

## II. ΠΡΩΤΟΤΥΠΑ ΑΡΘΡΑ

### Η επίδραση της ερυθροποιητίνης στα λευκά αιμοσφαίρια κατά την ισχαιμία επαναιμάτωση

Κ. Τσόμπος <sup>1</sup>, Κ. Πανουλής <sup>2</sup>, Κ. Τούτουζας <sup>3</sup>, Γ. Ζωγράφος <sup>3</sup>, Α. Παπαλόης <sup>4</sup>.

<sup>1</sup> Μαιευτική – Γυναικολογική Κλινική, Γενικού Νοσοκομείου Μεσολογγίου, <sup>2</sup> Β' Μαιευτική – Γυναικολογική Κλινική, «Αρεταίειο» Νοσοκομείο Πανεπιστημίου Αθηνών, <sup>3</sup> Α' Προπαιδευτική Χειρουργική Κλινική, «Ιπποκράτειο» Νοσοκομείο Πανεπιστημίου Αθηνών, <sup>4</sup> Ερευνητικό – Πειραματικό Κέντρο ELPEN.

(Επιστημονικά Χρονικά 2013;18(2):92-103)

#### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

**Σκοπός** της παρούσης πειραματικής μελέτης ήταν η δοκιμή της ερυθροποιητίνης (EPO), σε ζωικό πρότυπο αρουραίου και συγκεκριμένα σε πρωτόκολλο ισχαιμίας / επαναιμάτωσης. Μελετήθηκε αιματολογικά η ευεργετική ή μη δράση του συγκεκριμένου μορίου στον αριθμό των λευκών αιμοσφαιρίων.

**Υλικό-Μέθοδος:** Χρησιμοποιήθηκαν 40 αρουραίοι μέσου βάρους 235,55 gr. Οι μετρήσεις των λευκών αιμοσφαιρίων εκτελέστηκαν τις ακόλουθες χρονικές περιόδους: στα 60 min επαναιμάτωσης (ομάδες Α και Γ) και στα 120 min επαναιμάτωσης (ομάδες Β και Δ), οι Α και Β ανευ και οι Γ και Δ με EPO.

**Αποτελέσματα:** 1) η παρουσία ερυθροποιητίνης αυξάνει τον αριθμό των λευκών κατά  $1.025 \cdot 10^3/\text{mm}^3$  [ $0.1960157 \cdot 10^3/\text{mm}^3 - 1.853984 \cdot 10^3/\text{mm}^3$ ] ( $P=0.0167$ ), 2) ο χρόνος επαναιμάτωσης αυξάνει τα λευκά αιμοσφαίρια κατά  $0.6749999 \cdot 10^3/\text{mm}^3$  [ $-0.1918239 \cdot 10^3/\text{mm}^3 - 1.541824 \cdot 10^3/\text{mm}^3$ ] ( $P= 0.1232$ ) και 3) η αλληλεπίδραση ερυθροποιητίνης και χρόνου επαναιμάτωσης αυξάνει τον αριθμό των λευκών κατά  $0.6790909 \cdot 10^3/\text{mm}^3$  [ $0.1878032 \cdot 10^3/\text{mm}^3 - 1.170379 \cdot 10^3/\text{mm}^3$ ] ( $P=0.0080$ ).

**Συμπεράσματα:** η παρουσία ερυθροποιητίνης καθώς και η αλληλεπίδρασή της με τον χρόνο επαναιμάτωσης αυξάνουν σημαντικά τον αριθμό των λευκών αιμοσφαιρίων, αλλά δεν μπορεί να τεκμηριωθεί ανάλογο συμπέρασμα για τον χρόνο επαναιμάτωσης μόνο, τουλάχιστον στο συγκεκριμένο δείγμα.

**Λέξεις ευρετηρίου:** ερυθροποιητίνη, λευκά αιμοσφαίρια, επαναιμάτωση.

#### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ισχαιμία και η επαναιμάτωση ιστών παραμένει μία από τις βασικές αιτίες βλάβης τους (μόνιμης ή παροδικής) με σοβαρές επιπτώσεις σε κοντινά όργανα και ασφαλώς στην υγεία των ασθενών. Σε ότι αφορά την ερυθροποιητίνη (EPO), εκτίθενται αναφορές πρόσφατες, με διάφορους σχεδιασμούς. Επομένως η δοκιμή της ερυθροποιητίνης, σε πειραματικό πρότυπο ισχαιμίας / επαναιμάτωσης, εξακολουθεί να είναι βιβλιογραφικά πρωτότυπη. Σκοπός της παρούσης πειραματικής μελέτης ήταν η δοκιμή της ερυθροποιητίνης (EPO), σε ζωικό πρότυπο αρουραίου και συγκεκριμένα σε πρωτόκολλο ισχαιμίας / επαναιμάτωσης. Μια υπόθεση που τέθηκε με βásiμη υποψία είναι

μήπως οι σοβαρότερες μορφές οξείας ή/και χρόνιας ιστικής υποάρδευσης – φλεγμονής μπορούν να διεγείρουν την κινητοποίηση και παραγωγή όλων των ενδιάμεσων αυξητικών παραγόντων όπως EPC και αγγειογόνων αυξητικών παραγόντων (AGF), ως διαμεσολαβητών για την πιθανή εξήγηση και παθοφυσιολογική αιτιολόγηση των μεταβολών των λευκών αιμοσφαιρίων. Μελετήθηκε αιματολογικά η ευεργετική ή μη δράση του συγκεκριμένου μορίου στον αριθμό των λευκών αιμοσφαιρίων.

#### ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

Χρησιμοποιήθηκαν 40 θηλυκοί αρουραίοι μέσου βάρους 247,7 gr [Std. Dev: 34.99172 gr] της φυλής

Wistar, min βάρους  $\geq 165$  gr και max βάρους  $< 320$  gr. Εγκλιματίστηκαν στο εργαστήριο για 7 ημέρες πριν τον πειραματισμό. Είχαν ελεύθερη πρόσβαση σε νερό και τροφή. Χωρίστηκαν τυχαία στις ακόλουθες πειραματικές ομάδες (10 ζώα σε κάθε ομάδα). Το πείραμα ήταν οξύ, δηλαδή ολοκληρώθηκε η χρήση του ζώου με τη λήξη του παρακάτω χρόνου πειραματισμού και δεν υπήρχε αφύπνιση και συντήρηση:

1 – Ισχαιμία για 45 min και ακολούθως επαναιμάτωση για 60 min (ομάδα Α).

2 – Ισχαιμία για 45 min και ακολούθως επαναιμάτωση για 120 min (ομάδα Β).

3 – Ισχαιμία για 45 min και ακολούθως άμεση χορήγηση της EPO IV και επαναιμάτωση για 60 min (ομάδα Γ).

4 – Ισχαιμία για 45 min και ακολούθως άμεση χορήγηση της EPO IV και επαναιμάτωση για 120 min (ομάδα Δ).

Η δόση της EPO ήταν 5.000 IU /Kg [1, 2].

Το πείραμα ξεκίνησε με προνάρκωση και χορήγηση γενικής αναισθησίας στο ζώο. Παρακολουθείτο συνεχώς το καρδιογράφημα και η οξυμετρία. Από το σημείο αυτό και μετά εφαρμόστηκε το πρωτόκολλο ισχαιμίας / επαναιμάτωσης που περιγράφεται παραπάνω στις πειραματικές ομάδες. Τα μόρια χορηγήθηκαν άμεσα με την έναρξη της επαναιμάτωσης μέσω της κάτω κοίλης φλέβας (έχει προηγηθεί καθετηριασμός της κατά την έναρξη του πειράματος, μετά τη χορήγηση γενικής αναισθησίας).

Οι μετρήσεις των λευκών αιμοσφαιρίων εκτελέστηκαν τις ακόλουθες χρονικές περιόδους:

1 – στα 60 min επαναιμάτωσης (ομάδες Α και Γ),

2 – στα 120 min επαναιμάτωσης (ομάδες Β και Δ)

Η εισαγωγή στην γενική αναισθησία γινόταν με αρχική χορήγηση I.M. μείγματος 0,5 cc, αποτελούμενο από 0,25 cc ξυλαζίνης [25 cc, 20mg/cc] και 0,25 cc υδροχλωρικής κεταμίνης [1000, 100mg/cc, 10cc]. Πριν την λαπαροτομία χορηγείτο s.c. αναλγησία 0,03 cc βουτορφανόλης [10mg/cc, 10cc]. Καθ' όλη την διάρκεια του πειράματος υπήρχε συνεχής χορήγηση οξυγόνου. Κατόπιν λαπαροτομικής προσπέλασης, προκαλείτο ισχαιμία με clapping της κατιούσας αορτής για 45 min. Η επαναιμάτωση γινόταν με άρση του clapping και αποκατάσταση της βατότητας της κατιούσας αορτής.

#### Ομάδες μαρτύρων

20 αρουραίοι μάρτυρες (controls: 1 - 20) μέσου

βάρους 252,5 gr [Std. Dev: 39.31988 gr] υπέστησαν ισχαιμία για 45 min και ακολούθως επαναιμάτωση.

Ομάδα Α

Η επαναιμάτωση που διήρκεσε 60 min αφορούσε 10 controls μέσου βάρους 243 gr και μέσου αριθμού λευκών αιμοσφαιρίων  $3.81 \cdot 10^3/\text{mm}^3$  (Πίνακας 1).

Ομάδα Β

Η επαναιμάτωση που διήρκεσε 120 min αφορούσε 10 controls μέσου βάρους 262 gr και μέσου αριθμού λευκών αιμοσφαιρίων  $4.5 \cdot 10^3/\text{mm}^3$  (Πίνακας 1).

Πίνακας 1: Μέσες τιμές και Std. Dev. λευκών αιμοσφαιρίων κατά ομάδα			
Ομάδα	Μεταβλητή	Μέση τιμή	Std. Dev
A	Βάρος Λευκά αιμοσφαίρια	243 gr 3.81 $10^3/\text{mm}^3$	45.77724 gr 0.7430418 $10^3/\text{mm}^3$
B	Βάρος Λευκά αιμοσφαίρια	262 gr 4.5 $10^3/\text{mm}^3$	31.10913 gr 1.417353 $10^3/\text{mm}^3$
Γ	Βάρος Λευκά αιμοσφαίρια	242,8 gr 4.85 $10^3/\text{mm}^3$	27.92371 gr 1.5393 $10^3/\text{mm}^3$
Δ	Βάρος Λευκά αιμοσφαίρια	243 gr 5.51 $10^3/\text{mm}^3$	33.91165 gr 1.281882 $10^3/\text{mm}^3$

#### Ομάδες ερυθροποιητίνης

Στους επόμενους 20 αρουραίους κατά την έναρξη της διαδικασίας επαναιμάτωσης, χορηγήθηκαν bolus ενδοφλεβίως 5000 IU ερυθροποιητίνης / kg βάρους σώματος [3] στην κάτω κοίλη φλέβα. Δοσολογικά σχήματα μικρότερων δόσεων κυμαινόμενα από 200 – 600 IU ερυθροποιητίνης / kg βάρους σώματος, θεωρήθηκαν ομολογουμένως χαμηλές [4] είτε υποερυθροποιητικές [5]. Η λήψη έγινε από σκευάσματα των 4000 IU / 0.5 ml, τα οποία αραιώθηκαν με water for injection ώστε να αποκτήσουν συγκέντρωση 4000 IU / 2 ml.

20 αρουραίοι (επο: 1 - 20) μέσου βάρους 242,9 gr [Std. Dev: 30.3105 gr] υπέστησαν ισχαιμία για 45 min κι ακολούθως επαναιμάτωση στην έναρξη της οποίας χορηγήθηκαν ενδοφλεβίως 5000 IU ερυθροποιητίνης / kg βάρους σώματος.

Ομάδα Γ

Η επαναιμάτωση που διήρκεσε 60 min αφορούσε 10 επο αρουραίους μέσου βάρους 242.8 gr και

μέσου αριθμού λευκών αιμοσφαιρίων  $4.85 \cdot 10^3/\text{mm}^3$  (Πίνακας 1).

Ομάδα Δ

Η επαναιμάτωση που διήρκεσε 120 min αφορούσε 10 ερω αρουραίους μέσου βάρους 243 gr, μέσου αριθμού λευκών αιμοσφαιρίων  $5.51 \cdot 10^3/\text{mm}^3$  (Πίνακας 1).

<b>Πίνακας 2:</b> Στατιστική σημαντικότητα της διαφοράς των μέσων τιμών ανά ζεύγος ομάδων μετά την εφαρμογή της στατιστικής δοκιμασίας paired t test.			
Ομάδες	Μεταβλητή	Διαφορά	p-value
A-B	Βάρος Λευκά αιμοσφαίρια	-19 gr -0,69 $10^3/\text{mm}^3$	0.2423 0.0765
A-Γ	Βάρος Λευκά αιμοσφαίρια	0,2 gr -1,04 $10^3/\text{mm}^3$	0.9900 0.1322
A-Δ	Βάρος Λευκά αιμοσφαίρια	0 gr -1,7 $10^3/\text{mm}^3$	1.0000 0.0026
B-Γ	Βάρος Λευκά αιμοσφαίρια	19,2 gr -0.35 $10^3/\text{mm}^3$	0.2598 0.6671
B-Δ	Βάρος Λευκά αιμοσφαίρια	19 gr -1.01 $10^3/\text{mm}^3$	0.1011 0.0684
Γ-Δ	Βάρος Λευκά αιμοσφαίρια	-0,2 gr -0.66 $10^3/\text{mm}^3$	0.9883 0.2835

<b>Πίνακας 3:</b> Η αυξητική επίδραση της ερυθροποιητίνης συναρτήσει του χρόνου επαναιμάτωσης.				
Αύξηση	95% c. in	χρόνος επαναιμάτωσης	p-values	
			t-test	Glm
$1.04 \cdot 10^3/\text{mm}^3$	$0.0955782 \cdot 10^3/\text{mm}^3 - 2.175578 \cdot 10^3/\text{mm}^3$	1h	0.1322	0.0703
$1.025 \cdot 10^3/\text{mm}^3$	$0.1960157 \cdot 10^3/\text{mm}^3 - 1.853984 \cdot 10^3/\text{mm}^3$	1.5h	0.0535	0.0167
$1.01 \cdot 10^3/\text{mm}^3$	$0.2596439 \cdot 10^3/\text{mm}^3 - 2.279644 \cdot 10^3/\text{mm}^3$	2h	0.0684	0.1120

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Σύγκριση βάρους

Αρχικά έγινε σύγκριση του βάρους κάθε μιας από τις 4 ομάδες αρουραίων σε σχέση με κάθε μια από τις υπόλοιπες 3 ομάδες χρησιμοποιώντας την στατιστική δοκιμασία t-test, προκειμένου να εξακριβωθεί κατά πόσον η διακύμανση του βάρους

κάθε ομάδας ήταν συγκρίσιμη ή διέφερε σε σχέση με το βάρος των άλλων ομάδων.

Σύγκριση λευκών αιμοσφαιρίων

Κατόπιν έγινε σύγκριση των λευκών αιμοσφαιρίων κάθε μιας από τις 4 ομάδες αρουραίων σε σχέση με κάθε μια από τις υπόλοιπες 3 ομάδες χρησιμοποιώντας την στατιστική δοκιμασία t-test, προκειμένου να εξακριβωθεί κατά πόσον η διακύμανση των λευκών αιμοσφαιρίων κάθε ομάδας ήταν συγκρίσιμη ή διέφερε σε σχέση με τα λευκά αιμοσφαίρια των άλλων ομάδων. Οι μέσες τιμές βάρους και λευκών αιμοσφαιρίων ανά ομάδα, συγκρίθηκαν μεταξύ τους με την εφαρμογή της στατιστικής δοκιμασίας paired t test και τα αποτελέσματα φαίνονται στον Πίνακα 2.

Εφαρμόζοντας τα γενικευμένα γραμμικά μοντέλα (γ.γ.μ.) με εξηρημένη μεταβλητή τον αριθμό των λευκών αιμοσφαιρίων και ανεξάρτητες μεταβλητές την χορήγηση ή όχι ερυθροποιητίνης, τον χρόνο επαναιμάτωσης και την αλληλεπίδρασή τους, προκύπτει ότι: 1) η παρουσία ερυθροποιητίνης αυξάνει τον αριθμό των λευκών κατά  $1.025 \cdot 10^3/\text{mm}^3$  [ $0.1960157 \cdot 10^3/\text{mm}^3 - 1.853984 \cdot 10^3/\text{mm}^3$ ] ( $P=0.0167$ ) εύρημα σύμφωνο και με το paired ttest ( $P=0.0159$ ), 2) ο χρόνος επαναιμάτωσης αυξάνει τα λευκά αιμοσφαίρια κατά  $0.6749999 \cdot 10^3/\text{mm}^3$  [ $-0.1918239 \cdot 10^3/\text{mm}^3 - 1.541824 \cdot 10^3/\text{mm}^3$ ] ( $P=0.1232$ ) εύρημα σύμφωνο και με το paired ttest ( $P=0.0535$ ) και 3) η αλληλεπίδραση ερυθροποιητίνης και χρόνου επαναιμάτωσης αυξάνει τον αριθμό των λευκών κατά  $0.6790909 \cdot 10^3/\text{mm}^3$  [ $0.1878032 \cdot 10^3/\text{mm}^3 - 1.170379 \cdot 10^3/\text{mm}^3$ ] ( $P=0.0080$ ).

Εισάγοντας ως ανεξάρτητη μεταβλητή στα γ.γ.μ. και το βάρος των αρουραίων, δεν προκύπτει σημαντική συσχέτισή τους με τον αριθμό των λευκών αιμοσφαιρίων ( $p=0.0773$ ), οπότε δεν έχει νόημα οποιαδήποτε διερεύνηση σχέσεων μεταξύ προβλεπόμενων τιμών αριθμού λευκών αιμοσφαιρίων διορθωμένων για το βάρος των αρουραίων.

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Ισχαιμικός τραυματισμός [6] λαμβάνει χώρα οποτεδήποτε το οξυγόνο ή η αγγειακή παροχή είναι ανεπαρκής για να εκπληρώσει τις μεταβολικές απαιτήσεις ενός ιστού. Ισχαιμία και βλάβη μπορούν να προέλθουν από αρτηριακή ή φλεβική απόφραξη και πιο συχνά από μειωμένη αιμάτωση. Η επίδραση της ισχαιμίας στα λευκά αιμοσφαίρια (λ.α.) όπως καταγράφεται από διάφορους συγγραφείς ανά ιστό, έχει ως εξής:

Στον νευρικό ιστό οι Ishikawa T. et al [7] συμπέραναν ότι συμπλέγματα αιμοπεταλίων και λ.α. και μάλιστα μονοκυττάρων και κοκκιοκυττάρων αλλά όχι λεμφοκυττάρων, ήταν σημαντικά αυξημένα στην οξεία φάση εγκεφαλικών αθηροθρομβωτικών εμφράκτων από ότι σε μικρά αποφρακτικά βαθιά διεισδυτικά έμφρακτα. Οι Jastrzębska M. et al [8], παρατήρησαν ότι όσο πρωιμότερα κατέληγε ασθενής από οξύ ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο, τόσο υψηλότερη συγκέντρωση λ.α. καταγραφόταν. Οι Thornton P. et al [9], πρότειναν την αιμοπεταλιογενούς προελεύσεως ενεργοποίηση της IL-1a ως ένα κρίσιμο βήμα για την είσοδο λ.α. στο εγκεφαλικό ενδοθήλιο και την συνεισφορά τους στην τραυματική φλεγμονή κατά την εγκεφαλική ισχαιμία και σκλήρυνση κατά πλάκας σε αρουραίους. Οι Carrera E. et al, [10] συμπεριέλαβαν αυξημένο αριθμό λ.α. (OR = 1.1 per 1,000 white blood cells, p = 0.003) ως προγνωστικό παράγοντα αυξημένης mBFV >90 cm/s σε τουλάχιστον μια Doppler διακράνια εξέταση μέσης εγκεφαλικής αρτηρίας εντός 48 h από της εμφανίσεως ανευρυσματικής υπαραχνοειδούς αιμορραγίας. Οι Satas S. et al [11] παρατήρησαν κορύφωση των λ.α. στον εγκέφαλο υποξαιμικών χοιριδίων πρωιμότερα των νορμοθερμικών και οψιμότερα των υποθερμικών. Η υποθερμία προστατεύει όλα τα όργανα καθώς και τον εγκέφαλο. Η λευκοκυττάρωση των υποθερμικών χοιριδίων ήταν σημαντικώς μικρότερη (p=0.04) των νορμοθερμικών. Ήττια 24ωρη υποθερμία δεν προσβάλλει τα συστήματα οργάνων σε σχέση με την νορμοθερμία. Οι Zaremba J. et al, [12] αποφάνθησαν περί της φλεγμονώδους αντιδράσεως που επάγεται από το εγκεφαλικό επεισόδιο που οδηγεί σε διείσδυση λ.α. στο εξελισσόμενο εγκεφαλικό έμφρακτο και που έχει ρόλο κλειδί στην επιδείνωση της ισχαιμικής προσβολής. Τα επίπεδα TNF-a και στο ENY και στον ορό, της ισχυρής προφλεγμονώδους κυτοκίνης, καθώς και αυτά των περιφερικών λ.α. αυξήθηκαν σε ασθενείς εντός του πρώτου 24 ώρου από το ισχαιμικό επεισόδιο. Οι Tomita M. et al, [13] επισκόπησαν την συμμετοχή των λ.α. στην μικροαγγειακή αποδιάταξη ως αιτία δευτεροπαθούς εγκεφαλικής βλάβης που επακολουθεί της εγκεφαλικής ισχαιμίας. Η χρονολογική αλληλουχία της μικροαγγειακής αποδιάταξης μετά εγκεφαλική αρτηριακή απόφραξη περιγράφεται ως εξής: Τα πολυμορφοπύρρηνα λ.α. προσκολλούνται στα ενδοθηλιακά κύτταρα της ισχαιμικής περιοχής,

ακολουθούμενα από διάσπαση του αιματοεγκεφαλικού φραγμού, διίδρωση/εξίδρωση, οίδημα, νέκρωση, και σχηματισμό ουλής. Δύο τύποι μακροφάγων (αμοιβαδοειδή και διακλαδιζόμενα) εμφανίζονται, που διεγείρονται από κυτοκίνες απελευθερούμενες από προσβεβλημένους νευρόνες και νευράξονες, πληθαίνουν στην ισχαιμική εξεργασία και εγκοιλπώνουν τα συγκρίματα των νεκρών νευρόνων και εκφυλισμένων νευραξόνων. Περαιτέρω, τα μακροφάγα μπορεί να απελευθερώνουν κυτοκίνες που διεγείρουν τις διαδικασίες επούλωσης, όπως τον αστρογλοϊακό πολλαπλασιασμό και την επαναγγείωση, και απελευθερώνουν νευροτοξίνες που βαθμιαία σκοτώνουν επιβιώσαντες νευρόνες. Ακόμη και υπ' αυτές τις συνθήκες, εξατομικευμένα λευκοκύτταρα / μακροφάγα ρυθμίζονται καλώς από ειδικές κυτοκίνες μεσολαβητές. Οι Corvin S. et al [14] έδειξαν ότι η υδρόφιλη λευκοταξίνη n-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine fMLP διεγείρει αποτελεσματικά την χημιοταξία των ουδετερόφιλων δια μέσου του ΑΕΦ σε οξείες εγκεφαλικές διαταραχές αρουραίων όπως επιφανειακή μικροαγγειακή ισχαιμία ή εγκεφαλικό. Οι Pozzilli C. et al, [15] έδειξαν ενεργό μετανάστευση και εντοπισμό σημασμένων λ.α. σε εγκεφαλικό έμφρακτο.

Στο μυοκάρδιο, οι Huang WH. et al, [16] βρήκαν σημαντικώς αυξημένα επίπεδα αίματος λ.α., ριζών οξυγόνου, μαλονδιαλδεύδης και μυελουπεροξειδάσης στον χρόνο επαναιμάτωσης ασθενών που υπέστησαν συστηματική φλεγμονή επαγόμενη από επιλεκτική επέμβαση στεφανιαίας αρτηριακής παράκαμψης και μυοκαρδιακού τραύματος με καρδιοπνευμονική παράκαμψη. Οι Delgaudine M. et al [17] παρατήρησαν μείωση των λ.α. καθώς και αιματοποιητικών κυττάρων στον μυελό των οστών αρουραίων και αύξησή τους στο περιφερικό αίμα μετά μυοκαρδιακό έμφρακτο. Μεσεγγυματικά αιμοποιητικά κύτταρα, αποικίες ινοβλαστών και ενδοθηλιακά προγονικά κύτταρα κινητοποιήθηκαν μετά το έμφραγμα στο περιφερικό αίμα με παράλληλη κένωση των μυελικών παρακαταθηκών τους. Οι Shahzad F. et al [18] βρήκαν ότι ο ολικός αριθμός λ.α. και ουδετερόφιλων ήταν σημαντικά υψηλότερος (p < 0.001) ενώ τα λεμφοκύτταρα σημαντικά μειωμένα στην ομάδα της ισχαιμικής καρδιοπάθειας (p < 0.001) σε σχέση με τον πληθυσμό μάρτυρα. Οι Abacilar F. et al, [19] έδειξαν μείζονα κλινικά αποτελέσματα μετεγχειρητικής λευκοκυτταρικής

και ενδοθηλιακής ενεργοποίησης, σε ασθενείς που υπέστησαν επιλεκτική μεταμόσχευση αρτηριοστεφανιαίας παράκαμψης με υψηλό επίπεδο TNF- $\alpha$  (άνω του 20 pg/mL). Οι Müller-Ehmsen J. et al, [20] συσχέτισαν μια αναλογική αύξηση των (CD34+) κυττάρων με τον χρόνο ισχαιμίας και το μέγεθος του κυτταρικού θανάτου στο περιφερικό αίμα ασθενών μετά οξύ μυοκαρδιακό έμφρακτο. Ο Domański L. [21] προσδιόρισε την σφοδρότητα της δράσεως των ελευθέρων ριζών κατά την διάρκεια οξείας μυοκαρδιακής ισχαιμίας και οξέος μυοκαρδιακού εμφράκτου από το αυξημένο επίπεδο λ.α. Οι Kassirer M. et al, [22] διαπίστωσαν την παρουσία αυξημένης συγκέντρωσης CD11b/CD18 ( $P < .002$ ) αντιγόνων στην επιφάνεια ενεργοποιημένων πιθανά λόγω φλεγμονώδους ανταπόκρισης πολυμορφοπύρηνων λευκοκυττάρων σε ασθενείς με αγγειογραφικώς τεκμηριωμένη ισχαιμική καρδιοπάθεια, σε σχέση με μάρτυρες. Οι Martin SE, et al, [23] κατέδειξαν ότι η ενδοστεφανιαία έγχυση C5a είναι ένας ισχυρός κοκκιοκυτταρικός ενεργοποιητικός παράγων, σε χοιρίδια, παρατηρώντας ενδοαγγειακή παγίδευση λ. α. στο μυοκάρδιο.

Στους πνεύμονες, οι Chen CF. et al, [24] απομόνωσαν ενεργοποιημένα φλεγμονώδη κύτταρα και πρωτεάσες απελευθερούμενες λόγω οξειδωτικού stress από οξεία παγκρεατίτιδα αρουραίων προκαλούμενη από ισχαιμία επαναιμάτωση. Παράλληλα στο περιφερικό αίμα διεπιστώθηκε ανύψωση των συγκεντρώσεων υδροξυ-ριζών ( $P < .01$ ) και λ. α. ( $P < .001$ ). Οι Davis KA, et al, [25] βρήκαν μετά από αμβλύ θωρακικό τραύμα χοιριδίων, 3πλάσια ως 4πλάσια αύξηση κυκλοφορούντων ποσών λ. α. σε βροχοκυψελιδικό έκπλυμα ( $p < 0.05$ ), και στους δεξιούς ίσχειμους πνεύμονες και στους ετερόπλευρους αριστερούς μη ίσχειμους πνεύμονες. Οι Welbourn R, et al, [26] εξέτασαν τον ρόλο των υποδοχέων προσκόλλησης CD 18 των ουδετερόφιλων πολυμορφοπύρηνων (ΠΜΠ) που προσκολλώμενα στο πνευμονικό ενδοθήλιο μεταβάλλουν την λειτουργία φραγμού, των λευκοτριενών B<sub>4</sub>, της πνευμονικής συσσώρευσης ΠΜΠ, την μεσολάβησή τους στην αυξημένη πνευμονική διαπερατότητα και την πρόκληση μη καρδιογενούς οιδήματος κατά τον πνευμονικό τραυματισμό που προκαλείται από ισχαιμία επαναιμάτωση του κατώτερου ημίσεως σώματος κόνικλων.

Στο πεπτικό σύστημα, οι Zanoni FL. et al, [27]

απέδωσαν την βακτηριακή μετανάστευση σε μεσεντέριες μικροκυκλοφορικές δυσλειτουργίες σε πρότυπο εντερικής απόφραξης και ισχαιμίας αρουραίου. Η τελευταία επίσης επήγγε ουδετεροφιλία και αύξησε τον αριθμό των κυλιόμενων (~ 2-πλάσιο), προσκολλώμενων (~ 5-πλάσιο) και μεταναστευόντων λ. α. (~ 11-πλάσιο). Οι Fan CL et al, [28] βρήκαν σε κίρρωτικούς ασθενείς με ισχαιμική ηπατίτιδα Β σε σχέση με την ομάδα μαρτύρων αυξημένο αριθμό λ. α. Οι Lu Y et al, [29] παρατήρησαν μείωση του συνολικού αριθμού λ. α. (αυξημένα λεμφοκύτταρα και μειωμένα ουδετερόφιλα) την πρώτη ώρα ισχαιμίας επαναιμάτωσης εντέρου αρουραίων, αλλά αύξηση μετά την επαναιμάτωση. Στα λ. α. η έκφραση των φλεγμονωδών mRNAs (TNF- $\alpha$ ) και αντιφλεγμονωδών mRNAs (IL-10) κυτοκινών βρέθηκε up-regulated την πρώτη ώρα εντερικής ισχαιμίας, ενώ αυτές των IL-10, IL-4 και γ-ιντερφερόνης βρέθηκαν down-regulated 2 ώρες μετά την επαναιμάτωση. Οι Champagne BJ et al, [30] παρατήρησαν ανώριμα λ. α. και αυξημένη συσσώρευση υγρών σε ισχαιμικά παχέα έντερα grade III εντερικής νέκρωσης που υπέστησαν εκτομή. Οι Conner WC. et al, [31] μέτρησαν αυξημένο αριθμό κυκλοφορούντων ουδετερόφιλων σε αρουραίους που υποβλήθηκαν σε μεσεντέριο ισχαιμία επαναιμάτωση. Το οξειδωτικό δυναμικό αυξήθηκε στις 2 ώρες, μεγιστοποιήθηκε στις 6 ώρες, και επανήλθε στις 24 ώρες μετά την επαναιμάτωση. Οι Massberg S. et al, [32] ανέλυσαν την συσσώρευση λ. α. και την αλληλεπίδρασή τους με τα ενδοθηλιακά κύτταρα στα μετατριχοειδικά φλεβίδια εντερικού υποβλεννογόνιου κατά την μεσεντέριο ισχαιμία επαναιμάτωση αρουραίων ενώ υπό φυσιολογικές συνθήκες μόνο λίγα λ. α. ανευρίσκονται κυκλοφορούντα ή προσκολλώμενα στο μικροαγγειακό ενδοθήλιο. Ο Zhang P. [33] διαπίστωσε αυξημένο ποσό λ. α. σε μερική ισχαιμική βλάβη ήπατος αρουραίων.

Στους νεφρούς, οι Molitoris BA. et al, [34] διαπίστωσαν τον ρόλο κλειδί των ενδοθηλιακών κυττάρων στην έναρξη και διατήρηση της φλεγμονώδους ανταπόκρισης κατά την νεφρική ισχαιμία, που όντας μεταξύ επιθηλιακών κυττάρων και λ. α. αλληλεπιδρούν και ανταποκρίνονται σε σήματα και από τους δύο κυτταρικούς τύπους όπως την σύναψη των λ. α. στο μικροαγγειακό ενδοθήλιο και την μετανάστευσή τους στο διάμεσο υγρό των ιστών. Οι Ojteg G. et al, [35] πρότειναν ότι ελεύθερες ρίζες

οξυγόνου αύξησαν την μακρομοριακή διαπερατότητα και διεισδυτικότητα των λ. α. στα μυελικά ορθά αγγεία των νεφρικών τριχοειδών μετά από 45 min θερμής ισχαιμίας.

Στον μυϊκό ιστό, οι Anderson Sl. et al, [36] παρατήρησαν ότι η αυξημένη μυϊκή δραστηριότητα μπορεί να παροξύνει τις επιπτώσεις της ισχαιμίας στην τριχοειδική αιμάτωση και την ενεργοποίηση των λ. α. του ισχαιμούντος μακρού εκτείνοντος τους δακτύλους μύος ή και άλλων μυών. Οι Sabido F. et al, [37] αναγνώρισαν τον σημαντικό ρόλο των αλληλεπιδράσεων ενδοθηλίου - λ. α. και εξήγησαν πολλές από τις αντιδράσεις που συνοδεύουν την πρώιμη φάση της βλάβης ισχαιμίας επαναιμάτωσης. Αμφότερα έχουν την βιοχημική μηχανική και ικανότητα να παράγουν μοριακά σήματα, να εκφράσουν πρωτείνες προσκόλλησης και να παράγουν τοξικά μεταβολικά παραπροϊόντα. Οι Menger MD. et al, [38] παρατήρησαν ότι παρατεταμένοι περίοδοι ισχαιμίας (4 ωρών γραμμωτών μυών και 6 ώρες δέρματος αρουραίων) συνοδεύονται με ενεργοποίηση, συσσώρευση, και μικροαγγειακή προσκόλληση λ. α., σχηματισμό αντιδραστικών μεταβολιτών οξυγόνου και απελευθέρωση ισχυρών μεσολαβητών (λευκοτριένες, raf) με συνέπεια την αυξημένη μικροαγγειακή διαπερατότητα εξ αιτίας της διόγκωσης των ενδοθηλιακών κυττάρων και απώλειας της ενδοθηλιακής συνέχειας, διάμεσου οιδήματος και κυτταρικής βλάβης. Οι ίδιοι [39] σε παρόμοια πειράματα χαρακτήρισαν την βλάβη επαναιμάτωσης με συναπτή επανείσοδο του μοριακού οξυγόνου στην μικροαγγείωση να προκαλεί τον σχηματισμό ριζών οξυγόνου και την μικροαγγειακή συσσώρευση λ.α. προσκολληόμενων στο ενδοθήλιο μετατριχοειδικών φλεβιδίων. Τα ενεργοποιημένα λ. α. απελευθερώνουν επιπρόσθετες ρίζες οξυγόνου και διανέμουν επιθετικούς μεσολαβητές όπως πρωτεάσες, κυτοκίνες, και εικοσανοειδή, που έχουν χημειοτακτική επίδραση στα λ. α. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα έναν φαύλο κύκλο στον οποίον ρίζες οξυγόνου και μεσολαβητές είναι υπεύθυνοι για την επαύξηση της μεθισχαιμικής ιστικής βλάβης. Ο Walker PM. [40] διαπίστωσε ότι η απομόνωση λ. α. στον μυ λόγω της up regulation υποδοχέων των ουδετερόφιλων και μορίων προσκόλλησης λ. α. στο ενδοθήλιο έχει σαν αποτέλεσμα παράταση της βλάβης επαναιμάτωσης. Με την σειρά του έχει ως αποτέλεσμα βλάβη σε πιο απόμακρα όργανα. Οι Rubin BA. et al, [41] διαπίστωσαν σημαντική πρώιμη ενεργοποίηση του συμπληρώματος με

άμεση και παρατεταμένη απομόνωση λ. α. να μεσολαβούν στην βλάβη επαναιμάτωσης εντός των πρώτων 40 min απομονωμένου ισχνού μύος κυνός υποβληθέντος σε ισχαιμία επαναιμάτωσης. Οι Yokota J et al, [42] συμφωνούν ότι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου παραγόμενες από λ. α. μεσολαβούν στην βλάβη της κυτταρικής μεμβράνης κατά την βλάβη επαναιμάτωσης σε μεθισχαιμικούς υπονεφρικούς σκελετικούς μύες αρουραίων.

Όσον αφορά τα κάτω άκρα, οι Fei YF. et al, [43] βρήκαν ότι σε πόδια διαβητικών ασθενών, τα ακρωτηριασθέντα είχαν μεγαλύτερο αριθμό λ. α. και ουδετερόφιλων απ' ότι μη ακρωτηριασθέντων ( $P < 0.05$ ). Οι Karahalil B. et al, [44] διαπίστωσαν ότι η γονιδοτοξική βλάβη που ανιχνεύτηκε στα ανθρώπινα περιφερειακά λ. α. τοπικώς στον επαναιματούμενο ιστό έχει σαν αποτέλεσμα πολυάριθμες, μορφολογικές και βιοχημικές μεταβολές των κυκλοφορούντων λ. α. του ανθρώπινου οργανισμού. Αυτό οδηγεί ιδιαίτερος στην απελευθέρωση ουσιαστικών ποσών ριζών οξυγόνου και άλλων αντιδραστικών παραγόντων. Αυτά τα ενεργοποιημένα φλεγμονώδη κύτταρα έχουν σαν αποτέλεσμα δευτεροπαθή ανιχνεύσιμη ιστική βλάβη στα ενδοθηλιακά κύτταρα της συστηματικής κυκλοφορίας. Οι Danielsson P. et al, [45] έλαβαν φλεβικά δείγματα ασθενών από κρίσιμη ισχαιμία κάτω άκρου πριν και 4 βδομάδες μετά την επαναιμάτωση. Ο ολικός αριθμός, τα ενεργοποιημένα και τα διαφοροποιημένα λ. α., η έκφραση των CD11b/CD18 στα κοκκιοκύτταρα και μονοκύτταρα μετρήθηκαν. Το ποσό των λ. α. και κοκκιοκυττάρων μειώθηκε στην υπομάδα ασθενών με έλκη και γάγγραινα. Οι Danielsson P. et al, [46] ανακάλυψαν ότι ενδαγγειακές διαδικασίες στο πόδι προκαλούν περιορισμένη φλεγμονώδη ανταπόκριση λ. α., ενδοθηλιακών κυττάρων και έκφραση των CD11b/CD18 στα λ. α. εξαρτώμενη μάλιστα από τον βαθμό ισχαιμίας και το μέγεθος της παρεμβατικής διαδικασίας. Οι Willy C. et al., [47] ανέφεραν ότι η βλάβη ισχαιμίας επαναιμάτωσης αρχίζει με συσσώρευση λ. α. και προσκόλλησή τους στο αγγειακό ενδοθήλιο καθώς και οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου παίζουν έναν αξονικό ρόλο στην συγκεκριμένη παθογένεια. Ισχαιμία επαναιμάτωση όχι μόνο των κάτω αλλά και των άνω άκρων ανθρώπων επάγει μια πρώιμη μετρήσιμη τοπική και συστηματική ενεργοποίηση CD 11b και CD 18 πολυμορφοπύρηνων και κοκκιοκυττάρων καθώς και μια αυτόματη απελευθέρωση ελευθέρων ριζών οξυγόνου ( $p <$

0.05). Οι Nash GB. et al, [48] διέκριναν έναν φαύλο κύκλο παγίδευσης λ.α, ενεργοποίησής τους, ιστικής βλάβης και περαιτέρω απελευθέρωσης παραγόντων, ενεργοποίησης και παγίδευσης που θα μπορούσαν να συνεισφέρουν στην επιδείνωση σοβαρά ισχαιμούντος ιστού ποδός. Οι Paterson IS. et al, [49] τεκμηρίωσαν σε ισχαιμία επαναιμάτωση κάτω ημίσεος αρουραίων σε ουδετεροφιλική ενεργοποίηση εκδηλούμενη από την παραγωγή H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> συμβάν που μεσολαβείται από επίπεδα θρομβοξάνης B2 και γένεση A2. Οι Klausner JM. et al, [50] αφού υπέβαλλαν κάτω άκρα κυνών σε 2ωρη ισχαιμία – επαναιμάτωση παρατήρησαν την συγκέντρωση της θρομβοξάνης B2 του πλάσματος λέμφου να αυξάνεται άνω των 3.8 φορές ( $p < 0.05$ ) και τεκμηρίωσαν αυξημένη μικροαγγειακή διαπερατότητα λ. α. κατά την επαναιμάτωση.

Στο αγγειακό σύστημα, οι Danielsson P. et al, [51] διερεύνησαν τους φλεγμονώδεις μεσολαβητές και μια πιθανή σχέση του πολυμορφισμού του γονιδίου IL-6 σε ασθενείς με περιφερική αρτηριοπάθεια (ΠΑΠ). Η επίδραση της κρίσιμης ισχαιμίας μέλους συνοδεύτηκε σημαντικώς ( $p < 0.05$ ) με αυξημένα επίπεδα λ. α. και προφλεγμονώδεις κυτοκίνες (IL-6, TNF $\alpha$ -R1-2) και CD11b δείκτες λ. α. Η επίδραση της ήπιας ΠΑΠ (διαλείπουσα χωλότητα) σχετίστηκε με αυξημένο αριθμό μονοκυττάρων και κοκκιοκυττάρων. Η ενεργοποίηση κυτοκινών, ενδοθηλιακών κυττάρων και λ. α. συσχετίστηκε με τα στάδια ΠΑΠ κατά Fontaine. Οι Fusman R. et al, [52] θεώρησαν σημαντικό το εύρημα του αρκετά αυξημένου αριθμού προσκόλλησης / συσσωρευσης λ. α. ασθενών με ισχαιμική αγγειοπάθεια καρδιάς ή εγκεφάλου στο περιφερικό αίμα. Οι Korhuis RJ et al, [53] διαπίστωσαν ότι η λευκοκυτταρική διήθηση είναι ένα περίβλεπτο χαρακτηριστικό κατά την ισχαιμία επαναιμάτωση της χρόνιας φλεβικής ανεπάρκειας και ενεργοποιημένα ουδετερόφιλα παίζουν έναν αιτιολογικό ρόλο στο σκέλος της βλάβης επαναιμάτωσης δια μέσου της στοχευμένης απελευθέρωσης αντιδραστικών μεταβολιτών οξυγόνου και υδρολυτικών ενζύμων. Οι Willam C. et al, [54] παρατήρησαν ότι αύξηση στην διαθεσιμότητα οξυγόνου διεγείρει τα μόρια προσκόλλησης της κυτταρικής επιφάνειας του αγγειακού ενδοθηλίου (μ.π.ε.): intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) και vascular adhesion molecule-1 (VCAM-1) καθώς και την έκφραση των mRNA τους στα μικρο- και μακρο-αγγειακά ενδοθηλιακά κύτταρα, που μπορεί να συνεισφέρουν στην προσκόλληση, διήθηση,

μετανάστευση και εξαγγείωση λ. α. μέσω της δεσμεύσεως από τις β-integrins τους στα (μ.π.ε.) των διαφόρων πληθυσμών λ. α. σε βλάβες ισχαιμίας - επαναιμάτωσης. Οι Ciuffetti G. et al, [55] μέτρησαν σημαντικά αυξημένο αριθμό λ. α. σε ασθενείς περιφερικής αγγειοπάθειας σταδίου II, αλλά η μόνη ρεολογική παράμετρος των λ. α. που έδειξε σημαντική διακύμανση ήταν η διηθησιμότητα των μονοπύρηνων λευκοκυττάρων. Οι Arber N. et al, [56] ανίχνευσαν αύξηση των συσσωρευόμενων λ. α. στον κυκλοφορούντα όγκο κατά την διάρκεια μείζονος stress. Οι Ciuffetti G. et al, [57] παρατήρησαν αύξηση της διηθητικότητας των μονοκυττάρων ( $P < 0.01$ ) σε πρώιμα στάδια περιφερικής αγγειοπάθειας και προσβεβλημένη κοκκιοκυτταρική διηθητικότητα ( $P < 0.04$ ) σε πρώιμα στάδια σταθερής στηθάγχης. Οι Romanus M. et al, [58] παρατήρησαν εκτεταμένη συγκόλληση λ. α. στα αγγειακά τοιχώματα θόλου παρειάς αρουραίων δεικνύοντας ενδοθηλιακή βλάβη κατόπιν 4-ωρης ισχαιμίας επαγόμενης από πίεση.

Όσον αφορά την φυσική ανθρώπινη ερυθροποιητίνη, καμιά μεταβολή δεν βρέθηκε στον αριθμό των λ.α. μετά από δίμηνη χορήγηση από τους Beiraghdar F. et al. [59] σε μεταμοσχευμένους νεφροπαθείς. Οι Yun SJ. et al. [60] παρατήρησαν ότι τα διμερή μόρια ανθρώπινης (dHuEPO) παρουσιάζουν σημαντικά υψηλότερη βιολογική δραστηριότητα από ότι η μονομερής μορφή της ανασυνδυασμένης EPO, με αποτέλεσμα τα λ.α. σε διαγονιδιακούς αρουραίους να παρουσιάζονται σημαντικά υψηλότερα από ότι σε μάρτυρες. Οι Negre O. et al. [61] μεταμόσχευσαν μυελό οστών με ακρωτηριασμένο υποδοχέα ερυθροποιητίνης μέσω ιικού φορέα σε θαλασσαιμικούς αρουραίους, και ενώ ανίχνευαν ενισχυμένη ευαισθησία στην EPO με ανυψωμένα επίπεδα της στο πλάσμα, δεν ανίχνευαν καμιά ενίσχυση στον αριθμό των λ. α. Οι Agarwal R. et al. [62] δεν βρήκαν κάποιο ρόλο των τιμών των προ και μετά συνεδριών αιμοκάθαρσης των λ.α., malondialdehyde (MDA), και της χημειοτακτικής πρωτεΐνης-1 των μονοκυττάρων (MCP1) υπό καθεστώς επάρκειας σιδήρου, στην πρόβλεψη των μεταβολών διακύμανσης αιμοσφαιρίνης (Hgb) (δείκτης EPO ευαισθησίας), στην συνάρτηση του χρόνου, σε 82 αιμοκαθαρόμενους ασθενείς, που υποβλήθηκαν σε 3 συναπτες μηνιαίες αιμοκαθάρσεις. Οι Kanzaki M. et al. [63] χορήγησαν EPO ενδοπεριτοναϊκά σε αρουραίους που είχαν υποκλόνιο για το γονίδιο του αδενοκαρκινώματος 26 του παχέος εντέρου και

από την ημέρα ενοφθαλμισμού μέχρι την κατάληξη τους βρήκαν σημαντικά μειωμένο αριθμό λ.α. καθώς και επίπεδα ιντερλευκίνης-6 (κυτοκίνη που επάγει καχεξία) όχι μόνο στον ορό αλλά και στον ενοφθαλμιζόμενο όγκο. Οι el-Nawawy A. et al. [64] βρήκαν σημαντικά υψηλότερο ποσό λ.α. και ερυθροποιητίνης ορού κατά την εισαγωγή σε 50 βρέφη νοσηλεύόμενα λόγω πρωτεϊνικής δυσθρεψίας σε σχέση με 50 βρέφη μάρτυρες. Η ερυθροποιητίνη ορού ήταν επίσης σημαντικά υψηλότερη και κατά την έξοδο σε σχέση με τους μάρτυρες. Οι Gendron A. et al. [65] βρήκαν μειωμένα λ.α. >30% και αυξημένα επίπεδα EPO σε εκτεταμένους χρόνους σε ανταπόκριση επαναιμάτωσης συστηματικής υποξίας αρουραίων από εγκεφαλικό επεισόδιο κατόπιν παροδικής απόφραξης της μέσης εγκεφαλικής αρτηρίας για μια ώρα. Οι Rocha VL. et al. [66] δεν παρατήρησαν καμιά διαφορά στον αριθμό λ.α. σε 3 ομάδες πρόωρων < 33 w, λιποβαρών <1550 g, νεογνικής ηλικίας 10 - 35 d νεογνών που έλαβαν για μια εβδομάδα από 100 U/kg, 350 U/kg και μάρτυρες. Οι Livingston DH. et al [67] παρατήρησαν αιματοποιητική ανεπάρκεια σε πειραματόζωα κατόπιν shock και τραυματισμού, χωρίς να σημειώσουν ποσοτικό έλλειμμα στον αριθμό των λ.α. αλλά μια μεταβολή στην λειτουργία τους εκδηλούμενη ως αυξημένη ευαλωτότητα σε λοίμωξη πιθανά λόγω απελευθέρωσης ανώριμων λ.α. στην κυκλοφορία καθώς και μια αυξημένη προδιάθεση σε οργανική ανεπάρκεια παρ' ότι τα οστεομυελικά και αιματολογικά δείγματα που λήφθηκαν την 1η και 7η μετατραυματική ημέρα από 45 πολυτραυματίες παρουσίασαν επίπεδα epo 2 ως 10 φορές υψηλότερα σε σχέση με φυσιολογικούς εθελοντές μάρτυρες. Οι Obayashi K. et al. [68] κατέγραψαν ανώμαλο circadian ρυθμό έκκρισης EPO αλλά καμιά μεταβολή λ.α. σε συμπαθεκτομημένους αρουραίους με 6-hydroxydopamine (6-OHDA) σε σύγκριση με μάρτυρες. Οι Criswell KA. et al. [69] βρήκαν αυξημένο αριθμό λ.α. σε αμφότερες τις ομάδες αρουραίων προκλητής αναιμίας ενώ μονοκυττάρωση και βασηοφιλία στην ομάδα (αιμόλυσης) ενδοπεριτοναϊκής χορήγησης 50 mg/kg phenylhydrazine (PHZ) για 3 μέρες. Σε αμφότερες τις ομάδες και αιμόλυσης και φλεβοτομής, τα επίπεδα EPO πλάσματος ήταν 4-10 φορές υψηλότερα σε σχέση με ούρα, νεφρά ήπαρ, αλλά πιο ευαίσθητο για τις ερυθροποιητικές μεταβολές ήταν το ποσοστό δικτυοερυθροκυττάρων που βρέθηκε 24% στα φλεβοτομημένα

και >99% στους PHZ αρουραίους. Οι Kristal B. et al. [70] συμπέραναν ότι η EPO αλληλεπιδρά με πολυμορφοπύρηνα PMNLs εξασθενίζοντας τον πρωταρχικό ρόλο τους σε αιμοκαθαιρόμενους (HD) ασθενείς. Θεραπεία 6 εβδομάδων σε HD ασθενείς έριξε σημαντικά τον αριθμό λ.α., PMNLs και τον ρυθμό απελευθέρωσης superoxide από phorbol 12-myristate 13-acetate από διεγερμένα PMNLs το οποίο είναι δείκτης οξειδωτικού stress σε σχέση με τις προθεραπευτικές τιμές. Επώαση PMNLs από HD ασθενείς και μάρτυρες με αυξανόμενα ποσά EPO απεικόνισε σημαντική μείωση στα ποσοστά απελευθέρωσης superoxide, σημαντική βελτίωση στην επιβίωση μειώνοντας έτσι το οξειδωτικό stress και την έκταση της φλεγμονής. Οι Bosi A. et al. [71] παρατήρησαν μια αύξηση στα επίπεδα EPO ορού μετά την έναρξη σχήματος χημειοθεραπείας σε 14 ασθενείς που υπέστησαν αυτόλογη μεταμόσχευση μυελού οστών, αλλά όχι συσχέτιση με τον αριθμό λ.α., όμως ισχυρή συσχέτιση προέκυψε μεταξύ της τιμής sEPO κατά την ημέρα 0 της χημειοθεραπείας με την ημέρα ανάνηψης των ουδετερόφιλων ( $r = -0.806$ ;  $p < 0.001$ ), ήτοι, υψηλά επίπεδα sEPO την ημέρα 0 παρουσίαζαν σημαντικά ταχύτερη ανάνηψη ουδετεροφίλων.

Όσον αφορά την ανασυνδυσμένη ανθρώπινη ερυθροποιητίνη, καμιά μεταβολή δεν βρέθηκε στον αριθμό των λ.α. μετά από δίμηνη χορήγηση από τους Beiraghdar F. et al. [59] σε μεταμοσχευμένους νεφροπαθείς. Οι Kim MO. et al., [72] χρησιμοποιώντας πρότυπες τεχνικές μικροένεσης, τοποθέτησαν γονίδιο cDNA rEPO σε διαγονιδιακούς αρουραίους και κατέγραψαν στους περισσότερους ιστούς παρόμοια μετάγραφα και ειδικώς υψηλά επίπεδα έκφρασης σε ήπαρ και πνεύμονες αλλά και υψηλότερο αριθμό λ.α. σε σχέση με τους μάρτυρες. Οι Demers EJ. et al. [73] δεν μέτρησαν διαφορές στον αριθμό των λ.α. και ουδετερόφιλων μεταξύ μαρτύρων και νεογνικών αρουραίων κατά την 7η νεογνική ημέρα που υπέστησαν νεογνικό υποξικό ισχαιμικό εγκεφαλικό τραυματισμό με απόφραξη της δεξιάς κοινής καρωτίδας αρτηρίας και θεραπεύτηκαν με 90-min έκθεση 8% οξυγόνου και rEPO. Οι Yanay O. et al. [74] δεν παρατήρησαν σημαντικές διαφορές στον αριθμό των λ.α. σε αρουραίους στους οποίους έγινε εμφύτευση συσκευών είτε υποδορίως είτε ενδοπεριτοναϊκώς, που παρείχαν γονιδιακά εκπεφρασμένη μακροπρόθεσμη rEPO. Οι Yagil Y. et al. [75] παρατήρησαν ότι η υποδόρια θεραπεία με r-HuEPO δόση 4,000 units εβδομαδιαίως σε



αναιμικούς προαιμοκαθαιρόμενους νεφροπαθείς ασθενείς δεν μετέβαλλε τον αριθμό των λ.α. Οι Akiyama H. et al. [76] δεν σημείωσαν σημαντική καθυστέρηση στην ανάνηψη των λ.α. από δείγματα μεταμοσχευμένων που έλαβαν μευλό οστών από 4 δότες προθεραπευόμενους με 100 units/kg rHuEPO υποδορίως 3 φορές εβδομαδιαίως για 3 εβδομάδες. Οι Oratnύ K. Jr et al. [77] συμπέραναν ότι η θεραπεία με rHuEPO δεν επιφέρει μεταβολές στον αριθμό λ.α. σε χρόνια αιμοκαθαιρόμενους ασθενείς κατά την διάρκεια συνεδριών κάθαρσης πριν και μετά την χορήγηση θεραπείας rHuEPO. Οι Lavey RS et al. [78] δεν καταμέτρησαν σημαντική επίδραση στον αριθμό των λ.α. και ουδετερόφιλων στους μισούς καρκινοπαθείς στους οποίους χορηγήθηκε υποδορίως 150-300 mg/kg r-HuEPO 3 φορές εβδομαδιαίως αρχίζοντας 0-10 ημέρες πριν την πρώτη δόση ακτινοθεραπείας. Οι Hintz-Obertreis P. et al. [79] διαπίστωσαν ότι η χορήγηση recombinant human (rhu) mast cell growth factor (MGF) μόνης, αλλά και της EPO μόνης, δεν είχε επίδραση στα λ.α. ή στην διέγερση σχηματισμού αποικιών ανθρώπινων κυττάρων μυελού οστών. Οι Kurzrock R. et al. [80] βρήκαν συνολικώς έναν ασθενή από 16 με μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο και αναιμία που έλαβαν υποδορίως rhuEPO, 50 U/kg/day, ανέπτυξαν λευκοκυττάρωση δείχνοντας αύξηση στα λ.α. Οι Eren Z. et al. [81] 4 ώρες μετά την χορήγηση προθεραπείας με 3000 U/kg βEPO ip βρήκαν σημαντικά μειωμένα ποσά λ.α. ( $p = 0.02$ ) σε αρουραίους.

Φυσικά όσο και πολυπληθής να είναι η απλή παράθεση βιβλιογραφικών δεδομένων, θα παραμείνει στείρα και άγονη αν δεν γίνει σύγκριση και συσχέτιση των αποτελεσμάτων της μελέτης με άλλες διαθέσιμες αναφορές. Πράγματι

πολυάριθμες πειραματικές και κλινικές μελέτες καταδεικνύουν την αντι-αποπρωτική και αντιφλεγμονώδη δράση της ερυθροποιητίνης, καθώς και τον ρόλο της στην κινητοποίηση των προγονικών ενδοθηλιακών κυττάρων (endothelial progenitor cells -EPCs) στην κυκλοφορία και την αγγειογένεση. Πρόσφατες μελέτες υποθέτουν ότι η ευεργετική επίδραση της ερυθροποιητίνης ασκείται μάλλον μέσω της ανωτέρω ενεργοποίησης των EPCs παρά μέσω παρεμπόδισης της φλεγμονώδους αντίδρασης. Επίσης λίαν προσφάτως οι Massot A, et al [82] καταμέτρησαν υψηλότερα επίπεδα ενδοθηλιακών προγονικών κυττάρων (EPCs), fibroblast growth factor (FGF), vascular endothelial growth factor (VEGF) and platelet-derived growth factor (PDGF-BBs) ( $p = 0.007$ ,  $p = 0.07$  and  $p = 0.07$ , αντιστοίχως) σε ασθενείς με σοβαρή συμπτωματική ενδοκράνια αθηροσκληρωτική νόσο (ICAD). Αυτό καταμαρτυρά ότι οι σοβαρότερες μορφές χρόνιας εγκεφαλικής υποάρδευσης σε ICAD ασθενείς θα μπορούσαν να διεγείρουν την κινητοποίηση των EPC και την παραγωγή αγγειογόνων αυξητικών παραγόντων (AGF). Μια υπόθεση που προκύπτει λοιπόν αβίαστα είναι μήπως η υποάρδευση και η φλεγμονή ενεργοποιούν και κινητοποιούν τα EPCs. Η μελέτη μας χωρίς να το αποδεικνύει είναι άκρως συνηγορητική προς αυτήν την κατεύθυνση. Απόδειξη θα μπορούσε να προέλθει από κατάστρωση άλλου είδους πειραματικής διατάξεως που θα εστίαζε περισσότερο σε μοριακούς και κυτταρικούς μηχανισμούς.

**Ευχαριστίες:** στο Ερευνητικό - Πειραματικό Κέντρο, ELPEN A.E. Λ. Μαραθώνος 95, 19009, Πικέρμι Αττικής.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Bakan V, Ciralik H, Tolun FI, et al: Protective effect of erythropoietin on torsion/detorsion injury in rat model. *J Pediatr Surg.* 2009 Oct;44(10):1988-94.
2. Karaca M, Odabasoglu F, Kumtepe Y, et al: Protective effects of erythropoietin on ischemia/reperfusion injury of rat ovary. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2009 Jun;144(2):157-62.
3. Yano T., Miki T, Tanno M, et al: Hypertensive hypertrophied myocardium is vulnerable to infarction and refractory to erythropoietin-induced protection. *Hypertension.* 2011 Jan;57(1):110-5.
4. Bader A, Pavlica S, Deiwick A, et al: Proteomic analysis to display the effect of low doses of erythropoietin on rat liver regeneration. *Life Sci.* 2011 Dec 5;89(23-24):827-33.
5. Wang Q, Gorbey S, Pfister F, et al: Long-term treatment with suberythropoietic Epo is vaso- and neuroprotective in experimental diabetic retinopathy. *Cell Physiol Biochem.* 2011;27(6):769-82.
6. Sternberg' s *Diagnostic Surgical Pathology.* Stacey E. Mills. 4th Edition, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia 2004, p: 1509.
7. Ishikawa T, Shimizu M, Kohara S, Appearance of WBC-platelet complex in acute ischemic stroke, predominantly in atherothrombotic infarction. *J Atheroscler Thromb.* 2012;19(5):494-501.
8. Jastrzębska M, Chelstowski K, Siennicka A, et al. The character of haemostatic disorders and level of protein S-100 in acute ischaemic stroke can affect survival in the first week of follow-up: a pilot study.

## ΠΡΩΤΟΤΥΠΑ ΑΡΘΡΑ

- Blood Coagul Fibrinolysis. 2011 Jul;22(5):388-95.
9. Thornton P, McColl BW, Greenhalgh A, Platelet interleukin-1alpha drives cerebrovascular inflammation. *Blood*. 2010 Apr 29;115(17):3632-9.
  10. Carrera E, Schmidt JM, Oddo M, et al. Transcranial Doppler ultrasound in the acute phase of aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Cerebrovasc Dis*. 2009;27(6):579-84.
  11. Satas S, Løberg EM, Porter H, et al. Effect of global hypoxia-ischaemia followed by 24 h of mild hypothermia on organ pathology and biochemistry in a newborn pig survival model. *Biol Neonate*. 2003;83(2):146-56.
  12. Zaremba J, Losy J. The levels of TNF-alpha in cerebrospinal fluid and serum do not correlate with the counts of the white blood cells in acute phase of ischaemic stroke. *Folia Morphol (Warsz)*. 2001;60(2):91-7.
  13. Tomita M, Fukuuchi Y. Leukocytes, macrophages and secondary brain damage following cerebral ischemia. *Acta Neurochir Suppl*. 1996;66:32-9.
  14. Corvin S, Schürer L, Abels C, et al. Effect of stimulation of leukocyte chemotaxis by fMLP on white blood cell behaviour in the microcirculation of rat brain. *Acta Neurochir Suppl (Wien)*. 1990;51:55-7.
  15. Pozzilli C, Lenzi GL, Argentino C, et al. Imaging of leukocytic infiltration in human cerebral infarcts. *ke*. 1985 Mar-Apr;16(2):251-5.
  16. Huang WH, Lee JF, Wang D, et al. Postischemia myocardial injury in coronary artery bypass patients (PP6). *Transplant Proc*. 2010 Apr;42(3):725-8.
  17. Delgaudine M, Gothot A, Beguin Y. Spontaneous and granulocyte colony-stimulating factor-enhanced marrow response and progenitor cell mobilization in mice after myocardial infarction. *Cytotherapy*. 2010 Nov;12(7):909-18.
  18. Shahzad F, Tawwab S, Abbas A. Relationship of white blood cell counts, haemoglobin and ESR with IHD. *J Ayub Med Coll Abbottabad*. 2009 Jul-Sep;21(3):59-62.
  19. Abacilar F, Dogan OF, Duman U, et al. The changes and effects of the plasma levels of tumor necrosis factor after coronary artery bypass surgery with cardiopulmonary bypass. *Heart Surg Forum*. 2006;9(4):E703-9.
  20. Müller-Ehmsen J, Scheid C, Grundmann F, et al. The mobilization of CD34 positive mononuclear cells after myocardial infarction is abolished by revascularization of the culprit vessel. *Int J Cardiol*. 2005 Aug 3;103(1):7-11. Epub 2004 Dec 15.
  21. Domański L. Cortisol levels in blood of persons with acute myocardial ischemia and myocardial infarction. *Ann Acad Med Stetin*. 1999;45:137-55.
  22. Kassirer M, Zeltser D, Prochorov V, et al. Increased expression of the CD11b/CD18 antigen on the surface of peripheral white blood cells in patients with ischemic heart disease: further evidence for smoldering inflammation in patients with atherosclerosis. *Am Heart J*. 1999 Sep;138(3 Pt 1):555-9.
  23. Martin SE, Chenoweth DE, Engler RL, et al. C5a decreases regional coronary blood flow and myocardial function in pigs: implications for a granulocyte mechanism. *Circ Res*. 1988 Aug;63(2):483-91.
  24. Chen CF, Chen HT, Wang D, Restrictive ventilatory insufficiency and lung injury induced by ischemia/reperfusion of the pancreas in rats. *Transplant Proc*. 2008 Sep;40(7):2185-7.
  25. Davis KA, Fabian TC, Ragsdale DN, et al. Endogenous adenosine and secondary injury after chest trauma. *J Trauma*. 2000 Nov;49(5):892-8.
  26. Welbourn R, Goldman G, Kobzik L, et al. Role of neutrophil adherence receptors (CD 18) in lung permeability following lower torso ischemia. *Circ Res*. 1992 Jul;71(1):82-6.
  27. Zanoni FL, Benabou S, Greco KV, Mesenteric microcirculatory dysfunctions and translocation of indigenous bacteria in a rat model of strangulated small bowel obstruction. *Clinics (Sao Paulo)*. 2009;64(9):911-9.
  28. Fan CL, Duan J, Dong PL, Ischemic hepatitis in hepatitis B related liver cirrhotic patients with upper gastrointestinal hemorrhage: clinical features and prognostic implications. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi*. 2009 Apr;17(4):258-62.
  29. Lu Y, Jiang XG, Wang HB, et al. Effects of carbachol on apoptosis of peripheral white blood cells and expression of cytokines in rats suffering from gut ischemia/reperfusion injury. *Zhongguo Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue*. 2005 Feb;17(2):113-6.
  30. Champagne BJ, Darling RC 3rd, Daneshmand M, et al. Outcome of aggressive surveillance colonoscopy in ruptured abdominal aortic aneurysm. *J Vasc Surg*. 2004 Apr;39(4):792-6.
  31. Conner WC, Gallagher CM, Miner TJ, et al. Neutrophil priming state predicts capillary leak after gut ischemia in rats. *J Surg Res*. 1999 Jun 1;84(1):24-30.
  32. Massberg S, Eisenmenger S, Enders G, et al. Quantitative analysis of small intestinal microcirculation in the mouse. *Res Exp Med (Berl)*. 1998 Jul;198(1):23-35.
  33. Zhang P. The liver in the pathogenesis of multiple organ failure. *Zhonghua Wai Ke Za Zhi*. 1991 May;29(5):324-9, 336.
  34. Molitoris BA, Sandoval RM. Kidney endothelial dysfunction: ischemia, localized infections and sepsis. *Contrib Nephrol*. 2011;174:108-18.
  35. Ojteg G, Bayati A, Källskog O, et al. Renal capillary permeability and intravascular red cell aggregation after ischaemia. I. Effects of xanthine oxidase activity. *Acta Physiol Scand*. 1987 Mar;129(3):295-304.
  36. Anderson SI, Hudlicka O, Brown MD. Capillary red blood cell flow and activation of white blood cells in chronic muscle ischemia in the rat. *Am J Physiol*. 1997 Jun;272(6 Pt 2):H2757-64.
  37. Sabido F, Milazzo VJ, Hobson RW 2nd, et al. Skeletal muscle ischemia-reperfusion injury: a review of endothelial cell-leukocyte interactions. *J Invest Surg*. 1994 Jan-Feb;7(1):39-47.
  38. Menger MD, Vollmar B. In vivo analysis of microvascular reperfusion injury in striated muscle and skin. *Microsurgery*. 1994;15(6):383-9.
  39. Menger MD, Messmer K. Microcirculation of skeletal muscle after ischemia and reperfusion. *en Med Wochenschr*. 1993;143(7-8):148-58.
  40. Walker PM. Ischemia/reperfusion injury in skeletal muscle. *Ann Vasc Surg*. 1991 Jul;5(4):399-402.
  41. Rubin B, Tittley J, Chang G, et al. A clinically applicable method for long-term salvage of postischemic skeletal muscle. *J Vasc Surg*. 1991 Jan;13(1):58-67.
  42. Yokota J, Minei JP, Fantini GA, et al. Role of leukocytes in reperfusion injury of skeletal muscle after partial ischemia. *Am J Physiol*. 1989 Oct;257(4 Pt 2):H1068-75.
  43. Fei YF, Wang C, Chen DW, et al. Incidence and risk

- factors of amputation among inpatients with diabetic foot. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. 2012 Jun 26;92(24):1686-9.
44. Karahalil B, Polat S, Senkoylu A, Evaluation of DNA damage after tourniquet-induced ischaemia/reperfusion injury during lower extremity surgery. *Injury*. 2010 Jul;41(7):758-62.
  45. Danielsson P, Truedsson L, Norgren L. Systemic white blood and endothelial cell response after revascularization of critical limb ischemia is only influenced in case of ischemic ulcers. *Int Angiol*. 2006 Sep;25(3):310-5.
  46. Danielsson P, Danielsson G, Truedsson L, et al. White blood cell and endothelial cell response to endovascular procedures in the leg. *Int Angiol*. 2004 Jun;23(2):122-7.
  47. Willy C, Kaffenberger W, Gerngross H. Systemic effect of extremity-ischemia reperfusion surgical trauma. Assessment of tourniquet ischemia induced activation of polymorphonuclear neutrophilic granulocytes. *Langenbecks Arch Chir Suppl Kongressbd*. 1998;115(Suppl I):347-51.
  48. Nash GB, Thomas PR, Dormandy JA. Therapeutic aspects of white blood cell rheology in severe ischaemia of the leg. *J Mal Vasc*. 1991;16(1):32-4.
  49. Paterson IS, Klausner JM, Goldman G, et al. Thromboxane mediates the ischemia-induced neutrophil oxidative burst. *Surgery*. 1989 Aug;106(2):224-9.
  50. Klausner JM, Paterson IS, Valeri CR, et al. Limb ischemia-induced increase in permeability is mediated by leukocytes and leukotrienes. *Ann Surg*. 1988 Dec;208(6):755-60.
  51. Danielsson P, Truedsson L, Eriksson KF, Inflammatory markers and IL-6 polymorphism in peripheral arterial disease with and without diabetes mellitus. *Vasc Med*. 2005 Aug;10(3):191-8.
  52. Fusman R, Rotstein R, Zeltser D, et al. The state of leukocyte adhesiveness/aggregation in the peripheral blood of patients with type 2 diabetes and ischemic vascular disease. *Acta Diabetol*. 2001;38(1):43-9.
  53. Korthuis RJ, Unthank JL. Experimental models to investigate inflammatory processes in chronic venous insufficiency. *Microcirculation*. 2000;7(6 Pt 2):S13-22.
  54. Willam C, Schindler R, Frei U, et al. Increases in oxygen tension stimulate expression of ICAM-1 and VCAM-1 on human endothelial cells. *Am J Physiol*. 1999 Jun;276(6 Pt 2):H2044-52.
  55. Ciuffetti G, Ott C, Mercuri M, et al. The behavior of leukocyte rheology in induced ischemia in peripheral arterial occlusive disease. *Z Gesamte Inn Med*. 1989 Oct 1;44(19):600-1.
  56. Arber N, Berliner S, Rotenberg Z, et al. Detection of aggregated leukocytes in the circulating pool during stress-demargination is not necessarily a result of decreased leukocyte adhesiveness. *Acta Haematol*. 1991;86(1):20-4.
  57. Ciuffetti G, Mercuri M, Rizzo MT, et al. Human leukocyte rheology and tissue ischaemia. *Eur J Clin Invest*. 1989 Jun;19(3):323-7.
  58. Romanus M, Stenqvist O, Haljamäe H, et al. Pressure-induced ischemia. I. An experimental model for intravital microscopic studies in hamster cheek pouch. *Eur Surg Res*. 1977;9(6):444-59.
  59. Beiraghdar F, Panahi Y, Einollahi B, et al. Investigation of the efficacy of a biogeneric recombinant human erythropoietin alfa in the correction of post-transplantation anemia: a randomized comparative trial with Eprex. *Clin Lab*. 2012;58(11-12):1179-85.
  60. Yun SJ, Naidansuren P, Sim BW, et al. Aberrant phenotypes of transgenic mice expressing dimeric human erythropoietin. *Reprod Biol Endocrinol*. 2012 Jan 27;10:6.
  61. Negre O, Fusil F, Colomb C, et al. Correction of murine  $\beta$ -thalassemia after minimal lentiviral gene transfer and homeostatic in vivo erythroid expansion. *Blood*. 2011 May 19;117(20):5321-31.
  62. Agarwal R, Davis JL, Smith L. Serum albumin is strongly associated with erythropoietin sensitivity in hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2008 Jan;3(1):98-104.
  63. Kanzaki M, Soda K, Gin PT, et al. Erythropoietin attenuates cachectic events and decreases production of interleukin-6, a cachexia-inducing cytokine. *Cytokine*. 2005 Dec 7;32(5):234-9.
  64. el-Nawawy A, Barakat S, Elwalily T, et al. Evaluation of erythropoiesis in protein energy malnutrition. *East Mediterr Health J*. 2002 Mar-May;8(2-3):281-9.
  65. Gendron A, Kouassi E, Nuara S, et al. Transient middle cerebral artery occlusion influence on systemic oxygen homeostasis and erythropoiesis in Wistar rats. *Stroke*. 2004 Aug;35(8):1979-84.
  66. Rocha VL, Benjamin AC, Procianny RS. The effect of recombinant human erythropoietin on the treatment of anemia of prematurity. *J Pediatr (Rio J)*. 2001 Mar-Apr;77(2):75-83.
  67. Livingston DH, Anjaria D, Wu J, et al. Bone marrow failure following severe injury in humans. *Ann Surg*. 2003 Nov;238(5):748-53.
  68. Obayashi K, Ando Y, Terazaki H, et al. Mechanism of anemia associated with autonomic dysfunction in rats. *Auton Neurosci*. 2000 Aug 14;82(3):123-9.
  69. Criswell KA, Sulkanen AP, Hochbaum AF, et al. Effects of phenylhydrazine or phlebotomy on peripheral blood, bone marrow and erythropoietin in Wistar rats. *J Appl Toxicol*. 2000 Jan-Feb;20(1):25-34.
  70. Kristal B, Shurtz-Swirski R, Shasha SM, et al. Interaction between erythropoietin and peripheral polymorphonuclear leukocytes in hemodialysis patients. *Nephron*. 1999;81(4):406-13.
  71. Bosi A, Vannucchi AM, Grossi A, Serum erythropoietin levels in patients undergoing autologous bone marrow transplantation. *ne Marrow Transplant*. 1991 Jun;7(6):421-5.
  72. Kim MO, Kim SH, Shin MJ, et al. Human erythropoietin induces lung failure and erythrocytosis in transgenic mice. *Mol Cells*. 2007 Feb 28;23(1):17-22.
  73. Demers EJ, McPherson RJ, Juul SE. Erythropoietin protects dopaminergic neurons and improves neurobehavioral outcomes in juvenile rats after neonatal hypoxia-ischemia. *Pediatr Res*. 2005 Aug;58(2):297-301.
  74. Yanay O, Barry SC, Flint LY, et al. Long-term erythropoietin gene expression from transduced cells in bioisolator devices. *Hum Gene Ther*. 2003 Nov 20;14(17):1587-93.
  75. Yagil Y. Proposed therapeutic algorithm for the treatment of anemia of chronic renal failure in pre-dialysis patients with low dose once weekly subcutaneous r-HuEPO. Multicenter Study Group, Israel. *Isr J Med Sci*. 1997 Jan;33(1):36-44.
  76. Akiyama H, Tanikawa S, Takamoto S, et al. Recombinant human erythropoietin (rhEPO) administration to marrow donors. Bone Marrow Transplantation (BMT) Team. *Int J Hematol*. 1995

- Oct;62(3):145-9.
77. Opatrnú K Jr, Vvt L, Opatrna S, et al. Hemocompatibility in hemodialysis and erythropoietin therapy. *Artif Organs*. 1995 Aug;19(8):814-20.
78. Lavey RS, Dempsey WH. Erythropoietin increases hemoglobin in cancer patients during radiation therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1993 Dec 1;27(5):1147-52.
79. Hintz-Obertreis P, Weinmann E, Seiler FR. Studies on the efficacy of mast cell growth factor (c-kit ligand) in vitro as well as in vivo. *Behring Inst Mitt*. 1991 Dec;(90):14-22.
80. Kurzrock R, Talpaz M, Estey E, et al. Erythropoietin treatment in patients with myelodysplastic syndrome and anemia. *Leukemia*. 1991 Nov;5(11):985-90.
81. Eren Z, Coban J, Ekinci ID, et al. Evaluation of the effects of a high dose of erythropoietin-beta on early endotoxemia using a rat model. *Adv Clin Exp Med*. 2012 May-Jun;21(3):321-9.
82. Massot A, Navarro-Sobrinó M, Penalba A, et al. Decreased levels of angiogenic growth factors in intracranial atherosclerotic disease despite severity-related increase in endothelial progenitor cell counts. *Cerebrovasc Dis*. 2013;35(1):81-8..

## ORIGINAL ARTICLE

## The erythropoietin effect on white blood cells during ischemia reperfusion injury

C. Tsompos<sup>1</sup>, C. Panoulis<sup>2</sup>, K. Toutouzas<sup>3</sup>, G. Zografos<sup>3</sup>, A. Papalois<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Obstetrics & gynecology, Mesologi County Hospital, <sup>2</sup> Obstetrics & gynecology, Aretaieion Hospital, Athens University, <sup>3</sup> Department of Surgery, Ippokrateion Hospital, Athens University, <sup>4</sup> Experimental Research Center ELPEN S.A.

(Scientific Chronicles 2013;18(2):92-103)

## ABSTRACT

**Aim** of this present experimental study is the erythropoietin (EPO) testing, in rat animal model and certainly in ischemia/reperfusion injury protocol. The benefit or not of that particular molecule action was studied hematologically in their white blood cells numbers.

**Material and methods** 40 rats of mean weight 235,55gr were used. The counting of white blood cells numbers were performed on the following time points: 60 min after reperfusion (groups A and C) and 120 min after reperfusion (groups B and D), A and B groups without but C and D groups with EPO.

**Results** 1) erythropoietin presence increases the number of white blood cells by 1.025 103/mm<sup>3</sup> [0.1960157 103/mm<sup>3</sup> - 1.853984 103/mm<sup>3</sup>] (P=0.0167), 2) reperfusion time increases white blood cells by 0.6749999 103/mm<sup>3</sup> [-0.1918239 103/mm<sup>3</sup> - 1.541824 103/mm<sup>3</sup>] (P= 0.1232) and 3) the interaction of erythropoietin presence and reperfusion time increases the number of white blood cells by 0.6790909 103/mm<sup>3</sup> [0.1878032 103/mm<sup>3</sup> - 1.170379 103/mm<sup>3</sup>] (P=0.0080).

**Conclusions** erythropoietin presence as well interaction of erythropoietin presence and reperfusion time increases the white blood cells numbers importantly, but corresponding conclusion cannot be inferred for reperfusion time alone, at this certain sample, at least.

**Key words:** erythropoietin, white blood cells, reperfusion