

# Ελληνική Ιατρική

Τόμος 71 • Τεύχος 4  
Οκτώβριος – Δεκέμβριος 2005

---

## Περιεχόμενα

Ενημερωτικά άρθρα	241	<b>Φλεγμονώδεις κυτταροκίνες και καρδιαγγειακή νόσος</b> <i>Δ. Αφθονίδης</i>
	248	<b>Η σχέση ρινίτιδας και άσθματος</b> <i>Α. Σιγλετίδης, Δ. Χλωρός</i>
	255	<b>Γονιδιακή θεραπεία αυτοκτονίας – Επίδραση «Bystander»</b> <i>Ε. Φράγκου-Μασουρίδου, Ν. Μασουρίδου</i>
	262	<b>Η προστατευτική δράση της μελατονίνης στον ανθρώπινο οργανισμό</b> <i>Ε. Ανρατζόπουλος, Θ. Λιαλιάρης</i>
Ερευνητικές εργασίες	275	<b>Η ερπητική εγκεφαλίτιδα σε νοσοκομείο ειδικών παθήσεων τα έτη 1991-2003</b> <i>Φ. Καμάρια, Α. Κανάκη, Α. Παπαλεξανδρή, Δ. Κολοκοτρώνη, Δ. Καραμπαξόγλου, Σ. Μήτκα, Α. Κανσουζίδου</i>
	281	<b>Μη τραυματική ραβδομυόλυση και οξεία νεφρική ανεπάρκεια από εξαρτησιογόνες ουσίες: Μελέτη εννέα περιπτώσεων</b> <i>Μ. Αρμενάκα, Α. Γαμβρόλη, Ε. Τσότσιου, Κ. Μικούδη, Δ. Κρικίδης, Μ. Σιών</i>
	286	<b>Τοξική επίδραση του all-trans ρετινοϊκού οξέος στον βλεννογόνο του λεπτού εντέρου του λευκού επίμυος. Μορφολογική μελέτη με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο διέλευσης</b> <i>Ε.-Ν. Εμμανουήλ-Νικολούση, Α. Καϊδόγλου-Αναγνωστοπούλου, Α. Σιόγκα-Ράπτη, Ε. Νικολούση, Α. Μάνθος</i>
Ενδιαφέρουσα περίπτωση	292	<b>Υποτροπή συνδρόμου Guillain-Barré μετά από αντιγριπικό εμβολιασμό</b> <i>Α. Αδαμίδου, Γ. Ντάιος, Α. Καρλοβασίτου, Ι. Μαυρομάτης, Μ. Αλεβίζος, Δ. Καραμήτσος</i>
Ειδικό άρθρο	296	<b>Χειρουργική έρευνα. Αρχές και πρακτικές</b> <i>Κ. Κοτζάμπαση, Ε. Ελευθεριάδης</i>
Ευρετήριο θεμάτων	304	
Ευρετήριο συγγραφέων	306	

# Helliniki Iatriki

Volume 71 • No 4  
October – December 2005

---

## Contents

<i>Brief reviews</i>	241	<b>Proinflammatory cytokines and cardiovascular disease</b> <i>Athonidis D.</i>
	248	<b>The relationship between rhinitis and asthma</b> <i>Sichletidis L, Chloros D.</i>
	255	<b>Suicide gene therapy (GEPT, gene directed enzyme prodrug therapy). Bystander effect</b> <i>Frangou-Massourides H, Massouridou N.</i>
	262	<b>Protective effect of melatonin in humans</b> <i>Lyratzopoulos E, Lialiaris Th.S.</i>
<i>Investigative papers</i>	275	<b>Herpes simplex encephalitis at an Infectious Diseases Hospital from 1991 to 2003</b> <i>Kamaria F, Kanaki A, Papalexandri A, Kolokotroni D, Karabaxoglou D, Mitka S, Kansouzidou A.</i>
	281	<b>Non-traumatic rhabdomyolysis and acute renal failure in drug addicts: Analysis of nine cases</b> <i>Armenaka M, Gamvrili L, Tsotsiou E, Krikidis D, Mikoudi K, Sion M.</i>
	286	<b>Toxic influence of all-trans-retinoic acid at the small intestinal mucosa of the white rat. Morphological study by Transmission Electron Microscope (TEM)</b> <i>Emmanouil-Nikoloussi E.-N, Kaidoglou-Anagnostopoulou K, Sioga-Rapti A, Nikoloussis E, Manthos A.</i>
<i>Case report</i>	292	<b>Guillain-Barré syndrome relapse after influenza vaccination</b> <i>Adamidou A, Ntaios G, Karlovasitou A, Mauromatis I, Alevizos M, Karamitsos D.</i>
<i>Special article</i>	296	<b>Surgical research-principles and practice</b> <i>Kotzampassi K, Eleftheriadis E.</i>
<i>Subject index</i>	304	
<i>Author index</i>	306	

## Φλεγμονώδεις κυτταροκίνες και καρδιαγγειακή νόσος

Δημήτριος Αφθονίδης

Καρδιολογική Κλινική, Νοσοκομείο «Άγ. Παύλος» Θεσσαλονίκη

**Περίληψη.** Η φλεγμονή διαδραματίζει σημαντικό ρόλο σε όλα τα στάδια της αθηροσκλήρωσης. Από τους κυριότερους φλεγμονώδεις δείκτες που σχετίζονται με την αθηρωμάτωση είναι οι κυτταροκίνες: Είναι πρωτεΐνες που παράγονται από κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, αλλά και από μυοκαρδιακά, ενδοθηλιακά, μακροφάγα κύτταρα και το λιπώδη ιστό. Οι δράσεις τους είναι κατασταλτικές στο μυοκάρδιο, βλαπτικές στο ενδοθήλιο, και

προάγουν την ενδοαγγειακή πηκτική δραστηριότητα. Έχουν επίσης προγνωστική αξία σε υγιείς άνδρες και γυναίκες σε πρωτογενή πρόληψη, αλλά και σε ασθενείς με οξεία ισχαιμικά σύνδρομα και καρδιακή ανεπάρκεια (δευτερογενής πρόληψη). Θεραπευτικά, η άσκηση, η ασπιρίνη και οι στατίνες είναι από τους κυριότερους παράγοντες που μειώνουν τη δράση αυτών των πρωτεϊνών.

*Ελλην Ιατρ 2005, 71: 241 - 247.*

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η αθηροσκλήρωση είναι περίπλοκη, πολυπαραγοντική νόσος που προκαλείται από την αλληλεπίδραση περιβαλλοντικών και γενετικών παραγόντων.

Έχει βρεθεί ότι η φλεγμονή διαδραματίζει σημαντικό ρόλο τόσο στην έναρξη, όσο και στην εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης. Φλεγμονώδη κύτταρα διηθούν τις αθηρωματικές πλάκες σε όλα τα στάδια της ανάπτυξης, από τις λιπώδεις γραμμώσεις έως τις προχωρημένες αθηρωματικές βλάβες, τη ρήξη της πλάκας και τη θρόμβωση<sup>1,2</sup>.

Εφόσον η φλεγμονή διαδραματίζει τόσο σημαντικό ρόλο στη διεργασία της αθηροσκλήρωσης, είναι λογικό να χρησιμοποιούνται οι δείκτες φλεγμονής ως δείκτες αθηρωμάτωσης και ως προγνωστικοί δείκτες αγγειακών επεισοδίων.

Οι κυριότεροι φλεγμονώδεις δείκτες που σχετίζονται με την αθηροσκλήρωση<sup>3</sup> φαίνεται στον πίνακα 1.

### ΟΙ ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΕΙΣ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΕΣ

Είναι πρωτεΐνες σχετικά μικρού μοριακού βάρους, που παράγονται από κύτταρα ως απάντηση

ποικίλων ερεθισμάτων. Αν και ήταν παραδοσιακή η παραδοχή ότι οι κυτταροκίνες παράγονται από κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, σήμερα πλέον θεωρείται ότι εκλύονται και από μυοκαρδιακά κύτταρα, από το ενδοθήλιο των αγγείων, τα μακροφάγα και το λιπώδη ιστό.

Οι κυριότερες κυτταροκίνες είναι οι εξής<sup>5</sup>:

α) Από ενδοθηλιακά κύτταρα

TNF (Παράγοντας νέκρωσης του όγκου)

IL-1, IL-6, IL-8, IL-15 (Ιντερλευκίνες)

TGF-β (Μεταρρεπτικός αυξητικός παράγοντας)

**Πίνακας 1.** Κυριότεροι φλεγμονώδεις δείκτες που σχετίζονται με την αθηροσκλήρωση

#### Φλεγμονώδεις δείκτες που σχετίζονται με αθηροσκλήρωση

- Φλεγμονώδεις κυτταροκίνες (IL-1b, IL-6, TNF-a)
- Διαλυτές μορφές των μορίων προσκόλλησης (SVCAM-1, SICAM-1, E-selectin, P-selectin)
- Κλασικοί φλεγμονώδεις δείκτες όπως η CRP, α-αμυλοειδές, αντισώματα κατά των ιών-χλαμυδίων
- Διαλυτές μορφές μορίων που σχετίζονται με την ασταθή αθηρωματική πλάκα (μεταλλοπρωτεϊνάσες)

OSM (Ογκοστατίνη)

LIF (Παράγοντας ανασταλτικός της λευκαϊμίας)  
CD40L

β) Από λεία μυϊκά κύτταρα

TNF

IL-1, IL-6, IL-8

TGF-β

OSM

LIF

CD40L

Δρουν τοπικά μέσω αυτοκρινικών ή παρακρινικών μηχανισμών. Τα αποτελέσματα της παραγωγής ενός συνδυασμού κυτταροκινών εξαρτώνται από τους υποδοχείς που υπάρχουν στα κύτταρα. Υπάρχουν τρεις μεγάλες κατηγορίες υποδοχέων κυτταροκινών:

1. Οικογένεια υποδοχέων TNF
2. Οικογένεια υποδοχέων των αυξητικών παραγόντων
3. Οικογένεια υποδοχέων των ανοσοσφαιρινών<sup>6</sup>.

Υπάρχουν κυτταροκίνες που ευοδώνουν τη φλεγμονή (TNF, IL-1, IL-8) και άλλες που αντιστρατεύονται αυτή (IL-4, IL-10 και IL-13).

Η παραγωγή κυτταροκινών επάγεται από ουσίες όπως οι λιποπολυσακχαρίδες (LPS), ενώ αναστέλλεται από το NO και τον TGF-β.

Ερεθίσματα παραγωγής κυτταροκινών αποτελούν οι κλασικοί αθηρογενετικοί παράγοντες κινδύνου.

Έτσι, οι Ridker και συν.<sup>7</sup> έδειξαν σε υγιή πληθυσμό ότι τα επίπεδα της IL-6 αυξάνονται ανάλογα με τον αριθμό των παραγόντων κινδύνου όπως αρτηριακή υπέρταση, υπερχοληστερόλη, κάπνισμα, σακχαρώδη διαβήτης, ηλικία >60 έτη, οικογενειακό ιστορικό και δείκτης μάζας σώματος (ΔΜΣ) >27,3 kg/m<sup>2</sup>.

Οι κυριότερες δράσεις τους στο καρδιαγγειακό σύστημα είναι<sup>8,9</sup>:

- Η προαγωγή μιας μικρού βαθμού φλεγμονώδους διεργασίας
- Η ενίσχυση της ενδοαγγειακής πηκτικής δραστηριότητας
- Η ενίσχυση του οξειδωτικού stress
- Η ενεργοποίηση του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου
- Η καταστολή της μυοκαρδιακής συσταλτικότητας
- Η ενδοθηλιακή βλάβη
- Η επιτάχυνση του καταβολισμού των σκελετικών μυών.

Οι καρδιαγγειακές παθήσεις στις οποίες το σύστημα των φλεγμονωδών κυτταροκινών υπερέκφραζεται είναι οι εξής:

- Οξεία ιογενής μυοκαρδίτιδα
- Απόρριψη καρδιακού μοσχεύματος
- Οξύ έμφραγμα μυοκαρδίου
- Ασταθής στηθάγχη
- Μυοκαρδιακή βλάβη από επαναμιάτωση
- Υπερτροφική μυοκαρδιοπάθεια\*
- Καρδιακή ανεπάρκεια\*
- Καρδιοπνευμονική παράκαμψη\*
- Εξωσωματική κυκλοφορία\*
- Έλλειμμα μαγνησίου\*
- Υπερφόρτιση πίεσης\*

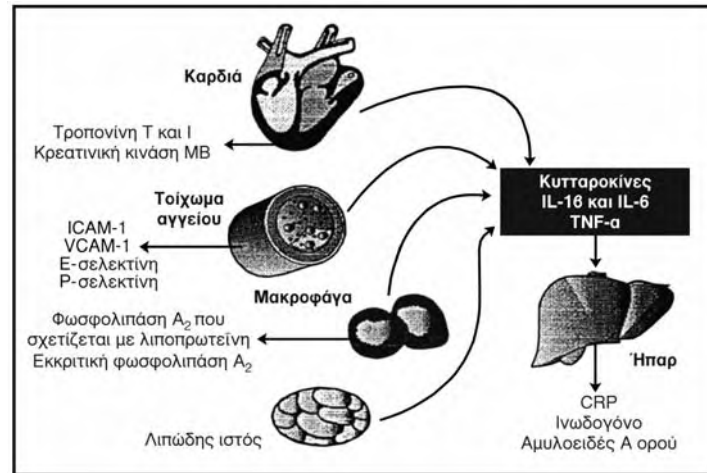
(\*Δείχνει καταστάσεις που δε σχετίζονται με ανοσοβιολογική φλεγμονή<sup>10</sup>).

Οι πιθανές βλαπτικές δράσεις του TNF-α στην καρδιακή ανεπάρκεια είναι<sup>11</sup>.

- Δυσλειτουργία της αριστερής κοιλίας σε ανθρώπους
- Πνευμονικό οίδημα σε ανθρώπους
- Μυοκαρδιοπάθεια σε ανθρώπους
- Συσχέτιση με μειωμένη αιματική ροή στους σκελετικούς μύες (σε ανθρώπους)
- Αναδιαμόρφωση της αριστερής κοιλίας (σε πειραματόζωα)
- Θρομβοεμβολή (σε πειραματόζωα)
- Ανωμαλίες στο μεταβολισμό του μυοκαρδίου (πειραματόζωα)
- Ανορεξία και καχεξία
- Αποσύζευξη των β-αδρενεργικών υποδοχέων από την αδενυλική κυκλάση (σε πειραματόζωα)
- Διαταραχές του ενεργειακού ισοζυγίου των μιτοχονδρίων (σε πειραματόζωα)
- Έκφραση γονιδίων εμβρυϊκού τύπου στα ώριμα μυοκαρδιακά κύτταρα (σε πειραματόζωα)
- Απόπτωση μυοκαρδιακών κυττάρων (σε πειραματόζωα)
- Απόπτωση ενδοθηλιακών κυττάρων (σε πειραματόζωα).

Αυτές οι βλαπτικές δράσεις είναι γνωστές ως «βιολογικές δράσεις» αυτών των μορίων. Τονίζεται δε ότι η υπόθεση των κυτταροκινών υποδηλώνει ότι οι φλεγμονώδεις κυτταροκίνες δεν προκαλούν καρδιακή ανεπάρκεια αυτές καθ' αυτές αλλά μάλλον ότι η υπερέκφραση αυτών των μορίων συνεισφέρει στην εξέλιξη του συνδρόμου της καρδιακής ανεπάρκειας όταν η αριστερή κοιλία δυσλειτουργεί.

Μελέτες σε πειραματόζωα έδειξαν ότι μία και



Εικ. 1. Πηγές φλεγμονωδών δεικτών<sup>4</sup>.

μόνη έγχυση TNF- $\alpha$  προκαλούσε έκπτωση της συστολικής λειτουργίας μέσα σε 24 ώρες από την έγχυση<sup>12</sup>. Επίσης οι IL-1 και IL-6 βρέθηκε ότι έχουν αρνητική ινóτροπη δράση<sup>13,14</sup>

Οι κυτταροκίνες ενέχονται και στα τρία στάδια της αθηροθρόμβωσης<sup>15</sup>.

1. Στο στάδιο φλεγμονώδους διεργασίας που αφορά στην ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και την ενεργοποίηση μονοκυττάρων / μακροφάγων.

2. Στο στάδιο που αφορά στην ενεργοποίηση και τον πολλαπλασιασμό των λείων μυικών ινών.

3. Στο στάδιο ενεργοποίησης του συστήματος πήξης/θρόμβωσης

Σε φυσιολογικές συνθήκες οι κυτταροκίνες διατηρούν την απαραίτητη ισορροπία ανάμεσα στην κυτταρική ανάπτυξη και την απόπτωση, έτσι ώστε να διατηρείται τόσο η λειτουργία των αγγειακών ιστών, όσο και οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ του αγγειακού ενδοθηλίου και των κυτταρικών στοιχείων του αίματος στα φυσιολογικά επίπεδα.

Όπως φαίνεται και από την εικόνα 1 οι IL-1 $\beta$  και IL-6 διεγείρουν την σύνθεση των πρωτεϊνών οξειάς φάσης από το ήπαρ όπως τη CRP. Τόσο η IL-1 $\beta$  όσο και η CRP διεγείρουν την έκφραση του ιστικού παράγοντα από το ενδοθήλιο και τα μακροφάγα<sup>16</sup> και μαζί με την IL-6 ενεργοποιούν το σύστημα πήξης<sup>17</sup>. Με αυτόν τον τρόπο οι κυτταροκίνες διευκολύνουν το σχηματισμό τοιχωματικών θρόμβων.

Επίσης οι κυτταροκίνες ενισχύουν την έκφραση των μορίων προσκόλλησης στη μεμβράνη των λευκοκυττάρων (ιντεγκρίνες), με αποτέλεσμα σύνδεση των μονοκυττάρων με το ενδοθήλιο και ενεργοποιούν τα μακροφάγα για παραγωγή μεταλλο-

πρωτεϊνών οι οποίες οδηγούν σε λέπτυνση της κάψας της αθηρωματικής πλάκας, με αποτέλεσμα να είναι επιρρεπής σε ρήξη<sup>18</sup>.

Ένας σημαντικός αριθμός αυτών των πρωτεϊνών έχει βρεθεί στην αρτηριοσκληρυντική πλάκα<sup>19</sup>. Έτσι ο TNF βρίσκεται στο 86% των αθηρωματικών πλακών, ενώ απουσιάζει από το φυσιολογικό αγγειακό τοίχωμα.

### Αγγειακές δράσεις των κυτταροκινών

Τα αγγειακά κύτταρα είναι ιδιαίτερος στόχος για τις κυτταροκίνες. Οι δράσεις τους συνοψίζονται στα εξής<sup>18</sup>:

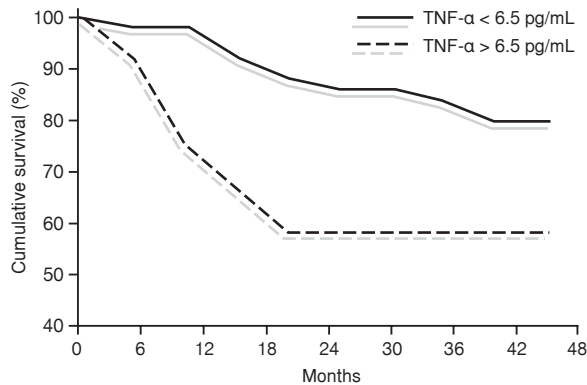
- α. Τροποποίηση των αντιθρομβωτικών ιδιοτήτων του ενδοθηλίου (IL-1, TNF)
- β. Τροποποίηση στην παραγωγή μορίων προσκόλλησης (IL-1, TNF)
- γ. Αύξηση των συνθετικών ιδιοτήτων των αγγειακών κυττάρων
- δ. Τροφικές και μορφολογικές δράσεις
- ε. Ρύθμιση των πρωτεϊνών του εξωκυττάρου ιστού

### Προγνωστική αξία των κυτταροκινών

#### α. Πρωτογενής πρόληψη

Οι Ridker PM και συν.<sup>7</sup> βρήκαν ότι τα επίπεδα της IL-6 ήταν προγνωστικός δείκτης μελλοντικού εμφράγματος μυοκαρδίου σε υγιείς άνδρες. Αν και τα επίπεδα της IL-6 συσχετιζονταν με τα επίπεδα της CRP, η σχέση μεταξύ IL-6 και του κινδύνου (μελλοντικά) μυοκαρδιακού εμφράγματος παρέμεινε σημαντική μετά την προσαρμογή με την CRP.

Επίσης σε υγιείς μετεμηνοπαυσιακές γυναί-



Εικ. 2. Προγνωστική αξία TNF-α.

κε<sup>20</sup> τα αυξημένα επίπεδα της IL-6, όπως και των άλλων φλεγμονωδών δεικτών (hs-C.R.P., α-αμυλοειδές, sICAM-1) αποτελούσαν δυσμενή προγνωστικό δείκτη καρδιαγγειακών συμβαμάτων. Μάλιστα δε προσέθεταν επιπλέον προγνωστική πληροφορία στα επίπεδα της ολικής χοληστερόλης, ειδικά η hs-C.R.P. (υψηλής ευαισθησίας C.R.P) και το α-αμυλοειδές

### β. Δευτερογενής πρόληψη

Η φλεγμονή διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεια των οξέων ισχαιμικών συνδρόμων. Η ασταθής στηθάγχη χαρακτηρίζεται από αύξηση της IL-6 που επάγει την ηπατική σύνθεση της CRP και αυτή η αύξηση σχετίζεται με χειρότερη πρόγνωση<sup>21</sup>.

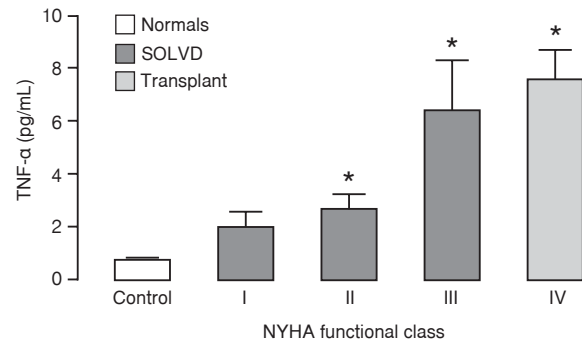
Επίσης η IL-1 έχει ενοχοποιηθεί στη φλεγμονώδη διεργασία που συνυπάρχει στα οξεία ισχαιμικά σύνδρομα<sup>22</sup>. Τα ευρήματα αυτά μπορεί να ανοίγουν νέους δρόμους για την αντιμετώπιση των οξέων ισχαιμικών συνδρόμων.

Συμπερασματικά οι κυτταροκίνες:

1. Αποτελούν τους κύριους ρυθμιστές της αθηρογένεσης
2. Ενέχονται στη γένεση της μυοκαρδιακής ισχαιμίας
3. Ευθύνονται για την αστάθεια της αθηρωματικής πλάκας
4. Συμβάλλουν στην ενεργοποίηση του συστήματος πήξης.

### Προγνωστική αξία των κυτταροκινών στην καρδιακή ανεπάρκεια

Οι Tsutamoto και συν.<sup>23</sup> αναφέρουν ότι αυξημένα επίπεδα IL-6 ήταν σημαντικός ανεξάρτητος προγνωστικός δείκτης θνητότητας σε ασθενείς με καρ-



Εικ. 3. Λειτουργική κλάση κατά NYHA.

διακή ανεπάρκεια κλάσης II έως IV κατά NYHA.

Μάλιστα δε τα επίπεδα της IL-6 ήταν ανεξάρτητος προγνωστικός δείκτης από τα επίπεδα της νορεπινεφρίνης, του κολπικού νατριουρητικού παράγοντα (A.N.F.) και του μειωμένου κλάσματος εξώθησης (ΚΕ).

Επίσης και άλλες μελέτες δείχνουν την προγνωστική αξία της IL-6 για αυξημένη θνητότητα και ανάγκη για καρδιακή μεταμόσχευση<sup>24,25</sup>.

Σε άλλη μελέτη ο TNF<sup>26</sup> είχε προγνωστική αξία επιβίωσης σε άτομα με χαμηλό κλάσμα εξώθησης (Εικ. 2).

Όπως φαίνεται ασθενείς με επίπεδα TNF-α > 6,5 pg/ml είχαν χειρότερη επιβίωση σε σύγκριση με ασθενείς με TNF-α < 6,5 pg/ml.

Επίσης τα επίπεδα TNF είχαν σχέση με τη λειτουργική κλάση κατά NYHA (Εικ. 3).

Οι Ferrari και συν.<sup>27</sup> παρατήρησαν ότι τα επίπεδα του TNF-α και sTNFR2 (διαλυτός υποδοχέας του TNF) ήταν σημαντικά υψηλότερα σε νοσηλευόμενους ασθενείς με χειρότερη κλινική πορεία.

### Φλεγμονώδεις κυτταροκίνες και περιφερική μυοπάθεια σε ασθενείς με χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια

α) Προκαλούν μυϊκή δυστροφία τόσο με έμμεσους (π.χ. ανορεξία) όσο και με άμεσους μηχανισμούς (π.χ. καταστολή πρωτεϊνοσύνθεσης, επαγωγή iNOS, μάλιστα δε η χορήγηση αναστολέων της iNOS και αντι-οξειδωτικών παραγόντων ανέστειλε την επαγόμενη από τον TNF-α μυϊκή δυστροφία και καχεξία)<sup>28</sup>.

β) Επιτείνουν τον καταβολισμό των σκελετικών μυών (TNF)

γ) Προκαλούν υπέρμετρη ενεργοποίηση του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου (από-



πωση) των σκελετικών μυϊκών κυττάρων<sup>29</sup>.

Ασθενείς με χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια (ΧΚΑ) και θετικές βιοψίες για απόπτωση των σκελετικών μυϊκών κυττάρων είχαν σημαντική μειωμένη ικανότητα για άσκηση συγκριτικά με εκείνους που είχαν αρνητικές βιοψίες<sup>30</sup>.

Η VO<sub>2</sub> MAX είχε αντίστροφη σχέση με τον αριθμό των αποπτωτικών πυρήνων των σκελετικών μυών σε ασθενείς με ΧΚΑ<sup>31</sup>.

### Συσχετίσεις κυτταροκινών

Όπως φαίνεται και από την εικόνα 1 ο λιπώδης ιστός αναγνωρίζεται ως μια πηγή κυτταροκινών όπως οι IL-1β, IL-6 και TNF-α.

Μελέτες των φλεγμονωδών δεικτών, δείχνουν ότι υπάρχει μια ισχυρή σχέση μεταξύ των επιπέδων αυτών των δεικτών και των επιπέδων του σωματικού λίπους, δεικτών αντίστασης στην ινσουλίνη και άλλων δεικτών δυσμεταβολικής κατάστασης<sup>32,33</sup>. Η σχέση μεταξύ IL-6 και CRP είναι δεδομένη<sup>7</sup>.

Οι Aronson και συν.<sup>34</sup> ανέφεραν μια αντίστροφη σχέση μεταξύ επιπέδων IL-6 και HRV (μεταβλητότητας καρδιακού ρυθμού) σε ασθενείς με συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια.

Επίσης IL-6 βρέθηκε στον εγκέφαλο και μπορεί να επηρεάσει την ισορροπία του ANS με την επίδραση στον άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης-επινεφριδίων.

### Θεραπευτικές παρεμβάσεις κατά των κυτταροκινών

#### Σωματική άσκηση

Η εφαρμογή προγραμματίων αερόβιας σωματικής άσκησης προκαλούσε μείωση της έκφρασης των TNF-α, IL-6 και IL-1β σε βιοψίες περιφερικών μυών, σε ασθενείς με χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια<sup>35</sup>.

Άλλες μελέτες δείχνουν ότι η συστηματική άσκηση προκαλούσε μείωση των επιπέδων στη συστηματική κυκλοφορία ενός ευρέως φάσματος φλεγμονωδών δεικτών που προάγουν την απόπτωση και ασκούν κυτταρολογική δράση στο καρδιαγγειακό σύστημα (μείωση των GM-CSF, TNF-α, IL-6, MCP-1, sICAM-1 και sVCAM-1 του αποπτωτικού υποδοχέα sFAs και του επαγωγέα της απόπτωσης sFAs Ligand)<sup>36,37</sup>.

#### Φαρμακευτική αντιμετώπιση της αθηρογενετικής και θρομβωτικής δράσης των κυτταροκινών:

– Ασπιρίνη: σε δόση 300 mg μειώνει τα επίπε-

δα των κυτταροκινών σε ασθενείς με σταθερή στηθάγχη<sup>38</sup>.

Επίσης στη μελέτη WARIS II σε ασθενείς με πρόσφατο έμφραγμα μυοκαρδίου τα επίπεδα TNF-α, IL-6 και CRP μειώθηκαν σημαντικά μόνο με ασπιρίνη και όχι με Warfarin<sup>39</sup>.

– Στατίνες: Μειώνουν σημαντικά τα επίπεδα των TNF-α, IL-6<sup>40</sup>.

Γενικά οι αντι-κυτταροκινικές θεραπευτικές παρεμβάσεις<sup>41</sup> είναι:

1) Παράγοντες που αναστέλλουν τα ερεθίσματα παραγωγής κυτταροκινών

Νευροορμονικοί αναστολείς (β-αναστολείς, αναστολείς υποδοχέων αγγειο-τενσίνης, σπειρονολακτόνη)

Αυξητική ορμόνη

Φυσική άσκηση

Συσκευές μηχανικής υποβοήθησης αριστεράς κοιλίας

2) Παράγοντες που αναστέλλουν τους βιοχημικούς μηχανισμούς παραγωγής των κυτταροκινών  
Αναστολείς φωσφοδιεστεράσης (πεντοξυφυλλίνη)

Αμλοδιπίνη (IL-6)

Αντιφλεγμονώδεις κυτταροκίνες (IL-10)

Αδενοσίνη, θαλιδομίδη, αμιωδαρόνη (in vitro)

Στατίνες

3) Παράγοντες που εξουδετερώνουν τις δράσεις των κυτταροκινών στην κυκλοφορία

Μονοκλωνικά αντισώματα

Ανοσοσφαιρίνη (iv)

Γενετικά ανασυνδυασμένοι διαλυτοί υποδοχείς.

### CD-40L

Εκφράζεται στα αιμοπετάλια και ελευθερώνεται όταν ενεργοποιηθούν.

#### Πρωτογενής πρόληψη

Αυξημένα επίπεδα CD40L παρατηρούνται σε υπερχοληστερολαιμία και σακχαρώδη διαβήτη τύπου I και II.

Η οξειδωμένη LDL προάγει την έκφραση του CD40L.

#### Δευτερογενής πρόληψη

Αυξημένα επίπεδα CD40L παρατηρούνται σε οξεία στεφανιαία σύνδρομα (ΟΣΣ). Έχει αθηρογόνο και θρομβογόνο δράση.

Εάν ασθενείς με ΟΣΣ έχουν CD40L > 5 μg/l, ο κίνδυνος θανάτου ή μη θανατηφόρου OEM είναι αυξημένος και μειώνεται δραματικά με την χορή-

γηση Abciximab (έχει προθρομβωτική δράση) ενώ ασθενείς με επίπεδα CD40L <5 µg/l δεν ωφελήθηκαν από τη χορήγηση Abciximab<sup>42</sup>.

Σε ασθενείς με ασυμπτωματική χαμηλού βαθμού στένωση καρωτίδων μόνο ο sCD40L (διαλυτή μορφή (CD40L)) είχε μακροπρόθεσμα (8 χρόνια) ανεξάρτητη προγνωστική αξία για καρδιαγγειακό κίνδυνο (μεταξύ CD40L, IL-6 και CRP)<sup>43</sup>.

Γενικά ο CD-40L ανοίγει δρόμους που συνεισφέρουν στον εκφυλισμό της ινώδους κάψας της αθηρωματικής πλάκας και έτσι οδηγεί στην «ασταθή πλάκα» (προαθηρογενετική δράση) αλλά επίσης εκδηλώνει και προθρομβωτική δράση.

## IL-18

Θεωρείται ανεξάρτητος προγνωστικός δείκτης σε στεφανιαία νόσο. Αυξημένη έκφρασή του παρατηρείται γενικά σε ασταθή αθηρωματική πλάκα<sup>42</sup>.

### ABSTRACT

**Afthonidis D. Proinflammatory cytokines and cardiovascular disease. *Hell Iatr* 2005, 71: 241-247.**

The results of recent research show that inflammation plays an important role during all stages of the atheromatous process. Cytokines are considered to be among the most important factors contributing to atheromatosis. Although they are proteins mainly produced by the cells of the immune system, they are additionally produced by myocytes, by endothelial cells and adipose tissue. They act as suppressive factors for the myocardium, damage the endothelium and enhance the coagulation process. Their prognostic value is important primarily in healthy adults, but also in patients suffering from acute coronary syndrome and heart failure. Exercise, aspirin and statins are considered to be some of the main interventions that can reduce the effect of these proteins.

### ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. I Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999, 340: 115-26.
2. Shah PK. Plaque disruption and thrombosis: potential role of inflammation and infection. *Cardiol Clin* 1999, 17: 271-81.
3. Τούσουλης Μ.Δ. Νεότεροι παράγοντες κινδύνου στεφανιαίας νόσου. *Καρδιολογικά θέματα* 2002: 184-93.
4. Rader JD. Inflammatory markers of coronary risk. *N Engl J Med* 2000, 343(16): 1179-82.
5. Λεκάκης Π.Ι. Κυτοκίνες και αγγειακή βλάβη. *Καρδιολογικά θέματα* 1999, 146-53.
6. Inrona M, Mantovani A. Early activation signals in endothelial cells. Stimulation by cytokines. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 1997,17: 423-8.
7. Ridker PM, Rifai N, Stampfer MJ, Hennekens CH. Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. *Circulation* 2000, 101: 1767-72.
8. Kelly RA, Smith TW. Cytokines and cardiac contractile function. *Circulation* 1997, 95: 778-81.
9. Filippatos GS, Gangopadhyay N, Lalude O, et al. Regulation of apoptosis by vasoactive peptides *Am J Physiol* 2001, 281: L749-61.
10. Mann D, Knuefman P, Baumgarten G. Cytokines in ischemic heart disease and heart failure. *Dialogues in cardiovascular medicine* 2000, 5(3): 135-46.
11. Bozkurt B, Shan K, Seta Y, et al. Tumor necrosis factor alpha and tumor necrosis factor receptors in human heart failure. *Heart Fail Rev* 1996, 1: 211-9.
12. Pagani FD, Baker LS, Hsi C, et al. Left ventricular systolic and diastolic dysfunction after infusion of tumor necrosis factor-alpha in conscious dogs. *J Clin Invest* 1992, 90: 389-98.
13. Finkel MS, Oddis CV, Tacob TD, et al. Negative inotropic effects of cytokines on the heart mediated by nitric oxide. *Science* 1992, 257: 387-9.
14. Hosenpud JD, Campbell SM, Mendelson DJ. IL-1 induced myocardial depression in an isolated beating heart preparation. *J. Heart Transplant*. 1989, 8: 460-4.
15. Libby P, Ross R. Cytokines and growth regulatory molecules in atherosclerosis. In Fuster V, Ross R, and Topol E. J. eds *Atherosclerosis and Coronary Artery Disease*. Philadelphia: Lippincott Raven, 1996: 585-92.
16. Germack J, Key NS, Bach RR, et al. C-reactive protein induces human peripheral monocytes to synthesize tissue factor. *Blood* 1993, 82: 513-20.
17. Wakenfield TW, Greenfield LJ, Rolfe MW, et al. Inflammatory and procoagulant mediator interactions in an experimental baboon model of venous thrombosis. *Thromb Haem* 1993, 69: 164-72.
18. Libby P, Snkhora G, Lee RT, Galis ZS. Cytokines regulate vascular function related to stability of atherosclerotic plaque. *J. Cardiovasc Pharmacol* 1995, 25: 9-12.
19. Clinton SL, Lippy P. Cytokines and growth factors, in atherogenesis. *Arch. Pathol Lab Med* 1992, 116: 1292-300.
20. Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, et al. c-Reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med* 2000, 342: 836-43.
21. Biasucci LM, Vitelli A, Liuzzo G, et al. Elevated of IL-6 in unstable angina. *Circulation* 1996, 94: 874-7.
22. Biasucci LM, Liuzzo G, Fantuzzi G, et al. Increasing levels of IL-1 Ra and IL-6 during the first 2 days of hospitalization in unstable angina are associated with increased risk of in hospital coronary events. *Circulation* 1999, 99: 2079-84.



23. *Tsutamoto T, Hisanaga T, Wada A, et al.* IL-6 spillover in the peripheral circulation increases with the severity of heart failure, and the high plasma level of IL-6 is an important prognostic predictor in patients with congestive heart failure. *JACC* 1998, 31: 391-8.
24. *MacGowan GA, Mann DL, Kormos RL, et al.* Circulating IL-6 in severe heart failure. *Am J Cardiol* 1997, 79: 1128-31.
25. *Orus J, Roig E, Perez-Villa et al.* Prognostic value of serum cytokines in patients with congestive heart failure. *J. Heart Lung Transplant* 2000, 19: 419-25.
26. *Torre-Amione G, Kapadia S, Benedict CR, et al.* Pro-inflammatory cytokine levels in patients with depressed left ventricular ejection fraction: a report from the studies of left ventricular dysfunction (SOLVD). *JACC* 1996, 27: 1201-6.
27. *Ferrari R, Bachetti T, Confortini R, et al.* Tumor necrosis factor soluble receptors in patients with various degrees of congestive failure. *Circulation* 1995, 92: 1479-86.
28. *Buck M, Chojkier M.* Muscle wasting and differentiation induced by oxidative stress in a murine model of cachexia is prevented by inhibitors of nitric oxide synthesis and antioxidants. *EMBO J* 1996, 15: 1753-65.
29. *Αδαμόπουλος Σ, Παρίσης Ι, Κρεμαστινός Δ.* Προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες και Περιφερική Μυοπάθεια σε ασθενείς με χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια. Η ευεργετική επίδραση της σωματικής άσκησης. *HJC* 2004, 45: 256-9.
30. *Adams V, Jiang H, Yu J, et al.* Apoptosis in skeletal myocytes of patients with chronic heart failure is associated with exercise intolerance. *JACC* 1999, 33: 959-65.
31. *Vescovo, Volterrani M, Zennaro R, et al.* Apoptosis in the skeletal muscle of patients with heart failure: investigation of clinical and biochemical changes. *Heart* 2000, 84: 431-7.
32. *Festa A, D'Agostino R. Jr Howard G, et al.* The Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS) *Circulation* 2000, 102: 42-7.
33. *Yudkin JS, Kumari M, Humphries SE, et al.* Inflammation, obesity, stress and coronary heart disease: is IL-6 the link? *Atherosclerosis* 2000, 148: 209-14.
34. *Aronson D, Mittleman MA, Burger AJ.* Interleukin 6 levels are inversely correlated with heart rate variability in patients with decompensated heart failure. *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* 2001, 12: 294-300.
35. *Gielen S, Adams V, Mobius-Winkler S, et al.* Anti-inflammatory effects of exercise training in the skeletal muscle of patients with chronic heart failure. *JACC* 2003, 42: 861-8.
36. *Adamopoulos S, Parissis J, Karatzas D, et al.* Physical training modulates proinflammatory cytokines and the soluble Fas/soluble Fas ligand system in patients with chronic heart failure. *JACC* 2002, 29: 653-63.
37. *Adamopoulos S, Parissis J, Kroupis C, et al.* Physical training reduces peripheral markers of inflammation in patients with chronic heart failure. *Eur Heart J.* 2001, 22: 791-7.
38. *Ikonomidis I, Andreotti F, Economou E, et al.* Increased pro-inflammatory cytokines in patients with chronic stable angina and their reduction by aspirin. *Circulation* 1999, 100: 793-8.
39. *Coletta AP, Cleland JG.* Clinical trials update highlights of the scientific sessions of the XXIII Congress of the European Society of Cardiology – WARIS II, ESCAMI, PAFAC, RITZ-1 and TIME. *Eur J Heart Fail* 2001, 3(6): 747-50.
40. *Robertson RS, Tangney C, Casey LC.* Inhibition of pro-inflammatory cytokine production by pravastatin. *Lancet* 1999, 353: 119.
41. *Παρίσης ΙΤ, Φιλιππάτος Γ.* Ο ρόλος των κυτοκινών και του οξειδωτικού στρες στην εξέλιξη της χρόνιας καρδιακής ανεπάρκειας στην “Καρδιακή Ανεπάρκεια. Από τη διάγνωση στη θεραπεία”. Αθήνα: Ιατρικές Εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης. 2005, 180-96.
42. *Szmitko PE, Wang CH, Weisel R, et al.* New markers of inflammation and endothelial cell activation. *Circulation* 2003, 108: 1917.
43. *Novo S, Basili S, Tantillo R, et al.* Soluble CD40L and cardiovascular risk in asymptomatic low-grade carotid stenosis, *Stroke* 2005, 36: 673-5.

#### Αλληλογραφία:

Δ. Αφθονίδης  
Βούλγαρη 59  
542 48 Θεσσαλονίκη

#### Corresponding author:

D. Afthonidis  
59, Voulgari str.  
542 48 Thessaloniki  
Greece

## Η σχέση ρινίτιδας και άσθματος

Λάζαρος Σικλετίδης, Διαμαντής Χλωρός

Πνευμονολογική Κλινική Α.Π.Θ. Εργαστήριο Έρευνας Παθήσεων από το Περιβάλλον, Νοσοκομείο «Γ. Παπανικολάου», Εξοχή Θεσσαλονίκης

**Περίληψη.** Η σχέση ρινίτιδας και άσθματος, μολονότι είναι γνωστή από πολύ καιρό, άρχισε να μελετάται συστηματικά σχετικά πρόσφατα. Όλα τα δεδομένα, επιδημιολογικά, παθοφυσιολογικά και κλινικά, συνηγορούν στη θεώρηση των ανώτερων και κατώτερων αεροφόρων οδών ως μιας ενιαίας λειτουργικής οντότητας. Παρόμοιοι γενετικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες παίζουν ρόλο στην εμφάνιση τόσο της ρινίτιδας όσο και του άσθματος και η μία πάθηση προδιαθέτει στην ανάπτυξη της άλλης. Πιθανοί παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί που μπορεί να εξηγήσουν την αλληλεπίδραση ρινός και πνευμόνων είναι η οπισθορινική έκκριση και εισρόφηση,

τα νευρικά αντανακλαστικά, οι διάφοροι ανοσιακοί μηχανισμοί και, τέλος, η συστηματική σύνδεση ρινός, πνευμόνων και μυελού των οστών μέσω κυκλοφορούντων μεσολαβητών της φλεγμονής, με κυρίαρχο την ιντερλευκίνη 5 (IL-5). Με βάση το πρότυπο αυτό έχει αρχίσει να διερευνάται η αποτελεσματικότητα φαρμάκων που δρουν θεραπευτικά τόσο στη ρινίτιδα όσο και στο άσθμα, με σκοπό την παράλληλη αντιμετώπιση της αλλεργικής φλεγμονής των ανώτερων και των κατώτερων αεροφόρων οδών.

*Ελλην Ιατρ 2005, 71: 248 - 254.*

Μολονότι η σχέση μεταξύ ρινίτιδας και βρογχικού άσθματος είναι γνωστή εδώ και πάνω από ένα αιώνα, εντούτοις έχει αρχίσει να μελετάται συστηματικά μόλις τις τελευταίες δύο δεκαετίες.

Οι ανατομικές και λειτουργικές διαφορές ρινός και πνεύμονα έχουν οδηγήσει στη διαίρεση στις ανώτερες και κατώτερες αεροφόρες οδούς. Οι ανώτερες αεροφόρες οδοί, από τους ρώθωνες μέχρι τις φωνητικές χορδές, ήταν το πεδίο των ωτορινολαρυγγολόγων για πολλά χρόνια, ενώ οι αεραγωγοί κάτω από τις φωνητικές χορδές το πεδίο των πνευμονολόγων. Αυτή η αυθαίρετη διχοτόμηση συνέβαλε στη θεώρηση του άσθματος και της ρινίτιδας ως δύο ξεχωριστών οντοτήτων. Μολονότι οι αλλεργιολόγοι αντιμετώπιζον και τις δύο παθήσεις πιθανόν να μην εφαρμόζουν τη συνδυαστική προσέγγιση.

Οι ενδείξεις από τα επιδημιολογικά, παθοφυσιολογικά και κλινικά δεδομένα είναι τόσο πειστικές, ώστε η αντίληψη “ένas αεραγωγός μία νόσος” είναι πλέον γενικά αποδεκτή<sup>1</sup>. Πολλές όμως ερω-

τήσεις μένουν ακόμη αναπάντητες: α. Ποιοι παράγοντες παίζουν ρόλο στην ανάπτυξη ορισμένων αλλεργικών φαινοτύπων, β. Ποιοι μηχανισμοί ευθύνονται για τη σύνδεση ρινός-βρόγχων και γ. Ποια είναι η θέση των νέων φαρμάκων στην αντιμετώπιση της αλλεργικής ρινίτιδας και του άσθματος.

### ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Ο επιπολασμός των αποπικών παθήσεων του άσθματος, της ρινίτιδας και του εκζέματος ποικίλλει από χώρα σε χώρα<sup>2</sup>. Στην Ευρώπη ο επιπολασμός του άσθματος έχει υπερδιπλασιαστεί τις τελευταίες δύο δεκαετίες και εγγίζει το 15% στους ενήλικες<sup>3</sup>. Ο επιπολασμός της ρινίτιδας είναι τριπλάσιος έως και πενταπλάσιος αυτού του άσθματος<sup>4</sup>. Από προοπτικές μελέτες φαίνεται ότι η ρινική αλλεργία είναι παράγοντας ανάπτυξης άσθματος<sup>5</sup>. Οι ασθενείς με αλλεργική ρινίτιδα έχουν τριπλάσια πιθανότητα, σε σχέση με τους υγιείς, να αναπτύξουν άσθμα, ανεξάρτητα από το

ατοπικό υπόβαθρο<sup>6</sup>. Κάτι τέτοιο αποδεικνύεται από μελέτη που πραγματοποιήθηκε στις ΗΠΑ, κατά την οποία παρακολούθηθηκαν για 23 χρόνια 690 μη ασθματικοί μαθητές και διαπιστώθηκε ότι, από όσους το 1961 είχαν αλλεργική ρινίτιδα το 1994 ανέπτυξαν άσθμα το 10,5%, ενώ από όσους δεν είχαν αλλεργική ρινίτιδα, το 3,6%<sup>7</sup>. Το 95% των ατοπικών ασθματικών και το 69% των μη ατοπικών έχουν δύο ή περισσότερα ρινικά συμπτώματα<sup>8</sup>. Αντίθετα, το 38% των ασθενών με αλλεργική ρινίτιδα έχουν βρογχικό άσθμα<sup>9</sup>.

Το οικογενειακό ιστορικό αλλεργικής νόσου είναι μείζων παράγων κινδύνου για εμφάνιση άσθματος και ρινίτιδας<sup>10</sup>. Η έρευνα για την αναπνευστική υγεία της Ευρωπαϊκής Κοινότητας που διενεργήθηκε στις αρχές της δεκαετίας του 90, στην οποία περιλήφθηκαν 140.000 άτομα από 22 χώρες, ηλικίας 20-44 ετών, συγκέντρωσε δεδομένα για τον επιπολασμό, τους παράγοντες κινδύνου και τη θεραπεία της ατοπίας και του άσθματος<sup>11</sup>. Ο έλεγχος περιλάμβανε ερωτηματολόγιο συμπτωμάτων και ιστορικού, σπιρομέτρηση, δοκιμασία μεταχολίνης, δερματικές δοκιμασίες (σε εννέα κοινά αλλεργιογόνα) και μέτρηση ολικής IgE ορού. Επίσης αξιολογήθηκαν παράγοντες, όπως το κάπνισμα, το είδος θέρμανσης, η παρουσία κατοικίδων ζώων και η φαρμακευτική αγωγή. Πέραν του γεγονότος των μεγάλων γεωγραφικών διαφορών στον επιπολασμό ατοπίας και άσθματος, επιβεβαιώθηκε ότι οι περιβαλλοντικοί παράγοντες παίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη αλλεργικής νόσου των κατώτερων αεροφόρων οδών. Η διαβίωση σε αγρόκτημα από την παιδική ηλικία φαίνεται να σχετίζεται με μειωμένο κίνδυνο ρινίτιδας και ατοπίας κατά την ενήλικη ζωή, αλλά όχι άσθματος<sup>12</sup>. Αντίθετα, σε άλλη μελέτη<sup>13</sup> βρέθηκε ότι η διαβίωση σε αγρόκτημα προστατεύει και από το άσθμα ανεξάρτητα από την αλλεργική ευαισθητοποίηση. Ο περιορισμός της έκθεσης σε αλλεργιογόνα του εσωτερικού χώρου (σπίτι) κατά τη νηπιακή ηλικία μειώνει τα αναπνευστικά συμπτώματα σε πληθυσμό υψηλού κινδύνου<sup>14</sup>. Η έκθεση σε αλλεργιογόνα σχετίζεται με την ευαισθητοποίηση με δοσεξαρωμένο τρόπο. Το παθητικό κάπνισμα είναι άλλος ένας σημαντικός παράγοντας κινδύνου στη νηπιακή ηλικία<sup>9</sup>. Έχει αποδειχτεί η σχέση αλλεργικού άσθματος και παθητικού καπνίσματος<sup>15</sup>, όχι όμως παθητικού καπνίσματος και αλλεργικής ρινίτιδας. Άρα, παράγοντες όπως το είδος, η διάρκεια και η βαρύτητα της έκθεσης σε αλλεργιογόνα νωρίς στη ζωή, όπως επίσης και το μικροβια-

κό φορτίο και διάφοροι χημικοί παράγοντες μπορεί να επηρεάσουν τις κλινικές εκδηλώσεις των αλλεργικών παθήσεων των ανώτερων και κατώτερων αεροφόρων οδών.

### ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ

Ρις και πνεύμονες σχετίζονται στενά τόσο ανατομικά όσο και φυσιολογικά. Η μύτη παίζει σημαντικό ρόλο για τη ρύθμιση του εισπνεόμενου αέρα. Στην αλλεργική ρινίτιδα οι λειτουργίες της διαταράσσονται, πράγμα που έχει συνέπειες και για τις κατώτερες αεροφόρες οδούς. Η αναπνοή από το στόμα ψυχρού και ξηρού αέρα προκαλεί μείωση του FEV<sub>1</sub> σε ασθματικούς, ενώ όσο διατηρείται η ρινική αναπνοή ο FEV<sub>1</sub> παραμένει αμετάβλητος<sup>16</sup>. Οι ασθματικοί επίσης έχουν μειωμένη ικανότητα ρύθμισης του αέρα λόγω οιδήματος του ρινικού βλεννογόνου<sup>17</sup>. Η μείωση της βατότητας των ανώτερων αεροφόρων οδών προκαλεί συμπτώματα στις κατώτερες αεροφόρες οδούς<sup>18</sup>, όχι όμως πάντοτε<sup>19</sup>. Η ελαττωμένη αντίληψη των ρινικών<sup>17</sup> και των βρογχικών συμπτωμάτων<sup>20</sup> σε ορισμένους ασθενείς εξηγεί γιατί η αλλεργική ρινίτιδα και το άσθμα μπορεί να παραμείνουν αδιάγνωστα σε πολλούς ασθενείς με αναπνευστική αλλεργία. Πράγματι, σε ένα πληθυσμό κυρίως ασυμπτωματικών εργαζομένων με επαγγελματική αλλεργία βρέθηκε βρογχική υπεραντιδραστικότητα όχι μόνο σε ασθματικούς, αλλά και σε ρινιτιδικούς χωρίς συμπτώματα από το κατώτερο αναπνευστικό σύστημα<sup>21</sup>. Άλλες παθήσεις των ανώτερων αεροφόρων οδών που είναι γνωστό ότι προσβάλλουν τις λειτουργίες των κατώτερων αεροφόρων οδών είναι οι ρινικοί πολύποδες<sup>22</sup> και η χρόνια παραρινοκολπίτιδα<sup>23</sup>. Μολονότι οι πολύποδες και η παραρινοκολπίτιδα δεν σχετίζονται σαφώς με την ατοπία, έχουν αναγνωριστεί ως παράγοντες επιδείνωσης του άσθματος. Η βαρύτητα της αλλεργικής ρινίτιδας επηρεάζει τη βαρύτητα του άσθματος, όπως αυτή εκφράζεται τόσο από τα συμπτώματα όσο και από τη χρήση φαρμάκων (ειδικά εισπνεόμενων από το στόμα στεροειδών)<sup>24</sup>. Από την πλούσια βιβλιογραφία επιβεβαιώνεται ότι η θεραπεία ασθενών με αλλεργική ρινίτιδα βελτιώνει τα ασθματικά συμπτώματα, τη διάμετρο των αεραγωγών και τη βρογχική υπεραντιδραστικότητα στη μεταχολίνη και στην άσκηση<sup>25</sup>.

Οι παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί οι οποίοι θα ήταν δυνατόν να εξηγήσουν την αλληλεπίδραση μύτης και πνεύμονα είναι: Οπισθορινική έκκριση και εισρόφηση φλεγμονωδών στοιχείων ή μεσολα-

βητών, νευρικά αντανεκλαστικά, ανοσοπαθολογικοί μηχανισμοί και συστηματική σύνδεση ρινός, πνευμόνων και μυελού των οστών, μέσω κυκλοφορούντων μεσολαβητών της φλεγμονής.

### α) Οπισθορινική έκκριση

Πρόσφατες μελέτες με ραδιοσημασμένα αλλεργιογόνα δεν επιβεβαίωσαν εναπόθεση των αλλεργιογόνων στους πνεύμονες μετά την τοποθέτησή τους στους ρώθωνες,<sup>26,27</sup> όπως είχε υποστηριχτεί παλιότερα. Μολονότι η οπισθορινική ροή κυττάρων της φλεγμονής προς τις κατώτερες αεροφόρες οδούς δεν μπορεί να αποκλειστεί, δε φαίνεται να παίζει ρόλο *in vivo*<sup>28</sup>.

### β) Νευρικά αντανεκλαστικά

Έκθεση του ρινικού βλεννογόνου σε ψυχρό και ξηρό αέρα μπορεί να προκαλέσει βρογχόσπασμο σε ορισμένους ασθματικούς<sup>29</sup>. Πάντως μετά από ρινική πρόκληση με αλλεργιογόνα ο FEV<sub>1</sub> δεν επηρεάζεται<sup>26</sup>. Η ρινική πρόκληση με μεταχολίνη σε ασθματικούς με ρινίτιδα βρέθηκε ότι αυξάνει τις αντιστάσεις των κατώτερων αεραγωγών. Αυτό το φαινόμενο προλαμβάνεται με την προχορήγηση φαινυλεφρίνης στο ρινικό βλεννογόνο, πράγμα που υποδεικνύει κάποιο ρόλο των συστηματικών μεσολαβητών στην αύξηση των αντιστάσεων των κατώτερων αεροφόρων οδών<sup>30</sup>.

### γ) Ανοσοπαθολογικοί μηχανισμοί

Το αλλεργικό άσθμα και η ρινίτιδα χαρακτηρίζονται από παρόμοιες φλεγμονώδεις διεργασίες, στις οποίες τα σιτευτικά κύτταρα και τα εωσινόφιλα φαίνεται ότι παίζουν τον κύριο ρόλο<sup>31</sup>. Η εωσινοφιλία στον αναπνευστικό βλεννογόνο είναι χαρακτηριστικό του αλλεργικού άσθματος και της ρινίτιδας<sup>32</sup>. Αξιοσημείωτο είναι ότι η εωσινοφιλική φλεγμονή διαπιστώνεται στους κατώτερους αεραγωγούς ασθενών με αλλεργική ρινίτιδα χωρίς άσθμα<sup>33</sup> και στους ανώτερους αεραγωγούς ασθματικών χωρίς ρινίτιδα<sup>34</sup>.

Η αντίδραση σε ένα αλλεργιογόνο<sup>35</sup> ή ερεθιστικό παράγοντα<sup>36</sup> είναι βαρύτερη σε ασθενείς με αλλεργική ρινίτιδα και άσθμα από ό,τι σε ασθενείς μόνο με ρινίτιδα. Η αντίδραση είναι αρχικά τοπική, αλλά ακολουθείται αργότερα από πιο γενικευμένη αντίδραση των αεραγωγών με χαρακτηριστικά ιστολογικά ευρήματα. Η τελευταία περιλαμβάνει ρινικά και πνευμονικά συμπτώματα, μείωση

της βατότητας των αεραγωγών και φλεγμονώδη διήθησή τους από εωσινόφιλα και T-λεμφοκύτταρα<sup>37</sup>. Ο αριθμός των εωσινοφίλων του αίματος και η συγκέντρωση της IL-5 αυξάνεται σε αλλεργικούς μετά από έκθεση σε αλλεργιογόνα, τόσο φυσική<sup>31</sup> όσο και πειραματική<sup>37</sup>. Αντίθετα τα επίπεδα της εωσινοφιλικής κατιονικής πρωτεΐνης αυξάνουν μόνο τοπικά μετά την έκθεση σε αλλεργιογόνα, δείχνοντας ότι τα εωσινόφιλα ενεργοποιούνται τοπικά στον αναπνευστικό βλεννογόνο<sup>35</sup>. Η μετανάστευση των εωσινοφίλων από το αίμα στους ιστούς διευκολύνεται από τα μόρια προσκόλλησης. Μετά από ρινική πρόκληση το μόριο προσκόλλησης ενδοθηλιακών κυττάρων (vascular cell adhesion molecule, VCAM-1) και η E-σελεκτίνη διεγείρονται στο ρινικό και βρογχικό αγγειακό ενδοθήλιο ασθενών με ρινίτιδα χωρίς άσθμα<sup>37</sup>.

Τα εωσινόφιλα δεν είναι τα μόνα κύτταρα που εμπλέκονται στη ρινοβρογχική αλληλεπίδραση. Τα σιτευτικά κύτταρα είναι αυξημένα σε αριθμό στις λείες μυικές ίνες των ασθματικών και σχετίζονται με τη ρινική υπεραντιδραστικότητα<sup>38</sup>. Η βρογχική πρόκληση σε τμηματικό βρόγχο (με βρογχοσκόπηση) σε ασθενείς με αλλεργική ρινίτιδα προκαλεί αποκοκκίωση των σιτευτικών κυττάρων και προσέλκυση αυξημένου αριθμού βασεόφιλων στο ρινικό βλεννογόνο<sup>39</sup>.

### δ) Συστηματικοί μηχανισμοί

Επαναλαμβανόμενες εισπνοές αλλεργιογόνου από ευαισθητοποιημένα ποντίκια προκαλούν εωσινοφιλική φλεγμονή σε ανώτερες και κατώτερες αεροφόρες οδούς ταυτόχρονα<sup>40</sup>. Οίδημα ρινικού βλεννογόνου αναπτύσσεται ταυτόχρονα με υπεραντιδραστικότητα των κάτω αεροφόρων οδών και οι παράμετροι της φλεγμονής των ανώτερων και κατώτερων αεροφόρων οδών συσχετίζονται θετικά. Το πειραματικό αυτό μοντέλο επιβεβαιώνει τη θεωρία της ενιαίας αλλεργικής αντίδρασης των αεραγωγών, ανώτερων και κατώτερων. Είναι αξιοσημείωτο ότι ο βαθμός της εωσινοφιλικής φλεγμονής στα ποντίκια είναι εντονότερος στους βρόγχους από ό,τι στη μύτη, μία παρατήρηση που έχει γίνει και στους ασθματικούς ασθενείς<sup>41</sup>. Και όμως βρέθηκε ότι το 83% των εισπνεόμενων σωματιδίων αλλεργιογόνων κατακρατούνται στις ανώτερες αεροφόρες οδούς και μόνο το 13% φθάνει στους βρόγχους<sup>40</sup>. Άρα φαίνεται ότι πέρα από την τοπική εναπόθεση αλλεργιογόνου και την πρόκληση τοπικής φλεγμονής και άλλοι μηχανισμοί συμ-



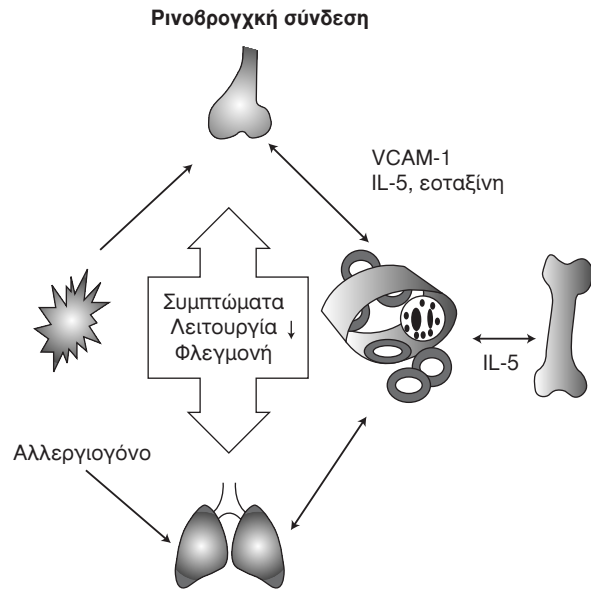
βάλλουν στην ανάπτυξη φλεγμονής των κατώτερων αεροφόρων οδών στο άσθμα.

Όπως και στους ασθματικούς, η εισπνοή αλλεργιογόνου από ευαισθητοποιημένα ποντίκια προκαλεί παραγωγή ειδικής IgE και περιφερική εωσινοφιλία<sup>42</sup>. Επιπλέον οδηγεί σε συστηματική αύξηση της IL-5, γνωστού παράγοντα ανάπτυξης και διαφοροποίησης των εωσινοφίλων στον τόπο της φλεγμονής<sup>40</sup>. Πέραν του παρακρινικού ρόλου της στην συντήρηση της εωσινοφιλικής φλεγμονής των αεραγωγών, η IL-5 είναι ένας από τους μεσολαβητές που συμμετέχει στη συστηματική αλλεργική αντίδραση. Επίσης παίζει σημαντικό ρόλο στη μετανάστευση των εωσινοφίλων στους αεραγωγούς<sup>43</sup> και συμμετέχει στην παραγωγή εωσινοφίλων στο μυελό των οστών. Πράγματι όταν μονοκλωνικό αντίσωμα κατά της IL-5 δοθεί ενδοπεριτοναϊκά σε ποντίκια, η εωσινοφιλία στους αεραγωγούς αναστέλλεται<sup>44</sup>. Επιπλέον ποντίκια με έλλειψη IL-5 αδυνατούν να αναπτύξουν εωσινοφιλία στο μυελό των οστών και στο ρινοβλαστικό σε πειραματική ρινίτιδα<sup>45</sup>. Αυτά τα δεδομένα δείχνουν ότι η IL-5 πιθανόν είναι σύνδεσμος μεταξύ της εναπόθεσης αντιγόνου στους αεραγωγούς, της παραγωγής εωσινοφίλων στο μυελό των οστών και της εωσινοφιλίας των αεραγωγών και διευκρινίζουν τον κομβικό ρόλο του μυελού των οστών στη φλεγμονώδη αντίδραση των αεραγωγών στους αλλεργικούς ασθενείς. Πρόσφατα αποδείχτηκε σε πειραματικά μοντέλα ρινίτιδας ότι μετά από εναπόθεση αλλεργιογόνων στη μύτη αυξάνουν τα προγονικά κύτταρα των εωσινοφίλων στο μυελό των οστών<sup>46</sup>. Συνεπώς μπορούμε να υποθέσουμε ότι η συστηματική απελευθέρωση IL-5 και η διέγερση της παραγωγής εωσινοφίλων στο μυελό των οστών μετά από εισπνοή αλλεργιογόνου συμμετέχει στη δημιουργία αλλεργικής αντίδρασης ολόκληρης της αναπνευστικής οδού.

Ωστόσο και άλλοι μηχανισμοί, όπως νευρικά αντανάκλαστικά, πνευμονική εισρόφηση και στοματική αναπνοή μπορεί να συμβάλουν στις ρινοβρογχικές αλληλεπιδράσεις. Τα πρόσφατα αυτά δεδομένα αποτελούν πλούσιες αποδείξεις ύπαρξης μιας συστηματικής παθοφυσιολογικής οδού στη σχέση αλλεργικής ρινίτιδας και άσθματος και συνοψίζονται στην εικόνα 1.

### ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ

Μολονότι όλες οι ενδείξεις υπογραμμίζουν τη σημασία της αλλεργικής ρινίτιδας στον έλεγχο του άσθματος<sup>47</sup>, τα δύο νοσήματα εξακολουθούν να



Εικ. 1. Παθοφυσιολογική σχέση ρινίτιδας και άσθματος.

αντιμετωπίζονται ξεχωριστά. Λίγες μελέτες αφορούν στην επίδραση της ρινοτικής θεραπείας στο άσθμα. Τα τοπικά ρινοτικά κορτικοστεροειδή μειώνουν τα συμπτώματα από το κατώτερο αναπνευστικό και τη βρογχική υπεραντιδραστικότητα σε αλλεργικούς ρινοτιδικούς ασθενείς με εποχικό άσθμα<sup>48</sup>. Σε μια μελέτη αναφέρεται ότι η χορήγηση ρινοτικά μπεκλομεθαζόνης είχε μεγαλύτερη επίδραση στη βρογχική υπεραντιδραστικότητα από ό,τι η ίδια δόση φαρμάκου από το στόμα<sup>49</sup>. Με άλλη μελέτη αποδείχτηκε το ευεργετικό αποτέλεσμα των εισπνεόμενων κορτικοστεροειδών από το στόμα στα ρινοτικά συμπτώματα και στη ρινοτική φλεγμονή<sup>50</sup>. Η αποφυγή των αλλεργιογόνων<sup>14</sup> και η ανοσοθεραπεία<sup>51,52</sup> μπορεί να είναι αποτελεσματικές στο άσθμα και τη ρινίτιδα. Σε 151 παιδιά με εποχική αλλεργική ρινίτιδα τα 79 υποβλήθηκαν σε ανοσοθεραπεία για 3 έτη και μόνο 19 εμφάνισαν άσθμα, ενώ στην ομάδα ελέγχου (71 παιδιά) τα 32 εμφάνισαν άσθμα. Με την ανοσοθεραπεία διαπιστώθηκε σημαντική μείωση του κινδύνου άσθματος<sup>51</sup>. Σε συγκριτική μελέτη μεταξύ ρινοικών στεροειδών και βραχείας ανοσοθεραπείας πριν από την επικίνδυνη εποχή σε ασθενείς με ρινίτιδα και άσθμα, τα στεροειδή ήταν πιο αποτελεσματικά για τον έλεγχο της ρινίτιδας, αλλά όχι για το άσθμα. Ενώ η ανοσοθεραπεία είχε θετική επίδραση και στο άσθμα και στις σημαντικές παραμέτρους της φλεγμονής<sup>53</sup>.

Παρά το όφελος που προσφέρουν τα αντιισταμινικά και το χρωμογλυκικό νάτριο στην αλ-



λεργική ρινίτιδα, οι επιδράσεις στους κατώτερους αεραγωγούς ακόμη αμφισβητούνται<sup>54</sup>. Τα νεότερα αντιισταμινικά φαίνεται ότι ασκούν κάποια ευνοϊκή επίδραση στη φλεγμονή των κατώτερων αεροφόρων οδών<sup>55</sup>. Οι ανταγωνιστές των υποδοχέων των λευκοτριενίων έχουν αποδεδειγμένο προστατευτικό αποτέλεσμα στο άσθμα<sup>56</sup>. Πρόσφατα δεδομένα δείχνουν ότι μπορεί να έχουν αξία και στη φλεγμονή των ανώτερων αεροφόρων οδών και πρακτικά στη θεραπεία της αλλεργικής ρινίτιδας<sup>57</sup>. Τελευταίως οι αναστολείς της φωσφοδιεστεράσης 4 (PDE4) που ασκούν αντιφλεγμονώδη δράση παρεμποδίζοντας την παραγωγή IL-13 αποδείχτηκαν ασφαλείς και αποτελεσματικοί στο άσθμα και τη ρινίτιδα<sup>58</sup>. Τέλος τα αντι-IgE αντισώματα είναι πολλά υποσχόμενα φάρμακα στη θεραπεία του άσθματος και της ρινίτιδας<sup>59</sup>. Παρεμποδίζοντας την αλλεργική φλεγμονή στα αρχικά της στάδια συνδεδεμένα με τους υποδοχείς της IgE στα σιτευτικά κύτταρα και στα βασεόφιλα<sup>60</sup> είναι αποτελεσματικά στο άσθμα μειώνοντας τα συμπτώματα, τις κρίσεις και την ανάγκη λήψης στεροειδών<sup>61</sup>. Πάντως η χρησιμότητά τους στην αλλεργική ρινίτιδα διερευνάται ακόμη.

### ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Από το τέλος του 19<sup>ου</sup> αιώνα είναι γνωστή η σχέση ρινίτιδας και άσθματος. Η σχέση επιβεβαιώθηκε με πολλές επιδημιολογικές και κλινικές μελέτες. Άνω και κάτω αεροφόροι οδοί πρέπει να θεωρούνται ως μία ενιαία λειτουργική οντότητα. Οι παθήσεις των ανώτερων αεραγωγών επηρεάζουν τους κατώτερους και αντιστρόφως. Τοπική έκθεση σε αλλεργιογόνα στο ένα σκέλος του συστήματος προκαλεί φλεγμονή στο βλεννογόνο του άλλου. Λίγα γνωρίζουμε για τους υποκείμενους ανοσοπαθολογικούς μηχανισμούς αυτής της σχέσης. Πρόσφατα δεδομένα δείχνουν ότι υπάρχει ένας σημαντικός μηχανισμός στον οποίο συμμετέχουν ο μυελός των οστών και η εξ αυτού παραγωγή και κυκλοφορία στο αίμα των εωσινοφίλων για τη σύνδεση ανώτερων και κατώτερων αεραγωγών και τα δεδομένα αυτά παρέχουν το υπόβαθρο για τη συστηματική θεραπεία ρινίτιδας και άσθματος. Τι τελικά καθορίζει τον κλινικό φαινότυπο των αλλεργικών παθήσεων των αεροφόρων οδών δεν είναι επαρκώς κατανοητό. Πολλοί παράγοντες, όπως το είδος των εισπνεόμενων αλλεργιογόνων, η διάρκεια και η βαρύτητα της έκθεσης αλλά και η γενετική προδιάθεση πιθανόν να συμβάλουν στη δημιουργία της κλινικής εικόνας. Ελπίζεται ότι με με-

λοντικές μελέτες θα διευκρινιστεί σε ποιο βαθμό οι τοπικοί και οι συστηματικοί παράγοντες συμμετέχουν στην εκδήλωση αλλεργικών παθήσεων των αεροφόρων οδών.

### ABSTRACT

***Sichletidis L, Chloros D. The relationship between rhinitis and asthma. Hell Iatr 2005, 71: 248-254.***

The relationship between rhinitis and asthma, well known for a long time, began to be studied seriously only recently. Epidemiological, pathophysiological and clinical data regard both the upper and the lower airways as a single functional unit. The same genetic and environmental factors play a role in the development of rhinitis and asthma, while each disease predisposes to the other. Possible pathophysiological mechanisms that can explain the interaction between nose and lungs include the aspiration of post-nasal secretions, the existence of nervous reflexes linking them, various immune mechanisms and, finally, the interconnection of nose, lungs and bone marrow via circulating inflammatory mediators, mainly interleukin 5 (IL-5). According to this model, the effectiveness of drugs acting upon rhinitis, as well as upon asthma, has begun to be investigated. The end goal is the integrated therapy of upper and lower respiratory tract allergic inflammation.

### ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Bousquet J, Van Cauwenberge P, Khaltaev N. Allergic rhinitis and its impact on asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2001, 108: S147-334.
2. The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Steering Committee. Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and atopic eczema: ISAAC. *Lancet* 1998, 351: 1255-32.
3. Upton MN, McConnachie A, McSharry C, et al. Intergenerational 20 year trends in the prevalence of asthma and hay fever in adults: the Midspan family study surveys of parents and offspring. *BMJ* 2000, 321: 88-92.
4. Sichletidis L, Chloros D, Tsiotsios I, et al. The prevalence of allergic asthma and rhinitis in children of Polichni, Thessaloniki. *Allergol et Immunopathol* 2004, 33: 59-63.
5. Pedersen PA, Weeke ER. Asthma and allergic rhinitis in the same patients. *Allergy* 1983, 38: 25-19.
6. Guerra S, Sherrill DL, Martinez FD, et al. Rhinitis as an independent risk factor for adult-onset asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2002, 109: 419-25.
7. Settipane RJ, Hagy GW, Settipane GA. Long-term risk factors for developing asthma and allergic rhinitis: a 23-years follow up study of college students. *Allergy Proc* 1994, 15: 21-5.

8. Kapsali T, Horowitz E, Diemer F, Togias A. Rhinitis is ubiquitous in allergic asthmatics (abstract). *J Allergy Clin Immunol* 1997, 99: 5138.
9. Sicletidis L, Tsiotsios I, Gavrilidis A, et al. The effects of environmental pollution on the respiratory system of children in Western Macedonia, Greece. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2004 (in press).
10. Aberg N, Sundell J, Eriksson B, et al. Prevalence of allergic diseases in schoolchildren in relation to family history, upper respiratory infections, and residential characteristics. *Allergy* 1996, 51: 232-7.
11. The European Community Respiratory Health Survey: what are the main results so far? European Community Respiratory Health Survey II. *Eur Respir J* 2001, 18: 598-611.
12. Leynaert B, Neukirch C, Jarvis D, et al. Does living on the farm during childhood protect against asthma, allergic rhinitis, and atopy in adulthood? *Am J Respir Crit Care Med* 2001, 164: 1829-34.
13. Riedler J, Braun-Fahrlander C, Eder W, et al. Exposure to farming in early life and development of asthma and allergy: a cross-sectional survey. *Lancet* 2001, 358: 1129-33.
14. Custovic A, Simpson BM, Simpson A, et al. Effect of environmental manipulation in pregnancy and early life on respiratory symptoms and atopy during first year of life: a randomized trial. *Lancet* 2001, 358: 188-93.
15. Janson C, Chinn S, Jarvis D, et al. Effect of passive smoking on respiratory symptoms, bronchial responsiveness, lung function and total serum IgE in the European Community Respiratory Health Survey: a cross-sectional study. *Lancet* 2001, 358: 2103-9.
16. McLane ML, Nelson JA, Lenner KA, et al. Integrated response of the upper and lower respiratory tract of asthmatic subjects to frigid air. *J Appl Physiol* 2000, 88: 1043-50.
17. Assanasen P, Baroody FM, Naureckas E, et al. The nasal passage of subjects with asthma has a decreased ability to warm and humidify inspired air. *Am J Respir Crit Care Med* 2001, 164: 1640-6.
18. Sicletidis L, Tsiotsios I, Chloros D, et al. The effect of environmental pollution on the respiratory system of lignite miners; a diagnostic study. *Med Lav* 2004 (in press).
19. Hellgren J, Toren K, Balder B, et al. Increased nasal mucosal swelling in subjects with asthma. *Clin Exp Allergy* 2002, 32: 64-9.
20. van den Toorn LM, Overbeek SE, de Jongste JC, et al. Airway inflammation is present during clinical remission of atopic asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2001, 164: 2107-13.
21. De Meer G, Heederik D, Postma DS. Bronchial responsiveness to adenosine 5'-monophosphate (AMP) and methacholine differ in their relationship with airway allergy and baseline FEV1. *Am J Respir Crit Care Med* 2002, 165: 327-31.
22. Lamblin C, Gosset P, Salez F, et al. Eosinophilic airway inflammation in nasal polyposis. *J Allergy Clin Immunol* 1999, 104: 85-92.
23. ten Brinke A, Grootendorst DC, Schmidt JT, et al. Chronic sinusitis in severe asthma is related to sputum eosinophilia. *J Allergy Clin Immunol* 2002, 109: 621-6.
24. Halpern M, Richner R, Togias A, et al. Allergic rhinitis may increase asthma costs (abstract). *Am J Respir Crit Care Med* 1996, 153: A860.
25. Henriksen JW, Wenzel A. Effect of an intranasally administered corticosteroid (budesonide) on nasal obstruction, mouth breathing and asthma. *Am Rev Respir Dis* 1984, 130: 1014-8.
26. Corren J, Adinoff AD, Irvin CG. Changes in bronchial responsiveness following nasal provocation with allergen. *J Allergy Clin Immunol* 1992, 89: 611-8.
27. Bardin PG, Van Heerden BB, Joubert JR. Absence of pulmonary aspiration of sinus contents in patients with asthma and sinusitis. *J Allergy Clin Immunol* 1990, 86: 82-8.
28. Huxley EJ, Viroslav J, Gray WR, et al. Pharyngeal aspiration in normal adults and patients with depressed consciousness. *Am J Med* 1978, 64: 564-8.
29. Nolte D, Berger D. On vagal bronchoconstriction in asthmatic patients by nasal irritation. *Eur J Respir Dis* 1983 Suppl, 128: 110-5.
30. Littell NT, Carlisle CC, Millman RP, et al. Changes in airway resistance following nasal provocation. *Am Rev Respir Dis* 1990, 141: 580-3.
31. Bosquet J, Vignola AM, Campbell AM, et al. Pathophysiology of allergic rhinitis. *Int Arch Allergy Immunol* 1996, 110: 207-18.
32. Djukanovic R, Roche WR, Wilson JW, et al. Mucosal inflammation in asthma. *Am Rev Respir Dis* 1990, 142: 434-57.
33. Alvarez MJ, Olaguibel JM, Garcia BE, et al. Airway inflammation in asthma and perennial allergic rhinitis, relationship with nonspecific bronchial responsiveness and maximal airway narrowing. *Allergy* 2000, 55: 355-62.
34. Gaga M, Lambrou P, Papageorgiou N, et al. Eosinophils are a feature of upper and lower airway pathology in non-atopic asthma, irrespective of the presence of rhinitis. *Clin Exp Allergy* 2000, 30: 663-9.
35. Marcucci F, Sensi LG, Migali E, et al. Eosinophil cationic protein and specific IgE in serum and nasal mucosa of patients with grass-pollen-allergic rhinitis and asthma. *Allergy* 2001, 56: 231-6.
36. Palczynski C, Walusiak J, Ruta U, et al. Occupational asthma and rhinitis due to glutaraldehyde: changes in nasal lavage fluid after specific inhalatory challenge test. *Allergy* 2001, 56: 1186-91.
37. Braunstahl GJ, Overbeek SE, Kleinjan A, et al. Nasal allergen provocation induces adhesion molecule expression and tissue eosinophilia in upper and lower airways. *J Allergy Clin Immunol* 2001, 107: 469-76.
38. Brightling CE, Bradding P, Symon FA, et al. Mast-cell infiltration of airway smooth muscle in asthma. *N Engl J Med* 2002, 346: 1699-705.
39. Braunstahl GJ, Overbeek SE, Fokkens WJ, et al. Segmental bronchoprovocation in allergic rhinitis patients affects mast cell and basophil numbers in nasal and

- bronchial mucosa. *Am J Respir Crit Care Med* 2001, 164: 858-65.
40. *Helling PW, Hessel EM, Van Den Oord JJ, et al.* Eosinophilic rhinitis accompanies the development of lower airway inflammation and hyper-reactivity in sensitized mice exposed to aerosolized allergen. *Clin Exp Allergy* 2001, 31: 782-90.
  41. *Chanez P, Vignola AM, Vic P, et al.* Comparison between nasal and bronchial inflammation in asthmatic and control subjects. *Am J Respir Crit Care Med* 1999, 159: 588-95.
  42. *Hellings PW, Vandenberghe P, Kasran A, et al.* Blockade of CTLA-4 enhances allergic sensitization and eosinophilic airway inflammation in genetically predisposed mice. *Eur J Immunol* 2002, 32: 585-94.
  43. *Wang J, Palmer K, Lotvall J, et al.* Circulating, but not local lung, IL-5 is required for the development of antigen-induced airways eosinophilia. *J Clin Invest* 1998, 102: 1132-41.
  44. *Tomaki M, Zhao LL, Lundahl J, et al.* Eosinophilopoiesis in a murine model of allergic airway eosinophilia: involvement of bone marrow IL-5 and IL-5 receptor alpha. *J Immunol* 2000, 165: 4040-50.
  45. *Saito H, Matsumoto K, Denburg AE, et al.* Pathogenesis of murine experimental allergic rhinitis: a study of local and systemic consequences of IL-5 deficiency. *J Immunol* 2002, 168: 3017-23.
  46. *Saito H, Howie K, Wattie J, et al.* Allergen-induced murine upper airway inflammation: local and systemic changes in murine experimental allergic rhinitis. *Immunology* 2001, 104: 226-34.
  47. *Chrystal Peters J, Neslusan C, Crown WH, et al.* Treating allergic rhinitis in patients with comorbid asthma: the risk of asthma-related hospitalizations and emergency department visits. *J Allergy Clin Immunol* 2002, 109: 57-62.
  48. *Lipworth BJ, White PS.* Allergic inflammation in the unified airway: start with the nose. *Thorax* 2000, 55: 878-81.
  49. *Aubier M, Levy J, Clerici C, et al.* Different effects of nasal and bronchial glucocorticosteroid administration on bronchial hyperresponsiveness in patients with allergic rhinitis. *Am Rev Respir Dis* 1992, 146: 122-6.
  50. *Greiff L, Andersson M, Svensson C, et al.* Effects of orally inhaled budesonide in seasonal allergic rhinitis. *Eur Respir J* 1998, 11: 1268-73.
  51. *Moller C, Dreborg S, Ferdousi HA, et al.* Pollen immunotherapy reduces the development of asthma in children with seasonal rhinoconjunctivitis (the PAT-study). *J Allergy Clin Immunol* 2002, 109: 251-6.
  52. *Norman PS.* Immunotherapy: 1999-2004. *J Allergy Clin Immunol* 2004, 113: 1013-23.
  53. *Rak S, Heinrich C, Jacobsen L, et al.* A double-blinded, comparative study of the effects of short pre-season specific immunotherapy and topical steroids in patients with allergic rhinoconjunctivitis and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2001, 108: 921-8.
  54. *Bousquet J, Godard P, Michel FB.* Antihistamines in the treatment of asthma. *Eur Respir J* 1992, 5: 137-42.
  55. *Cipriandi G, Tosca M, Passalacqua G, et al.* Long-term cetirizine treatment reduces allergic symptoms and drug prescriptions in children with mite allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2001, 87: 222-6.
  56. *Sampson A, Holgate S.* Leukotriene modifiers in the treatment of asthma. Look promising across the board of asthma severity. *BMJ* 1998, 316: 1257-8.
  57. *Borish L.* The role of leukotrienes in upper and lower airway inflammation and the implications for treatment. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2002, 88: 16-22.
  58. *Schmidt BM, Kusma M, Feuring M, et al.* The phosphodiesterase 4 inhibitor roflumilast is effective in the treatment of allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol* 2001, 108: 530-86.
  59. *Milgrom H, Fick RB Jr, Su JQ, et al.* Treatment of allergic asthma with monoclonal anti-IgE antibody. rhuMab-E25 Study Group. *N Engl J Med* 1999, 341: 1966-73.
  60. *Platts-Mills TA.* The role of immunoglobulin E in allergy and asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2001, 164: S1-5.
  61. *Busse W, Corren J, Lanier BQ, et al.* Omalizumab, anti-IgE recombinant humanized monoclonal antibody, for the treatment of severe allergic asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2001, 108: 184-90.
- Αλληλογραφίας:*  
 Α. Σιχλετίδης  
 Καρόλου Ντηλ 3  
 546 36 Θεσσαλονίκη
- Corresponding Author:*  
 L. Sichletidis  
 3, Charls Diehl Str.  
 546 36 Thessaloniki  
 Greece

## Γονιδιακή θεραπεία αυτοκτονίας – Επίδραση «Bystander»

Ελένη Φράγκου-Μασουρίδου, Νικόλ Μασουρίδου

Εργαστήριο Γενικής Βιολογίας, Ιατρική Σχολή, Α.Π.Θ., Θεσσαλονίκη

**Περίληψη.** Η γονική θεραπεία αυτοκτονίας (GDEPT, Gene Directed Enzyme Prodrug Therapy) αποτελεί μια διαδικασία γονιδιακής θεραπείας σε κακοήθεις ασθένειες. Ένα εξωγενές γονίδιο ενζύμου προσλαμβάνεται από τα καρκινικά κύτταρα. Το γονίδιο αυτό εκφράζεται εκλεκτικά στα καρκινικά κύτταρα και δύναται να μετατρέψει ένα μη-τοξικό προφάρμακο σε κυτταροτοξικό, ικανό να σκοτώσει το κύτταρο από το οποίο παράχθηκε. Η αποτελεσματικότητα της μεθόδου αυτής εξαρτάται από την ικανότητα των κυττάρων στόχων να προσλαμβάνουν ικανοποιητικά εξωγενές γονίδιο, και από τη δυνατότητα έκφρασης του γονιδίου αυτού, ενώ ελαχιστοποιείται η έκφραση αυτού σε άλλους ιστούς. Εφαρμογή αυτών γίνεται τόσο σε κύτταρα καλλιέργειας, όσο και σε πρότυπα ζώων. Τελευταία, λόγω της αποτελεσματικότητας, γίνονται κλινικές προσπάθειες της φάσης I/II, αλλά και ορισμένες κλινικές εφαρμογές. Συνηθέστερα συστήματα που χρησιμοποιούνται στη κλινική κατά τη γονιδιακή θεραπεία GDEPT είναι η θυμιδινοκινάση HSV με ganciclovir και δεαμινάση της αδενοσίνης (Adenosine Deaminase, ADA), καθώς επίσης

και η δεαμινάση της κυτοσίνης του E. coli με 5-φλουοροκυτοσίνη. Επιπλέον χρησιμοποιείται το σύστημα θεραπείας GDEPT που βασίζεται στο P450 (φορείς ρετροϊοί MetXia, διαφορετικοί ισότυποι του κυττοχρώματος P450), στη καρβοξυπεπτιδάση G2, στο σύστημα ενεργοποίησης προφαρμάκου νιτροεδουκτάσης (φορείς αδενοϊοί), σύστημα γονιδίου αυτοκτονίας του E. coli PNP (purine nucleoside phosphorylase, κάτω από τη ρύθμιση του προαγωγικού γονιδίου Mash), θεραπεία προστάτη, κ.ά. Έχει παρασκευασθεί ένας αριθμός φορέων, αλλά και προφαρμάκων, όπως είκοσι προφάρμακα του 5-aminobenz(e)indoline, εννέα ενώσεις της μουστάρδας με πιθανότητα χρησιμοποίησης ως προφάρμακα, κ.ά. Επίσης, δρομολογείται η ανάπτυξη συνθετικών P450s και αντίστοιχων προφαρμάκων για τη βελτίωση της δραστηριότητας αυτών. Η επίδραση "bystander" θα δώσει καλύτερα αποτελέσματα, σκοτώνοντας τα καρκινικά κύτταρα που δεν υπέστησαν μεταγωγή κατά την θεραπεία GDEPT.

*Ελλην Ιατρ 2005, 71: 255 - 261.*

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα τελευταία χρόνια, παρά την μεγάλη πρόοδο της επιστήμης και την ανάπτυξη νέων μεθόδων στη χειρουργική, ακτινοθεραπεία και χημειοθεραπεία, ο καρκίνος του ανθρώπου εξακολουθεί και σήμερα να αποτελεί μια μεγάλη αιτία θανάτου. Για τους περισσότερους συμπαγείς καρκίνους, η αφαίρεση του όγκου χειρουργικά αποτελεί τον πρώτο τρόπο θεραπείας και συνδυάζεται με ακτινοβολία ή χημειοθεραπεία για καλύτερη

αποτελεσματικότητα. Η χημειοθεραπεία εμπλέκει τη χρήση κυτταροτοξικών φαρμάκων, τα οποία έχουν σημαντική επίδραση στα καρκινικά κύτταρα που διαιρούνται ανεξέλεγκτα. Τα χημειοθεραπευτικά φάρμακα επίσης χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό, διότι οι όγκοι παρουσιάζουν μεγαλύτερη ευαισθησία σε πολλαπλούς παράγοντες, οι οποίοι επιτίθενται στα καρκινικά κύτταρα με διαφορετικούς μηχανισμούς. Πρόσφατα ένα νέο πεδίο, της γονιδιακής θεραπείας υπόσχεται



την εισαγωγή του ειδικού, φυσιολογικού γονιδίου, στα κύτταρα του όγκου, ώστε να ευαισθητοποιηθούν χημειοθεραπευτικά<sup>1</sup> και να προκληθεί άμεση ή έμμεση αντικαρκινική επίδραση<sup>2</sup>. Οι όροι γονιδιακή θεραπεία αυτοκτονίας, GDEPT (Gene Directed Enzyme Prodrug Therapy), VDEPT (Virus-Directed Enzyme Prodrug Therapy), ή GPAT (Gene Prodrug Activation Therapy) χρησιμοποιούνται για να περιγράψουν τη γονιδιακή θεραπεία δύο σταδίων για συμπαγείς όγκους, που είναι δυνατόν να αυξήσουν εκλεκτικά την χημειοθεραπεία στον καρκίνο.<sup>3</sup>

### ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΕΣ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΑΥΤΟΚΤΟΝΙΑΣ

Στο πρώτο στάδιο το διαγονίδιο προσλαμβάνεται από τον όγκο και εκφράζεται. Στο δεύτερο στάδιο χορηγείται ένα προφάρμακο και ενεργοποιείται εκλεκτικά από το ένζυμο που εκφράζεται. Οπότε καταστρέφονται τα καρκινικά μόνον κύτταρα και όχι τα φυσιολογικά. Το πρώτο σύστημα GDEPT που περιγράφηκε αφορούσε το γονίδιο της θυμιδινοκινάσης του ιού του απλού έρπητα (Herpes Simplex virus, HSVtk) σε συνδυασμό με το προφάρμακο Ganciclovir (GCV) (Πίν. 1).

Με το σύστημα αυτό έχει επιτελεσθεί ένας μεγάλος αριθμός πειραμάτων, σε διαφορετικούς τύπους όγκων και έγιναν αρχικές μελέτες σε πρότυπα ζώων. Το γεγονός αυτό ενθάρρυνε τους ερευνητές να προχωρήσουν σε κλινικές προσπάθειες, αν και τα αποτελέσματα ήταν φτωχά. Έγιναν πολλές προσπάθειες, με διαφορετικές διαδικασίες, για να αυξήσουν την αποτελεσματικότητα σε κυτταρικά και σε *in vivo* πρότυπα, και είχαν ισχυρά κυτταροτοξικά αποτελέσματα<sup>4</sup>.

*Συστήματα γονιδιακής θεραπείας αυτοκτονίας σε κλινικές προσπάθειες*

Θυμιδινο κινάση του ιού του απλού έρπητα/gancyclovir.

Δεαμινάση της κυτοσίνης βακτηρίων/5-φλουοροκυτοσίνη.

Νιτροορεδουκτάση βακτηρίων/CB1954.

Κυτόχρωμα P450 /κυκλοφωσφαμίδη.

*Πειραματικά συστήματα τα οποία δεν χρησιμοποιούνται ακόμη σε κλινικές προσπάθειες<sup>5</sup>*

Ρεδουκτάση P450/tirapazamine

Καρβοξυπεπτιδάση/CMDA

Horseradish peroxidase/indole-3-acetic acid ή Paracetamol, κ.ά.

### ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ HSV-TK (HERPES SIMPLEX VIRUS THYMIDINE KINASE)

Μια διαδικασία γονιδιακής θεραπείας αυτοκτονίας σε κακοήθεις ασθένειες είναι η θεραπεία VDEPT (Virus Directed Enzyme Prodrug Therapy). Συγκεκριμένα η διαδικασία HSV-tk αποτελεί σήμερα τη μεγαλύτερη πιθανή εφαρμογή στον άνθρωπο ανάμεσα σε ένα μεγάλο εύρος κακοήθων ασθενειών και για το λόγο αυτό είναι η πιο δημοφιλής και ευρέως μελετημένη γονιδιακή θεραπεία αυτοκτονίας. Κατά τη διαδικασία αυτή ένα εξωγενές χιμαιρικό γονίδιο ενζύμου, που αντιστοιχεί σε γονίδιο ιού (το γονίδιο της δεαμινάσης της κυτοσίνης), προσλαμβάνεται από τα καρκινικά κύτταρα. Το γονίδιο αυτό του ενζύμου, όταν εκφράζεται, δύναται να μετατρέψει ένα μη-τοξικό προφάρμακο σε κυτταροτοξικό (Πίν. 1), το οποίο είναι ικανό να σκοτώσει το κύτταρο από το οποίο παράχθηκε (Εικ. 1).

Εφαρμογή αυτών γίνεται τόσο σε κύτταρα καλλιέργειας, όσο και σε πρότυπα ζώων. Λόγω της

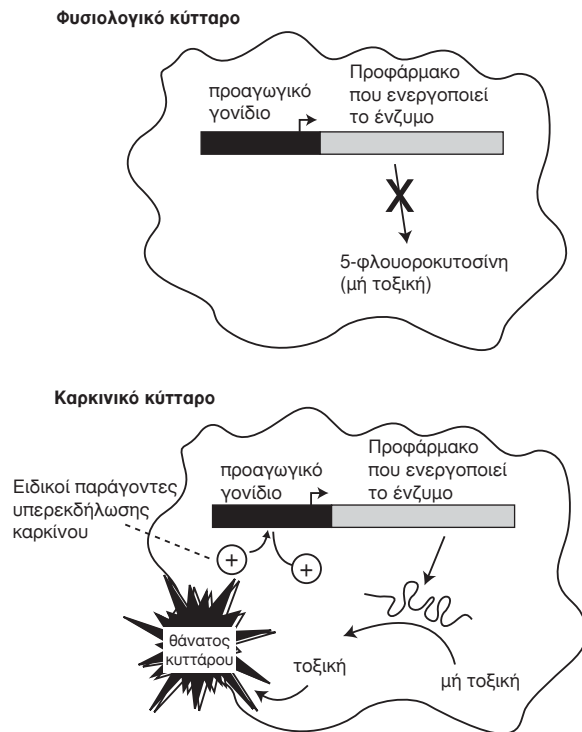
**Πίνακας 1.** Μηχανισμοί κυτταροτοξικότητας επιλεγμένων διαδικασιών γονιδιακής θεραπείας αυτοκτονίας<sup>2</sup>

Γονίδιο	Τελική τοξικότητα μεταβολίτη(ών)	Άμεση κυτταροτοξική επίδραση	Επίδραση "Bystander"
HSV-tk	GCV-τριφωσφορικό	Καταστροφή της σύνθεσης του DNA	Υπάρχει
CD	5-FU-μονο/τριφωσφορικό	Καταστροφή της σύνθεσης του DNA και του RNA	Υπάρχει
VZV-tk	Ara-ATP	Καταστροφή της σύνθεσης του DNA	Άγνωστο
NTR	4-Υδροξυλαμίνη	cross-συνδέσεις (άμεσες θραύσεις DNA καταστροφή της σύνθεσης)	Άγνωστο
CYP2B1	Φωσφοραμίδιο μουστάρδας ακρολεϊνή DNA	Αλκυλίωση (cross-συνδέσεις DNA) συζυγείς συνδέσεις κυτταρικών πρωτεϊνών	Υπάρχει
CPG2	Βενζοϊκό οξύ μουστάρδας	Αλκυλίωση DNA (cross-συνδέσεις DNA)	Υπάρχει
XGPRT	6-Θειογουανίνη μονοφωσφορικό (6-GMP)	Καταστροφή της σύνθεσης του DNA	Πιθανόν
PNP	6-Μεθυλοπουρίνη (MeP)	Άμεση τοξική/κυτταρική νέκρωση	Υπάρχει



αποτελεσματικότητας γίνονται κλινικές προσπάθειες της φάσης I/II<sup>6,7</sup>.

Μια προσέγγιση αφορά την επιλογή της καταστροφής των καρκινικών κυττάρων με ουσίες όπως προφάρμακα λιγότερο τοξικά που έχουν την δυνατότητα να ενεργοποιούνται εκλεκτικά σε καρκινικούς ιστούς (tumour-activated prodrugs, TAP). Υπάρχουν ειδικοί μηχανισμοί, οι οποίοι μετέχουν στην εκλεκτική ενεργοποίηση των προφαρμάκων. Μερικοί από αυτούς χρησιμοποιούν την φυσιολογία, την εκλεκτική έκφραση γονιδίου ενζύμου, την υποξεία, και το χαμηλό εξωκυττάριο pH. Άλλες πάλι στηρίζονται σε τεχνικές που είναι ειδικές για τη πρόσληψη γονιδίων σε όγκο, όπως



**Εικ. 1.** Θεραπεία προφαρμάκων/ενζύμων (5-φλουοροκυτοσίνη/δεαμινάση της κυτοσίνης). Ένα εξωγενές γονίδιο παραλαμβάνεται τόσο από φυσιολογικά κύτταρα, όσο και από καρκινικά κύτταρα με τη μεσολάβηση ρετροϊού. Το εξωγενές γονίδιο κωδικοποιεί το ένζυμο που ενεργοποιεί το προφάρμακο, όπως είναι η δεαμινάση της κυτοσίνης. Το ένζυμο αυτό μπορεί να μετατρέψει την 5-φλουοροκυτοσίνη (5-FC) σε 5-φλουοροουρακίλη (5-FU). Συνδέοντας ειδικές έναντι του καρκίνου αλληλουχίες αντιγραφής του ξένου γονιδίου, παράγεται τότε το ένζυμο αυτό εκλεκτικά μόνον στα καρκινικά κύτταρα. Οπότε, όταν χορηγηθεί το προφάρμακο 5-FC, επειδή μόνον τα καρκινικά κύτταρα μπορούν να το μετατρέψουν στον κυτταροτοξικό τύπο 5-FU, έχουμε ειδική κυτταροτοξικότητα έναντι του καρκίνου (Κατά Sikora, και συν. 1994).

ενεργοποίηση προφαρμάκων από εξωγενή ένζυμα γονιδίων που προσλαμβάνονται από τα καρκινικά κύτταρα και αφορούν μονόκλωνα αντισώματα (ADEPT), ή που παράχθηκαν σε καρκινικά κύτταρα από κατασκευές DNA που περιέχουν το αντίστοιχο γονίδιο (GDEPT). Όμως μόνον ένα μικρό ποσοστό καρκινικών κυττάρων ενεργοποιεί πλήρως το προφάρμακο, για τον λόγο αυτό χρησιμοποιούνται ποικίλοι μηχανισμοί ενεργοποίησης, ώστε και τα υπόλοιπα κύτταρα του όγκου να καταστρέφονται. Η μέθοδος TAP πρέπει να είναι ικανή να σκοτώνει τα κύτταρα στα οποία το προφάρμακο ενεργοποιείται, καθώς και δια μέσου μιας «επίδρασης θεατή» (“bystander effect”), με σκοπό την πλήρη εκμετάλλευση των ενεργοποιημένων κυττάρων<sup>8</sup>.

*Κυριότερα πλεονεκτήματα της γονιδιακής θεραπείας αυτοκτονίας<sup>9</sup>:*

- Αυξημένη εκλεκτικότητα των καρκινικών κυττάρων να μειώνουν τις επιδράσεις τους.
- Αυξημένες συγκεντρώσεις δραστικού φαρμάκου στον όγκο, σε σχέση με τις συγκεντρώσεις που παρέχει η κλασική χημειοθεραπεία.
- Δημιουργία επιδράσεων «θεατή» (“bystander” effect).
- Μεταγωγή (transduction) γονιδίων ενζύμων στα κύτταρα του όγκου.
- Τα προφάρμακα δεν έχουν τοξική δράση στα καρκινικά κύτταρα. Έχουν σχεδιασθεί έτσι ώστε να ενεργοποιούνται από τα ένζυμα που εκφράζονται από εξωγενή γονίδια, τα οποία είναι ευκολότερα να προσληφθούν.

*Προβλήματα τα οποία πρέπει να υπερπηδηθούν<sup>9</sup>:*

- Οι φορείς που επιλέγονται για την μεταγωγή των γονιδίων στα κύτταρα στόχους πρέπει να μολύνουν ικανοποιητικά τα καρκινικά κύτταρα.
- Οι ιδανικοί φορείς πρέπει επίσης να μην είναι ανοσογονικοί και μη τοξικοί.
- Η ρύθμιση της έκφρασης του εξωγενούς γονιδίου.

## Βελτίωση των στρατηγικών της γονιδιακής θεραπείας αυτοκτονίας

Πρόσφατα, έχει αναπτυχθεί ένας αριθμός στρατηγικών προς βελτίωση των επί μέρους σταδίων της γονιδιακής θεραπείας αυτοκτονίας, όπως της αποτελεσματικότητας των ενζύμων, της ενεργοποίησης των πορειών, των προφαρμάκων και του τρόπου χορήγησης<sup>10-15</sup>.

### *Μετάλλαξη γονιδίων που εκφράζουν τα ένζυμα*

Αναφέρονται τεχνικές που αυξάνουν την αποτελεσματικότητα των ενζύμων να ενεργοποιούν τα προφάρμακα στα συστήματα GDEPT. Με τη γενετική μηχανική, κατέστη δυνατόν να εκφράζονται τέτοια ένζυμα όπως CPG2, CPA, β-Glu ενδοκυττάρια και στη συνέχεια να γίνεται έκκριση αυτών εξωκυττάρια. Επίσης, αποδείχθηκε ότι η ενδοκυττάρια εντόπιση του ενζύμου (μεταξύ πυρήνα και κυτταροπλάσματος ή η δέσμευση του με το μιτοχόνδριο) πρέπει να παίζει σημαντικό ρόλο στο σύστημα NR/GDEPT<sup>16</sup>.

Επιπλέον, διαφορές στη κρυσταλλογραφία των ενζύμων (σχετίζεται με την ενεργό περιοχή του ενζύμου)<sup>17</sup>, καθώς και μεταλλάξεις των γονιδίων των ενζύμων των φορέων ιών (όπως καταλληλότερη η μετάλλαξη HSV-TK-75 από τον «φυσικό τύπο» του ιού).

### *Διαλοίμωξη με πολλαπλά γονίδια (multiple-gene transfection)*

Για βελτίωση της αποδοτικότητας των συστημάτων της γονιδιακής θεραπείας αυτοκτονίας αναπτύχθηκε μια διαφορετική στρατηγική που χρησιμοποιεί περισσότερα από ένα διαγονίδια. Οπότε, ορισμένα προφάρμακα ενεργοποιούνται από ένα καταρράκτη μεταβολισμού στον οποίο μετέχουν ορισμένα ένζυμα. Για παράδειγμα στην ενεργοποίηση του GCV σε τριφωσφορικό GCV (GCVTP), μετέχουν τρεις διαφορετικές κινάσες. Η προσέγγιση με πολλά γονίδια απαιτεί την συν-διαλοίμωξη γονιδίων που αντιστοιχούν σε κάθε ένα από τα ένζυμα αυτά<sup>18</sup>.

### *Νέα προφάρμακα για βελτίωση των συστημάτων GDEPT*

Ένας διαφορετικός τρόπος βελτίωσης των συστημάτων αυτών είναι να παρασκευασθούν λιγότερο τοξικά προφάρμακα, όπως τα cyclopropylindolines και taxoids σε λιγότερο τοξικά. Για παράδειγμα, η αντικατάσταση του GCV από λιγότερο γονοτοξικό οδήγησε στην ανακάλυψη του penciclovir (PCV), ενός αναλόγου του GCV<sup>19</sup>. Για να αποφευχθεί η κυτταροτοξικότητα στον μυελό των οστών όταν σχετίζεται με το σύστημα HSV-TK/GCV, σχηματίστηκε ένα νέο ανάλογο της γουανোসίνης<sup>20</sup>.

### *Ενισχυμένες και συνεργικές επιδράσεις*

Προκειμένου να διευκρινισθούν οι μηχανισμοί της δράσης των φαρμάκων που απελευθερώνονταν από τα προφάρμακα αναπτύχθηκε μια εναλλακτική στρατηγική που βασίζεται σε αυξημέ-

νες ή συνεργικές δράσεις των ενώσεων. Η προσέγγιση αυτή έγινε για βελτίωση των συστημάτων HSV-TK/GCV και CD/5-FC.

Βρέθηκε ότι ήταν προτιμότερη η ενεργοποίηση της κινάσης HSV-1-TK από την ronicidin παρά από τα κυτταρικά ένζυμα διότι η ronicidin παρουσίαζε συνεργική αντι-ική δράση τόσο με το GCV, όσο και με το ACV<sup>21</sup>.

Τέσσερις ενώσεις που επάγουν την απόπτωση το βουτυρικό<sup>22, 23</sup>, η καμπτοθεσίνη, η ταξόλη και η 7-υδροξυσταυροσπορίνη, σε συνδυασμό με το GCV, δημιουργούσαν συζυγή με το σύστημα HSV-TK/GCV. Συγκεκριμένα, το βουτυρικό και η καμπτοθεσίνη προκαλούσαν αύξηση των επιπέδων της πρωτεΐνης Bak και πτώση της πρωτεΐνης Bcl-X. Ενώ οι άλλες δύο ενώσεις προκαλούσαν αύξηση και των δύο πρωτεϊνών<sup>21</sup>.

Τελικά, προτάθηκε ότι η υδροξουρία (HU) που επάγει επίσης την απόπτωση<sup>24</sup>, μπορεί να συνδυασθεί με το σύστημα HSV-TK/GCV, διότι έχει την ικανότητα να μειώνει τα επίπεδα του dGTP. Το τελευταίο αποτελεί τον ενδογενή συν-αγωνιστή του GCV-TP για την ενσωμάτωση στο DNA. Έτσι αποδείχθηκε ότι, ο συνδυασμός GCV+HU έχει προσθετική δράση σε HSV-TK καλλιέργειες που υπέστησαν διαλοίμωξη γονιδίων και συνεργική σε συστήματα HSV-TK «bystander»<sup>25</sup>.

## **Γονιδιακή θεραπεία αυτοκτονίας και ακτινοευσαιθησία**

Στη πολύπλοκη διαδικασία της θεραπείας του καρκίνου έχει προταθεί η ακτινοθεραπεία σε συνδυασμό με την γονιδιακή θεραπεία αυτοκτονίας ως εναλλακτική της χημειοθεραπείας, διότι συγκεντρώνει πλεονεκτήματα<sup>26</sup>. Αποδείχθηκε ότι το γονίδιο HSV-TK, όταν εισαχθεί σε ποικίλες κυτταρικές σειρές με τη διαδικασία της διαλοίμωξης, αυξάνει την ακτινοευσαιθησία αυτών. Επιπλέον, επιτελείται ειδική ενσωμάτωση ακτινοευσαιθητοποιών πυριμιδινών, όταν χρησιμοποιείται η 5-bromo-2'-deoxycytidine (BrdC) ως BrdU, η οποία αυξάνει την ευαιθησία στην ακτινοβολία, σε σχέση με τα κύτταρα που υπέστησαν διαλοίμωξη με το γονίδιο β-Gal.

Με την διαδικασία αυτή τα κύτταρα καθίστανται ευαίσθητα σε χαμηλότερες δόσεις ακτινοβολίας. Τελικά, η επίδραση «bystander» συντελεί ακόμη περισσότερο στη βελτίωση της γονιδιακής θεραπείας αυτοκτονίας<sup>27</sup>.

## Επίδραση «bystander» (“bystander” effect, BE)

Ως επίδραση «bystander» στη γονιδιακή θεραπεία αυτοκτονίας θεωρείται η κυτταροτοξική επίδραση στα μη γενετικά τροποποιημένα κύτταρα μετά τη χορήγηση προφαρμάκου, όταν μόνον ένα κλάσμα της μάζας του όγκου έχει τροποποιηθεί γενετικά, το οποίο και εκφράζει το ενεργοποιημένο ένζυμο<sup>2</sup>.

### Μηχανισμοί της επίδρασης «bystander»

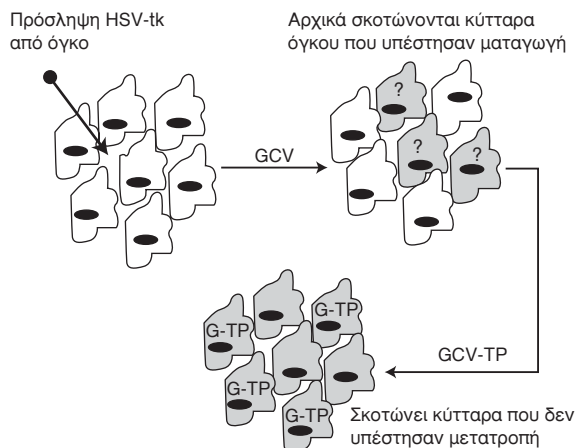
Τα προφάρμακα που ενεργοποιούνται στα συστήματα GDEPT είναι δυνατόν να απελευθερώνουν δραστικά φάρμακα, τα οποία είτε διαχέονται ή δεν διαχέονται δια μέσου των κυτταρικών μεμβρανών. Αυτά τα δραστικά φάρμακα σχηματίζονται μετά την ενεργοποίηση του προφαρμάκου και απελευθερώνονται μέσα στον κυτταρικό πληθυσμό του όγκου, από νεκρά κύτταρα ή από νεκρά κύτταρα που έχουν τροποποιηθεί γενετικά. Ο μηχανισμός αυτός ισχύει για την πληθώρα των συστημάτων GDEPT<sup>28</sup>.

Όμως, οι μηχανισμοί του BE είναι διαφορετικοί τόσο για τα προφάρμακα των νουκλεοσιδίων των πουρινών, όσο και των πυριμιδινών. Οι τοξικοί μεταβολίτες γενικά φωσφορυλιώνονται και δεν διαχέονται δια μέσου των κυτταρικών μεμβρανών. Απαιτείται επαφή κυττάρων, διότι η μεταφορά τοξικών μεταβολιτών από κύτταρο σε κύτταρο προϋποθέτει επικοινωνία μεταξύ αυτών δια των συνδέσεων. Πρέπει όμως να μετέχουν και άλλοι μηχανισμοί<sup>29</sup>, όπως:

- α) μεταβολική συν-μεταφορά και χασμοσύνδεσμοι,
- β) μεταφορά τοξικών μεταβολιτών διαμέσου αποπτωτικών κυστιδίων ή άμεσης διάχυσης μέσω των μεμβρανών,
- γ) τοπικές ανοσο απαντήσεις, έναντι του καρκίνου,
- δ) συστηματικές ανοσο απαντήσεις (αντικαρκινικές)<sup>2</sup>.

Επίσης, αναφέρεται και μια άλλη επίδραση («Good Samaritan effect»). Έχει παρατηρηθεί ότι κύτταρα που υπέστησαν διαλοίμωξη είναι δυνατόν να προστατευθούν από το δραστικό φάρμακο ελαττώνοντας την συγκέντρωση των κυτταροτοξικών μεταβολιτών δια μέσου των κυτταρικών συνδέσεων που επικοινωνούν<sup>30</sup>.

Η επίδραση λοιπόν “bystander” είναι ένα φαινόμενο, όπου τα γειτονικά κύτταρα του όγκου, τα οποία δεν υπέστησαν μεταγωγή σκοτώνονται μαζί με τα κύτταρα που υπέστησαν μεταγωγή. Έχουν ερευνηθεί και προταθεί πολλές θεωρίες, ως εξήγηση του φαινομένου αυτού.



**Εικ. 2.** Η επίδραση “bystander”. Το γονίδιο HSV-tk προσλαμβάνεται από έναν συμπαγή όγκο, οπότε έχουμε επιτυχή μεταγωγή και έκφραση του γονιδίου σε ένα ποσοστό % των κυττάρων του όγκου. Στη συνέχεια, μια συστηματική θεραπεία με ganciclovir (GCV) προκαλεί καταστροφή του DNA, θάνατο του κυττάρου και παραγωγή τοξικών μεταβολιτών. Οι τοξικοί μεταβολίτες στη συνέχεια περνούν στα γειτονικά κύτταρα που δεν υπέστησαν μεταγωγή δια μέσου των κυτταρικών συνδέσεων, με αποτέλεσμα τον θάνατο του κυττάρου. (Κατά O’ Malley BW, 2004)<sup>2</sup>.

## Ανοσο-επίδραση στα συστήματα γονιδιακής θεραπείας αυτοκτονίας

Έχει γίνει αποδεκτό ότι η ανοσοαπάντηση βελτιώνει την αποτελεσματικότητα των συστημάτων GDEPT *in vivo*.

Το πρώτο, προέκυψε από την παρατήρηση ότι αν και παρατηρείται σε ανοσοκατασταλαμένα (immunocompromised) ζώα τα δεδομένα δείχνουν ότι το BE *in vivo* επιτελείται το πλείστον με τη μεσολάβηση της απελευθέρωσης των κυτοκινών.

Η δεύτερη ένδειξη είναι η εμφάνιση της επίδρασης BE από απόσταση («distant bystander effect»). Αφορά τις περιπτώσεις εκείνες που οι όγκοι διαχωρίζονται ανατομικά. Και παρόλο που η γονιδιακή θεραπεία αυτοκτονίας επιτελείται σε έναν όγκο, ο οποίος δεν επικοινωνεί μεταβολικά με τον άλλο, αναστέλλεται η ανάπτυξη του όγκου και σε εκείνον. Το φαινόμενο αυτό εξηγείται με την ανοσοαπάντηση.

Η τρίτη ένδειξη προέκυψε από την συν-διαλοίμωξη γονιδίων αυτοκτονίας και γονιδίων που αυξάνουν την ανοσία. Τα διαγονίδια δηλ. περιέχουν γονίδιο αυτοκτονίας και έναν άλλο ειδικό παράγοντα ή ιντερλευκίνη<sup>31</sup>.

Έχει προταθεί ότι, ορισμένα φάρμακα που



εκλύονται κατά την γονιδιακή θεραπεία αυτοκτονίας *in vivo* πρέπει να προκαλούν νέκρωση του όγκου και να δημιουργούν φλεγμονώδη απάντηση, να καταστρέφουν την ανοσολογική απομόνωση και να διεγείρουν την ανοσοαπάντηση. Τα φάρμακα αυτά πρέπει να πλεονεκτούν σε σχέση με εκείνα που προκαλούν απόπτωση. Εν τούτοις, αποδείχθηκε ότι στη περίπτωση αυτή πρέπει να μετέχει μηχανισμός νέκρωσης<sup>32</sup>.

## Μελλοντικές κατευθύνσεις

Έχει παρασκευασθεί ένας αριθμός φορέων<sup>33</sup>, αλλά και προφαρμάκων, όπως είκοσι προφάρμακα του 5-aminobenz(e)indoline, εννέα ενώσεις της μουστάρδας με πιθανότητα χρησιμοποίησης ως προφάρμακα, κ.ά.<sup>10-15</sup>. Επίσης, δρομολογείται η ανάπτυξη συνθετικών P450s και αντίστοιχων προφαρμάκων για τη βελτίωση της δραστηριότητας αυτών. Η επίδραση “bystander” θα δώσει καλύτερα αποτελέσματα, σκοτώνοντας τα καρκινικά κύτταρα που δεν υπέστησαν μεταγωγή κατά την θεραπεία GDEPT<sup>2</sup>.

## ABSTRACT

**Frangou-Massourides H, Massouridou N. Suicide gene therapy (GDEPT, gene directed prodrug therapy) – Bystander effect. *Hell Iatr* 2005, 71: 255-261.**

Gene directed enzyme prodrug therapy (GDEPT) is a process of gene therapy concerning malignant diseases, which is associated with exogenous gene transfer into the cancer cells. This exogenous gene can be selectively expressed into cancer cells and is sufficient to kill them. The success of this method depends upon the ability of target cells to introduce sufficient exogenous gene into target cells and upon the possibility to express its action, while minimizing its expression in other tissues. Application of this method has been accomplished in cell culture, as well as in animal models. Recently, after successful clinical trials, phase I/II clinical studies were performed, as well as clinical applications. In clinical applications of GDEPT gene therapy, the most common systems used are: HSV thymidine kinase in combination with ganciclovir and adenosine deaminase (ADA), as well as cytosine deaminase of *E. coli* plus 5-fluorocytosine. Other GDEPT therapy systems are based on P450 (MetXia retroviral vectors, isotypes of cytochrome P450), on carboxypeptidase G2, on the activation system nitroreductase prodrug (adenoviral vectors), on

the system suicide gene of *E. coli* PNP (purine nucleoside phosphorylase, under the regulation of operator gene Mash), and on pro-state therapy. A number of vectors, as well as prodrugs, have been designed, including 25-aminobenz(e)indoline prodrugs and 9 mustard substances with the possibility be used as prodrugs. In addition, the development of synthetic P450 and corresponding prodrugs will improve therapeutic activity. The bystander effect will give better results, killing cancer cells that were not transduced during GDEPT therapy.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. *Kirn D, Niculescu-Duvaz I, Gunnel H, Springer CJ.* The emerging fields of suicide gene therapy and virotherapy. *Trends in Molecular Medicine* 2002, 8(4 Suppl): S68-S73.
2. *O'Malley BW.* Suicide Gene Therapy. In: *Gene and Cell Therapy.* Templeton NS (ed), Marcel Dekker, Inc, New York. 2004, 375-390.
3. *Springer CJ.* Suicide Gene Therapy. *Methods and Reviews.* Book News, Inc., Portland, OR, 2004.
4. *Fillat C, Carrio M, Cascante A, Sangro B.* Suicide gene therapy mediated by the Herpes Simplex virus thymidine kinase/Ganciclovir system: fifteen years of application. *Curr Gene Ther* 2003, 1: 13-26.
5. *Dachs GU, Tupper J, Tozer GM.* From bench to bedside for gene-directed enzyme prodrug therapy of cancer. *Anti-cancer drugs* 2005, 16(4): 349-359.
6. *Greco O, Dachs GU.* Gene directed enzyme/prodrug therapy of cancer: historical appraisal and future perspectives. *J Cell Physiol.* 2001, 187(1): 22-36.
7. *Brown NL, Lemoine NR.* Clinical trials with GDEPT: cytosine deaminase and 5-fluorocytosine. *Methods Mol. Med.* 2004, 90: 451-7.
8. *Denny WA.* Prodrug strategies in cancer therapy. *Eur J Med Chem.* 2001, 36(7-8): 577-95.
9. *Niculescu-Duvaz I, Springer CJ.* Introduction to the background, principles, and state of the art in suicide gene therapy. *Mol Biotechnol* 2005, 30(1): 71-88.
10. *Chen L, Waxman DJ.* Cytochrome P450 gene-directed enzyme prodrug therapy (GDEPT) for cancer. *Curr Pharm* 2002, 8(15): 1405-16.
11. *Hay MP, Anderson RF, Ferry DM, Wilson WR, Denny WA.* Synthesis and evaluation of nitroheterocyclic carbamate prodrugs for use with nitroreductase-mediated gene-directed enzyme prodrug therapy. *J Med Chem* 2003, 46(25): 5533-45.
12. *Helsby NA, Atwell GJ, Yang S, et al.* Aziridinyldinitrobenzamides: synthesis and structure-activity relationships for activation by *E. coli* nitroreductase. *J Med Chem* 2004, 47(12): 3295-307.
13. *Hay MP, Atwell GJ, Wilson WR, Pullen SM, Denny WA.* Structure-activity relationships for 4-nitrobenzyl carbamates of 5-aminobenz(e)indoline minor groove alkylating agents as prodrugs for GDEPT in conjun-

- ction with *E. coli* nitroreductase. *J Med Chem* 2003, 46(12): 2456-66.
14. *Helsby NA, Ferry DM, Patterson AV, Pullen SM, Wilson WR.* 2-Amino metabolites are key mediators of CB 1954 and SN 23862 bystander effects in nitroreductase GDEPT. *Br J Cancer*, 2004, 90(5): 1084-92.
  15. *Niculescu-Duvaz I, Scanlon I, Niculescu-Duvaz D, et al.* Significant differences in biological parameters between prodrugs cleavable by mustards in gene-directed enzyme prodrug therapy systems. *J Med Chem* 2004, 47(10): 2651-8.
  16. *Spooner RA, Maycroft KA, Paterson H, Friedlos F, Springer CJ, Marais R.* Appropriate subcellular location of prodrug-activating enzymes has important consequences for suicide gene therapy. *Int J Cancer* 2001, 93: 123-30.
  17. *Black M, Kokoris MS, Sabo P.* Herpes simplex virus-1 thymidine kinase mutants created by semi-random sequence mutagenesis improve prodrug-mediated tumor cell killing. *Cancer Res* 2001, 61: 3022-6.
  18. *Blanche F, Cameron B, Couder M, Crouzet J.* Enzymes Combinations for Destroying Proliferative Cells US Patent W09735024, Rhone-Poulenc Roerer 1997: 1-65.
  19. *Candotti F, Agbaria R, Mullen CA, et al.* Use of a herpes thymidine kinase/neomycin phosphotransferase chimeric gene for metabolic suicide gene therapy. *Cancer Gene Ther* 2000 : 574-80.
  20. *Hasegawa Y, Nishiyama Y, Imaizumi K, et al.* Avoidance of bone marrow suppression using A-5021 as a nucleoside analog for retrovirus-mediated herpes simplex virus type I thymidine kinase gene therapy. *Cancer Gene Ther* 2000, 7: 557-62.
  21. *McMasters RA, Wilbert TN, Jones KE, et al.* Two-drug combinations that increase apoptosis and modulate Bak and Bcl-XL expression in human colon tumor cell lines transduced with herpes simplex virus thymidine kinase. *Cancer Gene Ther.* 2000, 7: 563-73.
  22. *Φράγκου-Μασσουρίδου Ε.* Κασπάση-3: υποκυτταρική κατανομή σε φυσιολογικό ήπαρ επίμνος υπό την επίδραση της υδροξυουρίας και θαλιδομίδης. *Ιατρική Επιθεώρηση Ενόπλων Δυνάμεων*, 2004, 38(5-6): 185-91.
  23. *Frangou-Massourides H.* Thalidomide and Hydroxyurea: their anti-apoptotic effect on regenerating rat liver. *Scientific Annals of the Faculty of Medicine, Aristotle University of Thessaloniki* 2004, 31(2): 73-9.
  24. *Frangou-Massourides H, Kotsis A.* The role of Adenosine Deaminase (ADA) in Apoptosis Induced by Natrium Butyrate (NaB) on Rat Regenerating Liver and Rat Intestinal Tissue. *Hellenic Society of Biochemistry & Molecular Biology. Proceeding of the 52nd Meeting*, Thessaloniki 2000. Newsletter 2000, 47: 246-79.
  25. *Boucher PD, Ostruszka LJ, Shewach DS.* Synergistic enhancement of herpes simplex virus thymidine kinase/ganciclovir mediated cytotoxicity by hydroxyurea. *Cancer Res* 2000, 60: 1631-6.
  26. *Patterson AV, Saunders MP, Greco O.* Prodrugs in genetic chemoradiotherapy. *Curr Pharm* 2003, 9(26), 2131-54.
  27. *Jounaidi Y, Waxman DJ.* Frequent moderate dose cyclophosphamide administration improves the efficacy of cytochrome P-450/cytochrome P-450 reductase based cancer gene therapy. *Cancer Res* 2001, 61: 4437-44.
  28. *Huber BE, Austin EA, Richards CA, Davis ST, Good SS.* Metabolism of 5-fluorocytidine to 5-fluorouracil in human colorectal tumor cells transduced with the cytosine deaminase gene: significant antitumor effects when only a small percentage of tumor cells express cytosine deaminase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994, 91: 8302-6.
  29. *Mesnil M, Yamasachi H.* Bystander effect in herpes simplex virus-thymidine kinase/ganciclovir cancer gene therapy: role of gap-junctional intercellular communications. *Cancer Res* 2000, 60: 3989-99.
  30. *Andrade-Rosental AF, Rosental R, Hopperstad MD, Wu JK, Vrionis FD, Spray DC.* Gap junctions: the "kiss of death" and the "kiss of life". *Brain Res Rev* 2000, 32: 308-15.
  31. *Agard C, Ligeza C, Dupas B, et al.* Immune-dependent distant bystander effect after adenovirus-mediated suicide gene transfer in a rat model of liver colorectal metastasis. *Cancer Gene Ther* 2002, 8: 128-36.
  32. *Karle P, Renner M, Salmons B, Gunzburg WH.* Necrotic rather than apoptotic death caused by cytochrome P450-activated ifosfamide. *Cancer Gene Ther* 2001, 8: 220-30.
  33. *Φράγκου-Μασσουρίδου Ε.* Μοριακή Γενετική του Καρκίνου: Τεχνολογία Μελέτης Γονιδίων, Γονιδιακή Θεραπεία. *ART of TEXT A.E.*, Θεσσαλονίκη, 174-81.
- Αλληλογραφία:*  
 Ε. Φράγκου-Μασσουρίδου  
 Εργαστήριο Γεν. Βιολογίας  
 Ιατρικής Σχολής ΑΠΘ
- Corresponding Author:*  
 Η. Frangou-Massourides  
 Dept. of General Biology  
 Medical School, Aristotle University  
 541 24 Thessaloniki  
 Greece



## Η προστατευτική δράση της μελατονίνης στον ανθρώπινο οργανισμό

Εμμανουήλ Λυρατζόπουλος, Θεόδωρος Λιαλιάρης

Εργαστήριο Γενετικής, Τμήμα Ιατρικής, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης

**Περίληψη.** Η μελατονίνη είναι μια ορμόνη που συναντάται σε όλους σχεδόν τους οργανισμούς, με την ίδια ακριβώς δομή. Συντίθεται και εκκρίνεται κατά τη διάρκεια της νύχτας και η παραγωγή της αποτελεί αυστηρά συντηρητικό εξελικτικό φαινόμενο. Η μελατονίνη θεωρείται ως ένας φυσικός ογκοστατικός παράγοντας του ανθρώπινου σώματος. Αυτό προκύπτει από την ικανότητα της να δρα στον κυτταρικό κύκλο, από την αντιοξειδωτική της δράση και από την ανοσοδιέγερση που προκαλεί. Λειτουργεί τελείως διαφορετικά από τα γνωστά αντιοξειδωτικά. Δεν εμφανίζει τοξική δράση ακόμη και σε υπερβολικές δόσεις, δεν αυτοοξειδώνεται, αλληλεπιδρά με τη διπλή έλικα του DNA και

τη σταθεροποιεί και είναι συλλέκτης ελεύθερων ριζών. Η ορμόνη εμπλέκεται με τα περισσότερα συστήματα του ανθρώπου, σχετίζεται με την αναπαραγωγή, τον ύπνο, τη συμπεριφορά, τη σχέση γλυκόζης-ινσουλίνης, το γαστρεντερικό δίκτυο και πιθανόν αυξάνει το όριο της ανθρώπινης ζωής. Σημαντική θεωρείται η αντικαρκινική της δράση που έχει παρατηρηθεί σε πολλές κλινικές δοκιμές, καθώς και η ικανότητα να μειώνει τις ανεπιθύμητες ενέργειες της χημειοθεραπείας. Είναι ένα μόριο με έντονο παρελθόν, σημαντικό παρόν και ελπιδοφόρο μέλλον.

*Ελλην Ιατρ 2005, 71: 262 - 274.*

### ΧΗΜΙΚΗ ΔΟΜΗ, ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΑΤΟΝΙΝΗΣ

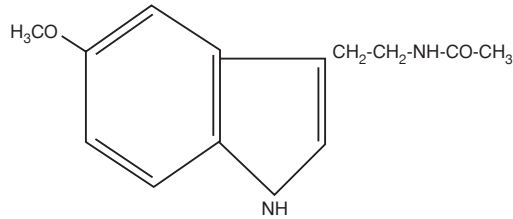
Η επίφυση είναι ένας ενδοκρινής αδένας, αλλά αποτελεί και νευροενδοκρινικό όργανο, δηλαδή προϋπόθεση για την παραγωγή από αυτήν ορμονών είναι η άφιξη νευρικών ώσεων. Βρίσκεται στον εγκέφαλο και σύμφωνα με το Γάλλο φιλόσοφο Rene Descartes θεωρείται «η θέση της ψυχής»<sup>1</sup>. Το κύριο ορμονικό προϊόν της είναι η μελατονίνη (N-ακέτυλο-5-μεθοξυτρυπταμίνη)<sup>2,3</sup>.

Η ορμόνη μελατονίνη είναι φυλογενετικά ένα πολύ παλιό μόριο που παράγεται από την τρυπτοφάνη και δεν αποτελεί μοναδικό προϊόν της επίφυσης. Έχει επίσης βρεθεί στα ασπόνδυλα *Drosophila melanogaster*, στο σύνθετο οφθαλμό της *Locusta migratoria* και σε διάφορα είδη πλανάριας τα οποία δεν έχουν επίφυση<sup>4</sup>. Βρίσκεται ακόμη

και στο δινομαστιγωτό *Gonyaulax polyedra* και παράγεται από όλους σχεδόν τους οργανισμούς στο ζωικό βασίλειο<sup>5</sup>. Εκτός όμως από το ζωικό βασίλειο βρέθηκε και στα φυτά<sup>6</sup>. Ερευνήθηκε η παρουσία της σε 24 είδη φυτών, όπου εντοπίστηκε σε όλα και η υψηλότερη συγκέντρωσή της παρατηρήθηκε στα φυτά της οικογένειας του ρυζιού<sup>7</sup>.

Η δομή της μελατονίνης από τον άνθρωπο μέχρι και τα μονοκύτταρα φύκη, τα οποία εξελίσσονται πάνω από 3 δισεκατομμύρια χρόνια, είναι ακριβώς η ίδια (Εικ. 1). Η ομοιότητα αυτή είναι σπάνια στη βιολογία και δείχνει το πόσο σημαντικό είναι το μόριο αυτό για τη ζωή. Σε όλες τις μορφές ζωής που έχουν μελετηθεί, η ορμόνη εκκρίνεται κατά τον ίδιο κυκλικό ρυθμό, με τα υψηλότερα επίπεδά της να παράγονται κατά τη διάρκεια της νύχτας<sup>8</sup>.

Η μελατονίνη είναι ένα μικρό μη φορτισμένο



Εικ. 1. Χημική δομή της μελατονίνης<sup>25</sup>.

μόριο υψηλά υδρόφοβο, σταθερή στους 4°C και παρουσιάζει οπτική απορρόφηση σε μήκος κύματος  $\lambda=278 \text{ nm}^9$ . Συντίθεται και εκκρίνεται κατά τη διάρκεια της νύχτας (darkness hormone) και η παραγωγή της αποτελεί αυστηρά συντηρητικό εξελικτικό φαινόμενο. Η έκκρισή της εξαρτάται από τη διάρκεια της νύχτας (όσο μεγάλη η διάρκεια της νύχτας τόσο μεγαλώνει και η διάρκεια της έκκρισής της), ενώ το φως κατά τη διάρκεια της νύχτας οδηγεί σε μείωση της παραγωγής της<sup>2</sup>. Η τρυπτοφάνη προσλαμβάνεται από τα κύτταρα της επίφυσης, μετατρέπεται σε σεροτονίνη και αυτή με τη σειρά της σε Μελατονίνη με μία διαδικασία δύο βημάτων που συμμετέχουν τα ένζυμα NAT<sup>10</sup> (N-ακετυλο-τρανσφεράση) και HIOMT (Υδροξυινδολ-Ο-μεθυλοτρανσφεράση) (Εικ. 2).

Η 3-αιθυλοαμιδο-αλυσίδα του μορίου της μελατονίνης είναι ευλύγιστη και μπορεί να υιοθετήσει πολλές διαμορφώσεις και αυτό το γεγονός πιθανόν εξηγεί το μεγάλο εύρος των βιολογικών λει-

τουργιών της<sup>11</sup>.

Η μελατονίνη μεταβολίζεται στο ήπαρ, όπου υδροξυλιώνεται στη θέση 6 και κατόπιν μετατρέπεται σε θεικούς κυρίως και σε γλυκουρονικούς εστέρες, οι οποίοι ανιχνεύονται στα ούρα (Εικ. 3). Οι εποχές του χρόνου επηρεάζουν το χρόνο έκκρισης και όχι την ποσότητα της<sup>2,12</sup>.

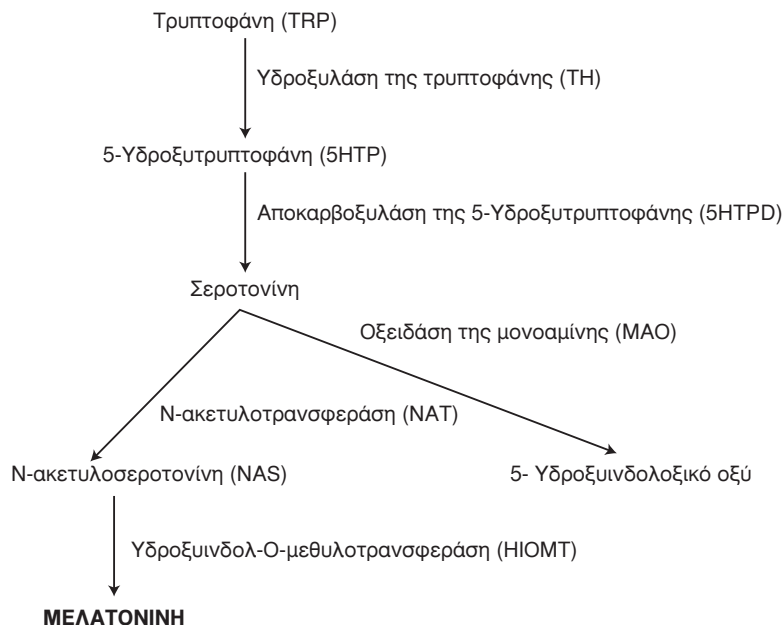
Η σύνθεσή της επηρεάζεται επίσης από παράγοντες του περιβάλλοντος, όπως το φως, τα ηλεκτρομαγνητικά πεδία και η θερμοκρασία, ενώ ο κυκλικός ρυθμός παραγωγής της οφείλεται στον υπερχιασματικό πυρήνα του υποθαλάμου (SCN)<sup>10,13</sup>. Όσον αφορά τον παράγοντα του φωτός ιδιαίτερη σημασία έχουν οι επιμέρους παράμετροί του όπως η διάρκεια, η ένταση και το μήκος κύματος.

Η παραγωγή της μελατονίνης είναι ρυθμική και το βράδυ παρατηρείται η μεγαλύτερη συγκέντρωση, η οποία στους ενήλικες είναι 60-70 pg/ml, ενώ η χαμηλότερη είναι κάτω από 10 pg/ml<sup>2</sup>. Τα στάδια και οι ώρες έκκρισής της έχουν ως εξής:

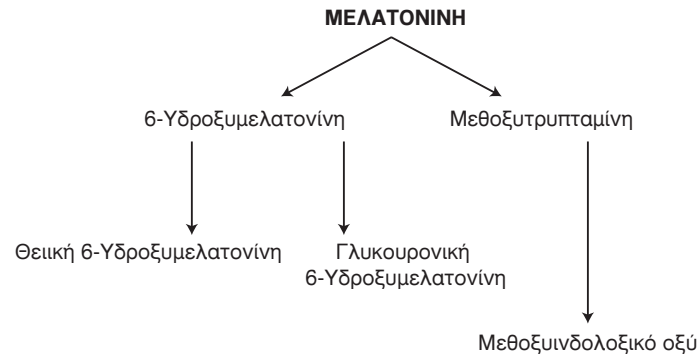
Έκκριση	21:00-22:00
Μέγιστο	02:00-04:00
Τέλος	07:00-09:00

### ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ – ΟΓΚΟΣΤΑΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ

Το ανθρώπινο σώμα είναι πλούσιο σε αντιοξειδωτικά, ουσίες που έχουν την ικανότητα να σταματούν το σχηματισμό ελεύθερων ριζών ή να μειώνουν τη βλάβη που προκαλούν. Ορισμένα αντιο-



Εικ. 2. Σύνθεση της μελατονίνης<sup>65</sup>.



*Εικ. 3. Μεταβολισμός της μελατονίνης<sup>65</sup>.*

ξειδωτικά μπορεί ακόμη να είναι τοξικά σε μεγάλες ποσότητες. Σε αντίθεση με αυτά, η μελατονίνη εμφανίζεται να μην έχει τοξική δράση ακόμη και σε υπερβολικές δόσεις. Ο Lerner χορήγησε εφάπαξ 200 mg μελατονίνης χωρίς καθόλου παρενέργειες και από το 1960 μέχρι το 1978 πολλά άτομα είχαν λάβει μεγάλη ποσότητα μελατονίνη και δεν παρουσίασαν καμία παρενέργεια<sup>14</sup>. Η χορήγηση τεράστιας ποσότητας Μελατονίνης 6,6 gr, που αντιστοιχεί στην παραγωγή Μελατονίνης 200.000 ατόμων, τις μόνες παρενέργειες που προκάλεσε ήταν πονοκέφαλος, κοιλιακές κράμπες και υπνηλία.

Άλλες μελέτες στη Μελατονίνη έχουν εστιαστεί στο μηχανισμό παραγωγής και έκκρισης, στη σχέση των επιπέδων Μελατονίνης και της παθολογίας και στα αποτελέσματα από την επιφυσιεκτομή ή την εξωγενή χορήγηση μελατονίνης. Πρόσφατες έρευνες έχουν επικεντρωθεί στον ακριβή μηχανισμό δράσης και τοποθετούν τη μελατονίνη ανάμεσα στους φυσικούς ογκοστατικούς παράγοντες του ανθρώπινου σώματος (Εικ. 4).

Αυτό προκύπτει από τα ακόλουθα:

- 1) από τη δράση της στον κυτταρικό κύκλο
- 2) από την αντιοξειδωτική της δράση (Πίν. 1)
- 3) από την ανοσοδιεγερτική της δράση
- 4) από την εμφάνιση μη φυσιολογικών επιπέδων Μελατονίνης σε καρκινοπαθείς
- 5) από αποτελέσματα κλινικών δοκιμών και
- 6) από την αντικαρκινική δράση της σε πειραματόζωα (καρκίνος του Ehrlich, ινοσάρκωμα, λευχαιμία, σάρκωμα του Yoshida, προλακτινώμα, καρκίνος του προστάτη, μελάνωμα και καρκίνος του ήπατος)<sup>15</sup>.

Αξιζει ακόμη να αναφερθεί, ότι η μελατονίνη είναι λιπόφιλη και διαπερνά τις κυτταροπλασματικές και πυρηνικές μεμβράνες. Είναι επίσης διαλυτή σε υδάτινα διαλύματα, γεγονός που της δίνει τη δυ-

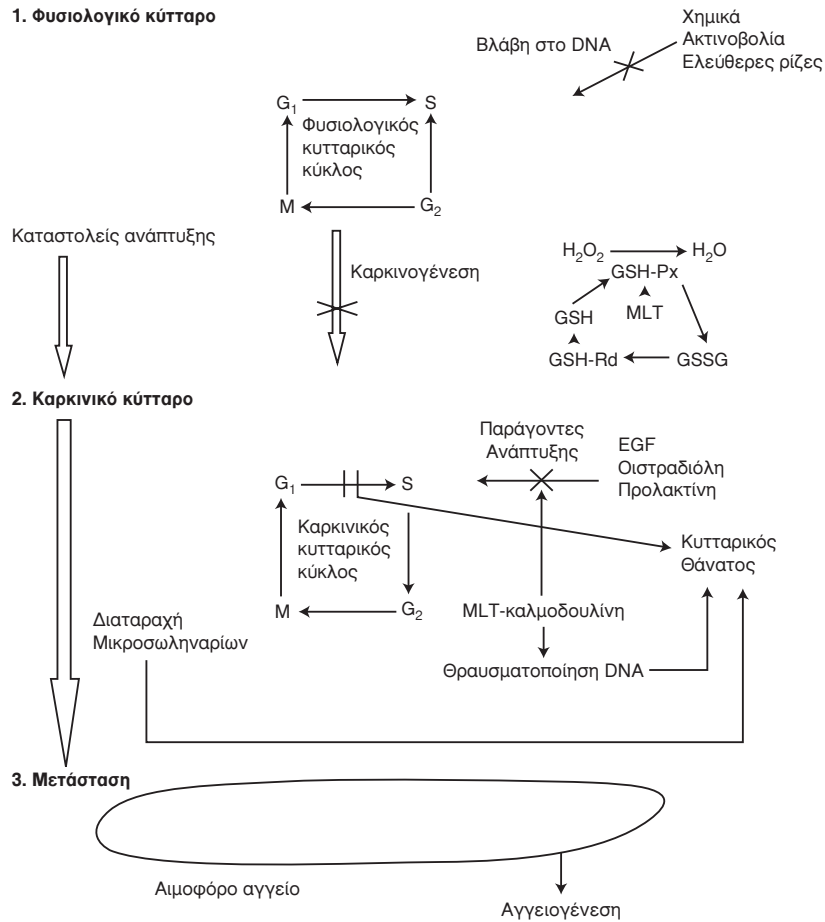
**Πίνακας 1.** Αντιοξειδωτική δράση της μελατονίνης<sup>66-69</sup>

- 1) Συλλέκτης ελεύθερων ριζών υδροξυλίου (OH-) και υπεροξειδίων (ROO-)<sup>70</sup>
- 2) Αναστολή υπεροξειδωσής των λιπιδίων στον εγκέφαλο
- 3) Εξουδετέρωση μονήρων ατόμων οξυγόνου
- 4) Ενεργοποίηση της δράσης της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης (GSH-Px) και ρύθμιση του μεταβολισμού της γλουταθειόνης (GSH)<sup>71</sup>
- 5) Προστασία από την ιονίζουσα ακτινοβολία
- 6) Προστασία από το βακτηριακό λιποπολυσακχαρίτη LPS (ισχυρή ενδοτοξίνη)
- 7) Μείωση του κυτοχρώματος P450 το οποίο συμμετέχει στο μεταβολισμό των ξενοβιοτικών με συνέπεια να παράγονται ελεύθερες ρίζες
- 8) Αυξάνει τα κυτταρικά επίπεδα των βιταμινών C και E και την ενεργότητα της καταλάσης<sup>72</sup> και
- 9) Προστατεύει τη ρευστότητα των μεμβρανών από την οξειδωση των λιπιδίων<sup>73</sup>

νατότητα για κυτταροπλασματική δράση<sup>15</sup>.

Σε συγκέντρωση  $10^{-9}$  M αυξάνει τον αριθμό των κυττάρων που βρίσκονται στη  $G_1$  φάση και μειώνει τα κύτταρα κατά 50% στη S φάση του κυτταρικού κύκλου<sup>15</sup>. Επίδραση  $10^{-9}$  M μελατονίνης σε MCF-7 κύτταρα οδήγησε σε αύξηση της διάρκειας του κυτταρικού τους κύκλου κατά 15% σε σχέση με τα controls. Βρέθηκε ότι προκαλεί καθυστέρηση των κυττάρων για την είσοδό τους στη συνθετική φάση του κυτταρικού κύκλου και ενεργεί στο στάδιο  $G_0/G_1$ <sup>16</sup>. Η καθυστέρηση που προκαλεί η μελατονίνη για την ολοκλήρωση του κυτταρικού κύκλου από τα MCF-7 κύτταρα, πιθανόν να οφείλεται στο ότι αναστέλλει την ενεργότητα της κινάσης της θυμιδίνης, που είναι βασικό ένζυμο στη σύνθεση του DNA (η χρήση μελατονίνης οδήγησε σε αύξηση της διάρκειας του κυτταρικού κύκλου από 19,96 σε 23,48 ώρες)<sup>17</sup>.

Χορήγηση μελατονίνης σε καρκινικά κύτταρα



**Εικ. 4.** Ογκοστατική δράση της μελατονίνης σε κυτταρικό επίπεδο: 1) Κατά τη δημιουργία καρκινικού κυττάρου. Η Μελατονίνη αναστέλλει την καρκινογένεση διεγείροντας τη GSH-Px που καταλύει την οξειδωση της αναγωγικής GSH σε δισουλφιδική μορφή GSSG καθώς και τη μετατροπή H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> σε H<sub>2</sub>O. Έτσι ο σχηματισμός της ισχυρής ελεύθερης ρίζας υδροξυλίου μειώνεται. Η μελατονίνη διεγείρει και τη GSH-Rd η οποία μετατρέπει τη GSSG σε GSH και επιπλέον προωθεί τη μεταφορά αναστολέων ανάπτυξης από το φυσιολογικό στο καρκινικό κύτταρο. 2) Κατά την ανάπτυξη καρκίνου. Η μελατονίνη σταματά την αύξηση που προκαλεί η EGF, η οιστραδιόλη και η προλακτίνη σε καρκινικά κύτταρα. Επίσης σταματά τον καρκινικό κυτταρικό κύκλο στη G<sub>1</sub> φάση. Προκαλεί διαταραχή των μικροσωληναρίων και θραυσματοποίηση του DNA. Αναστέλλει τη συνθετάση του μονοξειδίου του αζώτου μειώνοντας την αγγειογένεση. 3) Κατά της μετάστασης. Η μελατονίνη ενισχύει τη διακυτταρική επικοινωνία αυξάνοντας τη μεταφορά αναστολέων ανάπτυξης από το φυσιολογικό στο καρκινικό κύτταρο<sup>15</sup>.

επιμύων προκάλεσε αύξηση των κυττάρων στο στάδιο G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>, μείωση των κυττάρων στη S φάση και αύξηση των κυττάρων σε απόπτωση. Η ορμόνη ανέστειλε τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων αυτών είτε με καθυστέρηση της διάρκειας του κυτταρικού κύκλου, είτε προκαλώντας απόπτωση. Ο μηχανισμός πιθανόν να σχετίζεται με την αύξηση της έκφρασης του p53<sup>18</sup>.

Η ορμόνη φαίνεται ότι συγκεντρώνεται κυρίως στον πυρήνα των κυττάρων και συνδέεται με τη χρωματίνη. Πιθανόν να έχει δράση στη μεταγραφή των γονιδίων, γιατί βρέθηκε ότι ενεργοποιεί την πο-

λυμεράση II του RNA<sup>19</sup> και φαίνεται ότι επιδρά στο γενετικό υλικό των περισσότερων κυττάρων<sup>4</sup>.

Επίσης παρουσιάζει μια ήπια κυτταροτοξικότητα, γεγονός που πιθανόν να οφείλεται στο ότι δρα ως ανταγωνιστής του συμπλέγματος Ca<sup>2+</sup>-καλμοδουλίνης, που συμμετέχει στη σταθεροποίηση των μικροσωληναρίων της μιτωτικής ατράκτου. Η ορμόνη μέσω της δράσης της στην καλμοδουλίνη αναστέλλει την ενεργοποίηση των υποδοχέων των οιστρογόνων με συνέπεια να δρα αντικαρκινικά, γεγονός που έχει διαπιστωθεί πειραματικά σε καρκίνο του στήθους, των ωοθηκών και του εντέ-

ρου<sup>20,21</sup>.

Συμπερασματικά η μελατονίνη:<sup>15,22</sup>

1) Αναστέλλει τη μιτογόνο δράση των οιστρογόνων, του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGF) και της προλακτίνης

2) Ρυθμίζει την έκφραση του mRNA μιας ρυθμιζόμενης από τα οιστρογόνα πρωτεΐνης pS2 και του υποδοχέα της προγεστερόνης

3) Ρυθμίζει την έκφραση των TGFs (στα MCF-7 κύτταρα)

4) Ρυθμίζει την έκφραση του TGF και TGFα

5) Ρυθμίζει την έκφραση μερικών πρωτογονιδίων c-myc και c-fos

6) Αυξάνει τα επίπεδα της γλουταθειόνης και της τρανσφεράσης της γλουταθειόνης

7) Διεγείρει την ενεργότητα της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης στους ιστούς του εγκεφάλου

8) Αναστέλλει προοξειδωτικά ένζυμα, όπως τη συνθετάση του NO<sup>23</sup>

9) Αναστέλλει την απόπτωση σε νεφρικά κύτταρα<sup>24</sup>.

Σημαντικό είναι ότι η μελατονίνη λειτουργεί τελείως διαφορετικά από τα γνωστά αντιοξειδωτικά. Δεν αυτοοξειδώνεται σε αντίθεση με το πρόδρομο μόριό της, τη σεροτονίνη, και βρέθηκε ότι αλληλεπιδρά με τη διπλή έλικα του DNA και τη σταθεροποιεί<sup>5</sup>.

Η μελατονίνη είναι συλλέκτης ελεύθερων ριζών υδροξυλίου, όταν παράγονται *in vitro*, από την επίδραση υπεριώδους ακτινοβολίας (UV) σε υπεροξείδιο του υδρογόνου H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Χρησιμοποιήθηκαν συγκεντρώσεις 0.5, 1.0 και 2 mM και ως ουσία ελέγχου 1M DMSO που είναι συλλέκτης ελεύθερων ριζών. Η προστασία της μελατονίνης των 2 mM είναι παρόμοια με τη συγκέντρωση του DMSO σε χρωματοσωματικές βλάβες από τη γ-ακτινοβολία. Βρέθηκε ότι ακόμη και 500 φορές μι-

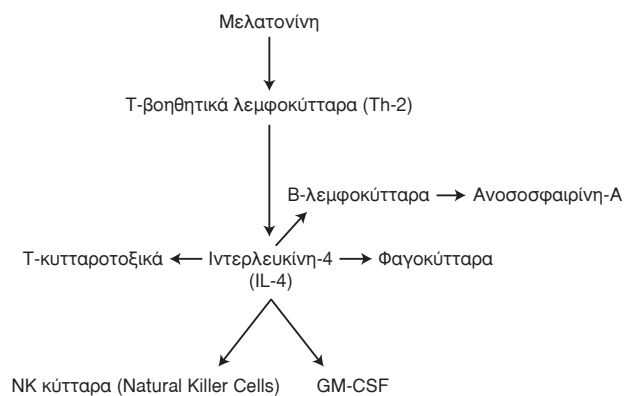
κρότερη συγκέντρωση μελατονίνης παρουσίασε μείωση των χρωματοσωματικών βλαβών<sup>25-27</sup>.

Επίσης παρατηρήθηκε προστατευτική δράση της σε δόση 300 mg σε λεμφοκύτταρα τα οποία είχαν υποστεί επίδραση γ-ακτινοβολίας. Φαίνεται ότι η μελατονίνη προσφέρει ένα ηλεκτρόνιο στην ελεύθερη ρίζα και μετατρέπεται σε ελεύθερη ρίζα με μικρή ενεργότητα, η οποία αποβάλλεται στα ούρα<sup>8</sup>.

## ΜΕΛΑΤΟΝΙΝΗ ΚΑΙ ΑΝΟΣΙΑ

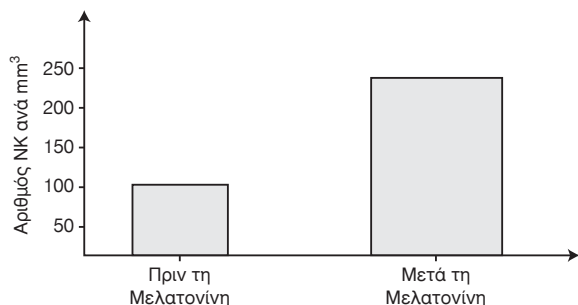
Το 1995 οι Maestroni και Conti βρήκαν ότι η δράση της μελατονίνης οφείλεται ως ένα βαθμό στη σχέση της με τα T-λεμφοκύτταρα, τα οποία θεωρούνται από τα πιο σημαντικά κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος (Εικ. 5). Όταν η μελατονίνη αλληλεπιδρά με τους υποδοχείς των T-βοηθητικών, μια σειρά γεγονότων λαμβάνουν χώρα, με σημαντικότερο την παραγωγή IL-4, η οποία διεγείρει μια άλλη σειρά κυττάρων. Μια κατηγορία κυττάρων είναι τα φυσικά κύτταρα φονιάδες (NK), που είναι εξειδικευμένα στο να επιτίθενται σε ξένα κύτταρα, καρκινικά κύτταρα και κύτταρα που έχουν προσβληθεί από ιό στο ανθρώπινο σώμα. Βρέθηκε ότι, ακόμη και μικρή ποσότητα μελατονίνης μπορεί να προκαλέσει αύξηση στην παραγωγή των κυττάρων αυτών (Εικ. 6).

Μια άλλη κατηγορία κυττάρων είναι τα φαγοκύτταρα, τα οποία είναι τα πρώτα που φτάνουν και τα τελευταία που απομακρύνονται σε μία ιική ή βακτηριακή μόλυνση. Η μελατονίνη αυξάνει την ικανότητα δράσης μιας κατηγορίας φαγοκυττάρων, των μονοκυττάρων. Επίσης προωθεί την αύξηση των κυττάρων του μυελού των οστών, που γίνεται μέσω της παραγωγής του παράγοντα GM-CSF (granulocyte-macrophage colony stimulating factor) (Πίν. 2 και 3)<sup>8</sup>.



Εικ. 5. Απεικόνιση πιθανής σχέσης μελατονίνης και ανοσοποιητικού συστήματος<sup>75</sup>.





**Εικ. 6.** Αύξηση του αριθμού των NK κυττάρων υπό την επίδραση της Μελατονίνης<sup>8</sup>.

### ΜΕΛΑΤΟΝΙΝΗ ΚΑΙ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ

Η επίδραση της μελατονίνης στο αναπαραγωγικό σύστημα του άντρα δεν έχει πλήρως διαλευκανθεί. Αν και δεν φαίνεται να επηρεάζει την έκκριση των γοναδοτροπινών, υποδοχείς της έχουν βρεθεί σε ανθρώπινα σπερματοζωάρια και πιθανόν η ίδια να μειώνει την κινητικότητα των σπερματοζωαρίων.

Οι περισσότερες έρευνες έχουν εστιαστεί στο αναπαραγωγικό σύστημα της γυναίκας, όπου φαίνεται ότι αυξάνει το εύρος έκκρισης της LH κατά τη διάρκεια της νύχτας (χρονική στιγμή οπου η μελατονίνη εκκρίνεται φυσιολογικά). Η επίδραση της στην προλακτίνη, στην αυξητική ορμόνη, στις θυρεοειδικές ορμόνες δεν έχει επίσης πλήρως διαλευκανθεί<sup>10</sup>. Η μελατονίνη θα μπορούσε να χρησι-

**Πίνακας 2.** Η συμμετοχή της μελατονίνης στο ανοσοποιητικό σύστημα<sup>13,74,75</sup>

- 1) Αύξηση αντισωματικής απόκρισης
- 2) Αύξηση λευκοκυτταρικής απόκρισης της εξαρτώμενης από τα αντισώματα AMLR (antibody mediated leucocyte response)
- 3) Αύξηση της δευτερογενούς T-κυτταροτοξικότητας
- 4) Αύξηση της μιτογόνου απόκρισης
- 5) Επαναφορά της μειωμένης μιτογόνου απόκρισης
- 6) Αντι-stress και αντικορτικοστεροειδής δράση
- 7) Δράση έναντι του κυκλοφωσφαιδίου
- 8) Διέγερση των Th (T-βοηθητικά λεμφοκύτταρα) τα οποία απελευθερώνουν οποιoύχα πεπτιδία
- 9) Παραγωγή IL-2 και γ-IFN<sup>76</sup>
- 10) Ρύθμιση παραγωγής IL-2 και δράσης των NK κυττάρων
- 11) Παραγωγή IL-1 σε μονοκύτταρα<sup>77</sup>
- 12) Αύξηση της κυτταροτοξικότητας εξαρτώμενης από αντισώματα ADCC (antibody dependent cellular cytotoxicity)
- 13) Αύξηση του λόγου Th/Ts
- 14) Μείωση δράσης NK in vitro
- 15) Αύξηση δράσης NK in vivo
- 16) Ενίσχυση ανοσοθεραπείας του καρκίνου
- 17) Αύξηση ανοσοσφαιρινών A στο σάλιο
- 18) Σύνθεση μελατονίνης από μακροφάγα και μονοκύτταρα κάτω από τη δράση γ-IFN

μοποιηθεί σαν αντισυλληπτικό, γιατί μαζί με την NET (συνθετική progestin norethisterone) αναστέλλουν τη λειτουργία των ωοθηκών<sup>28</sup>.

Γενικά στα σπονδυλωτά, το νευροπεπτίδιο

**Πίνακας 3.** Επίδραση μελατονίνης σε ασθενείς με ιό HIV 8

Δράση μελατονίνης	Αποτελέσματα
1. Επαναφέρει τη δραστηριότητα των βοηθητικών T-λεμφοκυττάρων	Αυξημένη αντίσταση σε παθογόνα και καρκίνο.
2. Διεγείρει την IL-2	Αύξηση των βοηθητικών T-λεμφοκυττάρων.
3. Διεγείρει την γ-IFN	Προστατεύει τα αρχικά μονοκύτταρα από τη μόλυνση με τον HIV-1. Αυξάνει την κυτταροτοξικότητα του AZT.
4. Διεγείρει την IL-4	Μαζί με την IL-13 προστατεύει τα μακροφάγα των βρόγχων από μόλυνση. Ρυθμίζει την αιμοποίηση.
5. Διεγείρει το GM-CSF	Βελτιώνει τον αριθμό λευκών και ερυθρών αιμοσφαιρίων. Αναστέλλει την αντιγραφή του HIV-1 in vitro. Προστατεύει το μυελό των οστών από τη δράση γ-IFN και AZT.
6. Διεγείρει τα NK κύτταρα	Αύξηση κυτταροτοξικότητας
7. Αύξηση των μηδενικών κυττάρων	Συμμετέχουν στη σύνθεση ανοσοσφαιρινών στα B-λεμφοκύτταρα.
8. Διεγείρει την παραγωγή IgA στο σάλιο	Προστατεύει τους ασθενείς από αναπνευστικές μολύνσεις.
9. Αύξηση στα εωσινόφιλα	Αύξηση ευαισθησίας σε αλλεργιογόνα
10. Αύξηση στα αιμοπετάλια	Προστασία από αιμορραγία.
11. Αντιοξειδωτικό	Προστασία από βλαπτικές ρίζες
12. Διεγείρει την υπεροξειδάση της γλουταθεινής	
13. Μειώνει τη 5-λιποξυγενάση	Λιγότερες λευκοτρίνες, που οδηγεί σε μειωμένη εμφάνιση φλεγμονών.
14. Μειώνει την απώλεια βάρους	Αύξηση βάρους
15. Διεγείρει την αυξητική ορμόνη	Βελτίωση της ανάπτυξης
16. Βελτιώνει τον ύπνο	

GnIH (δωδεκαπεπτίδιο) αναστέλλει άμεσα την έκκριση των γοναδοτροπινών και εκφράζεται στον PVN, παρακοιλιακός πυρήνας που βρίσκεται στο διεγκέφαλο, και πιστεύεται ότι η μελατονίνη επάγει την έκφρασή του με συνέπεια να επηρεάζει έμμεσα την ανάπτυξη των γονάδων<sup>29</sup>.

### ΜΕΛΑΤΟΝΙΝΗ, ΥΠΝΟΣ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ

Η μελατονίνη επηρεάζει τους κικράδιους ρυθμούς μέσω της αλληλεπίδρασης της με ειδικούς υποδοχείς που βρίσκονται στα κύτταρα του SCN (υπερχιασματικός πυρήνας του υποθαλάμου, το κικράδιο ρολόι του εγκέφαλου). Η σύνθεση και έκκρισή της διεγείρεται από το σκοτάδι, που ανιχνεύεται από τον αμφιβληστροειδή και αναστέλλεται από το φως. Η έναρξη του σκότους διεγείρει τον αμφιβληστροειδή να συνθέσει και να εκκρίνει μελατονίνη τοπικά ή και να στείλει διεγερτικά σήματα στον SCN, που με τη σειρά του διεγείρει την επίφυση. Σύμφωνα με ένα υποθετικό μοντέλο η ανάπτυξη της διάθεσης για ύπνο την ημέρα συνήθως δεν εκφράζεται, επειδή σε αυτήν εναντιώνεται μια διαδικασία εγρήγορσης, που παράγεται στον SCN. Η έκκριση της μελατονίνης δύο ώρες πριν την έκλυση διάθεσης για ύπνο (άνοιγμα της πύλης του ύπνου) προωθεί τον ύπνο, διότι εξασθενίζει την εξαρτώμενη από το SCN διαδικασία εγρήγορσης. Δηλαδή ελέγχεται η χρονική μετάβαση από την ημέρα στη νύχτα (έκκριση μελατονίνης) καθώς και η χρονική μετάβαση από τη νύχτα στην ημέρα (διακοπή έκκρισης μελατονίνης). Ένας από τους προτεινόμενους μηχανισμούς, με τους οποίους η μελατονίνη ρυθμίζει τη διάθεση προς ύπνο είναι το θερμορρυθμιστικό σύστημα. Πιθανή απόδειξη για αυτό αποτελεί η φυσική γεινίαση των κέντρων ελέγχου τους στον πρόσθιο υποθάλαμο (της μελατονίνης και του συστήματος θερμορύθμισης), ο υπερχιασματικός και ο προοπτικός πυρήνας<sup>30</sup>.

Έχει παρατηρηθεί ότι χορήγηση μελατονίνης στις 17:00 ώρα δεν επηρεάζει τη διαδικασία του ύπνου, ενώ χορήγηση 2 ώρες πριν τον ύπνο ή κατά τη διάρκεια του ύπνου βελτιώνει σημαντικά αυτή τη διαδικασία. Η συγκέντρωση που παρουσιάζει σημαντικά αποτελέσματα είναι από 0,3-2 mg. Σημαντική βελτίωση προκαλεί σε ηλικιωμένους με προβλήματα ύπνου, η χορήγηση 1 mg μελατονίνης 2 ώρες πριν τον ύπνο<sup>31</sup>.

Οι διαταραχές του ύπνου προσβάλλουν 50-70 εκατομμύρια Αμερικανούς πολίτες (20% του πληθυσμού τους) και σε μια πρόσφατη έρευνα έγινε προσπάθεια εκτίμησης των επιδράσεων της μελα-

τονίνης. Σε ένα ποσοστό των περιπτώσεων τα επίπεδα της ορμόνης ήταν χαμηλά, ενώ σε ορισμένες περιπτώσεις ήταν οριακά χαμηλά. Η εξωγενής χορήγησή της βελτίωσε τον ύπνο των ασθενών, αλλά δεν επηρέασε τους ασθενείς που παρουσίαζαν καθυστέρηση στον ύπνο. Αξίζει να σημειωθεί όμως ότι σε όλες τις περιπτώσεις όπου χορηγήθηκε δεν προκάλεσε καμία ανεπιθύμητη ενέργεια<sup>32</sup>.

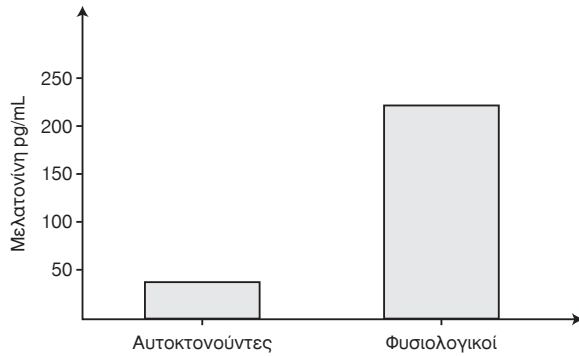
Η ορμόνη μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη διάγνωση της κατάθλιψης ή και τη θεραπεία της σε ελαφριά μορφή<sup>33,34</sup>. Έχει αναφερθεί σχέση της μελατονίνης εκτός από την κατάθλιψη και τη μανία, τη σχιζοφρένεια, τον αλκοολισμό, τον αυτισμό και το SAD (seasonal affective disorder)<sup>35</sup>.

Η βιβλιογραφία αποκαλύπτει ότι οι ασθενείς με SAD έχουν μεγαλύτερη περίοδο σύνθεσης μελατονίνης τη νύχτα κατά τη διάρκεια του χειμώνα, καθώς και ότι τα επίπεδα της ορμόνης την ημέρα είναι υψηλά. Δεν έχει διευκρινιστεί αν η ορμόνη αποτελεί τη βασική αιτία του συνδρόμου, ενώ σε πρόσφατη έρευνα όπου χορηγήθηκαν σε 58 ασθενείς με SAD 2 mg μελατονίνης, οι ασθενείς παρουσίασαν βελτίωση κυρίως στον ύπνο<sup>36</sup>.

Έρευνήτες μελέτησαν παιδιά ηλικίας 9-15 ετών που είχαν κατάθλιψη και παρατήρησαν ότι αυτά είχαν κατά το 1/3 λιγότερη μελατονίνη από τα φυσιολογικά παιδιά (τα παιδιά είχαν την ίδια ηλικία και σωματικό βάρος). Μελέτες έχουν δείξει ότι τα περισσότερα άτομα που αυτοκτονούν υποφέρουν από κατάθλιψη. Ο Δρ. Michael Stanley του πανεπιστημίου Columbia, πιστεύει ότι τα άτομα αυτά έχουν χαμηλή ποσότητα μελατονίνης. Μέτρησε τα επίπεδά της σε ομάδες 19 αυτοχειρών και 19 ατόμων που πέθαναν από άλλη αιτία (όχι παθολογική). Οι δύο ομάδες ατόμων ταίριαζαν στην ηλικία και στο χρόνο θανάτου. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα άτομα που αυτοκτόνησαν είχαν πολύ λιγότερη μελατονίνη από τα controls. Επίσης φαίνεται ότι τα άτομα είχαν αυτοκτονήσει τη νύχτα, δηλαδή την ώρα που η ορμόνη είναι ενεργή (Εικ. 7).

Υπάρχει ένα σύνδρομο, η καταθλιπτική υπομελατονιναιμία, το οποίο σχετίζεται με χαμηλά επίπεδα μελατονίνης και αποτελεί υποκατηγορία στους καταθλιπτικούς ασθενείς (Εικ. 8). Αντίθετα, υψηλά επίπεδα της ορμόνης παρατηρούνται στη νευρική ανορεξία<sup>37</sup>.

Σε ασθενείς με κεφαλαλγία παρατηρήθηκε μικρότερη (από το φυσιολογικό) συγκέντρωση της ορμόνης. Ιδιαίτερο χαρακτηριστικό ήταν ότι στους ασθενείς που μετρήθηκαν, οι καπνιστές είχαν ακόμη χαμηλότερη συγκέντρωση από τους μη καπνι-



**Εικ. 7.** Επίπεδα μελατονίνης σε αυτοκείρες και σε φυσιολογικούς<sup>8</sup>.

στές<sup>38</sup>.

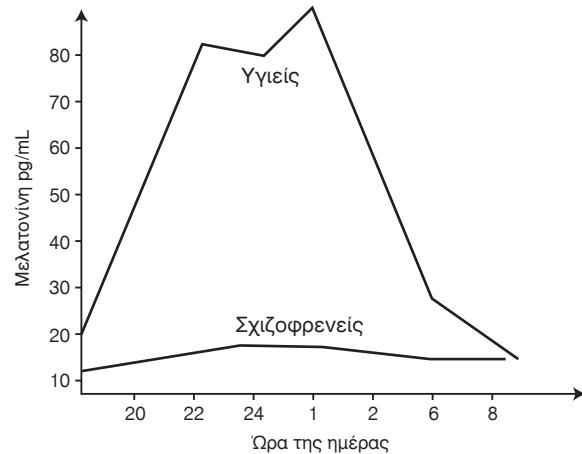
Το 1978 ο Lennart Wetterberg στη Σουηδία, μέτρησε τα επίπεδα μελατονίνης σε 25 ασθενείς που προσήλθαν στα επείγοντα. Σε 11 από αυτούς βρέθηκε χαμηλή συγκέντρωση Μελατονίνης. Και οι 11 αυτοί είχαν ιστορικό αλκοολισμού<sup>8</sup>.

Η μελατονίνη μπορεί να χρησιμοποιηθεί και στην αποφυγή του jet lag, όπου παρατηρείται κυρίως δυσχρονισμός από τη μετακίνηση του ατόμου σε περιοχές με μεγάλη διαφορά ώρας (μεγάλα αεροπορικά ταξίδια)<sup>30,37</sup>. Επίσης μπορεί να χρησιμοποιηθεί και στην αμνησία των ηλικιωμένων<sup>39</sup>.

Υπάρχουν συγκεκριμένες καταστάσεις στον άνθρωπο που συνδέονται με μείωση ή αύξηση των επιπέδων της μελατονίνης στο αίμα και είναι οι ακόλουθες:

*Μειωμένα επίπεδα υπάρχουν σε:*

- 1) Ηλικιωμένα άτομα
- 2) Έλλειψη ή χαμηλή πρόσληψη τρυπτοφάνης
- 3) Αϋπνία
- 4) Κεφαλαλγία
- 5) Κατάθλιψη
- 6) Στεφανιαία νόσο
- 7) Διαβητική νεφροπάθεια
- 8) Ρευματοειδή αρθρίτιδα
- 9) Πορφυρία
- 10) Κίρρωση του ήπατος
- 11) Χρησιμοποίηση β<sub>1</sub>-αδρενεργικών αναστολέων
- 12) Κλονιδίνη
- 13) Χρήση αναστολέων προσταγλανδίνης
- 14) Ενεργοποίηση υποδοχέων GABA από βενζοδιαζεπίνες
- 15) Μειωμένη σύνθεση κατεχολαμίνης
- 16) Χρήση αλκοόλης
- 17) Λήψη ανταγωνιστών ασβεστίου
- 18) Υψηλή σωματική άσκηση



**Εικ. 8.** Επίπεδα μελατονίνης σε σχιζοφρενείς και φυσιολογικά άτομα<sup>8</sup>.

*Αυξημένα επίπεδα αντίθετα υπάρχουν σε:*

- 1) Αμηνόρροια
- 2) Χρησιμοποίηση αντικαταθλιπτικών (τρικυκλικά) και αναστολέων MAO
- 3) Νευρική ανορεξία, αλλά όχι πάντα.

### ΜΕΛΑΤΟΝΙΝΗ ΚΑΙ ΔΙΑΦΟΡΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ

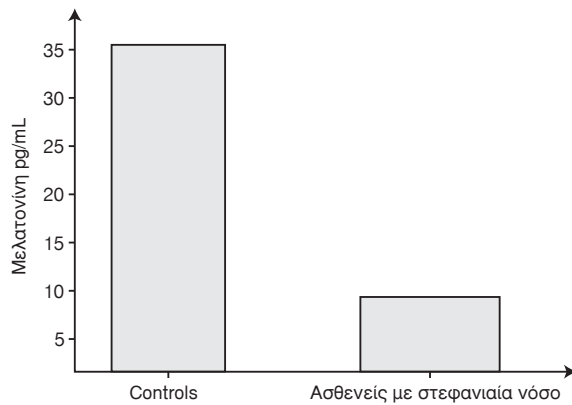
Μελατονίνη είναι πιθανόν να αυξάνει το όριο της ανθρώπινης ζωής. Οι πιθανοί μηχανισμοί είναι ότι:<sup>8,40-42</sup>

- α) μειώνει τις ελεύθερες ρίζες,
- β) διεγείρει το ανοσοποιητικό,
- γ) προστατεύει το καρδιαγγειακό σύστημα,
- δ) σταθεροποιεί τους κυκλικούς ρυθμούς του σώματος (ώστε να επιτρέπεται η επιδιόρθωση των βλαβών κατά τη διάρκεια της νύχτας), και
- ε) διεγείρει την παραγωγή αυξητικής ορμόνης.

Η μελατονίνη μειώνει τη συγκέντρωση των αιμοπεταλίων και την οξειδωση των λιπών που ευθύνονται για την αθηρωματογένεση (atherogenesis). Πιθανόν να μειώνει και την πίεση του αίματος σε φυσιολογικούς και υπερτασικούς. Αυτές οι ενδείξεις συγκλίνουν στην προστατευτική της δράση σε καρδιαγγειακά νοσήματα (Εικ. 9)<sup>10</sup>.

Η ορμόνη μπορεί να χρησιμοποιηθεί και σε περιπτώσεις μετατραυματικής επιληψίας γιατί αποτελεί ένα φυσικό αντιοξειδωτικό<sup>43</sup>.

Είναι πιθανόν επίσης, η ορμόνη να εμπλέκεται και στη σχέση γλυκόζης-ινσουλίνης. Επίμνες με επιφυσιεκτομή παρουσιάζουν αυξημένη γλυκόζη και γλουκαγόνο στο πλάσμα τους και μειωμένη συγκέ-



**Εικ. 9.** Οι ασθενείς με στεφανιαία νόσο έχουν σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα μελατονίνης κατά τη διάρκεια της νύχτας σε σχέση με ασθενείς που δεν έχουν στεφανιαία νόσο<sup>8</sup>.

ντρωση ινσουλίνης. Χορήγηση μελατονίνης έχει σαν αποτέλεσμα να επανέλθουν σε φυσιολογικά επίπεδα η ινσουλίνη, η γλυκόζη και το γλουκαγόνο. Τα επίπεδα ινσουλίνης και γλουκαγόνου στο πλάσμα και η συγκέντρωση υποδοχέων τους στο ήπαρ αλλάζουν δραματικά σε επίμνες με επιφυσιεκτομή, γεγονός που δείχνει ότι η μελατονίνη ρυθμίζει τα φυσιολογικά επίπεδα και τη συγκέντρωση υποδοχέων της ινσουλίνης και του γλουκαγόνου στο ήπαρ<sup>44</sup>.

Οι δράσεις της ορμόνης στο γαστρεντερικό δίκτυο συνοψίζονται στο ότι:<sup>45</sup> α) μειώνει το χρόνο απορρόφησης της τροφής, β) αναστέλλει την απορρόφηση νατρίου από τα επιθηλιακά κύτταρα του παχέος εντέρου και γ) υπάρχει πιθανή ένδειξη παραγωγής της από το γαστρεντερικό δίκτυο

Βρίσκεται σε όλο το γαστρεντερικό σύστημα και τα επίπεδα της είναι 400 φορές πιο υψηλά από τα επίπεδά της στην επίφυση και 10-100 φορές υψηλότερα από τα επίπεδα της στο αίμα<sup>46</sup>.

Υπάρχουν ενδείξεις ότι η μελατονίνη προστατεύει το εντερικό επιθήλιο, προκαλώντας την έκκριση δικαρβονικών ανιόντων ( $\text{HCO}_3^-$ ) στο δωδεκαδάκτυλο, με αποτέλεσμα την προστασία του από το HCl του στομάχου. Επίσης βρέθηκαν υποδοχείς Μελατονίνης στα εντεροκύτταρα<sup>47</sup>.

Τέλος, η παρεντερική χορήγηση Ι-τροπτοφάνης, έχει σαν αποτέλεσμα την παραγωγή μελατονίνης στο έντερο, η οποία με τη σειρά της προκαλεί την έκκριση CCK (χολοκυστοκίνη)<sup>48</sup>.

### ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΔΟΚΙΜΕΣ ΜΕΛΑΤΟΝΙΝΗΣ

Ο Lerner το 1958 ήταν ο πρώτος που απομόνωσε τη μελατονίνη και τη χορήγησε σε ανθρώπους. Το

1959 ο Hofstatter έδειξε μείωση της εξέλιξης της ασθένειας σε καρκίνο του στήθους, των ωοθηκών και της μήτρας και βελτίωση της ποιότητας ζωής των ασθενών. Το 1969 ο Starr χρησιμοποίησε Μελατονίνη σε καρκινοπαθείς αλλά δεν υπάρχουν λεπτομέρειες. Οι Nordlund-Lerner το 1977 χορήγησαν 250 mg της ορμόνης για 25-30 ημέρες και δεν παρουσιάστηκαν τοξικά αποτελέσματα, δεν επηρεάστηκαν η πίεση του αίματος, ο σφυγμός, το εγκεφαλογράφημα, ο λευκοκυτταρικός τύπος, οι ηλεκτρολύτες, τα ηπατικά ένζυμα και το μόνο μειονέκτημα ήταν η υπνηλία. Οι ίδιοι ερευνητές το 1978 χορήγησαν 200 mg μελατονίνης καθημερινά για 5 ημέρες και ο ασθενής δεν παρουσίασε τοξικότητα για 18 χρόνια μετά. Το ποσό της Μελατονίνης που χορηγήθηκε αντιστοιχεί σε καθημερινό περιεχόμενο των επιφύσεων 1.000.000 ανθρώπων. Ο Sugden το 1983 χορήγησε δόση 3200 mg/Kg η οποία δεν παρουσίασε τοξικότητα. Ο Lissoni και συν το 1987 χορήγησε 20 mg σε ασθενείς με μεταστατικούς καρκίνους και παρατηρήθηκε μία απόκριση σε καρκίνο του παγκρέατος. Ο ίδιος χορήγησε 40-50 mg στοματικά την 20:00 ώρα μαζί με ιντερλευκίνη-2 (IL2 3.000.000 IU ενδοφλέβια για 5-6 ημέρες την εβδομάδα) σε καρκίνο του στομάχου, ο Barni και συν. το 1992 σε καρκίνο παχέος εντέρου, ο Aldeghi και συν. το 1994 σε ηπατοκυτταρικό, ο Lissoni και συν. το 1992 σε καρκίνο του πνεύμονα και το 1995 σε καρκίνο των ενδοκρινών αδένων. Από αυτούς τους όγκους περισσότερο αντέδρασε ο ηπατοκυτταρικός, ενώ η πρόοδος του καρκίνου του παχέος εντέρου δεν ανακόπηκε. Το 1995 οι Lissoni και οι συνεργάτες του χορήγησαν σε μεταστατικό καρκίνο στήθους 20mg/ημέρα μαζί με ταμοξιφαίνη (tamoxifen) και βρέθηκε ότι ενίσχυσε τη θεραπεία χωρίς τοξικά αποτελέσματα.

Ο Neri και συν. το 1994 χορήγησε σε 21 μεταστατικούς καρκίνους των νεφρών 10mg/ημέρα την 18:00 ώρα και ιντερφερόνη 3.000.000 IU 3 φορές την εβδομάδα και βρήκε ολική αντίδραση σε 3/21 και μερική αντίδραση σε 4/21 ασθενείς.

Ο Gonzales και οι συν. (1991) χορήγησε μελατονίνη σε 40 ασθενείς με μελά-νωμα και παρατήρησε μερική αντίδραση σε 6/40 και σταθεροποίηση σε άλλους 6/40. Χορήγηση της σε 3 άντρες και 2 γυναίκες με μετάσταση στον εγκέφαλο, οδήγησε σε ολική υποχώρηση της ασθένειας σε μία γυναίκα μετά από 8 μήνες<sup>49-52</sup>.

Συγκέντρωση μελατονίνης 0,1-10 nm οδήγησε σε αναστολή της ανάπτυξης in vitro του μελανώματος στον άνθρωπο και η αναστολή ακολούθησε



ένα δοσοεξααυτόματο μοντέλο<sup>53,54</sup>. Η ορμόνη χορηγήθηκε και *in vivo*, σε 42 ασθενείς με μελάνωμα. Σε 6 ασθενείς παρατηρήθηκε σταθεροποίηση της ασθένειας και σε άλλους 6 μερική ανταπόκριση, ενώ σε κανένα ασθενή δεν παρατηρήθηκαν παρενέργειες<sup>50</sup>.

Από όλα αυτά καταδεικνύεται ότι η μελατονίνη θεωρείται πολύ καλό συμπλήρωμα στη χημειοθεραπεία, γιατί δεν έχει καθόλου παρενέργειες και θεωρείται ότι μειώνει τις παρενέργειες της χημειοθεραπείας, οι οποίες είναι συνήθως ανορεξία, αιματολογικές διαταραχές, έμετοι, καρδιαγγειακή τοξικότητα, αλωπεκία, ατονία και νεφροτοξικότητα.

Οι θετικές δράσεις της μελατονίνης κατά τη χορήγηση χημειοθεραπείας φαίνεται να είναι οι ακόλουθες:<sup>55-61</sup>

I) Ενισχύει τη δράση της ιντερλευκίνης-2

II) Μειώνει την οξύτητα της υπότασης που προκαλείται από τη θεραπεία με ιντερλευκίνη-2

III) Μειώνει τις επιπτώσεις των ανεπιθύμητων παρενεργειών που σχετίζονται με τα στεροειδή

IV) Βελτιώνει τη θρομβοκυτταροπενία που αναπτύσσεται ως επιπλοκή της χημειοθεραπείας

V) Μειώνει την οξύτητα της χημειοθεραπείας που οδηγεί σε μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο

VI) Μειώνει την προκαλούμενη από χειρουργική επέμβαση λεμφοκυτταροπενία

VII) Βελτιώνει την ανοσοκαταστολή που προκαλείται από άλλα κυτταροτοξικά φάρμακα και τέλος

VIII) Μειώνει την ανησυχία.

Υπάρχουν κάποιες αναφορές στη διεθνή βιβλιογραφία όπου αμφισβητείται η δράση της μελατονίνης ως ογκοστατικού παράγοντα. Αυτό μπορεί να αποδοθεί σε διαφορές στην πειραματική διαδικασία, όπου η προστατευτική δράση της μελατονίνης φαίνεται ότι συνδέεται με παράγοντες όπως: α) τη συγκέντρωση της μελατονίνης, β) το κωκάρδιο μοντέλο δράσης της και γ) τη σύσταση και την επώαση του καλλιεργητικού μέσου όπου αυτή χρησιμοποιήθηκε.

Συμπερασματικά, υπάρχει ανάγκη περισσότερης μελέτης για την υποστήριξη της μελατονίνης ως βοηθητικού ογκοστατικού παράγοντα. Υπάρχουν αντικρουόμενα κλινικά αποτελέσματα για τη σχέση της συγκέντρωσής της στους ασθενείς και αυτό μπορεί να οφείλεται σε διαφορετικές προσεγγίσεις<sup>62</sup>. Ο Bartsch και οι συνεργάτες του, το 1994 παρατήρησε, ότι πολλοί ασθενείς έχουν χαμηλά επίπεδα Μελατονίνης και όταν η ασθένεια προχωρήσει τότε τα επίπεδα γίνονται φυσιολογικά

ή ακόμα και υψηλότερα. Πιθανόν να οφείλεται σε ενεργοποίηση της επίφυσης από το ανοσοποιητικό σύστημα. Ο ίδιος αργότερα (το 1995) υποστήριξε το αντίθετο, θεωρώντας ότι η επίφυση σχεδόν καταστρέφεται, όταν η ασθένεια προχωρήσει αρκετά. Η αρχική διέγερση της επίφυσης προέρχεται από αυξητικούς παράγοντες που εκκρίνονται από τον όγκο ή από το stress της αύξησης του όγκου και οδηγεί στην αύξηση της έκκρισης νοραδρεναλίνης με συνέπεια την αυξημένη δραστηριότητα της Ν-ακετυλοτρανσφεράσης της σεροτονίνης (SNAT) που αποτελεί ένζυμο για τη σύνθεση της μελατονίνης. Σε 866 ασθενείς με καρκίνο του στήθους, μετρήθηκε η συγκέντρωση της ορμόνης την ημέρα με ραδιοανοσοανίχνευση και βρέθηκε υψηλή συγκέντρωση στους ασθενείς στους οποίους η ασθένεια βρισκόταν σε εξέλιξη<sup>63</sup>. Έτσι η αύξηση της Μελατονίνης μπορεί να θεωρηθεί ως ένας δείκτης για την ανάπτυξη όγκου<sup>15</sup>.

Γενικά τα επίπεδα της μελατονίνης μειώνονται με την αύξηση της ηλικίας του ανθρώπου και σε πολλές περιπτώσεις νεοπλασιών παρατηρείται αλλαγή των φυσιολογικών επιπέδων, αλλά ο κωκάρδιος ρυθμός της έκκρισης της διατηρείται<sup>64</sup>.

## ABSTRACT

**Lyratzopoulos E, Lialiaris Th.S. Protective effect of melatonin in humans. *Hell Iatr* 2005, 71: 262 - 274.**

Melatonin is a hormone present with identical structure, in almost all organisms. Its secretion is related to the time length of the night and its production is a highly conserved evolutionary phenomenon. Recent studies, point towards a place for melatonin among the natural oncostatic factors of the body. This property is derived from its direct effect on the cell cycle, as well as its antioxidative and immunostimulatory ability. Melatonin has a different mechanism of action than other known antioxidants. It has no toxic effects and is capable of protecting nuclear DNA as a free radical scavenger. The hormone has been involved in reproduction, in sleep and behavior, in the gastrointestinal tract, in the glucose-insulin relation, in aging etc. The anticancer activity of melatonin is the most prominent action, as well as its ability to reduce the side effects of chemotherapy and both of these have been observed in clinical trials. Thus, melatonin is a molecule with an intense past, a substantial present and a hopeful future.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. *Beyer CE, Steketee JD, Saphier D.* Antioxidant properties of melatonin, an emerging mystery. *Biochem Pharmacol* 1998, 56: 1265-72.
2. *DeGroot.* The pineal gland: basic physiology and clinical implications. *Endocrinology* 1993, 3rd ed, chapter 27.
3. *Lerner AB, Case JD, Jakahashi Y, Lee TH, Mori W.* Isolation of Melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocytes. *Journal of the American Chemical Society* 1958, 80: 2587.
4. *Menendez-Pelaez A, Reiter RJ.* Distribution of melatonin in mammalian tissues: The relative importance of nuclear versus cytosolic localization. *J Pineal Res* 1993, 15: 59-69.
5. *Tan DX, Reiter RJ, Chen LD, Poeggeler B, Manchester LC, Barlow-Walden LR.* Both physiological and pharmacological levels of melatonin reduce DNA adduct formation induced by the carcinogen safrole. *Carcinogenesis* 1994, 15(2): 215-8.
6. *Blask DE, Dauchy RT, Sauer LA, Krause SA.* Melatonin uptake and growth prevention in rat hepatoma 7288 CTC in response to dietary melatonin: melatonin receptor-mediated inhibition of tumor linoleic acid metabolism to the growth signaling molecule 1,3-hydroxyoctadecadienoic acid and the potential role of phytomelatonin. *Carcinogenesis* 2004, 25(6): 951-60.
7. *Hattori A, Migita H, Iigo M, et al.* Identification of melatonin in plants and its effects on plasma melatonin levels and binding to melatonin receptors in vertebrates. *Biochemistry and Molecular Biology International* 1995, 35: 627-34.
8. *Reiter RJ, Robinson J.* Melatonin. Bantam Books 1996.
9. *Shida CS, Castrucci AML, Lamy-Freund MT.* High melatonin solubility in aqueous medium. *J Pineal Res* 1994, 16: 198-201.
10. *Cagnacci A.* Melatonin in relation to physiology in adult humans. *J Pineal Res* 1996, 21: 200-13.
11. *Spadoni G, Balsamini C, Diamantini G, Di Giacomo B, Tarzia G.* Conformationally restrained melatonin analogues: synthesis, binding affinity for the melatonin receptor, evaluation of the biological activity, and molecular modeling study. *J Med Chem* 1997, 40: 1990-2002.
12. *Sack RL, Lewy AJ, Erb DL, Vollmer WM, Singer CM.* Human melatonin production decreases with age. *J Pineal Res* 1986, 3: 379-88.
13. *Maestroni GJM.* T-Helper-2 lymphocytes as a peripheral target of melatonin. *J Pineal Res* 1995, 18: 84-9.
14. *Lerner AB, Nordlund JJ.* Melatonin: clinical pharmacology. *Journal of Neural Transmission* 1978, 13: 339-47.
15. *Panzer A, Viljoen M.* The validity of melatonin as an oncostatic agent. *J Pineal Res* 1997, 22: 184-202.
16. *Cos S, Recio J, Sanchez-Barcelo EJ.* Modulation of the length of the cell cycle time of MCF-7 human breast cancer cells by melatonin. *Life Sciences* 1996, 58(9): 811-6.
17. *Cos S, Fernandez F, Sanchez-Barcelo EJ.* Melatonin inhibits DNA synthesis in MCF-7 human breast cancer cells in vitro. *Life Sciences* 1996 58(26): 2447-53.
18. *She MH, Chen BB, Wang XM, He SS.* p-53 dependent antiproliferation and apoptosis of H22 cell induced by melatonin. *Ai Zheng* 2004, 23(7): 803-7.
19. *Wittkowski W, Bockmann J, Krentz MR, Bockers TM.* Cell and molecular biology of the pars tuberalis of the pituitary. *Int Rev of Cytol* 1999, 185: 157-94.
20. *Lenoir V, Canonico YJ, Perrin MH, Martin A, Scholler R, Kerdelhue B.* Preventive and curative effect of melatonin on mammary carcinogenesis induced by dimethylbenz [a] anthracene in the female Sprague-Dawley rat. *Breast Cancer Res* 2005, 7(4): 470-6.
21. *Rio B, Garcia Pedrero JM, Compa CM, Zuazua P, Lazo PS, Ramos S.* Melatonin an endogenous specific inhibitor of estrogen receptor via calmodulin. *J Biol Chem* 2004, 279(37): 38294-302.
22. *Reiter R, Tang L, Garcia JJ, Munoz-Hoyos A.* Pharmacological actions of melatonin in oxygen radical pathophysiology. *Life Sciences* 1997, 60(25): 2255-71.
23. *Vijayalaxmi, Reiter RJ, Tan DX, Herman T, Thomas CR.* Melatonin as a radioprotective agent: A review. *Int J Radiation Oncology Biol Phys* 2004, 59(3): 639-53.
24. *Pedreanez A, Rincon J, Romero M, Viera N, Mosquera J.* Melatonin decreases apoptosis and expression of apoptosis-associated proteins in acute puromycin aminonucleoside nephrosis. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2004, 19: 1098-105.
25. *Vijayalaxmi, Reiter RJ, Meltz ML.* Melatonin protects human blood lymphocytes from radiation-induced chromosome damage. *Mutation Res* 1995, 346: 23-31.
26. *Vijayalaxmi, Reiter RJ, Herman TS, Meltz ML.* Melatonin and radioprotection from genetic damage: in vivo/in vitro studies with human volunteers. *Mutation Res* 1996, 371: 221-8.
27. *Weiss JF, Landauer MR.* Protection against ionizing radiation by antioxidant nutrients and phytochemicals. *Toxicology* 2003, 189: 1-20.
28. *Voordouw BCG, Euser R, Verdonk RER, et al.* Melatonin and melatonin-progestin combinations alter pituitary-ovarian function in women and can inhibit ovulation. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1992, 74(1): 108-17.
29. *Ubuka T, Bentley GE, Ukena K, Wingfield JC, Tsutsui K.* Melatonin induces the expression of gonadotropin-inhibitory hormone in the avian brain. *Proc Natl Acad Sci* 2005, 102(8): 3052-7.
30. *Γαλανοπούλου-Κούβαρη Π, Μιχαηλίδου ΔΜ.* Μελατονίνη μοριακή και κλινική προσέγγιση. *Ιατρική* 2001, 79(1): 48-59.
31. *Haimov I, Lavie P, Laudon M, Herer P, Vigder C, Zisapel N.* Melatonin replacement therapy of elderly insomniacs. *Sleep* 1995, 18: 598-603.
32. *Buscemi N, Vandermeer B, Pandaya R, et al.* Melatonin for treatment of sleep disorders. *Evidence Report Technology* 2004, Assessment No 108.
33. *Arendt J.* Melatonin: A new probe in psychiatric investigation? *British Journal of Psychiatry* 1989, 155: 585-590.
34. *Rohr UD, Herold J.* Melatonin deficiencies in women.

- Maturitas 2002, 41(1): 85-104.
35. *Wetterberg L, Aperia B, Gorelick DA, et al.* Age, alcoholism and depression are associated with low levels of urinary melatonin. *J Psychiatr Neurosci* 1992, 17: 215-23.
  36. *Müller AL.* Epidemiology, Etiology, and Natural treatment of Seasonal Affective Disorder. *Alternative Medicine Review* 2005, 10(1): 1-9.
  37. *Reiter RJ.* Pineal melatonin: cell biology of its synthesis and of its physiological interactions. *Endocrine Reviews* 1991, 12: 151-80.
  38. *Waldenlind E, Ekblom K, Wetterberg L, et al.* Lowered circannual urinary melatonin concentrations in episodic cluster headache. *Cephalgia* 1994, 14: 199-204.
  39. *Armstrong SM.* Melatonin as a chronobiotic for circadian insomnia. *Adv Exp Med Biol* 1995, 460: 283-97.
  40. *Reiter RJ.* The pineal gland and melatonin in relation to aging: a summary of the theories and of the data. *Experimental Gerontology* 1995, 30: 199-212.
  41. *Valcavi R, Zini M, Maestroni GJ, Conti A, Portioli I.* Melatonin stimulates growth hormone secretion through pathways other than the growth hormone releasing hormone. *Clinical Endocrinology* 1993, 39: 193-9.
  42. *Wright J, Aldhous M, Franey C, English J, Arendt J.* The effects of exogenous melatonin on endocrine function in man. *Clinical Endocrinology* 1986, 24: 375-82.
  43. *Mori A, Yokoi I, Noda Y, Willmore LJ.* Natural antioxidants may prevent posttraumatic epilepsy: a proposal based on experimental animal studies. *Acta Med* 2004, 58(3): 111-8.
  44. *Rodriguez V, Mellado C, Alvarez E, De Diego JG, Blazquez E.* Effect of pinealectomy on liver insulin and glucagon receptor concentrations in the rat. *J Pineal Res* 1989, 6: 77-88.
  45. *Lee PPN, Pang SF.* Melatonin and its receptors in the gastrointestinal tract. *Biol Signals* 1993, 2: 181-93.
  46. *Reiter RJ, Tan DX, Mayo JC, Sainz RM, Leon J, Bandyopadhyay D.* Neurally-mediated and neurally-independent beneficial action of melatonin in the gastrointestinal tract. *J Physiol Pharmacol* 2003, 54(4): 113-25.
  47. *Sjoblom M, Jedstedt G, Flemstrom G.* Peripheral melatonin mediates neural stimulation of duodenal mucosal bicarbonate secretion. *J Clin Invest* 2001, 108(4): 625-33.
  48. *Leja-Szpak A, Jaworek J, Nawrot-Porabka K, et al.* Modulation of pancreatic enzyme secretion by melatonin and its precursor L-tryptophan: role of CCK and afferent nerves. *J Physiol Pharmacol* 2004, 55(2): 33-46.
  49. *Aldhous M, Franey C, Wright J, Arendt J.* Plasma concentrations of melatonin in man following oral absorption of different preparations. *Br J Clin Pharmac* 1985, 19: 517-21.
  50. *Gonzalez R, Sanchez A, Ferguson JA, et al.* Melatonin therapy of advanced human malignant melanoma. *Melanoma Res* 1991, 1: 237-43.
  51. *Kane MA, Johnson A, Nash AE, et al.* Serum melatonin levels in melanoma patients after repeated oral administration. *Melanoma Res* 1994, 4: 59-65.
  52. *Neri B, Brocchi A, Carossino AM, et al.* Effects of melatonin administration on cytokine production in patients with advanced solid tumors. *Oncol Reports* 1995 2: 45-47.
  53. *Hu DN, Roberts JE.* Melatonin inhibits growth of cultured human uveal melanoma cells. *Melanoma Res* 1997, 7: 27-31.
  54. *Hu DN, McCormick SA, Roberts JE.* Effects of melatonin its precursors and derivatives on the growth of cultured human uveal melanoma cells. *Melanoma Res* 1998, 8: 205-10.
  55. *Lissoni P, Brivio F, Barni S, et al.* Neuroimmunotherapy of human cancer with interleukin-2 and the neurohormone melatonin: its efficacy in preventing hypotension. *Anticancer Res* 1990, 10: 1759-62.
  56. *Lissoni P, Meregalli S, Noserto L, et al.* Increased survival time in brain glioblastomas by a radioneuroendocrine strategy with radiotherapy plus melatonin compared to radiotherapy alone. *Oncology* 1996, 53: 43-6.
  57. *Lissoni P, Barni S, Tancini G, et al.* A randomized study with subcutaneous low dose interleukin 2 alone vs interleukin 2 plus the pineal neurohormone melatonin in advanced solid neoplasms other than renal cancer and melanoma. *Br J Cancer* 1994, 69: 196-9.
  58. *Lissoni P, Ardizzoia A, Barni S, et al.* A randomized study of tamoxifen alone versus tamoxifen plus melatonin in estrogen receptor negative heavily pretreated metastatic breast cancer patients. *Oncol Reports* 1995, 2: 871-3.
  59. *Lissoni P, Ardizzoia A, Barni S, Brivio F, Tisi E, Rovelli F, et al.* Efficacy and tolerability of cancer neuroimmunotherapy with subcutaneous low dose interleukin-2 and the pineal hormone melatonin: a progress report of 200 patients with advanced solid neoplasms. *Oncol Reports* 1995, 2: 1063-8.
  60. *Lissoni P, Barni S, Brivio F, et al.* A biological study on the efficacy of low dose subcutaneous interleukin-2 plus melatonin in the treatment of cancer related thrombocytopenia. *Oncology* 1995, 52: 360-2.
  61. *Lissoni P, Barni S, Mandala M, et al.* Decreased toxicity and increased efficacy of cancer chemotherapy using the pineal hormone melatonin in metastatic solid tumour patients with poor clinical status. *European Journal of Cancer* 1999, 35: 1688-92.
  62. *Travis RC, Allen DS, Fentiman IS, Key TJ.* Melatonin and breast cancer: A prospective study. *Journal of the National Cancer Institute* 2004, 96(6): 475-82.
  63. *Falkson G, Falkson HC, Steyn ME, Rapoport BL.* Plasma melatonin in patients with breast cancer. *Oncology* 1990, 47: 401-5.
  64. *Mazzoccoli G, Carughi S, De Cata A, La Viola M, Vendemmiale G.* Melatonin and cortisol serum levels in lung cancer patients at different stages of disease. *Med Sci Monit* 2005, 11(6): 284-8.
  65. *Yu HS, Reiter RJ.* MELATONIN: Biosynthesis, Physiological Effects, and Clinical Applications. CRC Press, Inc, 1993.
  66. *Chan TY, Taug PL.* Characterization of the antioxidant effects of melatonin and related indoleamines in vitro. *J Pineal Res* 1996, 20: 187-91.

67. Reiter RJ, Melchiori D, Sewerynek E, et al. A review of the evidence supporting melatonin's role as an antioxidant. *J Pineal Res* 1995, 18: 1-11.
68. Reiter RJ. Oxidative processes and antioxidative defense mechanism in the aging brain. *FASEB J* 1995, 9: 526-33.
69. Reiter RJ. The indoleamine melatonin as a free radical scavenger, electron donor and antioxidant. *Adv Exp Med Biol* 1996, 398: 307-13.
70. Tan DX, Poeggeler B, Reiter RJ, et al. The pineal hormone melatonin inhibits DNA-adduct formation induced by the chemical carcinogen safrole in vivo. *Cancer Lett* 1993, 70: 65-71.
71. Marshall KA, Reiter RJ, Poeggeler B, Aruoma OI, Hallwell B. Evaluation of the antioxidant activity of melatonin in vitro. *Free Radical Biology and Medicine* 1996, 21: 307-15.
72. Susa N, Ueno S, Furukawa Y, Ueba J, Sugiyama M. Potent protective effect of melatonin on chromium (VI) induced DNA single-strand breaks, cytotoxicity, and lipid peroxidation in primary cultures of rat hepatocytes. *Toxicol and Applied Pharmacol* 1997, 144: 377-84.
73. Garcia JJ, Reiter RJ, Guerrero JM, et al. Melatonin prevents changes in microsomal membrane fluidity during induced lipid peroxidation. *FEBS Letters* 1997, 408: 297-300.
74. Maestroni GJM. MLT and the immune-hematopoietic system. *Adv Exp Med Biol* 1999, 460: 395-405.
75. Maestroni GJM. The immunoneuroendocrine role of melatonin. *J Pineal Res* 1993, 14: 1-10.
76. Caroleo MC, Frasca D, Nistico G, Doria G. Melatonin as immunomodulator in immunodeficient mice. *Immunopharmacology* 1992, 23: 81-9.
77. Morrey KM, McLachlan JA, Serkin CD, Bakouche O. Activation of human monocytes by the pineal hormone melatonin. *The Journal of Immunology* 1994, 153: 2671.

*Αλληλογραφία:*

Θ.Σ. Λιαλιάρης

Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης

Τ.θ. 93

681 00 Αλεξανδρούπολη

*Corresponding author:*

Th.S. Lialiaris

Demokritus University of Thrace

P.O. Box 93

681 00, Alexandroupolis

Greece



## Η ερπητική εγκεφαλίτιδα σε νοσοκομείο ειδικών παθήσεων τα έτη 1991-2003

Φ. Καμάρια<sup>1</sup>, Α. Κανάκη<sup>1</sup>, Α. Παπαλεξανδρή<sup>1</sup>, Δ. Κολοκοτρώνη<sup>1</sup>, Δ. Καραμπαξόγλου<sup>2</sup>, Σ. Μήτκα<sup>2</sup>, Α. Κανσουζίδου<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Παθολογική Κλινική,

<sup>2</sup> Μικροβιολογικό Εργαστήριο, Νοσοκομείο Ειδικών Παθήσεων (Λοιμωδών) Θεσσαλονίκης

**Περίληψη.** Σκοπός της αναδρομικής αυτής μελέτης είναι η παρουσίαση περιπτώσεων ερπητικής εγκεφαλίτιδας που νοσηλεύτηκαν στην Παθολογική Κλινική του ΝΕΠΘ τα έτη 1991-2003. Η διάγνωση βασίστηκε στα ακτινολογικά ευρήματα, στην ανίχνευση αντισωμάτων (IgM, IgG) έναντι του HSV1,2 στον ορό ή και στο ENY και στην ανίχνευση του DNA του ιού στο ENY με PCR μετά από το 2000. Διαπιστώθηκαν 12 περιπτώσεις, 5 άνδρες και 7 γυναίκες, μέσης ηλικίας 32 ετών, οι 7 κατά το χρονικό διάστημα 2000-2003. Όλοι οι ασθενείς κατά την εισαγωγή στην κλινική παρουσίαζαν πυρετό, κεφαλαλγία και διαταραχές του επιπέδου συνείδησης, ενώ οι 6 εμφάνιζαν και επιληπτική κρίση. Σε όλους τους ασθενείς διαπιστώθηκαν διαταραχές του ENY, όπως αύξηση των κυττάρων με υπεροχή των λεμφοκυττάρων και αύξηση του λευκάματος. Ο απεικονιστικός έλεγχος με MRI του εγκεφάλου έδειξε σε όλους

τους ασθενείς παθολογικό σήμα στις μετωποκροταφικές περιοχές. Σε 3 ασθενείς η διάγνωση στηρίχθηκε στην PCR στο ENY. Σε άλλες 3 περιπτώσεις η διάγνωση στηρίχθηκε στην ανίχνευση των ειδικών αντισωμάτων στον ορό και το ENY. Στις υπόλοιπες περιπτώσεις η διάγνωση βασίστηκε στα ακτινολογικά ευρήματα. Η έκβαση στους 7 ασθενείς ήταν ικανοποιητική, δύο ασθενείς (16%) κατέληξαν και 3 ασθενείς (25%) είχαν υπολειμματικές διαταραχές, είτε νευρολογικής φύσης, είτε από την ψυχική σφαίρα. Συμπερασματικά, η ερπητική εγκεφαλίτιδα είναι μία σπάνια και σοβαρή νόσος, με συχνό επακόλουθο μόνιμες νευρολογικές διαταραχές και σημαντική θνητότητα. Η χρήση της PCR τα τελευταία χρόνια βοηθά στην έγκαιρη και σίγουρη διάγνωση της νόσου.

*Ελλην Ιατρ 2005, 71: 275 - 280.*

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η εγκεφαλίτιδα από τον ιό του απλού έρπητα (HSV-1) είναι η σοβαρότερη νοσολογική οντότητα που προκαλείται από ερπητοϊό και έχει περιγραφεί διεξοδικά. Είναι η πιο συχνά διαγνωσμένη αιτία οξείας σποραδικής εγκεφαλίτιδας στο Δυτικό κόσμο<sup>1-3</sup>. Ο HSV-1 ευθύνεται για το 2-37% των περιπτώσεων εγκεφαλίτιδας<sup>4,5</sup>. Έχει ετήσια συχνότητα 1-4 περιπτώσεις ανά 1.000.000 ανθρώπους<sup>6</sup> και χωρίς θεραπεία προκαλεί σημαντική νοσηρότητα και θνητότητα<sup>7</sup>. Ο HSV-2 προκαλεί την εγκεφαλίτιδα των νεογνών, μία νόσο με μεγάλη

νοσηρότητα και θνητότητα που οφείλεται σε περιγενετική μετάδοση του ιού από μητέρες, με ή χωρίς ερπητικές δερματικές βλάβες στα γεννητικά όργανα, κατά τη χρονική περίοδο γύρω από τον τοκετό.

Η κλινική εικόνα της ερπητικής εγκεφαλίτιδας χαρακτηρίζεται από πυρετό, διαταραχές του επιπέδου συνείδησης και εστιακά νευρολογικά ευρήματα, όπως σπασμούς και ημιπάρεση. Η εστιακή αυτή συμπτωματολογία οφείλεται στη νευρωτική εγκεφαλίτιδα που προκαλεί ο ιός, με ιδιαίτερη εντόπιση στις μετωποκροταφοβρεγματικές

περιοχές του εγκεφάλου, η οποία δημιουργεί και πολύ χαρακτηριστική ακτινολογική εικόνα στην αξονική (CT) και ιδίως στη μαγνητική τομογραφία (MRI)<sup>7</sup>. Βέβαια τα τελευταία χρόνια έχει περιγραφεί μια μεγάλη ποικιλία συμπτωμάτων λοίμωξης από HSV-1 που περιλαμβάνει και ηπιότερες μορφές λοίμωξης του ΚΝΣ, όπως και ασυνήθιστα νευρολογικά σύνδρομα<sup>8</sup>.

Η έγκαιρη διάγνωση της ερπητικής εγκεφαλίτιδας είναι θεμελιώδους σημασίας για την έκβαση της νόσου, επειδή υπάρχει ειδική αιτιολογική θεραπεία η αποτελεσματικότητα της οποίας εξαρτάται από την έγκαιρη έναρξή της<sup>9</sup>. Στη διάγνωση της ερπητικής εγκεφαλίτιδας, εκτός από τις απεικονιστικές μεθόδους με CT και MRI, τα τελευταία χρόνια χρησιμοποιούνται με μεγάλη επιτυχία μοριακές μέθοδοι, όπως η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR)<sup>10,11</sup>.

Σκοπός της αναδρομικής αυτής μελέτης είναι η παρουσίαση περιπτώσεων ερπητικής εγκεφαλίτιδας που νοσηλεύτηκαν στην Παθολογική Κλινική του ΝΕΠΘ τη χρονική περίοδο 1991-2003.

## ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Αναζητήθηκαν από τα αρχεία της Κλινικής οι περιπτώσεις που νοσηλεύτηκαν με διάγνωση ερπητική εγκεφαλίτιδα από το 1991 έως το 2003. Οι περιπτώσεις αυτές επιλέχτηκαν από ένα σύνολο 167 ιογενών εγκεφαλιτίδων που νοσηλεύτηκαν στην κλινική το ανωτέρω χρονικό διάστημα. Η διάγνωση της εγκεφαλίτιδας βασίστηκε στην κλινική εικόνα με τον πυρετό, τις διαταραχές του επιπέδου συνείδησης, τα εστιακά ευρήματα (ημιπάρεση κλπ) και τις επιληπτικές κρίσεις. Στη διάγνωση της εγκεφαλίτιδας συνέβαλε και η εξέταση του εγκεφαλονωτιαίου υγρού που έδειξε μικρό αριθμό λευκών αιμοσφαιρίων με υπεροχή των λεμφοκυττάρων, μέτρια αυξημένο λεύκωμα και φυσιολογική γλυκόζη.

Η καταχώρηση στο αρχείο μιας εγκεφαλίτιδας ως ερπητική βασίστηκε στα ακτινολογικά ευρήματα, στη χαρακτηριστική δηλαδή εικόνα με το παθολογικό σήμα στους μετωποκροταφικούς λοβούς που προκαλεί ο HSV-1 στην MRI, στην ανίχνευση ειδικών αντισωμάτων έναντι του HSV1,2 στον ορό ή/και στο ENY, ενώ, μετά από το 2000, προστέθηκε ως διαγνωστικό μέσο και η ανίχνευση του DNA του ιού στο ENY με PCR.

Όλοι οι ασθενείς με την είσοδο τους στην κλινική υπεβλήθησαν σε μια οσφουονωτιαία παρακέντηση, που ανάλογα με την κλινική πορεία του ασθενούς, επαναλήφθηκε μια ή και περισσότερες φορές. Σε όλους τους ασθενείς έγινε ο έλεγχος ρουτίνας με αιματολογικές και βιοχημικές εξετάσεις για τον αποκλεισμό άλλων καταστάσεων. Επίσης, εκτός από την κυτταροχημική εξέταση του ENY έγιναν καλλιέργειες για κοινά μικρόβια, μυκοβακτηρίδιο και μύκητες, από το αρνητικό αποτέλεσμα των οποίων αποκλείστηκαν άλλα είδη λοιμώξεων του ΚΝΣ.

Οι περισσότεροι ασθενείς υπεβλήθησαν αρχικά σε CT

και όλοι οι ασθενείς σε MRI. Το σύνηθες πρωτόκολλο της MRI περιελάμβανε T1 και T2 ακολουθίες, FLAIR ακολουθία, καθώς και χρήση ενδοφλέβιου σκιαστικού.

Για την αναζήτηση των ειδικών IgM και IgG αντισωμάτων έναντι του HSV στον ορό και στο ENY χρησιμοποιήθηκε η ανοσοενζυμική μέθοδος ELISA. Για την επιβεβαίωση της ερπητικής εγκεφαλίτιδας αξιολογήθηκαν η παρουσία IgM αντισωμάτων στο ENY, η διαφορά τίτλου IgG αντισωμάτων σε δύο οσφουονωτιαίες παρακεντήσεις, καθώς και η τεκμηριωμένη ενδοραχιαία παραγωγή αντισωμάτων σε μία παρακέντηση<sup>12</sup>.

Για την ανίχνευση του DNA του HSV στο ENY με τη μέθοδο της PCR χρησιμοποιήθηκε τμήμα 320 ζευγών βάσεων του γονιδίου της κινάσης της θυμιδίνης σαν στόχος για ενίσχυση του DNA του ιού<sup>13</sup>. Τα προϊόντα της PCR ηλεκτροφορήθηκαν σε πηκτή αгарόζης.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Από τον έλεγχο των αρχείων της κλινικής διαπιστώθηκαν 12 περιπτώσεις με διάγνωση ερπητική εγκεφαλίτιδα, 5 άνδρες και 7 γυναίκες, μέσης ηλικίας ( $X \pm SD$ )  $32 \pm 12$  έτη. Οι 7 περιπτώσεις διαπιστώθηκαν κατά το χρονικό διάστημα 2000-2003. Όλοι οι ασθενείς κατά την εισαγωγή στην κλινική παρουσίαζαν πυρετό, κεφαλαλγία και διαταραχές του επιπέδου συνείδησης, ενώ οι 6 εμφάνιζαν και επιληπτική κρίση. Η μέση διάρκεια νοσηλείας ήταν 23 ημέρες.

Σε όλους τους ασθενείς διαπιστώθηκαν διαταραχές του ENY. Από την κυτταροχημική εξέταση του ENY βρέθηκαν ( $X \pm SD$ )  $116 \pm 183$  κύτταρα/ $\text{mm}^3$  με υπεροχή των λεμφοκυττάρων, λεύκωμα  $90 \pm 47$  mg/dl και γλυκόζη  $60 \pm 10$  mg/dl.

Ο απεικονιστικός έλεγχος του εγκεφάλου με MRI που υπήρξε καθοριστικός για τη διάγνωση, έδειξε σε όλους τους ασθενείς παθολογικό σήμα στις μετωποκροταφικές περιοχές. Σε 3 ασθενείς η διάγνωση επιπλέον στηρίχθηκε στην ανίχνευση των ειδικών αντισωμάτων στον ορό και το ENY, ενώ σε άλλες 3 περιπτώσεις η ανίχνευση του DNA του ιού στο ENY με την PCR επιβεβαίωσε τη διάγνωση.

Η έκβαση στους 7 ασθενείς ήταν ικανοποιητική, δύο ασθενείς (16%) κατέληξαν και 3 ασθενείς (25%) είχαν υπολειμματικές διαταραχές, είτε νευρολογικής φύσης, είτε από την ψυχική σφαίρα.

Στον πίνακα 1 καταγράφονται κλινικές/επιδημιολογικές και στον πίνακα 2 εργαστηριακές παραμέτρους των ασθενών με ερπητική εγκεφαλίτιδα.

Οι ασθενείς υπεβλήθησαν σε θεραπεία με ακυκλοβίρη (zovirax 30 mg/kg) για 21 τουλάχιστον ημέρες. Η έναρξη της θεραπείας έγινε αμέσως μετά την είσοδο των ασθενών στην κλινική, όταν από την κλινική συμπτωματολογία τέθηκε η διάγνωση

**Πίνακας 1.** Επιδημιολογικά και κλινικά ευρήματα των ασθενών με ερπητική εγκεφαλίτιδα

	Φύλο	Ηλικία	Έτος	Μέρες νοσηλείας	Τρόπος διάγνωσης	Κλινικά ευρήματα (ΚΝΣ)	Έκβαση
1	Άρρεν	22	1993	23	MRI	Δυσαρθρία, grand mal	Επιπλοκές (οργανικό ψυχοσύνδρομο)
2	Άρρεν	17	1994	28	Αντισώματα, MRI	Κλίμακα Γλασκώβης 11	Ίαση
3	Θήλυ	17	1995	21	MRI	Αφασικές διαταραχές κατονομαστικού τύπου	Ίαση
4	Άρρεν	32	1999	30	Αντισώματα, MRI	Κλίμακα Γλασκώβης 11, grand mal	Ίαση
5	Θήλυ	32	1999	22	MRI	Κλίμακα Γλασκώβης 12	Ίαση
6	Άρρεν	49	2000	19	PCR MRI	Διαταραχές συμπεριφοράς	Ίαση
7	Θήλυ	37	2002	19	Αντισώματα, MRI	Κλίμακα Γλασκώβης 11, grand mal	Ίαση
8	Θήλυ	50	2002	28	MRI	Διαταραχές συμπεριφοράς	Ίαση
9	Θήλυ	29	2002	29	MRI	Κλίμακα Γλασκώβης 9, grand mal	Επιπλοκές (ημιπάρεση)
10	Άρρεν	34	2002	24	MRI	Κλίμακα Γλασκώβης 11	Επιπλοκές (Οργανικό ψυχοσύνδρομο)
11	Άρρεν	18	2003	30	PCR, MRI	Κλίμακα Γλασκώβης 9, grand mal	Θάνατος
12	Θήλυ	50	2003	8	PCR, MRI	Κλίμακα Γλασκώβης 9, grand mal	Θάνατος

της εγκεφαλίτιδας. Εκτός από την ακυκλοβίρη οι ασθενείς πήραν ενδοφλέβια υγρά, αποιδηματική αγωγή με μαννιτόλη, καθώς και αντιεπιληπτική αγωγή (κυρίως με φαινυτοΐνη). Η αντιεπιληπτική αγωγή δόθηκε σε όλους τους ασθενείς, ακόμη και σε αυτούς που δεν έκαναν επιληπτική κρίση, σαν προληπτική αγωγή. Η παρακολούθηση της θεραπείας των ασθενών έγινε με εξέταση του ENY.

### ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η ερπητική εγκεφαλίτιδα είναι σπάνια νόσος, όπως επιβεβαιώνεται και από τη δική μας μελέτη. Σε διάστημα 13 ετών μόνο 12 περιπτώσεις ταξινομήθηκαν με αυτή τη διάγνωση. Η κλινική συμπτωματολογία είναι όπως σε οποιαδήποτε εγκεφαλίτιδα με πυρετό, κεφαλαλγία και διαταραχές του επιπέδου συνείδησης, καθώς και επιληπτικές κρίσεις. Συνήθως η κλινική εικόνα είναι βαριά, αν και υπάρχουν και ηπιότερες περιπτώσεις.

Η νοσηλεία είναι μακρόχρονη με μέση διάρκεια 23 ημέρες. Σε αυτό συντελεί και η διάρκεια της θεραπείας, που σύμφωνα με τις τελευταίες απόψεις διαρκεί τουλάχιστον 21 ημέρες.

Η ερπητική εγκεφαλίτιδα έχει πάντα ευρήματα από το ENY, σε αντίθεση με άλλες μορφές εγκεφαλίτιδας, ιδίως μεταλοιμώδους αιτιολογίας, όπου το

ENY μπορεί να είναι τελείως φυσιολογικό. Υπάρχει λεμφοκυτταρική πλειοκυττάρωση, αύξηση του λευκόματος και φυσιολογική γλυκόζη<sup>14</sup>.

Η διάγνωση της νόσου μέχρι πρόσφατα, παρουσίαζε σημαντικές δυσκολίες. Ο απεικονιστικός έλεγχος με MRI υπήρξε καθοριστικός. Η CT είναι και αυτή χρήσιμη, δεν έχει όμως τόσο μεγάλη διακριτική ικανότητα. Υπάρχουν περιπτώσεις όπου η CT είναι αρνητική και η MRI δείχνει τις χαρακτηριστικές αλλοιώσεις της νόσου στις μετωποκροταφικές περιοχές του εγκεφάλου. Οι αλλοιώσεις μερικές φορές εμφανίζονται σε δεύτερο χρόνο. Όλες οι περιπτώσεις της μελέτης είχαν τις χαρακτηριστικές αλλοιώσεις της ερπητικής εγκεφαλίτιδας, όμως αυτές οι αλλοιώσεις δεν είναι παθολογικές της νόσου, καθώς όλες οι ερπητικές εγκεφαλίτιδες δεν είναι νεκρωτικού τύπου, ούτε και όλες οι νεκρωτικές εγκεφαλίτιδες είναι ερπητικής αιτιολογίας<sup>15</sup>.

Από τις αρχές της δεκαετίας του '90 η χρήση της τεχνικής της PCR έχει αναδειχθεί σε ακρογωνιαίό λίθο της διάγνωσης των ερπητικών λοιμώξεων του ΚΝΣ<sup>7-9,16</sup>. Η μέθοδος θεωρείται πως έχει ευαισθησία και ειδικότητα παρόμοια ή και ανώτερη της βιοψίας εγκεφάλου για τη διάγνωση της ερπητικής εγκεφαλίτιδας<sup>17</sup>. Η μη επεμβατικότητα της

**Πίνακας 2.** Εργαστηριακά ευρήματα στους ασθενείς με ερπητική εγκεφαλίτιδα

	Ευρήματα CT	Ευρήματα MRI	Τίτλος Αντισωμ. Ορού (ratio)	Τίτλος Αντισωμ. ENY (ratio)	Λευκά αιμοσ/mm <sup>3</sup> (% λεμφοκύτταρα)	Λεύκωμα (mg/dl) (Φ.Τ. 15-45)	Γλυκόζη (mg/dl) (Φ.Τ. 35-60)
1	Υπόπυκνη περιοχή κροταφοβρεγματικά ΔΕ & μικρότερη AP	Παρουσία παθολογικού σήματος ΔΕ κροταφικά με επέκταση ινιακά. Παρόμοια AP κροταφικά			4	103	62
2	Υπόπυκνη περιοχή AP κροταφικά	Παρουσία παθολογικού σήματος AP κροταφικά	IgM (-) IgG 2,9	IgM (-) IgG 2,8	140 (90%)	141	53
3	κφ	Διόγκωση AP κροταφικού λοβού με παθολογική ένταση σήματος, αιμορραγική εστία			16 (80%)	78	65
4	κφ	Παθολογικό σήμα στον κροταφικό λοβό AP με οίδημα και αιμορραγίες	IgM 1,5 IgG 2,8	IgM (-) IgG 4,5	60 (80%)	50	70
5	Υπόπυκνη περιοχή ΔΕ κροταφικά	Παθολογικό σήμα ΔΕ κροταφικά			42 (60%)	81	79
6	κφ	Οίδημα ΔΕ κροταφικά με επέκταση μετωπιαία			680 (95%)	204	40
7	Υπόπυκνη περιοχή ΔΕ κροταφικά με επέκταση μετωπιαία	Ισχαιμική περιοχή σε φάση επαναιμάτωσης κροταφοβρεγματο-μετωπιαία ΔΕ	IgM 4,8 IgG 3	IgM 1,5 IgG 1,5	147 (90%)	123	68
8	Δεν έγινε	Παθολογικό σήμα κροταφομετωπιοβρεγματικά AP χωρίς εμπλουτισμό			26 (80%)	42	59
9	κφ	Παρουσία παθολογικού σήματος κροταφοϊνιακά ΔΕ			99 (70%)	40	54
10	Υπόπυκνη περιοχή στον κροταφικό λοβό ΔΕ	Παθολογικό σήμα στον κροταφικό λοβό και στον ιππόκαμπο ΔΕ			40 (90%)	65	56
11	Δεν έγινε	Εκτεταμένη περιοχή παθολογικού σήματος στον ιππόκαμπο ΔΕ με μέτριο εμπλουτισμό			60 (85%)	82	54
12	Δεν έγινε	Παθολογικό σήμα κροταφοβρεγματικά AP με οίδημα			86 (80%)	76	68

μεθόδου και η δυνατότητα ανίχνευσης του DNA του ιού από τα πολύ αρχικά στάδια της νόσου, έχουν βοηθήσει σημαντικά την έγκαιρη διάγνωση και επομένως τη θεραπεία και την έκβαση της νόσου. Επίσης, η μέθοδος μπορεί να είναι αποτελεσματική ακόμη και για λίγες ημέρες μετά την έναρξη της αντιϊκής θεραπείας. Η διάγνωση σήμερα είναι σίγουρη μόνο με την PCR, γιατί βιοψία εγκεφάλου δεν γίνεται πια.

Η ανίχνευση των αντισωμάτων στον ορό και στο ENY ταυτόχρονα μπορεί να βοηθήσει στη διάγνωση, ιδίως αν γίνει αρκετές μέρες μετά την έναρξη των συμπτωμάτων<sup>18</sup>. Επειδή όμως η μέθοδος ELISA είναι πολύ ευαίσθητη, θα πρέπει να γίνεται διόρθωση του τίτλου των αντισωμάτων, λόγω

της παθητικής εισόδου αντισωμάτων από τον ορό στο ENY, εξ αιτίας της αυξημένης διαβατότητας του αιματοεγκεφαλικού φραγμού. Αυτό μπορεί να γίνει με ταυτόχρονο υπολογισμό της τιμής μιας πρωτεΐνης-μάρτυρα, στον ορό και στο ENY και στον υπολογισμό του “antibody index”, ώστε να επιβεβαιωθεί η ενδοραχιαία παραγωγή των αντισωμάτων<sup>12</sup>. Στο μικροβιολογικό εργαστήριο του νοσοκομείου μας για την τεκμηρίωση της ενδοραχιαίας παραγωγής των αντισωμάτων χρησιμοποιούνται αντισώματα προς διάφορα αντιγόνα κοινών ιών, όπως της ερυθράς ή της ιλαράς. Υψηλός τίτλος των αντισωμάτων αυτών στον ορό και απουσία τους από το ENY αποκλείει την είσοδο των IgG αντισωμάτων έναντι του HSV από τον ορό στο ENY, λόγω



διαταραχής του αιματοεγκεφαλικού φραγμού.

Έτσι, στη μελέτη μας, σε τρία περιστατικά η διάγνωση έγινε από την ανίχνευση των αντισωμάτων και σε άλλα τρία με τη μέθοδο της PCR. Ίσως γι' αυτό τα περισσότερα περιστατικά τοποθετούνται τα τελευταία χρόνια. Η χρήση της PCR βοήθησε στην ανίχνευση κάποιων περιπτώσεων που δεν είχαν πολύ έντονη συμπτωματολογία και όπου η CT δεν είχε δείξει εξ αρχής αλλοιώσεις, που φάνηκαν όμως αργότερα με την MRI (περίπτωση Νο 6 από τον πίνακα 1).

Η πρόγνωση της νόσου γενικά δεν είναι καλή. Στη μελέτη μας δύο ασθενείς κατέληξαν και τρεις άλλοι ασθενείς είχαν υπολειμματικές διαταραχές είτε από την ψυχική σφαίρα, είτε νευρολογικής φύσης. Η βελτίωση όσον αφορά στα ποσοστά της κακής έκβασης στις μέρες μας (θνητότητα 16% στη μελέτη μας) οφείλεται στην άμεση έναρξη της αγωγής με ακυκλοβίρη σε όλες τις περιπτώσεις με κλινική εικόνα εγκεφαλίτιδας, πριν να προσδιοριστεί η ερπητική αιτιολογία. Πριν από τη χρησιμοποίηση της ακυκλοβίρης η ερπητική εγκεφαλίτιδα είχε θνητότητα > 50%<sup>19</sup>.

Επιδημιολογικές μελέτες για την ερπητική εγκεφαλίτιδα στη χώρα μας, από όσο μας είναι γνωστό, δεν υπάρχουν. Τα αποτελέσματα της μελέτης μας συμφωνούν με άλλες μελέτες, όπως των Najjoulah και συν<sup>9</sup> όπου η ερπητική εγκεφαλίτιδα είναι πολύ σπάνια (7 περιπτώσεις διαγνωσμένες με PCR από 1339 ασθενείς με πιθανή λοίμωξη του ΚΝΣ) και η θνητότητα και οι υπολειπόμενες βλάβες σε παρόμοια με μας συχνότητα (από τους 7 ένας κατέληξε και 4 είχαν επιπλοκές). Εξ ίσου σπάνια είναι η διάγνωση της ερπητικής εγκεφαλίτιδας στη μελέτη των Saurberei και συν<sup>20</sup>. Από 631 ENY υπόπτων για εγκεφαλίτιδα ασθενών 8 είχαν PCR θετική για HSV. Στη μελέτη των McGrath και συν<sup>21</sup> που περιελάμβανε υλικό από το 1983 έως το 1995, εποχή που η χρήση της PCR δεν ήταν τόσο διαδεδομένη, συναντάμε παρόμοια δυσκολία με μας στη διάγνωση. Η διάγνωση της ερπητικής εγκεφαλίτιδας βασίστηκε είτε στη βιοψία εγκεφάλου, είτε στην ανίχνευση αντισωμάτων, είτε στην PCR. Επίσης η θνητότητα ήταν 12% και το 20% είχε σοβαρές υπολειπόμενες διαταραχές.

Συμπερασματικά, η ερπητική εγκεφαλίτιδα είναι μία σπάνια και σοβαρή νόσος, με συχνό επακόλουθο μόνιμες νευρολογικές διαταραχές και σημαντική θνητότητα. Η χρήση της PCR τα τελευταία χρόνια βοηθά στην έγκαιρη και σίγουρη διάγνωση της νόσου.

## ABSTRACT

**Kamaria F, Kanaki A, Papalexandri A, Kolokotroni D, Karabaxoglou D, Mitka S, Kansouzidou A. Herpes simplex encephalitis at an infectious diseases hospital from 1991 to 2003. *Hell Iatr* 2005, 71: 275-280.**

We report a retrospective analysis of 12 patients, five men and seven women, mean age 32 years old, hospitalized in our clinic with herpes simplex encephalitis, during the period 1991-2003. Seven of the cases were treated from 2000 to 2003. The diagnosis was established by the MRI scan findings, the detection of IgM/IgG HSV1,2 antibodies in the serum and/or the cerebral spinal fluid (CSF) and, since 2000, by DNA amplification of CSF, using PCR. All patients presented with fever, headache and altered level of consciousness and six of them had seizures. All patients demonstrated CSF abnormalities, as lymphocytic reaction and elevated protein level. The MRI showed frontal-temporal lesions in all cases. In three patients, the diagnosis was confirmed by PCR of the CSF. In another three patients, specific antibodies were detected in the serum and CSF. The outcome was satisfactory in seven cases, two patients (16%) succumbed and three more patients (25%) had neurological sequelae or behavioral changes. In conclusion, herpes simplex encephalitis is an unusual, but serious disease with substantial morbidity and mortality. Over the last years, the use of PCR contributes to a quick and accurate diagnosis.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Johnson RT. Acute encephalitis. *Clin Infect Dis* 1996, 23: 219-26.
2. Whitley RJ. Viral encephalitis. *N Engl J Med* 1990, 323: 242-50.
3. Glaser CA, Gilliam S, Schnurr D, et al. In search of encephalitis etiologies: diagnostic challenges in the California encephalitis project, 1998-2000. *Clin Infect Dis* 2003, 36: 731-42.
4. Kennard C, Swash M. Acute viral encephalitis, its diagnosis and outcome. *Brain* 1981, 104: 129-48.
5. Studahl M, Bergstrom T, Hagberg L. Acute viral encephalitis in adults-a prospective study. *Scand J Infect Dis* 1998, 30: 215-20.
6. Whitley RJ, Lakeman F. Herpes simplex virus infections of the central nervous system: therapeutic and diagnostic considerations. *Clin Infect Dis* 1995, 20: 414-20.
7. Cinque P, Cleator GM, Weber T, Monteyne P, Sindic GJ, van Loon AM. The role of laboratory investigation in the diagnosis and management of patients with suspected herpes simplex encephalitis: a consensus re-

- port. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1996, 61: 339-45.
8. Domingues RB, Tsanaclis AM, Pannuti CS, Mayo MS, Lakeman FD. Evaluation of the range of clinical presentations of herpes simplex encephalitis by using polymerase chain reaction assay of cerebrospinal fluid samples. *Clin Infect Dis* 1997, 25: 86-91.
  9. Najioullah F, Bosshard S, Thouvenot D, et al. Diagnosis and surveillance of herpes simplex virus infection of the central nervous system. *J Med Virol* 2000, 61: 468-73.
  10. Aurelius E, Johansson B, Skoldenberg B, Staland A, Forsdren M. Rapid diagnosis of herpes simplex encephalitis by nested polymerase chain reaction assay of cerebrospinal fluid. *Lancet* 1991, 337: 189-92.
  11. Yang S, Rothman RE. PCR-based diagnostics for infectious diseases: uses, limitations, and future applications in acute-care settings. *Lancet Infect Dis* 2004, 4: 337-48.
  12. Reiber H, Lange P. Quantification of virus-specific antibodies in cerebrospinal fluid and serum: sensitive and specific detection of antibody synthesis in brain. *Clin Chem* 1991, 37: 1153-60.
  13. Kimura H, Futamura M, Kito H, et al. Detection of viral DNA in neonatal herpes simplex virus infections: frequent and prolonged presence in serum and cerebrospinal fluid. *J Infect Dis* 1991, 164: 289-93.
  14. Griffin DE. Encephalitis, myelitis and neuritis. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Principles and practice of infectious diseases. New York: Churchill Livingstone 2000: 1009-16.
  15. Skoldenberg B. Herpes simplex encephalitis. *Scand J Dis* 1996, 100 (Suppl): 8-13
  16. Tang YW, Hibbs JR, Kimberly RT, et al. Effective use of polymerase chain reaction for diagnosis of central nervous system infections. *Clin Infect Dis* 1999, 29: 803-6.
  17. Fodor PA, Levin MJ, Weinberg A, Sandberg E, Sylman J, Tyler KL. Atypical herpes simplex encephalitis diagnosed by PCR amplification of viral DNA from CSF. *Neurology* 1998, 51: 554-9.
  18. Klapper PE, Cleator GM. The diagnosis of herpes encephalitis. *Rev Med Microbiol* 1992, 3: 151-8.
  19. Lakeman FD, Whitley RS. Diagnosis of herpes simplex encephalitis: application of polymerase chain reaction to cerebrospinal fluid from brain-biopsied patients and correlation with disease. *J Infect Dis* 1995, 171: 857-63.
  20. Sauerbrei A, Eichhorn U, Hottenrott G, Wurler P. Virological diagnosis of herpes simplex encephalitis. *J Clin Virol* 2000, 17: 31-6.
  21. McGrath N, Anderson NE, Croxson MC, Powell F. Herpes simplex encephalitis treated with acyclovir: diagnosis and long term outcome. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1997, 63: 321-6.

*Αλληλογραφία:*

Φ. Καμάρια  
Παθολογική Κλινική  
Νοσοκομείο Ειδικών Παθήσεων  
Γρ. Λαμπράκη 13  
546 38 Θεσσαλονίκη

*Corresponding author:*

F. Kamaria  
Medical Department  
Hospital of Infections Diseases  
Gr. Lampraki 13  
546 38 Thessaloniki  
Greece

## Μη τραυματική ραβδομύτωση και οξεία νεφρική ανεπάρκεια από εξαρτησιογόνες ουσίες: Μελέτη εννέα περιπτώσεων

Μ. Αρμενάκα, Λ. Γαμβρίλη, Ε. Τσότσιου, Κ. Μικούδη, Δ. Κρικίδης, Μ. Σιών

Γ' Παθολογική Κλινική ΑΠΘ, Νοσοκομείο «Γ. Παπανικολάου», Θεσσαλονίκη

**Περίληψη.** Η μη τραυματική ραβδομύτωση οφείλεται σε ποικιλία αιτιών, συχνότερα των οποίων είναι η κατάχρηση αλκοόλης, οι λοιμώξεις και η χρήση εξαρτησιογόνων ουσιών. Στην παρούσα μελέτη συμπεριλήφθηκαν 9 άνδρες, ηλικίας 16-76 ετών ( $x=30,33$ ), οι οποίοι νοσηλεύτηκαν για ραβδομύτωση, μετά από χρήση εξαρτησιογόνων ουσιών (ηρωίνη, κοκαΐνη, βενζοδιαζεπίνες) μόνων ή σε συνδυασμό με αλκοόλη. Οι εκδηλώσεις από το Κ.Ν.Σ. ήταν τα συχνότερα κλινικά ευρήματα (8/9, 88,88%), και ακολουθούσαν οι εκδηλώσεις από τους μύες (7/9, 77,77%). Οξεία νεφρική ανεπάρκεια εμφάνισαν 6 από τους 9 αρρώστους (66,66%). Τα επίπεδα της CPK στον ορό κυμάνθηκαν από 2401 έως 243.000 U/L ( $\bar{x}=43817,22$  U/L), της SGOT από 150 έως 3.300 U/L ( $\bar{x}=1433,88$  U/L) και της LDH από 334 έως 5400 U/L ( $x=1981,44$  U/L). Υπερουριχαιμία είχαν 5 από τους 9 αρρώστους. Κατά την εισαγωγή των αρρώστων καταγράφηκαν και διαταραχές στα επίπεδα

των ηλεκτρολυτών του ορού, συχνότερες των οποίων ήταν η υπερκαλιαιμία (5/9 αρρώστους), η υποσβεστιαμία (4/9 αρρώστους), η υπερφωσφαταιμία (2/9 αρρώστους) και η υποφωσφαταιμία (1/9 αρρώστους). Η οξεία νεφρική ανεπάρκεια ήταν η συχνότερη επιπλοκή της νόσου και εμφανίστηκε σε 6 αρρώστους (66,66%). Παρόλο ότι ήταν πλήρως ανατάξιμη, παράτεινε τη νοσηλεία των αρρώστων στο νοσοκομείο. Η θεραπευτική αντιμετώπιση ήταν συντηρητική και περιλάμβανε ικανοποιητική ενυδάτωση, αλκαλοποίηση των ούρων και στους αρρώστους με νεφρική ανεπάρκεια τη χορήγηση φουροσεμίδης ή/και μαννιτόλης. Εξωνεφρική κάθαρση (τεχνητός νεφρός) απαιτήθηκε σε δύο αρρώστους εξαιτίας υπερκαλιαιμίας ή/και βαριάς μεταβολικής οξέωσης. Η έκβαση ήταν καλή και όλοι οι άρρωστοι εξήλθαν του νοσοκομείου με πλήρη αποκατάσταση της νεφρικής τους λειτουργίας.  
*Ελλην Ιατρ 2005, 71: 281 - 285.*

Η ραβδομύτωση είναι ένα κλινικό σύνδρομο που χαρακτηρίζεται από εκτεταμένη καταστροφή σκελετικών μυών, από αύξηση της κρεατινο-φωσφοκινάσης (CPK) στο πλάσμα, από μυοσφαιρινουρία και, όχι σπάνια, από οξεία νεφρική ανεπάρκεια (ONA). Για να θεωρηθεί μία μυϊκή καταστροφή ραβδομύτωση πρέπει τα επίπεδα της CPK στο πλάσμα να αυξηθούν τουλάχιστον πέντε φορές πάνω από τα ανώτερα φυσιολογικά όρια<sup>1</sup>.

Η μυοσφαιρινουρία προκαλεί το ιδιαίτερο και χαρακτηριστικό καστανό σκούρο χρώμα των

ούρων, αλλά δεν είναι δυνατόν να θεωρηθεί ως κύριο διαγνωστικό κριτήριο της ραβδομύτωσης, επειδή η μυοσφαιρίνη ταχύτατα απομακρύνεται και εξαφανίζεται από τα ούρα<sup>1,2</sup>.

Τα αίτια της ραβδομύτωσης διακρίνονται σε τραυματικά και σε μη τραυματικά. Μη τραυματικά αίτια είναι: η ισχαιμία, οι φλεγμονώδεις παθήσεις των μυών, η κατάχρηση οινοπνεύματος και εξαρτησιογόνων ουσιών, η λήψη ορισμένων φαρμάκων (π.χ. στατινών) και τοξινών, ορισμένα μεταβολικά και ενδοκρινικά νοσήματα και κληρονομικές εν-

**Πίνακας 1.** Τα επιδημιολογικά στοιχεία και η αιτία της ραβδομύωσης

Φύλο	Ηλικία	Επάγγελμα	Τόπος διαμονής	Ουσία
Άρρεν	16	Άνεργος	Θεσσαλονίκη	Ηρωίνη
Άρρεν	26	Άνεργος	Θεσσαλονίκη	Ηρωίνη Διαζεπίνες Αλκοόλ
Άρρεν	23	Άνεργος	Θεσσαλονίκη	Ηρωίνη Χασίς
Άρρεν	2	Ι.Υ	Κατερίνη	Ηρωίνη
Άρρεν	76	Συντ/ούχος	Θεσσαλονίκη	Βενζοδιαζεπίνες
Άρρεν	32	Άνεργος	Θεσσαλονίκη	Βενζοδιαζεπίνες
Άρρεν	25	Φοιτητής	Κύπρος	Κοκαΐνη Αλκοόλ
Άρρεν	19	Άνεργος	Θεσσαλονίκη	Ηρωίνη

**Πίνακας 2.** Τα συμπτώματα, τα σημεία και οι επιπλοκές

Συμπτώματα και σημεία	No	%	Επιπλοκές	No	%
Μυϊκά συμπτώματα	7	77,77	Υποβολαιμία	1	11,11
Κακουχία	2	22,22	Καρδιαγγειακά		
Πυρετός	4	44,44	συμβάματα	0	
Ταχυκαρδία	6	66,66	Ευρήματα		
			διαμερίσματος	0	
Ναυτία-Έμετος	1	11,11	διαμερίσματος	1	11,11
Συμπτώματα από το ΚΝΣ	8	88,88	DIC	0	
			O.N.A.	6	66,66

ζυμοπάθειες<sup>3</sup>. Οι Gabow και συν. θεωρούν ότι μεταξύ των επίκτητων αιτιών, η κατάχρηση αλκοόλης είναι το πρώτο σε συχνότητα αίτιο (67%) και ακολουθείται από τη χρήση εξαρτησιογόνων ουσιών (15%)<sup>1</sup>, ενώ άλλοι υποστηρίζουν ότι οι λοιμώξεις είναι το δεύτερο σε συχνότητα αίτιο μη τραυματικής ραβδομύωσης<sup>4-6</sup>.

Η συχνά παράλληλη κατανάλωση αλκοόλης και εξαρτησιογόνων ουσιών, συμβάλλει στην εμφάνιση της ραβδομύωσης, χωρίς να είναι δυνατόν να προσδιοριστεί επακριβώς η βασική αιτία της εμφάνισης του συνδρόμου.

Η οξεία νεφρική ανεπάρκεια είναι η συχνότερη και βαρύτερη επιπλοκή της ραβδομύωσης και η συχνότητα εμφάνισής της κυμαίνεται από 10% έως και στο 1/3 των αρρώστων<sup>2,4</sup>.

Στην παρούσα μελέτη έχουν καταγραφεί και αναλυθεί τα δεδομένα εννέα αρρώστων, που ανάπτυξαν ραβδομύωση μετά από χρήση εξαρτησιογόνων ουσιών.

### ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Στη μελέτη αυτή συμπεριλήφθηκαν εννέα άρρηνες ασθενείς, ηλικίας 16-76 ετών ( $\bar{x}$ =30,33), οι οποίοι νοσηλεύτηκαν για ραβδομύωση, απότοκο χρήσης εξαρτησιογόνων ουσιών.

Τα επιδημιολογικά δεδομένα των αρρώστων και η ακριβής αιτία της ραβδομύωσης αναγράφονται στον πίνακα 1.

Σε όλους τους αρρώστους καταγράφηκαν αναλυτικά τα συμπτώματα, τα κλινικά και τα εργαστηριακά ευρήματα και οι επιπλοκές κατά το πρώτο 24ωρο από της εισαγωγής τους στο νοσοκομείο ή και μετά το πρώτο 24ωρο, εφόσον η ραβδομύωση εκδηλωνόταν κατά τη διάρκεια της νοσηλείας τους (Πίν. 2,3).

Οξεία νεφρική ανεπάρκεια, ως επιπλοκή της ραβδομύωσης, θεωρήθηκε ότι υπήρχε, όταν η τιμές της κρεατινίνης του ορού ήταν  $\geq 2$  mg/dl.

Η στατιστική αξιολόγηση των ευρημάτων, όπου αυτή χρειάστηκε, έγινε με το πρόγραμμα SPSS-10 software.

### ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Οι περισσότεροι από τους αρρώστους (7/9, 77,77%) είχαν συμπτώματα και κλινικά ευρήματα από τις μεγάλες μυϊκές ομάδες των γλουτών και του ώμου, όπως αυτόματα μυϊκά άλγη, έντονη μυϊκή αδυναμία και άλγος με την πίεση. Τα συχνότερα συμπτώματα (βαθύς ύπνος μέχρι και κόμα) ήταν από το ΚΝΣ (8 από τους 9 αρρώστους, 88,88%), ενώ 4 (44,44 %) είχαν πυρετό και 6 ταχυκαρδία (66,66%).

Η συχνότερη επιπλοκή που εμφάνισαν οι άρρωστοι ήταν η οξεία νεφρική ανεπάρκεια (6/9, 66,66%) και εκδηλώθηκε με ολιγουρία και με με-



Πίνακας 3. Τα εργαστηριακά ευρήματα

	CPK (U/L)	SGOT (U/L)	LDH (U/L)	Ουρία (mg/dl)	Κρεατινίνη (mg/dl)	Ουρικό οξύ (mg/dl)	Κάλιο (mEq/L)	Ασβέστιο (mEq/L)	Φωσφόρος (mg/dl)
1	7.500	250	-	106	4,0	8,2	6,4	3,8	6,9
2	56.600	2.100	5.400	48	1,4	9,2	3,9	3,5	2,0
3	2.401	1.549	1.949	31	2,2	4,2	4,1	4,15	3,5
4	12.200	180	1.010	98	5,6	8,4	5,3	4,8	4,2
5	18.400	2.890	4.000	59	3,3	8,0	8,6	3,2	3,0
6	3.714	150	334	26	1,1	4,9	4,0	5,0	2,7
7	11.900	152	400	59	1,0	3,9	4,7	4,8	3,5
8	243.000	3.300	-	120	4,7	13,9	5,6	3,4	4,2
9	38.640	2.334	4.740	218	5,16	6,0	6,8	4,4	5,6
X	43.817,23	1.433,88	2.547,57	85,00	3,16	7,41	5,48	4,08	3,95
SD	76.787,77	1.281,36	2.132,55	59,83	1,80	3,12	1,56	0,74	1,50

ταβολική οξέωση. Δύο από τους έξι αρρώστους υποβλήθηκαν σε θεραπεία με εξωνεφρική κάθαρση εξαιτίας βαριάς μεταβολικής οξέωσης ή/και υπερκαλιαιμίας. Συγκεκριμένα ο ένας (χρήση ηρωίνης) χρειάστηκε 6 συνεδρίες, ενώ ο άλλος (βενζοδιαζεπίνες) υποβλήθηκε σε 10 συνολικά αιμοκαθάρσεις. Άλλες επιπλοκές ήταν η υποβολαιμία (1/9, 11,11%) και ευρήματα διαμερίσματος (1/9, 11,11%) (Πίν. 2)

Οι τιμές της CPK κυμάνθηκαν από 2.401 - 243.000 U/L ( $\bar{x}$ =43.817 U/L). Αυξημένες ήταν οι τιμές της SGOT (150-3.300 U/L,  $\bar{x}$ =1.443,88) καθώς επίσης και της LDH (334-4.740 U/L, 2.547,57) στον ορό. Πέντε από τους 9 αρρώστους (55,55%) είχαν υπερουριχαιμία, ένας μάλιστα χωρίς την ύπαρξη οξείας νεφρικής ανεπάρκειας.

Υπερκαλιαιμία είχαν 5 άρρωστοι (55,55%), υπασβεστιαίμια 4 (44,44%), υπερφωσφαταιμία είχαν 2 άρρωστοι (22,22%), ενώ υποφωσφαταιμία ένας άρρωστος (11,11%).

Τέλος, επίπεδα κρεατινίνης στον ορό  $\geq 2$  mg/dl, ενδεικτικά νεφρικής ανεπάρκειας, εμφάνισαν 6 από τους 9 αρρώστους (66,66%).

Τα εργαστηριακά ευρήματα των αρρώστων παρουσιάζονται στον πίνακα 3.

Όλοι οι άρρωστοι αντιμετωπίστηκαν με συντηρητική θεραπεία, η οποία απέβλεπε στην απομάκρυνση των τοξικών ουσιών, στην αποκατάσταση και διατήρηση του ισοζυγίου υγρών και ηλεκτρολυτών, της οξεοβασικής ισορροπίας και της νεφρικής λειτουργίας. Στους αρρώστους με ολιγουρική νεφρική ανεπάρκεια χορηγήθηκε φουροσεμίδα ή/και μαννιτόλη, ενώ, όπως ήδη αναφέρθηκε, 2 από τους αρρώστους με ONA υποβλήθηκαν σε εξωνεφρική κάθαρση.

Η έκβαση της νόσου ήταν καλή για όλους τους

αρρώστους και άπαντες εξήλθαν του νοσοκομείου με πλήρη αποκατάσταση των κλινικών και των εργαστηριακών ευρημάτων.

### Στατιστική ανάλυση

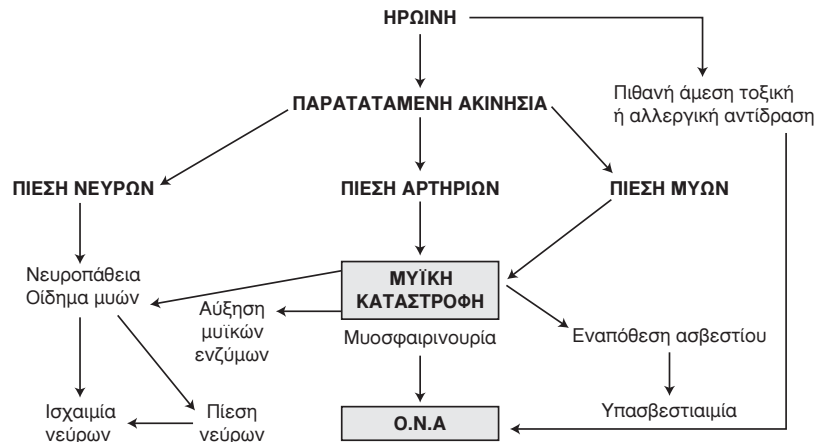
Η στατιστική συσχέτιση των τιμών της CPK και της κρεατινίνης του ορού έδειξε ότι δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική συσχέτιση, τόσο στο σύνολο των αρρώστων ( $r=0,379$ ,  $p=0,148$ ), όσο και στους αρρώστους με ONA ( $r=0,395$ ,  $p=0,259$ ).

### ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Όλοι οι άρρωστοι που μελετήθηκαν ήταν άνδρες και αυτό συμφωνεί με όλη τη βιβλιογραφία, όπου φαίνεται ότι η ραβδομυόλυση, τραυματική και μη, εμφανίζεται με μεγαλύτερη συχνότητα μεταξύ των ανδρών<sup>1</sup>.

Οι εξαρτησιογόνες ουσίες αποτελούν μια ετερογενή ομάδα αιτίων ραβδομυόλυσης. Ο μηχανισμός πρόκλησης βλάβης είναι ουσιαστικά αδιευκρίνιστος, αν και έχουν προταθεί διάφορες θεωρίες<sup>7-9</sup>. Συγκεκριμένος των θεωριών αυτών φαίνεται στην εικόνα 1. Σε κάθε περίπτωση όμως, η μυϊκή καταστροφή είναι το τελικό αποτέλεσμα διαταραχής της ομοιόστασης του ασβεστίου στα μυϊκά κύτταρα και ενεργοποίησης των ενδοκυττάρων πρωτεασών<sup>10,11</sup>.

Τα συμπτώματα και τα κλινικά ευρήματα των αρρώστων ήταν αυτά που συνήθως απαντώνται στη ραβδομυόλυση<sup>12</sup>. Στην ομάδα των αρρώστων που μελετήθηκαν, όπως ήταν αναμενόμενο από την αιτία της ραβδομυόλυσης, υπερισχύουν σε συχνότητα τα συμπτώματα και τα ευρήματα από το κεντρικό νευρικό σύστημα, αντίθετα με τις άλλες αιτιολογίες ραβδομυολύσεις, όπου συχνότερες εί-



Εικ. 1. Η πιθανή παθογένεια της ραβδομυόλυσης από εξαρτησιογόνες ουσίες.

ναι οι εκδηλώσεις από τους μύες.

Τα βιοχημικά ευρήματα είναι επίσης τα συνήθη σε περιπτώσεις ραβδομυόλυσης. Η υπασβεστιαιμία, που παρατηρήθηκε σε 4 αρρώστους, οφείλεται στην εναπόθεση ασβεστίου στους προσβληθέντες μύες.

Οξεία νεφρική ανεπάρκεια παρατηρήθηκε σε 6 από τους 9 αρρώστους (66,66%). Άλλωστε η ONA αποτελεί τη συχνότερη επιπλοκή μεταξύ όλων των μορφών ραβδομυόλυσης<sup>2,4</sup>. Για την πρόκλησή της έχουν ενοχοποιηθεί αρκετά αίτια από διάφορους συγγραφείς<sup>4,13-15</sup>: 1. Η νεφρική ισχαιμία, ως αποτέλεσμα των αιμοδυναμικών διαταραχών και της εναπόθεσης μικροθρόμβων 2. Η σωληναριακή απόφραξη από τη μυοσφαιρίνη και από κρυστάλλους ουρικού οξέος και 3. Η νεφροτοξική επίδραση της αιμοσιδηρίνης, προϊόντος διάσπασης της μυοσφαιρίνης, στα επιθηλιακά κύτταρα των ουροφόρων σωληναρίων.

Παρόλο που η αιτιολογία της ONA στη ραβδομυόλυση δεν είναι απόλυτα γνωστή, φαίνεται ότι υπάρχουν μερικοί προγνωστικοί δείκτες για την ανάπτυξη ONA στα πλαίσια ραβδομυόλυσης. Ο Ward<sup>15</sup> θεώρησε ως επιβαρυντικούς προγνωστικούς δείκτες τους παρακάτω:

- Μεγίστη τιμή CPK > 6000 U/L.
- Υποογκαιμία
- Αφυδάτωση
- Σήψη
- Υπερκαλιαιμία
- Υποφωσφαταιμία

Στους αρρώστους μας επίπεδα CPK > 6000 U/L είχαν 7 από τους 9 αρρώστους, ένας εμφάνισε υποογκαιμία, 4 είχαν υπερκαλιαιμία και ένας υποφωσφαταιμία. Τα ευρήματα αυτά δικαιολογούν εν μέ-

ρει τουλάχιστον την υπόθεση του Ward, δεδομένου ότι το ποσοστό των αρρώστων μας, που εμφάνισε ONA (66,66%), είναι σημαντικά υψηλότερο του μέσου όρου εμφάνισης ONA σε αρρώστους με ραβδομυόλυση οποιασδήποτε αιτιολογίας<sup>1</sup>.

Οι Gabow και συν<sup>1</sup>, χρησιμοποίησαν την παρακάτω σχέση, ως προγνωστικό δείκτη εμφάνισης οξείας νεφρικής ανεπάρκειας:

$$R = 0,7 \times (K^+) + 1,1 \times (CR_s) + 0,6 \times (\text{Serum Albumin}) - 6,6$$

(τιμές του R < 0,1 θεωρούνται ως κακός προγνωστικός δείκτης).

Τόσον ο Gabow, όσο και άλλοι συγγραφείς, δεν βρήκαν καμία συσχέτιση της ONA με τα επίπεδα της CPK στον ορό, γεγονός που δεν βρίσκει σύμφωνο τον Ward, αλλά και άλλους<sup>5</sup>. Η στατιστική επεξεργασία των δικών μας δεδομένων έδειξε σαφώς ότι δεν υπάρχει συσχέτιση των τιμών της CPK και της κρεατινίνης του ορού, τόσο στο σύνολο των αρρώστων, όσο και στους αρρώστους με ONA.

Αντίθετα, οι Feinfeld<sup>17</sup> και συν. υποστηρίζουν ότι τα επίπεδα της μυοσφαιρινουρίας είναι εκείνα που καθορίζουν την εμφάνιση ONA.

Σε προηγούμενη μελέτη μας<sup>18</sup>, σχετικά με τη ραβδομυόλυση σε αρρώστους με λοιμώξεις διαφορετικής αιτιολογίας, δεν βρήκαμε συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων της CPK στον ορό και της εμφάνισης O.N.A.

Άξιο παρατήρησης είναι το γεγονός ότι οι περισσότεροι από τους αρρώστους που αναλύθηκαν είναι νέα άτομα, κάτοικοι αστικών περιοχών και άνεργοι (5/9).

Παρά την αυξημένη συχνότητα εμφάνισης ONA, τη βαριά σχετική κλινική κατάσταση των περισσότερων από τους εννέα αρρώστους και τα

υψηλά ποσοστά θνητότητας που παρατηρούνται σε άτομα αυτής της ομάδας ραβδομυόλυσης, η τελική έκβαση ήταν καλή. Όλοι αποχώρησαν από το νοσοκομείο σε καλή κατάσταση και με πλήρη αποκατάσταση της νεφρικής τους λειτουργίας.

### ABSTRACT

**Armenaka M, Gamvrili L, Tsotsiou E, Krikidis D, Mikoudi K, Sion M. Non-traumatic rhabdomyolysis and acute renal failure in drug addicts: Analysis of nine cases. Hell Iatr 2005, 71: 281-285.**

Non-traumatic rhabdomyolysis has multiple causes, among them alcohol abuse, drug abuse and infection are the more frequent. We retrospectively studied 9 male patients, aged 16-76 years (mean age 30.3 yrs) with rhabdomyolysis due to drug abuse (heroin, cocaine, benzodiazepines), alone or in combination with alcohol consumption. Symptoms from the central nervous system were the most frequent (8/9 patients, 88.9%) followed by symptoms from the muscles (7/9 patients, 77.8%). CPK levels in the serum ranged from 2401 to 243000 U/L (mean=43817.22 U/L), serum SGOT ranged from 150 to 3300 U/L (mean=1433.88), LDH from 334 to 5400 U/L (mean=1981.44 U/L). Abnormal serum uric acid levels were seen in 5 out of 9 patients. At disease presentation, electrolyte abnormalities were present. The most common were hyperkalemia (5/9 patients), hypocalcemia (4/9 patients), hyperphosphatemia (2/9 patients) and hypophosphatemia (1/9 patients). The most common complication was acute renal failure seen in 6 patients (66.7%). Although reversible, it was associated with increased hospital stays. The study patients received supportive therapy that included vigorous hydration, alkalization of urine, and in those patients with acute renal failure, diuresis with furosemide and/or mannitol. Renal replacement therapy was administered in 2 patients because of electrolyte abnormalities and/or severe metabolic acidosis. The disease outcome was good for all patients studied and renal function recovered in all.

### BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Gabow PA, Kaehny WD, Kelleher SP. The spectrum of rhabdomyolysis. *Medicine*, 1982, 61: 141-52.
2. Zager RA. Rhabdomyolysis and myohemoglobinuric acute renal failure. *Kidney Int* 1996, 49: 314-26.
3. Allison RC, Bedsol DL. The other medical causes of rhabdomyolysis. *Am J Med Sci* 2003, 326: 79-88.
4. Singh U, Sheld WM. Infectious etiologies of rhabdomyo-

- lysis: Three cases reports and review. *Clin Infect Dis* 1996, 22: 642-9.
5. Bedrosian A, Thireos E, Kofinas G, et al. Bacterial sepsis-induced rhabdomyolysis. *Intensive Care Med* 1999, 14: 175-92.
  6. Blanco JR, Zabalza M, Salcedo J, et al. Rhabdomyolysis of infectious and non-infectious causes. *Ann Intern Med* 2002, 95: 542-4.
  7. Schreiber SN, Liebowitz MR, Bernstein LH, Srinivasan K. Limb compression and renal impairment (crush syndrome) complicating narcotic overdose. *N Engl J Med* 1971, 284: 368-9.
  8. Penn AS, Rowland LP, Fraser DW. Drugs, coma and myoglobinuria. *Arch Nephrol* 1972, 26: 336-42.
  9. Rice EK, Isbel NM, Becker GJ, et al. Heroin overdose and myoglobinuric acute renal failure. *Clinical Nephrology* 2000, 54: 449-54.
  10. Rubin BB, Liauw S, Tittley J, et al. Prolonged adenine nucleotide resynthesis and reperfusion injury in postischemic skeletal muscle. *Am J Physiol* 1992, 262: 1538-47.
  11. Pace J, Hayman MJ, Galan JE. Signal transduction and invasion of epithelial cells by *S. typhimurium*. *Cell*, 1993, 72: 505-14.
  12. Wodrow G, Brownjohn AM, Turney JH. The clinical and biochemical features of acute renal failure due to rhabdomyolysis. *Renal Failure* 1995, 17: 467-74.
  13. Garcia G, Snider T, Feldman C, et al. Nephrotoxicity of myoglobin in the rat: Relative importance of urine pH and prior dehydration. *Kidney Int (abstr)* 1981, 19: 200.
  14. Holt S, Moore K. Pathogenesis of renal failure in rhabdomyolysis: The role of myoglobin. *Exp Nephrol* 2000, 8: 72-6.
  15. Dubrow A, Flamenbaum H. Acute renal failure associated with myoglobinuria and hemoglobinuria. In: Brenner BM, Lazarus JM (eds): *Acute renal failure*. New York Churchill-Livingstone, 1988: 279-89.
  16. Ward MM. Factors predictive of acute renal failure in rhabdomyolysis. *Arch Int Med* 1988, 148: 1553-7.
  17. Feinfeld DA, Cheng JT, Beysolow TD, et al. A prospective study of urine and serum myoglobin levels in patients with acute rhabdomyolysis. *Clin Nephrol* 1992, 38: 193-5.
  18. Σιών Μ, Αρμενάκα Μ, Παπαϊωάννου Ν, και συν. Λοιμώξεις, ραβδομυόλυση και οξεία νεφρική ανεπάρκεια. Ανάλυση 8 περιπτώσεων. *Ελληνική Νεφρολογία* 2004, 16: 83-8.

### Αλληλογραφία:

Μ. Σιών  
Δ. Ευελπίδου 32  
551 32 Καλαμαριά  
Θεσσαλονίκη

### Corresponding Author:

Μ. Σιον  
D. Evelpidou 32  
551 32 Kalamaria  
Thessaloniki  
Greece

## Τοξική επίδραση του all-trans ρετινοϊκού οξέος στον βλεννογόνο του λεπτού εντέρου του λευκού επίμου. Μορφολογική μελέτη με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο διέλευσης

Ε.-Ν. Εμμανουήλ-Νικολούση, Α. Καϊδόγλου-Αναγνωστοπούλου, Α. Σιόγκα-Ράπτη, Ε. Νικολούσης, Α. Μάνθος

Εργαστήριο Ιστολογίας-Εμβρυολογίας & Ανθρωπολογίας, Ιατρική Σχολή ΑΠΘ, Θεσσαλονίκη

**Περίληψη.** Σε θήλεις ενήλικες κυοφορούσες επίμους, χωρισμένες σε δύο ομάδες, χορηγήθηκε all-trans-ρετινοϊκό οξύ, 50 mg/χιλιόγραμμα βάρους σώματος για 4 ημέρες στην πρώτη ομάδα και 100 mg/χιλιόγραμμα βάρους σώματος για 3 ημέρες στη δεύτερη. Το δοσολογικό αυτό σχήμα χορήγησης του ρετινοϊκού παραγώγου προκάλεσε διαφόρου τύπου και βαρύτητας μορφολογικές αλλοιώσεις του βλεννογόνου του λεπτού εντέρου των πειραματόζων, οι οποίες συνηγορούν υπέρ εκφυλιστικών, μη αναστρέψιμων βλαβών. Οι υπερμικροσκοπικές παρατηρήσεις ήταν, κυρίως, κυστοειδή ενδοκυττα-

ρικά μορφώματα, δεσμίδες κολλαγόνου οι οποίες πορεύονταν χωρίς προσανατολισμό, μεσοκυττάριο και ενδοκυττάριο οίδημα και αιμορραγικές διηθήσεις του συνδετικού ιστού. Οι σοβαρές αυτές εκφυλιστικές βλάβες του βλεννογόνου του λεπτού εντέρου αποδεικνύουν την τοξικότητα του all-trans-ρετινοϊκού οξέος σ' αυτόν, για τα δοσολογικά σχήματα τα οποία χρησιμοποιήθηκαν και την χρονική διάρκεια που διήρκεσε η χορήγηση της φαρμακευτικής ουσίας.

*Ελλην Ιατρ 2005, 71: 286 - 291.*

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η κυτταροτοξικότητα, σε συνδυασμό με την εμβρυοτοξικότητα, διαφόρων φαρμακευτικών ουσιών ή ουσιών του περιβάλλοντος, αποτελεί ένα ιδιαίτερο πεδίο επιστημονικής δραστηριότητας τις τελευταίες δεκαετίες. Μεταξύ των ουσιών αυτών ιδιαίτερη θέση έχουν κατακτήσει οι ρετινοϊκοί παράγοντες. Οι υψηλές δόσεις βιταμίνης Α και ρετινοϊκών παραγώγων θεωρούνται δυνητικά τερατογόνες και συνεπώς δεν χορηγούνται κατά την κύηση<sup>1-9</sup>. Τα ρετινοϊκά παράγωγα αποτελούν φαρμακευτικές ουσίες οι οποίες χρησιμοποιούνται σε πολλαπλές κλινικές εφαρμογές, κυρίως στην θεραπεία νοσημάτων του δέρματος και γενικότερα

των βλεννογόνων<sup>10,11</sup> καθώς επίσης και διαφόρων μορφών καρκίνου, όπου χρησιμοποιούνται ως χημειοθεραπευτικές ουσίες<sup>12,13</sup>. Η ευρεία κλινική τους χρήση έχει κατευθύνει την διεθνή ερευνητική δραστηριότητα προς την αναζήτηση όχι μόνον της θεραπευτικής τους αξίας η οποία είναι ιδιαίτερα σημαντική, αλλά και των παρενεργειών τους<sup>14-17</sup>.

Σημαντική θεωρείται η μελέτη της επίδρασης των παραγόντων αυτών στους διαφόρους ιστούς του σώματος των θηλαστικών μετά από την συστηματική χορήγηση τους και η διερεύνηση της τοξικότητας και των ανεπιθυμητών ενεργειών οι οποίες εκδηλώνονται στα πλαίσια των θεραπευτικών δόσεων χορήγησής τους<sup>18,19</sup>. Αναφέρεται άλλωστε, ότι τα πρω-



τογενή προϊόντα των β-καροτενοειδών τα οποία απομονώθηκαν στο έντερο, στον ορρό του αίματος και στο ήπαρ, είναι ρετινολή, εστέρες της ρετινολής καθώς και ρετινοϊκό οξύ<sup>18</sup>. Στη διεθνή βιβλιογραφία αναφέρεται ότι ασθενείς οι οποίοι λαμβάνουν ρετινοϊκά παράγωγα παρουσιάζουν διάφορες νοσολογικές καταστάσεις λόγω τοξικότητας, όπως ερυθρήματα, ναυτία, γαστρεντερικές διαταραχές, οστικά άλγη και μυαλγίες, θρομβοκυτταροπενία, αδυναμία και κόπωση καθώς και αύπνιες<sup>10,20-23</sup>. Αναφέρεται επίσης ότι υψηλές δοσολογίες μπορούν να προκαλέσουν ηπατικές βλάβες<sup>24</sup>. Σκοπός της παρούσης πειραματικής εργασίας ήταν η διερεύνηση της βλαπτικής δράσης την οποία ασκεί το ρετινοϊκό οξύ στον βλεννογόνο του λεπτού εντέρου των επιμύων και η εκτίμηση της σχέσης ανάμεσα στη βαρύτητα των αλλοιώσεων, το ύψος της δόσης και την διάρκεια χορήγησης της φαρμακευτικής ουσίας.

### ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Χρησιμοποιήθηκαν 15 θήλειες ενήλικες κυοφορούσες επίμυες οι οποίες χωρίστηκαν σε 3 ομάδες των 5 μελών. Στην 1η ομάδα χορηγήθηκε all-trans-ρετινοϊκό οξύ σε δόση 50 mg/χιλιόγραμμο βάρους σώματος για 4 ημέρες, στην 2η ομάδα 100 mg / χιλιόγραμμο βάρους σώματος για 3 ημέρες, ενώ στην 3η ομάδα (ελέγχου) δεν χορηγήθηκε τίποτε.

Τα πειραματόζωα θυσιάστηκαν με τοξική δόση αιθέρα την 20η ημέρα της κύησης τους, τα έμβρυα και τα όργανά τους συλλέχθηκαν για επί μέρους στο κάθε ένα ανάλυση.

Αντικείμενο της παρούσας έρευνας αποτελέσει η μελέτη του βλεννογόνου του λεπτού εντέρου των πειραματόζωων, με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο διέλευσης TEM JEOL JEM 2000 FX II.

Ιστοτεμάχια του βλεννογόνου του λεπτού εντέρου των πειραματόζωων μονιμοποιήθηκαν σε γλουταραλδεΐδη 3% και ακολουθώντας τη συνήθη τεχνική για Η.Μ. εγκλείστηκαν σε ρητίνες EPON 812.

Με ημιλεπτες τομές, πάχους 0,5-1 μm, τα ιστοτεμάχια προσανατολίσθηκαν έτσι ώστε να ληφθούν λεπτές τομές πάχους 700-800 Angstrom από το επιθήλιο και το χόριο του βλεννογόνου του λεπτού εντέρου.

### ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στην 1η ομάδα των πειραματόζωων, όπου χορηγήθηκε το all-trans-ρετινοϊκό οξύ σε δοσολογία 50 mg/χιλιόγραμμο βάρους σώματος για 4 ημέρες, σε πολλά από τα κύτταρα του εντερικού επιθηλίου παρατηρήθηκαν ποικίλου βαθμού εκφυλιστικές αλλοιώσεις, όπως άτυποι πυρήνες, ενδοκυττάρια οίδημα ή κενοτοπιώδες κυτταρόπλασμα (Εικ. 1). Στο χόριο υπήρχε διάμεσο οίδημα και κυτταρική διήθηση κυρίως από εωσινόφιλα και ερυθρά αιμοσφαίρια (Εικ. 2).

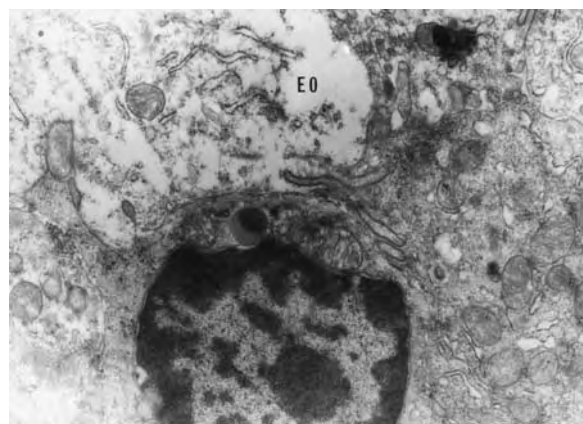
Στην 2η ομάδα των πειραματόζωων, όπου χορηγήθηκε το all-trans-ρετινοϊκό οξύ σε δοσολογία

100 mg / χιλιόγραμμο βάρους σώματος για 3 ημέρες, χαρακτηριστικό εύρημα της υπερμικροσκοπικής μελέτης ήταν η, κατά θέσεις, σημαντική ελάττωση των μικρολαχνών στην ελεύθερη επιφάνεια των επιθηλιακών κυττάρων (Εικ. 3), πολλά από τα οποία παρουσίαζαν διάταση των δεξαμενών του ενδοπλασματικού δικτύου και της συσκευής Golgi (Εικ. 4) και ευμεγέθη ενδοκυτταροπλασματικά έγκλειστα, προϊόντα κυτταρικής δυσλειτουργίας (Εικ. 5). Στο χόριο υπήρχαν πυκνές δεσμίδες κολλαγόνων ινών και περιοχές διηθημένες από ερυθρά και λευκά αιμοσφαίρια (Εικ. 6).

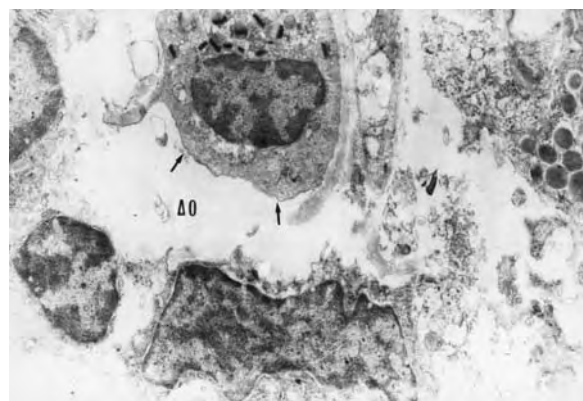
Στην 3η ομάδα των πειραματόζωων, που απετέλεσαν την ομάδα ελέγχου, η μορφολογία του βλεννογόνου του λεπτού εντέρου ήταν απόλυτα φυσιολογική (Εικ. 7).

### ΣΥΖΗΤΗΣΗ

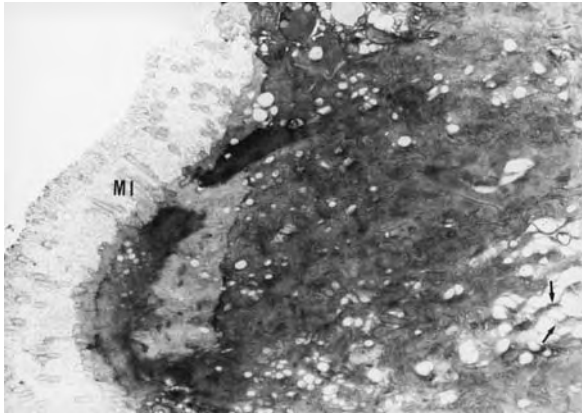
Μελέτες σε πειραματόζωα έχουν αποδείξει την



Εικ. 1. Ομάδα Α. Ενδοκυττάρια οίδημα (EO) σε κύτταρο του εντερικού επιθηλίου × 20000.



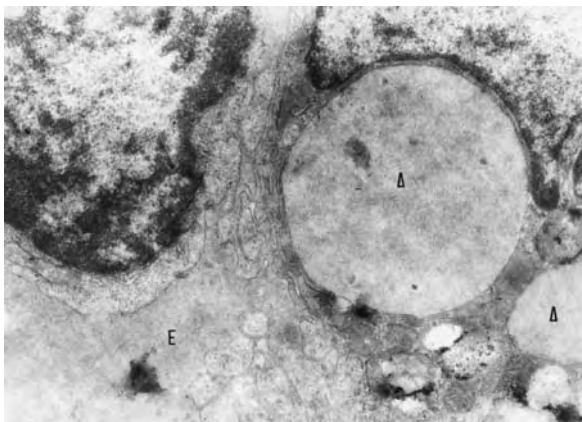
Εικ. 2. Ομάδα Β. Διάμεσο οίδημα (ΔO) και διήθηση του χορίου με εωσινόφιλα λευκά αιμοσφαίρια (βέλη) × 15000.



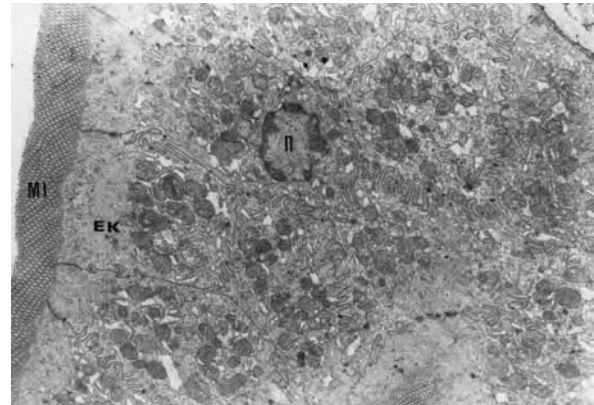
**Εικ. 3.** Ομάδα Β. Παρατηρείται σημαντική ελάττωση των μικρολαχνών (MI) στην ελεύθερη επιφάνεια του εντερικού επιθηλίου και διάταση των δεξαμενών του ενδοπλασματικού δικτύου (βέλη)  $\times 17500$ .



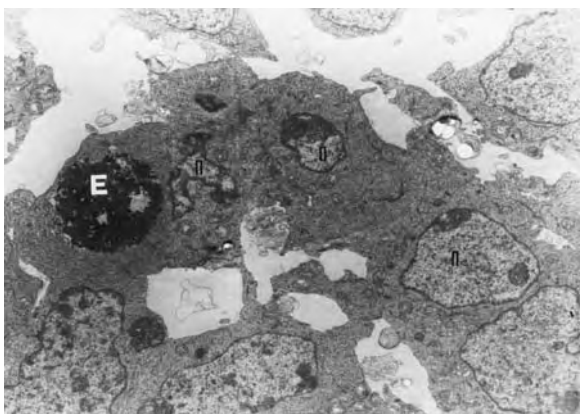
**Εικ. 6.** Ομάδα Β. Πυκνές δεσμίδες κολλαγόνων ινών (μικρά βέλη) και διήθηση του χορίου με ερυθρά αιμοσφαίρια (μεγάλα βέλη)  $\times 15000$ .



**Εικ. 4.** Ομάδα Α. Αραιωτικό κυτταρόπλασμα (E) και διατεταμένες δεξαμενές του ενδοπλασματικού δικτύου και της συσκευής Golgi (Δ) επιθηλιακών κυττάρων εντέρου  $\times 25000$ .



**Εικ. 7.** Φυσιολογικό επιθήλιο βλεννογόνου λεπτού εντέρου από πειραματόζωο της ομάδας ελέγχου. MI= μικρολάχνες (ψηκτροειδής παρυφή), EK= επιθηλιακά κύτταρα Π= πυρήνας  $\times 7500$ .



**Εικ. 5.** Ομάδα Β. Ενμέγεθες ενδοκυτταροπλασματικό έγκλειστο (E), προϊόν δυσλειτουργίας επιθηλιακού κυττάρου. Π= πυρήνας  $\times 5000$ .

ικανότητα της βιταμίνης Α, των β-καροτενοειδών και άλλων ρετινοϊκών παραγώγων να ενισχύουν την άμυνα του ανοσολογικού συστήματος των θηλαστικών με αποτέλεσμα την αναχαίτιση της ανάπτυξης και της επέκτασης διαφόρων μορφών καρκίνου<sup>25,26</sup>. Οι αντικαρκινικές ιδιότητες των ρετινοϊκών παραγώγων φαίνεται να αποδίδονται στην παρεμπόδιση της εκφύλισης των κυττάρων και στην προαγωγή της διαφοροποίησής τους. Έχει μάλιστα αποδειχθεί η ύπαρξη υποδοχέων του ρετινοϊκού οξέος σε κυτταρικούς πληθυσμούς. Η ύπαρξη αυτών των υποδοχέων σε καρκινικά κύτταρα του μαστού έχει βρεθεί ότι επηρεάζει την γονιδιακή έκφραση και την εκφύλιση αυτών των κυττάρων<sup>24,26</sup>. Κατά τους Hansen και συν. τα ρετινοϊκά παράγωγα θεωρούνται θεμελιώδεις ουσίες για την διαφοροποίηση των επιθηλίων και λόγω αυτής



της ιδιότητάς τους θεωρούνται βασικές για την χημειοπροφύλαξη του καρκίνου του επιθηλιακού ιστού. Η καταστολή και η θεραπεία εξάλλου της οξείας προμυελοκυτταρικής λευχαιμίας (APL) βασίζεται στην ικανότητα του ρετινοϊκού οξέος και ιδιαίτερα της all-trans μορφής του (all trans-retinoic acid) να προάγει την διαφοροποίηση των λευχαιμικών προμυελοκυττάρων<sup>19</sup>. Ωστόσο, παρατηρείται υποτροπή του νοσήματος μετά την διακοπή της θεραπείας με το προαναφερόμενο παράγωγο<sup>27</sup>. Επίσης έχει παρατηρηθεί μείωση των μεταστάσεων σε διάφορες μορφές καρκίνου όταν τα ρετινοϊκά παράγωγα χρησιμοποιούνται ως ενίσχυση της χημειοθεραπευτικής αγωγής μετά την αφαίρεση του πρωτοπαθούς όγκου<sup>22,28</sup>.

Τα ρετινοϊκά παράγωγα αποτελούν μία κατηγορία ουσιών, οι οποίες αποτελούνται από φυσικά ή συνθετικά παράγωγα τα οποία είτε προέρχονται από την βιταμίνη Α είτε συσχετίζονται ως προς την χημική τους σύνθεση αλλά και την αποδόμησή τους με αυτήν<sup>15,29</sup>. Η μοναδικότητα των θεραπευτικών ιδιοτήτων των ρετινοειδών και οι ευρείες κλινικές ενδείξεις σύμφωνα με τις οποίες τα παράγωγα αυτά χορηγούνται, έχουν εγείρει το επιστημονικό ενδιαφέρον και μελετώνται ως προς τις διάφορες επιδράσεις τους καθώς και τις αλληλεπιδράσεις τους με άλλες φαρμακευτικές ουσίες στον οργανισμό των θηλαστικών. Τόσο η σύνθεση όσο και ο μεταβολισμός τους είναι στενά συνδεδεμένα με τη βιταμίνη Α<sup>11</sup>. Οι επιδράσεις αυτές μπορεί να είναι ευεργετικές ως προς την θεραπευτική τους ιδιότητα αλλά και βλαπτικές όσον αφορά τις παρενέργειες τις οποίες μπορούν να προκαλέσουν τα ρετινοϊκά παράγωγα<sup>3-5,10</sup>.

Ο κύριος μεταβολισμός της ρετινόλης στον οργανισμό του επίμου και του ποντικού, δίδει τους μεταβολίτες all-trans-ρετινοϊκό οξύ και 4-οξο ρετινοϊκό οξύ. Στον πίθηκο και στον άνθρωπο, οι κύριοι μεταβολίτες της ρετινόλης είναι επίσης τα ρετινοϊκά οξέα με κυριότερο το 13-cis ρετινοϊκό οξύ<sup>11</sup>. Επικρατεί μάλιστα η άποψη ότι τόσο το 13-cis όσο και το 4-οξο ρετινοϊκά οξέα είναι οι κύριοι μεταβολίτες του all-trans-ρετινοϊκού οξέος όταν αυτό χορηγείται σε χαμηλές δόσεις. Στον άνθρωπο, τα επίπεδα των μεταβολιτών του ρετινοϊκού οξέος στο πλάσμα εμφανίζονται χαμηλότερα στις γυναίκες από ότι στους άνδρες.

Στην ερευνητική αυτή εργασία εστιαστήκαμε στις μορφολογικές αλλοιώσεις οι οποίες προκλήθηκαν στον βλεννογόνο του λεπτού εντέρου μετά χορήγηση δύο δοσολογικών σχημάτων all-trans-ρετινοϊκού οξέος με σκοπό να αξιολογήσουμε τις

μορφολογικές μεταβολές στον βλεννογόνο του λεπτού εντέρου του λευκού επίμου ως προς το εάν είναι αναστρέψιμες ή όχι, δεδομένου ότι στην διεθνή βιβλιογραφία συζητείται ευρύτατα η τοξική επίδραση των ρετινοϊκών παραγώγων σε διάφορα όργανα μετά από υπερβολική δοσολογία χορήγησής τους<sup>12,23,24</sup>. Η χορήγηση υψηλών δόσεων ρετινοϊκών παραγώγων, όπως σε χημειοθεραπεία ή σε αυτοχορήγηση, είναι δυνητικά τοξική<sup>21</sup>. Ενήλικες οι οποίοι λαμβάνουν καθημερινή δοσολογία ρετινοϊκών παραγώγων της τάξεως των 50,000 IU καθημερινά και για 18 μήνες ή 500,000 IU καθημερινά και για 2 μήνες, μπορούν να εκδηλώσουν τοξικότητα από διάφορα όργανα<sup>21</sup>, ενώ υψηλό δοσολογικό σχήμα ρετινοϊκών παραγώγων στην καθημερινή διατροφή μπορεί να προκαλέσει οστεοπόρωση<sup>23</sup> και ηπατικές βλάβες, οι οποίες περιλαμβάνουν ίνωση που μπορεί να καταλήξει ακόμη και σε ηπατική κίρρωση<sup>24,30</sup>. Εξ άλλου, τα παράγωγα αυτά δεν αποβάλλονται σύντομα από το σώμα, αλλά αντίθετα συναθροίζονται σε ιστούς και όργανα και ιδιαίτερα στο ήπαρ. Επίσης η τοξικότητά τους μπορεί να επεκταθεί και στα αιμοποιητικά όργανα<sup>12</sup>.

Η μέθοδος χορήγησης του all-trans-ρετινοϊκού οξέος στην ερευνητική αυτή εργασία ακολούθησε τα διεθνή πρωτόκολλα χορήγησης των ρετινοϊκών παραγώγων για την μελέτη της επίδρασης των ουσιών αυτών στους ιστούς των θηλαστικών αλλά και της απορρόφησης και κατανομής του στους ίδιους, σύμφωνα με την εντεροηπατική φαρμακοκινητική δράση της ουσίας<sup>3,4,16,31</sup>. Οι μορφολογικές αλλοιώσεις οι οποίες παρατηρήθηκαν στα επιθηλιακά κύτταρα και το χόριο του βλεννογόνου του λεπτού εντέρου, όπως τα κυστοειδή μορφώματα, οι δεσμίδες κολλαγόνου οι οποίες πορεύονται χωρίς προσανατολισμό, το μεσοκυττάριο και ενδοκυττάριο οίδημα και οι αιμορραγικές διηθήσεις του συνδετικού ιστού συνηγορούν υπέρ εκφυλιστικών μη αναστρέψιμων βλαβών αυτού<sup>32</sup>.

Έχει παρατηρηθεί, ότι η εξωγενής χορήγηση ρετινοϊκών παραγώγων αυξάνει το ποσοστό της κυτταρικής απόπτωσης στην κρानιογναθοπροσωπική περιοχή προκαλώντας αντίστοιχες ανωμαλίες στη διάπλαση<sup>6-8,33</sup>.

Δεδομένου ότι το all-trans-ρετινοϊκό οξύ χορηγήθηκε διαοισοφαγικά σε συνδυασμό με έλαια θεωρείται βέβαιο ότι η ποσότητα χορήγησής του (50 mg/χ.β.σ. και 100 mg/χ.β.σ.) απορροφήθηκε από τον βλεννογόνο του λεπτού εντέρου του λευκού επίμου καθ' ολοκληρίαν<sup>17</sup> ακολουθώντας σε συνέχεια την εντεροηπατική οδό μεταβολισμού του και αποδόμησης των μεταβολιτών του<sup>10,34-38</sup>. Το

γεγονός ότι τα πειραματόζωα θυσιάστηκαν οκτώ ημέρες μετά την τελευταία χορήγηση της φαρμακευτικής ουσίας είναι αποδεικτικό της μη αναστρέψιμης βλάβης του βλεννογόνου του λεπτού εντέρου μετά την χορήγηση της φαρμακευτικής ουσίας, γιατί αν παρατηρούνταν μόνο το φαινόμενο της κυτταρικής απόπτωσης θα έπρεπε να είχαν ήδη αντικατασταθεί από φυσιολογικά κύτταρα<sup>39,40</sup> σε αντίθεση με τις παρατηρήσεις μας. Αντίθετα, οι αιμορραγικές διηθήσεις του χορίου και οι άτυπες δεσμίδες κολλαγόνων ινών, καθώς και το ενδοκυττάριο και μεσοκυττάριο οίδημα είναι αποδεικτικά μη αναστρέψιμων βλαβών του επιθηλίου του λεπτού εντέρου<sup>41,42</sup>. Λαμβάνοντας υπ' όψιν όλες τις μορφολογικές αλλοιώσεις οι οποίες παρατηρήθηκαν στον βλεννογόνο του λεπτού εντέρου του επίμυος μετά χορήγηση δύο δοσολογικών σχημάτων all-trans-ρετινοϊκού οξέος (50 mg/χ.β.σ. και 100 mg/χ.β.σ), συμπεραίνουμε ότι το all-trans-ρετινοϊκό οξύ προκαλεί μη αναστρέψιμες βλάβες στα δοσολογικά σχήματα στα οποία χορηγήθηκε.

Συμπερασματικά, επισημαίνουμε ότι κατά την χορήγηση των ρετινοϊκών παραγώγων για θεραπευτικούς σκοπούς σε δοσολογικά σχήματα ανάλογα με την βαρύτητα του θεραπευομένου νοσήματος, είτε πρόκειται για δερματοπάθειες, είτε πρόκειται για χημειοθεραπεία των προαναφερθεισών μορφών καρκίνου όπου χορηγείται, καλό είναι να ενισχύεται ο ασθενής με σκευάσματα προστατευτικά των βλεννογόνων του πεπτικού συστήματος.

## ABSTRACT

**Emmanouil-Nikoloussi EN, Kaidoglou-Anagnostopoulou K, Sioga-Rapti A, Nikoloussis E., Manthos A. Toxic influence of all-trans-retinoic acid at the small intestinal mucosa of the white rat: A morphological study by Transmission Electron Microscope (TEM). *Hell Iatr* 2005, 71: 286-291.**

Treatment of adult female white rats with two successive doses of all-trans-retinoic acid (50mg/Kg. B. w. for four days and 100 mg /Kg. B. w. for three days, respectively) resulted in diverse morphological alterations in the cells of the small intestinal mucosal. The alterations caused by all-trans-retinoic acid, appeared as degenerative manifestations of the nuclei, the cytoplasm and the cytoplasmic organelles of the epithelial intestinal cells, or the cells of the supporting connective tissue. Dense bundles of collagen fibrils, disorientated among the matrix substratum were often found into the supporting chorium. Vacuolated configurations and areas infiltrated with white and red

blood cells were often observed into the connective tissue, where interstitial oedema was also observed. Morphological observations of the small intestinal mucosa from treated animals, were compared with the normal morphological appearance of the small intestinal mucosa from untreated animals.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. *Agnish ND, Kochhar DM.* Developmental toxicology of retinoids. In: Koren G. Retinoids in clinical practice. The risk-benefit ratio. 1993; Marcel Dekker Inc. New York, Basel, Hong Kong 1993: 47-76.
2. *Guillonneau M, Jacqz-Aigrain E.* Teratogenic effects of vitamin A and its derivatives [French]. Archives de Pediatrie 1997, 4: 867-74.
3. *Emmanouil-Nikoloussi EN, Goret-Nicaise M, Foroglou P, et al.* Histological observations of palatal malformations in rat embryos induced by retinoic acid treatment. Exp Toxic Pathol 2000a, 52: 437-44.
4. *Emmanouil-Nikoloussi EN, Goret-Nicaise M, Foroglou Ch, et al.* Craniofacial abnormalities induced by retinoic acid: a preliminary histological and scanning electron microscopic (SEM) study. Exp Toxic Pathol 2000b, 52: 445-53.
5. *Emmanouil-Nikoloussi E.-N, Katsarma E, Goret-Nicaise M, Dhem A, Foroglou Ch.* All trans Retinoic acid interfering with palatal development. Scanning electron microscopical and light microscopical observations on embryonic rat palate. Morphologie 2000c, 84 (264): 13-21.
6. *Emmanouil-Nikoloussi E.-N, Goret-Nicaise M., Kerameos-Foroglou Ch, Dhem A.* Anterior neural tube malformations induced after all-trans retinoic acid administration in white rat embryos. I. Macroscopical observations. Morphologie 2000d, 84 (264): 4-11.
7. *Emmanouil-Nikoloussi E.-N, Goret-Nicaise M, Papadopoulou A, Nikoloussis E, Kerameos-Foroglou Ch, Manthos A.* Effects of Retinoid Analogue on Embryonic Craniofacial Dysmorphism. Experimental Study in Balb/C mice. Annals of the Faculty of Medicine 2003a, 30 (2): 9-15.
8. *Emmanouil-Nikoloussi E.-N, Nikoloussis E, Papadopoulou A, Goret-Nicaise M, Kerameos-Foroglou Ch.* Morphological study of cranio-maxillo-mandibulo-facial dysmorphism manifestations induced by Retinoic Acid in balb-C mice embryos and by correlation of them with the morphological expression of Treacher-Collins and Nager Syndromes outbreak at the human embryo. STOMA 2003b, 31: 193-201.
9. *Emmanouil-Nikoloussi E.-N, Goret-Nicaise M, Manthos A., Foroglou Ch.* Histological study of anophthalmia observed in exencephalic rat embryos after all-trans-retinoic acid administration. Journal of Toxicology. Cutaneous and Occular Toxicology 2003c, 22, 1& 2: 33-46.
10. *Koren G.* Retinoids in clinical practice. The risk-benefit ratio. Marcel Dekker Inc. USA 1993.
11. *Livrea MA, Packer L.* Retinoids. Progress in Research and clinical Applications. Marcel Dekker Inc. M.S.A., 1993.
12. *McDowell B.* Vitamin A and beta carotene: broad thera-



- peutic applications. *Alternative & Complementary Therapies* 1995; 67-75.
13. *Tzimas G, Nau H.* The role of metabolism and toxicokinetics in retinoid teratogenesis. *Curr Pharm* 2001, 7(9): 803-31.
  14. *Lammer EJ, Chen DT, Hoar RM, et al.* Retinoic acid embryopathy. *N Eng J Med* 1985, 313: 837-41.
  15. *Tzimas G, Nau H, Hendrickx AG, Peterson PE, Hummler H.* Retinoid metabolism and transplacental pharmacokinetics in the cynomolgus monkey, a non-teratogenic dosing regimen with all-trans-retinoid acid. *Teratology* 1996, 54: 255-65.
  16. *Emmanouil-Nikoloussi E-N., Kerameos-Foroglou CH.* The pathogenesis of branchial-OOarch-derived malformations. *Annals of 2nd Mediterranean Congress of Oral and Maxillofacial Surgery.* Corfu. Greece 5-9/6/1993. Monduzzi ed. 1993b.
  17. *Emmanouil-Nikoloussi E.-N, Kerameos-Foroglou CH, Goret-Nikaise M, Dhem AO.* Variations of retinoic acid teratogenicity in craniofacial area. In: *Bochlogyros PN* (ed) 2nd Mediterranean congress of oral and maxillofacial surgery Monduzzi Editore, Bologna 1993: 101-104.
  18. *Barua AB, Olson JA.* β-carotene is converted primarily to retinoids in rats *In vivo.* *Journal of Nutrition* 2000, 130: 1996-2001.
  19. *Hansen LA, Sigman CC, Andreola F, Ross Sh.A, Kelloff G.J, De Luca LM.* Retinoids in chemoprevention and differentiation therapy *Carcinogenesis*, 2000, 21, 7: 1271-9.
  20. *Howard WB, Willhite CC.* Toxicity of retinoids in humans and animals. *J Toxicol*, 1986, 5: 55-96.
  21. *Loescher LJ, Sauer KA.* Vitamin therapy for advanced cancer. *Oncology Nursing Forum* 1984, 11(6): 38-45
  22. *Meyskens FL, et al.* Randomized trial of vitamin A versus observation as adjuvant therapy in high-risk primary malignant melanoma: a SouthWest Oncology Group study. *J Clin Oncol* 1994, 12(10): 2060-5.
  23. *Melhus H, Michaelsson K, Kindmark A, et al.* Excessive dietary intake of vitamin A is associated with reduced bone mineral density and increased risk for hip fracture. *Ann Intern Med* 1998, 129: 770-78.
  24. *Kaegi E.* On behalf of the Task Force on Alternative Therapies of the Canadian Breast Cancer Research Initiative. Unconventional therapies to cancer: 5. Vitamins A, C, and E. *Canadian Medical Association* 1998, 158: 1483-88.
  25. *Pastorino U, Infante M, Maioli M, et al.* Adjuvant treatment of stage I lung cancer with high-dose vitamin A. *O J Clin Oncol* 1993, 11(7): 1216-22.
  26. *Baumann KH, Clarke R.* Effects of all-trans retinoic acid on proliferation and gene expression of human breast cancer cells *in vitro* [abstract 1643]. *Proc Annu Meet Am Assoc Cancer Res* 1994, 35: 275.
  27. *Van der Weyden MB, Curtis DJ, Szer J.* Vitamin therapy for acute leukaemia. *Australian & New Zealand Journal of Medicine* 1992, 22(5): 446-8.
  28. *Spencer JW, Jacobs JJ.* Complementary/alternative medicine: an evidence based approach. Toronto: Mosley 1999: 133-4.
  29. *Von Schroeder H, Hashimoto Y, Heersche JNM.* The effects of natural and synthetic retinoids on the differentiation of RCJ C5.18 chondrogenic cells. *Teratology* 1994, 50: 54-62.
  30. *Roenigk HH Jr.* Liver toxicity of retinoid therapy. *J Am Acad Dermatol* 1988, 19(1 Pt 2): 199-208.
  31. *Emmanouil-Nikoloussi E.-N, Goret-Nikaise M, Kerameos-Foroglou CH, Dhem A.* Scanning Electron Microscopical (S.E.M.) observations of embryonic rat palates, influenced by retinoic acid administration. *Scientific Annals of the Faculty of Medicine* 1999, 25(2): 89-93.
  32. *Chevillie NF.* *Cell Pathology.* The Iowa State University Press/Ames. USA 1976.
  33. *Adams J.* Neural and behavioral pathology following prenatal exposure to retinoids In: *Koren G* (ed) *Retinoids in clinical practice. The risk – benefit ratio.* 1st ed. Marcel Dekker Inc., New York 1993: 111-128.
  34. *Buchan P, Eckhoff C, Caron D, Nau H, Shroet B, Schaefer H.* Repeated topical administration of all-trans-retinoic acid and plasma levels of retinoic acids in humans. *J Am Ac of Dermatology* 1994, 30: 428-34.
  35. *Allen LE, Green MH, Green J.B.* Correspondence Effects of pharmacological Oretinoids on several vitamin A-met. *Cancer Res* 1993, 54: 3319.
  36. *Dew SE, Wardlaw SA, Ong DE.* Effects of pharmacological retinoids on several vitamin A-metabolizing enzymes. *Cancer Res* 1993, 53: 2965-9.
  37. *Sheehe DM, Green JB, Green MH.* Influence of dietary fat saturation on lipid absorption in the rat. *Atherosclerosis* 1980, 37: 301-10.
  38. *Green MH, Green JB, Lewis KC.* Variation in retinol utilization rate with vitamin A status in the rat. *Nutr* 1987, 117: 694-703.
  39. *Emmanouil-Nikoloussi E.-N, Miliaras D.* Light and ultrastructural morphological analysis of cell apoptosis. "Greek Medical Annals" 2001, 67(5-6): 1-7.
  40. *Miliaras D, Emmanouil-Nikoloussi E.-N.* Molecular mechanisms controlling cell apoptosis. "Greek Medical Annals" 2001, 67(5-6): 8-17.
  41. *Grammaticos P, Emmanouil-Nikoloussi E, Trontzos Ch, Kaidoglou K, Foroglou Ch.* Changes in esophageal mucosal morphology in rats fed with milk low or high temperature. *Πρακτικά XIIth International Symposium on Morphological Sciences, Thessaloniki* 1995.
- Αλληλογραφίας:*  
 Ε.- Ν. Εμμανουήλ-Νικολούση  
 Εργαστήριο Ιστολογίας-Εμβρυολογίας &  
 Ανθρωπολογίας  
 Ιατρική Σχολή Α.Π.Θ.  
 541 24 Θεσσαλονίκη
- Corresponding Author:*  
 Ε.-Ν. Emmanouil-Nikoloussi  
 Laboratory of Histology-Embryology  
 and Anthropology  
 Faculty of Medicine Aristotle University  
 541 24 Thessaloniki  
 Greece

## Υποτροπή συνδρόμου Guillain-Barré μετά από αντιγριπικό εμβολιασμό

Α. Αδαμίδου<sup>1</sup>, Γ. Ντάιος<sup>1</sup>, Α. Καρλοβασίτου<sup>2</sup>, Ι. Μαυρομάτης<sup>3</sup>,  
Μ. Αλεβίζος<sup>1</sup>, Δ.Καραμήτσος<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Α' Προπαιδευτική Παθολογική Κλινική, ΑΠΘ, Νοσοκομείο ΑΧΕΠΑ, Θεσσαλονίκη

<sup>2</sup> Α' Νευρολογική Κλινική, ΑΠΘ, Νοσοκομείο ΑΧΕΠΑ, Θεσσαλονίκη

<sup>3</sup> Β' Νευρολογική Κλινική, ΑΠΘ, Νοσοκομείο ΑΧΕΠΑ, Θεσσαλονίκη

**Περίληψη.** Παρουσιάζεται περίπτωση ασθενούς ο οποίος εκδήλωσε προοδευτική, ταχεία και σημαντικού βαθμού έκπτωση της μυϊκής του ισχύος (ανίκανος προς βάδιση ή ορθοστασία), μερικές μέρες μετά από αντιγριπικό εμβολιασμό. Από τη νευρολογική εξέταση διαπιστώθηκαν κατηρηγμένα τενόντια αντανακλαστικά άμφω και επιβεβαιώθηκε η σημαντική έκπτωση της μυϊκής του ισχύος, ενώ η αισθητικότητα του δεν είχε επηρεαστεί. Κατά τη διάρκεια της νοσηλείας του χρειάστηκε να υποστηριχθεί η αναπνευστική του λειτουργία, ενώ παράλληλα εκδηλώθηκαν δύο επεισόδια κοιλιακής ταχυκαρδίας. Στο πλαίσιο της διερεύνησης ο ασθενής υποβλήθηκε σε σειρά εξετάσεων, τα αποτελέσματά των οποίων οδήγησαν στη διάγνωση συνδρόμου Guillain-Barré, το οποίο πιθανότατα πυροδοτήθηκε

από τον αντιγριπικό εμβολιασμό που είχε προηγηθεί. Χορηγήθηκε ανοσοσφαιρίνη για πέντε μέρες και υπήρξε σημαντική βελτίωση της μυϊκής του ισχύος. Ο ασθενής έλαβε εξιτήριο μετά από 55 μέρες νοσηλείας. Κατά την έξοδό του ήταν σε θέση να σταθεί όρθιος, ενώ ένα μήνα αργότερα βάδισε υποβοηθούμενος. Σημειώνεται ότι ο ασθενής είχε εμφανίσει παρόμοιο επεισόδιο πριν 50 χρόνια περίπτωση από το οποίο ανάρρωσε πλήρως. Στη διεθνή βιβλιογραφία αναφέρεται ότι ο αντιγριπικός εμβολιασμός συνδέεται με την ανάπτυξη συνδρόμου Guillain-Barré, ιδιαίτερα μάλιστα σε άτομα που είχαν εμφανίσει το σύνδρομο παλαιότερα, όπως δηλαδή και ο ασθενής που παρουσιάζεται.

*Ελλην Ιατρ 2005, 71: 292 - 295.*

Τα δύο τρίτα περίπου των ασθενών με σύνδρομο Guillain-Barré αναφέρουν προηγηθείσα λοίμωξη του αναπνευστικού ή του γαστρεντερικού<sup>1</sup>. Το εν λόγω σύνδρομο έχει επίσης συσχετισθεί και με συστηματικά νοσήματα όπως λέμφωμα Hodgkin<sup>2</sup> και συστηματικό ερυθηματώδη λύκο<sup>2</sup>, καθώς και λοιμώξεις από λεπτόσπειρα<sup>2</sup>, αιμόφιλο της γρίπης<sup>3</sup>, ιό Epstein-Barr<sup>2</sup>, κυταρομεγαλοϊό<sup>4</sup>, καμπυλοβακτηρίδιο<sup>5</sup>, έρπητα απλό<sup>2</sup> και μυκόπλασμα της πνευμονίας<sup>2</sup>. Τέλος αναφέρεται ως αίτιο συνδρόμου Guillain - Barré και ο αντιγριπικός εμβολιασμός<sup>6</sup>.

Η πρώτη ένδειξη ότι ο αντιγριπικός εμβολιασμός συνδέεται με αυξημένη συχνότητα εμφάνι-

σης του συνδρόμου μέχρι και έξι εβδομάδες μετά τον εμβολιασμό<sup>9</sup>, παρουσιάστηκε κατά το εθνικό πρόγραμμα αντιγριπικού εμβολιασμού των Η.Π.Α. της περιόδου 1976-1977. Η επεξεργασία των στατιστικών δεδομένων κατέδειξε ότι κατά την περίοδο εκείνη η συχνότητα εμφάνισης του συνδρόμου σε μη εμβολιασθέντες ήταν 0.36 περιπτώσεις ανά εκατομμύριο εβδομάδων-ατόμων, ενώ σε εμβολιασθέντα άτομα μέχρι και 6 εβδομάδες μετά τον εμβολιασμό τους ήταν 2.31. Έξι εβδομάδες μετά τον εμβολιασμό η συχνότητα έπεφτε στις 0.17 περιπτώσεις<sup>7</sup>. Σε άλλη δημοσίευση τονίζεται ότι υπάρχει αυξημένος κίνδυνος ανά-

πτύξης του συνδρόμου (πάντα μετά από αντιγριπικό εμβολιασμό) σε άτομα που έχουν ήδη νοσήσει στο παρελθόν από το ίδιο σύνδρομο<sup>8</sup>.

Παρουσιάζουμε μία επιπλέον περίπτωση ασθενούς, ο οποίος ανέπτυξε σύνδρομο Guillain-Barré, πιθανώς λόγω του αντιγριπικού εμβολιασμού που είχε προηγηθεί.

### ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗΣ

Ασθενής 76 ετών εμφάνισε αρχικά οσφυαλγία, η οποία δεν υποχώρησε παρά την αγωγή με μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα (νιμεσουλίδη). Λίγες μέρες μετά παρουσίασε προοδευτική έκπτωση της μυϊκής του ισχύος, τέτοια ώστε κατέστη ανίκανος προς βάδιση και όρθια στάση. Παράλληλα ανέφερε ήπια δύσπνοια, ακόμη και κατά την ηρεμία. Απευθύνθηκε στο τοπικό νοσοκομείο, όπου από τον εργαστηριακό έλεγχο διαπιστώθηκε αυξημένη κρεατινική φωσφοκινάση (CPK). Νοσηλεύθηκε στην καρδιολογική κλινική του τοπικού νομαρχιακού νοσοκομείου, όπου αποκλείστηκε καρδιακή νόσος που να δικαιολογεί τα συμπτώματά του και διακομίσθηκε στην παθολογική κλινική του ίδιου νοσοκομείου. Ωστόσο επειδή η κατάσταση του ασθενούς εμφάνιζε προοδευτική επιδείνωση και εμφάνιζε ήδη τετραπάρεση διακομίσθηκε μετά από λίγες μέρες στην Α' Προπαιδευτική Παθολογική Κλινική του ΑΠΘ για περαιτέρω διερεύνηση.

### Ατομικό ιστορικό

Ο ασθενής είχε εμφανίσει προ 50ετίας (κατά τη διάρκεια της στρατιωτικής του θητείας) σύνδρομο Guillain-Barré, από το οποίο ανένηψε πλήρως. Δεν υπέφερε από κάποιο νόσημα, ούτε και έλαμβανε φαρμακευτική αγωγή. Επρόκειτο για δραστήριο άτομο με συχνή και κοπιαστική αγροτική ενασχόληση. Δεν είχε πρόσφατη λοίμωξη αναπνευστικού ή γαστρεντερικού, ενώ ανέφερε αντιγριπικό εμβολιασμό λίγες μέρες πριν από την έναρξη των συμπτωμάτων.

### Κλινική εξέταση

Άνδρας αρτιμελής, ελαφρά υπέρβαρος. Άριστο επίπεδο συνείδησης. Αρτηριακή πίεση: 130/80, σφύξεις 80/min, θερμοκρασία: 36,8° C. Πνεύμονες: ελαττωμένο αναπνευστικό ψιθύρισμα. Ακρόαση καρδιάς: ευκρινείς καρδιακοί τόνοι, απουσία φυσημάτων. Κοιλιά μαλακή, ευπίεστη, ανώδυνη. Φυσιολογικοί εντερικοί ήχοι. Νευρολογική εκτίμηση: κατηργημένα τενόντια αντανακλαστικά άμφω, σημαντική έκπτωση της μυϊκής ισχύος περιφερικά και κεντρομελικά άνω και κάτω άκρων, φυσιολογική εν τω βάθει και επιπολής αισθητικότητα.

Εργαστηριακός έλεγχος: HCT 35%, WBC 9.000, PLT 121.000, TKE 86, ουρία 35 mg/dl, κρε-

ατινίνη 0.77 mg/dl, κάλιο 3.8 meq/l, νάτριο 134 meq/l, SGPT 33 U/L, SGOT 54 U/L, CPK 570 U/l (φ.τ. 38 – 190 U/l)

ΗΚΓ: φλεβοκομβικός ρυθμός, αριστερός πρόσθιος ημισκελικός αποκλεισμός.

CXR: αυξημένος καρδιοθωρακικός δείκτης, χωρίς σημεία πύκνωσης.

Αέρια αίματος: pO<sub>2</sub> 54 mmHg, κορεσμός 89%, pCO<sub>2</sub> 38 mmHg, pH 7.45, HCO<sub>3</sub> 28 mmol/l.

### Πορεία νόσου

Στο πλαίσιο διερεύνησης της μυϊκής αδυναμίας ο ασθενής υποβλήθηκε σε σειρά εξετάσεων που περιελάμβαναν θυρεοειδικό έλεγχο, ορολογικό έλεγχο για λεπτοσπειρωση, Ebstein-Barr, κυταρομεγαλοϊό, έρπητα απλό, μυκόπλασμα της πνευμονίας, ανοσολογικό έλεγχο για αυτοαντισώματα, καρκινικούς δείκτες, αξονική τομογραφία εγκεφάλου-θώρακος-κοιλίας και καλλιέργεια αίματος, τα αποτελέσματα των οποίων ήταν αρνητικά.

Έγινε οσφυονωτιαία παρακέντηση και το εγκεφαλονωτιαίο υγρό που εξετάστηκε περιείχε 30 κύτταρα/μL (90% πολυμορφοπύρηνα), γλυκόζη 87 mg/dl, λεύκωμα 47 mg/dl.

Ο ασθενής υποβλήθηκε σε ηλεκτρομυογράφημα-ταχύτητες αγωγιμότητας νεύρων. Τα αποτελέσματα ήταν συμβατά με οξεία πολυνευροπάθεια με προσβολή κυρίως του άξονα, καθώς διαπιστώθηκε μειωμένο εύρος μυϊκού προκλητού δυναμικού σε όλα τα νεύρα και οριακές ταχύτητες αγωγής.

Επίσης, ο ασθενής υποβλήθηκε σε βιοψία δέρματος-μυός, τα ευρήματα της οποίας ήταν μη ειδικά.

Με την πιθανή διάγνωση της πολυριζονευρίτιδας τύπου συνδρόμου Guillain-Barré ο ασθενής ετέθη σε αγωγή με ανοσοσφαιρίνη για πέντε μέρες σε δόση 400 mg/kg, η οποία οδήγησε σε σημαντική βελτίωση της μυϊκής του ισχύος. Η βελτίωση αυτή συνεχίσθηκε και μετά το τέλος της αγωγής, με βραδύτερο όμως ρυθμό. Κατά τη διάρκεια της νοσηλείας του υποστηρίχθηκε με εντατική αναπνευστική και κινητική φυσικοθεραπεία.

Την 24<sup>η</sup> μέρα νοσηλείας παρουσίασε ουρολοίμωξη. Σε καλλιέργεια ούρων απομονώθηκε *pseudomonas aeruginosa* και αντιμετωπίστηκε με αντιβιοτική αγωγή σύμφωνα με το αντιβιογράμμα (πιπερακιλλίνη/ταζοπακτάμη).

Την 32<sup>η</sup> μέρα νοσηλείας παρουσίασε επιδείνωση της δύσπνοιας, ενώ σε ακτινογραφία θώρακος απεκαλύφθησαν βρογχοπνευμονικές διηθήσεις. Στην καλλιέργεια πτυέλων απομονώθηκε

*acinetobacter baumannii*. Χορηγήθηκε αντιβιοτική αγωγή σύμφωνα με το αντιβιογράμα (αμπικιλίνη/κλαβουλανικό), ενώ κρίθηκε απαραίτητη η υποστήριξη της αναπνοής του ασθενούς με συσκευή θετικής τελοεκπνευστικής πίεσης (μάσκα bussignak) καθώς η οξυγόνωση του δεν ήταν ικανοποιητική.

Την 39<sup>η</sup> μέρα νοσηλείας ο ασθενής παρουσίασε επεισόδιο κοιλιακής ταχυκαρδίας το οποίο ανατάχθηκε με απινίδωση. Τέσσερις μέρες μετά ακολούθησε δεύτερο επεισόδιο το οποίο ανατάχθηκε με προκάρδια πλήξη. Χρειάστηκε να νοσηλευτεί στην στεφανιαία μονάδα από όπου εξήλθε μετά από 6 μέρες.

Τέλος, μετά από 55 μέρες συνολικής νοσηλείας ο ασθενής έλαβε εξιτήριο. Η μυική του ισχύς ήταν σαφώς βελτιωμένη: ήταν ικανός να σταθεί όρθιος χωρίς βοήθεια και να περπατήσει μερικά μέτρα με τη βοήθεια ορθοπεδικού βοηθήματος. Εξήλθε απύρετος χωρίς κλινικά ή εργαστηριακά σημεία λοίμωξης. Η δύσπνοια, λόγω της οποίας είχε εισαχθεί αρχικώς, είχε υποχωρήσει πλήρως. Αέρια αίματος:  $pO_2$  87 mmHg, κορεσμός 96%,  $pCO_2$  41 mmHg, pH 7.42,  $HCO_3$  25 mmol/l.

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η εν λόγω περίπτωση αποτελεί μια κατά το μάλλον ή ήττον τυπική εκδήλωση συνδρόμου Guillain-Barré. Πιθανότατα το σύνδρομο πυροδοτήθηκε από τον αντιγριπικό εμβολιασμό που διενεργήθηκε λίγες μέρες πριν από την έναρξη των συμπτωμάτων, καθώς κάνεις άλλος γνωστός πιθανός ενοχοποιητικός παράγοντας δεν υφίστατο. Όπως περιγράφεται στη διεθνή βιβλιογραφία, ο αντιγριπικός εμβολιασμός συνδέεται με την ανάπτυξη του συνδρόμου<sup>9</sup>, ιδιαίτερα μάλιστα σε άτομα που είχαν εμφανίσει το σύνδρομο παλαιότερα<sup>8</sup>, όπως δηλαδή και ο ασθενής που παρουσιάζεται. Αυτό, βέβαια, δεν αποτελεί επ' ουδενί λόγο διακοπή του εμβολιασμού στις ευπαθείς ομάδες<sup>10</sup>, καθώς τα οφέλη είναι σημαντικά περισσότερα. Συστήνεται όμως η αποφυγή του εμβολίου σε άτομα με ιστορικό Guillain-Barré<sup>11</sup>. Ως πιθανός παθογενετικός μηχανισμός φέρεται να είναι η παρασκευή του αντιγριπικού εμβολίου σε αυγά πουλερικών (κότας). Σε ποσοστό 40-50% τα πουλερικά είναι μολυσμένα με καμπυλοβακτηρίδιο, το οποίο όπως έχει ήδη αναφερθεί, θεωρείται αίτιο ανάπτυξης του συνδρόμου<sup>18</sup>.

Η οσφυαλγία που παρουσίασε αρχικά ο ασθενής είναι συχνά η πρώτη εκδήλωση του συνδρόμου<sup>12</sup> και συχνά συνοδεύεται με αυξημένη κρεατινική φωσφοκινάση ορού<sup>13</sup>. Σύντομα εμφανίζε-

ται χαλαρή παράλυση με ελαττωμένα ή και κατηγορημένα αντανακλαστικά. Το σύνδρομο Guillain-Barré είναι η συχνότερη αιτία χαλαρής τετραπάρεσης<sup>14</sup>.

Η πνευμονία που εμφάνισε ο ασθενής αποδόθηκε σε κατακράτηση εκκρίσεων του βρογχικού δέντρου και την παρατεταμένη κατάκλιση. Η αναπνευστική ανεπάρκεια λόγω της συμμετοχής των αναπνευστικών μυών και οι επισυμβαίνουσες λοιμώξεις αποτελούν και τη συνθηθέστερη αιτία θανάτου των ασθενών αυτών<sup>6</sup>.

Η προσβολή του αυτόνομου νευρικού συστήματος ερμηνεύει τα επεισόδια κοιλιακής ταχυκαρδίας<sup>15</sup> (συμμετοχή του ερεθισματαγωγού συστήματος της καρδιάς), πιθανότατα σε συνδυασμό με την υποξία που παρουσίαζε ο ασθενής.

Ως προς τη θεραπεία του συνδρόμου Guillain-Barré υπάρχουν δύο επιλογές: η ανοσοσφαιρίνη και η πλασμαφαίρεση. Σύμφωνα με την American Academy of Neurology<sup>16</sup>

- τόσο η ανοσοσφαιρίνη όσο και η πλασμαφαίρεση επιταχύνουν την αποδρομή του συνδρόμου
- δεν υπάρχουν πλεονεκτήματα της μίας έναντι της άλλης μεθόδου
- ο συνδυασμός των δύο δεν επιφέρει καλύτερα αποτελέσματα

- η χορήγηση στεροειδών (τα οποία παλαιότερα επιλεγόταν ως θεραπεία) δεν είναι ωφέλιμη

Οι περισσότεροι ασθενείς που προσβάλλονται από το σύνδρομο Guillain-Barré διαφεύγουν το θάνατο. Έτσι, πλήρης ανάρρωση παρατηρείται στο 15% των περιπτώσεων και ανάρρωση με μικρές υπολειμματικές βλάβες στο 65%. Ωστόσο, όμως, οι βλάβες αυτές δεν περιορίζουν τις απλές καθημερινές δραστηριότητες. Αντίθετα, σε 10% των ασθενών παραμένει σημαντική μυική αδυναμία ή υπαισθησία. Τέλος, 10% των ασθενών πεθαίνουν. Οι κυριότερες αιτίες θανάτου είναι το σύνδρομο της οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας των ενηλίκων, η σήψη, η πνευμονική εμβολή και η καρδιακή ανακοπή<sup>17</sup>. Πολλοί θάνατοι μπορούν να προληφθούν με έγκαιρη διάγνωση, καλή νοσηλεία και υποστηρικτική αγωγή. Σε βαριές περιπτώσεις απαιτείται νοσηλεία σε μονάδες εντατικής θεραπείας.

## ABSTRACT

*Adamidou A, Ntaios G, Karlovasitou A, Mauromatis I, Alevizos M, Karamitsos D. Guillain-Barré syndrome relapse after influenza vaccination. Hell Iatr 2005, 71: 292-295.*



A 76-years old male patient was admitted to hospital due to rapidly progressive, severe flaccid muscular weakness several days after influenza vaccination. There was no sensory loss, the patient's mental status was not affected and his deep tendon reflexes were significantly diminished. The patient mentioned that he suffered a similar condition 50 years ago, during his military service, from which he completely recovered. A conduction velocities study-electromyogram was performed, which pointed to the diagnosis of Guillain-Barre syndrome. Cerebrospinal fluid was obtained which contained 30 cells/ML (90% polymorphonuclear), glucose 87 mg/dl, proteins 47 mg/dl. The rest of the examinations which were performed failed to show any correlation with conditions that may cause the Guillain-Barre syndrome. The patient was treated with immunoglobulins for five days and his clinical condition significantly improved. During his hospitalisation, the patient suffered severe pneumonia from *Acinetobacter baumannii* and his ventilation had to be mechanically supported for several days. This complication was attributed to respiratory insufficiency due to involvement of the respiratory muscles. He also suffered two episodes of ventricular tachycardia due to involvement of the conduction system of the heart. We conclude, that the patient suffered a relapse of Guillain-Barre syndrome, 50 years after the initial attack, probably due to the recent influenza vaccination, since any other known causative agent of the syndrome was excluded.

### ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. *Hahn AF*. Guillain-Barre syndrome. *Lancet* 1998, 352: 635-41.
2. *Ropper AH*. The Guillain-Barre syndrome. *N Engl J Med* 1992, 326: 1130-6.
3. *Mori M, Kuwabara S, Miyake M, et al*. Haemophilus influenzae infection and Guillain-Barre syndrome. *Brain* 2000, 123: 2171-8.
4. *Steininger C, Popow-Kraupp T, Seiser A, Gueler N, Stanek G, Puchhammer E*. Presence of cytomegalovirus in cerebrospinal fluid of patients with Guillain-Barre syndrome. *J Infect Dis* 2004, 189: 984-9.
5. *Rees JH, Soudain SE, Gregson NA, Hughes RA*. Campylobacter jejuni infection and Guillain-Barre syndrome. *N Engl J Med* 1995, 333: 1374-9.
6. *Keenlyside RA, Schonberger LB, Bregman DJ, Bolyai JZ*. Fatal Guillain Barre syndrome after the national influenza immunization programme. *Neurology*.1980,

- 30: 929-33.
7. *Breman JG, Hayner NS*. Guillain Barre syndrome and its relationship to swine influenza vaccination in Michigan, 1976-1977. *Am J Epidemiol* 1984, 119: 880-9
8. *Seyal M, Ziegler DK, Couch JR*. Recurrent guillain Barre syndrome following influenza vaccine. *Neurology*. 1978, 28: 725-6
9. *Safranek TJ, Lawrence DN, Kurland LT, et al*. Reassessment of the association between Guillain Barre syndrome and receipt of swine influenza vaccine in 1976-1977: results of two-state study. *Am J Epidemiol*. 1991, 133: 940-51
10. *Harper SA, Fukuda K, Cox NJ, Bridges CB*. Using live, attenuated influenza vaccine for prevention and control of influenza: supplemental recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm Rep* 2003, 52: 1-8.
11. *Bridges CB, Fukuda K, Uyeki TM, Cox NJ, Singleton JA*. Prevention and control of influenza. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm Rep* 2002, 51: 1-31.
12. *Ropper AH, Shahani BT*. Pain in Guillain-Barre syndrome. *Arch Neurol* 1984, 41: 511-4.
13. *Clague JE, Macmillan RR*. Backache and the Guillain-Barre syndrome: a diagnostic problem. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1986, 293: 325-6.
14. *Olive JM, Castillo C, Castro RG, de Quadros CA*. Epidemiologic study of Guillain-Barre syndrome in children <15 years of age in Latin America. *J Infect Dis* 1997, 175 Suppl 1: S160-4.
15. *Hund EF, Borel CO, Cornblath DR, Hanley DF, McKhann GM*. Intensive management and treatment of severe Guillain-Barre syndrome. *Crit Care Med* 1993, 21: 433-46.
16. *Hughes RA, Wijdicks EF, Barohn R, et al*. Practice parameter: immunotherapy for Guillain-Barre syndrome: report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology* 2003, 61: 736-40.
17. *Lawn ND, Wijdicks EF*. Fatal Guillain-Barre syndrome. *Neurology* 1999, 52: 635-8.
18. *Charles Marwick*. Possible link between flu jab and Guillain-Barre syndrome under investigation. *BMJ* 2003, 326: 620.

### Αλληλογραφία:

Γ. Ντάιος  
Παρμενίωνος 3  
601 00, Κατερίνη

### Corresponding author:

G. Ntaios  
Parmenionos 3  
601 00 Katerini  
Greece

## Χειρουργική έρευνα. Αρχές και πρακτικές

Κατερίνα Κοτζάμπαση, Ευθύμιος Ελευθεριάδης

Α΄ Προπαιδευτική Χειρουργική Κλινική, Ιατρική Σχολή ΑΠΘ, Θεσσαλονίκη

**Περίληψη.** Η χειρουργική έρευνα αποτελεί αναπόσπαστο τμήμα της ακαδημαϊκής αποστολής του χειρουργού και ως τέτοια θα μπορούσε να χαρακτηριστεί κάθε προσπάθεια για απόκτηση νέας γνώσης στη χειρουργική. Η φιλοσοφία της χειρουργικής έρευνας είναι πολύπλοκη και αντιφατική, το πλαίσιο όμως μέσα στο οποίο κινείται είναι αυστηρά καθορισμένο. Αν και η χειρουργική έρευνα οξύνει την κρίση του χειρουργού, τα κίνητρα του τελευταίου για να ασχοληθεί με αυτήν ποικίλουν. Η έλλειψη χρόνου δυσκολεύει την επικοινωνία του ακαδημαϊκού χειρουργού με το πολύπλοκο σύστημα των συνεργατών που τον περιβάλλουν, η παρεμβολή όμως του θεωρητικού χειρουργού ανάμεσά τους διευκολύνει την εκτέλεση της χειρουργικής έρευνας. Αντικείμενο της θεωρητικής χειρουργικής είναι η ανάλυση δεδομένων και η λήψη αποφάσεων

με τη βοήθεια της κλινικής και της βασικής έρευνας. Το χάσμα που φαίνεται να υπάρχει ανάμεσα σε αυτές προσπαθεί να γεφυρώσει το θεωρητικό ακαδημαϊκό «πείραμα Marburg», τα αποτελέσματα του οποίου κρίνονται ενθαρρυντικά. Η χειρουργική έρευνα ακολουθεί συγκεκριμένα βήματα και μεθόδευση και το πλαίσιο μέσα στο οποίο κινείται είναι δοκιμασμένο και αδιαμφισβήτητο. Ο πειραματισμός και η έρευνα σε ζώα αποτελεί αναπόσπαστο τμήμα της χειρουργικής έρευνας και στόχος του είναι η επίλυση των προβλημάτων που αναφέρονται στην κλινική πράξη και η ανάπτυξη νέων τρόπων προσέγγισης των νόσων. Επιτακτική θεωρείται πλέον η ανάγκη οι εκπαιδευόμενοι στη χειρουργική αλλά και οι ειδικοί να ασχοληθούν με τη χειρουργική έρευνα. *Ελλην Ιατρ 2005, 71: 296 - 300.*

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ – ΟΡΙΣΜΟΣ

Η έννοια του όρου “χειρουργική έρευνα” θα μπορούσε απλά να ερμηνευθεί ως κάθε προσπάθεια που καταβάλλεται για την απόκτηση νέας χειρουργικής γνώσης. Ωστόσο, αν θέλαμε να εκφρασθούμε πιο περιφραστικά, ένας εμπειριστατικός ορισμός θα μπορούσε να αποδίδει στον όρο χειρουργική έρευνα τη διαρκή ενασχόληση-τριβή του χειρουργού με την ανθρώπινη νόσο, τριβή η οποία τον διεγείρει αλλά και τον προκαλεί να αναζητά απαντήσεις σε ερωτήματα που μεταφέρει από το κρεβάτι του ασθενούς στο τραπέζι του εργαστηρίου και πάλι πίσω στον ασθενή. Αυτός ο συνεχής προβληματισμός και η ενδόμυχη πρόκληση για την έρευνα του αγνώστου, αλλά και η άσβεστη δίψα για βελτίωση του επιπέδου της γνώσης, οδήγησε σε μια μακρά σειρά ανακαλύψεων στην ιατρική, ο αριθμός των οποίων αναμένεται ότι θα αυξηθεί γεωμετρικά στο μέλλον<sup>1</sup>.

### Η ΦΙΛΟΣΟΦΙΑ

Η φιλοσοφία της χειρουργικής έρευνας είναι πολύπλοκη και αντιφατική: όλοι δέχονται ότι πρέπει να γίνεται, όλοι εξαιρούν τη χρησιμότητά της και από την άλλη πλευρά πάρα πολλοί διαφωνούν με την ιδέα να την διεξάγουν οι χειρουργοί, αφού η θέση τους, θεωρητικά τουλάχιστον, είναι στην αίθουσα του χειρουργείου. Είναι βέβαια αληθές ότι πολλοί από αυτούς τους “μεγάλους”, που έδωσαν με τις πρωτοποριακές τους ιδέες νέες γνώσεις στη χειρουργική ξεκίνησαν μεν από την αίθουσα του χειρουργείου κατέληξαν όμως στο εργαστήριο, μακριά από την επαφή με τον ασθενή. Δεν αμφισβητείται όμως και το γεγονός ότι αν ο χειρουργός δεν έχει προσωπική συμμετοχή στην διαρκώς διευρυνόμενη και ανανεούμενη επιστημονική βάση της χειρουργικής, δεν μπορεί παρά να είναι ένας έμπειρος μεν αλλά μόνον εγχειρητής-τεχνίτης.

Η έρευνα στη χειρουργική αποτελεί τη γέφυ-

ρα που συνδέει τις βασικές επιστήμες με την τέχνη του “εγχειρίζειν”. Αν δεν υπάρχει αυτή η αλληλοεξάρτηση και η έρευνα εκτελείται από κλειστές ομάδες ατόμων ενός επιστημονικού πεδίου, υπάρχει ο ορατός κίνδυνος να αγνοούν συχνά οι κλινικοί τι γίνεται στο εργαστήριο και αντιστρόφως και έτσι να προκύπτουν αμφίδρομοι χαρακτηρισμοί του τύπου “δεν είναι καλοί επιστήμονες” ή “δεν αφιερώνουν αρκετό χρόνο στο χειρουργείο”.

### ΤΟ ΠΛΑΙΣΙΟ

Η χειρουργική έρευνα κινείται μέσα σε ένα αυστηρά καθορισμένο πλαίσιο, το οποίο μπορεί να κωδικοποιηθεί ως εξής: α. Εντόπιση του προβλήματος, β. Πρόταση λύσης, γ. Διατύπωση μιας ελέγξιμης υπόθεσης, δ. Επιβεβαίωση ή διάψευση της υπόθεσης με παρατήρηση και πειραματισμό και ε. Επικράτηση και αποδοχή μιας από τις ανταγωνιζόμενες θεωρίες.

Η χειρουργική έρευνα οξύνει την κρίση και ευαισθητοποιεί το ένστικτο του χειρουργού. Η χειρουργική κρίση είναι αυτή που οδηγεί στη λήψη σωστών αποφάσεων, και η οποία, μαζί με την εγχειρητική τεχνική συνιστούν τις βάσεις στήριξης του οικοδομήματος της χειρουργικής. Ο χειρουργός γνωρίζει ότι η διαδικασία για τη λήψη κλινικών αποφάσεων ακολουθεί μεν κάποιους αλγόριθμους και “δένδρα αποφάσεων” ωστόσο είναι απολύτως ελεύθερος να κάνει και παρεκκλίσεις από τον κανόνα. Η υπέρβαση αυτή όμως εξαρτάται άμεσα από την εν γένει παιδεία του και από το ένστικτο που απέκτησε από τη χειρουργική έρευνα.

### ΔΙΑΒΑΘΜΙΣΗ ΧΕΙΡΟΥΡΓΩΝ – ΕΡΕΥΝΗΤΩΝ

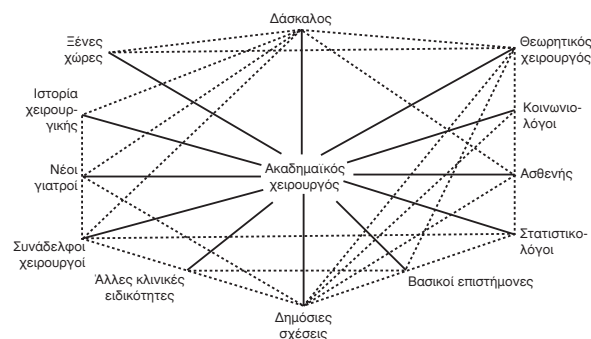
Είναι αλήθεια ότι ο ερευνητής-χειρουργός πάσχει από έλλειψη χρόνου για να ασχοληθεί με τον ασθενή του. Γι’ αυτό και οι ασχολούμενοι με την χειρουργική έρευνα θα μπορούσαν να καταταγούν σε 4 κατηγορίες: α. στους βασικούς ή κλινικούς ερευνητές που αφιερώνουν το χρόνο τους αποκλειστικά στη χειρουργική έρευνα β. σε εκείνους που προσπαθούν να ισορροπήσουν τις απαιτήσεις τους ακροβατώντας ανάμεσα στην κλινική χειρουργική και τη βασική έρευνα, γ. στους “ευκαιριακούς” ερευνητές-χειρουργούς, που περιστασιακά προσπαθούν να βρουν και να αφιερώσουν και λίγο χρόνο στην έρευνα και τέλος, δ. στους λίγους, χαρismaticούς που διαθέτουν και ηγετικά προσόντα<sup>2-5</sup>.

### ΘΕΩΡΗΤΙΚΗ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ

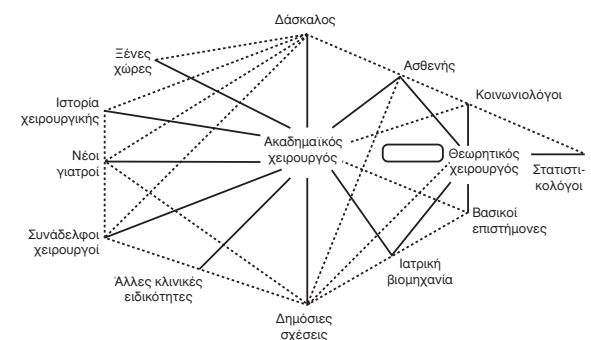
Τα χρόνια που ακολούθησαν τον Β’ Παγκόσμιο Πόλεμο άρχισε να γίνεται συνείδηση στις δυτικές κοι-

νωνίες η δυσκολία επικοινωνίας -και μάλιστα αμφίδρομα- του ακαδημαϊκού χειρουργού με τους πολυάριθμους συνεργάτες του που έχουν σχέση με την κλινική χειρουργική. Αυτό απεικονίζεται χαρακτηριστικά στο γράφημα εργασίας, όπου οι συνεχείς γραμμές αντιστοιχούν στις κατ’ ευθείαν επικοινωνίες του χειρουργού με το περιβάλλον και οι διακεκομμένες γραμμές στις έμμεσες επικοινωνίες (Εικ. 1). Στο σύστημα αυτό φαίνεται εύκολα ότι ο ακαδημαϊκός χειρουργός, ο οποίος αφιερώνει το πλείστον του χρόνου του στο χειρουργείο και τη διδασκαλία ξεπερνιέται από την πολυπλοκότητα και τη σύγχυση που του προκαλούν οι πηγές πληροφόρησης από το περιβάλλον. Όταν ανάμεσα στον ακαδημαϊκό χειρουργό και το λοιπό περιβάλλον παρεμβληθεί ο θεωρητικός χειρουργός, τότε αυτός προσπαθεί να σταθεί στη θέση αυτή αλληλεπιδρώντας με τους λοιπούς παίκτες του παιχνιδιού (Εικ. 2).

Η θεωρητική χειρουργική είναι μια νέα “ειδικότητα” της ιατρικής του εγχειρίζειν, το αντικείμενο της οποίας περιφραστικά θα μπορούσε να περιγραφεί ως η επιστήμη για την ανάλυση των δεδομένων και τη λήψη αποφάσεων στη χειρουργική, με τη βοήθεια της κλινικής και της βασικής έρευνας<sup>6-8</sup>.



Εικ. 1. Η επικοινωνία του ακαδημαϊκού χειρουργού με τους άλλους συνεργάτες. Οι συνεχείς γραμμές υποδηλώνουν άμεση και οι διακεκομμένες έμμεση επικοινωνία.



Εικ. 2. Η παρεμβολή του θεωρητικού χειρουργού ανάμεσα στον ακαδημαϊκό χειρουργό και τους άλλους συνεργάτες διευκολύνει την επικοινωνία του με αυτούς.

Υπάρχει η διάχυτη, αβάσιμη και ατεκμηρίωτη όμως άποψη, ότι η κλινική έρευνα είναι λιγότερο “επιστημονική” από την αντίστοιχη βασική βιο-ιατρική και επομένως είναι υποδεέστερης αξίας. Το χάσμα που φαίνεται να υπάρχει ανάμεσα στην κλινική πράξη και την βασική έρευνα προσπαθεί να γεφυρώσει το “Πείραμα Marburg”. Αυτό σχεδιάστηκε από τους ερευνητές χειρουργούς του Πανεπιστημίου του Marburg για να ελέγξει το βαθμό της αλληλεπίδρασης μεταξύ της κλινικής χειρουργικής και των βασικών επιστημών με τελικό αποδέκτη τη φροντίδα του ασθενούς. Το πείραμα άρχισε το 1970 και περιελάμβανε 6 μικρές ομάδες εργασίας, απαρτιζόμενες από χειρουργούς, φυσιολόγους, βιοχημικούς, βιολόγους και τεχνικούς. Ως τελικά κριτήρια ορισμού επιτυχίας του πειράματος τέθηκαν ο βαθμός εκπαίδευσης των κλινικών και θεωρητικών χειρουργών σε τεχνικές και μεθόδους χειρουργικής έρευνας, η ικανότητα στην εκτέλεση ελεγχόμενων κλινικών μελετών και η βασική έρευνα στη χειρουργική. Τα αποτελέσματα του ακαδημαϊκού αυτού πολύχρονου πειράματος συνεργασίας κλινικών και εργαστηριακών ερευνητών, όπου όλοι πρέπει να μπορούν να σκέφτονται και να ενεργούν πολυπρόσωπα, δηλαδή και ως εργαστηριακοί και ως κλινικοί και μάλιστα σε 3 επίπεδα αποτελεσματικότητας – στην εκτέλεση μιας απόφασης, στην αλλαγή αποφάσεων και στην έκβαση ή το κλινικό αποτέλεσμα της αλλαγής – κρίνονται ενθαρρυντικά για την εφικτότητα και τη συνέχιση της συνεργασίας<sup>9</sup>.

### ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ ΕΡΕΥΝΑΣ

Η χειρουργική έρευνα ακολουθεί συγκεκριμένα βήματα και μεθόδευση. Όλα αρχίζουν από τη σύλληψη μιας ιδέας, που αρχικά μπορεί να μην είναι σαφής, ή με ξεκάθαρο στόχο. Ακολουθεί η έρευνα σε διεθνείς βάσεις βιβλιογραφικών δεδομένων για την αναζήτηση άρθρων σχετικών με το αντικείμενο ή παραπλήσιων με το θέμα της έρευνας και έτσι, από τη μελέτη αυτών, εντοπίζονται τα κενά στην υπάρχουσα γνώση και ο στόχος γίνεται πιο συγκεκριμένος, ενώ παράλληλα εμπλουτίζεται και με μικρές λεπτομέρειες από ιδέες που αντήθησαν από τη βιβλιογραφία. Στο στάδιο αυτό είναι η στιγμή που θα επιλεγούν οι μέθοδοι και οι τεχνολογίες που θα χρησιμοποιηθούν και αρχίζει η βολιδοσκόπηση για πιθανές συνεργασίες. Ακολουθεί η λεπτομερής συγγραφή του ερευνητικού πρωτοκόλλου και το προκαταρκτικό αυτό τμήμα της ερευνητικής προσπάθειας κλείνει με την πολύ σημαντική,

απαραίτητη – και μερικές φορές δύσκολη – εξεύρεση πηγών χρηματοδότησης του έργου.

### ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ

Το πλαίσιο μέσα στο οποίο κινείται η κλινική έρευνα είναι δοκιμασμένο και αδιαμφισβήτητο. Πρώτα απ’ όλα το κλινικό πρόβλημα πρέπει να εκφραστεί ως επιστημονική ερώτηση και αυτό προϋποθέτει καλή γνώση της βιολογίας και της παθολογικής του φυσιολογίας. Στη συνέχεια αποφασίζονται ο τελικός στόχος ορισμού επιτυχίας του πρωτοκόλλου έρευνας [end points], τα κλινικά κριτήρια καθώς και ο ελάχιστος αριθμός ασθενών που απαιτούνται να εισέλθουν στη μελέτη. Η θέσπιση αυστηρών κριτηρίων που θα διασφαλίζει την ομοιογένεια του κλινικού υλικού σε ότι αφορά τις διάφορες βιολογικές αλλά και δημογραφικές παραμέτρους, συμβάλλει σημαντικά τόσο στην αξιοπιστία των αποτελεσμάτων της έρευνας όσο και στη μείωση του αριθμού των ασθενών που απαιτούνται. Είναι αυτονόητο ότι η διεξαγωγή της έρευνας πρέπει να γίνεται μέσα στα αυστηρά πλαίσια της βιοηθικής, όπως αυτά καθορίζονται από την διακήρυξη του Helsinki, αφού η λεπτομερής ενημέρωση και η έγγραφη αποδοχή του ασθενούς για την είσοδο του στην έρευνα συνιστά στοιχείο υψίστης σημασίας<sup>10,11</sup>. Ακολούθως επιλέγονται σχολαστικά οι παράμετροι που θα αξιολογηθούν, οι τεχνικές που θα χρησιμοποιηθούν στην έρευνα και αποφασίζεται ο τρόπος που θα αναλυθούν τα αποτελέσματα.

### ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ

Ο πειραματισμός και η έρευνα σε ζώα συνιστά αναπόσπαστο τμήμα της κλινικής έρευνας. Στόχος της πειραματικής έρευνας είναι η επίλυση των προβλημάτων που αναφύονται στη κλινική πράξη και η ανάπτυξη νέων μεθόδων και τρόπων προσέγγισης στην αντιμετώπιση των νόσων. Το υψηλό επίπεδο στο οποίο βρίσκεται σήμερα η χειρουργική, αλλά και οι άλλες ειδικότητες, οφείλεται κατά μεγάλο μέρος στην πειραματική έρευνα. Επιπρόσθετα όμως, ο πειραματισμός σε ζώα είναι επίσης χρήσιμος ως άσκηση και εξοικείωση με νέες χειρουργικές τεχνικές, πριν αυτές εφαρμοσθούν στον άνθρωπο. Η ανάπτυξη ζωικών πειραματικών μοντέλων, τα οποία μιμούνται κατά το δυνατόν επιτυχέστερα τις ανθρώπινες νόσους αφορά σε ένα άλλο, πολύ μεγάλο τμήμα της πειραματικής χειρουργικής έρευνας, το οποίο ευνοήθηκε ιδιαίτερα από την σημαντικότερη τεχνολογική βελτίωση των μέσων υποστήριξης των βασικών λειτουργιών του



οργανισμού σε συνθήκες πειραματισμού αλλά και από την έκρηξη στην εξέλιξη της γνώσης σε ενδοκυττάριο και ενδοπυρηνικό – μοριακό επίπεδο.

Έτσι, η κατά την τελευταία δεκαετία δυνατότητα ανάπτυξης γενετικά τροποποιημένων πειραματοζώων έδωσε μεγάλη ώθηση στην προσπάθεια μίμησης νόσου, αλλά και στην —δι’ αποκλεισμού κάποιων βιολογικών παραμέτρων— προώθηση της έρευνας ως προς την παθογένεια της νόσου. Η προς την κατεύθυνση αυτή χειρουργική έρευνα προβλέπεται ότι στα επόμενα χρόνια πιθανά θα τροποποιήσει ακόμη και τον τρόπο σκέψης του ερευνητή.

Η χρήση των πειραματοζώων έχει 4 πλευρές θεώρησης: την επιστημονική-τεχνική, η οποία είναι πρακτικά και η ευκολότερη, την οικονομική, τη νομική, δηλαδή το νομικό πλαίσιο διεξαγωγής του πειραματισμού και τέλος την ηθική, δηλαδή τη δικαιολόγηση της αναγκαιότητας θυσίας των πειραματοζώων<sup>12</sup>. Σε ότι αφορά την προστασία των πειραματοζώων, η ελληνική νομοθεσία έχει εναρμονισθεί με την Κοινοτική από το 1992. Η επιστημονική αναγκαιότητα —πολλές φορές αμφισβητούμενη— που καθιστά τον πειραματισμό επιβεβλημένη πρακτική αλλά και η ευαισθητοποίηση για την ακούσια θυσία πειραματοζώων, συνετέλεσαν στη θεσμοθέτηση κανόνων “ηθικής” σε ότι αφορά τη χρήση τους για πειραματικούς σκοπούς. Οι κανόνες αυτοί προσπαθούν να απαντήσουν σε ερωτήματα σχετικά με την αναγκαιότητα του πειραματισμού, τον αριθμό των πειραματοζώων που θα χρησιμοποιηθούν, τον πόνο και την αγωνία των ζώων —αν υπάρχει και πως θα αντιμετωπισθεί— και άλλα παρόμοια.

Οι υπέρμαχοι της προστασίας των πειραματοζώων στηρίζουν τις ελπίδες τους στην εξεύρεση εναλλακτικών μεθόδων πειραματισμού, δηλαδή τεχνικών που θα παρέχουν την ίδια ποιότητα και ποσότητα πληροφοριών με το κλασικό πείραμα χωρίς όμως τη χρήση πειραματοζώων. Τέτοιες εναλλακτικές μέθοδοι είναι τα μοντέλα *in vitro*. Πρόκειται για χρήση βιολογικών συστημάτων [κυττάρων, ιστών, οργάνων], που διατηρούνται σε αυστηρά ελεγχόμενο περιβάλλον, εκτός του οργανισμού προέλευσης. Προς το παρόν όμως αυτές οι τεχνικές χρησιμοποιούνται μόνον για μελέτες βασικής έρευνας και προσπόριση πρωτογενούς γνώσης και δεν είναι δυνατόν να υποκαταστήσουν τον κλασικό πειραματισμό που απαιτεί η χειρουργική έρευνα. Μια ακόμη πιο προοδευτική εναλλακτική μέθοδος, η οποία όμως θα εξελιχθεί στο απώτερο μέλλον είναι η προσομοίωση νόσων και παθολογικών καταστάσεων σε ηλεκτρονικό υπολογιστή.

Οι βασικές αρχές που προαπαιτούνται για την

αξιοπιστία των αποτελεσμάτων ενός πειραματικού σχεδιασμού είναι τρεις: η επαναληψιμότητα των επιμέρους αποτελεσμάτων, η τυχαιοποίηση του δείγματος και η ομαδοποίηση των πειραματοζώων με στόχο την εκτίμηση του πιθανού σφάλματος και τη βελτίωση της ακρίβειας του πειράματος.

Η ύπαρξη οργανωμένου χώρου, καλά σχεδιασμένου και εξοπλισμένου, όπου διεξάγεται η πειραματική έρευνα θεωρείται απαραίτητη προϋπόθεση για κάθε ακαδημαϊκό Ίδρυμα ή Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο. Η επιτυχής λειτουργία ενός πειραματικού χειρουργείου και ο βαθμός παραγωγής και αποδοτικότητας, σε επίπεδο επιστημονικής έρευνας, έχουν άμεση σχέση με την κτιριακή του κατασκευή, την αρχιτεκτονική του διαρρύθμιση και κατά συνέπεια τη λειτουργικότητά του και τον βασικό και ειδικό εξοπλισμό του. Το είδος των πειραμάτων που διεξάγονται και επομένως το μέγεθος των πειραματοζώων που χρησιμοποιούνται αποτελούν παράγοντες που σχετίζονται άμεσα με την έκταση του πειραματικού χειρουργείου. Οξέα πειράματα σε επίμυες απαιτούν μικρό χώρο, ενώ αντίθετα σε μεγάλα πειραματοζώα, όπως οι χοίροι, ιδίως όταν επιπλέον απαιτείται να ανανήψουν από την αναισθησία για να επιζήσουν και να παρακολουθηθούν μετεγχειρητικά απαιτούν την ύπαρξη καλώς σχεδιασμένου συμπλέγματος πειραματικού χειρουργείου, με πλήρη εξοπλισμό μονάδος παρακολούθησης και καλά οργανωμένους χώρους σταβλισμού με υψηλές συνθήκες καθαριότητας και υγιεινής. Διαφορετικά, εκτός από τις ενδογενείς δυσκολίες που θα έχουν οι ερευνητές, τίθεται εν αμφιβόλω και η αξιοπιστία των αποτελεσμάτων της έρευνας.

## Ο ΝΕΟΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΟΣ – ΕΡΕΥΝΗΤΗΣ

Σε όλες τις ανεπτυγμένες χώρες διατυπώνεται πλέον ως επιτακτική η ανάγκη οι εκπαιδευόμενοι χειρουργοί —αλλά και οι ειδικοί στα πλαίσια τα μετεκπαίδευσής τους ή της ανανέωσης της πιστοποίησης των ικανοτήτων τους— να εμπλακούν για μια περίοδο της άσκησής τους με τη χειρουργική έρευνα. Με τον τρόπο αυτό αποκτούν μια καλύτερη κριτική θεώρηση σε ότι αφορά στα αποτελέσματα της χειρουργικής θεραπείας και διεγείρεται το ενδιαφέρον τους στο να συνδυάζουν την ερευνητική εργασία με την κλινική πράξη<sup>13,14</sup>.

Δεδομένης της διεθνώς κλιμακούμενης πίεσης προς τους χειρουργούς να παράγουν ολοένα και περισσότερο κλινικό έργο, η απόκτηση υψηλής ποιότητας διδακτορικών διατριβών και η εν γένει παραγωγή πρωτογενούς έρευνας καθίσταται κρι-

τικό στοιχείο για την επιτυχία τους σε ακαδημαϊκό επίπεδο. Αποτέλεσμα αυτής της τάσης-ανάγκης είναι η κατακόρυφη αύξηση του αριθμού των διδακτορικών διατριβών στα κλινικά τμήματα των Ιατρικών Σχολών που τείνει να φθάσει αυτόν των τμημάτων βασικής έρευνας<sup>15</sup>.

Από την άλλη όμως πλευρά, η διενέργεια υψηλής ποιότητας διδακτορικής και μεταδιδακτορικής έρευνας σχετίζεται στενά με το βαθμό αντίληψης και αποδοχής που έχουν οι Ιατρικές Σχολές για τη συνεργασία ανάμεσα σε κλινικούς και βασικούς επιστήμονες. Η στενή σύνδεση των κλινικών προγραμμάτων με εκείνα της βασικής έρευνας καθώς και εκείνων που ασχολούνται με αυτά, θα διευκολύνει την παραγωγή νέας γνώσης, νέων προϊόντων και νέων υπηρεσιών υγείας.

### ABSTRACT

**Kotzampassi K, Eleftheriadis E. Surgical research - principles and practice. *Hell Iatr* 2005, 71: 296-300.**

Surgical research, as an intrinsic element in the surgeon's academic role, is a means for the acquisition and extension of surgical knowledge. Although the philosophy of research in surgery remains complex and debated, the area of any research itself is well-defined. Whatever the reason for doing research, it certainly hones a surgeon's thinking and judgment. An integral difficulty is the lack of time for the academic surgeon to communicate with the network of partners and associates involved in, but with varying degrees of responsibility for, research; a theoretical surgeon among them facilitates communication. The main object of theoretical surgery is the analysis of obtained data and the making of decisions based on both the clinical and basic research, despite the considerable gap between them. The theoretical academic Marburg experiment does seem to reduce/show that it is possible to bridge this gap between clinical and laboratory research. Surgical research using animals in experiments constitutes an unavoidable part of research, targeting the solving of problems of everyday clinical practice, as well as the finding of new methods for understanding a disease itself. Thus, it is well recognized that there is an urgent need for both residents and trainers to be involved in surgical research.

### ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. *Barker CF*. History and philosophy of surgical research. In: *Surgical Research*. Souba WW, Wilmore DW [eds], Academic Press, San Diego 2001: 1261-77.

2. *Goldstein JL, Brown MS*. The clinical investigator: bewitched, bothered, and bewildered - but still beloved. *J Clin Invest* 1997, 99: 2803-12.
3. *Souba WW*. Leadership and strategic alignment - getting people on board and engaged. *J Surg Res* 2001, 96: 144-51.
4. *Souba WW*. New ways of understanding and accomplishing leadership in academic medicine. *J Surg Res* 2004, 117: 177-86.
5. *Chiu RCJ, Mulder DS*. Roles for the surgical investigator. In: *Principles and Practice of Research. Strategies for surgical investigators*. Troidl H, Spitzer WO, McPeck B, Mulder DS, McKneally MF [eds], Springer-Verlag, Berlin 1986: 20-5.
6. *Koller M, Barth H, Celik I, Rothmund M*. A short history of theoretical surgery. *Inflamm Res* 2004, 53 Suppl 2: S99-104.
7. *Lorenz W, Rothmund M*. Theoretical surgery: a new specialty in operative medicine. *World J Surg* 1989, 13: 292-9. *World J Surg* 1989, 13: 287-91.
9. *Lorenz W, Troidl H*. The Marburg experiment. In: *Principles and Practice of Research. Strategies for surgical investigators*. Troidl H, Spitzer WO, McPeck B, Mulder DS, McKneally MF [eds], Springer-Verlag, Berlin, 1986: 137-48.
10. *Morgenstern L*. Still imperfect: overseeing clinical research. *Nutrition* 2005, 21: 887-8.
11. *Souba WW, Wilmore DW*. Judging surgical research: how should we evaluate performance and measure value? *Ann Surg* 2000, 232: 32-41.
12. *Toledo-Pereyra LH*. The ethics of surgical research. *J Invest Surg* 2003, 16: 119-21.
13. *Staveley-O'Carroll K, Pan M, Meier A, Han D, McFadden D, Souba WW*. Developing the young academic surgeon. *J Surg Res* 2004, 15,118: 109-13.
14. *Wanted SM*. A few good (young) investigators. *Gastrointest Endosc* 2003, 57: 144.
15. *Chinoy MR, Moskowitz J, Wilmore DW, Souba WW*. Basic science faculty in surgical departments: advantages, disadvantages and opportunities. *J Surg Res* 2005, 123: 153-7.

*Αλληλογραφία:*

Ε. Ελευθεριάδης  
Α' Προπ. Χειρουργική Κλινική  
Νοσοκομείο ΑΧΕΠΑ  
Στ. Κυριακίδη 1  
546 36 Θεσσαλονίκη

*Corresponding Author:*

Ε. Eleftheriadis  
Α' Prop. Surgical Clinic  
Aristotle University, AHEPA Hospital  
St. Kyriakidi 1  
546 36 Thessaloniki  
Greece