



Ενημερωτικό Δελτίο 12- Ιούλιος 2014

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ:

- TUBULAR DAMAGE IS UBIQUITOUS IN NEWLY-DIAGNOSED PATIENTS WITH MULTIPLE MYELOMA: COMPARISON OF THREE URINARY AND TWO SERUM MARKERS OF KIDNEY INJURY

- ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ ΜΕ ΤΟ NPY

- ΕΜΠΛΟΚΗ ΤΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ ΣΤΗΝ ΑΘΗΡΩΜΑΤΩΣΗ

- ΜΗ ΕΠΕΜΒΑΤΙΚΗ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΚΗΣ ΝΟΣΟΥ ΜΕ ΤΗΝ ΧΡΗΣΗ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑΣ ΤΗΣ ΚΑΦΕΪΝΗΣ ΣΤΑ ΟΥΡΑ

Αγαπητοί συνάδελφοι

Δεν ξέρω αν γνωρίζετε τον Tim Booth τον τραγουδιστή των James. Στην πρόσφατη [υπεροχο-καταπληκτική συναυλία του στο Θέατρο Βράχων](#), όπου πέτυχε τέλειο συντονισμό ορχήστρας – θεατών, όπου όλοι έγιναν ένα σε τραγούδι, σε χορό, η συναυλία δεν τέλειωνε, δεν ήθελε να τελειώσει, η μαγεία ήταν εκεί, η μαγική στιγμή, η μαγική ώρα... είπε λοιπόν ο Tim Boot: «Να ζείτε την κάθε στιγμή τώρα, να απολαμβάνετε όποτε μπορείτε την κάθε στιγμή τώρα».

Αυτό λοιπόν είναι το μήνυμά μου σήμερα μέσα στο καλοκαίρι που εξελίσσεται και προχωράει και οι ημέρες άρχισαν ήδη να μικραίνουν. Σ' αυτό το παράξενο καλοκαίρι με τις καταιγίδες, με τα μελέτμια (αέρας στα πανιά μας ή μπουρίνια;), με τις εξαγγελίες, με τις αξιολογήσεις, πρέπει να ψάξουμε και να απολαύσουμε τις μαγικές στιγμές.

Υπάρχουν τέτοιες στιγμές. Υπάρχουν σε συναυλίες όταν μέσα από το κοινό τραγούδι και το χορό οι θεατές γίνονται ένα και ξεχνάς τις έγνοιες και απογειώνεσαι. Υπάρχουν μαγικές σκηνές μπροστά και μέσα στη θάλασσα, ακούγοντας τη μουσική της και απολαμβάνοντας το κολύμπι, που σε θεραπεύει από κάθε ανησυχία από κάθε δυσκολία.

Υπάρχουν μαγικές στιγμές στο θερινό σινεμά πίνοντας μπιρίτσα, τρώγοντας πατατάκια και απολαμβάνοντας μια όμορφη ταινία.

Υπάρχουν παίζοντας με τα παιδιά, κουβεντιάζοντας με φίλους, κοιτάζοντας τους αγαπημένους το δειλινό...

Το τι θα βρείτε σ' αυτό το δελτίο; Θα βρείτε το πρόγραμμα του Συνεδρίου μας που θα γίνει στην Αθήνα το Νοέμβρη, όπου θα μας κάνουν την τιμή να μιλήσουν διακεκριμένοι Έλληνες και ξένοι ομιλητές, πρόγραμμα φτιαγμένο με μεράκι από την Επιστημονική Επιτροπή του Συνεδρίου. Περιμένουμε τις εργασίες σας, τη συμμετοχή σας. Το Συνέδριο είναι για σας, αγαπητοί συνάδελφοι.

Σ' αυτό το δελτίο θα βρείτε την εργασία που βραβεύτηκε στο Αμερικάνικο Συνέδριο Κλινικής χημείας (Θερμά συγχαρητήρια στους συγγραφείς!!!), και τις εργασίες που μας έκαναν την τιμή και τη χαρά να μας στείλουν συνάδελφοι για το δελτίο.

Και μην ξεχνάτε τις μαγικές στιγμές... Εξ άλλου υπάρχει κι

[«ένας ουρανός μ' αστέρια, πού 'χει χίλια καλοκαίρια φυλαγμένα στην ψυχή»](#)... Μην το διαβάσετε, τραγουδήστε το.

Καλό καλοκαίρι

Κατερίνα Ψαρρά

James link: <http://www.youtube.com/watch?v=: -iEJM1BsSI>





ΠΡΟΣΧΕΔΙΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ ΕΡΓΑΣΙΩΝ 12ΟΥ ΣΥΝΕΔΡΙΟΥ ΕΕΚΧ-ΚΒ

ΠΕΜΠΤΗ 6/11/2014

16:00-21:00 Προσυνεδριακή ημερίδα υπό την αιγίδα του Πανεπιστημίου Αθηνών και της ΕΕΚΧ-ΚΒ:
 «Ημερίδα για τα 20 χρόνια λειτουργίας του Μεταπτυχιακού Προγράμματος Κλινικής Χημείας του Χημικού Τμήματος του Πανεπιστημίου Αθηνών»

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ 7/11/2014

09:00-09:30 Εγγραφές

09:30-11:00 Προφορικές ανακοινώσεις

11:00-11:30 Διάλειμμα-καφές

11:30-13:30 **Στρογγυλό Τραπέζι: Αναδυόμενες νέες και παλιές λοιμώξεις**
 Παναγιώτης Ιωαννίδης, Εθνικό Κέντρο Αναφοράς Μυκοβακτηριδίων, Νοσοκομείο "Σωτηρία": "Μοριακή διάγνωση φυματίωσης και γονοτυπικός έλεγχος αντοχής στα αντιφυματικά φάρμακα"
 Καράμπελα Σιμόνα, Δντ/ρια ΕΣΥ, Μικροβιολογικό εργαστήριο "ΣΩΤΗΡΙΑ": «Νέα δεδομένα για τον ιό MERS»

Ζευγώλης Βασίλειος, Βιοχημικός, PhD, Εθνικό Κέντρο Αιμοδοσίας: «Ιός West Nile»

13:30-15:00 Μεσημεριανή Διακοπή

15:00-16:00

Δορυφορικό Τραπέζι LERIVA

16:00-18:00 **Στρογγυλό Τραπέζι: Μοριακή Διαγνωστική**
 Απέσσος Αντζελα: «Next Generation Sequencing»
 Τσόπλου Φένια : «Non-Invasive Prenatal Diagnostics (NIPD)»

	Νασσιούλας Γεώργιος: «Ανίχνευση σωματικών μεταλλάξεων στον καρκινικό ιστό και επιλογή στοχευμένης θεραπείας»
18:00-18:30	Λιανίδου Ευρύκλεια: «Υγρή Βιοψία: Κυκλοφορούντα καρκινικά κύτταρα, κυκλοφορούν DNA, κυκλοφορούντα miRNAs: το τέλος της βιοψίας? Εφαρμογές και προβληματισμοί» Διάλειμμα-καφές
19:00-19:15	Έναρξη-Χαιρετισμοί
	Μπαϊρακτάρη Ελένη: «Όμιλία- αφιέρωμα στη ζωή και το έργο του Κ. Σεφεριάδη»
19:15-20:30	Εναρκτήρια Ομιλία: Prof. Howard Morris, IFCC Θέμα: "Vitamin D and pathophysiology of bone"
20:30-21:15	Μουσική Εκδήλωση
21:15	Δεξίωση

ΣΑΒΒΑΤΟ 8/11/2014

09:30-11:00	Προφορικές ανακοινώσεις
11:00-11:30	Διάλειμμα-καφές
11:30-12:30	Στρογγυλό Τραπέζι "Bone turnover markers; Biochemistry and Clinical Utility Prof. Morris Howard, Vice President IFCC: "The biochemistry of bone turnover markers" Τουρνής Συμεών, Ενδοκρινολόγος MD, Ph.D: «Ο ρόλος των βιοχημικών δεικτών του οστικού μεταβολισμού στη διαχείριση της οστεοπόρωσης»
12:30-13:30	Στρογγυλό Τραπέζι: S-100 Χριστίνα Ψαχούλια Δρ. Χημικός Eur.clin.chem. Βιοχημικό εργαστήριο, ΓΝΑ Ευαγγελισμός. «Η πρωτεΐνη S100B»

13:30-14:00	<p>Αγγελική Παπαδημητρίου, Μαιευτήρας Γυναικολόγος, Δρ Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών «Πρωτεΐνη S100B και κύηση υψηλού κινδύνου»</p> <p>Στέφανος Κορφιάς, Νευροχειρουργός, Λέκτορας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών, ΓΝΑ Ευαγγελισμός «Η πρωτεΐνη S100B στην εγκεφαλική βλάβη»</p> <p>Δορυφορικό Τραπέζι</p>
14:00-15:30	Μεσημεριανή Διακοπή
15:30-17:30	<p>Στρογγυλό Τραπέζι POCT</p> <p>Κλεάνθη Δήμα, Επίκ. Καθηγήτρια Κλινικής Βιοχημείας, Αττικό Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο: «Παρακλίνα μηχανήματα: παρόν και μέλλον, κατευθυντήριες οδηγίες, σχέση με το εργαστήριο»</p> <p>Σπυρόπουλος Βασίλειος, Καθηγητής Βιοιατρικής Τεχνολογίας, Τμήμα Τεχνολογίας Ιατρικών Οργάνων, ΤΕΙ Αθηνών: : «Ανασκόπηση και προοπτικές της χρήσης Κβαντικών Κηλίδων (Quantum Dots) στην in vitro Διαγνωστική»</p> <p>Δορυφορικό Τραπέζι</p> <p>Ενημέρωση για επαγγελματικά θέματα</p> <p>Μητρόπουλος Χρύσανθος, Γ.Γ. ΣΕΙΒ: «Νέος Κανονισμός για τα in Vitro Διαγνωστικά. Αλλαγές και προκλήσεις για τη βιομηχανία και τους εργαστηριακούς επιστήμονες»</p> <p>Δημήτριος Ρίζος: «Το μέλλον του επαγγέλματός μας: Κλινική Χημεία ή Ειδικευμένος/η στην Εργαστηριακή Ιατρική; Η νέα Ευρωπαϊκή οδηγία για τα επαγγελματικά δικαιώματα»</p> <p>Prof. Panteghini Mauro, EFLM: “Verification of in \ medical diagnostics (IVD) gical traceability: Responsibilities and strategies in the EU context”</p> <p>Prof. Maurizio Ferrari, President-Elect, IFCC : “P4 Medicine: Predictive, Preventive, Personalized and Participatory. A new trend in Laboratory Medicine”</p> <p>Συμπεράσματα Λήξη εργασιών συνεδρίου</p>
17:30-18:00	

Συγχαρητήρια από την ΕΕΚΧ-ΚΒ για τη σπουδαία διάκριση!

Tubular Damage is Ubiquitous in Newly-Diagnosed Patients with Multiple Myeloma: Comparison of Three Urinary and Two Serum Markers of Kidney Injury

I. Papassotiriou¹, D. Christoulas², E. Kastritis², M. Gkatzamanidou², A. Margeli¹, N. Kanellias², G. P. Papassotiriou², E. Eleutherakis-Papaiakovou², M. A. Dimopoulos², E. Terpos²

¹Department of Clinical Biochemistry, "Aghia Sophia" Children's Hospital, Athens, Greece,

²Department of Clinical Therapeutics, University of Athens School of Medicine, Athens, Greece,

Background Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) is a protein overproduced by proximal tubular cells in response to kidney injury, while kidney injury molecule-1 (KIM-1) is a type 1 transmembrane glycoprotein that is overexpressed in dedifferentiated proximal tubule epithelial cells after ischemic or toxic injury. Urinary NGAL and KIM-1 have never been evaluated in MM patients.

Patients and Method To assess the value of these molecules in MM, we measured urinary and serum NGAL, urinary KIM-1, urinary and serum cystatin-C (Cys-C) in 48 newly diagnosed symptomatic MM patients (27M/21F, median age 65 years). The estimated GFR (eGFR) was calculated using the CKD-EPI equation. (proposed by the CKD Epidemiology Collaboration and is widely accepted in renal impairment). Serum and urinary NGAL was evaluated using immunoturbidimetric assay (BioPorto Diagnostics A/S, Denmark) with a protocol applied in the Siemens Advia 1800 Clinical Chemistry System. Serum and urinary Cys-C was measured on the BN ProSpec analyzer (Siemens Healthcare Diagnostics, Liederbach, Germany), while urinary KIM-1 was also measured using an ELISA (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA). For the urinary measurements, a 24h urine collection was used.

Results The median values (range) for the studied markers in MM patients and in 120 healthy controls were: for urinary NGAL 36ng/ml (0.5-2512ng/ml) vs. 5.3ng/ml (0.7-9.8ng/ml), $p<0.001$; for serum NGAL 162ng/ml (53-576ng/ml) vs. 63ng/ml (37-106ng/ml), $p<0.001$; for urinary KIM-1 1.1ng/ml (0.13-4.87ng/ml) vs. 1.3ng/ml (0.1-5.3ng/ml), $p=0.345$; for urinary Cys-C 0.05mg/l (ND-13.9mg/l) vs. non-detectable, $p<0.01$; and for serum Cys-C 1.0mg/l (0.4-3.2mg/l) vs. 0.7mg/l (0.3-0.9mg/l), $p<0.01$. Almost all patients (93%) had higher levels of urinary NGAL than the higher value of the controls; the respective frequency for the other markers was: 68% for serum NGAL and serum Cys-C, 50% for urinary Cys-C and only 10% for urinary KIM-1. All studied markers correlated with eGFR: serum Cys-C ($r=-0.758$, $p<0.001$), serum NGAL ($r=-0.627$, $p<0.001$), urinary Cys-C ($r=-0.498$, $p=0.008$), urinary NGAL ($r=-0.430$, $p=0.01$) and urinary KIM-1 ($r=-0.369$, $p=0.021$). Only serum Cys-C strongly correlated with the involved serum free light chain ($r=0.806$, $p<0.001$). Urinary NGAL correlated also with urinary Cys-C ($r=0.880$, $p<0.001$), serum NGAL ($r=0.503$, $p=0.002$), 24-h proteinuria ($r=0.431$, $p=0.01$) and ISS stage (mean \pm SD values for ISS-1, ISS-2 and ISS-3 were: 31 \pm 29ng/mL, 47 \pm 52ng/mL and 408 \pm 695ng/mL, respectively; $p=0.03$).

Serum Cys-C correlated also with ISS stage (the values for ISS-1, ISS-2 and ISS-3 were: $0.85\pm 0.19\text{mg/L}$, $0.94\pm 0.24\text{mg/L}$ and $2.15\pm 0.98\text{mg/L}$, respectively; $p=0.01$), while urinary Cys-C correlated with 24-h proteinuria ($r=0.564$, $p<0.001$).

Conclusions Our data suggest that almost all newly diagnosed symptomatic MM patients have tubular damage as assessed by elevated urinary NGAL suggesting that renal impairment is present very early in the disease course. Measurement of urinary NGAL and serum Cys-C offers valuable information for the kidney function of MM patients and their measurement may help in the identification of patients with high risk for the development of acute renal function. The value of KIM-1 seems to be very low in myeloma reflecting the differences in the pathogenesis of myeloma-related renal dysfunction than toxic acute renal injury of other etiology.

ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ ΜΕ ΤΟ NPY

Παρρά Γεωργία¹, Τράπαλη Μαρία²

1 Πτυχιούχος Τμήματος Ιατρικών Εργαστηρίων, ΤΕΙ Αθήνας, 2 Χημικός, PhD, MSc

Το νευροπεπτίδιο Υ (Neuropeptide Y- NPY) αποτελεί ένα από τα πιο άφθονα πεπτίδια στον εγκέφαλο και εκφράζεται μαζί με το GAD2 στον τοξοειδή πυρήνα. Οι νευρώνες αυτοί δρουν σε διάφορες περιοχές του υποθαλάμου και διεγείρουν την πρόσληψη τροφής. Το σήμα του NPY μεταδίδεται μέσω μιας ετερογενούς οικογένειας υποδοχέων ένας από του οποίους είναι ο NPY2R. Το NPY2R αποτελεί έναν ανασταλτικό υποδοχέα ο οποίος εκφράζεται σε αφθονία στον τοξοειδή πυρήνα. Ο ρόλος του νευροπεπτιδίου Υ (NPY), του GAD2 και άλλων νευροδιαβιβαστών που εμπλέκονται στη ρύθμιση της ενεργειακής ισορροπίας πολύ πρόσφατα έχει αρχίσει να ξεδιπλώνεται η δράση τους. Πολύ λίγα είναι γνωστά ακόμη για το πώς αλληλεπιδρούν το ένα με το άλλο, σε αυτά τα περίπλοκα κυκλώματα για το λόγο αυτό θα πρέπει να διευκρινιστεί η επίδραση των νευροδιαβιβαστών αυτών στην διατροφική πρόσληψη με περαιτέρω έρευνες.⁴

Τα διαθέσιμα μέχρι τώρα στοιχεία δείχνουν ότι η παχυσαρκία σχετίζεται με το NPY, διότι η υπερδιέγερση αυτής της ορμόνης συμβαίνει σε περιπτώσεις stress, επομένως δημιουργεί την αίσθηση της πείνας και το άτομο καταναλώνει τροφή.

Οι ανακαλύψεις σχετικά με την ορμόνη NPY είναι πιθανόν ότι θα οδηγήσουν σε νέους και αποτελεσματικούς τρόπους πρόληψης της παχυσαρκίας.⁵

Με τον υποσιτισμό κατά τα πρώτα στάδια της ζωής τροποποιείται η κατανομή του νευροπεπτιδίου Υ κατά μήκος του μονοπατιού τοξοειδούς/παρακοιλιακού πυρήνα.

Ο περιορισμός θρεπτικών ουσιών ασκεί βαθιά επίδραση στην ανάπτυξη του εγκεφάλου. Τα ζώα που υποφέρουν από υποσιτισμό κατά τη διάρκεια της γαλουχίας εμφανίζουν μειωμένη αύξηση του σωματικού βάρους και η διατροφική συμπεριφορά διαμορφώνεται κυρίως από τις νευρικές και ορμονικές εισόδους στον υποθάλαμο. Το τοξοειδές- παρακοιλιακό μονοπάτι του νευροπεπτιδίου Υ κατέχει εξέχοντα ρόλο στη ρύθμιση της όρεξης. Σε έρευνα χρησιμοποιήθηκαν επίμυες από την 5^η έως 60^η μεταγεννητική ημέρα τους, οι οποίοι τράφηκαν με δίαιτα με 0% πρωτεΐνη (PFG). Διεξήχθη ανοσοϊστοχημεία για να εκτιμηθεί η κατανομή του νευροπεπτιδίου Υ στους τοξοειδείς, παρακοιλιακούς πυρήνες. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η νευροπεπτιδική οδός τοξοειδή- παρακοιλιακού πυρήνα υπέστη καθυστέρηση στη διανομή του NPY στα υποσιτισμένα ζώα.²

Το νευροπεπτίδιο Υ (NPY), δεδομένου ότι αυξάνει κεντρικά την πρόσληψη τροφής και το κίνητρο για να λειτουργήσει για εύγευστη τροφή. Σε έρευνες που έγιναν εντοπίστηκαν οι περιοχές του εγκεφάλου μέσω των οποίων το NPY αυξάνει την πρόσληψη τροφής και το κίνητρο.

Σύμφωνα με τις μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν, το NPY εγχύθηκε σε τρεις περιοχές του εγκεφάλου που εμπλέκονται στην πρόσληψη τροφής και στο κίνητρο που οδηγεί στην πρόσληψη τροφής: τον πλευρικό υποθάλαμο (LH), τον (NAC), και την κοιλιακή καλυπτική περιοχή (VTA). Το κίνητρο για πρόσληψη σακχαρώδης αξιολογήθηκε. Για να προσδιοριστούν οι επιδράσεις του NPY σχετικά με τα κίνητρα για την εύγευστη τροφή από την κατανάλωση τροφής, πραγματοποιήθηκαν πειράματα με ελεύθερη- σίτιση κατά την οποία τα ζώα είχαν ελεύθερη πρόσβαση σε σφαιρίδια σακχαρώδης.

Τα αποτελέσματα από τα πειράματα έδειξαν ότι η έγχυση του NPY είτε στον VTA ή στον NAC αύξησε το κίνητρο για ανταπόκριση στην σακχαρόζη, ενώ η έγχυση του NPY είτε στον NAC ή στον LH αύξησε την κατανάλωση

σακχαρόζης. Επιπλέον, η επίδραση της ενδο-VTA NPY στο κίνητρο για τροφή ήταν εξασθενημένη μετά την προεπεξεργασία με τον υποδοχέα ανταγωνιστή της ντοπαμίνης α-φλουπενθιζόλη.¹

Η απορρύθμιση της έκφρασης της προ-οπιομελανοκορτίνης (POMC) του υποθαλάμου μετά τον απογαλακτισμό σχετίζεται με υπερφαγία και προκαλείται από την παχυσαρκία σε αρουραίους JCR που υπερεκφράζουν το νευροπεπτίδιο Y.

Οι JCR:LA-cr αρουραίοι είναι μία σειρά από στελέχη, τα οποία φέρουν το μεταλλαγμένο αυτοσωματικό υπολειπόμενο γονίδιο cr.⁶ Η αρχική υπόθεση ήταν ότι τα νευροπεπτίδια του υποθαλάμου που σχετίζονται με την σίτιση, εκφράζονται διαφορετικά σε επιρρεπείς παχύσαρκους και στους αδύνατους αρουραίους και ενεργοποιούν την υπερφαγία που προκαλείται από την παχυσαρκία. Μετρήθηκε το ενεργειακό ισοζύγιο και οι εκφράσεις του νευροπεπτιδίου Y (NPY) του υποθαλάμου και της προ-οπιομελανοκορτίνης (POMC) mRNA σε αρσενικούς JCR LA- cr αρουραίους. Συγκρίθηκαν, σε ανεξάρτητες ομάδες, η ελεύθερη σίτιση σε αρουραίους με τάση παχυσαρκίας (παχύσαρκοι-FF) και με τάση αδυναμίας (Lean-FF) πριν τον απογαλακτισμό (10 ημερών), στον απογαλακτισμό (21-25 ημερών) και κατά την πρώιμη ενήλικη ζωή (8-12 εβδομάδων). Μία ομάδα από ένα ζεύγος- σίτισης (PF) παχύσαρκων αρουραίων με τους αρουραίους με τάση αδυναμίας FF περιλήφθηκε στην ομάδα ενηλίκων. Τα σωματικά βάρη των 10 ημερών παχύσαρκων FF και αδύνατων FF νεογνών δεν ήταν σημαντικά διαφορετικά. Ωστόσο, όταν τα νεογνά είχαν μεταβεί από το μητρικό γάλα σε στερεά τροφή (απογαλακτισμός), οι αρουραίοι με τάση παχυσαρκίας εμφάνισαν μεγαλύτερη πρόσληψη ενέργειας από τους αρουραίους με τάση αδυναμίας, υψηλότερο σωματικό λίπος, γλυκόζη πλάσματος, λεπτίνη, ινσουλίνη, και επίπεδα λιπιδίων. Οι διαφορές αυτές συμφωνούσαν με την υψηλότερη κατανάλωση ενέργειας και την χαμηλότερη ενεργειακή δαπάνη. Στην ομάδα των νεαρών ενηλίκων αρουραίων, οι διαφορές μεταξύ των παχύσαρκων FF και αδύνατων FF ποντικών έγιναν πιο έντονες, δείχνοντας τη σημαντική επίδραση της ηλικίας στις περισσότερες από τις παραπάνω παραμέτρους. Οι αρουραίοι με τάση παχυσαρκίας εμφάνισαν υψηλότερη έκφραση του NPY από τους αρουραίους με τάση αδυναμίας πριν τον απογαλακτισμό και στον απογαλακτισμό, και τα επίπεδα έκφρασης δεν διαφέρουν ανάλογα με την ηλικία. Αντίθετα, στην έκφραση POMC παρουσιάστηκαν σημαντικές ηλικιακές διαφορές. Στον προ-απογαλακτισμό, δεν υπήρχε διαφορά στην έκφραση του γονότυπου POMC, αλλά στην ομάδα με τους απογαλακτισμένους αρουραίους, τα νεογνά με τάση παχυσαρκίας εμφάνισαν χαμηλότερη έκφραση POMC από τους αρουραίους με τάση αδυναμίας. Αυτή η διαφορά στον γονότυπο έγινε πιο έντονη κατά την ενηλικίωση. Συνολικά, η ανάπτυξη της επαγόμενης από υπερφαγία παχυσαρκίας σε αρουραίους JCR με τάση παχυσαρκίας, σχετίζεται με την έκφραση POMC παράλληλα με την υπερέκφραση του NPY.³

Το λίπος που συσσωρεύουν ορισμένοι άνθρωποι γύρω από τη μέση τους μπορεί ενδεχομένως να τους οδηγήσει σε ακόμα μεγαλύτερο πάχος, σύμφωνα με ερευνητές. Ερευνητική ομάδα από τον Καναδά παρατήρησε ότι ο λιπώδης ιστός από την κοιλιά παράγει την ορμόνη NPY που προκαλεί την ανάπτυξη κυττάρων που μετατρέπονται σε λίπος είναι ήδη γνωστό ότι υψηλά επίπεδα της ορμόνης αυτής στον εγκέφαλο παράγουν συνεχή αίσθηση πείνας. Σημειώνεται ότι η καλύτερη κατανόηση του πώς δρα η ορμόνη μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη φαρμάκων για να σταματήσει η δράση της. Το να είναι κάποιος υπέρβαρος είναι κακό για την υγεία, ανεξάρτητα από το πού βρίσκεται το λίπος αλλά είναι γνωστό πως το λίπος που συσσωρεύεται στην κοιλιά είναι το πιο επικίνδυνο, αυξάνοντας τον κίνδυνο καρδιοπάθειας διαβήτη τύπου 2, υψηλής αρτηριακής πίεσης και ορισμένων καρκίνων.^{7,8}

Οι ερευνητές, από το ινστιτούτο Lawson, που συνδέεται με το Πανεπιστήμιο Western Ontario, έκαναν έρευνες σε ποντίκια που έδειξαν ότι το λίπος στην κοιλιά, όπως και ο εγκέφαλος παράγει πρωτεΐνη NPY. Εκτιμάται ότι

η υπερβολική παραγωγή της πρωτεΐνης αυτής στον εγκέφαλο είναι ένας από τους κύριους λόγους που οι υπέρβαροι καταναλώνουν περισσότερο φαγητό. Ωστόσο, οι επιστήμονες ανακάλυψαν ότι η πρωτεΐνη στους ιστούς της κοιλιάς αυξάνει τον αριθμό των λιπιδών κυττάρων. Αυτό μπορεί να οδηγήσει σε φαύλο κύκλο, όπου η πρωτεΐνη που παράγεται στον εγκέφαλο ωθεί σε μεγαλύτερη κατανάλωση φαγητού και συσσώρευση περισσότερου λίπους γύρω από τη μέση, και αυτό το λίπος παράγει πρωτεΐνη που οδηγεί σε ακόμη περισσότερα λιπώδη κύτταρα.^{9,10}

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Pandit R, Luijendijk M, Vanderschuren L, Fleur S, Adan R. Limbic substrates of the effects of neuropeptide Y on intake of and motivation for palatable food. *Obesity (Silver Spring)*. 2014 Feb 6. doi: 10.1002/oby.20718.
2. Rocha M, Fernandes P, Lotufo B Manhães A, Barradas P, Tenorio F. Undernutrition during early life alters neuropeptide Y distribution along the arcuate/paraventricular pathway. *Neuroscience*. 2014 Jan 3; 256:379-91.
3. Diané A, Pierce W, Russell J, Heth C, Vine D, Richard D, Proctor S. Down-regulation of hypothalamic pro-opiomelanocortin (POMC) expression after weaning is associated with hyperphagia-induced obesity in JCR rats overexpressing neuropeptide Y. *Br J Nutr*. 2014 Mar; 111(5):924-32. doi: 10.1017/S0007114513003061. Epub 2013 Oct 7.
4. Renshaw D, Batterham R. Peptide YY: A potential therapy for obesity. *Curr Drug Targets* 2005; 6:171-179.
5. Dube MG, Karla SP, Karla PS. Low abundance of NPY in the hypothalamus can produce hyperphagia and obesity. *Peptides* 2007; 2:475-479.
6. Russell J, Graham S, Richardson M. Cardiovascular disease in the JCR:LA-cp rat. *Mol Cell Biochem*. 1998 Nov; 188(1-2):113-26.
7. Krashes M, Shah B, Koda S, Lowell B. Rapid versus delayed stimulation of feeding by the endogenously released AgRP neuron mediators GABA, NPY, and AgRP. *Cell Metab*. 2013 Oct 1; 18(4):588-95. doi: 10.1016/j.cmet.2013.09.009.
8. Beck B. Neuropeptide Y in normal eating and in genetic and dietary-induced obesity. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2006; 361:1159-1185.
9. Diané A, Pierce W, Russell J, Heth C, Vine D, Richard D, Proctor S. Down-regulation of hypothalamic pro-opiomelanocortin (POMC) expression after weaning is associated with hyperphagia-induced obesity in JCR rats overexpressing neuropeptide Y. *Br J Nutr*. 2014 Mar; 111(5):924-32. doi: 10.1017/S0007114513003061. Epub 2013 Oct 7.
10. Hsieh Y, Chen P, Yu C, Liao J, Kuo D. The neuropeptide Y Y1 receptor knockdown modulates activator protein 1-involved feeding behavior in amphetamine-treated rats. *Mol Brain*. 2013 Nov 13; 6:46. doi: 10.1186/1756-6606-6-46.

ΕΜΠΛΟΚΗ ΤΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ ΣΤΗΝ ΑΘΗΡΩΜΑΤΩΣΗ

Καπόρη Μαριάννα¹, Τράπαλη Μαρία²

1 Πτυχιούχος Τμήματος Ιατρικών Εργαστηρίων, ΤΕΙ Αθήνας, 2 Χημικός, PhD, MSc

Αθηρωμάτωση

Η αθηρωμάτωση είναι μια πολυπαραγοντική πολυσταδιακή νόσος που αφορά τη χρόνια φλεγμονή. Κύριο ρόλο στη δημιουργία αθηρωμάτωσης παίζουν κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος με κύρια τα μονοκύτταρα τα οποία μετατρέπονται σε μακροφάγα υπό την επίδραση διαφόρων φλεγμονωδών μεσολαβητών καθώς και των ενδοθηλιακών κυττάρων και των λείων μυϊκών κυττάρων [1]. Τα αθηρογόνα ερεθίσματα τα οποία συμβάλλουν στη δημιουργία των αθηρωματικών πλακών είναι τα γεύματα που είναι πλούσια σε λιπαρά, τα οποία αυξάνουν τα ποσοστά της LDL. Αντίθετα το αλκοόλ, η άσκηση, η HDL και η απολιποπρωτεΐνη Α προσδίδουν προστασία έναντι ασθενειών που προκαλούνται από την αθηροθρόμβωση. Η HDL/ΑpoA-I εμποδίζει τις αθηρογόνες τροποποιήσεις της LDL και προωθεί την “αντίστροφη μεταφορά χοληστερόλης”, η οποία επιβραδύνει την εξέλιξη της πλάκας και μπορεί να επάγει την ταχεία παλινδρόμηση. Η αθηρωμάτωση, όπως προαναφέρθηκε εμπλέκει και τα ενδοθηλιακά κύτταρα καθώς θεωρείται ότι η νόσος αυτή αναπτύσσεται από τη δυσλειτουργία του ενδοθηλίου. Το ενδοθήλιο φυσιολογικά αντιστέκεται στην προσκόλληση των λευκοκυττάρων όμως διάφορες καταστάσεις όπως η διατροφή πλούσια σε λιπίδια, το κάπνισμα και ο διαβήτης επάγουν την κυτταρική προσκόλληση. Η απλή παρουσία αθηρογόνων παραγόντων κινδύνου σχετίζεται με τη δυσλειτουργία του ενδοθηλίου, όχι μόνο στις αρτηρίες που είναι ευαίσθητες στην αθηρωμάτωση αλλά και σε αρτηρίες που δεν είναι [2]. Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των αιμοπεταλίων και των ενδοθηλιακών κυττάρων παίζουν σημαντικό ρόλο στην αθηρωμάτωση καθώς τα αιμοπετάλια εκκρίνουν διάφορες ουσίες που μπορεί να επηρεάσουν τα ενδοθηλιακά κύτταρα και το αντίστροφο. Σημαντικές για τη μετανάστευση των κυττάρων στο ενδοθήλιο είναι οι χημειοκίνες. Οι πιο σημαντικές αθηρογόνες ουσίες που προσελκύουν είναι η LDL και η MCP-1. Η MCP-1 προσελκύει τα μονοκύτταρα και τα Τα κύτταρα [3]. Σε αρχικό στάδιο της αθηρογένεσης, πραγματοποιείται απομάκρυνση των αθηρογόνων λιποπρωτεϊνών μέσω των μακροφάγων τα οποία μετά από την επίδραση διαφόρων κυτοκινών που ενεργοποιούνται με την εμφάνιση φλεγμονής, πλησιάζουν στην προσβεβλημένη περιοχή. Έτσι, δημιουργείται ενδοκυτταρική συσσώρευση των λιποπρωτεϊνών και σχηματισμός των αφρώδων κυττάρων [4]. Αυτή η προστατευτική λειτουργία μπορεί να μετατραπεί σε μια επιζήμια οδό όταν τα αφρώδη κύτταρα αποπίπτουν. Μαζί με τα αφρώδη κύτταρα αποπίπτουν και κύτταρα λείου μυός. Αυτό μπορεί να οδηγήσει στον σχηματισμό ενός πλούσιου σε λιπίδια πυρήνα ο οποίος δεν είναι σταθερός και έχει είναι εύθραυστο και επιρρεπές σε ρήξη ινώδες κάλυμμα [5]. Στις αθηρωματικές πλάκες είναι πολύ κοινή η ασβεστοποίηση που αυξάνεται με την ηλικία [6]. Ακόμη, στην προχωρημένη αθηρωμάτωση είναι δυνατή η πρόκληση νεοαγγείωσης. Τα νέα μικροαγγεία είναι εύθραυστα με αποτέλεσμα την πιθανή εμφάνιση αιμορραγίας [7]. Κατά τη διάρκεια ανάπτυξης της πλάκας λαμβάνει χώρα η αναδιαμόρφωση της αρτηρίας [8]. Οι πλάκες είναι επιρρεπείς σε ρήξη. Η ρήξη πλάκας χαρακτηρίζεται ως ένα κενό που δημιουργείται με αποτέλεσμα την έκθεση του θρομβογόνου πυρήνα. Σε εκείνο το σημείο είναι δυνατό να σχηματιστεί θρόμβος [9]. Το ινώδες σχηματίζεται από τη μετατροπή του ινωδογόνου μέσω της θρομβίνης, Η θρομβίνη είναι ικανή να ενεργοποιεί αιμοπετάλια. Η σηματοδότηση των αιμοπεταλίων από τη θρομβίνη συμβάλλει στην αιμόσταση και την θρόμβωση [10]. Η συσσωμάτωση των αιμοπεταλίων είναι υπεύθυνη για την αρχική απόφραξη της ροής αλλά ο σχηματισμός ινώδους είναι απαραίτητος για τη σταθεροποίηση της

πλούσιας σε αιμοπετάλια θρόμβωσης [11].

Παράγοντας ενεργοποίησης αιμοπεταλίων

Ο παράγοντας ενεργοποίησης αιμοπεταλίων είναι ένας λιπιδικός μεσολαβητής και ενεργοποιητής φωσφολιπιδίων. Εμπλέκεται σε διάφορες σημαντικές καταστάσεις όπως η λειτουργία των λευκών αιμοσφαιρίων, η προσκόλληση αυτών στο ενδοθήλιο, η συσσώρευση των αιμοπεταλίων, η χημειοταξία, η αιμόσταση. Ακόμη, συμβάλλει στην ανάπτυξη διαφόρων ασθενειών όπως το άσθμα, ο τραυματισμός του κερατοειδούς χιτώνα, ο σακχαρώδης διαβήτης, η παγκρεατίτιδα, ο καρκίνος, η σπειραματονεφρίτιδα, η αθηρωμάτωση κλπ. Ενδείξεις για την ύπαρξη του μορίου αυτού υπήρχαν από το 1966, όταν παρατηρήθηκε ενεργοποίηση και συσσώρευση αιμοπεταλίων με ταυτόχρονη έκκριση ισταμίνης από τους Barbaro και Zvaifler. Το 1970 ανακαλύφθηκε και από τον Benveniste και το 1971 οι Siraganian και Olser έδειξαν ότι ο παράγοντας ενεργοποίησης αιμοπεταλίων δεν ελευθερώνεται από όλους τους τύπους λευκοκυττάρων αλλά μόνο από τα βασεόφιλα. Το 1972 ονομάστηκε από τους Benveniste, Henson, Cochrane, παράγοντας ενεργοποίησης αιμοπεταλίων, 1974 προτείνεται ότι έχει λιποειδική φύση και το 1977 αποδεικνύεται ότι έχει λιποφιλικές ιδιότητες. Το 1979 πραγματοποιήθηκε η ημισυνθετική παρασκευή του από τον Κωνσταντίνο Δημόπουλο [12]. Όσον αφορά τη δομή του PAF στην πρώτη θέση του γλυκερινικού σκελετού συνδέεται με αιθερικό δεσμό, στη δεύτερη θέση με λιπαρό οξύ και στην Τρίτη θέση με μια ομάδα φωσφοχολίνης. Ο PAF μπορεί να ενεργοποιήσει φλεγμονώδη κύτταρα σε συγκεντρώσεις μικρότερες από 10^{-14} M [13]. Η δράση του πραγματοποιείται μέσω του υποδοχέα του, όπου στη συνέχεια ο PAF συνδέεται και με την G πρωτεΐνη. Η G πρωτεΐνη οδηγεί στην ενεργοποίηση της φωσφατιδυλοϊνοσιτόλης που υδρολύει τα φωσφοϊνοσιτίδια και στη συνέχεια αυτά με τη σειρά τους παράγουν διακυλγλυκερόλη και 1,4,5 τριφωσφοϊνοσίτη. Έτσι, κινητοποιείται και η έξοδος ιόντων ασβεστίου που έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή της πρωτεϊνικής κινάσης C [14]. Ο PAF ενεργοποιείται μέσω της de novo και της remodeling βιοσύνθεσης. Στη de novo πορεία βιοσύνθεσης το 1-O-αλκυλο-sn-γλυκερο-3-φωσφορικό ακετυλιώνεται μέσω της ακετυλ CoA: ακετυλτρανσφεράσης. Έπειτα με τη δράση μιας ειδικής φωσφουδρολάσης μετατρέπεται σε 1-O-αλκυλο-2-ακετυλο-sn-γλυκερόλη. Έπειτα, το τελευταίο, μετατρέπεται σε PAF από τη DTT ανεξάρτητη φωσφοχολινοτρανσφεράση. Αυτό το μονοπάτι εμπλέκεται στη σύνθεση του PAF και ρυθμίζεται μόνο από τη διαθεσιμότητα των υποστρωμάτων. Η remodeling πορεία βιοσύνθεσης ξεκινάει με την ενεργοποίηση της φωσφολιπάσης A2, που μπορεί να δράσει στην 1-O-αλκυλο-2αραχιδονουλ-γλυκεροφωσφοχολίνη προς σχηματισμό λυσο-PAF και αραχιδονικού οξέος. Η λυσο-PAF ακετυλιώνεται από μια ειδική λυσο-PAF ακετυλτρανσφεράση χρησιμοποιώντας το ένζυμο CoA, ως δότη. Εναλλακτικά, η φωσφολιπάση μπορεί να δράσει στη φωσφατιδυλοαιθανολαμίνη προς απελευθέρωση αραχιδονικού οξέος. Η λυσο-φωσφατιδυλοαιθανολαμίνη μπορεί να δράσει ως δέκτης αραχιδονικού οξέος σε μια αντίδραση τρανσακετυλίωσης από το πρόδρομο PAF προς σχηματισμό λυσο-PAF [15]. Η αποικοδόμηση του PAF πραγματοποιείται μέσω της PAF-AH η οποία υδρολύει την sn-2 θέση του γλυκερινικού σκελετού. Ανήκει στην υποοικογένεια των φωσφολιπασών A2 και συνδέεται με HDL και LDL λιποπρωτεΐνες με μεγαλύτερο ποσοστό την σύνδεση με την LDL [16].

Εμπλοκή του PAF και της PAF-AH στην αθηρωμάτωση

Το πρώτο στάδιο στη δημιουργία αθηρωμάτωσης είναι η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου. Ο παράγοντας ενεργοποίησης αιμοπεταλίων συμβάλλει στη δυσλειτουργία του ενδοθηλίου καθώς διάφοροι παράγοντες

επάγουν την παραγωγή του. Το σύστημα πήξης παίζει σημαντικό ρόλο στην αποτροπή δημιουργίας θρόμβου. Η θρομβίνη παίζει κεντρικό ρόλο στον καταρράκτη της πήξης με πολλαπλές επιδράσεις που έχουν ως αποτέλεσμα την παραγωγή του θρόμβου ινικής και την ενεργοποίηση αιμοπεταλίων. Πρόσφατα εμφανίστηκε μια ισχυρή συσχέτιση μεταξύ του φλεγμονώδους μεσολαβητή του PAF και του παράγοντα vW. Ο παράγοντας vW συντίθεται και εκκρίνεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και προωθεί την προσκόλληση των αιμοπεταλίων στο αγγειακό ενδοθήλιο. Τα αυξημένα επίπεδά του είναι μια ένδειξη βλάβης των ενδοθηλιακών κυττάρων [17]. Επιπροσθέτως, ο PAF φαίνεται να συμβάλλει στην οξειδωτική τροποποίηση της LDL [18]. Στην αθηρωμάτωση οι έρευνες έχουν επικεντρωθεί στην PAF-AH η οποία είναι ένα ένζυμο που υδρολύει τον παράγοντα ενεργοποίησης αιμοπεταλίων με αποτέλεσμα την παραγωγή ελεύθερων λιπαρών οξέων και φωσφατιδυλοχολίνης. Τα οξειδωμένα λιπαρά οξέα όπως γνωρίζουμε παίζουν σημαντικό ρόλο στη δημιουργία της αθηρωμάτωσης [19]. Αυξημένη λυσοφωσφατιδυλοχολίνη εμφανίζεται στην αθηρωμάτωση. Η LPC ενεργοποιεί διάφορα μονοπάτια μεταγωγής σήματος όπως η πρωτεΐνη κινάση C [20]. Η PAF-AH δεν έχει διευκρινιστεί αν έχει προαθηρογόνο ή αντιαθηρογόνο δράση καθώς ανεπάρκεια της PAF-AH λόγω κάποιων πολυμορφισμών σε ιαπωνικό πληθυσμό, έδειξαν αύξηση του ποσοστού των ατόμων που εμφάνιζαν αθηρωμάτωση [21]. Επίσης ο πολυμορφισμός G994A σε συνδυασμό με υπερχοληστερολαιμία μπορεί να αυξήσει τους παράγοντες κινδύνου για αθηρωμάτωση [22]. Ο πολυμορφισμός A379V συσχετίζεται με πρώιμο μυοκαρδιακό έμφραγμα στον ταϊβανέζικο πληθυσμό, και κατ'επέκταση με τη στεφανιαία αθηρωμάτωση [23]. Από την άλλη μεριά έχει εμφανιστεί σε αρτηριοσκληρωτικές πλάκες γεγονός που υποδηλώνει ότι είναι προαθηρογόνος [19]. Η πλειοψηφία των βιβλιογραφιών την καθιστά αντι αθηρογόνο αλλά πρέπει να γίνουν περαιτέρω μελέτες.

Βιβλιογραφία

1. V. Mallika. "Atherosclerosis Pathophysiology and the Role of Novel Risk Factors: A Clinicobiochemical Perspective." *Angiology* 5(2007):513-522.
2. J.R Nofer, Martin F. Brodde, Beate E Kehrel. "High-density lipoproteins, platelets and the pathogenesis of atherosclerosis." *CEPP* 7(2010):226-735.
3. E. Falk. "Pathogenesis of Atherosclerosis." *JAAC* 8s1(2006):C7-C12.
4. GR. Guyton, KF. Klemp. "Development of the lipid-rich core in human atherosclerosis." *Pubmed* 1(1996):4-11.
5. T.D. Littlewood, D. Trevor, Bennett, R. Martin. "Apoptotic cell death in atherosclerosis." *Current opinion in lipidology* 5(2003):469-475.
6. N. Alexopoulos, P. Raggi. "Calcification in atherosclerosis." *Nature Reviews Cardiology* 6(2009):681-688.
7. P.R. Moreno, K.R Purushothaman, M. Sirol, A.P. Levy, V. Fuster. " Neovascularization in human atherosclerosis." *Circulation* 113(2006):2245-2252.
8. Z.S. Galis, J.J. Khatri. "Matrix Metalloproteinases in Vascular Remodeling and Atherogenesis." *Circulation research* 90(2002):251-262.
9. K. Marutsuka, K. Hatakeyama, A. Yamashita, Y. Asada. "Role of thrombogenic factors in the development of atherosclerosis." *Pubmed* 1(2005):1-8.
10. L. Martorell, J. Martínez-González, C. Rodríguez, M. Gentile, O. Calvayrac, L. Badimon. "Thrombin and protease-activated receptors (PARs) in atherothrombosis." *Thrombosis and Haemostasis* 2(2008):249-455.
11. S.P. Marso, S.K. Mehta, A. Frutkin, J.A. House, J.R. McCrary, K.R. Kulkarni. " Low adiponectin levels are associated with atherogenic dyslipidemia and lipid-rich plaque in nondiabetic coronary arteries." *Pubmed*

5(2008):989-94.

12. S. Esquenazi, H.E.P. Bazan. "Role of Platelet-Activating Factor in Cell Death Signaling in the Cornea: A Review." *Molecular neurobiology*, 1(2010):32-38.
 13. K.A. Δημόπουλος. "Platelet activating factor." *Καρδιολογική γνώμη* (2012). 2:7,15-24.
 14. L.R Liu, S-H Xia. "Role of platelet-activating factor in pathogenesis of acute pancreatitis." *World journal of gastroenterology* 4(2006): 539-545.
 15. G. Montrucchio, G. Alloatti, G. Gamussi. "Role of platelet activating factor in cardiovascular pathophysiology". *APS* 4(2000):1671-1682.
 16. M.Poeze, W.A. Buurman, G. Ramsay, J.W.M Greve. "Multiple organ failure." Springer, New York, 2000, ISBN 0-387-98733-9.
 17. P.J. Grant. "Diabetes mellitus as a prothrombotic condition." *Journal of internal medicine* 2(2007):157-172.
 18. D.C. Tsoukatos. "Copper-Catalyzed Oxidation Mediates PAF Formation in Human LDL Subspecies." *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 17(1997):3505-3512.
 19. A. Thomson, J. Danesh. "Lipoprotein-associated phospholipase A2 and risk of coronary disease, stroke, and mortality: collaborative analysis of 32 prospective studies." *The Lancet* 2010 375(9725):1536-1544.
 20. T. Matsumoto, T. Kobayashi, K. Kamata. "Role of lysophosphatidylcholine (LPC) in atherosclerosis." *Pubmed* 2007 14(30):3209-20.
 21. N. Unno, T. Nakamura, H. Kaneko, T. Uchiyama, N. Yamamoto, J. Sugatani, M. Miwa, S. Nakamura. "Plasma platelet-activating factor acetylhydrolase deficiency is associated with atherosclerotic occlusive disease in Japan." *Journal of vascular surgery* 2000 32(2):263-267
 22. N. Unno, T. Sakauchi, T. Nakamura, N. Yamamoto, J. Suqatani, M. Miwa, Konno H. "A single nucleotide polymorphism in the plasma PAF acetylhydrolase gene and risk of atherosclerosis in Japanese patients with peripheral artery occlusive disease." *Pubmed* 2006 134(1):36-43.
 23. P.Y. Liu, Y.H. Li, W.L. Wu, T.H. Chao, L.M. Tsai, L.J. Lin, G.Y. Shi, J.H. Chen. "Platelet-activating factor-acetylhydrolase A379V (exon 11) gene polymorphism is an independent and functional risk factor for premature myocardial infarction." *Pubmed* 2006 4(5):1023-8.
-

ΜΗ ΕΠΕΜΒΑΤΙΚΗ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΚΗΣ ΝΟΣΟΥ ΜΕ ΤΗΝ ΧΡΗΣΗ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑΣ ΤΗΣ ΚΑΦΕΪΝΗΣ ΣΤΑ ΟΥΡΑ

Η. Μπέγας¹, Ε. Ασπροδίνη¹, Σ. Παπακώστα¹, Κ. Ζάχου², και Γ.Ν. Νταλέκος²

¹Εργαστήριο Φαρμακολογίας, ²Παθολογική Κλινική & Ερευνητικό Εργαστήριο Παθολογικής Κλινικής, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι παραδοσιακοί δείκτες για τον προσδιορισμό του σταδίου και της εξέλιξης της χρόνιας ηπατικής νόσου είναι η φυσική εξέταση, οι συμβατικές εξετάσεις του αίματος, η βιοψία και οι απεικονιστικές διαδικασίες όπως οι υπέρηχοι και η τομογραφία. Οι συνήθεις εργαστηριακές λειτουργικές δοκιμασίες της ηπατικής λειτουργίας αντανακλούν την ηπατική δυσλειτουργία, αλλά έχουν περιορισμένη αξία καθώς χαρακτηρίζονται από μειωμένη ευαισθησία στα πρώιμα στάδια της νόσου.

Για τον λόγο αυτό, τα τελευταία χρόνια έχουν γίνει προσπάθειες για την ανάπτυξη ποσοτικών δοκιμασιών της ηπατικής λειτουργίας οι οποίες χρησιμοποιούν μία ουσία-ιχνηθέτη η οποία μεταβολίζεται ή απεκκρίνεται αποκλειστικά από το ήπαρ. Τέτοιες δοκιμασίες που χρησιμοποιούν πρότυπες ουσίες για την εκτίμηση της ηπατικής λειτουργίας είναι η δοκιμασία αναπνοής της αμινοπυρίνης, η δοκιμασία απέκκρισης της γαλακτόζης, η κάθαρση της σορβιτόλης και κάθαρση του πράσινου της ινδοκυανίνης. Οι δοκιμασίες αυτές έχουν περιορισμένη χρήση εξαιτίας των μειονεκτημάτων που έχουν, όπως η ορισμένου βαθμού επεμβατικότητα, οι πιθανές ανεπιθύμητες ενέργειες, το κόστος και η περίπλοκη διαδικασία ανάλυσης (Marshall, 1998). Κατόπιν αυτών, αναδύεται η ανάγκη για την ανάπτυξη μίας ασφαλούς, αξιόπιστης, μη επεμβατικής και σχετικά μικρού κόστους διαδικασίας η οποία να προσδιορίζει την ηπατοκυτταρική δυσλειτουργία στα πρώιμα στάδια της χρόνιας ηπατικής νόσου. Η καφεΐνη διαθέτει τις ιδιότητες εκείνες που την καθιστούν ένα ιδεώδες υπόστρωμα για τον προσδιορισμό του ηπατικού λειτουργικού αποθέματος καθώς απορροφάται πλήρως και ταχέως, μετά από του στόματος χορήγηση, μεταβολίζεται σχεδόν αποκλειστικά από το ήπαρ και είναι μη τοξική στις συνήθεις δόσεις. Η καφεΐνη είναι μόνον κατά 30% συνδεδεμένη με τις πρωτεΐνες του πλάσματος και η ηπατική της κάθαρση είναι, κατά το πλείστον, ανεξάρτητη από την αιματική ροή (Carrillo and Benitez, 1994).

Το κυτόχρωμα CYP1A2 ευθύνεται για τον μεταβολισμό της καφεΐνης σε ποσοστό μεγαλύτερο του 95% γεγονός που την καθιστά ένα κατάλληλο υπόστρωμα για τον προσδιορισμό της δραστηριότητας του CYP1A2 (Gu et al, 1992). Οι μέθοδοι που έχουν αναπτυχθεί για τον προσδιορισμό της δραστηριότητας του CYP1A2 και της λειτουργίας του ήπατος, με βάση την καφεΐνη, είναι η δοκιμασία αναπνοής της καφεΐνης, η κάθαρση της καφεΐνης από το πλάσμα, την σίελο και τα ούρα και η μέθοδος των μεταβολικών λόγων της καφεΐνης (Kalow and Tang, 1993). Η δραστηριότητα του CYP1A2 φαίνεται να είναι μειωμένη στην αλκοολική κίρρωση και στην πρωτοπαθή χολική κίρρωση, σε προχωρημένα στάδια, ενώ δεν φαίνεται να υπάρχει μείωση στα πρώιμα στάδια της ηπατικής νόσου (Denaro et al., 1996; Bechtel et al., 2000; Lelouet et al, 2001). Παρόλα αυτά, όμως, υπάρχουν λίγες μελέτες οι οποίες περιλαμβάνουν ικανοποιητικό αριθμό επαρκώς χαρακτηρισμένων, όσον αφορά την αιτία και το στάδιο της νόσου, ηπατοπαθών.

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η εκτίμηση της ηπατικής λειτουργίας στα πρώιμα στάδια της νόσου με την χρήση του μεταβολικού λόγου της καφεΐνης στα ούρα ο οποίος θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως προγνωστικός δείκτης του σταδίου και της προόδου της ηπατικής νόσου.

ΜΕΘΟΔΟΣ-ΔΕΙΓΜΑΤΑ

Στην μελέτη συμμετείχαν 118 μη κίρρωτικοί ασθενείς με ηπατοπάθεια ποικίλης αιτιολογίας (68 γυναίκες-50 άνδρες) και 171 υγιείς εθελοντές (99 γυναίκες-72 άνδρες) οι οποίοι δεν ήταν καπνιστές και δεν είχαν ιστορικό ηπατικής νόσου. Κανείς δεν ελάμβανε φάρμακα τα οποία επηρεάζουν την δραστηριότητα του CYP1A2. Η κατανάλωση αλκοολούχων ποτών ήταν σποραδική και ποτέ μεγαλύτερη των 3 εβδομαδιαίως. Οι τιμές των βιοχημικών και αιματολογικών εξετάσεων των υγιών εθελοντών ήταν εντός του εύρους των τιμών αναφοράς. Τα δείγματα των υγιών και των ασθενών εθελοντών ήταν ισοσταθμισμένα όσον αφορά στην ηλικία και στο φύλο (Πίνακας 1). Όλοι οι εθελοντές έλαβαν μία κάψουλα 200 mg καφεΐνης μετά από 48ωρη αποχή από ποτά και τροφές που περιέχουν μεθυλοξανθίνες, από αλκοόλ και φάρμακα. Έξη ώρες αργότερα, έγινε συλλογή ενός δείγματος ούρων στο οποίο προσδιορίστηκαν οι συγκεντρώσεις 4 τελικών μεταβολιτών της καφεΐνης, δηλαδή της 5-ακετυλαμινο-6-φορμυλαμινο-3-μεθυλουρακίλης (AFMU), του 1-μεθυλουρικού οξέος (1MU), της 1-μεθυλοξανθίνης (1MX) και του 1,7-διμεθυλουρικού οξέος (17MU) με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) και ανίχνευση στο υπεριώδες (280 nm, Begas et al., 2007). Η ηπατική λειτουργία προσδιορίστηκε μέσω του έγκυρου μεταβολικού λόγου (AFMU+1MU+1MX)/17MU ο οποίος αντανάκλα την δραστηριότητα του CYP1A2 (Sinues et al., 1999). Η στατιστική ανάλυση έγινε με το λογισμικό SPSS 9.0. Η εξειδίκευση και ευαισθησία του φυσικού λογαρίθμου των τιμών του μεταβολικού λόγου στην ανίχνευση της ηπατικής νόσου διερευνήθηκε με την μέθοδο της καμπύλης ROC. Οι διαφορές των ενδιαμέσων τιμών μεταξύ των διαφόρων ομάδων αναλύθηκαν με την μη παραμετρική δοκιμασία Mann-Whitney και οι διαφορές θεωρήθηκαν στατιστικά σημαντικές με επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Η διάμεση τιμή (εύρος) του μεταβολικού λόγου (AFMU+1MU+1MX)/17MU ήταν σημαντικά μειωμένη στους ηπατοπαθείς σε σχέση με τους υγιείς [2,68 (1,23-7,54) έναντι 3,37 (1,13-6,43), $p \leq 0,001$, M-W test]. Η ανάλυση της καμπύλης ROC έδωσε σημαντικό εμβαδόν κάτω από την καμπύλη 0,696 (0,629-0,769 95% δ.ε., $p \leq 0,001$) και η οριακή τιμή του φυσικού λογαρίθμου του μεταβολικού λόγου $\leq 1,1$ (Ln μεταβολικού λόγου $\leq 1,1$) είχε 68,9% και 68,4% ευαισθησία και εξειδίκευση, αντίστοιχα, στην ανίχνευση της ηπατικής νόσου. Διερευνήθηκε, επίσης, και η ευαισθησία των τιμών του INR (International Normalized Ratio), της αλβουμίνης και της χολερυθρίνης του ορού των ασθενών όσον αφορά στην ανίχνευση της ηπατικής νόσου. Θεωρήθηκε ως θετική ένδειξη για την ύπαρξη της νόσου εάν μία τουλάχιστον από τις τιμές αυτές ήταν εκτός του εύρους αναφοράς. Η συνδυασμένη χρήση των τιμών των INR, αλβουμίνης και χολερυθρίνης είχε ευαισθησία 20,2%.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Σε προηγούμενες μελέτες έχει βρεθεί ότι ο μεταβολικός λόγος της καφεΐνης στα ούρα είναι σημαντικά μειωμένος σε ασθενείς με αλκοολική κίρρωση και πρωτοπαθή χολική κίρρωση (Denaro et al., 1996; Bechtel et al., 2001; Lellouet et al., 2001). Η μέση τιμή του λόγου αυτού, παρόλο που βρέθηκε να διαφέρει σημαντικά μεταξύ των υγιών και των ασθενών, δεν θεωρήθηκε ότι μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως διαγνωστικό εργαλείο καθώς υπήρξε μεγάλου βαθμού αλληλεπικάλυψη στις επιμέρους τιμές των υγιών και ασθενών. Η διαπίστωση αυτή, όμως, μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι στις παραπάνω εργασίες ο αριθμός των συμμετεχόντων δεν ήταν αρκετός ή/και δεν έγινε διαχωρισμός των καπνιστών από τους μη καπνιστές.

Στην παρούσα εργασία συμμετείχαν μη καπνιστές καθώς είναι γνωστό ότι το κάπνισμα επάγει την δραστηριότητα του CYP1A2 και μπορεί να συσκοτίσει τα αποτελέσματα των δοκιμασιών στα οποία εμπλέκεται

το ένζυμο αυτό (Sinues et al., 1999). Επιπλέον, στην παρούσα εργασία συμμετείχε ικανοποιητικός αριθμός υγιών και ασθενών εθελοντών, ενώ οι ασθενείς προέρχονταν από ευρύ φάσμα χρόνιων ηπατικών, μη κίρρωτικών, νοσημάτων. Μέσω αυτής της διαδικασίας, ο μεταβολικός λόγος της καφεΐνης, με μία δειγματοληψία, είχε σημαντικά αυξημένη ευαισθησία σε σχέση με τις συμβατικές δοκιμασίες στην ανίχνευση της ηπατικής νόσου σε ένα μεμονωμένο άτομο. Σε άλλη μελέτη, στην οποία συμμετείχαν μη καπνιστές ασθενείς με μη αλκοολική στεατοηπατίτιδα (ΜΑΣΗ), βρέθηκε ότι η δοκιμασία αναπνοής της ραδιοεπισημασμένης καφεΐνης είχε 90% ευαισθησία και 76% εξειδίκευση στην ανίχνευση της κίρρωσης (Park et al., 2011). Σε αυτήν την περίπτωση, όμως, ο αριθμός των συμμετεχόντων ήταν περιορισμένος (48 ασθενείς, 24 υγιείς), διερευνήθηκε μόνον η ΜΑΣΗ και η αυξημένη διακριτική ικανότητα πιθανόν να οφείλονταν στο προχωρημένο στάδιο της νόσου. Επιπλέον, η δοκιμασία αυτή απαιτεί χρήση ραδιοϊσοτόπων, εξειδικευμένου εργαστηριακού εξοπλισμού, ενώ κατά την διάρκεια της δοκιμασίας αναπνοής οι εθελοντές πρέπει να έχουν περιορισμένη κινητικότητα και να παραμένουν σε ήρεμη και ήσυχη κατάσταση.

Συμπερασματικά, φαίνεται ότι η δυναμική δοκιμασία του μεταβολικού λόγου της καφεΐνης στα ούρα, με μία μόνον δειγματοληψία, αποτελεί μία ευαίσθητη, μη επεμβατική, ασφαλή και χαμηλού κόστους μέθοδο για την ανίχνευση της πρώιμης ηπατικής νόσου και, παράλληλα με τις συμβατικές δοκιμασίες, μπορεί να αποτελέσει ένα αξιόπιστο εργαλείο στην ανίχνευση και παρακολούθηση της ηπατικής νόσου στους μη καπνιστές.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

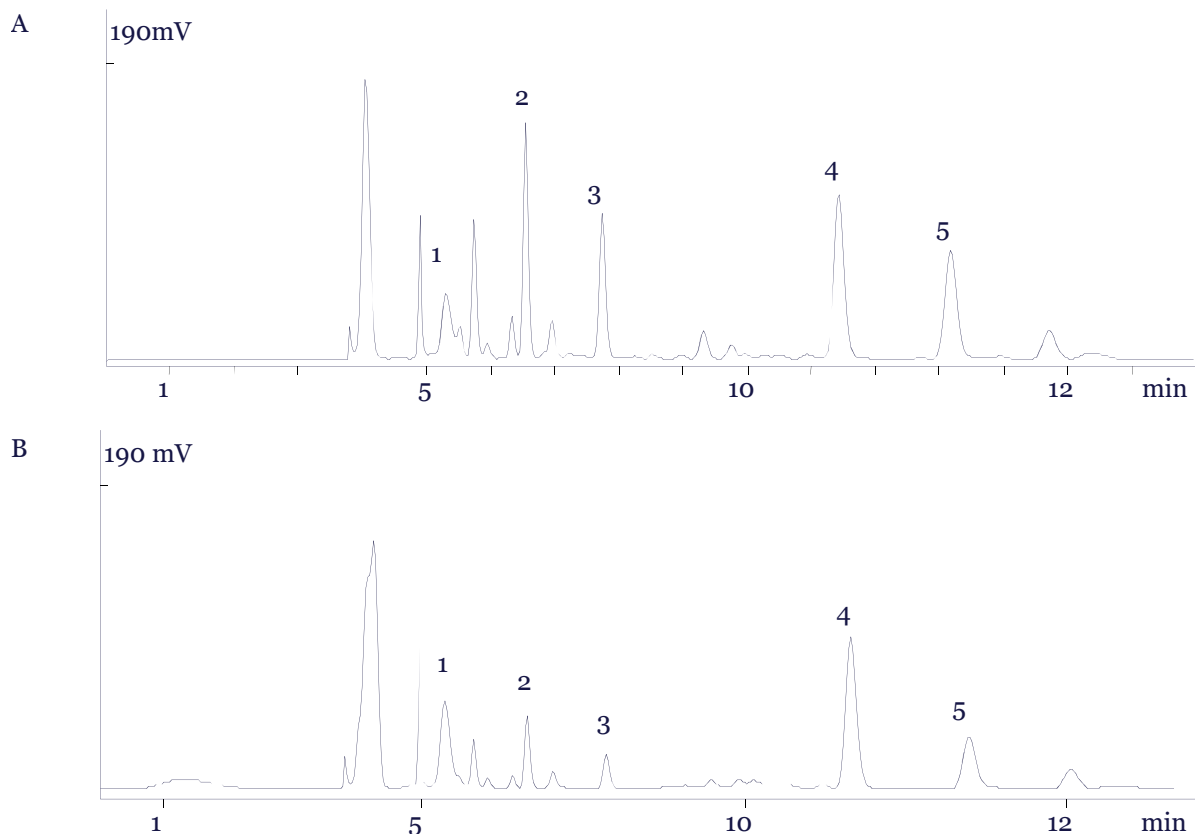
1. Marshall W. Κλινική Βιοχημεία, 3^η έκδοση, Ιατρικές Εκδόσεις Λίτσας, σελ. 8-11, 99, 101-103, Αθήνα 1998.
2. Carrillo J.A. and Benitez J. Caffeine metabolism in a healthy Spanish population: N-Acetylator phenotype and oxidation pathways. Clin. Pharmacol. Therap. 55(3):293-304, 1994.
3. Gu L., Gonzalez F.J., Kalow W., and Tang B.K. Biotransformation of caffeine, paraxanthine, theobromine and theophylline by c-DNA-expressed human CYP1A2 and CYP2E1. Pharmacogenetics 2:73-77, 1992.
4. Kalow W. and Tang B.-K. The use of caffeine for enzyme assays: a critical appraisal. Clin. Pharmacol. Ther. 53(5):503-514, 1993.
5. Denaro C.P., Wilson M., Jacob P., and Benowitz N.L. The effect of liver disease on urine caffeine metabolite ratios. Clin. Pharmacol. Therap. 59(6):624-635, 1996.
6. Bechtel YC, Lelouët H, Brientini MP, David-Laroche M, Miguet JP, Paintaud G, Bechtel PR. Caffeine metabolism differences in acute hepatitis of viral and drug origin. Therapie 55(5):619-627, 2000.
7. Lelouët H., Bechtel Y.C., Paintaud G., Brientini M.P., Miguet J.P., and Bechtel P.R. Caffeine metabolism in a group of 67 patients with primary biliary cirrhosis. Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. 39(1):25-32, 2001.
8. Begas E, Kouvaras E, Tsakalof A, Papakosta S, Asproдини EK. *In vivo* evaluation of CYP1A2, CYP2A6, NAT-2 and xanthine oxidase activities in a Greek population sample by the RP-HPLC monitoring of caffeine metabolic ratios. Biomed Chromatogr, 21:190-200, 2007.
9. Sinués B, Sáenz MA, Lanuza J, Bernal ML, Fanlo A, Juste JL, Mayayo E. Five caffeine metabolite ratios to measure tobacco-induced CYP1A2 activity and their relationships with urinary mutagenicity and urine flow. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 8(2):159-166, 1999.
10. Park GJ, Wiseman E, George J, Katelaris PH, Seow F, Fung C, Ngu MC. Non-invasive estimation of liver fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease using the 13 C-caffeine breath test. J Gastroenterol Hepatol. 26(9):1411-1416, 2011.

Πίνακας 1. Δημογραφικά χαρακτηριστικά των εθελοντών

	Άνδρες			Γυναίκες		
	Υγιείς	Ασθενείς	<i>p</i>	Υγιείς	Ασθενείς	<i>p</i>
Αριθμός ατόμων	72 (42,1%)	50 (42,4%)		99 (57,9%)	68 (57,6%)	
Ηλικία μέση τιμή±τ.α. (εύρος)	49,7 ± 16,6 (22-79)	49,6 ± 13,1 (22-76)	0,97	51,5 ± 14,2 (19-75)	55,5 ± 12,5 (19-76)	0,064

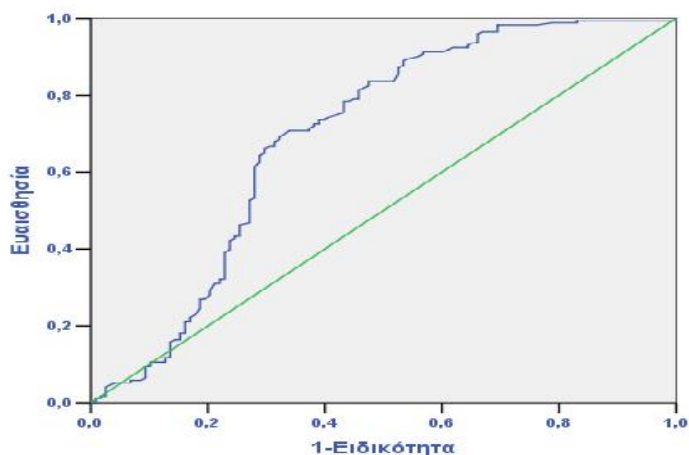
Πίνακας 2. Εξειδίκευση και ευαισθησία των συμβατικών λειτουργικών δοκιμασιών της ηπατικής λειτουργίας και του φυσικού λογαρίθμου του μεταβολικού λόγου της καφεΐνης στην ανίχνευση της μη κίρρωτικής ηπατικής νόσου

	Εξειδίκευση %	Ευαισθησία %
INR >1.2	100	8,9
Χολερυθρίνη (mg/dL) > 1,2	100	7,0
Αλβουμίνη (g/dL) < 3,5	100	4,5
Μία, τουλάχιστον, εκτός ορίων τιμή εκ των INR, Χολ/νης. Αλβ/νης	100	20,2
Ln μεταβολικού λόγου ≤ 1,1	68,4	68,9



Εικόνα 1. Χρωματογραφήματα HPLC δειγμάτων ούρων 6 ώρες μετά την λήψη της καφεΐνης.

(A) Υγιής εθελοντής, μεταβολικός λόγος της καφεΐνης 3,08. (B) Ασθενής με χρόνια ηπατίτιδα B, μεταβολικός λόγος της καφεΐνης 2,18. 1: 5-ακετυλαμινο-6-φορμυλαμινο-3-μεθυλουρακίλη (AFMU), 2: 1-μεθυλουρικό οξύ (1MU), 3: 1-μεθυλοξανθίνη (1MX), 4: εσωτερικό πρότυπο (IS), 5: 1,7-διμεθυλουρικό οξύ (17MU)



Εικόνα 2. Καμπύλη ROC για την ευαισθησία και την ειδικότητα του μεταβολικού λόγου της καφεΐνης για την ανίχνευση της μη κίρρωτικής ηπατικής νόσου. Εμβαδόν κάτω από την καμπύλη 0,696 (0,629-0,769 95% δ.ε., $p < 0,001$).



EuroLabFocus

The 3rd EFLM-UEMS Congress Laboratory Medicine at the Clinical Interface



Liverpool, UK



The Association for
Clinical Biochemistry &
Laboratory Medicine
www.acb.org.uk

7-10 October 2014
The Patient and Laboratory Medicine

Dear All,

We are delighted that Liverpool is hosting the most important clinical laboratory meeting in the UK for nearly a decade. The 3rd EFLM-EUMS Congress “Laboratory Medicine at the Clinical Interface” – EuroLabFocus 2014 promises to be a key event in the calendar of all our organisations as we welcome our colleagues from across Europe in a conference that cuts across the traditional boundaries of laboratory medicine. The EFLM/UEMS/ACB scientific committee, led by *Ian Watson*, has designed a world class programme catering for individual specialties and in mind as well as current topics of relevance to specialists in laboratory medicine across Europe. With nearly 400 abstracts submitted from 25 countries we look forward to learning from each other’s practice and forging new links and friendships. Such links become increasingly important in our efforts to influence the delivery of high quality clinical practice across Europe.

We need you there! This platform is important not only for UEMS and EFLM as representative organisations for the profession across Europe but for the ACB, an Association that has long been recognised as having made some of the most significant contributions to clinical biochemistry practice. As it evolves to an Association for specialists in laboratory medicine EuroLabFocus is a key milestone in that journey.

With the 1st August ‘early bird’ registration date looming we are also conscious that the summer holiday season is upon us. With the agreement of the local organising committee ***we are delighted to be able to extend the ‘early bird’ registration date from 1st August to Monday 8th of September.*** The Invitation to Participate describes the scientific and social programme, the web site outlines the latest updates and the registration packages (www.eurolabfocus2014.org).

We look forward to welcoming you to the 2008 European Capital of Culture!

Dr. Lena Norlund

Prof. Mauro Panteghini

Prof. Eric Kilpatrick

Η ΘΑΛΑΣΣΑ

Η θάλασσα είναι σαν τὸν ἔρωτα:
μπαίνεις καὶ δὲν ξέρεις ἂν θὰ βγείς.
Πόσοι δὲν ἔφαγαν τὰ νιάτα τους –
μοιραῖες βουτιές, θανατερὲς καταδύσεις,
γράμπες, πηγάδια, βράχια ἀθέατα,
ρουφήχτρες, καρχαρίες, μέδουσες.
Ἄλιμονο ἂν κόψουμε τὰ μπάνια
Μόνο καὶ μόνο γιατί πνίγηκαν πεντέξι.
Ἄλιμονο ἂν προδώσουμε τὴ θάλασσα
Γιατὶ ἔχει τρόπους νὰ μᾶς καταπίνει.
Η θάλασσα εἶναι σαν τὸν ἔρωτα:
χίλιοι τὴ χαίρονται – ἓνας τὴν πληρώνει.
(1962)

(Γὰς)

Χρῆστοι μὲ Χαριστολαί – εἰσὶ τῶν πνευματικῶν.
Η θάλασσα εἶναι σαν τὸν ἔρωτα:
Γιατὶ ἔχει τρόπους νὰ μᾶς καταπίνει.
πνίγηκαν πεντέξι τὴ θάλασσα

N. Χριστιανόπουλος