

ΑΥΞΗΣΗ ΤΟΥ ΚΟΡΕΣΜΟΥ ΤΗΣ ΤΡΑΝΣΦΕΡΡΙΝΗΣ ΚΑΙ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΗΠΑΤΙΔΙΝΗΣ ΑΜΕΣΩΣ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΕΝΔΟΦΛΕΒΙΑ ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΣΙΔΗΡΟΥ

N. Κισάτη¹, Δ. Λιάκος², Ε. Ερμίδου³, Μ. Δ. Μάντζαρης¹, Ε. Κυραντζοπούλου⁴, Π. Ηλιάδης⁴, Α. Φούντογλου², Κ. Κουλούσιος², Π. Μανωλακάκη², Σ. Βασάκος⁵, Α. Μαμαλάκη⁴, Κ. Σιαμόπουλος³ και Δ. Γαλάρης¹

¹Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων Ιατρική Σχολή, Ιωάννινα

²Νεφρολογική Κλινική, Περιφερειακό Νοσοκομείο Γ. Χατζηκώστα, Ιωάννινα

³Νεφρολογική Κλινική, Γενικό Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Ιωαννίνων, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων Ιατρική Σχολή

⁴Εργαστήριο Μοριακής Βιολογίας και Ανοσοβιοτεχνολογίας, Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ, Αθήνα

⁵Βιοχημικό Εργαστήριο, Περιφερειακό Νοσοκομείο Γ. Χατζηκώστα, Ιωάννινα

E-mail: liakosdimitrios@yahoo.gr

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ανεπάρκεια διαθέσιμου λειτουργικού σιδήρου σε ασθενείς που υποβάλλονται σε αιμοκάθαρση αποτελεί την κύρια αιτία για την μειωμένη απόκριση στην ερυθροποιητίνη (EPO). Κατά συνέπεια, η ενδοφλέβια χορήγηση σκευασμάτων σιδήρου αποτελεί βασικό συστατικό της θεραπευτικής αγωγής, αν και έχουν εκφραστεί κάποιες επιφυλάξεις όσον αφορά τις επιπτώσεις.

Ο υπολογισμός του κορεσμού της τρανσφερρίνης (Tf-Sat) δεν είναι δυνατόν να γίνει με τις κλασικές μεθοδολογίες μετά την ενδοφλέβια χορήγηση σκευασμάτων σιδήρου, λόγω της παρουσίας στον ορό σιδήρου μη προσδεδεμένου στην τρανσφερρίνη (NTBI). Για τον λόγο αυτό στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκε η τεχνική ηλεκτροφόρησης ουρίας-πολυακρυλαμιδίου (U-PAGE) η οποία επιτρέπει την ανάλυση των διαφόρων μορφών τρανσφερρίνης παρουσία NTBI. Με την τεχνική αυτή διερευνήθηκαν οι άμεσες αλλαγές τόσο του Tf-Sat όσο και των επιπέδων της δισιδηρικής τρανσφερρίνης (Tf-Fe₂), αμέσως μετά τη χορήγηση του σιδήρου. Στη συνέχεια ελέγχθηκε κατά πόσον η αύξηση των επιπέδων της Tf-Fe₂ θα μπορούσαν να επηρεάσουν την έκφραση της ηπατιδίνης, μετά τη χορήγηση σιδήρου στους ασθενείς.

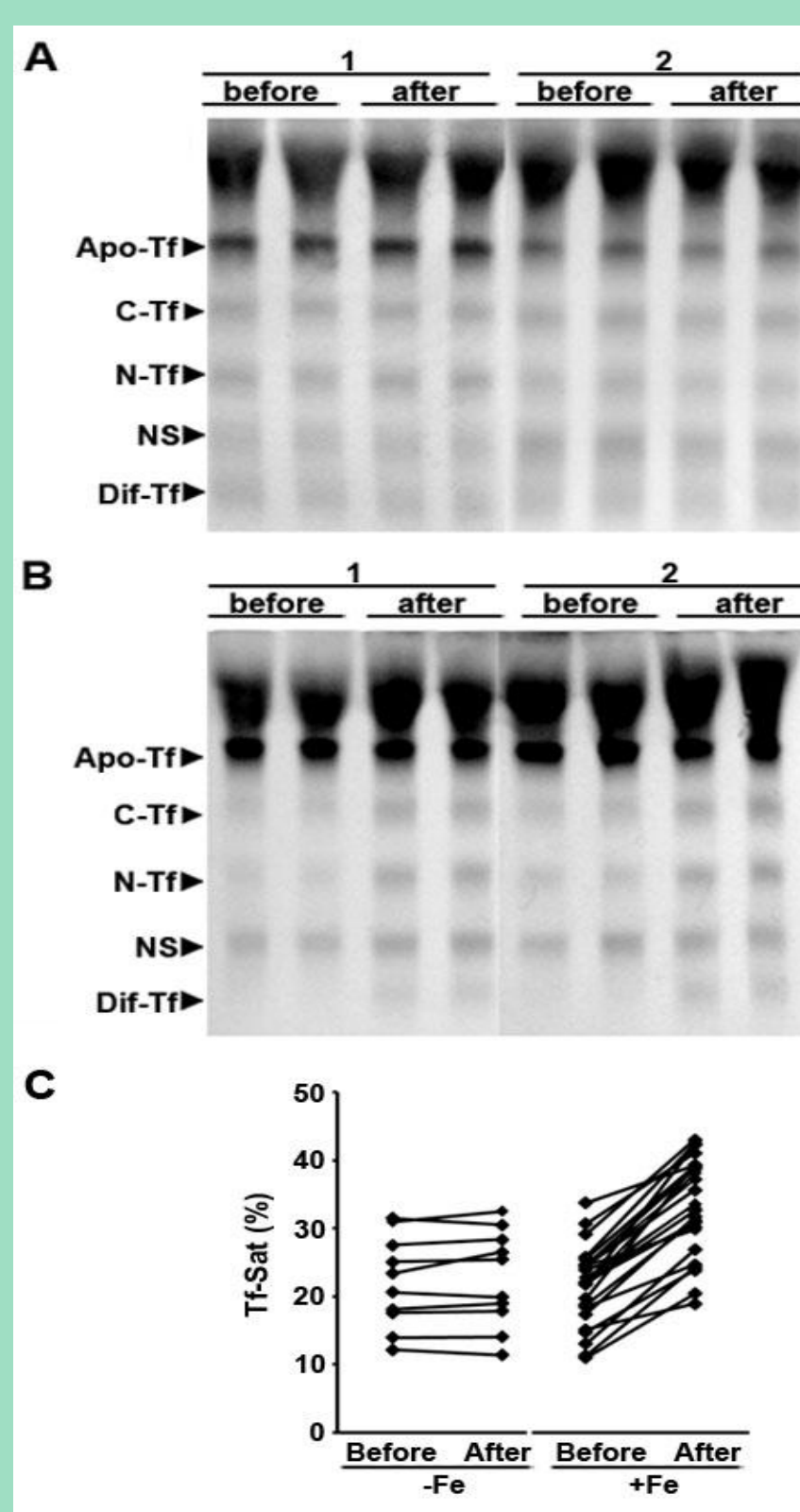
ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Ο κορεσμός της τρανσφερρίνης, αναλύθηκε με τη τεχνική της ηλεκτροφόρησης ουρίας-πολυακρυλαμιδίου (U-PAGE), μια τεχνική που επιτρέπει την ανάλυση των διαφόρων μορφών τρανσφερρίνης παρουσία σιδήρου μη προσδεδεμένου στην τρανσφερρίνη (NTBI). Με τη μέθοδο αυτή διαχωρίζεται η τρανσφερρίνη σε αποτρανσφερρίνη, που δεν έχει δεσμευμένο σίδηρο, στις δυο μονοσιδηρικές μορφές της, που έχουν ένα ιόν σιδήρου σε ένα από τους δύο λοβούς (C- και N-) και στη δισιδηρική μορφή που έχει δεσμεύσει 2 ιόντα τρισθενούς σιδήρου.

Ορός περιφερικού αίματος συλλέχθηκε από ασθενείς υπό αιμοκάθαρση 15 λεπτά πριν την ενδοφλέβια χορήγηση σιδήρου-σουκρόζης (100mg, Venofer) και 15 λεπτά μετά.

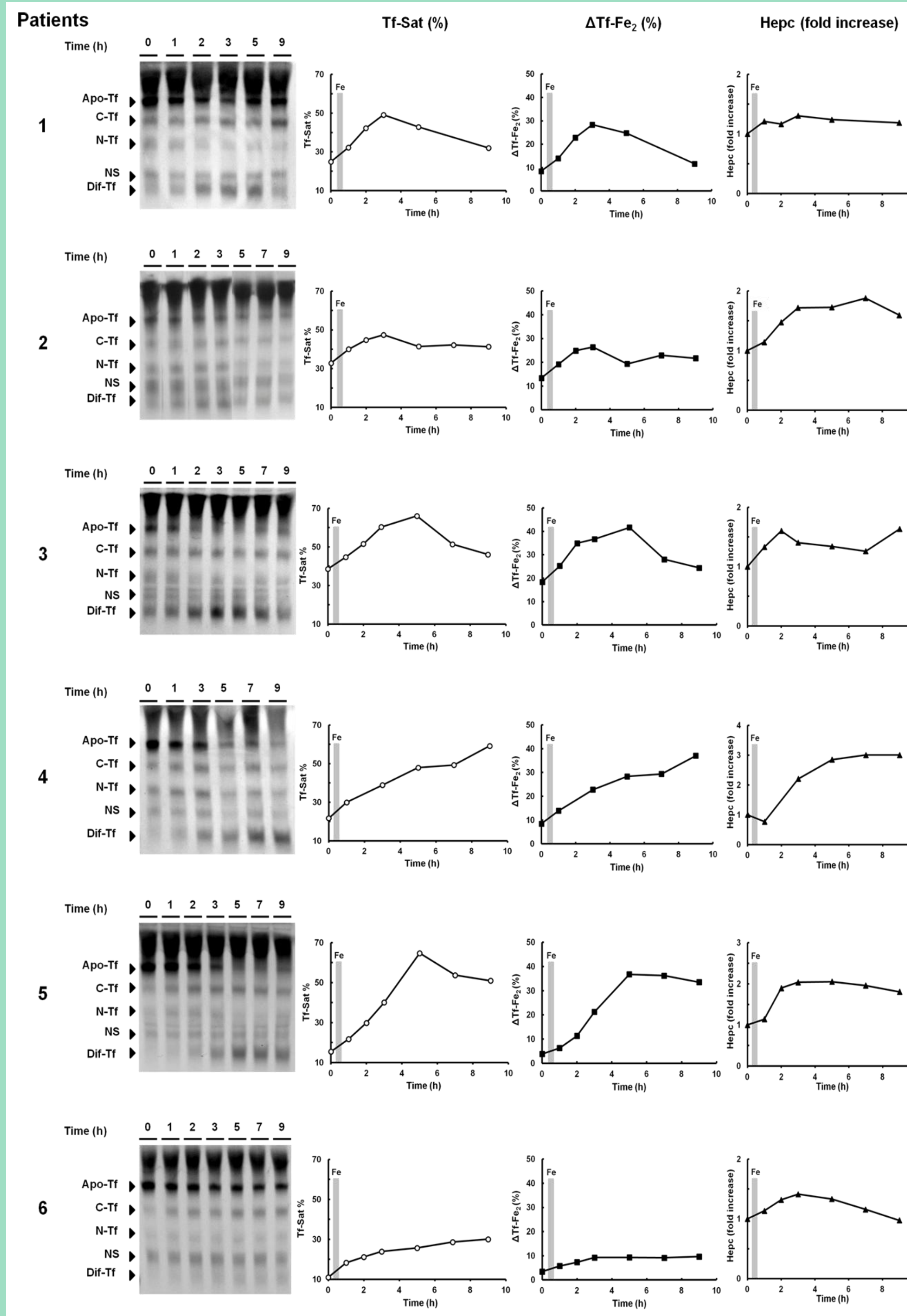
Τα επίπεδα της ηπατιδίνης εκτιμήθηκαν με τη χρήση πολυκλωνικών και μονοκλωνικών αντισωμάτων με την τεχνική ELISA.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

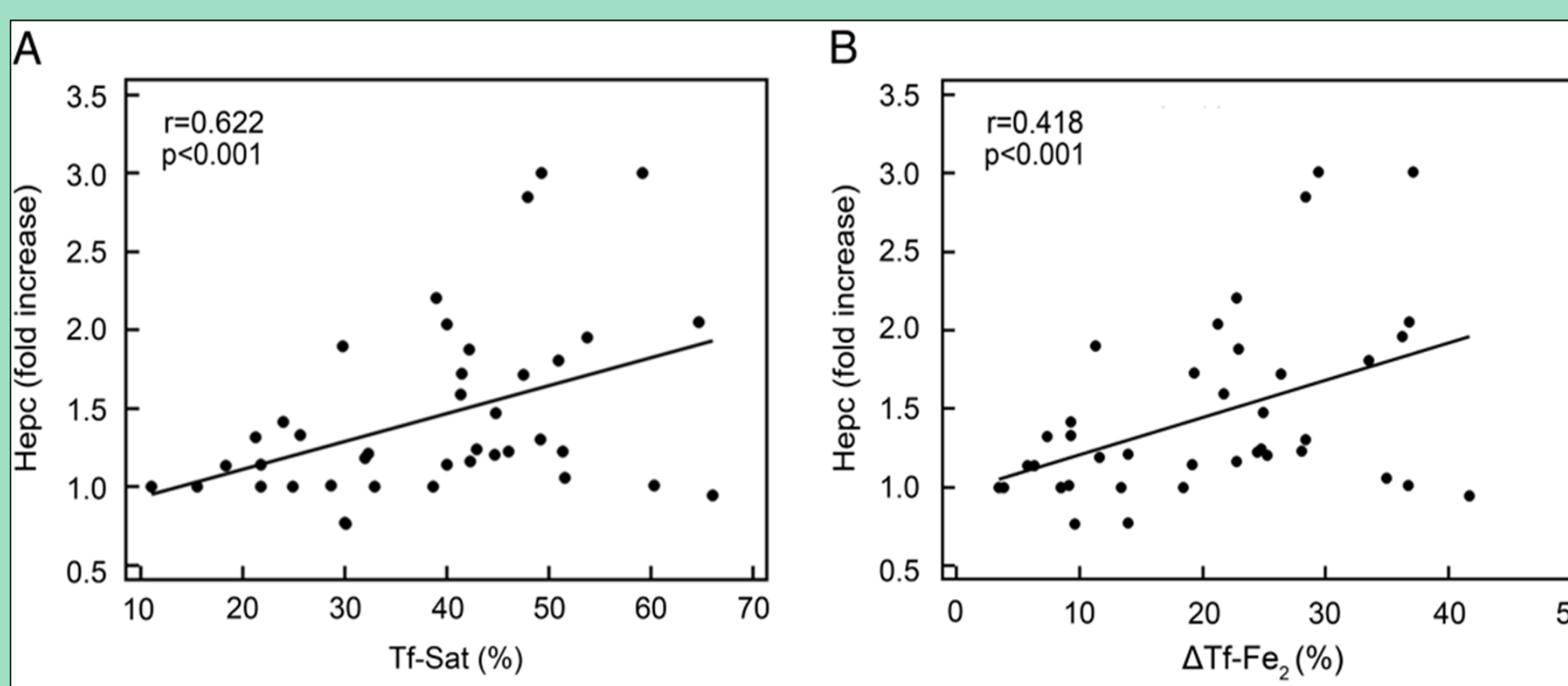


Εικόνα 1: Αύξηση του κορεσμού της τρανσφερρίνης (Tf-Sat) μετά από ενδοφλέβια χορήγηση σιδήρου.

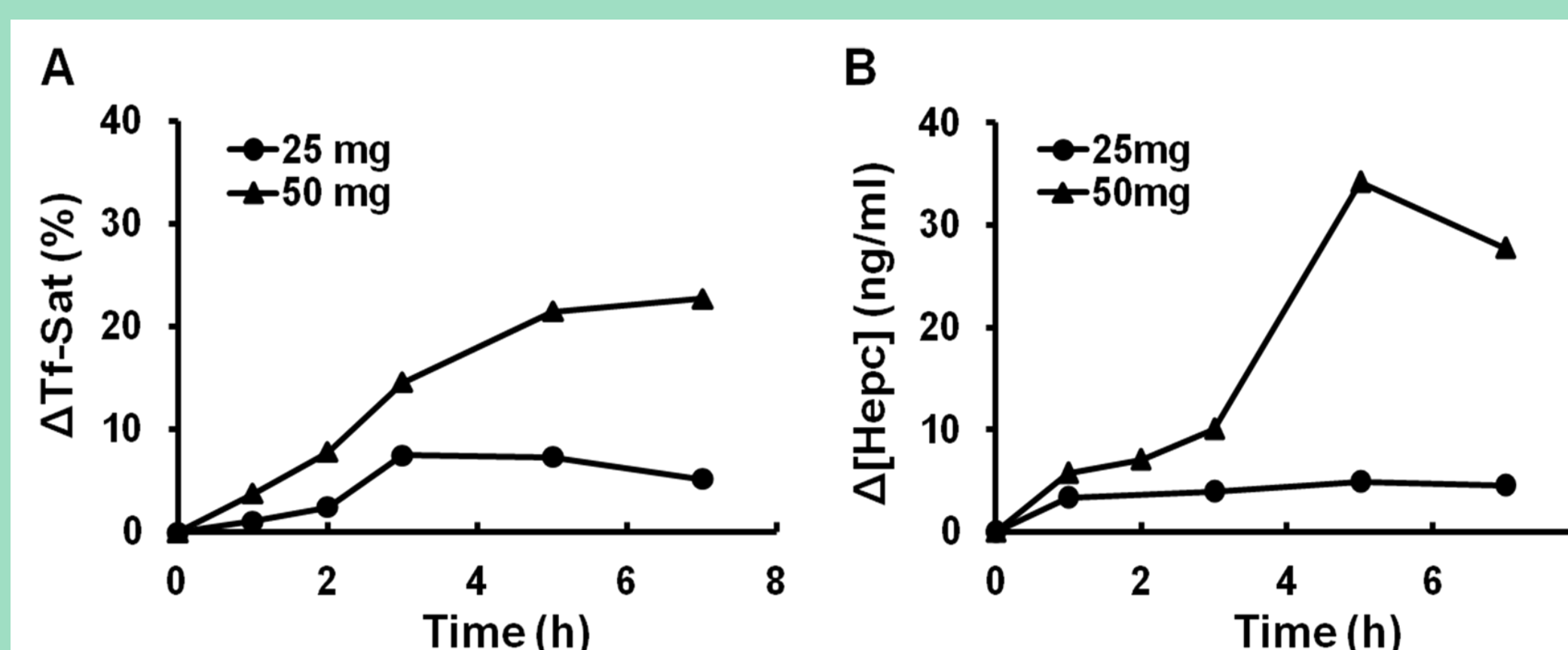
Αντιπροσωπευτικά δείγματα ανάλυσης διπλών δειγμάτων ορού με την τεχνική U-PAGE σε ασθενείς στους οποίους δεν χορηγήθηκε (A) ή χορηγήθηκε (B) ενδοφλεβίως 100 mg σιδήρου υπό τη μορφή σιδήρου-σουκρόζης. Τα δείγματα ελήφθησαν 15 λεπτά πριν και 15 λεπτά μετά τη χορήγηση. (C) Ποσοτικοποίηση του Tf-Sat χωρίς χορήγηση σιδήρου (αριστερά, n=10), ή μετά τη χορήγηση 100 mg σιδήρου (δεξιά, n=25, p<0,0001).



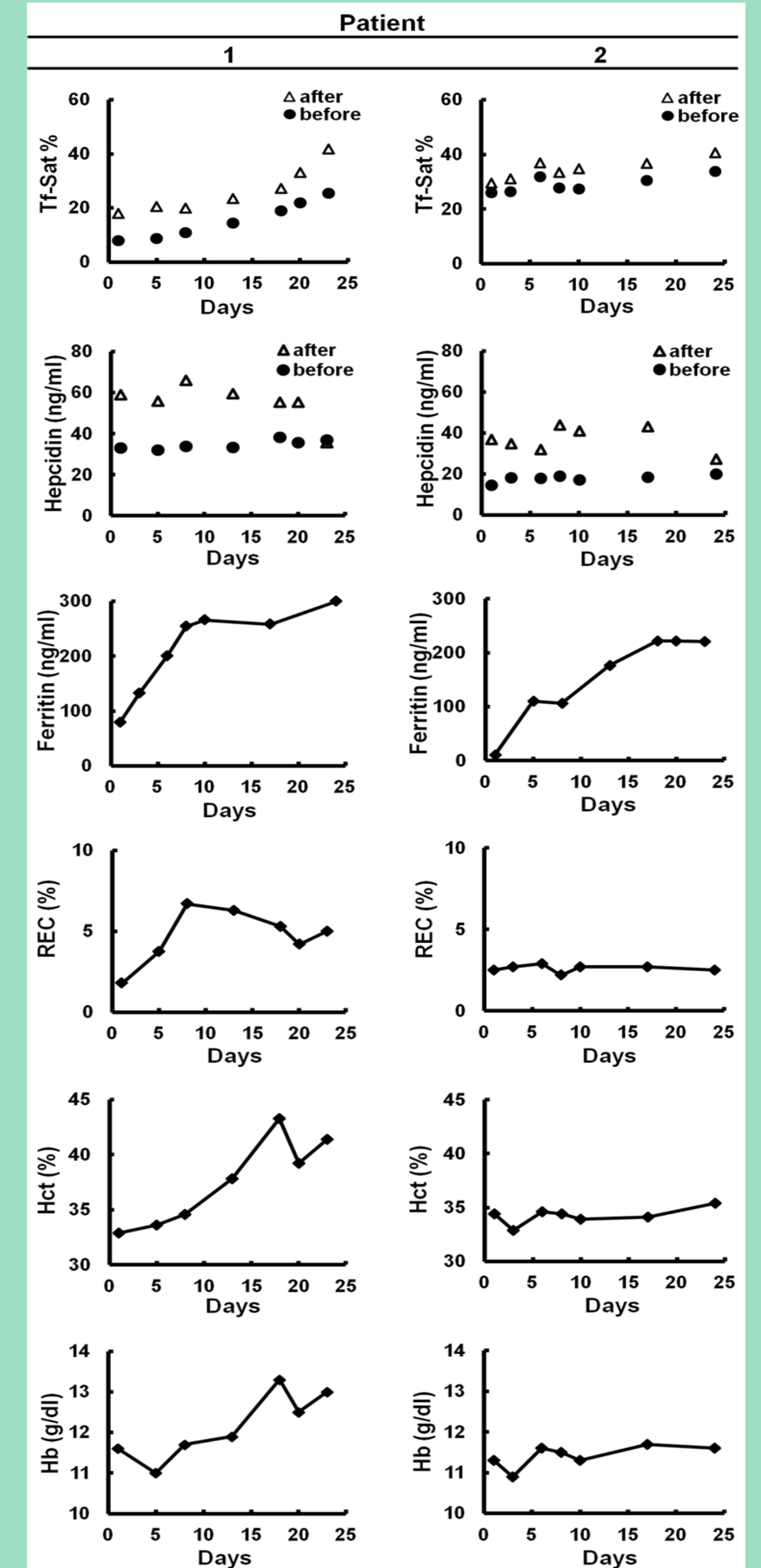
Εικόνα 2: Αλλαγές στον Tf-Sat, Tf-Fe₂ και στην ηπατιδίνη του ορού μετά την ενδοφλέβια χορήγηση σιδήρου. Δείγματα ορού συλλέχθηκαν από 6 ασθενείς σε αιμοκάθαρση 15 λεπτά πριν (χρονικό σημείο 0) και σε διαφορετικά χρονικά σημεία μετά την ενδοφλέβια χορήγηση 100 mg σιδήρου (1, 2, 3, 5, 7, και 9 ώρες). Οι σκιαγραφημένες περιοχές υποδηλώνουν τη χρονική περίοδο χορήγησης του σιδήρου. Η ανάλυση των διαφορετικών μορφών Tf πραγματοποιήθηκε με την τεχνική U-PAGE και τα επίπεδα Tf-Sat (αριστερά) και Tf-Fe₂ (κέντρο) ποσοτικοποιήθηκαν με βάση την ένταση της αποτύπωσης των αντίστοιχων μορφών τρανσφερρίνης. Η συγκέντρωση της ηπατιδίνης στον ορό (δεξιά) υπολογίστηκε με τη χρήση πολυκλωνικών και μονοκλωνικών αντισωμάτων με την τεχνική ELISA.



Εικόνα 3: Συσχετισμός μεταξύ Tf-Sat (A) και ΔTf-Fe₂ (B) με την ηπατιδίνη του ορού. Συμπεριλήφθηκαν όλα τα δείγματα των έξι ασθενών της Εικόνας 2.



Εικόνα 4: Αύξηση των επιπέδων της Tf-Sat και της ηπατιδίνης μετά από χορήγηση διαφορετικών ποσοτήτων σιδήρου. Τα δείγματα ορού συλλέχθηκαν από τον ίδιο ασθενή στα συγκεκριμένα χρονικά σημεία μετά τη χορήγηση 25 και 50 mg σιδήρου σε δύο διαδοχικές συνεδρίες αιμοκάθαρσης. Tf-Sat (%) (A) και η συγκέντρωση ηπατιδίνης (B) υπολογίστηκαν χρησιμοποιώντας την τεχνική U-PAGE και ELISA, αντίστοιχα.



Εικόνα 5: Επιπτώσεις στους δείκτες σιδήρου κατά την περίοδο της φόρτισης. Σε δύο ασθενείς πραγματοποιήθηκε φόρτιση με 100 mg σιδήρου κατά τη διάρκεια 30 λεπτών στο τέλος της κάθε συνεδρίας για 10 συνεχόμενες συνεδρίες (τρεις εβδομαδιαίως). Η δειγματοληψία έγινε 15 λεπτά πριν (μαύρα σύμβολα) και 15 λεπτά μετά την ολοκλήρωση της ενδοφλέβιας χορήγησης σιδήρου (λευκά σύμβολα). Το 1^ο δείγμα κάθε συνεδρίας χωρίστηκε σε δύο διαφορετικά φιαλίδια για αιματολογικές και βιοχημικές αναλύσεις, ενώ τα δείγματα που συλλέχθηκαν μετά τη χορήγηση σιδήρου χρησιμοποιήθηκαν μόνο για τον υπολογισμό του Tf-Sat και της συγκέντρωσης ηπατιδίνης στον ορό.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Μια σημαντική δόσο- και χρόνο-εξαρτώμενη αύξηση του κορεσμού της τρανσφερρίνης καθώς και των επιπέδων της δισιδηρικής τρανσφερρίνης παρατηρήθηκε αμέσως μετά τη χορήγηση σιδήρου σε ασθενείς οι οποίοι υποβάλλονται σε αιμοκάθαρση. Η αύξηση αυτή συνοδεύτηκε από παράλληλη αύξηση των επιπέδων της ηπατιδίνης στον ορό των ασθενών. Σε μακροπρόθεσμη παρακολούθηση (10 διαδοχικές χορηγήσεις 100 mg σιδήρου, μία ανά συνεδρία, 3 συνεδρίες την εβδομάδα) που έγινε σε 2 ασθενείς παρατηρήθηκε ότι οι επιπτώσεις στην ερυθροποίηση ήταν διαφορετικές μεταξύ των ασθενών.

Η γρήγορη αύξηση των επιπέδων ηπατιδίνης που παρατηρήθηκε μετά από ενδοφλέβια χορήγηση σιδήρου, είναι πιθανόν ότι παρεμποδίζει την έξοδο του σιδήρου από τα κύτταρα προς τον ορό και κατά συνέπεια επηρεάζει αρνητικά την ταχύτητα αιμοποίησης. Λόγω της δυσλειτουργίας των νεφρών αυτών των ασθενών, η απομάκρυνση της ηπατιδίνης στα ούρα είναι προβληματική, γεγονός που μπορεί να επιδεινώσει περαιτέρω την κατάσταση. Η χορήγηση της ίδιας ποσότητας σιδήρου σε μικρότερες δόσεις αλλά για μεγαλύτερα χρονικά διαστήματα θα μπορούσε δυνητικά να αποτρέψει αυτές τις επιπτώσεις.