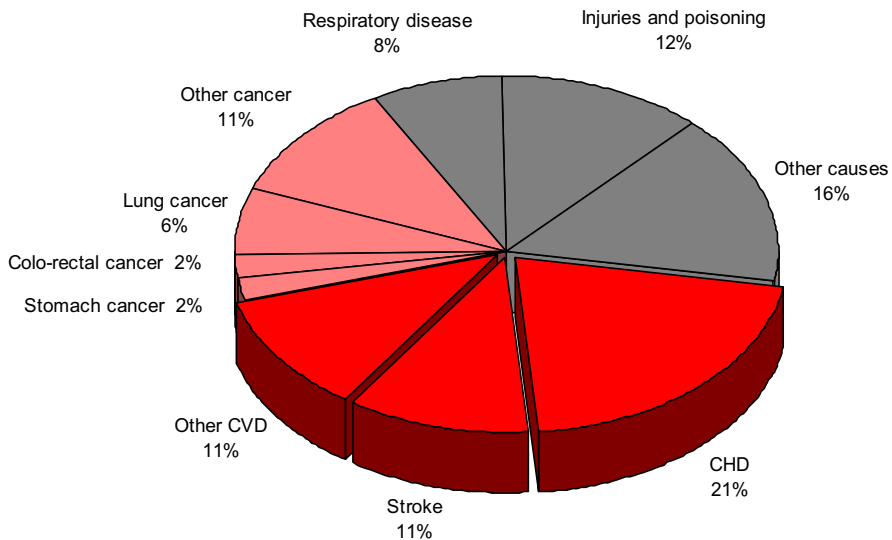


Εξελίξεις στην Εργαστηριακή Πρόγνωση της Καρδιαγγειακής Νόσου

Παπαδόπουλος Γεώργιος

Κάθε χρόνο οι καρδιαγγειακές νόσοι ευθύνονται για 4 εκατομμύρια θανάτους παγκοσμίως. Περίπου τα μισά περιστατικά αφορούν Οξεία Στεφανιαία Σύνδρομα και το 1/3 αφορά την Καρδιακή Προσβολή. Σχεδόν το 50% των Καρδιακών προσβολών αφορά υγιή πληθυσμό από άντρες και γυναίκες χωρίς τους παραδοσιακούς παράγοντες κινδύνου όπως υψηλά επίπεδα Χοληστερόλης, Διαβήτη, Κάπνισμα, Οικογενειακό ιστορικό καρδιαγγειακής νόσου. (εικόνα 1.)

Στην προσπάθεια βελτίωσης της Πρόγνωσης της Καρδιαγγειακής νόσου συμμετέχει και το εργαστήριο με την ανάπτυξη καινούργιων δεικτών υψηλής αναλυτικής ευαισθη-



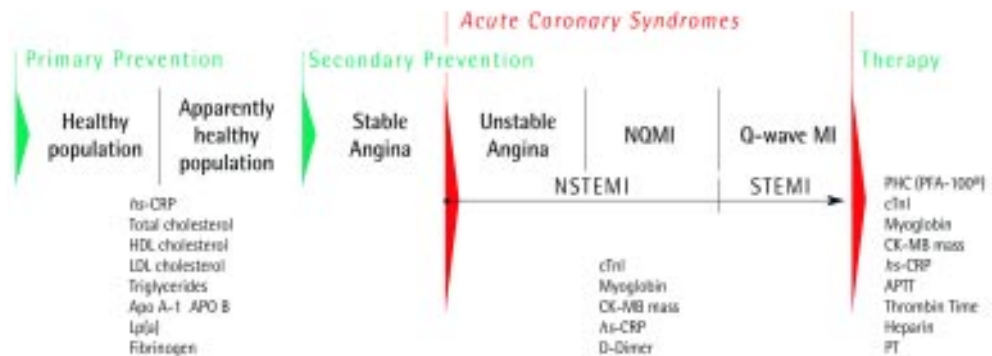
World Health Organization (1999)

www.heartstats.org



Εικόνα 1. Αιτία θανάτων σε άνδρες στην Ε.Ε

οίας. Στη Πρωτογενή Πρόληψη σε “φαινομενικά” υγιή πληθυσμό (συμπτωματικό πληθυσμό με υπέρταση, διαβήτη, παχυσαρκία, κάπνισμα, δυσλιπιδαιμίες), εκτός από τον κλασσικό λιπιδαιμικό έλεγχο προστίθεται τώρα και η υψηλής ευαισθησίας CRP (hs-CRP), όπως και η Ομοκυστεΐνη. Στη Δευτερογενή Πρόληψη και σε άτομα που αναπτύσσουν Ασταθή στηθάγχη που καταλήγουν σε Οξεία Στεφανιαία Σύνδρομο, εκτός από τις παραπάνω εξετάσεις, όπως είναι γνωστό υπάρχει η CK-MB mass, η Καρδιακή Τροπονίνη, το D-Dimer και η Μυοσφαιρίνη. Τέλος, για την παρακολούθηση της θεραπείας οι παραπάνω εξετάσεις συμπληρώνονται και με ειδικούς Πηκτικολογικούς δείκτες (εικόνα 2). Αν συυπολογίσει κανείς και τα Νατριουρητικά πεπτιδία που έρχονται να συμπληρώσουν το κομμάτι της Καρδιακής Ανεπάρκειας, το εργαστήριο είναι σε θέση σήμερα να δώσει στον κλινικό την πληροφόρηση που χρειάζεται, τόσο για την επιτυχή αντιμετώπιση των περιστατικών που εισάγονται στο νοσοκομείο με Καρδιακά προβλήματα, όσο και τον επιδημιολογικό έλεγχο των ατόμων σε υψηλό κίνδυνο¹.



Εικόνα 2. Καρδιαγγειακή ασθένεια. Από την Πρόγνωση στη Θεραπεία

C-Αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP)

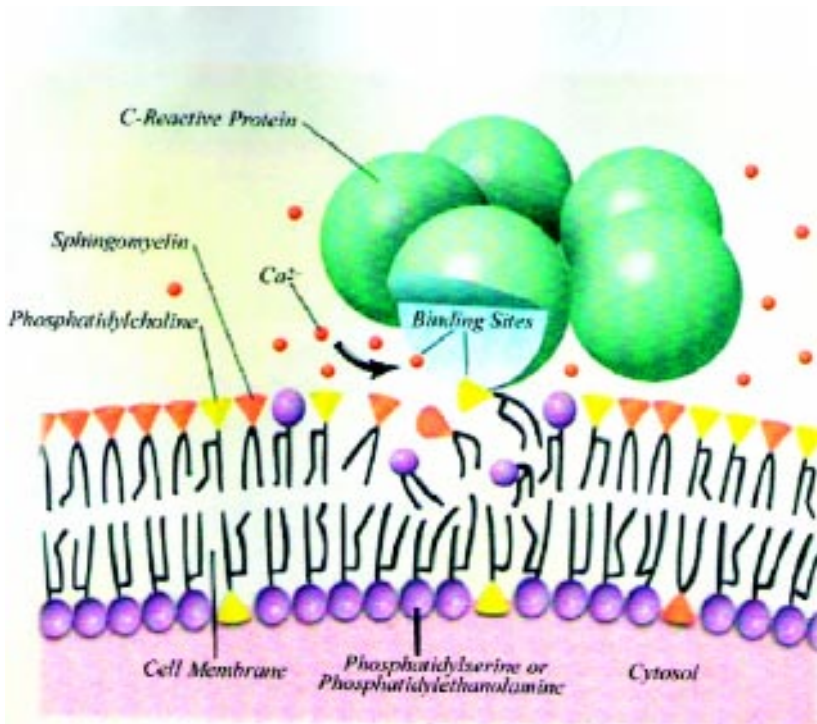
Κλινικές και εργαστηριακές μελέτες έχουν αποδείξει ότι της έναρξης, δημιουργίας και αποσταθεροποίησης των αθηρωματικών πλακών προηγείται μια φλεγμονώδης διαδικασία. Η C- αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP), ως παράγων οξείας φάσης της φλεγμονώδους αθηρωματικής διαδικασίας αναγνωρίζεται σήμερα ως ο πιο σημαντικός από τους άλλους παράγοντες που συμμετέχουν σ' αυτήν την διαδικασία².

Δομή

Η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP), είναι μια γλυκοζυλιωμένη πολυμερής πρωτεΐνη που αποτελείται από 5 ολόιδιες υπομονάδες. Βρίσκεται στα περισσότερα σπονδυλωτά και έχει διατηρηθεί πολύ καλά βιολογικά κατά την διάρκεια της εξέλιξης των ειδών. Ενδεικτικό είναι ότι έχει ανιχνευθεί σε αρθρόποδα 500 εκατομμύρια χρόνια πριν. Η

CRP παράγεται από το συκώτι για να αντισταθεί στην εισβολή ξένων αντιγόνων. Η CRP περιγράφηκε επαρκώς το 1930 όταν φάνηκε ότι μπορούσε να ενωθεί με το pneumococcal C polysaccharide. Είναι γνωστό σήμερα ότι η CRP αναγνωρίζει την φωσφοχολίνη (το υδρόφιλο τμήμα της φωσφαδυλ-χολίνης), στις κυτταρικές μεμβράνες παρουσία ιόντων ασβεστίου (εικόνα 3).

Η δημιουργία συμπλόκου της CRP στο κυτταρικό τοίχωμα ενεργοποιεί το μόριο της CRP που παίρνει μέρος στον καταρράκτη αντιδράσεων των συμπληρωμάτων C, διεγείροντας τα μακροφάγα και άλλα κύτταρα να περάσουν στο στάδιο της φαγοκύτωσης³.



Εικόνα 3. Η δομή της CRP και η σύνδεσή της στην κυτταρική μεμβράνη.

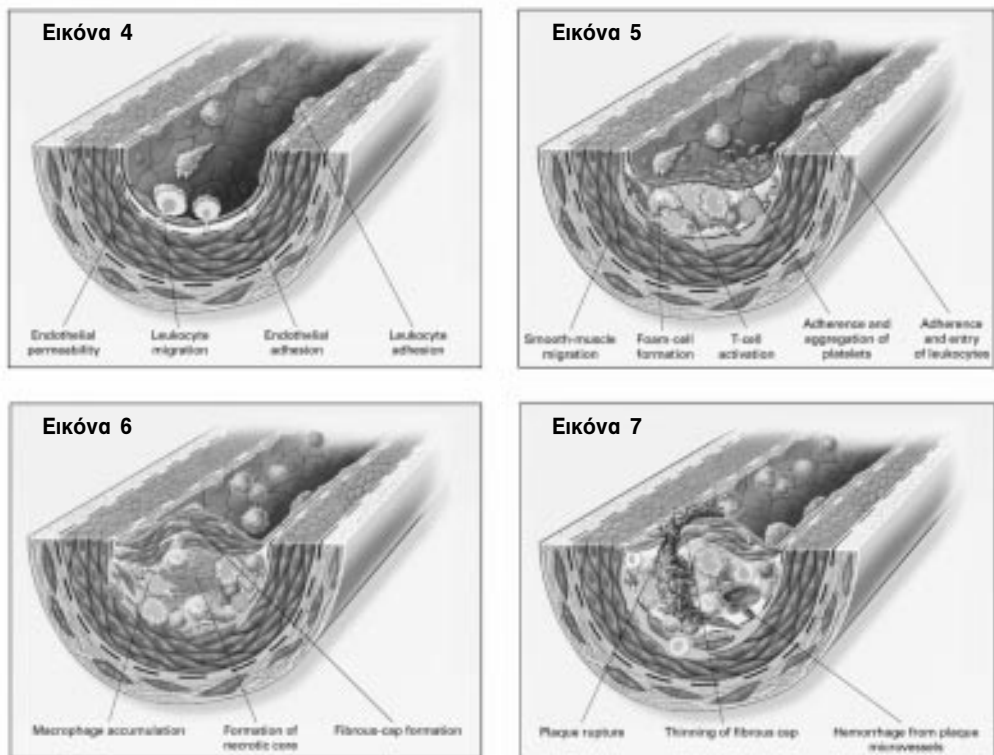
Μηχανισμός της φλεγμονώδους, Αθηρωματικής διαδικασίας

Η Εργαστηριακή και Κλινική πρακτική σήμερα δείχνει ότι η Αθηροσκλήρυνση δεν είναι απλά μια ασθένεια που οφείλεται σε απόθεση λιπιδίων, αλλά σε μια συστηματική φλεγμονώδη διαδικασία που οδηγεί σταδιακά σε έναρξη Αθηροθρομβωτικών επεισοδίων. Μονοκύτταρα, μακροφάγα και T- λεμφοκύτταρα παίζουν πολύ σπουδαίο ρόλο στις λιπώδεις αθηρωματικές πλάκες που δημιουργούνται στο αρτηριακό τοίχωμα. Επιπρόσθετα, η ευπαθής περιοχή υφίσταται διάρρηξη και συγχρόνως υψηλού βαθμού διήθηση μαζί με τα φλεγμονώδη κύτταρα. Οι κυτταροκίνες οι οποίες προκαλούν την άμεση

παραγωγή από το ήπαρ, οξείας φάσεως αντιδρώντα όπως η CRP έχει βρεθεί ότι αυξάνονται στα οξεία στεφανιαία επεισόδια, ακόμα και με την απουσία νέκρωσης του μυοκαρδιακού ιστού. Έτσι η CRP λειτουργεί ως ένας δείκτης που υποκαθιστά διαγνωστικά άλλους παράγοντες, που εμπλέκονται στην φλεγμονώδη αθηρωματική διαδικασία (όπως ιντερλευκίνη-6 και TNF- α).

Η έως τώρα εμπειρία δείχνει να συνδέεται άμεσα η συγκέντρωση της CRP στον ορό τόσο με το ποσοστό δημιουργίας, όσο και με την πιθανότητα ρήξης της αθηρωματικής πλάκας στο αρτηριακό τοίχωμα.^{2,4}

Αναλυτική περιγραφή τής φλεγμονώδους διαδικασίας δίδεται στις παρακάτω **εικόνες 4,5,6,7**.



Εικόνες 4,5,6,7. Μηχανισμός φλεγμονώδους Αθηρωματικής διαδικασίας

Βιολογική μεταβλητότητα & Πρωτόκολλο αιμοληψίας

Μεταξύ των προϋποθέσεων που χρειάζεται μια εξέταση για να εφαρμοστεί σε επίπεδο ρουτίνας είναι και η χαμηλή βιολογική μεταβλητότητα. Με τον όρο εννοούμε την απόκλιση των μετρήσεων μιας εξέτασης στο ίδιο άτομο για μεγάλες χρονικές περιόδους. Αυτός συγκρίνεται με τον μέσο όρο της απόκλισης των αναλυτικών μεθό-

δων που κυκλοφορούν στη αγορά. Ο συντελεστής για την βιολογική μεταβλητότητα της CRP (CVi), αναφέρεται περίπου στο 30%, ο δε μέσος όρος απόκλισης των αναλυτικών μεθόδων (CVa) μέτρησης της CRP στις χαμηλές συγκεντρώσεις είναι < 6%, για την πλειονότητα των εμπορικά διαθέσιμων kit. Άρα λαμβανόμενου υπ' όψιν ότι το CVa πρέπει να είναι λιγότερο από το μισό του CVi, και παρόλο ότι η CRP από τη φύση της είναι ασταθές μόριο (ως παράγοντας της φλεγμονώδους διαδικασίας), η μέτρησή και η εφαρμογή της σε πρωτόκολλα υψηλής ευαισθησίας (hs-CRP), την έχει αναγάγει σε έναν πολύ σταθερό βιολογικό δείκτη.

Οι μετρήσεις της CRP έχουν κλινική χρησιμότητα όταν ο ασθενής δεν υποφέρει από ενεργή λοίμωξη ή χρησιμοποιεί φάρμακα. Οι επισημάνσεις αυτές μας οδηγούν αναπόφευκτα στη λήψη ιστορικού πριν την αιμοληψία με τις ακόλουθες ερωτήσεις:

1^η. Εάν είχατε τις τελευταίες δύο εβδομάδες ή τώρα λοίμωξη, γρίπη, πυρετό, εμβολιασμό, τρύπημα στο δέρμα οποιασδήποτε μορφής, πόνο στη μέση, πονοκέφαλο, ιατρική ή οδοντιατρική θεραπεία.

2^η. Εάν είχατε τις τελευταίες δύο εβδομάδες αρχίσει ή σταματήσει ή ριζικά αλλάξει: διαιτητικές συνήθειες, τσιγάρο, χρήση αντισυλληπτικών, θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης, εντατική εργασία οποιασδήποτε μορφής, χρήση πολυβιταμινών, θεραπεία με ασπιρίνη, στατίνες, αντιβιοτικά, θεραπεία αναπνευστικού⁵.

Στον **πίνακα 1**, φαίνεται η επίδραση όλων των παραπάνω παραγόντων στην αύξηση ή την μείωση της συγκέντρωσης της hs-CRP⁶.

Κατόπιν γίνεται η λήψη του αίματος και ο προσδιορισμός της CRP. **Τα επίπεδα συγκέντρωσης για την λήψη αποφάσεων (decision limits) θεωρούνται τα 10 mg/l.**

Εάν η τιμή της CRP είναι < 10 mg/l αποδεχόμαστε την τιμή χωρίς καμία άλλη ενέργεια.

Εάν η τιμή της CRP είναι > 10 mg/l, και συντρέχουν λόγοι από τις ερωτήσεις 1,2, επαναλαμβάνουμε την αιμοληψία μετά από δύο εβδομάδες.

Εάν και μετά τις δύο εβδομάδες, η τιμή της CRP είναι > 10 mg/l, και συντρέχουν λόγοι από τις ερωτήσεις 1,2 προχωράμε σε τρίτη αιμοληψία μετά από δύο εβδομάδες. Εάν και αυτή τη φορά η τιμή της CRP είναι > 10 mg/l, αποδεχόμαστε τη τιμή⁶.

Τελευταίες μελέτες έχουν συστηματοποιήσει την παραπάνω αξιολόγηση υπό τον τίτλο των γενικών οδηγιών χρήσης δεικτών της φλεγμονώδους αθηρωματικής διαδικασίας, όπως θα δείξουμε παρακάτω.

Πίνακας 1. Συνθήκες και Χαρακτηριστικά ασθενών που συνδέονται με Αυξημένα ή Χαμηλά επίπεδα της hs-CRP

Αυξημένα επίπεδα	Χαμηλά επίπεδα
Υψηλή Πίεση	Μέτρια κατανάλωση αλκοόλ
Υψηλός δείκτης μάζας σώματος	Αυξημένη φυσική δραστηριότητα
Κάπνισμα	Χάσημο θάρους
Μεταβολικό σύνδρομο/ Διαβήτης	Φαρμακευτικές αγωγές
Χαμηλή HDL/ Υψηλά τριγλυκερίδια	Στατίνες
Χρήση οιστρογόνων/ Προγεστερόνης	Φιμπράτες
Χρόνιες λοιμώξεις	Νιασίνη
Χρόνιες φλεγμονές (Ρευματοειδής αρθρίτις)	

Μεθοδολογίες μέτρησης & Τυποποίηση

Έως σήμερα μετρούσαμε στο εργαστήριο την CRP με Ανοσοθολοσιμετρικές ή Ανοσοεφελομετρικές μεθόδους, με κλίμακα μέτρησης από 3 mg/l έως τα 200 mg/l.

Η ανάγκη όμως για τον προσδιορισμό του ολοένα και αυξανόμενου Καρδιαγγειακού κινδύνου (risk) στον υγιή πληθυσμό οδήγησε εταιρίες και ερευνητές σε τροποποιήσεις στο ήδη υπάρχον πρωτόκολλο μέτρησης της ανοσοχημικής μεθόδου.

Οι τροποποιήσεις αυτές έτειναν στην αύξηση του σήματος ανίχνευσης σε ολοένα και χαμηλότερες συγκεντρώσεις. Στην πορεία χρησιμοποιήθηκαν τροποποιήσεις που αφορούσαν την σήμανση anti-CRP αντισωμάτων είτε με ένζυμο (Elisa), ή με φθορίζουσες ουσίες και την προσκόλλησή τους με μονοκλωνικά ή πολυκλωνικά αντισώματα σε σφαιρίδια πολυστυρενίου.

Η Ανοσοεφελομετρική μέθοδος χρησιμοποιεί μονοκλωνικά αντισώματα για τη ανθρώπινη CRP. Τα σχηματιζόμενα συσσωμάτια σκεδάζουν μια δέσμη φωτός που διέρχεται από το δείγμα. Η ένταση του σκεδαζόμενου φωτός είναι ανάλογη προς την συγκέντρωση της σχετικής πρωτεΐνης στο δείγμα. Η αναλυτική ευαισθησία της μεθόδου είναι 0,175 mg/l και έχει χαρακτηριστεί ως **hs-CRP (CRP υψηλής ευαισθησίας)**⁷. Ανοσοθολοσιμετρικά, η ανθρώπινη CRP συγκολλάται σε σωματίδια latex επικαλυμμένα με μονοκλωνικά αντισώματα έναντι της CRP. Ο προσδιορισμός γίνεται στα 552 nm και η αναλυτική ευαισθησία της μεθόδου είναι 0,71 mg/l.⁸

Άλλη μέθοδος βασίζεται σε μια σωματιδιακά βελτιωμένη τεχνική ανοσοπροσδιορισμού με μέτρηση της θολερότητας (τεχνική PETIA). Σωματίδια latex επιστρωμένα με αντίσωμα της CRP συσσωματώνονται παρουσία CRP στο δείγμα. Η αύξηση της θολερότητας που συνοδεύει την συσσωμάτωση είναι ανάλογη προς την συγκέντρωση της CRP. Η αναλυτική ευαισθησία της μεθόδου είναι 0,5 mg/l που αντιπροσωπεύει τη ελάχιστη συγκέντρωση της CRP που είναι δυνατόν να διακριθεί από το μηδέν⁹. Γενικά η αναλυτική ευαισθησία ορίζεται ως η συγκέντρωση στις δύο τυπικές αποκλίσεις (2 SD) πάνω από το επίπεδο 0.0 mg/l βαθμονομητού της μεθόδου.

Όλες οι παραπάνω τεχνικές βρήκαν μεγάλη απήχηση στις εταιρίες, γιατί έδιναν την δυνατότητα της άμεσης εφαρμογής τους στους ήδη υπάρχοντες αυτόματους αναλυτές. Έτσι σήμερα συγκεντρώσεις της τάξης των 0,18 mg/l μπορούν αξιόπιστα να μετρηθούν. Είναι πολύ σημαντικό εδώ να επισημάνουμε ότι δεν δείχνουν τον ίδιο βαθμό ευαισθησίας όλα τα πρωτόκολλα μέτρησης της CRP που κυκλοφορούν στην αγορά. Γενικά για πρακτικούς λόγους, ένα εργαστήριο Κλινικής Χημείας οφείλει να έχει ένα πρωτόκολλο μέτρησης της CRP, που να μετρά αξιόπιστα, τόσο χαμηλές, όσο και υψηλές συγκεντρώσεις, ωστόσο αν υπάρχει ανάγκη από τους κλινικούς ιατρούς για τον προσδιορισμό των ατόμων με αυξημένο κίνδυνο (high risk) ανάπτυξης Καρδιαγγειακών επεισοδίων, πρέπει να χρησιμοποιηθούν δύο διαφορετικά πρωτόκολλα μέτρησης της CRP. Το ήδη υπάρχον και το hs-CRP.

Η **Τυποποίηση** (standardization) των ήδη υπαρχόντων πρωτοκόλλων μέτρησης της CRP είναι ένα πάρα πολύ σημαντικό κεφάλαιο. Εάν υπάρχει αδυναμία προσέγγισης των αναλυτικών πρωτοκόλλων και των μεθόδων που εφαρμόζονται υπάρχει κίνδυνος κατάταξης των ασθενών σε λάθος ομάδα κινδύνου, που έχει συνέπεια την λανθασμένη χορηγούμενη θεραπευτική αγωγή. Οι έως τώρα ενδείξεις συμφωνούν ότι υπάρχει πρόβλημα τυποποίησης μεταξύ των αναλυτικών μεθόδων. Υπάρχουν περιπτώσεις που

ενώ έχει παρατηρηθεί σημαντική απόκλιση μεταξύ δύο μεθόδων μέτρησης, οι εταιρίες που έχουν κατασκευάσει τα δύο αυτά αντιδραστήρια ισχυρίζονται ότι τα υλικά βαθμονόμησης τους είναι ιχνηλάσιμα ως προς τα WHO υλικά βαθμονόμησης, που θεωρούνται υλικά αναφοράς. Όμως, όπως η έως τώρα εμπειρία έχει δείξει, οι προσπάθειες μεταφοράς πρωτοκόλλων από υλικά αναφοράς σε υλικά βαθμονόμησης των εταιριών τις περισσότερες φορές είναι αποτυχημένη. Παρ' όλες τις δυσκολίες τυποποίησης των περισσότερων αντιδραστηρίων στην αγορά, φαίνεται να υπάρχουν μερικά που βασίζονται σε πιστοποιημένα υλικά αναφοράς π.χ το CRM470 και δείχνουν πολύ καλή συσχέτιση μεταξύ τους.

Το γνωστό FDA (Food&Drug Administration) στις Ηνωμένες Πολιτείες έχει εγκρίνει την χρήση latex-enhanced μεθόδων, ως μεθόδων αναφοράς στη μέτρηση της CRP σε πληθυσμούς με αυξημένο κίνδυνο Καρδιαγγειακών νοσημάτων^{2,10}

Οδηγίες χρήσης δεικτών φλεγμονώδους Αθρωματικής διαδικασίας & Αξιολόγηση τιμών CRP

Η American College of Cardiology & η American Heart Association έχει δημιουργήσει κατηγορίες οδηγιών χρήσης δεικτών Καρδιαγγειακού κινδύνου προς τους κλινικούς ιατρούς, βάσει των οποίων η παραγγελία ενός δείκτη προς το εργαστήριο ακολουθεί μια σειρά κανόνων που έχουν ορισθεί από βιβλιογραφική αναφορά τυχαίων κλινικών δοκιμασιών (επίπεδο A), έως την πλήρη συμφωνία όλων των εμπλεκόμενων μελετών (επίπεδο C). Η δε αναφορά της CRP ορίζεται πλέον στις περισσότερες εργασίες ως hs-CRP. Η κατάταξη των οδηγιών έχει ως εξής:

Κατηγορία I: Αναφέρεται σε συνθήκες κατά τις οποίες υπάρχει ένδειξη και/ ή γενική συμφωνία ότι μια εξέταση είναι χρήσιμη και αποτελεσματική.

Κατηγορία II: Αναφέρεται σε συνθήκες όπου υπάρχει αντικρουόμενη άποψη για την χρησιμότητα ή αποτελεσματικότητα μιας εξέτασης. Αυτή η τάξη χωρίζεται σε IIa και IIb, ανάλογα με το βάρος μιας ένδειξης να συγκλίνει προς πολύ ή λιγότερο βαθμού χρησιμότητα.

Κατηγορία III: Αναφέρεται σε συνθήκες όπου υπάρχει ένδειξη και γενική συμφωνία, ότι μια εξέταση δεν είναι χρήσιμη και αποτελεσματική και ακόμα περισσότερο επιβλαβής για την αξιολόγηση μιας ομάδας πληθυσμού.

Η αξιολόγηση μιας εξέτασης ανάλογα με το είδος της βιβλιογραφικής αναφοράς, όπως είπαμε παραπάνω κατατάσσεται σε επίπεδα A, όταν αναφέρεται σε στοιχεία που έχουν ληφθεί από πολλαπλές τυχαίες κλινικές δοκιμασίες, σε επίπεδα B, όταν αναφέρεται σε στοιχεία από μία τυχαία κλινική δοκιμασία ή συστηματική μελέτη, και τέλος σε επίπεδα C όταν υπάρχει ομόφωνη συμφωνία όλων των εμπλεκόμενων μελετών για την χρήση της συγκεκριμένης εξέτασης. Με βάση τα παραπάνω οι οδηγίες συνοψίζονται ως εξής:

Οδηγία 1^η: Η hs-CRP πρέπει να αποφεύγεται ως εξέταση προληπτικού ελέγχου στον γενικό πληθυσμό για λόγους εκτίμησης πιθανών Καρδιαγγειακών επεισοδίων (Κατηγορία III, αξιολόγηση σε επίπεδο C)

Οδηγία 2^η: Η κατάταξη των επιπέδων μέτρησης της hs-CRP σε επίπεδα σχετικού κινδύνου μπορεί να αποβεί χρήσιμη και να κινητοποιήσει ασθενείς βελτιώνοντας τις καθημερινές τους συνήθειες. Τα πλεονεκτήματα αυτής της στρατηγικής ακόμα παραμέ-

νουν άγνωστα. (Κατηγορία IIb, αξιολόγηση σε επίπεδο C)

Οδηγία 3^η: Ασθενείς με συνεχώς αυξημένα επίπεδα hs-CRP (>10 mg/l) μετά από επαναλαμβανόμενες μετρήσεις, χωρίς αιτιολογία πρέπει να αξιολογηθούν για μη Καρδιοαγγειακής αιτιολογίας επεισόδια. (Κατηγορία IIb, αξιολόγηση σε επίπεδο B)

Οδηγία 4^η: Άλλοι δείκτες της φλεγμονώδους διαδικασίας (κυτταροκίνες, ή άλλα αντιδρώντα οξείας φάσης) δεν πρέπει να μετρώνται για ανάπτυξη πιθανού Καρδιαγγειακού κινδύνου επιπρόσθετα με τη CRP. (Κατηγορία III, αξιολόγηση σε επίπεδο C)

Οδηγία 5^η: Η μέτρηση της hs-CRP σε ασθενείς με γνωστή ασθένεια των στεφανιαίων ή με οξεία στεφανιαία σύνδρομα μπορεί να αποβεί χρήσιμη ως ανεξάρτητος δείκτης πρόγνωσης θνησιμότητας, εμφραγμάτων, επαναστενώσεων (σε ασθενείς από αγγειοπλαστικές). Τα πλεονεκτήματα της θεραπείας που βασίζεται πάνω σ' αυτή την στρατηγική παραμένουν ασαφή. (Κατηγορία IIa, αξιολόγηση σε επίπεδο B)

Οδηγία 6^η: Όσον αφορά την παρακολούθηση της θεραπείας, δεν ενδείκνυται οι εν σειρά μετρήσεις της hs-CRP. (Κατηγορία III, αξιολόγηση σε επίπεδο C)

Οδηγία 7^η: Οι μετρήσεις της hs-CRP πρέπει να γίνονται εις διπλούν και στ' αποτελέσματα να υπολογίζουμε τον μέσο όρο. Χρειαζόμαστε δύο δείγματα. Το ένα κατόπιν νηστείας και το άλλο χωρίς νηστεία, σε ασθενείς με σταθερό μεταβολισμό.

Εάν η hs-CRP είναι > 10 mg/l η εξέταση πρέπει να επαναληφθεί και ο ασθενής να ελεγχθεί για εστία πιθανής λοίμωξης ή άλλης φλεγμονής (κοίτα κεφάλαιο Βιολογική μεταβλητότητα & Πρωτόκολλο αιμοληψίας) (Κατηγορία IIa, αξιολόγηση σε επίπεδο B)

Οδηγία 8^η: Τ' αποτελέσματα των μετρήσεων της CRP διακρίνουν το πληθυσμό υπό εξέταση ανάλογα με βαθμό Σχετικού Κινδύνου ως εξής:

Χαμηλού Κινδύνου < 1 mg/l

Μέσου Κινδύνου $1- 3$ mg/l

Υψηλού Κινδύνου > 3 mg/l

(Κατηγορία IIa, αξιολόγηση σε επίπεδο B)

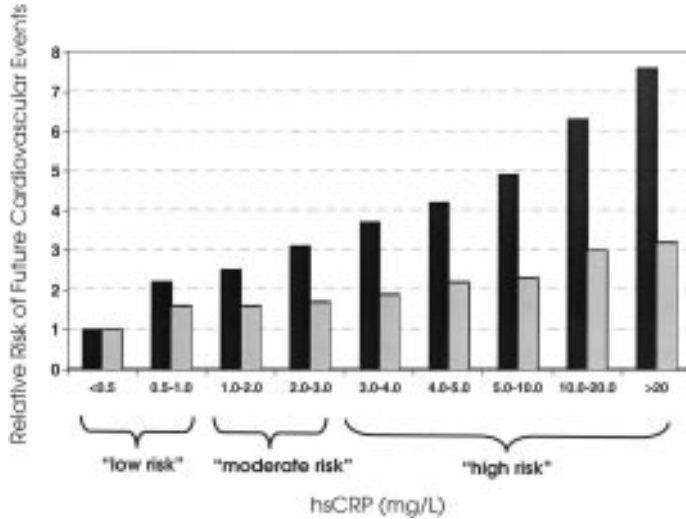
Οδηγία 9^η: Η hs-CRP πρέπει πάντα να εκφράζεται σε mg/l και μόνον.

(Κατηγορία I, αξιολόγηση σε επίπεδο C)⁶.

CRP & Καρδιοαγγειακή νόσος

Όπως φαίνεται από την παραπάνω κατηγοριοποίηση και από μεγάλες προοπτικές μελέτες είναι πλέον φανερό ότι υπάρχει γραμμική συσχέτιση του Καρδιαγγειακού κινδύνου με όλο το φάσμα των συγκεντρώσεων της hs-CRP από τις πολύ μικρές ($< 0,5$ mg/l), έως τις πολύ μεγάλες (> 10 mg/l). Συγκεντρώσεις ≥ 20 mg/l, παρόλο που ανευρίσκονται σπάνια (μόνον το 2,2 % του ολικού πληθυσμού), παρατηρήθηκε να έχουν τον υψηλότερο σχετικό δείκτη κινδύνου από τις υπόλοιπες που εξετάστηκαν. Αντίθετα ο δείκτης σχετικού κινδύνου ήταν πολύ μικρότερος σε άτομα με hs-CRP $< 0,5$ mg/l (το 15,1% του ολικού πληθυσμού), παρόλη πολλές φορές την σύγχρονη παρουσία άλλων πολυποίκιλων επιβαρυντικών παραγόντων (παχυσαρκία, διαβήτης κ.λ.π) (διάγραμμα 1).¹¹

Το hs-CRP έχει μελετηθεί ευρέως τα τελευταία χρόνια σ' ένα πλήθος αθηροσκληρωτικών ασθενειών, όπως επίσης και ως δείκτης πρόγνωσης για οξεία στεφανιαία επεισόδια σε "φαινομενικά" υγιή πληθυσμό ή αλλιώς θα λέγαμε συμπτωματικό πληθυσμό². Η πιθανότητα θανάτου ή εκδήλωσης οξέως στεφανιαίου επεισοδίου σε περίοδο 6

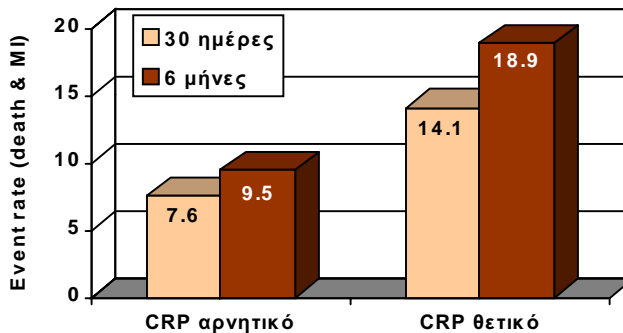


Διάγραμμα 1. Δείκτης σχετικού κινδύνου για μελλοντικά Καρδιαγγειακά επεισόδια σε όλο το φάσμα των συγκεντρώσεων της hs-CRP. Οι μαύρες κολόνες δείχνουν τον απόλυτο σχετικό κίνδυνο και οι γκρι τον διορθωμένο κίνδυνο κατά Framingham (πολλαπλοί παράγοντες κινδύνου παρόντες).

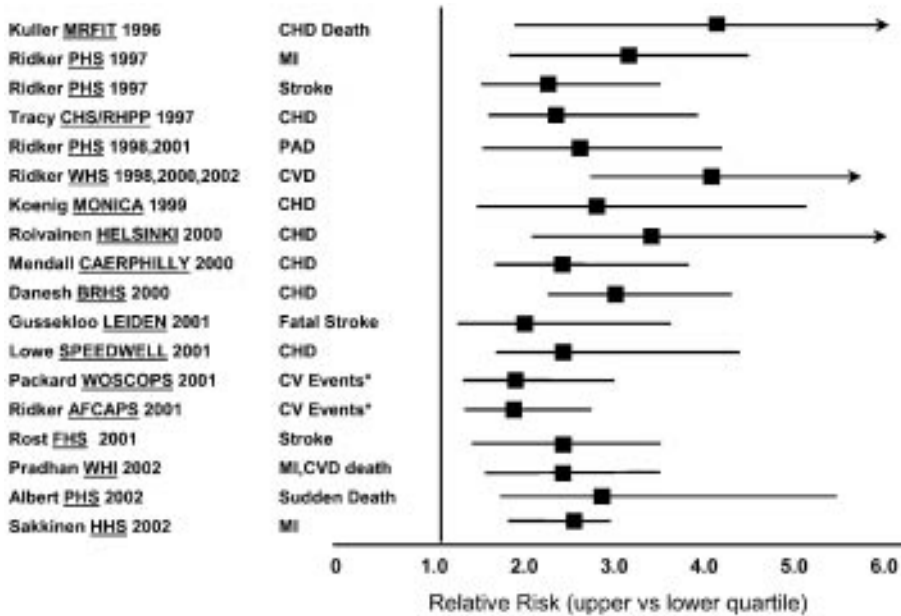
μηνών από την εμφάνιση στο νοσοκομείο, ασθενών με ασταθή στηθάγχη και με hs-CRP > 10 mg/l φτάνει έως και 19% περίπου (διάγραμμα 2)

Μεγάλες προοπτικές μελέτες (6 στις Ηνωμένες Πολιτείες και 4 στην Ευρώπη) έχουν δείξει ότι η μέτρηση της hs-CRP έχει πρώτη προγνωστική αξία για το έμφραγμα του μυοκαρδίου^{12,13}. Στο **διάγραμμα 3** παρατηρούμε ένα πλήθος μελετών από το 1996 έως το 2000 για διάφορα Καρδιακά νοσήματα και τα αντίστοιχα τεταρτημόρια

Κατηγοριοποίηση του κινδύνου με την hsCRP σε ασθενείς με ασταθή στηθάγχη στην CAPTURE μελέτη



Διάγραμμα 2. Μέτρηση της hs-CRP σε οξεία στεφανιαία επεισόδια. Heeschen C; J Am Coll Cardiol 2000;35:1535- 42



Διάγραμμα 3. Προοπτικές μελέτες μέτρησης του CRP ως παράγοντα κινδύνου για μελλοντικά Καρδιαγγειακά επεισόδια σε “φαινομενικά” υγιείς πληθυσμούς. Οι σχετικοί δείκτες συμβολίζονται με την μαύρη κουκίδα. Τα 95% διαστήματα εμπιστοσύνης με τις γραμμές.

σχετικού κινδύνου για το 95% ενός “φαινομενικά” υγιή πληθυσμού αντρών και γυναικών.

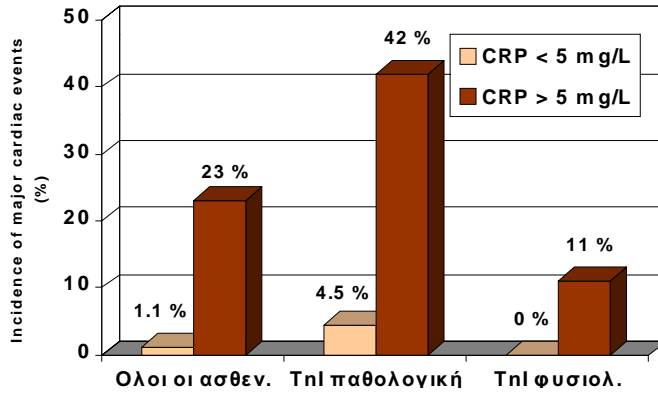
Επίσης η μέτρηση αυξημένης hs-CRP (>5 mg/l), κατά την εισαγωγή στο νοσοκομείο ασθενών με ασταθή στηθάγχη ή NQ-έμφραγμα του μυοκαρδίου, μπορεί να έχει ανεξάρτητη ή ακόμα και αθροιστική προγνωστική αξία μαζί με την μέτρηση αυξημένης καρδιακής Τροπονίνης I (cTnI). Όπως φαίνεται και από το **διάγραμμα 4**, το ποσοστό πρόγνωσης μπορεί να φτάσει έως και 42% για μελλοντικά καρδιακά επεισόδια^{14,15}.

Πολυπαραγοντικές αναλύσεις, σε συνδυασμό με άλλους παράγοντες κινδύνου (όπως παχυσαρκία, υπέρταση, διαβήτης, οικογενειακό ιστορικό), έχουν επιβεβαιώσει την προγνωστική αξία της hs-CRP όταν συνδυάζεται με τον Αθηρωματικό δείκτη (δηλ. τον λόγο της Ολικής Χοληστ. προς την HDL-χολ. ή όπως τελευταία συνηθίσαμε να μετράμε Απολιποπρ.ΑΙ προς Απολιποπρ.Β).

Η δε κλινική αξιολόγηση της συγκέντρωσης της hs-CRP σε όλα τα διαγράμματα σύγκρισης δεν γίνεται σε απόλυτες τιμές, αλλά με το μοντέλο ανάλυσης τεταρτημορίων κινδύνου. Τα τεταρτημόρια αντιστοιχούν σε συγκεντρώσεις από <0,7 mg/l για το πρώτο, 0,7- 1,1 mg/l για το δεύτερο κ.λ.π, έως το πέμπτο με συγκέντρωση 3,9-15 mg/l.

Μελέτες έχουν δείξει ότι, ο δείκτης σχετικού κινδύνου (R.R) σε “φαινομενικά” υγιή πληθυσμό (με αρνητικό το υπόλοιπο προφίλ λιπιδαιμικού ελέγχου), για εμφάνιση πρώιμου στεφανιαίου επεισοδίου είναι εννέα φορές μεγαλύτερος για τα άτομα που βρίσκονται στο υψηλότερο τεταρτημόριο hs-CRP και Αθηρωματικού δείκτη.

Το μοντέλο συσχέτισης της hs-CRP με τον Αθηρωματικό δείκτη, σήμερα θεωρείται

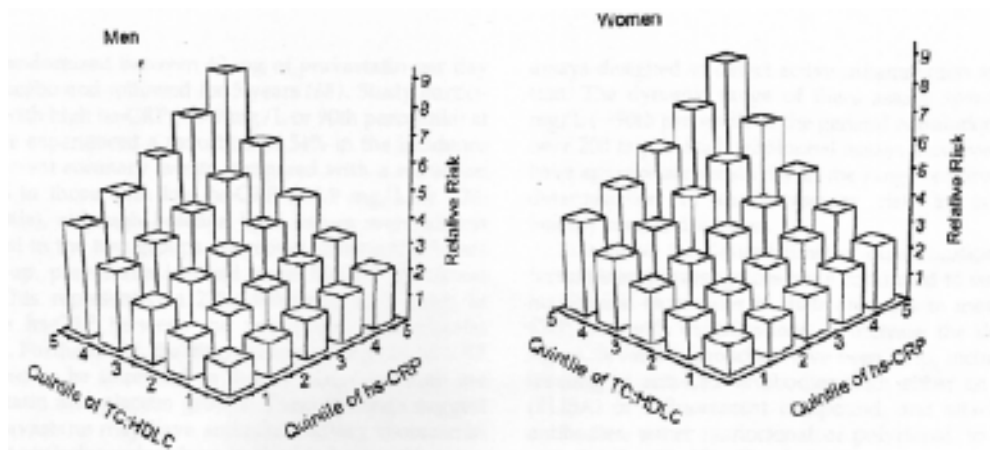


Διάγραμμα 4. Η hs-CRP ανεξάρτητη και αθροιστική με την καρδιακή Τροπονίνη

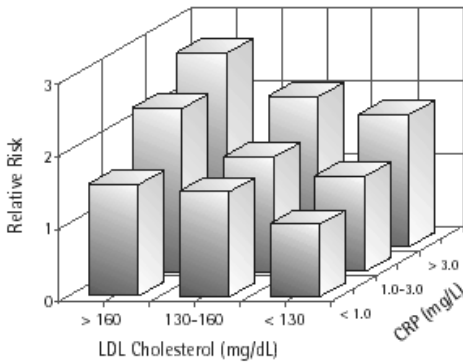
ο πιο καλός τρόπος παρουσίασης μελλοντικής πιθανότητας εμφάνισης στεφανιαίων επεισοδίων, και όπως φαίνεται και από το **διάγραμμα 5**, δεν υπάρχει διαφορά ανάμεσα στα δύο φύλα.²

Η ανάλυση με καθιερωμένους παράγοντες κινδύνου, όπως η LDL-Χοληστ δείχνει ότι η hs-CRP υπερέχει από μόνη της ως προγνωστικός δείκτης έναντι της LDL-Χοληστ., και αυξάνει πάρα πολύ τον δείκτη σχετικού κινδύνου συνδυαζόμενη με αυτήν^{13,16}

Τέλος τα καινούργια δεδομένα από πολλές κλινικές μελέτες υποβαθμίζουν την κλινική αξία της hs-CRP ως ανεξάρτητου προγνωστικού δείκτη της Καρδιαγγειακής νόσου. Εντοπίζουν το πρόβλημα στην αξιοπιστία της εξέτασης παρουσία των άλλων παραγόντων κινδύνου όπως: λιποπρωτεΐνες, λιπίδια, υπέρταση, μεταβολικό σύνδρομο,



Διάγραμμα 5. Ο δείκτης σχετικού κινδύνου (R.R) σε φαινομενικά υγιή πληθυσμό ανδρών (αριστ.) και γυναικών (δεξ.) συνδέεται με διαφορετικές συγκεντρώσεις hs-CRP και Αθ.δείκτη



Διάγραμμα 6. Η μέτρηση της hs-CRP παρέχει προγνωστική πληροφόρηση σε όλα τα επίπεδα της LDL-Χοληστ.

ναί ότι χρειάζονται περισσότερες προοπτικές μελέτες στον γενικό πληθυσμό. Αυτές οι μελέτες ίσως στο μέλλον να έχουν περισσότερο εξατομικευμένο χαρακτήρα γιατί θα πρέπει πρώτα να περιλαμβάνουν και μετά να κατηγοριοποιήσουν όλους τους παραπάνω μεταβλητούς παράγοντες κινδύνου που επιδρούν στην συγκέντρωση της hs-CRP, συν την βιολογική μεταβλητότητα του κάθε ατόμου. Άρα υπάρχει μακρύς δρόμος ακόμα για να καθιερωθεί η hs-CRP σ' ένα προφίλ λιπιδαιμικού ελέγχου¹⁸. Όμως αναμφισβήτη-τα μπορεί να αξιολογείται με αυτό.

διαβήτης και παχυσαρκία. Υπάρχουν ερευνητές που πιστεύουν ότι για όλους αυτούς τους λόγους η χρήση της εξέτασης αυτής για κατηγοριοποίηση του κινδύνου ανάπτυξης Καρδιαγγειακών επεισοδίων σε “φαινομενικά” υγιή πληθυσμό είναι οικονομικά ασύμφορη. Αν προσθέσει κανείς και την “αμφιλεγόμενη” προγνωστική της αξία (από πρόσφατες δημοσιευθείσες εργασίες), ο καθένας καταλαβαίνει ότι ή εκτεταμένη εφαρμογή της μπορεί να οδηγήσει σε εσφαλμένες εκτιμήσεις και κατά συνέπεια θεραπείες¹⁷.

Το συμπέρασμα που βγαίνει από όλες τις υποδείξεις Οργανισμών Υγείας και από την Αμερικανική Εταιρία Καρδιολογίας εί-

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Dade Behring's information brochure for Cardiac Markers
2. Rifai N, Ridker P.M. High-Sensitivity C-Reactive Protein: A Novel and Promising Marker of Coronary Heart Disease (Review). *Clin. Chem* 2001;47:3; 403- 411
3. DPC's news letter for C-Reactive Protein in Coronary Artery Diseases (1999 edit.)
4. Ross R, Atherosclerosis-an inflammatory disease (see comments). *N. Engl. J. Med.* 1999; 340: 115-26
5. Kluff C, P.M.de Maat M. Determination of the habitual low blood level of C-reactive protein in individuals. *Ital Heart J* 2001 ; 2(3): 172-180
6. Pearson A.T, Mensah A.G, Alexander R.W, e.t.c. Markers of Inflammation and Cardiovascular Disease (AHA/CDC Scientific Statement). *Circulation.* 2003 ;107: 499- 511.
7. Dade Behring's h.s- CRP reagent insert (Jan.2003 edition)
8. Roche's CRP reagent insert for Cobas Integra (Apr.2002 edition)
9. Dade Behring's R CRP reagent insert
10. Kimberly M.M, Vesper W.H, Caudill P.S, e.t.c. Standardization of Immunoassays for Measurement of High-Sensitivity C-reactive Protein. Phase I: Evaluation of Secondary Reference Materials. *Clin. Chem* 2003;49:4; 611- 616
11. Ridker P.M, Cook N. Clinical Usefulness of Very High and Very Low Levels of C- Reactive Protein Across the Full Range of Framingham Risk Scores. *Circulation.* 2004 ;109:1955-1959.
12. Whicher J, Rifai N, Biasucci L.M. Markers of the Acute Response in Cardiovascular Disease: An Update. *Clin Chem Lab Med* 2001; 39(11): 1054- 1064

13. Ridker P.M. Clinical Application of C-Reactive Protein for Cardiovascular Disease. Detection and Prevention. Review. Circulation. 2003;107:363- 9
14. de Winter R.J, Bholasingh R, e.t.c. Independent prognostic value of C-reactive protein and troponin I in patients with unstable angina or non-Q-wave myocardial infarction. Cardiovasc Res 1999;42: 240-5
15. Blake J.G, Ridker P.M. C-Reactive Protein and Other Inflammatory Risk Markers in Acute Coronary Syndromes. J Am Coll Cardiol 2003;41:37S- 42S.
16. Ridker P.M, Rifai N, Rose L, e.t.c. Comparison of C-Reactive Protein and Low-Density Lipoprotein Cholesterol levels in the Prediction of First Cardiovascular Events. N Engl J Med 2002; 347:1557-65
17. Levinson et al.: Poor Predictive Value of hs-CRP.(Opinion) Clin. Chem 2004;50: 10; 1733-5
18. Danesh J, Wheeler J.G, Hirschfield G.M e.t.c. C-Reactive Protein and Other Circulating Markers of Inflammation in the Prediction of Coronary Heart Disease. N Engl J Med 2004;350:1387-97

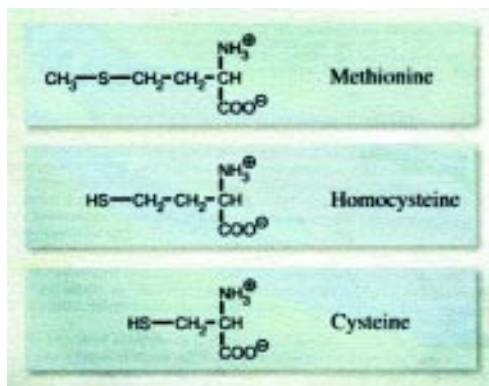
Ομοκυστεΐνη

Εισαγωγή

Η Ομοκυστεΐνη είναι ένα αμινοξύ που παράγεται ενδοκυττάρια με τον μηχανισμό απο-μεθυλίωσης της Μεθειονίνης, η βασική δε χρησιμότητα της στο μεταβολικό κύκλο είναι η μεταφορά μεθυλικών ομάδων στην κυκλοφορία¹. Η Ομοκυστεΐνη περιγράφηκε για πρώτη φορά το 1931 από τον Vincent du Vigneaud, ο οποίος το 1955 έλαβε το βραβείο Νόμπελ Χημείας. Το 1969 ο Kilmer Mc Cully δημοσίευσε την πρώτη μελέτη για την συσχέτιση της πάθησης του ενδοθηλίου ασθενών που υπέφεραν από Ομοκυστεΐνουρία². Σήμερα η μέτρηση της Ομοκυστεΐνης αποτελεί πολύτιμο εργαλείο για τον εντοπισμό των ατόμων με έλλειψη Κοβαλαμίνης, Φυλλικού οξέως, της εκτίμησης Καρδιαγγειακού κινδύνου, όπως και για την διάγνωση της Ομοκυστεΐνουρίας³. Όσον αφορά την πρόληψη και θεραπεία για τις ομάδες υψηλού κινδύνου έχουν εκδοθεί από Οργανισμούς Υγείας λεπτομερείς οδηγίες που αφορούν, τα επίπεδα Ομοκυστεΐνης και την συνιστώμενη θεραπευτική αγωγή.

Προέλευση

Η Ομοκυστεΐνη είναι ένας φυσιολογικός μεταβολίτης ενός πολύ βασικού αμινοξέος, της Μεθειονίνης (εικόνα 1). Δομικά, ομοιάζει αρκετά με την Μεθειονίνη και την Κυστεΐνη γιατί και τα τρία αμινοξέα παρέχουν θείο, συνδέονται δε μεταβολικά μεταξύ τους με τον μηχανισμό που θα περιγραφεί παρακάτω. Τη στιγμή που οι τροφές περιέχουν λίγη η σχεδόν καθό-



Εικόνα 1. Δομή Μεθειονίνης, Ομοκυστεΐνης, Κυστεΐνης

λου Ομοκυστεΐνη, σχεδόν όλη η Ομοκυστεΐνη στο σώμα προέρχεται από την Μεθιονίνη που περιέχεται στις ζωικές και φυτικές πρωτεΐνες⁴.

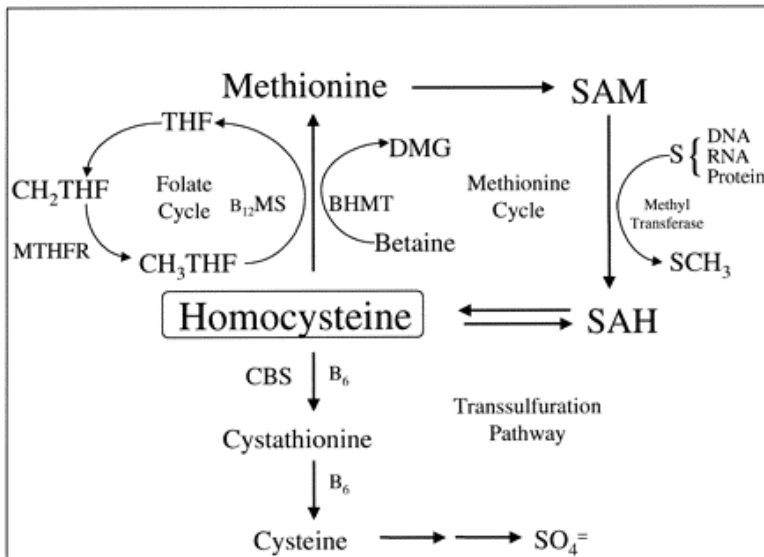
Μεταβολισμός και Ομοϊόσταση

Οι δύο κύριοι μεταβολικοί οδοί που ακολουθεί η Ομοκυστεΐνη αποτελούν και την πιο ενδιαφέρουσα από κλινικής άποψης πλευρά της διάγνωσης παθήσεων που οφείλονται σε Υπερομοκυστεϊναιμία (εικόνα 2)

Πρώτον: Η μεταβολική οδός σχηματισμού της Μεθιονίνης εξαρτάται βασικά από τον λεγόμενο κύκλο του Φυλλικού οξέος που βασίζεται στην μεταφορά μιας μεθυλικής ομάδας από το N-5-μεθυλο-τετραυδροφυλλικό οξύ (CH₃THF).

Το Μεθυλο-τετραυδροφυλλικό οξύ (CH₃THF) αποτελεί προϊόν του 5,10 Μεθυλο-τετρα-υδροφυλλικού οξέος (CH₂THF) (που βρίσκεται σε άμεση συνάρτηση με την ποσότητα Φυλλικού οξέος που λαμβάνεται από τις τροφές). Η αντίδραση ανάγεται από το ένζυμο **Μεθυλο-τετρα-υδροφυλλική αναγωγάση (MTHFR)** για την παραγωγή του οποίου είναι υπεύθυνη η βιταμίνη Β 12. Η αλλαγή της δομής του ενζύμου οφείλεται σε γενετική μετάλλαξη του γονιδίου που το προσδιορίζει και αποτελεί παράγοντα εκδήλωσης Υπερομοκυστεϊναιμίας. Παράλληλα με τον κύκλο του Φυλλικού οξέος έχουμε μεθυλίωση της Μεθιονίνης και από τη Βεταΐνη.

Η συνολική διαδικασία μεθυλίωσης της Ομοκυστεΐνης σε Μεθιονίνη καταλύεται από δύο ένζυμα. Την Β 12- εξαρτώμενη **Μεθυλο-συνθάση (B12-MS)** και την ανεξάρτητη της Β 12-**Βεταΐνο-μεθυλο-συνθάση (BHMT)**. Η τελευταία βρίσκεται μόνο στο ήπαρ και στα νεφρά. Ένα μεγάλο ποσοστό από τη Μεθιονίνη που σχηματίζεται ενεργοποιείται από την τρι-φωσφορική Αδενοσίνη (το γνωστό ATP) για να σχηματίσει την ενεργή



Εικόνα 2. Ο μεταβολισμός της Ομοκυστεΐνης

μορφή Μεθειονίνης, την θείο-αδενόσουλ-Μεθειονίνη (SAM) που αποτελεί “την πηγή” μεταφοράς μεθυλικών ομάδων σε διάφορους αποδέκτες, όπως φωσφολιπίδια, ορμόνες κ.λπ. Η θείο-αδενόσουλ-Μεθειονίνη (SAM) μετατρέπεται σε θείο-αδενόσουλ-Ομοκυστεΐνη (SAH), μέσω του ενζύμου μεθυλο-τρανσφεράση, και τελικά υδρολύεται αναγεννώντας Ομοκυστεΐνη.

Δεύτερον: Κατά τη δεύτερη μεταβολική οδό γίνεται σύνδεση με σουλφυδραλικές ρίζες.

Στο πρώτο στάδιο η Ομοκυστεΐνη ενώνεται με τη Σερίνη για να παραχθεί Κυσταθειονίνη. Η αντίδραση καταλύεται από την **Κυστα-θειονίνη-θ-συνθάση (CBS)**, ένζυμο που εξαρτάται από τη βιταμίνη Β 6 (που συμμετέχει επίσης στη μετατροπή Σερίνης σε Γλυσίνη). Η παραγωγή του ενζύμου Κυστα-θειονίνη-θ-συνθάση (CBS) είναι η δεύτερη και πιο σοβαρή αιτία Υπερομοκυστεϊναιμίας που προκαλείται από μεταλλαγμένο γονίδιο που αποκωδικοποιεί το συγκεκριμένο ένζυμο και μεταφέρεται με ομοζυγωτό χρωμόσωμα. Η πιο κλασική μορφή ασθένειας αυτού του τύπου είναι η Ομοκυστεϊνουρία η οποία οδηγεί σε αγγειακά και θρομβωτικά επεισόδια.

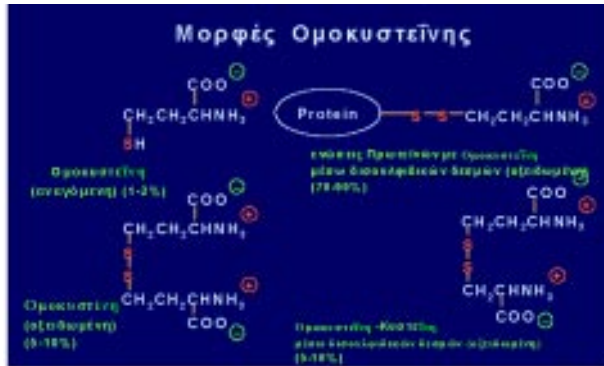
Στο δεύτερο στάδιο η Κυστα-θειονίνη υδρολύεται με τη βοήθεια ενός ενζύμου (επίσης Β 6 εξαρτώμενο) **γ-Κυστα-θειονάση** σε Κυστεΐνη και α-Κετοβουτυρικό οξύ. Περίσσεια Κυστεΐνης οξειδώνεται σε Ταυρίνη και ανόργανες θειικές ρίζες ή αποβάλλεται με τα ούρα. Επιπρόσθετα με την σύνθεση της Κυστεΐνης έχουμε και διάσπαση του υπολοίπου της Ομοκυστεΐνης που δεν χρησιμοποιεί όταν υπάρχει περίσσεια μεθυλικών ομάδων στην κυκλοφορία. Αυτή λοιπόν μεταφέρει θειικές ρίζες για την σύνθεση Ηπαρίνης και των παραγώγων της.

Ο μηχανισμός ομοίωσης των επιπέδων της Ομοκυστεΐνης μεταξύ κυτάρου και εξωκυττάρου περιβάλλοντος (ορός ή πλάσμα) έχει σκοπό να διατηρεί σε χαμηλά επίπεδα την ενδοκυττάρια συγκέντρωση των κυτταροτοξικών θείο- περιεχόμενων αμινοξέων, όπως η Ομοκυστεΐνη. Στην Υπερομοκυστεϊναιμία γίνεται μεταφορά της επιπλέον Ομοκυστεΐνης από το κύτταρο στον ορό ή στο πλάσμα, με αποτέλεσμα το κύτταρο να αποφεύγει την τοξικότητα της υπερπαραγόμενης Ομοκυστεΐνης, πράγμα που δεν συμβαίνει στο ενδοθήλιο των αρτηριών με τις οποίες έρχεται σε επαφή^{1,5}

Μορφές Ομοκυστεΐνης

Ο συνηθέστερος όρος που χρησιμοποιείται όταν αναφέρεται κανείς στην Ομοκυστεΐνη είναι “Ολική Ομοκυστεΐνη ορού ή πλάσματος”. Στην πραγματικότητα όμως η Ομοκυστεΐνη όταν περνά στον ορό ή στο πλάσμα οξειδώνεται άμεσα και κατ’ αυτό τον τρόπο κυκλοφορεί σε διάφορες μορφές. Οι συνηθέστερες είναι η **Αναγόμενη** και η **Οξειδωμένη** Ομοκυστεΐνη. Η Αναγόμενη μορφή αποτελεί το 1-2% της Ολικής και αποτελεί την πρώτη μορφή Ομοκυστεΐνης που εμφανίζεται στην κυκλοφορία μετά από ένα γεύμα πλούσιο σε Μεθειονίνη.

Οι Οξειδωμένες μορφές κατατάσσονται ανάλογα με το ποσοστό παρουσίας τους στον οργανισμό σε δύο κατηγορίες: 1^η) στην Ομοκυστεΐνη (5-10%) και 2^η) στις δισουλφιδικές ενώσεις Κυστεΐνης- Ομοκυστεΐνης (5-10%), και μορίων Ομοκυστεΐνης με πρωτεΐνες (80-90%). Από αυτές σε υψηλότερο ποσοστό βρίσκεται η συνδεδεμένη μορφή με Αλβουμίνη και κατόπιν οι ελεύθερες μορφές σε συνολικό ποσοστό περίπου 25%^{1,6} (εικόνα 3)



Εικόνα 3. Μορφές Ομοκυστεΐνης

Υλικό- Συντήρηση- Σταθερότητα

Σημαντικός παράγοντας για την ακριβή μέτρηση της Ομοκυστεΐνης είναι ο τρόπος σωστής αιμοληψίας και συντήρησης του δείγματος. Έχει αποδειχθεί ότι καθυστερημένη φυγοκέντρηση του ολικού αίματος προκαλεί την τεχνητή αύξηση των φυσιολογικών επιπέδων Ομοκυστεΐνης στον ορό ή στο πλάσμα ως αποτέλεσμα της συνεχούς μεταβολικής διεργασίας των ερυθροκυττάρων και την μετατροπή της θείο-αδενόσυλ- Ομοκυστεΐνης (SAH) σε Ομοκυστεΐνη. Η αιμοληψία γίνεται σε απλά φυγοκεντρικά σωληνάρια ή σε σωληνάρια με αντιπηκτικό. Οι τιμές Ομοκυστεΐνης στον ορό δεν διαφέρουν σημαντικά από αυτές με αντιπηκτικό όταν χρησιμοποιείται EDTA ή Ηπαρίνη. Διαφέρουν όμως κατά 5-15% όταν χρησιμοποιείται Κιτρικό.

Ο ασθενής συνιστάται να είναι νηστικός και η λήψη μπορεί να γίνει οποιαδήποτε ώρα της ημέρας. Έχει αποδειχθεί ότι η αιμοληψία σε όρθια στάση δίνει περίπου 10% λιγότερη Ομοκυστεΐνη από αυτή σε καθήμενη στάση.⁷ Κλινικές δοκιμές με φόρτιση Μεθιονίνης για την διάγνωση μεταβολικών ασθενειών αποτελούν ερευνητικά πρωτόκολλα και ουδεμία σχέση έχουν με την εργαστηριακή ρουτίνα.

Η σωστή συντήρηση των δειγμάτων αρχίζει με την έγκαιρη φυγοκέντρωσή τους εντός 1 ώρας από την αιμοληψία ή αλλιώς την τοποθέτηση του δείγματος σε πάγο μέχρι να φυγοκεντρωθεί. Το ολικό αίμα μπορεί να παραμείνει σε 0-2 °C για 2 ώρες τουλάχιστον. Η τεχνητή αύξηση της Ομοκυστεΐνης στον ορό ή στο πλάσμα μέσα σε 1 ώρα παραμονής του δείγματος σε θερμοκρασία δωματίου είναι της τάξης του 10%. Η παραμονή του δείγματος από 4 ώρες έως και 1 ημέρα έχει διαπιστωθεί ότι αυξάνει το ποσοστό από 35 έως και 75% ανάλογα. Αφού λοιπόν φυγοκεντρωθεί το δείγμα, τα επίπεδα Ομοκυστεΐνης στον ορό ή στο πλάσμα είναι πλέον σταθερά για 4 ημέρες εάν παραμείνουν σε θερμοκρασία δωματίου, αρκετές εβδομάδες στη συντήρηση (0-2 °C) και στην κατάψυξη (-20 °C) για χρόνια (εικόνα 4).

Έρευνες έχουν δείξει μικρές αποκλίσεις στις τιμές Ομοκυστεΐνης σε δείγματα ατόμων που είχαν καταψυχθεί για 10 χρόνια σε σύγκριση με φρέσκα δείγματα των ίδιων ατόμων (αφού είχαν αποκλεισθεί τα άτομα που ανέπτυξαν στο μεσοδιάστημα Καρδιαγγειακά νοσήματα). Τέλος η ψύξη και απόψυξη των δειγμάτων δεν φαίνεται να επηρεάζει τις τιμές της μετρούμενης Ομοκυστεΐνης¹.

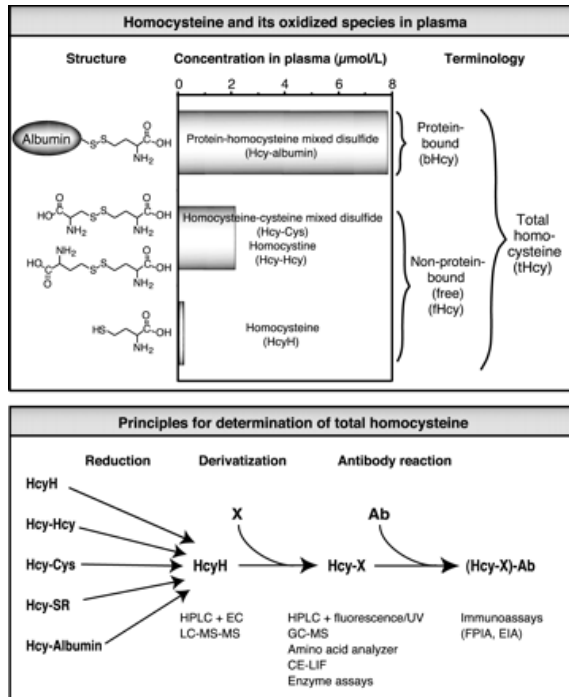


Εικόνα 4. Υλικό, Συντήρηση, Σταθερότητα

Μέθοδοι Προσδιορισμού

Οι πρώτες μέθοδοι προσδιορισμού Ομοκυστεΐνης εισήχθησαν στα μέσα του 1980 και προσπάθησαν να ξεπεράσουν τα προβλήματα που σχετιζόνταν με την παρουσία των πολλαπλών μορφών Ομοκυστεΐνης στον ορό ή στο πλάσμα. Οι μέθοδοι βασικά στηρίζονται στην απελευθέρωση της Ομοκυστεΐνης από τις οξειδωμένες μορφές της (δεσμευμένη μορφή), με αντιδραστήρια που προκαλούν αναγωγή (reduction) των δισουλφιδικών τους δεσμών. Αδρά, μπορούν να ταξινομηθούν σε δύο ομάδες: χρωματογραφικές και ανοσοενζυμικές μεθόδους (εικόνα 5).

Η μέθοδος της ανάστροφης-φάσης Υγρής Χρωματογραφίας Υψηλής Πίεσης (HPLC) απομονώνει την Ομοκυστεΐνη από τις άλλες χαμηλού βάρους θειόλες (Κυστεΐνη κ.λ.π) και την προσδιορίζει άμεσα με ηλεκτροχημικό ανιχνευτή. Παράγωγα ελεύθερης Ομοκυστεΐνης (deri-



Εικόνα 5. Ομοκυστεΐνη και οι οξειδωμένες της μορφές στον ορό(πλάσμα). Μεθοδολογίες μέτρησης.

vatization) μπορεί να προσδιορισθούν με Αέρια Χρωματογραφία Τριχοειδούς Στήλης και να ανιχνευθούν με Φασματογράφο μάζας. Οι παραπάνω μέθοδοι αξιολογούνται ως μέθοδοι αναφοράς και απαιτούν χρόνο και ειδικό εξοπλισμό.

Οι ολοένα αυξανόμενη ανάγκη του εργαστηρίου για εύρεση άμεσης μέτρησης της Ομοκυστεΐνης οδήγησε στην ανάπτυξη αυτοματοποιημένων τεχνικών μέτρησης με ανοσοενζυμικές μεθόδους (antibody reaction). Η μέθοδος μέτρησης Πολωμένου Φθορισμού (FPIA) που εφαρμόζεται σε ανοσολογικούς αναλυτές μετρά με ακρίβεια (<10%) και επαναληψιμότητα (<5%) την ολική Ομοκυστεΐνη που προέρχεται από το άθροισμα της ελεύθερης και της δεσμευμένης⁷. Το αναλυτικό εύρος μέτρησης της μεθόδου είναι 0- 50 μmol/l, και η ευαισθησία της μικρότερη ή ίση από 0,8 μmol/l. Η μέθοδος ελέγχεται για την ακρίβεια και την επαναληψιμότητά της (Εσωτερικός Ποιοτικός Έλεγχος) με πρότυπους ορούς ελέγχου που καλύπτουν όλο το φάσμα των συγκεντρώσεων και συντελεστές μεταβλητότητας (CV) έως 2,2% για μετρήσεις που γίνονται την ίδια ημέρα και έως 5,2% για μετρήσεις που γίνονται σε διαφορετικές ημέρες.

Τα προγράμματα Εξωτερικού Ποιοτικού Ελέγχου (π.χ. Riqas) παρέχουν την δυνατότητα αφ' ενός μεν να ελέγξουν την ακρίβεια των μετρήσεων έναντι του μέσου όρου των υπολοίπων που μετρούν με τον ίδια μέθοδο και αναλυτή, αφ' ετέρου την καταγραφή της απόκλισης έναντι των υπολοίπων μεθόδων και αναλυτών.

Η καταγραφή αυτή είναι πολύ σημαντική γιατί αποτελεί και την ουσία της **τυποποίησης** των έως σήμερα χρησιμοποιούμενων μεθόδων μέτρησης της ολικής Ομοκυστεΐνης.

Είναι διεθνώς παραδεκτό ότι υπάρχει πρόβλημα τυποποίησης στα εφαρμοζόμενα πρωτόκολλα μέτρησης της ολικής Ομοκυστεΐνης, λόγω της έλλειψης πιστοποιημένων υλικών αναφοράς. Οι διαφορές στις μετρήσεις ολικής Ομοκυστεΐνης οφείλονται στα διαφορετικά υλικά βαθμονομητών που παρασκευάζουν οι εταιρίες^{1,7}

Φυσιολογικές τιμές

Τα φυσιολογικά επίπεδα ολικής Ομοκυστεΐνης στον υγιή πληθυσμό που μετρήθηκαν σε ορό ή πλάσμα ποικίλουν ανάλογα με την ηλικία, το φύλο, την εθνικότητα, όπως και με μεταβλητούς παράγοντες, όπως διαιτητικές συνήθειες, τρόπος ζωής και διάφορες ασθένειες. Έχει υπολογιστεί ότι η συγκέντρωση της ολικής Ομοκυστεΐνης αυξάνεται με την ηλικία, και περίπου διπλασιάζεται στους ηλικιωμένους. Μετά την εφηβεία οι άνδρες έχουν υψηλότερη μέση συγκέντρωση από τις γυναίκες. Η διαφορά των δύο φύλων είναι περίπου 2 μmol/l, αλλά με την ηλικία μικραίνει μέχρι να φτάσει στο ίδιο ανώτερο φυσιολογικό όριο των 15 μmol/l (πίνακας 1). Κατά την διάρκεια της εγκυμοσύνης το ανώτερο φυσιολογικό όριο είναι 10 μmol/l. Αυτό εξηγείται από το γεγονός της αιμοδιάλυσης και της χαμηλής Αλβουμίνη στον ορό (πλάσμα) των εγκύων. Η αξιολόγηση και των υπολοίπων ομάδων ορίζει στα παιδιά (<15 ετών) ανώτερο φυσιολογικό όριο επίσης τα 10 μmol/l, και στις μεγάλες ηλικίες (>65 ετών) τα 20 μmol/l.

Οι παραπάνω φυσιολογικές τιμές είναι αποτέλεσμα μεγάλων πολυκεντρικών μελετών στο 95% του υγιούς πληθυσμού⁷.

Πρέπει να σημειωθεί, ότι οι φυσιολογικές τιμές του πλάσματος (Κιτρικού) κυμαίνονται έως 12,4 μmol/l στην ομάδα των ενηλίκων.

Εδώ πρέπει να τονισθεί ότι όπως είναι γνωστό διαφορετικές μεθοδολογίες και

Πίνακας 1. Ανώτερα όρια αναφοράς ολ.Ομοκυστεΐνης (μmol/l) σε διάφορες ομάδες

Ομάδα	
Έγκυες	10
Παιδιά <15 ετών	10
Ενήλικοι 15-65 ετών	15
Ηλικιωμένοι >65 ετών	20

Τά στοιχεία έχουν ληφθεί από δημοσιευμένη βιβλιογραφία που περιλάμβανε εκτενή ανάλυση από μεγάλες πληθυσμιακές μελέτες όπως: Third NHANES, Hordaland Homocysteine Study κ.λ.π

επιλογή πληθυσμού συνιστούν διαφορετικές φυσιολογικές τιμές, γι' αυτό κάθε εργαστήριο πρέπει να ορίσει τα δικά του όρια που αντικατοπτρίζουν τον συγκεκριμένο πληθυσμό που εξετάζεται, υπό συγκεκριμένους επιδημιολογικούς παράγοντες που επιδρούν σ' αυτόν.

Ενδοατομική ποικιλότητα

Η ενδοατομική ποικιλότητα αναφέρεται στην απόκλιση της μέτρησης του ίδιου ατόμου σε διαφορετικές χρονικές περιόδους. Από κλινική άποψη αυτό είναι ένα πολύ σημαντικό μέγεθος γιατί καθορίζει την αξία μίας όπως και δύο διαφορετικών μετρήσεων στην διάρκεια του χρόνου ως π.χ ανταπόκριση σε μια δεδομένη θεραπεία.

Η ολική ενδοατομική ποικιλότητα είναι το άθροισμα της βιολογικής και αναλυτικής ποικιλότητας και δίνεται με τα γνωστά μεγέθη SD και CV. Η ενδοατομική CV για την ολική Ομοκυστεΐνη είναι περίπου 8% στους υγιείς ενήλικες για περίοδο 1 χρόνου. Αυτό είναι ένα ποσοστό αρκετά χαμηλό συγκρίσιμο με την Χοληστερόλη και την Συστολική πίεση.

Στην περίπτωση Υπερομοκυστεϊναιμίας (ολ.Ομοκυστ. >40 μmol/l) η ενδοατομική ποικιλότητα είναι περίπου 25 % μετά από 4-8 μήνες και περίπου 35% μετά από 2 χρόνια. Οι ίδιες περίπου αποκλίσεις ισχύουν και για άτομα με έλλειψη Κοβαλαμίνης.

Συνοπτικά έχουν καθοριστεί οδηγίες για το έλεγχο της ενδοατομικής ποικιλότητας στην καθημερινή εργαστηριακή πρακτική.

- α) Μία και μόνο μέτρηση ολικής Ομοκυστεΐνης είναι αρκετή για τις περισσότερες περιπτώσεις
- β) Αλλαγή στην συγκέντρωση ολικής Ομοκυστεΐνης > 25-30% μεταξύ δειγμάτων μετρημένων σε διαφορετικές περιπτώσεις θεωρείται σημαντική.
- γ) Αν δεν υπάρχει αλλαγή στην συγκέντρωση ολικής Ομοκυστεΐνης > 25-30% τα επόμενα 1-3 χρόνια (απουσία θεραπείας ή αλλαγή τρόπου ζωής), η μέτρηση πρέπει να επαναλαμβάνεται σε 3-5 χρόνια⁷.

Παθοφυσιολογία της επίδρασης Ομοκυστεΐνης στο κύτταρο

Η παθοφυσιολογία της κυτταρικής βλάβης συνίσταται στο ότι, ενώ τα ηπατικά και τα σωληνοειδή νεφρικά κύτταρα μπορούν και ρυθμίζουν τον ενδοκυττάριο μεταβολισμό της Ομοκυστεΐνης, τα κύτταρα του ενδοθηλίου των αρτηριών και φλεβών δεν έχουν αυτούς τους μηχανισμούς, οπότε η αναγόμενη μορφή Ομοκυστεΐνης που καταλήγει σ'

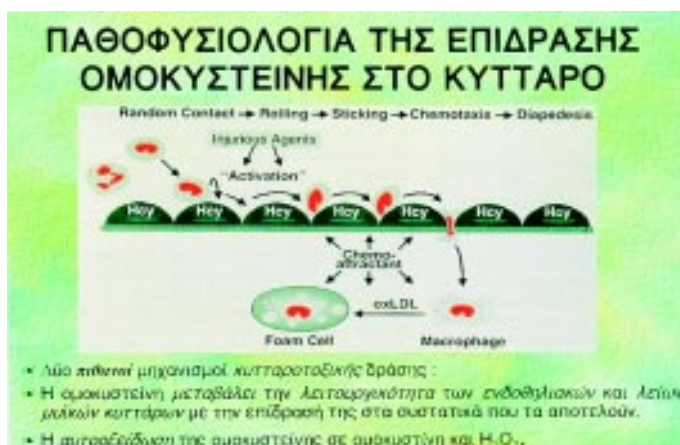
αυτά εμφανίζει κυτταροτοξική δράση όταν βρίσκεται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση από την φυσιολογική. Στην βιβλιογραφία έχουν περιγραφεί δύο πιθανοί μηχανισμοί που περιλαμβάνουν αμφότεροι άμεσες και έμμεσες μεθόδους κυτταροτοξικής δράσης.

Η θεωρία της **άμεσης δράσης** υποθέτει ότι η Ομοκυστεΐνη μεταβάλλει την λειτουργικότητα των ενδοθηλιακών και λείων μυϊκών κυττάρων με την επίδρασή της στα συστατικά που τα αποτελούν.

Η θεωρία της **έμμεσης δράσης** προϋποθέτει την αυτοοξειδωση της Ομοκυστεΐνης σε Ομοκυστίνη και Υπεροξειδίο του Υδρογόνου. Η αντίδραση αυτή οδηγεί στο γνωστό οξειδωτικό στρες (εικόνα 6).

Είναι γνωστό ότι το ενδοθήλιο των αρτηριών είναι εξαιρετικά ευαίσθητο σε πλήθος παραγόντων (όπως θρομβίνη, κυτταροκίνες, οξειδωμένα λιπίδια, κ.λπ) και ως αντίδραση σε μια βλάβη που έχει προκληθεί από την άμεση ή έμμεση δράση της Ομοκυστεΐνης τα κύτταρα του ενδοθηλίου επιδεικνύουν μεταλλαγές στη λειτουργία τους και στο φαινότυπό τους. Μία από αυτές είναι ο προθρομβωτικός τους χαρακτήρας, διαδικασία που μεταβάλλει όλους τους παράγοντες στη κυτταρική δομή αλλά και στην καθ' αυτή διαδικασία της ινωδύλωσης ευνοώντας θρομβωτικές διαδικασίες. Υψηλές συγκεντρώσεις Ομοκυστεΐνης αναστέλλουν την ανάπτυξη των κυττάρων του ενδοθηλίου, αλλάζοντας τη μεταβολική οδό της επαναμεθυλίωσης της Μεθιονίνης με τον σχηματισμό θειοαδενόσυλ- Ομοκυστεΐνης. Αυτό το προϊόν αναστέλλει την δράση των μεθυλοτρασφερασών. Κατ' αυτό τον τρόπο η Ομοκυστεΐνη τροποποιώντας την λειτουργία αυτών των ενζύμων εμποδίζει τον ενδοθηλιακό πολλαπλασιασμό των κυττάρων. Πειραματικά έχει αποδειχθεί ότι υψηλές συγκεντρώσεις Ομοκυστεΐνης επηρεάζουν την κυτταροενδοθηλιακή συστατικότητα.

Τέλος η κυτταροτοξικότητα της Ομοκυστεΐνης στο ενδοθήλιο εκφράζεται με την έκλυση κυτταροκινών και εν συνεχεία με την παραγωγή των μονοπύρηνων κυττάρων σαν άνοσο-απάντηση στην περιοχή της βλάβης. Τα μονοπύρηννα αυτά κύτταρα μπορούν να περάσουν μέσα από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και στον χώρο αυτό να μετατραπούν



Εικόνα 6. Η κυτταροτοξική δράση της Ομοκυστεΐνης

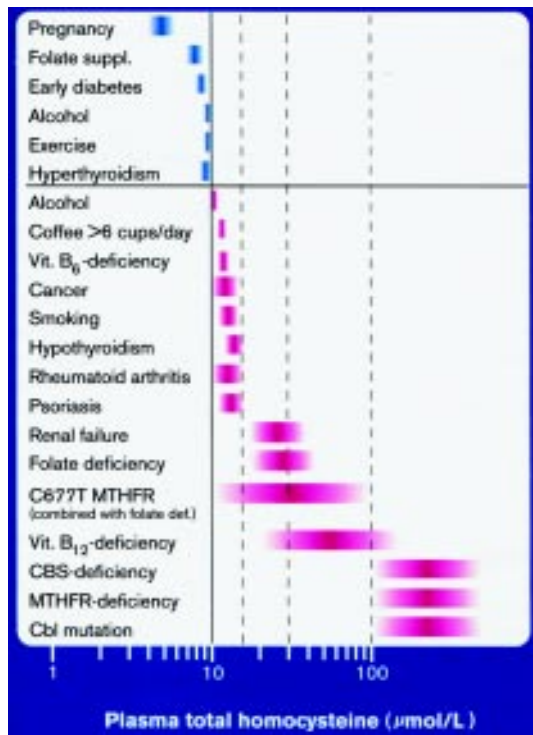
σε μακροφάγα που παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στην δημιουργία της αθηρωματικής πλάκας¹.

Υπερομοκυστεϊναιμία και Καρδιαγγειακές Παθήσεις

Η Υπερομοκυστεϊναιμία είναι μία από τις πιο σημαντικές μεταβολικές νόσους. Προκαλείται από την αλλαγή της δομής (μετάλλαξη) των δύο πιο σημαντικών ενζύμων του μεταβολικού κύκλου της Ομοκυστεΐνης, δηλ. την αναγωγή του Μεθυλο-τετρα-υδροφυλλικού οξέος (MTHFR) και την Κυσταθειονίνη-β-συνθάση (CBS), ή σε διατροφική έλλειψη Φυλλικού οξέος και βιταμινών Β 12, Β 6 ή τέλος σε συνδυασμό και των δύο. Η πιο κλασική μορφή ασθένειας που προκαλείται από μετάλλαξη του ενζύμου Κυσταθειονίνη-β-συνθάση (CBS) είναι η Ομοκυστεϊνουρία με επίπεδα Ομοκυστεΐνης στον ορό (πλάσμα) της τάξης των 400 μmol/l. Αυτή προκαλεί διανοητική καθυστέρηση, σκελετικές ανωμαλίες έως και πρώιμα αθηροθρομβωτικά επεισόδια (εικόνα 7)

Σε ομοζυγώτες η θερμοασταθής μορφή αναγωγής του Μεθυλο-τετρα-υδροφυλλικού οξέος (MTHFR 677C-T πολυμορφισμού) φαίνεται να είναι σημαντικός παράγοντας κινδύνου ανάπτυξης Υπερομοκυστεϊναιμίας όχι όμως και Καρδιαγγειακών επεισοδίων. Σε πρόσφατες μετα-αναλύσεις για 11000 άτομα με Καρδιαγγειακά νοσήματα συγκρινόμενα με 13000 άτομα υγιούς πληθυσμού, βρέθηκε στο 16% του πληθυσμού υψηλού κινδύνου (για την ανάπτυξη Καρδιαγγειακών επεισοδίων), ο TT γονότυπος της μεταλλαγμένης αναγωγής, όπως και σύγχρονη αύξηση της Ομοκυστεΐνης στον ορό(πλάσμα).

Έτσι, τ' αποτελέσματα μελετών πληθυσμού με τον γονότυπο MTHFR 677TT εδραιώνουν την άποψη ότι η αυξημένη Ομοκυστεΐνη είναι αποτέλεσμα της Καρδιαγγειακής πάθησης και όχι η αιτία. Σ' αυτό το συμπέρασμα στηρίζεται και η διαφοροποίηση που έχει παρατηρηθεί μεταξύ προοπτικών μελετών με υγιή πληθυσμό (όπου η Ομοκυστεΐνη αξιολογείται ως μέσου βαθμού προγνωστικός παράγοντας για την ανάπτυξη Καρδιαγγειακών επεισοδίων), σε σύγκριση με αναδρομικές μελέτες σε ασθενείς με παθήσεις των στεφανιαίων, διαβήτη, νεφρική ανεπάρκεια και συστηματικό ερυθματώδη λύκο, όπου η αύξηση της Ομοκυστεΐνης αποτελεί πολύ σημαντικό προγνωστικό παράγοντα για την μετέπειτα



Εικόνα 7. Επίπεδα Ομοκυστεΐνης σε διάφορες παθήσεις

ανάπτυξη Καρδιαγγειακών παθήσεων.

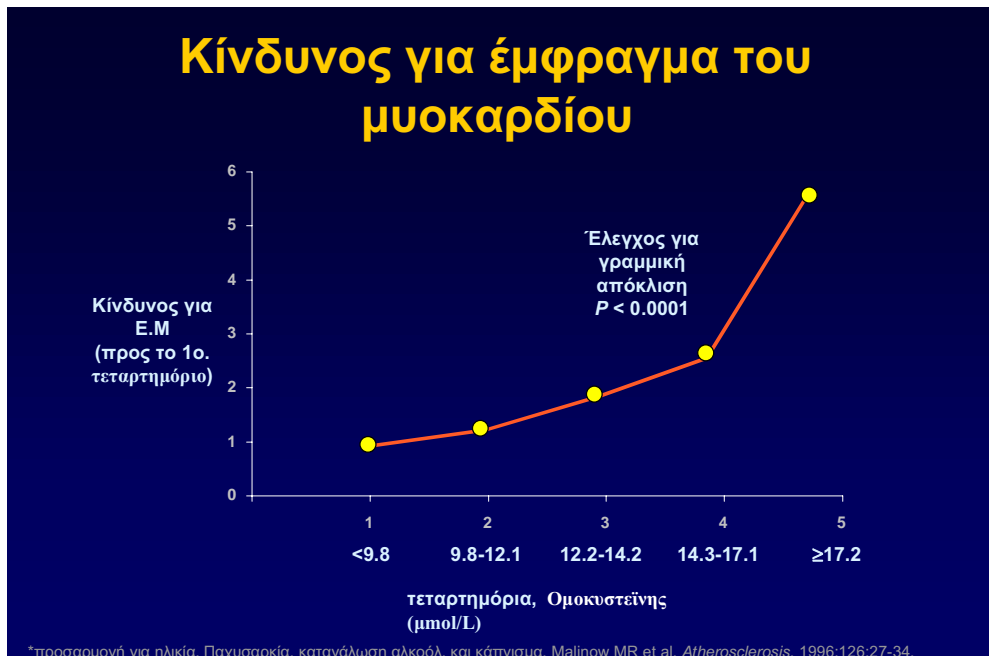
Ανεξάρτητα λοιπόν από το αν η αυξημένη Ομοκυστεΐνη αποτελεί το αίτιο ή το αποτέλεσμα της Καρδιαγγειακής πάθησης είναι σίγουρο ότι είναι σοβαρός προγνωστικός παράγοντας για μια ομάδα πληθυσμού με πολλαπλούς επιβαρυντικούς παράγοντες κινδύνου ανάπτυξης Καρδιαγγειακής νόσου⁷, (διάγραμμα 1).

Η αύξηση των επιπέδων Ομοκυστεΐνης φαίνεται δε, να λειτουργεί συνεργικά με παράγοντες όπως: υψηλή πίεση, κάπνισμα, και χοληστερόλη. Έχει υπολογισθεί ότι αύξηση κατά 5 $\mu\text{mol/l}$ Ομοκυστεΐνης αντιστοιχεί σε αύξηση 20 mg/dl χοληστερόλης⁽¹⁾

Στο πιο κάτω **διάγραμμα 2**, φαίνεται η θέση που κατέχει η Ομοκυστεΐνη σε σχέση με τους υπόλοιπους επιβαρυντικούς παράγοντες σε Καρδιαγγειακούς ασθενείς για την μελλοντική ανάπτυξη διαφόρων καρδιακών επιπλοκών.

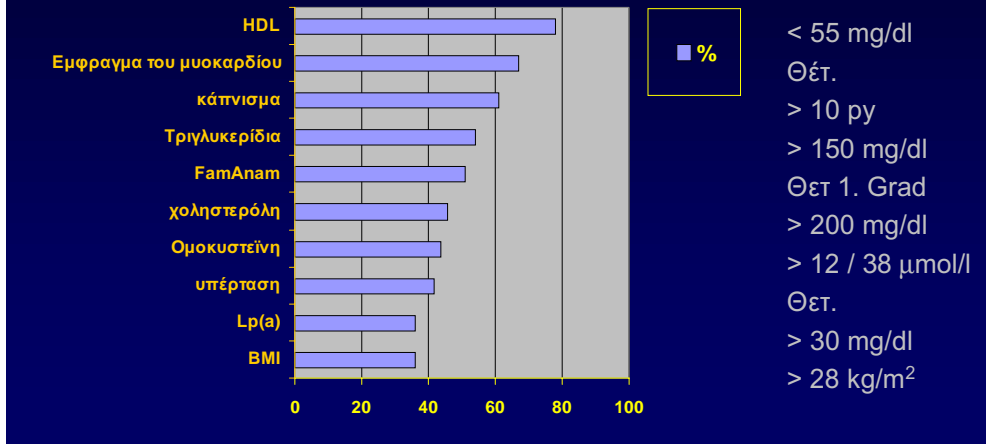
Ήδη όπως έχει αναφερθεί παραπάνω, από το 1969 που ο Kilmer Mc Cully προέβαλε την θεωρία της αθηροσκλήρυνσης σε γενικό πληθυσμό, ο συσχετισμός Υπερομοκυστεΐναιμίας και Καρδιαγγειακών παθήσεων δεν έχει εντελώς διευκρινισθεί. Φαίνεται αυτή η σχέση να επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες. Πρώτα- πρώτα οι διατροφικές συνήθειες της υπό μελέτης ομάδος. Ομάδες με διατροφή πλούσια σε φυλλικό οξύ δείχνουν να έχουν λιγότερο ποσοστό επίδρασης από τη μεταλλαγμένη αναγωγή απ' ότι πληθυσμοί με διατροφή φτωχότερη σε φυλλικό οξύ.

Δεύτερον, από την καθεαυτή πολυδιάστατη φύση της Καρδιαγγειακής νόσου και την επίδραση ποικίλων παραγόντων στην εκδήλωσή της. Ο εξεταζόμενος γονότυπος της θερμοασταθούς αναγωγής μπορεί να επιδρά και σ' άλλους παράγοντες κινδύνου. Για



Διάγραμμα 1. Κίνδυνος Εμφράγματος του Μυοκαρδίου (Ε.Μ) με την αύξηση της Ομοκυστεΐνης.

Προφίλ κινδύνου σε Κ.Α-ασθενείς (άνδρες, [Ø 53.3 years] n=475)



Διάγραμμα 2. Η % συμμετοχή διαφόρων επιβαρυντικών παραγόντων στον κίνδυνο δημιουργίας επιπλοκών σε Κ.Α ασθενείς. Stanger O. 3rd international plasma protein symposium. Budapest 2003.

παράδειγμα μπορεί να επιταχύνει τη διαδικασία πάχυνσης των αρτηριακών τοιχωμάτων και επίσης ν' αυξάνει την πιθανότητα μυοκαρδιακού επεισοδίου σε διαβητικούς ασθενείς.

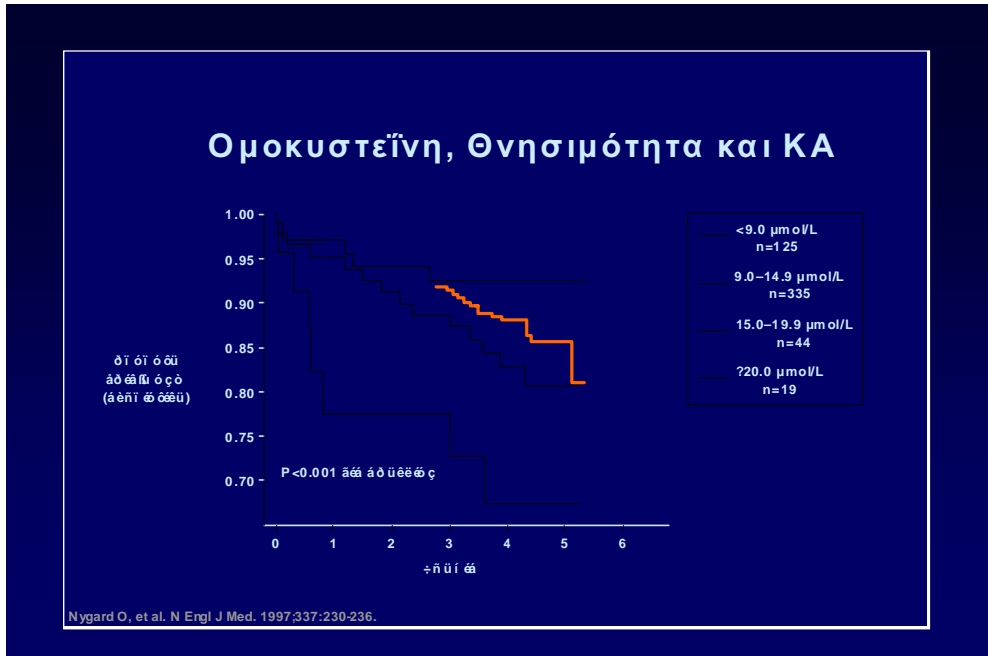
Επίσης έχει διαπιστωθεί ότι η ολική Ομοκυστεΐνη ορού (πλάσματος) θεωρείται σημαντικός προγνωστικός παράγοντας για τη θνησιμότητα σε ασθενείς με στεφανιογραφικά διαγνωσμένη στεφανιαία νόσο (διάγραμμα 3).

Τέλος, σε έρευνα 1800 ασθενών και τη καταγραφή της στατιστικής κατανομής των μέσου όρου των τιμών της Ομοκυστεΐνης φαίνεται ότι η πιθανότητα εμφάνισης Υπερομοκυστεϊναιμίας είναι μεγαλύτερη σε αγγειοεγκεφαλικά νοσήματα (περίπου 40%), μέση σε αγγειακά νοσήματα του περιφερικού συστήματος (περίπου 25%), και μικρότερη στις στεφανιαίες νόσους (περίπου 15%)¹.

Πληθυσμοί Υψηλού Κινδύνου και Επίπεδα εκτίμησης κινδύνου

Κλινικά υπάρχουν τρεις σημαντικοί λόγοι για τον προσδιορισμό της ολικής Ομοκυστεΐνης (α) για την διάγνωση της Ομοκυστεϊνουρίας, (β) τον εντοπισμό ατόμων με έλλειψη Κοβαλαμίνης ή Φυλλικού οξέος, και (γ) την χρήση της, ως παράγοντα εκτίμησης Καρδιαγγειακού κινδύνου. Για τους λόγους ειδικά αυτού του σεμιναρίου θα ασχοληθούμε με το τελευταίο τμήμα.

Επιδημιολογικές μελέτες σήμερα, δεν στοιχειοθετούν την χρήση της Ομοκυστεΐνης



Διάγραμμα 3. Ομοκυστεΐνη >20 μmol/l. μικραίνει το ποσοστό επιβίωσης σε Καρδιαγγειακούς ασθενείς

ως εξέταση προληπτικού ελέγχου για εμφάνιση Καρδιαγγειακής νόσου στον υγιή πληθυσμό παρά μόνον στις ομάδες που χαρακτηρίζονται υψηλού κινδύνου⁷. Τα φυσιολογικά επίπεδα της Ομοκυστεΐνης στον γενικό πληθυσμό είναι 5- 15 μmol/l. Όσον αφορά για τις ομάδες υψηλού κινδύνου η παρουσία και μόνον Ομοκυστεΐνης στον ορό (πλάσμα), είναι ενδεικτική του βαθμού κινδύνου για τα συγκεκριμένα άτομα, λόγω της ευθέως ανάλογης σχέσης συγκέντρωσης με τον βαθμό βλάβης στον οργανισμό. Ακόμα και σε συγκεντρώσεις < 10 μmol/l στις οποίες δεν χρειάζεται θεραπευτική παρέμβαση υπάρχει αυξημένος κίνδυνος αν σκεφτεί κανείς ότι αύξηση κατά 1 μmol/l της συγκέντρωσης της μετρούμενης Ομοκυστεΐνης στον ορό (πλάσμα) αντιστοιχεί με 6- 7% αύξηση κινδύνου εμφάνισης Καρδιαγγειακού νοσήματος. Για υψηλότερες συγκεντρώσεις Ομοκυστεΐνης πρέπει να οριστούν διαφοροποιημένα προφυλακτικά και θεραπευτικά επίπεδα εκτίμησης κινδύνου. Επίπεδα Ομοκυστεΐνης >12 μmol/l και < 30 μmol/l αναφέρονται ως “ήπια Υπερομοκυστεϊναιμία” (βρίσκεται συχνότερα σε άτομα με έλλειψη βιταμινών). Από 30- 100 μmol/l σαν “ενδιάμεση Υπερομοκυστεϊναιμία” (συχνότερα σε ομοζυγώτες με, θερμοασταθή μορφή αναγωγάσης, και σε ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια). Τέλος, επίπεδα > 100 μmol/l ορίζονται ως “σοβαρή Υπερομοκυστεϊναιμία” (τυπικά βρίσκεται σε άτομα με συγγενείς ανωμαλίες ή Ομοκυστεϊνουρία)⁸. (πίνακας 2)

Πρόληψη και Θεραπεία

Ο μόνος τρόπος πρόληψης είναι η δραστική αλλαγή τρόπου ζωής και διατροφικών

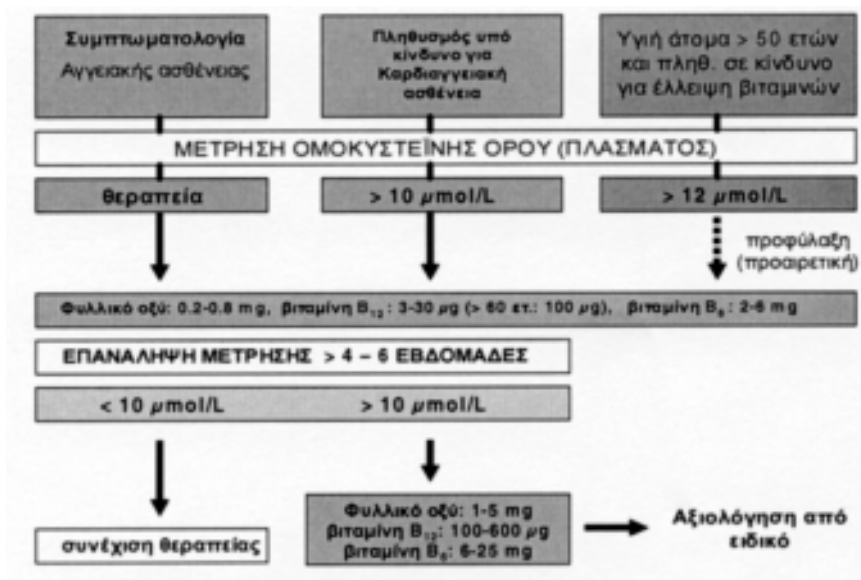
Πίνακας 2. Αξιολόγηση τιμών Ομοκυστεΐνης και θεραπευτική παρέμβαση

Δράση:

>12-30 $\mu\text{mol/l}$	ήπια Υπερομοκυστεϊναμία	Σε όλους
10 – 12 $\mu\text{mol/L}$	ανεκτική	Ασθενείς με κίνδυνο
< 10 $\mu\text{mol/L}$	ευνοϊκή	Δεν χρειάζεται θεραπεία

συνηθειών. Οι τροφές που τρώμε οφείλουν να περιέχουν αρκετή ποσότητα φυλλικού οξέος, όπως και βιταμινών Β 6 και Β 12. Τέτοιες τροφές είναι τα δημητριακά, τα πράσινα λαχανικά, τα όσπρια, φρούτα και ψάρια.

Η διαχείριση των διαφόρων ομάδων υψηλού κινδύνου όσον αφορά τα επίπεδα της Ομοκυστεΐνης σε συνδυασμό με την χορηγούμενη θεραπευτική αγωγή ακολουθεί τον αλγόριθμο που φαίνεται στην **εικόνα 8**.



Εικόνα 8. Αλγόριθμος επιπέδων Ομοκυστεΐνης και θεραπευτικής αγωγής.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Σημειώσεις Εκπαιδευτικού Σεμιναρίου της Ε.Ε.ΚΧ-ΚΒ. (13/11/1999). "Νεώτεροι βιοχημικοί δείκτες πρόγνωσης διάγνωσης και παρακολούθησης καρδιαγγειακών νοσημάτων".
2. Δικτυακός τόπος: www.homocysteine.net
3. Refsum H. Total Homocysteine guidelines for determination in the Clinical Laboratory. Clinical Laboratory News 2002 ; 12- 14
4. DPC's news letter. Homocysteine to test and to treat 2001 ; 1-5
5. Jacobsen D.W. Homocysteine and vitamins in cardiovascular disease Clin Chem 1998 ; 44: 1833-1843

6. Stanger O. Homocysteine- measurement and management. 3rd international plasma protein symposium. Budapest 2003
7. Refsum H, Smith A.D, Ueland P.M, e.t.c. Facts and Recommendations about Total Homocysteine Determination: An Expert opinion. Review. Clin Chem 2004 ; 50: 3-32
8. Stanger O, et al. Consensus paper on the rational Clinical use of Homocystein, Folic Acid and B- Vitamins in Cardiovascular and Thrombotic diseases. Guidelines and Recommendations. DACH-LIGA Homocystein. 2003 επίσης Δικτυακός τόπος: www.dach-liga-homocystein.org

α- Αμυλοειδές ορού (SAA)

Φυσιολογία: Το α-Αμυλοειδές (SAA) είναι μια μικρή αποπρωτεΐνη που παράγεται στο ήπαρ ως απάντηση της έκκρισης IL-1, IL-6 και TNFα. Στην κυκλοφορία συνδέεται με τα σωματίδια της HDL, ειδικά με τα HDL-3 αντικαθιστώντας την Apo AI από αυτά. Τα συμπλέγματα SAA και HDL σωματιδίων μειώνουν την δεσμευτική ικανότητα των υποδοχέων των ηπατοκυττάρων, αυξάνουν το SAA στον ορό (πλάσμα) επηρεάζοντας τον μεταβολισμό της Χοληστερόλης. Θεωρείται πολύ ευαίσθητο αντιδρών οξείας φάσης της φλεγμονώδους διαδικασίας με πολύ χαμηλά φυσιολογικά επίπεδα (<6,4 mg/l.), γρήγορο χρόνο αντίδρασης (8- 12 h), και με μικρό χρόνο ημιζωής (περίπου 4 ημέρες). Σε σύγκριση με τα άλλα αντιδρώντα οξείας φάσης το SAA είναι το πρώτο που αυξάνεται και φτάνει στη μέγιστη τιμή του σε λίγο χρονικό διάστημα μετά την ενεργοποίησή του και το πρώτο που μειώνεται μετά το τέλος επενέργειας του ερεθίσματος¹.

Μεθοδολογία μέτρησης: Η μέθοδος χρησιμοποιεί N latex-enhanced αντίσωμα προσαρμοσμένο για Νεφελόμετρο. Ο βαθμονομητής παράγεται από ανθρώπινο ορό και τυποποιείται έναντι Διεθνών βαθμονομητών αναφοράς για το SAA. Το φάσμα μέτρησης της καμπύλης είναι από 0,75 mg/l έως 1000 mg/l. Δείγματα ορού ή ηπαρινισμένου πλάσματος μπορούν να χρησιμοποιηθούν².

Το SAA στις ΚΑ. ασθένειες και σε Λοιμώξεις: Μελέτες (CARE) έχουν διερευνήσει τον ρόλο του SAA επιπρόσθετα με τη CRP σαν προγνωστικούς δείκτες για επανεμφάνιση ΚΑ επεισοδίου σε ΚΑ ασθενείς (secondary risk estimation).

Δημοσιευθείσα μελέτη³, αυξάνει τον κίνδυνο στα 75% για συγκεντρώσεις SAA > 5,9 mg/l και αθροιστικά με τη CRP έως και 91%. Εκτός όμως της χρησιμότητας του στην πρόγνωση της ΚΑ. νόσου, η σύνδεσή του με την HDL το συσχετίζει άμεσα με τον μεταβολισμό των λιπιδίων, άρα με τις δυσλιπιδαιμίες.

Έχει βρεθεί άμεση συσχέτιση μεταξύ της CRP και του SAA στις οξείες λοιμώδεις νόσους, ιδίως σε επίπεδα CRP > 100 mg/l, όπως επίσης και ότι οι δύο αυτοί δείκτες μπορούν να διαχωρίσουν τις βακτηριακές από τις ιογενείς λοιμώξεις⁴.

Το SAA σε μεταμοσχευμένους ασθενείς: Το SAA θεωρείται πολύ ευαίσθητος δείκτης για την έγκαιρη αναγνώριση επεισοδίων οξείας απόρριψης σε μεταμοσχευμένους ασθενείς. Αυτό είναι και το πεδίο που θα επικεντρωθεί όλη η έρευνα στο μέλλον¹.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. SAA-PPP. Doc. SAA as a highly sensitive acute phase reactant, improving recognition of

- rejection episodes after transplantation (12/5/1999) p.p 1- 4
2. Dade Behring's reagent insert for SAA
 3. Ridker PM, Rifai N, Pfeffer MA, et al. Inflammation, pravastatin, and the risk of coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. Cholesterol and Recurrent Events (CARE) Investigators. *Circulation* 1998; 98: 839- 844.
 4. Lannergard A, Larsson A, Kraghsbjerg P, Friman G. Correlations between serum amyloid A protein and C-reactive protein in infectious diseases. *Scand J Clin Lab Invest* 2003;63: 267-272