αποικοδόμησης των ενεργοποιημένων συμπαραγόντων V και VIII. Ενώ ταυτόχρονα μπορεί να λειτουργήσει ως κυτταρικός σηματοδότης, έχοντας την ικανότητα να δρα προστατευτικά έναντι προφλεγμονωδών, τοξικών και προαποπτωτικών φαινομένων.[29]

Όσον αφορά την ελονοσία, φαίνεται πως το αντιγόνο PfEMP1 μπορεί να συνδεθεί στους υποδοχείς της πρωτεΐνης C και έτσι να παρακινηθεί η κυτταρική προσκόλληση και

απομάκρυνση των μολυσμένων RBCs. Ο υποδοχέας EPCR αναφέρεται ως ένας από τους κυρίαρχους στόχους για τους υποτύπους PfEMP1 που σχετίζονται με σοβαρή ελονοσία. Συγκεκριμένα, οι αμινοτελικές περιοχές πλούσιες σε κυστεΐνη αποτελούν τμήμα του αντιγόνου PfEMP1 και συνδέονται με υψηλή συγγένεια με τον υποδοχέα EPCR. Διαπιστώνεται πως οι διάφοροι τομείς CIDRa1 δεν επηρεάζουν τη σύνδεση EPCR - PfEMP1, σε αντίθεση με τις ειδικές διαφορές στην αλληλουχία των διαφόρων υποτύπων των PfEMP1, που μπορούν να τροποποιήσουν τη δεσμευτική ικανότητα.[29]

Η σύνδεση της PfEMP1 με τον υποδοχέα EPCR φαίνεται να συμβάλει στη παθογένεση της ελονοσίας πέρα από τη κυτταρική προσκόλληση των μολυσμένων RBCs. Σε πρόσφατες *in vitro* μελέτες αποδείχθηκε ότι η δέσμευση της PfEMP1 στο EPCR περιορίζει την ενεργοποίηση πρωτεΐνης C, καθώς η ενεργοποίηση PAR1 που εξαρτάται από τον παράγοντα EPCR προστατεύει την ακεραιότητα του φραγμού των ενδοθηλιακών κυττάρων. Επομένως, εξασθενεί τη φυσιολογική λειτουργία της πρωτεΐνης C, η οποία δυσχεραίνει περαιτέρω λόγω της προ-φλεγμονώδους απόκρισης κατά την σοβαρή ελονοσία.[29]

Συνεπώς, οι ανταγωνιστικές δράσεις που ασκούνται στον υποδοχέα EPCR από άλλα μόρια, εμποδίζουν την ενεργοποίηση της πρωτεΐνης C και την προώθηση της εξαρτώμενης από PAR1-αντιφλεγμονώδους δράσης της. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την περαιτέρω δυσλειτουργία της οδού της πρωτεΐνης C, διευκολύνοντας έτσι την επιπλέον αγγειακή βλάβη που προκαλείται από το *P.falciparum*. [29]

Κεφάλαιο 3.5: Τα PLTs και η συσχέτιση με τον μηχανισμό APR.

Η APR είναι το ταχέως επαγόμενο πρώτο στάδιο απόκρισης σε μόλυνση ή τραυματισμό κάποιου ιστού. Φαίνεται πως η APR εμπλέκεται και στη περίπτωση της ελονοσίας, ύστερα από μια εργαστηριακή μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε ποντίκια τα οποία μολύνθηκαν με το *P.berghei*. Τα ποντίκια αυτά χωρίστηκαν σε 3 ομάδες, με την ομάδα 1 να περιλαμβάνει εκείνα που μολύνθηκαν με το παράσιτο αφού πρώτα είχαν υποστεί κατεργασία προκειμένου να μειωθεί στο ελάχιστο η παρουσία PLTs στον οργανισμό τους. Ενώ η ομάδα 2 περιελάμβανε εκείνα που πρώτα είχαν μολυνθεί και έπειτα είχαν υποστεί κατεργασία και η ομάδα 3 εκείνα που δεν είχαν υποστεί καμία κατεργασία μονάχα είχαν μολυνθεί.[30]

Για να προσδιοριστεί εάν η εξαρτώμενη από τα PLTs επαγωγή της APR μπορεί να έχει προστατευτικό ρόλο και να ευθύνεται εν μέρει για την απώλεια προστασίας από το CM, στην περίπτωση της ομάδας 1, μετρήθηκαν πρώτα οι συγκεντρώσεις SAA και SAP στο πλάσμα ως δείκτες του APR στα ζώα εργαστηρίου. Οι δείκτες SAP και SAA μειώθηκαν σημαντικά σε ποντίκια της ομάδας 1 σε σύγκριση με ποντίκια της ομάδας 3. Οι συγκεντρώσεις των SAP και SAA στο πλάσμα σε ποντίκια της ομάδας 2 δεν διέφεραν σημαντικά από εκείνα της ομάδας 3, υποδεικνύοντας έτσι πως στις 24 ώρες μετά τη μόλυνση, τα PLTs συνέβαλαν σε μεγάλο βαθμό στην επαγωγή της λοίμωξης APR στο στάδιο αίματος *P.berghei*. [30]

Ακολούθησε άλλη πειραματική μέτρηση για να προσδιοριστεί εάν στη μόλυνση η εξαρτώμενη από PLTs - APR περιλαμβάνει την IL-1β, καθώς τα PLTs συνθέτουν και εκκρίνουν IL-1β κατά την ενεργοποίησή τους. Έτσι μετρήθηκε η συγκέντρωση της IL-1β στο πλάσμα των 3 ομάδων των ποντικών. Στο πλάσμα των ποντικών της ομάδας 1 παρατηρήθηκε μειωμένη IL-1β σε σύγκριση με εκείνα της ομάδας 3. Αντίθετα, τα ποντίκια της ομάδας 2 είχαν παρόμοια επίπεδα κυκλοφορούντος IL-1β στο πλάσμα με εκείνα της ομάδας 3. Αυτά τα δεδομένα υποδεικνύουν ότι τα PLTs έχουν εξαιρετικά σημαντικό ρόλο στην απόκριση της IL-1β κατά τη μόλυνση.[30]

Συζητήσεις – Συμπεράσματα:

Εκτός από τη ζωτική αιμοστατική τους λειτουργία, τα PLTs είναι επίσης ενεργά στη φλεγμονή έχοντας εξέχοντα ρόλο τόσο στις ανοσολογικές αποκρίσεις όσο και στην αγγειακή απόφραξη. Τα κοκκία των PLTs περιέχουν πολλά μόρια που συμβάλουν στη φλεγμονή και στη προσκόλληση και τα οποία είτε απελευθερώνονται είτε εκφράζονται κατά την ενεργοποίησή τους.

Η παρούσα ανασκόπηση ανέδειξε ότι τα PLTs εκτός από τις προ φλεγμονώδεις δράσεις που μπορούν να ασκήσουν σε μια ενδεχόμενη λοίμωξη από το *Plasmodium* της ελονοσίας, μπορούν να συμβάλλουν άμεσα στη θανάτωση του παρασίτου. Παρατηρήθηκαν PLTs συνδεδεμένα τόσο με μολυσμένα RBCs όσο και με μη μολυσμένα, με τα πρώτα να καταλαμβάνουν μεγαλύτερο ποσοστό στο περιφερικό αίμα των ασθενών.

Τα δεδομένα που παρουσιάστηκαν υποδηλώνουν ότι τα PLTs διαδραματίζουν πολύπλοκο ρόλο στην παθογένεση της CM, ενεργοποιούνται πολύ νωρίς και έχουν κεντρικό ρόλο στην έναρξη της APR κατά τη μόλυνση. Βοηθούν στον περιορισμό της ανάπτυξης παρασίτων στα πρώιμα στάδια μετά τη μόλυνση, αλλά με συνεχή ενεργοποίηση των PLTs καθώς η νόσος εξελίσσεται, συμβάλλουν στη φλεγμονή που σχετίζεται με την CM. Η CM είναι μια εξαιρετικά σοβαρή επιπλοκή της λοίμωξης από *Plasmodium*, χαρακτηρίζεται από εγκεφαλικές αγγειακές βλάβες που μοιάζουν με το εγκεφαλικό και συχνά οδηγούν στο θάνατο. Η ενεργοποίηση των PLTs οδηγεί σε απελευθέρωση κυτταροκινών καθώς και στην έκκριση μορίων όπως η IL-1β, οδηγώντας σε περισσότερη αγγειακή φλεγμονή και στρατολόγηση WBCs. Όλη αυτή η ενεργοποίηση συμβάλλει στην απόφραξη των αγγείων στο CM από τα PLTs και τα διηθητικά WBCs.

Πέρα από τον δυσμενή ρόλο των PLTs κατά την παρασιτική αυτή μόλυνση, η παρουσία τους μπορεί να επιφέρει θετικό αντίκτυπο. Η προστατευτική λειτουργία που παρέχουν τα PLTs κατά τη διάρκεια μιας λοίμωξης, αφορά την παραγωγή του PF4. Καθώς τα PLTs έρχονται σε επαφή με τα μολυσμένα RBCs, εκκρίνεται ο PF4 που με τη σειρά του αλληλοεπιδρά με τον DARC, εισέρχεται στο εσωτερικό των RBCs και σκοτώνει άμεσα τα ενδοερυθροκυτταρικά παράσιτα. Ωστόσο ο μηχανισμός δράσης των PLTs φαίνεται να είναι ακόμη πιο περίπλοκος, με τις ερευνητικές μελέτες να πληθαίνουν

Από πολλές ερευνητικές μελέτες εξήχθη το συμπέρασμα πως οι αναλογίες των συμπλεγμάτων PLTs - μολυσμένων RBCs ήταν αντιστρόφως ανάλογες με το παρασιτικό φορτίο. Επίσης εντοπίστηκε ενδοερυθροκυτταρική συσσώρευση του παράγοντα PF4 στα παρασιτεμένα RBCs που όπως προαναφέρθηκε σχετίζεται και με τον θάνατο των παρασίτων αυτών. Έχει προταθεί μηχανισμός σχετιζόμενος με την υπόθεση αυτή, όπου η άμεση επαφή PLTs - μολυσμένων RBCs και η τοπική απελευθέρωση του PF4 έχει ως τελικό στόχο τα παράσιτα.

Ο χαρακτηρισμός των PLTs ως μεσολαβητές των ανοσολογικών αποκρίσεων του ξενιστή είναι μια σχετικά νέα έννοια, ιδιαίτερα στο πλαίσιο των μικροβιακών παθογόνων που μεταδίδονται στο αίμα, όπως το *Plasmodium*. Τα PLTs έχουν διαφορετικούς ρόλους στη

μόλυνση και στην ανοσία. Ιδιότητες όπως οι θρομβωτικές, οι ανοσολογικές και οι αντιμικροβιακές καθιστούν δύσκολη την τοποθέτηση των ειδικών όσον αφορά το ρόλο των PLTs σε λοιμώξεις, ιδιαίτερα στη μόλυνση από ελονοσία. Απαιτούνται περαιτέρω μελέτες ώστε να αποσαφηνιστεί ο ρόλος των PLTs στη παθογένεση της νόσου. Όσες περισσότερες είναι οι γνώσεις της επιστημονικής κοινότητας γύρω από τα PLTs τόσο πιο αποτελεσματικές λύσεις θα δοθούν έναντι αυτού του παγκόσμιου αυτού υγειονομικού προβλήματος.

Βιβλιογραφία:

- [1] The WHO, *World Malaria Report 2017*. 2017.
- [2] A. F. Cowman, J. Healer, D. Marapana, and K. Marsh, “Malaria: Biology and Disease,” *Cell*, vol. 167, no. 3. Cell Press, pp. 610–624, Oct. 20, 2016, doi: 10.1016/j.cell.2016.07.055.
- [3] S. Briquet, C. Marinach, O. Silvie, and C. Vaquero, “Preparing for Transmission : Gene Regulation in Plasmodium Sporozoites,” vol. 10, no. January, pp. 1–13, 2021, doi: 10.3389/fcimb.2020.618430.
- [4] E. A. Ashley, A. Pyae Phyo, and C. J. Woodrow, “Malaria,” *The Lancet*, vol. 391, no. 10130. Lancet Publishing Group, pp. 1608–1621, Apr. 21, 2018, doi: 10.1016/S0140-6736(18)30324-6.
- [5] A. S. Deshmukh, S. Srivastava, and S. K. Dhar, “Plasmodium falciparum : Epigenetic control of var gene regulation and disease,” *Subcell. Biochem.*, vol. 61, pp. 659–682, May 2013, doi: 10.1007/978-94-007-4525-4_28.
- [6] N. D. Pasternak and R. Dzikowski, “PfEMP1: An antigen that plays a key role in the pathogenicity and immune evasion of the malaria parasite Plasmodium falciparum,” *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, vol. 41, no. 7, pp. 1463–1466, 2009, doi: 10.1016/j.biocel.2008.12.012.
- [7] V. V. Makkapati and R. M. Rao, “Segmentation of malaria parasites in peripheral blood smear images,” *ICASSP, IEEE Int. Conf. Acoust. Speech Signal Process. - Proc.*, pp. 1361–1364, 2009, doi: 10.1109/ICASSP.2009.4959845.
- [8] V. Singh, P. Gupta, and V. Pande, “Revisiting the multigene families: Plasmodium var and vir genes,” *J. Vector Borne Dis.*, vol. 51, no. 2, pp. 75–81, 2014.
- [9] D. A. Milner, “Malaria pathogenesis,” *Cold Spring Harb. Perspect. Med.*, vol. 8, no. 1, Jan. 2018, doi: 10.1101/cshperspect.a025569.
- [10] F. B. Ntumngia, R. Thomson-Luque, C. V. Pires, and J. H. Adams, “The role of the human duffy antigen receptor for chemokines in malaria susceptibility: Current opinions and future treatment prospects,” *J. Receptor. Ligand Channel Res.*, vol. 9, p. 1, Sep. 2016, doi: 10.2147/JRLCR.S99725.
- [11] E. Chen, N. D. Salinas, F. B. Ntumngia, J. H. Adams, and N. H. Tolia, “Structural Analysis of the Synthetic Duffy Binding Protein (DBP) Antigen DEKnull Relevant for Plasmodium vivax Malaria Vaccine Design,” *PLoS Negl. Trop. Dis.*, vol. 9, no. 3, p. e0003644, Mar. 2015, doi: 10.1371/JOURNAL.PNTD.0003644.
- [12] C. A. Moxon, G. E. Grau, and A. G. Craig, “Malaria: Modification of the red blood cell and consequences in the human host,” *Br. J. Haematol.*, vol. 154, no. 6, pp. 670–679, 2011, doi: 10.1111/j.1365-2141.2011.08755.x.
- [13] B. Henry, C. Roussel, M. Carucci, V. Brousse, P. A. Ndour, and P. Buffet, “The Human Spleen in Malaria: Filter or Shelter?,” *Trends in Parasitology*, vol. 36, no.

5. Elsevier Ltd, pp. 435–446, May 01, 2020, doi: 10.1016/j.pt.2020.03.001.
- [14] R. Hora, P. Kapoor, K. K. Thind, and P. C. Mishra, “Cerebral malaria – clinical manifestations and pathogenesis,” *Metabolic Brain Disease*, vol. 31, no. 2. Springer New York LLC, pp. 225–237, Apr. 01, 2016, doi: 10.1007/s11011-015-9787-5.
- [15] K. Srivastava *et al.*, “Platelet Factor 4 Mediates Inflammation in Experimental Cerebral Malaria,” *Cell Host Microbe*, vol. 4, no. 2, pp. 179–187, Aug. 2008, doi: 10.1016/J.CHOM.2008.07.003.
- [16] P. Harrison, “Platelet function analysis,” *Blood Rev.*, vol. 19, no. 2, pp. 111–123, Mar. 2005, doi: 10.1016/j.blre.2004.05.002.
- [17] E. Lefrançois *et al.*, “The lung is a site of platelet biogenesis and a reservoir for haematopoietic progenitors,” *Nat. Publ. Gr.*, vol. 544, 2017, doi: 10.1038/nature21706.
- [18] M. Holinstat, “Normal platelet function,” *Cancer and Metastasis Reviews*, vol. 36, no. 2. Springer New York LLC, pp. 195–198, Jun. 01, 2017, doi: 10.1007/s10555-017-9677-x.
- [19] C. N. Morrell, A. A. Aggrey, L. M. Chapman, and K. L. Modjeski, “Emerging roles for platelets as immune and inflammatory cells,” *Blood*, vol. 123, no. 18, pp. 2759–2767, 2014, doi: 10.1182/blood-2013-11-462432.
- [20] A. Maouia, J. Rebetz, R. Kapur, and J. W. Semple, “The Immune Nature of Platelets Revisited,” *Transfus. Med. Rev.*, vol. 34, no. 4, pp. 209–220, 2020, doi: 10.1016/j.tmr.2020.09.005.
- [21] J. M. O’Sullivan and J. S. O’Donnell, “Platelets in malaria pathogenesis,” *Blood*, vol. 132, no. 12. American Society of Hematology, pp. 1222–1224, Sep. 20, 2018, doi: 10.1182/blood-2018-08-865618.
- [22] C. R. Engwerda and M. F. Good, “Immunology: Platelets kill the parasite within,” *Science (80-.)*, vol. 338, no. 6112, pp. 1304–1305, 2012, doi: 10.1126/science.1232439.
- [23] A. Cabrera, D. Neculai, and K. C. Kain, “CD36 and malaria: Friends or foes? A decade of data provides some answers,” *Trends Parasitol.*, vol. 30, no. 9, pp. 436–444, 2014, doi: 10.1016/j.pt.2014.07.006.
- [24] S. Kho *et al.*, “Platelets kill circulating parasites of all major Plasmodium species in human malaria,” *Blood*, vol. 132, no. 12, pp. 1332–1344, 2018, doi: 10.1182/blood-2018-05-849307.
- [25] B. J. McMorran *et al.*, “Platelet factor 4 and duffy antigen required for platelet killing of Plasmodium falciparum,” *Science (80-.)*, vol. 338, no. 6112, pp. 1348–1351, 2012, doi: 10.1126/science.1228892.
- [26] N. Lawrence *et al.*, “Defense Peptides Engineered from Human Platelet Factor 4

- Kill Plasmodium by Selective Membrane Disruption,” *Cell Chem. Biol.*, vol. 25, no. 9, pp. 1140-1150.e5, Sep. 2018, doi: 10.1016/j.chembiol.2018.06.009.
- [27] A. M. Babker, “Is thrombocytopenia considered a valuable indicator tool for malaria?,” 2020, doi: 10.30574/gscarr.2020.2.3.0019.
- [28] P. Jongruamklang *et al.*, “Platelets inhibit erythrocyte invasion by Plasmodium falciparum at physiological platelet:erythrocyte ratios,” *Transfus. Med.*, no. December 2020, pp. 1–7, 2021, doi: 10.1111/tme.12791.
- [29] J. M. O’Sullivan, R. J. S. Preston, N. O’Regan, and J. S. O’Donnell, “Emerging roles for hemostatic dysfunction in malaria pathogenesis,” *Blood*, vol. 127, no. 19. American Society of Hematology, pp. 2281–2288, May 12, 2016, doi: 10.1182/blood-2015-11-636464.
- [30] A. A. Aggrey, K. Srivastava, S. Ture, D. J. Field, and C. N. Morrell, “Platelet Induction of the Acute-Phase Response Is Protective in Murine Experimental Cerebral Malaria,” *J. Immunol.*, vol. 190, no. 9, pp. 4685–4691, May 2013, doi: 10.4049/JIMMUNOL.1202672.
- [31] “Έλονοσία - Εθνικός Οργανισμός Δημόσιας Υγείας.” <https://eody.gov.gr/disease/elonosia/> (accessed Feb. 27, 2022).