

*Προσδιορισμός Αλκαλικής Φωσφατάσης
(ALP) & Απαμινάσης της Αδενοσίνης
(ADA) στο υπεζωκοτικό υγρό ασθενών
με υπεζωκοτική συλλογή*

Ειρήνη Τσιλιώνη, Μάρκος Μηνάς, Βασιλική Τσολάκη, Απόστολος Τριαντάρης,
Χρήστος Δάενας, Ειρήνη Γερογιάννη, Κωνσταντίνος Ι Γουργουλιάνης

Πνευμονολογική Κλινική Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Alkaline Phosphatase (ALP)



- Ένζυμο που ανήκει στις κατηγορίες **φωσφατάσες**
- **Ρόλος:** αποφωσφορυλιώνει διάφορες ομάδες φωσφορικών από διάφορα βιομόρια, σε pH 9
- **Εντοπίζεται:** υψηλότερες συγκεντρώσεις στο ήπαρ, στους χοληφόρους πόρους, στα οστά, στο έντερο και στον πλακούντα
- **Ολική ALP:** άθροισμα πολλαπλών διακριτών μορφών ALP που προέρχονται από διαφορετικούς ιστούς



Alkaline Phosphatase (ALP)



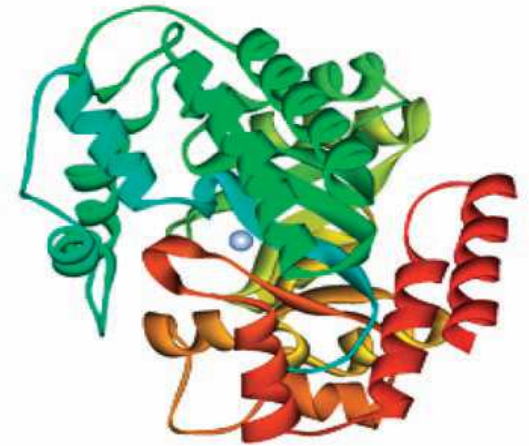
Είναι γνωστά **τέσσερα γονίδια** που κωδικοποιούν για τα **ισοένζυμα ALP:**

- i. Μη ειδικό ιστικό γονίδιο:*** νεφρά, ήπαρ και οστά. Κωδικοποιεί τρία ισοένζυμα (νεφρική-ALP, ηπατική-ALP και οστική-ALP) που διαφέρουν μόνο στο ποσοστό υδατανθράκων των πλευρικών αλυσίδων
- ii. Πλακουντιακό γονίδιο*** που κωδικοποιεί για το πλακουντιακό ισοένζυμο
- iii. Εντερικό γονίδιο*** που κωδικοποιεί για το εντερικό ισοένζυμο
- iv. Βλαστικό γονίδιο*** που κωδικοποιεί για το ισοένζυμο των όρχεων, θύμου και πνευμόνων

Adenosine Deaminase (ADA)



- Ένζυμο που συμμετέχει στον καταβολισμό των πουρινών
- Αποτελείται από δύο ισοένζυμα: **ADA1** και **ADA2** με διαφορετικό MB, διαφορετικό pH δράσης, διαφορετική κινητική, αλλά παρόμοια συγγένεια με το υπόστρωμα
- **ADA1**
 - Έχει δύο μορφές, τη μονομερή (*ADA1m*) και τη διμερή μορφή (*ADA2c*) στην οποία δύο διμερή είναι ενωμένα με μια συνδετική πρωτεΐνη
 - Βρίσκεται σε όλα τα κύτταρα και παρουσιάζει παρόμοια συγγένεια με το υπόστρωμα αδενοσίνης και 2-δεοξυαδενοσίνης



Merrickhi A, Shiraz E-Medical Journal 2001

Krenke R, et al. J Physiol Pharmacol 2008

Adenosine Deaminase (ADA)



▪ **ADA2**

- *Παρουσιάζει μεγαλύτερη συγγένεια με την αδενοσίνη*
- *Βρίσκεται στα μακροφάγα και στα μονοκύτταρα*
- *Όταν αυτά προσβληθούν από το μικροοργανισμό παρατηρείται υπερέκφραση του ενζύμου ADA2*
- *Απελευθερώνεται στα βιολογικά υγρά από τα μονοκύτταρα όταν αυτά φαγοκυτταρώσουν ένα μικροοργανισμό*

Adenosine Deaminase (ADA)



- Η ADA είναι ένας δείκτης που χρησιμοποιείται ευρέως για τη διάγνωση φυματιώδους πλευρίτιδας και η αξία της έχει αναφερθεί σε ένα μεγάλο αριθμό μελετών*

Light RW, et al. Ann Intern Med 1972

Ides L, et al. Eur Respir J 1996

Valdes L, et al. Arch Intern Med 1998

Kim CH, et al. Tuberc Respir Dis 2009

Lamsal M, et al. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2007

CHEST[®]

Official publication of the American College of Chest Physicians



Pleural Alkaline Phosphatase in Separation of Transudative and Exudative Pleural Effusions

Isabel Gazquez, Jose Manuel Porcel, Manuel Vives, Ma Carmen Vicente de Vera and Manuel Rudio

Chest 1997;112:569-570
DOI 10.1378/chest.112.2.569-a

Alkaline phosphatase: Distinguishing between tuberculous and nontuberculous pleural effusion

Ashish Anantrao Jadhav, Jayashree Suhas Bardapurkar¹, Anuradha Jain

Department of Biochemistry, People's College of Medical Sciences and Research Centre, By-Pass Road, Bhanpur, Bhopal, MP,

¹Government Medical College, Aurangabad - 431 001, Maharashtra, India

Alkaline Phosphatase in Pleural Effusions

Mushtaq A. Lone, Abdul Wahid, S.M. Saleem, Parvaiz Koul, Gh. Nabi Dhobi and
A. Shahnawaz

Department of Medicine, S.K. Institute of Medical Sciences, Srinagar, Kashmir, India

Σκοπός

- ✓ Να εκτιμηθούν τα επίπεδα της ALP και της ADA στο υπεζωκοτικό υγρό ασθενών με υπεζωκοτική συλλογή
- ✓ Να ελεγχθεί κατά πόσο η ALP σε σχέση με την ADA μπορεί:
 - i) να συμβάλλει στη διαφοροδιάγνωση των εξιδρωματικών ΥΣ από τις διιδρωματικές ΥΣ
 - ii) να συμβάλλει στη διαφοροδιάγνωση των φυματιωδών ΥΣ από τις υπόλοιπες εξιδρωματικές ΥΣ

Μέθοδος

- Οι συγκεντρώσεις της ALP προσδιορίστηκαν με εμπορικά διαθέσιμα kit (Abcam) και σύμφωνα με τις αρχές ειδικής χρωματομετρικής μεθόδου
- Οι συγκεντρώσεις της ADA προσδιορίστηκαν ποσοτικά σύμφωνα με τη χρωματομετρική μέθοδο Giusti

Στατιστική ανάλυση: GraphPad Prism 5.0

Roc ανάλυση: MedCalc 9.0

Τα αποτελέσματά μας παρουσιάζονται ως μέση τιμή \pm τυπική απόκλιση



ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ



Σε όλους τους ασθενείς συμπληρώνεται κοινό πρωτόκολλο στο οποίο καταγράφονται τα ακόλουθα:

- 1- Η αιτία εισόδου, ο εντοπισμός της υπεζωκοτικής συλλογής (Αριστερά, Δεξιά, Άμφω) και η τελική διάγνωση*
- 2- Η βιοψία υπεζωκότα για τις περιπτώσεις όπου υπήρχε ένδειξη*
- 3- Η κυτταρολογική εξέταση του πλευριτικού υγρού*
- 4- Η μικροβιολογική εξέταση του πλευριτικού υγρού*
- 5- Η καλλιέργεια του πλευριτικού υγρού*
- 6- Η γενική αίματος (αριθμός και τύπος λευκών αιμοσφαιρίων, T.K.E.)*
- 7- Ο προσδιορισμός του σακχάρου, LDH και ολικών λευκωμάτων*

ΔΙΑΓΝΩΣΗ



Κακοήθεια: Τέθηκε σε όλους τους ασθενείς με τη θετική κυτταρολογική εξέταση του πλευριτικού υγρού ή τη βιοψία του υπεζωκότα

Φυματιώδη πλευρίτιδα: Η τελική διάγνωση τέθηκε με την απομόνωση του μυκοβακτηριδίου της φυματίωσης: α) στην καλλιέργεια πτυέλων και του πλευριτικού υγρού β) με τη χρώση Zielh Neelsen και γ) με βιοψία υπεζωκότα

Παραπνευμονική συλλογή: Στηρίχθηκε στην παρουσία αναπνευστικής λοίμωξης, συνοδευόμενης από εμπύρετο, πνευμονική διήθηση, πυώδη απόχρεμψη και ανταπόκριση στη θεραπεία με αντιβιοτικά. Στο πλευριτικό υγρό επικρατούν τα πολυμορφοπύρρηνα λευκοκύτταρα

Συμφορητική Καρδιακή Ανεπάρκεια (Διίδρωμα): Η διάγνωση βασίστηκε Στο ιστορικό των ασθενών, στην κλινική εικόνα και τα αντικειμενικά ευρήματα της ΣΚΑ καθώς και τα εργαστηριακά ευρήματα του πλευριτικού υγρού που το χαρακτήριζαν ως διίδρωμα

60

Υπεζωκοτικές Συλλογές

54 Εξιδρώματα (90 %)

6 Διϊδρώματα (10 %)

6 Άνδρες

19 Παραπνευμονικές Συλλογές (35.2 %)

15 Άνδρες & 4 Γυναίκες

8 Φυματιώδεις Συλλογές (14.8 %)

6 Άνδρες & 2 Γυναίκες

27 Κακοήθεις Συλλογές (50 %)

13 Άνδρες & 14 Γυναίκες

14 Πνεύμονα (51.8 %)

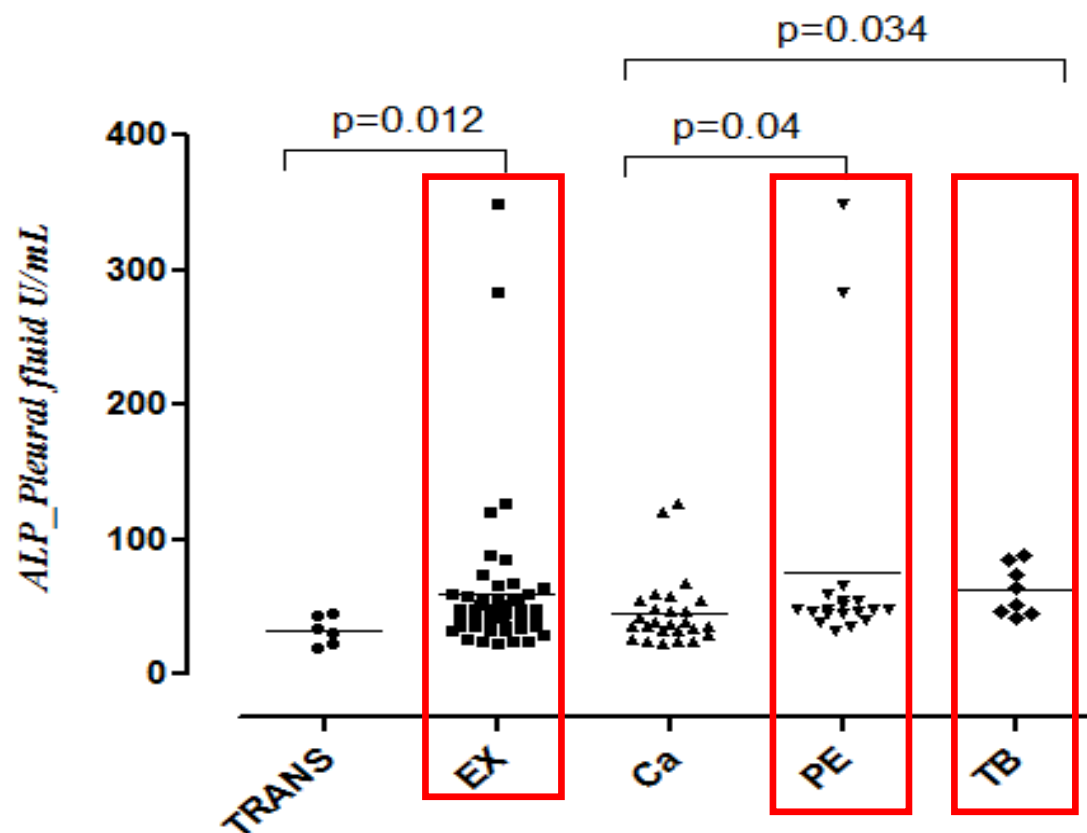
13 Άλλα (48.1 %)

Αποτελέσματα *Alkaline Phosphatase*



	TRANS (n=6)	EX (n=54)	Ca ALL (n=27)	PPEs (n=19)	TB (n=8)
ALP PF (U/mL)	32.7±10.4 (20.0-45.0)	59.1±55.6 (23.0-349.0)	45.9±25.7 (23.0-126.0)	76.1±85.6 (32.0-349.0)	62.1±18.4 (42.0-88.0)

Αποτελέσματα Alkaline Phosphatase Pleural Fluid



TRANS
n=6

EX
n=54

MAL
n=27

PPEs
n=19

TB
n=8

ALP PF
U/mL

32.7±10.4
(20.0-45.0)

59.1±55.6
(23.0-349.0)

45.9±25.7
(23.0-126.0)

76.1±85.6
(32.0-349.0)

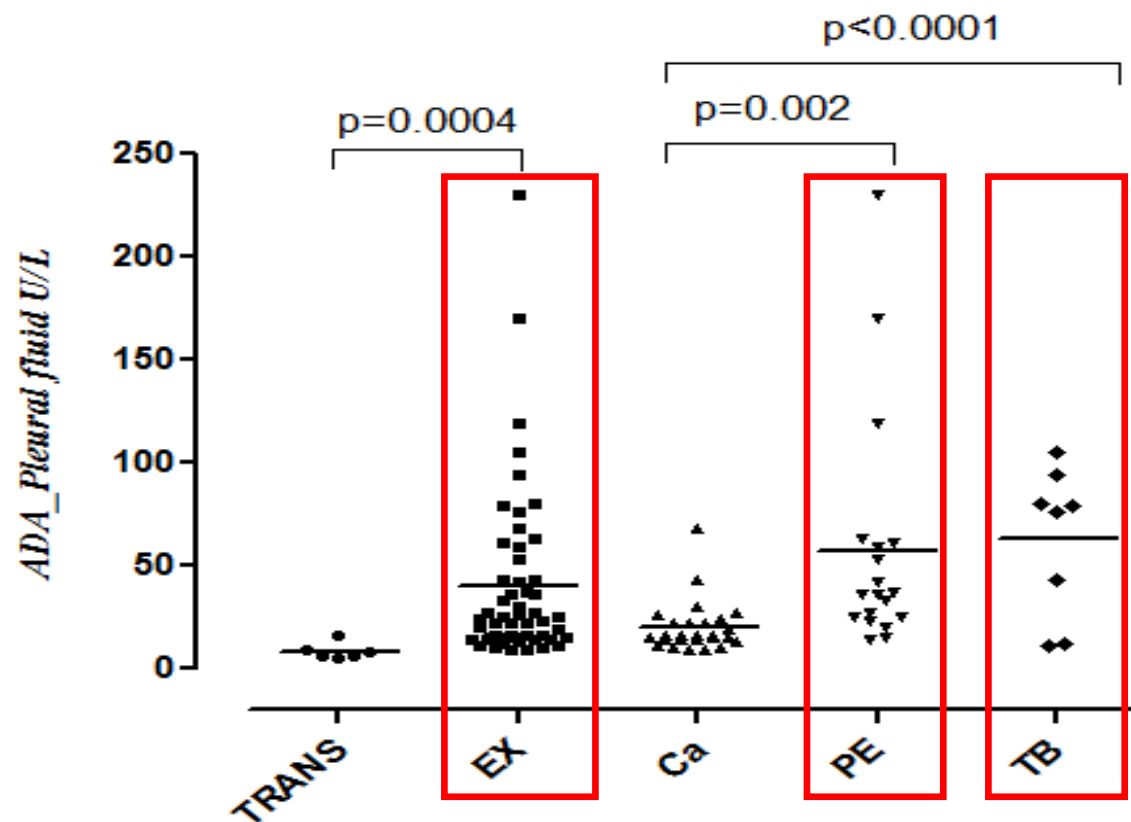
62.1±18.4
(42.0-88.0)

Αποτελέσματα Adenosine Deaminase



	TRANS (n=6)	EX (n=54)	Ca ALL (n=27)	PPEs (n=19)	TB (n=8)
ADA PF (U/L)	8.2±4.1 (4.8-16.0)	39.8±41.8 (9.2-230.0)	19.9±12.4 (9.2-68.1)	57.3±56.7 (13.9-230.0)	62.7±35.9 (11.6-105.0)

Αποτελέσματα Adenosine Deaminase Pleural Fluid



	TRANS n=6	EX n=54	MAL n=27	PPEs n=19	TB n=8
ADA PF U/L	8.2±4.1 (4.8-16.0)	39.8±41.8 (9.2-230.0)	19.9±12.4 (9.2-68.1)	57.3±56.7 (13.9-230.0)	62.7±35.9 (11.6-105.0)

ALP & ADA ROC Analysis in Pleural Fluid



**Optimal
cut-off point**

Sens (%)

Spec (%)

AUC (95% CI)

Diagnostic performance for the differentiation between EXUDATES and TRANSUDATES

**ALP
PF**

>45 U/mL

54.7

83.3

**0.662
(0.527-0.780)**

**ADA
PF**

>9.2 U/L

98.1

83.3

**0.942
(0.848-0.986)**

ALP & ADA ROC Analysis in Pleural Fluid



	Optimal cut-off point	Sens (%)	Spec (%)	AUC (95% CI)
<i>Diagnostic performance for the differentiation between TUBERCULOUS and NON-TUBERCULOUS EFFUSIONS</i>				
ALP PF	>40 U/mL	100.0	42.2	0.718 (0.578-0.833)
ADA PF	>42.8 U/L	75.0	82.2	0.714 (0.573-0.830)

Συμπεράσματα



- ✓ Τα επίπεδα της ALP και της ADA στο υπεζωκοτικό υγρό παρατηρήθηκαν αυξημένα στα εξιδρώματα σε σχέση με τα διιδρώματα
- ✓ Οι συγκεντρώσεις της ALP και της ADA στο υπεζωκοτικό υγρό βρέθηκαν στατιστικά σημαντικά υψηλότερες στις φυματιώδεις και παραπνευμονικές ΥΣ σχέση με τις κακοήθεις συλλογές

Συμπεράσματα



- ✓ Οι παραπάνω δείκτες παρουσίασαν την ίδια ειδικότητα στη διάκριση των εξιδρωμάτων από τα διιδρώματα, ωστόσο η ADA έδειξε μεγαλύτερη ευαισθησία σε σχέση με την ALP
- ✓ Η ADA παρουσίασε καλύτερο συνδυασμό ειδικότητας και ευαισθησίας στη διάκριση των φυματιωδών από τις μη φυματιώδεις υπεζωκοτικές συλλογές (κακοήθειες και παραπνευμονικές)