



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



ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Η χρησιμότητα των ερυθροκυττάρων ως βιοδείκτες ασθενειών

POST GRADUATE THESIS

Red blood cells as disease biomarkers



ΟΝΟΜΑ ΦΟΙΤΗΤΗ/NAME OF STUDENT

Νίκη Βακάλη
Niki Vakali

ΟΝΟΜΑ ΕΙΣΗΓΗΤΗ/NAME OF THE SUPERVISOR

Αλκμήνη Αναστασιάδη
Alkmini Anastasiadi

ΑΙΓΑΛΕΩ/AIGALEO 2024



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



POST GRADUATE THESIS
Red blood cells as disease biomarkers

NIKI VAKALI
22008
niki_syros@yahoo.gr

FIRST SUPERVISOR
ALKMINI ANASTASIADI

SECOND SUPERVISOR
SOTIRIOS FORTIS

AIGALEO 2024

Επιτροπή εξέτασης

Ημερομηνία εξέτασης: 01/10/2024

	Ονόματα εξεταστών	Υπογραφή
1 ^{ος} Εξεταστής	Αλκμήνη Αναστασιάδη	
2 ^{ος} Εξεταστής	Σωτήριος Φόρτης	

Δήλωση συγγραφέα μεταπτυχιακής εργασίας

Η κάτωθι υπογεγραμμένη **Βακάλη Νίκη** του **Θεοδώρου**, με αριθμό μητρώου **22008** φοιτήτρια του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών Βοϊατρικές μέθοδοι και Τεχνολογία στη Διάγνωση του Τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών της Σχολής Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, δηλώνω ότι:

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

Η Δηλούσα

Νίκη Βακάλη

Ευχαριστίες

Ευχαριστώ από τα βάθη της καρδιάς μου την επιβλέπουσά μου, κυρία Αλκμήνη Αναστασιάδη για την ευκαιρία που μου έδωσε να εκπονήσω με τη συμβολή της μια άκρως ενδιαφέρουσα διπλωματική εργασία, διευρύνοντας τις γνώσεις μου ως επαγγελματίας υγείας. Την ευχαριστώ κυρίως για την εμπιστοσύνη, την υποστήριξή της αλλά και για το ανοικτό πνεύμα συνεργασίας και συνεννόησης που επέδειξε.

Θέλω να ευχαριστήσω, ακόμη, την οικογένεια μου, που με έχει μάθει να πιστεύω στον εαυτό μου, να αγαπάω αυτό που κάνω, να θέλω να εξελίσομαι και με στηρίζει σε όποια απόφαση πάρω, αφού ως γνωστόν «η γνώση δεν έχει ηλικία».

Αφιερώσεις

Στην οικογένειά μου που πάντα με στήριζε και με προέτρεπε να γίνομαι ολοένα και καλύτερη.

Στον σύντροφό μου Σταύρο που πιστεύει σε 'μένα περισσότερο από 'μένα την ίδια. Για την αμέριστη υποστήριξη, την υπομονή και την αγάπη του, ιδιαίτερα κατά τη διάρκεια αυτού του μεταπτυχιακού.

Τέλος, σε δύο πολύ καλούς συναδέλφους που χωρίς την επιμονή τους για τις δυνατότητές μου, ίσως να μην το είχα τολμήσει καν! Στον Αχιλλέα και τη Δέσποινα.

Περίληψη

Τα ερυθροκύτταρα, εκτός από κύριο συστατικό του αίματος με βασικό ρόλο τη μεταφορά αερίων από και προς τους διάφορους ιστούς του σώματος, είναι ικανά να καθρεφτίζουν την ομοιόσταση ολόκληρου του οργανισμού, καθώς έρχονται σε επαφή σχεδόν με κάθε κύτταρό του. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να εκτίθενται σε μικροπεριβάλλοντα με διαφορετικές συνθήκες που καθορίζονται από την κατάσταση της υγείας του κάθε οργάνου. Οι περισσότερες ασθένειες χαρακτηρίζονται από φλεγμονώδες προφίλ και οξειδωτικό στρες, παράγοντες που επηρεάζουν τόσο τη δομή, όσο και τη λειτουργικότητα των ερυθρών αιμοσφαιρίων με διαφορετικό τρόπο στην καθεμία. Η παρούσα διπλωματική εργασία στοχεύει στην ανάδειξη των χαρακτηριστικών των ερυθροκυττάρων που μεταβάλλονται σε κάθε ασθένεια, αφήνοντας τη δική τους ξεχωριστή «υπογραφή» πάνω τους, καθιστώντας τα βιοδείκτες αυτών.

Οι βιοδείκτες χρησιμοποιούνται κατά κόρον τις τελευταίες δεκαετίες, μιας και είναι δείκτες που διακρίνουν με σχετική ακρίβεια τη φυσιολογική βιολογική κατάσταση από μια παθολογική κατάσταση, την απόκριση σε μια συγκεκριμένη θεραπευτική παρέμβαση, την πορεία της νόσου αλλά και την πρόγνωση του ασθενούς, συνήθως με εύκολα προσβάσιμο τρόπο. Η εξέλιξη της επιστήμης στον τομέα των ομικών τεχνολογιών, έχει φέρει αντίστοιχη εξέλιξη στην ανακάλυψη ολοένα και περισσότερων μοριακών βιοδεικτών που είναι απόλυτα χρήσιμοι στην εξατομικευμένη θεραπεία.

Με την αυξανόμενη χρήση των συγκεκριμένων τεχνολογιών, η ανάλυση του προφίλ των ερυθροκυττάρων του κάθε ασθενούς, αποκαλύπτει τις μεταβολές που αυτά υφίστανται σε σχέση με το μέγεθος, το σχήμα, το λιπιδίωμα, το γονιδίωμα, το πρωτέωμα και το μεταβόλωμά τους, με διαφορετικό τρόπο για την κάθε ασθένεια. Αυτό, όμως, που τα εδραίωσε ως βιοδείκτες και τα καθιστά ακόμη χρησιμότερα, είναι το γεγονός ότι επάνω τους αντανakλώνται ακόμη και οι μη αιματολογικές ασθένειες όπως ο καρκίνος, οι νευροεκφυλιστικές νόσοι, τα αυτοάνοσα νοσήματα, οι λοιμώξεις και μάλιστα κάποιες, σε αρκετά πρώιμα στάδια.

Ωστόσο, υφίστανται ασθένειες για τις οποίες ακόμη δεν υπάρχει το απαραίτητο πλήθος ερευνών που να συνδέει τα RBCs με την παθολογία που τις χαρακτηρίζει. Καθώς είναι πολλά υποσχόμενα τα στοιχεία που μας παρέχουν, πιστεύεται ότι τα επόμενα χρόνια, θα συσχετιστούν με ακόμη περισσότερες περιπτώσεις ασθενειών, προσφέροντας ολοένα και μεγαλύτερη υποστήριξη στη διάγνωση και την αξιολόγηση της σοβαρότητας της εκάστοτε νόσου.

Λέξεις κλειδιά: ερυθροκύτταρα, βιοδείκτης, ασθένεια, διάγνωση, πρόγνωση, πρόβλεψη, αυτοάνοσα νοσήματα, νευροεκφυλιστικές ασθένειες, λοιμώξεις, καρκίνος

Abstract

Erythrocytes apart from being the main component of blood with key role in the transport of gases from and towards various tissues of the body, are capable of reflecting the homeostasis of the entire organism, as they make contact with almost every cell. As a result, they are being exposed in microenvironments with different conditions, determined by the state of health of each organ. Most of the diseases are characterized by an inflammatory profile and oxidative stress, factors that affect both the structure and the functionality of red blood cells in a different way in each one of them. This diploma thesis aims to emphasize the characteristics of erythrocytes that change in each disease, marking them with their own distinct “signature, making them their biomarkers.

Biomarkers are used excessively in recent decades, since they are indicators that distinguish mostly accurately the normal biological condition from a pathological one, the response to a specific therapeutic treatment, the disease course and the prognosis of the patient, usually in an easily accessible way. Evolution of science in the omics technologies field, has brought a corresponding development in the discovery of gradually more molecular biomarkers that are absolutely useful in personalized therapy.

With the increasingly use of specific technologies, the analysis of each patient erythrocytes profile, reveals the changes they undergo in relation to their size, shape, lipids, genes, proteins and metabolome, in a different way for each disease. However, the fact that established them as biomarkers and makes them even more useful, is that even non-hematological diseases, are reflected on them, such as cancer, neurodegenerative diseases, autoimmune diseases, infections and notably some of them in quite early stages.

Nevertheless, there is still not enough research connecting RBCs with the pathology describing some diseases. As promising as the providing evidence are, it is expected that more cases will be associated with erythrocytes’ properties in the future, offering even more support in diagnosing and assessing the severity of each disease.

Key words: erythrocytes, biomarker, disease, diagnosis, prognosis, prediction, autoimmune diseases, neurodegenerative diseases, infections, cancer

Περιεχόμενα

Δήλωση συγγραφέα μεταπτυχιακής εργασίας	iv
Ευχαριστίες	v
Αφιερώσεις.....	vi
Περίληψη	vii
Abstract	viii
Συνομογραφίες.....	x
Πρόλογος.....	1
Κεφάλαιο 1. Εισαγωγή.....	3
1.1. Πλαστικότητα ερυθροκυττάρων.....	3
1.1.1. Πλαστικότητα μεγέθους και σχήματος.....	4
1.1.2. Πλαστικότητα οργανιδιακού φορτίου	5
1.1.3. Πλαστικότητα γονιδιώματος και μεταγραφώματος.....	5
1.1.4. Πλαστικότητα λιπιδιώματος	6
1.1.5. Πλαστικότητα πρωτεώματος.....	6
1.2. Βιοδείκτες: Ορισμός, είδη και χρησιμότητα στην κλινική πράξη	7
Κεφάλαιο 2. Αιματολογικές Ασθένειες.....	8
2.1. Δρεπανοκυτταρική Αναιμία	8
2.2. Θαλασσαιμία	11
Κεφάλαιο 3. Αυτοάνοσα Νοσήματα.....	13
3.1. Συστηματικός Ερυθματώδης Λύκος	13
3.2. Ρευματοειδής Αρθρίτιδα.....	16
3.3. Πολλαπλή Σκλήρυνση	18
Κεφάλαιο 4. Νευροεκφυλιστικές Ασθένειες.....	20
4.1. Νόσος του Αλτσχάιμερ.....	20
4.2. Νόσος του Πάρκινσον	25
Κεφάλαιο 5. Καρκίνος.....	30
5.1. Καρκίνος Πνεύμονα	31
5.2. Καρκίνος Μαστού	35
5.3. Καρκίνος Παχέος Εντέρου	38
5.4. Καρκίνος Κεφαλής Τραχήλου	39
Κεφάλαιο 6. Ιογενείς Λοιμώξεις.....	42
Συμπέρασμα.....	46
Αναφορές	47

Συντομογραφίες

	Αγγλική ορολογία	Ελληνική ορολογία
RBC	Red Blood Cell	Ερυθρό αιμοσφαίριο
Hb	Hemoglobin	Αιμοσφαιρίνη
OS	Oxidative Stress	Οξειδωτικό στρες
RDW	Red blood cell distribution width	Εύρος κατανομής ερυθροκυττάρων
SLE/ΣΕΛ	Systemic Lupus Erythematosus	Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος
DNA	Deoxyribonucleic acid	Δεοξυριβονουκλεϊκό οξύ
RNA	Ribonucleic acid	Ριβονουκλεϊκό οξύ
cf-DNA	Cell-free DNA	Ελεύθερο κυττάρων DNA
cf-mtDNA	Cell-free mitochondrial DNA	Ελεύθερο κυττάρων μιτοχονδριακό DNA
TLR9	Toll-like receptor 9	Υποδοχέας TLR9
TLR7	Toll-like receptor 7	Υποδοχέας TLR7
miRNA	MicroRNA	Μικρά, μη κωδικά μόρια RNA
mRNA	Messenger RNA	Αγγελιοφόρο RNA
SM	Sphingomyelin	Σφιγγομυελίνη
PC	Phosphatidylcholine	Φωσφατιδυλοχολίνη
PS	Phosphatidylserine	Φωσφατιδυλοσερίνη
PE	Phosphatidylethanolamine	Φωσφατιδυλοαιθανολαμίνη
SCD	Sickle Cell Disease	Δρεπανοκυτταρική Αναιμία
HbS	Hemoglobin S	Αιμοσφαιρίνη S
ΔΕΚ/RETIC	Reticulocytes	Δικτυοερυθροκύτταρα
m-TOR	Mammalian target of rapamycin	Ραπαμυκίνη
LSD1	Lysine-specific demethylase 1	Απομεθυλάση της λυσίνης
CRP	C-Reactive Protein	C-Αντιδρώσα Πρωτεΐνη
ESR/TKE	Erythrocyte Sedimentation Rate	Ταχύτητα Καθίζησης Ερυθροκυττάρων
CR1	Complement Receptor 1	Υποδοχέας Συμπληρώματος τύπου 1
IC	Immune complexes	Ανοσοσυμπλέγματα
ROS	Reactive Oxygen Species	Δραστικές ρίζες οξυγόνου
SOD	Superoxide Dismutase	Υπεροξειδική δισμουτάση
MS/ΠΣ	Multiple Sclerosis	Πολλαπλή Σκλήρυνση
RA/PA	Rheumatoid arthritis	Ρευματοειδής Αρθρίτιδα
DHA	Docosahexaenoic acid	Εικοσιδιεξανοϊκό Οξύ
AD	Alzheimer's Disease	Νόσος του Αλτσχάιμερ
PD	Parkinson's Disease	Νόσος του Πάρκινσον
a-Syn	Alpha-Synuclein	Άλφα-Συνουκλεΐνη
PUFA	Polyunsaturated fatty acids	Πολυακόρεστα λιπαρά οξέα
MUFA	Monounsaturated fatty acids	Μονοακόρεστα λιπαρά οξέα

Πρόλογος

Τα ερυθρά αιμοσφαίρια ή ερυθροκύτταρα (RBCs) αποτελούν τον πιο άφθονο κυκλοφορούντα και έναν από τους πιο σημαντικούς τύπους κυττάρων του ανθρώπινου σώματος. Βασικός τους ρόλος είναι η μεταφορά μεταβολικών αερίων και θρεπτικών ουσιών, απαραίτητων για τη ζωή, από και προς τους ιστούς. Ωστόσο, πολυάριθμες μελέτες που έχουν διεξαχθεί επάνω στη λειτουργία τους αποκαλύπτουν ότι συμμετέχουν και σε άλλες βιολογικές λειτουργίες, όπως η ρύθμιση του αγγειακού τόνου και η οξειδοαναγωγή καθώς και ότι είναι βαθιά ευαίσθητα κύτταρα και σημαντικοί δείκτες υγείας (Massaccesi, Galliera, & Corsi Romanelli, 2020). Οι ιδιότητες των ερυθροκυττάρων μπορούν να «καθρεφτίζουν» την ομοιόσταση ολόκληρου του οργανισμού (Anastasiadi et al., 2024), λόγω της συνεχούς κίνησής τους μέσω των κυκλοφορικών δικτύων και των αλληλεπιδράσεων τους με όλους τους ιστούς, είτε υγιείς είτε παθολογικούς. Οι πληροφορίες που συλλέγουν, επιτελώντας το ταξίδι τους εντός του οργανισμού, μπορούν να αποτυπωθούν επάνω τους (Nemkov, Reisz, Xia, Zimring, & D'Alessandro, 2018) καθιστώντας τα χρήσιμους βιοδείκτες, όχι μόνο για αιματολογικές ασθένειες αλλά και για πλήθος άλλων ασθενειών με τις οποίες εκ πρώτης όψεως δεν σχετίζονται.

Καθώς οι περισσότερες ασθένειες περιλαμβάνουν φλεγμονώδη παθοφυσιολογία σε ένα ή περισσότερα αγγειακά συστήματα, τα ερυθροκύτταρα μπορούν να θεωρηθούν ως βασικοί κυτταρικοί δείκτες της ευημερίας ενός ατόμου (Pretorius, Olumuyiwa-Akeredolu, Mbotwe, & Bester, 2016). Κατά τη φλεγμονώδη απόκριση τα RBCs, ως μέρος του αιματολογικού συστήματος, εκτίθενται σε φλεγμονώδεις μεσολαβητές και οξειδωτικό στρες (OS), με αποτέλεσμα η εξαιρετικά εξειδικευμένη και οργανωμένη κυτταρική μεμβράνη τους να επιδέχεται μεταβολές, οδηγώντας σε μια ποικιλία δομικών αλλαγών που σηματοδοτούν αμέσως μια μη φυσιολογική κατάσταση (Massaccesi et al., 2020). Τέτοιες αλλαγές, που αφορούν στην πλαστικότητα σχήματος και μεγέθους μπορούν εύκολα να γίνουν αντιληπτές, τόσο με ανάλυση του αίματος σε σύγχρονους αναλυτές κυτταρομετρίας ροής, όσο και με χρήση πιο κλασικών μεθόδων, όπως η εξέταση επιχρίσματος αίματος σε αντικειμενοφόρο πλάκα από τον εργαστηριακό γιατρό. Το εύρος κατανομής ερυθρών (RDW), για παράδειγμα, αποτελεί μια παράμετρο της γενικής εξέτασης αίματος, που υποδεικνύει τις διακυμάνσεις του μεγέθους και του όγκου των RBCs. Είναι δείκτης, δηλαδή ανισοκυττάρωσης και επηρεάζεται σχεδόν σε κάθε παθολογική κατάσταση, συμπεριλαμβανομένων τόσο των αιματολογικών όσο και των μη αιματολογικών ασθενειών όπως διάφορες νεοπλασίες, αυτοάνοσες νόσους, νευροεκφυλιστικά νοσήματα, λοιμώξεις. Μπορεί να μην είναι δυνατό να χρησιμοποιηθεί για διαγνωστικούς σκοπούς ή διαφορική διάγνωση, είναι ικανό όμως να μας δώσει μια πρώτη εικόνα της κατάστασης του

ασθενούς, με τρόπο εύκολο, γρήγορο και οικονομικό, καθώς το ίδιο το αίμα σαν δείγμα, είναι εύκολα προσβάσιμο και εξετάσιμο.

Εκτός της πλαστικότητας του σχήματος των ερυθροκυττάρων, μπορούν κι άλλα χαρακτηριστικά τους να χρησιμοποιηθούν, καθιστώντας τα βιοδείκτες και μάλιστα περισσότερο ειδικούς για την κάθε ασθένεια. Αυτά είναι η πλαστικότητα του οργανιδιακού φορτίου, του γονιδιώματος, του πρωτεώματος, του μεταβολώματος, του λιπιδιώματος και του μεταγραφώματος. Για παράδειγμα, σε ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα σε πρώιμο στάδιο, μπορούν να ανιχνευθούν ώριμα ερυθρά αιμοσφαίρια, που ως γνωστόν στερούνται πυρήνα, με αντίγραφα DNA που φέρουν μεταλλάξεις προερχόμενα από τον καρκινικό ιστό (Liang et al., 2023). Επίσης, υποπληθυσμός ώριμων ερυθροκυττάρων που απαντώνται στο περιφερικό αίμα ασθενών με Συστηματικό Ερυθηματώδη Λύκο (ΣΕΛ), εμπεριέχουν μιτοχόνδρια (Caielli et al., 2021). Ένα ακόμη χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι ο εντοπισμός ινιδίων στην επιφάνεια των RBCs, που αποτελούνται από μονομερή β-αμυλοειδούς και θραύσματα πρωτεΐνης tau, ως πιθανών βιοδεικτών ανίχνευσης πρώιμων σταδίων της νόσου Alzheimer (Nirmalraj, Schneider, & Felbecker, 2021). Όσον αφορά στις ιογενείς λοιμώξεις, πολύ πρόσφατες έρευνες για τη νόσο COVID-19, έδειξαν συσχέτιση των δεικτών γήρανσης των ερυθροκυττάρων με δείκτες που σχετίζονται με τη βαρύτητα της νόσου (Bouchla et al., 2021), όπως δείκτες πνευμονικής λειτουργίας και θρόμβωσης.

Προκύπτει, λοιπόν, από τα παραπάνω ότι τα ερυθρά αιμοσφαίρια μπορούν να χρησιμεύσουν στους κλινικούς ως βιοδείκτες επιρρέπειας/κινδύνου, διάγνωσης, πρόγνωσης, πρόβλεψης, παρακολούθησης, ακόμη και φαρμακοδυναμικής/απόκρισης σε κάποιες συγκεκριμένες νόσους και αυτό αποτελεί το κυρίως θέμα αυτής της διπλωματικής. Η συνεχής, αναπτυσσόμενη έρευνα πάνω στις ομικές τεχνολογίες είναι αυτό που κυρίως έχει βοηθήσει τα τελευταία χρόνια να εμβαθύνουμε τόσο στο ρόλο των ερυθροκυττάρων. Έτσι, όσο εξελίσσεται και η έρευνα τόσο περισσότερες μελέτες αποδεικνύουν ότι η χρήση τους σε συνδυασμό με τα στοιχεία που μας παρέχουν οι βιοδείκτες ορού/πλάσματος, μπορούν να ενισχύσουν τη διαγνωστική ευαισθησία και ειδικότητα, αλλά και την αξία των βιοδεικτών ως γενική έννοια στην κλινική πράξη.

Κεφάλαιο 1. Εισαγωγή

1.1. Πλαστικότητα ερυθροκυττάρων

Τα ερυθρά αιμοσφαίρια, αν και αποτελούν έναν από τους σημαντικότερους τύπους κυττάρων για την επιβίωση ενός οργανισμού, δεν έχουν τα τυπικά χαρακτηριστικά ενός ευκαρυωτικού κυττάρου. Αντιθέτως, έχουν το πολύ ιδιαίτερο σχήμα αμφίκιουλου δίσκου και στερούνται οργανιδίων. Κατά την ωρίμανσή τους, υποβάλλονται σε πολλαπλές και αυστηρά ρυθμιζόμενες διεργασίες, προκειμένου να αναδιαμορφώσουν τη δομή τους ξεκινώντας με την απώλεια του πολύπλοκου συστήματος οργανιδίων και τη συνακόλουθη απόκτηση του τυπικού αμφίκιουλου σχήματος (Pretini et al., 2019). Αυτό εξυπηρετεί τον κύριο ρόλο τους, που είναι η μεταφορά αιμοσφαιρίνης (Hb) σε όλο το σώμα σε επαρκώς υψηλή συγκέντρωση, ώστε να επιτρέπεται η αποτελεσματική μεταφορά οξυγόνου από τους πνεύμονες στους ιστούς και να διευκολύνεται η επιστροφή του διοξειδίου του άνθρακα, που παράγεται κατά την οξειδωτική φωσφορυλίωση, πίσω στους πνεύμονες. Για να το επιτύχουν, όμως, θα πρέπει τα RBCs να παραμορφωθούν για να περάσουν από πολύ μικρά τριχοειδή αγγεία, φτάνοντας έτσι ακόμα και στο πιο απομακρυσμένο κύτταρο του σώματος (Pretini et al., 2019). Η παραμόρφωση αυτή είναι η ικανότητα των κυττάρων να προσαρμόζουν το σχήμα τους στις δυναμικά μεταβαλλόμενες συνθήκες ροής για να ελαχιστοποιήσουν την αντίστασή τους στη ροή και έχει αναγνωριστεί ως ευαίσθητος δείκτης της λειτουργικότητας των RBCs (Barshtein, Pajic-Lijakovic, & Gural, 2021).

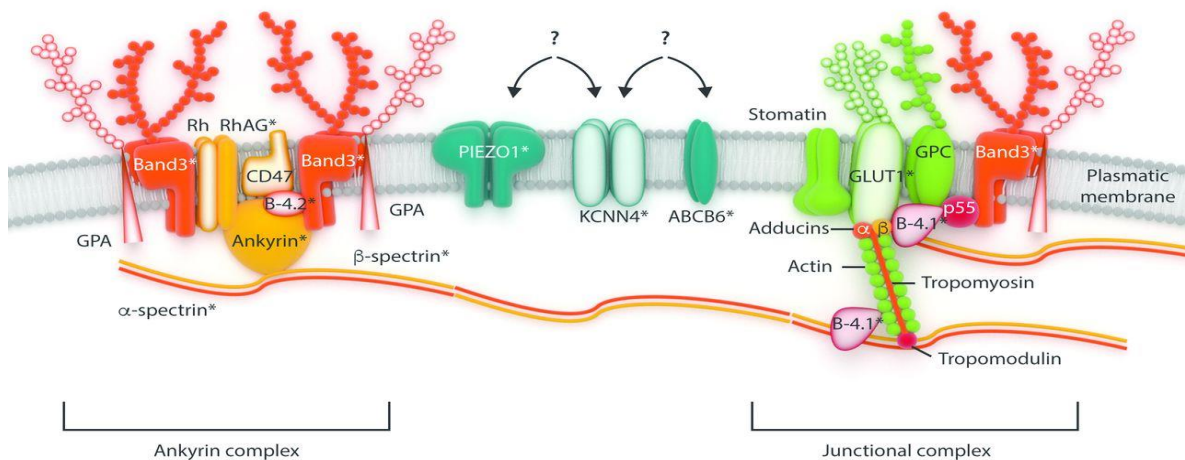


Εικόνα 1. Παραμορφωσιμότητα RBCs εντός των τριχοειδών (Corrons, Casafont, & Frasnado, 2021)

Πέραν των μεταβολών του σχήματος και του μεγέθους των ερυθροκυττάρων, πολύ σημαντικός δείκτης παθολογίας είναι η πλαστικότητα έτερων χαρακτηριστικών τους. Ως πλαστικότητα ορίζεται η ικανότητα αλλαγής συμπεριφοράς, φυσιολογίας και άλλων χαρακτηριστικών των κυττάρων ως άμεση απόκριση στις μεταβαλλόμενες περιβαλλοντικές συνθήκες. Σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις, λοιπόν, έχουν παρατηρηθεί μεταβολές της πλαστικότητας του οργανιδιακού φορτίου, του πρωτεώματος, του μεταβολώματος, του μεταγραφώματος, του λιπιδιώματος και του γονιδιώματος των RBCs, πράγμα που μας ανοίγει νέους δρόμους στην εξατομικευμένη θεραπεία με βάση την ανάπτυξη των ομικών τεχνολογιών.

1.1.1. Πλαστικότητα μεγέθους και σχήματος

Για να μπορέσει το ερυθροκύτταρο να ανταπεξέλθει στις υψηλές τάσεις διάτμησης που δύναται να υποστεί, απαιτείται μια στιβαρή αλλά ταυτόχρονα παραμορφώσιμη μεμβράνη, συνεπώς η δομή της είναι καθοριστική. Αποτελείται από μια επικαλυπτόμενη ασύμμετρη φωσφολιπιδική μεμβράνη διπλής στοιβάδας, που υποστηρίζεται από ένα κυτταροσκελετικό σύμπλεγμα σπεκτρίνης-ακτίνης το οποίο συνδέεται με συμπλέγματα που καταλήγουν σε μια απλή εξαγωνική γεωμετρική μήτρα. Η πλασματική μεμβράνη αγκυρώνεται στο δίκτυο σπεκτρίνης κυρίως μέσω των πρωτεϊνών αγκυρίνη και της διαμεμβρανικής πρωτεϊνικής ζώνης 3 και 4.1 (Buys et al., 2013). Σε παθολογικές καταστάσεις, όπου συνυπάρχει φλεγμονή και αυξημένα επίπεδα οξειδωτικού στρες παρατηρήθηκαν αλλαγές στη μορφολογία των RBCs με ταυτόχρονη αύξηση της ακαμψίας, λόγω μεταβολών στην πλασματική μεμβράνη (Massaccesi et al., 2020). Ιδίως η απόκλιση των αλλαγών θέσης της ζώνης 3 και της σπεκτρίνης, αποτελεί δύο σημαντικούς δείκτες για τον προσδιορισμό δομικών βλαβών στη μεμβράνη που οδηγεί σε αλλαγές στην ευκαμψία και την ελαστικότητα των ερυθροκυττάρων (Pretorius et al., 2016).



Εικόνα 2. Δομή πλασματικής μεμβράνης ερυθροκυττάρων (Andolfo, Russo, Gambale, & Iolascon, 2016)

1.1.2. Πλαστικότητα οργανιδιακού φορτίου

Όπως ήδη αναφέρθηκε προωτέρα, τα ώριμα ερυθρά στερούνται πυρήνα και οργανιδίων, συνεπώς υπό φυσιολογικές συνθήκες στο περιφερικό αίμα υγιών ενηλίκων δεν συναντώνται εμπύρνηνα RBCs (NRBCs). Αντιθέτως, σε ασθενείς με σοβαρές ασθένειες μπορεί να ανιχνευθούν εμπύρνηνα ερυθροκύτταρα, αυξημένα δικτυοερυθροκύτταρα, ακόμη και ερυθροκύτταρα με μιτοχόνδρια. Τέτοια ευρήματα είναι ενδεικτικά σε καταστάσεις που χαρακτηρίζονται από σοβαρή αναιμία, αναποτελεσματική ερυθροποίηση και αυξημένες ανάγκες του οργανισμού για ταχεία παραγωγή ερυθροκυττάρων (Pikora, Kretowska-Grunwald, Krawczuk-Rybak, & Sawicka-Zukowska, 2023). Μάλιστα η ύπαρξη των μορφών αυτών, σύμφωνα με πρόσφατες μελέτες, έχει συνδεθεί με κακή πρόγνωση έκβασης της ασθένειας (Stachon et al., 2007).

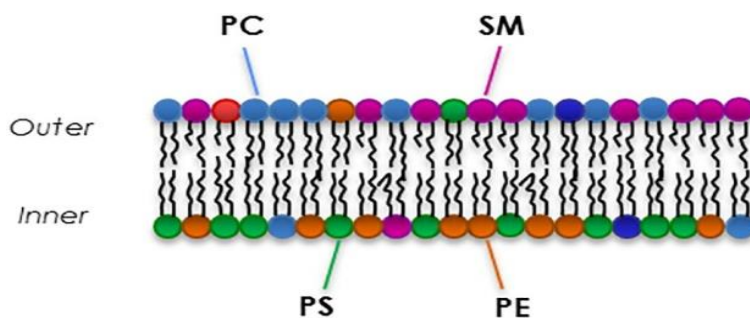
1.1.3. Πλαστικότητα γονιδιώματος και μεταγραφώματος

Ακόμα μία αξιοσημείωτη ιδιότητα των ερυθρών αιμοσφαιρίων είναι ότι αν και απύρνηνα και άνευ οργανιδίων, εμπεριέχουν νουκλεϊκά οξέα. Σύμφωνα με έρευνες, υγιή ώριμα ερυθροκύτταρα περιέχουν DNA πυρηνικής και μιτοχονδριακής προέλευσης, ενώ ταυτόχρονα έχει παρατηρηθεί ικανότητα πρόσληψης DNA από άλλα κύτταρα χωρίς να έχει αποσαφηνιστεί ο μηχανισμός με τον οποίο πραγματοποιείται (Anastasiadi et al., 2024). Σημαντική θεωρείται αυτή η ιδιότητα κυρίως σε ότι έχει να κάνει με τα καρκινικά κύτταρα, DNA των οποίων μπορεί ανευρεθεί στα RBCs (Liang et al., 2023) και το οποίο μπορεί να λειτουργήσει επικουρικά στη διάγνωση της ασθένειας σε πρώιμα στάδια. Εκτός αυτών, έχει δειχθεί ότι τα RBCs δεσμεύουν μέσω του υποδοχέα TLR9, απαλλαγμένο από κύτταρα μιτοχονδριακό DNA (cf-mitDNA), το οποίο απελευθερώνεται στην κυκλοφορία κατά την κυτταρική ανανέωση αλλά και σε παθολογικές καταστάσεις. Αυξημένα επίπεδά του, σχετίζονται με πλήθος ασθενειών όπως καρκίνο, αυτοάνοσες νόσους, σήψη, τραύμα αλλά και δυσλειτουργία οργάνων και κυτταρικό τραυματισμό (Hotz et al., 2018).

Τα ερυθροκύτταρα, επίσης, περιέχουν πλήθος μορίων RNA όπως microRNAs (miRNAs), mRNAs, ακόμη και μεγάλα μη κωδικά μόρια RNA, η αναλογία των οποίων μεταβάλλεται στις διάφορες ασθένειες (Anastasiadi et al., 2024). Πρόσφατες μελέτες έχουν εδραιώσει διάφορα είδη RBC miRNAs ως βιοδείκτες ασθενειών, συσχετίζοντάς τα με ανωμαλίες στα ερυθροκύτταρα. Καινοτομία αποτελεί, ακόμη, η συμβολή τους στην πρώιμη διάγνωση καρκίνου (Sun, Yu, Niu, & Wang, 2020), καθώς τα RBCs παρουσιάζουν ικανότητα δέσμησης miRNAs, προερχόμενα από τον όγκο, στην επιφάνειά τους μέσω του υποδοχέα TLR7. Μάλιστα, οι Sun et al. στο κείμενό τους χαρακτηρίζουν τα miRNAs ως «θησαυρό κυκλοφορούντων βιοδεικτών»! (Sun et al., 2020)

1.1.4. Πλαστικότητα λιπιδιώματος

Σε ότι αφορά στο λιπιδίωμα των RBCs, αυτό αποτελείται τόσο από τα λιπίδια της μεμβράνης όσο και από λιπίδια του αίματος, για το μεταβολισμό και τη μεταφορά των οποίων είναι υπεύθυνα τα ερυθροκύτταρα, καθώς αποτελούν «αποθετήρια» αυτών. Η λιπιδική διπλοστιβάδα των RBCs αποτελείται από ίσες αναλογίες χοληστερόλης, ενώ ασύμμετρη είναι η κατανομή των φωσφολιπιδίων, με τη σφιγγομυελίνη (SM) και την φωσφατιδυλοχολίνη (PC) να κυριαρχούν εξωτερικά, τη φωσφατιδυλοσερίνη (PS) και τη φωσφατιδυλοαιθανολαμίνη (PE) να εδράζονται κυρίως εσωτερικά (Zwaal & Schroit, 1997). Σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις αυτή η προαναφερθείσα κατανομή των φωσφολιπιδίων μπορεί να μεταβληθεί κι έτσι η ασυμμετρία της πλασματικής μεμβράνης να χαθεί, ενώ σε κάποιες εκ των περιπτώσεων παρατηρείται ταυτόχρονη εξωτερίκευση της φωσφατιδυλοσερίνης και ως εκ τούτου πρόωρη ερυθροφαγοκυττάρωση (Pretorius et al., 2016).



Εικόνα 3. Λιπιδική διπλοστιβάδα ερυθροκυττάρων (Pretini et al., 2019)

1.1.5. Πλαστικότητα πρωτεώματος

Τα ερυθροκύτταρα χαρακτηρίζονται από ένα πλήθος δομικών και λειτουργικών πρωτεϊνών που αποτελούν το πρωτέωμά τους. Ενώ η αιμοσφαιρίνη αποτελεί το 98% του συνολικού πρωτεώματος, το υπόλοιπο 2% αποτελείται από περισσότερες από χίλιες άλλες πρωτεΐνες, πολλές από τις οποίες παραμένουν αχαρακτήριστες (Sae-Lee et al., 2022). Ωστόσο, όσο περισσότερες μελέτες γίνονται πάνω σε αυτό το κομμάτι, που αν και φαινομενικά θα αναμενόταν απλούστερο λόγω απουσίας οργανιδίων στα RBCs, τόσο αποδεικνύεται το αντίθετο, με το πρωτέωμα να καθίσταται συνεχώς πολυπλοκότερο. Για το λόγο αυτό οι κυριότερες πρωτεΐνες, έχουν κατηγοριοποιηθεί σύμφωνα με τη λειτουργικότητά τους και τα πολυπρωτεϊνικά συμπλέγματα στα οποία ανήκουν και αφορούν στην πρωτεόσταση, τον κυτταροσκελετό, τη δομική ακεραιότητα, το αντιοξειδωτικό δυναμικό, την ενέργεια και άλλες μικρότερες (Sae-Lee et al., 2022).

Η απλή δομή του ερυθροκυττάρου καθώς και η απουσία πυρήνα και οργανιδίων θα μας έκανε να πιστεύουμε ότι δεν διαθέτει πολλές από τις λειτουργίες ενός κλασικού

ευκαρυωτικού κυττάρου. Παρά ταύτα, τα RBCs διαθέτουν πρωτεϊνοσυνθετική μηχανή για τη να μεν μειωμένη αλλά απαραίτητη πρωτεϊνοσύνθεσή τους, καθώς και μηχανισμούς μετα-μεταφραστικών τροποποιήσεων και αποδόμησης πρωτεϊνών. Με την ολοένα και αυξανόμενη πρωτεωμική ανάλυση στην οποία υποβάλλονται τα τελευταία χρόνια, έχουν παρατηρηθεί συσσωρευμένες τροποποιήσεις στο πρωτεϊνικό τους φορτίο αλλά και στις μετα-μεταφραστικές τους τροποποιήσεις που αντιπροσωπεύουν τη μακροπρόθεσμη κατάσταση του σώματος (Pasini, Lutz, Mann, & Thomas, 2010). Κατά τη διάρκεια της ζωής τους συναντούν και αλληλεπιδρούν με διάφορους τύπους κυττάρων. Ενώ δεν είναι βέβαιο σε ποιο βαθμό αυτή η δυναμική αλληλεπίδραση οδηγεί στην ανταλλαγή πρωτεϊνών, αρχίζει να αναδύεται μια αυξανόμενη ποσότητα συναρπαστικών πληροφοριών που υποδηλώνουν ότι το RBC μπορεί να αντικατοπτρίζει συστηματικές ασθένειες, επιτρέποντας δυνητικά την έγκαιρη διάγνωση παθολογικών καταστάσεων (Pasini, Mann, & Thomas, 2010).



Εικόνα 4. Πρωτεωμική κυττάρων αίματος (Liunbruno, D'Alessandro, Grazzini, & Zolla, 2010)

1.2. Βιοδείκτες: Ορισμός, είδη και χρησιμότητα στην κλινική πράξη

Σύμφωνα με το National Institutes of Health (NIH) ο βιοδείκτης ή βιολογικός δείκτης είναι ένα χαρακτηριστικό που μπορεί να μετρηθεί αντικειμενικά και να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης φυσιολογικών βιολογικών διεργασιών, διεργασιών ασθένειας ή φαρμακολογικών αποκρίσεων σε μια θεραπεία. Για να καταστεί πραγματικά χρήσιμος στην κλινική πράξη ένας τέτοιος δείκτης θα πρέπει να ανταποκρίνεται σε κάποια κριτήρια. Ένα από τα κυριότερα είναι να είναι ευαίσθητος, δηλαδή να ανιχνεύει ορθά τα άτομα που νοσούν και ειδικός για την κάθε ασθένεια, που σημαίνει να μπορεί να ανιχνεύει και να απορρίπτει τα υγιή άτομα. Επίσης, να είναι εύκολα προσβάσιμοι και μετρήσιμοι με μικρό κόστος αλλά και ηθικά αποδεκτοί, χαρακτηριστικά που πληρούν τα ερυθροκύτταρα καθώς αρκεί μια απλή αιμοληψία.

Υπάρχουν, ωστόσο, διάφορα είδη βιοδεικτών ανάλογα με το σκοπό που εξυπηρετούν: επιρρέπειας/κινδύνου, διαγνωστικοί, παρακολούθησης, προγνωστικοί, προβλεπτικοί,

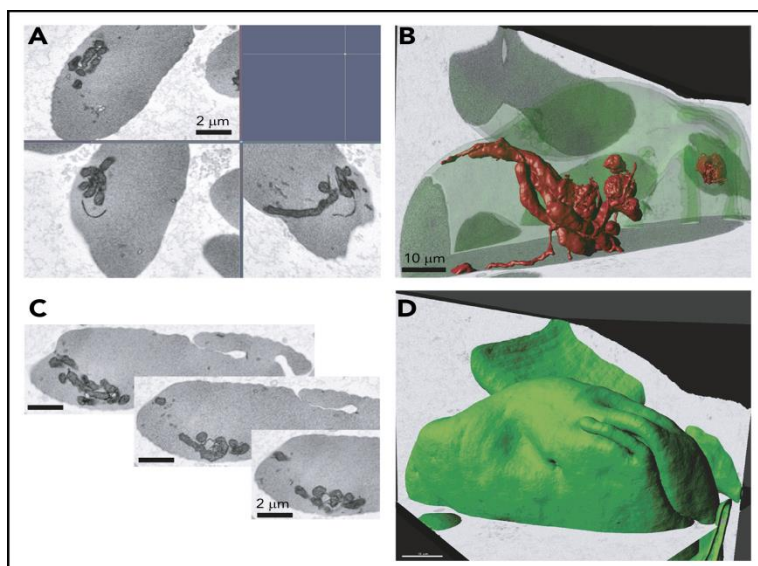
φαρμακοδυναμικής/απόκρισης και ασφαλείας. Κάθε ουσία που λειτουργεί ως βιοδείκτης μπορεί να ανήκει και σε περισσότερες από μία κατηγορίες.

Κεφάλαιο 2. Αιματολογικές Ασθένειες

2.1. Δρεπανοκυτταρική Αναιμία

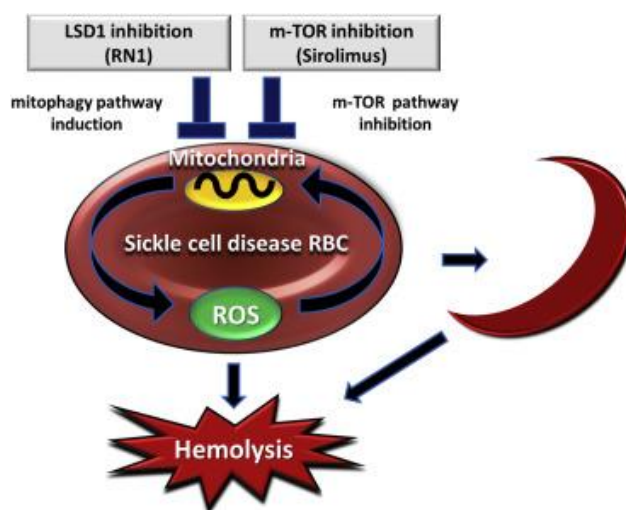
Η Δρεπανοκυτταρική Αναιμία (SCD) είναι μια κληρονομική αιμοσφαιρινοπάθεια που προκαλείται από μια σημειακή μετάλλαξη στο γονίδιο της β-σφαιρίνης και οδηγεί στη σύνθεση μιας παθολογικής αιμοσφαιρίνης, που ονομάζεται αιμοσφαιρίνη S (HbS). Ελλείψει οξυγόνου, η HbS πολυμερίζεται προκαλώντας δρεπάνωση των ερυθρών αιμοσφαιρίων, με αποτέλεσμα αυτά να είναι περισσότερο επιρρεπή σε λύση και λιγότερο παραμορφώσιμα σε σχέση με τα υγιή (Esperti et al., 2023). Η ανίχνευση δρεπανοκυττάρων και κατά συνέπεια η πλαστικότητα του σχήματος των RBCs μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως βιοδείκτης που θέτει τη διάγνωση της ασθένειας.

Εκτός από την ανίχνευση τέτοιων μορφών RBCs, η SCD χαρακτηρίζεται από αυξημένα επίπεδα οξειδωτικού στρες, με αυξημένο ρυθμό σχηματισμού δραστικών ριζών οξυγόνου (ROS), εντός των ερυθροκυττάρων, επιταχύνοντας τη λύση τους (Jagadeeswaran et al., 2017). Λόγω αυτών των εκδηλώσεων, στην παθοφυσιολογία της συγκεκριμένης ασθένειας, περιλαμβάνονται χρόνια φλεγμονή και αιμολυτική αναιμία, επώδυνες αγγειοαποφρακτικές κρίσεις, πολυοργανική βλάβη και μειωμένο προσδόκιμο ζωής. Ένας σημαντικός παράγοντας δημιουργίας ROS, είναι τα παρατηρούμενα μεταβολικά ενεργά μιτοχόνδρια, εντός των ώριμων ερυθροκυττάρων και των δικτυοερυθροκυττάρων ασθενών με δρεπανοκυτταρική αναιμία (Moriconi et al., 2022). Αυξημένος αριθμός τέτοιου είδους αιμοσφαιρίων συνδέεται με αυξημένα επίπεδα οξειδωτικού στρες και αιμόλυσης, αυξημένη τάση για δρεπάνωση και αυξημένη γήρανση (Esperti et al., 2023), άρα και ασθενείς με αυξημένη βαρύτητα συμπτωμάτων. Συνεπώς μπορεί η ανίχνευση RBCs με μιτοχόνδρια να λειτουργήσει ως προγνωστικός βιοδείκτης ή/και βιοδείκτης παρακολούθησης.



Εικόνα 5. Ανάλυση SCD RBCs που εμπεριέχουν μιτοχόνδρια με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο (Tumburu et al., 2021)

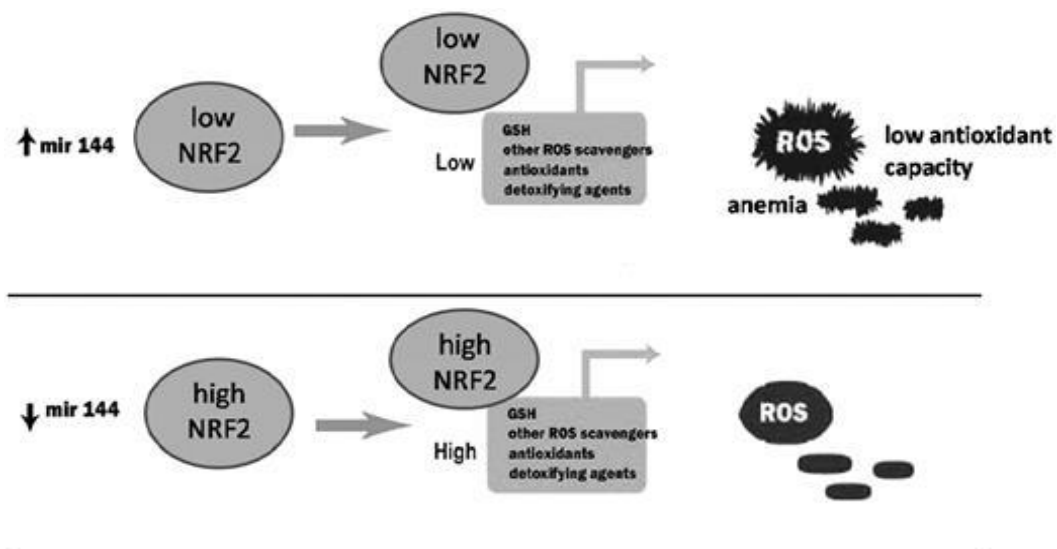
Μελέτες πάνω σε αυτού του τύπου τα ερυθροκύτταρα έχουν επικεντρωθεί, επίσης, στη χρησιμότητα τους ως βιοδείκτες φαρμακοδυναμικής/απόκρισης αποδεικνύοντας ότι στοχεύοντας είτε τα ίδια τα ερυθρά είτε τα μιτοχόνδρια, μπορούν να βελτιωθούν οι διάφορες ερυθροκυτταρικοί παράμετροι και συνεπώς τα συμπτώματα και η διαβίωση του ασθενούς. Παράδειγμα τέτοιας μελέτης αποτελεί αυτή των Jagadeeswaran et al., οι οποίοι χρησιμοποίησαν το sirolimus, έναν αναστολέα της ραπαμυκίνης (m-TOR), που έχει αποδειχθεί ότι επάγει την αυτοφαγία των μιτοχονδρίων και το RN-1, αναστολέα της ειδικής για τη λυσίνη απομεθυλάση 1(LSD1), που αυξάνει την έκφραση των γονιδίων μιτοφαγίας. Τα ευρήματά τους ήταν εντυπωσιακά καθώς μειώθηκε το ποσοστό ερυθροκυττάρων με μιτοχόνδρια και ίσως στο μέλλον μπορέσει να χρησιμοποιηθεί στην κλινική πράξη για καλύτερη διαβίωση των πασχόντων από δρεπανοκυτταρική αναιμία (Jagadeeswaran et al., 2017).



Εικόνα 6. Σχηματική απεικόνιση της δράσης των αναστολέων RN-1 και m-TOR σε RBCs που διατηρούν τα μιτοχόνδρια και πως αυτά συμβάλλουν στην παθογένεση της SCD (Jagadeeswaran et al., 2017).

Ένα ακόμη χαρακτηριστικό της δρεπανοκυτταρικής αναιμίας που μπορεί να χρησιμεύσει ως προγνωστικός βιοδείκτης είναι η ύπαρξη υψηλών επιπέδων cf-DNA. Μάλιστα, σε σχέση με τους υγιείς, στους ασθενείς παρατηρήθηκε σημαντικά υψηλότερη αναλογία cf-mtDNA, έναντι του πυρηνικού DNA χωρίς κύτταρα (Tumburu et al., 2021). Πιθανολογείται ότι αυτό οφείλεται στην κατακράτηση των μιτοχονδρίων από τα ερυθροκύτταρα ανθρώπων που πάσχουν από SCD. Δυσανάλογα αυξημένα, επίσης, ανευρέθηκε η υπομεθυλίωση του μιτοχονδριακού DNA σε πάσχοντες έναντι των υγείων, με εντονότερη ακόμη αύξηση σε περίοδο κρίσεων συγκριτικά με τη σταθερή τους κατάσταση (Tumburu et al., 2021).

Αρκετές μελέτες έχουν στραφεί και στα ερυθροκυτταρικά miRNA που έχουν συνδεθεί με πιο σοβαρό αναιμικό φαινότυπο. Συγκεκριμένα, η υπερέκφραση του mir-144, έχει αποδειχθεί ότι μειώνει την έκφραση του μεταγραφικού παράγοντα NRF2 και των γονιδιακών στόχων του, τα προϊόντα των οποίων αντιμετωπίζουν το οξειδωτικό στρες (Sangokoya, Telen, & Chi, 2010). Συνεπώς, αυξημένα επίπεδα ερυθροκυτταρικού mir-144, σημαίνει RBCs με μειωμένη ενεργότητα αντιοξειδωτικών ενζύμων. Αυτό σημαίνει ότι αυτοί ασθενείς μπορεί να ωφεληθούν σε μεγάλο βαθμό από την αντιοξειδωτική θεραπεία και αυτό αποτελεί έναν ακόμα ισχυρό προβλεπτικό βιοδείκτη (Anastasiadi et al., 2024).



Εικόνα 7. Επιπτώσεις υπερέκφραση και υποέκφραση mir-144 στην SCD (Sangokoya et al., 2010).

Τέλος, ως πιθανός βιοδείκτης έχει προταθεί το RDW, μια αιματολογική παράμετρος που χαρακτηρίζει αρκετές συστηματικές ανωμαλίες. Η δρεπανοκυτταρική αναιμία αποτελεί μια εξ αυτών, καθώς χαμηλό RDW σχετίζεται με ηπιότερες κλινικές εκδηλώσεις, ενώ υψηλό RDW

σχετίζεται με ερυθροκύτταρα επιρρεπή σε λύση και αυξημένα επίπεδα οξειδωτικού στρες (Giannaki et al., 2023).

2.2. Θαλασσαιμία

Οι θαλασσαιμίες είναι μια ομάδα κληρονομικών διαταραχών που χαρακτηρίζονται από ανώμαλη σύνθεση αλυσίδων είτε της α -σφαιρίνης (α -θαλασσαιμία) είτε της β -σφαιρίνης (β -θαλασσαιμία), με αποτέλεσμα την αναποτελεσματική ερυθροποίηση, την αυξημένη αιμόλυση και τη διαταραγμένη ομοιόσταση σιδήρου. Οι διάφοροι κλινικοί φαινότυποι παρουσιάζουν ετερογένεια, από σχεδόν φυσιολογικούς έως φαινότυπους με σοβαρές επιπλοκές που απαιτούν υποστήριξη των ασθενών με δια βίου μετάγγιση (Kattamis, Kwiatkowski, & Aydinok, 2022). Σε ότι αφορά στο δεύτερο και σαφώς σοβαρότερο τύπο θαλασσαιμίας, μελέτες έχουν δείξει ότι η παραμόρφωση των μεταγγιζόμενων RBCs αποτελεί έναν ισχυρό δείκτη του αποτελέσματος της μετάγγισης, καθώς είναι ισχυρός καθοριστικός παράγοντας της ροής αίματος του δέρματος και της αύξησης της αιμοσφαιρίνης μετά τη χορήγηση των μεταγγιζόμενων μονάδων αίματος (Barshtein et al., 2017; Barshtein et al., 2016). Η επιλογή χορήγησης μονάδων με χαμηλά επίπεδα άκαμπτων ερυθροκυττάρων, έχει αποδειχθεί ότι αυξάνει τοπ χρονικό διάστημα μεταξύ δύο διαδοχικών μεταγγίσεων στις ομάδες πασχόντων που υποβάλλονται σε τέτοιου είδους μεταγγισιοθεραπεία (Barshtein et al., 2017).

Αρκετές μελέτες έχουν επικεντρωθεί και στη χρησιμότητα των εμπύρηνων ερυθροκυττάρων ως βιοδείκτες, τόσο για διαγνωστικούς σκοπούς κατά τον προγεννητικό έλεγχο, όσο και για τη βελτιστοποίηση της μεταγγισιοθεραπείας. Οι Shafei et al. χρησιμοποίησαν μετρήσεις εμβρυϊκού cf-DNA και NRBCs, ώστε να αξιολογήσουν τη διαγνωστική τους αξία ως δύο μη επεμβατικές μεθόδους προγεννητικού ελέγχου. Διαπιστώθηκε ότι η ευαισθησία και η ειδικότητα στη διάγνωση της θαλασσαιμίας μέσω της μεθόδου cf-DNA ήταν 100% και 84%, αντίστοιχα, ενώ για τη μέθοδο NRBC ήταν 100% και 92%. Αυτό οδήγησε στο συμπέρασμα ότι αυτές οι μέθοδοι θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως βιοδείκτες προσυμπτωματικού ελέγχου, αλλά δεν προτιμώνται έναντι της αμνιοπαρακέντησης λόγω χαμηλότερης ειδικότητας (Shafei et al., 2019).

Η παρουσία των NRBCs έχει μελετηθεί, επίσης, σε σχέση με την αναποτελεσματική ερυθροποίηση και τη βελτίωση της θεραπείας μετάγγισης, ενώ βρέθηκε θετική συσχέτιση μεταξύ του αριθμού των NRBCs και της αναποτελεσματικής ερυθροποίησης, όπου υψηλότερα ποσοστά παρατηρήθηκαν σε ασθενείς με σύνδρομο θαλασσαιμίας χαρακτηριζόμενα από σχεδόν εντελώς αναποτελεσματική ερυθροποίηση (Danise et al., 2009). Συγκεκριμένα, τα NRBC ήταν παρόντα στο αίμα όλων των ασθενών με μείζονα θαλασσαιμία και στο 87% των ασθενών με

ενδιάμεση θαλασσαιμία (Karakukcu et al., 2015), ενώ δεν ανευρέθηκαν στο αίμα ασθενών που έπασχαν από κληρονομική σφαιροκυττάρωση, η οποία είναι επίσης μια ασθένεια που περιλαμβάνει αποτελεσματική ερυθροποίηση (Danise et al., 2009). Συνεπώς, η μέτρηση του αριθμού των εμπύρηνων ερυθροκυττάρων μπορεί να χρησιμεύσει ως προγνωστικός βιοδείκτης ή/και παρακολούθησης, για τη διάκριση των ασθενών βάσει ερυθροποίησης και κατά συνέπεια συμπτωμάτων, αλλά και για τη μεταγγισιοθεραπεία ως θεραπευτικό μέσον για τη βελτίωση της κατάστασης ασθενών με σοβαρά σύνδρομα θαλασσαιμίας.

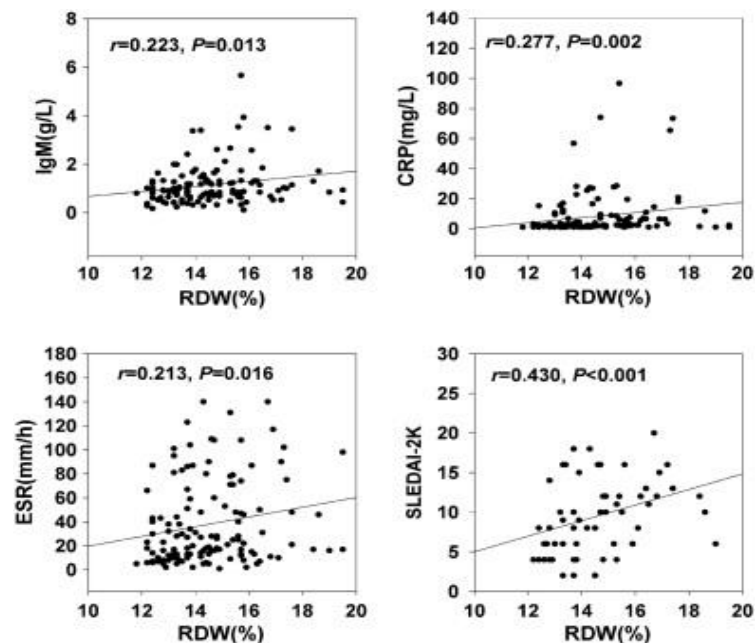
Σε ότι αφορά στην αναιμία που παρατηρείται στις θαλασσαιμίες, προκαλείται από έναν συνδυασμό αναποτελεσματικής ερυθροποίησης και πρόωρης απομάκρυνσης των ώριμων ερυθροκυττάρων από το περιφερικό αίμα. Αυτό θα μπορούσε εν μέρει να οφείλεται στην απώλεια της φωσφολιπιδικής ασυμμετρίας, λόγω έκθεσης της PS στην εξωτερική στοιβάδα τους. Επιπλέον, η έκθεση της PS μπορεί να παίζει ρόλο στην κατάσταση υπερπηκτικότητας που παρατηρείται σε σοβαρή ενδιάμεση β-θαλασσαιμία. Οι Kuypers et al. στη μελέτη τους έδειξαν ότι σε αρκετούς θαλασσαιμικούς ασθενείς, κυκλοφορούν υποπληθυσμοί RBCs με έκθεση PS στην εξωτερική τους επιφάνεια. Ο αριθμός αυτών των κυττάρων μπορεί να ποικίλλει δραματικά από πάσχοντα σε πάσχοντα, από πολύ χαμηλό όσο αυτό που ανιχνεύεται στους μη πάσχοντες (λιγότερο από 0,2%) έως και 20%. Τέτοιες μορφές φαίνεται να εντοπίζονται σε χαμηλότερα επίπεδα σε ασθενείς με σπληνεκτομή (Kuypers et al., 1998). Έτσι, θα μπορούσαμε να πούμε ότι η έκθεση της PS στην εξωτερική σιβάδα των RBCs θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως ένας προγνωστικός βιοδείκτης, καθότι όσο περισσότερα τέτοια κύτταρα ανιχνεύονται και απομακρύνονται σε έναν θαλασσαιμικό ασθενή, τόσο σοβαρότερη θα είναι η αναιμία που προκύπτει, άρα και βαρύτερη εκδήλωση της νόσου.

Κεφάλαιο 3. Αυτοάνοσα Νοσήματα

3.1. Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος

Ο συστηματικός ερυθηματώδης λύκος (ΣΕΛ) είναι μια αυτοάνοση συστηματική νόσος χαρακτηριζόμενη από ανώμαλη δραστηριότητα του ανοσοποιητικού συστήματος και εμφανίζεται με ένα ευρύ φάσμα κλινικών εκδηλώσεων που συμπεριλαμβάνει νεφρικά, δερματολογικά, νευροψυχιατρικά και καρδιαγγειακά συμπτώματα (Yu, Nagafuchi, & Fujio, 2021). Σε μια τέτοια πολυπαραγοντική νόσο, στην οποία τόσο η διάγνωση όσο και η φαρμακευτική αντιμετώπιση μπορούν μόνο να ελέγξουν τα συμπτώματα και να καθυστερήσουν την εξέλιξη της νόσου, αλλά δεν μπορεί να τη θεραπεύσει πλήρως, υπάρχει άμεση ανάγκη για την ανακάλυψη νέων βιοδεικτών είναι επιτακτική.

Τα αυτοάνοσα νοσήματα και ειδικά όσα περιλαμβάνουν πολυοργανική εμπλοκή όπως ο ΣΕΛ χαρακτηρίζονται από χρόνια φλεγμονή. Έρευνες έχουν δείξει ότι φλεγμονώδεις δείκτες όπως η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP) και η ταχύτητα καθίζησης ερυθροκυττάρων (ΤΚΕ) σχετίζονται θετικά με το RDW (Z. D. Hu et al., 2013). Θετική συσχέτισή του έχει δειχθεί, επίσης, με το δείκτη δραστηριότητας του ΣΕΛ 2000 (SLEDAI 2K), ένα από τα τρία παγκόσμια συστήματα βαθμολόγησης που παρέχουν μια συνολική μέτρηση της δραστηριότητας της νόσου (Agora, Isenberg, & Castrejon, 2020). Ενδιαφέρουσα είναι και η παρατήρηση των Hu et al. για μια θετική συσχέτιση μεταξύ IgM και RDW, ωστόσο ο πιθανός μηχανισμός γι' αυτό απαιτεί περαιτέρω διερεύνηση (Z. D. Hu et al., 2013). Τα παραπάνω οδηγούν στο συμπέρασμα πως το RDW μπορεί να χρησιμεύσει ως ένας πιθανός βιοδείκτης είτε προγνωστικός ή/και παρακολούθησης για την αξιολόγηση της δραστηριότητας της νόσου του ΣΕΛ.

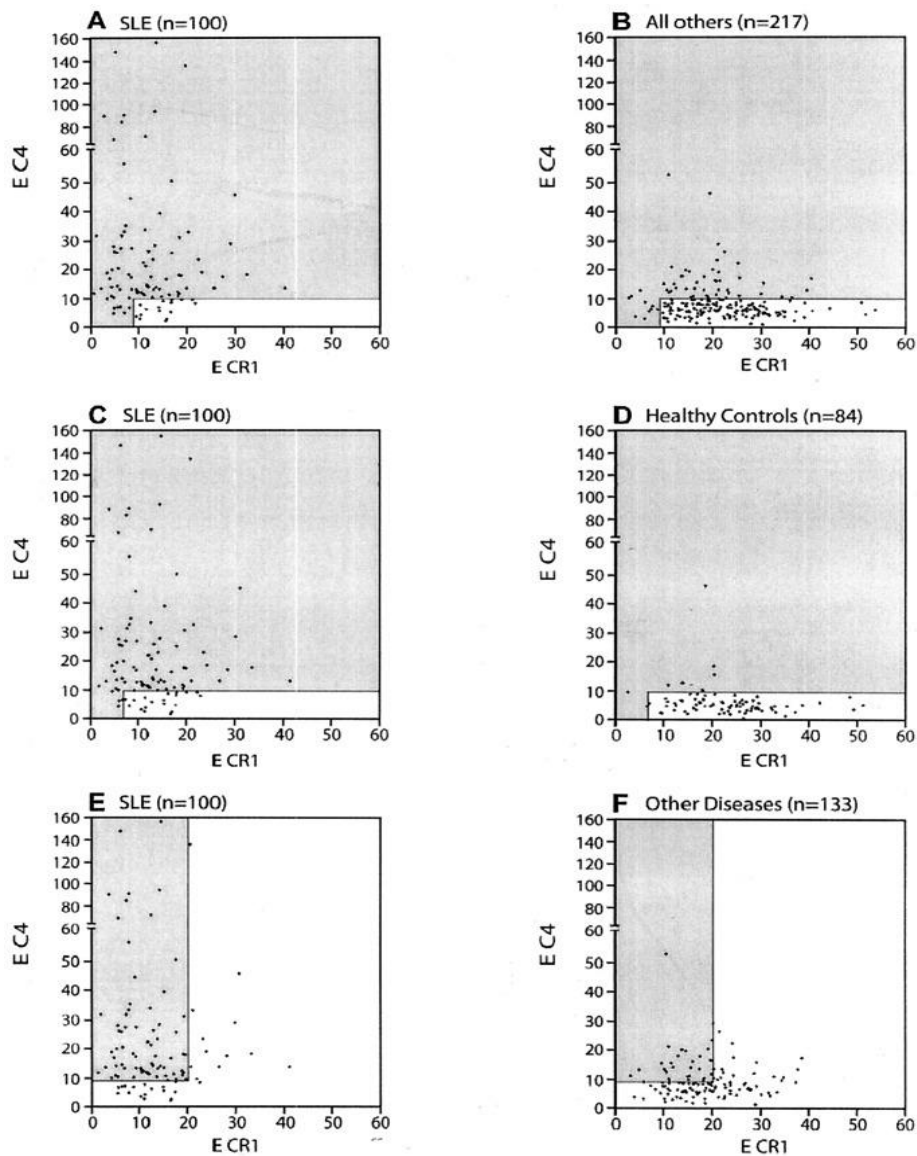


Εικόνα 8. Συσχέτιση RDW και κλινικών χαρακτηριστικών σε ασθενείς με ΣΕΛ (Z. D. Hu et al., 2013)

Κατά καιρούς έχουν τεκμηριωθεί ανωμαλίες στην ενεργοποίηση του συμπληρώματος και την κάθαρση των ανοσοσυμπλεγμάτων από τα ερυθροκύτταρα ως κεντρικοί παθογόνοι μηχανισμοί στον ΣΕΛ (Walport, 2002). Σε αυτά περιλαμβάνονται μειωμένα επίπεδα του υποδοχέα δέσμησης συμπληρώματος τύπου 1 στα ερυθροκύτταρα, ανεπάρκειες σε συστατικά της κλασικής οδού συμπεριλαμβανομένου του C4 και κορεσμό του CR1 από προϋπάρχοντα ανοσοσυμπλέγματα (Manzi et al., 2004). Ο CR1 υπό φυσιολογικές συνθήκες συμμετέχει στη δέσμηση, τη μεταφορά και την ενδοκυττάρωση ανοσοσυμπλόκων (IC) που έχουν οψωνιστεί από το συμπλήρωμα (Kanai, 2008). Θεωρητικά, τα μειωμένα αυτά επίπεδα του υποδοχέα θα μπορούσαν να βλάψουν τη λειτουργία της κάθαρσης και της επεξεργασίας του ανοσοσυμπλέγματος, διευκολύνοντας την εναπόθεσή τους σε ευάλωτα όργανα και συμβάλλοντας στη νοσηρότητα (Marzocchi-Machado et al., 2005). Όγκος δεδομένων τα τελευταία χρόνια δείχνει ότι τα επίπεδα CR1 στα RBCs ασθενών με ΣΕΛ μειώνονται ως συνέπεια της δραστηριότητας της νόσου (Walport, 2002).

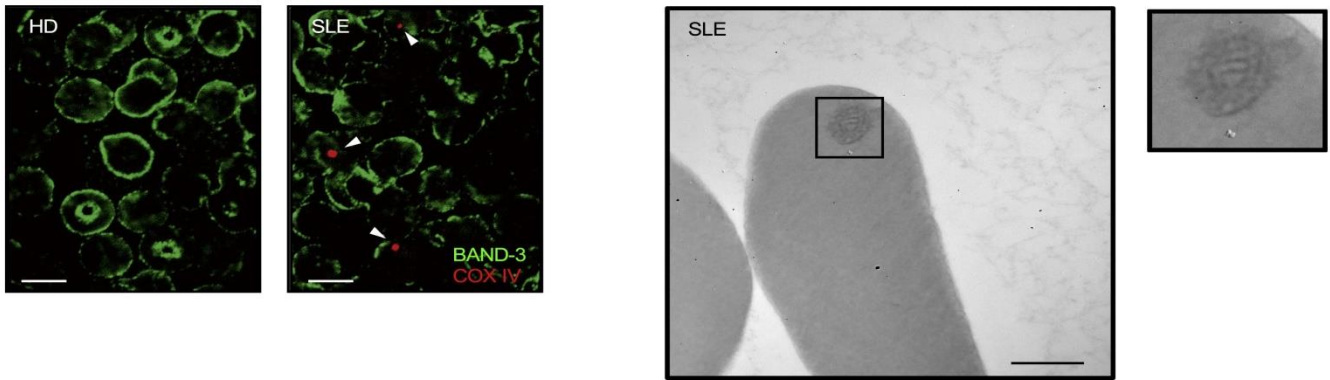
Στην επιφάνεια φυσιολογικών ερυθρών αιμοσφαιρίων υπάρχουν δεσμευμένα πρωτεολυτικά θραύσματα του συστατικού C4 του συμπληρώματος. Τα ερυθρά που προέρχονται από ασθενείς με ΣΕΛ όπου έχει δειχθεί ότι έφεραν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα δεσμευμένου σε ερυθροκύτταρα C4d (E-C4d) σε σχέση με υγιείς μάρτυρες αλλά και ασθενείς με άλλες ασθένειες (Kao et al., 2010). Συνεπώς, το E-C4d μπορεί να λειτουργήσει σαν ένας διαγνωστικός δείκτης για τον λύκο και τα επίπεδα του E-C4d μπορούν να συσχετιστούν με τη δραστηριότητα της νόσου του λύκου (Yang, Chang, Lai, Lin, & Chen, 2009). Ωστόσο, η φυσιολογική λειτουργία του E-C4d είναι εντελώς ασαφής. Επίσης, τα δικτυοερυθροκύτταρα που μπορεί να απελευθερωθούν στην περιφερική κυκλοφορία κατά τη διάρκεια μιας κατάστασης ενεργού ασθένειας, ενδέχεται να εκτεθούν και να δεσμεύσουν το C4d. Λόγω της παροδικής διάρκειας ζωής τους, αντικατοπτρίζουν την τρέχουσα κατάσταση ενεργοποίησης του συμπληρώματος και το δεσμευμένο επάνω τους C4d χρησιμεύει ως βιοδείκτης της δραστηριότητας της νόσου σε ασθενείς με ΣΕΛ (Liu et al., 2005).

Συμπερασματικά, ο προσδιορισμός των επιπέδων CR1 και E-C4d επί των RBCs αποτελεί μια απλή δοκιμασία με υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα για τον ΣΕΛ. Μπορεί να χρησιμεύσει ως βιοδείκτης για τη διάγνωση και την πρόγνωση της νόσου και να έχει σημαντικό αντίκτυπο στην ακρίβεια και το χρόνο διάγνωσης του στη γενική κλινική πρακτική, όπως και στην πρόληψη και πιο κατάλληλη θεραπευτική παρέμβαση (Manzi et al., 2004).



Εικόνα 9. Ανίχνευση C4d και CR1 σε ερυθροκύτταρα από ασθενείς με συστηματικό ερυθηματώδη λύκο (ΣΕΛ), ασθενείς με άλλες ασθένειες και υγιείς μάρτυρες (Manzi et al., 2004).

Άλλο ένα χαρακτηριστικό που μελετάται όλο και περισσότερο είναι η μιτοχονδριακή δυσλειτουργία, η οποία συμβάλλει στην παθογένεση της νόσου, καθώς η προγραμματισμένη μιτοχονδριακή αφαίρεση στον ΣΕΛ είναι ελαττωματική. Πιο συγκεκριμένα, κατά την ωρίμανση των ερυθροκυττάρων ένας επαγόμενος από υποξία παράγοντας (HIF) είναι υπεύθυνος για την ενεργοποίηση του συστήματος ουβικιτίνης-πρωτεασώματος, του οποίου η δράση είναι απαραίτητη για την αυτοφαγία των μιτοχονδρίων. Οι Caielli et. al στη μελέτη τους έδειξαν ότι ένα ελάττωμα σε αυτό το μονοπάτι οδηγεί στη συσσώρευση ερυθροκυττάρων που κατακρατούν μιτοχόνδρια, το ποσοστό των οποίων σχετίζεται με τη βαρύτητα της νόσου (Caielli et al., 2021). Η ανίχνευση τέτοιων μορφών RBCs μπορεί να λειτουργήσει ως βιοδείκτης για την πρόγνωση αλλά και την παρακολούθηση της νόσου.



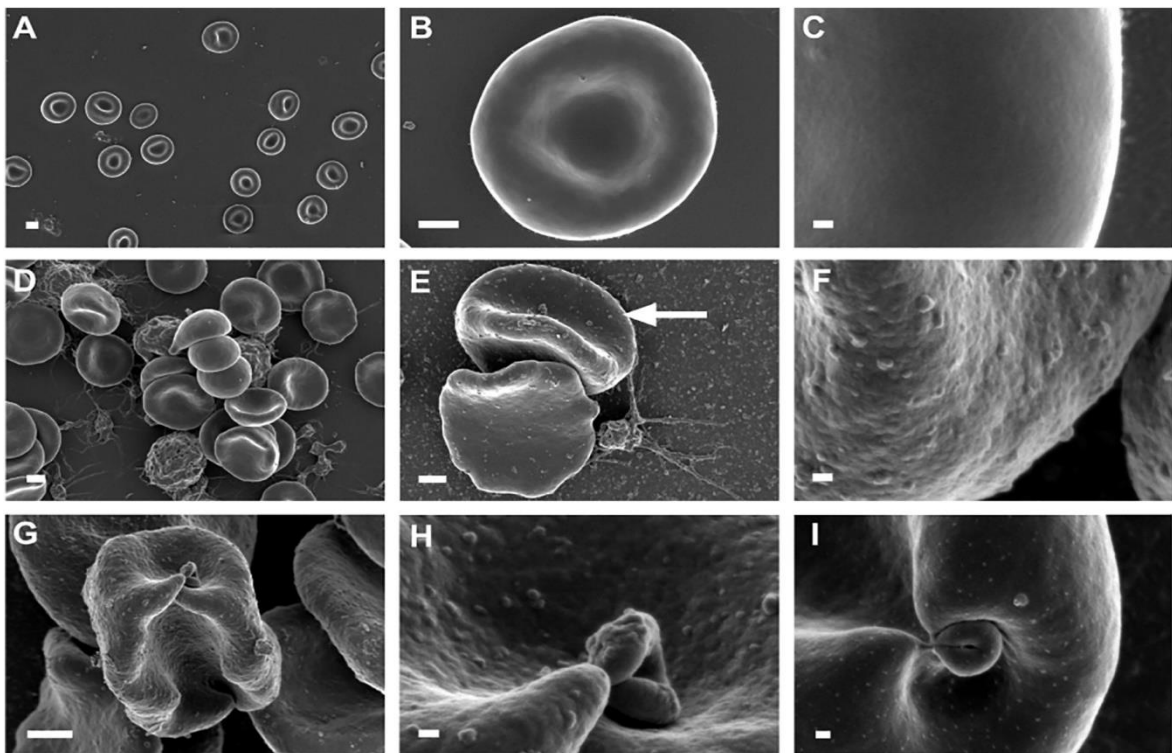
Εικόνα 10. Μιτοχονδριακή κατακράτηση σε RBCs ασθενών με ΣΕΛ (Caielli et al., 2021)

3.2. Ρευματοειδής Αρθρίτιδα

Η ρευματοειδής αρθρίτιδα (ΡΑ) είναι μια χρόνια αυτοάνοση, συστηματική νόσος που επηρεάζει τις αρθρώσεις, τους μύες, τους συνδετικούς ιστούς, τους τένοντες και τον ινώδη ιστό. Στις περισσότερες περιπτώσεις σχετίζεται με επίμονη αρθρίτιδα, φλεγμονή, δημιουργία αυτοαντισωμάτων, όπως και με κάποιο βαθμό ακινησίας, παραμόρφωση και αναπηρία (Scott, Wolfe, & Huizinga, 2010). Υπάρχουν στοιχεία που καταδεικνύουν ύπαρξη υψηλού φλεγμονώδους φορτίου, αυξημένα επίπεδα δεικτών οξειδωτικού στρες και οξειδωτική βλάβη που προκαλείται από δραστικές ρίζες οξυγόνου (ROS) σε λιπίδια, πρωτεΐνες, σάκχαρα και DNA, καθώς και σημαντική μείωση της συνολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας, η οποία προστατεύει τον οργανισμό από τη δραστηριότητα των ROS (Matyska-Piekarska, Luszczewski, Lacki, & Wawer, 2006).

Τα ερυθρά αιμοσφαίρια των πασχόντων εκτίθενται συνεχώς σε κυκλοφορούντα απορυθμισμένα φλεγμονώδη μόρια και υψηλά επίπεδα πρωτεϊνών που συν-μεταφέρονται εντός του αγγείου, με αποτέλεσμα οι μεμβράνες τους να είναι ιδιαίτερα ευάλωτες στο συνολικό οξειδωτικό στρες. Συνακόλουθο των παραπάνω είναι η παρατηρούμενη βλάβη στις πλασματικές μεμβράνες των RBCs, λόγω υπεροξειδωσής των λιπιδίων και μεταβολών στις πρωτεΐνες. Πράγματι, τα επίπεδα υπεροξειδωσής των λιπιδίων είναι σημαντικά υψηλότερα σε ασθενείς με ΡΑ σε σχέση με τους υγιείς κι έτσι τα RBCs είναι πιο ευαίσθητα στην επίδραση των ROS (Staron, Makosa, & Koter-Michalak, 2012). Επίσης, η δράση των ελεύθερων ριζών στο αίμα έχει ενοχοποιηθεί για μείωση των προστατευτικών θειολών της μεμβράνης, μείωση της δράσης των αντιοξειδωτικών ενζύμων όπως της υπεροξειδικής δισμουτάσης και δυσλειτουργία στις ΑΤΡάσες μεταφοράς ιόντων στα ερυθροκύτταρα νοσούντων (Staron et al., 2012). Όλο αυτό το προφίλ που χαρακτηρίζει αυτούς τους ασθενείς οδηγεί σε σημαντικά μειωμένη ελαστικότητα μεμβράνης RBCs, σύμφωνα με τους Oltumuyiwa-Akeredolu et al., η έρευνα των οποίων αποκάλυψε την

ύπαρξη αυξημένα ανισοκυττάρων και ποικιλοκυττάρων, τα οποία περιελάμβαναν κνιζοκύτταρα, στοματοκύτταρα, δακρυοκύτταρα, ακανόνιστα συσταλμένα κύτταρα και κύτταρα κόμβων (Olumuyiwa-Akeredolu, Soma, Buys, Debusho, & Pretorius, 2017). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα, τη δυσκολία κίνησης των ερυθρών διαμέσου των αγγείων, ιδιαιτέρως των τριχοειδών, με συνακόλουθα προβλήματα στην αιμορρολογία και την καρδιακή λειτουργία. Η χρησιμότητα των ευρημάτων αυτών μπορεί να χρησιμοποιηθεί τόσο για επικουρική διάγνωση στη PA μαζί με τις απεικονιστικές εξετάσεις, όσο και σαν βιοδείκτης παρακολούθησης της πορείας της νόσου ή/και προγνωστικός, καθώς μπορεί να υποδείξει εάν κάποιοι ασθενείς θα ωφεληθούν από μια πιθανή αντιοξειδωτική θεραπεία.



Εικόνα 11. Σύγκριση εικόνων ηλεκτρονικής μικροσκοπίας σάρωσης ερυθροκυττάρων από υγιείς μάρτυρες (A,B,C) με ερυθροκύτταρα PA(D-I) . Παρατηρούμε στοματοκύτταρα (D), κνιζοκύτταρο (λευκό βέλος) και λεπτοκύτταρο (E), μεμβράνη κνιζοκυττάρου (F), RBC με κομμένη μεμβράνη (G,H) και μηχανική μεγέθυνση ενός κόμβου σε άλλο PA RBC (I) (Olumuyiwa-Akeredolu et al., 2017).

Οι παρατηρούμενες αυτές αλλαγές στη δομή, το μέγεθος και το σχήμα των ερυθροκυττάρων έχει άμεσο αντίκτυπο και στην ΤΚΕ, η οποία έχει παρατηρηθεί αυξημένη σε ασθενείς με PA και έχει συσχετιστεί τόσο με τη δραστηριότητα της νόσου, όσο και με εκδήλωση καρδιακής ανεπάρκειας στους συγκεκριμένους ασθενείς (Olumuyiwa-Akeredolu & Pretorius, 2015). Ομοίως, η ανισοκυττάρωση που εντοπίζεται στη PA μεταβάλλει το RDW, δείκτης ο οποίος έχει συσχετιστεί τόσο με την παρουσία της νόσου, όσο με την πρόγνυσή της, αλλά και με την ανταπόκριση των ασθενών στη θεραπεία. Οι συγκεκριμένοι ασθενείς εμφανίζουν σημαντικά

υψηλότερο RDW σε σχέση με υγιείς μάρτυρες, πράγμα που τον καθιστά σημαντικό βιοδείκτη σε ακόμα μια ασθένεια (Zinellu & Mangoni, 2022).

3.3. Πολλαπλή Σκλήρυνση

Η πολλαπλή σκλήρυνση (ΠΣ) ή σκλήρυνση κατά πλάκας είναι μια χρόνια φλεγμονώδης νόσος του κεντρικού νευρικού συστήματος (ΚΝΣ) αυτοάνοσης αιτιολογίας, στην οποία η εστιακή λεμφοκυτταρική διήθηση οδηγεί σε βλάβη της μυελίνης και των αξόνων (Compston & Coles, 2008). Η παθογένεση αυτής της δεν είναι απολύτως κατανοητή, αλλά τα κύρια χαρακτηριστικά που τη διέπουν φαίνεται να είναι η φλεγμονή και ο νευροεκφυλισμός, το οποίο βασίστηκε στην ύπαρξη φαινοτύπων που κυριαρχούνται είτε από υποκείμενη φλεγμονώδη (υποτροπιάζουσα-διαλείπουσα) είτε από νευροεκφυλιστική (προϊούσα) νόσο (Katz Sand, 2015). Οι περισσότεροι ασθενείς με ΠΣ (85%) βιώνουν μια υποτροπιάζουσα-διαλείπουσα πορεία (RR) της νόσου με υποτροπή που ακολουθείται από περίοδο ανάρρωσης. Με το πέρασμα των χρόνων οι περισσότερες περιπτώσεις εξελίσσονται σε μια δευτερογενή προοδευτική (SP) φάση που χαρακτηρίζεται από μια σταθερή αύξηση της αναπηρίας. Ως επί το πλείστον, η νόσος εμφανίζεται ως ένα κλινικά απομονωμένο σύνδρομο του ΚΝΣ (CIS) που θα αναπτυχθεί σε καθορισμένη ΠΣ εντός ενός χρονικού διαστήματος. Μόνο το 15% περίπου εμφανίζει μια πρωτογενή προϊούσα μορφή (PP) που ορίζεται από τη συσσώρευση αναπηρίας από την έναρξη της νόσου (Inglese, 2006). Ο ρόλος των RBCs στη συγκεκριμένη ασθένεια δεν είναι πλήρως κατανοητός, ωστόσο μπορεί να συμβάλλουν στην παθοφυσιολογία της μέσω της μειωμένης αντιοξειδωτικής ικανότητας και των αλλοιώσεων της ρεολογίας του αίματος.

Όπως οι περισσότερες νόσοι που χαρακτηρίζονται από φλεγμονώδες φορτίο, στην ΠΣ παρατηρούνται υψηλά επίπεδα οξειδωτικού στρες. Σε αυτό συναινούν επικουρικά έρευνες που δείχνουν αυξημένα επίπεδα υπεροξειδωσης λιπιδίων και προϊόντων πρωτεΐνης προηγμένης οξειδωσης των ερυθροκυττάρων πασχόντων από ΠΣ σε σύγκριση με υγιείς μάρτυρες (Ljubisavljevic et al., 2014). Στη συγκεκριμένη έρευνα, μάλιστα, των Ljubisavljevic et al. φάνηκε ότι το οξειδωτικό στρες αυξάνεται μεταξύ ασθενών με CIS και ασθενών με RRMS, όπως και ότι συσχετίζεται με υψηλότερες βαθμολογίες της κλίμακας κατάστασης διευρυμένης αναπηρίας (EDSS), το φορτίο της βλάβης και τη διάρκεια της νόσου στο RRMS. Επίσης, δειχθηκε ότι η μαλονδιαλδεΐδη, ένα υποπροϊόν της υπεροξειδωσης των λιπιδίων, συσχετίζεται θετικά με τη διάρκεια της νόσου, τις βαθμολογίες EDSS και το φορτίο της βλάβης (Ljubisavljevic et al., 2014). Όλα αυτά τα αποτελέσματα υποδηλώνουν μια σχέση μεταξύ του οξειδωτικού στρες στη ΠΣ και της σοβαρότητας της νόσου, που σημαίνει ότι για ακόμη μια φορά τα ερυθροκύτταρα μπορούν να λειτουργήσουν ως προγνωστικοί βιοδείκτες ή/και παρακολούθησης.

Ένας εκ των λόγων, στους οποίους οφείλεται η αύξηση του οξειδωτικού στρες, είναι η μειωμένη δράση των αντιοξειδωτικών ενζύμων των RBCs ασθενών με ΠΣ σε σύγκριση με υγιείς μάρτυρες, στα οποία περιλαμβάνονται η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx), η υπεροξειδική δισμουτάση (SOD) και η καταλάση (CAT). Πιο συγκεκριμένα, η δραστηριότητα της ερυθροκυτταρικής GPx βρέθηκε μειωμένη σε ασθενείς με ΠΣ και μάλιστα χαμηλότερη σε RRMS από ότι σε CIS. Επίσης, χαμηλότερη δραστηριότητα παρατηρήθηκε σε ασθενείς με CIS από ότι σε υγιείς μάρτυρες όπως και χαμηλότερη σε ασθενείς με SPMS σε σχέση με υγιείς μάρτυρες (Groen et al., 2016). Σε ότι αφορά στη SOD, η δραστηριότητα της στα RBCs βρέθηκε χαμηλότερη στους ασθενείς με SPMS (Miller, Walczak, Majsterek, & Kedziora, 2013) ενώ ακόμη μεγαλύτερη σε ασθενείς με RRMS και CIS από ότι σε υγιείς μάρτυρες (Ljubisavljevic et al., 2014; Polidoro, Di Ilio, Arduini, La Rovere, & Federici, 1984). Αυτό μεταφράζεται ως μειωμένη αντιοξειδωτική ικανότητα των ερυθροκυττάρων στο χρόνιο νευροφλεγμονώδες στάδιο της νόσου, αλλά όχι στο CIS ή το RRMS. Δηλαδή, οι αρχικές αυξήσεις στο οξειδωτικό στρες μπορούν να αντισταθμιστούν από τη SOD, αλλά οι αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί σταδιακά αποτυγχάνουν καθώς η ασθένεια εξελίσσεται, οδηγώντας σε συνεχιζόμενη νευρωνική βλάβη. Τέλος, βρέθηκε αυξημένη δραστηριότητα της CAT των ερυθροκυττάρων σε ασθενείς με SPMS και μειωμένη σε ασθενείς με RRMS σε σχέση με τους υγιείς (Miller et al., 2013). Παρ' όλο που κάποιες από τις έρευνες που αναφέρθηκαν πρωτίτερα μπορεί να έχουν καταλήξει σε αρνητική συσχέτιση της δραστηριότητας των εν λόγω ενζύμων με τη σοβαρότητα της ΠΣ, μέτρησή τους μπορεί να συσχετιστεί με ασθενείς που θα ωφεληθούν παραπάνω από μια αντιοξειδωτική θεραπεία, καθώς και για την παρακολούθηση και την εξέλιξη των σταδίων της νόσου.

Μια ακόμη παράμετρος που εξετάζεται στην ΠΣ είναι η μορφολογία των ερυθροκυττάρων. Μορφολογικές αλλαγές, όπως παρατηρούμενα εχινόκυτταρα και μακροκύτταρα, έχουν συσχετιστεί θετικά με τη σοβαρότητα της ασθένειας (Crellin, Bottiglieri, & Reynolds, 1990; Prineas, 1968). Απώλεια πολυακόρεστων λιπαρών οξέων από τις μεμβράνες των RBCs έχει, επίσης, εντοπιστεί σε ασθενείς με ΠΣ, συμβάλλοντας στην παραμορφωσιμότητα των RBCs (Peng, Cao, Zhang, Chen, & Zhang, 2015). Συνέπεια αυτού, είναι η μεταβολή των τιμών του RDW. Συγκεκριμένα, το RDW βρέθηκε σημαντικά υψηλότερο στους ασθενείς σε σύγκριση με τους υγιείς μάρτυρες και μάλιστα, παρατηρήθηκε θετική συσχέτιση μεταξύ του RDW και της βαθμολογίας EDSS, της κλίμακας διευρυμένης κατάστασης αναπηρίας. Ακόμη, σημαντικές διαφορές παρατηρήθηκαν στις τιμές RDW και βαθμολογίας EDSS μεταξύ ασθενών άνευ θεραπείας και ασθενών που λάμβαναν θεραπεία (Peng et al., 2015). Τα συμπεράσματα αυτά καθιστούν το RDW για ακόμα μια φορά έναν χρήσιμο βιοδείκτη τόσο για την εκτίμηση της κατάστασης αναπηρίας, άρα κατά συνέπεια της βαρύτητας της νόσου, όσο και για την αποτελεσματικότητα και την ανταπόκριση των ασθενών στην κατά περίπτωση θεραπεία επιλογής.

Κεφάλαιο 4. Νευροεκφυλιστικές Ασθένειες

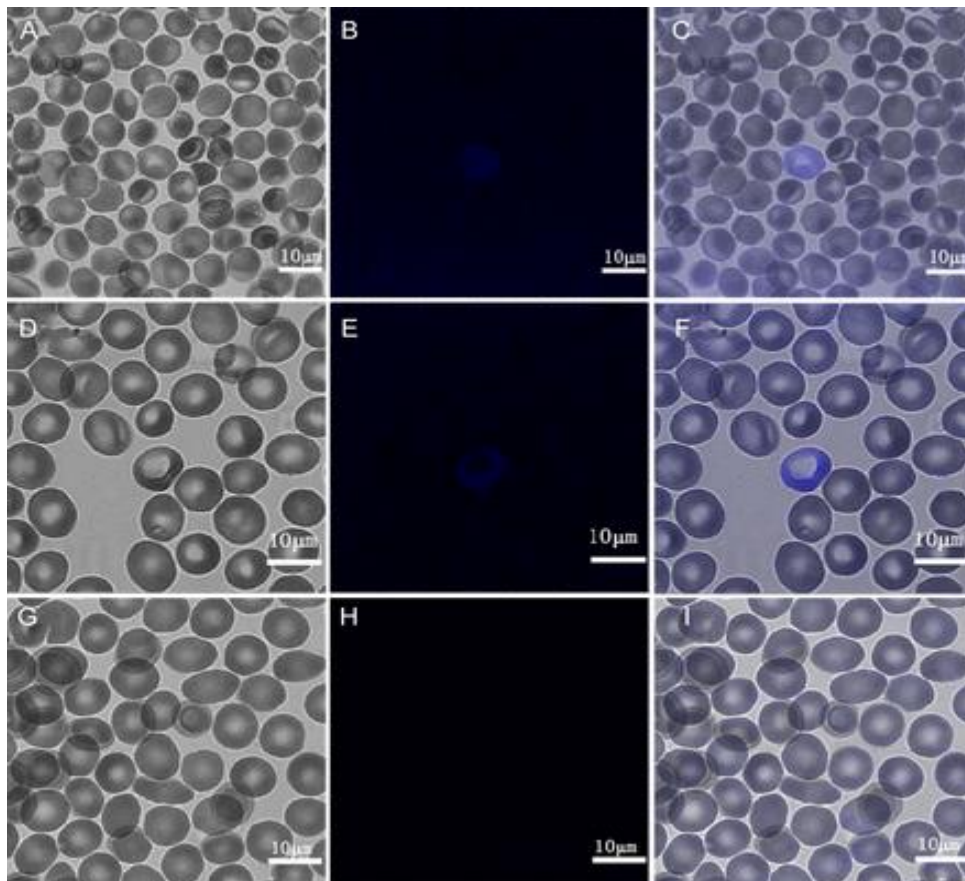
4.1. Νόσος του Αλτσχάιμερ

Η νόσος Alzheimer (AD) είναι η πιο κοινή νευροεκφυλιστική νόσος που προκαλεί άνοια στους ηλικιωμένους. Χαρακτηρίζεται από τη σταδιακή επιδείνωση της μνήμης και άλλων γνωστικών λειτουργιών, η οποία τελικά οδηγεί σε πλήρη ανικανότητα και θάνατο των ασθενών εντός 3 έως 9 ετών μετά τη διάγνωση (Querfurth & LaFerla, 2010). Τα μοριακά χαρακτηριστικά της νόσου αφορούν κυρίως στην λανθασμένη αναδίπλωση και εναπόθεση της β-αμυλοειδούς πρωτεΐνης (Αβ) στον εγκέφαλο, με αποτέλεσμα τη δημιουργία αμυλοειδών πλακών εξωκυττάρια και στη συσσωμάτωση και συσσώρευση υπερφωσφορυλιωμένης πρωτεΐνης tau ενδοκυττάρια (Piccarducci et al., 2019). Ως εκ τούτου, οι μελέτες επικεντρώνονταν αρχικά στην εναπόθεση Αβ και tau στον εγκέφαλο, μέσω ανάλυσης του εγκεφαλονωτιαίου υγρού (ENY). Λαμβάνοντας υπ' όψιν, όμως, ότι η οσφυονωτιαία παρακέντηση είναι μια σχετικά επεμβατική διαδικασία και ότι στο αίμα κάθε μέρα απορροφάται περίπου 500 μl ENY, καταλαβαίνουμε πως το να επικεντρωθούν οι έρευνες σε άλλου είδους βιοδείκτες μέσω αίματος, είναι αναγκαίο και αναπόφευκτο.

Πράγματι, έχει βρεθεί τα τελευταία χρόνια ότι στην επιφάνεια των ερυθροκυττάρων δεσμεύονται μονομερή αμυλοειδούς β και θραύσματα πρωτεΐνης tau (Nirmalraj et al., 2021). Γνωρίζοντας ότι οι παθοφυσιολογικές διεργασίες μπορούν να πυροδοτηθούν σχεδόν 20 χρόνια πριν γίνει αισθητή η μείωση της μνήμης και των γνωστικών ικανοτήτων, τα ευρήματα αυτά μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να αποτελέσουν διαγνωστικό βιοδείκτη σε πολύ πρώιμα στάδια της νόσου, καθώς είναι ζωτικής σημασίας για μια επιτυχημένη θεραπεία που μπορεί να επιβραδύνει την εξέλιξη της νόσου. Η δέσμευση αυτή των αμυλοειδών προκαλεί οξειδωτικό στρες και τη δημιουργία ROS στα ερυθροκύτταρα, επάγοντας τη συσσώρευση υδροϋπεροξειδίων των φωσφολιπιδίων, χαρακτηριστικό δείκτη για βλάβη των ερυθροκυττάρων (Pluta, Ulamek-Kozioł, Januszewski, & Czuczwar, 2018). Γενικά, το μέγεθος των συσσωματωμάτων πρωτεΐνης που κυμαίνονται από σφαιρικά/δακτυλιοειδή ολιγομερή, πρωτοϊνίδια, έως ινίδια παρατηρήθηκε ότι εξαρτάται από την ηλικία του ασθενούς και ο επιπολασμός των ινιδίων αυξάνει με τη σοβαρότητα της νευρογνωστικής διαταραχής του ασθενούς (Nirmalraj et al., 2021). Επίσης, η ασθένεια έχει συσχετιστεί με ενδοκυτταρική συσσώρευση α-συνουκλεΐνης, που μπορεί να παίζει

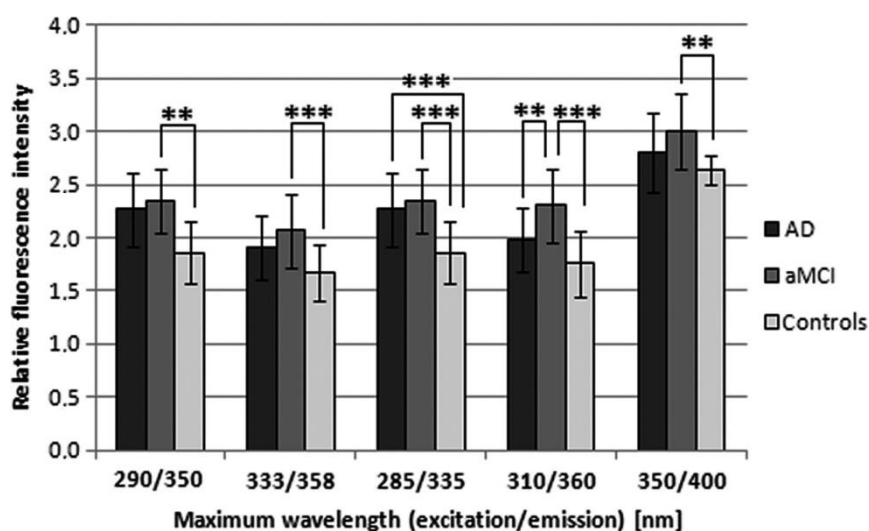
ρόλο στη συσσώρευση αμυλοειδούς β σε γεροντικές πλάκες και έχει αποδειχθεί ότι αλληλεπιδρά φυσικά με την ται ή το Αβ προκαλώντας το σχηματισμό υβριδικών πρωτεϊνών («ετεροσυσσωματώματα») σε εγκεφάλους ασθενών που επηρεάζονται από νευροεκφυλιστικές νόσους, μεταξύ αυτών και της AD (Piccarducci et al., 2019).

Η νόσος του Αλτσχάιμερ χαρακτηρίζεται, όπως έχει ήδη αναφερθεί πολλάκις για τις νευροεκφυλιστικές νόσους, από φλεγμονώδες προφίλ και αυξημένα επίπεδα οξειδωτικού στρες. Αυτό σε συνδυασμό με την παρουσία ινιδίων αμυλοειδούς β που επηρεάζουν οξειδωτικά τη λειτουργία των ερυθρών αιμοσφαιρίων, έχει ως αποτέλεσμα τις παρατηρούμενες αλλαγές επάνω σε αυτά. Πιο συγκεκριμένα, έχουν καταγραφεί αυξημένα επίπεδα υπεροξειδωσης των λιπιδίων τους, διαταραχές στη φυσική κατάσταση των πρωτεϊνών της μεμβράνης τους, ακανόνιστη παραμόρφωση του σχήματός τους και μη φυσιολογική διαδικασία γήρανσης με αυξημένη δέσμευση IgG και διάσπαση της πρωτεΐνης της ζώνης 3 τους (Lan et al., 2015). Μελέτες έχουν δείξει ότι στην AD, περισσότερο από το 15% των ερυθρών αιμοσφαιρίων είναι επιμήκη σε σύγκριση με το ποσοστό των φυσιολογικών μαρτύρων που κυμαίνεται γύρω στο 5,9% και έχει προταθεί ότι η μορφολογία και το μέγεθος των περιφερικών RBCs μπορεί να αντιπροσωπεύουν παράγοντα κινδύνου για την ασθένεια, παράγοντας που μπορεί να συμβάλει και στην ανάπτυξη άνοιας (Lan et al., 2015; Ravi et al., 2005).



Εικόνα 12. Εικόνες RBCs με χρήση χρώσης θειοφλαβίνης T (ThT) με ή χωρίς την παρουσία πλάσματος. Οι εικόνες G,H,I προέρχονται από υγιείς μάρτυρες, ενώ οι A,B,C από ερυθροκύτταρα ασθενών με νόσο του Αλτσχάιμερ παρουσία πλάσματος και οι D,E,F από ερυθροκύτταρα ασθενών απουσία πλάσματος. Είναι φανερή η συσσώρευση ινιδίων αμυλοειδούς β και στις δύο περιπτώσεις, τόσο με χρήση ανοσοφθορισμού, όσο και με χρήση μικροσκοπίου φωτός (μπάρα κλίμακα: 10 μm) [προσαρμογή από (Lan et al., 2015)].

Μια ακόμη παράμετρος που έχει δείχθει ότι μπορεί να χρησιμεύσει ως βιοδείκτης και δη διαγνωστικός, είναι η υπεροξειδωση των λιπιδίων των ερυθροκυττάρων. Οι ασθενείς με AD έχει αποδειχθεί ότι έχουν σημαντικά αυξημένα προϊόντα υπεροξειδωσης λιπιδίων όπως η μαλονδιαλδεΐδη (MDA) σε σχέση με τους υγιείς (Chmatalona, Vyhnaek, Laczó, Hort, & Skoumalona, 2016). Τα ερυθροκύτταρα δεν έχουν επαρκείς μηχανισμούς για να επιδιορθώσουν αυτά τα οξειδωμένα λιπίδια, που προκαλούνται από το αυξημένο οξειδωτικό στρες και τα ROS, γεγονός που οδηγεί στη συσσώρευση αυτών των προϊόντων στις μεμβράνες καθώς και στο εσωτερικό του κυττάρου κατά τη διάρκεια της ζωής τους. Οι αλυσιδωτές αντιδράσεις των ελεύθερων ριζών των λιπιδίων και η περαιτέρω προσβολή των πρωτεϊνών οδηγούν στο σχηματισμό μοναδικών προηγμένων προϊόντων υπεροξειδωσης λιπιδίων τους. Οι Chmatalona et al. στη μελέτη τους χρησιμοποίησαν φασματοσκοπία φθορισμού για την ανάλυση λιπιδίων των RBCs, δείχνοντας ότι τα επίπεδα αυτών των προϊόντων είναι σημαντικά αυξημένα στα ερυθροκύτταρα ασθενών με AD και aMCI, ένα πρόδρομο στάδιο της νόσου, σε σύγκριση με τους ελέγχους, προτείνοντας ότι τα τελικά προϊόντα του οξειδωτικού στρες είναι πολλά υποσχόμενοι νέοι βιοδείκτες της AD (Chmatalona et al., 2016).

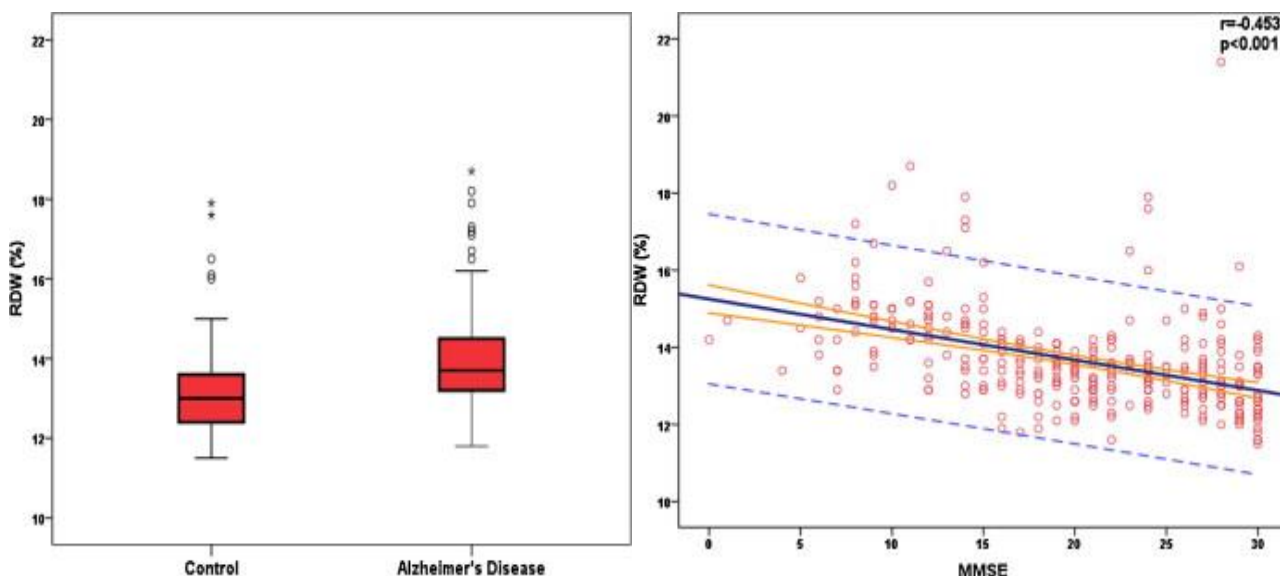


Εικόνα 13. Ποσοτικές αναλύσεις της σχετικής έντασης φθορισμού υπεροξειδωσης των λιπιδίων των ερυθροκυττάρων σε υγιείς μάρτυρες (controls), ασθενείς με AD και ασθενείς με aMCI σε σημαντικά μέγιστα φθορισμού [προσαρμογή από (Chmatalona et al., 2016)].

Σημαντικές αλλαγές παρατηρούνται επίσης στη συγκέντρωση των μεταβολιτών στα ερυθροκύτταρα ασθενών με AD. Τέτοιο παράδειγμα αποτελεί η αύξηση των συγκεντρώσεων αργινίνης στα ερυθροκύτταρα πασχόντων, η οποία δρα ως νευροτοξίνη. Ομοίως, η συγκέντρωση

της σφιγγομυελίνης που υπάρχει στα RBCs και στα νευρωνικά κύτταρα μειώνεται δραστικά στους ασθενείς σε σύγκριση με τους υγιείς, που σημαίνει ότι ο μεταβολισμός των σφιγγολιπιδίων διαταράσσεται σε καταστάσεις AD. Ως εκ τούτου, οι συγκεντρώσεις σφιγγολιπιδίων μπορούν να λειτουργήσουν ως δια βίου μεταβολικοί δείκτες σε αυτούς τους ασθενείς.

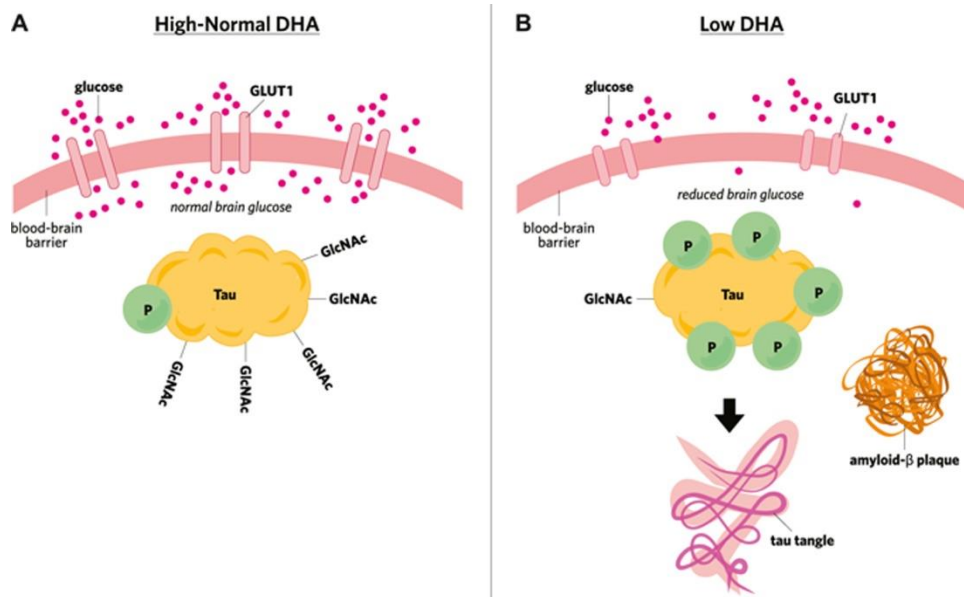
Μια ακόμη παράμετρος που είναι αρκετά αναμενόμενο να επηρεαστεί, εφ' όσον συνυπάρχουν το φλεγμονώδες προφίλ και οι μεταβολές που προαναφέρθηκαν στα ερυθροκύτταρα, είναι το RDW. Οι ασθενείς με νόσο του Αλτσχάιμερ εμφανίζουν σημαντικά αυξημένες τιμές RDW σε σχέση με τους ασθενείς με φυσιολογική γνωστική λειτουργία, ενώ έχει βρεθεί και αρνητική συσχέτιση μεταξύ του RDW και του νευροψυχιατρικού τεστ MMSE (Mini-Mental State Examination) (Ozturk et al., 2013). Η συσχέτιση αυτή του RDW με τη χειρότερη γνωστική κατάσταση υποδηλώνει ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης βαρύτητας της νόσου και συνεπώς για την πρόγνωση και την παρακολούθησή της.



Εικόνα 14. (αριστερά) Σύγκριση τιμών RDW μεταξύ ασθενών AD και υγιών μαρτύρων (Ozturk et al., 2013).

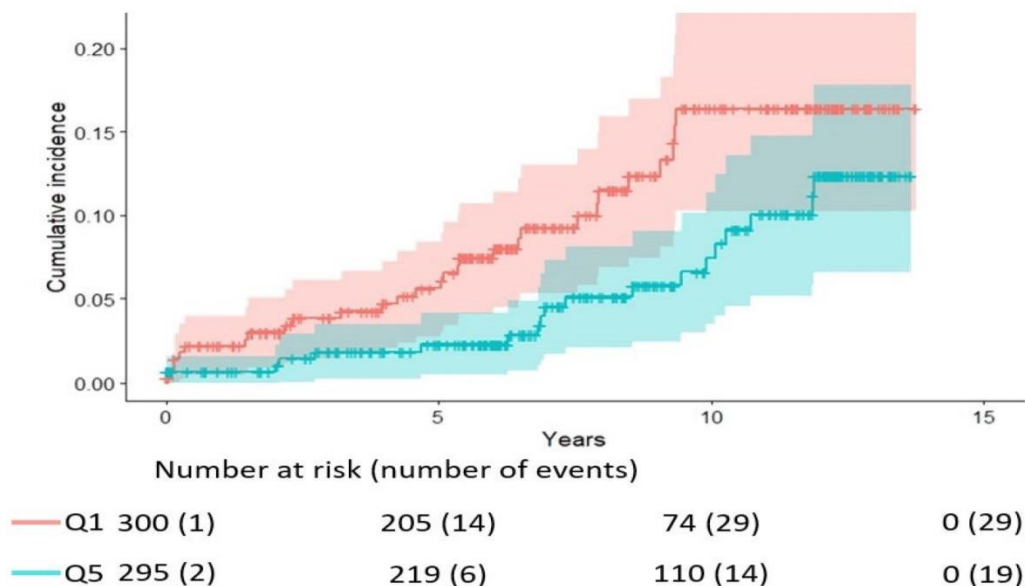
Εικόνα 15. (δεξιά) Συσχέτιση RDW και MMSE (Ozturk et al., 2013).

Τέλος, πειραματικές μελέτες έχουν επικεντρωθεί στο εικοσιδιεξαενοϊκό οξύ (DHA) σε σχέση με τη νόσο. Το DHA είναι ένα απαραίτητο ω-3 λιπαρό οξύ που συναντάται άφθονο (αντιπροσωπεύει περίπου το 30% των λιπιδίων) στα φωσφολιπίδια της μεμβράνης των κυττάρων του ΚΝΣ στον ανθρώπινο εγκέφαλο. Ενώ τα χαμηλά επίπεδα DHA προάγουν χαρακτηριστικές παθολογίες της AD, όπως την παραγωγή και συσσώρευση της πλάκας αμυλοειδούς β και τη συσσωμάτωση της πρωτεΐνης tau, τα φυσιολογικά ή υψηλά επίπεδα τις προλαμβάνουν ή τις βελτιώνουν (Patrick, 2019). Τα επίπεδα του DHA στα ερυθροκύτταρα είναι ενδεικτικά της μακροπρόθεσμης διατροφικής πρόληψης του λιπαρού αυτού οξέος.



Εικόνα 16. Σχηματική απεικόνιση της δράσης του DHA στα κύτταρα του εγκεφάλου. Το DHA ρυθμίζει την πρόσληψη γλυκόζης από τον εγκέφαλο, η οποία αποτρέπει το σχηματισμό πλάκας αμυλοειδούς-β και συσσωματώματα πρωτεΐνης tau (Patrick, 2019).

Οι Sala-Vila et al. στη μελέτη τους έδειξαν ότι υγιή άτομα άνω των 65 ετών, με περιεκτικότητα DHA πάνω από 6,1%, είχαν σχεδόν το μισό κίνδυνο να αναπτύξουν Αλτσχάιμερ και εκτιμώμενα περίπου 4,7 χρόνια ζωής ελεύθερα της νόσου περισσότερα σε σχέση με αυτούς που είχαν RBC DHA λιγότερο του 3,8 (Sala-Vila et al., 2022). Αυτό θα μπορούσε να λειτουργήσει ως ένας βιοδείκτης που να υποδεικνύει την επιρρέπεια κάποιων ατόμων στην εμφάνιση της νόσου έναντι άλλων.

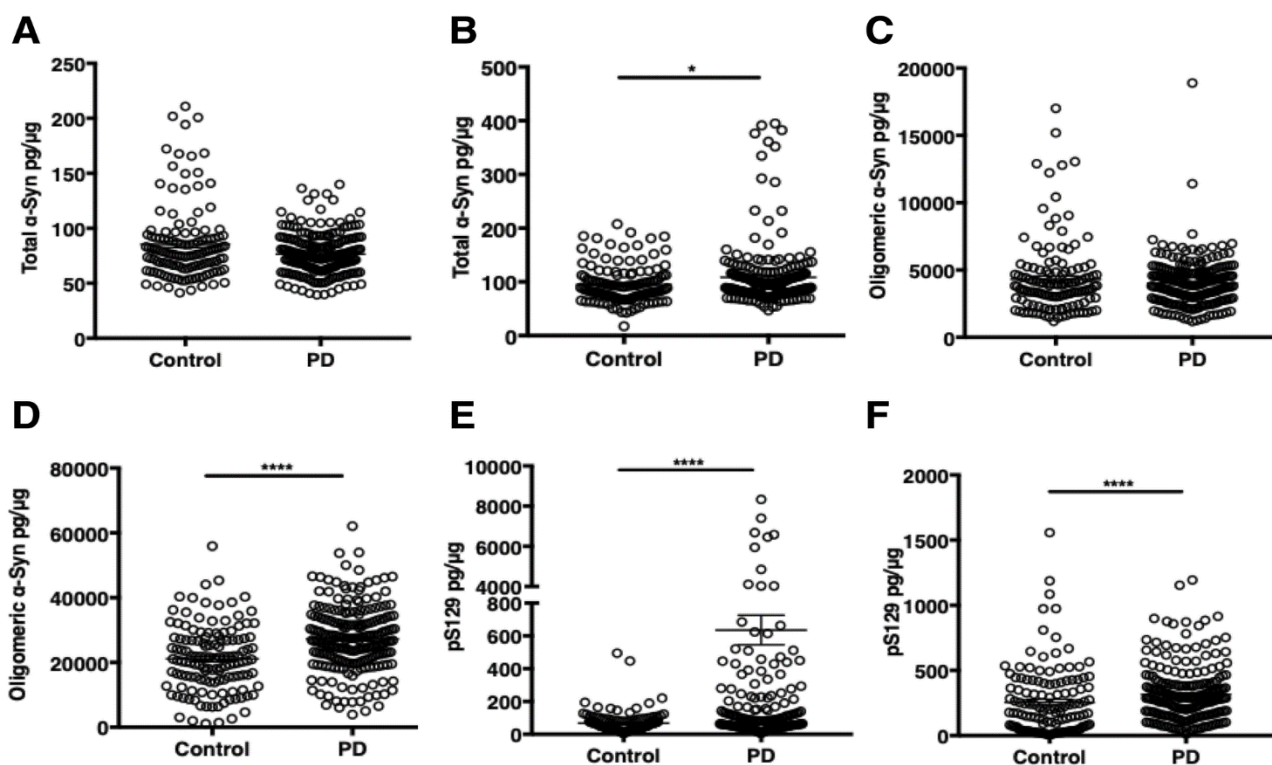


Εικόνα 17. Διάγραμμα απεικόνισης αθροιστικής νόσου Αλτσχάιμερ σε συμμετέχοντες με αρχική τιμή DHA ερυθρών αιμοσφαιρίων στο ανώτερο πεμπτημόριο (Q5) σε σύγκριση με εκείνους στο χαμηλότερο (Q1) (Sala-Vila et al., 2022).

4.2. Νόσος του Πάρκινσον

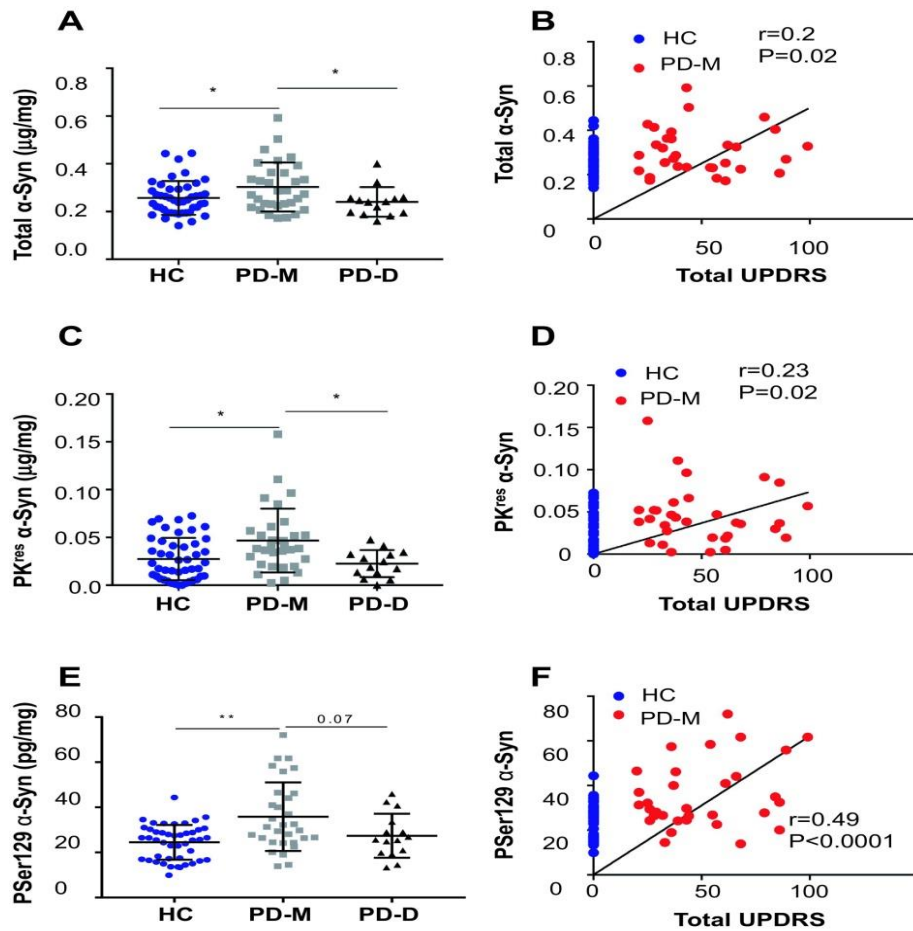
Η νόσος του Πάρκινσον (PD) είναι η δεύτερη πιο συχνή προοδευτική νευροεκφυλιστική νόσος, που χαρακτηρίζεται από πρώιμο εκφυλισμό ή απώλεια των ντοπαμινεργικών νευρώνων στη μέλαινα ουσία του μεσεγκεφάλου. Η εν λόγω ανεπάρκεια ντοπαμίνης εντός των βασικών γαγγλίων οδηγεί σε διαταραχή κίνησης που χαρακτηρίζεται από κλασικά παρκινσονικά κινητικά συμπτώματα. Χαρακτηριστικό της νόσου αποτελεί, επίσης, η συσσώρευση μη φυσιολογικών συσσωματωμάτων α-συνουκλεΐνης (α -syn) στους νευρώνες, που ονομάζονται σωματίδια Lewy και νευρίτες Lewy (Kalia & Lang, 2015). Χαρακτηριζόμενοι τόσο από κινητικά όσο και από μη κινητικά συμπτώματα, οι πάσχοντες εμφανίζουν τρόπο ηρεμίας, ακαμψία, και βραδυκινησία. Η PD μπορεί επίσης να συσχετιστεί με νευροσυμπεριφορικές διαταραχές όπως κατάθλιψη και άγχος, γνωστική εξασθένηση (άνοια) και δυσλειτουργία του αυτόνομου κεντρικού συστήματος (υπεριδρωσία) (Beitz, 2014). Πλέον, μετά από πληθώρα ερευνών, θεωρείται ως μια βραδέως εξελισσόμενη πάθηση που ξεκινά χρόνια πριν τη διάγνωση, οπότε η ανάγκη εύρεσης νέων βιοδεικτών που θα βοηθήσουν τόσο στην πρώιμη όσο και στην άμεση διάγνωση της είναι επιτακτική.

Ένας υποψήφιος βιοδείκτης που έχει μελετηθεί αρκετά τα τελευταία χρόνια είναι η α-συνουκλεΐνη (α -Syn), μια άφθονη νευρωνική πρωτεΐνη που εντοπίζεται κυρίως στα προσυναπτικά άκρα και η οποία όπως ήδη αναφέρθηκε εμπλέκεται κρίσιμα στην παθογένεση της νόσου μέσω συσσώρευσης λανθασμένα αναδιπλωμένων ολιγομερών και μεγάλων συσσωματωμάτων (Burre, 2015). Τα ερυθροκύτταρα είναι ο κύριος στόχος για τη μέτρηση των επιπέδων της συγκεκριμένης πρωτεΐνης, καθώς περιέχουν περίπου 99% της περιφερικής α-συνουκλεΐνης (Barbour et al., 2008). Σε έρευνες που έχουν διενεργηθεί τα τελευταία χρόνια, έχουν ανιχνευθεί υψηλότερα επίπεδα τόσο της ολικής, όσο και των διαφόρων κλασμάτων της α-συνουκλεΐνης στα ερυθροκύτταρα ασθενών PD σε σχέση με υγιείς μάρτυρες. Πιο συγκεκριμένα, οι Tian et. al έδειξαν ότι η συνολική α-συνουκλεΐνη ήταν σημαντικά υψηλότερη στο κλάσμα μεμβράνης των ατόμων με PD σε σύγκριση με τους υγιείς (Εικ. 18B), αλλά χαμηλότερη στο κυτταροπλασματικό κλάσμα (Εικ. 18A). Αντίθετα, η συσσωματωμένη α-συνουκλεΐνη στο κυτταροπλασματικό κλάσμα δεν εμφάνισε διαφορές στους πάσχοντες σε σχέση με τους υγιείς (Εικ. 18C), ενώ στο κλάσμα της μεμβράνης ήταν σημαντικά υψηλότερη σε σύγκριση με τους μάρτυρες (Εικ. 18D). Όσον αφορά στη φωσφορυλιωμένη μορφή της α-συνουκλεΐνης, αυτή ανευρέθηκε ομοίως υψηλότερη στους πάσχοντες σε σχέση με τους υγιείς, κυρίως στο κυτταροπλασματικό κλάσμα (Εικ. 18E) (Tian et al., 2019).



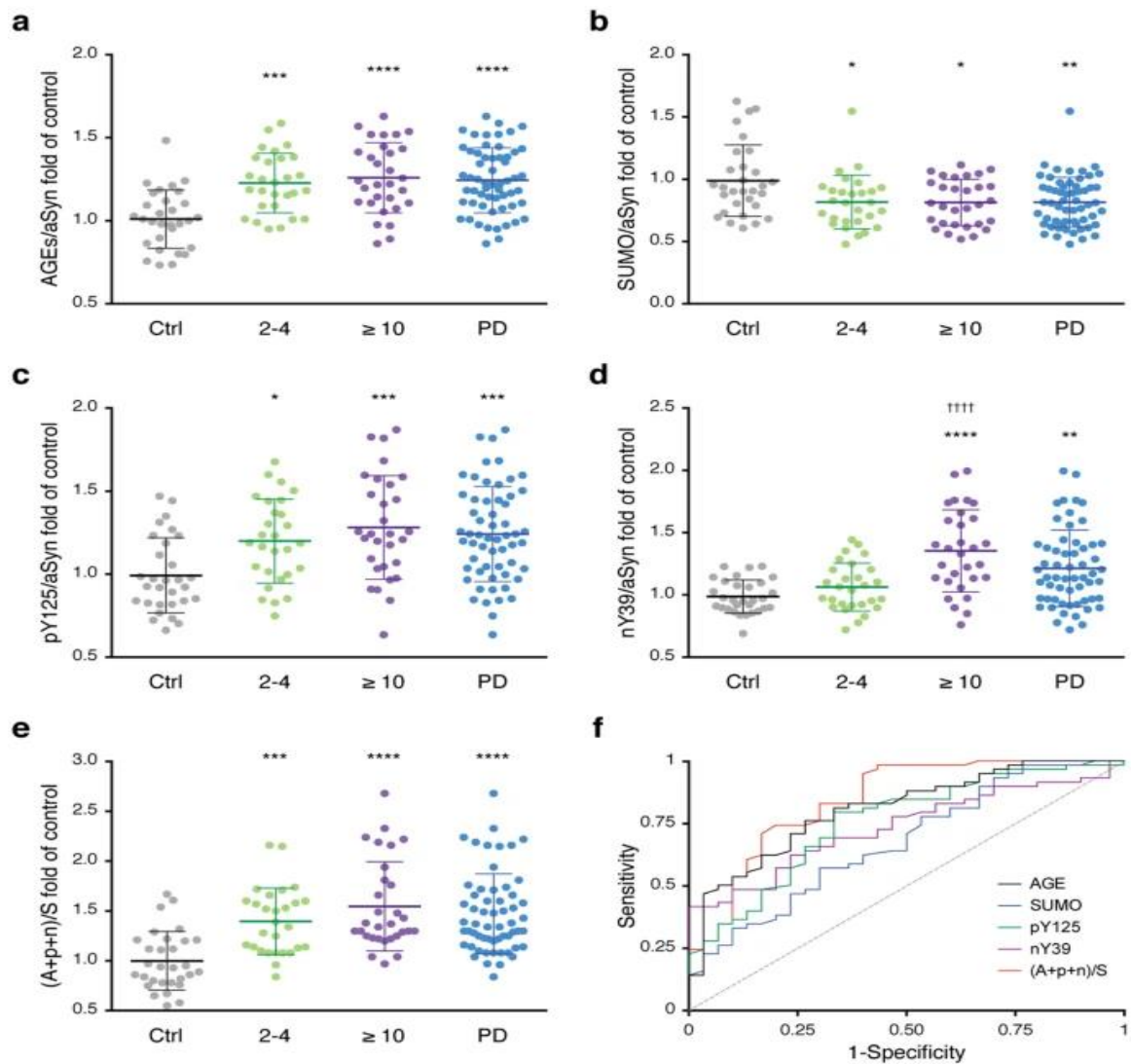
Εικόνα 18. Τα ερυθροκυτταρικά επίπεδα των ειδών της α -συνουκλεΐνης σε ασθενείς με νόσο του Πάρκινσον έναντι των επιπέδων τους στα ερυθροκύτταρα υγιών μαρτύρων (Tian et al., 2019).

Μια ακόμη μελέτη που διενεργήθηκε από τους Abd Elhadi et al. οι οποίοι διαχώρισαν τους πάσχοντες σε δύο ομάδες, στους έχοντες κινητικά συμπτώματα (PD-M) και στους έχοντες γνωστικά συμπτώματα (PD-D). Αναλύοντας τα επίπεδα τόσο της ολικής α -συνουκλεΐνης, όσο και τα επίπεδα δύο μορφών ακόμη, της ανθεκτικής στην πρωτεΐνάση α -συνουκλεΐνης (PK res) και μιας παθογόνου μορφής της, τη φωσφορυλιωμένη α -συνουκλεΐνη στη θέση της σερίνης 129 (PSer129 α -Syn). Τα αποτελέσματα έδειξαν, ομοίως, ότι η ολική α -συνουκλεΐνη παρουσιάζεται αυξημένη στους ασθενείς με PD σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες και τα συνολικά επίπεδα α -Syn διέφεραν μεταξύ των δύο υποομάδων PD. Τα επίπεδα που προσδιορίστηκαν στην ομάδα PD-D ήταν σημαντικά χαμηλότερα από την ομάδα PD-M. Τα μέσα επίπεδα PK res α -Syn στην ομάδα υγιών μαρτύρων βρέθηκαν σημαντικά χαμηλότερα από τα ποσά που προσδιορίστηκαν στην ομάδα PD-M, ενώ τα επίπεδα PK res α -Syn διαφέρουν σημαντικά μεταξύ των ομάδων PD-M και PD-D, όπου στους τελευταίους είναι χαμηλότερα. Τέλος, τα επίπεδα α -Syn PSer129 που ανιχνεύθηκαν στους υγιείς ήταν και πάλι σημαντικά χαμηλότερα από τα επίπεδα που ανιχνεύθηκαν στην ομάδα PD-M, όπως και στην ομάδα PD-D (Abd Elhadi et al., 2019). Καταλήγουμε, λοιπόν, στο ότι ανακάλυψη της α -συνουκλεΐνης των ερυθροκυττάρων και των ειδών της μπορεί να αποτελέσει χρήσιμο βιοδείκτη τόσο για τη διάγνωση, όσο και για το διαχωρισμό των διαφόρων υποτύπων της νόσου, αλλά και για την παρακολούθηση και την εξέλιξη της.



Εικόνα 19. Τα επίπεδα συνολικής α -Syn (A), PK res α -Syn (C) και P-Ser129 α -Syn (E) στα ερυθροκύτταρα υγιών μαρτύρων και ασθενών δύο υποομάδων PD, PD-M και PD-D (Abd Elhadi et al., 2019).

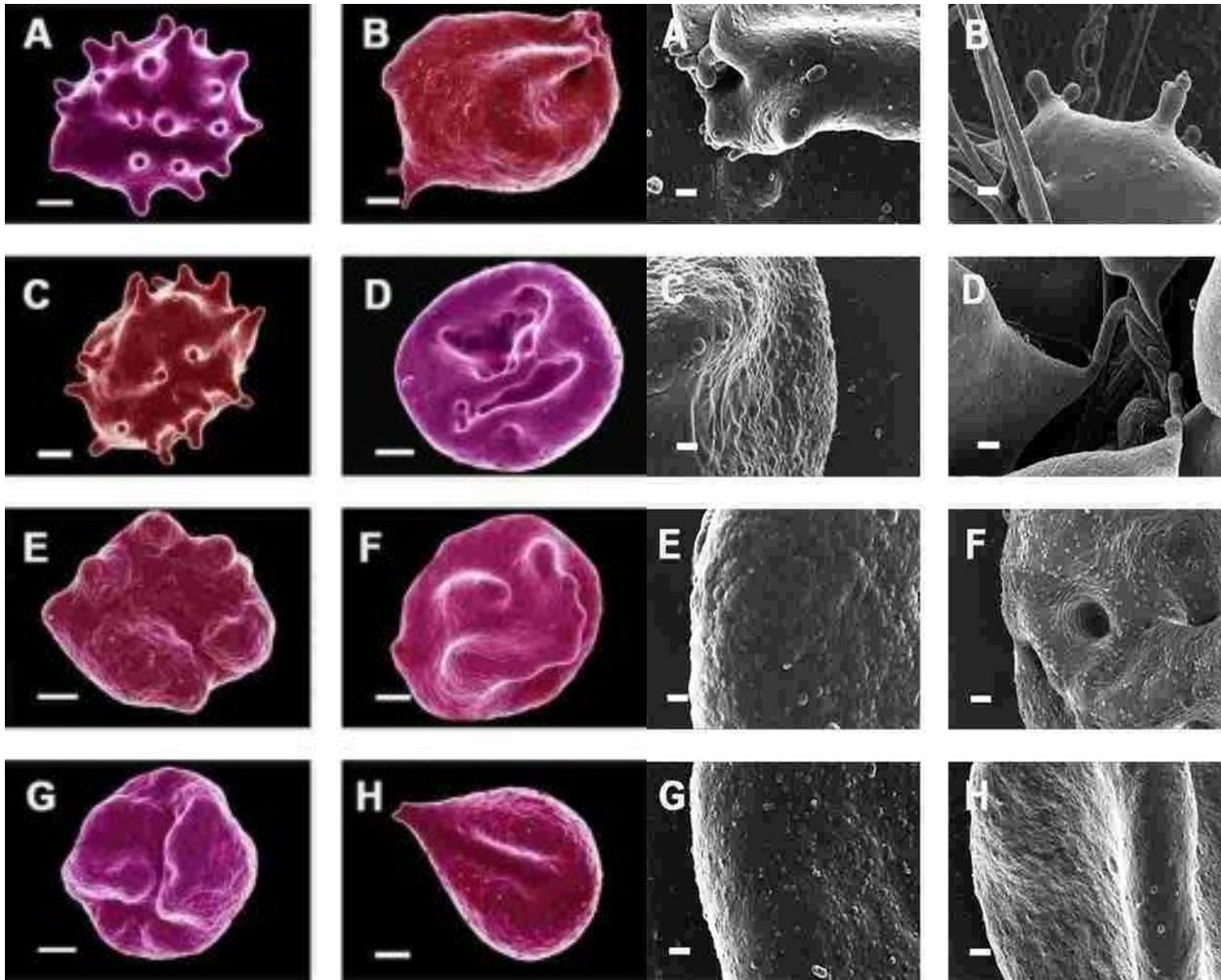
Εκτός των ανωτέρω, έχει βρεθεί πως ενεργό ρόλο στην παθοφυσιολογία της α -Syn, διαδραματίζουν οι μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις (PMTs) που υφίσταται η πρωτεΐνη, καθώς φαίνεται να έχουν άμεσο αντίκτυπο στη συσσώρευση και την τοξικότητα της. Τέτοιες μπορεί να είναι η ακετυλίωση, η γλυκοζυλίωση, η οξειδωση, η νιτριλίωση, η ουβικιτίωση και η φωσφορυλίωση, όπως έχει ήδη αναφερθεί. Πιο συγκεκριμένα, τα επίπεδα της φωσφορυλιωμένης στα υπολείμματα τυροσίνης pY125, της νιτριλιωμένης Y39 και της γλυκοζυλιωμένης α -συνουκλεΐνης εντοπίζονται αυξημένα στην PD, ενώ εκείνα του SUMO (Small Ubiquitin-like Modifier) μειωμένα (Vicente Miranda et al., 2017). Η συγκεκριμένη έρευνα, μάλιστα των Vicente et al., κατέληξε στο ότι η συγκεκριμένη ομάδα των PMTs αφενός μπορεί να διακρίνει τους πάσχοντες από τα υγιή άτομα, αφετέρου σχετίζεται με την σοβαρότητα και τη διάρκεια της νόσου, προτείνοντας τα σαν μελλοντικούς υποψήφιους βιοδείκτες της νόσου, μετά από περαιτέρω διερεύνηση.



Εικόνα 20. Τα επίπεδα των μετα-μεταφραστικών τροποποιήσεων μεταξύ υγιών ατόμων (*ctrl*), ασθενών με πρώιμη διάγνωση 2-4 ετών, ασθενών με εγκατεστημένη νόσο (≥ 10 ετών) και πασχόντων από νόσο του Πάρκινσον (*PD*). Απεικόνιση μεμονομένων τροποποιήσεων: γλυκοζυλίωση (*a*), SUMO (*b*), pY125 (*c*), nY39 (*d*) και συνδυαστική ανάλυση των PTMs (*e*) (Vicente Miranda et al., 2017).

Όπως στις περισσότερες εκφυλιστικές ασθένειες, έτσι και στη νόσο του Πάρκινσον η χρόνια φλεγμονή και το οξειδωτικό στρες αποτελούν κύρια χαρακτηριστικά. Η επίδρασή τους στα ερυθροκύτταρα έχει ως αποτέλεσμα να μεταβάλλεται το σχήμα τους, να δημιουργούνται φυσαλίδες και να επηρεάζεται η δομή της μεμβράνης τους, με τη φωσφατιδυλοσερίνη να μετατοπίζεται στην εξωτερική της επιφάνεια. Αυτές οι μετατροπές οδηγούν στην ερύπτωση, τον αυτοκτονικό κυτταρικό θάνατο των RBCs, πριν την προγραμματισμένη απομάκρυνσή τους από την κυκλοφορία. Με χρήση ηλεκτρονικού μικροσκοπίου σάρωσης, σε πολύ υψηλή μεγέθυνση, παρατηρήθηκαν εικόνες ερυθροκυττάρων από ασθενείς PD με πολύ πιο κοκκώδεις μεμβράνες από αυτές των υγιών ατόμων. Επίσης, εικόνες από μικροσκόπιο ατομικής δύναμης έδειξαν ότι υπήρχαν σημαντικές διαφορές στην ελαστικότητα της μεμβράνης των πασχόντων σε σύγκριση με αυτή των μη (Pretorius et al., 2014). Οπότε, η μορφολογία των RBCs καθώς και η τάση για

ερύθρωση μπορούν να χρησιμοποιηθούν επικουρικά ως δείκτες αντικατοπτρίζοντας τη σοβαρότητα και την εξέλιξη της νόσου, με χρήσιμη διαγνωστική και προγνωστική σημασία. Αντίθετα, έρευνες έχουν δείξει ότι, αν και το RDW εμφανίζεται αυξημένο στους ασθενείς, αντικατοπτρίζοντας την αναμενόμενη ανισοκυττάρωση με βάση τα παραπάνω δεδομένα, δεν έχει συσχετιστεί με τη σοβαρότητα και τη διάρκεια της νόσου (Kenangil, Ari, Kaya, Demir, & Domac, 2020).



Εικόνα 21. Αριστερά: Εικόνες ερυθρών αιμοσφαιρίων ασθενών με PD, στις οποίες φαίνονται οι μεταβολές που υφίσταται το σχήμα τους (μπάρα κλίμακας = 1μm). Δεξιά: Χρήση υψηλής μεγέθυνσης (100.000x) για απεικόνιση μεμβράνης ερυθροκυττάρων ασθενών με νόσο του Πάρκινσον (μπάρα κλίμακας = 200 nm). Και οι δύο εικόνες προέρχονται από παρασκευάσματα ολικού αίματος (Pretorius et al., 2014).

Κεφάλαιο 5. Καρκίνος

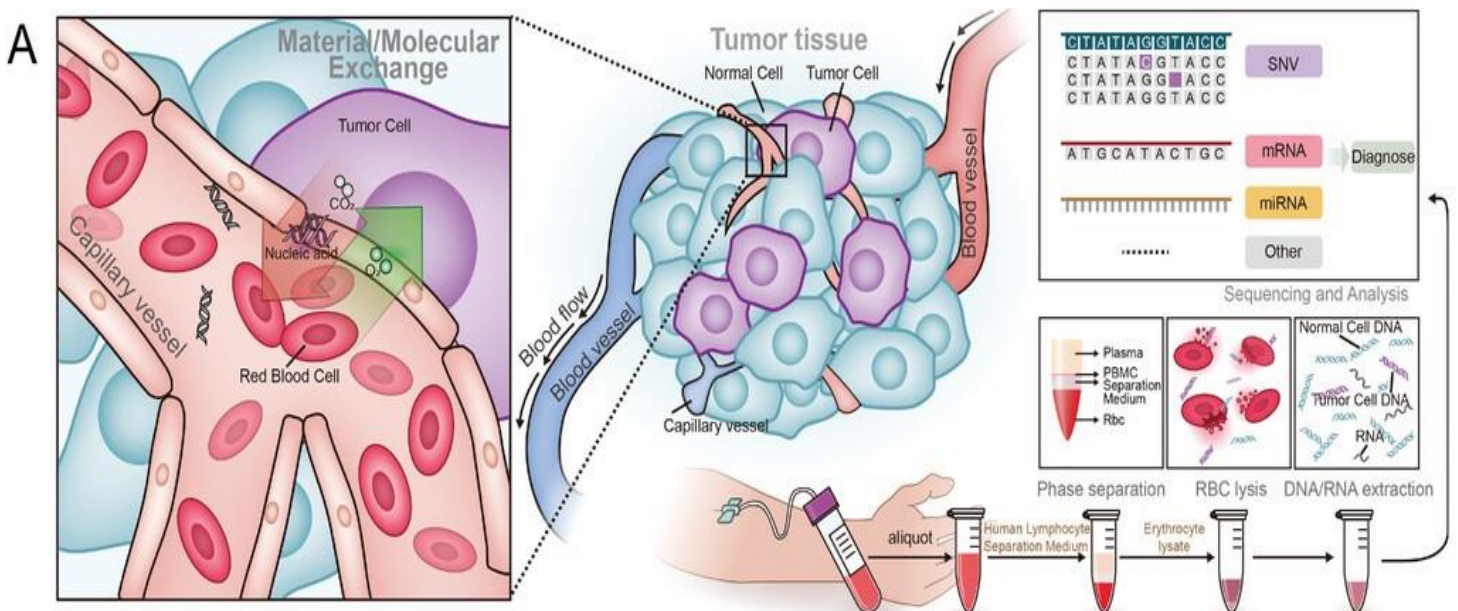
Με τον όρο καρκίνος αναφερόμαστε σε ένα σύνολο ασθενειών, με κοινή βάση τον ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό μη φυσιολογικών κυττάρων με αποτέλεσμα το σχηματισμό μαζών, που ονομάζονται όγκοι. Αυτό έρχεται σε συμφωνία με τον ορισμό που έχει δώσει το Εθνικό Ινστιτούτο Καρκίνου (National Cancer Institute, NCI) που είναι ο εξής: «Ο καρκίνος είναι μια ασθένεια στην οποία ορισμένα από τα κύτταρα του σώματος αναπτύσσονται ανεξέλεγκτα και εξαπλώνονται σε άλλα μέρη του σώματος». Το μικροπεριβάλλον του όγκου ευνοεί ορισμένα φαινοτυπικά χαρακτηριστικά των καρκινικών κυττάρων έναντι άλλων και με τον τρόπο αυτό δημιουργούνται αλλαγές που ευνοούν την επιβίωση των καρκινικών κυττάρων. Αυτά είναι τα επονομαζόμενα ορόσημα του καρκίνου (hallmarks of cancer), που περιλαμβάνουν τις επίκτητες ικανότητες για τη διατήρηση της πολλαπλασιαστικής σηματοδότησης, την αποφυγή των καταστολέων της ανάπτυξης, την αντίσταση στον κυτταρικό θάνατο, την ενεργοποίηση της αναπαραγόμενης αθανασίας, την πρόκληση/πρόσβαση στα αγγεία, την ενεργοποίηση εισβολής και μετάστασης, τον επαναπρογραμματισμό και την αποφυγή του ανοσοποιητικού συστήματος (Hanahan, 2022). Με αυτούς τους μηχανισμούς που ολοένα και μεταλλάσσονται, δίνοντας στην ασθένεια την ικανότητα να διαφεύγει των θεραπειών, αυξάνεται συνεχώς και η ανάγκη για την εύρεση βιοδεικτών που θα είναι ικανοί να συμβάλλουν τόσο στην έγκαιρη διάγνωση όσο και στη θεραπευτική αντιμετώπιση.

Για ακόμη μια φορά, η συμβολή των ερυθροκυττάρων είναι πολύτιμη, καθώς είναι ο πιο άφθονος κυκλοφορούν τύπος κυττάρων που έρχεται σε επαφή με όλους τους ιστούς του σώματος είτε φυσιολογικούς είτε παθολογικούς, με αποτέλεσμα πολλά από τα χαρακτηριστικά τους να μεταβάλλονται αντικατοπτρίζοντας σημεία βλάβης. Μια ενδιαφέρουσα μελέτη των Helwa et al. έδειξε ότι τα καρκινικά κύτταρα μπορεί να αλληλεπιδράσουν με τα ερυθρά αιμοσφαίρια και ότι αυτή η αλληλεπίδραση μπορεί να προκαλείται από τη γαλακτίνη-4 και τις γλυκοπρωτεΐνες που υπάρχουν στα αντιγόνα της ομάδας αίματος ABO. Αναφέρουν, επίσης, παραμόρφωση των RBCs κατά την αλληλεπίδραση αυτή, πράγμα που τους έκανε να υποθέσουν πως ο αναιμικός φαινότυπος που παρατηρείται στους καρκινοπαθείς, ίσως εν μέρει να οφείλεται και σε αυτό (Helwa, Heller, Knarpskog, & Bauer, 2017). Ένα ακόμη χαρακτηριστικό τους που φαίνεται να τροποποιείται, ανεξάρτητα από το είδος του καρκίνου, σύμφωνα με τους Amezaga et al. είναι το προφίλ των λιπαρών οξέων της μεμβράνης των ερυθροκυττάρων. Η εργασία τους παρέχει τις πρώτες ενδείξεις μεταβολικών υπογραφών του καρκίνου στις κυτταρικές μεμβράνες, ανεξαρτήτως των διατροφικών συνηθειών κάθε ασθενούς, καθώς η σύνθεση των λιπαρών οξέων της μεμβράνης των RBC είναι αντιπροσωπευτική όλων των οικογενειών των λιπαρών οξέων και της γενικής κατάστασης άλλων ιστών του σώματος. Κατέληξαν ότι οι ασθενείς με

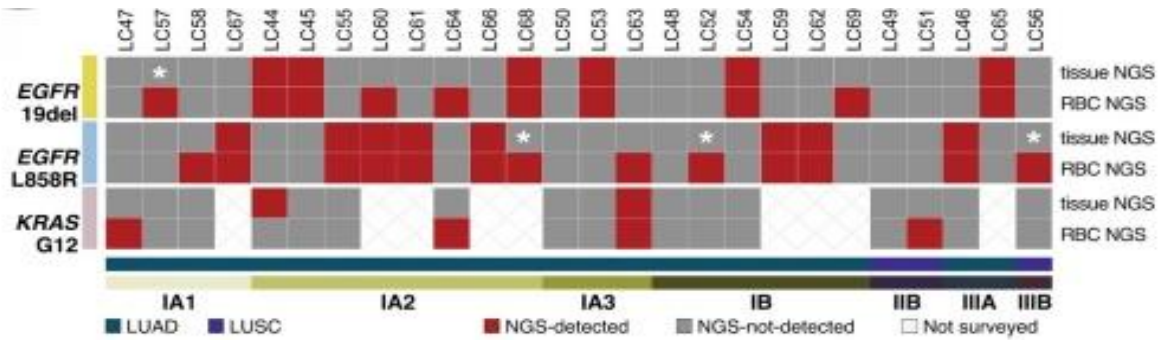
καρκίνο έχουν χαμηλότερο σχετικό ποσοστό κορεσμένων λιπαρών οξέων (SFA) και υψηλότερα μονοακόρεστα λιπαρά οξέα (MUFA) σε σύγκριση με τους υγιείς (Amezaga et al., 2018). Παρομοίως, σε πολλούς τύπους καρκίνου το RDW έχει συσχετιστεί με την έκβαση της νόσου, με τις υψηλές τιμές του να αποτελούν έναν δυσμενή προγνωστικό παράγοντα (L. Hu et al., 2017). Σαφώς, κατά περίπτωση, τα ερυθροκύτταρα υφίστανται διαφορετικές μεταβολές, πιο ενδεικτικές για το κάθε είδος καρκίνου, πράγμα που κάνει τους ερευνητές να πιστεύουν ότι η χρησιμότητα τους ως βιοδείκτες μπορεί να ανοίξει νέους δρόμους στην έγκαιρη διάγνωση και την εξατομικευμένη θεραπεία.

5.1. Καρκίνος Πνεύμονα

Ο καρκίνος του πνεύμονα (LC) είναι ένα από τα σοβαρότερα προβλήματα δημόσιας υγείας παγκοσμίως ως προς τη συχνότητα εμφάνισης και τη θνησιμότητα του (Siegel, Miller, & Jemal, 2018). Ωστόσο, η έγκαιρη διάγνωση του παραμένει ελάχιστα ικανοποιητική. Μια πολλά υποσχόμενη μέθοδος που μπορεί να βοηθήσει σημαντικά στη διάγνωση πρώιμων σταδίων καρκίνου του πνεύμονα, είναι η υγρή βιοψία. Τα ώριμα ερυθροκύτταρα ασθενών φαίνεται ότι περιέχουν αντίγραφα DNA με γενετικές μεταλλάξεις, προερχόμενες από τον καρκινικό ιστό, καθώς είναι ικανά να δεσμεύουν DNA από το περιβάλλον τους μέσω του υποδοχέα TLR9 που εδράζεται στην επιφάνειά τους (Liang et al., 2023).

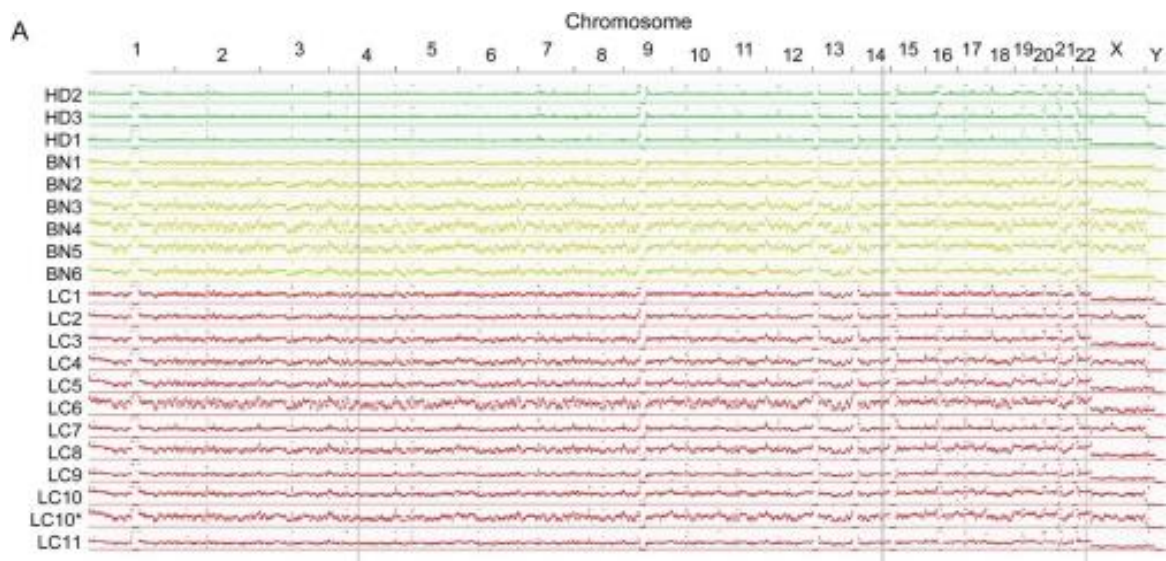


Εικόνα 22. Σχηματική απεικόνιση ανταλλαγής φορτίου μεταξύ καρκινικών κυττάρων και RBCs και ανίχνευσή του με χρήση υγρής βιοψίας [προσαρμογή από (Liang et al., 2023)].



Εικόνα 23. Ανίχνευση μεταλλάξεων γονιδίων όγκου σε RBCs ασθενών με καρκίνο του πνεύμονα με χρήση αλληλούχισης επόμενης γενιάς (NGS) [προσαρμογή από (Liang et al., 2023)].

Στην ίδια μελέτη, παρατηρήθηκαν αλλαγές στον αριθμό των αντιγράφων DNA κατά την εξέλιξη της νόσου (CNV, Copy Number Variation). Έτσι, οι Liang et al. έδειξαν ότι στα ερυθροκύτταρα ατόμων με καλοήθεις πνευμονικούς όζους και καρκίνο του πνεύμονα, ανιχνεύονται διαφορές των CNV, όπου εάν συνδυαστούν με την ανάλυση χρωμοσωμάτων μπορούν να βοηθήσουν τόσο στη διάκριση μεταξύ των διαφόρων περιπτώσεων, όσο και στην διάγνωση της νόσου σε πρώιμα στάδια (Liang et al., 2023).



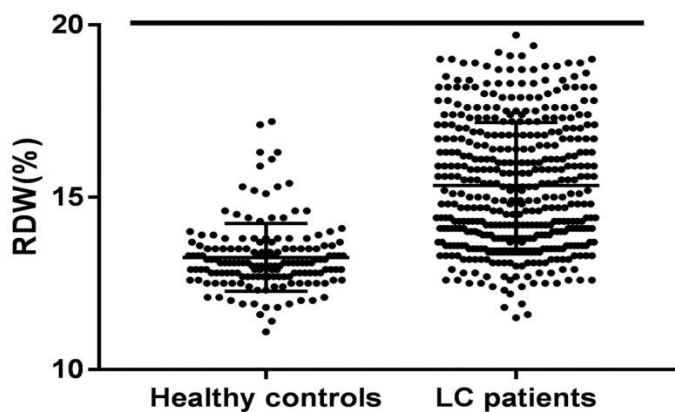
Εικόνα 24. Απεικόνιση των αντιπροσωπευτικών αποτελεσμάτων χαρτογράφησης δεδομένων αλληλουχίας ολόκληρου του γονιδιώματος RBC DNA 3 υγιών dotών, 6 ασθενών με καλοήθη οζίδια και 11 ασθενών με καρκίνο του πνεύμονα [προσαρμογή από (Liang et al., 2023)].

Ο καρκίνος σαν ασθένεια χαρακτηρίζεται από υψηλά επίπεδα οξειδωτικού στρες, καθώς το φλεγμονώδες προφίλ από το οποίο χαρακτηρίζονται οι ασθενείς οδηγεί σε αυξημένη παραγωγή ROS. Για το λόγο αυτό διενεργήθηκαν μελέτες σε σχέση με το αντιοξειδωτικό δυναμικό και τα ένζυμα των ερυθροκυττάρων, με στόχο να προσδιοριστεί ο προγνωστικός τους ρόλος για την έκβαση της νόσου. Οι Kaynar et al. διερεύνησαν τις δραστηριότητες της υπεροξειδάσης γλουταθειόνης (GSH-Px), γλουταθειόνης-S-τρανσφεράσης (GST), καταλάσης

(CAT), οξειδάσης ξανθίνης (XO), υπεροξειδικής δισμουτάσης Cu-Zn (Cu-Zn SOD), ολικής γλουταθειόνης (TGSH), οξειδίου του αζώτου (NO) και μαλονδιαλδεΐδης (MDA) σε ερυθροκύτταρα ασθενών με μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα (ΜΜΚΠ), μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα (ΜΚΠ) και υγιή άτομα. Βρέθηκε ότι τα επίπεδα MDA, NO, TGSH ερυθροκυττάρων και οι δραστηριότητες SOD, CAT και XO ερυθροκυττάρων ήταν σημαντικά υψηλότερες σε ασθενείς με NSCLC και SCLC απ' ό τι στους υγιείς μάρτυρες. Ελαφρώς αυξημένες δραστηριότητες GSH-Px και GST των ερυθροκυττάρων δεν διέφεραν σημαντικά από τους ελέγχους. Επίσης, τα επίπεδα MDA των ερυθροκυττάρων συσχετίστηκαν θετικά με τα επίπεδα NO ερυθροκυττάρων σε ασθενείς πρώιμου σταδίου ΜΜΚΠ (I+II) . Ενώ, τα επίπεδα MDA των ερυθροκυττάρων συσχετίστηκε θετικά με τη δραστηριότητα XO των ερυθροκυττάρων σε ασθενείς με προχωρημένο στάδιο ΜΜΚΠ (III+IV) (Kaynar et al., 2005). Τα παραπάνω αποτελέσματα μας υποδεικνύουν αλλαγή στην οξειδωτική-αντιοξειδωτική κατάσταση των κυττάρων των ασθενών που, αφενός μπορεί να εξηγήσει την παρατηρούμενη υπεροξειδωση των λιπιδίων των ερυθροκυττάρων, αφετέρου μπορεί να διακρίνει ποιοι ασθενείς μπορούν να ωφεληθούν περισσότερο από μια αντιοξειδωτική θεραπεία.

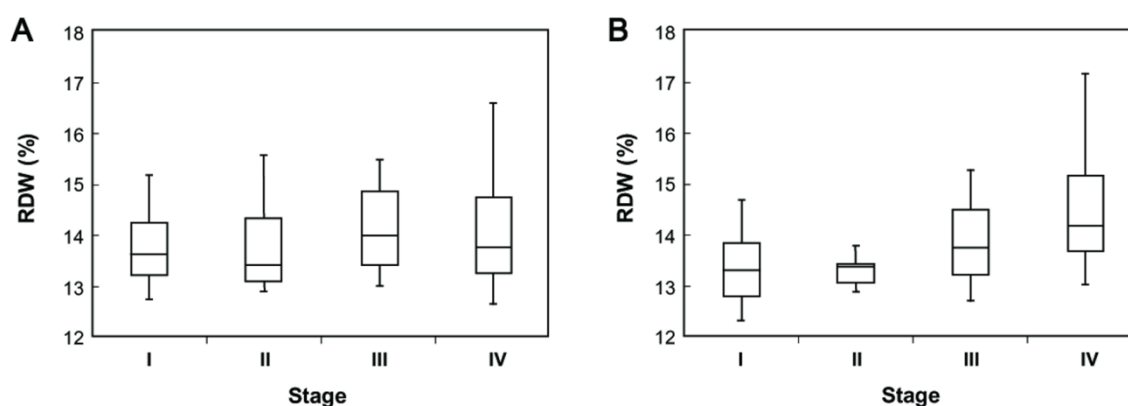
Με βάση τα παραπάνω είναι αναμενόμενο το προφίλ των λιπαρών οξέων των ερυθροκυττάρων να μεταβάλλεται στα διάφορα είδη καρκίνου. Ένα από τα είδη που έχει παρατηρηθεί είναι και ο καρκίνος του πνεύμονα, με τουλάχιστον ένα από τα κύρια λιπαρά οξέα να μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως βιοδείκτης για κάθε τύπο καρκίνου του πνεύμονα: αραχιδονικό (20:4n6), λινολεϊκό (18:2n6) και στεατικό (18:0) οξύ (de Castro, Rodriguez, Martinez-Zorzano, Sanchez-Rodriguez, & Sanchez-Yague, 2014). Πιο συγκεκριμένα, η συγκεκριμένη έρευνα έδειξε ότι το στεατικό οξύ αυξήθηκε σημαντικά σε ασθενείς με μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα (NSCLC), αλλά όχι σε αυτούς με μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα (SCLC). Η αύξησή του ήταν, επίσης, σημαντική σε ασθενείς με προχωρημένο πλακώδες καρκίνωμα του πνεύμονα (SCC) έναντι αυτών με καλοήθες καρκίνωμα. Το λινολεϊκό οξύ μειώθηκε στην ομάδα ασθενών SCC έναντι τόσο των υγιών μαρτύρων όσο και της ομάδας με καλοήθες καρκίνωμα. Το αραχιδονικό οξύ μειώθηκε σημαντικά στις ομάδες με αδενοκαρκίνωμα πνεύμονα έναντι των ομάδων με SCC ή καλοήθη καρκινώματα (de Castro et al., 2014). Έτσι, η ανάλυση του προφίλ των λιπαρών οξέων των ερυθροκυττάρων και οι μεταβολές που δέχεται, έχουν πολλές προοπτικές να χρησιμεύσουν ως επικουρικοί βιοδείκτες μελλοντικά όχι μόνο στη διάγνωση αλλά και στη διάκριση, μεταξύ των ειδών του καρκίνου του πνεύμονα.

Τέλος, υπάρχει πληθώρα ερευνών που θέτει το RDW ως βιοδείκτη για τον καρκίνο του πνεύμονα. Οι αυξημένες τιμές RDW αποδείχθηκε ότι συμβάλλουν στην εξέλιξη και την πρόγνωση του καρκίνου, ενώ δεν έχουν παρατηρηθεί διακυμάνσεις μεταξύ των διαφόρων ειδών καρκίνου του πνεύμονα (Ma, Wang, & Zhao, 2019).

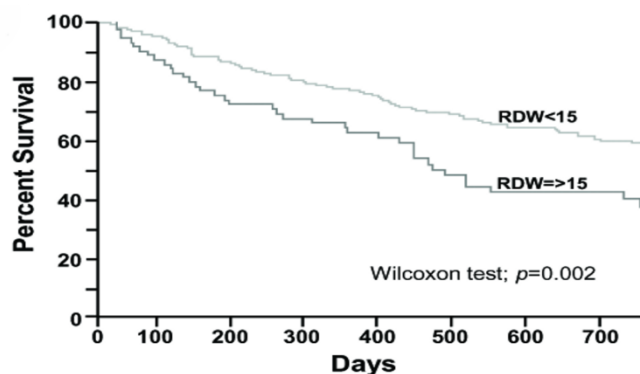


Εικόνα 25. Μέση RDW ασθενών με καρκίνο του πνεύμονα έναντι υγιών μαρτύρων (Ma et al., 2019).

Αντίθετα, συσχέτιση παρατηρήθηκε μεταξύ του RDW και των σταδίων του καρκίνου στο οποίο βρίσκεται ο ασθενής, καθώς όσο πιο αυξημένες οι τιμές του τόσο χειρότερη θεωρείται η έκβαση της νόσου. Μελέτες που έγιναν σε ομάδες με όλα τα στάδια καρκίνου του πνεύμονα με υψηλές τιμές RDW έδειξαν ότι οι συγκεκριμένοι ασθενείς είχαν χειρότερη πρόγνωση και μικρότερη επιβίωση από εκείνους με χαμηλές τιμές RDW (Koma et al., 2013).



Εικόνα 26. Επίπεδα RDW ασθενών με καρκίνο του πνεύμονα ανάλογα με το στάδιο στο οποίο βρίσκονται, με ύπαρξη συννοσηρότητας (A) και χωρίς (B) (Koma et al., 2013).

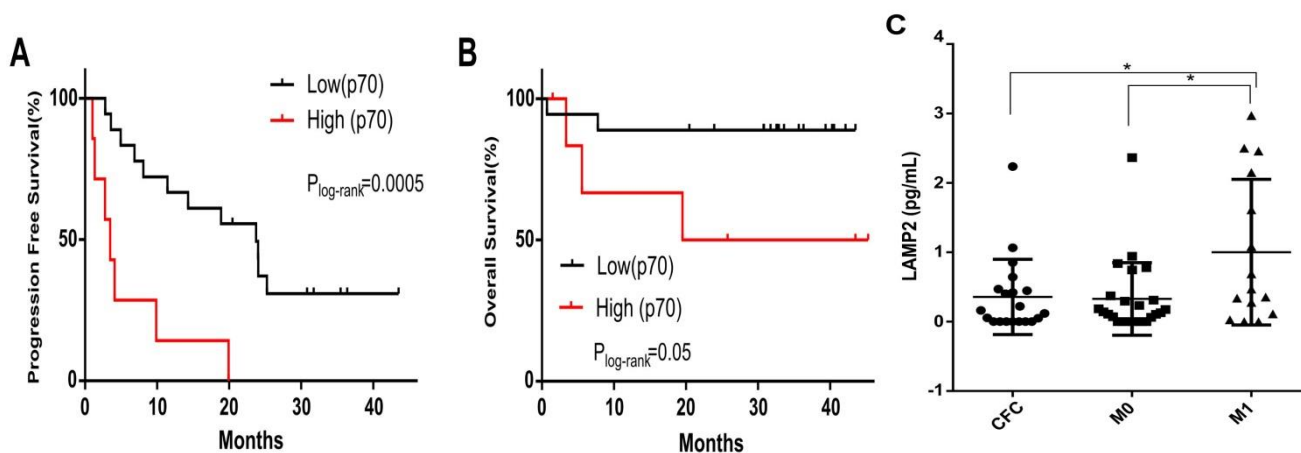


Εικόνα 27. Ποσοστά επιβίωσης ασθενών με καρκίνο του πνεύμονα σταδίου I-IV (n=332), υψηλό RDW (n=73) έναντι χαμηλού RDW (n=259) [προσαρμογή από (Koma et al., 2013)].

5.2. Καρκίνος Μαστού

Ο καρκίνος του μαστού (BC), η πιο συχνά διαγνωσθείσα κακοήθεια, είναι μια από τις κύριες αιτίες θανάτου από καρκίνο στις γυναίκες (Sung et al., 2021). Η μετάσταση εμφανίζεται στο 50% περίπου των περιπτώσεων, με την πιο κοινή θέση αυτή των οστών και ευθύνεται για τη συντριπτική πλειοψηφία των θανάτων. Για ακόμα μια φορά, πρόκληση για την επιστήμη αποτελεί η εύρεση βιοδεικτών για όσο το δυνατόν πιο έγκαιρη διάγνωση τόσο της νόσου καθεαυτής, όσο και των μεταστάσεων.

Η πρωτεωμική έχει εισέλθει δυναμικά πλέον στο ερευνητικό κομμάτι, αποτελώντας ένα αδιαμφισβήτητο σημαντικό εργαλείο στα χέρια των επιστημόνων. Σε αναλύσεις πρωτεώματος ερυθροκυττάρων ασθενών με καρκίνο του μαστού ανιχνεύθηκε διαφορετικό πρωτεϊνικό προφίλ, τόσο σε σχέση με τους υγιείς όσο και μεταξύ ασθενών με μη μεταστατικό (M0) και μεταστατικό (M1) καρκίνο. Σε ασθενείς με M0 BC ανιχνεύθηκαν 72 διαφορετικές πρωτεΐνες σε σύγκριση με τους υγιείς, μεταξύ των 260 πρωτεϊνών του συνόλου της βιβλιοθήκης. Σε ασθενείς με M1 BC, 14 πρωτεΐνες αναγνωρίστηκαν αποκλειστικά στο προχωρημένο στάδιο. Εννέα πρωτεΐνες μοιράστηκαν μεταξύ M0 και M1 BC ασθενών. Οι πρωτεΐνες που βρέθηκαν μόνο σε ασθενείς με BC σχετίζονταν με οδούς ιντεγκρίνης και φλεγμονώδους σηματοδότησης ή με αλληλεπίδραση και αιμοπεταλιακή ρύθμιση (Pereira-Veiga et al., 2022). Στην ίδια μελέτη ελέγχθηκε εάν τα διαφορετικά επίπεδα πρωτεϊνών στους καρκινοπαθείς συνδέονται με την έκβαση της νόσου, με την πρωτεΐνη LAMP2 να ξεχωρίζει έναντι άλλων, μια μεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη που σχετίζεται με το λυσόσωμα αλλά έχει συσχετιστεί και με καρκινικά κύτταρα. Τα υψηλά επίπεδα έκφρασης LAMP2 μπορούν να προβλέψουν τη χειρότερη έκβαση της νόσου καθώς φαίνεται να σχετίζονται με μειωμένη επιβίωση των ασθενών με μεταστατικό καρκίνο του μαστού, ενώ χαμηλά επίπεδα βρέθηκαν σε ασθενείς χωρίς εξέλιξη της νόσου (Pereira-Veiga et al., 2022).

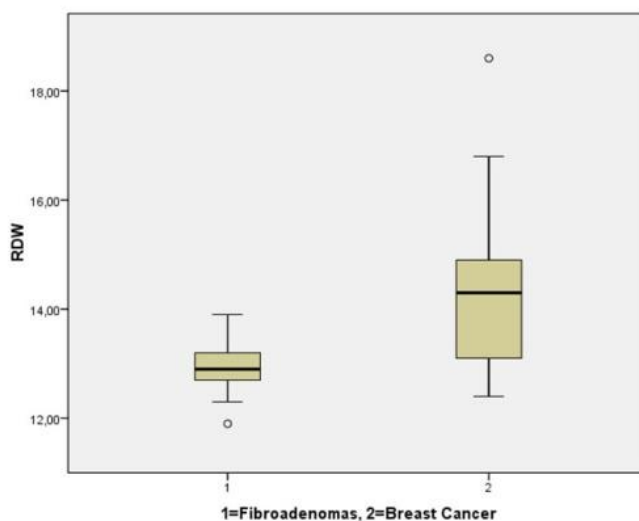


Εικόνα 28. Διαγράμματα συσχέτισης επιπέδων LAMP2 με την επιβίωση ασθενών BC (A,B) και των σημαντικά αυξημένων επιπέδων LAMP2 σε ασθενείς M1 έναντι των M0 και των υγιών μαρτύρων [προσαρμογή από (Pereira-Veiga et al., 2022)].

Ενδιαφέρον, επίσης, παρουσιάζει η νουκλεοτιδική φωσφορυλάση πουρίνης (PNP), η οποία εκφράζεται σε μεγάλο βαθμό στα φυσιολογικά ερυθρά αιμοσφαίρια. Ανιχνεύθηκε σε υψηλότερα επίπεδα σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού και μάλιστα σε ακόμη υψηλότερα επίπεδα σε εκείνους με σπλαχνική μετάσταση, ενώ χαμηλότερα ήταν τα επίπεδα της σε ασθενείς με οστικές μεταστάσεις (Pereira-Veiga et al., 2022).

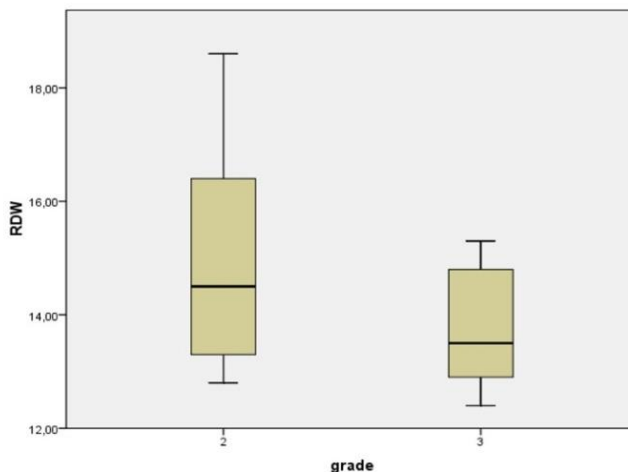
Σε μια άλλη μελέτη των Kaczmarek et al. που εστίασε στις μεμβράνες ερυθροκυττάρων γυναικών με BC, παρατηρήθηκε αύξηση των επιπέδων της 4-φωσφορικής φωσφατιδυλινοσιτόλης και της 4,5-διφωσφορικής φωσφατιδυλινοσιτόλης, ενώ αυτές οι αλλαγές συνοδεύτηκαν από μείωση της δραστηριότητας της φωσφολιπάσης C. Ταυτόχρονα, βρέθηκε σημαντική μείωση στη συγκέντρωση της φωσφατιδυλοσερίνης, της σφιγγομυελίνης και της φωσφατιδυλινοσιτόλης (Kaczmarek et al., 2002). Εκτός αυτών, μεταβολές παρατηρήθηκαν και στο προφίλ των λιπαρών οξέων της μεμβράνης των RBCs των ασθενών και σε αυτό το είδος καρκίνου. Συγκεκριμένα, σε μεταεμμηνοπαυσιακές γυναίκες που ανέπτυξαν καρκίνο του μαστού παρατηρήθηκαν μεμβράνες ερυθροκυττάρων που χαρακτηρίζονταν από υψηλότερα επίπεδα μονοακόρεστων λιπαρών οξέων (ειδικά ελαϊκό οξύ) και χαμηλότερο δείκτη κορεσμού (SI), δηλαδή την αναλογία στεατικού οξέος (το πιο κοινό κορεσμένο λιπαρό οξύ) προς ελαϊκό οξύ (το πιο κοινό μονοακόρεστο λιπαρό οξύ) από εκείνες που δεν ανέπτυξαν καρκίνο του μαστού (Pala et al., 2001).

Αναφερόμενοι στο RDW για την περίπτωση καρκίνου του μαστού, μπορούμε να πούμε ότι η έρευνα των Seretis et al. έδειξε ότι αυξημένες τιμές της μπορεί να είναι χρήσιμες στη διαφορική διάγνωση της φύσης ενός όγκου του μαστού -καλοήθους ή κακοήθους-, όντας σημαντικά υψηλότερες στην ομάδα ασθενών με καρκίνο του μαστού, χωρίς φυσικά να μπορεί να θέσει τη διάγνωση της νόσου.



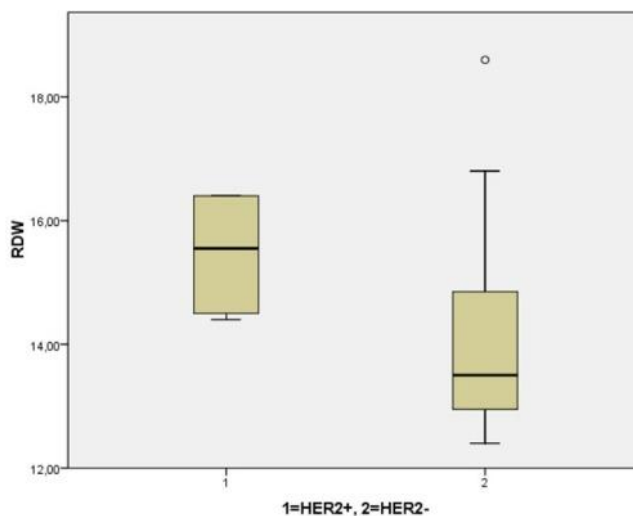
Εικόνα 29. Συγκριτική κατανομή του RDW σε ασθενείς με ινοαδενώματα και καρκίνο του μαστού (Seretis, Seretis, Lagoudianakis, Gemenetzis, & Salemis, 2013).

Ωστόσο, άκρως ενδιαφέρον είναι το εύρημά τους ότι παρόλο που οι υψηλότερες τιμές του RDW συσχετίστηκαν σημαντικά με τη διάμετρο του πρωτοπαθούς όγκου και τον απόλυτο αριθμό των διηθημένων μασχαλαίων λεμφαδένων, το RDW συσχετίστηκε αντιστρόφως με τον βαθμό του όγκου, καθώς βρέθηκε σημαντικά υψηλότερο σε ασθενείς με διηθητικό καρκίνωμα πόρων βαθμού II από ότι σε ασθενείς με καρκίνο βαθμού III (Seretis et al., 2013).



Εικόνα 30. Εύρος κατανομής ερυθρών αιμοσφαιρίων σε σχέση με τον βαθμό των καρκινικών αλλοιώσεων: Η RDW ήταν σημαντικά υψηλότερη σε ασθενείς με καρκίνο βαθμού II (Seretis et al., 2013).

Στην ίδια μελέτη βρέθηκε σταθερή συσχέτιση της αύξησης RDW και της υπερέκφρασης HER2. Ως γνωστόν η υπερέκφραση HER2 σχετίζεται με αυξημένη υποτροπή της νόσου και κακή πρόγνωση των ασθενών και από αυτή την άποψη, το RDW θα μπορούσε να αποτελέσει προγνωστικό βιοδείκτη αλλά και βιοδείκτη παρακολούθησης της ανταπόκρισης σε θεραπεία με παράγοντες anti-HER2, συγκρίνοντας τις βασικές μετρήσεις πριν από την έναρξη της θεραπείας με διαδοχικές μετρήσεις σύμφωνα με τα θεραπευτικά πρωτόκολλα (Seretis et al., 2013).



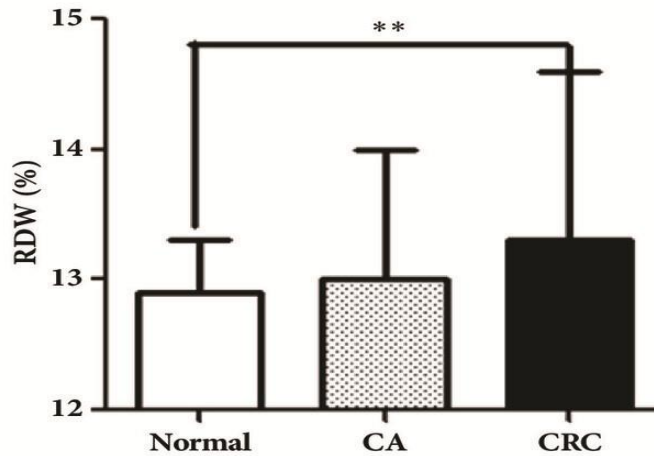
Εικόνα 31. Εύρος κατανομής ερυθρών αιμοσφαιρίων σε σχέση με την υπερέκφραση της πρωτεΐνης HER2 (Seretis et al., 2013).

5.3. Καρκίνος Παχέος Εντέρου

Ο καρκίνος του παχέος εντέρου(CRC) ευθύνεται για περίπου το 10% όλων των καρκίνων που διαγιγνώσκονται ετησίως και των θανάτων που σχετίζονται με τον καρκίνο παγκοσμίως. Είναι ο δεύτερος πιο συχνός καρκίνος που διαγιγνώσκεται στις γυναίκες και ο τρίτος περισσότερο στους άνδρες (Dekker, Tanis, Vleugels, Kasi, & Wallace, 2019). Με τόσο υψηλά ποσοστά ασθενών, είναι δεδομένο πως η πρώιμη διάγνωση και η έγκαιρη έναρξη θεραπείας είναι αυτό που απασχολεί την επιστημονική κοινότητα και σε αυτή την περίπτωση καρκίνου.

Για ακόμη μια φορά η ανάλυση του λιπιδιώματος των RBCs ασθενών με καρκίνο του παχέος εντέρου αποκάλυψε ένα αλλοιωμένο προφίλ λιπιδίων που σχετίζονται με τη νόσο. Συγκεκριμένα, οι ασθενείς με CRC έδειξαν σημαντικά χαμηλότερο ποσοστό σύνθεσης n-3-PUFA από τους υγιείς μάρτυρες (5,1% έναντι 8,0%, αντίστοιχα), εύρημα το οποίο αντικατοπτρίζεται στην υψηλότερη αναλογία n-6-PUFA/n-3-PUFA που παρατηρήθηκε στους ασθενείς έναντι των υγιών. Αυτό δικαιολογείται, επίσης, από το γεγονός ότι η ομάδα των καρκινοπαθών εμφάνισε 2,5 φορές χαμηλότερο ποσοστό α-λινολενικού οξέος (A-Linolenic Acid, ALA) από τους μάρτυρες στο οποίο οφείλεται η μείωση των συνολικών PUFA της σειράς n -3. Μια ακόμη σημαντική παρατήρηση που αφορά το εικοσιπενταενοϊκό οξύ (Docosapentaenoic acid, DPA) είναι τα σημαντικά χαμηλότερα επίπεδά του στις μεμβράνες των ερυθροκυττάρων, υποδηλώνοντας έναν ρόλο για αυτό το λιπαρό οξύ στον νεοπλασματικό μετασχηματισμό του βλεννογόνου του παχέος εντέρου (Coviello, Tutino, Notarnicola, & Caruso, 2014).

Παρόμοια με τις υπόλοιπες περιπτώσεις καρκίνου, το RDW βρέθηκε αυξημένο στους ασθενείς με καρκίνο του παχέος εντέρου σε σχέση με τους υγιείς. Δυστυχώς φάνηκε εκ του αποτελέσματος ότι δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη διαφορική διάγνωση μεταξύ καρκίνου και ορθοκολικού αδενώματος, ενός καλοήθους αδενικού όγκου του παχέος εντέρου και του ορθού που αποτελεί μια πρόδρομη βλάβη του CRC, καθώς δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά μεταξύ των τιμών τους (Song et al., 2018). Ωστόσο, αρκετά ελπιδοφόρα ήταν ευρήματα της ίδιας έρευνας, όπως ότι τα επίπεδα του RDW σχετίζονται με το στάδιο TNM, το μέγεθος του όγκου και τις πιθανές μεταστάσεις αλλά και ότι το αυξημένο RDW μπορεί να βελτιώσει τη διαγνωστική απόδοση του CEA και του CA19-9, αν χρησιμοποιηθούν σε συνδυασμό (Song et al., 2018). Αυτά τα δεδομένα το καθιστά πιθανό μελλοντικό διαγνωστικό αλλά και προγνωστικό βιοδείκτη.

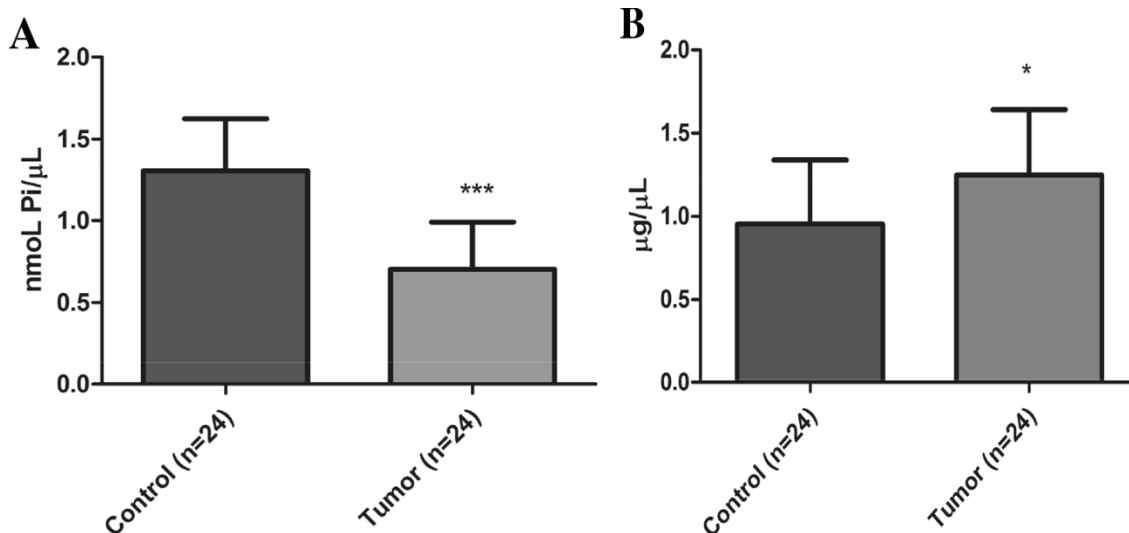


Εικόνα 32. Επίπεδα RDW σε ασθενείς με CRC (n= 783), ασθενείς με αδένωμα παχέος εντέρου (n = 463) και υγιείς μάρτυρες (n = 331) (Song et al., 2018).

5.4. Καρκίνος Κεφαλής Τραχήλου

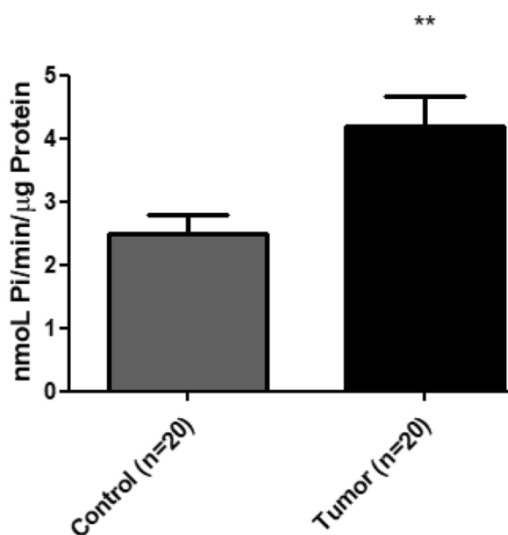
Παγκοσμίως, περίπου 600.000 περιπτώσεις ακανθοκυτταρικού καρκινώματος κεφαλής και τραχήλου (HNSCC) διαγιγνώσκονται κάθε χρόνο, καταλαμβάνοντας την έκτη θέση μεταξύ των διαφόρων τύπων όγκων και αντιπροσωπεύοντας το 4% όλων των θανάτων από καρκίνο στον κόσμο (Ferlay et al., 2015). Κύριους παράγοντες κινδύνου γι' αυτού του είδους τον καρκίνο είναι η κατανάλωση αλκοόλ και καπνού με αποτέλεσμα την επιζήμια δημιουργία οξειδωτικού στρες και ROS προκαλώντας υπεροξείδωση των λιπιδίων της μεμβράνης. Όπως έχει ήδη αναφερθεί, τα προϊόντα υπεροξείδωσης των λιπιδίων είναι υπεύθυνα για την πρόκληση μεγάλων δομικών και λειτουργικών αλλαγών στην κυτταρική μεμβράνη, όπως μειωμένη ρευστότητα, αύξηση της διαπερατότητας και αδρανοποίηση των ενσωματωμένων στη μεμβράνη ενζύμων μαζί με την απώλεια βασικών λιπαρών οξέων, αλλαγές που αντανακλώνται στα ερυθρά αιμοσφαίρια των ασθενών. Καθώς η πλειονότητα των περιπτώσεων HNSCC διαγιγνώσκεται σε προχωρημένο στάδιο, ερευνάται η ανάπτυξη βιοδεικτών για τον προσυμπτωματικό έλεγχο του καρκίνου, την έγκαιρη ανίχνευση, τη διάγνωση, τη σταδιοποίηση και την πρόγνωση.

Ενδιαφέρον προκαλεί η έρευνα των De Souza Goncalves et al. οι οποίοι μελέτησαν την ερυθροκυτταρική μεμβράνη και τις μεταβολές που επιδέχεται σε περιπτώσεις αυτού του είδους καρκίνου. Αρχικά, εντόπισαν βλάβη στη μεμβράνη προκαλούμενη από την υπεροξείδωση των λιπιδίων, με ταυτόχρονη μείωση της συνολικής περιεκτικότητας της σε φωσφολιπίδια στους ασθενείς με HNSCC, ενώ για τη συνολική περιεκτικότητα σε χοληστερόλη παρατηρήθηκε ένα αντίθετο προφίλ, μια σημαντική αύξηση στην ομάδα HNSCC σε σχέση με την ομάδα ελέγχου (De Souza Goncalves et al., 2020).



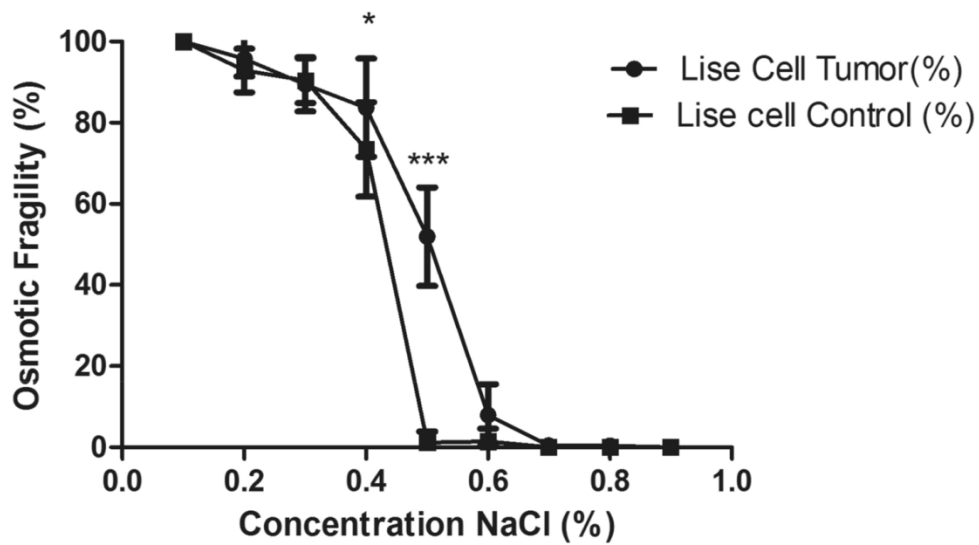
Εικόνα 33. Προσδιορισμός περιεκτικότητας ολικών φωσφολιπιδίων (A) και ολικής χοληστερόλης (B) σε μεμβράνες ερυθροκυττάρων υγιών ατόμων και ασθενών με HNSCC (De Souza Goncalves et al., 2020).

Έτσι, αλλαγές στην περιεκτικότητα σε χοληστερόλη και σε ολικά φωσφολιπίδια που παρατηρούνται στα αποτελέσματα, οδηγούν σε τροποποίηση της ρευστότητας της μεμβράνης και μπορεί να επηρεάσουν τη μεταφορά ιόντων, τη δραστηριότητα των ενσωματωμένων στη μεμβράνη ενζύμων, την αλλαγή της κυτταρικής ομοιόστασης και της διαπερατότητας της μεμβράνης. Στη συνέχεια, ανέλυσαν τη δραστηριότητα Na, K-ATPάσης, ένα από τα κύρια ένζυμα που σχετίζονται με τη διατήρηση της ομοιόστασης των ερυθροκυττάρων, όπου παρατήρησαν μια σημαντική αύξηση στην ενζυμική δραστηριότητα των ασθενών σε σχέση με των υγιών (De Souza Goncalves et al., 2020).



Εικόνα 34. Δραστηριότητα Na, K-ATPase σε παρασκευάσματα μεμβράνης ερυθροκυττάρων υγιών ατόμων και ασθενών με HNSCC (De Souza Goncalves et al., 2020).

Επίσης, παρατήρησαν αυξημένη οσμωτική ευθραυστότητα των ερυθροκυττάρων των καρκινοπαθών σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου (De Souza Goncalves et al., 2020).



Εικόνα 35. Καμπύλες οσμωτικής ευθραυστότητας υγιών ατόμων και ασθενών με HNSCC(De Souza Goncalves et al., 2020).

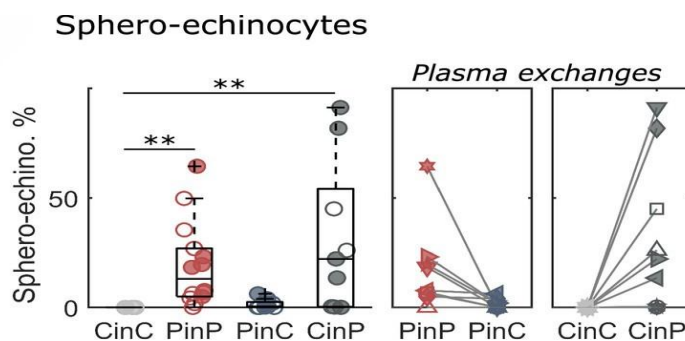
Οι αλλαγές στα ερυθροκύτταρα που βρέθηκαν σε αυτή τη μελέτη θα μπορούσαν να λειτουργήσουν ως μια νέα προσέγγιση για τη μη επεμβατική διάγνωση αυτού του τύπου καρκίνου. Λόγω της δυσάρεστης πρόγνωσης του προχωρημένου HNSCC, αυτά τα νέα ευρήματα υπογραμμίζουν το ισχυρό δυναμικό των ερυθροκυττάρων ως μη διεισδυτικού βιοδείκτη εξέλιξης του όγκου.

Κεφάλαιο 6. Ιογενείς Λοιμώξεις

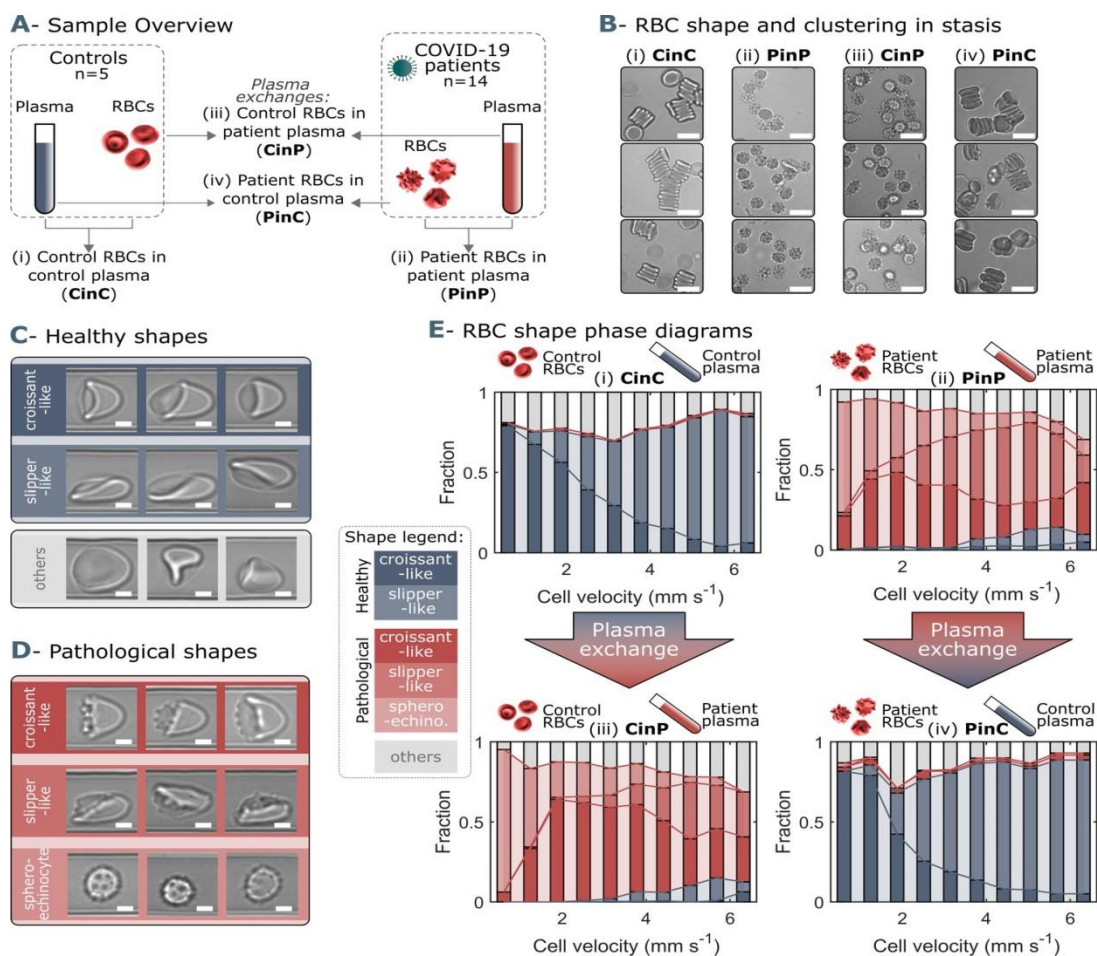
Η ιογενής λοίμωξη προκαλεί σημαντική βλάβη στα αιμοσφαίρια που αλλάζουν σε μέγεθος, ακαμψία και πλάτος κατανομής. Χαμηλότερα επίπεδα αιμοσφαιρίνης και αναιμίας έχουν αναφερθεί σε αρκετές μελέτες και μια μεταβολή στη συγκέντρωση των αντιοξειδωτικών ενζύμων έχει αποδειχθεί ότι προάγει μια επικίνδυνη κατάσταση οξειδωτικού στρες στα ερυθρά αιμοσφαίρια (Russo, Tellone, Barreca, Ficarra, & Lagana, 2022).

Οι πιο πρόσφατες έρευνες σε ότι έχει να κάνει με το πώς επιδρά μια ιογενής λοίμωξη στη μορφολογία και τη λειτουργικότητα των ερυθροκυττάρων ξεκίνησαν με αφορμή τη νόσο COVID-19, οφειλόμενη στον ιό SARS-CoV-2 που εξελίχθηκε σε πανδημία. Ο SARS-CoV-2 ανήκει στην οικογένεια Coronaviridae, μια ομάδα ιών μονόκλωνου RNA που προκαλούν γαστρεντερικές και αναπνευστικές λοιμώξεις (Paules, Marston, & Fauci, 2020). Όπως είναι αναμενόμενο, σε νόσους σαν αυτή που αποτελούν κίνδυνο για τη δημόσια υγεία, οι βιοδείκτες που χρησιμεύουν κυρίως στην πρόγνωση και την παρακολούθηση της κατάστασης των ασθενών είναι άκρως απαραίτητοι, γι' αυτό και έχουν μελετηθεί εκτενώς τα τελευταία χρόνια.

Οι Recktenwald et al. στην έρευνά τους έδειξαν ότι οι βιοφυσικές ιδιότητες των ερυθρών αιμοσφαιρίων παρουσιάζουν μεταβολές κατά τη διάρκεια της μόλυνσης. Αναφερόμενοι στο σχήμα των RBCs, αναφέρουν ότι ενώ στο αίμα ασθενών με COVID-19 παρατηρούνται υψηλά ποσοστά σφαιροεχινοκυττάρων, όταν αυτά απομονωθούν και εκτεθούν σε πλάσμα προερχόμενο από υγιή δότη, επανέρχονται στο φυσιολογικό σχήμα αμφίκιουλου δίσκου (Εικ. 37). Αντίστοιχα, όταν RBCs που απομονώθηκαν από το αίμα υγιών ατόμων εκτέθηκαν σε πλάσμα ασθενούς COVID-19, παρατηρήθηκε υψηλό ποσοστό σφαιροεχινοκυττάρων (Εικ. 37), στοιχεία που οδηγούν στο συμπέρασμα ότι το σχήμα και η ελαστικότητα των ερυθροκυττάρων επηρεάζονται αναστρέψιμα κατά τη διάρκεια της νόσου (Recktenwald et al., 2022). Αυτό θα μπορούσε ενδεχομένως να λειτουργήσει ως βιοδείκτης παρακολούθησης της κατάστασης των ασθενών, αν και χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση.

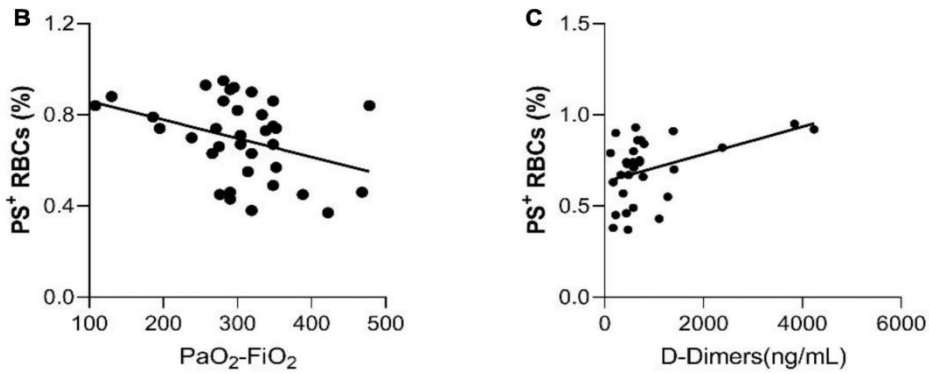


Εικόνα 35. Ποσοστά RBCs στο αίμα των τεσσάρων πειραματικών ομάδων: RBCs ελέγχου στο πλάσμα ελέγχου (CinC), RBCs ελέγχου στο πλάσμα ασθενούς (CinP), RBCs ασθενούς στο πλάσμα ελέγχου (PinC) και RBCs ασθενούς στο πλάσμα ασθενούς (PinP)[προσαρμογή από (Recktenwald et al., 2022)]



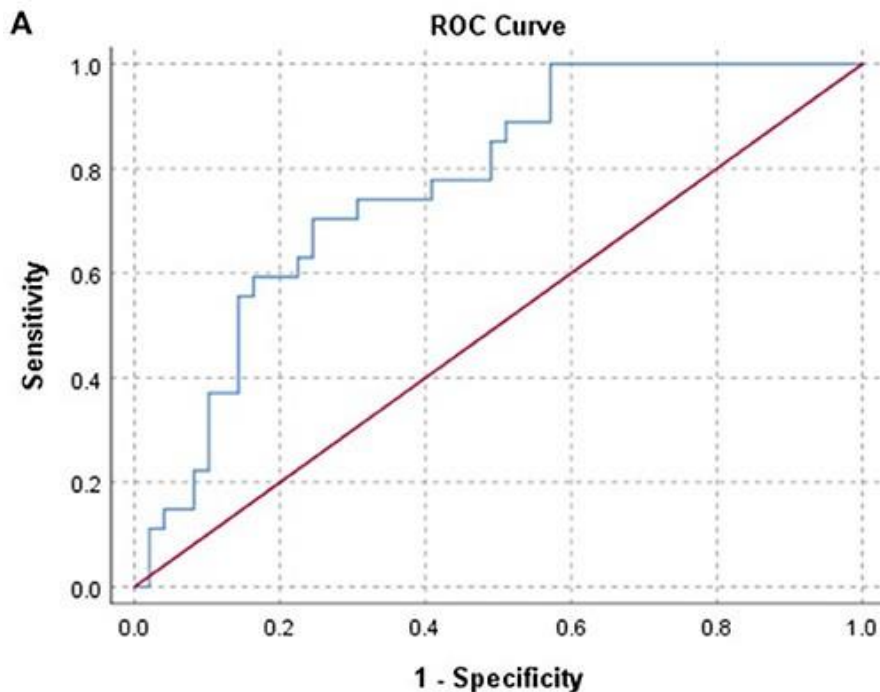
Εικόνα 37. Σχηματική απεικόνιση της μελέτης των Recktenwald et al. και των μεταβολών που παρατηρήθηκαν στα RBCs κατά τη διάρκεια αυτής (Recktenwald et al., 2022).

Ένα ακόμη σημαντικό εύρημα των ερευνητών είναι ότι οι δείκτες γήρανσης των ερυθροκυττάρων σχετίζονται με τη σοβαρότητα της νόσου (Bouchla et al., 2021), το οποίο μπορεί να αποτελέσει έναν ακόμη προγνωστικό βιοδείκτη. Πιο συγκεκριμένα, η έρευνα των Bouchla et al. προτείνει ότι ο ιός προκαλεί οξειδωτικό στρες στα RBC, αυξάνει το ενδοκυτταρικό Ca^{2+} και την ευθραυστότητα των κυττάρων στο μηχανικό στρες. Η αύξηση των ενδοκυτταρικών επιπέδων Ca^{2+} προκαλεί τη μετατόπιση της μεμβρανικής φωσφατιδυλοσερίνης στον εξωτερικό χώρο της μεμβράνης των RBC, με αποτέλεσμα το ποσοστό των ερυθρών αιμοσφαιρίων που εκθέτουν PS να αυξηθεί σημαντικά στους ασθενείς σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Ταυτόχρονα, βρέθηκε ότι υπάρχει συσχέτιση των PS(+) RBCs με την αναλογία PO_2 / FiO_2 , δείκτη πνευμονικής λειτουργίας και με τις τιμές D-Dimers, δείκτη θρόμβωσης, ασθενών με COVID-19 (Bouchla et al., 2021).



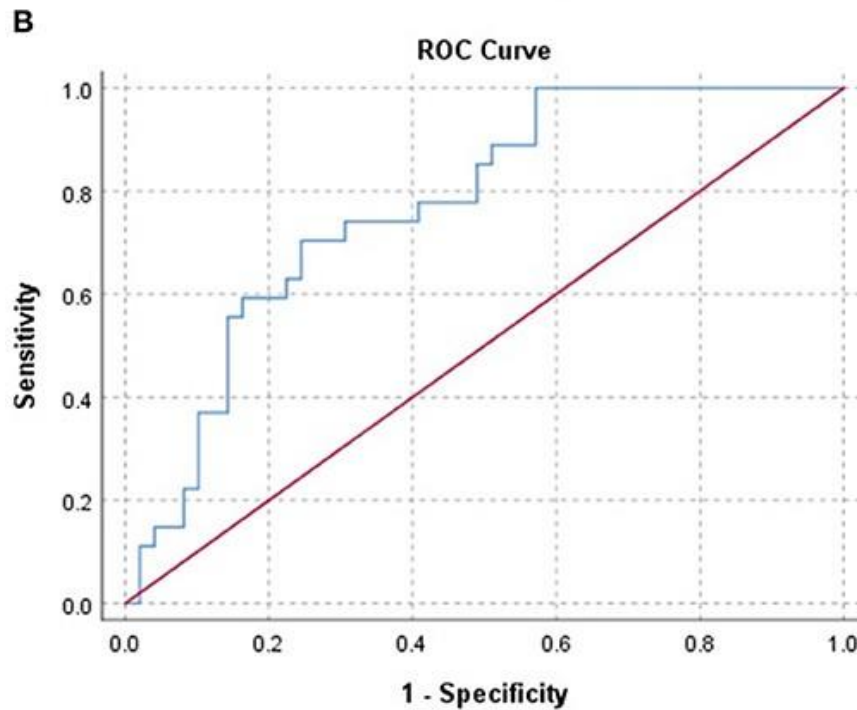
Εικόνα 38. Συσχέτιση ποσοστού PS(+) RBCs με αναλογία PO_2/FiO_2 (B) και τιμών D-Dimers (C)
[προσαρμογή από (Bouchla et al., 2021)]

Ακόμη μια παράμετρος που μπορεί να χρησιμεύσει ως προγνωστικός βιοδείκτης και στην περίπτωση της νόσου COVID-19 είναι το RDW. Οι ασθενείς με COVID-19 με αυξημένες τιμές RDW είχαν υψηλότερη συχνότητα ενδονοσοκομειακής θνησιμότητας σε σύγκριση με εκείνους με φυσιολογικές τιμές αίματος (Ramachandran et al., 2021). Υπολογίζεται ότι η αύξηση του RDW αυξάνει τις πιθανότητες επιδείνωσης της νόσου κατά περίπου 9 φορές και είναι 16 φορές πιο πιθανό αυτοί οι ασθενείς να παρουσιάσουν σοβαρή οξεία νεφρική βλάβη, στοιχεία που μας οδηγούν στο συμπέρασμα ότι το RDW μπορεί να ερμηνευτεί ως δείκτης τόσο της σοβαρότητας της νόσου όσο και της νεφρικής βλάβης σε ασθενείς με SARS-CoV-2 (Russo et al., 2022).



Εικόνα 39. Διάγραμμα τιμών RDW ασθενών με COVID-19 σε σχέση με τη θνησιμότητα (Ramachandran et al., 2021)

Συσχέτιση έχει βρεθεί, επίσης, μεταξύ των τιμών RDW και της εμφάνισης σηπτικού σοκ στους νοσούντες. Η συχνότητα εμφάνισης σοκ ήταν υψηλότερη στην ομάδα με αυξημένο RDW σε σύγκριση με ασθενείς με φυσιολογικές τιμές. Το αυξημένο RDW συσχετίστηκε με 4,6 φορές υψηλότερες πιθανότητες εμφάνισης σοκ (Ramachandran et al., 2021).



Εικόνα 40. Διάγραμμα συσχέτισης τιμών RDW με τη συχνότητα εμφάνισης σηπτικού σοκ στους ασθενείς με COVID-19 (Ramachandran et al., 2021).

Συμπέρασμα

Τα τελευταία χρόνια, η ραγδαία εξέλιξη των ομικών τεχνολογιών είναι αυτό που κυρίως έχει βοηθήσει τους επιστήμονες να εμβαθύνουν στη δομή και τη λειτουργία των ερυθροκυττάρων. Οι αυξημένες ανάγκες για εξατομικευμένη θεραπεία με όσο το δυνατόν λιγότερες παρενέργειες, καθώς και για πρώιμη διάγνωση και έγκαιρη αντιμετώπιση των ασθενειών, κάνει την ανακάλυψη νέων βιοδεικτών όλο και πιο επιτακτική. Η παρούσα ανασκόπηση αποδεικνύει ότι ο ρόλος των RBCs είναι πολυδιάστατος, καθώς δεν χρησιμεύουν απλά και μόνο στην ανταλλαγή αερίων, αλλά μπορούν να καθρεφτίζουν την κατάσταση της υγείας και ευημερίας ολόκληρου του οργανισμού, καθώς έρχονται σε επαφή με όλους τους ιστούς. Αναλογιζόμενοι το γεγονός ότι το αίμα είναι από τα πιο εύκολα προσβάσιμα βιολογικά υγρά, αποτελεί μεγάλο επίτευγμα της επιστήμης να στηριχτεί μια πρώιμη διάγνωση, αλλά και μια πρόβλεψη της βαρύτητας της νόσου και της γενικότερης κατάστασης του ασθενούς, σε μια απλή αιμοληψία. Αυτό μας οδηγεί στο συμπέρασμα, ότι η χρήση των χαρακτηριστικών των ερυθροκυττάρων σε συνδυασμό με τα στοιχεία που μας παρέχουν οι βιοδείκτες ορού/πλάσματος, μπορούν να ενισχύσουν τη διαγνωστική ευαισθησία και ειδικότητα, αλλά και την αξία των βιοδεικτών ως γενική έννοια στην κλινική πράξη.

Αναφορές

- Abd Elhadi, S., Grigoletto, J., Poli, M., Arosio, P., Arkadir, D., & Sharon, R. (2019). alpha-Synuclein in blood cells differentiates Parkinson's disease from healthy controls. *Ann Clin Transl Neurol*, *6*(12), 2426-2436. doi:10.1002/acn3.50944
- Amezaga, J., Arranz, S., Urruticoechea, A., Ugartemendia, G., Larraioz, A., Louka, M., . . . Tueros, I. (2018). Altered Red Blood Cell Membrane Fatty Acid Profile in Cancer Patients. *Nutrients*, *10*(12). doi:10.3390/nu10121853
- Anastasiadi, A. T., Arvaniti, V. Z., Hudson, K. E., Kriebardis, A. G., Stathopoulos, C., D'Alessandro, A., . . . Tzounakas, V. L. (2024). Exploring unconventional attributes of red blood cells and their potential applications in biomedicine. *Protein Cell*, *15*(5), 315-330. doi:10.1093/procel/pwae001
- Andolfo, I., Russo, R., Gambale, A., & Iolascon, A. (2016). New insights on hereditary erythrocyte membrane defects. *Haematologica*, *101*(11), 1284-1294. doi:10.3324/haematol.2016.142463
- Arora, S., Isenberg, D. A., & Castrejon, I. (2020). Measures of Adult Systemic Lupus Erythematosus: Disease Activity and Damage. *Arthritis Care Res (Hoboken)*, *72* Suppl 10, 27-46. doi:10.1002/acr.24221
- Barbour, R., Kling, K., Anderson, J. P., Banducci, K., Cole, T., Diep, L., . . . Chilcote, T. J. (2008). Red blood cells are the major source of alpha-synuclein in blood. *Neurodegener Dis*, *5*(2), 55-59. doi:10.1159/000112832
- Barshtein, G., Goldschmidt, N., Pries, A. R., Zelig, O., Arbell, D., & Yedgar, S. (2017). Deformability of transfused red blood cells is a potent effector of transfusion-induced hemoglobin increment: A study with beta-thalassemia major patients. *Am J Hematol*, *92*(9), E559-E560. doi:10.1002/ajh.24821
- Barshtein, G., Pajic-Lijakovic, I., & Gural, A. (2021). Deformability of Stored Red Blood Cells. *Front Physiol*, *12*, 722896. doi:10.3389/fphys.2021.722896
- Barshtein, G., Pries, A. R., Goldschmidt, N., Zukerman, A., Orbach, A., Zelig, O., . . . Yedgar, S. (2016). Deformability of transfused red blood cells is a potent determinant of transfusion-induced change in recipient's blood flow. *Microcirculation*, *23*(7), 479-486. doi:10.1111/micc.12296
- Beitz, J. M. (2014). Parkinson's disease: a review. *Front Biosci (Schol Ed)*, *6*(1), 65-74. doi:10.2741/s415
- Bouchla, A., Kriebardis, A. G., Georgatzakou, H. T., Fortis, S. P., Thomopoulos, T. P., Lekkakou, L., . . . Valsami, S. (2021). Red Blood Cell Abnormalities as the Mirror of SARS-CoV-2 Disease Severity: A Pilot Study. *Front Physiol*, *12*, 825055. doi:10.3389/fphys.2021.825055
- Burre, J. (2015). The Synaptic Function of alpha-Synuclein. *J Parkinsons Dis*, *5*(4), 699-713. doi:10.3233/JPD-150642
- Buys, A. V., Van Rooy, M. J., Soma, P., Van Papendorp, D., Lipinski, B., & Pretorius, E. (2013). Changes in red blood cell membrane structure in type 2 diabetes: a scanning electron and atomic force microscopy study. *Cardiovasc Diabetol*, *12*, 25. doi:10.1186/1475-2840-12-25
- Caielli, S., Cardenas, J., de Jesus, A. A., Baisch, J., Walters, L., Blanck, J. P., . . . Pascual, V. (2021). Erythroid mitochondrial retention triggers myeloid-dependent type I interferon in human SLE. *Cell*, *184*(17), 4464-4479 e4419. doi:10.1016/j.cell.2021.07.021

- Chmatalova, Z., Vyhnaek, M., Laczó, J., Hort, J., & Skoumalova, A. (2016). Analysis of lipophilic fluorescent products in blood of Alzheimer's disease patients. *J Cell Mol Med*, *20*(7), 1367-1372. doi:10.1111/jcmm.12824
- Compston, A., & Coles, A. (2008). Multiple sclerosis. *Lancet*, *372*(9648), 1502-1517. doi:10.1016/S0140-6736(08)61620-7
- Corrons, J. L. V., Casafont, L. B., & Frasnado, E. F. (2021). Concise review: how do red blood cells born, live, and die? *Ann Hematol*, *100*(10), 2425-2433. doi:10.1007/s00277-021-04575-z
- Coviello, G., Tutino, V., Notarnicola, M., & Caruso, M. G. (2014). Erythrocyte membrane fatty acids profile in colorectal cancer patients: a preliminary study. *Anticancer Res*, *34*(9), 4775-4779.
- Crellin, R. F., Bottiglieri, T., & Reynolds, E. H. (1990). Multiple sclerosis and macrocytosis. *Acta Neurol Scand*, *81*(5), 388-391. doi:10.1111/j.1600-0404.1990.tb00981.x
- Danise, P., Amendola, G., Di Concilio, R., Cillari, E., Gioia, M., Di Palma, A., . . . Maggio, A. (2009). Nucleated red blood cells and soluble transferrin receptor in thalassemia syndromes: relationship with global and ineffective erythropoiesis. *Clin Chem Lab Med*, *47*(12), 1539-1542. doi:10.1515/CCLM.2009.340
- de Castro, J., Rodriguez, M. C., Martinez-Zorzano, V. S., Sanchez-Rodriguez, P., & Sanchez-Yague, J. (2014). Erythrocyte fatty acids as potential biomarkers in the diagnosis of advanced lung adenocarcinoma, lung squamous cell carcinoma, and small cell lung cancer. *Am J Clin Pathol*, *142*(1), 111-120. doi:10.1309/AJCP1QUQQLLT8BLI
- De Souza Goncalves, B., Toledo, M. M., Colodette, N. M., Chaves, A. L. F., Muniz, L. V., Ribeiro, R., . . . de Lima Santos, H. (2020). Evaluation of the Erythrocyte Membrane in Head and Neck Cancer Patients. *J Membr Biol*, *253*(6), 617-629. doi:10.1007/s00232-020-00147-w
- Dekker, E., Tanis, P. J., Vleugels, J. L. A., Kasi, P. M., & Wallace, M. B. (2019). Colorectal cancer. *Lancet*, *394*(10207), 1467-1480. doi:10.1016/S0140-6736(19)32319-0
- Esperiti, S., Nader, E., Stier, A., Boisson, C., Carin, R., Marano, M., . . . Connes, P. (2023). Increased retention of functional mitochondria in mature sickle red blood cells is associated with increased sickling tendency, hemolysis and oxidative stress. *Haematologica*, *108*(11), 3086-3094. doi:10.3324/haematol.2023.282684
- Ferlay, J., Soerjomataram, I., Dikshit, R., Eser, S., Mathers, C., Rebelo, M., . . . Bray, F. (2015). Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer*, *136*(5), E359-386. doi:10.1002/ijc.29210
- Giannaki, A., Georgatzakou, H., Fortis, S. P., Anastasiadi, A. T., Pavlou, E. G., Nomikou, E. G., . . . Kriebardis, A. G. (2023). Stratification of beta(S)beta(+) Compound Heterozygotes Based on L-Glutamine Administration and RDW: Focusing on Disease Severity. *Antioxidants (Basel)*, *12*(11). doi:10.3390/antiox12111982
- Groen, K., Maltby, V. E., Sanders, K. A., Scott, R. J., Tajouri, L., & Lechner-Scott, J. (2016). Erythrocytes in multiple sclerosis - forgotten contributors to the pathophysiology? *Mult Scler J Exp Transl Clin*, *2*, 2055217316649981. doi:10.1177/2055217316649981
- Hanahan, D. (2022). Hallmarks of Cancer: New Dimensions. *Cancer Discov*, *12*(1), 31-46. doi:10.1158/2159-8290.CD-21-1059
- Helwa, R., Heller, A., Knappskog, S., & Bauer, A. S. (2017). Tumor cells interact with red blood cells via galectin-4 - a short report. *Cell Oncol (Dordr)*, *40*(4), 401-409. doi:10.1007/s13402-017-0317-9

- Hotz, M. J., Qing, D., Shashaty, M. G. S., Zhang, P., Faust, H., Sondheimer, N., . . . Mangalmurti, N. S. (2018). Red Blood Cells Homeostatically Bind Mitochondrial DNA through TLR9 to Maintain Quiescence and to Prevent Lung Injury. *Am J Respir Crit Care Med*, *197*(4), 470-480. doi:10.1164/rccm.201706-1161OC
- Hu, L., Li, M., Ding, Y., Pu, L., Liu, J., Xie, J., . . . Xiong, S. (2017). Prognostic value of RDW in cancers: a systematic review and meta-analysis. *Oncotarget*, *8*(9), 16027-16035. doi:10.18632/oncotarget.13784
- Hu, Z. D., Chen, Y., Zhang, L., Sun, Y., Huang, Y. L., Wang, Q. Q., . . . Deng, A. M. (2013). Red blood cell distribution width is a potential index to assess the disease activity of systemic lupus erythematosus. *Clin Chim Acta*, *425*, 202-205. doi:10.1016/j.cca.2013.08.007
- Inglese, M. (2006). Multiple sclerosis: new insights and trends. *AJNR Am J Neuroradiol*, *27*(5), 954-957.
- Jagadeeswaran, R., Vazquez, B. A., Thirupathi, M., Ganesh, B. B., Ibanez, V., Cui, S., . . . Rivers, A. (2017). Pharmacological inhibition of LSD1 and mTOR reduces mitochondrial retention and associated ROS levels in the red blood cells of sickle cell disease. *Exp Hematol*, *50*, 46-52. doi:10.1016/j.exphem.2017.02.003
- Kaczmarek, J., Thieleman, A., Kopczynski, Z., Goslar, J., Hoffmann, S. K., & Rybczynska, M. (2002). Alterations in skeletal protein, distribution of PKC α , and level of phospholipids in erythrocyte membranes of women with primary breast cancer. *Blood Cells Mol Dis*, *29*(2), 225-235. doi:10.1006/bcmd.2002.0562
- Kalia, L. V., & Lang, A. E. (2015). Parkinson's disease. *Lancet*, *386*(9996), 896-912. doi:10.1016/S0140-6736(14)61393-3
- Kao, A. H., Navratil, J. S., Ruffing, M. J., Liu, C. C., Hawkins, D., McKinnon, K. M., . . . Manzi, S. (2010). Erythrocyte C3d and C4d for monitoring disease activity in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*, *62*(3), 837-844. doi:10.1002/art.27267
- Karakukcu, M., Karakukcu, C., Unal, E., Ozturk, A., Ciraci, Z., Patiroglu, T., & Ozdemir, M. A. (2015). The Importance of Nucleated Red Blood Cells in Patients with Beta Thalassemia Major and Comparison of Two Automated Systems with Manual Microscopy and Flow Cytometry. *Clin Lab*, *61*(9), 1289-1295. doi:10.7754/clin.lab.2015.141250
- Kattamis, A., Kwiatkowski, J. L., & Aydinok, Y. (2022). Thalassaemia. *Lancet*, *399*(10343), 2310-2324. doi:10.1016/S0140-6736(22)00536-0
- Katz Sand, I. (2015). Classification, diagnosis, and differential diagnosis of multiple sclerosis. *Curr Opin Neurol*, *28*(3), 193-205. doi:10.1097/WCO.0000000000000206
- Kavai, M. (2008). Immune complex clearance by complement receptor type 1 in SLE. *Autoimmun Rev*, *8*(2), 160-164. doi:10.1016/j.autrev.2008.06.002
- Kaynar, H., Meral, M., Turhan, H., Keles, M., Celik, G., & Akcay, F. (2005). Glutathione peroxidase, glutathione-S-transferase, catalase, xanthine oxidase, Cu-Zn superoxide dismutase activities, total glutathione, nitric oxide, and malondialdehyde levels in erythrocytes of patients with small cell and non-small cell lung cancer. *Cancer Lett*, *227*(2), 133-139. doi:10.1016/j.canlet.2004.12.005
- Kenangil, G., Ari, B. C., Kaya, F. A., Demir, M., & Domac, F. M. (2020). Red cell distribution width levels in Parkinson's disease patients. *Acta Neurol Belg*, *120*(5), 1147-1150. doi:10.1007/s13760-019-01197-1
- Koma, Y., Onishi, A., Matsuoka, H., Oda, N., Yokota, N., Matsumoto, Y., . . . Suzuki, Y. (2013). Increased red blood cell distribution width associates with cancer stage

- and prognosis in patients with lung cancer. *PLoS One*, 8(11), e80240. doi:10.1371/journal.pone.0080240
- Kuypers, F. A., Yuan, J., Lewis, R. A., Snyder, L. M., Kiefer, C. R., Bunyaratvej, A., . . . Schrier, S. L. (1998). Membrane phospholipid asymmetry in human thalassemia. *Blood*, 91(8), 3044-3051.
- Lan, J., Liu, J., Zhao, Z., Xue, R., Zhang, N., Zhang, P., . . . Sun, X. (2015). The peripheral blood of Abeta binding RBC as a biomarker for diagnosis of Alzheimer's disease. *Age Ageing*, 44(3), 458-464. doi:10.1093/ageing/afv009
- Liang, N., Jiao, Z., Zhang, C., Wu, Y., Wang, T., Li, S., . . . Chen, Q. (2023). Mature Red Blood Cells Contain Long DNA Fragments and Could Acquire DNA from Lung Cancer Tissue. *Adv Sci (Weinh)*, 10(7), e2206361. doi:10.1002/advs.202206361
- Liu, C. C., Manzi, S., Kao, A. H., Navratil, J. S., Ruffing, M. J., & Ahearn, J. M. (2005). Reticulocytes bearing C4d as biomarkers of disease activity for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*, 52(10), 3087-3099. doi:10.1002/art.21305
- Liumbruno, G., D'Alessandro, A., Grazzini, G., & Zolla, L. (2010). Blood-related proteomics. *J Proteomics*, 73(3), 483-507. doi:10.1016/j.jprot.2009.06.010
- Ljubisavljevic, S., Stojanovic, I., Cvetkovic, T., Vojinovic, S., Stojanov, D., Stojanovic, D., . . . Pavlovic, D. (2014). Erythrocytes' antioxidative capacity as a potential marker of oxidative stress intensity in neuroinflammation. *J Neurol Sci*, 337(1-2), 8-13. doi:10.1016/j.jns.2013.11.006
- Ma, C., Wang, X., & Zhao, R. (2019). Associations of lymphocyte percentage and red blood cell distribution width with risk of lung cancer. *J Int Med Res*, 47(7), 3099-3108. doi:10.1177/0300060519850417
- Manzi, S., Navratil, J. S., Ruffing, M. J., Liu, C. C., Danchenko, N., Nilson, S. E., . . . Ahearn, J. M. (2004). Measurement of erythrocyte C4d and complement receptor 1 in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*, 50(11), 3596-3604. doi:10.1002/art.20561
- Marzocchi-Machado, C. M., Alves, C. M., Azzolini, A. E., Polizello, A. C., Carvalho, I. F., & Lucisano-Valim, Y. M. (2005). CR1 on erythrocytes of Brazilian systemic lupus erythematosus patients: the influence of disease activity on expression and ability of this receptor to bind immune complexes opsonized with complement from normal human serum. *J Autoimmun*, 25(4), 289-297. doi:10.1016/j.jaut.2005.06.004
- Massaccesi, L., Galliera, E., & Corsi Romanelli, M. M. (2020). Erythrocytes as markers of oxidative stress related pathologies. *Mech Ageing Dev*, 191, 111333. doi:10.1016/j.mad.2020.111333
- Matyska-Piekarska, E., Luszczewski, A., Lacki, J., & Wawer, I. (2006). [The role of oxidative stress in the etiopathogenesis of rheumatoid arthritis]. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*, 60, 617-623.
- Miller, E., Walczak, A., Majsterek, I., & Kedziora, J. (2013). Melatonin reduces oxidative stress in the erythrocytes of multiple sclerosis patients with secondary progressive clinical course. *J Neuroimmunol*, 257(1-2), 97-101. doi:10.1016/j.jneuroim.2013.02.012
- Moriconi, C., Dzieciatkowska, M., Roy, M., D'Alessandro, A., Roingeard, P., Lee, J. Y., . . . Hudson, K. E. (2022). Retention of functional mitochondria in mature red blood cells from patients with sickle cell disease. *Br J Haematol*, 198(3), 574-586. doi:10.1111/bjh.18287

- Nemkov, T., Reisz, J. A., Xia, Y., Zimring, J. C., & D'Alessandro, A. (2018). Red blood cells as an organ? How deep omics characterization of the most abundant cell in the human body highlights other systemic metabolic functions beyond oxygen transport. *Expert Review of Proteomics*, *15*(11), 855-864. doi:10.1080/14789450.2018.1531710
- Nirmalraj, P. N., Schneider, T., & Felbecker, A. (2021). Spatial organization of protein aggregates on red blood cells as physical biomarkers of Alzheimer's disease pathology. *Sci Adv*, *7*(39), eabj2137. doi:10.1126/sciadv.abj2137
- Olumuyiwa-Akeredolu, O. O., & Pretorius, E. (2015). Platelet and red blood cell interactions and their role in rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int*, *35*(12), 1955-1964. doi:10.1007/s00296-015-3300-7
- Olumuyiwa-Akeredolu, O. O., Soma, P., Buys, A. V., Debusho, L. K., & Pretorius, E. (2017). Characterizing pathology in erythrocytes using morphological and biophysical membrane properties: Relation to impaired hemorheology and cardiovascular function in rheumatoid arthritis. *Biochim Biophys Acta Biomembr*, *1859*(12), 2381-2391. doi:10.1016/j.bbmem.2017.09.014
- Ozturk, Z. A., Unal, A., Yigiter, R., Yesil, Y., Kuyumcu, M. E., Neyal, M., & Kepekci, Y. (2013). Is increased red cell distribution width (RDW) indicating the inflammation in Alzheimer's disease (AD)? *Arch Gerontol Geriatr*, *56*(1), 50-54. doi:10.1016/j.archger.2012.10.002
- Pala, V., Krogh, V., Muti, P., Chajes, V., Riboli, E., Micheli, A., . . . Berrino, F. (2001). Erythrocyte membrane fatty acids and subsequent breast cancer: a prospective Italian study. *J Natl Cancer Inst*, *93*(14), 1088-1095. doi:10.1093/jnci/93.14.1088
- Pasini, E. M., Lutz, H. U., Mann, M., & Thomas, A. W. (2010). Red blood cell (RBC) membrane proteomics--Part II: Comparative proteomics and RBC pathophysiology. *J Proteomics*, *73*(3), 421-435. doi:10.1016/j.jprot.2009.07.004
- Pasini, E. M., Mann, M., & Thomas, A. W. (2010). Red blood cell proteomics. *Transfus Clin Biol*, *17*(3), 151-164. doi:10.1016/j.tracli.2010.05.010
- Patrick, R. P. (2019). Role of phosphatidylcholine-DHA in preventing APOE4-associated Alzheimer's disease. *FASEB J*, *33*(2), 1554-1564. doi:10.1096/fj.201801412R
- Paules, C. I., Marston, H. D., & Fauci, A. S. (2020). Coronavirus Infections--More Than Just the Common Cold. *JAMA*, *323*(8), 707-708. doi:10.1001/jama.2020.0757
- Peng, Y. F., Cao, W. Y., Zhang, Q., Chen, D., & Zhang, Z. X. (2015). Assessment of the Relationship Between Red Cell Distribution Width and Multiple Sclerosis. *Medicine (Baltimore)*, *94*(29), e1182. doi:10.1097/MD.0000000000001182
- Pereira-Veiga, T., Bravo, S., Gomez-Tato, A., Yanez-Gomez, C., Abuin, C., Varela, V., . . . Costa, C. (2022). Red Blood Cells Protein Profile Is Modified in Breast Cancer Patients. *Mol Cell Proteomics*, *21*(12), 100435. doi:10.1016/j.mcpro.2022.100435
- Piccarducci, R., Pietrobono, D., Pellegrini, C., Daniele, S., Fornai, M., Antonioli, L., . . . Martini, C. (2019). High Levels of beta-Amyloid, Tau, and Phospho-Tau in Red Blood Cells as Biomarkers of Neuropathology in Senescence-Accelerated Mouse. *Oxid Med Cell Longev*, *2019*, 5030475. doi:10.1155/2019/5030475
- Pikora, K., Kretowska-Grunwald, A., Krawczuk-Rybak, M., & Sawicka-Zukowska, M. (2023). Diagnostic Value and Prognostic Significance of Nucleated Red Blood Cells (NRBCs) in Selected Medical Conditions. *Cells*, *12*(14). doi:10.3390/cells12141817
- Pluta, R., Ulamek-Kozioł, M., Januszewski, S., & Czuczwar, S. J. (2018). Platelets, lymphocytes and erythrocytes from Alzheimer's disease patients: the quest for

- blood cell-based biomarkers. *Folia Neuropathol*, 56(1), 14-20. doi:10.5114/fn.2018.74655
- Polidoro, G., Di Ilio, C., Arduini, A., La Rovere, G., & Federici, G. (1984). Superoxide dismutase, reduced glutathione and TBA-reactive products in erythrocytes of patients with multiple sclerosis. *Int J Biochem*, 16(5), 505-509. doi:10.1016/0020-711x(84)90167-8
- Pretini, V., Koenen, M. H., Kaestner, L., Fens, M., Schiffelers, R. M., Bartels, M., & Van Wijk, R. (2019). Red Blood Cells: Chasing Interactions. *Front Physiol*, 10, 945. doi:10.3389/fphys.2019.00945
- Pretorius, E., Olumuyiwa-Akeredolu, O. O., Mbotwe, S., & Bester, J. (2016). Erythrocytes and their role as health indicator: Using structure in a patient-orientated precision medicine approach. *Blood Rev*, 30(4), 263-274. doi:10.1016/j.blre.2016.01.001
- Pretorius, E., Swanepoel, A. C., Buys, A. V., Vermeulen, N., Duim, W., & Kell, D. B. (2014). Eryptosis as a marker of Parkinson's disease. *Aging (Albany NY)*, 6(10), 788-819. doi:10.18632/aging.100695
- Prineas, J. (1968). Red blood cell size in multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand*, 44(1), 81-90. doi:10.1111/j.1600-0404.1968.tb07445.x
- Querfurth, H. W., & LaFerla, F. M. (2010). Alzheimer's disease. *N Engl J Med*, 362(4), 329-344. doi:10.1056/NEJMra0909142
- Ramachandran, P., Gajendran, M., Perisetti, A., Elkholy, K. O., Chakraborti, A., Lippi, G., & Goyal, H. (2021). Red Blood Cell Distribution Width in Hospitalized COVID-19 Patients. *Front Med (Lausanne)*, 8, 582403. doi:10.3389/fmed.2021.582403
- Ravi, L. B., Poosala, S., Ahn, D., Chrest, F. J., Spangler, E. L., Jayakumar, R., . . . Rifkind, J. M. (2005). Red cell interactions with amyloid-beta(1-40) fibrils in a murine model. *Neurobiol Dis*, 19(1-2), 28-37. doi:10.1016/j.nbd.2004.11.004
- Recktenwald, S. M., Simionato, G., Lopes, M. G. M., Gamboni, F., Dzieciatkowska, M., Meybohm, P., . . . Quint, S. (2022). Cross-talk between red blood cells and plasma influences blood flow and omics phenotypes in severe COVID-19. *Elife*, 11. doi:10.7554/eLife.81316
- Russo, A., Tellone, E., Barreca, D., Ficarra, S., & Lagana, G. (2022). Implication of COVID-19 on Erythrocytes Functionality: Red Blood Cell Biochemical Implications and Morpho-Functional Aspects. *Int J Mol Sci*, 23(4). doi:10.3390/ijms23042171
- Sae-Lee, W., McCafferty, C. L., Verbeke, E. J., Havugimana, P. C., Papoulas, O., McWhite, C. D., . . . Marcotte, E. M. (2022). The protein organization of a red blood cell. *Cell Rep*, 40(3), 111103. doi:10.1016/j.celrep.2022.111103
- Sala-Vila, A., Satizabal, C. L., Tintle, N., Melo van Lent, D., Vasan, R. S., Beiser, A. S., . . . Harris, W. S. (2022). Red Blood Cell DHA Is Inversely Associated with Risk of Incident Alzheimer's Disease and All-Cause Dementia: Framingham Offspring Study. *Nutrients*, 14(12). doi:10.3390/nu14122408
- Sangokoya, C., Telen, M. J., & Chi, J. T. (2010). microRNA miR-144 modulates oxidative stress tolerance and associates with anemia severity in sickle cell disease. *Blood*, 116(20), 4338-4348. doi:10.1182/blood-2009-04-214817
- Scott, D. L., Wolfe, F., & Huizinga, T. W. (2010). Rheumatoid arthritis. *Lancet*, 376(9746), 1094-1108. doi:10.1016/S0140-6736(10)60826-4
- Seretis, C., Seretis, F., Lagoudianakis, E., Gemenetzi, G., & Salemis, N. S. (2013). Is red cell distribution width a novel biomarker of breast cancer activity? Data from a pilot study. *J Clin Med Res*, 5(2), 121-126. doi:10.4021/jocmr1214w

- Shafei, N., Hakhamaneshi, M. S., Houshmand, M., Gerayeshnejad, S., Fathi, F., & Sharifzadeh, S. (2019). Diagnostic Value of Non-Invasive Prenatal Screening of beta-thalassemia by Cell Free Fetal DNA and Fetal NRBC. *Curr Mol Med*, *19*(2), 105-111. doi:10.2174/1566524019666190226124135
- Siegel, R. L., Miller, K. D., & Jemal, A. (2018). Cancer statistics, 2018. *CA Cancer J Clin*, *68*(1), 7-30. doi:10.3322/caac.21442
- Song, Y., Huang, Z., Kang, Y., Lin, Z., Lu, P., Lin, Q., . . . Zhu, X. (2018). Clinical Usefulness and Prognostic Value of Red Cell Distribution Width in Colorectal Cancer. *Biomed Res Int*, *2018*, 9858943. doi:10.1155/2018/9858943
- Stachon, A., Segbers, E., Holland-Letz, T., Kempf, R., Hering, S., & Krieg, M. (2007). Nucleated red blood cells in the blood of medical intensive care patients indicate increased mortality risk: a prospective cohort study. *Crit Care*, *11*(3), R62. doi:10.1186/cc5932
- Staron, A., Makosa, G., & Koter-Michalak, M. (2012). Oxidative stress in erythrocytes from patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int*, *32*(2), 331-334. doi:10.1007/s00296-010-1611-2
- Sun, L., Yu, Y., Niu, B., & Wang, D. (2020). Red Blood Cells as Potential Repositories of MicroRNAs in the Circulatory System. *Front Genet*, *11*, 442. doi:10.3389/fgene.2020.00442
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin*, *71*(3), 209-249. doi:10.3322/caac.21660
- Tian, C., Liu, G., Gao, L., Soltys, D., Pan, C., Stewart, T., . . . Zhang, J. (2019). Erythrocytic alpha-Synuclein as a potential biomarker for Parkinson's disease. *Transl Neurodegener*, *8*, 15. doi:10.1186/s40035-019-0155-y
- Tumburu, L., Ghosh-Choudhary, S., Seifuddin, F. T., Barbu, E. A., Yang, S., Ahmad, M. M., . . . Thein, S. L. (2021). Circulating mitochondrial DNA is a proinflammatory DAMP in sickle cell disease. *Blood*, *137*(22), 3116-3126. doi:10.1182/blood.2020009063
- Vicente Miranda, H., Cassio, R., Correia-Guedes, L., Gomes, M. A., Chegao, A., Miranda, E., . . . Outeiro, T. F. (2017). Posttranslational modifications of blood-derived alpha-synuclein as biochemical markers for Parkinson's disease. *Sci Rep*, *7*(1), 13713. doi:10.1038/s41598-017-14175-5
- Walport, M. J. (2002). Complement and systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res*, *4 Suppl 3*(Suppl 3), S279-293. doi:10.1186/ar586
- Yang, D. H., Chang, D. M., Lai, J. H., Lin, F. H., & Chen, C. H. (2009). Usefulness of erythrocyte-bound C4d as a biomarker to predict disease activity in patients with systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)*, *48*(9), 1083-1087. doi:10.1093/rheumatology/kep161
- Yu, H., Nagafuchi, Y., & Fujio, K. (2021). Clinical and Immunological Biomarkers for Systemic Lupus Erythematosus. *Biomolecules*, *11*(7). doi:10.3390/biom11070928
- Zinellu, A., & Mangoni, A. A. (2022). Platelet and Red Blood Cell Volume Indices in Patients with Rheumatoid Arthritis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Diagnostics (Basel)*, *12*(11). doi:10.3390/diagnostics12112633
- Zwaal, R. F., & Schroit, A. J. (1997). Pathophysiological implications of membrane phospholipid asymmetry in blood cells. *Blood*, *89*(4), 1121-1132.