

2013 Ιούλιος

NEWSLETTER

Τεύχος 9



Σε αυτό το τεύχος

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΥΝΕΔΡΙΟΥ ΒΟΛΟΥ

ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ ΣΤΗΝ ΕΞΕΛΙΞΗ
ΤΩΝ ΑΝΟΣΟΧΗΜΙΚΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ

ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ
ΤΟΝ ΑΣΘΕΝΗ ΚΑΙ ΤΗΝ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ
ΤΟΥ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΩΝ
ΤΙΜΩΝ ΤΩΝ ΟΡΜΟΝΙΚΩΝ
ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΩΝ

ΕΠΙΠΕΔΑ ΙΝΤΕΡΛΕΥΚΙΝΗΣ-6 ΣΤΟΝ ΟΡΟ
ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΧΡΟΝΙΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ Β

ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΣΥΝΤΑΞΗΣ

- Μ. Βικεντίου
- Μ. Γαροφαλάκη
- Α. Γρηγοράτου
- Ε. Κώνστα
- Κ. Κωνσταντινάκου
- Β. Λόη



Επιστολή εκδότη

Αγαπητοί συνάδελφοι

Το καλοκαίρι έχει προχωρήσει ήδη αρκετά και πολλοί από εμάς απολαμβάνουμε τη θάλασσα, τον ήλιο, τον καθαρό αέρα, το σπίτι στην εξοχή, την παρέα των φίλων, των παιδιών μας... Απολαμβάνουμε θέατρα, κινηματογράφο, μουσική σε ανοικτούς χώρους, κάτω από τον έναστρο ουρανό, προνόμιο μοναδικό, προνόμιο ανεπανάληπτο. Απολαμβάνουμε τη απλά μοναδική και ανεπανάληπτη θέα της θάλασσας, πρωί, μεσημέρι, απόγευμα, βράδυ, καθισμένοι σε βεράντες, στην αμμουδιά, σε κατάστρωμα πλοίου... Δεν είναι καταπληκτική η διαφήμιση αυτή με τις καλοκαιρινές παιδικές αναμνήσεις της «ατέλειωτης ξεγνοιασιάς»; Τα γάργαρα γέλια των παιδιών ηχούν σ' αυτιά μου σαν θεσπέσια μουσική, και η καρδιά μου φουσκώνει από νοσταλγία, είναι τα δικά μου γέλια και των φίλων μου στις καλοκαιρινές διακοπές στη Ρόδο; Είναι τα γέλια των παιδιών μου και των φίλων τους; Αξέχαστα ελληνικά καλοκαίρια... Και τι τρυφερά σκεπάζει το παιδάκι στην κούνια «fer forge», μόλις αποκοιμήθηκε... Πού είναι αυτή η ξεγνοιασιά...

Παράλληλα βέβαια αρκετοί από εμάς «απολαμβάνουμε» τις εφημερίες μας σε κλιματιζόμενα εργαστήρια..., ή αναρωτιόμαστε τι άλλο μας επιφυλάσσει το μέλλον, διότι τους τελευταίους μήνες πολλά συμβαίνουν στο χώρο της υγείας, που αφορούν και τον κλάδο μας. Ωστόσο, όπως έλεγαν και οι αρχαίοι ημών πρόγονοι «Κοινή γαρ η τύχη και το μέλλον αόρατον» ήταν και τότε, είναι και τώρα...

Αρκετοί παρακολουθήσαμε το Euromedlab 2013 στο Μιλάνο, όπου είχαμε το προνόμιο αυτή τη φορά να είμαστε αντικείμενο κάποιου θαυμασμού, συγχαρητηρίων και όχι του συνήθους τα τελευταία χρόνια μείγματος «περιέργειας» και «συμπαραστάσης» στα δύσκολα χρόνια που περνάμε... Όπως θα έχετε μάθει όλοι, φαντάζομαι, η Αθήνα θα φιλοξενήσει το **Euromedlab 2017**. Τα αποτελέσματα της ψηφοφορίας μεταξύ Αθήνας, Βαρκελώνης και Πράγας (είχαμε πολύ σημαντικό προβάδισμα από την αρχή) προκάλεσαν έκπληξη στη Γενική Συνέλευση της EFLM στο Μιλάνο, διότι δεν είχαμε κάνει και ιδιαίτερες προσπάθειες απέναντι στις ισχυρές ανταγωνίστριες πόλεις..., παρά μόνο τις τελευταίες ημέρες πριν τη Γ.Σ., και οφείλουμε πολλά στον Αλέξανδρο το Χαλιάσο, που πίστεψε, που προσπάθησε, που οργάνωσε το αίτημά μας. Για το λόγο αυτό αλλά και για τις αναγνωρισμένες ικανότητές του στις διεθνείς σχέσεις αλλά και σε πολλούς άλλους τομείς το ΔΣ της εταιρείας μας του ανέθεσε την προεδρία της Οργανωτικής Επιτροπής του Euromedlab 2017. Είμαι σίγουρη ότι όλοι μας, θα παίξουμε καθοριστικό ρόλο στην επιτυχία αυτού του σημαντικού επιστημονικού γεγονότος για τη χώρα μας. Από την επιτυχία του θα εξαρτηθεί σημαντικά το μέλλον της εταιρείας μας. Μας δίνεται μια ευκαιρία που πρέπει να την εκμεταλλευτούμε στο έπακρο.

Το τελευταίο Σεμινάριο Συνεχιζόμενης εκπαίδευσης με θέμα την Κλινική Χημεία στην παιδιατρική, που διοργανώθηκε από το Γιάννη Παπασωτηρίου στο Νοσοκομείο Παιδών «Αγία Σοφία» ήταν πολύ επιτυχημένο, διότι ανέδειξε το ζητούμενο, ότι δηλαδή το παιδί δεν είναι ένας μικρός ενήλικας, ότι είναι ένας οργανισμός αναπτυσσόμενος με πολλές ιδιαιτερότητες και ότι όσοι ασχολούνται με την κλινική χημεία των νεογνών, των παιδιών και εφήβων πρέπει να έχουν ειδικές επιπρόσθετες γνώσεις. Ακολούθησε η ετήσια ΓΣ της ΕΕΚΧ-ΚΒ, όπου ακούστηκαν ποικίλες θετικές και αρνητικές απόψεις, που στη συνέχεια συζητήθηκαν και που λήφθηκαν φυσικά υπόψη και από το ΔΣ.

Μακρηγορώ γιατί σας θέλω ενημερωμένους...

Και έρχεται το φετινό Πανελλήνιο Συνέδριό μας, που φέτος θα γίνει στο Βόλο με πρόεδρο Οργανωτικής Επιτροπής τον Ηλία τον Τογκουσίδη, διευθυντή του Βιοχημικού Εργαστηρίου του Νοσοκομείου Βόλου και συμπαραστάτες πολλούς συναδέλφους του Βόλου και όλης της Θεσσαλίας. Την επιστημονική τους βοήθεια παρείχαν πανεπιστημιακοί καθηγητές του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, αλλά και άλλοι διακεκριμένοι συνάδελφοι της περιοχής και έτσι θα έχουμε την ευκαιρία να γνωρίσουμε από κοντά τη σημαντική δουλειά που γίνεται σε αυτή την περιοχή της Ελλάδας. Δεν πρέπει να παραλείψουμε να τονίσουμε τη συμμετοχή με ομιλίες του Dr Bernard Couget, μέλους της εκτελεστικής επιτροπής της IFCC, που θα ταξιδέψει στο Βόλο με τη βοήθεια του Visiting Lecturer Program της IFCC. Λεπτομέρειες για το επιστημονικό πρόγραμμα θα βρείτε στο δελτίο μας αλλά και στο site. Σας περιμένουμε όλους στο Βόλο.

Σε αυτό το δελτίο θα διαβάσετε και τα κείμενα – εργασίες αγαπητών συναδέλφων, που μας έκαναν την τιμή και τη χαρά να μας τα στείλουν για δημοσίευση στο δελτίο μας. Αξίζει να τα διαβάσετε. Περιμένουμε και τα δικά σας... Περιμένουμε...

Και τελειώνοντας θα τονίσω και πάλι: περιμένουμε ανταπόκριση, συμμετοχή... Στους καιρούς που ζούμε, όσο και αν μας κατακλύζει η νοσταλγία της ξεγνοιασιάς που ανεπιστρεπτή έφυγε... μόνο η συμμετοχή, η συνεργασία, η ανταπόκριση μας σώζει...

Ελάτε όλοι στο Βόλο!

Με φιλικούς χαιρετισμούς

Κατερίνα Ψαρρά

ΣΗΜΑΝΤΙΚΕΣ ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΕΣ 11ου Π.Σ.Κ.Χ.

- Προθεσμία Υποβολής Περιλήψεων Εργασιών **23 Αυγούστου 2013**
- Απαντήσεις Αποδοχής Εργασιών **15 Σεπτεμβρίου 2013**
- Τελευταία Προθεσμία Μειωμένης Συνδρομής **30 Σεπτεμβρίου 2013**
- Ημερομηνίες Τέλεσης Συνεδρίου **11– 12 Οκτωβρίου 2013**
- Ώρες Συνεδριάσεων **09:30-20:30**

ΤΟΠΟΣ ΔΙΕΞΑΓΩΓΗΣ ΣΥΝΕΔΡΙΟΥ

Αμφιθέατρο Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, Αργοναυτών και Φιλελλήνων

Αμφιθέατρο Κορδάτου, Παρασκευή 11/10/13, ώρες 19.00-22.00.

για την Τελετή Έναρξης του Συνεδρίου.

Αμφιθέατρο Σαράτση την Παρασκευή 11/10/13, ώρες 14.00-19.00

Αμφιθέατρο Σαράτση το Σάββατο 12/10/13, από 9.00 – 18.00

Οργάνωση: ΕΕΚΧ-ΚΒ, ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ, Σε συνεργασία με το Βιοχημικό Τμήμα: ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

Υπό την αιγίδα του: ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

11^ο ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ
 Αμφιθέατρο Σαράτση
 Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

11-12 ΟΚΤΩΒΡΙΟΥ 2013

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
 Αργοναυτών και Φιλελλήνων,
 Βόλος

Παραπομπή Εργασίας
 Γραμμή επικοινωνίας: Αλ. Αλωπεκής Τηλ: 210-3645751 Fax: 210-3645392
 www.eekx-kb.gr

Προσχέδιο Προγράμματος εργασιών

11^{ου} Συνεδρίου ΕΕΚΧ-ΚΒ

Περιορισμένη συμμετοχή
10 ατόμων–
Αυστηρή σειρά
προτεραιότητας

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ 11-10-2013

10:00-12:00 Εγγραφές

12:00-13:30 Προφορικές ανακοινώσεις

9.00-11:00

Προσυνεδριακή Εκδήλωση

Κλινικό Φροντιστήριο

στο Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Λάρισσας

Δ. Κουρέτας

13:30-14:30 Διαλέξεις

Βιοδείκτες στη Σήψη

Β. Καψιμάλη

Παθοφυσιολογία και εργαστηριακή προσέγγιση της ηπατικής ίνωσης.

Χ. Λιάσκος

14:30-15:30 Μεσημεριανή Διακοπή

15:30-16:30 Δορυφορικό Τραπέζι

16:30-17:00 Διάλεξη

Η Πρωτεομική Ανάλυση των Ούρων και η Σημασία της NGAL στη Οξεία Και Χρόνια Νεφρική Βλάβη

Ι. Παπασωτηρίου

17:00-18:00 Παρουσίαση POSTERS

18:00-18:30 Διάλεξη

Η συμβολή της Φαρμακογενωμικής στην εξατομίκευση της χορηγούμενης ανοσοκαταστολής

Α. Γρηγοράτου

18:30-19:00 Έναρξη-Χαιρετισμοί

19:00-20:15 Εναρκτήρια Ομιλία

"Διατροφή: Μαθήματα από το παρελθόν για το Μέλλον"

Δ. Κουρέτας

"Trends in healthcare: challenges and opportunities for IFCC and laboratory medicine"

Dr. B. Gouget, IFCC

20:15-21:00 Μουσική Εκδήλωση

21:00 Δεξίωση

ΣΑΒΒΑΤΟ 12-10-13

09:30-11:00 Προφορικές ανακοινώσεις

11:00-11:30 Διάλεξη

"Κλινική σημασία της μέτρησης του οξειδωτικού stress και ο ρόλος του Κλινικού Βιοχημικού" Δ. Κουρέτας

11:30-12:00 Διάλειμμα-καφές

12:00-14:00 Στρογγυλό τραπέζι

Πρόεδρος Ε. Ασπροδίνη

"Διαγνωστικοί και προγνωστικοί καρδιακοί δείκτες"

Ελεάνα Χατζηδάκη, Βιολόγος, MSc Κλινικής Χημείας

«Νέες τεχνολογίες στη διάγνωση του καρκίνου»

Μαρία Σαμαρά, Βιολόγος, Λέκτορας Παθολογικής Ανατομικής, Π.Θ.

«Σηματοδοτικά μονοπάτια στη διάγνωση του καρκίνου»

Έλενα Μαραγκούλη, Βιολόγος, Ιατρός Ογκολόγος, ΠΓΝΛ

- Ο τίτλος της ομιλίας θα ανακοινωθεί

Γεώργος Παπασίμπας, Ιατρός Ογκολόγος, ΠΓΝΛ

- Ο τίτλος της ομιλίας θα ανακοινωθεί

Παναγιώτης Λιάκος, Βιοχημικός, Επίκουρος Καθηγητής Βιοχημείας, ΠΘ

«Ο αναστολέας πρωτεασώματος Bortezomib: νέες προσεγγίσεις στην αντικαρκινική του δράση»

14:00-15:00 Μεσημεριανή Διακοπή

16:00-17:30 Στο δρόμο προς τη διαπίστευση του Κλινικού Χημικού Εργαστηρίου

1. Εμπειρία του Βιοχημικού εργαστηρίου του Βόλου

2. Εξωτερικός έλεγχος ποιότητας (ΕΣΕΑΠ)

3. "Improving patient safety through medical laboratory accreditation" Dr B. Gouget, IFCC

15:00-16:00 Δορυφορική Διάλεξη

16:00-17:30 Στρογγυλό τραπέζι

17:30-18:00 Συμπεράσματα - Λήξη εργασιών συνεδρίου

ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ ΣΤΗΝ ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΩΝ ΑΝΟΣΟΧΗΜΙΚΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ

Μπέη Αργυρώ¹, Τράπαλη Μαρία²

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

Οι ανοσοχημικές μέθοδοι αξιοποιούν την ειδική σύνδεση αντιγόνου – αντισώματος, γνωστή ως σχέση κλειδιού – κλειδαριάς. Γι αυτό το λόγο παρουσιάζουν υψηλή ευαισθησία και εκλεκτικότητα και εφαρμόζονται σε πολλούς τομείς, όπως στη κλινική χημεία, στη φαρμακολογία, στον έλεγχο τροφίμων.

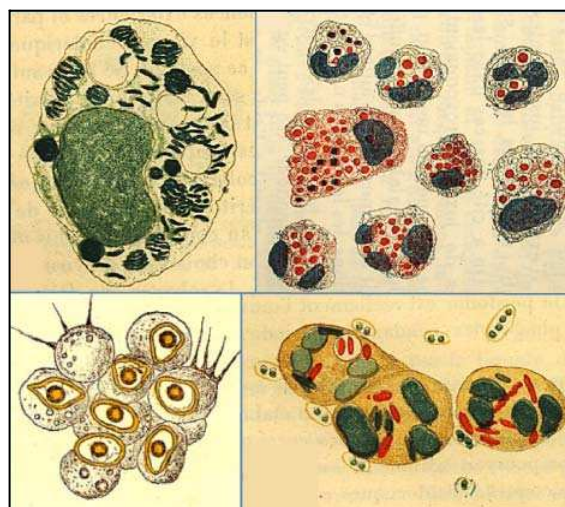
Η έννοια της ανοσίας ήταν γνωστή από τα αρχαία χρόνια. Μπορεί να μην υπήρχε κάποια επιστημονική εξήγηση για το φαινόμενο αυτό, ωστόσο είχε παρατηρηθεί ότι όποιος είχε αναρρώσει μετά από κάποια ασθένεια, συνήθως δεν προσβαλλόταν ξανά από την ίδια νόσο. Το 1798 ο βρετανός ιατρός Edward Jenner εφάρμοσε τον εμβολιασμό κατά της ευλογιάς, χρησιμοποιώντας σκόνη από αποξηραμένες φεελκίδες από τον ιό της ευλογιάς των αγελάδων [1].



Εικόνα 1. Ο Edward Jenner καθώς εμβολιάζει ένα παιδί στην Αγγλία.

Αργότερα ο Louis Pasteur ασχολήθηκε με καλλιέργειες μικροβίων και το 1879 παρατήρησε ότι οι όρνιθες που είχε εμβολιάσει με εξασθενημένες καλλιέργειες του ιού της χολέρας των πτηνών, έγιναν ανθεκτικές στον ιό. Χρησιμοποίησε αυτή τη γνώση για την παρασκευή και άλλων εμβολίων, όπως αυτά κατά του άνθρακα και της λύσσας. Το τελευταίο τον αποθανάτισε ως κορυφαίο ερευνητή. Ο τρόπος ανοσοποίησης που εφάρμοσε ο Louis Pasteur είναι η λεγόμενη ενεργητική ανοσοποίηση που εφαρμόζεται ως τις ημέρες μας [2].

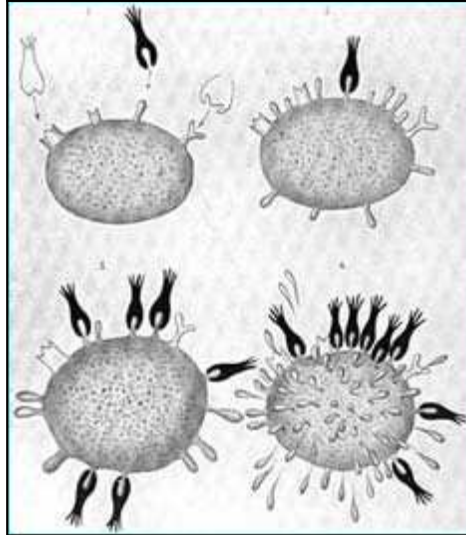
Το 1884 ο Ρώσος ζωολόγος Elie Metchnikoff παρατήρησε το φαινόμενο της φαγοκυττάρωσης. Τοποθέτησε αγκάθια σε προνύμφες αστερία και διαπίστωσε ότι φαγοκύτταρα περικύκλωναν το ξένο σώμα [3].



Εικόνα 2. Ζωγραφιά λευκών αιμοσφαιρίων κατά τη διάρκεια της φαγοκυττάρωσης από εργασία του Metchnikoff του 1901.

Το 1890 στο Βερολίνο, ο Emil von Behring διαπίστωσε πως στον ορό ζώων που είχαν μολυνθεί από τη διφθερίτιδα του τετάνου, υπήρχαν κυκλοφορούντες ουσίες που εξουδετέρωναν την τοξίνη. Εφάρμοσε τη παθητική ανοσοποίηση χρησιμοποιώντας ορό που περιείχε τις λεγόμενες αντιτοξίνες, ανοίγοντας έτσι το δρόμο για την εφαρμογή της οροθεραπείας σε μια σειρά ασθενειών. Το 1901 τιμήθηκε με το πρώτο βραβείο Νόμπελ Ιατρικής.

Πολύ σημαντική επίσης για την ανοσολογία είναι η συμβολή του γερμανού ιατρού Paul Ehrlich, ο οποίος πρώτος χρησιμοποίησε τον όρο αντίσωμα. Πίστευε ότι η σύνδεση τοξίνης – αντιτοξίνης είναι χημική και το 1897 ανέπτυξε τη θεωρία των πλευρικών αλύσεων κατά την οποία, το κύτταρο περιέχει υποδοχείς οι οποίοι λόγω σχήματος δεσμεύουν την τοξίνη, ενώ παράλληλα δημιουργούν νέους υποδοχείς οι οποίοι όταν βρίσκονται σε περίσσεια απελευθερώνονται στο αίμα. Επίσης ασχολήθηκε με τις χρώσεις των κυττάρων αλλά και με τη χημική αντιμετώπιση των ασθενειών. Λόγω του τελευταίου, σήμερα θεωρείται «πατέρας» της χημειοθεραπείας.

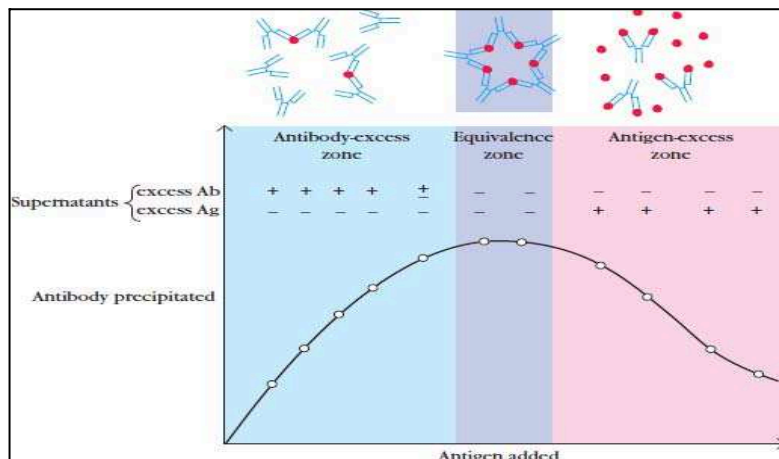


Εικόνα 3. Σχηματική παράσταση των υποδοχέων που περιγράφονται στη θεωρία των πλευρικών αλύσεων από τον Ehrlich.

Όπως γίνεται αντιληπτό, εκείνη την εποχή υπήρχαν δύο θεωρίες όσον αφορά τους μηχανισμούς ανοσίας, οι οποίες τότε φαινόταναν αντικρουόμενες. Από την μία πλευρά υπήρχε η χημική θεωρία, την οποία υποστήριζαν μεταξύ άλλων οι γερμανοί Emil von Behring και Paul Ehrlich, κατά την οποία η ανοσία του οργανισμού οφειλόταν στις διαλυτές ουσίες που βρίσκονται στα υγρά του σώματος. Από την άλλη πλευρά υπήρχε η κυτταρική θεωρία, που υποστήριζαν οι Elie Metchnikoff και Louis Pasteur, κατά την οποία η ανοσία οφείλεται σε φαγοκυτταρικές ιδιότητες των κυττάρων. Και οι δύο μηχανισμοί υπάρχουν ταυτόχρονα. Το 1908 τιμήθηκαν από τη Σουηδική Ακαδημία με το βραβείο Νόμπελ Φυσιολογίας και Ιατρικής από κοινού οι Elie Metchnikoff και Paul Ehrlich σε αναγνώριση των εργασιών τους όσον αφορά την ανοσία [1].

Οι ανοσοχημικές μέθοδοι ξεκίνησαν με την αντίδραση κατακρήμνισης που παρατήρησε το 1887 ο Rudolf Kraus, ο οποίος ανάμιξε διαυγή διηθήματα από καλλιέργεια χολέρας με τον αντίστοιχο αντιορό και παρατήρησε ότι καταβυθιζόταν ίζημα [4].

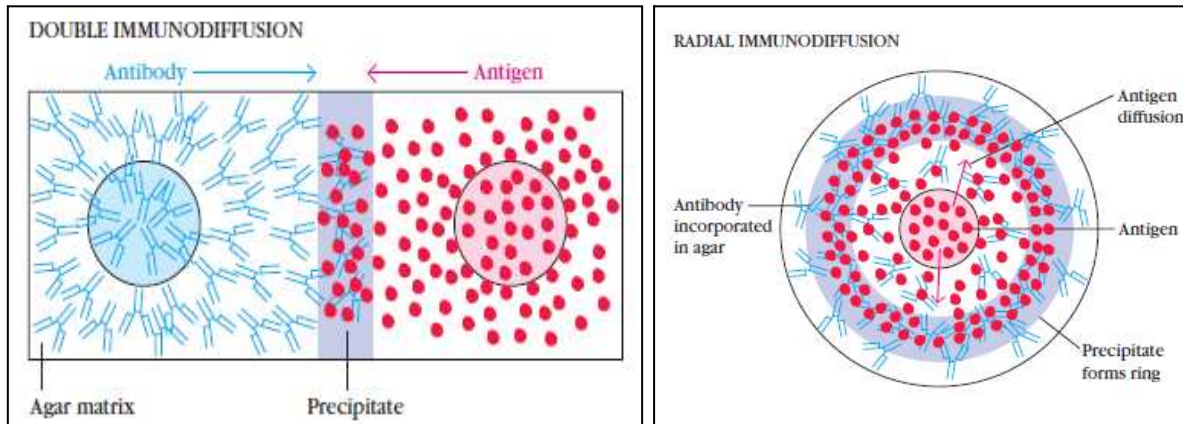
Αργότερα το 1930, οι Michael Heidelberger και Forrest Kendall κατάφεραν να χρησιμοποιήσουν τις αντιδράσεις κατακρήμνισης για ποσοτικούς προσδιορισμούς. Στη καμπύλη που φέρει το όνομά τους παρατηρούνται τρεις ζώνες. Στη πρώτη υπάρχει περίσσεια αντισώματος, η δεύτερη είναι η ζώνη ισοδυναμίας και στη τρίτη υπάρχει περίσσεια αντιγόνου. Η κατακρήμνιση του ιζήματος είναι μέγιστη στη ζώνη ισοδυναμίας [5].



Εικόνα 4. Η καμπύλη Heidelberger- Kendall.

Τεύχος 9

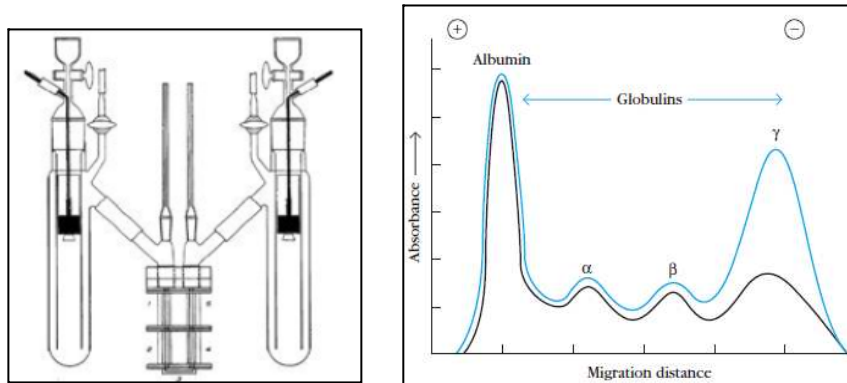
Οι αντιδράσεις κατακρήμνισης δεν συμβαίνουν μόνο σε υγρά διαλύματα αλλά και σε πηκτές. Οι σχετικές τεχνικές που χρησιμοποιούνται μέχρι σήμερα είναι η διπλή ανοσοδιάχυση που ανέπτυξε ο Ouchterlony το 1947 [1] και η ακτινωτή ανοσοδιάχυση που ανέπτυξε ο Mancini το 1963 [5]. Στη διπλή ανοσοδιάχυση διαχέονται ταυτόχρονα και το αντιγόνο και το αντίσωμα και στο σημείο ένωσης τους σχηματίζεται ίζημα [1].



Εικόνα 5. Διπλή και ακτινωτή ανοσοδιάχυση.

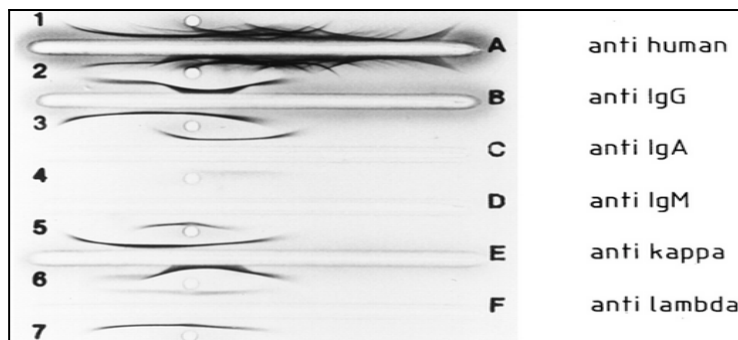
Στην ακτινωτή ανοσοδιάχυση τοποθετείται δείγμα που φέρει το αντιγόνο σε πηκτή που περιέχει τον αντιγόρο. Κατά την επώαση διαχέεται το αντιγόνο και σχηματίζει δακτύλιο ίζηματος. Η διάμετρος του δακτυλίου είναι ανάλογη της συγκέντρωσης του αντιγόνου και χρησιμοποιώντας πρότυπη καμπύλη μπορεί να γίνει ποσοτικός προσδιορισμός του [5].

Μια άλλη μέθοδος είναι η ανοσοηλεκτροφόρηση που βασίστηκε στην ανάπτυξη της ηλεκτροφόρησης από τον Arne Tiselius το 1937. Η συσκευή ηλεκτροφόρησης που φέρει το όνομά του έκανε εφικτό το διαχωρισμό των λευκωμάτων και αποτύπωσε το κλάσμα της γ-σφαιρίνης που περιέχει τα αντισώματα [6].



Εικόνα 6. Συσκευή Tiselius και ο διαχωρισμός των λευκωμάτων.

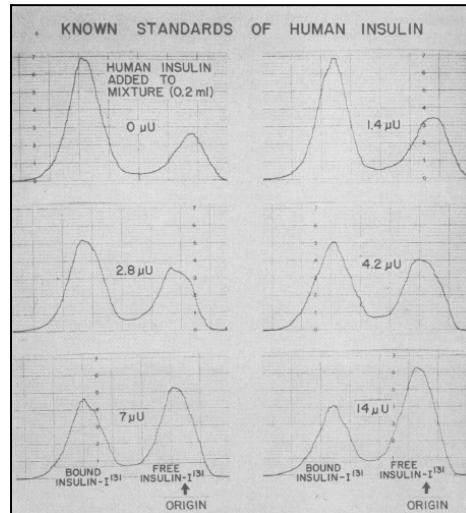
Το 1953 οι Pierre Grabar και Curtis Williams ανέπτυξαν τη μέθοδο της ανοσοηλεκτροφόρησης κατά την οποία αφού προηγηθεί ηλεκτροφορητικός διαχωρισμός του αντιγόνου, στη συνέχεια τοποθετείται σε ειδικό αυλάκι αντιγόρος και μετά την επώαση παρατηρούνται τα τόξα ίζηματος που έχουν σχηματισθεί [1].



Εικόνα 7. Ανοσοηλεκτροφόρηση με διάφορους αντιπορούς.

Το 1941 ο Albert Coons επισήμανε αντισώματα με φθορίζοντα μόρια, γεγονός που αποτέλεσε τη βάση για τη μετέπειτα ανάπτυξη ποσοτικών μεθόδων ανοσοφθορισμού [7].

Ο τομέας των ανοσοπροσδιορισμών στη κλινική χημεία ξεκίνησε με την ανάπτυξη του ραδιοανοσοπροσδιορισμού. Το 1959 η Rosalyn Yalow και ο Solomon Berson επισήμαναν ζωική ινσουλίνη με ραδιενεργό ιώδιο και πέτυχαν το ποσοτικό προσδιορισμό της ανθρώπινης ινσουλίνης συγκρίνοντας την εκπεμπόμενη ραδιενέργεια με πρότυπες καμπύλες[8]. Ήταν μια σπουδαία ανακάλυψη, η οποία τιμήθηκε το 1977 με βραβείο Νόμπελ Φυσιολογίας και Ιατρικής[9].



Εικόνα 8. Ραδιοχρωματοηλεκτροφορητο-γραφήματα μιγμάτων γνωστών συγκεντρώσεων αντιορού και ινσουλίνης.

Η τεχνική του ραδιοανοσοπροσδιορισμού έχει μεγάλη ευαισθησία, ωστόσο παρουσιάζει κάποια μειονεκτήματα. Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιούνται έχουν συγκεκριμένο χρόνο ζωής. Επίσης ο χειρισμός των ραδιενεργών ουσιών είναι επικίνδυνος και τόσο η παρασκευή όσο και η φύλαξη και η διάθεσή τους διέπονται από αυστηρούς κανονισμούς. Επιπλέον απαιτείται εξειδικευμένο προσωπικό που να τηρεί τους κανόνες ασφαλείας.

Αργότερα το 1966 έγινε για πρώτη φορά επισήμανση με ένζυμο αντί για ραδιενεργό ουσία ταυτόχρονα από δύο ερευνητικές ομάδες : από τους Αβραμέα και Uriel [10] στο Ινστιτούτο Pasteur στο Παρίσι και τους Nakane και Pierce [11] στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής.

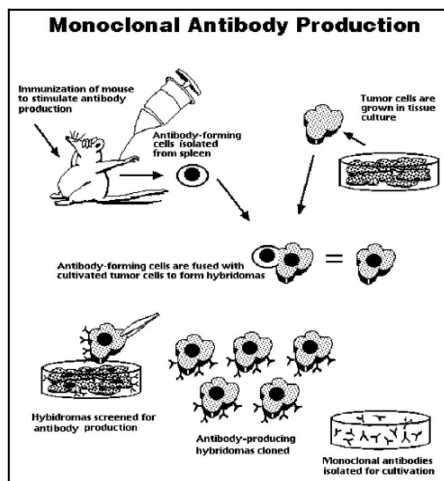
Σήμερα η πιο γνωστή τεχνική που χρησιμοποιεί ένζυμο είναι η ELISA. Οι τεχνικές του ενζυμοανοσοπροσδιορισμού μετρούν την ενζυμική δράση παρουσία κατάλληλου υποστρώματος. Ανάλογα με την αντίδραση ενζύμου-υποστρώματος γίνεται η μέτρηση του αναλυτικού σήματος με φωτόμετρο, φθορισμόμετρο ή με τη χρήση της χημειοφωταύγειας. Η τελευταία αποτελεί πολύ ευαίσθητη τεχνική.



Εικόνα 9. Διαφημιστική φωτογραφία του πρώτου εμπορικού κιτ EIA.

Τεύχος 9

Το 1975 οι Milstein και Kohler ανακάλυψαν τα μονοκλωνικά αντισώματα με τα οποία μπορεί να αυξηθεί η ευαισθησία των διαφόρων ανοσοχημικών μεθόδων. Πρόκειται για ομοιογενείς ανοσοσφαιρίνες με προκαθορισμένη ειδικότητα προς ένα μόνο αντιγονικό επίτοπο και δυνατότητα για ατέρμονη παραγωγή στο εργαστήριο. Το 1984 τιμήθηκαν με βραβείο Νόμπελ Φυσιολογίας και Ιατρικής. Τα μονοκλωνικά αντισώματα παράγονται με σύντηξη αφενός κυττάρων σπληνός ενός ζώου που έχει ανοσοποιηθεί έναντι συγκεκριμένου αντιγόνου και αφετέρου με μυελωματικά κύτταρα νεοπλασματικών κυττάρων που παρέχουν την ικανότητα της ατέρμονης αναπαραγωγής στο εργαστήριο. Κάποια από τα παραγόμενα κύτταρα αποκτούν και τις δύο ιδιότητες (υβριδώματα) και με ανακαλλιέργεια των κυττάρων αυτών παράγεται αντίσωμα με υψηλού βαθμού ειδικότητα και ευαισθησία [12].



Συμπερασματικά φαίνεται ότι η συνεισφορά όλων αυτών των επιστημόνων και ερευνητών ήταν απαραίτητη για την κατανόηση των μηχανισμών άμυνας του οργανισμού. Αξιοποιώντας αυτές τις γνώσεις έγινε δυνατή η ανάπτυξη των ανοσοχημικών μεθόδων που μπορούμε σήμερα να χρησιμοποιούμε σε πολλούς τομείς λόγω της υψηλής ικανότητας ανίχνευσης πληθώρας ουσιών σε χαμηλές συγκεντρώσεις. Στον πίνακα παρουσιάζεται η ευαισθησία που έχουν οι διάφοροι μέθοδοι που προαναφέρθηκαν, η οποία βέβαια εξαρτάται από τη χημική συγγένεια του αντιγόνου και του αντισώματος που χρησιμοποιείται.

Assay	Sensitivity* (μg antibody/ml)
Precipitation reaction in fluids	20–200
Precipitation reactions in gels	
Mancini radial immunodiffusion	10–50
Ouchterlony double immunodiffusion	20–200
Immunoelectrophoresis	20–200
Rocket electrophoresis	2
Agglutination reactions	
Direct	0.3
Passive agglutination	0.006–0.06
Agglutination inhibition	0.006–0.06
Radioimmunoassay	0.0006–0.006
Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)	<0.0001–0.01
ELISA using chemiluminescence	<0.0001–0.01 [†]
Immunofluorescence	1.0
Flow cytometry	0.06–0.006

Εικόνα 11. Ευαισθησία των διαφόρων ανοσοχημικών τεχνικών.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Silverstein A.M. «A history of Immunology», Elsevier Inc., London, 2009, ISBN 978-0-12-370586-0
2. Berche P. Louis Pasteur, from crystals of life to vaccination. *Clinical Microbiology and Infection*, 18: 1–6, 2012
3. Cavailon J-M. The historical milestones in the understanding of leukocyte biology initiated by Elie Metchnikoff. *Journal of Leukocyte Biology*, 90: 413–424, 2011
4. Boyden A.A. The precipitin reaction in the study of animal relationships. *Biological Bulletin*, 50: 73–107, 1926
5. Goldsby R.A., Kindt T.J., Kuby J., Osborne B.A. «Immunology», 5th ed., W.H. Freeman and Company, New York, 2003, ISBN 0-7167-4947-5
6. www.eibbe.gr
7. Ullman E.F., Khanna P.L. Fluorescence excitation transfer immunoassay. *Methods in enzymology*, 74: 28-60, 1981
8. Yalow R.S., Berson S.A. Immunoassay of endogenous plasma insulin in man. *Journal of Clinical Investigation*, 39: 1157–1175, 1960
9. Wu A.H.B. A selected history and future of immunoassay development and applications in clinical chemistry. *Clinica Chimica Acta*, 369: 119–124, 2006
10. Avrameas S., Uriel J. Method of antigen and antibody labelling with enzymes and its immunodiffusion application. *Comptes Rendus Hebdomadaires Des Seances De l'Academie Des Sciences*, 262: 2543–2545, 1966
11. Nakane P.K., Pierce G.B.. Enzyme-labeled antibodies for the light and electron microscopic localization of tissue antigens. *Journal of Cell Biology*, 33: 307–318, 1967
12. <http://panacea.med.uoa.gr>

Παράγοντες που σχετίζονται με τον ασθενή και την προετοιμασία του κατά την αξιολόγηση των τιμών των ορμονικών προσδιορισμών

Κάσι Οργιάνα¹, Τράπαλη Μαρία²

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

Οι ορμόνες είναι χημικά μηνυματοφόρα μόρια που συντονίζουν τη δραστηριότητα των κυττάρων των πολυκύτταρων οργανισμών. Εξαιτίας της φυσιολογίας τους, αποτελούν ένα μεταβλητό σύστημα άμεσα συνδεδεμένο με παραμέτρους που σχετίζονται με το σύνολο ενός οργανισμού. Φυσιολογικά, οι ορμόνες διαφοροποιούνται ανάλογα με τις παραμέτρους που περιγράφουν ένα άτομο, όπως το φύλο και η ηλικία του. Πολύ περισσότερο, οι ορμόνες εμφανίζουν έντονες αποκλίσεις από τις φυσιολογικές τους τιμές, σε παθολογικές καταστάσεις ή σε καταστάσεις όπου ο οργανισμός υποβάλλεται σε εξωγενείς παράγοντες όπως είναι η χρήση φαρμάκων. Στο παρόν άρθρο αξιολογούνται οι παράμετροι που σχετίζονται με τα χαρακτηριστικά και το ιστορικό του ασθενούς και πώς αυτά επηρεάζουν τις αντίστοιχες ορμόνες.

Το φύλο αποτελεί μια σημαντική παράμετρο που επηρεάζει την έκκριση συγκεκριμένων ορμονών. Το ορμονικό προφίλ ανδρών και γυναικών είναι σε πολλές περιπτώσεις διαφορετικό, με αποκορύφωμα τις ορμόνες που σχετίζονται με το φύλο. Οι γοναδοτροπίνες και οι στεροειδείς ορμόνες είναι οι σημαντικότερες ορμόνες που σχετίζονται με το φύλο.

Επιπλέον μια κατάσταση που σχετίζεται με τις ορμονική έκκριση, είναι η κατάσταση της εγκυμοσύνης στη γυναίκα. Το γεννητικό σύστημα της γυναίκας είναι πολύ πιο σύνθετο λειτουργικά λόγω των κυκλικών μεταβολών που συμβαίνουν κατά τον έμμηνο κύκλο και των ακόμα μεγαλύτερων μεταβολών που συμβαίνουν κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης. Κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης διαφοροποιείται το ορμονικό προφίλ της γυναίκας και πιο συγκεκριμένα κατά την αξιολόγηση ορμονικών εξετάσεων είναι χρήσιμο να λαμβάνουμε υπόψη τις εξής μεταβολές:

- Η ρενίνη: Οι εργαστηριακοί προσδιορισμοί της ρενίνης είναι μια πολύτιμη εξέταση ρουτίνας για ασθενείς με υπέρταση νεφρικής αιτιολογίας και μπορεί να χρησιμοποιηθούν στη διάκριση του πρωτοπαθούς από το δευτεροπαθή υπεραλδοστερονισμό. Η ρενίνη μπορεί να παρουσιαστεί αυξημένη σε περίπτωση εγκυμοσύνης, δίνοντας αφορμή για λάθος διάγνωση. [1]
- Η κορτικοτροπίνη (ACTH): Είναι ορμόνη της αδενούποφους η οποία ρυθμίζει την παραγωγή και έκκριση των γλυκοκορτικοειδών από τον φλοιό των επινεφριδίων. Η εγκυμοσύνη μπορεί να προκαλέσει την αύξηση των επιπέδων της κορτικοτροπίνης. [1]
- Η οιστριόλη και η προγεστερόνη: Οι δύο αυτές ορμόνες διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην εξέλιξη της εγκυμοσύνης και παρουσιάζουν διακυμάνσεις κατά την πορεία της. Ως εκ τούτου, ο αριθμός των εβδομάδων της κύησης πρέπει να γνωστοποιείται για να βοηθήσει στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων της δοκιμασίας προσδιορισμού τους. [1]
- Η τριωδοθυρονίνη (T3) και η θυροξίνη (T4): Οι ορμόνες αυτές του θυρεοειδούς, επίσης μπορούν να εμφανίζουν αυξημένα επίπεδα κατά την εγκυμοσύνη. [1]
- Η αλδοστερόνη και η κορτιζόλη: Οι στεροειδείς αυτές ορμόνες ενδέχεται να αυξηθούν κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης. [1]

Η ηλικία είναι μια πολύ σημαντική παράμετρος που μπορεί να επηρεάσει τις συγκεντρώσεις διαφόρων ορμονών στο σώμα τον ατόμων που εξετάζονται. Το συνηθισμένο βιολογικό προφίλ των ορμονικών συγκεντρώσεων είναι η φθίνουσα πορεία τους κατά την αυξανόμενη ηλικία του ατόμου.

Η ορμονική παραγωγή κορυφώνεται στα μέσα της δεκαετίας των 20 και έπειτα αρχίζει αργή παρακμή. Τα αποτελέσματα αυτής της μείωσης δεν είναι συχνά αισθητά μέχρι την ηλικία των 40 ή και 50. Μέχρι τότε τα επίπεδα των ορμονών έχουν συνήθως μειωθεί σε τέτοιο βαθμό ώστε η κατάσταση και η λειτουργία του οργανισμού να έχει αισθητά μεταβληθεί [2]. Πιο συγκεκριμένα οι ορμόνες που επηρεάζονται είναι οι :

- Η διυδροεπιανδροστερόνη: Διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη διατήρηση των επιπέδων της κορτιζόλης. Στα νέα και υγιή άτομα η συγκέντρωση της διυδροεπιανδροστερόνης είναι υψηλή και της κορτιζόλης χαμηλή. Καθώς η ηλικία προχωρά η διυδροεπιανδροστερόνη μειώνεται και η κορτιζόλη αυξάνεται. Υψηλή κορτιζόλη και χαμηλή διυδροεπιανδροστερόνη αποτελούν σοβαρούς παράγοντες κινδύνου για καρδιακή νόσο, διαβήτη, παχυσαρκία και επιταχυνόμενη γήρανση. [2]
- Η ανθρώπινη αυξητική ορμόνη: Θεωρείται η ορμόνη της νεαρής ηλικίας δηλαδή είναι υπεύθυνη για την ταχεία ανάπτυξη των παιδιών. Η παραγωγή της ανθρώπινης αυξητικής ορμόνης του σώματος μειώνεται με την ηλικία. [3]
- Η τεστοστερόνη: Είναι πολύ σημαντική στην ανάπτυξη και επιδιόρθωση των μυών και ορισμένων οργάνων. Με τη μείωση της τεστοστερόνης μειώνεται η μυϊκή μάζα και αυξάνεται η ποσότητα του σωματικού λίπους. Τα επίπεδα της τεστοστερόνης μειώνονται με την ηλικία. Στους άνδρες η προοδευτική μείωση της τεστοστερόνης με την ηλικία ονομάζεται ανδρόπαυση. [4]
- Τα οιστρογόνα και η προγεστερόνη: Η παραγωγή οιστρογόνων και προγεστερόνης μειώνεται με την ηλικία. Το τελικό αποτέλεσμα είναι η εμμηνόπαυση η γήρανση και η πρόκληση ασθενειών στις γυναίκες. Στους άντρες η προγεστερόνη έχει σημαντικό ρόλο στον προστάτη και εμφανίζεται ελαττούμενη με την αύξηση της ηλικίας. [5]
- Οι ορμόνες του θυρεοειδούς: Αποτελούν το ρυθμιστή και θερμοστάτη του σώματος. Ελέγχουν το μεταβολισμό της ενέργειας, ρυθμίζοντας πόση ενέργεια αποθηκεύεται ως λίπος και πόση απελευθερώνεται στην κυκλοφορία του αίματος για χρήση. Οι ορμόνες αυτές διαδραματίζουν επίσης σημαντικό ρόλο στη διατήρηση της υγιούς γνωστικής λειτουργίας και τη διάθεση. Οι ορμόνες του θυρεοειδούς είναι μια ακόμα κατηγορία ορμονών που μειώνονται με την ηλικία. [3]
- Η μελατονίνη: Ελέγχει τον κύκλο του ύπνου και τους εποχιακούς ρυθμούς. Επιπλέον, είναι μια ισχυρή αντιοξειδωτική ουσία και ίσως η μόνη ουσία που είναι ικανή να διεισδύει σε κάθε κύτταρο του ανθρώπινου σώματος δρώντας ενδοκυτταρικά. Στον άνθρωπο τα επίπεδα της μελατονίνης είναι υψηλότερα στα παιδιά και μειώνονται με την ηλικία. Χαμηλότερα επίπεδα του σήματος μελατονίνης προκαλούν την καταστολή του ανοσοποιητικού συστήματος και σηματοδοτούν τη μειωμένη παραγωγή ορμονών φύλου από το ενδοκρινικό σύστημα. [6]

Ο τρόπος ζωής μπορεί να επηρεάσει σημαντικά το ορμονικό προφίλ ενός ατόμου. Η έννοια του τρόπου ζωής αναφέρεται ειδικότερα σε παραμέτρους όπως είναι η διατροφή, η άσκηση και η χρήση φαρμακευτικών ουσιών. Η κατανάλωση τροφής, σχετίζεται άμεσα με τον ανθρώπινο μεταβολισμό ο οποίος ελέγχεται ορμονικά. Επίσης ορισμένες καταστάσεις διατροφικής πείσης (νηστεία) προκαλούν αλλαγή (συνήθως αύξηση) ορισμένων ορμονών, ως απόκριση στρες στην ομοιοστατική διατήρηση της φυσιολογικής λειτουργίας. Η νηστεία για παράδειγμα προκαλεί την αύξηση των επιπέδων προλακτίνης. Αντίστοιχα, παθολογικές διατροφικές καταστάσεις επηρεάζουν την ορμονική έκκριση, όπως τα ελαττωμένα επίπεδα τεστοστερόνης σε άντρες με παχυσαρκία. [7]

Η άσκηση επηρεάζει άμεσα και έμμεσα την έκκριση ορμονών. Η έμμεση δράση της έγκειται κατά κύριο λόγο στην επίδρασή της στον ανθρώπινο μεταβολισμό, τον οποίο και αυξάνει. Η δράση της όμως είναι και άμεση στην έκκριση ορισμένων ορμονών, όπως στην προλακτίνη η οποία αυξάνεται με τη σωματική άσκηση.[7] Η φυσική δραστηριότητα μπορεί να επηρεάζει τα επίπεδα της κορτιζόλης, για το λόγο αυτό συνίσταται κατάκλιση τουλάχιστον δύο ωρών πριν από τη συλλογή δείγματος για τον προσδιορισμό της συγκεκριμένης ορμόνης. Επιπλέον, η έντονη άσκηση μπορεί να προκαλέσει αύξηση των επιπέδων των κατεχολαμινών στα ούρα. [1].

Η χρήση φαρμάκων μπορεί να επηρεάσει άμεσα την ορμονική έκκριση. Ορισμένα φάρμακα είναι δυνατό να προκαλέσουν αυξημένη έκκριση προλακτίνης. Τα επίπεδα τόσο της T4 όσο και της T3 αυξάνονται σε καταστάσεις που σχετίζονται με της αύξηση των επιπέδων της δεσμευτικής της θυροξίνης σφαιρίνης στο πλάσμα (εγκυμοσύνη, λήψη αντισυλληπτικών δισκίων ή ιστρογόνων). Επίσης ορισμένα φάρμακα μειώνουν τις συγκεντρώσεις της T4 και T3 μέσω της μείωσης της σύνθεσης της σφαιρίνης (ανδρογόνα, αναβολικά στεροειδή), ή ανταγωνίζονται την T4 και την T3 στη σύνδεση με τις διαθέσιμες θέσεις πρόσδεσης της σφαιρίνης (ασπιρίνη, φαινυτοΐνη, τολβουταμίδη και άλλα). [7] Κατά τον προσδιορισμό των ορμονών αυτών πρέπει να είναι γνωστό εάν ο ασθενής παίρνει σκευάσματα θυρεοειδικών ορμονών.

Παθολογικές καταστάσεις: Η υπερσυσσώρευση χοληστερόλης σχετίζεται με τη συγγενή παχυσαρκία, η οποία επηρεάζεται και από τις διατροφικές συνήθειες του ασθενούς. Η αυξητική ορμόνη του πλάσματος είναι συνήθως αυξημένη στα άτομα με **μεγαλακρία** και η μέτρησή της διευκολύνει τη διάγνωση αυτής της κατάστασης, ιδιαίτερα στα αρχικά στάδια. [7]

Τα επίπεδα της φλοιοεπινεφριδιοτρόπου ορμόνης είναι χαμηλά σε πρωτοπαθές **σύνδρομο Cushing** λόγω νόσου των επινεφριδίων και υψηλά σε περίπτωση ανεξέλεγκτης παραγωγής ορμόνης από ένα νεόπλασμα. [7] Η φλοιοεπινεφριδιακή ανεπάρκεια, προκαλεί μείωση των επιπέδων της κορτιζόλης στο πλάσμα και είναι δυνατό να είναι πρωτοπαθής (παθολογική διεργασία που εντοπίζεται στο φλοιό των επινεφριδίων), ή δευτεροπαθής λόγω ανεπαρκούς παραγωγής φλοιοεπινεφριδιοτρόπου ορμόνης. [7] Όγκοι που περιγράφονται ως **φαιοκυτωχρώματα** εγείρουν την έκφραση κατεχολαμινών διαλειπόντως (κατά ώσεις). [7] Το **νευροβλάστωμα** μπορεί να εκκρίνει μεταβολίτες των κατεχολαμινών, αλλά συνήθως κυριαρχούν η ντοπαμίνη και ο μεταβολίτης της ομοβανιλικό οξύ. Στις περισσότερες περιπτώσεις νευροβλαστώματος παρατηρείται έκκριση μεγάλων ποσοτήτων του τελευταίου. [7]

Η μέτρηση της παραθορμόνης (η κύρια λειτουργία της οποίας συνίσταται στη διατήρηση της ομοιόστασης του ασβεστίου), βρίσκει εφαρμογή στη διερεύνηση του **πρωτοπαθούς υπερπαραθυρεοειδισμού**, στην αξιολόγηση της υπερασβεσταιμίας που συνοδεύει ορισμένες κακοήθειες, καθώς και στον έλεγχο πιθανού υποπαραθυρεοειδισμού. Η παραθορμόνη είναι αυξημένη στον πρωτοπαθή υπερπαραθυρεοειδισμό, ενώ είναι φυσιολογική ή μη ανιχνεύσιμη στην υπερασβεσταιμία και τον υποπαραθυρεοειδισμό. [7]

Από τα παραπάνω γίνεται αντιληπτό, πως είναι άκρως απαραίτητο, πριν την αξιολόγηση των ορμονικών τιμών, να είναι πλήρως καταγεγραμμένο το ιστορικό του ατόμου που εξετάζεται, καθώς και να υπάρχει πλήρης γνώση των παραμέτρων που μπορούν να προκαλέσουν απόκλιση από τις φυσιολογικές τιμές και με πιο τρόπο αυτές τις επηρεάζουν.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

White W., "A guide to diagnostic clinical chemistry", Blackwell Science, UK 1994.

Hermann M., Berger P. "[Hormonal changes in aging men: a therapeutic indication?](#)" *Exp Gerontol.* 36(7):1075-82. Review, 2001.

Murray G., Clayton E. "[Endocrine Control of Growth.](#)" *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2013. [Epub ahead of print]

Sternbach H. "[Age-associated testosterone decline in men: clinical issues for psychiatry.](#)" *Am J Psychiatry.* 155(10):1310-8. Review, 1998.

[Navot D.](#), [Bergh A.](#), [Williams A.](#), [Garrisi J.](#), [Guzman I.](#), [Sandler B.](#), [Grunfeld L.](#) "Poor oocyte quality rather than implantation failure as a cause of age-related decline in female fertility." *Lancet.* 337(8754):1375-7, 1991.

Altun A., Altun U. "Melatonin: therapeutic and clinical utilization". *Int. J. Clin. Pract.* 61 (5): 835–45, 2007.

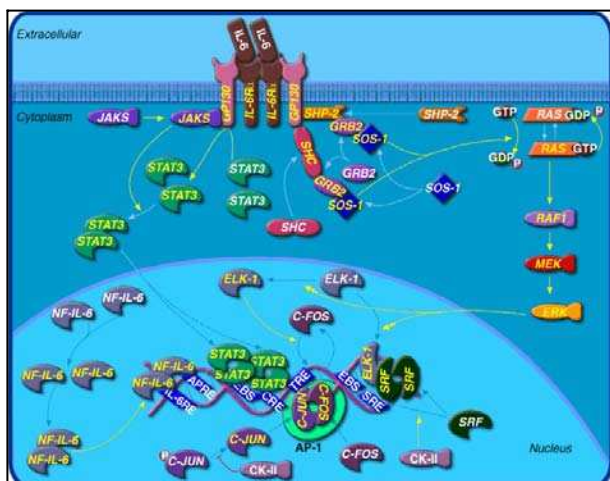
Berne R., Levy M. "Αρχές Φυσιολογίας" Έκδόσεις ΠΕΚ., Τόμος Β' Κεφ.40, σελ. 187-202, ISBN set 960-524-079-3 ISBN TOMOS II 960-524-081-5, 2000.

ΕΠΙΠΕΔΑ ΙΝΤΕΡΛΕΥΚΙΝΗΣ-6 ΣΤΟΝ ΟΡΟ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΧΡΟΝΙΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ Β

ΑΝΤΩΝΙΑ ΜΟΥΡΤΖΙΚΟΥ MSc ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΣ, ΚΛΙΝΙΚΟΣ ΧΗΜΙΚΟΣ, EurClinChem

ΜΑΡΙΛΕΝΑ ΣΤΑΜΟΥΛΗ MSc ΒΙΟΛΟΓΟΣ, ΚΛΙΝΙΚΟΣ ΧΗΜΙΚΟΣ, EurClinChem

Εισαγωγή: Η Ιντερλευκίνη-6 (IL-6) είναι μία πλειοτροπική κυτοκίνη η οποία παράγεται από διάφορους τύπους κυττάρων, όπως τα Τ και Β λεμφοκύτταρα, τα μονοκύτταρα, τα ουδετερόφιλα, οι ινοβλάστες, τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα ηπατοκύτταρα, τα μεσαγγειακά κύτταρα και τα καρκινικά κύτταρα. Είναι ο κύριος επαγωγέας των περισσότερων πρωτεϊνών οξείας φάσης και διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος, στην αιμοποίηση και τη φλεγμονή [1,2]. Ρυθμίζει ποικιλία διεργασιών σε διάφορους κυτταρικούς τύπους όπως την ενεργοποίηση, τον πολλαπλασιασμό, τη διαφοροποίηση, την επιβίωση και την απόπτωση μέσω ενός πολύπλοκου μηχανισμού δράσης. Σε μοριακό επίπεδο, η IL-6 δρα κυρίως μέσω δύο σηματοδοτικών οδών: της οδού των παραγόντων Jak/STAT (Janus kinase, Signal Transducer and Activator of Transcription) και της οδού της MAPK (Mitogen-activated protein kinase). Για την ενεργοποίηση των οδών αυτών απαιτείται η δημιουργία ενός δραστικού εξαμερούς στην κυτταρική μεμβράνη, το οποίο προκύπτει από τη σύνδεση της IL-6 στον υποδοχέα της. Ο υποδοχέας της IL-6 αποτελεί σύμπλεγμα δύο διαφορετικών μεμβρανικών γλυκοπρωτεϊνών, μια με μοριακό βάρος 80 kDa (IL-6Rα,CD126) και μία με μοριακό βάρος 130 kDa (gp130, CD130). Η ιντερλευκίνη-6 δεσμεύεται αρχικά στο μεμβρανικό της υποδοχέα (IL-6R) δημιουργώντας το σύμπλοκο IL-6/IL-6R, το οποίο στη συνέχεια δεσμεύεται στον υποδοχέα gp130 για τη μετάδοση του σήματος. Αυτό ο τρόπος δράσης ονομάζεται «κλασική οδός». Κύτταρα που δεν μπορούν να διεγερθούν με την κλασική οδό εξαιτίας έλλειψης του μεμβρανικού υποδοχέα, ενεργοποιούνται με την «εναλλακτική οδό». Κατά την εναλλακτική οδό ο διαλυτός της υποδοχέας (sIL-6R) δεσμεύει την IL-6 και δημιουργεί σύμπλοκο με τον υποδοχέα gp130 και μετάδοση του σήματος στο εσωτερικό του κυττάρου. Το γεγονός ότι όλα τα κύτταρα εκφράζουν τον υποδοχέα gp130 εξηγεί την πλειοτροπική δράση της IL-6 [3,4].

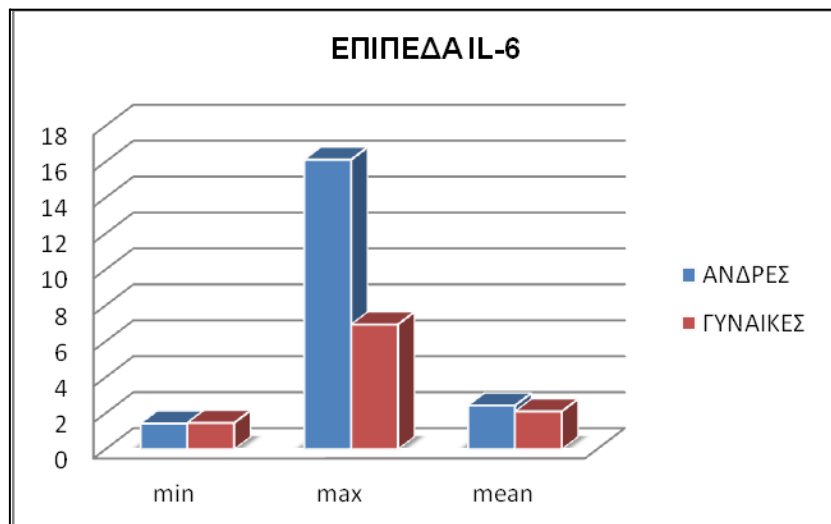


Η ηπατίτιδα Β αποτελεί ένα από τα σοβαρότερα προβλήματα δημόσιας υγείας. Εκτιμάται ότι σε ολόκληρο τον κόσμο έχουν μολυνθεί περίπου 2 δισεκατομμύρια άνθρωποι και από αυτούς 350 εκατομμύρια έχουν χρόνια λοίμωξη. Στην Ελλάδα, η συχνότητα των ασθενών με χρόνια λοίμωξη υπολογίζεται μεταξύ 2% και 3%. Οι συχνότερες αιτίες θανάτου των ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα Β είναι οι επιπλοκές της κίρρωσης και ο ηπατοκυτταρικός καρκίνος [5].

Σκοπός της εργασίας αυτής ήταν η μέτρηση των επιπέδων IL-6 στον ορό ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα Β και ο συσχετισμός τους με το ιικό φορτίο και τα επίπεδα των τρανσαμινασών.

Υλικά και μέθοδοι: Μελετήθηκαν 50 ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β, 27 άνδρες και 23 γυναίκες, ηλικίας 28-78 ετών (μέση ηλικία 51,8 έτη). Όλοι οι ασθενείς ήταν HBsAg(+), anti-HBc(+), anti-HBe(+) και HBVDNA(+). Οι ασθενείς ήταν αρνητικοί για συλλοίμωξη με HCV, HDV και HIV. Η μέτρηση της ενζυμικής δραστηριότητας των τρανσαμινασών έγινε στον αυτόματο βιοχημικό αναλυτή ADVIA 1800 της Siemens. Η μέτρηση της SGOT(AST) έγινε με την μέθοδο Karmen, βασιζόμενη στις συστάσεις της IFCC (κωδικός αντιδραστηρίου 74045), ενώ της SGPT(ALT) έγινε με την μέθοδο Wroblewski-LaDue, τροποποιημένη από τους Henry και Bergmeyer, χρησιμοποιώντας LDH και NADH και βασιζόμενη στις συστάσεις της IFCC (κωδικός αντιδραστηρίου 74046). Η μέτρηση των επιπέδων της IL-6 έγινε με την μέθοδο HUMAN CYTOKINE/CHEMOKINE PANEL I (Cat. No. MPXHCYTO-60K), στον αναλυτή LUMINEX. Η μέτρηση του ιικού φορτίου έγινε με την μέθοδο PCR πραγματικού χρόνου στον αναλυτή COBAS Taqman Amplicor της Roche. Η συσχέτιση μεταξύ των τιμών των υπό εξέταση παραμέτρων έγινε με ανάλυση γραμμικής παλινδρόμησης.

Αποτελέσματα: Οι τιμές της SGOT κυμάνθηκαν από 11,6 ως 242,4 U/L (μέση τιμή 31,0) και της SGPT από 19,9 ως 319,1 U/L (μέση τιμή 36,8). Οι τιμές της IL-6 κυμάνθηκαν από 1,433 ως 16,123 pg/ml (μέση τιμή 2,287). Το ικό φορτίο των ασθενών κυμάνθηκε από 14,8 ως 3650000,0 U/mL. Παρατηρήθηκε πολύ καλή θετική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων της IL-6 και των επιπέδων της SGOT ($r=0,900$), των επιπέδων της SGPT ($r=0,918$) και με το ικό φορτίο ($r=0,911$).



Συζήτηση: Τα επίπεδα της IL-6 στον ορό είναι πολύ χαμηλά σε φυσιολογικές καταστάσεις. Αυξημένα επίπεδα IL-6 έχουν αναφερθεί από πολλούς ερευνητές στον ορό ασθενών με ηπατικά νοσήματα, όπως η χρόνια ηπατίτιδα Β και C, η αλκοολική κίρρωση, η πρωτοπαθής χολική κίρρωση και ο ηπατοκυτταρικός καρκίνος (HCC) [6,7,8]. Η IL-6 στο ήπαρ εκκρίνεται από τα κύτταρα Kupffer. Δρά μέσω του υποδοχέα της στα ηπατοκύτταρα, συνεισφέροντας σημαντικά στην επιδιόρθωση και αναγέννηση του ηπατικού ιστού. Εκτιμάται ότι υπάρχουν περίπου 1500 υποδοχείς της ανά ηπατοκύτταρο στους οποίους επιδρά μεταβάλλοντας την μεταγραφική, την μεταφραστική και την εκκριτική δραστηριότητα. Ο μηχανισμός της δράσης της δεν έχει πλήρως διαλευκανθεί, αλλά πιστεύεται ότι παίζει σημαντικό ρόλο στις ανοσιακές απαντήσεις που οδηγούν στην κάθαρση του ιού [6,7,8]. Από πολλούς ερευνητές έχουν αναφερθεί συσχετισμοί των επιπέδων της IL-6 με την χρονική διάρκεια της λοίμωξης και με το ικό φορτίο [9,10]. Αυξημένα επίπεδα αποτελούν δείκτη εκτεταμένης ηπατικής βλάβης και σχετίζονται με προχωρημένη κίρρωση και με την δημιουργία ηπατοκυτταρικού καρκίνου [11]. Επιπλέον έχει παρατηρηθεί θετική συσχέτιση των επιπέδων της με την έκταση και το στάδιο του όγκου, γεγονός που την καθιστά ευαίσθητο δείκτη παρακολούθησης των ασθενών με υψηλό κίνδυνο εμφάνισης HCC [12].

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Αναστασίου Νικόλαος "Πρωτεΐνες οξείας φάσης και φλεγμονή" www.iatrikionline.gr/Respiratory_56/2.pdf
- Jones SA. "Directing transition from innate to acquired immunity: defining a role for IL-6" *J Immunol* 2005; 175: 3463-3468.
- Τουμπανάνης Δ και Βασιλακόπουλος Θ. "Μοριακοί μηχανισμοί δράσης της Ιντερλευκίνης-6 (IL-6)" *PNEUMON* 2007;2 (20):142-153
- Keller ET, Wanagat J, Ershler WB "Molecular and cellular biology of Interleukon-6 and its receptor" *Frontiers in Bioscience* 1996; 1: 340-357
- Papathodoridis G "Epidemiology of hepatitis B and D in Greece" www.vhpb.org/files/.../ATHS41.pdf
- Fadwa M Al-Sharif "Interleukins and Chronic Hepatitis" *Middle East Journal of Scientific research* 2011; 7(6):1001-1007
- Falasca K, Ucciferri C, Dalessandro M, Zingariello P, Mancino P et al "Cytokine Patterns Correlate with Liver Damage in Patients with Chronic Hepatitis B and C" *Annals of Clinical & Laboratory Science* 2006 36(2):144-150
- Priimägi L, Tefanova V, Tallo T and Schmidt E "The role of serum Th1 and Th2 cytokines in patients with chronic hepatitis B and hepatitis C virus infection" *Acta Medica Lituanica* 2005; 12 (3): 28–31
- Jung-Ta Kao, Hsueh-Chou Lai, Shu-Mei Tsai, Pei-Chao Lin et al "Rather than interleukin-27, interleukin-6 expresses positive correlation with liver severity in naive hepatitis B infection patients" *Liver International* 2011:1-10
- Sanaa Kamal, Mahmoud Ismail, Heba Shaker, Hanaa Moustafa "Serum and intrahepatic patterns in hepatitis B and C" *Egypt. J. Med. Lab. Sci., (ESIC)*, 2003;12 (1)
- YU Yan-Yan, SI Chong-Wen, TIAN Xiu-Lin, HE Qun and XUE Hai-Peng "High serum interleukin-6 level predicts future hepatocellular carcinoma development in patients with chronic hepatitis B. *Int J Cancer* 2009 15;124(12):2766-70.
- Soresi M, Giannitrapani L, D'Antona F, Florena AM et al "Interleukin-6 and its soluble receptor in patients with liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma" *World J Gastroenterol* 2006; 28; 12(16):2563-2568



Τραγούδι τρυφερό η θάλασσα μας ψάλλει,
τραγούδι που έκαμαν τρεις ποιηταί μεγάλοι,
ο ήλιος, ο αέρας και ο ουρανός.
Και σαν κυττάξεις την υγρή της πεδιάδα,
σαν βλέπεις την απέραντή της πρασινάδα,
τον κάμπο της πούναι κοντά και τόσο μακρινός,
γεμάτος με λουλούδια κίτρινα που σπέρνει
το φως σαν κηπουρός, χαρά σε παίρνει
και σε μεθά, και σε υψώνει την καρδιά.
Κι αν ήσαι νέος, μες σταις φλέβες σου θα τρέξη
της θάλασσας ο πόθος· θα σε 'πη μια λέξι
το κύμα απ' τον έρωτά του, και θα βρέξη
με μυστική τον έρωτά σου μυρωδιά.

Φωνή από τη θάλασσα
από τα Αποκηρυγμένα, Ικαρος 1983
Κ.Π. Καβάφης