



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ



ΝΕΦΡΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

Διευθυντής: Καθηγητής Ιωάννης Α. Στεφανίδης

Διδακτορική Διατριβή

«Ο ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΕΞΩΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΑΣΗΣ ΤΗΣ
ΓΛΟΥΤΑΘΕΙΟΝΗΣ ΣΤΑ ΟΥΡΑ.
ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΤΗΝ ΤΟΞΙΚΗ ΝΕΦΡΙΚΗ ΒΛΑΒΗ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΕΚΘΕΣΗ
ΣΤΟ ΤΡΙΧΛΩΡΟΑΙΘΥΛΕΝΙΟ »

Υπό

ΑΛΚΙΝΟΗΣ ΟΔ. ΚΡΙΚΕΛΛΑ

ΙΑΤΡΟΥ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Υπεβλήθη για την εκπλήρωση μέρους των

απαιτήσεων για την απόκτηση του

Διδακτορικού Διπλώματος

Λάρισα, 2023

© 2023 ΑΛΚΙΝΟΗ ΚΡΙΚΕΛΛΑ

Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το Τμήμα Ιατρικής της Σχολής Επιστημών Υγείας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας δεν υποδηλώνει αποδοχή των απόψεων του συγγραφέα (σύμφωνα με τις διατάξεις του άρθρου 202, παράγραφος 2 του Ν.5343/1932).

Εγκρίθηκε από τα Μέλη της Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής (7^η/ 21-12-2018 ΓΣΕΣ) :

1^{ος} Εξεταστής (Επιβλέπων): Ιωάννης Στεφανίδης
Καθηγητής Παθολογίας- Νεφρολογίας, ΤΙ, ΠΘ

2^{ος}Εξεταστής: Αναστάσιος Γερμενής,
Ομοτιμος Καθηγητής Εργαστηριακής Ανοσολογίας, ΤΙ, ΠΘ

3^{ος} Εξεταστής: Ηλίας Ζιντζαράς
Καθηγητής Βιομαθηματικών – Βιομετρίας, ΤΙ, ΠΘ

4^{ος} Εξεταστής: Ευαγγελία Λιβανίου
Ερευνήτρια Α'ΠΠΕΤΕΑ, ΕΚΕΦΕ «ΔΗΜΟΚΡΙΤΟΣ»

5^{ος} Εξεταστής: Ευθύμιος Δαρδιώτης
Αναπληρωτής Καθηγητής Νευρολογίας, ΤΙ, ΠΘ

6^{ος} Εξεταστής: Δημήτριος Αρβανίτης
Ομοτιμος Καθηγητής Τμήματος Ανατομίας -Ιστολογίας- Εμβρυολογίας,ΤΙ, ΠΘ

7^{ος} Εξεταστής: Φίλιππος Τρυποσκιάδης
Ομοτιμος Καθηγητής Καρδιολογίας Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ευχαριστώ θερμά τον Καθηγητή Παθολογίας - Νεφρολογίας Ιωάννη Στεφανίδη, για την ιδιαίτερη τιμή που μου έκανε να μου αναθέσει την διδακτορική διατριβή καθώς και για την συνεχή καθοδήγησή, την αμέριστη υποστήριξη, την ενθάρρυνση αλλά και την πολύτιμη βοήθεια που μου προσέφερε κατά την εξέλιξη της μελέτης, σε όλα τα θέματα που αφορούσαν την διεκπεραίωσή της. Ευχαριστώ θερμά όλα τα μέλη της Συμβουλευτικής και της Εξεταστικής Επιτροπής για το χρόνο που διέθεσαν και τη συμβολή τους στην ολοκλήρωση αυτής της διατριβής.

Ευχαριστώ την ερευνήτρια Α' ΙΠΡΕΤΕΑ του ΕΚΕΦΕ «ΔΗΜΟΚΡΙΤΟΣ» κα Λιβανίου Ευαγγελία που με συνέδραμε και με καθοδήγησε με συστηματικό και εμπειριστατωμένο τρόπο στο περίπλοκο αλλά και ενδιαφέρον τμήμα της διατριβής μου που σχετίζονταν με την επεξεργασία και ανάλυση των βιολογικών δειγμάτων και των δεδομένων που προέκυψαν από την μελέτη τους.

Ευχαριστώ τον Ομότιμο Καθηγητή της Εθνικής Σχολής Δημόσιας Υγείας (ΕΣΔΥ), Ιατρό Εργασίας, Βασίλειο Μακρόπουλο για την συμβολή του και την σημαντική υποστήριξή του στην διεκπεραίωσή της μελέτη αυτής, ιδίως κατά την εξασφάλιση της δυνατότητας πρόσβασης στους επιλεγμένους χώρους εργασίας, την πραγματοποίηση μετρήσεων στο εργασιακό περιβάλλον και την συλλογή βιολογικών δειγμάτων.

Επίσης ευχαριστώ τον σύζυγό μου Νεκτάριο Μητρόπουλο για την κατανόηση, την υπομονή την διαρκή ενθάρρυνση και την άοκνη υποστήριξη του κατά την εκπόνηση της παρούσας διατριβής.

Τέλος ευχαριστώ θερμά όλους τους συμμετέχοντες εργαζόμενους που στήριξαν την προσπάθειά μου εμπράκτως και με τίμησαν με την εμπιστοσύνη τους.

Αλκινόη Κρικέλλα

ΣΥΝΤΟΜΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ**ΚΡΙΚΕΛΛΑ ΑΛΚΙΝΟΗΣ**

Όνομα πατρός: Οδυσσέας

Διεύθυνση Κατοικίας: Πηλίου 11- Ηλιούπολη, ΑΤΤΙΚΗ, ΤΚ 16345

Τηλέφωνο: 211- 4073307

Κινητό: 6986810238 & 6973340819

Email: akrikella@hotmail.com

Οικογενειακή κατάσταση: Έγγαμη, Μητέρα 4 τέκνων

Ονοματεπώνυμο συζύγου: Νεκτάριος Μητρόπουλος

ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ

9/1988-7/1992: Πτυχίο Νοσηλευτικής Σχολής Αξιωματικών Νοσηλευτικής (ΣΑΝ)

Ανθυπολοχαγός (ΥΝ) (3η στη γενική σειρά αποφοίτησης - 2η στην τάξη του Στρατού Ξηράς)

9/1993- 4/1998: Πτυχίο Ιατρικής από την Ιατρική Σχολή ΑΠΘ με βαθμό “ΛΙΑΝ ΚΑΛΩΣ ” (7,14)

4/10/2007: Απόκτηση τίτλου ειδικότητας Ιατρική της Εργασίας

ΞΕΝΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ

Αγγλικά (ADVANCED LEVEL)

Γερμανικά (B1 NIVAEU)

ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ

- 22/12/1992 Χορήγηση άδειας ασκήσεως επαγγέλματος από την Ν.Α Φθιώτιδας υπ’αριθμ.5124.
- 1992 -1998: Υπηρεσία ως Αξιωματικός Νοσηλεύτρια μέχρι το βαθμό του Υπλγου σε Παθολογική και Χειρουργική κλινική/ ΜΕΘ/ χειρουργείο στρατιωτικών νοσοκομείων 401ΓΣΝΑ Αθήνας και 424 ΓΣΝΕ Θεσνικης.
- 7/8/1998: Μετάταξη στο Σώμα Στρατιωτικών Ιατρών με την υπ’ αριθμ.φ.415.41/ 9/171929 /Σ.3317.
- 3/1999-7/2000&10/2001-4/2002: Εκπλήρωση καθηκόντων ιατρού μονάδος στην Σχολή Μονίμων Υπαξιωματικών (ΣΜΥ) και στο ΚΕΥΠ.

- 2002-2007: Ειδίκευση στην ειδικότητα της Ιατρικής Εργασίας στον ΓΝΑ «Ευαγγελισμός». Συμπεριλάμβανε:
 - Α)2003-2004:12μηνη φοίτηση στην Εθνική Σχολή Δημόσιας Υγείας (ΕΣΔΥ)–Τομέας Βιομηχανικής και Επαγγελματικής Υγιεινής και εκπόνηση διπλωματικής εργασίας με θέμα: «Οργάνωση Υπηρεσιών Ιατρικής Εργασίας στο Στρατό Ξηράς» (Αντίγραφο κατατέθηκε στο ΥΠΕΘΑ).
 - Β)12/2006-6/2007: 6μηνη πρακτική άσκηση -Ελληνική Αεροπορική Βιομηχανία (ΕΑΒ).
- 11/5/2006: Χορήγηση διδακτορικής διατριβής με θέμα: «Ο προσδιορισμός της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης (eGPx) στα ούρα. Συσχέτιση με την τοξική νεφρική βλάβη μετά από επαγγελματική έκθεση στο Τριχλωροαιθυλένιο(TCE)» με απόφαση της Γενικής Συνέλευσης Ειδικής Σύνθεσης του τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας την 4^η / 12-4-2006 συνεδρίαση.
- 2009: 4μηνη εκπαίδευση στη Σχολή Εφαρμογής Υγειονομικού (ΣΕΥ)/ ΣΞ σε θέματα Διοίκησης Υπηρεσιών Υγείας για στελέχη Δημόσιας Διοίκησης από το ΙΝ.ΕΠ του Εθνικού Κέντρου Δημόσιας Διοίκησης και Αυτοδιοίκησης.
- 2007-2010: Υπηρέτησα ως Ειδικός Ιατρός Εργασίας έως το βαθμό του Ταγματάρχη σε Στρατιωτικά Εργοστάσια στο νομό Αττικής (301 ΠΕΒ- Αγ. Ανάργυροι, 691 ΒΕΒ-Αυλώνας, 651 ΑΒΥΠ-Αγ. Στέφανος) και οργάνωσα ιατρεία εργασίας. Τον 9/2009 κατέθεσα επιτελική μελέτη στο Γενικό Επιτελείο Στρατού(ΓΕΣ) για την κατανομή των Αξκών ΙΕ στους χώρους εργασίας που εποπτεύονται από το ΓΕΣ.
- 10/12/ 2010: Αποστρατεύτηκα με το βαθμό του Αρχιάτρου (ΑΝΧΗ(ΥΙ)).
- 2007-2021: Παροχή υπηρεσιών Ιατρού Εργασίας σε ευρύ φάσμα νομικών προσώπων του δημοσίου τομέα όπως ΟΤΑ στην Αττική (δήμος Ραφήνας-Πικερμίου, Ηλιούπολης, Σπάτων - Αρτέμιδος, Φιλοθέης -Ψυχικού (2018-21), Αγ. Παρασκευής (2019-21), Ελληνική Αρχή Γεωλογικών και Μεταλλευτικών Ερευνών (ΕΑΓΜΕ) (2011- 2015 και 2018-2021), εταιρίες του ιδιωτικού τομέα όπως PROCTER AND GAMBLE, WWF HELLAS, LOGISTICS AMES, SIEMENS HELLAS, μεταλλευτική εταιρία ELMIN (2009-2015), μεταλλευτική εταιρεία IMERYS BAUXITES (2016-2020), ΙΔΙΩΤΙΚΑ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΗΡΙΑ “Γ.ΖΩΗ», MATTEL, EXPRESS SERVICE (Νότια Ελλάδα), COSMOTE Α.Ε (ΑΤΤΙΚΗ), φαρμακευτικές εταιρίες BOEHRINGER-INGELHEIM (2019-20) και MYLAN/BGP (2019-20), ΕΛΛΗΝΟΑΜΕΡΙΚΑΝΙΚΗ ΈΝΩΣΗ (ΕΑΕ) (2018-20), FORLABELS (2019-20), ΕΚΕΒΕ ΦΛΕΜΙΝΓΚ(Ερευνητικό κέντρο) (2020-21).

- Από την 1/1/22 επικεφαλής Ιατρός τμήματος Ιατρικής Εργασίας στην μεταλλευτική εταιρεία Ελληνικός Χρυσός στην ΒΑ Χαλκιδική.
- 2007: Συνεργασία με το ερευνητικό ινστιτούτο ΙΓΜΕ/ΕΑΓΜΕ για την εκτίμηση κινδύνου σε έκθεση στον αμίαντο των εργαζόμενων του στρατιωτικού εργοστασίου 301 ΕΒ (Εργοστάσιο Βάσης) και ασφαλή περιβαλλοντική διαχείριση αποθέσεων υλικών αμιάντου.
- 2008:Πιστοποίηση ως επιθεωρήτρια συστημάτων διαχείρισης Υγείας και Ασφάλειας για το πρότυπο ΕΛΟΤ 1801/OHSAS 18001 και ΕΛΟΤ EN ΙΣΟ 19011 από τον αναγνωρισμένο φορέα EUROCERT.
- Έχω λάβει μέρος ως εκπαιδύτρια σε σεμινάρια Πρώτων Βοηθειών για το προσωπικό επιχειρήσεων του δημόσιου και ιδιωτικού τομέα όπως τα Λατομεία Μαρμάρου (Αττική/ Θήβα) (2008), ΙΓΜΕ (2008), η μεταλλευτική εταιρία ΕΛΜΙΝ (2010, 2011,2012), η ALLOU FUN PARK Α.Ε.(2008), η SMB ΜΕΤΑΛΛΕΥΤΙΚΗ (2011), ο δήμος Ηλιούπολης(2011-2014), ο δήμος Ραφήνας – Πικερμίου(2010-2013).
- 10/2010- 5/ 2015: Επικεφαλής τμήματος Ιατρικής Εργασίας της COSMOTE ΑΕ (Αττική).
- 18/9/2016-31/7/2020: Επικεφαλής τμήματος Ιατρικής Εργασίας της IMERYS BAUXITES (Φωκίδα).
- 4/2017-6/2017:Εντατική εκπαίδευση επί 2μήνες στην αυτοκινητοβιομηχανία VOLKSWAGEN στο Wolfsburg, Κάτω Σαξονία/ Γερμανία σε εκτενή θεματολογία Ιατρικής Εργασίας (οργάνωση/ λειτουργία υπηρεσίας Ιατρικής Εργασίας, αντιμετώπιση-διαχείριση επείγοντος, ταξιδιωτική ιατρική, εργονομία θέσεων εργασίας/ αξιολόγηση, επαγγελματικές δερματοπάθειες, εκτίμηση ψυχοκοινωνικού κινδύνου, ψηφιοποίηση θέσεων εργασίας, εκτίμηση επαγγελματικού κινδύνου-workshop, υποστήριξη χρονίως πασχόντων στο χώρο εργασίας).
- 2009: Βράβευση με εύφημο μνεία από το Γενικό Επιτελείο Στρατού (ΓΕΣ) για τις υπηρεσίες ως ΙΕ στο Στρατό Ξηράς στον Τομέα Υγείας και Ασφάλειας.
- 10/2013: Βράβευση από το Ευρωπαϊκό Δίκτυο Προαγωγής Υγείας στους Χώρους Εργασίας (ΕΔΠΥΧΕ) ως εκπρόσωπος της COSMOTE Α.Ε. και επικεφαλής υγειονομικής ομάδας για το πρόγραμμα «Προαγωγή Υγείας στους Χώρους Εργασίας για τους χρονίως πάσχοντες – Ολιστικό μοντέλο διαχείρισης».

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

- Κρικέλλα Α., Νέζη Γ. SARS: Ένας νέος επαγγελματικός κίνδυνος στο χώρο της Υγείας, Ιατρική Επιθεώρηση Ενόπλων Δυνάμεων 38:13-19, 2004.
- Κρικέλλα Α. Προαγωγή της υγείας του προσωπικού στο Στρατό Ξηράς, Ιατρική Επιθεώρηση Ενόπλων Δυνάμεων 39: 2006.
- Μπάζας Θ., Ζημάλης Ε., Ζαχαρίας Ε., Κρικέλλα Α., Μάρης Α., Κόμβος Κ., Μετάφραση του Διεθνούς Κώδικα Ηθικής και Δεοντολογίας για τους ασκούντες τα επαγγέλματα που αφορούν στην Ιατρική και Υγιεινή της Εργασίας της ICOH, 2008.
- Bazas T., Krikella A., Zorba K., Kapsali K., Photo competition as a tool for occupational health education of general secondary school students, Journal of Occupational Health ID JOH-2013-0045-BR. R1, 2013.
- Ζορμπάς Σ., Μπάζας Θ., Κρικέλλα Α., Ζορμπάς Η., Ζορμπά Ε., Νταβέλος Α., Καψάλη Κ., Δρακόπουλος Β., Κωνσταντινίδης Θ., Εφαρμογή προτύπων διαδικαστικών πρωτοκόλλων για βελτίωση υπηρεσιών ιατρικής της εργασίας, ΥΓΙΕΙΝΗ & ΑΣΦΑΛΕΙΑ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ (ΕΛΙΝΥΑΕ), 2015.
- Ζορμπάς Σ., Μπάζας Θ., Ζορμπάς Η., Κρικέλλα Α., Ζορμπά Ε., Δρακόπουλος Β., Κωνσταντινίδης Θ., Απόψεις μελών Ελληνικής Εταιρείας Ιατρικής της Εργασίας (ΙΕ) για ειδίκευση και άσκηση στην ΙΕ, ΥΓΕΙΑ ΕΡΓΑΣΙΑ, 2016.
- Πανταζοπούλου-Φωτεινέα Α., Νταβέλος Α., Παπαδόπουλος Σ., Κρικέλλα Α., Χριστοπούλου Θ., Χωλίδης Ν., Μιχαλοπούλου Κ., Ζορμπά Ε., Γούλα Θ., Ελληνική Εταιρεία Ιατρικής Εργασίας και Περιβάλλοντος, Πρόληψη εργασιακού άγχους- Σημεία ελέγχου στο χώρο εργασίας- Πρακτικές βελτιώσεις για την πρόληψη του άγχους στον εργασιακό χώρο- Μετάφραση πρωτότυπης έκδοσης του Διεθνές Γραφείο Εργασίας, με τίτλο «Stress prevention at work checkpoints. Practical improvements for stress prevention in the workplace», ISBN: ISBN 978-960-99527-1-2, 2017.
- Δημοσίευση στα πρακτικά διεθνών συνεδρίων των δυο εθνικών συμμετοχών:
 - (α) Κρικέλλα Α., Πετροχείλου Α., Γρανά Ε., Μπακόλα Ε., Καραβία Μ., Προαγωγή Υγείας στους Χώρους Εργασίας για τους χρονίως πάσχοντες – Ολιστικό μοντέλο διαχείρισης, Conference on Workplace Health Practices for Employees with Chronic Illness (Brussels) 2013
 - β) Κρικέλλα Α., Πετροχείλου Α., Δράσεις & προγράμματα μείωσης εργασιακού στρες και ψυχοκοινωνικού κινδύνου 2009-2014, Ευρωπαϊκός διαγωνισμός -Βραβεία Καλής Πρακτικής για την πρόληψη του Ψυχοκοινωνικού Κινδύνου, 2015.

ΠΡΟΦΟΡΙΚΕΣ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΕΙΣ

2003: Κρικέλλα Α., Προαγωγή της Υγείας του προσωπικού στο ΣΞ,3^H Ημερίδα Ιατρικής Εργασίας, 401 ΓΣΝΑ

- 2008: Κρικέλλα Α., Κίνδυνοι και μέτρα προστασίας των εργαζομένων στα χειρουργεία – Αναισθητικά-Αέρια-Αποστείρωση(Στρογγυλή τράπεζα: Βασικά ζητήματα επαγγελματικής υγείας των εργαζομένων στα νοσοκομεία), 22ο Ιατρικό Συνέδριο Ενόπλων Δυνάμεων
- 2013: Κρικέλλα Α., Προαγωγή Υγείας στους Χώρους Εργασίας για τους χρονίως πάσχοντες – Ολιστικό μοντέλο διαχείρισης, Ημερίδα ΕΔΙΠΥΧΕ και Εθνικού Δικτύου Νοσοκομείων στο ΓΝΝΘΑ «Η Σωτηρία».
- 2014: Κρικέλλα Α., Ολιστική προσέγγιση χρονίως πασχόντων εργαζομένων στο χώρο εργασίας (Στρογγυλή τράπεζα: Ο ρόλος του Έλληνα Ειδικού Ιατρού Εργασίας στην Ελλάδα της κρίσης), 25^ο Ιατρικό Συνέδριο Ενόπλων Δυνάμεων.
- 5/2014 & 5/2015: Κρικέλλα Α., Παρουσίαση των βραβευμένων ευρωπαϊκών προγραμμάτων της Cosmote στους φοιτητές του μεταπτυχιακού προγράμματος της Εθνικής Σχολής Δημόσιας Υγείας (ΕΣΔΥ).
- 4/7/2020:Κρικέλλα Α., Διαχείριση του φόβου του ιατρονοσηλευτικού προσωπικού κατά την πανδημία, διαδικτυακό συνέδριο της ΓΠΠ/ ΓΝΑ Σωτηρία “Άσκηση της Ιατρικής στην Εποχή του SARS-Cov-2 : Η Κριτική ματιά του κλινικού Ιατρού”, Αθήνα 2020.
- 21/6/2020 & 21/3/2021: Η εμπειρία του ελληνικού ιατρονοσηλευτικού προσωπικού στην πανδημία COVID-19, Εκπαιδευτική διαδικτυακή παρουσίαση στα ΠΜΣ(Προγράμματα Μεταπτυχιακών Σπουδών) της Ιατρικής Σχολής του Δημοκρίτειου Παν/μιου α)Υγιεινή και Ασφάλεια της Εργασίας και β) Πρωτοβάθμια Φροντίδα Υγείας, Κοινωνική Ιατρική και Φαρμακευτική Φροντίδα.

ΑΝΑΡΤΗΜΕΝΕΣ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΕΙΣ

- 2002: Πατελάρος Ε., Σπυρέλης Μ., Βεζαλής Μ., Κρικέλλα Α., Μουσούλης Μ., Σιούλα Ε., Άριστη ανταπόκριση σε τυφλή αντιφυματική αγωγή σε περίπτωση νεαρής ασθενούς με πυρετό αγνώστου αιτιολογίας,2ο Πανεπειρωτικό Ιατρικό Συνέδριο.
- 2002: Πατελάρος Ε., Σπυρέλης Μ., Κρικέλλα Α., Πατελάρου Μ., Μάγειρα Ε., Πίπης Π., Καρκίνος παγκρέατος και ανεύρυσμα γαστροδωδεκαδακτυλικής αρτηρίας 8^ο Πανελλήνιο συνέδριο Παθολογίας.

- Cpt Krikella A., Nezi Gl., Spirelis M., Cpt Kareli A., Aygerinos P., Acute renal Failure due to spontaneous Tumor Lysis Syndrome to a patient with abdominal T-cell like Burkitt Lymphoma, 9th Congress of Balkan Military Medical Committee, 2004.
- 2008: Bazas T., Krikella A., Zimalis E., Statutory duties and previous enterprisebased experience as determinants of OM curriculum in Greece, ICOH Conference on Education and Training, Glasgow.
- 2014: Μπακόλα Ε. Κρικέλλα Α. Παρέμβαση διατροφικής Υποστήριξης εργαζομένων σε τηλεφωνικό κέντρο, 1^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Επισκεπτών Υγείας.
- 2016: Krugia H. Krikella A. Grana E. a) Supporting employees with musculoskeletal pain at work, b) Nutritional intervention to support employees' weight loss. New Occupational Horizons Congress, Rotterdam-Holland.

**«Ο ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΕΞΩΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΑΣΗΣ ΤΗΣ
ΓΛΟΥΤΑΘΕΙΟΝΗΣ ΣΤΑ ΟΥΡΑ.
ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΤΗΝ ΤΟΞΙΚΗ ΝΕΦΡΙΚΗ ΒΛΑΒΗ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΕΚΘΕΣΗ
ΣΤΟ ΤΡΙΧΛΩΡΟΑΙΘΥΛΕΝΙΟ»**

ΚΡΙΚΕΛΛΑ ΑΛΚΙΝΟΗ

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Τμήμα Ιατρικής

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

1. **Ιωάννης Στεφανίδης**, Καθηγητής Παθολογίας – Νεφρολογίας, ΤΙ,ΠΘ (**Επιβλέπων**)
2. **Αναστάσιος Γερμενής**, Ομοτιμος Καθηγητής Εργαστηριακής Ανοσολογίας, ΤΙ,ΠΘ
3. **Ηλίας Ζιντζαράς**, Καθηγητής Βιομαθηματικών – Βιομετρίας, ΤΙ,ΠΘ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το Τριχλωροαιθυλένιο (TCE) είναι ένας συστηματικά και ευρέως χρησιμοποιούμενος βιομηχανικός οργανικός διαλύτης. Θεωρείται σημαντικός περιβαλλοντικός ρύπος. Κατά την έκθεση του ανθρώπου το TCE απορροφάται από τους πνεύμονες, το δέρμα και το πεπτικό σύστημα.

Η νεφροτοξικότητα του TCE (κυρίως σωληναριακή βλάβη) έχει τεκμηριωθεί πειραματικά (in vitro και in vivo) και σε επιδημιολογικές μελέτες επαγγελματικής έκθεσης. Είναι επίσης γνωστή η νεφροτοξικότητα του TCE σε οξεία έκθεση. Αντίθετα, δεν υπάρχει εκτεταμένη μεθοδολογική τεκμηρίωση για την πρόωμη ανίχνευση της νεφροτοξικής επίδρασης του TCE στον άνθρωπο μετά από χρόνια επαγγελματική έκθεση, ιδίως σε συγκεντρώσεις μικρότερες από τις οριακές τιμές έκθεσης. Αυτό το γεγονός καταδεικνύει την ανάγκη αναζήτησης ειδικών διαγνωστικών δεικτών για τον ακριβή προσδιορισμό της νεφρικής βλάβης, εάν είναι δυνατό, σε υποκλινικό στάδιο.

Η εξωκυττάρια υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (eGPx) ανήκει στην οικογένεια των σεληνιοεξαρτώμενων ενζύμων υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx).

Ανιχνεύεται στο ανθρώπινο πλάσμα και η κύρια θέση παραγωγής της είναι ο νεφρός (εγγύς εσπειραμένο σωληνάριο). Εκτιμάται ότι συμμετέχει σε αντιοξειδωτικό μηχανισμό, που προστατεύει τον νεφρικό ιστό από το οξειδωτικό στρες και τις τοξικές επιδράσεις ειδικά του TCE.

Η διεθνής βιβλιογραφία καταδεικνύει την χρήση της eGPx ορού ως δείκτη εκτίμησης της νεφρικής βλάβης σε νεφροπαθείς (XNN), αιμοκαθαιρόμενους ασθενείς και μεταμοσχευθέντες με μόσχευμα νεφρού..

Δεν υπάρχουν όμως επαρκή βιβλιογραφικά στοιχεία για τη χρήση του ενζύμου ως δείκτη έγκαιρης διάγνωσης της νεφρικής βλάβης σε άτομα με χρόνια επαγγελματική έκθεση στο TCE σε συγκεντρώσεις μικρότερες από τις οριακές τιμές.

Σκοπός της ερευνητικής εργασίας ήταν η μέτρηση της συγκέντρωσης του διαλύτη TCE σε επιλεγμένους χώρους εργασίας, η αξιολόγηση της έκθεσης των υπό διερεύνηση εργαζομένων, η

διερεύνηση της νεφρικής βλάβης αυτών των εργαζομένων σε σχέση με την έκθεσή τους στο TCE (στον παρόντα χρόνο και στο παρελθόν), ο προσδιορισμός του ενζύμου eGPx στον ορό και στα ούρα των εργαζομένων και η συσχέτιση των επιπέδων eGPx με την έκθεση σε TCE και την νεφρική βλάβη.

Στην ερευνητική εργασία συμμετείχαν συνολικά 78 άρρενες εργαζόμενοι κατανεμημένοι σε ομάδες ανά χώρο εργασίας με βάση την έκθεσή τους στο TCE. Η σύγκριση έγινε με ομάδα μη εκτεθειμένων μαρτύρων (διοικητικό προσωπικό επιχείρησης).

Η δειγματοληψία και μέτρηση TCE στο εργασιακό περιβάλλον έγινε με αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μάζας (GC-MS). Η eGPx στον ορό προσδιορίστηκε με ανοσοενζυμομετρική μέθοδο, στην οποία χρησιμοποιήθηκε ELISA-kit της Εταιρείας Calbiochem και στα ούρα η eGPx προσδιορίστηκε με κατάλληλα τροποποιημένο πρωτόκολλο ώστε να είναι εφικτή η αξιόπιστη μέτρηση του ενζύμου στο συγκεκριμένο είδος βιολογικού δείγματος. Επίσης μελετήθηκαν και επτά ευαίσθητοι δείκτες νεφρικής βλάβης (CysC, NGAL, A1-μικροσφαιρίνη, B2-μικροσφαιρίνη, IgG, ελαφρές κ, λ άλυστοι, αλβουμίνη).

Οι εκτεθειμένοι σε TCE στον παρόντα χρόνο εργαζόμενοι εμφάνιζαν αυξημένη συγκέντρωση eGPx στο αίμα και τα ούρα σε σχέση με τους εκτεθειμένους στο διαλύτη σε παρελθόντα χρόνο και με το μη εκτεθειμένο προσωπικό.

Επιπλέον διαπιστώθηκε ότι μεμονωμένοι εργαζόμενοι εκτεθειμένοι σε παρόντα χρόνο εμφάνισαν στα ούρα αυξημένη ανοσοσφαιρίνη IgG και αλβουμίνη.

Τα ευρήματα αυτά υποδηλώνουν ότι στους εκτεθειμένους σε παρόντα χρόνο εργαζόμενους υπάρχει νεφρική σωληναριακή βλάβη. Επίσης θέτουν την υποψία ότι σε μεμονωμένες περιπτώσεις η επαγγελματική έκθεση σε TCE προκαλεί μια ήπια πειραματική βλάβη, γεγονός που μένει ακόμη να μελετηθεί.

Επομένως θα πρέπει να πραγματοποιηθούν και να εντατικοποιηθούν μελέτες σε μεγαλύτερους πληθυσμούς εργαζομένων ώστε να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα σχετικά με την χρήση του

ενζύμου eGPR ως ευαίσθητου νεφρικού βιολογικού δείκτη στην χρόνια επαγγελματική έκθεση στο διαλύτη TCE.

SUMMARY

Trichloroethylene (TCE) is a systemically used industrial organic solvent and considers a significant environmental pollutant. The solvent is absorbed by the lungs, skin, and gastrointestinal tract of the exposed workers.

Nephrotoxicity of TCE (mainly kidney tubular damage) has been clearly documented not only in experiments (in vitro and in vivo) but also in humans by means of occupational epidemiological studies. Furthermore, the acute nephrotoxicity of TCE in humans has been extensively studied.

However, there is no precise documentation of the TCE nephrotoxicity after chronic occupational exposure, especially at lower than the permitted exposure limit values. This fact results in the need to find specific diagnostic indicators in order to detect TCE renal damage accurately, preferably at a subclinical stage.

The extracellular glutathione peroxidase (eGPx) belongs to the family of selenium-dependent enzymes GPx. It has been isolated in human plasma and its main source is kidney (proximal tubule's cells). It participates in an antioxidant mechanism that protects kidney tissue from the destructive oxidative stress, as that of TCE.

The use of serum eGPx as an indicator of renal impairment in AKI/CKD patients, hemodialysis patients and kidney transplant recipients has been already demonstrated. However, there is insufficient information about eGPx as an early marker of kidney damage in chronically exposed employees especially at TCE concentrations lower than the permitted limit values.

The purpose of the study was to estimate the TCE exposure of employees in selected workplaces, investigate the early kidney damage of these workers in relation to their exposure to TCE (in present and in the past), determine levels of serum and urine eGPx and find the correlation of these levels with TCE exposure and early renal impairment.

In the study 78 male employees were enrolled and divided into groups per workplace related to their TCE exposure. As controls in the study, a group of TCE non-exposed employees of the same company (company administrative staff) was used.

Sampling and measurement of TCE in the workplace environment was implemented by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS).

Serum eGPx was determined by an immunoenzymometric method, using an ELISA-kit by Calbiochem Company and urine eGPx was determined by a slightly modified protocol in order to allow reliable measurement. In addition, we studied seven sensitive markers of kidney damage in serum and urine samples (CysC, NGAL, A1-microglobulin, B2-microglobulin, IgG, κ , λ -light chain and albumin).

The recently TCE exposed workers presented higher concentration of eGPx in blood and urine compared with TCE past exposed workers and non-exposed personnel. Additionally, it was found that recently individual exposed workers excreted IgG and albumin in urine. These findings indicate that recently TCE-exposed workers suffer from an early renal tubular damage. Furthermore, they raise a well-founded suspicion that in some particular employees TCE occupational exposure causes a moderate glomerular damage, which requires further investigation. Therefore, studies in working populations should be intensified in order to come in safer conclusions about the use of eGPx as a sensitive biological marker of kidney damage due to chronic occupational TCE exposure.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

1.ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	19
1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	19
1.2 ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΕΚΘΕΣΗ ΣΤΟ ΤΡΙΧΛΩΡΟΑΙΘΥΛΕΝΙΟ (TCE) ...	23
1.3 Η ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΣΤΟΥΣ ΧΩΡΟΥΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ ΜΕ ΕΚΘΕΣΗ ΣΤΟ TCE (ΕΛΛΑΔΑ)	31
1.4 ΝΕΦΡΟΣ.....	34
1.4.1 ΑΝΑΤΟΜΙΑ- Η ΝΕΦΡΙΚΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ.....	34
1.4.2 ΟΙ ΟΜΟΙΟΣΤΑΤΙΚΕΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ ΤΟΥ ΝΕΦΡΟΥ.....	38
1.4.3 ΑΠΕΚΚΡΙΣΗ ΑΧΡΗΣΤΩΝ ΟΥΣΙΩΝ ΚΑΙ ΤΟΞΙΝΩΝ.....	38
1.4.4 ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΟΥ ΟΓΚΟΥ ΤΟΥ ΕΞΩΚΥΤΤΑΡΙΟΥ ΥΓΡΟΥ.....	39
1.4.5 ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΩΣΜΩΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΕΞΩΚΥΤΤΑΡΙΟΥ ΥΓΡΟΥ.....	40
1.4.6 Η ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΑΡΤΗΡΙΑΚΗΣ ΠΙΕΣΗΣ.....	41
1.4.7 ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΟΞΕΟΒΑΣΙΚΗΣ ΙΣΟΡΡΟΠΙΑΣ.....	42
1.4.8 ΡΥΘΜΙΣΗ ΗΛΕΚΤΡΟΛΥΤΩΝ.....	43
1.4.9 ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΡΥΘΜΙΣΗ ΕΚΚΡΙΣΗΣ ΟΡΜΟΝΩΝ.....	44
1.5 ΠΑΘΗΣΕΙΣ ΤΟΥ ΝΕΦΡΙΚΟΥ ΠΑΡΕΓΧΥΜΑΤΟΣ.....	44
1.5.1 ΠΡΩΤΟΠΑΘΕΙΣ ΣΠΕΙΡΑΜΑΤΟΠΑΘΕΙΕΣ.....	46
1.5.2. ΔΙΑΜΕΣΕΣ ΝΕΦΡΟΠΑΘΕΙΕΣ.....	48
1.5.3.ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ Η' ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΚΘΕΣΗ ΚΑΙ ΝΕΦΡΟΠΑΘΕΙΕΣ.....	51
1.6 ΔΕΙΚΤΕΣ ΝΕΦΡΙΚΗΣ ΒΛΑΒΗΣ.....	51
1.6.1 ΛΙΠΟΚΑΛΙΝΗ -2 (LIPOCALIN-2 -LCN2).....	51
1.6.2 ΣΥΣΤΑΤΙΝΗ C (Cystatin C).....	56
1.6.3 ΚΡΕΑΤΙΝΙΝΗ.....	59
1.6.4 Α1-ΜΙΚΡΟΣΦΑΙΡΙΝΗ (A1M).....	60
1.6.5 Β2-ΜΑΚΡΟΣΦΑΙΡΙΝΗ (B2M).....	62
1.6.6 ΑΝΟΣΟΣΦΑΙΡΙΝΗ G (IgG).....	63
1.6.7 ΕΛΑΦΡΕΣ ΑΛΥΣΟΙ (FLC κ και λ).....	65
1.6.8 ΑΛΒΟΥΜΙΝΗ.....	67
1.6.9 Η ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΑΣΗ ΤΗΣ ΓΛΟΥΤΑΘΕΙΟΝΗΣ (GPx).....	69
2. ΣΚΟΠΟΣ.....	75

3. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	76
3.1 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	76
3. ΜΕΤΡΗΣΗ ΤCΕ ΣΤΟΝ ΕΡΓΑΣΙΑΚΟ ΧΩΡΟ (GC-MS).....	79
3.3 ΑΝΑΛΥΣΗ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΣΤΟΝ ΟΡΟ.....	80
3.3.1 ΜΕΤΡΗΣΗ EGP _x ΟΡΟΥ.....	80
3.3.2 ΜΕΤΡΗΣΗ NGAL ΟΡΟΥ.....	81
3.3.3 ΜΕΤΡΗΣΗ ΚΡΕΑΤΙΝΙΝΗΣ ΟΡΟΥ.....	82
3.4 ΑΝΑΛΥΣΗ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΣΤΑ ΟΥΡΑ.....	82
3.4.1 eGP _x ΟΥΡΩΝ.....	83
3.4.2 NGAL ΟΥΡΩΝ.....	84
3.4.3 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΠΡΩΤΕΙΝΩΝ ΣΤΑ ΟΥΡΑ ΜΕ ΑΝΟΣΟΝΕΦΕΛΟΜΕΤΡΙΑ.....	84
3.4.4 ΑΛΒΟΥΜΙΝΗ ΟΥΡΩΝ.....	85
3.5 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ.....	85
4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	87
4.1 ΔΗΜΟΓΡΑΦΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ.....	87
4.2 ΕΠΙΠΕΔΑ ΤCΕ ΣΤΟΝ ΕΡΓΑΣΙΑΚΟ ΧΩΡΟ.....	88
4.3 e GP _x , NGAL ΚΑΙ ΚΡΕΑΤΙΝΙΝΗ ΣΤΟΝ ΟΡΟ.....	88
4.4 eGP _x ΚΑΙ ΑΛΛΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΒΛΑΒΗΣ ΣΤΑ ΟΥΡΑ.....	91
5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	98
6. ΣΥΝΟΨΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ	109
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	111

1.ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το Τριχλωροαιθυλένιο (TCE) είναι ένας συστηματικά χρησιμοποιούμενος βιομηχανικός διαλύτης και θεωρείται σημαντικός περιβαλλοντικός ρύπος (NICNAS 2000; IARC 2014; EPA 2020).

Χρησιμοποιείται στην χημική βιομηχανία. Αποτελεί προδρομη ουσία στην παραγωγή ενώσεων εναλλακτικών των χλωροφθορανθράκων, τους υδροφθοράνθρακες (HFC's), που χρησιμοποιούνται ως ψυκτικά μέσα, χρησιμοποιείται στον κλάδο του στεγνού καθαρίσματος, στον πολυμερισμό βινυλοχλωριδίου, στην παραγωγή πολλών προϊόντων αεροζόλ οικιακής χρήσης και στην παρασκευή πληθώρας χημικών προϊόντων όπως κόλλες, χρώματα, βερνίκια, διαβρωτικά χρωμάτων, φυτοφάρμακα και καθαριστικά μετάλλων (IARC 2014; EPA 2020). Μεγάλος αριθμός εργαζομένων σε βιομηχανικά αναπτυγμένες χώρες έχει εκτεθεί για εκτενείς χρονικές περιόδους στο TCE όπως καταγράφεται σε διεθνές επίπεδο (IARC 2014; Kim et al.2014, Buhagen et al.2016).

Η κύρια χρήση του διαλύτη όμως είναι ο βιομηχανικός καθαρισμός μεταλλικών επιφανειών και μηχανικών εξαρτημάτων από τα υπολείμματα των λιπαντικών. Αυτό επιτυγχάνεται κυρίως με αέριο TCE και σε μικρότερο βαθμό με εμβάπτιση των υλικών αυτών σε υγρό TCE (IARC 2014).

Η επαγγελματική έκθεση συμβαίνει μέσω της αναπνευστικής οδού με την εισπνοή ατμών του διαλύτη και μέσω της επαφής του δέρματος με την υγρή φάση του διαλύτη. Ο διαλύτης, κατά την έκθεση του ανθρώπου σε αυτόν, απορροφάται από τους πνεύμονες (αέρια μορφή-ατμοί διαλύτη), το δέρμα (υγρή μορφή) και το πεπτικό σύστημα με την κατάποση (Brüning et al.1998).

Ακολουθώς μεταφέρεται στην κυκλοφορία του αίματος και τελικά αποθηκεύεται στον λιπώδη ιστό και στο ήπαρ. Διέρχεται από τον αιματοεγκεφαλικό και τον αιματοπλακουντιακό φραγμό (Lash et al.2000a; Ζημάλης 2002).

Το μεγαλύτερο μέρος του TCE που έχει απορροφηθεί, μεταβολίζεται μέσω δύο κύριων μεταβολικών οδών. Οι δύο κύριες οδοί με τις οποίες μεταβολίζεται το TCE σε ανθρώπους και

πειραματόζωα είναι: α) η οξειδωτική οδός η εξαρτώμενη από το κυτόχρωμα P450 (CYP) και β) η οδός της σύζευξης με την γλουταθειόνη (GSH) (NICNAS 2000; Lash et al. 2000a; Chiu et al.2006; EPA 2011).

Η οξειδωτική οδός η εξαρτώμενη από το κυτόχρωμα P450 (CYP) συμβαίνει πρωτίστως στο ήπαρ και στους νεφρούς (Cummings et al.2000a; 2000b, 2001) και δευτερευόντως σε άλλα όργανα όπως οι πνεύμονες (Odum et al.1992; Forkert et al.2005, 2006) και το ανδρικό αναπαραγωγικό σύστημα (Forkert et al.2002, 2003). Οι μεταβολίτες, που αποβάλλονται με τα ούρα, χρησιμοποιούνται για την εκτίμηση της επαγγελματικής έκθεσής στο TCE.

Η μεταβολική οδός σύζευξης με την γλουταθειόνη (GSH) λαμβάνει χώρα στο ήπαρ και τους νεφρούς. Το TCE αντιδρά με την GSH και καταλήγει στο σχηματισμό ενώσεων GSH-TCE.

Ο μεταβολίτης S-(1,2διχλωροβινυλ)Lκυστεΐνη (DCVC), παράγεται κυρίως στο νεφρό, και τα παράγωγά του προκαλούν νεφροσωληναριακή βλάβη (Chen et al. 1990; Goepfert et al. 1995).

Το χλωροθειοκετένιο είναι ένα από αυτά τα παράγωγα. Θεωρείται υπεύθυνο για την νεφροτοξική δράση του TCE στα πειραματόζωα και στον άνθρωπο και έχει αποδειχτεί ότι είναι μεταλλαξιογόνος παράγοντας (προκαλεί μετάλλαξη στο γονίδιο Von Hippel Lindau (VHL)) (Bruning et al. 1997a, 1999; Lash et al.2000a; IARC 2014).

Η νεφροτοξικότητα του TCE έχει τεκμηριωθεί στα πειραματόζωα διεξοδικά (Goepfert et al.1995; Cummings et al.2000a; Green 2000; Cummings et al.2001; Lash et al.2006a). Στον άνθρωπο η νεφροτοξικότητα έχει διερευνηθεί με επιδημιολογικές μελέτες επαγγελματικής έκθεσης (Brüning et al.1996, 1999; Green et al. 2004; Kim et al.2012; Hansen et al.2013; Buhagen et al 2016), in vivo σε περιπτώσεις σοβαρής οξείας έκθεσης (Brüning et al.1998; Bolt et al.2004) και in vitro με μελέτες της οξείας τοξικότητας του TCE σε ανθρώπινα κύτταρα σε σχέση με τους μεταβολίτες της γλουταθειόνης (GSH) (Chen et al.1990; Cummings & Lash 2000; Lash et al.2001a, 2003).

Στην τοξικότητα αυτή θεωρείται ότι συμμετέχει ο μηχανισμός του οξειδωτικού στρες (Li, 2019).

Αντίθετα δεν υπάρχει εκτεταμένη μεθοδολογική τεκμηρίωση για την ανίχνευση της πρώιμης νεφροτοξικής επίδρασης του TCE στον άνθρωπο μετά από χρόνια επαγγελματική έκθεση σε μικρότερες συγκεντρώσεις από τις οριακές τιμές επαγγελματικής έκθεσης (Harth et al.2005; Vermeulen et al.2012; Kim et al. 2014; Lee et al.2019).

Οι καθιερωμένες διαγνωστικές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για ανίχνευση και εντοπισμό της βλάβης μετά από οξεία ή χρόνια επαγγελματική έκθεση ατόμων στο διαλύτη δείχνουν μικρή εξειδίκευση.

Εγείρεται, κατά συνέπεια, το ερώτημα εάν οι εφαρμοζόμενες μέθοδοι για προσδιορισμό της νεφρικής βλάβης σε εργαζόμενους με χρόνια επαγγελματική έκθεση σε μικρές συγκεντρώσεις του TCE είναι επαρκώς ευαίσθητες και ειδικές. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την ανάγκη αναζήτησης ειδικών διαγνωστικών δεικτών για τον ακριβή προσδιορισμό της νεφρικής βλάβης, εάν είναι δυνατό, σε υποκλινικό στάδιο.

Έρευνες των τελευταίων 30 ετών έχουν αποκαλύψει ότι ένζυμα που ανήκουν στην οικογένεια της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης (GPx) εμφανίζουν αντιοξειδωτική δράση καταλύοντας την αντίδραση αναγωγής του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2) και οργανικών υπεροξειδίων (ROOR') με την παρουσία της γλουταθειόνης (GSH) ($\text{H}_2\text{O}_2 + 2\text{GSH} \rightarrow 2\text{GSSG} + 2\text{H}_2\text{O}$). Τα ένζυμα αυτά θεωρείται ότι αποτελούν σημαντικό αντιοξειδωτικό προστατευτικό μηχανισμό για τον ανθρώπινο οργανισμό (Brigellius-Frohe 2006; Frohe & Brigellius-Frohe 2006).

Η οικογένεια του σελήνιοεξαρτημένου ενζύμου υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx), αποτελείται από 6 κύρια ισομερή (Margis et al.2018; Zoidis et al 2018).

Το τετραμερές εξωκυττάριος υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (eGPx ή pGPx) ανιχνεύεται στο ανθρώπινο πλάσμα. Η κύρια θέση παραγωγής του είναι ο νεφρός (Avissar et al. 1989).

Συγκεκριμένα παράγεται στα κύτταρα του εγγύς εσπειραμένου νεφρικού σωληναρίου και από εκεί μεταφέρεται στην αιματική κυκλοφορία (Avissar et al.1994; Whitin et al.1998,2002).

Εκτιμάται ότι η eGPx συμμετέχει σε προστατευτικό αντιοξειδωτικό μηχανισμό έναντι της βλαπτικής δράσης των ελεύθερων ριζών στο νεφρό (reactive oxygen species-ROS) (De Vega et al.2002).

Θεωρείται ότι τόσο η ενεργότητα του ενζύμου όσο και η συγκέντρωσή του είναι δηλωτικά της λειτουργικής μάζας του νεφρού (Shiavon et al.1994b; De Vega et al.2002; Zachara et al. 2006).

Η διεθνής βιβλιογραφία καταδεικνύει ότι στο αίμα ατόμων με νεφρική βλάβη ανιχνεύεται μειωμένη συγκέντρωση και ενεργότητα της eGPx. Το γεγονός αυτό έχει αποδειχτεί σε ασθενείς με χρόνια νεφρική νόσο (XNN) αρχικού ή τελικού σταδίου (Ceballos-Picot et al. 1996; Roxborough 2000; Chen et al.2001; Makropoulos et al.2002; El-far et al .2005; Zachara et al.2006; Prats et al.2014), σε νεφροπαθείς τελικού σταδίου πριν την μεταμόσχευση νεφρού (Yamamoto et al. 1995; Yoshimura et al.1996; De Vega et al.2002) και σε ασθενείς με επιβεβαιωμένη έκθεση σε νεφροτοξικές ουσίες όπως αντινεοπλασματικούς παράγοντες (ισοφωσφαμίδη), αντιεπιληπτικά φάρμακα (βαλπροϊκό οξύ) (Whitin et al.1998), αμινογλυκοσίδες (τομπραμυκίνη) (Schiavon et al. 1994b).

Ωστόσο δεν υπάρχουν επαρκή βιβλιογραφικά στοιχεία για την χρήση του ενζύμου ως δείκτη έγκαιρης διάγνωσης της νεφρικής βλάβης σε εργαζόμενους με χρόνια επαγγελματική έκθεση στον οργανικό διαλύτη TCE σε μικρότερες συγκεντρώσεις από τις οριακές τιμές έκθεσης.

Με βάση τα ανωτέρω δεδομένα, οδηγηθήκαμε στην υπόθεση ότι α) οι εργαζόμενοι, που έχουν εκτεθεί επαγγελματικά επί χρόνια στο TCE σε επίπεδα χαμηλότερα από τα ανώτερα επιτρεπόμενα όρια εμφανίζουν ήπια νεφροπάθεια και β) ότι τα επίπεδα eGPx στον οργανισμό των εκτεθειμένων εργαζομένων ιδιαιτέρως δε η παρουσία του στα ούρα, είναι πιθανόν να αποτελούν ιδιαίτερα πρώιμο δείκτη για την διάγνωση της νεφροπάθειας αυτής.

Επομένως η ανίχνευση του ενζύμου στα ούρα θα μπορεί να αποτελέσει σημαντικό εργαλείο ελέγχου για τον Ιατρό Εργασίας (ΙΕ) με στόχο την δευτερογενή πρόληψη (secondary prevention) της επαγγελματικής νεφροπάθειας από τον συγκεκριμένο χημικό παράγοντα.

Στο πλαίσιο της παρούσας διατριβής μελετήσαμε την παραπάνω υπόθεση με την βοήθεια βιβλιογραφικών δεδομένων και πειραματικών μετρήσεων σε δείγματα που ελήφθησαν από τους εργαζόμενους αλλά και το εργασιακό περιβάλλον επιλεγμένων χώρων εργασίας.

1.2 ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΕΚΘΕΣΗ ΣΤΟ ΤΡΙΧΛΩΡΟΑΙΘΥΛΕΝΙΟ (TCE)

Το τριχλωροαιθυλένιο (Trichloroethylene–TCE ή TRI, CAS Registry no.79-01-6) είναι οργανική ένωση που περιέχει χλώριο και ανήκει στην κατηγορία των οργανικών διαλυτών. Είναι υγρό, άχρωμο και έχει «γλυκιά» οσμή όπως το χλωροφόρμιο. Κατά την καύση του παράγονται ερεθιστικά και τοξικά αέρια προϊόντα, όπως το υδροχλώριο. Αποσυντίθεται αργά από το φως παρουσία υγρασίας με αποτέλεσμα τον σχηματισμό υδροχλωρίου (O’Neil et al. 2006; EPA 2020).

Το TCE παράχθηκε για πρώτη φορά σε βιομηχανική κλίμακα στη δεκαετία του 1920. Έχει αξιοποιηθεί έως σήμερα σε μεγάλη ποικιλία χρήσεων όπως ως γενικό αναισθητικό στην ιατρική και ως διαλύτης για βιομηχανική χρήση. Χρησιμοποιείται στην χημική βιομηχανία και αποτελεί πρόδρομη ουσία στην παραγωγή των υδροφθορανθράκων (ψυκτικά μέσα), ως διαλύτης στον κλάδο του στεγνού καθαρίσματος, στον πολυμερισμό βινυλοχλωριδίου και στην παρασκευή πληθώρας χημικών προϊόντων όπως κόλλες, χρώματα, βερνίκια, διαβρωτικά χρωμάτων, εντόμοκτόνα, φυτοφάρμακα και καθαριστικά υφασμάτων, απολιπαντικά μέσα μετάλλων (IARC 2014; EPA 2020).

Οι κύριες κατηγορίες βιομηχανικών μονάδων που χρησιμοποιούν το TCE και προϊόντα αυτού είτε σε αέρια είτε σε υγρή μορφή είναι: οι βιομηχανίες κατασκευής επίπλων, η μεταλλουργική βιομηχανία (επιμεταλλώσεις), οι βιομηχανίες κατασκευής ηλεκτρικού και ηλεκτρονικού εξοπλισμού και οι μεταποιητικές βιομηχανίες (υφαντουργία) (NICNAS 2000; IARC 2014, EPA 2020).

Η κύρια χρήση του είναι η απολίπανση μεταλλικών επιφανειών και μηχανικών εξαρτημάτων. Χρησιμοποιείται είτε σε αέρια μορφή (vapour degreasing) είτε σε υγρή μορφή για την εμβάπτιση των μεταλλικών επιφανειών σε διάλυμα TCE (cold cleaning).

Το TCE χρησιμοποιήθηκε επί δεκαετίες με αυτόν τον τρόπο σε ΗΠΑ και Ευρώπη (ποσοστό καθαρότητας >90%) (Green et al. 2004; DOW Chemical 2012; IARC 2014; EPA 2020).

Στις ΗΠΑ περίπου 3,5 εκατ. εργαζόμενων είχαν εκτεθεί στις αρχές της δεκαετίας του '90 σε TCE ως αποτέλεσμα της βιομηχανικής χρήσης του διαλύτη (Campos-Outcalt D, 1992) ενώ 2 δεκαετίες αργότερα οι εκτιμήσεις μείωσης της συγκέντρωσης TCE στους χώρους εργασίας ήταν 6,7% ετησίως, υποδηλώνοντας μείωση των συγκεντρώσεων στο μισό κάθε δεκαετία (Hein et al., 2010).

Τα αποτελέσματα από το CAREX Canada (2012) έδειξαν ότι περίπου 13.000 εργαζόμενοι εκτέθηκαν σε τριχλωροαιθυλένιο, εκ των οποίων το 69% ήταν άνδρες. Οι περισσότερες εκθέσεις καταγράφηκαν στην μεταλλουργία, στα εργοστάσια κλωστοϋφαντουργίας, επίπλων και στην κατασκευή πλαστικών προϊόντων. Οι περισσότερες από αυτές τις εργασίες αφορούν την απολίπανση μετάλλων.

Το ευρωπαϊκό πρόγραμμα CAREX (CARcinogen EXposure-Έκθεση σε Καρκινογόνα) εκτιμά ότι ο αριθμός των εκτεθειμένων εργαζομένων στο TCE σε 15 χώρες της Ευρώπης (EE-15) ήταν περίπου 276.000 στο ίδιο διάστημα (Kaupinnen et al.2000). Ο όγκος παραγωγής του TCE στην Ευρωπαϊκή Ένωση το 1996 έφτασε να κυμαίνεται μεταξύ 51.000 και 225.000 τόνων ετησίως (SCOEL/SUM 2009).

Ο συνολικός αριθμός των ατόμων που είχαν εκτεθεί σε οργανικούς διαλύτες στη Γερμανία εκτιμήθηκε σε σχεδόν 11.000 κατά το 1985. Ο αριθμός μειώθηκε σημαντικά σε περίπου 400 εργαζόμενους το 1999 (Von Grote et al.2003).

Οι εργαζόμενοι, οι οποίοι υπέστησαν την σοβαρότερη έκθεση, ήταν αυτοί που απασχολούνταν σε διαδικασίες απολίπανσης (degreasing) (IARC 2014).

Το TCE θεωρείται σημαντικός περιβαλλοντικός ρύπος. Συναντάται συχνά στο φυσικό περιβάλλον και στο πόσιμο νερό λόγω της μοριακής του σταθερότητας εξαιτίας της ευρείας βιομηχανικής χρήσης του και της ρύπανσης του περιβάλλοντος από τις βιομηχανικές μονάδες που το χρησιμοποιούν (Wu & Schaum 2001). Έχει ανιχνευτεί στο έδαφος σε πάνω από ένα τρίτο των θέσεων απόθεσης απορριμάτων και επικινδύνων αποβλήτων και αποτελεί συνήθη παράγοντα ρύπανσης του υδροφόρου ορίζοντα, ιδίως σε περιοχές που βρίσκονται κοντά στους χώρους αυτούς. Είναι δυνατό να αποτελέσει σημαντική απειλή για την Δημόσια Υγεία αν κατά την χρήση του δεν τηρούνται τα αναγκαία μέτρα προστασίας ή συμβεί μεγάλη διαφυγή στο περιβάλλον συνεπεία βιομηχανικού ατυχήματος (NICNAS 2000).

Σε γενικές γραμμές, με την πάροδο των ετών, έχει καταγραφεί μείωση της ζήτησης του TCE στη βιομηχανία διεθνώς. Η ανησυχία για το περιβάλλον, την Υγεία και την Ασφάλεια από την χρήση των χλωριωμένων διαλυτών οδήγησε σε αυστηροποίηση των κανονισμών και των ελέγχων στην παραγωγή και τη χρήση TCE. Για παράδειγμα, στις ΗΠΑ η ζήτηση για TCE υποχώρησε από 244.939 τόνους το 1971, στους μόλις 68.038 τόνους το 1990 (NICNAS 2000). Στη Σουηδία από 4.564 τόνους που χρησιμοποιήθηκαν το 1993, χρησιμοποιήθηκαν μόνο 91 τόνοι έως το 2009 (KEMI 2012).

Η τάση μείωσης της χρήσης του διαλύτη αντιστράφηκε το 1995 όταν θεσπίστηκε το πρωτόκολλο του Μόντρεαλ σχετικά με τις ουσίες που καταστρέφουν το στρώμα του όζοντος στην ατμόσφαιρα. Αυτή η εξέλιξη είχε ως συνέπεια την αύξηση της χρήσης του TCE ως πρόδρομης ουσίας στην παραγωγή εναλλακτικών ουσιών των χλωροφθορανθράκων (υδροφθοράνθρακες -HFC's) και ως υποκατάστατο χημικών ουσιών όπως το 1,1,1- τριχλωροαιθάνιο (NICNAS 2000; EPA 2020).

Το πρωτόκολλο του Μόντρεαλ έκτοτε έχει τροποποιηθεί αρκετές φορές. Η τελευταία τροποποίησή του, η τροποποίηση του Κιγκάλι (2016) που τέθηκε σε ισχύ το 2019, καλεί σε σταδιακή κατάργηση των HFCs για λόγους προστασίας του περιβάλλοντος αφού ενοχοποιούνται για την παραγωγή αερίων του θερμοκηπίου και την κλιματική αλλαγή.

Το 2007 οι ΗΠΑ ήταν ο μεγαλύτερος καταναλωτής του TCE και ακολούθησαν η Δυτική Ευρώπη, η Κίνα και η Ιαπωνία (Glauser & Ishikawa, 2008). Στις ΗΠΑ η χρήση TCE από 110.000 τόνους το 2012 υποχώρησαν σε 86.000 το 2015 (EPA 2020). Μια διακλαδική έρευνα (2009-2010) σχετικά με τη χρήση των οργανικών διαλυτών σε σχεδόν 1500 εργασιακούς χώρους στην Ιαπωνία έδειξε ότι η χρήση TCE για την απολίπανση και τον καθαρισμό μετάλλων έχει σταματήσει και το TCE έχει αντικατασταθεί σε μεγάλο βαθμό από ισοπροπυλική αλκοόλη (Nagasawa et al.2011a).

Ο διαλύτης TCE, κατά την έκθεση του ανθρώπου σε αυτόν, απορροφάται από τους πνεύμονες, από το δέρμα και από το πεπτικό σύστημα με την κατάποση (Brüning et al.1998, EPA 2020). Στη συνέχεια μεταφέρεται στην κυκλοφορία του αίματος και τελικά αποθηκεύεται στον λιπώδη ιστό και το ήπαρ (Lash et al.2000a; Ζημάλης 2002). Μπορεί εύκολα να διαπερνά τον πλακούντα και τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό.

Το μεγαλύτερο μέρος του TCE που έχει απορροφηθεί, μεταβολίζεται μέσω δύο κύριων μεταβολικών οδών. Αυτές σε ανθρώπους και πειραματόζωα είναι: α) η οδός οξειδωσης εξαρτώμενη από το κυτόχρωμα P450 (CYP) και β) η οδός σύζευξης με την γλουταθειόνη (GSH) (IARC 2014; Lash et al.2000a; Chiu et al.2006; EPA 2011).

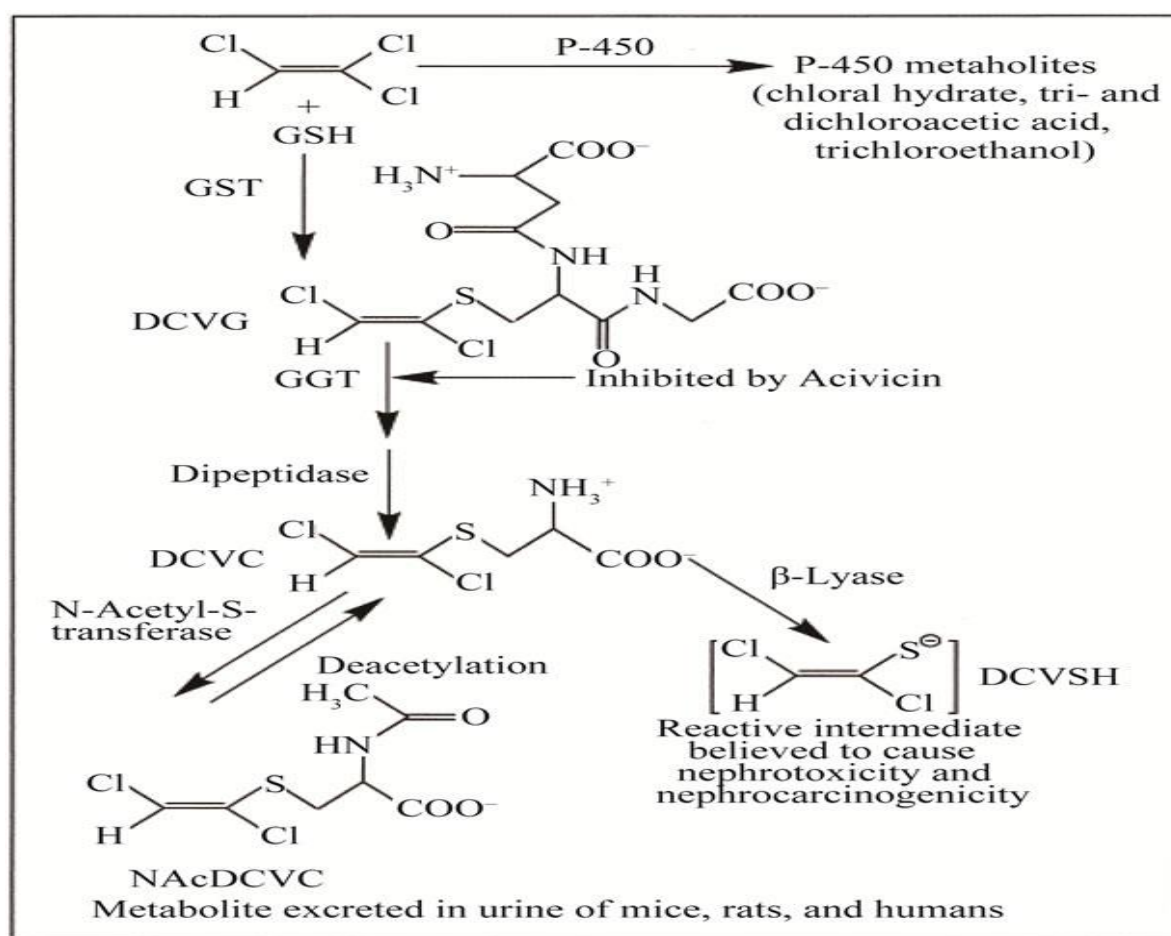
Η οξειδωτική οδός η εξαρτώμενη από το κυτόχρωμα P450 (CYP) λαμβάνει χώρα πρωτίστως σε ήπαρ, νεφρούς (Cummings et al 2000a, 2001) και δευτερευόντως σε αλλά όργανα όπως οι πνεύμονες (Odum et al.1992; Forkert et al.2005, 2006) και το ανδρικό αναπαραγωγικό σύστημα (Forkert et al.2002, 2003).

Οι μεταβολίτες, που παράγονται, αποβάλλονται με τα ούρα και χρησιμοποιούνται ως βιολογικοί δείκτες (Biological Exposure Indices -BEI) για την εκτίμηση της επαγγελματικής έκθεσης στο TCE.

Οι κύριοι μεταβολίτες αυτής της οδού είναι η τριχλωροαιθανόλη, το τριχλωροοξικό οξύ και το γλυκουρονίδιο της τριχλωροαιθανόλης (Brunner et al.1998; Lash et al.2000a). Μικρότερης σημασίας μεταβολίτες είναι η ένυδρη χλωράλη, το χλωροακετοξικό οξύ, το 2-χλωρο-ακετοξικό

οξύ και η Ν-ακετυλ-2χλωρο-βινυλ-κυστεΐνη. Οι παραγόμενοι μεταβολίτες διαφέρουν ποσοτικά στα δύο φύλα. Οι άνδρες εμφανίζουν μεγαλύτερη απέκκριση τριχλωροαιθανόλης, ενώ οι γυναίκες μεγαλύτερη απέκκριση τριχλωροξικού οξέος (Ε. Ζημάλης 2002).

Η μεταβολική οδός σύζευξης με την γλουταθειόνη (GSH) λαμβάνει χώρα στο ήπαρ και τους νεφρούς. Το TCE αντιδρά με την GSH και καταλήγει στο σχηματισμό ενώσεων GSH-TCE. Η ένωση S-(1,2διχλωροβινυλ-GSH) (DCVG) που προκύπτει μεταβολίζεται στην συνέχεια από τα ένζυμα της οδού του μερκαπτουρικού οξέος (Dekant et al.1990; Goepfert et al.1995).

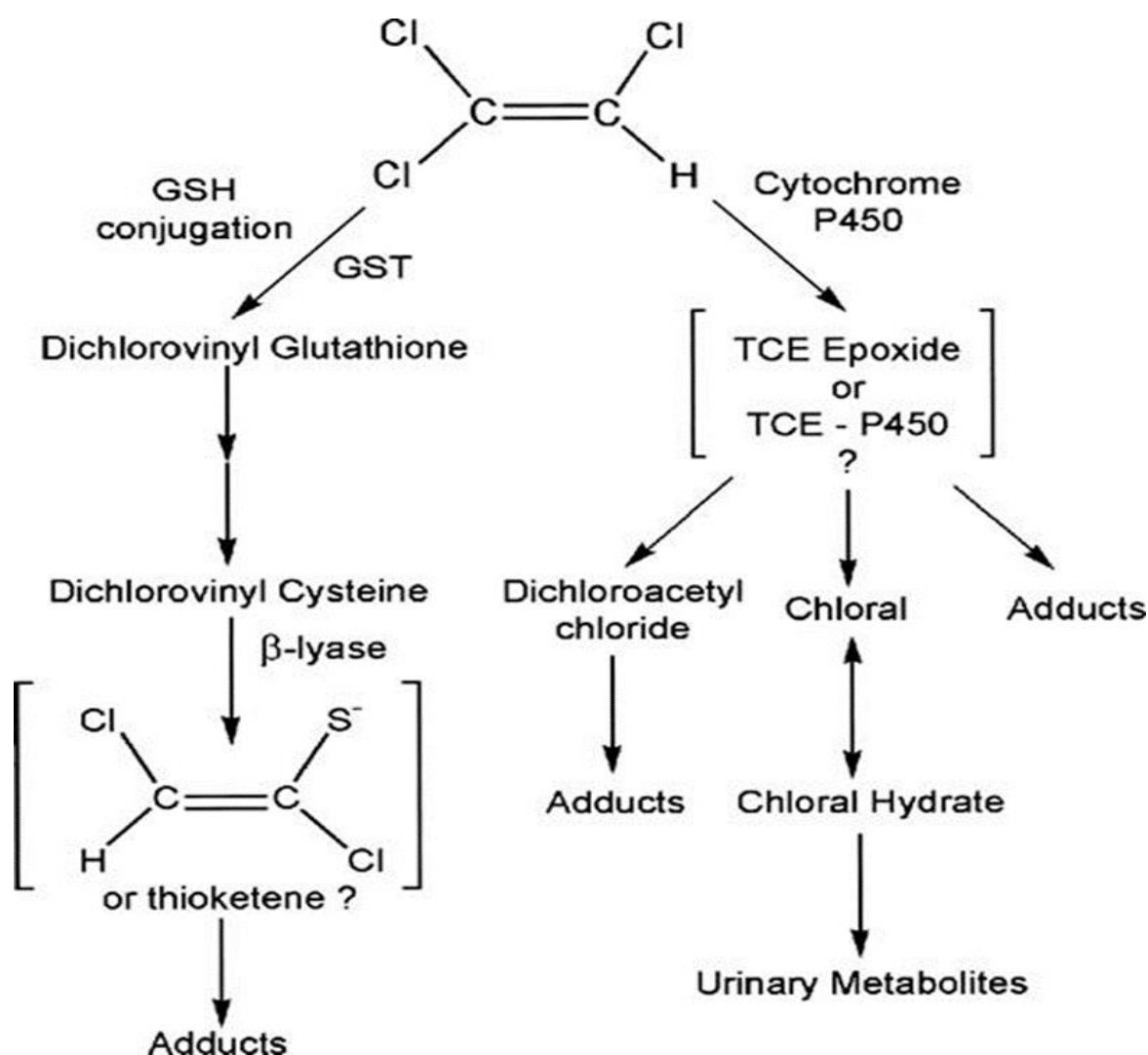


Σχήμα1. Σχηματική παρουσίαση του μεταβολισμού TCE: α) οδός οξείδωσης εξαρτώμενη από το κυτόχρωμα P450 (CYP) και β) οδός σύζευξης με την γλουταθειόνη (GSH).

Το προϊόν ισομερές S-(1,2διχλωροβινυλ)Λκυστεΐνη (DCVC) που συντίθεται κυρίως στο νεφρό, αποτελεί υπόστρωμα για τη β-λυσή του κυτταροπλάσματος και των μιτοχονδρίων των κύτταρων του εγγύς εσπειραμένου νεφρικού σωληναρίου και συντελεί στην σύνθεση του έντονα

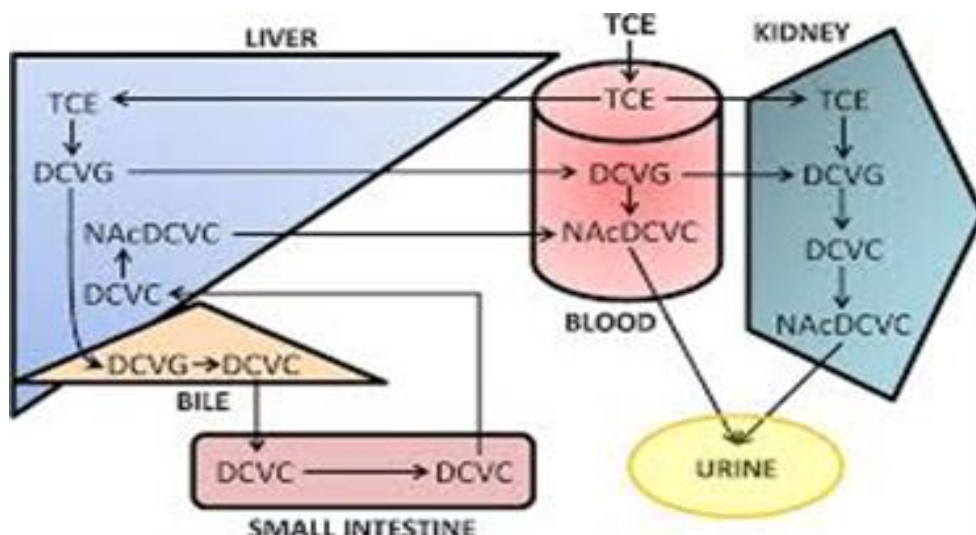
ηλεκτροφιλικού και ασταθούς παράγοντα χλωροθειοκετένιο. Ο μεταβολίτης DCVC και τα παράγωγά του προκαλούν νεφροσωληναριακή βλάβη (Chen et al. 1990; Goepfert et al. 1995).

Το χλωροθειοκετένιο θεωρείται υπεύθυνο για την νεφροτοξική δράση του TCE στα πειραματόζωα αλλά και στον άνθρωπο και έχει αποδειχτεί ότι είναι μεταλλαξιογόνος παράγοντας (συνδέεται με την ομόζυγη αδρανοποίηση του ογκοκατασταλτικού γονιδίου Von Hippel Lindau-VHL) (Bruning et al.1996,1997a, 1999; Lash et al.2000a; NICNAS 2000, IARC 2014).



Σχήμα 2. Σχηματική παρουσίαση της δημιουργίας πρωτεϊνικών συμπλόκων κατά τον μεταβολισμό του TCE: α) οδός εξαρτώμενη από την γλουταθειόνη (GSH) και β) οδός εξαρτώμενη από το κυτόχρωμα P450.

Η παρουσία στα ούρα εκτεθειμένων στο TCE εργαζομένων N-ακετυλ-S(1,2διχλωροβινυλ)L-κυστεΐνης και N-ακετυλ-S(2,2διχλωροβινυλ)L-κυστεΐνης επιβεβαιώνουν την λειτουργία της οδού αυτής στον άνθρωπο (Brüning et al.1997).



Σχήμα 3. Σχηματική παρουσίαση του μεταβολισμού TCE σε ήπαρ, νεφρούς και λεπτό έντερο.

Η νεφροτοξικότητα του TCE έχει τεκμηριωθεί στα πειραματόζωα διεξοδικά (Goertar et al 1995; Lash et al 2006a; Cummings et al 2000a). Στον άνθρωπο η νεφροτοξικότητα του TCE έχει διερευνηθεί με επιδημιολογικές μελέτες της επαγγελματικής έκθεσης (Brüning et al 1996, 1999, 2003; Green et al. 2004; Vermeulen et al. 2012; Hansen et al. 2013; EPA 2011), in vivo σε περιπτώσεις σοβαρής (οξείας-χρόνιας) έκθεσης (Brüning et al 1998; Bolt et al. 2004) και με in vitro μελέτες της οξείας τοξικότητας του TCE σε ανθρώπινα κύτταρα σε σχέση με τους μεταβολίτες της γλουταθειόνης (GSH) (Chen et al. 1990; Cummings & Lash 2000; Lash et al. 2001a, 2003). Στην τοξικότητα αυτή θεωρείται ότι συμμετέχει το οξειδωτικό στρες (Li, 2019).

Έχουν παρατηρηθεί in vitro τόσο αλλαγές στην έκφραση γονιδίων όσο και μιτοχονδριακή δυσλειτουργία από την επίδραση του μεταβολίτη S-(1,2διχλωροβινυλ-)Lκυστεΐνη (DCVC) στα κύτταρα των εγγύς νεφρικών σωληναρίων των πειραματοζώων και του ανθρώπου (Chen et al. 1990; Dekant et al. 1990; Cummings et al. 2000; Cummings et al. 2000a; 2000b; 2001; Lash et al. 2003, 2005; Lock et al. 2006; Lock & Reed 2006; Xu et al. 2008, S).

Η νεφροτοξική δράση του TCE φαίνεται ότι είναι ο προδιαθεσικός παράγοντας για την εμφάνιση νεφροκυτταρικού καρκίνου σε χρόνια εκτεθειμένους εργαζόμενους σε μεγάλες συγκεντρώσεις TCE (Goeptar et al.1995; Henschler et al.1995; Brüning et al 1996; Green et al.2004; Lock et al. 2006). Υπάρχουν μελέτες in vitro και επιδημιολογικές μελέτες (Henschler et al.1995; Brüning et al.1997a,2003; Harth et al.2005; Hansen et al.2013; Kim et al.2014) που τεκμηριώνουν την καρκινογόνο δράση του TCE.

Οι επιπτώσεις στην υγεία του ανθρώπου μετά από οξεία έκθεση στο TCE έχουν μελετηθεί επαρκώς. Συνδέονται κυρίως με επιδράσεις στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα (ΚΝΣ), το ήπαρ, τους πνεύμονες, την καρδιακή λειτουργία και την ακοή.

Τα κυρίαρχα συμπτώματα σε περιπτώσεις οξείας επαγγελματικής έκθεσης σε συγκεντρώσεις TCE είναι κεφαλαλγία, ζάλη, δακρύρροια, ερύθημα, ρινόρροια, ερεθισμός φάρυγγα, ναυτία, έμετοι, ταχυαρρυθμία και υπόταση.

Σε περίπτωση οξείας έκθεσης σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες από την ανώτατη οριακή τιμή έκθεσης (200ppm) αναφέρεται νευροτοξικότητα (κώμα), ηπατοτοξικότητα (κεντρολοβιώδης νέκρωση ήπατος) και σοβαρή βλάβη του αναπνευστικού (σύνδρομο οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας- ARDS).

Έχουν παρουσιαστεί ποικίλες επιδημιολογικές έρευνες σχετικά με την εκδήλωση επαγγελματικής νεφροπάθειας σε χρονίως εκτεθειμένους στο TCE, οι οποίες έχουν οδηγήσει σε αντικρουόμενα συμπεράσματα (Green et al 2004; Hart et al. 2005; Charbotel et al.2009; Vermeulen et al.2012; Hansen et al.2013). Δεν ήταν εύκολο να καθορίσουν ευθύ συσχετισμό ανάμεσα στην διάρκεια έκθεσης σε συγκεντρώσεις TCE μικρότερες από την οριακή τιμή έκθεσης (οριακή τιμή έκθεσης=100ppm ή 538mg/m³) και σε ιδιαίτερα δυσμενείς επιπτώσεις στην υγεία όπως η εμφάνιση νεφροκυτταρικού καρκίνου (Harth et al.2005; Charbotel et al.2009; Vermeulen- Zang et al.2012; Lee et al 2019).

Το TCE με βάση την εκτίμηση των επιπτώσεων στην υγεία των εργαζομένων πληρεί τα κριτήρια ταξινόμησης σύμφωνα με τον ευρωπαϊκό κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 1272/2008 (CLP) και κατηγοριοποιείται ως εξής:

Ερεθισμός του δέρματος (Κατηγορία 2), H315

Ερεθισμός των οφθαλμών (Κατηγορία 2), H319

Ευαισθητοποίηση του δέρματος (Κατηγορία 1), H317

Μεταλλαξιγένεση γεννητικών κυττάρων (Κατηγορία 2), H341

Καρκινογένεση (Κατηγορία 1B), H350.

Θεωρείται κατά τον Διεθνή Οργανισμό Έρευνας για τον Καρκίνο (International Agency for Research on Cancer – IARC) καρκινογόνος ουσία κατηγορίας 1A (IARC 2014, EPA 2020).

1.3 Η ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΣΤΟΥΣ ΧΩΡΟΥΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ ΜΕ ΕΚΘΕΣΗ ΣΤΟ TCE

Η εκτίμηση της επικινδυνότητας, κατά την χρήση του διαλύτη TCE, στους χώρους εργασίας στην Ελλάδα, γίνεται με βάση τις διατάξεις της ισχύουσας νομοθεσίας που αφορά «στην προστασία της υγείας των εργαζομένων που εκτίθενται σε ορισμένους χημικούς παράγοντες κατά την διάρκεια της εργασίας τους» (Π.Δ 90/1999, 339/2001, 162/2007, 12/2012, 82/2018).

Η ελληνική νομοθεσία έχει θεσπίσει, καταρχήν, με το ΠΔ 90/99 περίπου 550 οριακές τιμές από τις οποίες οι περισσότερες προέρχονται από την οδηγία 96/94/ΕΚ.

Για τις χημικές ουσίες που η Ευρωπαϊκή Επιτροπή δεν πρότεινε οριακή τιμή έκθεσης επιλέχθηκε για την Ελλάδα η ανώτερη τιμή από αυτές που περιλαμβάνει το Ευρετήριο των Οριακών Τιμών Έκθεσης της Ευρωπαϊκής Επιτροπής (Tiziano Garlanda, Exposure Limits at Working Place, June 1995).

Το Ευρετήριο βασίζεται στις προτάσεις κυρίως της Αμερικανικής Εταιρίας Κυβερνητικών Υγιεινολόγων Βιομηχανίας (American Conference of Governmental Industrial Hygienists-ACGIH), της Αμερικανικής Υπηρεσίας Επαγγελματικής Υγείας και Ασφάλειας (OSHA) και

επιστημονικών φορέων των χωρών-μελών της ΕΕ όπως η Γερμανική Ερευνητική Κοινότητα (Deutsche Forschungsgemeinschaft -DFG).

Οι οριακές τιμές των Αμερικανικών Υγιεινολόγων Βιομηχανίας (ACGIH), και της Γερμανικής Ερευνητικής Κοινότητας (DFG) ανανεώνονται κάθε χρόνο.

Από το 1999 έως σήμερα έχουν υπάρξει σημαντικές αλλαγές στην νομοθεσία για τους χημικούς παράγοντες. Το 2006 θεσπίστηκε ο ευρωπαϊκός κανονισμός (ΕΚ) αριθμ.1907/2006 για την καταχώρηση, αξιολόγηση, την αδειοδότηση και τους περιορισμούς των χημικών προϊόντων (Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals- REACH) και το 2008 ο ευρωπαϊκός κανονισμός 1272/2008 για την ταξινόμηση, σήμανση και συσκευασία (Classification, Labelling and Packaging- CLP) που εναρμονίζει το ευρωπαϊκό σύστημα ταξινόμησης των χημικών ουσιών και μειγμάτων προς το Παγκόσμιο Εναρμονισμένο Σύστημα (GHS: Globally Harmonized System) ταξινόμησης των χημικών ουσιών.

Οι οριακές τιμές έκθεσης για τους χημικούς παράγοντες στους αντίστοιχους πίνακες ορίζονται ως εξής (ΕΛΙΝΥΑΕ, 2019):

A) Οριακή τιμή έκθεσης (ΠΔ.338/01 και ΠΔ.339/01), ορίζεται η τιμή την οποία δεν πρέπει να ξεπερνά η μέση 8ωρη χρονικά σταθμισμένη έκθεση του εργαζομένου στον χημικό παράγοντα, μετρημένη στον αέρα της ζώνης αναπνοής του, κατά την διάρκεια οιασδήποτε 8ωρης εργασίας/ ημέρα και 40ωρης εργασίας /εβδομάδα.

Για το TCE η οριακή τιμή έκθεσης είναι 100ppm ή 538mg/m³.

B) TLV-TWA (Threshold limit value- time weighted average):

Οριακή τιμή-χρονικά σταθμισμένη μέση τιμή έκθεσης, ορίζεται ως η χρονικά σταθμισμένη μέση τιμή της συγκέντρωσης της ουσίας για μια συνηθισμένη ημέρα εργασίας 8 ωρών και για εβδομάδα 40 ωρών στην οποία όλοι οι εργαζόμενοι μπορούν να εκτεθούν κατ'επανάληψη καθημερινά χωρίς δυσμενείς επιπτώσεις στην υγεία τους.

Για το TCE η τιμή TLV-TWA είναι 50ppm ή 135mg/m³ (σε Θ= 25⁰C και P= 760mmHg, ACGIH 2019).

Γ) TLV-STEEL (Threshold limit value – Short Term Exposure Limit): Οριακή τιμή μικρής διάρκειας έκθεσης, ορίζεται ως η συγκέντρωση του χημικού παράγοντα στην οποία μπορούν να εκτίθενται εργαζόμενοι συνεχώς για μια σύντομη περίοδο χωρίς να υποφέρουν από α) ερεθισμό, β) χρόνια ή μη αναστρέψιμη καταστροφή ιστών, γ) νάρκωση σε τέτοιο βαθμό ώστε να αυξάνεται η πιθανότητα τραυματισμού από ατύχημα, να εμποδίζεται η αυτοπροστασία ή να μειώνεται ουσιαστικά η απόδοση της εργασίας (υπό την προϋπόθεση ότι δεν υπερβαίνεται η ημερησία TLV-TWA).

Για το TCE η τιμή TLV-STEEL είναι 25ppm ή 54mg/m³, (σε Θ=25⁰C και P=760mmHg, ACGIH 2019).

Μια έκθεση STEL δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 15 min και μεταξύ δυο διαφορετικών εκθέσεων STEL θα πρέπει να παρεμβάλλεται διάστημα το λιγότερο 60 min. Επιτρέπονται μόνο 4 εκθέσεις STEL για 8 ωρη έκθεση TWA.

Δ) Ανώτατη Οριακή Τιμή Έκθεσης (ΠΔ.338/01 και ΠΔ.339/01), ορίζεται η τιμή την οποία δεν πρέπει να ξεπερνά η μέση χρονικά σταθμισμένη έκθεση του εργαζομένου στον χημικό παράγοντα, μετρημένη στον αέρα της ζώνης αναπνοής του, κατά την διάρκεια οιασδήποτε 15λεπτης περιόδου μέσα στο χρόνο εργασίας του, έστω και αν τηρείται η οριακή τιμή έκθεσης.

Εκφράζεται σε :

- ppm: μέρη ανά εκατομμύριο κατ 'όγκο στον αέρα (mL/m³)
- mg/m³: χιλιοστόγραμμα ανά κυβικό μέτρο αέρα σε Θ=25⁰C και P= 760mmHg.

Για το TCE η ανώτατη οριακή τιμή έκθεσης είναι 200ppm ή 1080mg/m³.

Βιολογικός δείκτης Έκθεσης (Biological Exposure Indices (BEI)- ACGIH) είναι η συγκέντρωση ειδικών ουσιών σε βιολογικά δείγματα (πχ ούρα, αίμα) υγιών ατόμων που εισέπνευσαν μία ουσία

σε συγκέντρωση ίση με την TLV της. Οι BEIs είναι τιμές αναφοράς. Η υπέρβαση της τιμής BEI τεκμηριώνει την έκθεση του εργαζόμενου στην δεδομένη ουσία.

BEI_P: Βιολογικός δείκτης έκθεσης στους πολυκυκλικούς υδρογονάνθρακες (PAHs).

Για το TCE BEI => **τριχλωροξικό οξύ στα ούρα**=15mg/L

=> **τριχλωραιθανόλη στα ούρα**= 0,5mg/L

*δειγματοληψία στο τέλος βάρδιας, στο τέλος της εβδομάδας.

1.4 Ο ΝΕΦΡΟΣ

1.4.1 ANATOMIA- Η ΝΕΦΡΙΚΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ

Στο ουροποιητικό σύστημα του ανθρώπου διακρίνουμε δύο οργανικές ενότητες: τα όργανα **παραγωγής των ούρων**, που είναι οι νεφροί και τα όργανα **αποχέτευσης των ούρων**, που είναι οι νεφρικοί κάλυκες, η νεφρική πύελος, οι ουρητήρες, η ουροδόχος κύστη και η ουρήθρα.

Όλα τα όργανα του ουροποιητικού συστήματος είναι εξωπεριτοναϊκά.

Οι νεφροί με τους νεφρικούς κάλυκες και τη νεφρική πύελο (μία για κάθε νεφρό) και οι ουρητήρες, βρίσκονται στον οπισθοπεριτοναϊκό χώρο, στο οπίσθιο κοιλιακό τοίχωμα. Οι τελικές μοίρες των ουρητήρων κατεβαίνουν στη μικρή πύελο και καταλήγουν στην ουροδόχο κύστη, στον υποπεριτοναϊκό χώρο.

Η ανατομική και λειτουργική μονάδα του νεφρού είναι ο νεφρώνας. Κάθε νεφρός του ανθρώπου έχει 10^6 νεφρώνες. Ο νεφρώνας αποτελείται από έναν σχηματισμό εξειδικευμένων αιμοφόρων τριχοειδών **το σπείραμα**, που συνδέεται εν σειρά με σχηματισμό εξειδικευμένων επιθηλιακών κύτταρων, **το νεφρικό σωληνάριο**.

Τα τριχοειδή του σπειράματος περικλείονται από ένα επιθηλιακό έλυτρο που συνεχίζεται στο επιθήλιο του νεφρικού σωληναρίου, **την κάψα Bowman**.

Το νεφρικό σωληνάριο, με την σειρά του, χωρίζεται σε τρεις λειτουργικές υπομονάδες, καθεμιά από τις οποίες αποτελείται από ιδιαίτερα ανατομικά τμήματα. Οι υποδιαιρέσεις αυτές είναι: **το**

εγγύς εσπειραμένο σωληνάριο που διακρίνεται σε εσπειραμένη και σε ευθεία μοίρα, **η αγκύλη του HENLE** που αποτελείται από τρία σκέλη, το λεπτό κατίον, το λεπτό ανιόν, και το παχύ ανιόν σκέλος και **ο άπω νεφρώνας**, που περιέχει το άπω εσπειραμένο σωληνάριο και τα αθροιστικά σωληνάρια.

Ο κάθε νεφρός αποτελείται ανατομικά από δυο μοίρες τον φλοιό (**cortex**) εξωτερικά και τον μυελό (**medulla**) εσωτερικά. Όλα τα σπειράματα βρίσκονται στη φλοιώδη μοίρα ενώ τα σωληνάρια βρίσκονται στη φλοιώδη και στη μυελώδη μοίρα του νεφρού.

Η φλοιώδης έχει σκούρο καφέκόκκινο χρώμα, ενώ η μυελώδης είναι ανοιχτόχρωμη και αποτελείται από 8-12 πυραμιδοειδείς σχηματισμούς που ονομάζονται νεφρικές πυραμίδες. Στην κορυφή κάθε νεφρικής πυραμίδας υπάρχει μια θηλή, γεμάτη μικρά σωληνάρια από τα οποία αναβλύζει το ούρο.

Η θηλή της νεφρικής πυραμίδας προβάλλει μέσα σ' έναν κυπελλοειδή σχηματισμό από ινώδη ιστό, το νεφρικό κάλυκα, όπου συλλέγονται τα ούρα που αναβλύζουν από τα σωληνάρια της θηλής.

Κάθε νεφρός αποτελείται από 6-7 νεφρικούς κάλυκες που καταλήγουν στην νεφρική πύελο (**renal pelvis**) και στη συνέχεια στον ουρητήρα.

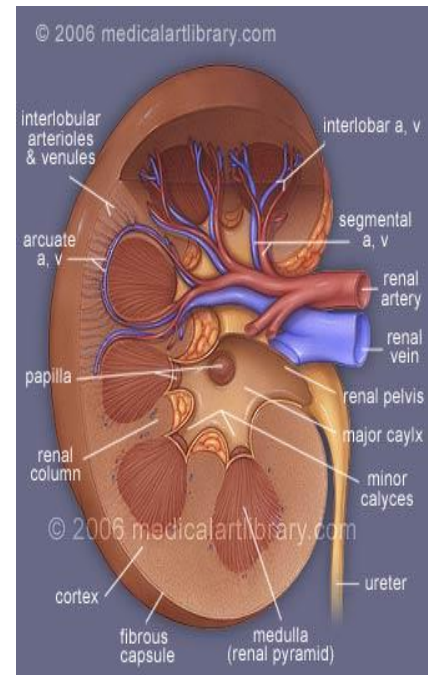
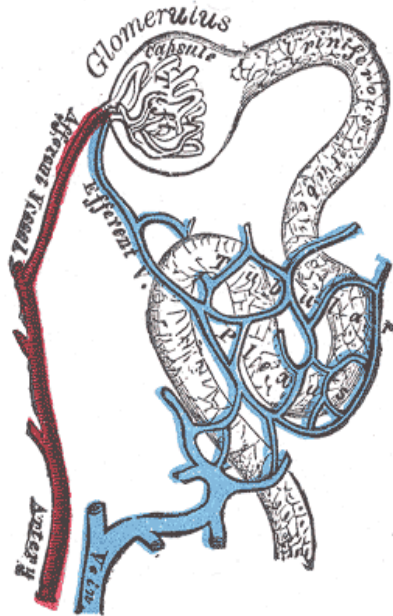
Οι δυο ουρητήρες καταλήγουν στην ουροδόχο κύστη που αποτελεί την δεξαμενή συλλογής των ούρων. Τα ούρα αποβάλλονται από την ουρήθρα.

Το έργο που επιτελεί ο νεφρώνας μπορεί να εξεταστεί σε σχέση με την λειτουργική ανατομική του.

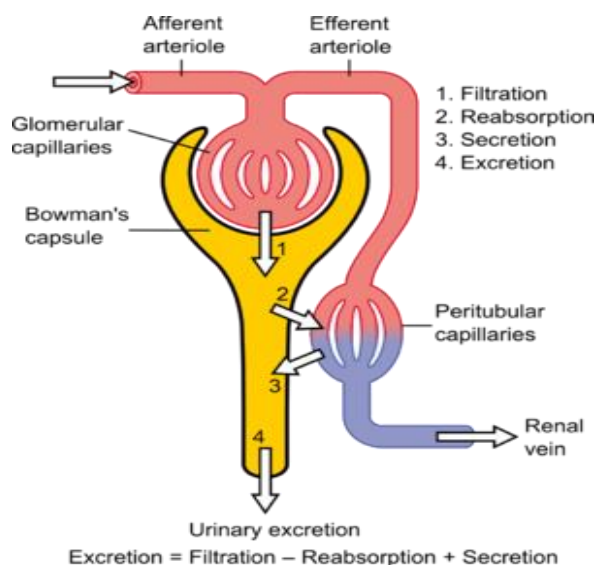
Το σπείραμα αποδίδει στο νεφρικό σωληνάριο ένα καθαρό υπερδιήθημα του πλάσματος. Επιτρέπει να εξέρχονται στα ούρα μεγάλες ποσότητες διαλυτών ουσιών και ταυτόχρονα να διατηρούνται σε χαμηλά επίπεδα οι συγκεντρώσεις της στο πλάσμα.

Το εγγύς σωληνάριο ανακτά με την επαναρρόφηση το μεγαλύτερο μέρος, περίπου τα 2/3 του όγκου, του υπερδιηθήματος, επεξεργασία που μεταβάλλει τη σύνθεσή του χωρίς να μεταβάλλει την ωσμωτικότητα του ενδοσωληναριακού υγρού.

Η αγκύλη του HENLE (το λεπτό κατιόν, το λεπτό ανιόν, και το παχύ ανιόν σκέλος) απορροφά λιγότερο από το 1/5 του όγκου του υπερδιηθήματος διαχωρίζοντας την απορρόφηση του νερού από την απορρόφηση του χλωριούχου νατρίου. Αυτή η λειτουργία διαχωρισμού αποτελεί το σημείο αραιώσης και πύκνωσης των ούρων.

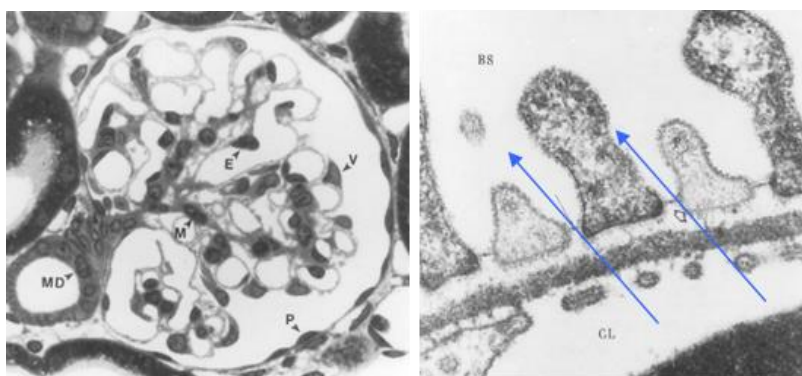


Σχήμα 4. Ανατομία Νεφρού



Σχήμα 5. Φυσιολογία Νεφρού

Τέλος, **το άπω σωληνάριο** χειρίζεται λιγότερο από το 15% του όγκου του υπερδιηθήματος και ρυθμίζει τη σύσταση και τον όγκο των ούρων. Η λειτουργία του άπω σωληναρίου ρυθμίζεται από ειδικές ορμόνες: α) την αντιδιουρητική ορμόνη (**ADH**) που ρυθμίζει την απορρόφηση νερού στα αθροιστικά σωληνάρια και επομένως καθορίζει την ωσμωτικότητα των ούρων, β) την αλδοστερόνη (**ALD**) που ρυθμίζει της συγκεντρώσεις Na^+ , K^+ και H^+ στα ούρα και γ) την παραθορμόνη (**PTH**) που αυξάνει την επαναρρόφηση του ασβεστίου (Ca^{++}) στον άπω νεφρώνα.



Φωτο 1. Φυσιολογικό αγγειώδες σπείραμα επίμυος σε κοινό μικροσκόπιο με απεικόνιση των διαφόρων κυττάρων που συμπεριλαμβάνει: μεσαγγειακά κύτταρα (Mesangial cells), ενδοθηλιακά κύτταρα (Endothelial cells), ποδοκύτταρα ή σπλαχνικά επιθηλιακά κύτταρα (Visceral epithelial cells) και τοιχωματικά επιθήλια (Parietal epithelial cells). Η πυκνή κηλίδα [Macula Densa (MD)] αποτελεί τμήμα της παρασπειραματικής συσκευής (Ι. Στεφανίδης, ΣΗΜΕΙΩΣΕΙΣ ΝΕΦΡΟΛΟΓΙΑΣ 2012).

1.4.2 ΟΙ ΟΜΟΙΟΣΤΑΤΙΚΕΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ ΤΟΥ ΝΕΦΡΟΥ

Η νεφρική ομοιόσταση λειτουργεί με τέτοιο τρόπο ώστε τα συστατικά των υγρών του σώματος να διατηρούνται σταθερά μέσα σε στενά όρια τιμών.

Η ωσμωτικότητα του πλάσματος διατηρείται σχεδόν αμετάβλητη με την απέκκριση μικρού όγκου πολύ πυκνών ούρων ή μεγάλου όγκου πολύ αραιών ούρων, όταν η πρόσληψη νερού είναι πολύ μικρή ή πολύ μεγάλη αντίστοιχα.

Επιγραμματικά αναφέρονται οι εξής λειτουργίες:

Απέκκριση άχρηστων ουσιών και τοξινών (ενδο και εξωβιοτικών)

Ρύθμιση του όγκου του εξωκυτταρίου υγρού

Ρύθμιση της ωσμωτικότητας των υγρών

Ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης

Ρύθμιση της οξεοβασικής ισορροπίας

Ρύθμιση ηλεκτρολυτών

Μεταβολισμός και ρύθμιση έκκρισης ορμονών

1.4.3 ΑΠΕΚΚΡΙΣΗ ΑΧΡΗΣΤΩΝ ΟΥΣΙΩΝ ΚΑΙ ΤΟΞΙΝΩΝ

Καλείται η απομάκρυνση από την κυκλοφορία του αίματος ενδογενών προϊόντων του μεταβολισμού, εξωγενών τοξινών και φαρμάκων.

Ως κυριότεροι δείκτες της ακεραιότητας της απεκκριτικής λειτουργίας των νεφρών χρησιμεύουν δυο αζωτούχα μεταβολικά προϊόντα: η ουρία, που προέρχεται από τον καταβολισμό των πρωτεϊνών και των αμινοξέων και η κρεατινίνη, που παράγεται κατά το μεταβολισμό της κρεατίνης των μυών.

Η κάθαρση του αίματος συντελείται με σπειραματική διήθηση και σωληναριακή έκκριση ταυτόχρονα. Σε περιπτώσεις ουσιών που βρίσκονται στο πλάσμα και είναι ταυτόχρονα συνδεδεμένες με πρωτεΐνες και σε μικρή συγκέντρωση με την «ελεύθερη» μορφή, ο κύριος τρόπος

απομάκρυνσης τους είναι η **σωληναριακή έκκριση**. Η «ελεύθερη» ουσία προσλαμβάνεται από το επιθηλιακό κύτταρο του εγγύς εσπειραμένου σωληναρίου και εκκρίνεται προς το ενδοσωληναριακό υγρό.

1.4.4 ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΟΥ ΟΓΚΟΥ ΤΟΥ ΕΞΩΚΥΤΤΑΡΙΟΥ ΥΓΡΟΥ

Το 60 % του σωματικού βάρους ενός άτομου 70 kg είναι νερό και ισοδυναμεί με όγκο 42L.

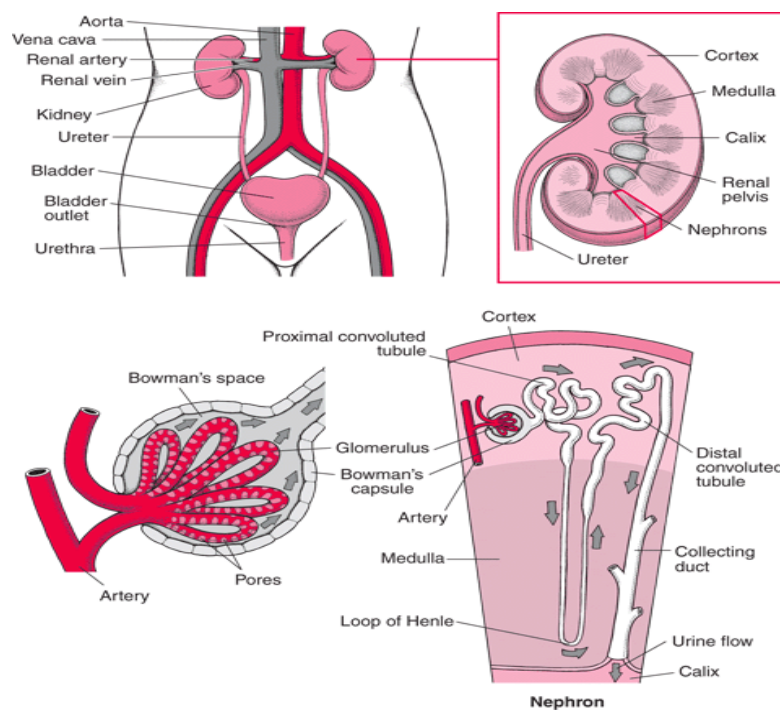
Οι μεταβολές του όγκου του εξωκυτταρίου υγρού ενδοαγγειακά γίνονται αισθητές από τασεουποδοχείς (**Αισθητήριος μηχανισμός**) που βρίσκονται στους καρωτιδικούς κόλπους και το αορτικό τόξο.

Τα ερεθίσματα μεταβιβάζονται με το πνευμονογαστρικό νεύρο (X) και το γλωσσοφαρυγγικό (IX) στο ΚΝΣ, επηρεάζοντας την δραστηριότητα του συμπαθητικού νευρικού συστήματος (ΣΝΣ)(**Εκτελεστικός μηχανισμός**).

Στη συνέχεια ο τόνος του ΣΝΣ ρυθμίζει τον τόνο των νεφρικών αγγείων, την πίεση της νεφρικής αιμάτωσης και κατά συνέπεια την σπειραματική ροή αίματος και την απορρόφηση NaCl & H₂O στο εγγύς νεφρικό σωληνάριο (ΕΞΩΝΕΦΡΙΚΗ ΡΥΘΜΙΣΗ). Εκτός από τις μεταβολές της δραστηριότητας του ΣΝΣ, οι μεταβολές του όγκου του εξωκυτταρίου υγρού συνεπάγονται την απελευθέρωση αγγειοκινητικών ορμονών όπως η ρενίνη και η αγγιοτενσίνη II .

Η αύξηση του τόνου του ΣΝΣ, η πίεση που επικρατεί στο απαγωγό αρτηρίδιο και η σύνθεση του σωληναριακού υγρού που προωθείται από την αγκύλη του HENLE διεγείρουν την παρασπειραματική συσκευή (JGA) (**Αισθητήριος μηχανισμός**) με αποτέλεσμα την αύξηση της ταχύτητας έκκρισης ρενίνης.

Η ενδονεφρική αγγιοτενσίνη II συμβάλλει στην περαιτέρω ρύθμιση της νεφρικής και σπειραματικής αιμοδυναμικής και επιπλέον διεγείρει την έκκριση αλδοστερόνης από τα επινεφρίδια (**Εκτελεστικός μηχανισμός**), υπό την επίδραση της οποίας επαναρροφάται ολόκληρη η ποσότητα νατρίου από τον άπω νευρώνα (ΝΕΦΡΙΚΗ ΡΥΘΜΙΣΗ).



Σχήμα 6. Ανατομία ουροποιητικού συστήματος.

1.4.5 ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΩΣΜΩΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΕΞΩΚΥΤΤΑΡΙΟΥ ΥΓΡΟΥ

Η ωσμωτικότητα των υγρών του σώματος δηλ. η σχέση διαλυτών ουσιών προς το νερό σε όλα τα διαμερίσματα, διατηρείται σταθερή μέσα σε πολύ στενά όρια.

Το νερό διαπερνά ελεύθερα την μεμβράνη των περισσότερων κυττάρων με αποτέλεσμα η ωσμωτικότητα του ενδοκυττάριου υγρού να αποτελεί συνάρτηση του ισοζυγίου του νερού στο εξωκυττάριο υγρό.

Το κυριότερο αισθητήριο του συστήματος αυτού αποτελεί ο ωσμω-υποδοχέας του ΚΝΣ που βρίσκεται κατά μήκος του τοιχώματος της τρίτης κοιλίας του εγκεφάλου (**Αισθητήριοις μηχανισμός**). Τα κύτταρα του ωσμω-υποδοχέα αντιλαμβάνονται τις μεταβολές της ωσμωτικότητας του αίματος, παράγουν νευρικά ερεθίσματα τα οποία διεγείρουν την απελευθέρωση της αντιδιουρητικής ορμόνης (ADH) από τον οπίσθιο λοβό της υπόφυσης. Ταυτόχρονα δημιουργείται το αίσθημα της δίψας (**Εκτελεστικός μηχανισμός**).

Η απελευθέρωση της ADH, έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της διαπερατότητας των αθροιστικών σωληναρίων για το νερό και την επαναρρόφιση νερού από αυτά συνεπώς την κατακράτηση νερού από το νεφρό (ΝΕΦΡΙΚΗ ΡΥΘΜΙΣΗ).

Η δίψα οδηγεί στην αύξηση της πρόσληψης του νερού (*Αισθητήριοις μηχανισμός*). Η περίσσεια νερού στον οργανισμό έχει ως αποτέλεσμα την καταστολή της απελευθέρωσης ADH (*Εκτελεστικός μηχανισμός*), την διέλευση αμετάβλητου του αραιού υγρού της αγκύλης του HENLE από τα αθροιστικά σωληνάκια και άρα την απέκκριση της περίσσειας του νερού (ΝΕΦΡΙΚΗ ΡΥΘΜΙΣΗ). Εξαιτίας της μεγάλης ευαισθησίας του μηχανισμού νεφρικής ωσμωτικής ρύθμισης και της επαναρρόφισης νερού, το χλωριούχο νάτριο που επαναρροφάται κατά την ρύθμιση του όγκου συνοδεύεται από τον ανάλογο όγκο νερού, ώστε να διατηρηθεί η ισοτονικότητα του εξωκυτταρίου υγρού.

Όταν μειωθεί κατά 10% ο όγκος του εξωκυτταρίου υγρού οι τασσευποδοχείς της φλεβικής και της αρτηριακής κυκλοφορίας διεγείρουν με νευρικά ερεθίσματα την απελευθέρωση της ADH (*ΜΗ ΩΣΜΩΤΙΚΗ ΔΙΕΓΕΡΣΗ*). Αυτή η *μη ωσμωτική διέγερση* της απελευθέρωσης της ADH πραγματοποιείται ανεξάρτητα από την λειτουργία των ωσμωυποδοχέων του ΚΝΣ. Ταυτόχρονα διεγείρεται και το αίσθημα της δίψας με αύξηση της παραγωγής της αγγειοτενσίνης. II.

Η επιτυχία της ωσμωρύθμισης εξαρτάται από την λειτουργία των ευθέων σωληναρίων, της αγκύλης του HENLE, τη ροή του σωληναριακού υγρού και του αίματος στα ευθέα αγγεία με την μορφή των αντίθετων ρευμάτων ώστε να εξασφαλίζεται η υπερτονικότητα της μυελώδους μοίρας του νεφρού.

1.4.6 Η ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΑΡΤΗΡΙΑΚΗΣ ΠΙΕΣΗΣ

Η συμμετοχή του νεφρού στο μηχανισμό της ρύθμισης της πίεσης του αίματος συνίσταται στον έλεγχο του όγκου του εξωκυτταρίου υγρού και στην παραγωγή αγγειοκινητικών ουσιών. Έτσι στην υπόταση η νεφρική αντίδραση ξεκινά είτε από τους κεντρικούς αγγειακούς τασσευποδοχείς

είτε από το απαγωγό αρτηρίδιο όπου γίνεται αισθητή και προκαλείται η παραγωγή και απελευθέρωση ρενίνης.

Η ρενίνη δρώντας σαν ενζυμο, μετατρέπει το αγγειοτενσινογόνο του πλάσματος σε αγγειοτενσίνη Ι, η οποία μετατρέπεται ακολούθως στην ισχυρή αγγειοσυσταλτική ουσία αγγειοτενσίνη ΙΙ, η οποία αυξάνει τις συστηματικές αγγειακές αντιστάσεις και την πίεση του αίματος. Το αποτέλεσμα συμπληρώνει η διέγερση της έκκρισης αλδοστερόνης (ALD) από την δράση της αγγειοτενσίνης ΙΙ, η οποία αυξάνει την επαναρρόφηση του νατρίου και κατά συνέπεια τον όγκο του εξωκυτταρίου υγρού. Η αποκατάσταση της αρτηριακής πίεσης μπορεί να επιτρέψει την διακοπή αυτής της αντίδρασης.

Ο ρόλος του νεφρού στον τόνο των αγγείων σχετίζεται με την παραγωγή προσταγλανδινών και κινίνων που αποτελούν ισχυρές αγγειοδιασταλτικές ουσίες οι οποίες όμως δρουν κυρίως ως ενδονεφρικοί αγγειοδιασταλτικοί παράγοντες με μικρή συστηματική δράση.

1.4.7 ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΟΞΕΟΒΑΣΙΚΗΣ ΙΣΟΡΡΟΠΙΑΣ

Ο νεφρός συμμετέχει στην ομοιόσταση των οξέων και των βάσεων ανακτώντας στο εγγύς σωληνάριο, κατά το μέγιστο, τα διττανθρακικά (HCO_3^-) που εξέρχονται στο διήθημα και παράγοντας στο άπω σωληνάριο νέα HCO_3^- , που αποκαθιστούν τα αποθέματα των ρυθμιστικών διαλυμάτων του οργανισμού.

Τόσο η ανάκτηση όσο και η παραγωγή HCO_3^- από το νεφρό βασίζονται στην ενεργητική έκκριση ιόντων υδρογόνου από τα αντίστοιχα τμήματα του νεφρικού σωληναρίου. Η ποσότητα των HCO_3^- που εξέρχονται στο διήθημα ανέρχεται σε 4500 mEq περίπου. Η επαναρρόφηση των HCO_3^- από το εγγύς σωληνάριο μπορεί να αυξηθεί με την μείωση του όγκου εξωκυτταρίου υγρού καθώς και με την αύξηση του PCO_2 όπως στην χρόνια αναπνευστική οξέωση και την υποκαλιαιμία.

Αντίστροφα ή αύξηση του όγκου του εξωκυτταρίου υγρού ή ελάττωση του PCO_2 στην αναπνευστική αλκάλωση συνεπάγεται ελάττωση της επαναρρόφησης των HCO_3^- από το εγγύς σωληνάριο.

Η εξουδετέρωση των μη πτητικών οξέων, που παράγονται κατά τις μεταβολικές διαδικασίες και εξέρχονται στο εξωκυττάριο υγρό, πραγματοποιείται με κατανάλωση των HCO_3^- . Τα ανιόντα των οξέων διηθούνται στο σπείραμα με την μορφή αλάτων νατρίου. Στον άπω νεφρώνα εκκρίνονται ιόντα υδρογόνου (H^+) σε ποσότητα ίση με την ποσότητα των διηθούμενων ανιόντων οξέων και απεκκρίνονται με την μορφή των φωσφορικών οξέων ή αμμωνίου ή ως ελεύθερα πρωτόνια, ενώ ταυτόχρονα αποδεσμεύεται ισοδύναμη ποσότητα HCO_3^- για να επιστρέψει στο αίμα αναπληρώνοντας εκείνη που καταναλώθηκε στην αντίδραση εξουδετέρωσης των οξέων.

1.4.8 ΡΥΘΜΙΣΗ ΗΛΕΚΤΡΟΛΥΤΩΝ

Ο νεφρός διατηρεί σταθερή την περιεκτικότητα του εξωκυτταρίου υγρού σε ορισμένα ιόντα, τα σπουδαιότερα από τα οποία είναι το κάλιο (K^+), το ασβέστιο (Ca^{+2}) και το μαγνήσιο (Mg^{+2}).

Το K^+ που αποτελεί το σημαντικότερο ενδοκυττάριο κατιόν διηθείται ελεύθερα από το νεφρικό σωματίο αλλά επαναρροφάται σε όλο το μήκος του εγγύς εσπειραμένου σωληναρίου. Στον άπω νεφρώνα πραγματοποιείται η απέκκριση K^+ υπό την επίδραση διαφόρων παραγόντων. Καθοριστικό ρόλο στη απέκκριση K^+ παίζουν η αλδοστερόνη, η ταχύτητα ροής του υγρού εντός του άπω νεφρώνα και η απόλυτη ποσότητα του νατρίου σε αυτό.

Το διηθούμενο Ca^{+2} στο νεφρικό σπείραμα αντιστοιχεί μόνο στο 60% του ολικού ασβεστίου του ορού, διότι το 40% είναι συνδεδεμένο με πρωτεΐνη. Το διηθημένο Ca^{+2} επαναρροφάται στο εγγύς νεφρικό σωληνάριο παράλληλα με το Na^+ . Στον άπω νεφρώνα η επαναρρόφηση του Ca^{+2} διαχωρίζεται από αυτή του Na^+ , γιατί εκεί επιδρά η παραθορμόνη.

Το Mg^{+2} επαναρροφάται στο εγγύς νεφρικό σωληνάριο σε αναλογία μικρότερη από το Na^{+} , και κατά το μεγαλύτερο μέρος επαναρροφάται στην αγκύλη του HENLE. Η ελάττωση της κλασματικής επαναρρόφησης στο εγγύς νεφρικό σωληνάριο (λόγω αύξησης του όγκου του εξωκυτταρίου υγρού) και η ελάττωση της επαναρρόφησης χλωριούχου νατρίου στην αγκύλη του HENLE (χορήγηση διουρητικών) οδηγούν σε αύξηση της απέκκρισης του Mg^{+2} .

1.4.9 ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΡΥΘΜΙΣΗ ΕΚΚΡΙΣΗΣ ΟΡΜΟΝΩΝ

Ο νεφρός συμμετέχει στη μεταβολική διάσπαση ορμονών όπως οι περισσότερες ορμόνες της υπόφυσης, η γλυκαγόνη και η ινσουλίνη.

Σε περιπτώσεις σακχαρώδη διαβήτη με νεφρική ανεπάρκεια, η ελάττωση του νεφρικού καταβολισμού της ινσουλίνης μπορεί να εκδηλωθεί ως παράταση της δράσης της χορηγούμενης ινσουλίνης.

Επίσης στο νεφρό η βιταμίνη D υφίσταται μια από τις δυο *in vivo* καρβοξυλιώσεις, ώστε να μετατραπεί στην δραστική μορφή της .

Ο νεφρός αποτελεί το κύριο όργανο παραγωγής της ερυθροποιητίνης ενός παράγοντα που προάγει την ερυθροποίηση. Η παραγωγή ερυθροποιητίνης αυξάνεται σε καταστάσεις ελάττωσης της παροχής οξυγόνου στους ιστούς όπως στην χρόνια υποξαιμία λόγω πνευμονοπάθειας, σε καταστάσεις ελάττωσης της ικανότητας μεταφοράς οξυγόνου στο αίμα όπως στην αναιμία και στην ελάττωση της νεφρικής ροής αίματος (ΠΑΘΟΛΟΓΙΑ CECIL,2003).

1.5 ΠΑΘΗΣΕΙΣ ΤΟΥ ΝΕΦΡΙΚΟΥ ΠΑΡΕΓΧΥΜΑΤΟΣ

Οι παθήσεις του νεφρικού παρεγχύματος, διακρίνονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες:

A) τις σπειραματοπάθειες, οι οποίες αφορούν πρωταρχικά τα νεφρικά σπειράματα και

B) τις διάμεσες νεφροπάθειες, οι οποίες αφορούν πρωταρχικά το διάμεσο ινώδη χώρο και τα σωληνάρια.

Πολλές συστηματικές παθήσεις μπορεί να περιλαμβάνουν νεφρικές εκδηλώσεις με προσβολή των σπειραμάτων, του διαμέσου ιστού ή των νεφρικών αγγείων. Για το λόγο αυτό διακρίνουμε τις νεφροπάθειες σε δευτεροπαθείς, όταν οι αλλοιώσεις του παρεγχύματος ή των αγγείων του νεφρού αποτελούν εκδήλωση μιας υποκείμενης συστηματικής νόσου, και σε πρωτοπαθείς.

Η κατάταξη αυτή είναι ιδιαίτερα σημαντική για τις σπειραματοπάθειες, που πολύ συχνά είναι άγνωστης αιτιολογίας (ιδιοπαθείς).

Ο όρος «**οξεία νεφρική βλάβη-ONB (Acute Kidney Injury- AKI)**» χρησιμοποιείται για την περιγραφή της ταχείας επιδείνωσης του ρυθμού σπειραματικής διήθησης (GFR) μέσα σε ώρες ή μέρες. Η έγκαιρη ανίχνευση της ONB (AKI) μπορεί να οδηγήσει στη θεραπεία και την βελτίωση της έκβασης του ασθενούς.

Η παθοφυσιολογία της ONB (AKI) περιλαμβάνει την πολύπλοκη αλληλεπίδραση μεταξύ νεφρικών αιμοδυναμικών παραμέτρων, της σωληναριακής βλάβης, της ενδοθηλιακής βλάβης και των φλεγμονωδών μεσολαβητών. Αρκετά δεδομένα υποστηρίζουν το ρόλο της μικροκυκλοφορίας στην έναρξη και την γενίκευση της αρχικής σωληναριακής βλάβης.

Οι παράγοντες που προδιαθέτουν σε οξεία νεφρική βλάβη(AKI) καθορίζονται από κλινικές καταστάσεις (σήψη, νοσηλεία σε ΜΕΘ, πολυοργανική ανεπάρκεια, καρδιαγγειακές χεπεμβάσεις, ηπατικές νόσοι, τραύμα, εγκαύματα, μεταμόσχευση συμπαγών οργάνων, HIV-λοίμωξη) και τα δεδομένα του ασθενούς (ΣΔ, διαταραχές της νεφρικής, καρδιακής λειτουργίας, μείωση ενδαγγειακού όγκου, χρήση σκιαγραφικών και νεφροτοξικών ουσιών, γενετικοί παράγοντες) (Pipili et al. 2011).

Η επίπτωση της ONB προσεγγίζει επιδημικές διαστάσεις και η ανάγκη για νεώτερους βιοδείκτες είναι επείγουσα με σκοπό την πρωιμότερη παρέμβαση για την αναστροφή της (Pipilli et al.2011; Kokkoris et al.2012).



Σχήμα 7. Η συσχέτιση των νεφρικών βλαβών

1.5.1 ΠΡΩΤΟΠΑΘΕΙΣ ΣΠΕΙΡΑΜΑΤΟΠΑΘΕΙΕΣ

Σπειραματοπάθειες ονομάζονται οι παθήσεις του νεφρού με προεξάρχουσες τις αλλοιώσεις στα νεφρικά σπειράματα, που συνοδεύονται από εκάστοτε διαφορετικής βαρύτητας αιματουρία, λευκωματουρία, αρτηριακή υπέρταση, μείωση του GFR.

Οι πρωτοπαθείς σπειραματοπάθειες είναι σπάνιες παθήσεις σε σύγκριση με τις ουρολοιμώξεις και την πυελονεφρίτιδα, οδηγούν όμως πολύ συχνότερα σε χρόνια νεφρική ανεπάρκεια (ΧΝΑ). Ασθενείς με πρωτοπαθείς σπειραματοπάθειες αποτελούν το 10% των περιπτώσεων με ΧΝΑ τελικού σταδίου.

Η ταξινόμηση των πρωτοπαθών σπειραματοπαθειών μπορεί να γίνει με βάση τη μορφολογία της βλάβης, την αιτιολογία, την παθογένεια ή την κλινική εικόνα.

Αυτές οι διαφορετικές θεωρήσεις και η συχνή έλλειψη αντιστοιχίας μεταξύ παθολογοανατομικής και κλινικής εικόνας κάνουν την παρουσίαση των σπειραματοπαθειών ιδιαίτερα πολύπλοκη.

Οι πρωτοπαθείς σπειραματοπάθειες με βάση την κλινική τους ταξινόμηση διακρίνονται σε:

Κλινική ταξινόμηση των πρωτοπαθών σπειραματοπαθειών. Η κάθε σπειραματοπάθεια ταξινομείται στο κλινικό σύνδρομο, που είναι η τυπική της εκδήλωση.

Διάχυτη υπερπλαστική και εξιδρωματική σπειραματονεφρίτιδα

Σπειραματική αιματουρία (ΣΑ)

IgA νεφροπάθεια (συνήθως εστιακή μεσαγγειοϋπερπλαστική ΣΝ)

Ταχέως εξελισσόμενη σπειραματονεφρίτιδα (ΤΕΣΝ)

Μηνοειδική σπειραματονεφρίτιδα τύπου I

Μηνοειδική σπειραματονεφρίτιδα τύπου II (ανοσοσυμπλεγματική)

Μηνοειδική σπειραματονεφρίτιδα τύπου III (ανοσοαρνητική)

Νεφρωσικό σύνδρομο (ΝΑ)

Σπειραματοπάθεια ελαχίστων αλλοιώσεων

Μεσαγγειοϋπερπλαστική σπειραματονεφρίτιδα

Εστιακή και τμηματική σπειραματοσκλήρυνση

Μεμβρανώδης σπειραματονεφρίτιδα

Μεμβρανοϋπερπλαστική σπειραματονεφρίτιδα τύπου I

Μεμβρανοϋπερπλαστική σπειραματονεφρίτιδα τύπου II

Οι ποικίλες κλινικές εκδηλώσεις στις σπειραματοπάθειες μπορούν να αποδοθούν ευθέως στις ιστολογικές αλλοιώσεις. Αλλοιώσεις στη σπειραματική μεμβράνη συνοδεύονται από διαταραχές στην διαπερατότητά της με εμφάνιση αιματουρίας, κυλινδρουρίας ή/και λευκωματουρίας ενώ η καταστροφή σπειραμάτων (από νέκρωση, ίνωση ή διάχυτη υπερπλασία) ακολουθείται από νεφρική ανεπάρκεια (ΝΑ) και νεφρογενή αρτηριακή υπέρταση (ΑΥ).

Ανάλογα με το συνδυασμό και τη βαρύτητα αυτών των κλινικοεργαστηριακών εκδηλώσεων καθώς και την κλινική πορεία τους ορίζονται τα παρακάτω κλινικά σύνδρομα, που είναι η βάση της κλινικής ταξινόμησης των πρωτοπαθών σπειραματοπαθειών σε:

1. ασυμπτωματική λευκωματουρία ή/και αιματουρία,
2. οξύ νεφριτιδικό σύνδρομο,
3. ταχέως εξελισσόμενη σπειραματονεφρίτιδα,
4. νεφρωσικό σύνδρομο
5. σύνδρομο χρόνιας σπειραματονεφρίτιδας (XNA και νεφρογενής ΑΥ).

1.5.2. ΔΙΑΜΕΣΕΣ ΝΕΦΡΟΠΑΘΕΙΕΣ

Διάμεσες νεφροπάθειες (ή διάμεσες νεφρίτιδες) ονομάζονται παθήσεις του νεφρικού παρεγχύματος με προεξάρχουσες φλεγμονώδεις αλλοιώσεις στο διάμεσο (περισωληναριακό) νεφρικό ιστό και στα ουροφόρα σωληνάρια. Τα σπειράματα ουσιαστικά παραμένουν αμέτοχα και μόνο σε προχωρημένα στάδια παρουσιάζουν δευτεροπαθείς αλλοιώσεις.

Αιτιολογικά και κλινικά οι διάμεσες νεφρίτιδες διακρίνονται:

1. σε μη-πυώδεις διάμεσες νεφρίτιδες, στις οποίες η φλεγμονώδης βλάβη δεν οφείλεται σε μικροβιακή προσβολή και συνήθως αφορά αποκλειστικά το νεφρικό παρέγχυμα και
2. σε πυώδεις, οι οποίες είναι μικροβιακής αιτιολογίας και συχνά σχετίζονται με μηχανική απόφραξη της αποχετευτικής μοίρας του ουροποιητικού συστήματος (αποφρακτική ουροπάθεια) ή κυστεοουρητηρική παλινδρόμηση).

Πυελονεφρίτιδα ονομάζουμε κάθε φλεγμονή που προσβάλλει συγχρόνως το διάμεσο ιστό και το τοίχωμα της νεφρικής πυέλου. Ο όρος αυτός χρησιμοποιείται από πολλούς λανθασμένα ως συνώνυμο της πυώδους διάμεσης νεφρίτιδας.

Υπάρχουν **πυώδεις νεφρίτιδες** που δεν προσβάλλουν την πύελο αλλά μόνον το νεφρικό παρέγχυμα (π.χ. σε βακτηριαιμία ή από σηπτικά έμβολα) και **μη πυώδεις νεφρίτιδες** που προσβάλλουν ταυτόχρονα το διάμεσο ιστό και την πύελο (π.χ. νεφροπάθεια από κατάχρηση αναλγητικών). Στις **πυώδεις διάμεσες νεφρίτιδες** δεσπόζουν οι κλινικές εκδηλώσεις της αποφρακτικής ουροπάθειας και της βακτηριακής λοίμωξης (π.χ. οξείας πυελονεφρίτιδας). Είναι

συχνά μονόπλευρες ή εστιακές. **Οι μη πυώδεις διάμεσες νεφρίτιδες** αντίθετα είναι διάχυτες (αμφοτερόπλευρες) και εκδηλώνονται κυρίως με δυσλειτουργία των ουροφόρων σωληναρίων και σε κάποιες περιπτώσεις με δευτεροπαθή βλάβη των σπειραμάτων και με πτώση του GFR.

Τα αίτια της μη πυώδους διάμεσης νεφρίτιδας παρουσιάζουν μεγάλη ετερογένεια. Μπορεί να είναι ανοσολογικά, ενδογενείς ή εξωγενείς τοξίνες ή να σχετίζονται με διάφορες συστηματικές παθήσεις. Ανάλογα με την ταχύτητα εξέλιξης της κλινικής κατάστασης διακρίνουμε τις οξείες και τις χρόνιες διάμεσες νεφροπάθειες.

Πυώδεις διάμεσες νεφρίτιδες

Αποφρακτική ουροπάθεια

Κυστεοουρητηρική ή ενδονεφρική παλινδρόμηση

Πυελονεφρίτιδα

Μη πυώδεις διάμεσες νεφρίτιδες

Τοξικά φάρμακα και άλλες εξωγενείς τοξίνες

Νεφροπάθεια από αναλγητικά (χρ.)

Νεφροπάθεια από σινικά βότανα (χρ.)

Νεφροπάθεια από λίθιο (χρ.)

Νεφροπάθεια από μόλυβδο (χρ.)

Κυκλοσπορίνη (οξ. και χρ.)

Ενδογενείς τοξίνες

Υπερασβεσταιμική νεφροπάθεια (χρ.)

Υποκαλιαιμική νεφροπάθεια (χρ.)

Ουρική νεφροπάθεια (χρ. και οξ.)

Οξάλική νεφροπάθεια (χρ.)

Ανοσολογικές αντιδράσεις

Διάμεση νεφρίτιδα εξ υπερευαισθησίας (οξ.)

Αντίδραση απόρριψης μοσχεύματος (οξ. ή χρ.)

Σύνδρομο Sjogren (χρ.)

Αμυλοείδωση (χρ.)

Λοιμώξεις (οξ.)

Ιοί (Hanta, HIV, EBV, CMV)

Βακτήρια (στρεπτόκοκκος, legionella, λεπτοσπειρωση)

Πρωτόζωα (τοξοπλάσμωση)

Άλλα σπάνια αίτια

Διάμεση νεφρίτιδα (οξ.)

Σαρκοείδωση (χρ. ή οξ.)

Δρεπανοκυτταρική αναιμία (χρ.)

Πολλαπλούν μυέλωμα (χρ.)

Βαλκανική νεφροπάθεια (χρ.)

Μετακτινική νεφρίτιδα (χρ.)

Η κλινική εικόνα στη μη πυώδη διάμεση νεφροπάθεια χαρακτηρίζεται κατά κανόνα από έκπτωση των επιμέρους σωληναριακών λειτουργιών και αρκετά συχνά από μείωση του GFR.

Η μείωση του GFR οφείλεται σε δευτεροπαθή βλάβη των σπειραμάτων, που προκαλείται από απόφραξη των σωληναρίων και των αγγείων του διάμεσου νεφρικού ιστού. Σε οξεία διάμεση νεφρίτιδα η πτώση του GFR μπορεί να είναι απότομη και να συνοδεύεται από ολιγοανουρία έτσι ώστε η κλινική εικόνα να μοιάζει με «οξεία σωληναριακή νέκρωση». Ο στραγγαλισμός των αγγείων του διάμεσου ιστού και η ΝΑ προκαλεί συχνά νεφρογενή ΑΥ.

Η έκπτωση των σωληναριακών λειτουργιών παίρνει διάφορες μορφές και ποικίλους συνδυασμούς ανάλογα με την εντόπιση της βλάβης στο εγγύς, το άπω ή το αθροιστικό σωληνάριο (Ι. Στεφανίδης ΣΗΜΕΙΩΣΕΙΣ ΝΕΦΡΟΛΟΓΙΑΣ, 2012).

Λειτουργικές διαταραχές των σωληναρίων, που παρατηρούνται συχνά στις διάμεσες νεφροπάθειες.

Εγγύς εσπειραμένο σωληνάριο

Σύνδρομο Fanconi: διαταραχή στην επαναρρόφηση γλυκόζης, αμινοξέων, φωσφορικών, διττανθρακικών (εγγύς ΝΣΟ), ουρικού οξέως (πλήρες ή μερικό σ. Fanconi).

Εγγύς Νεφροσωληναριακή οξέωση τύπου II (εγγύς ΝΣΟ): διαταραχή της επαναρρόφησης διττανθρακικών.

Σωληναριακή λευκοματουρία: αδυναμία επαναρρόφησης πρωτεϊνών χαμηλού μοριακού βάρους (B2-μικροσφαιρίνη, λυσοζύμη).

Άπω εσπειραμένο σωληνάριο

Άπω νεφροσωληναριακή οξέωση τύπου I (άπω ΝΣΟ): αδυναμία οξύνισης των ούρων, ελαττωμένη παραγωγή NH_4^+ .

Υπερκαλιαιμία: με διαταραχές της απέκκρισης K^+ και αντοχή στη δράση της αλδοστερόνης (ΝΣΟ τύπου IV).

Απώλεια άλατος: διαταραχή της επαναρρόφησης Na^+ στο άπω εσπειραμένο σωληνάριο (νεφροπάθεια με απώλεια άλατος).

Αθροιστικό σωληνάριο (μυελώδης μοίρα νεφρού)

Πολυουρία, ισοσθενουρία: Βλάβη των σωληναρίων και των αγγείων της μυελώδους μοίρας του νεφρού

1.5.3 ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ Η΄ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΚΘΕΣΗ ΚΑΙ ΝΕΦΡΟΠΑΘΕΙΕΣ

Γενικά οι νεφροπάθειες από περιβαλλοντική ή επαγγελματική έκθεση κατατάσσονται στις εξής μορφές:

- Οξεία νεφρική βλάβη (ONB)

Σωληναριακή δυσλειτουργία, νέκρωση

- Χρόνια νεφρική νόσος (XNN)

Χρόνια διάμεση νεφρίτιδα (ΔΝ), Σπειραματοπάθεια (ΣΝ)

- Κακοήθεις όγκοι του ουροποιητικού

- Ουρολιθίαση, ουρολοιμώξεις

(Rodriquez R., Hernandez T., Renal Toxicology CURRENT Diagnosis & Treatment: Occupational & Environmental Medicine, 5th edition, 2007).

1.6 ΔΕΙΚΤΕΣ ΝΕΦΡΙΚΗΣ ΒΛΑΒΗΣ

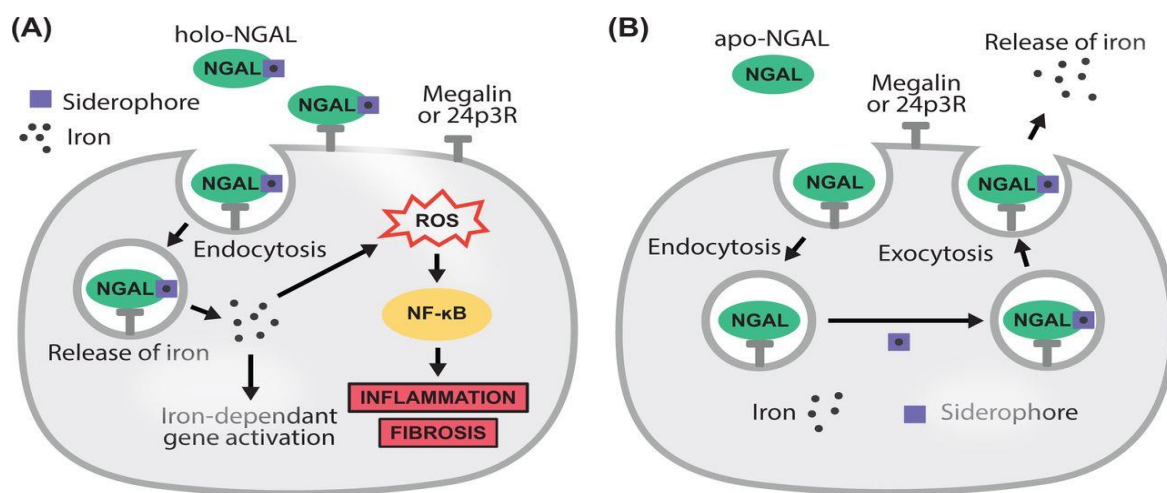
1.6.1 Λιποκαλίνη -2 (*Lipocalin-2, LCN2*)

Η λιποκαλίνη-2, η σχετιζόμενη με την ζελατινάση των ουδετερόφιλων (LCN2/NGAL) ανήκει στην υπεροικογένεια των λιποκαλινών. Η οικογένεια αυτή περιέχει πάνω από 20 δομικά συγγενείς πρωτεΐνες που πιστεύεται ότι μεταφέρουν ποικιλία μορίων μέσα σε κάλυκα (β-barrel). Η NGAL είναι ανθεκτική, μικρομοριακή πρωτεάση (MB=25kDa) ομοιοπολικά συνδεδεμένη με την ζελατινάση (matrix metalloproteinase 9, MMP-9) των ανθρώπινων ουδετερόφιλων.

Πιστεύεται ότι δεσμεύει μικρές λιπόφιλες ουσίες, όπως ο λιποπολυσακχαρίτης των βακτηριδίων LPS και τα φορμυλπεπτίδια. Λειτουργεί ως ρυθμιστής της φλεγμονής. Η NGAL δεσμεύει το σύμπλοκο σιδηροφόρου-σιδήρου και πιθανόν έτσι συμμετέχει στη μεταφορά του σιδήρου και σε ποικίλες φυσιολογικές λειτουργίες (π.χ. βακτηριοστατική, αντιοξειδωτική δράση) (Mori et al. 2005). Η πρωτεΐνη NGAL συμμετέχει στον ανοσολογικό μηχανισμό φλεγμονής και περιορίζει την ανάπτυξη των βακτηριδίων. Κατά την εισβολή των βακτηριδίων στον οργανισμό, τα βακτήρια

λαμβάνουν μεγάλο μέρος του αναγκαίου Fe^{++} από τον ξενιστή αυξάνοντας την τοξική τους δράση. Αυτό γίνεται με την σύνθεση «σιδηροφόρων μορίων». Τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος διεγείρουν τη μεταγραφή, μετάφραση και έκκριση της NGAL. Αυτή περιορίζει την ανάπτυξη των βακτηρίων εμποδίζοντας την χρήση του Fe^{++} των σιδηροφόρων μορίων (ενδογενής βακτηριοστατική πρωτεΐνη) (Trude et al.2004).

Εναλλακτικά πιστεύεται ότι δρα ως αυξητικός παράγοντας που ρυθμίζει την απόπτωση και την κυτταρική διαφοροποίηση. Υπάρχουν δεδομένα που υποστηρίζουν το ρόλο της NGAL ως ρυθμιστή του επιθηλιακού φαινοτύπου. Επάγει το σχηματισμό των νεφρικών επιθηλίων στα έμβρυα και στους ενήλικες (Kokkoris et al.2012).



Σχήμα 8. Σχηματική παρουσίαση της δράσης της NGAL. *M.Buonafine et al, Clinical Science 2018,132(9)909-923* <http://www.clinsci.org/content/132/9/909>

Η NGAL ανιχνεύεται στον ενήλικα στο μυελό των οστών, στα ουδετερόφιλα κύτταρα του αίματος και σε μικρότερες ποσότητες σε άλλους ιστούς όπως στη μήτρα, στον προστάτη, στους σιελογόνους αδένες, στο στομάχι, στη σκωληκοειδή απόφυση, στο παχύ έντερο, στην τραχεία, και στους πνεύμονες (Kjeldsen et al.1993; Pipili et al. 2011).

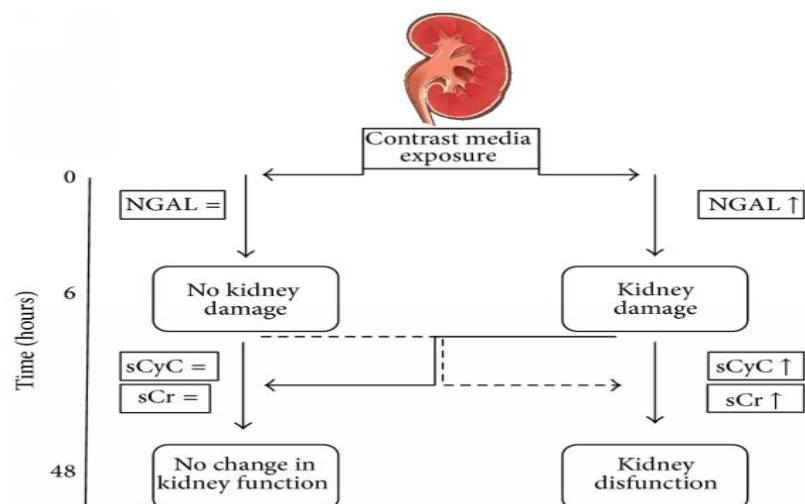
Η έκφραση της NGAL αυξάνεται χαρακτηριστικά σε ενεργοποιημένα επιθήλια όπως σε επιθηλιακά κύτταρα του παχέος εντέρου σε περιοχές φλεγμονής ή νεοπλασίας. Δεν εκφράζεται σε μη εμπλεκόμενες περιοχές ή μέσα σε μεταστατικές βλάβες (Nielson et al.1996; Kokkoris et al.2012).

Πιστεύεται ότι σε όλες τις περιπτώσεις η επαγωγή της NGAL είναι αποτέλεσμα αλληλεπιδράσεων μεταξύ του επιθηλιακού βλεννογόνου και των ουδετερόφιλων. Η έκφραση της NGAL είναι έκδηλη τόσο στα ουδετερόφιλα όσο και στα επιθηλιακά κύτταρα (Kokkoris et al.2012).

Θεωρείται πρώιμος και ιδιαίτερα ευαίσθητος βιοδείκτης της νεφρικής βλάβης διότι εκφράζεται σε αυξημένες ποσότητες επί τραυματισμένων επιθελίων ιδιαίτερα στα επιθηλιακά κύτταρα των εγγύς εσπειραμένων σωληναρίων. Αποτελεί προγνωστικό δείκτη ανάπτυξης ONB (AKI) οφειλόμενης σε ισχαιμία του νεφρού κυρίως λόγω χρήσης σκιαγραφικών (σχήμα 9), [σε καταστάσεις σήψης, μετά από χειρουργική αποκατάσταση καρδιαγγειακών νοσημάτων (Bennet 2008; Han et al.2009; Pipili et al.2011; Buonafine et al.2018).

Σε περίπτωση της οξείας νεφρικής βλάβης (ONB - AKI), η NGAL εκκρίνεται σε υψηλά επίπεδα στο πλάσμα και τα ούρα μέσα σε 2 ώρες από τη βλάβη (Briguori et al.2014). Η αύξηση αυτή συνδέεται με την βαρύτητα της βλάβης και τα αυξημένα επίπεδα στις 12 ώρες σχετίζονται με αυξημένη θνητότητα.

Σε ασθενείς με εγκατεστημένη νεφρική βλάβη, που νοσηλεύονται σε μονάδα εντατικής θεραπείας (ΜΕΘ) έχει διαπιστωθεί 100πλάσια αύξηση της NGAL στα ούρα και 10 πλάσια αύξηση στο πλάσμα (Mori et al.2005). Βοηθά στη διαφορική διάγνωση της προνεφρικής αζωθαιμίας και ONB(AKI) σε αυτούς τους ασθενείς.



Σχήμα 9. Το σχήμα απεικονίζει τις φάσεις της οξείας νεφρικής ONB (AKI) σε σχέση με τις μεταβολές της λειτουργικότητας των νεφρών μετά πχ.την έκθεση σε σκιαγραφικά μέσα. Briguori C et al, Biomed Res Int 2014.

Η NGAL είναι ένας πρώιμος δείκτης της νεφρικής βλάβης (Pipili et al. 2011) ενώ η κρεατινίνη ορού είναι όψιμος δείκτης. Η NGAL ανιχνεύει υποκλινικές νεφρικές βλάβες ώρες ακόμα και ημέρες πριν η αύξηση της κρεατινίνης ορού δείξει την έκπτωση της νεφρικής λειτουργίας (Haase et al.2011; McCullough et al.2011).

Οι φυσιολογικές τιμές NGAL ορού σε ενήλικες άνδρες (Negrin et al.2018) είναι

Τιμές αναφοράς Ενηλίκων NGAL (ορού): 28,7- 167 ng/mL

Πρόσφατα ορίστηκε συγκεκριμένο όριο συγκέντρωσης NGAL στα ούρα για τη διάγνωση της οξείας νεφρικής βλάβης (ONB-AKI) στους ενήλικες (>65 ng/mL για γυναίκες και >23,4 ng/mL για άνδρες) (Schinstock et al. 2013).

Σύμφωνα με τα ανωτέρω η NGAL διαθέτει τα χαρακτηριστικά ιδανικού δείκτη νεφρικής βλάβης αφού:

- 1) απελευθερώνεται άμεσα μετά την βλάβη από τον τραυματισμένο νεφρό (κύρια από το εγγύς αλλά και το άπω σωληνάριο και τα αθροιστικά σωληνάρια),

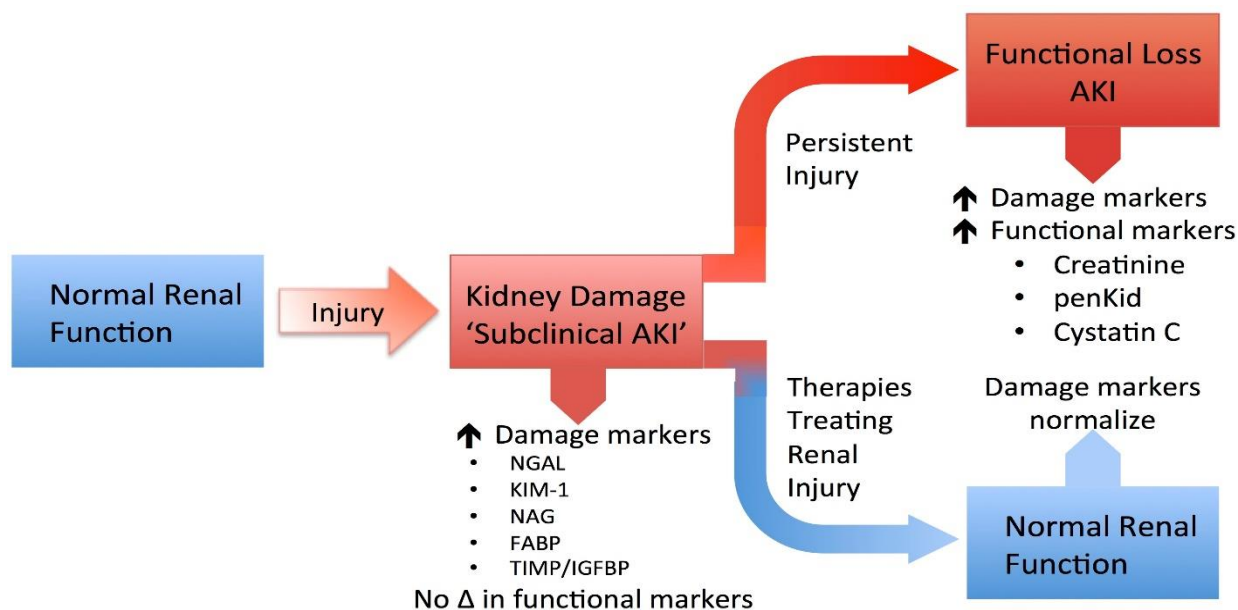
2) οι συγκεντρώσεις στα ούρα και το πλάσμα αυξάνουν ανάλογα με τη σοβαρότητα και τη διάρκεια της νεφρικής βλάβης,

3) η συγκέντρωσή της μειώνεται γρήγορα με την αποκατάσταση της νεφρικής βλάβης

4) ο προσδιορισμός της στο πλάσμα και στα ούρα είναι άμεσος και εύκολος.

Η χρήση ενός τέτοιου ευαίσθητου και ειδικού δείκτη επιτρέπει την έγκαιρη διάγνωση και θεραπεία και επομένως μειώνει έμμεσα την νοσηρότητα και τη θνησιμότητα των ασθενών με ONB (AKI) (McCullough et al. 2011).

Υπάρχουν κάποιοι περιορισμοί στη χρήση της NGAL όπως σε XNA (Heba et al.2008), AY, σύνδρομο SIRS (Systemic Inflammatory Response Syndrome) όπου υπάρχουν ήδη αυξημένες τιμές στο πλάσμα. Επίσης σε ουρολοιμώξεις αυξάνονται οι τιμές NGAL ούρων. Αναμφισβήτητα όμως η αύξηση της NGAL σε ONB (AKI) είναι σημαντικά μεγαλύτερη (Pipili et al. 2011).



Σχήμα 10. Συσχέτιση νέων δεικτών νεφρικής λειτουργίας με την εξέλιξη της ONB (υποκλινικό και κλινικό στάδιο). Wettersten et al, Expert Analysis, ACC 2017. |

1.6.2 ΣΥΣΤΑΤΙΝΗ C (Cystatin C)

Η συστατίνη (CysC) είναι μια μη γλυκοζυλιωμένη πρωτεΐνη με χαμηλό MB (περίπου 13.3kD) που συντίθεται σε όλα τα εμπύρηντα κύτταρα του οργανισμού. Ανήκει στην υπερικογένεια των συστατινών η οποία αριθμεί 11 μέλη και 3 οικογένειες.

Η πρώτη οικογένεια αριθμεί 2 μέλη τις Cys A,B που είναι αποκλειστικά ενδοκυττάρια μόρια, η δεύτερη οικογένεια αριθμεί 7 μέλη τις Cys C,D,E,F,S,SA,SN που είναι κυρίως εξωκυττάρια ή διακυτταρικά μόρια με δράση αναστολέα πρωτεάσης. Η τρίτη οικογένεια αριθμεί 2 μέλη και είναι αποκλειστικά ενδαγγειακές πρωτεΐνες που παράγουν αγγειοδραστικά πεπτίδια και συμμετέχουν στο μηχανισμό της πήξης (Craig et al.2012).

Η CysC αναστέλλει τις περισσότερες κυστεϊνικές πρωτεάσες του τύπου της παπαΐνης και άλλες πεπτιδάσες που έχουν μια σουλφυδρική ομάδα στο ενεργό κέντρο. Διηθείται μέσω του σπειράματος στους νεφρούς και αφού επαναρροφηθεί από τα κύτταρα του εγγύς νεφρικού σωληναρίου καταβολίζεται πλήρως από αυτά χωρίς να επανεκκρίνεται. Επομένως φυσιολογικά δεν ανιχνεύεται στα ούρα παρά μόνο εάν υπάρξει δυσλειτουργία του νεφρικού σωληναρίου οπότε δεν γίνεται η επαναρρόφησή της. Βάση αυτών των ιδιοτήτων, οι αυξημένες τιμές συστατίνης C στο πλάσμα μπορεί να θεωρηθούν ως δείκτης της σπειραματικής δυσλειτουργίας ενώ στα ούρα ως δείκτης της εγγύς σωληναριακής βλάβης και της διάμεσης νόσου (Ushida et al. 2002; Pipili et al.2011). Η χρήση της συστατίνης C υπερέχει στην εκτίμηση της μείωσης του ρυθμού σπειραματικής διήθησης (GFR) έναντι της κρεατινίνης στους νεφροπαθείς (Laterza et al.2002)

Η παραγωγή της CysC είναι σταθερή και δεν εξαρτάται σημαντικά από την ηλικία (παιδιά>1y έχουν επίπεδα ενηλίκου), το φύλο, τη φυλή ή την μυϊκή μάζα (αντίθετα με την κρεατινίνη- Uchida et al 2002), τη φλεγμονή και την διατροφή.

Αναφορές έχουν δείξει ότι τα επίπεδα της CysC επηρεάζονται από το κάπνισμα και τα επίπεδα της C αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP) (Craig et al.2012). Η τιμή της CysC ορού επηρεάζεται από διάφορες κλινικές καταστάσεις.

Τιμές αναφοράς (για άνδρες και γυναίκες):	
0,1 – 1y	→ 0,21 -0,57 mg/L
1-4y	→ 0,48-0,96 mg/L
20-50y	→ 0,7-1,20 mg/L
>50y	→ 0,84-1,55 mg/L

Ο προσδιορισμός της γίνεται με ανοσονεφελομετρία και δεν επηρεάζεται από μεταβολικούς παράγοντες σε αντίθεση με τον χημικό προσδιορισμό της κρεατινίνης που επηρεάζεται από μεταβολικούς παράγοντες όπως η χολερυθρίνη, οι κετόνες, η γλυκόζη, το ασκορβικό οξύ και φάρμακα όπως η κυκλοσπορίνη Α, η ασπιρίνη και οι κεφαλοσπορίνες (Grubb 2001).

Χρησιμοποιείται ως δείκτης της νεφρικής λειτουργίας:

α) σε ασθενείς με οξεία ή χρόνια νεφρική νόσο (ONN ή XNN) και θεωρείται ότι μπορεί να αποτελέσει προγνωστικό δείκτη της εξέλιξης της χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας (XNA-Chronic Renal Failure- CRF),

β) σε ασθενείς που έχουν κάνει μεταμόσχευση νεφρού (αλλομόσχευμα), αφού η οξεία μείωση CysC ορού επιτρέπει την ταχεία διάγνωση της οξείας απόρριψης μοσχεύματος,

γ) σε καρδιοχειρουργικούς ασθενείς αφού μελέτη που βασίστηκε στην παρακολούθηση των μεταβολών της CysC στο πλάσμα απέδειξε ότι οι τιμές της αντικατοπτρίζουν πιο αξιόπιστα το GFR από τις τιμές της κρεατινίνης (Pipili et al.2011),

δ) σε ασθενείς είτε με πρωτοπαθές μεταστατικό μελάνωμα, είτε καρκίνο του παχέος εντέρου, είτε HIV λοίμωξη, είτε υπερθυρεοειδισμό όπου καταγράφεται αύξηση της CysC (Pipili 2011; Craig et al.2012),

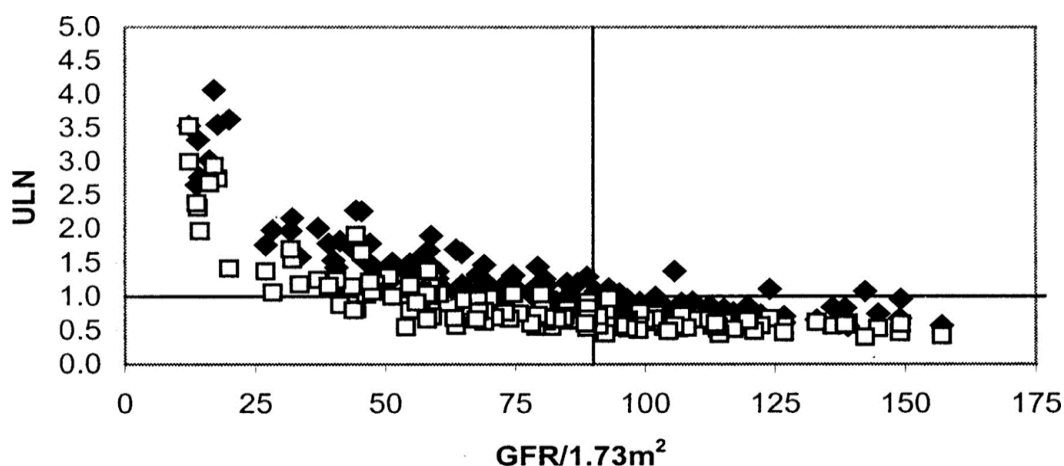
στ) σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη (ΣΔ) τύπου I και II με ήπιας ή μέτριας βαρύτητας νεφρική δυσλειτουργία (σταδιο 2 και 3 XNN-CKD).

Η πρόωμη και επίμονη αύξηση της CysC ορού συνδέεται όχι μόνο με την ανάπτυξη αλλά και την βαρύτητα της ONB (AKI) (Dharnidh et al. 2002; Kokkoris et al.2012; Briguori et al.2014).

Ο ρόλος της CysC για την παρακολούθηση του GFR κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης παραμένει αμφιλεγόμενος συγκρινόμενος με την κρεατινίνη διότι δεν παράγεται συνεχώς. Ωστόσο στην προεκλαμψία είναι πιο πιθανό οι διακυμάνσεις στην νεφρική λειτουργία να διαπιστωθούν με την εκτίμηση της CysC παρά με την εκτίμηση των τιμών κρεατινίνης.

Η CysC ορού χρησιμοποιείται ως δείκτης της νεφροτοξικότητας των φαρμάκων. Έχει διερευνηθεί η CysC ως δείκτης της νεφρικής λειτουργίας για την προσαρμογή δοσολογιών φαρμακευτικής αγωγής. Η θεραπεία με μεγάλες δόσεις γλυκοκορτικοειδών μπορεί να επηρεάσει την τιμή της CysC ορού (Zahran et al.2007; Pipilli et al.2011).

Οι συγκεντρώσεις της CysC ούρων (uCysC) είναι σημαντικά υψηλότερες σε ασθενείς με σωληναριακή βλάβη σε σύγκριση με ασθενείς με σπειραματική νόσο. Επομένως η μέτρηση της συστατίνης ούρων (uCysC) επιτρέπει την ανίχνευση της σωληναριακής δυσλειτουργίας σε ασθενείς με αμιγείς ή μεικτές νεφροπάθειες (Ushida et al 2002; Conti et al. 2006).



Σχήμα 11.Σχέσεις Cys C (διαμάντια) και κρεατινίνης (τετράγωνα) με GFR για όλα τα 146 δείγματα πλάσματος που εξετάστηκαν. Η Cys C και η κρεατινίνη δίδονται και οι δύο ως αναλογία σε σχέση με τα αντίστοιχα ανώτερα όρια της περιοχής αναφοράς (ULN) κρεατινίνης. Για άνδρες και γυναίκες, χρησιμοποιήθηκε το ULN κρεατινίνης αντίστοιχα για το κάθε φύλο. Το κατώτερο όριο αναφοράς για GFR 90 mL / min / 1,73 m2 αναφέρεται επίσης στο σχήμα. Hoek et al. Nephrol. Dial. Transplant. 2003 ; 18 :2024-2031.

Η CysC ορού αποτελεί δείκτη καλύτερα συσχετιζόμενο με το GFR σε σχέση με τα επίπεδα στον ορό της κρεατινίνης, B2-μικροσφαιρίνης και A1-μικροσφαιρίνης (Craig et al.2012;). Επίσης μελέτη της προγνωστικής αξίας των πρωτεϊνών ούρων σε μη ολιγουρική σωληναριακή νέκρωση

βρήκε ότι η uCysC και η B2M έχουν υψηλότερη διαγνωστική ακρίβεια στην ανίχνευση ασθενών που χρειάζονται θεραπεία νεφρικής υποκατάστασης (Herget-Rosenthal et al.2004).

1.6.3 ΚΡΕΑΤΙΝΙΝΗ

Η κρεατινίνη είναι προϊόν διάσπασης της φωσφορικής κρεατίνης των μυών. Παράγεται με σταθερό ρυθμό από το ανθρώπινο σώμα ανάλογα με την μυϊκή μάζα. Οι φυσιολογικές τιμές κρεατινίνης αίματος είναι 0,6-1,3 mg/dl.

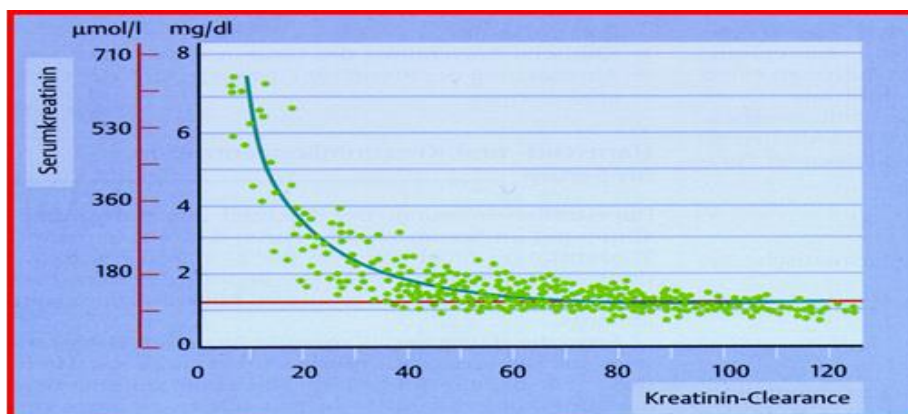
Τιμές αναφοράς Ενηλίκων Ανδρών (ορού): 0,6-1,3 mg/dL

Τιμές αναφοράς Ενηλίκων Γυναικών (ορού): 0,5 -1,1 mg/dL

Αποβάλλεται με τη σπειραματική διήθηση και τα επιπεδά της στον ορό είναι ο πιο ευρέως χρησιμοποιούμενος δείκτης της λειτουργίας των νεφρών. Είναι μικρής ευαισθησίας στην ανίχνευση της ήπιας νεφρικής ανεπάρκειας. Η κρεατινίνη ορού για να αυξηθεί χρειάζεται αρκετές ώρες έως ημέρες από την νεφρική βλάβη. Αυξάνει σημαντικά στον ορό μόνο μετά από απώλεια του 50% ή περισσότερο της νεφρικής λειτουργίας. Η συγκέντρωσή της επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες (π.χ. διατροφή, μυϊκή μάζα).

Η κάθαρση κρεατινίνης για την εκτίμηση του GFR είναι πιο ευαίσθητος δείκτης σπειραματικής λειτουργίας και χρησιμοποιείται για την παρακολούθηση της πορείας της νεφρικής νόσου. Επομένως η κρεατινίνη δεν είναι ευαίσθητος δείκτης της ONB που συνήθως οφείλεται σε σωληναριακή βλάβη. Κυρίως χρησιμεύει για να εκφράσει την βαρύτητα της απώλειας νεφρικής λειτουργίας που προκύπτει ως συνέπεια της νεφρικής βλάβης. Η ONB (AKI) δεν συνοδεύεται υποχρεωτικά από την άμεση αύξηση της κρεατινίνης του ορού πάνω από την φυσιολογική τιμή. Στην οξεία νεφρική ανεπάρκεια (ONA) η κρεατινίνη του ορού μπορεί να παρουσιάσει αύξηση ανάλογη της βλάβης έως και μέρες μετά την εγκατάσταση της ONB.

Σε ασθενείς με ΧΝΑ και ουραιμία, η μείωση στην απέκκριση κρεατινίνης οφείλεται τόσο στη βλάβη των σπειραμάτων αλλά και των σωληναρίων.



Σχήμα 12. Μέτρηση νεφρικής λειτουργίας με την αξιολογήση της κρεατινίνης
Shoker et al. Clin Nephrol. 2006;66:89, Stevens et al. Am J Kidney Dis. 2009;54:33

Ψευδή αύξηση της κρεατινίνης ορού και άρα υποεκτίμηση του GFR προκαλούν οι πρωτεΐνες, οι κετόνες, τα κετοξέα, η γλυκόζη, η χολερυθρίνη, τα λιπαρά οξέα, το ουρικό οξύ, η ουρία, οι κεφαλοσπορίνες, η φαινυλκετονουρία, οι μεταβολίτες αιθανόλης, η ακετοεξιμίδη και η 5-φλουοκυτοσίνη (Gowda et al.2010).

1.6.4 A1-MΙΚΡΟΣΦΑΙΡΙΝΗ (A1M)

Η A1M είναι ένα μέλος της οικογένειας λιποκαλίνες (lipocalin). Μεταφέρει υδρόφοβες προσθετικές ομάδες. Η A1M υπάρχει σε τρεις μορφές με διαφορετική δομή (ελεύθερη, δεσμευμένη σε IgA, και δεσμευμένη με την αλβουμίνη).

Έχει αποδειχθεί ότι η A1M ασκεί *in vivo* ανοσοκατασταλτική δράση στη χημειοταξία και στην λεμφοκυτταρική αντίδραση στο αντιγόνο ωστόσο ο ακριβής ρόλος της δεν έχει πλήρως καθορισθεί.

Η A1M ορού έχει υψηλότερη διαγνωστική ευαισθησία από την κρεατινίνη στη μείωση του ρυθμού σπειραματικής διήθησης (GFR) ιδιαίτερα στην αποκαλούμενη τυφλή-περιοχή μείωσης του ρυθμού της σπειραματικής διήθησης.

Φυσιολογικά διηθείται από το σπείραμα και επανααρροφάται από το εγγύς εσπειραμένο σωληνάριο. Ως μικρή και σταθερή πρωτεΐνη ούρων, η A1M αποτελεί δείκτη της οξείας (Terzi et al.2014) και χρόνιας δυσλειτουργίας του εγγύς νεφρικού σωληναρίου.

Τιμές αναφοράς Ενηλίκων (ορού-ελεύθερη A1M): 14-36 mg/L

Τιμές αναφοράς Ενηλίκων (ούρων): 3,5-8 mg/L

Τα επίπεδα της A1M αυξάνονται στον ορό σε:

- Τελικού σταδίου νεφρική νόσος (έως 10 φορές)
- σύνδρομο Behcet
- IgA μυέλωμα
- Σοβαρά εγκαύματα (A1M δεν είναι πρωτεΐνη οξείας φάσης)
- IgA νεφροπάθεια
- Μείωση GFR
- Κύηση

Τα επίπεδα της A1M αυξάνονται στα ούρα σε:

- Νεφροσωληνιακή βλάβη
- Διάμεση νεφρίτιδα
- Λοιμώξεις του ουροποιητικού όπως η οξεία πυελονεφρίτιδα
- Δηλητηρίαση από κάδμιο

Τιμές στα ούρα μεγαλύτερες >12mg/L θεωρούνται ως σωληνιακή πρωτεϊνουρία.

Τα επίπεδα της A1M μειώνονται στον ορό και στα ούρα σε σοβαρή ηπατική νόσο (μη αντιρροπούμενη κίρρωση, κεραυνοβόλος ηπατίτιδα).

Ενδείξεις για την ανίχνευση και μέτρηση της A1M είναι η νεφρίτιδα, η προχωρημένη διαβητική νεφροπάθεια, η έκθεση σε βαρέα μέταλλα και η χορήγηση νεφροτοξικών φαρμάκων με σκοπό την εκτίμηση της πιθανής σωληνιακής βλάβης (Trof et al.2006; Craig et al.2012).

Εκτιμάται ότι είναι σημαντική η χρήση της A1M ως πρώιμου βιοδείκτη της δυσλειτουργίας του εγγύς εσπειραμένου σωληναρίου σε σηπτική ONB (Sepsis Associated AKI)(Terzi et al.2014).

1.6.5 B2-ΜΙΚΡΟΣΦΑΙΡΙΝΗ (B2M)

Η B2M είναι μία διαμεμβρανική πρωτεΐνη (MB=11,8kDa) που βρίσκεται σε όλα τα εμπύρρινα κύτταρα ως τμήμα του συμπλέγματος αντιγόνων HLA.

Η ακριβής ανοσολογική της λειτουργία είναι άγνωστη. Είναι κυτταροτοξική για τα λεμφοκύτταρα παρουσία του συμπληρώματος. Η ελεύθερη B2M προέρχεται από τη διάσπαση των κυττάρων. Μετά από διήθηση μέσω των σπειραμάτων η B2M επανααρροφάται και καταβολίζεται από τα κύτταρα του εγγύς εσπειραμένου σωληναρίου. Στους υγιείς δεν ανιχνεύεται στα ούρα και τα επίπεδα ορού είναι χαμηλά.

Αύξησή της στον ορό είναι επακόλουθο αυξημένης απελευθέρωσης από τα κύτταρα λόγω αυξημένης δραστηριότητας του ανοσοποιητικού συστήματος όπως σε λοιμώξεις, στα ρευματικά νοσήματα, σε κυτταρικό θάνατο ή σε νεφρική βλάβη.

Επιπλέον τα υψηλά επίπεδα ορού της B2M σχετίζονται με την μειωμένη σπειραματική διήθηση, ενώ η σωληνιακή δυσλειτουργία σχετίζεται με υψηλά επίπεδα στα ούρα. Η B2M είναι ένας σημαντικός προγνωστικός παράγοντας στο πολλαπλούν μυέλωμα και στη λευχαιμία, γιατί τα αυξημένα επίπεδά της στον ορό σχετίζονται με κακή πρόγνωση της νόσου (Craig et al.2012).

Τιμές αναφοράς (για άνδρες και γυναίκες):

Ηλικία<60 y 8-24 mg/L

Ηλικία>60 y 8 - 30 mg/L

Τα επίπεδα της B2M αυξάνονται στον ορό σε:

➤ Μειωμένη σπειραματική διήθηση

- Αυτοάνοσα νοσήματα (Ρευματοειδής αρθρίτιδα, Νόσος Crohn, Συνδρ. Sjogren)
- Χρήση αντινεοπλασματικών φάρμακων
- Ιογενείς λοιμώξεις (HIV, CMV)
- Λεμφουπερπλαστικές διαταραχές
- Χρήση αντιφλεγμονωδών ουσιών (ειδικά τα κορτικοστεροειδή)
- Μυέλωμα
- Αιμοκαθαιρόμενοι ασθενείς που εμφανίζουν β2- αμυλοείδωση(>> C_{B2M})
- Τελικού σταδίου ΧΝΝ
- Άλλες κακοήθειες
- Νεογνά

Τα επίπεδα της B2M αυξάνονται στα ούρα σε:

- Σωληναριακή πρωτεинуρία (π.χ. νεφροτοξικότητα καδμίου),
- Απόρριψη του νεφρικού μοσχεύματος.

Ένδειξη για την ποσοτική εκτίμηση της B2M αποτελεί η διάγνωση οξέων σωληναριακών νεφροπαθειών (Trof et al.2006) καθώς και η έγκαιρη διάγνωση της απόρριψης νεφρικού μοσχεύματος (Argyropoulos et al.2017).

1.6.6 ΑΝΟΣΟΣΦΑΙΡΙΝΗ G (IgG)

Προκειται για τον επικρατούντα τύπο αντισωμάτων που παράγεται κατά την δευτερογενή ανοσολογική απόκριση. Η ανοσοσφαιρίνη IgG αντιστοιχεί στο 75-85% των ανοσοσφαιρινών του ορού. Είναι η μόνη ανοσοσφαιρίνη που διαπερνά τον πλακούντα και έχει ιδιαίτερη σημασία για την άμυνα των νεογνών έναντι των αιματογενώς μεταδιδόμενων λοιμώξεων. Υπάρχει μεγάλος αριθμός αυτοαντισωμάτων κατηγορίας IgG που περιλαμβάνει αντιπυρηνικά, αντιερυθροκυτταρικά και αυτοαντισώματα έναντι βασικής μεμβράνης.

Το 70% των μυελωμάτων ανήκουν στην κατηγορία IgG.

Φυσιολογικά δεν ανιχνεύεται στα ούρα.

Τα επίπεδα της IgG αυξάνονται στον ορό σε:

- Αυτοάνοσα νοσήματα (Συστηματικό Ερυθηματώδη Λύκο- ΣΛΕ, Συστηματική Σκλήρυνση, Συνδρομο SJOGREN κλπ)
- Χρόνια ηπατοπάθεια
- Χρόνιες υποτροπιάζουσες φλεγμονώδεις νόσους(π.χ. φυματίωση)
- Σαρκοείδωση
- Παρασιτικές νόσους
- Λεμφώματα
- IgG Μυέλωμα

Τα επίπεδα της IgG μειώνονται στον ορό σε:

- Αγαμμασφαιριναιμία
- Νεφρωσικό σύνδρομο
- Non- IgG μυέλωμα
- X- linked IgM σύνδρομο
- Σε νεογνά
- Σε εγκύους (μικρή μείωση).

Ένδειξεις για την ποσοτική εκτίμηση της IgG αποτελούν οι σοβαρές υποτροπιάζουσες λοιμώξεις, η εκτίμηση ανταπόκρισης στην θεραπεία του IgG μυελώματος, η διερεύνηση πιθανής ανοσοανεπάρκειας (σύνδρομο Wiskott-Aldrich) (Craig et al.2012).

Στην ιδιοπαθή μεμβρανώδη σπειραματοπάθεια η IgG είναι δείκτης της βαρύτητας της σπειραματικής βλάβης (Hou et al 2019).

ΤΙΜΕΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ (ΟΡΟΥ)		
ΗΛΙΚΙΑ	ΑΝΔΡΕΣ	ΓΥΝΑΙΚΕΣ
0-0.1y	4-17,6 g/L	3,9- 17,5 g/L
0,2-10y	3,5- 16,2 g/L	4 - 15,9 g/L
11-30y	6,5- 162 g/L	6,4 -17 g/L
>30y	6,6 - 16,9 g/L	6,5 -16,4 g/L

Όπως στην ιδιοπαθή

μεμβρανώδη σπειραματοπάθεια (Hou et al.2019) έτσι και στην διαβητική σπειραματοπάθεια σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη (ΣΔ) τύπου II η IgG είναι αυξημένη στα ούρα (Torfvitt et al.2012).

1.6.7 ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΕΛΑΦΡΕΣ ΑΛΥΣΟΙ κ,λ (FLC κ, λ)

Οι ελαφρές αλυσοί, τμήματα όλων των μορίων ανοσοσφαιρίνης είναι είτε κ, είτε λ. Οι ελαφριές αλυσοί μπορεί να είναι θερμικά ενεργές πρωτεΐνες (Bence Jones). Δεν έχουν καμία ειδική λειτουργία παρά μόνο ως τμήματα των ακέραιων ανοσοσφαιρινών. Αποβάλλονται από τα νεφρικά σπειράματα, καταβολίζονται στα εγγύς εσπειραμένα σωληνάρια και απόβάλλονται στα ούρα.

Οι συγκεντρώσεις των FLC στον ορό εξαρτώνται από την ισορροπία μεταξύ της παραγωγής τους από τα πλασματοκύτταρα και της νεφρικής κάθαρσής τους. Φυσιολογικά, σε ένα 24ωρο, τα πλασματοκύτταρα παράγουν 0,5–1g FLC, ενώ οι νεφροί έχουν τη δυνατότητα μεταβολισμού 20–30g ημερησίως (Κάκκας, 2012).

Η παρουσία FLCκ,λ είναι σημαντική για την ανάπτυξη των παθολογικών και κλινικών σημείων της δυσκρασίας των πλασματοκυττάρων με νεφρικές εκδηλώσεις (νόσος εναπόθεσης ελαφρών αλυσων).

Παθολογικές τιμές του κ/λ ratio πρακτικά παρατηρούνται μόνο σε Πλασματοκυτταρικές Δυσκρασίες (ΠΔ) και σε λεμφοϋπερπλαστικά σύνδρομα. Διαταραχή αυτής της αναλογίας μπορεί να υποδηλώνει ανωμαλία σε μια ανοσοσφαιρίνη, δεδομένου ότι οι μονοκλωνικές ανοσοσφαιρίνες διαθέτουν μόνο ένα τύπο ελαφράς αλυσού.

Η αναλογία κ/λ ελαφρών αλύσων (κ/λ ratio) 2:1 μεταξύ των συμπλοκών πρωτεϊνών ελαφρών αλύσων είναι χαρακτηριστικό των πολυκλωνικών ανοσοσφαιρινών.

Δείγματα ορών ασθενών οι οποίοι παρουσιάζουν είτε διάχυτη υπεργαμμασφαιριναιμία είτε έκπτωση της νεφρικής λειτουργίας είναι δυνατόν να εμφανίζουν αυξημένες τιμές κ και λ FLC όμως το πηλίκο κ/λ (ratio) παραμένει εντός των φυσιολογικών διακυμάνσεων στις εν λόγω καταστάσεις.

Οι μετρήσεις των FLC του ορού διενεργούνται νεφελομετρικά (Κάκκας, 2012).

Τιμές αναφοράς ορού (Ενηλίκων) / ούρων (Ενηλίκων)		
κ-άλυσοι	→ 3,3-19,4 mg/L	/ <25,8mg/L
λ-άλυσοι	→ 5,7-26,3 mg/L	/ <11,3mg/L
κ:λ	→ 0,26-1,65	/ 1,4-6,2

Διαταραχή στην αναλογία κ/λ εμφανίζεται σε :

- Νόσο ελαφρών αλύσων
- Μακροσφαιριναιμία Waldenström
- Λεμφογενής λευχαιμία
- Νεφρική νόσο
- Πρωτοπαθή Αμυλοείδωση
- Πολλαπλό μυέλωμα
- Γαστρεντερικές και αναπνευστικές λοιμώξεις (σπάνια συνδέονται με απουσία σύνθεσης της αλυσίδας κ).

Ενδείξεις για την ποσοτική εκτίμηση των FLC κ,λ είναι η υποψία μονοκλωνικής γ-σφαιρινοπάθειας, η αδιευκρίνιστη νεφρική νόσος, η συγγενής ανοσοανεπάρκεια και το AIDS.

Στα ούρα των ασθενών με μονοκλωνική γ-σφαιρινοπάθεια, οι FLC κ,λ χρησιμοποιούνται για την εκτίμηση της αύξησης της νεοπλασίας, της υποτροπής και της απόκρισής της στη θεραπεία (Craig et al.2012).

1.6.8 ΑΛΒΟΥΜΙΝΗ

Η αλβουμίνη (λευκωματίνη) αντιστοιχεί σε ποσοστό άνω του ημίσεως της ολικής πρωτεΐνης του πλάσματος και αντιπροσωπεύει περίπου το 10% της πρωτεϊνικής σύνθεσης που διενεργείται στο ήπαρ. Συντίθεται στα ηπατοκύτταρα, εισέρχεται μέσω της ηπατικής φλέβας στην κυκλοφορία και καταβολίζεται στα τριχοειδικά ενδοθηλιακά κύτταρα πολλών ιστών μετά από πινοκύττωση.

Οι φυσιολογικές λειτουργίες της αλβουμίνης απορρέουν από τη συμμετοχή της στη ρύθμιση της οσμωτικής πίεσης του αίματος και στη λειτουργία μεταφοράς μορίων.

Αυτές συνοψίζονται στα εξής :

- Διατήρηση της κολλοιδωσμωτικής πίεσης στον αγγειακό και εξωαγγειακό χώρο
- Αποτελεί πηγή αμινοξέων για την πρωτεϊνοσύνθεση
- Αποτελεί πρωτεΐνη-μεταφορέα για μεταλλικά ιόντα, λιπαρά οξέα φωσφολιπιδία, φάρμακα, βιταμίνες, ορμόνες και τη χολερυθρίνη
- Δρα ως αντιοξειδωτικός παράγοντας διότι δεσμεύει ελεύθερα λιπαρά οξέα, δισθενή κατιόντα και χολερυθρίνη
- Δρα ως ελεύθερο ρυθμιστικό διάλυμα του πλάσματος αφού δεσμεύει ελεύθερα ιόντα και άλλα φορτισμένα μόρια.
- Αναστέλλει την παραγωγή λευκοτριένης και ακτίνης αναστέλλοντας έτσι την φλεγμονώδη απάντηση των αιμοπεταλίων και ουδετερόφιλων.

Η αλβουμίνη αποτελεί δείκτη του επιπέδου πρωτεϊνών του οργανισμού ωστόσο η αξιοπιστία της ως δείκτη της διατροφικής κατάστασης του ατόμου είναι αμφισβητούμενη λόγω του μεγάλου

χρόνου ημίσειας ζωής της (19h) και της περιορισμένης σύνθεσής της στις περισσότερες φλεγμονώδεις καταστάσεις.

ΤΙΜΕΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ		
ΗΛΙΚΙΑ	ΑΝΔΡΕΣ	ΓΥΝΑΙΚΕΣ
0-1y	35,5-50 g/L	36,3- 50 g/L
2-30y	36,6- 55,2 g/L	35-54 g/L
31-50y	36,1- 53,6 g/L	35,1-51,4 g/L
>50y	33,4-50,9 g/L	33-49,7 g/L

Αυξημένες συγκεντρώσεις ορού συνήθως συνδέονται με αιμοσυμπύκνωση λόγω αφυδάτωσης (Craig et al.2012).

Μειωμένες συγκεντρώσεις αλβουμίνης ορού εμφανίζονται σε βακτηριακές λοιμώξεις, εμπύρετο, τραύμα, οξεία ή χρόνια ηπατική νόσο, νεφρωσικό σύνδρομο, υποσιτισμό, εγκυμοσύνη, γενετική υποαλβουμιναιμία, πρόωρα νεογνά, αμυλοείδωση, ελκώδη κολίτιδα, εγκαύματα, γαστροεντερικά συρίγγια, περικαρδίτιδα, ορογονίτιδα, εντεροπάθεια εκ γλουτένης, αγγειίτιδα, νεοπλασίες.

Η αλβουμίνη ορού χρησιμοποιείται για την παρακολούθηση της διατροφικής κατάστασής και της προόδου κατά την θεραπεία αλλά και για την παρακολούθηση της ηπατικής και νεφρικής νόσου σε χρονίως πάσχοντες. Ο πιο σημαντικός ρόλος της είναι η εκτίμηση της πρόγνωσης.

Η αλβουμίνη που ανιχνεύεται στα ούρα αποτελεί δείκτη νεφρικής νόσου. Η βασική μεμβράνη του σπειράματος εμποδίζει αποτελεσματικά την διέλευση πρωτεϊνών μεγάλου MB όπως η αλβουμίνη.

Η ημερήσια ποσότητα σωληναριακής πρωτεΐνης μικρού MB που απεκκρίνεται στα ούρα σε φυσιολογικό άτομο είναι λιγότερη από 150 mg/dl το 24h.

Η επίμονη πρωτεϊνουρία αποτελεί σχεδόν πάντα ένδειξη νεφρικής νόσου. Η αλβουμινουρία αποτελεί ένδειξη σπειραματοπάθειας. Ελαφρά αλβουμινουρία(>30mg/24h αλλά <300mg/24h)

παρατηρείται σε πρώιμη διαβητική νεφροπάθεια. Αλβουμινουρία $>3,5\text{g}/24\text{h}$ είναι ενδεικτική του νεφρωσικού συνδρόμου (ΠΑΘΟΛΟΓΙΑ CECIL, 2003).

<u>ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ ΟΥΡΩΝ - ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ ΣΕ ΝΕΦΡΙΚΗ ΝΟΣΟ</u>	
A1-ΜΙΚΡΟΣΦΑΙΡΙΝΗ	Αυξάνεται σε σωληναριακή πρωτεинуρία.
B2- ΜΙΚΡΟΣΦΑΙΡΙΝΗ	Αυξάνεται σε σωληναριακή πρωτεинуρία και σε πρωτεинуρία λόγω λεμφικής νεοπλασίας.
ΕΛΑΦΡΕΣ ΑΛΥΣΟΙ ΑΝΟΣΟΣΦΑΙΡΙΝΗΣ (κ και λ)	Αυξάνονται σε σωληναριακή πρωτεинуρία (πολυκλωνική) και σε BENCE JONES πρωτεинуρία (μονοκλωνική).
ΑΛΒΟΥΜΙΝΗ	Ελαφρά αλβουμινουρία σε πρώιμη διαβητική νεφροπάθεια $>30\text{mg}/24\text{h}$ αλλά $<300\text{mg}/24\text{h}$. Αυξάνεται σε σπειραματική πρωτεинуρία.
NGAL	Αυξάνεται στα ούρα σε οξεία σωληναριακή νεφρική βλάβη άμεσα ακόμα και αν αυτή εμφανίζεται σε υποκλινικό στάδιο.
ΣΥΣΤΑΤΙΝΗ C	Εμφανίζεται στα ούρα σε σωληναριακή πρωτεинуρία.
IgG	Αυξάνεται σε μη επιλεκτική σπειραματική πρωτεинуρία.

1.6.9 Η ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΑΣΗ ΤΗΣ ΓΛΟΥΤΑΘΕΙΟΝΗΣ (GPx)

Η υπεροξειδάση γλουταθειόνης (E.C1.11.9,GPx) αποτελεί κύρια κατηγορία αντιοξειδωτικών ενζύμων εξαρτώμενων από το σελήνιο (Se).

Το σελήνιο (Se) είναι ένα ιχνοστοιχείο που διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην υγεία του ανθρώπινου οργανισμού. Συμβάλλει στην προστασία από την καρδιαγγειακή νόσο, την ογκογένεση, την διατήρηση της φυσιολογικής λειτουργίας του θυρεοειδή αδένος και διεγείρει το ανοσοποιητικό σύστημα ενάντια στις ιογενείς λοιμώξεις χάρη στη συμμετοχή του στο ανοσοποιητικό σύστημα με την μορφή σελήνιο-εξαρτώμενων ενζύμων (Jacobson et al. 2006; Zachara et al.2006; Brigelius-Frohe,2006).

Η οικογένεια του σελήνιο-ενζύμου υπεροξειδάση γλουταθειόνης (GPx), αποτελείται από 6 κύρια ισομερή (Brigelius-Frohe 2006; Margis et al 2018; Zoidis et al.2018):

- A) την πρότυπη (standard) ενδοκυττάρια μορφή του ενζύμου (cGPx),
- B) την υπεροξειδάση της γλουταθειόνης του γαστρεντερικού συστήματος (GIGPx),
- Γ) την φωσφολιποειδική υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (PHGPx),
- Δ) την εξωκυττάρια υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (eGPx ή plGPx) ,
- E) την υπεροξειδάση της γλουταθειόνης ισοένζυμο 5 (GPx5),
- ΣΤ) την υπεροξειδάση της γλουταθειόνης ισοένζυμο 6 (GPx6).

Τα ένζυμα της οικογένειας αυτής παίζουν ρόλο κλειδί στην οξειδοαναγωγική ισορροπία του οργανισμού και την ομοιόσταση.

Με την αναγωγή της γλουταθειόνης (GSH) εμποδίζουν τη βλάβη που προκαλούν οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου (ROS–reactive oxygen species) όταν επιδρούν σε κυτταρικό υπόστρωμα. Αυτή η αντίδραση λαμβάνει χώρα τόσο ενδοκυτταρίως όσο και στον εξωκυττάρια χώρο όπου το ένζυμο του πλάσματος η eGPx ή plGPx παίζει σημαντικό ρόλο (De Vega et al 2002; Margis et al 2018; Zoidis et al 2018).

Τα ένζυμα της οικογένειας GPx χαρακτηρίζονται από τα εξής:

- 1) Εξάρτηση της ενζυμικής δράσης από τη συγκέντρωση του σεληνίου στον οργανισμό (fast or slow responders).
- 2) Παρουσία σεληνοκυστεΐνης στην δομή της πρωτεΐνης η οποία προσδίδει την ενζυμική δράση.
- 3) Η δράση του ενζύμου λαμβάνει χώρα με μια αντίδραση που ακολουθεί μηχανισμό ping-pong κατά την οποία το σελήνιο της σεληνοκυστεΐνης καταλύει την αντίδραση αναγωγής του H_2O_2 και των οργανικών υπεροξειδίων ($ROOR'$).
- 4) Η οξείδωση του σεληνίου καταλύεται με την μεσολάβηση της γλουταθειόνης (GSH) ως υπόστρωμα (Zoidis et al.2018).

Η πρότυπη (standard) ενδοκυττάρια μορφή του ενζύμου EC 1.11.1.9.(cGPx), η πρώτη που εντοπίστηκε στα θηλαστικά (Mills, 1957), είναι ένα ομοτετραμερές (Margis et al.2018). Αποτελείται από 4 ταυτόσημες υπομονάδες κάθε μια από τις οποίες περιέχει ένα υπόλειμμα κυστεΐνης το οποίο συνδέεται με ένα άτομο σεληνίου. Το υπόλειμμα κυστεΐνης–σεληνίου αποτελεί το ενεργό τμήμα του ενζύμου. Η cGPx ανάγει μόνο τα διαλυτά υπεροξείδια όπως το H_2O_2 και μερικά οργανικά υπεροξείδια όπως τα υδρο-υπεροξυ λιπαρά οξέα και το τβουτυλ υπεροξείδιο.

Η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης του γαστρεντερικού σωλήνα (GIGPx) είναι δομικά όμοια με την πρότυπο μορφή αλλά είναι περισσότερο ενεργή στην αναγωγή των οργανικών υπεροξειδίων. Έχει ταυτοποιηθεί όχι μόνο στον γαστρεντερικό σωλήνα αλλά και στο ανθρώπινο ήπαρ. Αποτελεί αντιοξειδωτικό φραγμό πρώτης γραμμής για τα προσλαμβανόμενα μέσω της τροφής οξειδωτικά μόρια αλλά και για όσα παράγονται στο ήπαρ (Brigelius-Flohé 2006; Margis et al. 2018).

Η φωσφολιποειδική υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (PHGPx) αποτελεί μονομερές ενζυμο της κυτταρικής μεμβράνης με MB μικρότερο από αυτό των υποομάδων των άλλων ισομερών της κατηγορίας αυτής (Iami&Nakagawa 2003; Margis et al 2018; Zoidis et al.2018). Χάρη στο μικρό MB και την υδρόφοβη επιφάνειά του το ένζυμο έχει την ικανότητα να αντιδρά με τα σύνθετα λιπίδια των βιομεμβρανών όπως το υδρο-υπεροξείδιο της φωσφατιδυλοχολίνης. Θεωρείται προστατευτικός μηχανισμός των βιομεμβρανών (Thomas et al.1990).

Η ενεργότητα της φωσφολιποξειδικής υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης (PHGPx) είναι γενικά μικρότερη από της cGPx σε όλα τα όργανα με εξαίρεση τους όρχεις όπου η ενεργότητα της PHGPx είναι η μεγίστη. Είναι απαραίτητη για την σεξουαλική ωρίμανση και την διαφοροποίηση των γεννητικών κυττάρων στους άρρενες (Brigellius-Flohé 2006; Frohe & Brigellius-Frohe 2006).

Η εξωκυττάρια υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (eGPx ή plGPx) απομονώθηκε αρχικά στο ανθρώπινο πλάσμα (Takahashi et al. 1987; Maddipati & Marnett 1987). Διαφέρει στην δομή, την αντιγονική συμπεριφορά και την ενζυμική δράση από τα ενδοκυττάρια ισομερή (Avisar et al. 1989). Είναι ένα ομοτετραμερές με MW ~100 kDa, το οποίο έχει 30 γλυκοζυλιωμένα υπολείμματα σε κάθε μονομερές, 26N- και 4C-τελικά υπολείμματα (Takahashi et al. 1990; Ren et al. 1997).

Η eGPx ανάγει οργανικά υπεροξείδια απλά ή σύνθετα όπως φωσφολιποξειδικά υπεροξείδια (Brigellius-Flohé 2006; Margis et al. 2018, Zoidis et al. 2018).

Το τετραμερές eGPx που βρίσκεται στο πλάσμα προέρχεται κυρίως από το νεφρό που είναι ένα εξειδικευμένο όργανο με αυξημένη έκφραση αντιοξειδωτικών ουσιών (Avisar et al. 1994, Yoshimura et al. 1996, De Vega et al. 2002). Ο νεφρός αποτελεί την κύρια θέση ανίχνευσης eGPx mRNA σε ανθρώπους, αρουραίους και ποντίκια. Έχει εντοπιστεί με ανοσοφθορισμό σε παρασκευάσματα νεφρού ινδικών χοιριδίων (Muse et al. 1994), αλλά και στα εγγύς εσπειραμένα σωληνάρια ανθρώπινου νεφρού (Whitin et al. 2002). Παράγεται κυρίως στα κύτταρα του εγγύς εσπειραμένου σωληναρίου και εν συνεχεία εκκρίνεται στο αίμα (Whitin et al. 2002). Ειδικότερα η eGPx εκκρίνεται από τη βασικοπλάγια μεμβράνη των κυττάρων του εγγύς εσπειραμένου σωληναρίου του ανθρώπινου νεφρού στο εξωκυττάριο υγρό και στη συνέχεια εισέρχεται στο πλάσμα (Avisar et al. 1994, Whitin et al. 2002).

Εκτιμάται ότι η eGPx συμμετέχει σε μηχανισμό που προστατεύει το νεφρικό ιστό από την καταστροφική δράση των ελεύθερων ριζών (ROS). Η ενεργότητα του ενζύμου όσο και η

συγκέντρωσή του είναι δηλωτικά της λειτουργικής μάζας του νεφρού (Schiavon et al.1994b; De Vega et al.2002; Zoidis et al.2018).

Η eGPx έχει αποδειχτεί ότι παράγεται σε μικρότερες ποσότητες και σε άλλους ιστούς όπως στην καρδιά, τον γαστρεντερικό σωλήνα, τον πνεύμονα, το πάγκρεας, τον εγκέφαλο, τους σκελετικούς μυς, τον οφθαλμό, τον πλακούντα, την επιδιδυμίδα. Στον άνθρωπο η eGPx συναντάται εκτός από το πλάσμα, στο μητρικό γάλα, στο υγρό έκπλυμα του πνεύμονα (lavage fluid), στο αμνιακό υγρό (Whitin et al.1998,Tham et al 1998,2002; Margis et al.2018).

Σύμφωνα με τις διαθέσιμες βιβλιογραφικές πηγές δεν εντοπίζεται ενεργότητα eGPx στα ούρα και δεν έχουν εντοπιστεί αναστολείς της eGPx σε αυτά (Whitin et al.2002).

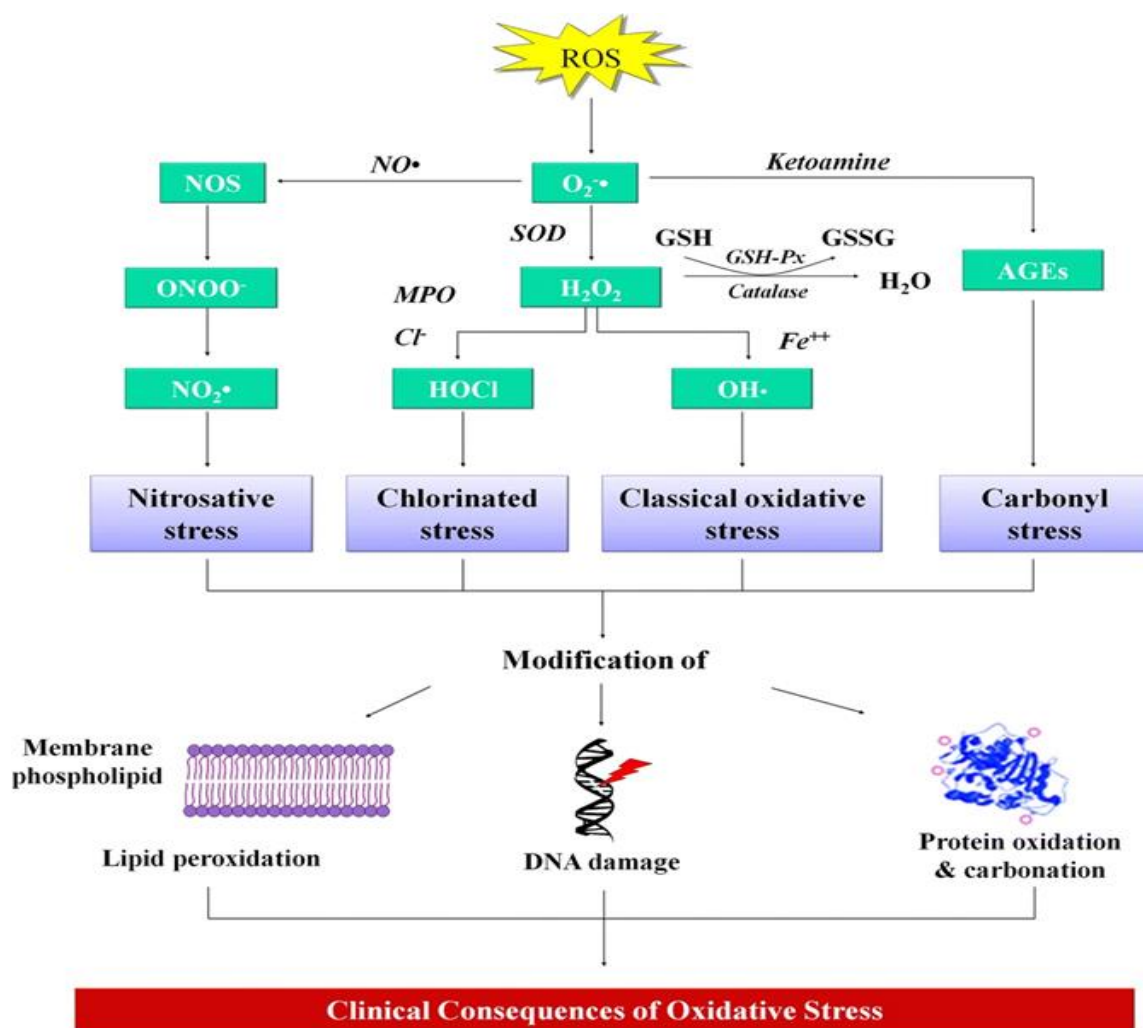
Σε ανεφρικούς ασθενείς, που πριν από μεταμόσχευση νεφρού εμφάνιζαν πολύ μικρή τιμή eGPx στο πλάσμα, έχει παρατηρηθεί αύξηση της ενεργότητας της eGPx στο πλάσμα μετά από την επέμβαση (Yoshimura et al.1996; Whitin et al.1998).

Η φυσιολογική συγκέντρωση της eGPx στο πλάσμα στη βιβλιογραφία καταγράφεται με αντιφατικό τρόπο. Συγκεκριμένα αναφέρεται συγκέντρωση 50-60 ng/mL σε υγιείς ενήλικες (υπό χορήγηση συμπληρώματος β-καροτενίου) στις ΗΠΑ (McGill et al.2003), 80-90ng/mL σε εγκύους (α' τρίμηνο κύησης/ 83.7ng/mL, β' τρίμηνο/81.0 ng/mL, γ' τρίμηνο /89.5 ng/mL) (Funai et al. 2002), 13.8+/-7,3μg/mL σε υγιή άτομα που αποτέλεσαν την ομάδα ελέγχου σε συγκριτική μελέτη σε ασθενείς με σοβαρό οξύ βρογχικό άσθμα (Jacobson et al.2007).

Τέλος έχουν εντοπισθεί δύο ακόμα ισοένζυμα, τα GPx5 και GPx6, ταυτοποιημένα σε θηλαστικά. Το GPx5 δεν έχει τη σεληνοκυστεΐνη στην ενεργή θέση και εκκρίνεται στην επιδιδυμίδα. Το ένζυμο GPx6 εντοπίστηκε σε ανθρώπους και χοίρους, είναι εξαρτώμενο από το σελήνιο και βρίσκεται στο οσφρητικό επιθήλιο (Margis et al.2018).

Για τους ανωτέρω λόγους θεωρείται σημαντικό να διερευνηθεί η χρησιμότητα του ενζύμου eGPx ως βιολογικού δείκτη για την έγκαιρη διάγνωση της ιστικής βλάβης και /ή δυσλειτουργίας των νεφρών. Ένας τέτοιος δείκτης θα ήταν ιδιαίτερα χρήσιμος στην δευτερογενή πρόληψη (secondary

prevention) της νεφρικής βλάβης που προκαλείται σε επαγγελματικά εκτεθειμένα άτομα σε χημικούς παράγοντες όπως είναι το TCE.



Σχήμα13. Μηχανισμός οξειδωτικού stress στην χρόνια νεφρική νόσο Ling X-C., Kuo KL., 2018; Oxidative stress in chronic kidney disease *Renal Replacement Therapy* vol 4, Article number: 53).

2. ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της παρούσας ερευνητικής εργασίας είναι:

1. Η μέτρηση της συγκέντρωσης του οργανικού διαλύτη TCE σε επιλεγμένους, ειδικούς χώρους εργασίας και η αξιολόγηση της έκθεσης των, υπό διερεύνηση, εργαζομένων.
2. Η διερεύνηση της πρώιμης νεφρικής βλάβης αυτών των εργαζομένων σε σχέση με την έκθεσή τους στο TCE, τόσο κατά τον παρόντα χρόνο όσο και κατά το παρελθόν. Η διερεύνηση αυτή θα γίνει με βιοδείκτες τεκμηριωμένης διαγνωστικής αξίας για την πρώιμη (πειραματική ή/και σωληναριακή) νεφρική βλάβη.
3. Προσδιορισμός του ενζύμου eGpx στον ορό και στα ούρα των εργαζομένων.
4. Συσχέτιση των ανωτέρω επιπέδων eGpx αφενός με την έκθεση σε TCE και αφετέρου με την πρώιμη νεφρική βλάβη.

3.ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

3.1 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Για την μελέτη επιλέξαμε άτομα που εργάζονταν σε 2 διαφορετικούς εργασιακούς χώρους (**A και B**) όπου είχε καταγραφεί, τόσο κατά το χρόνο της δειγματοληψίας όσο και κατά το παρελθόν, έκθεση στο διαλύτη TCE. Η ένταξή τους στη μελέτη πραγματοποιήθηκε μετά από διεξοδική ενημέρωση από την ΙΕ και την προφορική συναίνεσή τους.

Ο χώρος εργασίας **A** ήταν βιομηχανική μονάδα η οποία διέθετε τμήμα απολίπανσης και ανακατασκευής οχημάτων. Ο διαλύτης TCE χρησιμοποιούνταν ως καθαριστικό, απολιπαντικό μέσο των μεταλλικών εξαρτημάτων κατά την ανακατασκευή των οχημάτων. Στο χώρο αυτό οι εργαζόμενοι ανέφεραν άμεση χρόνια έκθεση στο νεφροτοξικό οργανικό διαλύτη TCE, κατά το ωράριο εργασίας, τόσο στο παρελθόν όσο και κατά το χρόνο συλλογής των δειγμάτων.

Ο χώρος εργασίας **B** ήταν αεροπορική βιομηχανία, η οποία διέθετε μονάδα απολίπανσης - ανακατασκευής εξαρτημάτων αεροσκαφών.

Στο χώρο αυτό χρησιμοποιούνταν κατά το παρελθόν ο διαλύτης TCE ως απολιπαντικό μέσο των μεταλλικών εξαρτημάτων. Οι εργαζόμενοι είχαν στο παρελθόν άμεση έκθεση επί 15-20έτη στο διαλύτη TCE. Την τελευταία 10ετία η μέθοδος απολίπανσης μεταλλικών εξαρτημάτων είχε τροποποιηθεί και εκσυγχρονιστεί οπότε οι εργαζόμενοι δεν είχαν πλέον επαγγελματική έκθεση στο διαλύτη TCE.

Οι εργαζόμενοι, ανάλογα με το χώρο και το χρόνο έκθεσης, χωρίστηκαν σε τέσσερις διαφορετικές ομάδες και διενεργήθηκε μελέτη χρονικής στιγμής. Οι ομάδες αυτές διακρίθηκαν ως εξής:

-Ομάδα A1 (παροντική άμεση έκθεση): αποτελούνταν από εργαζόμενους σε μονάδα απολίπανσης-ανακατασκευής οχημάτων (**χώρος A**) με συστηματική άμεση επαγγελματική έκθεση στο TCE. Οι θέσεις εργασίας A1 βρίσκονταν πολύ κοντά στη δεξαμενή TCE (<3m από την δεξαμενή).

Οι εργαζόμενοι ανέφεραν κατά την λήψη του επαγγελματικού ιστορικού ότι συχνά χρησιμοποιούσαν τον διαλύτη για να καθαρίσουν τα υπολείμματα των ελαιολιπαντικών από τα χέρια τους και δεν χρησιμοποιούσαν κανένα ατομικό μέσο προστασίας (ΜΑΠ) δέρματος.

Επίσης δεν χρησιμοποιούσαν συστηματικά ΜΑΠ αναπνευστικού συστήματος.

Ανέφεραν συμπτώματα από την εισπνοή ατμών διαλύτη όπως ζάλη, κεφαλαλγία, δακρύρροια, ξηρότητα στόματος, αίσθημα ευφορίας.

Στο χώρο δεν υπήρχε απαγωγό σύστημα των ατμών του διαλύτη πάνω από την δεξαμενή, όπου τοποθετούσαν το διαλύτη σε μεγάλες ποσότητες και εμβάπτιζαν τα μεταλλικά τμήματα οχημάτων για απολίπανση (cold cleaning), ούτε διάταξη μηχανικού εξαερισμού.

-Ομάδα Α2 (παροντική έμμεση έκθεση): αποτελούνταν από εργαζομένους επίσης στο χώρο Α οι οποίοι είχαν έμμεση έκθεση σε ατμούς του διαλύτη TCE καθώς εργάζονταν σε απόσταση >3m από την δεξαμενή TCE.

Ανέφεραν εισπνοή ατμών διαλύτη και συχνή εκδήλωση συμπτωμάτων όπως ζάλη, κεφαλαλγία, δακρύρροια, ξηρότητα στόματος αλλά σε μικρότερη ένταση από τους εργαζόμενους της ομάδας Α1.

-Ομάδα Β1 (παρελθοντική άμεση έκθεση): αποτελούνταν από εργαζόμενους σε αεροπορική βιομηχανία (χώρος Β) οι οποίοι ανέφεραν έκθεση στο TCE για 15-20έτη κατά το παρελθόν. Ο διαλύτης τοποθετούνταν σε δεξαμενή όπου εμβάπτιζονταν τα μεταλλικά τμήματα των αεροσκαφών για απολίπανση (cold cleaning).

Κατά την εργασία οι εργαζόμενοι χρησιμοποιούσαν ΜΑΠ δέρματος (φόρμες εργασίας, γάντια) και αναπνευστικού συστήματος (ειδικές μάσκες).

Στο χώρο λειτουργούσε απαγωγό σύστημα των ατμών του διαλύτη και μηχανικός εξαερισμός. Ο μηχανολογικός εξοπλισμός ελέγχονταν τακτικά για την λειτουργική του επάρκεια.

Οι εργαζόμενοι την τελευταία 10ετία δεν είχαν καθόλου επαγγελματική έκθεση στο διαλύτη, λόγω εκσυγχρονισμού της παραγωγικής διαδικασίας και διακοπής της χρήσης του διαλύτη.

-Ομάδα B2 (ομάδα ελέγχου): αποτελούνταν από εργαζόμενους, διοικητικό προσωπικό στο χώρο **B**, οι οποίοι ουδέποτε εκτέθηκαν επαγγελματικά, καθιονδήποτε τρόπο στο διαλύτη ή σε άλλους νεφροτοξικούς παράγοντες όπως βαρέα μέταλλα. Απασχολούνταν πάντα ως διοικητικό προσωπικό και εργάζονταν σε εγκατάσταση αρκετά απομακρυσμένη από τον χώρο χρήσης του οργανικού διαλύτη.

Οι εργαζόμενοι των ομάδων A1,A2,B1,B2 πληρούσαν τα εξής κριτήρια:

Ήταν όλοι κλινικά υγιείς, χωρίς ατομικό ιστορικό νεφρικής νόσου, αρτηριακής υπέρτασης (AY), σακχαρώδη διαβήτη (ΣΔ), χωρίς ενεργό νεφρική νόσο ή πάθηση του ουροποιητικού.

Η συστολική ΑΠ ήταν <140 mmHg και η διαστολική < 90mmHg.

Δεν έλαβαν καμιά φαρμακευτική αγωγή για τουλάχιστον 2 εβδομάδες πριν την εξέταση. Κάποιοι εξ αυτών ήταν ενεργοί, μέτριου βαθμού καπνιστές (1/2-1pack/d).

Το TCE ήταν ο μοναδικός οργανικός διαλύτης στον οποίο ανέφεραν επαγγελματική έκθεση τα μέλη των ομάδων A1, A2, B1.

Η προκαταρκτική αξιολόγηση των εργαζομένων περιελάμβανε ως όργανο συλλογής πληροφοριών τη χρήση ερωτηματολογίου, το οποίο συμπλήρωνε ατομικά ο καθένας, μετά από οδηγίες του εξεταστή ιατρού.

Το ερωτηματολόγιο ήταν συνδυασμός του ελληνικού ερωτηματολογίου για την Υποκειμενική Εκτίμηση της Ομοιογενούς Ομάδας Εργαζόμενων του Ελληνικού Ινστιτούτου Υγιεινής και Ασφάλειας της Εργασίας (ΕΛΙΝΥΑΕ) (Δρίβας, 2003) και του ερωτηματολογίου Q16 (Ihring et al.2001) που εκτιμά την πιθανότητα η έκθεση στο διαλύτη (κυρίως η άμεση) να είναι υπεύθυνη για νευροφυσιολογικά συμπτώματα του εργαζόμενου. Με αυτό τον τρόπο καταγράφηκε η υποκειμενική εκτίμηση του εργαζόμενου για την επίδραση του οργανικού διαλύτη στην καρδιακή λειτουργία, στο δέρμα και στο ΚΝΣ (αξιολογεί συγκέντρωση, μνήμη, συναίσθημα) μετά από την επαγγελματική έκθεση στο TCE.

3.2 ΜΕΤΡΗΣΗ TCE ΣΤΟΝ ΕΡΓΑΣΙΑΚΟ ΧΩΡΟ (GC-MS)

Η δειγματοληψία στο εργασιακό περιβάλλον πραγματοποιήθηκε με ρυθμό ροής 0.1L/min για περίπου 3 ώρες με συνολικό όγκο δείγματος περίπου 20L.

Το TCE προσροφήθηκε σε ενεργό άνθρακα 20/40 πλέγμα, 50/100mg μέσα σε συμπαγείς απορροφητικούς σωλήνες.

Οι δειγματοληπτικοί σωλήνες προσαρμόστηκαν σε βαθμονομημένες ατομικές αντλίες δειγματοληψίας που φέρουν εύκαμπτο πλαστικό σωλήνα.

Στο εργαστήριο, τα πρόσθια και οπίσθια απορροφητικά τμήματα του κάθε σωλήνα τοποθετήθηκαν σε χωριστά φιαλίδια, σε καθένα από τα οποία προστέθηκε 1,0 mL διθειάνθρακα που περιέχει 5 µg/mL φθοροβενζόλιο ως εσωτερικό πρότυπο.

Το εκχύλισμα αφέθηκε σε ηρεμία για 30 min με περιστασιακή ανακίνηση πριν από την ανάλυση. Ακολούθησε μέτρηση με αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μάζας (GC-MS).

Πρότυπα διαλύματα τριχλωροαιθυλενίου παρασκευάστηκαν σε διθειάνθρακα που επίσης περιείχαν 5ug/mL φθοροβενζόλιο ως εσωτερικό πρότυπο. Με τον τρόπο αυτό ελήφθησαν διαλύματα 0, 5, 10, 15, 20 και 25ug TCE/mL για τη δημιουργία της καμπύλης βαθμονόμησης.

Η καμπύλη βαθμονόμησης είχε ως εξής,

$$y = 0.056202x - 0.046705 \text{ με συντελεστή συσχέτισης } r = 0.999832.$$

Το GC Hewlett-Packard (μοντέλο 6890), συνδέθηκε με ένα επιλεκτικό ανιχνευτή μάζας(μοντέλο 5973) που χρησιμοποιήθηκε για την ανάκτηση και την επεξεργασία δεδομένων.

Χρησιμοποιήθηκε μια τριχοειδής στήλη συντηγμένου πυριτίου HP-5MS επικαλυμμένη με 5% φαινυλο-μέθυλο-σιλοξάνιο (30m x 0,25mm ID) και ονομαστικό πάχος μεμβράνης 0.25µm. Το φέρον αέριο ήταν ήλιο με υποπίεση στήλης 1.24psi και σταθερό ρυθμό ροής 0.6mL/min. Η θερμοκρασία έγχυσης καθορίστηκε στους 230°C και η θερμοκρασία στήλης μεταβλήθηκε από τους 30°C (5 min) στους 110°C με ρυθμό 4°C/min. Χρησιμοποιήθηκε η λειτουργία διαχωρισμού (SPLIT MODE) 1/30 για την έγχυση όγκου 2µL.

Η πηγή ιόντων διατηρήθηκε στους 230°C και τα φάσματα πρόσπτωσης ηλεκτρονίων μετρήθηκαν στα 70eV.

Στο φασματομέτρο μάζας (MS) χρησιμοποιήθηκε η τεχνική της παρακολούθησης επιλεγμένου ιόντος (SIM) και επιλέχθηκαν για ταυτοποίηση και ποσοτική μέτρηση TCE δύο από τα πλέον άφθονα ιόντα θραύσματος m/e 129 και m/e 166. (NIOSH:ΜΕΘΟΔΟΣ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗΣ 1022, ΕΓΧΕΙΡΙΔΙΟ ΑΝΑΛΥΤΙΚΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ, 4η έκδοση 1994).

3.3 ΑΝΑΛΥΣΗ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΣΤΟΝ ΟΡΟ

Τα δείγματα αίματος συλλέχθηκαν σε κατάλληλα σωληνάρια και μεταφέρθηκαν συσκευασμένα άμεσα στο εργαστήριο μέσα σε κυτία ψύξης.

Στο εργαστήριο ακολούθησε η φυγοκέντρωση των δειγμάτων αίματος στις 2000rpm για 15λεπτά ώστε να γίνει ο διαχωρισμός του κλάσματος του ορού και ακολούθως αποθηκεύτηκαν στους -80°C έως την στιγμή της ανάλυσης.

3.3.1 ΜΕΤΡΗΣΗ eGPx ΟΡΟΥ

Η ανάλυση των δειγμάτων ορού έγινε με ανοσοενζυμομετρική sandwich μέθοδο, στην οποία χρησιμοποιήθηκε τυποποιημένη συσκευασία (ELISA-kit) της Εταιρείας Calbiochem και ακολουθήθηκε το προτεινόμενο από την εταιρεία εργαστηριακό πρωτόκολλο.

Τα δείγματα υπέστησαν αραιώση 1:150 με το assay buffer (Tris-HCl buffer 0,05 M, pH 7.8, που περιείχε 0.1% βοείου καζεΐνης, 0.15 M NaCl, 0,1% Tween 20 and 0.2% NaN₃) και μετρήθηκαν εις διπλούν. Τα δείγματα κάθε ομάδας συμπεριλήφθησαν με τυχαίο τρόπο στην ίδια πλάκα ELISA.

Η διαδικασία της μεθόδου:

Τα πρότυπα διαλύματα και τα υπό εξέταση δείγματα τοποθετήθηκαν σε φρεάτια επενδυμένα με πολυκλωνικό αντίσωμα ειδικό δια το ένζυμο eGPx. Τα δείγματα επώαστηκαν για 2h σε

θερμοκρασία δωματίου, έγινε απόχυση του υγρού και ακολούθως τα φρεάτια πλύθηκαν με ρυθμιστικό διάλυμα «washing buffer» 5 φορές.

Στο 2ο στάδιο στα φρεάτια με τα δείγματα προστέθηκαν 100 μ L από βιοτινυλιωμένο πολυκλωνικό αντίσωμα ειδικό για το ενζυμο eGPx. Τα φρεάτια επώαστηκαν για 1 h σε θερμοκρασία δωματίου, έγινε απόχυση και ακολούθως έκπλυση των φρεατίων με ρυθμιστικό διάλυμα «washing buffer» 5 φορές.

Στο 3ο στάδιο στα φρεάτια προστέθηκαν 100 μ L δ/τος αβιδίνης-αλκαλικής φωσφατάσης, τα φρεάτια επώαστηκαν για 1h σε θερμοκρασία δωματίου, έγινε απόχυση του υγρού, έκπλυση με ρυθμιστικό διάλυμα «washing buffer» 5 φορές και προστέθηκαν 100 μ L από ένα υπόστρωμα p-φωσφορικό-νιτροφαινόλιο.

Μετά από επώαση των δειγμάτων για 20λεπτά στους 37°C, προστέθηκαν στα φρεάτια 50 μ L από το δ/μα διακοπής της αντίδρασης (stop solution) και μετρήθηκε η οπτική απορρόφηση (OD) σε αναλυτή (Sirio S, SEAC Radim Group, Italy) σε μήκος κύματος $\lambda=405\text{nm}$.

3.3.2 ΜΕΤΡΗΣΗ NGAL ΟΡΟΥ

Η ανάλυση των δειγμάτων ορού έγινε με ανοσοενζυμομετρική sandwich μέθοδο, στην οποία χρησιμοποιήθηκε τυποποιημένη συσκευασία του ELISA kit NGAL της Εταιρίας Ab Frontier και ακολουθήθηκε το προτεινόμενο εργαστηριακό πρωτόκολλο. Το τυποποιημένο προϊόν που χρησιμοποιείται στο AB Frontier kit είναι ανασυνδυασμένη ανθρώπινη NGAL, που αποτελείται από 178 αμινοξέα με MB=22 kDa. Τα δείγματα κάθε ομάδας συμπεριλήφθησαν με τυχαίο τρόπο στην ίδια πλάκα Elisa test και μετρήθηκαν εις διπλούν.

Η διαδικασία της μεθόδου:

Τα πρότυπα διαλύματα και τα υπό εξέταση δείγματα τοποθετήθηκαν σε φρεάτια επενδυμένα με πολυκλωνικό αντίσωμα ειδικό για το ενζυμο NGAL.

Τα δείγματα επώαστηκαν για 90min σε θερμοκρασία 37°C.

Στο 2ο στάδιο στα κελιά με τα δείγματα προστεθήκαν 100μL βιοτινυλιωμένο πολυκλωνικό αντίσωμα ειδικό για το ενζύμο NGAL, επώαστηκαν για 1 h σε θερμοκρασία 37°C. Ακολούθως πλύθηκαν με ρυθμιστικό διάλυμα «washing buffer» 3 φορές.

Στο 3ο στάδιο στα φρεάτια με τα δείγματα προστεθήκαν 100 μL διαλύματος αβιδίνης-βιοτίνης-υπεροξειδάσης. Επώαστηκαν για 30λεπτά σε θερμοκρασία 37°C και αφού πλύθηκε το πλακίδιο 5 φορές με 0,01M TBS ή 0,01M PBS ρυθμιστικό διάλυμα, προστέθηκαν 90μl διαλύματος δείκτη TMB σε κάθε φρεάτιο. Το πλακίδιο επώαστηκε στους 37°C για 20-25 λεπτά.

Στο τελευταίο στάδιο προστέθηκαν 100μl διαλύματος διακοπής αντίδρασης TMB (stop solution) σε κάθε φρεάτιο. Αμέσως το χρώμα μετατρέπεται από μπλέ σε κίτρινο.

Στα πρώτα 30λεπτά μετά την προσθήκη του διαλύματος διακοπής αξιολογήθηκε η οπτική απορρόφηση (OD) σε αναλυτή μέτρησης οπτικής απορρόφησης, σε μήκος κύματος $\lambda=450$ nm.

3.3.3 ΜΕΤΡΗΣΗ ΚΡΕΑΤΙΝΙΝΗΣ ΟΡΟΥ

Ο προσδιορισμός της κρεατινίνης ορού έγινε με δόκιμη μέθοδο στο βιοχημικό εργαστήριο του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας (ΠΝΛ).

3.4 ΑΝΑΛΥΣΗ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΣΤΑ ΟΥΡΑ

Τα δείγματα ούρων συλλέχθηκαν σε κατάλληλα δοχεία συλλογής και μεταφερθήκαν μέσα σε κυτία ψύξης στο εργαστήριο.

Στο εργαστήριο τα δείγματα διαχωρίστηκαν σε κλάσματα, τοποθετήθηκαν σε ξεχωριστά φιαλίδια. Αναμίχθηκαν με μικρή ποσότητα Tris-Hcl buffer (buffer:sample, 1:20, v/v), 0.2 M, pH 7.6, που περιείχε 1 % Tween-20, 0.05% NaN₃ και 20% βόειο οροαλβουμίνη ώστε να παρεμποδιστεί η πιθανή μη ειδική προσρόφηση των ποσοτήτων του ενζύμου eGPx στο εσωτερικό του τοιχώματος των σωληναρίων (Sundberg et al.1995, Bruening et al.1999).

3.4.1 eGPx ΟΥΡΩΝ

A. Προκαταρκτικά πειράματα για τροποποίηση / βελτιστοποίηση του πρωτοκόλλου ELISA

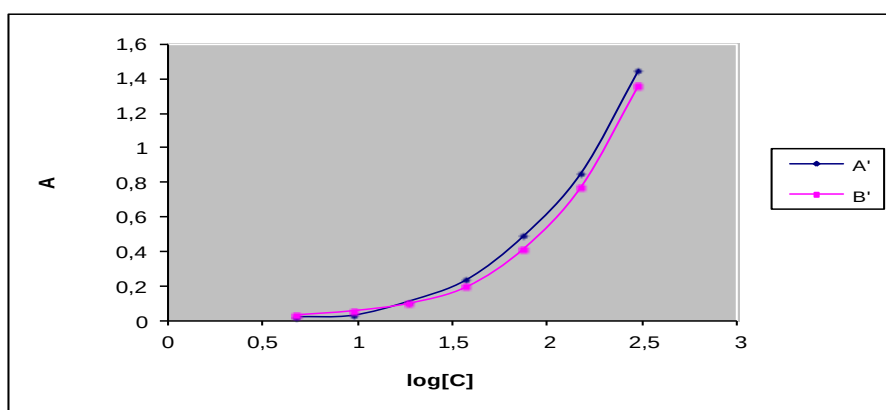
Η eGPx των ούρων προσδιορίστηκε με το εμπορικά διαθέσιμο kit ELISA, σύμφωνα με το πρωτόκολλο της εταιρίας Calbiochem ελαφρώς τροποποιημένο.

Μίγματα ούρων από φυσιολογικούς ενήλικες χρησιμοποιήθηκαν σε διαφορετικές αραιώσεις και με διαφορετικά αραιωτικά μέσα για την ανασύσταση του μητρικού προτύπου διαλύματος eGPx (300ng/ml) σε προκαταρκτικά πειράματα βελτιστοποίησης του πρωτοκόλλου ELISA.

Σκοπός των προκαταρκτικών αυτών πειραμάτων ήταν να προσδιορισθεί το βέλτιστο μέσο αραιώσης πρότυπων διαλυμάτων και δειγμάτων, ώστε να εξαλειφθεί το φαινόμενο της επίδρασης της υφής του δείγματος (matrix effect) στην πρότυπη καμπύλη.

Οι πρότυπες καμπύλες που ελήφθησαν, αξιολογήθηκαν κυρίως μέσω μελετών ανάκτησης, δηλαδή με την προσθήκη διαφορετικών όγκων του μητρικού προτύπου διαλύματος σε φυσιολογικά ούρα, που θεωρητικά περιείχαν μηδενική συγκέντρωση eGPx και μέτρηση, στη συνέχεια, των επιπέδων eGPx μέσω της αντίστοιχης πρότυπης καμπύλης (Grotjan, H.E&Keel, B.A.;1996).

Βέλτιστη πρότυπη καμπύλη (δηλαδή καμπύλη που οδήγησε σε βέλτιστες τιμές ανάκτησης) ελήφθει με μείγμα φυσιολογικών ούρων αραιωμένο 1:10 με το ρυθμιστικό διάλυμα της μεθόδου.



Σχήμα13. Πρότυπη καμπύλη της δοκιμασίας ELISA για τον προσδιορισμό της ανθρώπινης υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης σε δείγματα ορού ή πλάσματος (A') σε σύγκριση με την πρότυπη καμπύλη της τροποποιημένης μεθόδου ELISA, η οποία μπορεί να χρησιμοποιηθεί στον προσδιορισμό του ενζύμου σε δείγματα ούρων (B').

Οι τιμές του ενδο-και του δια-αναλυτικού συντελεστή διακύμανσης (intra- και inter-assay CVs) δεν υπερέβαιναν το 5% και 10%, αντίστοιχα.

Το όριο ανιχνεύσεως (που αντιστοιχεί σε $\geq 5\%$ διαφορά στην τιμή OD, έναντι αυτής του προτύπου διαλύματος με μηδενική συγκέντρωση eGPx), ήταν 9,4ng / mL.

B. Τροποποιημένο / βελτιστοποιημένο Πρωτόκολλο ELISA

Εν συντομία, 100μL από τα δείγματα ούρων (αραιωμένα 1:10 σε ρυθμιστικό διάλυμα της μεθόδου) και 100μL από τα πρότυπα διαλύματα (κατάλληλα αραιωμένα σε μείγμα ούρων από φυσιολογικούς ενήλικες, που είχε ήδη αραιωθεί 1:10 με το ρυθμιστικό διάλυμα της μεθόδου) προστέθηκαν στα φρεάτια μικροτιτλοδότησης του kit ELISA.

Ακολούθησε η διαδικασία που περιγράφεται για την ανάλυση των δειγμάτων ορού αίματος.

3.4.2 NGAL ΟΥΡΩΝ

Η NGAL των ούρων προσδιορίστηκε με το εμπορικά διαθέσιμο kit ELISA σύμφωνα με το πρωτόκολλο της κατασκευάστριας Εταιρείας Ab Frontier. Εν συντομία, 100 μL από τα δείγματα ούρων (αραιωμένα 1:10 σε ρυθμιστικό διάλυμα Kit Ab Frontier της μεθόδου) και 100 μL από τα πρότυπα διαλύματα προστέθηκαν στα φρεάτια μικροτιτλοδότησης του kit ELISA. Ακολουθήθηκε η διαδικασία που περιγράφεται για την ανάλυση των δειγμάτων ορού αίματος.

3.4.3 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΠΡΩΤΕΙΝΩΝ ΣΤΑ ΟΥΡΑ ΜΕ ΑΝΟΣΟΝΕΦΕΛΟΜΕΤΡΙΑ

Τα δείγματα ούρων στο εργαστήριο διαχωρίστηκαν σε κλάσματα, τοποθετήθηκαν σε ξεχωριστά φιαλίδια και αναμίχθηκαν με μικρή ποσότητα δ/μα 1N NaOH για να αλκαλοποιηθούν.

Ο ανοσονεφελομετρικός προσδιορισμός της συγκέντρωσης των πρωτεϊνών στα ούρα στηρίζεται στην ένταση φωτός που σκεδάζεται από τα συμπλέγματα πρωτεΐνης (αντιγόνου) και του προστιθέμενου αντισώματος.

Ο σχηματισμός των συμπλεγμάτων αυτών βρίσκεται σε εξάρτηση με την συγκέντρωση της πρωτεΐνης που θέλουμε να προσδιορίσουμε. Αρχίζει σε msec και είναι δυνατό να διαρκέσει ώρες. Για το λόγο αυτό στην ανοσονεφελομετρία απαιτείται η προτυποποίηση των χρόνων μέτρησης αναφορικά με τα συγκεκριμένα συστήματα αντιγόνου-αντισώματος.

Τελικός σκοπός είναι να επιτευχθεί η καλύτερη δυνατή συσχέτιση με την συγκέντρωση του αντιγόνου. Η πυκνότητα του σκεδασμένου φωτός είναι ανάλογη της συγκέντρωσης της αντίστοιχης πρωτεΐνης στο δείγμα.

Για τις μετρήσεις χρησιμοποιήθηκε το νεφελόμετρο SIEMENS NB 2M και αντιδραστήρια αντίστοιχα με τις προς προσδιορισμό πρωτεΐνες, δηλαδή οι πρότυποι οροί, το ρυθμιστικό διάλυμα και το υγρό αραίωσης των δειγμάτων.

Το αποτέλεσμα εκτιμήθηκε σε σύγκριση με ένα πρότυπο διάλυμα γνωστής συγκέντρωσης όπως ορίζει το BN System Instruction Manual.

Με ανοσονεφελομετρία αναλύθηκαν οι παράμετροι A1M, B2M, Cys C, FLC κ, λ και IgG.

3.4.4 ΑΛΒΟΥΜΙΝΗ ΟΥΡΩΝ

Ο προσδιορισμός της αλβουμίνης ούρων έγινε με δόκιμη μέθοδο του βιοχημικού εργαστηρίου του ΠΝΛ (Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Λάρισας).

3.5 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ

Οι ποσοτικές (συνεχείς) μεταβλητές περιγράφηκαν με τη μέση τιμή (mean) και την τυπική απόκλιση (SD).

Ο έλεγχος της κανονικότητας των ποσοτικών μεταβλητών πραγματοποιήθηκε με την δοκιμασία Kolmogorov- Smirnov test. Όταν υπήρχε κανονική κατανομή οι συγκρίσεις των ομάδων έγιναν με το t-Test για ανεξάρτητα δείγματα. Στην αντίθετη περίπτωση η σύγκριση των ομάδων έγινε με τα μη παραμετρικά test Wilcoxon/ Mann-Whitney U ή Kruskal-Wallis για ανεξάρτητα δείγματα.

Η αλληλεξάρτηση των διαφορετικών μεταβλητών ελέγχθηκε με την ανάλυση συσχέτισης. Στην

ανάλυση συσχέτισης υπολογίστηκαν ο συντελεστής Pearson στην περίπτωση κανονικής κατανομής των μεταβλητών και ο συντελεστής Spearman σε αντίθετη περίπτωση. Η συσχέτιση των μεταβλητών πραγματοποιήθηκε και με γραμμική παλινδρόμηση.

Ως επίπεδο σημαντικότητας θεωρήθηκε το $\alpha=0,05$.

Η σύγκριση των κατηγορικών μεταβλητών έγινε με την δοκιμασία χ^2 (Chi-Square test).

Έγινε προσαρμογή των αποτελεσμάτων ως προς τον χρόνο έκθεσης των εργαζομένων στο TCE.

Η στατιστική επεξεργασία των δεδομένων έγινε με την χρήση του στατιστικού προγράμματος SPSS 18 (*STATISTICAL PACKAGE FOR SOCIAL SCIENCES*).

4.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

4.1 ΔΗΜΟΓΡΑΦΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Στην παρούσα μελέτη συμμετείχαν συνολικά 78 άρρενες εργαζόμενοι. Από αυτούς οι 14 (ομάδα A1-18%) εμφάνιζαν παροντική άμεση έκθεση στο TCE και οι 16 (ομάδα A2-20,51%) εμφάνιζαν παροντική έμμεση έκθεση στο TCE. Οι 24 (ομάδα B1-30,8%) εμφάνιζαν παρελθοντική άμεση έκθεση στο TCE. Οι 24 (ομάδα B2-30,8%) δεν είχαν καμία έκθεση στο TCE.

Η μέση διάρκεια έκθεσης των εργαζομένων στο TCE ήταν για την ομάδα A1 $t=5,5$ έτη, για την ομάδα A2 $t=3,1$ έτη και για την ομάδα B1 $t=12$ έτη.

Η μέση ηλικία των εργαζομένων ήταν για την ομάδα A1 τα 31 έτη, την ομάδα A2 τα 46,7 έτη, την ομάδα B1 τα 42,2 έτη και για την ομάδα B2 τα 48 έτη (Πίνακας 1).

Η προσαρμογή ως προς την έκθεση δεν επηρεάζει την στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων.

Επειδή οι παροντικά εκτεθειμένοι ήταν νεότεροι από τους παρελθοντικά εκτεθειμένους και τους μη εκτεθειμένους δεν έγινε προσαρμογή ως προς την ηλικία.

Πίνακας 1. Δημογραφικά στοιχεία και στοιχεία έκθεσης στο TCE των ομάδων εργαζομένων. Άνδρες εργαζόμενοι στην Βιομηχανία Οχημάτων (Α) -ομάδα A1(παροντική άμεση έκθεση) και A2 (παροντική έμμεση έκθεση). Άνδρες εργαζόμενοι στην Αεροπορική Βιομηχανία (Β) -ομάδα B1(παρελθοντική άμεση έκθεση) και B2 (καμία έκθεση).

Ομάδες Εργαζομένων	Αριθμός (N)	Μέση Ηλικία (έτη)	Έκθεση	Μέση Διάρκεια εκθεσης (έτη)	Χώρος εργασίας
A1	14	31	Παροντική (άμεση)	5,5	A
A2	16	46,7	Παροντική(έμμεση)	3,1	A
B1	24	42,2	Παρελθοντική(άμεση)	12	B
B2	24	48	Μηδενική	0	B

4.2 ΕΠΙΠΕΔΑ TCE ΣΤΟΝ ΕΡΓΑΣΙΑΚΟ ΧΩΡΟ

Τα επίπεδα TCE μετρήθηκαν σε δείγματα αέρα που συλλέχθηκαν εντός του εργασιακού χώρου (Α) όπου εργάζονταν οι εργαζόμενοι των ομάδων Α1 και Α2. Στις θέσεις εργασίας, πολύ κοντά στη δεξαμενή TCE (<3m από την δεξαμενή), τα επίπεδα του διαλύτη βρέθηκαν στα $399,5 \text{ mg/m}^3 = 74,2 \text{ ppm}$. Αυτή η τιμή είναι χαμηλότερη από την οριακή τιμή έκθεσης που θέτει η ελληνική νομοθεσία (ΠΔ 90/99, 12/2012: 538 mg/m^3) αλλά πολύ μεγαλύτερη της TLV-TWA του TCE (ΠΔ 90/99, 12/2012: 135 mg/m^3).

Αντίθετα, τα δείγματα που συλλέχθηκαν στην περιφέρεια του εργασιακού χώρου (>3m από την δεξαμενή) εμφάνισαν επίπεδα $16,4\text{-}62,1 \text{ mg/m}^3 = 3\text{-}11,5 \text{ ppm}$ δηλαδή σημαντικά χαμηλότερα από την οριακή τιμή έκθεσης κατά την ελληνική νομοθεσία (ΠΔ 90/99, 12/2012: $538 \text{ mg/m}^3 = 100 \text{ ppm}$) και την TLV-TWA του TCE (ΠΔ 90/99, 12/2012 : $135 \text{ mg/m}^3 = 50 \text{ ppm}$).

Κατά την λήψη του επαγγελματικού ιστορικού των εργαζομένων των ομάδων Α1, Α2 διαπιστώθηκε ότι γνώριζαν για την σημασία και την εκ του νόμου καθοριζόμενη υποχρέωση της χρήσης των ΜΑΠ (δέρματος & αναπνευστικού) αλλά συχνά απέφευγαν την χρήση τους.

Κατά την επιτόπια εκτίμηση του χώρου εργασίας (Α) διαπιστώθηκε η μη συστηματική και επιμελής χρήση των ΜΑΠ από τους εργαζόμενους των ομάδων Α1 και Α2 που έρχονταν σε επαφή με το TCE. Επιπλέον εντοπίστηκαν σημαντικές ελλείψεις σε μηχανολογικό εξοπλισμό (σύγχρονο απαγωγό σύστημα πάνω από την δεξαμενή TCE, διάταξη μηχανικού εξαερισμού) στο χώρο όπου γινόταν η χρήση του διαλύτη.

4.3 eGPX, NGAL ΚΑΙ ΚΡΕΑΤΙΝΙΝΗ ΣΤΟΝ ΟΡΟ

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης η συγκέντρωση eGPx στον ορό αίματος των εργαζομένων της ομάδας Α1 (N=14) (παροντική άμεση έκθεση) και της ομάδας Α2 (N=16) (παροντική έμμεση έκθεση) ήταν σημαντικά υψηλότερη από εκείνη της ομάδας Β2 (N=24) (ομάδα ελέγχου- καμία έκθεση) .

Η συγκέντρωση **eGPx** στον ορό των εργαζομένων της ομάδας A1(*παροντική άμεση έκθεση*) και A2 (*παροντική έμμεση έκθεση*) ήταν υψηλότερη από εκείνη της ομάδας B1(*παρελθοντική άμεση έκθεση*). Η διαφορά αυτή είναι στατιστικά σημαντική ($p<0,05$).

Η συγκέντρωση **eGPx** στον ορό των εργαζομένων της ομάδας A1 δεν διέφερε σημαντικά από εκείνη της ομάδας A2. Το ίδιο ίσχυε και για την συγκέντρωση **eGPx** στον ορό αίματος των εργαζομένων της ομάδας B1 και B2 (Πίνακας 2, *σχήμα 14*).

Επομένως η συγκέντρωση **eGPx** στον ορό των εργαζομένων της ομάδας A1(*παροντική άμεση έκθεση*) και A2 (*παροντική έμμεση έκθεση*) ήταν υψηλότερη από εκείνη και της ομάδας B2 (*ομάδα ελέγχου*). Η διαφορά αυτή είναι στατιστικά σημαντική ($p<0,05$).

Η συγκέντρωση **NGAL** στον ορό αίματος των εργαζομένων της ομάδας A1 (N=14)(*παροντική άμεση έκθεση*), της ομάδας A2 (N=16)(*παροντική έμμεση έκθεση*) και της B1(N=24) (*παρελθοντική άμεση έκθεση*) ήταν υψηλότερα από εκείνα της ομάδας B2(N=24)(*ομάδα ελέγχου*). Οι διαφορές αυτές είναι στατιστικά σημαντικές ($p<0,05$) .

Αντίθετα τα επίπεδα **NGAL** στον ορό αίματος των εργαζομένων της ομάδας A1 δεν διέφεραν σημαντικά από εκείνα της ομάδας A2 (Πίνακας 2, *σχήμα 14*).

Τα επίπεδα **κρεατινίνης** στον ορό των εργαζομένων των ομάδων A1, A2, B1, B2 δεν εμφάνιζαν στατιστικά σημαντική διαφορά ($p>0,05$) (Πίνακας 2).

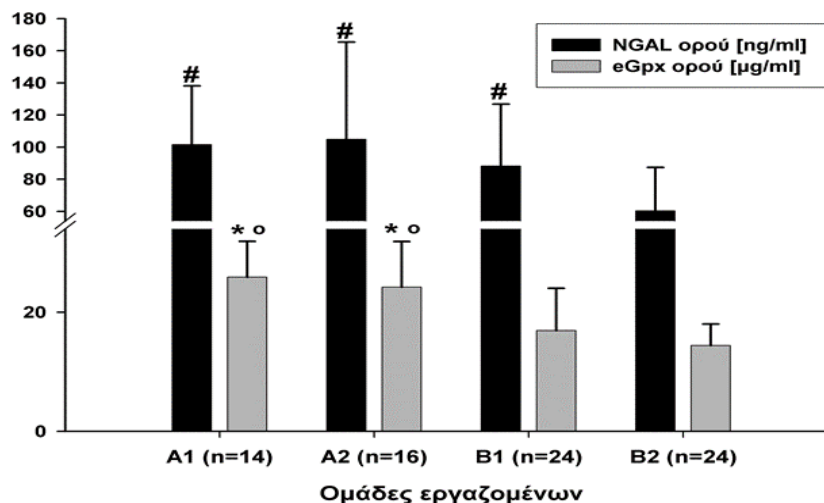
Τα επίπεδα της **eGPx** στον ορό ($14.4\pm 3,61\mu\text{g/mL}$) που βρέθηκαν στους εργαζομένους της ομάδας ελέγχου(B2) ήταν συγκρίσιμα με αυτά που αναφερόταν σε προηγούμενες μελέτες όπως του Roxoborough et al.2000 (**eGPx** $14,1\mu\text{g/mL}$) και του Jacobson et al. 2007 (**eGPx** $13,8\pm 7,3\mu\text{g/mL}$).

Τα επίπεδα **κρεατινίνης και NGAL** ορού που μετρήθηκαν στην ομάδα ελέγχου B2 βρίσκονταν εντός των ορίων που έχουν αναφερθεί σε υγιείς ενήλικες.

Πίνακας 2. Κρεατινίνη, εξωκυττάρια υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (eGPx) και λιποκαλίνη σχετιζόμενης με τη ζελατινάση των ουδετεροφύλων (NGAL) ορού στις τέσσερις ομάδες εργαζομένων. Οι ομάδες (A1,A2,B1,B2) είναι χωρισμένες ανάλογα με την επαγγελματική έκθεσή τους στο τριχλωροαιθυλένιο (TCE). A1: παροντική άμεση έκθεση, A2: παροντική έμμεση έκθεση, B1: παρελθοντική άμεση έκθεση, B2: καμία έκθεση.

Ομάδα έκθεσης TCE		A1 (n=14)	A2 (n=16)	B1 (n=24)	B2 (n=24)	p*
Ηλικία	έτη	31,0±11	46,7±7,5	42,2±8,0	48,0±8,2	
Έκθεση	έτη	5,5±6,4	3,1±5,74	12,1±7,9	0±0	
Κρεατινίνη	mg/dl	1,06±0,15	1,01±0,1	0,99±0,1	0,98±0,11	0,53
eGPx ορού	μg/ml	25,9±6,0	24,2±7,66	16,92±7,11	14,4±3,61	<0,01
NGAL ορού	ng/ml	101,6±36,6	104,8±60,5	88,2±38,5	60,4±27,1	<0,01

*Η στατιστική ανάλυση έγινε με τη μη παραμετρική δοκιμασία κατά Kruskal-Wallis.
Η τιμή $p < 0,05$ θεωρείται σημαντική.



Σχήμα 14: Συγκριτική παρουσίαση της διακύμανσης των συγκεντρώσεων eGPx και NGAL ορού στις ομάδες εργαζομένων A1,A2,B1,B2. A1: παροντική άμεση έκθεση, A2: παροντική έμμεση έκθεση, B1: παρελθοντική άμεση έκθεση, B2: καμία έκθεση

για στατιστικά σημαντική διαφορά NGAL σε σύγκριση με ομάδα B2 ($p < 0,05$),

* για σημαντική διαφορά eGPX σε σύγκριση με ομάδα B2 ($p < 0,05$) και ο για διαφορά σε σύγκριση με ομάδα B1 ($p < 0,05$).

4.4 eGPx ΚΑΙ ΑΛΛΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΒΛΑΒΗΣ ΣΤΑ ΟΥΡΑ

Η eGPx στα δείγματα ούρων ανιχνεύτηκε σε 6 από τα 14 δείγματα ούρων της ομάδας A1 (παροντική άμεση έκθεση), σε 2 από τα 16 δείγματα ούρων της ομάδας A2 (παροντική έμμεση έκθεση) και σε 1 από τα 24 δείγματα ούρων της ομάδας B1 (παρελθοντική άμεση έκθεση). Αντίθετα δεν ανιχνεύτηκε eGPx σε κανένα από τα 24 δείγματα ούρων των εργαζομένων της ομάδας B2 (ομάδα έλεγχου). Η συχνότητα εμφάνισης eGPx ήταν στατιστικά σημαντική ($p < 0,05$) (Πίνακας 4).

Τα επίπεδα eGPx ούρων στα δείγματα της ομάδας A1 συγκρινόμενα με τα δείγματα της ομάδας B1 και B2 εμφανίζουν διακύμανση που είναι στατιστικά σημαντική ($p < 0,05$).

Τα ανιχνεύσιμα επίπεδα της eGPx στα ούρα ορισμένων εκ των εκτεθειμένων εργαζομένων της ομάδας A1 συνδέονταν με υψηλές τιμές eGPx ορού οι οποίες ήταν σημαντικά υψηλότερες από τις τιμές του ενζύμου στους μη εκτεθειμένους (Πίνακας 5).

Τα επίπεδα eGPx ούρων στα δείγματα της ομάδας A2 συγκρινόμενα με τα δείγματα της ομάδας B1 εμφανίζουν διακύμανση που είναι δεν στατιστικά σημαντική ($p > 0,05$) αλλά συγκρινόμενα με τα επίπεδα της ομάδας B2 εμφανίζουν διακύμανση στατιστικά σημαντική ($p < 0,05$) (Σχήμα 15, Πίνακας 3,4).

Τα επίπεδα NGAL στα ούρα των ομάδων A1, A2, B1, B2 εμφανίζουν διακύμανση που δεν είναι στατιστικά σημαντική ($p > 0,05$).

Στα δείγματα ούρων όλων των εξεταζόμενων μετρήθηκαν οι ευαίσθητοι βιοχημικοί δείκτες αλβουμίνη και IgG ως δείκτες εκτίμησης της νεφρικής πειραματικής διήθησης, η συστατίνη C (CysC), η A1 Μικροσφαιρίνη (A1M), η B2 Μικροσφαιρίνη (B2M), ελαφρές αλυσίδες κ, λ (FLC κ,λ) ως δείκτες εκτίμησης της σωληναριακής λειτουργίας (Σχήμα 15, Πίνακας 3,4).

Η A1 Μικροσφαιρίνη (A1M) δεν ανιχνεύτηκε σε επίπεδα μεγαλύτερα από τα φυσιολογικά στην πλειοψηφία των δειγμάτων ούρων των εκτεθειμένων και των μη εκτεθειμένων εργαζομένων (ομάδες A1, A2, B1, B2).

Στην ομάδα A1(N=14) (*παροντική άμεση έκθεση*) A1M ανιχνεύτηκε και συσχετίστηκε με ανιχνεύσιμη ποσότητα eGPx σε 3 δείγματα, στην ομάδα A2(N=16) (*παροντική έμμεση έκθεση*) ανιχνεύτηκε και συσχετίστηκε με ανιχνεύσιμη ποσότητα eGPx σε 1 δείγμα από τα 16, στη B1 ομάδα (*παρελθοντική άμεση έκθεση*) ανιχνεύτηκε και συσχετίστηκε με ανιχνεύσιμη ποσότητα eGPx σε 1 δείγμα από τα 24. Στην ομάδα B2 (*ομάδα ελέγχου*) σε κανένα δείγμα δεν συσχετίστηκε με ανιχνεύσιμη ποσότητα eGPx. Η συχνότητα εμφάνισης αλλά και η διακύμανση των συγκεντρώσεων A1M δεν είναι στατιστικά σημαντική ($p>0,05$) (Πίνακας 3,4) .

Η B2 Μικροσφαιρίνη (B2M) δεν ανιχνεύτηκε στα δείγματα ούρων των εκτεθειμένων και μη εκτεθειμένων εργαζομένων (ομάδες A1, A2, B1, B2). Πιθανώς το γεγονός αυτό να οφείλεται στο ότι δεν έγινε άμεσα η αλκαλοποίηση των ούρων. Ίσως αυτό να συνετέλεσε στην δυσκολία προσδιορισμού της πρωτεΐνης στα δείγματα ούρων των εξεταζόμενων ομάδων. Επομένως τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τις ανωτέρω μετρήσεις δεν είναι αξιόπιστα.

Οι ελαφρές άλυστοι κ (FLC κ) ούρων ανιχνεύθηκαν αντίστοιχα στην A1 ομάδα (*παροντική άμεση έκθεση*), στην A2 ομάδα (*παροντική έμμεση έκθεση*) και στην B1 ομάδα (*παρελθοντική άμεση έκθεση*) σε 2 δείγματα αλλά μόνο σε 1 δείγμα στην κάθε ομάδα συσχετίστηκαν με ανιχνεύσιμη ποσότητα eGPx (Πίνακας 4).

Οι ελαφρές άλυστοι λ (FLC λ) στην A1 ομάδα (*παροντική άμεση έκθεση*), στην A2 ομάδα (*παροντική έμμεση έκθεση*) και στην B1 ομάδα (*παρελθοντική άμεση έκθεση*) ανιχνεύτηκαν αντίστοιχα μόνο σε 1 δείγμα αλλά μόνο στις ομάδες A1 και A2 συσχετίστηκαν με ανιχνεύσιμη ποσότητα eGPx (Πίνακας 4).

Οι ελαφρές άλυστοι κ,λ (FLC κ,λ) στην B2 ομάδα (*ομάδα ελέγχου*) δεν ανιχνεύθηκαν σε κάποιο δείγμα σε συγκέντρωση μεγαλύτερη από την τιμή αναφοράς της μεθόδου. Η συχνότητα εμφάνισης αλλά και η διακύμανση των συγκεντρώσεων κ και λ ελαφρών αλύσεων στα δείγματα ούρων των εργαζομένων δεν είναι στατιστικά σημαντική ($p>0,05$). Επομένως δεν εμφανίζουν ευαισθησία

στην αξιολόγηση των δειγμάτων ούρων σε καμία εκ των ομάδων των εργαζομένων A1, A2, B1, B2 (Πίνακας 3,4).

Η συστατίνη C (CysC) δεν ανιχνεύθηκε σε κανένα δείγμα ούρων των ομάδων εργαζομένων A1, A2, B1, B2.

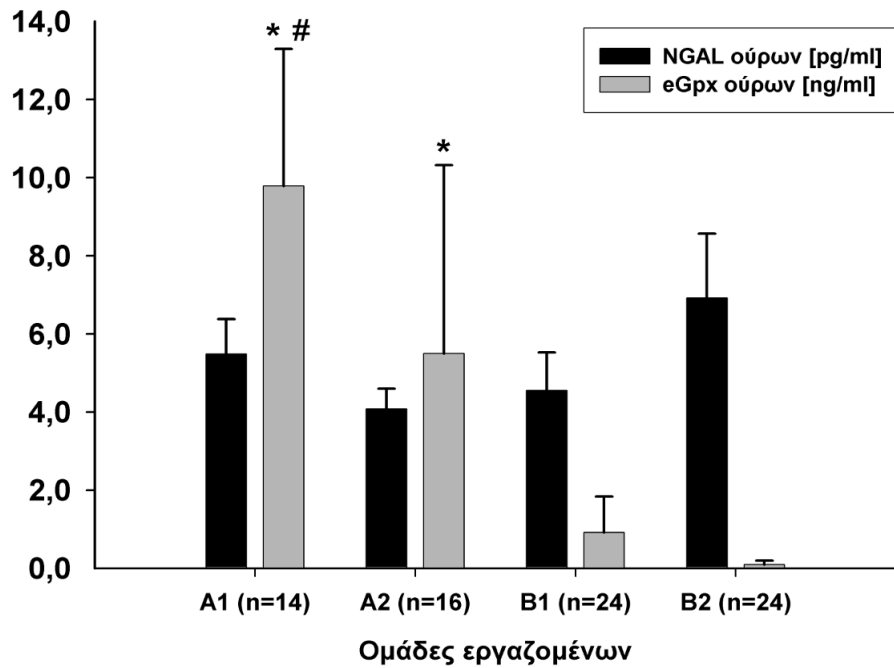
Η αλβουμίνη ούρων στην ομάδα A1 (*παροντική άμεση έκθεση*) ανιχνεύτηκε σε 9 δείγματα από τα 14 και συσχετίστηκε με ανιχνεύσιμη ποσότητα eGPx σε 4 δείγματα, στην ομάδα A2 (*παροντική έμμεση έκθεση*) ανιχνεύτηκε σε 3 δείγματα από τα 16 και συσχετίστηκε με ανιχνεύσιμη ποσότητα eGPX σε 1 δείγμα από τα 16. Στην ομάδα B1(*παρελθοντική άμεση έκθεση*) ανιχνεύτηκε σε 4 δείγματα και στην ομάδα B2 σε 3 αλλά δεν συσχετίστηκε σε κανένα δείγμα με ανιχνεύσιμη ποσότητα eGPX.

Η συχνότητα ανίχνευσης της αλβουμίνης στα δείγματα ούρων στις ομάδες A1 και A2 ήταν υψηλότερη από την ομάδα ελέγχου B2 ($p<0,05$) (Πίνακας 4).

Η ανοσοσφαιρίνη IgG στην ομάδα A1 (*παροντική άμεση έκθεση*) ανιχνεύτηκε σε 5 δείγματα ούρων από τα 14 αλλά συσχετίστηκε με ανιχνεύσιμη ποσότητα eGPx σε 3 δείγματα και στην ομάδα A2 (*παρούσα έμμεση έκθεση*) ανιχνεύτηκε σε 2 δείγματα από τα 16 αλλά συσχετίστηκε με ανιχνεύσιμη ποσότητα eGPx σε 1 δείγματα. Δεν ανιχνεύτηκε σε κανένα δείγμα των ομάδων B1 (*παρελθοντική άμεση έκθεση*) και B2 (*ομάδα ελέγχου*) σε συγκέντρωση μεγαλύτερη από την τιμή αναφοράς της μεθόδου.

Η συχνότητα εμφάνισης της ανοσοσφαιρίνης IgG στα ούρα στις ομάδες A1 και A2 σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες από την τιμή αναφοράς της μεθόδου ήταν αυξημένη σε σχέση με την ομάδα ελέγχου B2 ($p<0,05$) (Πίνακας 3,4).

Σε σημαντικό αριθμό δειγμάτων ούρων οι τιμές συγκεντρώσεων των δεικτών ήταν μικρότερες από την τιμή αναφοράς της μεθόδου. Αυτό εξηγεί τις μεγάλες τυπικές αποκλίσεις στις τιμές συγκεντρώσεων των δεικτών στα ούρα (Πίνακας 3). Γιαυτό τον λόγο έγινε ανάλυση συχνοτήτων (Πίνακας 4).



Σχήμα 15: Συγκριτική παρουσίαση της διακύμανσης των συγκεντρώσεων eGpx και NGAL ούρων στις ομάδες εργαζομένων A1, A2, B1, B2. A1: παροντική άμεση έκθεση, A2: παροντική έμμεση έκθεση, B1: παρελθοντική άμεση έκθεση, B2: καμία έκθεση
σύγκριση με ομάδα B1 ($p < 0,05$), * σύγκριση με ομάδα B2 ($p < 0,05$)

Πίνακας 3. Τιμές Αλβουμίνης, A1 Μικροσφαιρίνης(A1M), κ και λ ελαφρών αλύσεων (FLC κ, λ), ανοσοσφαιρίνης IgG, εξωκυττάριας υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης (eGPx) και λιποκαλίνης σχετιζόμενη με τη ζελατινάση των ουδετεροφίλων (NGAL) **ούρων** στις τέσσερις ομάδες εργαζομένων (A1, A2, B1, B2), που είναι χωρισμένες ανάλογα με την επαγγελματική έκθεσή τους στο τριγλωροαιθυλένιο (TCE).

A1: παροντική άμεση έκθεση, A2: παροντική έμμεση έκθεση, B1: παρελθοντική άμεση έκθεση, B2: καμία έκθεση.

Ομάδα έκθεσης TCE		A1 (n=14)	A2 (n=16)	B1 (n=24)	B2 (n=24)	p*
Ηλικία	Έτη	31,0±11	46,7±7,5	42,2±8,0	48,0±8,2	
Έκθεση	Έτη	5,5±6,4	3,1±5,74	12,1±7,9	0±0	
NGAL ούρων	ng/mL	5,49±3,33	4,1±2,1	4,55±4,8	6,92± 6,15	0,243
eGpx ούρων	ng/mL	9,8±13,11	5,5±19,26	0,92± 4,49	0±0	0,032
A1M	mg/L	5,4± 8,78	8,42±23,3	4,49±8,96	4,49±4,78	0,806
κ-FLC	mg/L	2,49±6,73	3,7±12,27	0,86±2,92	0±0	0,438
λ-FLC	mg/L	0,34±1,26	1,63±6,3	0,2± 0.95	0±0	0,454
Αλβουμίνη	mg/dL	15,6±15,5	1,79±4,51	12,0±40,64	5,57±12,17	0,464
IgG	ng/mL	2,34±3,95	2,34±3,95	0±0	0±0	0,305

*Η στατιστική ανάλυση έγινε με την μη παραμετρική δοκιμασία κατά Kruskal-Wallis.

Τιμή p<0,05 θεωρείται σημαντική.

Η τιμή δείκτη 0 δηλώνει τιμή δείκτη <της τιμής αναφοράς της μεθόδου.

Πίνακας 4. Συχνότητα εμφάνισης αλβουμίνης, A1 Μικροσφαιρίνης(A1M), κ&λ ελαφρών αλύσεων (FLC κ, λ), ανοσοσφαιρίνης IgG, και εξωκυττάριας υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης (eGPrx) ούρων στις τέσσερις ομάδες εργαζομένων (A1, A2, B1, B2), που είναι χωρισμένες ανάλογα με την επαγγελματική έκθεσή τους στο τριχλωραιθυλένιο (TCE).

Η λιποκαλίνη σχετιζόμενη με τη ζελατινάση των ουδετεροφύλων (NGAL) παραλήφθηκε διότι ανευρέθηκε σε όλα τα δείγματα χωρίς να ξεπερνάει το όρια του φυσιολογικού που ορίστηκαν πρόσφατα για ενήλικες (Schinstock et al. 2013).

A1: παροντική άμεση έκθεση, A2: παροντική έμμεση έκθεση, B1: παρελθοντική άμεση έκθεση, B2: καμία έκθεση.

Ομάδα έκθεσης TCE		A1 (n=14)	A2 (n=16)	B1 (n=24)	B2 (n=24)	p*
Ηλικία	Έτη	31,0±11	46,7±7,5	42,2±8,0	48,0±8,2	<0,01
Έκθεση	Έτη	5,5±6,4	3,1±5,74	12,1±7,9	0±0	<0,01
Δείκτης ούρων (+)		(n=14)	(n=16)	(n=24)	(n=24)	p#
eGprx ούρων	n (%)	6 (42,9)	2 (13,3)	1 (4,2)	0 (0)	0,001
A1M	n (%)	6 (42,9)	5 (33,3)	7 (29,2)	7 (29,2)	0,589
κ-FLC	n (%)	2 (14,3)	2 (13,3)	2 (8,3)	0 (0)	0,338
λ-FLC	n (%)	1 (7,1)	1 (6,7)	1 (4,2)	0 (0)	0,652
Αλβουμίνη	n (%)	9 (64,3)	3 (18,7)	4 (16,7)	3 (12,5)	0,015
IgG	n (%)	5 (35,7)	2 (13,3)	0 (0)	0 (0)	0,002

*Η στατιστική ανάλυση έγινε με τη μη παραμετρική δοκιμασία κατά Kruskal-Wallis.

#Η στατιστική ανάλυση έγινε με τη δοκιμασία χ^2 (chi-square test).

Τιμή $p < 0,05$ θεωρείται στατιστικά σημαντική.

Η τιμή δείκτη 0 δηλώνει τιμή δείκτη <της τιμής αναφοράς της μεθόδου.

Πίνακας 5. Η επίδραση της ανιχνεύσιμης εξωκυττάριας υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης (eGpx) ούρων ($27,4 \pm 20,4$ ng/mL) στις συγκεντρώσεις της εξωκυττάριας υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης (eGpx) ορού (μg/ml), της λιποκαλίνης σχετιζόμενης με τη ζελατινάση των ουδετεροφίλων (NGAL) ορού και ούρων (ng/ml) στις τέσσερις ομάδες των εργαζομένων (A1,A2,B1,B2) που είναι χωρισμένες ανάλογα με την επαγγελματική έκθεσή τους στο τριχλωραιθυλένιο (TCE).

A1: παροντική άμεση έκθεση, A2: παροντική έμμεση έκθεση, B1: παρελθοντική άμεση έκθεση, B2: καμία έκθεση.

Ανιχνεύσιμη eGpx στα ούρα		Ηλικία (έτη)	Έκθεση σε TCE (έτη)	eGpx ορού (μg/ml)	NGAL ορού (ng/ml)	NGAL ούρων (ng/ml)
Ναι	(n=9)	31±12	7,8±6,6	26,9±9,8	109,4±39,5	4,5±2,3
Όχι	(n=69)	44±9	5,0±7,5	18,3±6,8	83,4±43,1	5,2±4,7
Σύνολο	(n=78)	43±10	5,3±7,5	19,3±7,7	86,4±43,3	5,1±4,4
P		0,003	0,019	0,006	0,043	0,876

*Η στατιστική ανάλυση έγινε με τη μη παραμετρική δοκιμασία κατά Mann-Whitney.

Τιμή $p < 0,05$ θεωρείται στατιστικά σημαντική

5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Το Τριχλωροαιθυλένιο (TCE) είναι ένας συστηματικά και ευρέως χρησιμοποιούμενος βιομηχανικός διαλύτης.

Μεγάλος αριθμός εργαζομένων σε βιομηχανικά αναπτυγμένες χώρες έχει εκτεθεί σε TCE για εκτενείς χρονικές περιόδους όπως καταγράφεται σε διεθνές επίπεδο (NICNAS 2000; Kim et al.2014, IARC 2014; Buhagen et al.2016).

Η νεφροτοξικότητα του TCE έχει τεκμηριωθεί διεξοδικά στα πειραματόζωα (Goeptar et al.1995; Cummings et al.2000a; Green 2000; Cummings et al.2001; Lash et al.2006a). Στον άνθρωπο η νεφροτοξικότητα έχει διερευνηθεί με επιδημιολογικές μελέτες επαγγελματικής χρόνιας έκθεσης (Brüning et al.1999 2000; Green et al 2004; Vermeulen et al.2012), in vivo σε περιπτώσεις σοβαρής (οξείας-χρόνιας) έκθεσης (Brüning et al.1998; Bolt et al.2004) και in vitro σε ανθρώπινα κύτταρα με διερεύνηση της οξείας τοξικότητας του TCE σε σχέση με μεταβολίτες της γλουταθειόνης (GSH) (Chen et al.1990, Cummings & Lash 2000, Lash et al.2001a, 2003,).

Στην τοξικότητα αυτή συμμετέχει το οξειδωτικό στρες (Li et al.2019) και η οδός μεταβολισμού του TCE η εξαρτώμενη από την γλουταθειόνη (GSH) (Goeptar et al. 1995; Brüning et al.1996, 1997a 1999; Chien et al. 1999; Lash et al.2000a; NICNAS 2000; Lock et al.2006).

Η eGPx είναι σελήνιοεξαρτώμενο ένζυμο με αντιοξειδωτική δράση. Η κύρια θέση παραγωγής του είναι ο νεφρός (Avissar et al.1994, Whitin et al.1998, De Vega et al 2002). Συντίθεται στα εγγύς νεφρικά σωληνάκια, από όπου εκκρίνεται στην κυκλοφορία του αίματος. Επιπλέον τόσο η ενεργότητα του ενζύμου όσο και η συγκέντρωσή του είναι δηλωτικά της λειτουργικής μάζας του νεφρού (Schiavon et al.1994b; De Vega et al 2002). Φυσιολογικά δεν εμφανίζεται ενεργότητα της eGPx στα ούρα και δεν έχουν εντοπιστεί αναστολείς της eGPx σε αυτά (Whitin et al.2002). Εκτιμάται ότι συμμετέχει σε μηχανισμό που προστατεύει το νεφρικό ιστό από την καταστροφική δράση των ελεύθερων ριζών (ROS) λόγω οξειδωτικού στρες (De Vega et al 2002). Φαίνεται

πιθανόν ότι η eGPx με την αντιοξειδωτική δράση της συμβάλει στην προστασία των νεφρικών κυττάρων από την τοξικότητα του TCE.

Για τους παραπάνω λόγους θεωρήσαμε ότι η eGPx μπορεί να χρησιμεύσει ως ευαίσθητος βιοδείκτης για την έγκαιρη διάγνωση της βλάβης και/ή της δυσλειτουργίας του νεφρικού ιστού που προκαλείται από χρόνια επαγγελματική έκθεση στο διαλύτη TCE.

Στην παρούσα ερευνητική εργασία πραγματοποιήθηκαν:

- 1) μέτρηση της συγκέντρωσης του οργανικού, πτητικού διαλύτη TCE σε επιλεγμένους χώρους εργασίας και αξιολόγηση της έκθεσης των υπό διερεύνηση εργαζομένων,
- 2) διερεύνηση της πρώιμης νεφρικής βλάβης σε σχέση με την έκθεση των εργαζομένων στο TCE κατά τον παρόντα χρόνο και κατά το παρελθόν.

Η διερεύνηση αυτή έγινε με ευαίσθητους βιοδείκτες, τεκμηριωμένης διαγνωστικής αξίας για την πρώιμη νεφρική βλάβη (σπειραματική ή/και σωληναριακή).

Οι δείκτες που μετρήθηκαν στον ορό ήταν η κρεατινίνη και η NGAL και στα ούρα η αλβουμίνη, η IgG (δείκτες σπειραματικής βλάβης- Briguori et al. 2014), η A1M, η B2M, οι FLC κ, λ (δείκτες σωληναριακής βλάβης (Trof et al.2006; Craig et al.2012), η CysC (Trof et al. 2006; Pipili et al.2011, Kokkori et al.2012; DSa et al. 2017) και η NGAL ως πρώιμοι δείκτες της οξείας εγγύς σωληναριακής βλάβης (McCullough et al.2011; Pipili et al.2011),

- 3) προσδιορισμός του ενζύμου eGPx στον ορό και στα ούρα των εργαζομένων και συσχέτιση των ανωτέρω επιπέδων eGPx τόσο με την έκθεση σε TCE όσο και με τους δείκτες πρώιμης νεφρικής βλάβης,

Οι μετρήσεις eGPx στον ορό έγιναν χρησιμοποιώντας ELISA kit της εταιρίας Calbiochem.

Στα ούρα η eGPx προσδιορίστηκε με το ίδιο kit ELISA, σύμφωνα με το πρωτόκολλο της εταιρίας Calbiochem. Για τις ανάγκες της μελέτης το συγκεκριμένο πρωτόκολλο τροποποιήθηκε κατάλληλα ώστε να είναι εφικτή η αξιόπιστη μέτρηση της eGPx σε δείγματα ούρων.

Σε προκαταρκτικά πειράματα βελτιστοποίησης του πρωτοκόλλου ELISA χρησιμοποιήθηκαν μίγματα ούρων από φυσιολογικούς ενήλικες σε διαφορετικές αραιώσεις και με διαφορετικά αραιωτικά μέσα για την ανασύσταση του μητρικού προτύπου διαλύματος eGPx (300 ng/mL).

Η βέλτιστη πρότυπη καμπύλη (δηλαδή η καμπύλη που οδήγησε σε βέλτιστες τιμές ανάκτησης) ελήφθη με μίγμα φυσιολογικών ούρων αραιωμένο 1:10 με το ρυθμιστικό διάλυμα της μεθόδου.

Αυτή η τροποποίηση του πρωτοκόλλου είναι ουσιαστική, ώστε να μπορεί να χρησιμοποιηθεί η eGPx ούρων σε επιδημιολογικές και άλλες μελέτες σχετικά με τη νεφροτοξικότητα γενικά και τη νεφροτοξικότητα του TCE ειδικά. Εξάλλου, η επαγγελματική χρήση του TCE είναι και σήμερα διαδεδομένη και ο μηχανισμός της βλάβης που προκαλεί σχετίζεται άμεσα με τη eGPx.

Μεθοδολογικά προτιμήθηκε η αξιολόγηση της συγκέντρωσης του ενζύμου eGPx από την ενεργότητα (GPx enzyme activity). Η τελευταία θεωρήθηκε λιγότερο ειδική λόγω α) της πιθανότητας να εξέλθει GPx από τα ερυθροκύτταρα (cGPx) κατά την δειγματοληψία και την επεξεργασία των δειγμάτων και β) της παραγωγής του ενζύμου eGPx και από άλλους ιστούς εκτός του νεφρικού, οπότε θα μπορούσαν να επηρεαστούν ενδεχομένως οι τιμές ενεργότητας eGPx στον ορό αίματος.

Τα επίπεδα του TCE στο χώρο εργασίας με παροντική έκθεση (χώρος Α) ήταν οριακά υψηλά και συνέβαλαν στην επιβάρυνση των εργαζομένων παρότι οι τιμές δεν ξεπερνούσαν τα ανώτερα επιτρεπτά όρια της ελληνικής νομοθεσίας.

Οι ελλείψεις σε προστατευτικό μηχανολογικό εξοπλισμό στην εγκατάσταση (έλλειψη σύγχρονου συστήματος εξαερισμού και δικτύου απαγωγών) σε συνδυασμό με την ανεπαρκή, μη συστηματική χρήση των αναγκαίων ΜΑΠ αναπνευστικού και δέρματος (ειδικές μάσκες προσώπου, φόρμες εργασίας, γάντια) από τους εργαζόμενους συνέβαλαν στην τοξική έκθεσή τους στον διαλύτη.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης η συγκέντρωση eGPx στον ορό αίματος των εργαζομένων με παροντική έκθεση (*άμεση-έμμεση*) ήταν σημαντικά υψηλότερη από εκείνη της ομάδας ελέγχου. Επίσης η συγκέντρωση eGPx στον ορό των εργαζομένων με παροντική έκθεση

ήταν σημαντικά υψηλότερη από εκείνη της ομάδας των εργαζομένων με παρελθοντική έκθεση στον διαλύτη.

Φαίνεται λοιπόν ότι η παροντική έκθεση στο TCE σε συγκεντρώσεις μικρότερες της οριακής τιμής έκθεσης και ταυτόχρονα μεγαλύτερες ή μικρότερες της TLV-TWA του TCE (ΕΛΙΝΥΑΕ, 2019) οδηγεί σε υπερπαραγωγή του ενζύμου από τους νεφρούς των εκτεθειμένων ατόμων. Η βιολογική σημασία της αύξησης της συγκέντρωσης του ενζύμου στον ορό των εργαζομένων αυτών δεν έχει αποσαφηνιστεί. Πιθανώς σχετίζεται με το εντοπισμένο οξειδωτικό στρες (oxidative stress) ως συνέπεια της άμεσης χρόνιας επίδρασης του διαλύτη και των επακόλουθων πρώιμων νεφρικών βλαβών που προκαλούνται εξαιτίας της άμεσης χρόνιας έκθεσης στο TCE ακόμα και σε συγκεντρώσεις μικρότερες από την οριακή τιμή έκθεσης.

Στη βιβλιογραφία καταγράφεται η προστατευτική παρουσία της eGPx στον γαστρεντερικό σωλήνα έναντι στο οξειδωτικό στρες (Tham et al.1998, 2002). Επίσης υπό συνθήκες οξειδωτικού στρες λόγω καπνίσματος, οι συγκεντρώσεις eGPx στον πνεύμονα αναφέρεται ότι αυξάνονται. Η αύξηση αυτή θεωρείται επίσης προστατευτική αντίδραση (Comhair et al.2005).

Αρκετές κλινικές δοκιμές έχουν δείξει ότι και η αυξημένη σωματική δραστηριότητα σχετίζεται με αυξημένα επίπεδα eGPx στο πλάσμα, εκτός από μελέτη που ανέφερε την έλλειψη συσχετισμού ανάμεσα στην καθημερινή μέτριο βαθμού φυσική δραστηριότητα σε καπνιστές διαφορετικών εθνικοτήτων και τα επίπεδα eGPx στο πλάσμα (Rundle et al. 2008).

Τα επίπεδα eGPx στον ορό της ομάδας με παρελθοντική έκθεση σε TCE δεν διέφεραν σημαντικά από εκείνα της ομάδας ελέγχου. Αυτό σημαίνει ότι ο μηχανισμός βλάβης διακόπηκε όταν σταμάτησε η έκθεση στο TCE και οι μεταβολές στο νεφρό που πιθανόν προκλήθηκαν από τον διαλύτη κατά τον χρόνο έκθεσης στο παρελθόν δεν ήταν ενδεχομένως πάρα πολύ σημαντικές, ούτε αθροιστικές και σε κάποιο βαθμό ήταν αναστρέψιμες.

Τα επίπεδα της eGPx στον ορό (14.4μg/mL) που βρέθηκαν στους εργαζόμενους της ομάδας ελέγχου ήταν συγκρίσιμα με αυτά που αναφερόταν σε προηγούμενες μελέτες όπως του

Roxoborough et al. (2000, eGPx 14,1μg/mL) και του Jacobson et al. (2007, eGPx 13,8±7,3μg/mL).

Η διακύμανση στις μέσες τιμές που καταγράφονται στην βιβλιογραφία για τις ομάδες των υγιών εξεταζόμενων πιθανώς συσχετίζονται με τα διαφορετικά χαρακτηριστικά των ατόμων όπως ηλικία, φύλο, τρόπος ζωής, η πρόσληψη του Se κ.α. (Funai et al.2002; McGill et al.2003; Jacobson et al.2006, 2007).

Πολλές μελέτες έχουν διεξαχθεί σχετικά με τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης του ενζύμου eGPx στον ορό του αίματος ή στο πλάσμα και της ενεργότητάς του (activity) σε ασθενείς με νεφρική ανεπάρκεια τελικού σταδίου (Roxborough 1999, 2000; EL Far et al.2005; Zachara et al.2006; Prats et al 2014) και ασθενείς μεταμοσχευθέντες με μόσχευμα νεφρού (Yamamoto et al.1995; Yoshimura et al.1996; Whitin et al.1998; De Vega et al.2002).

Μερικοί ερευνητές έχουν προτείνει την μέτρηση της ενεργότητας (activity) της eGPx ως ένα σημαντικό συμπληρωματικό δείκτη στη διάγνωση των νεφρικών νόσων (Shiavon et al.1994b; De Vega et al. 2002; El Far et al.2005).

Οι περισσότερες καταλήγουν στο συμπέρασμα ότι η eGPx ελαττώνεται, είτε ως προς την ενεργότητα είτε ως προς την συγκέντρωση στο αίμα των νεφροπαθών (Yoshimura et al.1996; Whitin et al.1998; De Vega et al 2002; El Far et al.2005; Prats et al.2014).

Η ενεργότητα της eGPx αυξάνεται σε ασθενείς με ρευματοειδή αρθρίτιδα και καλή ανταπόκριση στην θεραπεία με σκεύασμα χρυσού, κατά τον χρόνο μετά την θεραπεία (Chorazy et al.1992) ενώ μειώνεται σημαντικά σε ασθενείς που λαμβάνουν φαρμακευτική αγωγή με βαλπροϊκό οξύ, αντινεοπλασματικούς παράγοντες όπως η ισοφωσφαμίδη (Whitin et al.1998) και αμινογλυκοσίδες(τομπραμυκίνη) (Schiavon et al.1994).

Έρευνες έχουν αποκαλύψει υψηλά επίπεδα eGPx στο πλάσμα σε ασθενείς με οξύ σοβαρό άσθμα (Jacobson et al.2007) ενώ τα επίπεδα eGPx σε ασθενείς με ενεργό ψύχωση (σχιζοφρένεια) δεν διαφέρουν σημαντικά από τους υγιείς (Yao et al.1999). Σύμφωνα με μελέτη, η νεφρική παραγωγή

του ενζύμου eGPx μπορεί να αυξάνεται ως απάντηση σε εξωνεφρικές προσβολές, όπως η φλεγμονή, η βλάβη ιστού στην γαστρεντερική οδό (Tham et al.2002). Καμία πάντως από τις ανωτέρω καταστάσεις δεν εμφανίζονταν στους εργαζόμενους που συμμετείχαν στην παρούσα μελέτη.

Όπως τα επίπεδα στο ορό έτσι και τα επίπεδα της eGPx ούρων ήταν σημαντικά υψηλότερα στην ομάδα εργαζομένων με άμεση παροντική έκθεση συγκρινόμενα με την ομάδα ελέγχου και την ομάδα εργαζομένων με άμεση παρελθοντική έκθεση. Επίσης τα ανιχνεύσιμα επίπεδα της eGPx στα ούρα σε παροντικά εκτεθειμένους συνδέονταν σε κάποιες περιπτώσεις με υψηλές τιμές eGPx ορού, σημαντικά υψηλότερες από αυτές στους μη εκτεθειμένους (Πίνακας 5).

Στην ομάδα των παροντικά έμμεσα εκτεθειμένων, τα επίπεδα eGPx ούρων είναι επίσης σημαντικά υψηλότερα συγκρινόμενα με τα επίπεδα της ομάδας ελέγχου.

Οι παροντικά εκτεθειμένοι εργαζόμενοι (άμεσα-έμμεσα) στον διαλύτη εμφανίζουν υψηλότερα επίπεδα eGPx στον ορό και στα ούρα. Αυτό το εύρημα πιθανόν να αντιστοιχεί σε ήπια νεφρική βλάβη και δυσλειτουργία η οποία ανιχνεύεται με τον προσδιορισμό της eGPx κατά το χρόνο έκθεσης στο TCE. Επιπλέον από τα ευρήματα στην ομάδα παρελθοντικής έκθεσης φαίνεται ότι αυτή η πιθανολογούμενη πρόωμη νεφρική βλάβη και δυσλειτουργία είναι υπό προϋποθέσεις αναστρέψιμες εφόσον διακοπεί η έκθεση στο TCE.

Τα αποτελέσματα της παρούσας ερευνητικής εργασίας δεν συμφωνούν με τις διαπιστώσεις μελέτης (Chen et al.2001) σύμφωνα με την οποία η eGPx μπορεί να ανιχνεύεται στα ούρα υγιών ατόμων και οι ασθενείς που πάσχουν από νεφρική νόσο (εστιακή τμηματική σπειραματοσκλήρυνση-Focal Segmental Glomerulosclerosis (FSGS)) εμφανίζουν στα ούρα συγκεντρώσεις eGPx μικρότερες από τους υγιείς.

Επίσης δεν βρίσκονται σε συμφωνία με ευρήματα άλλης μελέτης σύμφωνα με τα οποία οι συγκεντρώσεις eGPx στα ούρα (όπως και στο πλάσμα και στα σπειράματα) βρέθηκαν μειωμένες

σε 14 άτομα με διαβητική σπειραματοσκλήρυνση (Diabetes Segmental Glomerulosclerosis-DSGS) σε σχέση με 16 υγιή άτομα ή με 16 διαβητικούς ασθενείς χωρίς πρωτεинуρία (Chiu et al. 2005).

Στους διαβητικούς ασθενείς χωρίς πρωτεинуρία οι συγκεντρώσεις eGPx στα ούρα βρέθηκαν υψηλότερες από αυτούς με την διαβητική σπειραματοσκλήρυνση (DSGS) γεγονός που οδήγησε τους συγγραφείς να συσχετίσουν την παρουσία του ενζύμου με την πορεία της νεφρικής βλάβης σε διαβητικούς ασθενείς (Chiu et al.2005).

Κατά την γνώμη μας είναι μάλλον απίθανο να απεκκρίνεται η eGPx στα ούρα υγιών. Τα αντίθετα αποτελέσματα ίσως οφείλονται στο πρωτόκολλο της μεθόδου (Chen et al.2001, Chiu et al.2005). Υπάρχουν άρθρα που επιβεβαιώνουν ότι φυσιολογικά δεν ανιχνεύεται ενεργότητα του ενζύμου ή eGPx–αναστολέας στα ανθρώπινα ούρα (Avissar et al.1994; Whitin et al.2002).

Αυτό επιβεβαιώνεται και από προηγούμενα δεδομένα της ομάδας μας σύμφωνα με τα οποία δεν ανιχνεύτηκε το ένζυμο σε δείγματα ούρων 20 υγιών ατόμων σε αντίθεση με το γεγονός ότι η eGPx ανιχνεύτηκε σε δείγματα ούρων 22 ασθενών με διαφορετικό τύπο νεφρικής νόσου, σε συγκεντρώσεις με μεγάλη διακύμανση (Makropoulos et al.2002). Σύμφωνα με την ίδια μελέτη δείγματα ούρων από 24 βιομηχανικούς εργάτες εκτεθειμένους σε νεφροτοξικά βαρέα μέταλλα (κυρίως μόλυβδο και κάδμιο) δεν περιείχαν eGPx εκτός από 2 δείγματα με οριακά επίπεδα eGPx (10 και 17 ng /mL αντίστοιχα για αραιώση 1:10).

Ελάχιστα δεδομένα υπάρχουν σχετικά με μετρήσεις της συγκέντρωσης της eGPx στα ούρα ανθρώπων ασθενών ή υγιών. Μια πιθανή αιτία είναι η έλλειψη εμπορικά διαθέσιμου kit για απευθείας ανάλυση των δειγμάτων ούρων. Η τροποποίηση του πρωτοκόλλου ELISA στην παρούσα μελέτη είναι βέβαιο ότι θα συμβάλλει στη επίλυση και αντιμετώπιση αυτής της διαγνωστικής δυσκολίας.

Εκτός από την eGPx, στην παρούσα μελέτη μετρήθηκαν και άλλοι ευαίσθητοι δείκτες στα δείγματα ορού και ούρων όπως η κρεατινίνη και η NGAL στον ορό, η αλβουμίνη και η IgG ως δείκτες εκτίμησης της νεφρικής σπειραματικής βλάβης (Briguori et al.2014; DSa et al. 2017), η

NGAL, η CysC (Pipili C et al. 2011; Kokkori et al.2012; Zang et al.2016; Grubb 2001; Grubb 2001a), η A1M, η B2M και οι FLC κ,λ ως δείκτες εκτίμησης της σωληναριακής βλάβης στα ούρα (Trof et al 2006; Craig et al.2012; Argyropoulos et al.2017).

Στις ομάδες με παροντική έκθεση σε TCE δεν παρατηρήθηκε αύξηση της κρεατινίνης του ορού σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Αυτό αποκλείει τη βαριά νεφροπάθεια (XNN σταδίου 3) στους εργαζόμενους της μελέτης μας.

Τα επίπεδα NGAL στον ορό αίματος των εργαζόμενων με παροντική (άμεση- έμμεση) έκθεση σε TCE ήταν σημαντικά υψηλότερα από εκείνα της ομάδας ελέγχου.

Επίσης τα επίπεδα της NGAL στον ορό εργαζομένων με παρελθοντική έκθεση σε TCE ήταν σημαντικά υψηλότερα από εκείνα της ομάδα ελέγχου. Επομένως υπάρχει συσχέτιση της eGPx ως πιθανού πρώιμου δείκτη βλάβης με την NGAL ορού που αποτελεί δείκτη επιβεβαιωμένης διαγνωστικής αξίας για την πρώιμη διάγνωση της οξείας νεφροσωληναριακής βλάβης.

Έτσι ενισχύεται η αρχική υπόθεση ότι η eGPx μπορεί να αποτελέσει ευαίσθητο δείκτη νεφροσωληναριακής βλάβης που συσχετίζεται με την έκθεση στο TCE.

Ωστόσο η αυξημένη συγκέντρωση NGAL στον ορό αίματος των παρελθοντικά εκτεθειμένων εργαζομένων σε σχέση με την ομάδα ελέγχου δείχνει ότι οι πρώιμες νεφρικές βλάβες που δημιουργήθηκαν κατά το παρελθόν δεν έχουν αποκατασταθεί πλήρως μετά την διακοπή της έκθεσης στον διαλύτη. Σίγουρα πάντως δεν έχουν εξελιχθεί μετά την πάροδο 10ετίας από την διακοπή της έκθεσης, αφού οι εργαζόμενοι δεν εμφανίζουν κλινική νεφροπάθεια ή νεφρική δυσλειτουργία ούτε υπάρχει ένδειξη αυτής από τον εργαστηριακό έλεγχο που πραγματοποιήθηκε στα πλαίσια της παρούσας μελέτης. Επομένως η NGAL ως δείκτης πρώιμης νεφρικής βλάβης δε συσχετίζεται με την χρόνια έκθεση στο TCE όπως συμβαίνει με την eGPx.

Με δεδομένο το ανωτέρω εύρημα θα πρέπει σημειωθεί ότι δημιουργείται αμφιβολία ως προς την αρχική θεώρηση χρήσης των ΜΑΠ, όπως αυτή προέκυψε από την επικοινωνία με τους εργαζόμενους της ομάδας B1. Σύμφωνα με την αρχική θεώρηση, οι εργαζόμενοι χρησιμοποιούσαν

με τον ορθό τρόπο κυρίως τα ΜΑΠ αναπνευστικού συστήματος (πλήρης κάλυψη της ρινοστοματικής περιοχής, κατάλληλες μάσκες σε σχέση με την διάρκεια έκθεσης και το είδος του ρύπου) και ότι στο χώρο λειτουργούσε απαγωγό σύστημα των ατμών του διαλύτη και μηχανικός εξαερισμός που ελέγχονταν τακτικά για την λειτουργική του επάρκεια ιδίως σε περιόδους εντατικοποίησης της εργασίας. Τα μέτρα αρχικά θεωρήθηκαν αποτελεσματικά ενώ αυτό μπορεί τελικά να μην ίσχυε. Πάντως δεν μπορούμε να παραβλέψουμε ότι η ύπαρξη ΜΑΠ και μηχανολογικού εξοπλισμού έπαιξε ρόλο στον περιορισμό της βαρύτητας της βλάβης και την ελάττωση της ταχύτητας εξέλιξής της.

Αντίθετα τα επίπεδα NGAL στα ούρα ήταν όμοια σε όλες τις ομάδες έκθεσης σε TCE ($p > 0,05$). Πρόσφατα ορίστηκε συγκεκριμένο όριο συγκέντρωσης NGAL στα ούρα για τη διάγνωση της οξείας νεφρικής βλάβης (ONB) στους ενήλικες (>65 ng/mL για γυναίκες και $>23,4$ ng/mL για άνδρες) (Schinstock et al. 2013). Σύμφωνα με αυτό το όριο, τα επίπεδα NGAL στα ούρα ήταν φυσιολογικά σε όλους τους εργαζόμενους. Βέβαια πρέπει να σημειωθεί, ότι τόσο η διαγνωστική ειδικότητα (65%) όσο και η ευαισθησία (65%) των ανωτέρω ορίων είναι σχετικά χαμηλή (Schinstock et al. 2013).

Παρόμοια ήταν τα αποτελέσματα και για τους κλασσικούς δείκτες νεφρικής σωληναριακής βλάβης. Τα επίπεδα των μικρού μοριακού βάρους πρωτεϊνών δεν ήταν αυξημένα στα ούρα των εργαζομένων που ήταν εκτεθειμένοι σε TCE. Η συγκέντρωσή τους δεν παρουσίαζε σημαντική διαφορά στις ομάδες εργαζομένων που εξετάστηκαν.

Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι στα ούρα αρκετών εργαζομένων της ομάδας με παροντική άμεση έκθεση η ανοσοσφαιρίνη IgG ($n=5$) ήταν αυξημένη ενώ απουσίαζε από την ομάδα ελέγχου. Επίσης τα επίπεδα αλβουμίνης ήταν αυξημένα στο 64% των παροντικά άμεσα εκτεθειμένων, σημαντικά σε σύγκριση με στις υπόλοιπες ομάδες ($p=0,015$). Αυτό το γεγονός επιβεβαιώνει την σκέψη ότι στην έκθεση σε TCE πιθανώς συνυπάρχει μια αρχόμενη νεφρική πειραματική βλάβη.

Το TCE προκαλεί κυρίως σωληναριακές βλάβες στους νεφρούς και θεωρητικά με έμμεσο τρόπο σπειραματικές βλάβες.

Οι βλάβες στους συγκεκριμένους εργαζόμενους δεν θεωρείται πιθανό να οφείλονται σε συνοδές παθήσεις. Αφενός πρόκειται για άτομα νεώτερης ηλικίας, χωρίς παράγοντες κινδύνου για νεφροπάθεια. Αφετέρου ο ΣΔ, η ΑΥ, τα καρδιαγγειακά νοσήματα, το οικογενειακό και ατομικό ιστορικό νεφρικής νόσου ήταν εκ των προτέρων κριτήρια αποκλεισμού. Ως εκ τούτου το ανωτέρω εύρημα υποδεικνύει σπειραματική τοξική επίδραση του TCE σε μεμονωμένες περιπτώσεις, γεγονός που μένει να μελετηθεί.

Πρέπει να διευκρινιστεί ότι οι τιμές της A1M στην πλειονότητα των εξεταζόμενων δειγμάτων της ομάδας ελέγχου ήταν κάτω από την τιμή αναφοράς της μεθόδου. Σε κάποια δείγματα εντοπίστηκαν τιμές οριακά μεγαλύτερες από την τιμή αναφοράς αλλά είναι εντός του φυσιολογικού εύρους τιμών με βάση την διεθνή βιβλιογραφία (Weber et al.1985; Thomas 1998).

Επίσης οι τιμές της αλβουμίνης στην πλειονότητα των εξεταζόμενων δειγμάτων της ομάδας ελέγχου ήταν κάτω από την τιμή αναφοράς της μεθόδου. Σε 3 δείγματα εντοπίστηκαν τιμές οριακά μεγαλύτερες από το όριο ανίχνευσης. Αυτό είναι δυνατό να συμβεί σε τυχαία δείγματα ούρων και έχει σχέση με την ημερήσια διατροφική πρόσληψη πρωτεΐνης, με την άσκηση, την ηλικία, το βαθμό ενυδάτωσης του οργανισμού. Εξάλλου οι εργαζόμενοι στην ομάδα αυτή δεν είχαν καμία έκθεση στον διαλύτη. Ήταν όλοι κλινικά υγιείς, χωρίς ατομικό ιστορικό νεφρικής νόσου, υπέρτασης, ΣΔ, χωρίς ενεργό νεφρική νόσο ή πάθηση του ουροποιητικού.

Έχουν κατά καιρούς προταθεί διάφοροι δείκτες για την αξιολόγηση της νεφροσωληναριακής βλάβης όπως η N-acetyl-β-D-γλυκοζαμινιδάση (NAG) (Bunning 1998; Bazzi et al 2002; Skálová 2005), η S-τρανφεράση της γλουταθειόνης (GST) (Brüning et al.1999; Branten et al.2000) εκτός από την NGAL και την CysC (Trof et al. 2006; Pipilli 2011; Kokkoris 2012; Craig et al. 2012) οι οποίοι θεωρούνται πιο ευαίσθητοι και πρωιμότεροι δείκτες.

Σε μελέτη που δημοσιεύτηκε το 2004 (Green et al.2004) 70 εργαζόμενοι που άμεσα εκτέθηκαν στο TCE και 54 άτομα (ομάδα ελέγχου-διοικητικό προσωπικό) αξιολογήθηκαν για νεφρική βλάβη με μετρήσεις των επιπέδων της συνδετικής πρωτεΐνης της ρετινόλης, της A1-Μικροσφαιρίνης και της B2-Μικροσφαιρίνης και της ενζυμικής ενεργότητας της γλουταθειόνη-S-τρανφεράσης και της N-acetyl-β-D-γλυκοζαμινιδάσης (NAG) στα ούρα.

Η μοναδική σημαντική διαφορά μεταξύ της ομάδας των εκτεθειμένων εργαζομένων και της ομάδας ελέγχου ήταν η αύξηση που παρατηρήθηκε στην ενεργότητα της N-acetyl-β-D-γλυκοζαμινιδάσης (NAG) και στην συγκέντρωση της αλβουμίνης στα ούρα. Ωστόσο, όπως ανέφεραν οι συγγραφείς, ευρήματα που αφορούσαν την έκθεση στον TCE έδειξαν ότι η αύξηση της απέκκρισης της NAG σε συνδυασμό με την πρωτεинуρία αποτελούσε δείκτη νεφρικής δυσλειτουργίας και όχι δείκτη βλάβης των νεφρικών σωληναρίων και δεν συνδέονταν με την έκθεση στο TCE.

Είναι λοιπόν βέβαιο ότι η σημασία και η κλινική αξία αυτών των ευρημάτων θα πρέπει να διερευνηθεί εκτενέστερα. Δεδομένης της χρήσης του διαλύτη TCE σε βιομηχανική κλίμακα χρειάζεται να γίνουν επιδημιολογικές μελέτες σε μεγαλύτερους πληθυσμούς εκτεθειμένων εργαζομένων προκειμένου να αξιολογηθεί η σημασία της eGPx και να αξιοποιηθεί ως ευαίσθητος πρώιμος βιοδείκτης.

Η εκτίμηση της eGPx ούρων και αίματος για την αποτελεσματική δευτερογενή πρόληψη, την συστηματική παρακολούθηση και την έγκαιρη διάγνωση της βλάβης και/ή της δυσλειτουργίας του νεφρικού ιστού (επαγγελματική νεφροπάθεια) μπορεί να αποτελέσει σημαντικό εργαλείο, οικονομικά προσιτό στα χέρια του Ιατρού Εργασίας για την διασφάλιση της υγείας και της παραγωγικότητας των εργαζομένων που εκτίθενται συστηματικά κατά την εργασία ακόμα και σε χαμηλές συγκεντρώσεις στο TCE.

6. ΣΥΝΟΨΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

Το TCE, όπως αποδεικνύεται από την εκτενή και συστηματική μελέτη της βιβλιογραφίας, είναι ένας ευρείας χρήσης βιομηχανικός διαλύτης με σημαντική επίδραση στην υγεία των εργαζόμενων λόγω της οξείας ή χρόνιας επαγγελματικής έκθεσης .

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης υποδεικνύουν ότι η χρόνια έκθεση των εργαζομένων σε δόσεις μικρότερες από τις οριακές τιμές έκθεσης του διαλύτη TCE στο χώρο εργασίας, όταν δεν λαμβάνονται επαρκή μέτρα προστασίας, προκαλεί ήπια νεφρική βλάβη και νεφρική δυσλειτουργία. Η βλάβη και δυσλειτουργία αυτή μπορεί σε πρώιμο στάδιο να ανιχνευτεί με προσδιορισμό στο αίμα και στα ούρα του ενζύμου eGPx.

Το ένζυμο eGPx παρουσιάζεται ως εν δυνάμει ευαίσθητος δείκτης σε σύγκριση με άλλους δείκτες νεφρικής βλάβης όπως η κρεατινίνη και η NGAL στον ορό, και στα ούρα η αλβουμίνη, η IgG (δείκτες σπειραματικής βλάβης (Hou et al 2019; Craig et al.2012, Torfvitt et al.2012), η A1M, η B2M, FLC κ και λ (δείκτες σωληναριακής βλάβης) (Bolt et al.2004; Craig et al.2012; Terzi et al.2014; Argyropoulos et al.2017) η CysC (Pipili C et al.2011; Kokkoris et al.2012) και η NGAL (McCullough et al.2011; Pipili C et al.2011; Briguori ,et al.2014) πρώιμοι δείκτες οξείας εγγύς σωληναριακής βλάβης.

Συγκεκριμένα οι χρονίως εκτεθειμένοι εργαζόμενοι στον παρόντα χρόνο εμφάνιζαν αυξημένη συγκέντρωση eGPx στο αίμα και τα ούρα σε σχέση τόσο με τους εκτεθειμένους στο διαλύτη σε παρελθόντα χρόνο όσο και με το μη εκτεθειμένο προσωπικό.

Επιπλέον από τη μελέτη των άλλων ευαίσθητων δεικτών νεφρικής βλάβης διαπιστώθηκε ότι μερικοί εργαζόμενοι παροντικά εκτεθειμένοι στον διαλύτη εμφάνισαν στα ούρα αυξημένη ανοσοσφαιρίνη IgG και αλβουμίνη.

Αυτό επιβεβαιώνει την σκέψη ότι στους χρόνια εκτεθειμένους στον παρόντα χρόνο εργαζόμενους πιθανώς υπάρχει μια αρχόμενη νεφρική σπειραματική βλάβη.

Το TCE προκαλεί κυρίως σωληναριακές βλάβες και θεωρητικά, μόνο έμμεσα, προκαλεί σπειραματικές βλάβες στους νεφρούς. Οι βλάβες στους συγκεκριμένους εργαζόμενους δεν θεωρείται πιθανό να οφείλονται σε συνοδές παθήσεις. Ως εκ τούτου το ανωτέρω εύρημα υποδεικνύει σπειραματική τοξική επίδραση του TCE σε μεμονωμένες περιπτώσεις που μένει να μελετηθεί.

Στα ούρα η eGPx προσδιορίστηκε με τροποποιημένο σε μικρό βαθμό πρωτόκολλο με σκοπό να είναι εφικτή η αξιόπιστη μέτρηση του ενζύμου. Αυτή η τροποποίηση του πρωτοκόλλου είναι ουσιαστική για την μέτρηση του ενζύμου στα ούρα. Με τον τρόπο αυτό μπορεί να χρησιμοποιηθεί η eGPx ούρων σε επιδημιολογικές και άλλες μελέτες σχετικά με την νεφροτοξικότητα γενικά και ειδικά με την νεφροτοξικότητα του TCE. Εξάλλου η επαγγελματική χρήση του TCE είναι αρκετά διαδεδομένη και ο μηχανισμός της βλάβης που προκαλεί σχετίζεται άμεσα με την eGPx.

Επομένως θα πρέπει να ενταθούν οι μελέτες σε μεγαλύτερους πληθυσμούς εργαζομένων.

Μόνο με αυτό τον τρόπο μπορούν να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα σχετικά με την χρήση του ενζύμου eGPx ως ευαίσθητου βιολογικού δείκτη για την έγκαιρη δευτερογενή πρόληψη (secondary prevention) της βλάβης και/ή της δυσλειτουργίας του νεφρού που προκαλείται από την χρόνια επαγγελματική έκθεση σε συγκεντρώσεις μικρότερες από την οριακή τιμή έκθεσης στο διαλύτη TCE.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] **Argyropoulos, C., Chen, S., Yue-Harn Ng, Roumelioti, M.E, Shaffi, K., Singh, P.S, Tzamaloukas, A.** 2017; Rediscovering Beta-2 Microglobulin as a Biomarker across the Spectrum of Kidney Diseases. *Frontiers in Medicine*, 2017;4:73.
- [2] **Avissar, N., Whitin, J.C., Allen PZ, Wagner, D.D., Liegey, P., Cohen, H.J.** 1989; Plasma selenium- dependent glutathione peroxidase. *J Biol Chem* 264: 15850-55.
- [3] **Avissar. N., Ornt, D., Yagil, Y., Horowitz, S., Watkins, R.H., Kerl, E.A., Takahashi, K., Palmer, S., Cohen, H.J.** 1994a; Human kidney proximal tubules are the main source of plasma glutathione peroxidase. *Am J Physiol* 266: C367.
- [4] **Bazzi, C., Petrini, C., Rizza, V., Arrigo, G., Napodano, N., Paparella, M., D'Amico, G.** 2002; Urinary N acetyl- β -glucosaminidase excretion is a marker of tubular cell dysfunction and a predictor of outcome in primary glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant*. 17: 1890-1896.
- [5] **Bennett, M., Dent, C.L., Ma, Q., Dastrala, S., Grenier, F., Workman, R., Syed, H., Ali, S., Barasch, J., Devarajan, P.** 2008; Urine NGAL predicts severity of acute kidney injury after cardiac surgery: a prospective study. *Clin J Am Soc Nephrol* 3 (3): 665–73.
- [6] **Bolt, H.M., Lammert, M., Selinski, S., Brüning, T.** 2004; Urinary alpha1-microglobulin excretion as biomarker of renal toxicity in trichloroethylene-exposed persons. *Int Arch Occup Environ Health*. 77: 186–190.
- [7] **Branten, A.J., Mulder T.P., Peters, W.H., Assmann, K.J., Wetzels, J.F.** 2000; Urinary Excretion of Glutathione S Transferases Alpha and Pi in Patients with Proteinuria: Reflection of the Site of Tubular Injury. *Nephron*. 85:120–126
- [8] **Brigelius- Flohé, R.** 2006; Glutathione peroxidases and redox-regulated transcription factors. *Biol Chem*. 387: 1329 -1335.
- [9] **Briguori, C., Quintavalle, C., Donnarumma, E., Condorelli, G.** 2014; Novel biomarkers for contrast-induced acute kidney injury. *Biomed Res Int*. <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2014/568738>.
- [10] **Brüning, T., Golka, K., Makropoulos, V., Bolt, H.M.** 1996; Preexistence of chronic tubular damage in cases of renal cell cancer after long and high exposure to trichloroethylene. *Arch Toxicol*. 70: 259.
- [11] **Brüning, T., Weirich, G., Hornauer, M.A. et al.** 1997a; Renal cell carcinomas in trichloroethene (TRI) exposed persons are associated with somatic mutations in the von Hippel-Lindau (VHL) tumour suppressor gene. *Arch Toxicol*. 71: 332–335.

- [12] **Brüning, T., Vamvakas, S., Makropoulos V., Birner, G.** 1998; Acute intoxication with trichloroethene: Clinical symptoms, toxicokinetics, metabolism and development of biochemical parameters for renal damage. *Toxicol Sci.* 41: 157.
- [13] **Brüning, T., Sundberg, A.G., Birner, G., Lammert, M., Bolt, H.M., Appelkvist, E., Nilsson, R., Dallner, G.** 1999; Glutathione transferase alpha as a marker for tubular damage after trichloroethylene exposure. *Arch Toxicol.* 73: 246 – 254.
- [14] **Brüning, T., Pesch, B., Wiesenhütter, B. et al.** 2003; Renal cell cancer risk and occupational exposure to trichloroethylene: results of a consecutive case-control study in Arnsberg, Germany. *Am J Ind Med.* 43: 274–285.
- [15] **Buhagen, M., Grønskag, A., Ragde, S. F., Hilt, B.,** 2016; Association Between Kidney Cancer and Occupational Exposure to Trichloroethylene. *J Occup Environ Med.*, 58(9), pp.957-959.
- [16] **Buonafine, M., Martinez-Martinez, E., Jaisser F.** 2018; More than a simple biomarker: the role of NGAL in cardiovascular and renal diseases. *Clinical Science.* 132(9): 909-923.
- [17] **Ceballos-Picot, I., Witko-Sarsat, V., Merad-Boudia, M., Nguyen, A.T., Thevenin, M., Jaudon, M.C., Zingraff, J., Jungers, P., Descamps-Latscha, B.** 1996; Glutathione antioxidant system as a marker of oxidative stress in chronic renal failure. *Free Rad Biol Med.* 21: 845.
- [18] **Charbotel, B, Fevotte, J., Martin, J.L., Bergeret. A.** 2009; Renal cell carcinoma and exposure to trichloroethylene: are the French limits of occupational exposure relevant? *Rev Epidemiol Sante Publique.* 57(1):41-7.
- [19] **Chen, J.C., Stevens, J.L., Trifillis, A.L., Jones, T.W.** 1990; Renal cysteine conjugate β -lyase-mediated toxicity studied with primary cultures of human proximal tubular cells. *Toxicol Appl Pharmacol.* 103: 463–473
- [20] **Chen, H.C., Guh, J.Y., Lai, Y.H.** 2001; Alterations of glomerular and extracellular glutathione peroxidase levels in patients and rats with focal segmental glomerulosclerosis. *J Lab Clin Med.* 137: 279.
- [21] **Chorazy, P.A., Schumacher Jr, H.R., Edlind T.D.** 1992; Role of glutathione peroxidase in rheumatoid arthritis: analysis of enzyme activity and DNA polymorphism. *DNA Cell Biol.*;11(3):221-5. doi: 10.1089/dna.1992.11.221.
- [22] **Chiu, Y.W., Kuo, M.C., Kuo, H.T., Chang, J.M., Guh, J.Y., Lai, Y.H., Chen, H.C.** 2005; Alterations of glomerular and extracellular levels of glutathione peroxidase in patients and experimental rats with diabetic nephropathy. *J Lab Clin Med.* 145: 181 – 186.

- [23] **Chiu, W.A., Okino, M.S., Lipscomb, J.C., Evans, M.V.** 2006; Issues in the pharmacokinetics of trichloroethylene and its metabolites. *Environ Health Perspect*, 114: 1450– 1456.
- [24] **Conti, M., Moutere, A., Zater, M., Lallali, K., Durrbach, A. et al.** 2006; Urinary cystatin as a specific marker of tubular dysfunction. *Clin Chem Lab Med*. 44:288-291.
- [25] **Comhair, S.A., Erzurum, S.C.** 2005; The regulation and role of extracellular glutathione peroxidase. *Antioxid Redox Signal*. Jan-Feb 7(1-2):72-9
- [26] **Cummings, B.S. & Lash L.H.** 2000; Metabolism and toxicity of trichloroethylene and S-(1,2-dichlorovinyl)-L-cysteine in freshly isolated human proximal tubular cells. *Toxicol Sci*. 53: 458–466
- [27] **Cummings, B.S., Parker, J.C., Lash, L.H.** 2000a; Role of cytochrome P450 and glutathione S-transferase alpha in the metabolism and cytotoxicity of trichloroethylene in rat kidney. *Biochem Pharmacol*. 59: 531–543.
- [28] **Cummings, B.S., Lasker, J.M., Lash, L.H.** 2000b; Expression of glutathione-dependent enzymes and cytochrome P450s in freshly isolated and primary cultures of proximal tubular cells from human kidney. *J Pharmacol Exp Ther*. 293:677-685.
- [29] **Cummings, B.S., Parker, J.C., Lash, L.H.** 2001; Cytochrome P450-dependent metabolism of trichloroethylene in rat kidney. *Toxicol Sci*. 60: 11–19.
- [30] **Dekant, W., Koob, M., Henschler, D.** 1990; Metabolism of trichloroethene-in vivo and in vitro evidence by glutathione conjugation. *Chem Biol Interact*. 73:89-101.
- [31] **De Vega, L., Fernández, R.P., Mateo, M.C., Bustamante, J.B., Herrero, M., Munguira, E.B.** 2002; Glutathione determination and a study of the activity of Glutathione-peroxidase, Glutathione-transferase, and Glutathione-reductase in renal transplants. *Renal Failure*.24:4, 421-432
- [32] **Dharnidh Arka, V.R., Kwon, C., Stevens, G.** 2002; Serum cystatin C is superior creatinine as a marker of kidney function: A meta–analysis. *Am J Kidney Dis*. 40:221-226.
- [33] **DOW Chemical** 2012. DOW Customer Help: Trichloroethylene. Midland, MI: DOW Chemical Company.
- [34] **DSa, J., Shetty, S., Bhandary, R.R., Rao A.V.** 2017; Association Between Serum Cystatin C and Creatinine in Chronic Kidney Disease Subjects Attending a Tertiary Health Care Centre. *Clin Diagn Res*. 11(4): BC 09-BC12.
- [35] **El-far, M., Bakr, M., Farahat, S., Abd El-Fattah, E.** 2005; Glutathione peroxidase activity in patients with renal disorders. *Clin Exp Nephrol*. 9(2):127-31.

- [36] **Forkert, P.G., Lash, L.H., Nadeau, V. et al.** 2002; Metabolism and toxicity of trichloroethylene in epididymis and testis. *Toxicol Appl Pharmacol.* 182: 244–254.
- [37] **Forkert P.G., Lash, L., Tardif, R. et al.** 2003; Identification of trichloroethylene and its metabolites in human seminal fluid of workers exposed to trichloroethylene. *Drug Metab Dispos.* 31: 306–311.
- [38] **Forkert, P.G., Baldwin, R.M., Millen, B. et al.** 2005; Pulmonary bioactivation of trichloroethylene to chloral hydrate: relative contributions of CYP2E1, CYP2F, and CYP2B1. *Drug Metab Dispos.* 33: 1429– 1437.
- [39] **Forkert, P.G., Millen, B., Lash, L.H. et al.** 2006; Pulmonary bronchiolar cytotoxicity and formation of dichloroacetyl lysine protein adducts in mice treated with trichloroethylene. *J Pharmacol Exp Ther.* 316: 520–529.
- [40] **Funai, EF, MacKenzie, A., Kadner, S.S., Roque, H, Lee, M.J., Kuczynski, E.** 2002 Glutathione peroxidase levels throughout normal pregnancy and in pre-eclampsia. *J Maternal-Fetal Neonat Med.*12 (5): 322 – 326.
- [41] **Glauser, J., Ishikawa, Y.** 2008; Chemical Economics Handbook Marketing Research Report:C2 Chlorinated Solvents. Menlo Park, CA: SRI Consulting. Available at: <http://chemical.ihs.com/nl/Public/2008Aug.pdf>.
- [42] **Gowda, S., Desai, P.B., Kulkarni, S.S., Hull, V.V., Math, A., Vernekar, S.N.** 2010; Markers of renal function tests. *North Am J Med Sci.* 2: 170-173.
- [43] **Goeptar, A., Commandeur, J., Van Ommen, B., Van Bladeren, P., Vermeulen, R.** 1995; Metabolism and kinetics of trichloroethylene in relation to toxicity and carcinogenicity. Relevance of mercapturic acid pathway. *Chem. Res. Toxicol.* 8:3-21.
- [44] **Green, T.** 2000; Pulmonary Toxicity and Carcinogenicity of Trichloroethylene: Species Differences and Modes of Action *Environ Health Perspect* 108(suppl 2):261-264.
- [45] **Green, T., Dow J., Ong C.N., N. V., Ong H.Y., Zhuang Z.X., Yang F., Bloemen L.** 2004; Biological monitoring of kidney function among workers occupationally exposed to trichloroethylene; *Occup Environ Med.*61: 312-317.
- [46] **Grubb, A.O.** 2001; *Adr Clin Chem.* 35: 63-99.
- [47] **Haase, M., Devarajan, P., Haase-Fielitz, A., Bellomo, R., Cruz, D.N., Wagener, G., Krawczeski, C.D. et al.** 2011; The outcome of neutrophil gelatinase-associated lipocalin-positive subclinical acute kidney injury: a multicenter pooled analysis of prospective studies *J. Am. Coll. Cardiol.* 57 (17): 1752–61.

- [48] **Han, W.K., Wagener, G., Zhu, Y., Wang, S., Lee, H.T.** 2009; Urinary biomarkers in the early detection of acute kidney injury after cardiac surgery. *Clin J Am Soc Nephrol.* 4, (5): 873–82.
- [49] **Hansen, J., Sallmén, M., Seldén, AI., Anttila, A., Pukkala, E., Andersson, K., Bryngelsson, I., Raaschou-Nielsen, O., Olsen, J., McLaughlin, J.K.** 2013; Meta-Analysis- Risk of cancer among workers exposed to trichloroethylene: analysis of three Nordic cohort studies. *J Natl Cancer Inst.* 105(12):869-77.
- [50] **Harth, V., Brüning, T., Bolt, H.M.** 2005; Renal carcinogenicity of trichloroethylene: update, mode of action, and fundamentals for occupational standard setting. *Rev Environ Health.* 20(2):103-18.
- [51] **Heba, S.A, Elsherbiny, A., Younes, K., Radwa, A.S., Waked, E.** 2008; Assesment of Serum Neutrophil Gelatinase-associated Lipocalin Versus Protienuria in Chronic Kidney Diseases *Kidney.* 7:289–293.
- [52] **Henschler, D., Vamvakas, S., Lammert, M., Dekant, W., Kraus, B., Thomas, B., Ulm, K.** 1995; Increased incidence of renal cell tumors in a cohort of cardboard workers exposed to trichloroethene. *Arch.Toxicol.* 69:291-299.
- [53] **Herget-Rosenthal, S., Poppen D., Hüsing, J., Marggraf, G., Pietruck, F., Jakob, HD., Philipp, T., Kribben, A.,** 2004; Prognostic value of tubular proteinuria and enzymuria in nonoliguric acute tubular necrosis *ClinChem.* 50(3):552-8.
- [54] **Hou, J., Cheng, Y., Hou, Y., Wu, H.** 2019; Lower Serum and Higher Urine Immunoglobulin G Are Associated with an Increased Severity of Idiopathic Membranous Nephropathy. *Ann Clin Lab Sci.* 49:777-78
- [55] **Iami, H., Nakagawa, Y.** 2003; Biological significance of phospholilpid hydroperoxide glutathione peroxidase (PHGPx, GPx4) in mammalian cells. *Free Radic Biol Med.* 4:145 – 169.
- [56] **Ihrig, A., Triebig, G., Dietz, M.C.** 2001; Evaluation of a modified German version of the Q16 questionnaire for the neurotoxic symptoms in workers exposed to solvents. *Occup Environ Med.* 58:19-23.
- [57] **Jacobson, G.A., Narkowicz, C., Tong Y.C., Peterson, G.** 2006; Plasma glutathione peroxidase by ELISA and relationship to selenium level. *Clin Chim Acta.* 369: 100 – 103.
- [58] **Jacobson, G.A., Yee, K.C., Ng, C.H.** 2007; Elevated plasma glutathione peroxidase concetration in acute severe asthma: comparison with plasma peroxidase activity, selenium and malondialdehyde. *Scand J Clin Inves:* 67(4): 423-30.

- [59] **Kauppinen, T., Toikkanen, J., Pedersen, D. et al.** 2000; Occupational exposure to carcinogens in the European Union. *Occup Environ Med.* 57: 10–18.
- [60] **Kim, I., Ha J., Lee J.H., Yoo K., Rho J.,** 2014; The Relationship between the Occupational Exposure of Trichloroethylene and Kidney Cancer. *Ann Occup Environ Med.*, 26(1), pp.12. <http://dx.doi.org/10.1186/2052-4374-26-12>
- [61] **Kjeldsen, L., Johnsen, A.H., Sengelov, H., Borregaard, N.** 1993; Isolation and primary structure of NGAL, a novel protein associated with human neutrophil gelatinase. *J Biol Chem.* 268:10425–32.
- [62] **Kokkoris, S., Grapsa, E., Nanas, S.** 2012; Acute kidney injury and novel markers of renal function in adult intensive care unit patients *Archives of Hellenic Medicine.* 29(5):550–561.
- [63] **Lash, L.H., Fisher, J.W., Lipscomb, J.C., Parker, J.C.** 2000a; Metabolism of trichloroethylene *Environ Health Perspect.* 108(Suppl 2): 177–200
- [64] **Lash, L.H., Hueni, S.E, Putt, D.A.** 2001a; Apoptosis, necrosis, and cell proliferation induced by S-(1,2-dichlorovinyl)- L-cysteine in primary cultures of human proximal tubular cells. *Toxicol Appl Pharmacol.* 177: 1–16.
- [65] **Lash, L.H., Putt, D.A., Hueni, S.E. et al.** 2003; Roles of necrosis, Apoptosis, and mitochondrial dysfunction in S-(1,2- dichlorovinyl)-L-cysteine sulfoxide-induced cytotoxicity in primary cultures of human renal proximal tubular cells. *J Pharmacol Exp Ther.* 305: 1163–1172
- [66] **Lash, L.H., Putt, D.A., Hueni, S.E., Horwitz, B.P.** 2005; Molecular markers of trichloroethylene-induced toxicity in human kidney cells. *Toxicol Appl Pharmacol.* 206: 157–16,8.
- [67] **Lash, L.H., Putt, D.A., Parker, J.C.** 2006a; Metabolism and tissue distribution of orally administered trichloroethylene in male and female rats: identification of glutathione and cytochrome P-450-derived metabolites in liver, kidney, blood, and urine. *J Toxicol Environ Health A.* 69: 1285–1309.
- [68] **Laterza, O.F, Price, C.P, Scott, M.G.** 2002 Dec; Cystatin C: an improved estimator of glomerular filtration rate? *Clin Chem.* 48(12):2297-8.
- [69] **Lee, K.M., Zhang L., Vermeulen R., Hu W., Bassig B., Jj Wong, J., Qiu, C., Purdue, M., Wen, C., Walker, D. et al.** 2019; Alterations in immune and renal biomarkers among workers occupationally exposed to low levels of trichloroethylene below current regulatory standards. *Occup Environ Med.* 76(6):376-381.

- [70] **Li, B., Xie, H., Wang X., Yang X., Yang L., Zhang J., Wang F., Shen T., Zhu Q.** 2019; Oxidative stress mediates renal endothelial cell damage in trichloroethylene-sensitized mice. *J Toxicol Sci.* 44(5):317-326.
- [71] **Lock, E., Barth, J., Argraves, S., Schnellmann, R.** 2006; Changes in gene expression in human renal proximal tubule cells exposed to low concentrations of S-(1,2-dichlorovinyl)-l-cysteine, a metabolite of trichloroethylene. *Toxicol Appl Pharmacol.* 216: 319–330.
- [72] **Lock, E., Reed, C.** 2006; Trichloroethylene: Mechanisms of Renal Toxicity and Renal Cancer and Relevance to Risk Assessment. *Toxicological Sciences.* 91, (2):313–331.
- [73] **Maddipati, K., Marnett, L.** 1987; Characterization of the major hydroperoxide-reducing activity of human plasma. *J Biol Chem.* 262: 17398.
- [74] **Makropoulos, V., Livaniou, E., Stefanidis, I., Leondiadis, L., Zikos, C., Vassiliadou, I., Stroulia, A., Evangelatos, G., Ithakissios, S.** 2002; Human Plasma Glutathione Peroxidase in Urine Samples of Workers Exposed to Nephrotoxic Substances vs. Patients with Renal Diseases and Normal Individuals. In: *Proceedings of the XVIth World Congress on Safety and Health at Work (May 26-31, Vienna, Austria, International Social Security Association, 2002).*
- [75] **Margis, R., Dunand, C., Teixeira, F.K., Margis-Pinheiro, M.** 2018; Aug 2018 Glutathione peroxidase family – an evolutionary overview. *The FEBS journal* vol 275, issue 15.
- [76] **McCullough, P., El-Ghoroury, M., Yamasaki, H.** 2011; Early detection of Acute Kidney Injury with Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin. *J Am Col Card.* 57-17: 1762-1764.
- [77] **McGill, C., Green, N., Meadows, M., Gropper, S.** 2003; Beta-carotene supplementation decreases leukocyte superoxide dismutase activity and serum glutathione peroxidase concentration in humans. *J Nutr Bioche.* 14: 656 – 662.
- [78] **Mills, G.C.** 1957; Hemoglobin catabolism. Glutathione peroxidase, an erythrocyte enzyme which protects hemoglobin from oxidative breakdown. *J Biol Chem* 229: 189.
- [79] **Mori, K., Lee, H., Rapoport, D., Drexler, I., Foster K., Yang J. et al.** 2005; Endocytic delivery of lipocalin-siderophore-iron complex rescues the kidney from ischemia-reperfusion injury. *J Clin Invest.* 115:610-621.
- [80] **Muse, K.E., Oberley, T.D.** 1994; Sempf JM and Oberley LW Immunolocalization of antioxidant enzymes in adult hamster kidney. *Histochem J.* 26: 734 – 753.
- [81] **Nagasawa, Y., Ukai, H., Okamoto, S. et al.** 2011a; Organic solvent use in enterprises in Japan. *Ind Health.* 49: 534–541.

- [82] **Nielson, B., Boregaard, N., Bundgaard, Jr., Timshel, S., Sehested, M., Kjeldsen, L.** 1996; Induction of NGAL synthesis in epithelial cells of human colorectal neoplasia and inflammatory bowel diseases. *Gut*. 38:414-420.
- [83] **Negrin, L.L., Hahn, R., Heinz, T., Hanjdu, S.** 2018; Diagnostic utility of serum neutrophil gelatinase -associated lipocalin in polytraumatized patients suffering acute kidney injury: A prospective study. *Biomed Research International*, Vol.2018, Article ID 2687584 doi:10.1155/2018/2687584.
- [84] **Odum, J., Foster, JR., Green, T.** 1992; A mechanism for the development of Clara cell lesions in the mouse lung after exposure to trichloroethylene. *Chem Biol Interact*. 83: 135–153.
- [85] **Pipili, C., Grapsa, E., Sakellaridis, K., Parisi, M., Nanas, S.** 2011; The renal microcirculation and biomarkers in acute kidney injury of ICU patients. *Archives of Hellenic Medicine*. 28(3): 307-316.
- [86] **Prats, M., Font, R., García, C., Muñoz-Cortés, M., Cabré, C., Jariod, M., Romeu, M., Giral, M., Martinez-Vea, M.** 2014; Oxidative stress markers in predicting response to treatment with ferric carboxymaltose in nondialysis chronic kidney disease patients. *Clin Nephrol*. 81(6):419-26.
- [87] **Ren, B., Huang, W., Akesson, B., Ladenstein, R.** 1997; The crystal structure of seleno-glutathione peroxidase from human plasma at 2.9 Å resolution. *J Mol Biol*. 268 :869.
- [88] **Roxborough, H., Mercer, C., McMaster, D., Maxwell A.** 1999; Young Is Plasma glutathione peroxidase activity is reduced in haemodialysis patients. *Nephron*. 81 :278.
- [89] **Roxborough, H.E.** 2000; Decreased plasma glutathione peroxidase activity in uraemic patients. *Nephron*. 84: 280.
- [90] **Rundle, A., Richards, C., Tang, D., Perera, F.** 2008; Lack of association between physical activity in smokers and plasma glutathione peroxidase levels. *Cancer Biomarkers Prev*, 2008;17: 1004 – 1006.
- [91] **Schiavon, R., Guidi, G.C., Biasioli, S., DeFanti, E., Targa, L.** 1994b; Plasma glutathione peroxidase activity as an index of renal function. *Eur J Clin Chem Clin Biochem*. 32: 759.
- [92] **Schinstock, C.A., Semret, M.H., Wagner, S.J., Borland, T.M., Bryant, S.C., Kashani K.B., Larson, T.S., Lieske, J.C.** 2013; Urinalysis is more specific and urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin is more sensitive for early detection of acute kidney injury. *Nephrol Dial Transplant*. 28:1175-85.

- [93] **Skálová, S.** 2005; The diagnostic role of urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase (NAG) activity in the detection of renal tubular impairment. *Acta Med (Hradec Kralove)*. 48: 75 – 80.
- [94] **Takahashi, K., Avissar, N., Whitin, J., Cohen, H.** 1987; Purification and characterization of human plasma glutathione peroxidase: A selenoglycoprotein distinct from the known cellular enzyme. *Arch Biochem Biophys*. 256: 677.
- [95] **Terzi, I., Papaioannou, V., Papanas, N., Dragoumanis, C., Petala, A., Theodorou, V., Gioka, T., Vargemezis, V., Maltezos, E., Pneumatikos, I.** 2014; Alpha1-microglobulin as an early biomarker of sepsis-associated acute kidney injury: a prospective cohort study. *Hippokratia*. 18(3): 262–268
- [96] **Tham, D.M., Whitin, J.C., Cohen, H.J.** 2002; Increased expression of extracellular glutathione peroxidase in mice with dextran sodium sulfate-induced experimental colitis. *Ped Res*. 51: 641 – 646.
- [97] **Tham, D.M., Whitin, J.C., Kim, K.K., Zhu, S.X., Cohe, H.** 1998; Expression of extracellular glutathione peroxidase in human and mouse gastrointestinal tract *Am. J. Physiol. (Gastrointest. Liver Physiol)*. 275 (6): 1463-1471.
- [98] **Thomas, J.P., Maiorino, M., Ursini, F., Girotti, A.W.** 1990; Protective action of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase against membrane-damaging lipid peroxidation: In situ reduction of phospholipid and cholesterol hydroperoxides. *J Biol Chem*. 265: 454.
- [99] **Thomas L.** *Clinical Laboratory Diagnostics: use and Assessment of Clinical Laboratory Results*. TH-Books, Frankfurt am Main; 1998: 362.
- [100] **Torffvit, O., Kalani, M., Apelqvist, J., Eliasson, B., et al.** 2012; Increased Urine IgM and IgG2 Levels, Indicating Decreased Glomerular Size Selectivity, Are Not Affected by Dalteparin Therapy in Patients with Type 2 Diabetes. *Biochemistry Research International* volume. Article ID 480529, 7 pages.
- [101] **Trof, R.J., DiMaggio, F., Leemreis, J., Groeneveld, A.B.** 2006; Biomarkers of acute renal injury and renal failure. *Shock*. 26: 245 – 253
- [102] **Trude, H., Smith, K., Sato, S., Rodriguez, D., Holmes, M., Strong, R., Akira, S., Aderem, A.** 2004; Lipocalin 2 mediates an innate immune response to bacterial infection by sequestering iron. *Nature*. 432:917–921
- [103] **Uchida, K., Gotoh, A.** 2002; Measurement of cystatine-C and creatinine in urine. *Clin Chim Acta*. 323:121-128.

- [104] **Vermeulen, R., Zang, L., Spienburg, A., Tang, X., et al.** 2012. Elevated urinary levels of kidney injury molecule-1 among Chinese factory workers exposed to trichloroethylene. *Carcinogenesis*. 33(8):1538-41.
- [105] **Von Grote, J., Hürlimann, C., Scheringer, M., Hungerbühler, K.** 2003; Reduction of occupational exposure to perchloroethylene and trichloroethylene in metal degreasing over the last 30 years: influences of technology innovation and legislation. *J Expo Anal Environ Epidemiol*. 13: 325–340.
- [106] **Weber, M.H., Scholz, P., Stibbe, W., Scheler, F.**1985; Alpha1-microglobulin in the urine and serum in proteinuria and kidney insufficiency. *Klin Wochenschr*.63(15):711-7
- [107] **Whitin, J.C., Tham, D.M., Bhamre, S., Ornt, D.B. et al.** 1998; Plasma glutathione peroxidase and its relationship to renal proximal tubule function. *Mol Gen Metab*. 65: 238.
- [108] **Whitin, J.C., Bhamre, S., Tham, D.M., Cohen, H.J.** 2002; Extracellular glutathione peroxidase is secreted basolaterally by human renal proximal tubule cells. *Am J Physiol Renal Physiol*. 283: 20 – 28.
- [109] **Wu, C., Schaum, J.** 2001; Sources, emissions and exposures for trichloroethylene and related chemicals. Washington, DC: US Environmental Protection Agency
- [110] **Xu, F., Papanayotou, I., Putt, D.A. et al.** 2008; Role of mitochondrial dysfunction in cellular responses to S-(1,2- dichlorovinyl)-L-cysteine in primary cultures of human proximal tubular cells. *Biochem Pharmacol*. 76: 552–567.
- [111] **Yao, J.K., Reddy, R.D., van Kammen, D.P.**1999; Human plasma glutathione peroxidase and symptom severity in Schizophrenia. *Biol Psychiatry*. 45: 1512 – 1515.
- [112] **Yamamoto, Y., Takekoshi, Y., Itami, N., Honjo, T., Kojima, H., Yano, S., Takahashi, H., Saito, I., Takahashi, K.** 1995; Enzyme-linked immunoabsorbent assay for extracellular glutathione peroxidase in serum of normal individuals and patients with renal failure on hemodialysis. *Clin Chim Acta*. 236: 93.
- [113] **Yoshimura, S., Suemizu, H., Nomoto, Y., Sakai, H., Katsuoka, Y, Kawamura, N., Moriuchi, T.** 1996; Plasma glutathione peroxidase deficiency caused by renal dysfunction. *Nephron*. 73: 207-93
- [114] **Zachara, B.A., Gromadzińska, J., Wąsowicz, W., Zbróg, Z.** 2006; Red blood cell and plasma glutathione peroxidase activities and selenium concentration in patients with chronic kidney disease: A review. *Acta Biochim Polon*. 53: 663 – 677.
- [115] **Zahran, A., EL- Hussein, A., Shoker, A.** 2007; Can cystatin C replace creatinine to estimate glomerular filtration rate? A literature review. *Am. J. Nephrol*. 27: 197-205.

- [116] **Zoidis, E., Seremelis, I., Kontopoulos, N., Danezis, G.** 2018; Selenium-Dependent Antioxidant Enzymes: Actions and Properties of Selenoproteins Antioxidants (Basel). 7(5): 66.
- [117] **Δρίβας, Σ., Ζορμπά, Κ., Κουκουλάκη, Θ.** 2003; Υπόδειγμα ερωτηματολογίου υποκειμενικής εκτίμησης των εργαζομένων. Μεθοδολογικός οδηγός για την εκτίμηση και πρόληψη του επαγγελματικού κινδύνου Β' Έκδοση. Αθήνα: σελ.207-213.
- [118] **Κάκκας Ι.** 2012; Η συμβολή των μετρήσεων των ελεύθερων ελαφρών αλυσίδων του ορού στην προγνωστική κατηγοριοποίηση και παρακολούθηση των πασχόντων από πλασματοκυτταρικές δυσκρασίες, Τμήμα Ανοσολογίας και Ιστοσυμβατότητας, Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών «Ευαγγελισμός», Αρχεία Ελληνικής Ιατρικής. 29(3):372-378.

BIBΛΙΑ

- [1] **Craig, W., Ledue, T., Ritchi, R.** 2012; PLASMA PROTEINS – Clinical utility and interpretation: p.107, p.111, p.116, p.122, p.133.
- [2] **Flohé, L., Brigelius-Flohé, R.** 2006; SELENIUM -Its Molecular Biology and Role in Human Health: Selenoproteins of the glutathione system: pp. 161-172.
- [3] **Grotjan, H.E., Keel, B.A.,**1996; Data interpretation and quality control; Immunoassay E.P. Diamantidis & T.K. Christopoulos, Eds. Academic Press, pp.51-93.
- [4] **Rodriguez, R., Hernandez, T.** 2007; CURRENT Diagnosis & Treatment: Occupational & Environmental Medicine, Capital 26. Renal Toxicology: 5th edition.
- [5] **Thomas L.** 1998; Clinical Laboratory Diagnostics: use and Assessment of Clinical Laboratory Results. TH-Books, Frankfurt am Main: p. 362.
- [6] **NIOSH: ΜΕΘΟΔΟΣ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗΣ 1022 ΕΓΧΕΙΡΙΔΙΟ ΑΝΑΛΥΤΙΚΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ,** 1994; 4η έκδοση.

ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΒΙΒΛΙΑ

- [1] **ΖΗΜΑΛΗΣ, Ε.,** ΙΑΤΡΙΚΗ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ ΚΑΙ ΤΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ, 2002: σελ.126-128.
- [2] **ΣΤΕΦΑΝΙΔΗΣ, Ι.** ΔΙΔΑΚΤΙΚΟ ΒΟΗΘΗΜΑ ΝΕΦΡΟΛΟΓΙΑΣ 2012: σελ. 1-28, σελ.92-93, σελ.120- 122.
- [3] **ΟΡΙΑΚΕΣ ΤΙΜΕΣ ΕΚΘΕΣΗΣ ΧΗΜΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ, ΕΛΙΝΥΑΕ,** 2019: σελ.9, σελ.12-14, σελ.152
- [4] **ΠΑΘΟΛΟΓΙΑ CECIL,** 2003: σελ.295-310, σελ.339.

ΙΣΤΟΣΕΛΙΔΕΣ

1. EPA Toxicological Review of Trichloroethylene: In support of summary information on the integrated risk information system (IRIS). EPA/635/R-09/011F. Washington, DC: US Environmental Protection Agency(2011a)
https://cfpub.epa.gov/ncea/iris/iris_documents/documents/toxreviews/0199tr/0199tr.pdf
2. EPA Assessing and Managing Chemicals under TSCA Risk Management for Trichloroethylene (TCE) (2020)
<https://www.epa.gov/assessing-and-managing-chemicals-under-tsca/risk-management-trichloroethylene-tce>
https://www.epa.gov/sites/default/files/2020/11/documents/1._risk_evaluation_for_trichloroethylene_tce_casrn_79-01-6.pdf PP30-33
3. IARC, 2014 Trichloroethylene, Tetrachloroethylene, and Some Other Chlorinated Agents. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, No. 106 Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK294285> [Accessed 3 January 2022].
4. KEMI Swedish Chemicals Agency (2012). Chlorinated solvents.
http://www.kemi.se/en/Content/Statistics/Statistics-in-brief/Statistics-in-brief_Substances-and-substance-groups/Chlorinatedsolvents/. Accessed 19 November 2013
5. NICNAS; National Industrial Chemicals Notification and Assessment Scheme (2000). Trichloroethylene: Priority Existing Chemical Assessment Report No. 8., p.266. Sydney, Australia
http://www.nicnas.gov.au/_data/assets/pdf_file/0004/4369/PEC_8_Trichloroethylene_Full_Report_PDF.pdf.
6. SCOEL/SUM (2009). Recommendation from the Scientific Committee on Occupational Exposure Limits for Trichloroethylene. Report No.142. Available at: <http://www.ec.europa.eu/social/>
7. Trichloroethylene, Tetrachloroethylene, and Some Other Chlorinated Agents.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK294285>

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

EPA =UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY

IARC =INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (WHO)

NICNAS= NATIONAL INDUSTRIAL CHEMICALS NOTIFICATION AND ASSESMENT SCHEME (AUSTRALIAN GOVERNMENT, DEPARTMENT OF HEALTH AND AGEING)

NIOSH =NATIONAL INSTITUTE OF OCCUPATIONAL SAFETY AND HEALTH (U.S. FEDERAL AGENCY)

ΕΛΙΝΥΑΕ = ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟ ΥΓΙΕΙΝΗΣ ΚΑΙ ΑΣΦΑΛΕΙΑΣ ΣΤΗΝ ΕΡΓΑΣΙΑ