



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ & ΠΡΟΝΟΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΤΟΜΕΑΣ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΩΝ



ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΑΙΜΟΛΥΣΗ ΑΙΜΑΤΟΣ ΣΤΗΝ ΑΛΚΟΟΛΙΚΗ ΗΠΑΤΟΠΑΘΕΙΑ



ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ ΦΟΙΤΗΤΗ

Σκουλουφιάνακη Δήμητρα

ΑΜ: 20678284

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

Κριεμπάρδης Αναστάσιος, Καθηγητής Πα.Δ.Α

Αθήνα, 2024



UNIVERSITY OF WEST ATTICA

FACULTY OF HEALTH AND CARING PROFESSIONS

Department of Biomedical Sciences

SECTOR OF MEDICAL LABORATORIES



DIPLOMA THESIS

BLOOD HEMOLYSIS IN ALCOHOLIC LIVER DISEASE



NAME OF STUDENT

Skouloufianaki Dimitra

Candidate Number: 20678284

NAME OF SUPERVISOR

Kriebardis Anastasios, Professor Uniwa

Athens, 2024

**ΜΕΛΗ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ ΤΗΣ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ
ΕΡΓΑΣΙΑΣ**

<u>Όνοματεπώνυμο</u>	<u>Βαθίδα/ Ιδιότητα</u>	<u>Υπογραφή</u>
ΚΡΙΕΜΠΑΡΔΗΣ ΑΝΑΣΤΑΣΙΟΣ	Καθηγητής	
ΔΡΥΛΛΗΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ	Επίκουρος Καθηγητής	
ΦΟΡΤΗΣ ΣΩΤΗΡΙΟΣ	Ακαδημαϊκός Υπότροφος	

ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Η κάτωθι υπογεγραμμένη ΣΚΟΥΛΟΥΦΙΑΝΑΚΗ ΔΗΜΗΤΡΑ του ΕΜΜΑΝΟΥΗΛ, φοιτήτρια στη Σχολή Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας, στο Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών στην κατεύθυνση των Ιατρικών Εργαστηρίων, με αριθμό μητρώου 20678284, δηλώνω υπεύθυνα ότι:

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

Η Δηλούσα



Δήμητρα Σκουλουφιανάκη

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω την ειλικρινή μου εκτίμηση στον επιβλέποντα καθηγητή κ. Αναστάσιο Κριεμπάρδη για την καθοδήγηση, την υποστήριξη και τις πολύτιμες συμβουλές του καθ' όλη τη διάρκεια της έρευνάς μου, και στον κ. Σωτήριο Φόρτη, Ακαδημαϊκό Υπότροφο του τμήματος, για την σημαντική συμβολή του στην περάτωση της εργασίας μου.

Επίσης, ευχαριστώ τους συμφοιτητές μου Ιωάννα Μυλωνά και Χούσι Ντάβιντ, για τη βοήθειά τους και την υποστήριξη σε κάθε βήμα της διαδικασίας. Ευχαριστώ επίσης την Μάρα Κοσμά, υποψήφια Διδάκτορα του Τμήματος, για την βοήθεια που μας προσέφερε στην περάτωση των πειραμάτων.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους φίλους και την οικογένειά μου για την αμέριστη στήριξή τους καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών μου. Χωρίς την αγάπη και την υπομονή τους, τίποτα από αυτά δεν θα ήταν δυνατό.

Περίληψη

Το αλκοόλ επηρεάζει άμεσα τις λειτουργίες και την παραγωγή των ερυθροκυττάρων, των λευκοκυττάρων και των θρομβοκυττάρων. Επιδρά σημαντικά στα ώριμα ερυθροκύτταρα του μυελού των οστών, τα αιμοπετάλια, τις πρόδρομες ουσίες των αιμοσφαιρίων και τα λευκά αιμοσφαίρια. Προκαλεί δομικές και μεταβολικές ανωμαλίες στις κυτταρικές μεμβράνες των ερυθροκυττάρων (RBC) και συμβάλλει στη μειωμένη παραγωγή των ερυθρών αιμοσφαιρίων ή την παραγωγή ελαττωματικών RBC. Τα ελαττωματικά ερυθροκύτταρα οδηγούν σε αναιμία, αφού καταστρέφονται πρόωρα και εμφανίζουν συμπτώματα όπως κόπωση, ζαλάδα, δύσπνοια και μη φυσιολογικούς καρδιακούς παλμούς. Έχει παρατηρηθεί πως έπειτα από κατανάλωση μεγάλης ποσότητας αλκοόλ ο δείκτης επιμήκυνσης (EI) των ερυθρών αιμοσφαιρίων αυξάνεται, αναπτύσσεται υπέρταση και κατά συνέπεια του συνδυασμού αυτού μειώνεται η παραμορφωσιμότητα των RBC. Σε άλλη μελέτη, παρατηρήθηκε ενίσχυση της παραμορφωσιμότητας των ερυθροκυττάρων όταν αυτά εκτίθενται σε αιθανόλη, μικρές μεταβολές στον όγκο τους (στατιστικά ασήμαντες) και στην συγκέντρωση της αιμοσφαιρίνης (Hb). Επίσης, όταν τα ερυθρά αιμοσφαίρια εκτεθούν σε αιθανόλη αυξάνεται ο μέσος σωματιδιακός όγκος (MCV) τους και προκαλείται μακροκυτταρική αναιμία, ενώ η επίδραση της αιθανόλης στους ερυθροβλάστες εμφανίζεται με τη σιδηροβλαστική αναιμία. Με τη χρόνια κατανάλωση αλκοόλ καθίσταται αναπόφευκτη η ηπατική βλάβη, καθώς το ήπαρ αποτελεί το βασικό όργανο που μεταβολίζει το αλκοόλ και κινδυνεύει άμεσα από αυτό. Η αλκοολική ηπατική νόσος (ALD), που προκαλείται από το αλκοόλ αποτελεί την πιο κοινή ηπατική νόσο διεθνώς. Επιπλέον, το αλκοόλ είναι υπεύθυνο για την εμφάνιση οξειδωτικού στρες στον ανθρώπινο οργανισμό και για την αύξηση της ρευστότητας της κυτταρικής μεμβράνης των RBC που προκαλείται από αυτό.

Η παρούσα έρευνα πραγματοποιήθηκε με σκοπό την ποσοτική ανίχνευση αιμόλυσης στα ερυθρά αιμοσφαίρια ασθενών με αλκοολική ηπατοπάθεια σε σύγκριση με τα κύτταρα υγιών ανθρώπων. Για τον σκοπό αυτό μετρήθηκε η ελεύθερη αιμοσφαιρίνη πλάσματος των RBC, καθώς ελέγχθηκε και η αντοχή τους στις απότομες αλλαγές του περιβάλλοντος (θερμοκρασιακές αλλαγές) με τη διαδικασία της κρυοαιμόλυσης, προκειμένου να εντοπιστεί αν τα RBC που εκτίθενται χρόνια στο αλκοόλ παρουσιάζουν μεγαλύτερη ευαισθησία σε αυτές.

Λέξεις κλειδιά: αιμόλυση, ερυθροκύτταρα (RBC), αλκοόλ, επίδραση, ηπατοπάθεια

Abstract

Alcohol directly affects the functions and production of erythrocytes, leukocytes and platelets. It has a significant effect on mature erythrocytes of the bone marrow, platelets, precursors of blood cells and white blood cells. It causes structural and metabolic abnormalities in erythrocyte (RBC) cell membranes and contributes to reduced red blood cell production or the production of defective RBCs. Defective red blood cells lead to anemia, as they are destroyed prematurely and show symptoms such as fatigue, dizziness, shortness of breath and abnormal heartbeats. It has been observed that after consuming a large amount of alcohol the elongation index (EI) of red blood cells is a consequence, hypertension develops and against this combination the deformability of RBCs decreases. In another study, enhancement of erythrocyte deformation when exposed to ethanol, small changes in their volume (statistically insignificant) and hemoglobin (Hb) concentration were observed. Also, red blood cells are exposed to ethanol both when their mean particulate volume (MCV) and macroscopic anemia is induced, while the effect of ethanol on erythroblasts occurs with ferroblastic anemia. With chronic alcohol consumption, liver damage becomes inevitable, as the liver is the main organ that metabolizes alcohol and is directly at risk from it. Alcoholic liver disease (ALD), caused by alcohol, is the most common liver disease worldwide. In addition, alcohol is responsible for the occurrence of oxidative stress in the human body and the increase in RBC cell membrane fluidity caused by it.

The present research was carried out with purpose the quantitative detection of hemolysis in the red blood cells of patients with alcoholic liver disease in comparison with the cells of healthy people. For this purpose, the free plasma hemoglobin of the RBCs was measured, and their resistance to sudden changes in the environment (temperature changes) was also tested by the process of cryohemolysis, in order to identify if RBCs chronically exposed to alcohol are more sensitive to these process.

Key words: hemolysis, erythrocytes (RBC), alcohol, effect, liver disease

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Περίληψη.....	1
Abstract	2
A. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	9
1. Αίμα.....	9
1.1 Έμμορφα συστατικά του αίματος και η λειτουργία τους	9
1.2 Άμορφα συστατικά του αίματος και η λειτουργία τους	9
2. Ερυθρά Αιμοσφαίρια (Ερυθροκύτταρα, RBC)	10
2.1 Δομή των ερυθροκυττάρων	10
2.2 Παραγωγή των ερυθροκυττάρων (RBC).....	10
2.3 Λειτουργία των ερυθρών αιμοσφαιρίων.....	11
3. Ερυθροκυτταρική μεμβράνη	12
3.1 Ρόλος της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης	12
3.2 Συστατικά της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης.....	13
4. Κυτταροσκελετός.....	14
4.1 Πρωτεΐνες κυτταροσκελετού	15
4.2 Λειτουργίες του κυτταροσκελετικού δικτύου.....	15
5. Γήρανση ερυθρών αιμοσφαιρίων	16
6. Διαταραχές των ερυθρών αιμοσφαιρίων	17
7. Αιμόλυση RBC.....	17
8. Αλκοόλ – Η επίδρασή του στα RBCs	18
8.1 Επιπτώσεις της κατανάλωσης αλκοόλ στον μυελό των οστών και την παραγωγή RBC	19
8.2 Παράγοντες αιμόλυσης κατά τον μεταβολισμό της αιθανόλης.....	22
8.3 Επίδραση της κατανάλωσης αλκοόλ στα λιπίδια και τις λιποδιαλυτές βιταμίνες στο αίμα	25
8.4 Επίδρασεις αιθανόλης στη μορφολογία των RBC	25
8.5 Επίδρασεις αιθανόλης στις βιοχημικές ιδιότητες μεμονωμένων ερυθρών αιμοσφαιρίων.....	27
8.6 Επίδραση της αιθανόλης στην παραμορφωσιμότητα των RBC.....	29
9. Ήπαρ.....	30
9.1 Ανατομία ήπατος.....	31
9.2 Λειτουργίες των ηπατοκυττάρων	31
9.3 Αλκοολική ηπατική νόσος	32
9.4 Τα στάδια της αλκοολικής ηπατικής νόσου (ALD).....	32
9.5 Ανεξήγητα εργαστηριακά ευρήματα των ασθενών με ALD	34
9.6 Μεταβολισμός του αλκοόλ στο ήπαρ	34
9.7 Οξειδωτικό στρες στην ALD.....	35
B. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	36
1. Υλικά και Μέθοδοι	36
1.1 Όργανα και Συσκευές	36
1.2 Χημικά Αντιδραστήρια	36

1.3 Αναλώσιμα.....	37
2. Εργαστηριακές μέθοδοι.....	37
2.1 Ελεύθερη Hb πλάσματος.....	37
2.2 Κρυοαιμόλυση.....	38
2.3 Στατιστική επεξεργασία.....	39
Γ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	39
1. Αιματολογικό Προφίλ.....	39
2. Ελεύθερη Hb πλάσματος.....	40
3. Κρυοαιμόλυση.....	41
Δ. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	41
1. Αιματολογική εξέταση των δειγμάτων.....	41
2. Ελεύθερη Hb πλάσματος.....	42
3. Κρυοαιμόλυση.....	43
Βιβλιογραφία.....	43

Πίνακας περιεχομένων εικόνων

Εικόνα I Απεικόνιση της διαδικασίας της παραγωγής των ερυθροκυττάρων (ερυθροποίηση).....	11
Εικόνα II Ποσοστά των κύριων συστατικών της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης.	13
Εικόνα III . Δομή και σύσταση της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης. Gf = γλυκοφορίνη, band 3 = πρωτεΐνη 3	14
Εικόνα IV Μεταβολισμός αιθανόλης και τοξικότητα μυελού των οστών. Η αιθανόλη και οι μεταβολίτες της ακεταλδεΐδη, ROS και αιθυλεστέρας λιπαρών οξέων παρεμβαίνουν στην ερυθροποίηση και προκαλούν βλάβες σε πρόδρομα κύτταρα όπως οι ερυθροβλάστες.	19
Εικόνα V Αιτίες αναιμίας σε αλκοολικούς.	20
Εικόνα VI Δομικές ανωμαλίες στη δομή των ερυθρών αιμοσφαιρίων (RBC) που προκαλούνται από το αλκοόλ. (A) Τα κανονικά RBC έχουν ένα χαρακτηριστικό σχήμα που μοιάζει με δίσκο. το κύτταρο στο κέντρο είναι ένα ουδετερόφιλο. (B) Τα στοματοκύτταρα έχουν ένα ελάττωμα στις μεμβράνες τους που τα αναγκάζει να λάβουν σχήμα που μοιάζει με στόμα ή στόμια όταν τα βλέπουμε στο μικροσκόπιο. (Γ) Τα Spur κύτταρα χαρακτηρίζονται από προεξοχές που μοιάζουν με ακίδα που προκύπτουν από την αφομοίωση της περίσσειας χοληστερόλης στη μεμβράνη του κυττάρου.....	23
Εικόνα VII (a) Όγκος, (b) Επιφάνεια και (c) Σφαιρικότητα. Κάθε κύκλος υποδεικνύει μετρήσεις μεμονωμένων μετρήσεων RBC. Η μέση τιμή κάθε μορφολογικής παραμέτρου RBC συμβολίζεται ως η οριζόντια γραμμή με την κατακόρυφη ράβδο για την τυπική απόκλιση.	26
Εικόνα VIII (a) Συγκέντρωση RBC Hb, (b) Περιεκτικότητα σε RBC Hb και (c) χάρτης συσχέτισης μεταξύ της περιεκτικότητας σε Hb και του όγκου, με τις αντίστοιχες καμπύλες πυκνότητας πιθανότητας όγκου. Κάθε κύκλος υποδεικνύει μια μεμονωμένη μέτρηση RBC.	28
Εικόνα IX (a–d) Δισδιάστατοι χάρτες ύψους μεμβράνης των αντιπροσωπευτικών μεμονωμένων RBC στις συγκεντρώσεις (a) 0,0%, (b) 0,1%, (c) 0,3% και (d) 0,5% αιθανόλης. (e–h) Δισδιάστατοι χάρτες διακυμάνσεων εκτός μεμβράνης των αντίστοιχων τεσσάρων RBC στο (a–d).(i) Δυναμικές διακυμάνσεις μεμβράνης για όλα τα μετρούμενα RBC. Ο έγχρωμος κύκλος υποδεικνύει μια μεμονωμένη μέτρηση κελιών. Η μέση διακύμανση της μεμβράνης για κάθε ομάδα αιθανόλης συμβολίζεται ως οριζόντια γραμμή και η τυπική απόκλιση αντιπροσωπεύεται από την κατακόρυφη ράβδο.....	29
Εικόνα X Η αλκοολική ηπατική νόσος εξελίσσεται από στεάτωση σε κίρρωση. Όλα τα στάδια δείχνουν ευδιάκριτα σημάδια υπερφόρτωσης σιδήρου. HCC: ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα.	32
Εικόνα XI Τρεις κύριες οδοί οξειδωσης αιθανόλης στο ήπαρ.	35
Εικόνα XII Μεταβολισμός αιθανόλης και σχηματισμός ROS.	35

Πίνακας περιεχομένων πινάκων

Πίνακας I Οι επιδράσεις της αιθανόλης και των μεταβολιτών της στην ερυθροποίηση και τα ερυθρά αιμοσφαίρια.....	23
Πίνακας II Μετρήσεις του όγκου, της μέσης επιφάνειας και της μέσης σφαιρικότητας των RBC.	26
Πίνακας III Μετρήσεις της συγκέντρωσης Hb και της περιεκτικότητας σε Hb των ερυθροκυττάρων.	28
Πίνακας IV Μετρήσεις των μέσων διακυμάνσεων της μεμβράνης των ερυθροκυττάρων.....	29
Πίνακας V Αιματολογικοί δείκτες των δειγμάτων των ασθενών με αλκοολική ηπατοπάθεια και των μαρτύρων (υγιών). Οι τιμές έχουν προκύψει από τον μέσο όρο των τιμών (Mean) ± την τυπική απόκλιση (Std. Deviation).....	39

Πίνακας περιεχομένων γραφημάτων

Figure I Αποτελέσματα ασθενών και μαρτύρων στην εξέταση της ελεύθερης Hb πλάσματος.....	40
Figure II Αποτελέσματα των δειγμάτων των ασθενών και των μαρτύρων στην διαδικασία της κρυοαιμόλυσης.	41

Πίνακας συντομογραφιών

Hb ή HGB	Αιμοσφαιρίνη Hemoglobin	CAT	Ηπατική υπεροξεισωμική καταλάση Hepatic peroxisomal catalase
ADH	Αλκοολική αφυδρογονάση Alcohol dehydrogenase	ΚΝΣ	Κεντρικό νευρικό σύστημα Central nervous system
ALD	Αλκοολική ηπατική νόσος Alcoholic liver disease	CYP2E1	Κυτόχρωμα P450 2E1 Cytochrome P450 2E1
AH	Αλκοολική ηπατίτιδα Alcoholic hepatitis	ER	Λείο ενδοπλασματικό δίκτυο Smooth endoplasmic reticulum
ASH	Ανάπτυξη φλεγμονής Development of inflammation	LYM	Λεμφοκύτταρα Lymphocytes
QPI	Τεχνικές ποσοτικής απεικόνισης φάσης Quantitative phase imaging techniques	MCV	Μέσος σωματιδιακός όγκος ερυθροκυττάρων Mean erythrocyte particulate volume
WBC	Λευκά αιμοσφαίρια White blood cells	PTMs	Μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις Post-translational modifications
PLT	Αιμοπετάλια Platelets	HCT	Αιματοκρίτης Hematocrit
AMPK	Ενεργοποιημένη κινάση από μονοφωσφορική αδενοσίνη Adenosine monophosphate-activated kinase	cDOT	Οπτική τομογραφία περίθλασης κοινής διαδρομής Optical common path diffraction tomography
Gf	Γλυκοφορίνες Glycophorins	RI	Τρισδιάστατος δείκτης διάθλασης 3D refractive index
GRA	Ουδετερόφιλα κύτταρα Neutrophil cells	H₂O₂	Υπεροξειδίο υδρογόνου Hydrogen peroxide
RBC	Ερυθροκύτταρα / ερυθρά αιμοσφαίρια Red blood cells	WFI	Ενέσιμο νερό Water for injection
RT	Θερμοκρασία δωματίου Room temperature	PCT	Αιμοπεταλιοκρίτης Hemopetaliocritis

RDW	Εύρος κατανομής μεγέθους αιμοπεταλίων Platelet size distribution range	MCH	Μέση περιεκτικότητα ερυθροκυττάρων σε αιμοσφαιρίνη Average erythrocyte hemoglobin content
ROS	Αντιδραστικά είδη οξυγόνου Reactive oxygen species	EPR	Τεχνικές φασματοσκοπίας Spectroscopy techniques
PPARα	Πολλαπλασιαστικός υποδοχέας α Proliferative receptor α		

Α. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1. Αίμα

Το αίμα αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα όργανα-ιστούς του ανθρώπινου σώματος. Χαρακτηρίζεται ως πολύπλοκο όργανο και αποτελείται από ένα υγρό μέρος και από διάφορα είδη κυττάρων. Εξαιτίας της πολυπλοκότητάς του δεν είναι δυνατή η ύπαρξη κάποιου υποκατάστατου του.

Ο μέσος ενήλικας διαθέτει 4-5 λίτρα αίματος, δηλαδή περίπου 10 μονάδες. Μία μονάδα ισούται με 450 ml περίπου και καθιστά αμελητέα ποσότητα, αφού αναπληρώνεται άμεσα όταν ένας αιμοδότης την «χάσει» δίνοντάς την σε μια αιμοδοσία. (National Blood Donation Center (ΕΚΕΑ), 2019).

Υπάρχουν οκτώ διαφορετικές ομάδες αίματος σύμφωνα με τις οποίες καθορίζεται η συμβατότητα του δότη με τον δέκτη (O- , O+, A- , A+, B- , B+, AB- , AB+). Η συχνότερη ομάδα αίματος είναι η O+, ενώ η σπανιότερη η AB- . (National Blood Donation Center (ΕΚΕΑ), 2019).

Το σύνολο του αίματος ονομάζεται ολικό αίμα και αποτελείται από τα ερυθρά αιμοσφαίρια (ερυθροκύτταρα, RBC), λευκά αιμοσφαίρια, αιμοπετάλια και πλάσμα. Κάθε συστατικό του ολικού αίματος επιτελεί τη δική του λειτουργία.

1.1 Έμμορφα συστατικά του αίματος και η λειτουργία τους

Στα έμμορφα συστατικά του αίματος ανήκουν τα ερυθρά αιμοσφαίρια, τα λευκά αιμοσφαίρια και τα αιμοπετάλια.

- Τα ερυθρά αιμοσφαίρια μεταφέρουν το οξυγόνο (O₂) και το διοξείδιο του άνθρακα (CO₂) από τους ιστούς του σώματος στους πνεύμονες και αντίστροφα.
- Τα λευκά αιμοσφαίρια αποτελούν μέρος της άμυνας του οργανισμού, όταν αυτός εκτίθεται σε παθογόνους μικροοργανισμούς.
- Τα αιμοπετάλια συμμετέχουν στην πήξη του αίματος. (National Blood Donation Center (ΕΚΕΑ), 2019).

1.2 Άμορφα συστατικά του αίματος και η λειτουργία τους

Στα άμορφα συστατικά του αίματος ανήκει το πλάσμα.

- Το πλάσμα περιέχει πρωτεΐνες και θρεπτικά συστατικά που συμμετέχουν στην πήξη του αίματος, στην παραγωγή λευκωματίνης και την αντικατάσταση όγκου

καθώς αντιπροσωπεύει περίπου το μισό της μίας μονάδας ολικού αίματος. (National Blood Donation Center (EKEA), 2019). Αποτελεί το 55% του όγκου του ολικού αίματος και μέσω της κυκλοφορίας μεταφέρει διάφορες θρεπτικές ουσίες στα κύτταρα. (Ministry of Health, 2023)

2. Ερυθρά Αιμοσφαίρια (Ερυθροκύτταρα, RBC)

Τα ερυθρά αιμοσφαίρια ή αλλιώς ερυθροκύτταρα (RBC) αποτελούν μια από τις σημαντικότερες κατηγορίες κυττάρων του ανθρώπινου οργανισμού και υπάρχουν σε αφθονία μέσα σε αυτόν. (Angelo D'Alessandro, 2023) Είναι μικρά κύτταρα σε σχήμα αμφίκοιλου δίσκου και διάμετρο 7,5μm (Sauli, Red blood cells (RBC): Structure and function, 2023). Είναι απύρνηνα κύτταρα με χρόνο ζωής έως 120 ημέρες και εμφανίζουν μεγάλη αναλογία επιφάνειας σε σχέση με όγκο. Έχουν την ιδιότητα να αντέχουν σε υψηλές πιέσεις και να παραμορφώνονται προκειμένου να διαπερνούν τα τριχοειδή αγγεία του ανθρώπινου σώματος. (Kriebardis, 2014)

2.1 Δομή των ερυθροκυττάρων

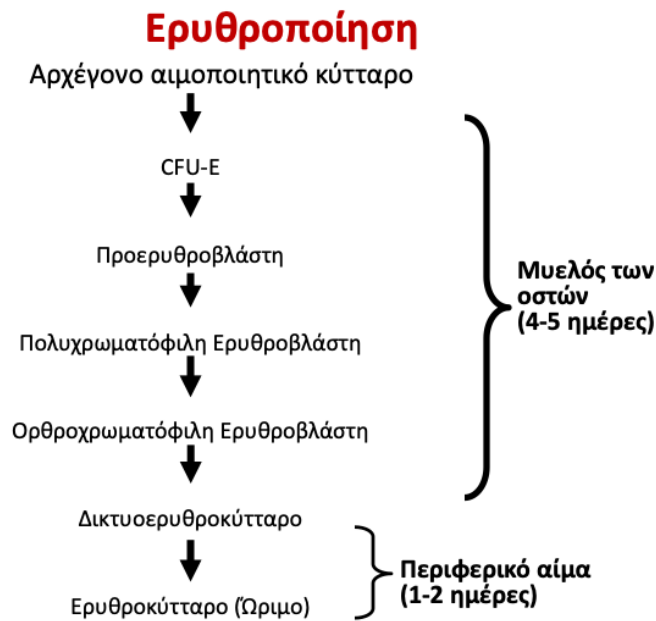
Τα ερυθροκύτταρα αποτελούνται από μια κυτταρική μεμβράνη, η οποία περιβάλλει το κυτταρόπλασμα και η ίδια αποτελείται από πρωτεΐνες, λιπίδια και αντίγονα (εξειδικευμένες πρωτεΐνες) που συμβάλλουν στην ανίχνευση της ομάδας αίματος του ανθρώπου. Το κυτταρόπλασμα τους περιέχει αιμοσφαιρίνη (Hb), μια πρωτεΐνη υπεύθυνη για το κόκκινο χρώμα των ερυθροκυττάρων και έχει την ικανότητα σύνδεσης με το οξυγόνο. Κάθε ερυθροκύτταρο περιέχει περίπου 270.000.000 μόρια αιμοσφαιρίνης και αποτελούν το 1/3 του συνολικού βάρους του. (Sauli, Red blood cells (RBC): Structure and function, 2023). Για την παραγωγή της αιμοσφαιρίνης (Hb) είναι απαραίτητες οι βιταμίνες B₆, B₁₂, το φυλλικό οξύ και ο σίδηρος (Fe). (LAGADINOU, 2022)

2.2 Παραγωγή των ερυθροκυττάρων (RBC)

Η παραγωγή των ερυθρών αιμοσφαιρίων πραγματοποιείται στον μυελό των οστών, ένας σπογγώδης ιστός μέσα στα οστά. Η διαδικασία αυτή ονομάζεται ερυθροποίηση και ρυθμίζεται από την ερυθροποιητίνη ορμόνη που παράγεται από τα νεφρά. Διαρκεί περίπου 7 μέρες, με παραγωγή 2,5 εκατομμυρίων RBC/sec. Περιλαμβάνει τα εξής στάδια:

1. Βλαστοκύτταρα του μυελού των οστών διαφοροποιούνται σε ανώριμα RBC

2. Τα ανώριμα RBC ωριμάζουν σε πλήρως λειτουργικά (ώριμα) RBC (Sauli, Red blood cells (RBC): Structure and function, 2023).



Εικόνα 1 Απεικόνιση της διαδικασίας της παραγωγής των ερυθροκυττάρων (ερυθροποίηση).

Η ποσότητα των ερυθρών αιμοσφαιρίων στον ανθρώπινο οργανισμό φαίνεται από τη γενική εξέταση αίματος ανά μL αίματος. Μια εξέταση ρουτίνας στην οποία φαίνονται επίσης τα λευκά αιμοσφαίρια (WBC), τα αιμοπετάλια (PLT), η αιμοσφαιρίνη (Hb) και ο αιματοκρίτης. Η φυσιολογική τιμή της ποσότητας των ερυθροκυττάρων εξαρτάται από το φύλο και την ηλικία του ατόμου, επομένως στις ενήλικες γυναίκες είναι 4,0 – 5,0 εκατομμύρια κύτταρα/ μL , ενώ στους ενήλικες άνδρες είναι 2,5 – 5,5 εκατομμύρια κύτταρα/ μL . Η τιμή αυτή μπορεί να επηρεαστεί από τον τρόπο ζωής του ατόμου, όπως κάπνισμα, υψόμετρο και ορισμένες ιατρικές καταστάσεις. (Sauli, Red blood cells (RBC): Structure and function, 2023)

Κάθε ώριμο ερυθροκύτταρο περιέχει 250 – 270 εκατομμύρια μόρια αιμοσφαιρίνης περίπου, η οποία καταλαμβάνει περίπου το 98% του πρωτεϊνώματος του κυτταροπλάσματος του ερυθροκυττάρου. (Angelo D'Alessandro, 2023)

2.3 Λειτουργία των ερυθρών αιμοσφαιρίων

Η βασική λειτουργία των ερυθροκυττάρων είναι η μεταφορά του οξυγόνου και του διοξειδίου του άνθρακα σε όλο το ανθρώπινο σώμα. Το οξυγόνο χρησιμοποιείται για την παραγωγή ενέργειας των κυττάρων και μεταφέρεται από τους πνεύμονες στους υπόλοιπους

ιστούς του σώματος, ενώ το διοξείδιο του άνθρακα μεταφέρεται από τους ιστούς προς τους πνεύμονες, από τους οποίους εκπνέεται και παράγεται ως απόβλητο της διαδικασίας παραγωγής ενέργειας των κυττάρων (Sauli, Red blood cells (RBC): Structure and function, 2023). Θεωρητικά τα ερυθρά αιμοσφαίρια μπορούν να μεταφέρουν έως και ένα δισεκατομμύριο μόρια οξυγόνου/κύτταρο. (Angelo D'Alessandro, 2023) Επιπλέον, τα ερυθροκύτταρα συμμετέχουν στη θερμορύθμιση του οργανισμού καθώς και στην άμυνα και το συντονισμό των λειτουργιών του. (LAGADINOU, 2022)

Το αμφίκυκλο σχήμα τους τους προσδίδει την ικανότητα να παραμορφώνονται ώστε να περνούν μέσα από τα στενότερα τριχοειδή αγγεία και να μεταφέρουν το οξυγόνο σε διάφορα όργανα, μια ικανότητα ζωτικής σημασίας για τον ανθρώπινο οργανισμό. (Sang Yun Lee, 2015)

3. Ερυθροκυτταρική μεμβράνη

Η μεμβράνη του ερυθροκυττάρου έχει μελετηθεί εκτενώς διότι τα RBC είναι απύρνητα και δεν περιέχουν εσωτερικά οργανίδια επομένως είναι εύκολη πηγή απομόνωσης «καθαρής» πλασματικής μεμβράνης. Καταλαμβάνει το 1% του βάρους του ερυθροκυττάρου, όμως έχει σημαντικό ρόλο στη διατήρηση της ακεραιότητάς του. (Andrea Christina – Sylvia, 2012)

Η ανακάλυψη της δομής και της σύστασης της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης συνέβαλλε σημαντικά στην κατανόηση πολλών αιμολυτικών αναιμιών κυρίως αυτών που σχετίζονται με το σχήμα του κυττάρου όπως την κληρονομική σφαιροκυττάρωση. (Georgoulis, 2012)

3.1 Ρόλος της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης

Η ερυθροκυτταρική μεμβράνη συμβάλλει στις εξής λειτουργίες:

- Στη διατήρηση του σχήματος του ερυθροκυττάρου (αμφίκυκλου δίσκου).

Το σχήμα του ερυθροκυττάρου προκύπτει από την αλληλεπίδραση των κυτταροσκελετικών πρωτεϊνών με τη λιπιδική διπλοστιβάδα.

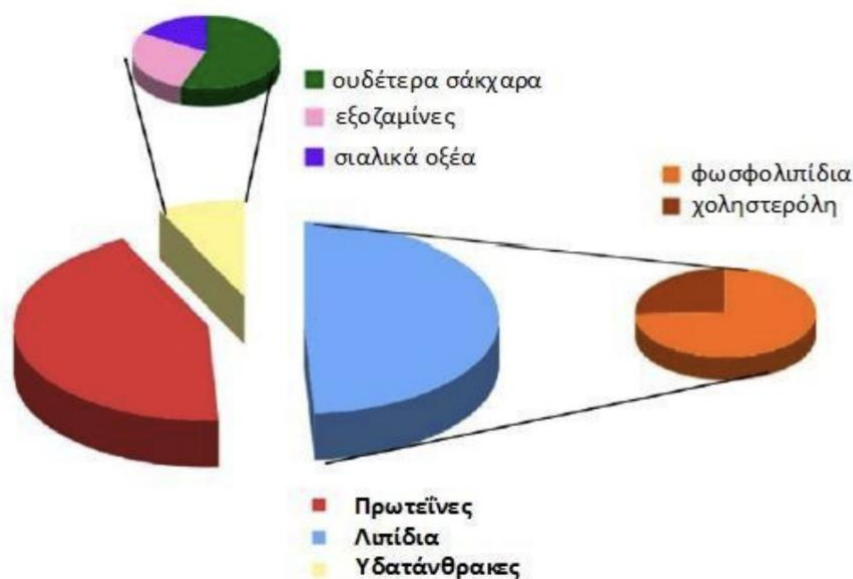
- Στο διαχωρισμό των περιεχομένων του ερυθροκυττάρου από το πλάσμα.
- Στη ρύθμιση της συγκέντρωσης των ενδοκυττάρων κατιόντων.
- Στην αλληλεπίδραση του ερυθροκυττάρου με το περιβάλλον γύρω του (τα άλλα κύτταρα), μέσω υποδοχέων που υπάρχουν στην επιφάνειά της.
- Στη παραμορφωσιμότητα του ερυθροκυττάρου.

Σημαντικοί παράμετροι για την εξασφάλιση της παραμορφωσιμότητας και τη ρευστότητας της μεμβράνης είναι το pH, το εμβαδόν επιφάνειας ως προς τον όγκο, η ωσμωτικότητα και

οι αποκλίσεις των συγκεντρώσεων των κατιόντων (υψηλά επίπεδα Na^+ και Ca^{2+} και χαμηλά επίπεδα K^+). (Andrea Christina – Sylvia, 2012)

3.2 Συστατικά της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης

Η ερυθροκυτταρική μεμβράνη είναι μία ασύμμετρη λιπιδική διπλοστιβάδα, η οποία εξωτερικά περιβάλλεται από υδατάνθρακες και εσωτερικά περιέχει πρωτεΐνες. (Georgoulis, 2012) Συγκεκριμένα οι πρωτεΐνες αποτελούν το 49% της μεμβράνης, ενώ το 44% αποτελούν λιπίδια (φωσφολιπίδια 33%, χοληστερόλη 11%), και το υπόλοιπο 7% υδατάνθρακες (ουδέτερα σάκχαρα 4% , σιαλικά οξέα 1%). (Andrea Christina – Sylvia, 2012) .



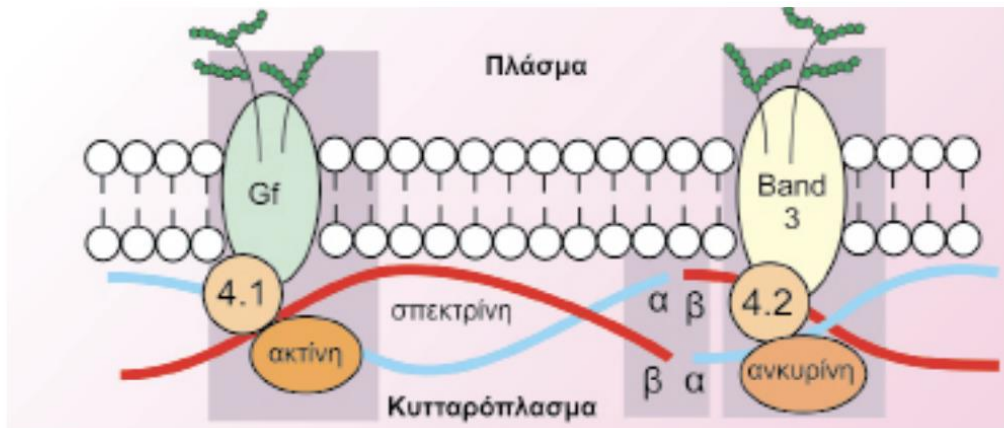
Εικόνα II Ποσοστά των κύριων συστατικών της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης.

Η λιπιδική διπλοστιβάδα αποτελείται από χοληστερόλη, φωσφολιπίδια, και γλυκοσφιγγολιπίδια. Τα υδρόφιλα τμήματά τους διατάσσονται προς την εξωτερική επιφάνεια ενώ τα υδρόφοβα προς την εσωτερική.

Οι υδατάνθρακες που περιβάλλουν εξωτερικά τη λιπιδική στιβάδα αποτελούνται από ουδέτερα σάκχαρα (D-γαλακτόζη, D-γλυκόζη, D-φρουκτόζη, D-μαννόζη), εξοζαμίνη (N-ακετυλ-D-γαλακτοζαμίνη, N-ακετυλ-D-γλυκοζαμίνη) και N-ακετυλ-D-νευραμινικό οξύ. Είναι μέρος των γλυκοσφιγγολιποειδών και των γλυκοπρωτεϊνών της μεμβράνης, τα οποία περιέχουν τα αντιγόνα των ομάδων αίματος P, ABO, και I.

Οι πρωτεΐνες της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης διακρίνονται σε δύο κατηγορίες:

1. Διαμεμβρανικές ή ενδογενείς πρωτεΐνες, οι οποίες διαπερνούν τη φωσφολιπιδική διπλοστιβάδα (γλυκοφορίνες A, B, C, D, E και η πρωτεΐνη 3)
2. Περιφερειακές ή δομικές πρωτεΐνες, οι οποίες δεν εισχωρούν στην λιπιδική στιβάδα (σπεκτρίνη, ακτίνη, αγκυρίνη, πρωτεΐνες 4.1 και 4.2).



Εικόνα III . Δομή και σύσταση της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης.
Gf = γλυκοφορίνη, band 3 = πρωτεΐνη 3

Οι γλυκοφορίνες (Gf) είναι γλυκοπρωτεΐνες που περιέχουν σιαλικό οξύ και οφείλονται για το αρνητικό φορτίο της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης κατά το 80%.

Η σπεκτρίνη συμβάλλει στη διατήρηση του σχήματος του ερυθροκυττάρου και στη παροχή στήριξης στη δομή της λιπιδικής διπλοστιβάδας.

Η πρωτεΐνη 3 καταλαμβάνει το 25% των μεμβρανικών πρωτεϊνών ενώ η ακτίνη, η αγκυρίνη και οι πρωτεΐνες 4.1 και 4.2 αποτελούν το 5%. Πολλές κληρονομικές διαταραχές της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων οφείλονται σε μεταλλάξεις των γονιδίων που κωδικοποιούν τις παραπάνω πρωτεΐνες. (Georgoulis, 2012)

4. Κυτταροσκελετός

Ο κυτταροσκελετός καθορίζει το σχήμα του ερυθρού αιμοσφαιρίου και βρίσκεται κάτω από την μεμβράνη του κυττάρου. Αποτελείται από ένα δίκτυο πρωτεϊνών με κύρια (ακτίνη, αγκυρίνη, πρωτεΐνη 4.1, σπεκτρίνη) και δευτερεύοντα συστατικά (δεματίνη, πρωτεΐνη 4.2, τροπομυοσίνη κ.α.). Τα συστατικά του κυτταροσκελετού αλληλεπιδρούν μεταξύ τους και πολλά από αυτά και με λιπίδια και πρωτεΐνες της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης. (Andrea Christina – Sylvia, 2012)

4.1 Πρωτεΐνες κυτταροσκελετού

- Ακτίνη (Band -5) : Σημαντική πρωτεΐνη που συμβάλλει στην κίνηση του κυττάρου. Περιέχεται σε κάθε κύτταρο σε ποσότητα 50×10^4 (μονομερή ακτίνης) τα οποία μπορούν να πολυμεριστούν και να σχηματίσουν νημάτια F- ακτίνης.
- Σπεκτρίνη: Το δίκτυο της συμβάλλει στη διατήρηση του σχήματος του ερυθροκυττάρου, στις μηχανικές ιδιότητές του και στην ακεραιότητα της μεμβράνης.
- Αγκυρίνη: Συνδέει τον σκελετό του ερυθροκυττάρου με την λιπιδική διπλοστιβάδα μέσω της πρόσδεσης στη ζώνη -3 και την σπεκτρίνη.
- Αδουσίνη: Είναι γέφυρα που συνδέει το σύμπλεγμα ακτίνης-σπεκτρίνης με τη ζώνη-3. Αν η γέφυρα αυτή ριχθεί προκαλείται αστάθεια της μεμβράνης και κατακερματισμός του συμπλέγματος. Επίσης, καλύπτει το άκρο των ινιδίων ακτίνης εμποδίζοντας την ανεξέλεγκτη επιμήκυσή τους και ανταποκρίνεται σε ερεθίσματα της ρύθμισης των ιδιοτήτων του ερυθροκυττάρων.
- Δεματίνη: Συμβάλλει στο σχηματισμό του ερυθροκυττάρου και τη διατήρηση της ακεραιότητας της μεμβράνης αφού συνδέεται με τον μεταφορέα γλυκόζης (Glut 1).
- Πρωτεΐνη 4.1: Υποστηρίζει την κυτταρική μεμβράνη, απαιτείται για το κανονικό σχήμα του κυττάρου και την ακεραιότητά του. Βασικό συστατικό του κυτταροσκελετού.
- Πρωτεΐνη 4.2 : Βρίσκεται στο εσωτερικό του ερυθρού αιμοσφαιρίου. Η λειτουργία της παραμένει άγνωστη. Ωστόσο, σε πλήρη ανεπάρκεια είναι πιθανό να προκαλέσει σφαιροκυττάρωση και αιμολυτική αναιμία, αυτό το γεγονός υποδηλώνει ότι παίζει ρόλο στη διατήρηση της ακεραιότητας της μεμβράνης.
- p55: Αποτελεί υποχρεωτικό συστατικό του συμπλέγματος πρωτεΐνης 4.1- γλυκοφορίνης C, που συμμετέχει στη ρύθμιση της σταθερότητας και τις μηχανικές ιδιότητες της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης. Ανήκει σε μια οικογένεια σηματοδοτικών και κυτταροσκελετικών πρωτεϊνών οι οποίες σχετίζονται με τη μεμβράνη. (Violetta, 2018)

4.2 Λειτουργίες του κυτταροσκελετικού δικτύου

Η έκταση των μετα-μεταφραστικών τροποποιήσεων (μεθυλίωση, φωσφορυλίωση κ.α.) είναι υπεύθυνη για τη ρύθμιση των λειτουργιών του κυτταροσκελετικού δικτύου.

- Αναδιάταξη κυτταροσκελετικού δικτύου:

Ακολουθεί την παραμόρφωση της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης. Πραγματοποιείται χάρη στη δομική της διάταξη και τις δυναμικές μεταβολές ανάμεσα στις συμπιεσμένες και εκτεταμένες διαμορφώσεις.

- Σύνδεση κυτταροσκελετικού δικτύου στην ερυθροκυτταρική μεμβράνη:

Πραγματοποιείται από τις αλληλεπιδράσεις των αγκυρίνη – σπεκτρίνη- πρωτεΐνη 3 και γλυκοφορίνη C – σπεκτρίνη – πρωτεΐνη 4.1 .

- Πλαστικότητα κυτταροσκελετού:

Ρυθμίζεται από τις μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις (PTMs) και ιδίως από την κατάσταση της φωσφορυλίωσης των εμπλεκόμενων πρωτεϊνών, οι οποίες συνδέονται με τη μηχανική σταθερότητα της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης.

Η σταθερότητα της μεμβράνης μειώνεται με την αυξημένη φωσφορυλίωση.

Φωσφορυλίωση ονομάζεται η διαδικασία κατά την οποία 1 ή περισσότερες φωσφορικές ομάδες προστίθενται σε ένα μόριο (χημική αντίδραση). (Andrea Christina – Sylvia, 2012)

5. Γήρανση ερυθρών αιμοσφαιρίων

Τα ερυθρά αιμοσφαίρια του ανθρώπινου οργανισμού έχουν μέσο χρόνο ζωής περίπου 120 ημέρες, από τη στιγμή της εμφάνισής τους στη κυκλοφορία του αίματος. Δεν συνθέτουν πρωτεΐνες καθώς δεν διαθέτουν εσωτερικά οργανίδια και πυρήνα και επομένως η φυσιολογία τους βασίζεται στα ένζυμα και τις πρωτεΐνες που έχουν έπειτα από την ωρίμανσή τους από δικτυοερυθροκύτταρα. Έτσι, αιτιολογείται η διαδικασία της γήρανσης την οποία υφίστανται μέσω αυστηρώς ρυθμιζόμενων μηχανισμών.

Η γήρανση των ερυθρών αιμοσφαιρίων χαρακτηρίζεται από τη συσσώρευση λειτουργικών, μεταβολικών και μορφολογικών μεταβολών. Τυπικές αλλαγές που παρατηρούνται στα γερασμένα ερυθροκύτταρα αποτελούν η αναδιαμόρφωση της μεμβράνης, η συρρίκνωση των κυττάρων, η μικροκυστιδιοποίηση και η έκθεση στην επιφάνεια των κυττάρων δεικτών εκκαθάρισης, οι οποίοι διεγείρουν τη φαγοκυττάρωση των RBC.

Ορισμένοι δείκτες εκκαθάρισης είναι η παρουσίαση της PS και η σύνδεση αυτόλογων IgGs σε ειδικά νεοαντιγόνα γήρανσης προερχόμενα από δομικές αλλαγές της πρωτεΐνης-3. (Andrea Christina – Sylvia, 2012)

6. Διαταραχές των ερυθρών αιμοσφαιρίων

- **Αναιμία** : Η τιμή της αιμοσφαιρίνης ή ο αριθμός των ερυθροκυττάρων είναι μικρότερος από τη φυσιολογική τιμή. Προκαλείται από διατροφικές ελλείψεις, απώλεια αίματος ή χρόνιες ασθένειες.
- **Πολυκυτταραιμία** : Ο αριθμός των ερυθροκυττάρων στο αίμα είναι αυξημένος σε σχέση με τον φυσιολογικό. Προκαλείται από χρόνια υποξία, όγκους και από ορισμένες γενετικές μεταλλάξεις.
- **Δρεπανοκυτταρική αναιμία** : Κληρονομική διαταραχή στην οποία τα ερυθρά αιμοσφαίρια έχουν σχήμα δρεπανιού, δηλαδή είναι άκαμπτα, κολλώδη και φράζουν τα αιμοφόρα αγγεία. Προκαλεί πόνο, βλάβη στα όργανα και εγκεφαλικό επεισόδιο.
- **Θαλασσαιμία ή β – μεσογειακή αναιμία** : Κληρονομική διαταραχή στην οποία παρουσιάζεται ανεπάρκεια παραγωγής αιμοσφαιρίνης και είναι δυνατό να οδηγήσει σε αναιμία.
- **Αιμολυτική αναιμία** : Μια κατάσταση κατά την οποία τα ερυθροκύτταρα καταστρέφονται γρηγορότερα από ότι παράγονται. Προκαλείται από λοιμώξεις, κάποια φάρμακα ή από αυτοάνοσα νοσήματα.
- **Μακροκυττάρωση** : Μια κατάσταση κατά την οποία τα ερυθροκύτταρα είναι μεγαλύτερα από τα φυσιολογικά. Προκαλείται από διατροφικές ελλείψεις, κάποια φάρμακα ή από ηπατική νόσο.
- **Μικροκυττάρωση** : Μια κατάσταση κατά την οποία τα ερυθροκύτταρα είναι μικρότερα από το φυσιολογικό. Προκαλείται από έλλειψη σιδήρου , δηλητηρίαση από μόλυβδο ή θαλασσαιμία. (Sauli, Red blood cells (RBC): Structure and function, 2023)

7. Αιμόλυση RBC

Αιμόλυση ονομάζεται η καταστροφή των ερυθρών αιμοσφαιρίων είτε λόγω νόσων (δρεπανοκυτταρική νόσος ή σφαιροκυττάρωση) είτε λόγω της έκθεσης των RBCs σε τοξίνες, φάρμακα, αντισώματα, τεχνητές καρδιακές βαλβίδες, ορισμένες λοιμώξεις ή δηλητήρια φιδιών.

Κατά τη διαδικασία αυτή, καταστρέφεται η κυτταρική μεμβράνη άμεσα ή μέσω λύσης από αντισώματα. Στη συνέχεια, απελευθερώνεται η αιμοσφαιρίνη που υπάρχει στο κυτταρόπλασμα, στο περιβάλλον πλάσμα και χάνεται μέσω των νεφρών. Έτσι, τα ούρα εμφανίζονται ερυθρά και η κατάσταση αυτή ονομάζεται αιμοσφαιρινουρία.

Τα αποτελέσματα των εργαστηριακών εξετάσεων παρουσιάζουν μειωμένο αριθμό RBCs, αιματοκρίτη, αιμοσφαιρίνης και αιπτοσφαιρίνης και αυξημένα επίπεδα μη συζευγμένης χολερυθρίνης και γαλακτικής δεϋδρογονάσης. Είναι πιθανό να μην γίνονται ορατά στο μικροσκόπιο θραύσματα ερυθροκυττάρων. (Karagiannopoulou, 2020)

8. Αλκοόλ – Η επίδρασή του στα RBCs

Οι αλκοόλες είναι μια σημαντική τάξη οργανικών ενώσεων. Το μόριο τους προκύπτει από υδρογονάνθρακες και την αντικατάσταση ενός ή περισσότερων υδρογόνων από την ομάδα υδροξυλίου (-OH) και έχουν γενικό τύπο $C_nH_{2n+2}O$. Η ομάδα του υδροξυλίου που διαθέτουν είναι υπεύθυνη για την διαμόρφωση των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών τους. Εμφανίζουν μεγάλη διαλυτότητα στο νερό εξαιτίας των δεσμών υδρογόνων που σχηματίζουν. Από τις πιο γνωστές αλκοόλες είναι η αιθανόλη ή αλλιώς αιθυλική αλκοόλη, η οποία είναι το καθαρό οινόπνευμα που χρησιμοποιείται στην ιατρική και τα ποτά. Όταν η αιθανόλη αναμιχθεί με την μεθανόλη, η οποία είναι τοξική, και χρώμα δημιουργείται το μπλε οινόπνευμα που είναι διαθέσιμο στο εμπόριο. Η μεθανόλη προστίθεται με σκοπό να αποτραπεί η χρήση αυτού του οινόπνευματος για τη δημιουργία ποτών. (Mouratidou, 2022)

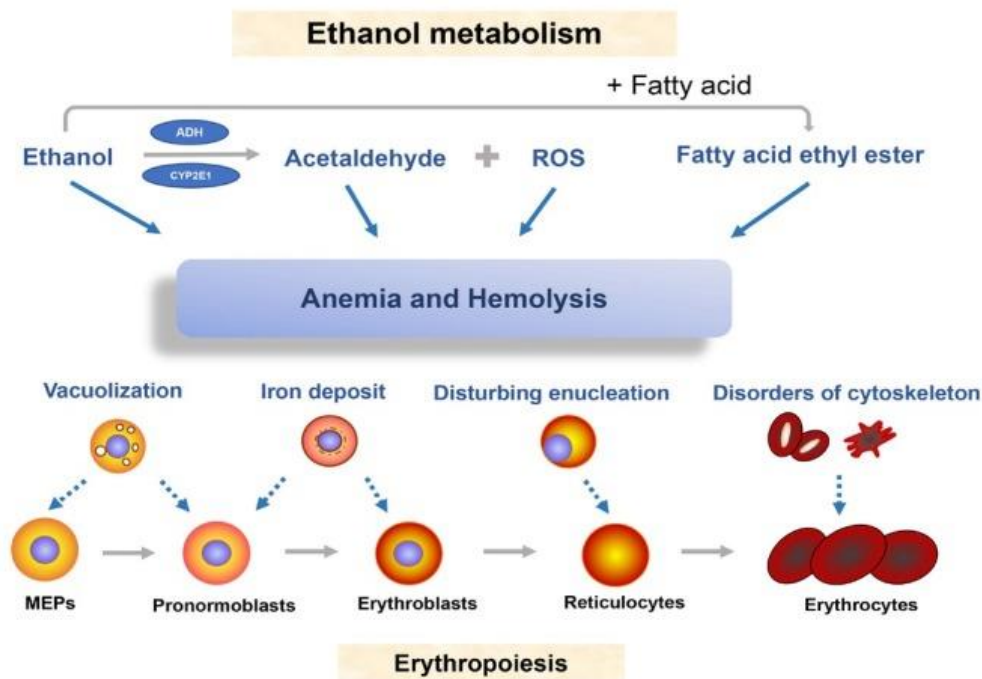
Η αιθανόλη οφείλεται για σημαντικές αλλοιώσεις των κυττάρων, των ιστών και των οργάνων, διότι προκαλεί αναδιαμόρφωση και ρευστοποίηση της κυτταρικής μεμβράνης πολλών τύπων κυττάρων. (Sang Yun Lee, 2015)

Το αλκοόλ επιδρά σημαντικά στην αποθήκευση, την χρήση, και την απορρόφηση πολλών βιταμινών με αποτέλεσμα την απόκτηση διατροφικής ανεπάρκειας και είναι γεγονός πως η χρόνια κατάχρησή του προκαλεί ηπατική βλάβη. Επίσης, επηρεάζει άμεσα τις λειτουργίες καθώς και την παραγωγή των λευκοκυττάρων, των ερυθροκυττάρων και των θρομβοκυττάρων. (Heermans, 1998)

Ευρέως γνωστό αποτελεί το γεγονός πως η κατάχρηση αλκοόλ συμβάλλει στην ανάπτυξη υπέρτασης και κατά συνέπεια ο συνδυασμός αυτός σχετίζεται με την μείωση της παραμορφωσιμότητας των ερυθρών αιμοσφαιρίων. Αποτελέσματα μιας έρευνας που πραγματοποιήθηκε στην Πολωνία το 1999 έδειξαν πως μετά από κατανάλωση αλκοόλ αυξάνονται τα επίπεδα αιθανόλης και ακεταλδεϋδης στο αίμα καθώς και ο καρδιακός ρυθμός ενώ δεν εμφανίστηκε καμία μεταβολή στην αρτηριακή πίεση των ατόμων. Επίσης, παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση του δείκτη της επιμήκυνσης των ερυθροκυττάρων όταν τέθηκαν σε διατμητικές τάσεις 12, 30 και 60 Pa και έπειτα από μιάμιση ώρα από την κατανάλωση της αιθανόλης. (Chmiel, 1999)

8.1 Επιπτώσεις της κατανάλωσης αλκοόλ στον μυελό των οστών και την παραγωγή RBC

Η υπερβολική κατανάλωση αλκοόλ έχει άμεση τοξική επιρροή στο μυελό των οστών, στα ώριμα ερυθροκύτταρα, σε πρόδρομες ουσίες των αιμοσφαιρίων, στα λευκά αιμοσφαίρια καθώς και στα αιμοπετάλια (Mueller S, 2022). Συχνά οδηγεί σε ελαττωματικά ερυθρά αιμοσφαίρια τα οποία οδηγούν σε αναιμία αφού καταστρέφονται πρόωρα. Η προκύπτουσα αναιμία, είναι πιθανό να προκαλέσει κόπωση, ζαλάδα, δύσπνοια καθώς και μειωμένη νοητική ικανότητα και μη φυσιολογικούς καρδιακούς παλμούς. (Ballard, 1997)



Εικόνα IV Μεταβολισμός αιθανόλης και τοξικότητα μυελού των οστών. Η αιθανόλη και οι μεταβολίτες της ακεταλδεΐδη, ROS και αιθυλεστέρας λιπαρών οξέων παρεμβαίνουν στην ερυθροποίηση και προκαλούν βλάβες σε πρόδρομα κύτταρα όπως οι ερυθροβλάστες.

Σημαντική συνέπεια του χρόνιου αλκοολισμού αποτελεί η μειωμένη παραγωγή φυσιολογικών ή η παραγωγή μη λειτουργικών ώριμων αιμοσφαιρίων εξαιτίας της μείωσης των πρόδρομων ουσιών των αιμοσφαιρίων στο μυελό των οστών και τις δομικές ανωμαλίες που προκαλούνται στα αιμοσφαίρια. (Ballard, 1997)

Η επίδραση του αλκοόλ στο μυελό των οστών εμφανίζεται με την παρουσία μεγάλων κενотоπιών στα πρώιμα πρόδρομα ερυθροκύτταρα. Εμφανίζονται εντός 7 ημερών από τη λήψη μεγάλης ποσότητας αλκοόλης στους προνορμοβλάστες και εξαφανίζονται εντός 1-2 εβδομάδων μετά την αποχή. (Mueller S, 2022)

Η εμφάνιση κενотоπίωσης σύμφωνα με αντίστοιχες εξετάσεις:

- ◆ Μορφολογικές εξετάσεις: σε ερυθροειδείς και μεγακαρυοκυτταρικές σειρές.
- ◆ Καλλιέργεια φυσιολογικών κυττάρων σε αλκοολούχο θρεπτικό μέσο: στο κυτταρόπλασμα (κενοτοπίωση ανάλογη με τη συγκέντρωση αλκοόλης).

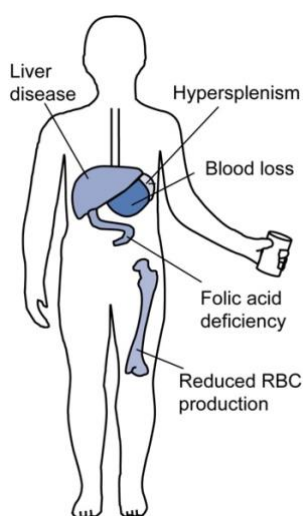
Η συσσώρευση κενотоπίων πιθανώς οφείλεται σε κυτταρικό στρες στα πρόδρομα αιμοποιητικά κύτταρα. Η κενотоπίωση αφορά μια κατάσταση στην οποία τα κύτταρα προσαρμόζονται και αποκρίνονται ώστε να επιβιώσουν και έχει την δυνατότητα στη συνέχεια να προκαλέσει διάφορες μορφές κυτταρικού θανάτου. (Mueller S, 2022)

Η παρουσία κενотоπίων στα πρώιμα πρόδρομα ερυθροκύτταρα του μυελού των οστών θεωρείται ένας από τους δείκτες υπερβολικής κατανάλωσης αλκοόλ. (Ballard, 1997)

Εκτός από την επίδραση του αλκοόλ στα πρόδρομα κύτταρα του μυελού των οστών, η επίδρασή του εμφανίζεται και με την παρουσία ελαττωματικών RBC στο περιφερικό αίμα. Δηλαδή, εμφανίζονται στο αίμα διευρυμένα ερυθρά αιμοσφαίρια (μακροκυττάρωση), ερυθρά με διάφορα ασυνήθιστα σχήματα, τα οποία καταστρέφονται πρόωρα εξαιτίας των δομικών τους ανωμαλιών (αιμόλυση). (Ballard, 1997)

Στη πρόωρη καταστροφή των ερυθρών αιμοσφαιρίων καθώς και στη μειωμένη παραγωγή τους συμβάλλουν:

- Η προκαλούμενη από το αλκοόλ κίρρωση του ήπατος
- Ο υπερσπληνισμός (μεγέθυνση σπλήνας και ανεπάρκεια ενός ή παραπάνω τύπων αιμοσφαιρίων)
- Η ανεπάρκεια φυλλικού οξέος , η οποία προκαλείται από την μείωση της κατάποσης, της απορρόφησης και τον μη φυσιολογικό μεταβολισμό του φυλλικού οξέος. (Ballard, 1997)



Εικόνα V Αιτίες αναιμίας σε αλκοολικούς.

Η επίδραση του αλκοόλ στις υπόλοιπες ομάδες κυττάρων εμφανίζεται με την προκαλούμενη μακροκυττάρωση, μεγαλοβλαστική μακροκυτταρική αναιμία και σιδηροβλαστική αναιμία. Αν και με την αποτοξίνωση φαίνεται να μειώνεται ο μέσος σωματιδιακός όγκος των ερυθροκυττάρων (MCV), συχνά παρατηρείται ότι παραμένει αυξημένος για αρκετούς μήνες παρά την αποχή του ατόμου από το αλκοόλ. (Mueller S, 2022)

Μακροκυττάρωση

Οι αλκοολικοί με μακροκυττάρωση εμφανίζουν συμπτώματα όπως, γυναικομαστία, ίκτερο και μυελοειδή μυελό. Αξιόπιστες και ευαίσθητες εξετάσεις για την διάγνωσή τους αποτελούν το Michigan Alcoholism Screening και τα επίπεδα γ-γλουταμυλικής τρανσφεράσης. Ενώ, η συγκέντρωση του φυλλικού οξέος στον ορό δεν είναι αξιόπιστο μέτρο για τη διάγνωση της μακροκυττάρωσης, η σημαντική μείωση της έχει περιγραφεί ως σημαντικός λόγος για την δημιουργία της.

Για την φυσιολογική παραγωγή και ωρίμανση των πρόδρομων ερυθροκυττάρων είναι αναγκαία η παρουσία φυλλικού οξέος και βιταμινών Β. Παρόλο που η αιθανόλη θεωρείται βασική αιτία ανεπάρκειας φυλλικού οξέος υπάρχουν αποτελέσματα που αντικρούονται με αυτό και παράλληλα δεν έχει υπάρξει κάποια συσχέτιση μεταξύ μιας ανεπάρκειας MCV, φυλλικού οξέος και βιταμίνης Β₁₂. (Mueller S, 2022)

Σιδηροβλαστική αναιμία

Στη σιδηροβλαστική αναιμία εμφανίζεται δακτυλιοειδής δακτύλιος στον μυελό των οστών. Ο σίδηρος σε πολλές περιπτώσεις αλκοολικών ασθενών, δεν μπορεί να ενσωματωθεί σωστά στην αιμοσφαιρίνη. Αυτοί, οι ερυθροβλάστες (παθολογικοί), εμφανίζουν συσσώρευση σιδήρου στα μιτοχόνδρια γύρω από τον πυρήνα, ονομάζονται δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες και δεν έχουν την δυνατότητα να αναπτυχθούν σε λειτουργικά ερυθροκύτταρα. Είναι αποδεδειγμένο πως η δακτυλιοειδής σιδηροβλαστική αναιμία συνήθως εξαφανίζεται εντός μιας εβδομάδας από την αποχή από το αλκοόλ καθώς επίσης συχνά συνδέεται με το μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο. (Mueller S, 2022)

Η χρόνια κατανάλωση αλκοόλ εξαιτίας του συνδυασμού της διατροφικής ανεπάρκειας και της επίδρασης της αιθανόλης στον μεταβολισμό του φυλλικού οξέος στο ήπαρ οδηγεί σε μεγαλοβλαστική αναιμία. Επίσης, η σιδηροβλαστική αναιμία μπορεί να προκύψει από την αιθανόλη με πιθανή παρέμβαση στη σύνθεση της αίμης. (Scharf RE, 1988)

Γενικότερα η χρόνια κατανάλωση αλκοόλ είναι υπεύθυνη για διάφορες μορφές αιμολυτικής αναιμίας λόγω αλλαγών στα λιπίδια της μεμβράνης των ερυθροκυττάρων σε συνδυασμό με την αλκοολική ηπατική νόσο.

Το αλκοόλ καταστέλλει τον σχηματισμό των αιμοπεταλίων και μειώνει τη διάρκεια ζωής τους.

Η πιθανή εκδήλωση ουδετεροκυτταροπενίας σε χρόνιους αλκοολικούς οφείλεται στην μείωση των αποθεμάτων των κοκκιοκυττάρων του μυελού των οστών εξαιτίας της λήψης αλκοόλ.

Η δυσλειτουργία των κοκκιοκυττάρων, των μονοκυττάρων-μακροφάγων και των Τ-λεμφοκυττάρων που προκαλείται από την αιθανόλη συμβάλλει στην προδιάθεση για μόλυνση που παρατηρείται στους αλκοολικούς. (Scharf RE, 1988)

Είναι αξιοσημείωτο να αναφερθεί πως οι αιμοποιητικές διαταραχές που προκαλούνται από το αλκοόλ είναι αναστρέψιμες μετά από την διακοπή κατανάλωσής του σε σύγκριση με τις μεταβολές που προκαλούνται στην καρδιά, στο ήπαρ και το ΚΝΣ.

8.2 Παράγοντες αιμόλυσης κατά τον μεταβολισμό της αιθανόλης

Η κατανάλωση αλκοόλ συμβάλλει στην πρόκληση δομικών και μεταβολικών ανωμαλιών των μεμβρανών των ερυθροκυττάρων, οι οποίες οδηγούν σε ήπιες αιμολυτικές διαταραχές έως σοβαρή αιμολυτική αναιμία.

Παράγοντες που συμβάλλουν στις διαταραχές αυτές είναι:

- Η αύξηση της ρευστότητας των λιπιδίων της μεμβράνης των ερυθροκυττάρων που προκαλείται από το οξειδωτικό στρες,
- Οι πρωτεΐνες του κυτταροσκελετού των RBC που αλλοιώνονται
- Τα μειωμένα φωσφορικά άλατα (υποφωσφαταιμία).

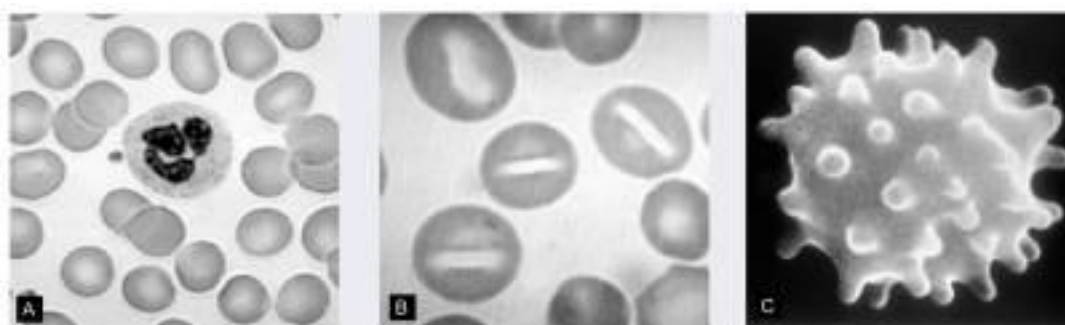
Όταν κάποια τραυματισμένα ερυθροκύτταρα βρεθούν σε αλκοολικές συνθήκες είναι ικανά να ενεργοποιήσουν έναν αυτοκτονικό κυτταρικό θάνατο σχεδόν όμοιο με την απόπτωση. Ο θάνατος αυτός ονομάζεται ερύπτωση. (Mueller S, 2022)

Επιπλέον, έχει παρατηρηθεί η δημιουργία δυσλειτουργικών και ετερόμορφων εχινοκυττάρων (πχ. Στοματοκύτταρα, με μικρότερη διάρκεια ζωής) εξαιτίας μιας ανώμαλης δομής της επιφάνειας των RBC σε αλκοολικά άτομα. Αναφέρεται, πως πάνω από το 25% των αλκοολικών ανθρώπων εμφάνισε αυξημένο αριθμό περιφερικών στοματοκυττάρων. (Mueller S, 2022)

Μια άλλη μορφή κυττάρων με προεξοχές σαν ακίδες στην επιφάνειά τους, ονομάζονται «Spir cells» και θεωρούνται η σοβαρότερη μορφή αιμόλυσης εξαιτίας της κατανάλωσης αλκοόλ. Η συγκεκριμένη αιμόλυση έχει παρατηρηθεί περίπου στο 3% των χρόνιων αλκοολικών, όπου έχει καταλήξει σε θανατηφόρα αναιμία. (Mueller S, 2022) Ως μοναδική θεραπεία για την επιβράδυνση αυτής της αιμόλυσης παρουσιάζεται η χειρουργική αφαίρεση του σπλήνα, μέθοδος την οποία δεν μπορούν να πραγματοποιήσουν πολλοί από τους ασθενείς καθώς η ταυτόχρονη ηπατική τους νόσος αυξάνει τον κίνδυνο της αιμορραγίας. (Ballard, 1997)

Αιμόλυση στοματοκυττάρων

Στοματοκύτταρα ονομάζονται τα ερυθρά αιμοσφαίρια που έχουν σχήμα σαν στόμα λόγω ενός ελαττώματος στην κυτταρική τους μεμβράνη. Η διάρκεια ζωής τους είναι μικρότερη από των φυσιολογικών ερυθρών αιμοσφαιρίων καθώς παγιδεύονται στα μικρά τριχοειδή αγγεία τους σπλήνα και καταστρέφονται. Φυσιολογικά το ποσοστό τους είναι <5% στα RBC, ενώ σε καταστάσεις αλκοολισμού καταλαμβάνουν σημαντικά υψηλότερο ποσοστό.



Εικόνα VI Δομικές ανωμαλίες στη δομή των ερυθρών αιμοσφαιρίων (RBC) που προκαλούνται από το αλκοόλ. (A) Τα κανονικά RBC έχουν ένα χαρακτηριστικό σχήμα που μοιάζει με δίσκο. το κύτταρο στο κέντρο είναι ένα ουδετερόφιλο. (B) Τα στοματοκύτταρα έχουν ένα ελάττωμα στις μεμβράνες τους που τα αναγκάζει να λάβουν σχήμα που μοιάζει με στόμα ή στόμια όταν τα βλέπουμε στο μικροσκόπιο. (Γ) Τα Spir κύτταρα χαρακτηρίζονται από προεξοχές που μοιάζουν με ακίδα που προκύπτουν από την αφομοίωση της περίσσειας χοληστερόλης στη μεμβράνη του κυττάρου.

Πίνακας I Οι επιδράσεις της αιθανόλης και των μεταβολιτών της στην ερυθροποίηση και τα ερυθρά αιμοσφαίρια.

Μόρια	Στόχοι	Υπάρχοντα	Αναφ.
Αιθανόλη	Έντερο	Ανεπάρκεια φυλλικού οξέος	Medici et al . 2013 [225]

Μόρια	Στόχοι	Υπάρχοντα	Αναφ.
Αιθανόλη	Πρόδρομοι ερυθροειδεΐς	Κενοτοπίωση και κυτταρικός θάνατος	Roselle <i>et al.</i> 1986 [226] Yeung <i>et al.</i> 1988 [184]
Αιθανόλη	Ερυθροβλάστες	Απόθεση σιδήρου και σιδηροβλάστες δακτυλίου, σιδηροβλαστική αναιμία	Pierce <i>et al.</i> 1976 [223] Lindenbaum <i>et al.</i> 1980 [221]
Αιθανόλη	Ερυθροκύτταρα	Αυξημένο MCV, μακροκυτταρική αναιμία	Seppä <i>et al.</i> 1991 [227] Maruyama <i>et al.</i> 2001 [228]
Οξική αλδεΐνη	Αιμοσφαιρίνη	Σχηματισμός προσαγωγών με αιμοσφαιρίνη Α	Stevens <i>et al.</i> 1981 [206]
Οξική αλδεΐνη	DNA	Αποκλεισμός μετάθεσης DNA	Yu <i>et al.</i> 2010 [229]
ROS	Ερυθροκύτταρα	Διαταραχή του κυτταροσκελετού των ερυθροκυττάρων, των στοματοκυττάρων και των κεντρικών κυττάρων	Morse <i>et al.</i> 1990 [230] Fukuda <i>et al.</i> 1991 [231] Koch <i>et al.</i> 2004 [232]
ROS	Ερυθροβλάστες	Διατάραξη της εκπυρήνωσης	Zhao <i>et al.</i> 2016 [233]
Αιθυλεστέρας λιπαρού οξέος	Ερυθροκύτταρα	Ενσωματώνεται στη μεμβράνη και προκαλεί αιμόλυση	Tyulina <i>et al.</i> 2002 [205]

8.3 Επίδραση της κατανάλωσης αλκοόλ στα λιπίδια και τις λιποδιαλυτές βιταμίνες στο αίμα

Έρευνες έχουν δείξει τη θετική συμβολή στην υγεία ορισμένης μέτριας κατανάλωσης αλκοόλ (μείωση κίνδυνου καρδιαγγειακών νοσημάτων, πέτρες στη χολή κλπ.).

Σύμφωνα με έρευνα που στόχευε στην διερεύνηση της επιρροής των διαφορετικών επιπέδων αλκοόλης στα συστατικά του αίματος, παρατηρήθηκε πως η κατανάλωση αλκοόλ με την κατάσταση των βιταμινών των κυττάρων του αίματος σχετίζονται. Στην παρούσα έρευνα, συμμετείχαν 28 εθελοντές που χωρίστηκαν σε τρεις ομάδες ανάλογα με την πρόσληψη αλκοόλ: μη πότες, μέτριοι πότες--κατανάλωση 20-60 g/ημέρα και βαρείς πότες--πάνω από 60 g/ημέρα, στους οποίους μετρήθηκαν η σύνθεση των φωσφολιπιδίων των ερυθροκυττάρων και των λιπαρών οξέων και οι λιποδιαλυτές βιταμίνες του πλάσματος. Από την έρευνα αυτή, προέκυψε πως μια μέτρια κατανάλωση αλκοόλ δεν επιδρά σημαντικά στη σύνθεση των λιπαρών οξέων και των φωσφολιπιδίων των ερυθρών αιμοσφαιρίων. Σημαντική επιρροή εμφανίζεται στην κατάσταση των βιταμινών για την επιβεβαίωση της όμως είναι αναγκαία η αξιολόγηση άλλων παραμέτρων που εμπλέκονται όπως η σωματική δραστηριότητα, ο τρόπος ζωής και οι διατροφικές συνήθειες των εθελοντών που εξετάστηκαν. (Simonetti P, 1993)

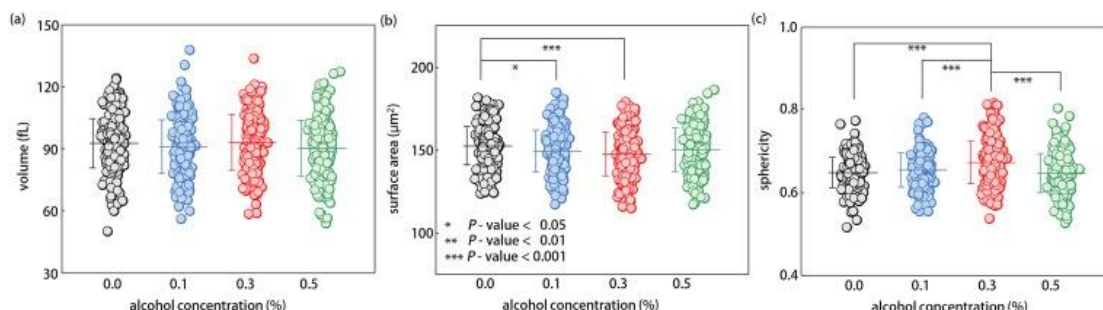
8.4 Επιδράσεις αιθανόλης στη μορφολογία των RBC

Η αιθανόλη είναι υπεύθυνη για σημαντικές αλλοιώσεις στα κύτταρα, στους ιστούς και στα όργανα, προκαλώντας αναδιαμόρφωση και ρευστοποίηση της κυτταρικής μεμβράνης σε διάφορους τύπους κυττάρων καθώς και σε κυστίδια λιπιδίων.

Σύμφωνα με μελέτη στην οποία αναφέρονται οι επιπτώσεις της έκθεσης των ανθρώπινων ερυθρών αιμοσφαιρίων (RBC) σε αιθανόλη σε επίπεδο μεμονωμένων κυττάρων και που πραγματοποιήθηκε ταυτόχρονη μέτρηση των βιοχημικών, εμβιομηχανικών και μορφολογικών ιδιοτήτων μεμονωμένων ανθρώπινων RBC σε μια ομάδα ελέγχου (control) (0,0% v/v) και σε μια θανατηφόρα συνθήκη αιθανόλης (0,5% v/v), οι μετρήσεις του όγκου των RBCs αποκαλύπτουν πως δεν υπάρχουν στατιστικές διαφορές στον όγκο των ερυθρών αιμοσφαιρίων που εκτίθενται σε διάφορες ομάδες αιθανόλης και όλες οι μετρούμενες τιμές ήταν εντός του φυσιολογικού εύρους.

Για τις παραπάνω μετρήσεις χρησιμοποιήθηκαν τεχνικές ποσοτικής απεικόνισης φάσης (QPI), συμβολομετρικής μικροσκοπίας (για τη μέτρηση των καθυστερήσεων οπτικής

φάσης), οι χάρτες του τρισδιάστατου δείκτη διάθλασης (RI) και οι δυναμικές διακυμάνσεις της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων που εκτέθηκαν σε διάφορες συγκεντρώσεις αιθανόλης μετρήθηκαν συστηματικά. (Sang Yun Lee, 2015)



Εικόνα VII (α) Όγκος, (β) Επιφάνεια και (γ) Σφαιρικότητα. Κάθε κύκλος υποδεικνύει μετρήσεις μεμονωμένων μετρήσεων RBC. Η μέση τιμή κάθε μορφολογικής παραμέτρου RBC συμβολίζεται ως η οριζόντια γραμμή με την κατακόρυφη ράβδο για την τυπική απόκλιση.

Πίνακας II Μετρήσεις του όγκου, της μέσης επιφάνειας και της μέσης σφαιρικότητας των RBC.

ΑΙΘΑΝΟΛΗ % (v/v)	0,0%	0,1%	0,3%	0,5%
Μέσος Όγκος RBC(fL)	92,7 ± 11,9	91,0 ± 12,9	93,0 ± 13,3	90,1 ± 13,3
Μέση τιμή επιφάνειας RBC (μm ²)	152,6 ± 11,6	149,3 ± 12,6	147,4 ± 13,2	150,1 ± 13,1
Μέση σφαιρικότητα RBC	0,65 ± 0,04	0,65 ± 0,04	0,67 ± 0,05	0,65 ± 0,05

Οι ελάχιστες αλλαγές στον όγκο των ερυθρών αιμοσφαιρίων υπό την έκθεσή τους σε αιθανόλη έως και 0,5% συμφωνούν με μια προηγούμενη αναφορά μη ανιχνεύσιμων αλλαγών MCV με την χρήση του κυτταρομέτρου ροής. Το αποτέλεσμα αυτό αντιτίθεται με το γεγονός ότι στους χρόνιους αλκοολικούς τα RBC εμφανίζουν σημαντικά μεγάλο MCV. Ωστόσο, η μακροκυττάρωση που σχετίζεται με αυτό το αυξημένο MCV σε χρόνιους αλκοολικούς είναι πιθανό να μην σχετίζεται με τις στιγμιαίες επιδράσεις της έκθεσης των RBC σε αιθανόλη αλλά να σχετίζεται κυρίως με την ανεπάρκεια φολικού οξέος που προκαλείται από χρόνια κατάποση αλκοόλ.

Συλλογικά, δεν υπήρξαν απότομες και ακραίες αλλαγές στη μορφολογία RBC, με *in-vitro* θεραπείες αιθανόλης έως και 0,5% και αυτά τα αποτελέσματα είναι σύμφωνα με προηγούμενες ποιοτικές μελέτες. Με τη τεχνική cDOT (Οπτική τομογραφία περίθλασης κοινής διαδρομής), όπου μετρήθηκαν μεμονωμένα κύτταρα, συμπεραίνουμε ότι οι μορφολογικές, βιοχημικές και μηχανικές ιδιότητες των ερυθρών αιμοσφαιρίων επηρεάζονται από τα μόρια της αιθανόλης με δοσοεξαρτώμενο τρόπο. (Sang Yun Lee, 2015)

Σύμφωνα με άλλες μελέτες, έχει αποδειχθεί πως σε χαμηλές συγκεντρώσεις τα μόρια της αλκοόλης παραμένουν στο επιφανειακό στρώμα της κυτταρικής μεμβράνης, ενώ όσο η συγκέντρωση της αλκοόλης αυξάνεται τόσο τα μόρια της εισέρχονται στα βαθύτερα στρώματα της μεμβράνης έως τον υδρόφοβο πυρήνα της. Επίσης, έχει αναφερθεί πως όσο μεγαλύτερη είναι η υδρόφοβη αλυσίδα του μορίου της αλκοόλης τόσο πιο εύκολη είναι η εισαγωγή της στο εσωτερικό της λιπιδικής διπλοστιβάδας. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός πως η μειωμένη ρευστότητα του πυρήνα της μεμβράνης σχετίζεται με την έναρξη της αιμόλυσης καθώς όσο αυξάνεται το μήκος της αλυσίδας της αλκοόλης και ο συντελεστής κατανομής τόσο αυξάνεται το αιμολυτικό δυναμικό της. (Sonmez M, 2013)

Μια από τις επιδράσεις της αλκοόλης είναι η εχνοκυττάρωση, η οποία αυξάνεται με την αύξηση της συγκέντρωσης της αιθανόλης και της προπανόλης. Πιθανές μεταβολές στην ωσμωτικότητα του μέσου εναιώρησης των ερυθροκυττάρων αποτελούν αιτία της εχνοκυττάρωσης, καθώς σε μεγάλες συγκεντρώσεις τα μόρια αλκοόλης μπορούν να μεταβάλλουν σημαντικά τις ωσμωτικές ιδιότητες του μέσου. Άλλη μια πιθανή αιτία εχνοκυττάρωσης αποτελεί η ενσωμάτωση των μορίων αλκοόλης στο εξωτερικό φύλλο της κυτταρικής μεμβράνης των RBC με την επιρροή της να εξαρτάται από το μοριακό βάρος της αλκοόλης. (Sonmez M, 2013)

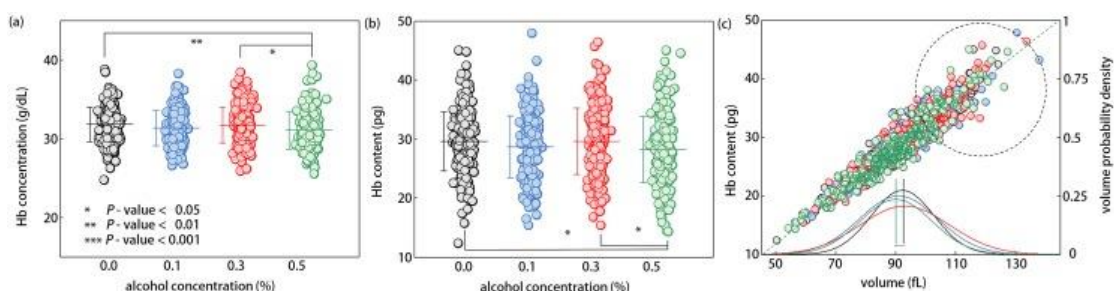
8.5 Επιδράσεις αιθανόλης στις βιοχημικές ιδιότητες μεμονωμένων ερυθρών αιμοσφαιρίων

Για την ταυτόχρονη διερεύνηση των επιδράσεων της αιθανόλης στο κυτταρόπλασμα των ερυθρών αιμοσφαιρίων αλλά και ποσοτικά, ανακτήθηκε η ενδοκυτταρική συγκέντρωση Hb και η περιεκτικότητα σε Hb μεμονωμένων RBC.

Επειδή, η συγκέντρωση Hb είναι γραμμικά ανάλογη με τη διαφορά RI μεταξύ του κυτταροπλάσματος RBC και του περιβάλλοντος μέσου, υπολογίστηκε από την ανακατασκευασμένη κατανομή RI των RBC. Η περιεκτικότητα κυτταροπλασματικής Hb μεμονωμένων RBC ελήφθη από τον ανακτηθέντα όγκο και τη συγκέντρωση Hb. (Sang Yun Lee, 2015)

Σε συνέχεια της παραπάνω έρευνας, μετρήσεις 3D τομογραφημάτων RI έδειξαν ότι η μέση συγκέντρωση Hb των ερυθρών αιμοσφαιρίων σε συνθήκες 0,5% αιθανόλη (θανατηφόρες) ήταν σημαντικά χαμηλότερη από αυτή των ερυθρών αιμοσφαιρίων ελέγχου (control). Η μείωση μπορεί να οφείλεται σε εισροή νερού ή σε απώλεια Hb στο κυτταρόπλασμα του RBC. Επομένως, οι μικρές μεταβολές του όγκου με την έκθεση του κυττάρου στην αιθανόλη

υποδεικνύουν πως η μείωση της συγκέντρωσης της Hb οφειλόταν κυρίως σε απώλεια μορίων Hb από διεργασίες όπως η κυστοποίηση ή η αποδόμηση της Hb.



Εικόνα VIII (α) Συγκέντρωση RBC Hb, (β) Περιεκτικότητα σε RBC Hb και (γ) χάρτης συσχέτισης μεταξύ της περιεκτικότητας σε Hb και του όγκου, με τις αντίστοιχες καμπύλες πυκνότητας πιθανότητας όγκου. Κάθε κύκλος υποδεικνύει μια μεμονωμένη μέτρηση RBC.

Πίνακας III Μετρήσεις της συγκέντρωσης Hb και της περιεκτικότητας σε Hb των ερυθροκυττάρων.

ΑΙΘΑΝΟΛΗ % (v/v)	0,0%	0,1%	0,3%	0,5%
Συγκέντρωση Hb RBC (g/dL)	31,8 ± 2,2	31,3 ± 2,2	31,7 ± 2,3	31,1 ± 6,8
Περιεκτικότητα σε Hb RBC (pg)	2,4 g ± ./.d	2,4 g ± ./.d ± 2,4 g. 5,3	29,6 ± 5,6	28,2 ± 5,6 pg

Οι κόκκινες τιμές αφορούν τυπογραφικό λάθος των συγγραφέων της έρευνας.

Από τις παραπάνω μετρήσεις φαίνεται πως τόσο η μέση συγκέντρωση όσο και η περιεκτικότητα σε Hb για τα ερυθρά αιμοσφαίρια που εκτέθηκαν σε θανατηφόρα συγκέντρωση αιθανόλης (0,5% v/v) ήταν σημαντικά χαμηλότερα από εκείνα των RBC σε ομάδες αιθανόλης 0,0 και 0,3%.

Όλα τα RBC, ανεξαρτήτως την συγκέντρωση αλκοόλης στην οποία εκτέθηκαν, εμφάνισαν μια γραμμική θετική συσχέτιση μεταξύ του όγκου των κυττάρων και της περιεκτικότητας σε Hb, υποδεικνύοντας ότι η συγκέντρωση της Hb δεν μεταβλήθηκε πολύ κατά την έκθεση στην αιθανόλη.

Υπήρχαν λίγα μόνο ερυθρά αιμοσφαίρια από την κατάσταση αιθανόλης 0,5% (οι πράσινοι κύκλοι) εντός του εύρους υψηλής περιεκτικότητας σε Hb έναντι όγκου (ο διακεκομμένος μαύρος κύκλος), σε σύγκριση με τα ερυθρά αιμοσφαίρια των υπόλοιπων ομάδων θεραπείας με αιθανόλη και την ομάδα ελέγχου που εκτείνεται σε ευρεία περιεκτικότητα σε Hb έναντι του εύρους όγκου. (Sang Yun Lee, 2015)

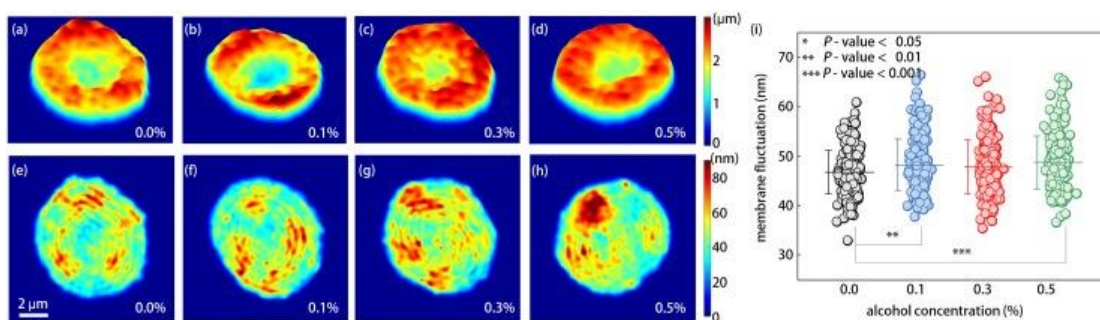
Άλλη μια εξήγηση που προκύπτει από την μείωση των τιμών της Hb σε συγκέντρωση αιθανόλης 0,5% σχετικά με τη σφαιρικότητα και την επιφάνεια των RBCs είναι η εχνοκυττάρωση καθώς και η πιθανή σύνδεση της φυσιολογικά θανατηφόρας κατάστασης με μια συγκεκριμένη συγκέντρωση αιθανόλης (0,5%). Επίσης, η απώλεια μορίων Hb από

το κυτταρόπλασμα των RBC σε συνθήκες υψηλών συγκεντρώσεων αιθανόλης, θα μπορούσε να συσχετιστεί με την υπερφόρτωση σιδήρου που παρατηρείται μεταξύ των καταναλωτών αλκοόλ. (Sang Yun Lee, 2015)

Συμπερασματικά, τα ερυθρά αιμοσφαίρια που εκτέθηκαν σε συγκέντρωση θανατηφόρου αιθανόλης 0,5% εμφάνισαν στατιστικά μειωμένη κυτταροπλασματική συγκέντρωση Hb και περιεκτικότητα σε Hb, σε σύγκριση με εκείνα των ερυθρών αιμοσφαιρίων ελέγχου που πιθανώς συνδέεται με την αύξηση της σφαιρικότητας και του πληθυσμού των εχνοκυττάρων σε αυτό το επίπεδο αιθανόλης.

8.6 Επίδραση της αιθανόλης στην παραμορφωσιμότητα των RBC

Σύμφωνα με την παραπάνω έρευνα, για την διερεύνηση των επιδράσεων της αιθανόλης στην παραμόρφωση των RBC, μετρήθηκαν οι δυναμικές διακυμάνσεις της μεμβράνης μεμονωμένων RBC με τη χρήση της τεχνικής cDOT.



Εικόνα IX (a–d) Δισδιάστατοι χάρτες ύψους μεμβράνης των αντιπροσωπευτικών μεμονωμένων RBC στις συγκεντρώσεις (a) 0,0%, (b) 0,1%, (c) 0,3% και (d) 0,5% αιθανόλης. (e–h) Δισδιάστατοι χάρτες διακυμάνσεων εκτός μεμβράνης των αντίστοιχων τεσσάρων RBC στο (a–d). (i) Δυναμικές διακυμάνσεις μεμβράνης για όλα τα μετρούμενα RBC. Ο έγχρωμος κύκλος υποδεικνύει μια μεμονωμένη μέτρηση κελιών. Η μέση διακύμανση της μεμβράνης για κάθε ομάδα αιθανόλης συμβολίζεται ως οριζόντια γραμμή και η τυπική απόκλιση αντιπροσωπεύεται από την κατακόρυφη ράβδο.

Πίνακας IV Μετρήσεις των μέσων διακυμάνσεων της μεμβράνης των ερυθροκυττάρων.

ΑΙΘΑΝΟΛΗ % (v/v)	0,0%	0,1%	0,3%	0,5%
Μέσες Διακυμάνσεις της μεμβράνης των RBCs (nm)	46,7 ± 4,4	48,2 ± 5,2	47,9 ± 5,5	48,7 ± 5,3

Τα αποτελέσματα καθιστούν εμφανή την ενίσχυση της παραμορφωσιμότητας των ερυθρών αιμοσφαιρίων εξαιτίας της αιθανόλης, γεγονός που συμφωνεί ποιοτικά με άλλες αναφορές σχετικά με την αυξημένη ρευστότητα της μεμβράνης με βάση τις τεχνικές φασματοσκοπίας EPR, ανισοτροπίας φθορισμού και του αυξημένου δείκτη επιμήκυνσης στα ερυθρά αιμοσφαίρια από αιθανόλη (τουλάχιστον έως 4% v/v), χρησιμοποιώντας εκτατομετρία περίθλασης λείζερ. (Sang Yun Lee, 2015)

Η ικανότητα παραμόρφωσης των ερυθρών αιμοσφαιρίων είναι ζωτικής σημασίας για να περνούν μέσα από τα τριχοειδή αγγεία και να μεταφέρουν οξυγόνο σε διάφορα όργανα.

Η παραμόρφωση τους είναι εφικτή χάρη στις μηχανικές ιδιότητες του φλοιού της κυτταρικής μεμβράνης, το ιξώδες του κυτταροπλάσματος και την αναλογία όγκου προς επιφάνεια.

Οι μετρήσεις της παρούσας μελέτης υποδεικνύουν ότι η αιθανόλη ενισχύει της παραμορφωσιμότητα των ερυθρών αιμοσφαιρίων, καθώς με την μείωση της Hb μειώνεται το κυτταροπλασματικό ιξώδες αποτέλεσμα που συμφωνεί με πολλές άλλες μελέτες που ως τεχνικές είχαν χρησιμοποιήσει φασματοσκοπία συντονισμού EPR ή ανισοτροπία φθορισμού.

Ταυτόχρονα όμως, με την απώλεια επιφάνειας υπό ήπια έκθεση σε αιθανόλη (0,1%, 0,3% v/v) αυξάνεται η σφαιρικότητα των κυττάρων και είναι πιθανή η επιδείνωση της παραμορφωσιμότητας των RBCs.

Η ταυτόχρονη αντίθεση των μορφολογικών (επιφάνειας και σφαιρικότητας), βιοχημικών (συγκέντρωση Hb και περιεκτικότητα Hb) μηχανικών (διακύμανση της μεμβράνης) παραμέτρων που επηρεάζουν την παραμορφωσιμότητα των ερυθρών αιμοσφαιρίων κατά την έκθεση του σε αιθανόλη συμβάλλει στην μικρή μεταβολή της παραμόρφωσης των RBC σε υψηλές συγκεντρώσεις αιθανόλης 0,5%.

Από την αυξημένη διακύμανση της μεμβράνης φαίνεται πως και σε χαμηλότερη συγκέντρωση αιθανόλης <0,5% αρχίζει να ενισχύεται η παραμόρφωση των ερυθρών αιμοσφαιρίων. (Sang Yun Lee, 2015)

Με βάση άλλες μελέτες, οι αλκοόλες εμφανίζουν διφασικές επιδράσεις στην παραμορφωσιμότητα των RBC, δηλαδή η παραμορφωσιμότητα των ερυθροκυττάρων αυξάνεται σε χαμηλές συγκεντρώσεις αλκοόλης και μειώνεται σε υψηλές. Σε υψηλές συγκεντρώσεις μειώνουν την μηχανική σταθερότητα των ερυθρών αιμοσφαιρίων, όπως φαίνεται από την μείωση της παραμορφωσιμότητας. Επίσης, η ρευστότητα του επιφανειακού στρώματος της μεμβράνης αυξάνεται σε χαμηλές συγκεντρώσεις, ενώ μειώνεται το βαθύτερο στρώμα, ο υδρόφοβος πυρήνας.

9. Ήπαρ

Το Ήπαρ (Συκώτι) είναι το μεγαλύτερο στερεό όργανο του ανθρώπινου σώματος. Βρίσκεται στο δεξιό άνω τμήμα της κοιλιακής χώρας, κάτω από το διάφραγμα, στο πάνω μέρος του στομάχου, του δεξιού νεφρού και του λεπτού και παχέος εντέρου. Έχει σκούρο ερυθρό καφέ

χρώμα. Ζυγίζει περίπου 1,5 κιλό και συγκρατεί το 13% του συνολικού αίματος που υπάρχει στο σώμα μας. (PROMITHEAS ASSOCIATION OF LIVER PATIENTS, 2012)

9.1 Ανατομία ήπατος

Το ήπαρ αποτελείται από δύο βασικούς λοβούς, ο κάθε ένας εκ των οποίων αποτελείται από 8 τμήματα. Κάθε τμήμα έχει περίπου χίλιους λοβίσκους, οι οποίοι συνδέονται με μικρούς αγωγούς και αυτοί με μεγαλύτερους και σχηματίζεται ο κοινός ηπατικός αγωγός. Ο κοινός ηπατικός αγωγός μεταφέρει τη χολή (παράγεται από τα κύτταρα του ήπατος) στη χοληδόχο κύστη και στο δωδεκαδάκτυλο (πρώτο μέρος του λεπτού εντέρου), μέσω του κοινού χολικού αγωγού.

Τα ηπατοκύτταρα καταλαμβάνουν το 60% των κυττάρων του ήπατος, απομακρύνουν βλαβερές ουσίες από το αίμα, απορροφούν θρεπτικά συστατικά και αποτοξινώνουν τον οργανισμό. Ένα ηπατοκύτταρο έχει διάρκεια ζωής περίπου 150 ημέρες. (PROMITHEAS ASSOCIATION OF LIVER PATIENTS, 2012)

9.2 Λειτουργίες των ηπατοκυττάρων

Το ήπαρ επιτελεί πολλές λειτουργίες συγκεκριμένα παραπάνω από 500. Ορισμένες από αυτές είναι οι εξής :

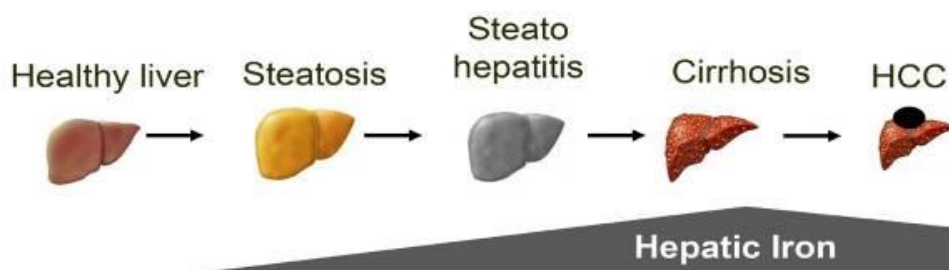
- «Καθαρίζει» το αίμα από φάρμακα, ουσίες και τη χολερυθρίνη.
- Ελέγχει την διαδικασία πήξης του αίματος και τα επίπεδα αμινοξέων στο αίμα.
- Συμβάλλει στη πρόληψη λοιμώξεων με την απομάκρυνση βακτηρίων από το αίμα και την παραγωγή ανοσοποιητικών παραγόντων.
- Αποσπά το σίδηρο από το μόριο της αιμοσφαιρίνης και το αποθηκεύει.
- Μετατρέπει την αμμωνία σε ουρία, η οποία έπειτα αποβάλλεται από τον οργανισμό με τα ούρα.
- Δημιουργεί τη χολή, η οποία συμβάλλει στη διάσπαση των λιπών στο λεπτό έντερο και στη μεταφορά των αποβληθέντων ουσιών.
- Παρασκευάζει κάποιες πρωτεΐνες αναγκαίες για το πλάσμα του αίματος, καθώς και πρωτεΐνες αναγκαίες για τη μεταφορά των λιπιδίων μέσα στο σώμα και χοληστερόλη. (PROMITHEAS ASSOCIATION OF LIVER PATIENTS, 2012)

9.3 Αλκοολική ηπατική νόσος

Αλκοολική ηπατοπάθεια ονομάζεται η νόσος του ήπατος που οφείλεται στη χρόνια έκθεση-κατανάλωση αλκοόλ και προκαλεί φλεγμονή και διόγκωση στο ήπαρ. Η βλάβη αυτή συχνά οδηγεί σε μια κατάσταση που ονομάζεται κίρρωση του ήπατος και αποτελεί το τελικό στάδιο της νόσου.

Το ήπαρ αποτελεί το κυριότερο όργανο το οποίο βρίσκεται σε κίνδυνο από την συνεχή και χρόνια κατανάλωση αλκοόλ και κατά συνέπεια η αλκοολική ηπατική νόσος (ALD) που προκαλείται είναι η πιο κοινή ηπατική νόσος διεθνώς. Σύμφωνα με τα δεδομένα του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας οι θάνατοι από το ήπαρ σε ποσοστό μεγαλύτερο του 40% αποδίδονται στο αλκοόλ.

Η ALD αποτελείται από συγκεκριμένα στάδια τα οποία περιλαμβάνουν διαδοχικά την στεάτωση, την στεατοηπατίτιδα, την ηπατική ίνωση και την κίρρωση, με το τελικό στάδιο να φαίνεται το ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα (**Εικόνα X**). Αναφέρεται πως μόνο το 10-20% των ασθενών με στεάτωση (μια συνήθη σταθερή εικόνα ατόμων που πίνουν πολύ) αναπτύσσουν στο τέλος κίρρωση. Επίσης, στην παρακάτω εικόνα φαίνεται ακόμη ένα βασικό χαρακτηριστικό της νόσου, η ηπατική συσσώρευση σιδήρου με το πέρασμα του χρόνου και τη μετάβαση των σταδίων της νόσου, η οποία αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα για την εξέλιξή της. (Mueller S, 2022)



Εικόνα X Η αλκοολική ηπατική νόσος εξελίσσεται από στεάτωση σε κίρρωση. Όλα τα στάδια δείχνουν ευδιάκριτα σημάδια υπερφόρτωσης σιδήρου. HCC: ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα.

9.4 Τα στάδια της αλκοολικής ηπατικής νόσου (ALD)

Οι κύριοι παθογόνοι παράγοντες που προκαλούν την ανάπτυξη λιπώδους αλκοολικού ήπατος είναι τέσσερις:

1. Αυξημένη παραγωγή NADH
2. Ενισχυμένη ηπατική εισροή ελεύθερων λιπαρών οξέων (από τον λιπώδη ιστό) και χυλομικρών (από τον εντερικό βλεννογόνο)

3. Η αναστολή της δραστηριότητας της ενεργοποιημένης κινάσης από μονοφωσφορική αδενοσίνη (AMPK), λόγω της αιθανόλης
4. Βλάβη των μιτοχονδρίων και των μικροσωληνίσκων από την ακεταλδεΐδη.

1. Προκαλείται από την οξείδωση της αλκοόλης, ευνοεί την σύνθεση τριγλυκεριδίων, λιπαρών οξέων και αναστέλλει την μιτοχονδριακή β-οξείδωση των λιπαρών οξέων. Η σύνδεση της ακεταλδεΐδης με πρωτεΐνες και DNA έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος και τον σχηματισμό αυτοαντιγόνων μέσω των λειτουργικών αλλοιώσεων και των πρωτεϊνικών προϊόντων προσθήκης που προκαλούνται από την παραπάνω σύνδεση.

2. Δημιουργία των ROS και υπεροξείδωση λιπιδίων με σχηματισμό προσθήκης DNA. Πηγές δημιουργίας ROS αποτελούν το κυτόχρωμα CYP2E1 MEOS, το σύστημα μεταφοράς ηλεκτρονίων της αναπνευστικής αλυσίδας των μιτοχονδρίων, η αναγωγή του κυτοχρώματος που εξαρτάται από NADH και η οξειδάση της ξανθίνης. Η χρόνια κατανάλωση αλκοόλ ρυθμίζει το CYP2E1, το οποίο πραγματοποιεί τον μεταβολισμό της αιθανόλης σε ακεταλδεΐδη και παράλληλα δημιουργεί ROS και ρίζες υδροξυλ-αιθυλίου.

3. Προκαλεί αυξημένη λιπογένεση και μειωμένη λιπόλυση, αφού αναστέλλει τον πολλαπλασιαστικό υποδοχέα α (PPARα). Τα ROS και οι μεταβολίτες του αλκοόλ διεγείρουν μονοπάτια σηματοδότησης σε ηπατικά κύτταρα και έτσι οδηγούν στην σύνθεση φλεγμονωδών μεσολαβητών (πχ. Χημειοκίνες, οστεοποντίνη). Η κατανάλωση αλκοόλ επηρεάζει τη μικροχλωρίδα του παχέος εντέρου, αυξάνει τη διαπερατότητά του και προκαλεί αύξηση στα επίπεδα λιποπολυσακχαριτών στον ορό. Στο αλκοολικό ήπαρ επικρατεί ένα φλεγμονώδες περιβάλλον που οδηγεί στον σχηματισμό ROS, στην πολυμορφοπυρηνική διήθηση και την ηπατοκυτταρική βλάβη.

4. Αποτέλεσμά της είναι η μείωση της οξείδωσης του NADH και την συσσώρευση σε VLDL, αντίστοιχα.

Η ανάπτυξη φλεγμονής (ASH) αφορά κυρίως την παρεγχυματική φλεγμονή (από πολυμορφοπύρρηνα κύτταρα) και την ηπατοκυτταρική βλάβη που αναπτύσσεται από το αλκοολικό λιπώδες ήπαρ και αποτελεί βασική προϋπόθεση για την εξέλιξη της νόσου σε ίνωση και κίρρωση.

Κακή πρόγνωση έχουν οι περιπτώσεις σοβαρής αλκοολικής ηπατίτιδας (AH). Η ακεταλδεΐδη προκαλεί τοξικότητα και λιποτοξικότητα, η οποία μπορεί να οδηγήσουν στην εμφάνιση ASH και AH. (Mueller S, 2022)

9.5 Ανεξήγητα εργαστηριακά ευρήματα των ασθενών με ALD

- Συχνά αυξημένη γλουταμυλοτρανσφεράση (GGT)
- Υψηλό GOT/GPT
- Αυξημένος μέσος όγκος ερυθρών αιμοσφαιρίων (MCV)
- Αυξημένη φερριτίνη (κατά 15% , >1000ng/mL)
- Ελαφρώς μειωμένη αιμοσφαιρίνη (Hb)

Τα παραπάνω ευρήματα εξαρτώνται αναλόγως από το στάδιο της νόσου.

Κατά την ανάπτυξη κίρρωσης έχουν ως εξής:

- Μείωση τρανσαμινασών έως ομάλυνση
- Υψηλότερο GOT ως GPT
- Αυξημένη χολερυθρίνη (συζευγμένη) (Mueller S, 2022)

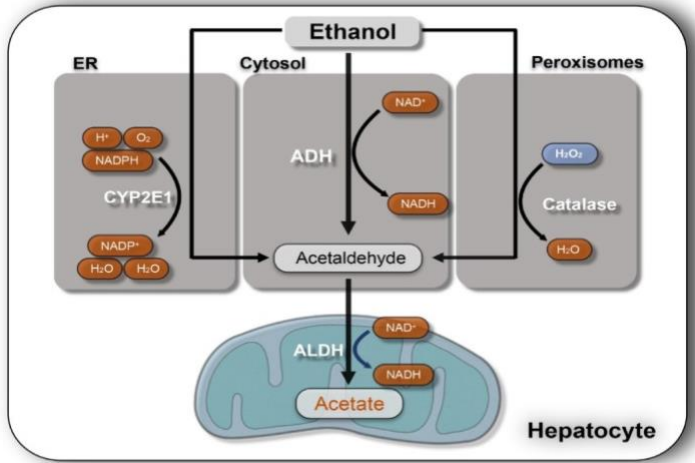
9.6 Μεταβολισμός του αλκοόλ στο ήπαρ

Το ήπαρ είναι το κύριο όργανο το οποίο μεταβολίζει το αλκοόλ στον ανθρώπινο οργανισμό. Συγκεκριμένα, τα ηπατοκύτταρα τα οποία αποτελούν περίπου το 70% της ηπατικής μάζας οξειδώνουν την αιθανόλη σε οξική με τρεις οδούς (**Εικόνα XI**).

Στα ηπατοκύτταρα εκφράζονται τα υψηλότερα επίπεδα των κύριων οξειδωτικών ενζύμων της αιθανόλης:

1. Η αλκοολική αφυδρογονάση (ADH) που βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα.
2. Το κυτόχρωμα P450 2E1 (CYP2E1), που εδρεύει στο λείο ενδοπλασματικό δίκτυο (ER) των ηπατοκυττάρων και προκαλείται έντονα στους πότες.
3. Η ηπατική υπεροξεισωμική καταλάση (CAT), η οποία αποσυνθέτει το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2). Η οδός αυτή αποτελεί μια σχετικά μικρή οδό του μεταβολισμού της αιθανόλης.

Η μεγαλύτερη λειτουργία οξείδωσης της αιθανόλης παρουσιάζεται στον εγκέφαλο. (Mueller S, 2022)



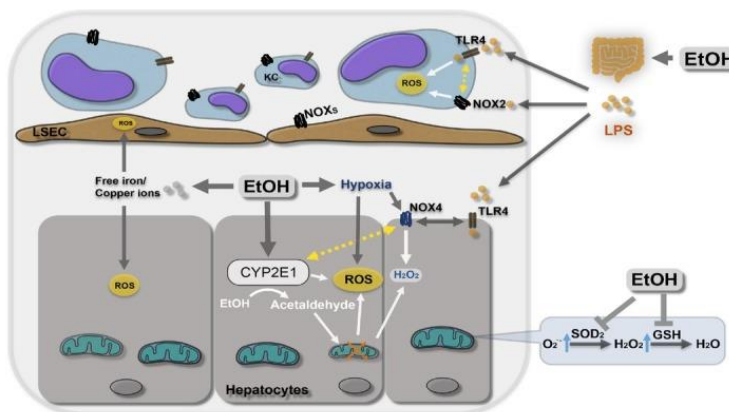
Εικόνα XI Τρεις κύριες οδοί οξειδωσης αιθανόλης στο ήπαρ.

9.7 Οξειδωτικό στρες στην ALD

Το οξειδωτικό στρες είναι μια κατάσταση που ορίζεται ως μια ανισορροπία σε αντιδραστικά προοξειδωτικά και αντιοξειδωτικά είδη και οδηγεί σε βλάβη των μακρομορίων των κυττάρων. Προκαλείται από το αλκοόλ και συμβάλλει στην πρόκληση της αλκοολικής ηπατικής νόσου (ALD). Σημαντικό ρόλο έχουν τα αντιδραστικά είδη οξυγόνου (ROS) τα οποία προωθούν την φλεγμονή, την απόπτωση, την νέκρωση και την καρκινογόνο βλάβη του DNA στην νόσο. Τα ROS σχηματίζονται από διάφορες οδούς έπειτα από την δράση του αλκοόλ (

Εικόνα XII):

- 1) Το κυτόχρωμα P450 2E1 (CYP2E1),
- 2) Φλεγμονή από το αλκοόλ,
- 3) Ενζυμικούς και μη μηχανισμούς in vivo.



Εικόνα XII Μεταβολισμός αιθανόλης και σχηματισμός ROS.

Η υπερπαραγωγή των ROS έχει συσχετιστεί με δομικές και λειτουργικές ανωμαλίες των μιτοχονδρίων των ηπατικών κυττάρων που προκαλούνται έπειτα από χρόνια κατανάλωση αλκοόλ. (Mueller S, 2022)

B. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

1. Υλικά και Μέθοδοι

Στη παρούσα έρευνα χρησιμοποιήθηκαν δείγματα από ασθενείς με αλκοολική ηπατική νόσο, κυρίως νοσηλευόμενων ασθενών, σε συνεργασία με το «Ιπποκράτειο» Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών, αλλά και υγιών ανθρώπων με παρόμοια ηλικία και ίδιο φύλο με αυτό των ασθενών. Τα δείγματα των υγιών ατόμων χρησιμοποιήθηκαν ως δείγματα ελέγχου (μάρτυρες - controls). Όλα τα δείγματα εξετάζονταν την ίδια μέρα της λήψης τους και συγκεκριμένα 1-2 ώρες έπειτα από αυτή, στη διαδικασία της ελεύθερης αιμοσφαιρίνης (Hb) πλάσματος και την κρυσταλλοποίηση, ενώ αξιολογήθηκαν και τα αποτελέσματα από την γενική εξέταση αίματος. Συνολικά αναλύθηκαν 9 δείγματα ασθενών με αλκοολική ηπατοπάθεια και 6 δείγματα υγιών ανθρώπων.

1.1 Όργανα και Συσκευές

- Αιματολογικός Αναλυτής Convergys X3 NG
- Επιτραπέζια μικροφυγόκεντρος Thermo Fisher Scientific Pico 17
- Ψυχόμενη Επιτραπέζια Φυγόκεντρος Thermo Scientific SL1 Plus Centrifuge Series
- Ψυχόμενη Επιτραπέζια Φυγόκεντρος Hettich Mikro 22R
- Φασματοφωτόμετρο Biochrom Novaspec 4049, LKB
- Vortex Velp Scientifica ZX3
- Ψηφιακές μικροπιπέτες ρυθμιζόμενου όγκου Bio – Rad
- Μηχανή για πάγο gmgastro
- Υδατόλουτρο Thermo Elect.LED

1.2. Χημικά Αντιδραστήρια

- Water for injection (WFI)
- 0,9% NaCl
- Buffer sucrose 0,7 M
- Απεσταγμένο νερό dH₂O

1.3 Αναλώσιμα

- Eppendorfs όγκου 1.5mL
- Ρύγχη Πιπέτας (tips) 100 – 1000μl (μπλε) τύπου Eppendorf
- Ρύγχη Πιπέτας (tips) 20 – 200μl (κίτρινα) τύπου Eppendorf
- Κυβέτες Φασματοφωτόμετρου
- Γυάλινα σωληνάρια φυγόκεντρου στρογγυλά 10 – 15ml, χωρίς χείλος

2. Εργαστηριακές μέθοδοι

2.1 Ελεύθερη Hb πλάσματος

Η διαδικασία αυτή πραγματοποιείται με σκοπό την ανίχνευση της αιμοσφαιρίνης στο υγρό μέρος του αίματος (πλάσμα, ορός), δηλαδή την αιμοσφαιρίνη που υπάρχει έξω από τα ερυθροκύτταρα. Αφορά μια διαταραχή κατά την οποία ανιχνεύεται μικρός αριθμός ερυθροκυττάρων λόγω της ανώμαλης διάσπασής τους.

Κανονικά η αιμοσφαιρίνη περιέχεται στα ερυθρά αιμοσφαίρια και σημαντικές ποσότητες «ελεύθερης αιμοσφαιρίνης» δεν υπάρχει στο πλάσμα. Είναι πιθανό να υπάρξει μια μικρή ποσότητα στατιστικά μη σημαντική εξαιτίας της διαταραχής που προκαλείται κατά την αιμοληψία. Το πλάσμα σε υγιή άτομα περιέχει έως και 5mg/dL αιμοσφαιρίνη. Υψηλότερες τιμές υποδεικνύουν αιμολυτική αναιμία, χαμηλό αριθμό RBC εξαιτίας της νωρίτερης διάσπασης των ερυθροκυττάρων, διαταραχή αίματος στην οποία τα ερυθροκύτταρα καταστρέφονται με την απότομη αλλαγή θερμοκρασίας κ.α.

Το πειραματικό μέρος περιλαμβάνει τα εξής (Πρωτόκολλο κατά Harboe του 1956):

1. Φυγοκέντρηση ολικού αίματος με αντιπηκτικό (EDTA) σε 1.000 G για 10 min σε θερμοκρασία δωματίου (RT)
2. Αφαίρεση υπερκείμενου (πλάσματος) και τοποθέτησή του σε νέο Eppendorf
3. Αραίωση του πλάσματος 1:10 (900λ WFI + 100λ πλάσμα)
4. Vortex
5. Επώαση για 30min στον πάγκο
6. Μέτρηση απορρόφησης στα 380nm, 415nm, 450nm (Μηδενίζουμε το φωτόμετρο με απεσταγμένο νερό).

2.2 Κρυοαιμόλυση

Με τη συγκεκριμένη μέθοδο ελέγχεται η αντοχή των ερυθροκυττάρων στην απότομη αλλαγή περιβάλλοντος και συγκεκριμένα στην αλλαγή της θερμοκρασίας (από ψυχρές σε θερμές θερμοκρασίες). Πραγματοποιείται μέτρηση της αιμοσφαιρίνης που απελευθερώνεται έπειτα από την διάσπαση (καταστροφή – λύση) των ερυθρών αιμοσφαιρίων τα οποία υπόκεινται σε απότομες μεταβολές θερμοκρασίας, από τους 4°C στους 37°C (σε υδατόλουτρο) και αντίστροφα.

Το πειραματικό μέρος περιλαμβάνει τα εξής:

1. Φυγοκέντρηση ολικού αίματος σε 1.000 G για 10 min σε RT.
2. Πλύσιμο των ερυθρών αιμοσφαιρίων 3 φορές (για κάθε δείγμα)
 - 0,5ml αίμα σε eppendorf + διάλυμα 0,9% NaCl μέχρι να γεμίσει (στον πάγο)
 - Φυγοκέντρηση στις 3.000 rpm για 10 min σε ψυχόμενη φυγόκεντρο (4°C)
 - Απόχυση υπερκείμενου
3. Ετοιμασία 2ml buffer sucrose 0,7 M duplicates για κάθε δείγμα
 - Αφήνω 10 min στους 37° C
4. Πρόσθεση 50μl πλυμένα ερυθρά (πακεταρισμένα) σε κάθε duplicate με sucrose
 - Έντονο vortex για 10 - 15 sec
 - Επώαση για 10 min στους 37° C
5. Μεταφορά των σωληναρίων στον πάγο για 10 min.
6. Vortex (για λίγα δευτερόλεπτα, sec)
7. Φυγοκέντρηση στις 3.000 rpm για 10 min σε RT.
8. Μέτρηση απορρόφησης στα 540nm.

Αν είναι υψηλή αραιώνω 200μl από το υπερκείμενο σε 4 ml WFI.

Για την 100% αιμόλυση – control:

- 1) Ετοιμασία duplicates με 50μl πλυμένα (πακεταρισμένα) ερυθρά αιμοσφαίρια σε 2ml H₂O WFI
- 2) Vortex
- 3) Φυγοκέντρηση στις 3.000 rpm για 10 min σε RT
- 4) Αραιώνω 200μl από το υπερκείμενο σε 4ml H₂O WFI
- 5) Μέτρηση απορρόφησης στα 540nm. (Μηδενίζουμε το φωτόμετρο με απεσταγμένο νερό, dH₂O).

2.3 Στατιστική επεξεργασία

Για την στατιστική ανάλυση των δεδομένων που προέκυψαν χρησιμοποιήθηκε το Mann Whitney test, unpaired, non parametric. Για τα γραφήματα των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα GraphPad Prism 8.0.3. Επίσης, υπολογίστηκε η τυπική απόκλιση (Std. Deviation) ως μέτρο σύγκρισης της διασποράς ή διακύμανσης των τιμών ως προς τη μέση τιμή του συνόλου τους. Όλα τα αποτελέσματα θεωρήθηκαν στατιστικά σημαντικά για $p < 0.05$.

Γ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

1. Αιματολογικό Προφίλ

Από την γενική εξέταση αίματος προέκυψαν οι αιματολογικοί δείκτες των δειγμάτων των ασθενών με αλκοολική ηπατοπάθεια και των μαρτύρων (υγιών ανθρώπων). Οι τιμές που παρουσιάζονται (**Πίνακας V**) προέρχονται από τον μέσο όρο των τιμών (Mean) \pm την τυπική απόκλιση (Std. Deviation).

Πίνακας V Αιματολογικοί δείκτες των δειγμάτων των ασθενών με αλκοολική ηπατοπάθεια και των μαρτύρων (υγιών). Οι τιμές έχουν προκύψει από τον μέσο όρο των τιμών (Mean) \pm την τυπική απόκλιση (Std. Deviation).

	Ασθενείς	Μάρτυρες	Φυσιολογικές τιμές
WBC ($10^3/\mu\text{L}$)	7,08 \pm 2,32	6,16 \pm 1,54	5,2-12,4
LYM ($10^3/\mu\text{L}$)	1,17 \pm 0,49	2,12 \pm 0,72	1,3-4,0
MID($10^3/\mu\text{L}$)	0,35 \pm 0,27	0,31 \pm 0,15	0,3-1,0
GRA($10^3/\mu\text{L}$)	5,49 \pm 2,18	3,74 \pm 1,11	2,4-7,6
LYM%	17,89 \pm 9,13	34,40 \pm 8,43	19,0-48,0
MID%	4,96 \pm 3,31	5,05 \pm 2,22	4,5-12,1
GRA%	75,59 \pm 10,28	60,55 \pm 10,27	40,0-74,00
RBC ($10^6/\mu\text{L}$)	2,88 \pm 0,97	4,59 \pm 1,00	4,2 – 6,1
HGB (g/dl)	9,73 \pm 2,86	13,25 \pm 1,87	12,0-18,0
HCT %	27,54 \pm 8,81	37,31 \pm 5,30	37,0 – 52,0
MCV fl	86,83 \pm 27,94	82,67 \pm 11,02	80,0 – 99,0
MCH pg	34,23 \pm 2,21	28,43 \pm 4,27	27,0 – 31,0

MCHC (g/dl)	35,68 + 1,62	34,28 ± 1,70	33,0 – 37,0
RDWc %	19,36 ± 3,19	17,73 ± 1,97	11,5 – 14,5
PLT(10³/μL)	74,56 ± 39,41	161,00 ± 77,07	130 - 400
PCT %	0,10 ± 0,12	0,13 ± 0,06	0,16 – 0,36
MPV fl	8,61 ± 1,70	7,78 ± 0,35	7,2 – 11,1
PDWc%	37,19 ± 3,86	38,33 ± 1,91	37,8 – 43,6

Οι τιμές που είναι τονισμένες με bold δείχνουν ότι είναι εκτός των φυσιολογικών ορίων εκτός από την τιμή του GRA(10³/μL) των ασθενών, η οποία είναι εντός των φυσιολογικών τιμών αλλά μεγαλύτερη από αυτή των μαρτύρων.

2. Ελεύθερη Hb πλάσματος

Από την μέτρηση της ελεύθερης Hb πλάσματος στα δείγματα των ασθενών και των μαρτύρων προέκυψε ότι η μέση τιμή της ελεύθερης αιμοσφαιρίνης στο πλάσμα των ασθενών (14,130 mg/dL ± 5,421) ήταν αρκετά μεγαλύτερη (σχεδόν τετραπλάσια) από αυτή των μαρτύρων (3,350 mg/dL ± 3,365). Υπολογίστηκε και η τιμή p = 0,0031. Στατιστικά σημαντικό είναι το p < 0,01(**).

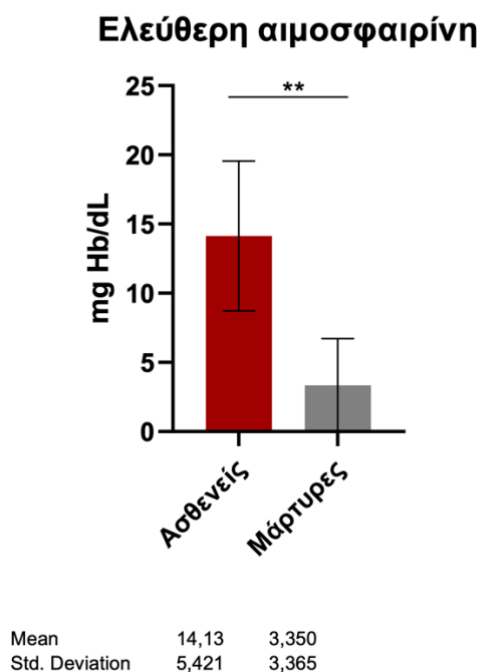


Figure 1 Αποτελέσματα ασθενών και μαρτύρων στην εξέταση της ελεύθερης Hb πλάσματος.

3. Κρυοαιμόλυση

Από την διαδικασία της κρυοαιμόλυσης στα δείγματα των ασθενών με αλκοολική ηπατοπάθεια και των μαρτύρων προέκυψε ότι τα ερυθροκύτταρα των ασθενών παρουσιάζουν σχεδόν την διπλάσια αιμόλυση ποσοστιαία ($0,2488 \% \pm 0,2300$) από αυτή που προκύπτει στα κύτταρα των μαρτύρων ($0,1280 \% \pm 0,09820$). Υπολογίστηκε η τιμή του $p > 0,05$, ενώ στατιστικά σημαντικό είναι το $p < 0,05$.

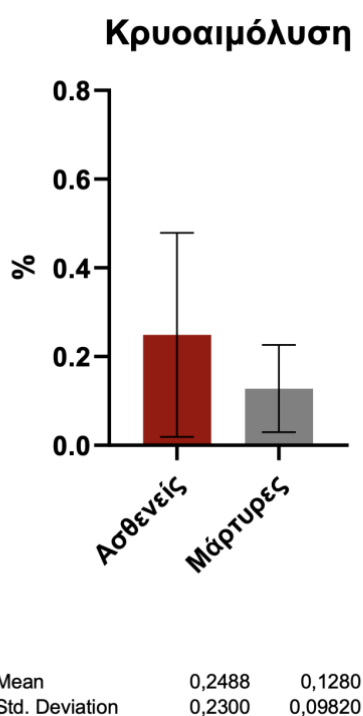


Figure II Αποτελέσματα των δειγμάτων των ασθενών και των μαρτύρων στην διαδικασία της κρυοαιμόλυσης.

Δ. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

1. Αιματολογική εξέταση των δειγμάτων

Από τα αποτελέσματα της γενικής εξέτασης αίματος των ασθενών παρατηρήθηκε μειωμένη τιμή λεμφοκυττάρων (LYM), αιμοσφαιρίνης (HGB), ερυθρών αιμοσφαιρίων (RBC), αιματοκρίτη (HCT%), αιμοπεταλίων (PLT) και αιμοπεταλιοκρίτη (PCT%). Ενώ, αυξημένες τιμές παρατηρήθηκαν στο ποσοστό των ουδετερόφιλων (GRA%), στη μέση περιεκτικότητα

ερυθροκυττάρων σε αιμοσφαιρίνη (MCH) καθώς και στο εύρος κατανομής μεγέθους των ερυθροκυττάρων (RDW%).

Τα λεμφοκύτταρα αποτελούν βασικά κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος και μειώνονται στην απλαστική αναιμία, σε καταστάσεις στρες και σε άλλες ασθένειες.

Η μέτρηση των ερυθρών αιμοσφαιρίων είναι καθοριστική για την παρουσία αναιμίας, όταν ο αριθμός τους είναι μειωμένος. Η τιμή τους μειώνεται στην κατάχρηση αλκοόλ, στις αναιμίες, στην αιμόλυση κ.α. Επομένως, η μειωμένη τιμή τους επιβεβαιώνει την υποψία επίδρασης του αλκοόλ στα ερυθροκύτταρα καθώς και την πιθανή ύπαρξη αιμόλυσης.

Η αιμοσφαιρίνη, κύριο συστατικό των ερυθροκυττάρων, μειώνεται σε διάφορες αναιμίες, σε αιμόλυση, σε βαριές αιμορραγίες κ.α.

Ο αιματοκρίτης καθορίζει την εκατοστιαία αναλογία του όγκου των ερυθροκυττάρων στον συνολικό όγκο αίματος. Η τιμή του μειώνεται σε αναιμίες, χρόνια κατάκλιση, μετά το γεύμα και με την πάροδο της ηλικίας.

Τα αιμοπετάλια μειώνονται στην αιμολυτική αναιμία, σε οξεία λευχαιμία και άλλες ασθένειες.

Ο αιμοπεταλιοκρίτης αποτελεί δείκτη εκατοστιαίας αναλογίας των αιμοπεταλίων ανά μονάδα όγκου αίματος και είναι χρήσιμος για τον εντοπισμό αιμορραγικών διαταραχών. Επομένως, η μείωσή του εξηγεί και επιβεβαιώνει τη μείωση των αιμοπεταλίων.

Τα ουδετερόφιλα κύτταρα είναι πολυμορφοπύρρηνα κοκκιοκύτταρα τα οποία έχουν σημαντικό ρόλο στο ανοσοποιητικό σύστημα του οργανισμού. Αυξάνονται σε περιπτώσεις οξείας λοίμωξης, σε καρκίνο του ήπατος, σε αιμορραγίες κ.α.

Η μέση περιεκτικότητα ερυθροκυττάρων σε αιμοσφαιρίνη αποτελεί σημαντικό δείκτη για την ταξινόμηση των αναιμιών. Αυξάνεται στη κατάχρηση αλκοόλ, σε χρόνια ηπατικά νοσήματα κ.α. Επομένως, η αύξησή του ήταν αναμενόμενη δεδομένης της κατάχρησης αλκοόλ των ασθενών και της ηπατοπάθειάς τους.

Συμπερασματικά, σύμφωνα με όλα τα παραπάνω, τα αποτελέσματα του αιματολογικού προφίλ των ασθενών συμπίπτουν με την αλκοολική ηπατική νόσο που είναι γνωστό ότι έχουν και συμβάλλουν στην επιβεβαίωση της υποψίας αιμόλυσης εξαιτίας της επίδρασης του αλκοόλ στα ερυθρά αιμοσφαίρια.

2. Ελεύθερη Hb πλάσματος

Από τα αποτελέσματα, το γράφημα καθώς και τη στατιστική ανάλυσή τους για την ελεύθερη αιμοσφαιρίνη πλάσματος εξάγεται το συμπέρασμα ότι το αλκοόλ συμβάλλει στην

πρόωρη διάσπαση των ερυθρών αιμοσφαιρίων με αποτέλεσμα την παρουσία αιμοσφαιρίνης στο πλάσμα του αίματος σε υψηλές ποσότητες. Αυτό αποτελεί ένδειξη αιμόλυσης των ερυθροκυττάρων και συμφωνεί με την αρχική υπόθεση της μελέτης.

Άλλος ένας δείκτης επιβεβαίωσης της αρχικής υπόθεσης της μελέτης είναι ο υπολογισμός του p-value κατά την στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων. Η τιμή του υπολογίστηκε $p = 0,0031$ και στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα είναι $p < 0,01$ (**). Επομένως, το $p = 0,0031$ είναι μικρότερο της τιμής 0,01 γεγονός που καθιστά τα αποτελέσματα της μελέτης έγκυρα και αξιόπιστα για τον πληθυσμό των ασθενών που ερευνήθηκε.

3. Κρυοαιμόλυση

Τα αποτελέσματα αυτής της διαδικασίας έδειξαν μεγαλύτερη ευαισθησία στα ερυθροκύτταρα των ασθενών στην απότομη αλλαγή θερμοκρασίας σε σχέση με τα κύτταρα των μαρτύρων, παρουσιάζοντας σχεδόν διπλάσιο ποσοστό αιμόλυσης. Όμως, στη στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων η τιμή του p-value βρέθηκε μεγαλύτερη από 0,05, ενώ στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα θεωρείται για $p < 0,05$. Επομένως, τα παραπάνω αποτελέσματα δεν μπορούν να θεωρηθούν αξιόπιστα και έγκυρα για τη συγκεκριμένη ανάλυση και στον συγκεκριμένο πληθυσμό ασθενών. Έτσι, δεν επαληθεύεται η αρχική υπόθεση της μελέτης, σύμφωνα με την οποία τα ερυθροκύτταρα των ασθενών με αλκοολική ηπατοπάθεια είναι πιο ευάλωτα στις απότομες αλλαγές του περιβάλλοντος (συγκεκριμένα της θερμοκρασίας, $4^{\circ} \text{C} \rightarrow 37^{\circ} \text{C}$, $37^{\circ} \text{C} \rightarrow 4^{\circ} \text{C}$) εξαιτίας της επίδρασης του αλκοόλ σε αυτά.

Εφόσον, δεν επιβεβαιώθηκε η αρχική υπόθεση της μελέτης στο συγκεκριμένο πληθυσμό ασθενών, θα χρειαστούν περαιτέρω έρευνες για την επαλήθευση ή την διάψευση της υπόθεσης αυτής.

Βιβλιογραφία

- Alcmeni T. Anastasiadis, E. C.-Z. (2021). The Post-Storage Performance of RBCs from Beta-Thalassemia Trait Donors Is Related to Their Storability Profile. *MDPI*.
- Andrea Christina – Sylvia, S. –F. (2012, Νοέμβριος). Storage Damage of the Erythrocyte: The Role of the Membrane. Αθήνα.
- Angelo D'Alessandro, A. T.-C. (2023, Ιούνιος 27). Red Blood Cell Metabolism In Vivo and In Vitro. *PubMed Central*, 13(7), 793.
- Ballard, H. S. (1997). The Hematological Complications of Alcoholism. *Alcohol Health Research World*, 42 - 52.
- Chmiel, B. ,. (1999). Effect of controlled ethanol intake on arterial blood pressure, heart rate and red blood cells deformability. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, 21, 325 - 328.
- Georgoulis, I. (2012). Red blood cells. Στο I. Georgoulis, *Laboratory hematology*.
- Heermans, E. H. (1998). *Booze and blood: the effects of acute and chronic alcohol abuse on the hematopoietic system* (Τόμ. 4). Clin Lab Sci.
- Karagiannopoulou, D. (2020). *Hemolysis*. Ανάκτηση από iatronet: <https://www.iatronet.gr/iatriko-lexiko/aimolysi.html>
- Kriebardis, A. (2014). *Structure and Function of Erythrocyte*. Ανάκτηση από Open Academic Courses at TEI of Athens: ocp.teiath.gr
- LAGADINOU, M. (2022). *PHYSIOLOGY I*. Patra.
- Ministry of Health. (2023, November 20). *BLOOD CENTER*. Ανάκτηση από http://www.aimodosia.gov.cy/moh/blood/blood.nsf/page23_gr/page23_gr?OpenDocument
- Mouratidou, D. (2022). *CHEMNOESIS*. Ανάκτηση από <https://chem.noesis.edu.gr/alcohol-properties>
- Mueller S, C. C. (2022). Novel Insights into Alcoholic Liver Disease: Iron Overload, Iron Sensing and Hemolysis. *PubMed*, 92 - 124.
- National Blood Donation Center (EKEA). (2019). *National Blood Donation Center (EKEA)*. Ανάκτηση από All about Blood: <https://ekea.gr/%ce%b5%ce%ba%ce%b5%ce%b1/%ce%b4%ce%b9%ce%bf%ce%b9%ce%ba%ce%b7%cf%84%ce%b9%ce%ba%cf%8c-%cf%83%cf%85%ce%bc%ce%b2%ce%bf%cf%8d%ce%bb%ce%b9%ce%bf-%ce%b5%ce%ba%ce%b5%ce%b1/>

- PROMITHEAS ASSOCIATION OF LIVER PATIENTS. (2012). *THE HESP*. Ανάκτηση από PROMITHEAS ASSOCIATION OF LIVER PATIENTS: <https://helpa-prometheus.gr/to-ipar/>
- Sang Yun Lee, H. J.-P. (2015). The Effects of Ethanol on the Morphological and Biochemical Properties of Individual Human Red Blood Cells. *PubMed*.
- Sauli, Z. (2023, October 27). *Red blood cells (RBC): Structure and function*. Ανάκτηση από Peptiko.gr: <https://peptiko.gr/erythra-aimosfairia-domi-kai-leitoyrgia/>
- Scharf RE, A. C. (1988). Alcohol-induced disorders of the hematopoietic system. *PubMed*, 75 - 83.
- Simonetti P, C. B. (1993). Effect of alcohol intake on lipids and fat-soluble vitamins in blood. *Minerva Med.*, 447 - 452.
- Sonmez M, I. H. (2013). The effect of alcohols on red blood cell mechanical properties and membrane fluidity depends on their molecular size. *Plos One* .
- Vassilis L. Tzounakas, A. T. (2017). Temperature-dependent haemolytic propensity of CPDA-1 stored red blood cells vs whole blood - Red cell fragility as donor signature on blood units. *PubMed*, 447- 455.
- Vassilis L. Tzounakas, A. T. (2021, June 19). Osmotic hemolysis is a donor-specific feature of red blood cells under various storage conditions and genetic backgrounds. *WILEY Online Library*.
- Vassilis L. Tzounakas, A. T. (2022). Beta thalassemia minor is a beneficial determinant of red blood cell storage lesion. *PubMed*, 112-125.
- Vassilis L. Tzounakas, A. T. (2022, February 8). Deciphering the Relationship Between Free and Vesicular Hemoglobin in Stored Red Blood Cell Units. *Frontiers*.
- Violetta, A. (2018). Clinically relevant changes in senescence and death signaling in red blood cells. Athens.

