ΕΝΔΟΚΡΙΝΟΛΟΓΙΑ.— **Νέα, ταχεῖα (6 λεπτῶν), μέθοδος προσδιορισμοῦ θυροξίνης καὶ κλινικὲς ἐφαρμογὲς αὐτῆς,** ὑπὸ *Ἰ. Μάντζου, Ε. Κάργα, Β. Τσελέντη, Κ. Γαβριήλ, Χ. Καρδαρᾶ, Π. Παπαπέτρου**, διὰ τοῦ Ἀκαδημαϊκοῦ κ. Γεωργίου Μερίκα.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Γιὰ τὸν προσδιορισμὸ μιᾶς ὁρμόνης μὲ ραδιομέθοδο εἶναι ἀπαραίτητη ἡ ὕπαρξη μιᾶς εἰδικῆς πρωτεΐνης, ἡ ὁποία ἐκλεκτικὰ νὰ ἀντιδρᾶ μὲ τὴν πρὸς προσδιορισμὸ ὁρμόνη [**1, 2**].

Σήμερα χρησιμοποιοῦνται, σχεδὸν ἀποκλειστικά, ἀντισώματα σὰν εἰδικὲς πρωτεΐνες γιὰ τὸν προσδιορισμὸ ἑνὸς μεγάλου ἀριθμοῦ ὁρμονῶν στὶς ραδιοανοσοβιολογικὲς μεθόδους. Ὁ χρόνος ὅμως τῆς ἀντίδρασης τῆς ὁρμόνης μὲ τὸ ἀντίστοιχο ἀντίσωμα εἶναι σχετικὰ μεγάλος καὶ συνήθως μεγαλύτερος ἀπὸ μιὰ ὥρα.

Γιὰ τὸν προσδιορισμὸ τῆς θυροξίνης (T_4) χρησιμοποιοῦνται τὰ ἀντισώματα ἔναντι τῆς θυροξίνης (3-5), ὁ ἀπαιτούμενος δὲ χρόνος γιὰ τὴν ἀντίδραση θυροξίνης - ἀντισώματος εἶναι συνήθως 45-60 λεπτά, ἐνῶ ὁ πλήρης προσδιορισμὸς ἀπαιτεῖ 1-1,5 ὧρες.

Ἡ ὕπαρξη, στὸν ὀρὸ τοῦ αἵματος, μιᾶς εἰδικῆς πρωτεΐνης ποὺ δεσμεύει ἐκλεκτικὰ τὴ θυροξίνη, ἡ δεσμεύουσα τὴ θυροξίνη σφαιρίνη (Thyroxine Binding Clobulin, TBG), εἶχε ἐπιτρέψει στὸ παρελθὸν τὴν ἀνάπτυξη ραδιομεθόδων προσδιορισμοῦ τῆς θυροξίνης (2, 6-8), οἱ ὁποῖες ὅμως ἀπαιτοῦσαν ἐκχύλιση γιὰ τὴν ἀπομόνωση τῆς ὁρμόνης ἀπὸ τὸν ὀρὸ τοῦ αἵματος. Ἔτσι οἱ μέθοδοι γίνονταν πολύπλοκες καὶ χρονοβόρες, μὲ ἀποτέλεσμα τὴν ἐπικράτηση τῶν ραδιοανοσοβιολογικῶν ποὺ χρησιμοποιοῦν ἀντισώματα καὶ δὲν ἀπαιτοῦν ἐκχύλιση. Τὸ πλεονέκτημα ὅμως τῆς πρωτεΐνης αὐτῆς νὰ ἀντιδρᾶ ταχύτατα μὲ τὴ θυροξίνη (ἐντὸς 2 λεπτῶν) [**9**], *μᾶς ὁδήγησε στὴν ἀναζήτηση μεθόδων ποὺ θὰ ἁπλούστευαν τὸ πρόβλημα τῆς ἀπομονώσεως τῆς θυροξίνης* καὶ θὰ ἐπέτρεπαν τὴν ἀνάπτυξη μιᾶς ταχείας μεθόδου προσδιορισμοῦ τῆς θυροξίνης.

Στὴν ἐργασία αὐτή, παρουσιάζουμε: α) μία ραδιομέθοδο προσδιορισμοῦ τῆς θυροξίνης, στὴν ὁποία χρησιμοποιεῖται σὰν εἰδικὴ πρωτεΐνη ἡ δεσμεύουσα τὴ θυροξίνη σφαιρίνη, συντομότερη κατὰ 10 φορὲς τῶν ραδιοανοσοβιολογικῶν μεθόδων (δίνει ἀποτελέσματα μέσα σὲ 6 λεπτά), καὶ β) τὰ ἀποτελέσματα τῆς ἐφαρμογῆς της

---

* J. MANTZOS, E. KARGA, B. TSELENTIS, K. GABRIIL, X. KARDARA, P. PAPAPETROU, **A New, Rapid Bioassay for Thyroxine and its Clinical Evaluation.**

σὲ ἕναν ἀριθμὸ ἀσθενῶν τῶν ἰατρείων τοῦ Β' Τμήματος Ἐνδοκρινολογίας τοῦ Νοσοκομείου «Ἀλεξάνδρα».

ΜΕΘΟΔΟΙ

ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΤΗΣ ΘΥΡΟΞΙΝΗΣ

Ἡ λεπτομερὴς περιγραφὴ τῆς μεθόδου ἀναφέρεται σὲ ἄλλη ἐργασία ἑνὸς ἐκ τῶν συγγραφέων [**10**]. Σε συντομία ἡ μέθοδος ἔχει ὡς ἑξῆς:

Σὲ σωληνάρια μετρήσεως ραδιενεργείας προστίθενται 50 κυβικὰ χιλιοστὰ (μl) τοῦ πρὸς προσδιορισμὸν ὁροῦ ἢ πλάσματος αἵματος, καὶ 50 κυβ. χιλ. ἀντιδραστηρίου μετουσιώσεως ποὺ περιέχει καὶ ραδιενεργὸ θυροξίνη. Ἀναμιγνύεται τὸ περιεχόμενο τοῦ σωληναρίου καὶ τοποθετεῖται σὲ ὑδατόλουτρο θερμοκρασίας 80°C ἐπὶ 30 δευτερόλεπτα, ὁπότε καὶ *λαμβάνει χώρα ἡ μετουσίωση τῶν πρωτεϊνῶν καὶ ἡ ἀπελευθέρωση τῆς θυροξίνης ἀπὸ τὶς πρωτεΐνες*. Τὰ σωληνάρια μεταφέρονται κατόπιν σὲ ὑδατόλουτρο θερμοκρασίας 17°C καὶ προστίθενται 0,80 κυβικὰ ἑκατοστὰ (ml) τῆς αὐτῆς θερμοκρασίας ρυθμιστικοῦ διαλύματος ποὺ περιέχει ὑπολογισμένη ποσότητα δεσμεύουσας τὴ *θυροξίνη σφαιρίνη*, ἡ ὁποία εἶναι ἀπαλλαγμένη ἀπὸ θυροξίνη. Μετὰ ἀπὸ παραμονὴ 2 λεπτῶν στὸ ὑδατόλουτρο, ὅπου λαμβάνει χώρα ἡ δέσμευση τοῦ μίγματος τῆς ἀπελευθερωθείσης καὶ ραδιενεργοῦ θυροξίνης ἀπὸ τὴν ἐξωγενὴ προστεθεῖσα σφαιρίνη, προστίθενται 0,2 κυβικὰ ἑκατοστὰ πυκνόρρευστου αἰωρήματος εἰδικὰ παρασκευασθέντων μικροσωματιδίων ποὺ περιέχουν ἐνεργὸ ἄνθρακα καὶ ὀξείδιο σιδήρου-βαρίου (Fe_{12}, O_{19}, Ba), μὲ μαγνητικὲς ἰδιότητες.

Τὰ σωληνάρια ἀναδεύονται ταυτόχρονα σὲ δονητὴ γιὰ 1 λεπτό, ὁπότε γίνεται ἡ σύνδεση τῆς μὴ δεσμευθείσης ἀπὸ τὴ σφαιρίνη θυροξίνη μὲ τὸν ἐνεργὸ ἄνθρακα. Ἀμέσως μετά, τὰ σωληνάρια τοποθετοῦνται σὲ εἰδικὰ κατασκευασμένο ἠλεκτρομαγνήτη ὁ ὁποῖος ἐνεργοποιεῖται. Κάτω ἀπὸ τὴν ἐπίδραση τοῦ μαγνητικοῦ πεδίου, τὰ μικροσωματίδια ποὺ περιέχουν τὸν ἐνεργὸ ἄνθρακα καὶ τὸ μὲ μαγνητικὲς ἰδιότητες ὀξείδιο τοῦ σιδήρου-βαρίου, κατευθύνονται πρὸς τὶς πλευρὲς τῶν σωληναρίων ὅπου καὶ συγκρατοῦνται. Μετὰ ἀπὸ 15 δευτερόλεπτα ἀναρροφᾶται τὸ ὑγρὸ τῶν σωληναρίων, μὲ τὴ χρήση εἰδικῆς συσκευῆς ποὺ εἶναι ἑνωμένη μὲ ἀντλία κενοῦ, καὶ ἔτσι μέσα σὲ 30 δευτερόλεπτα ἐπιτυγχάνεται ὁ διαχωρισμὸς τῆς συνδεδεμένης καὶ μὴ θυροξίνης. Τέλος μετριέται ἡ ραδιενέργεια τοῦ συγκρατηθέντος στὶς πλευρὲς τῶν σωληναρίων ἄνθρακα ποὺ περιέχει τὴ ραδιενεργὸ θυροξίνη ποὺ δὲν δεσμεύθηκε ἀπὸ τὴν εἰδικὴ σφαιρίνη.

Στὴν ἀρχὴ κάθε ἡμέρας κατασκευάζεται πρότυπος καμπύλη μὲ γνωστὲς ποσότητες θυροξίνης καὶ κατόπιν κάτω ἀπὸ τὶς ἴδιες συνθῆκες προσδιορίζονται ἕνα ἢ

περισσότερα δείγματα ταυτόχρονα μὲ ἕνα πρότυπο διάλυμα θυροξίνης γιὰ τὴν ἐπιβεβαίωση τῆς σταθερότητας τῆς πρότυπης καμπύλης.

Πρόσληψη Ραδιενεργοῦ Τριιωδοθυρονίνης in vitro

Χρησιμοποιήθηκε ἡ μέθοδος τῶν Ἰ. Μάντζου καὶ Π. Γιαλούρη, ἡ ὁποία διαρκεῖ ἐπίσης 6 λεπτὰ καὶ *προσδιορίζει τὸ δείκτη δεσμεύσεως θυροξίνης* ἀπὸ τὸν ὀρὸ (Thyronine Binding Index, TBI) [**11**]. Ὁ δείκτης αὐτὸς μετατρέπεται μὲ τὴ βοήθεια πίνακα σὲ ἐπὶ τοῖς ἑκατὸ πρόσληψη τῆς τριιωδοθυρονίνης (% T_3U).

Δείκτης ἐλεύθερης θυροξίνης (ΔΕΘ)

Ὁ δείκτης ἐλεύθερης θυροξίνης δίνεται ἀπὸ τὸν τύπο

$$\Delta E\Theta = \frac{T_4 \cdot (\% \ T_3U)}{100}$$

ὅπου T_4 ἡ ὁλικὴ θυροξίνη σε μg%.

Φυσιολογικὴ τιμὴ

Γιὰ τὸν καθορισμὸ τῶν φυσιολογικῶν τιμῶν, ὅταν χρησιμοποιοῦνται οἱ ταχεῖες μέθοδοι τῆς παρούσης μελέτης, τῆς ὁλικῆς θυροξίνης, τῆς ἐπὶ τοῖς ἑκατὸ προσλήψεως τριιωδοθυρονίνης ὅπως καὶ τοῦ Δείκτη Ἐλεύθερης θυροξίνης ἐλήφθησαν ὑπ' ὄψιν α) οἱ φυσιολογικὲς τιμὲς τῶν ἀντιστοίχων μεθόδων μὲ τὶς ὁποῖες ἔγιναν συγκριτικὲς μελέτες καὶ β) τὰ ἀποτελέσματα μιᾶς προκαταρκτικῆς μελέτης [**12**]. Ἔτσι στὴν παροῦσα ἐργασία, σὰν φυσιολογικὲς τιμὲς τῶν τριῶν αὐτῶν παραμέτρων λαμβάνονται: διὰ τὴν ὁλικὴ θυροξίνη 5-12,5 μg%, διὰ τὴν ἐπὶ τοῖς ἑκατὸ πρόσληψη τῆς τριιωδοθυρονίνης 25-37% καὶ διὰ τὸν Δείκτη Ἐλεύθερης Θυροξίνης 1,4-4,25.

Μέτρηση τῆς θυροξίνης μὲ ραδιοανοσολογικὴ μέθοδο

Χρησιμοποιήθηκε τὸ προϊὸν Amerlex-M T_4Ria τῆς Ἑταιρείας Amersham.

Μέτρηση Τριιωδοθυρονίνης

Χρησιμοποιήθηκε τὸ προϊὸν Amerlex-M T_3RIA τῆς Ἑταιρείας Amershan.

Μέτρηση TSH

Χρησιμοποιήθηκε τὸ προϊὸν Amerwell TSH assay (monoclonal) τῆς Ἑταιρείας Amersham.

ΥΛΙΚΟ

Ἐξετάστηκαν 2 ὁμάδες ἀσθενῶν στὰ ἰατρεῖα τοῦ Β' ἐνδοκρινολογικοῦ τμήματος.

Στὰ δείγματα τῆς πρώτης ὁμάδας (Α) ποὺ περιελάμβανε 64 ἀσθενεῖς μετρήθηκε ἡ θυροξίνη μὲ τὴν ταχεῖα μέθοδο καὶ τὰ ἀποτελέσματα συγκρίθηκαν μὲ αὐτὰ τῆς μεθόδου Amersham. Ἀφοῦ διαπιστώθηκε ἡ ἀξιοπιστία τῆς μεθόδου, ἔγινε ἐφαρμογὴ πλέον σὲ ἕνα ἀριθμὸ 140 ἀσθενῶν ποὺ ἀποτέλεσαν τὴ δεύτερη ὁμάδα (Β). Στοὺς ἀσθενεῖς Β προσδιορίσθηκε ἡ θυροξίνη καὶ ἡ ἐπὶ τοῖς ἑκατὸ πρόσληψη τριιωδοθυρονίνης μὲ τὴν ταχεῖα μέθοδο γιὰ νὰ *ὑπολογισθεῖ ὁ δείκτης* ἐλεύθερης θυροξίνης. Στὴν ἴδια ὁμάδα ἔγινε παραπέρα ἐπιβεβαίωση τῶν ἀποτελεσμάτων μὲ τὶς χρησιμοποιούμενες μεθόδους στὸ ἐργαστήριο τοῦ τμήματος.

Στὴν ὁμάδα Α ἀνῆκαν ἀσθενεῖς μὲ διαγνωσμένο εὐθυρεοειδισμό, ὑπερθυρεοειδισμό, ὑποθυρεοειδισμό, ἔγκυες καὶ ἀσθενεῖς ποὺ ἔπαιρναν θυροξίνη. Στὴν ὁμάδα Β ἀνῆκαν ἀσθενεῖς ἀδιάγνωστοι πρωτοπροσερχόμενοι, ἔγκυες καὶ ἀσθενεῖς ποὺ ἔπαιρναν θυροξίνη. Γιὰ μερικοὺς ἀσθενεῖς τῆς Β ὁμάδας δὲν ἦταν εὔκολη ἡ δεύτερη ἐπικοινωνία μὲ τὸ τμῆμα καὶ τὸ γιατρό.

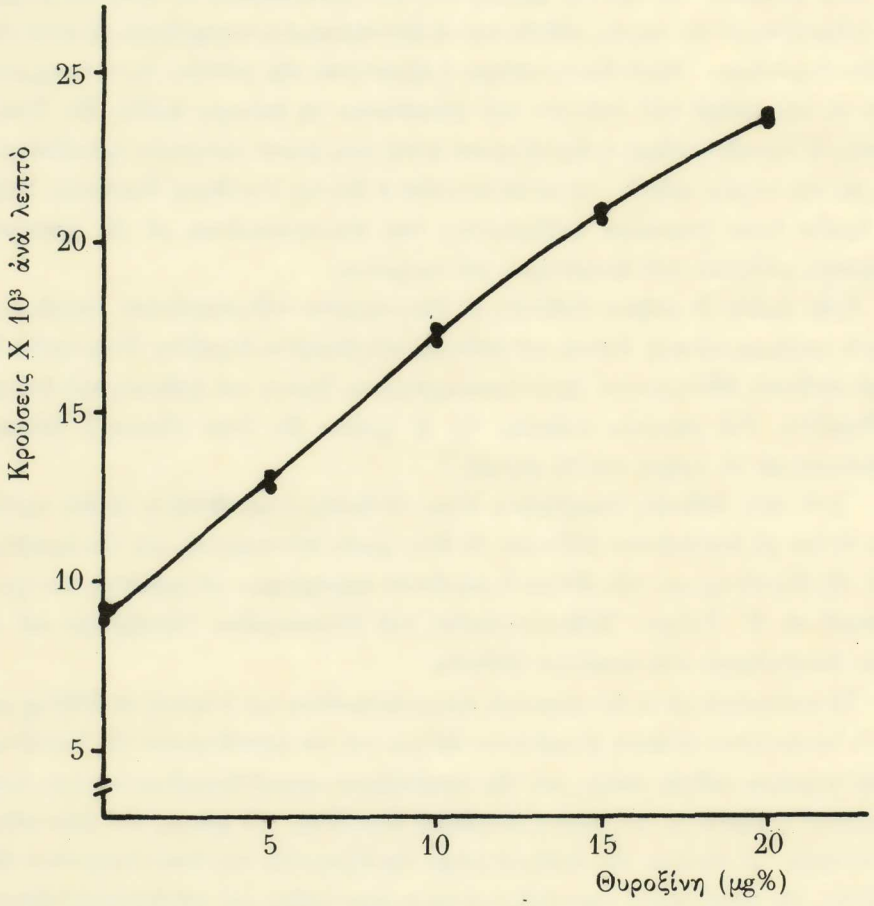
Ἀπὸ τοὺς ἀσθενεῖς ἐλαμβάνετο αἷμα, τὸ ὁποῖο, ἐτοποθετεῖτο σὲ δύο σωληνάρια τὸ ἕνα μὲ ἀντιπηκτικὸ EDTA καὶ τὸ ἄλλο χωρὶς ἀντιπηκτικό, γιὰ τὸν προσδιορισμὸ τῆς θυροξίνης καὶ τῶν ἄλλων θυροειδικῶν παραμέτρων μὲ μεθόδους ποὺ χρησιμοποιεῖ τὸ Β' Τμῆμα Ἐνδοκρινολογίας τοῦ Νοσοκομείου Ἀλεξάνδρα καὶ οἱ ὁποῖες ἀναφέρθηκαν στὸ κεφάλαιο Μέθοδοι.

Τὰ σωληνάρια μὲ τὸ ἀντιπηκτικό, ἐφυγοκεντροῦντο γιὰ 3 λεπτὰ σὲ 2000 xg καὶ ἀπὸ τὸ ὑπερκείμενο πλάσμα ἐλαμβάνετο δεῖγμα γιὰ τὸν προσδιορισμὸ τῆς θυροξίνης μὲ τὴν παροῦσα μέθοδο καθὼς καὶ τῆς προσλήψεως τριιωδοθυρονίνης in vitro ὅταν χρειαζόταν ἡ ἐξαγωγὴ τοῦ δείκτη ἐλεύθερης θυροξίνης. Ὁ χρόνος ποὺ ἀπαιτεῖτο, ἀπὸ τὴ λήψη τοῦ αἵματος τῶν ἀσθενῶν μέχρι τῆς ἐξαγωγῆς τῶν ἀποτελεσμάτων τῆς θυροξίνης, τῆς προσλήψεως τριιωδοθυρονίνης in vitro καθὼς καὶ τοῦ δείκτη ἐλεύθερης θυροξίνης ἦταν 12 λεπτὰ γιὰ ἕνα δεῖγμα καὶ 19 λεπτὰ γιὰ 4 δείγματα.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΘΥΡΟΞΙΝΗΣ

Πρότυπος καμπύλη. Μία ἀντιπροσωπευτικὴ καμπύλη δίνεται στὸ Σχῆμα 1. Εἶναι ἀξιοσημείωτο ὅτι μέχρι τῆς τιμῆς 20 μg% ὑπάρχει σχεδὸν γραμμικὴ σχέση μεταξὺ τῆς τιμῆς ραδιενεργείας καὶ τῆς τιμῆς θυροξίνης.



Σχῆμα 1.

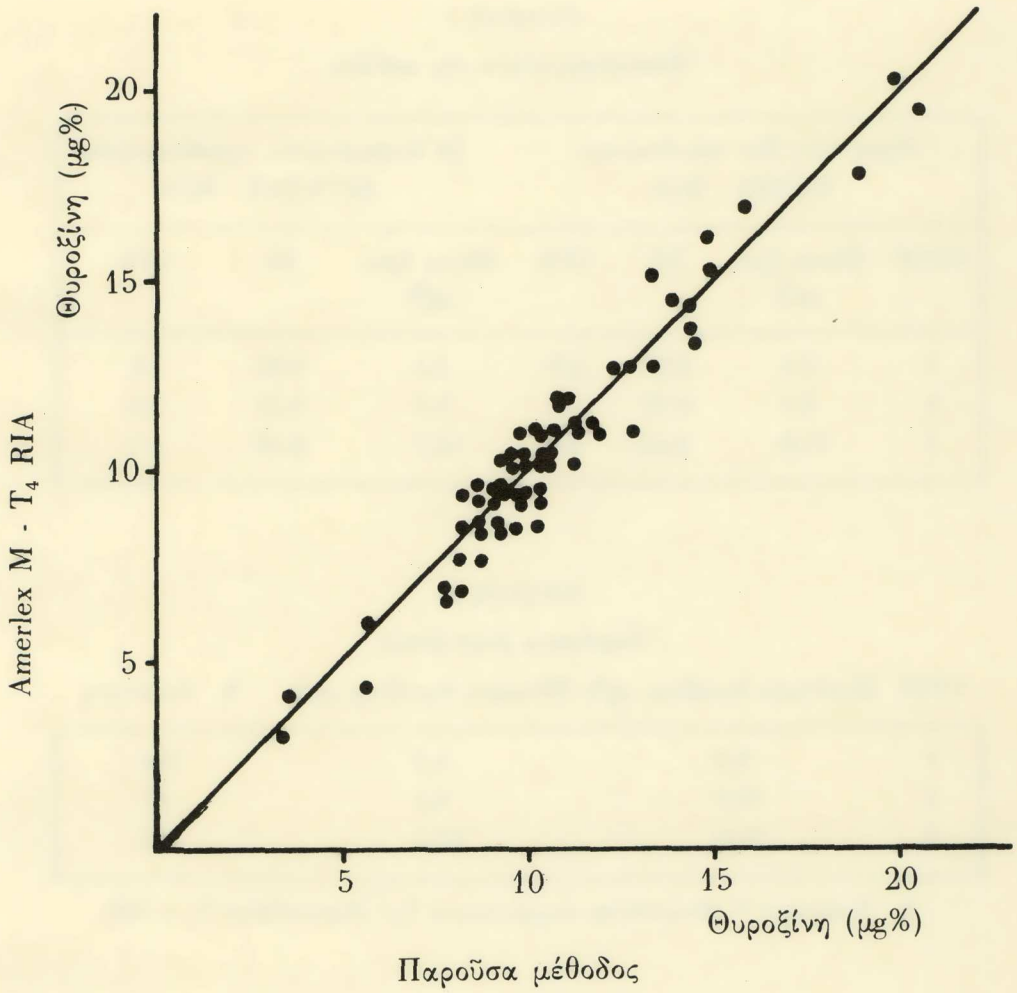
Συγκριτικὴ μελέτη τῆς παρούσης μεθόδου καὶ τῆς ραδιοανοσοβιολογικῆς μεθόδου προσδιορισμοῦ τῆς θυροξίνης.

Σὲ 64 ἀσθενεῖς ἔγινε ὁ προσδιορισμὸς τῆς θυροξίνης μὲ τὴν παροῦσα ταχεῖα μέθοδο καὶ μὲ τὴν ραδιοανοσοβιολογικὴ μέθοδο τῆς Ἑταιρείας Amersham.

Τὰ ἀποτελέσματα τῶν δύο μεθόδων παρουσιάζονται σὲ γραφικὴ παράσταση στὸ Σχῆμα 2. Ὁ *συντελεστὴς συσχετίσεως* r = 0,965 δείχνει ὅτι ἡ παροῦσα μέθοδος δίνει ἀποτελέσματα ποὺ πρακτικὰ συμπίπτουν μ' αὐτὴ ποὺ λαμβάνεται σὰν πρότυπος μέθοδος.

Ἐπαναληψιμότητα τῶν ἀποτελεσμάτων

Γιὰ νὰ ἐκτιμηθεῖ *ἡ ἐπαναληψιμότητα* τῶν ἀποτελεσμάτων, τρεῖς ὁροὶ μὲ διάφορες τιμὲς θυροξίνης προσδιορίστηκαν δέκα φορὲς στὸν ἴδιο προσδιορισμὸ (within



Σχῆμα 2.

run). Ἐπίσης οἱ ἴδιοι αὐτοὶ τρεῖς ὁροὶ προσδιορίστηκαν σὲ τριπλὰ σωληνάρια σὲ πέντε διαφορετικὲς ἡμέρες (between run). Ἡ σταθερὴ ἀπόκλιση καὶ ὁ συντελεστὴς μεταβλητικότητας δίνονται στὸν πίνακα I.

Ἀνάκτηση

Σὲ κλάσματα ὁροῦ ἀπαλλαγμένου ἀπὸ θυροξίνη προστέθηκε θυροξίνη σὲ ποσότητες τέτοιες ἔτσι ὥστε ἡ τελικὴ περιεκτικότητα σὲ ὁρμόνη νὰ εἶναι 5 μg%, 10 μg% καὶ 15 μg%. Ἡ θυροξίνη προσδιορίστηκε μὲ τὴ μέθοδο ποὺ ἀναπτύξαμε καὶ τὰ ἀποτελέσματα δίνονται στὸν πίνακα II.

ΠΙΝΑΚΑΣ Ι

'Επαναληψιμότητα τῆς μεθόδου

	Μέσα στὸν ἴδιο προσδιορισμὸ WITHIN - RUN			Σὲ διαφορετικοὺς προσδιορισμοὺς BETWENN - RUN		
ΟΡΟΙ	Μέσος ὅρος μg%	SD	CV%	Μέσος ὅρος μg%	SD	CV%
1	2.4	0.07	2.9	2.3	0.08	3.5
2	6.1	0.21	3.4	5.9	0.21	3.5
3	11.0	0.42	3.8	10.7	0.48	4.5

ΠΙΝΑΚΑΣ ΙΙ

Πειράματα ἀνακτήσεως

ΟΡΟΙ	Ποσότητα θυροξίνης μg%	Μέτρηση θυροξίνης μg%	% 'Ανάκτηση
1	5.0	5.4	108
2	10.0	9.7	97
3	15.0	14.4	96

% 'Ανάκτηση = Μετρηθεῖσα συγκέντρωση T_4/ Προστεθεῖσα T_4 x 100

Εὐαισθησία

'Η εὐαισθησία τῆς μεθόδου ὑπολογίζεται στὸ ἐπίπεδο τῶν 0,5 μg% θυροξίνης.

'Επίδραση φαρμάκων

'Από τὰ φάρμακα ποὺ εἶναι γνωστὸ ὅτι συναγωνίζονται τὴ θυροξίνη στὴ δέσμευσή της ἀπὸ τὴν εἰδικὴ γλοβουλίνη, μόνο ἡ Diphenyldantoin, βρέθηκε νὰ αὐξάνει τὴν τιμὴ τῆς θυροξίνης κατὰ 1 μg% σὲ συγκέντρωση 100 μg/ml, συγκέντρωση πολὺ ἀνώτερη ἀπὸ τὸ θεραπευτικὸ ἐπίπεδο τοῦ φαρμάκου.

ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΦΑΡΜΟΓΗ

Ὅπως ἀναφέρθηκε, μετὰ τὴ διαπίστωση τῆς ἀξιοπιστίας τῆς μεθόδου τῆς θυροξίνης, ἀποφασίστηκε ἡ ἐφαρμογή της στὴ Β ὁμάδα τῶν ἀσθενῶν τῶν ἰατρείων τοῦ Β Ἐνδοκρινολογικοῦ Τμήματος σὲ συνδυασμὸ μὲ τὸν προσδιορισμὸ τῆς προσλήψεως τῆς τριιωδοθυρονίνης in vitro μὲ τὴν ταχεῖα μέθοδο τῶν Μάντζου καὶ Γιαλούρη *γιὰ τὴν ἐξαγωγὴ τοῦ δείκτη* ἐλεύθερης θυροξίνης ποὺ ἔχει μεγαλύτερη διαγνωστικὴ ἀξία τῆς θυρεοειδικῆς λειτουργίας ἀπὸ ὅ,τι ἡ μέτρηση μόνο τῆς ὁλικῆς θυροξίνης [**13, 14**].

Ἡ 1η κατηγορία περιελάμβανε 112 ἀσθενεῖς ποὺ οἱ τιμὲς ἦταν γιὰ τὴν T_4 = = 6,3-12,8 μg% μὲ μέση τιμὴ 9,6 μg%, γιὰ τὴν % UT_3 = 20,1-36,6% μὲ μέση τιμὴ 29,7% καὶ γιὰ τὸ ΔΕΘ = 1,78-4,38 μὲ μέση τιμὴ 2,67. Μόνο σὲ δύο ἄτομα ὁ ΔΕΘ ξεπερνοῦσε τὸ ἀνώτερο φυσιολογικὸ ὅριο (4,25) τοῦ ΔΕΘ καὶ ἔδωσε τιμὲς λίγο ἀνώτερες ἀπ' αὐτό. Ἀπὸ τὸν παραπέρα ἔλεγχο στὸ ἐργαστήριο μὲ τὸν προσδιορισμὸ τῆς Τριιωδοθυρονίνης, TSH, κ.λπ. οἱ ἀσθενεῖς αὐτοὶ χαρακτηρίστηκαν εὐθυρεοειδικοί.

Στὴ 2η κατηγορία ἦταν 7 ἀσθενεῖς ποὺ οἱ τιμὲς κυμαίνονταν πάνω ἀπὸ τὰ φυσιολογικὰ ὅρια T_4=14, 1-22 μg% μὲ μέση τιμὴ 18,25 μg%, %T_3U=37-54,2% μὲ μέση τιμὴ 43,5 καὶ ΔΕΘ=5,15-11,92 μὲ μέση τιμὴ 7,20. Οἱ ἀσθενεῖς χαρακτηρίσθηκαν ὑπερθυρεοειδικοὶ καὶ ἡ διάγνωση ἐπιβεβαιώθηκε μὲ τὸν ὑπόλοιπο ἔλεγχο.

Στὴν 3η κατηγορία ἀνῆκαν 2 ἀσθενεῖς στὶς ὁποῖες ὁ ΔΕΘ βρέθηκε κάτω ἀπὸ τὰ φυσιολογικὰ ὅρια. Ἀπὸ αὐτὲς στὴν πρώτη καὶ οἱ τρεῖς παράμετροι ἦταν χαμηλὲς (T_4=4,8 μ%, %UT_3=23,2% καὶ ΔΕΘ=1,12), ἐνῶ στὴ δεύτερη ἡ T_4 ἦταν φυσιολογική, ἡ %T_3U χαμηλὴ καὶ ὁ ΔΕΘ χαμηλὸς (T_4=6,9 μg% καὶ ΔΕΘ= 0,97). Ἡ παραπέρα ἔρευνα στὸ ἐργαστήριο ἔδειξε ἀνάλογα ἀποτελέσματα ποὺ συμβάδιζαν ἀπόλυτα μὲ αὐτὰ τῆς ταχείας μεθόδου.

Ὡς πρὸς τὴν 4η καὶ 5η κατηγορία ποὺ ἦταν 5 ἔγκυες καὶ 15 ἀσθενεῖς ποὺ ἔπαιρναν θυροξίνη ἀντίστοιχα, ἡ πρώτη διάγνωση μὲ τὰ ἀποτελέσματα τῶν ταχειῶν μεθόδων προσδιορισμοῦ συνέπεσε μὲ τὴ διάγνωση ποὺ προέκυψε ἀπὸ τὸν ὑπόλοιπο ἐργαστηριακὸ ἔλεγχο.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Ἡ ἐξέλιξη τῶν μεθόδων προσδιορισμοῦ γενικότερα διαφόρων ἑνώσεων ἀλλὰ καὶ εἰδικότερα βιολογικῶν ἑνώσεων, ὅπως εἶναι οἱ ὁρμόνες, τείνει στὴ βελτίωση τῆς *ἀξιοπιστίας* των, τὴν *ἁπλούστευση*, τὴν *αὔξηση* τῆς *ταχύτητας* καὶ τὴ *μείωση* τοῦ *κόστους* των.

Σήμερα οἱ ὁρμόνες προσδιορίζονται μὲ μεθόδους ποὺ ἀπαιτοῦν τὴν ὕπαρξη εἰδικῶν πρωτεϊνῶν ποὺ ἐκλεκτικὰ δεσμεύουν τὴν πρὸς προσδιορισμὸ ὁρμόνη. Στὶς ραδιοανοσοβιολογικὲς μεθόδους χρησιμοποιοῦνται σὰν εἰδικὴ πρωτεΐνη τὰ *ἀντισώματα*.

Ἂν καὶ τὰ ἀντισώματα αὐτὰ μᾶς ἔχουν ἐπιτρέψει νὰ ἀναπτύξουμε ἕνα μεγάλο ἀριθμὸ μεθόδων προσδιορισμοῦ ὁρμονῶν μὲ μεγάλη ἀξιοπιστία καὶ ἁπλότητα (εἰδικὰ μὲ τὴν χρησιμοποίηση τῶν μονοκλωνικῶν ἀντισωμάτων), ἡ ταχύτητα τῶν μεθόδων αὐτῶν προσδιορίζεται ἀπὸ τὴ βραδύτητα τῆς ἀντίδρασης τοῦ ἀντισώματος μὲ τὴν ἀντίστοιχη ὁρμόνη, ποὺ στὶς περισσότερες περιπτώσεις *ἀπαιτεῖ χρόνο περισσότερο τῶν 45 λεπτῶν.*

Ἔτσι γιὰ τὸν προσδιορισμὸ τῆς θυροξίνης, ὁ χρόνος ἀντιδράσεως ἀντισώματος-θυροξίνης εἶναι συνήθως 45-60 λεπτά, μὲ ἀποτέλεσμα ὁ συνολικὸς χρόνος γιὰ τὸν προσδιορισμὸ τῆς θυροξίνης νὰ φτάνει 1 καὶ 1,5 ὧρες. Μὲ τὴν παροῦσα μέθοδο ὁ *χρόνος προσδιορισμοῦ συντομεύεται κατὰ δέκα φορὲς καὶ ἔτσι εἶναι δυνατὸν νὰ δοθεῖ ἀποτέλεσμα στὸν ἀσθενὴ ἐντὸς 12 λεπτῶν ἀπὸ τὴ λήψη τοῦ αἵματος.* Τὸ γεγονὸς αὐτὸ σὲ συνδυασμὸ μὲ τὴν ταχεῖα μέθοδο λήψης τῆς τιμῆς τῆς προσλήψεως τῆς τριιωδοθυρονίνης in vitro ποὺ ἀνεπτύχθη στὸ ἴδιο ἐργαστήριο, παρέχει τὴ δυνατότητα ἐξαγωγῆς τοῦ Δείκτη Ἐλεύθερης Θυροξίνης σ' αὐτὸ τὸ σύντομο χρονικὸ διάστημα.

Ἡ δυνατότητα τῆς ἐξαγωγῆς τοῦ δείκτη ἐλεύθερης θυροξίνης μέσα σὲ χρόνο λίγων λεπτῶν ἀπὸ τὴ λήψη τοῦ αἵματος παρουσιάζει σημαντικὸ ἐνδιαφέρον. Ἔτσι γιὰ ἕνα μεγάλο ἀριθμὸ ἀσθενῶν εἶναι ἐπαρκὴς μία καὶ μόνο ἐπίσκεψη στὸ Νοσοκομεῖο γιὰ τὴ διαπίστωση τῆς θυρεοειδικῆς λειτουργίας καὶ τὴν παροχὴ τῶν καταλλήλων ὁδηγιῶν ἀπὸ τὸν ἐνδοκρινολόγο. Αὐτὸ ἔχει ἰδιαίτερη σημασία, ἐκτὸς τῶν περιπτώσεων ποὺ εἶναι ἐπιθυμητὴ γιὰ εἰδικοὺς λόγους, ἡ σύντομη γνώση τῆς θυρεοειδικῆς λειτουργίας καὶ γιὰ περιπτώσεις ποὺ μία νέα ἐπικοινωνία μὲ τὸν ἀσθενὴ παρουσιάζει δυσκολίες.

Εἰδικότερα γιὰ τὴν Ἑλλάδα, ὅπου ὁ ἀριθμὸς τῶν θυρεοειδικῶν ἀσθενῶν ἐκτιμᾶται νὰ εἶναι τῆς τάξεως τοῦ ἑνὸς ἑκατομμυρίου [**15**] καὶ δεδομένου ὅτι οἱ προσδιορισμοὶ γιὰ τὴ διαπίστωση τῆς θυρεοειδικῆς λειτουργίας γίνονται μόνο σὲ μεγάλα ἀστικὰ κέντρα, ὑπάρχει σοβαρὸ πρόβλημα ἐπικοινωνίας γιὰ ἕνα μεγάλο ἀριθμὸ ἀσθενῶν.

Τὸ κόστος τῆς παρούσης μεθόδου προσδιορισμοῦ τῆς ὁλικῆς θυροξίνης εἶναι πολὺ χαμηλότερο τῶν ραδιοανοσοβιολογικῶν μεθόδων, διότι χρησιμοποιεῖ ἀντὶ τοῦ ὑψηλοῦ κόστους ἀντισωμάτων, κατεργασμένο μὲ ἐνεργὸ ἄνθρακα ὀρὸ αἵματος ἀνθρώπου ποὺ λαμβάνεται ἀπὸ φιάλες τῆς Τράπεζας αἵματος τῶν ὁποίων ἔχει λήξει ἡ προθεσμία χρησιμοποιήσεώς των. Ἐπίσης ἀξίζει νὰ τονισθεῖ *ἡ μικρὴ ποσότητα τοῦ ἀπαιτουμένου ὀροῦ γιὰ τὴ μέθοδο αὐτὴ* (50 μl) ὅπως καὶ ἡ σταθερότητα τῆς εἰδικῆς σφαιρίνης ποὺ δεσμεύει τὴ θυροξίνη ἡ ὁποία διατηρεῖται σὲ διάλυμα σὲ θερμοκρασία 4°C πάνω ἀπὸ 6 μῆνες, σὲ ἀντίθεση μὲ τὰ ἀντισώματα, τὰ ὁποῖα σὲ διάλυμα εἶναι δύσκολο νὰ διατηρηθοῦν πάνω ἀπὸ 2 μῆνες.

Ἡ ἀνάπτυξη τῆς ταχείας αὐτῆς μεθόδου προσδιορισμοῦ τῆς θυροξίνης, πέρα ἀπὸ τὴν πρακτικὴ ἀξία ποὺ ἔχει, μπορεῖ νὰ ἀποτελέσει ἕνα μοντέλο ταχειῶν μεθόδων προσδιορισμοῦ ὁρισμένων ὁρμονῶν γιὰ τὶς ὁποῖες ἡ ταχύτητα ἀνάλυσης ἔχει σημαντικὴ διαγνωστικὴ ἀξία.

Τέλος ἀξίζει νὰ σημειωθεῖ ὅτι, σὲ καθαρὰ ἐπιστημονικὸ ἐπίπεδο, ἡ παροῦσα μέθοδος προσδιορισμοῦ τῆς θυροξίνης εἶναι ἡ ταχύτερη μέχρι σήμερα γνωστὴ μέθοδος ποσοτικοῦ προσδιορισμοῦ ὁρμόνης.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Benson, S. A. and Yalow, R. S. J. Clin. Invest. 39, 1157 (1960).
2. Ekiws, R. P., Clinica Chimica Acta. 5, 453 (1960).
3. Chopra, I. J., J. Clin. Endocr. Metabol. 34, 938 (1972).
4. Larsen, P. R., Dockalova, J., Sipula, D and Wu. F. M., J. Clin. Endocr. Metabol. 37, 177 (1973).
5. Blanc, M. H., Despont J and Burger A. G., N. Engl. J. Med. 297, 1068 (1977).
6. Murphy, B. E. P. and Pattee, C. J., J. Clin. Endocr. Metab. 24, 187 (1964).
7. Murphy, B. E. P. Nature 201, 679 (1964).
8. Ekins R. P., Williams, E. S. and Ellis, S., Clin. Biochem. 2, 253 (1969).
9. Marshall J. S., Pensky J and Green A. M., J. Clin. Invest. 51, 3173 (1972).
10. Μάντζος Ι. Δ. Ὑπὸ δημοσίευση.
11. Mantzos J. D. and Yialouris P. P.: Clin. Biochem. 15, 76 (1982).
12. Μάντζος Ι. Δ.: Μὴ δημοσιευθέντα ἀποτελέσματα.
13. Clark, F. and Horn, D. B., J. Clin. Endocr. Metab. 25, 39 (1965).
14. Goolden, A. W. G., gartside, J. M. and Sanderson, C. Lancet, i, 12 (1967).
15. Κούτρας Δ. Α., Ρηγόπουλος Γ. Α. καὶ Μάλαμος Β. Minerva Medica Greca 1, 373 (1973).

SUMMARY

A New, Rapid Bioassay for Thyroxine and its Clinical Evaluation

A novel method for the determination of Thyroxine in human plasma is described, utilizing Thyroid Binding Globulin (TBG) instead of specific antibodies, which are in wide use today. The rapid reaction between this globulin and thyroxine (within 2 min.) is great advantage over the slow (usually 45-60 min.) reaction between the specific antibodies and the hormone. This factor enabled us to develop a radioassay some 10 times faster than the commercially available radioimmunoassays (we can obtain a result within 6 min.). The method involves: a) protein denaturation and release of T_4 within 2 min. b) incubation of both free and radioactive T_4 with TBG (2 min). c) addition of specially prepared magnetic microparticles containing activated charcoal. Absorption of the free hormone and separation of free and bound hormone using a magnetic field, and d) removal of the supernatant solution and measurement of the radioactivity contained in the pellet.

Selectivity and sensitivity for Thyroid hormones of the above method is shown to compare favourably to those of a commercially available radioimmunoassay.