

ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΑΣ & ΙΑΤΡΟΔΙΚΑΣΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

**ΛΑΡΙΣΑ
26 - 27
ΑΠΡΙΛΙΟΥ
2014**



**METROPOL
HOTEL**



διοργάνωση

**ΕΛΛΗΝΙΚΗ
ΕΤΑΙΡΙΑ
ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΑΣ**

HSTOX.COM
HELLENIC SOCIETY OF TOXICOLOGY

Τρίαενα
TOURS & CONGRESS S.A.

ΓΡΑΜΜΑΤΕΙΑ ΣΥΝΕΔΡΙΟΥ
Triaena Tours & Congress AE
Λ. Κηφισίας 16, 115 26
Αμπελόκηποι, Αθήνα
Τηλ. 210 7499337
Φαξ. 210 7705752



efip@triaenatours.gr
www.triaenacongress.gr

ΤΕΛΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ / ABSTRACT BOOK

7^ο ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΑΣ & ΙΑΤΡΟΔΙΚΑΣΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

Το Σάββατο 26/04/2014 και την Κυριακή 27/04/2014 διεξάχθηκε στο ξενοδοχείο Metropol στην πόλη της Λάρισας το **7^ο Συνέδριο Τοξικολογίας και Ιατροδικαστικών Επιστημών με θέμα: « Η επιστήμη μας στην υπηρεσία του Έλληνα πολίτη »**, υπό την προεδρία του κ. Τσατσάκη Αριστείδη, Καθηγητή Τοξικολογίας του Εργαστηρίου Τοξικολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Κρήτης, Προέδρου της Ευρωπαϊκής Ομοσπονδίας Τοξικολόγων και Ευρωπαϊκών Εταιρειών της Τοξικολογίας και της Ελληνικής Εταιρίας Τοξικολογίας και του κ. Κουρέτα Δημήτριου, Καθηγητή Φυσιολογίας, Αναπληρωτή Πρύτανη του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας και ήδη υποψήφιου Ευρωβουλευτή.

Η διοργάνωση του συνεδρίου ήταν αποτέλεσμα της μακράς και αγωγικής συνεργασίας μεταξύ των Ελλήνων τοξικολόγων και ιατροδικαστών αλλά και των Ελληνικών Πανεπιστημίων, στο ερευνητικό πεδίο εν γένει. Η οργανωτική επιτροπή επέλεξε για τη διεξαγωγή του συνεδρίου την πόλη της Λάρισας, μία πόλη που αποτελεί σημαντικό εμπορικό, βιομηχανικό, συγκοινωνιακό αλλά και στρατιωτικό κέντρο, έδρα της Γενικής Γραμματείας Περιφέρειας Θεσσαλίας, έδρα της Ιατρικής Σχολής του Παν. Θεσσαλίας αλλά και ενός εκ των μεγαλύτερων συγκροτημάτων Τ.Ε.Ι της χώρας.

Το συνέδριο είχε ως πρωταρχικό στόχο να φέρει σε επαφή τους Έλληνες επιστήμονες που διεξάγουν έρευνα στο ευρύτερο πεδίο της Τοξικολογίας και Ιατροδικαστικής κατεύθυνσης, που υπόσχεται πολλά οφέλη στην ανθρωπότητα.

Τα θέματα της Τοξικολογίας και των Ιατροδικαστικών επιστημών αφορούν πολλούς επιστημονικούς κλάδους, μεταξύ των οποίων τη βιολογία, τη χημεία, τη τοξικολογία, την νανοτεχνολογία και τη βιοτεχνολογία με εφαρμογές στην Ιατρική τη φαρμακολογία αλλά και το ευρύτερο βιομηχανικό τομέα.

Στην έναρξη του συνεδρίου χαιρετισμό απηύθυναν ο Πρόεδρος του Συνεδρίου, καθηγητής κ. Αριστείδης Τσατσάκης, και ο Πρόεδρος της Οργανωτικής Επιτροπής καθηγητής κος Κουρέτας Δημήτριος.

Μεταξύ των θεμάτων που αναπτύχθηκαν στο συνέδριο σημαίνουσα ήταν η ομιλία του Καθηγητή κου Τσατσάκη Αριστείδη για το μητρώο των Ευρωπαϊκών Τοξικολόγων (ERT) και την εφαρμογή του στην Ελλάδα καθώς και για την απονομή των πρώτων πιστοποιητικών σε Έλληνες Τοξικολόγους για το Ευρωπαϊκό μητρώο Τοξικολόγων (ERT) της EUROTOX, Εθνική Επιτροπή ERT.

Κεντρικοί ομιλητές του συνεδρίου ήταν επίσης:

η κ. Τσιτσιμπίκου Χριστίνα, Αθήνα, Τοξικολόγος, MSc, PhD, ERT, Γενικό Χημείο του Κράτους, Γενική Γραμματέας της ΕΕΤ, η κ. Κυριακή Μαχαίρα, Αθήνα, Τοξικολόγος Μπενάκειο Φυτοπροστατευτικό Ινστιτούτο, η κ. Άττα - Πολίτου Τζούλια, Αθήνα, Αν. Καθηγ. Χημικού Τμήματος ΕΚΠΑ, η κ. Κοβάτση Λήδα, Θεσσαλονίκη Ιατροδικαστής – Τοξικολόγος, Επικ. Καθηγ. Ιατρικής Σχολής Αριστοτέλειου Παν/μιου Θεσσ/κης, ο κ. Σαρηγιάννης Δημοσθένης, Θεσσαλονίκη, **Αναπληρωτής Καθηγητής, Περιβαλλοντική Μηχανική, με έμφαση στις διεργασίες και τεχνολογίες διαχείρισης υγρών και στερεών αποβλήτων**, Αριστοτέλειου Παν/μιου Θεσσ/κης, ο κ. Αθανασέλης Σωτήριος, Αθήνα, Αναπληρωτής Καθηγητής Τοξικολογίας, Εργαστήριο Ιατροδικαστικής και Τοξικολογίας, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ, ο κ. Δεληχάς Μιλτιάδης, Λάρισα, Δρ. Ακτινοφυσικός,

η κ.Στεφανίδου Μάνια, Αθήνα, Αναπληρώτρια καθηγήτρια Τοξικολογίας, Εργαστήριο Ιατροδικαστικής και Τοξικολογίας, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ, η κ. Κυριακοπούλου Κατερίνα, Αθήνα, Τοξικολόγος, PhD, Βιολόγος, Ερευνήτρια, Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο (ΜΦΙ), ο κ. Ψαρούλης Δημήτριος, Θεσσαλονίκη, Ιατροδικαστής, Καθηγητής Ιατροδικαστικής και Τοξικολογίας του Αριστοτελείου Πανμίου Θεσσαλονίκης και ο κ. Ράϊκος Νίκος, Θεσσαλονίκη, Αναπλ. Καθηγητής Ιατροδικαστικής και Τοξικολογίας του Αριστοτελείου Πανμίου Θεσσαλονίκης.

Το συνέδριο μπορούσαν να παρακολουθήσουν επίσης και μη μέλη της ΕΕΤ.

ΤΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΤΟΥ ΣΥΝΕΔΡΙΟΥ

ΣΑΒΒΑΤΟ 26 Απριλίου 2014

15:00	Έναρξη Συνεδρίου – Χαιρετισμοί
15:20 - 15:35	Οι Κανονισμοί REACH και CLP για τα χημικά προϊόντα και η εφαρμογή τους σε προϊόντα καθημερινής χρήσης για την προστασία του καταναλωτή. <i>Εισηγητής: Τσιτσιμίκου Χριστίνα.</i>
15:35 - 15:45	Οι δραστηριότητες της Ευρωπαϊκής Αρχής για την Ασφάλεια των Τροφίμων (European Food Safety Authority–EFSA) και η συμμετοχή των Ελληνικών Αρχών. <i>Εισηγητής: Μαχαίρα Κυριακή.</i>
15:45 - 17:00	Στρογγυλό Τραπέζι: Η Εκπαίδευση στην Τοξικολογία στα Ελληνικά Πανεπιστήμια. Συμμετέχοντες καθηγητές από: Παν/μιο Κρήτης, Παν/μιο Θεσσαλίας, Αριστοτέλειο Παν/μιο Θεσσαλονίκης, Καποδιστριακό Παν/μιο Αθηνών <i>Εισηγητές καθηγητές: Αιτά–Πολίτου Τζούλια, Καβάτση Λήδα, Κουρέτας Δημήτριος, Σαρηγιάννης Δημοσθένης, Αθανασέλης Σωτήριος, Τσατσάκης Αριστείδης.</i>
17:00 - 17:15	Διάλειμμα.
17:15 - 17:45	Το Μητρώο των Ευρωπαϊκών Τοξικολόγων (ERT) και η εφαρμογή του στην Ελλάδα. <i>Εισηγητής: Τσατσάκης Αριστείδης.</i>
17:45 - 18:15	Απονομή των πρώτων πιστοποιητικών σε Έλληνες τοξικολόγους για το Ευρωπαϊκό μητρώο τοξικολόγων (ERT) της EUROTOX, Εθνική Επιτροπή ERT.
18:15 - 19:00	Γενική συνέλευση των μελών της Ελληνικής Εταιρίας Τοξικολογίας, Απολογισμός δράσης του απερχόμενου Δ.Σ., Εκλογές.
19:15	Ανακοίνωση αποτελεσμάτων, Λήξη εργασιών.

ΚΥΡΙΑΚΗ 27 Απριλίου 2014

10:00 - 11:00	Εκδρομή στο αρχαίο θέατρο Λάρισας, ξενάγηση.
11:00 - 11:20	Ασφάλεια και υγεία στους χώρους εργασίας - η αναγκαιότητα της κουλτούρας πρόληψης. <i>Εισηγητής: Δεληχάς Μιλτιάδης.</i>
11:20 - 12:30	Στρογγυλό Τραπέζι: Επίκαιρα θέματα Τοξικολογίας. Θέματα, <i>Εισηγητές:</i> • Ελεύθερες ρίζες και μέτρηση τους στο ανθρώπινο σώμα, <i>Κουρέτας Δημήτριος</i> • Υπολογιστική Τοξικολογία (Computational Toxicology), <i>Σαρηγιάννης Δημοσθένης</i> • Η τοξικολογική προσέγγιση του doping, εκπρόσωπος διεθνούς οργανισμού αντι-ντόπινγκ. • Δείκτες έκθεσης στο χώρο εργασίας, <i>Στεφανίδου Μάνια</i> . • Διαπίστευση και διαχειριστική επάρκεια τοξικολογικών εργαστηρίων in vivo και in vitro δοκιμών, <i>Κυριακοπούλου Κατερίνα</i> .
12:30 - 12:45	Διάλειμμα.
12:45 - 13:45	Στρογγυλό Τραπέζι: Επίκαιρα θέματα Ιατροδικαστικής Τοξικολογίας. <i>Εισηγητές: Ψαρούλης Δημήτριος, Ράϊκος Νίκος.</i>
13:45 - 15:30	Ελεύθερες ανακοινώσεις Τοξικολογίας και Ιατροδικαστικής Τοξικολογίας. (10λεπτες προφορικές ανακοινώσεις) Όσοι υποβάλουν εργασίες
15:30 - 16:00	Ανοικτή συζήτηση με το κοινό.
16:00	Λήξη εργασιών Συνεδρίου.



ABSTRACT BOOK

Ανάπτυξη εναλλακτικών μεθόδων προσδιορισμού τοξικότητας φυσικών προϊόντων, συνθετικών μορίων και λοιπών ρυπαντών σε in vitro και in vivo συνθήκες

*Ευφροσύνη Κατσάνου, Αικατερίνη Κυριακοπούλου, Κυριακή Μαχαίρα
Εργαστήριο Τοξικολογικού Ελέγχου Γεωργικών Φαρμάκων,
Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο*

Ένας από τους σημαντικότερους στόχους του Εργαστηρίου Τοξικολογικού Ελέγχου Γεωργικών Φαρμάκων (ΕΤΕΓΦ) είναι η ανάπτυξη εναλλακτικών μεθόδων προσδιορισμού τοξικότητας φυσικών ή συνθετικών ουσιών ή άλλων ρυπαντών. Οι μεθοδολογίες για την εκτίμηση επικινδυνότητας στην τοξικολογία έχουν παραμείνει अपαράλλακτες εδώ και χρόνια, χρησιμοποιώντας μελέτες σε ζώα που εκτίθενται σε υψηλές δόσεις, και οι οποίες σε πολλές περιπτώσεις δεν ικανοποιούν τις ανάγκες για «πραγματική» εκτίμηση επικινδυνότητας στους ανθρώπους. Με βάση και το προσχέδιο του Εθνικού Συμβουλίου Έρευνας των Ηνωμένων Πολιτειών (US' National Research Council) με τίτλο «Toxicity testing in the 21st Century» το οποίο καλεί για ανανέωση των παραδοσιακών μεθόδων πειραματισμού με νέες μεθόδους που χρησιμοποιούν κυρίως in vitro δοκιμές με κύτταρα ή ιστούς ανθρώπου, το ΕΤΕΓΦ έχει αναπτύξει και συνεχίζει να αναπτύσσει μια σειρά τεχνικών σε συνέπεια με αυτή την προσέγγιση.

Το ΕΤΕΓΦ χρησιμοποιεί in vitro συστήματα με χρήση ανθρωπίνων κυττάρων (κυτταρικές σειρές ή πρωτογενείς καλλιέργειες) καθώς και in vivo δοκιμές σε κατώτερα σπονδυλωτά όπως το zebrafish. Συγκεκριμένα, έχουν αναπτυχθεί και εφαρμόζονται ή βρίσκονται στη φάση ανάπτυξης in vitro μέθοδοι για τον προσδιορισμό κυτταροτοξικότητας, απόπτωσης και γονοτοξικότητας, καθώς επίσης και μέθοδοι εκτίμησης νευροτοξικότητας (μέθοδος προσδιορισμού επέκτασης νευραξόνων). Επιπλέον, με την απόκτηση του σύγχρονου συστήματος απεικόνισης (Odyssey, Li Cor) θα είναι δυνατόν να διενεργούνται δοκιμές όπως το In-Cell Western, με τις οποίες επιτυγχάνεται ταυτόχρονη ποσοτικοποίηση της κυτταροτοξικότητας και της γονοτοξικότητας που προκαλεί η μελετούμενη κάθε φορά ουσία. Επίσης, χρησιμοποιώντας την τεχνολογία του Real-time PCR, μπορούν να πραγματοποιηθούν μελέτες γονιδιακής έκφρασης χρησιμοποιώντας συστοιχίες (arrays) γονιδίων που εμπλέκονται σε μονοπάτια στρες και τοξικότητας (οξειδωτικό στρες, υποξία, κυτταρικός θάνατος), σε μονοπάτια μοριακής τοξικολογίας (απόπτωση, νέκρωση, στεάτωση, χολόσταση, γενικευμένη ηπατοτοξικότητα, ανοσοτοξικότητα κ.ά). Τέλος, πρόσφατα το ΕΤΕΓΦ απέκτησε μια μονάδα εκτροφής zebrafish, το οποίο αποτελεί έναν οργανισμό μοντέλο για τη μελέτη μεγάλης ποικιλίας επιδράσεων σε διάφορα συστήματα (π.χ. ήπαρ, νευρικό σύστημα, καρδιαγγειακό) καθώς και για τη μελέτη τερατογόνων επιδράσεων κατά την ανάπτυξη.

Ρύθμιση των ηπατικών ενζύμων CYP1A1 και CYP1A2 μετά από στόματος χορήγηση Μαστίχας Χίου σε επίμυες της φυλής Wistar.

Ευφροσύνη Κατσάνου¹, Αικατερίνη Κυριακοπούλου¹, Χριστίνα Εμμανουήλ¹, Νικόλας Φωκιαλάκης², Αλέξιος-Λέανδρος Σκαλτσούνης², Κυριακή Μαχαίρα¹

¹ Εργαστήριο Τοξικολογικού Ελέγχου Γεωργικών Φαρμάκων, Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο, ² Τομέας Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων, Τμήμα Φαρμακευτικής, Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Η Μαστίχα Χίου, η ρητίνη η οποία λαμβάνεται από την *Pistacia lentiscus* var. *chia*, είναι γνωστή από την αρχαιότητα για τη φαρμακολογική της δράση. Τα ένζυμα CYP1A1 και CYP1A2 είναι ανάμεσα σε αυτά που εμπλέκονται περισσότερο στη βιομετατροπή των χημικών ουσιών και στη μεταβολική ενεργοποίηση των προ-καρκινογόνων ουσιών. Από προηγούμενες μελέτες άλλων ομάδων που αναφέρονται στη ρύθμιση των ενζύμων αυτών από τη Μαστίχα Χίου έχουν προκύψει ευρήματα ασαφούς βιολογικής και τοξικολογικής σημασίας. Για το σκοπό αυτό, μελετήθηκε η ρύθμιση των ενζύμων CYP1A1 και CYP1A2 σε μεταγραφικό επίπεδο στο ήπαρ αρσενικών επίμυων της φυλής Wistar μετά από στόματος χορήγηση εκχυλίσματος μαστίχας, καθώς και η ενζυμική δραστικότητα του CYP1A1. Επίσης, έγινε σύγκριση με την αντίστοιχη ρύθμιση των ενζύμων μετά από στόματος χορήγηση ενός γνωστότατου βιοδραστικού φυσικού προϊόντος, της καφεΐνης, που χρησιμοποιήθηκε ως ουσία αναφοράς που εμπλέκει ηπατικά ένζυμα στο μεταβολισμό της. Τα επίπεδα mRNA του *Cyp1a1* και του *Cyp1a2* υπολογίστηκαν με τη μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης σε πραγματικό χρόνο με χρήση αντίστροφης μεταγραφάσης, και έγινε η σχετική ποσοτικοποίησή τους. Η επαγωγή του ενζύμου CYP1A1 μετρήθηκε μέσω της δραστικότητας του ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η χορήγηση του εκχυλίσματος μαστίχας στην συνιστώμενη φαρμακευτική δόση δεν επάγει σημαντικά τη μεταγραφική ρύθμιση των *Cyp1a1/2* καθώς και την ενζυμική δραστικότητα του CYP1A1, ενώ παρατηρήθηκαν επιδράσεις της ίδιας τάξης μεγέθους στο ίδιο σύστημα ύστερα από χορήγηση καφεΐνης στη μέση ημερήσια δόση. Το αποτέλεσμα αυτής της μελέτης επιβεβαιώνει περαιτέρω την έλλειψη τοξικολογικής ή βιολογικής σημασίας των συγκεκριμένων ευρημάτων στο ήπαρ ύστερα από τη χορήγηση του εκχυλίσματος της Μαστίχας Χίου.

Προστατευτική δράση της ελευροπαΐνης έναντι αλλοιώσεων του DNA που προκαλούνται από οξειδωτικό στρες, στην κυτταρική σειρά HepG2

Ευφροσύνη Κατσάνου, Αικατερίνη Κυριακοπούλου, Κυριακή Μαχαίρα

*Εργαστήριο Τοξικολογικού Ελέγχου Γεωργικών Φαρμάκων
Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο*

Η ελευροπαΐνη είναι μια φυσική ουσία που απαντάται κυρίως στα φύλλα και στον καρπό της ελιάς. Στην παρούσα μελέτη διερευνήθηκε η ικανότητα της ελευροπαΐνης να εμφανίζει προστατευτική δράση έναντι αλλοιώσεων στο γενετικό υλικό (DNA) που προκαλούνται από μικρές δόσεις υπεροξειδίου του υδρογόνου σε *in vitro* συνθήκες σε κύτταρα ηπατοκαρκινώματος ανθρώπου HepG2. Αρχικά μελετήθηκε η κυτταροτοξική και η γονοτοξική δράσης της ελευροπαΐνης σε συγκεντρώσεις από 0.0001 έως 100 μ M. Για τον προσδιορισμό της κυτταροτοξικής δράσης χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος MTT ενώ για τον προσδιορισμό της γονοτοξικής δράσης χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της ηλεκτροφόρησης μεμονωμένων κυττάρων σε πηκτή αγαρόζης (Comet assay). Οι αλλοιώσεις του γενετικού υλικού που προέρχονται από θραύσματα της μονής αλύσου του DNA ποσοτικοποιούνται με μικροσκοπία φθορισμού και με τη χρήση κατάλληλου λογισμικού (TriTek CometScore™ Freeware v1.5). Προκειμένου να επιβεβαιωθεί ότι οι προκαλούμενες αλλοιώσεις του DNA οφείλονται σε οξειδωτικό στρες, χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της ηλεκτροφόρησης μεμονωμένων κυττάρων με χρήση του ενζύμου Fpg (formamidopyrimidine DNA-glycosylase). Επίσης εξετάστηκαν διάφορες συγκεντρώσεις υπεροξειδίου του υδρογόνου για να βρεθεί η ελάχιστη συγκέντρωση που απαιτείται για να προκαλέσει σημαντικό ποσοστό θραυσμάτων μονής αλύσου. Τέλος, τα κύτταρα HepG2 επώαστηκαν για 24 ώρες με τις διαφορετικές συγκεντρώσεις ελευροπαΐνης πριν υποβληθούν σε τριαντάλεπτη

επώαση με το H₂O₂ για να εξεταστεί η προστατευτική δράση της ελευροπαΐνης ενάντια στις -προσκληθείσες λόγω των ελευθέρων ριζών-αλλοιώσεις του DNA. Η ελευροπαΐνη δεν επέδειξε κυτταροτοξική ή γονοτοξική δράση στα κύτταρα HepG2 σε όλες τις συγκεντρώσεις που χρησιμοποιήθηκε ενώ επώαση με 0.1 μM ελευροπαΐνης για 24 ώρες ανέστρεψε πλήρως τις αλλοιώσεις που προκλήθηκαν στο DNA ύστερα από σύντομη επώαση με H₂O₂. Τα αποτελέσματα αυτά υποδεικνύουν ότι η ελευροπαΐνη προστατεύει τα εν λόγω ηπατικά κύτταρα από το οξειδωτικό στρες. Περαιτέρω μελέτες πραγματοποιούνται για να διερευνηθεί ο προστατευτικός ρόλος της ελευροπαΐνης και στην υπεροξειδωση των λιπιδίων.

Διαπίστευση και διαχειριστική επάρκεια τοξικολογικών εργαστηρίων in vivo και in vitro δοκιμών

Κατερίνα Κυριακοπούλου και Κυριακή Μαχαίρα

*Εργαστήριο Τοξικολογικού Ελέγχου Γεωργικών Φαρμάκων,
Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο*

Στη σύγχρονη εποχή προκύπτει η ανάγκη για εναρμόνιση των Εργαστηρίων με βάση Διεθνή Πρότυπα και Συστήματα Διαχείρισης Ποιότητας με απώτερο σκοπό την πραγματοποίηση εργαστηριακών δοκιμών με τον ορθότερο δυνατό τρόπο και την εξαγωγή αξιόπιστων και αποδεκτών αποτελεσμάτων. Το ISO 17025 είναι το διεθνές πρότυπο που χρησιμοποιείται για την δημιουργία, την οργάνωση και τη διαπίστευση εργαστηρίων μετρήσεων, δοκιμών και διακριβώσεων. Διαπίστευση ενός εργαστηρίου από έναν ανεξάρτητο επίσημο φορέα σύμφωνα με το πρότυπο ISO 17025 σημαίνει ότι το εργαστήριο έχει τις τεχνικές και διοικητικές ικανότητες να διεξάγει συγκεκριμένες δοκιμές, μετρήσεις και διακριβώσεις σύμφωνα με συγκεκριμένες πρότυπες ή ενδοεργαστηριακές (in house) μεθόδους, με συγκεκριμένο εξοπλισμό και εντός συγκεκριμένων και δηλωμένων ορίων ακρίβειας. Η διαπίστευση διενεργείται από ανεξάρτητο επίσημο φορέα, ο οποίος στην Ελλάδα είναι το Εθνικό Συμβούλιο Διαπίστευσης (Ε.ΣΥ.Δ.).

Επιπλέον, τα τελευταία χρόνια προέκυψε η ανάγκη βελτίωσης των συστημάτων διαχείρισης και ελέγχου που αφορούν τα συγχρηματοδοτούμενα έργα (π.χ. ερευνητικά προγράμματα) που λαμβάνουν χρηματοδότηση από εθνικούς ή κοινοτικούς πόρους. Τα πρότυπα που εφαρμόζονται για αυτού του τύπου την πιστοποίηση είναι το Διεθνές Πρότυπο ISO 9001 για τη Διαχείριση Ποιότητας και το Εθνικό Πρότυπο ΕΛΟΤ 1429 για τη «Διαχειριστική επάρκεια οργανισμών για την υλοποίηση έργων δημοσίου χαρακτήρα».

Το Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο (Μ.Φ.Ι.) έχει αναπτύξει, εφαρμόσει και τηρεί τεκμηριωμένο Σύστημα Διαχείρισης Ποιότητας (ΣΔΠ) σε συμμόρφωση με τις απαιτήσεις του σχετικού Διεθνούς Προτύπου ISO 9001 καθώς και των Κριτηρίων Διαχειριστικής Επάρκειας ως μέσο για να εξασφαλίζει ότι η διαχείριση των συγχρηματοδοτούμενων πράξεων, των οποίων ορίζεται ως τελικός δικαιούχος, γίνεται με τρόπο επαρκή που συμμορφώνεται πλήρως στις προδιαγεγραμμένες απαιτήσεις και στις υποχρεώσεις οι οποίες πηγάζουν από αυτές. Επίσης, εδώ και αρκετά χρόνια τα Εργαστήρια Υπολειμμάτων, Χημικού και Τοξικολογικού Ελέγχου Γεωργικών Φαρμάκων εφαρμόζουν Σύστημα Διασφάλισης Ποιότητας κατά τις πειραματικές τους δοκιμές και είναι πιστοποιημένα από το Ε.ΣΥ.Δ. κατά ISO 17025 για τη διενέργεια μιας σειράς πειραματικών δοκιμών.

Εκτίμηση της μη διατροφικής έκθεσης του ανθρώπου σε Φυτοπροστατευτικά προϊόντα: Ανάπτυξη νέων εργαλείων εκτίμησης της έκθεσης στα πλαίσια του Ευρωπαϊκού προγράμματος BROWSE

Kyriaki Macherá¹, Agathi Charistou¹, Niki Arapaki¹, Rianda Gerritsen-Ebben², Henk Goede², Jody Schinkel², Suzanne Spaan², Richard Glass³, Andy Hart³

¹ Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο, Κηφισιά, Ελλάδα

² FERA, Sand Hutton, York, Ην. Βασίλειο

³ TNO, Zeist, Ολλανδία

Η εκτίμηση της μη διατροφικής έκθεσης του ανθρώπου είναι ένα καθοριστικό σημείο κατά την εκτίμηση της επικινδυνότητας των φυτοπροστατευτικών προϊόντων (φ.π.). Το πρόγραμμα BROWSE (Bystanders, Residents, Operators and WorkerS Exposure models for plant protection products) είναι ένα FP7 Ευρωπαϊκό πρόγραμμα με στόχο την ανάπτυξη βελτιωμένων μοντέλων υπολογισμού των επιπέδων έκθεσης σε φ.π. των χρηστών-ψεκαστών (operators), των εργατών (workers), των παρευρισκόμενων (bystanders) και των κατοίκων (residents) σε αγροτικές περιοχές.

Μετά την ανασκόπηση της διαθέσιμης διεθνούς βιβλιογραφίας και όλων των διαθέσιμων μοντέλων/μεθόδων υπολογισμού της έκθεσης σε φ.π., αναγνωρίστηκαν τα διαφορετικά σενάρια έκθεσης για τις ομάδες ψεκαστών, εργατών, παρευρισκόμενων και κατοίκων σε αγροτικές περιοχές και καθορίστηκαν οι προτεραιότητες για την ανάπτυξη των νέων μοντέλων για έναν περιορισμένο αριθμό σεναρίων έκθεσης.

Στα πλαίσια ανάπτυξης των νέων μοντέλων δημιουργήθηκαν δύο βάσεις δεδομένων, μία για τους παράγοντες που καθορίζουν την έκθεση του χρήστη/ψεκαστή (Exposure Determinants database) και μία για τα διαθέσιμα δεδομένα έκθεσης (Exposure Data database).

Έχει αναπτυχθεί ήδη το νέο μοντέλο του BROWSE για τον υπολογισμό της έκθεσης του ψεκαστή στην περίπτωση ανάμιξης/φόρτωσης προϊόντων σε υγρή μορφή και εφαρμογή με τρακτέρ με μπάρα ψεκασμού (υδραυλικά ακροφύσια) [tractor mounted boom sprayer (hydraulic nozzles)]. Για την ανάπτυξη του μοντέλου έχει ληφθεί υπόψη όχι μόνο η από δέρματος και από αναπνοής έκθεση αλλά και η από στόματος έκθεση. Επιπλέον, έχει χρησιμοποιηθεί και μέρος των διαθέσιμων δεδομένων έκθεσης μετά και τον έλεγχο ποιότητας που έγινε λαμβάνοντας υπόψη συγκεκριμένα κριτήρια.

Το νέο μοντέλο υπολογισμού της έκθεσης του ψεκαστή φ.π. που αναπτύσσεται στα πλαίσια του προγράμματος BROWSE θα συνεισφέρει σε μια πιο ρεαλιστική εκτίμηση της επικινδυνότητας των φ.π.

Στρατηγικός σχεδιασμός για την προσαρμογή & εφαρμογή των αρχών της ορθολογικής χρήσης των γεωργικών φαρμάκων σε ένα ευάλωτο οικοσύστημα

Κυριακή Μαχαίρα, Αιμιλία Μαρκέλλου, Φιλίτσα Καραμαούνα, Ελένη Καρασαλή, Κατερίνα Κυριακοπούλου, Αντώνης Παπαδόπουλος, Άγγελος Τσακιράκης, Αγαθή Χαριστού, Δημοσθένης Χάχαλης και Ευγενία Χαϊδευτού

Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο, Κηφισιά, Αθήνα

Το πρόγραμμα EcoPest (LIFE07 ENV/GR/000266) ήταν ένα πιλοτικό πρόγραμμα που εστίασε στην εφαρμογή των αρχών της ορθολογικής χρήσης των γεωργικών φαρμάκων για την προστασία ενός ευάλωτου υγροτοπικού οικοσυστήματος. Το έργο υλοποιήθηκε σε μία έκταση περίπου 10000 στρεμμάτων αγροτικής γης σε καλλιέργειες βαμβακιού, καλαμποκιού και βιομηχανικής τομάτας στο Κωπαϊδικό πεδίο και συμμετείχαν περισσότεροι από 200 καλλιεργητές.

Αντικείμενο του EcoPest ήταν η ανάπτυξη, η διάχυση και η εφαρμογή μιας οικονομικά βιώσιμη στρατηγικής για την ορθολογική χρήση γεωργικών φαρμάκων και λιπασμάτων, μέσω του ελέγχου των εισροών αγροχημικών και της αποτελεσματικής αντιμετώπισης των δυνητικών κινδύνων για τον άνθρωπο και το περιβάλλον που σχετίζονται με τη μη ορθή χρήση τους.

Η επιστημονική ομάδα του έργου σχεδίασε και πέτυχε τη στρατηγική χαμηλών γεωργικών εισροών για την ελαχιστοποίηση της βλαπτικότητας και της επικινδυνότητας, με ιδιαίτερη έμφαση στην προστασία των υδάτων. Συγκεκριμένα στα τριάμισι έτη υλοποίησης του έργου μεταξύ άλλων επιτεύχθηκαν τα εξής:

1) Μείωση των ποσοτήτων γεωργικών φαρμάκων που εφαρμόστηκαν ανά επιφάνεια γης.

2) Μείωση των μέσων συγκεντρώσεων δραστικών ουσιών γεωργικών φαρμάκων που ανιχνευθήκαν σε νερά πηγαδιών της περιοχής. Σημειώνεται ότι σε ορισμένες περιπτώσεις η μείωση έφτασε σε ποσοστό 70% σε σχέση με τις τιμές πριν την εφαρμογή του έργου στην περιοχή.

3) Μείωση στην τοξικότητα των δειγμάτων νερού που συλλέχθηκαν από ποτάμια και πηγάδια σε υδρόβιους οργανισμούς, όπως προσδιορίστηκε μέσω βιοδοκιμών σε φυτοπλαγκτονικούς, ζωοπλαγκτονικούς οργανισμούς και σε υδρόβια βακτήρια.

4) Εφαρμογή στρατηγικής μείωσης της διασποράς του ψεκαστικού νέφους για την προστασία των ψεκαστών και των αγροτικών πληθυσμών της περιοχής.

5) Κατάρτιση αγροτών και ψεκαστών σε θέματα ασφαλούς χρήσης των γεωργικών φαρμάκων για τον άνθρωπο και το περιβάλλον.

6) Χρήση μέσων ατομικής προστασίας κατάλληλων για το κλίμα της Ελλάδας που είχαν αναπτυχθεί από το Εργαστήριο Τοξικολογικού Ελέγχου Γεωργικών Φαρμάκων.

7) Ανάπτυξη στρατηγικής για την υποκατάσταση των πλέον επιβλαβών γεωργικών φαρμάκων για τον άνθρωπο και το περιβάλλον.

Συμπερασματικά, το έργο συνεισέφερε στη δημιουργία μιας ολοκληρωμένης πρότασης για την εφαρμογή της Οδηγίας 128/2009/EK για την ορθολογική χρήση των γεωργικών φαρμάκων.

Ο επιτυχής συνδυασμός διαφόρων δράσεων του προγράμματος κατέστησε δυνατή την τελική επιτυχή έκβαση του έργου, το οποίο βραβεύτηκε από την Ε.Ε. ως ένα εκ των 3 καλύτερων προγραμμάτων LIFE+ του 2012 (LIFE + Best of the Best)

Μεταφορά Γεωργικών Φαρμάκων στο δέρμα Ψεκαστών και Εργατών μέσω Επαφής με Ψεκασμένες Σκληρές Επιφάνειες

Richard Glass¹, Άγγελος Τσακίρακης², Κωνσταντίνος Κασιώτης², Πελαγία Αναστασιάδου², Αγαθή Χαριστού², Rianda Gerritsen-Ebben³ και Κυριακή Μαχαίρα^{2}*

¹ FERA, Sand Hutton, York, Ην. Βασιλείο

² ΜΦΙ, Αθήνα, Ελλάδα

³ TNO, Zeist, Ολλανδία

Προκειμένου να διερευνηθεί η μεταφορά γεωργικών φαρμάκων στο δέρμα ψεκαστών και εργατών κατά τη διάρκεια αγροτικών δραστηριοτήτων μέσω επαφής με τον ψεκαστικό εξοπλισμό και με άλλες δυνητικά επιμολυσμένες σκληρές επιφάνειες, διεξήχθη μια μελέτη πεδίου σε θερμοκήπια της περιοχής Τυμπακίου Κρήτης.

Για το σκοπό αυτό έγινε προσομοίωση της υπό πίεση επαφής του ανθρώπινου χεριού σε επιφάνειες χρησιμοποιώντας ως δοσίμετρο ένα γάντι (στεγνό ή υγρό, ώστε να προσομοιάζει στο ιδρωμένο χέρι). Αυτό έγινε εφαρμόζοντας βάρος στο γάντι ενώ ήταν σε

επαφή με διάφορες επιφάνειες ψεκασμένες με γνωστές ποσότητες σκευάσματος τύπου SC (Suspension Concentrate) με δραστική ουσία (δ.ο) tebufenozide.

Ειδικότερα, στη μελέτη χρησιμοποιήθηκαν επιφάνειες από πλαστικό, μέταλλο και ξύλο που προηγουμένως είχαν ψεκαστεί με το εν λόγω σκεύασμα και γάντια στεγνά και υγρά που τέθηκαν σε επαφή με τις επιφάνειες για διάφορα χρονικά διαστήματα (1, 3 και 5 φορές από 10 sec/φορά, 3 επαναλήψεις ανά δείγμα). Η δ.ο. που κατακρατήθηκε στα γάντια εκχυλίστηκε και προσδιορίστηκε με τεχνική LC-MS.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι για όλες τις επιφάνειες η μεταφερθείσα ποσότητα δ.ο. αυξήθηκε με την αύξηση του χρόνου επαφής, όχι όμως ευθέως ανάλογα στις περισσότερες περιπτώσεις. Η μεταλλική επιφάνεια έδωσε το μεγαλύτερο βαθμό μεταφοράς δ.ο. στα δοσίμετρα σε σχέση με τις άλλες δύο. Μεγαλύτερη επιμόλυνση παρατηρήθηκε στα υγρά σε σχέση με τα στεγνά γάντια στην περίπτωση επαφής με την πλαστική και την ξύλινη επιφάνεια ενώ το αντίστροφο παρατηρήθηκε στη μεταλλική επιφάνεια.

Η μελέτη διεξήχθη στο πλαίσιο του έργου BROWSE (Bystander, Resident, Operator and Worker Exposure models for plant protection products; www.browseproject.eu), το οποίο είναι ένα Ευρωπαϊκό FP7 πρόγραμμα με στόχο την ανάπτυξη βελτιωμένων μοντέλων υπολογισμού των επιπέδων έκθεσης σε φ.π. των χρηστών-ψεκαστών (operators), των εργατών (workers), των παρευρισκόμενων (bystanders) και των κατοίκων (residents) σε αγροτικές περιοχές.

Υπολογισμός Τιμών του Συντελεστή Μεταφοράς Γεωργικών Φαρμάκων (TC) μέσω του Προσδιορισμού των Επιπέδων της Δυνητικής από Δέρματος Έκθεσης των Εργατών Αγροτικών Δραστηριοτήτων & της Ανάλυσης DFR από Πειράματα Πεδίου σε Ελληνικά Θερμοκήπια στο Πλαίσιο του Προγράμματος FP7 BROWSE

Άγγελος Τσακινάκης¹, Richard Glass², Κωνσταντίνος Κασιώτης¹, Αγαθή Χαριστού¹, Πελαγία Αναστασιάδου¹, Rianda Gerritsen-Ebben³ και Κυριακή Μαχαίρα¹

¹ Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο, Κηφισιά, Ελλάδα

² FERA, Sand Hutton, York, Ην. Βασίλειο

³ TNO, Zeist, Ολλανδία

Για τη διερεύνηση του συντελεστή της μεταφοράς στο δέρμα (dermal transfer) γεωργικών φαρμάκων σε εργάτες που έρχονται σε επαφή με το φύλλωμα ψεκασμένων καλλιεργειών κατά τη διάρκεια της επανεισόδου τους σε αυτές, καθώς και κατά τις εργασίες δεσίματος και κλαδέματος, διεξήχθη μια ομάδα πειραμάτων αγρού σε θερμοκήπια πιπεριάς και τομάτας στην περιοχή Τυμπακίου Κρήτης. Η εν λόγω μελέτη στόχευε στον προσδιορισμό των επιπέδων της δυνητικής από δέρματος έκθεσης (Potential Dermal Exposure, PDE) των εργατών καθώς και της ποσότητας των υπολειμμάτων που δύναται να μεταφερθούν από το φύλλωμα (Dislikeable Foliar Residues, DFR). Από τα ανωτέρω αποτελέσματα προέκυψαν αλγοριθμικά οι αντίστοιχες τιμές των συντελεστών μεταφοράς (TC, transfer coefficient).

Τα επίπεδα PDE των εργατών προσδιορίστηκαν με τυπικές τεχνικές δοσιμετρίας ολοκλήρου σώματος. Συνολικά 4 ομάδες εργατών παρακολούθηθηκαν, η καθεμία αποτελούμενη από 3 εργάτες που δούλευαν ταυτόχρονα. Ο προσδιορισμός του DFR βασίστηκε σε ανάλυση LC-MS στα εκχυλίσματα των δειγμάτων φύλλων. Κάθε δείγμα αποτελούνταν από 40 δίσκους φύλλων και η εκχύλιση έγινε σε 2 διαδοχικά στάδια - στον αγρό και στο Εργαστήριο. Στη μελέτη χρησιμοποιήθηκαν 2 γεωργικά φάρμακα, ένα σκεύασμα με δραστική ουσία (δ.ο.) bupirimate 25% β/ο, τύπου EC (υγρό γαλακτωποιήσιμο), και ένα σκεύασμα με δ.ο. tebufenozide 24% β/ο, τύπου SC (πυκνό εναιώρημα). Κάθε σκεύασμα εφαρμόστηκε σε ένα θερμοκήπιο πιπεριάς και ένα τομάτας, οπότε συνολικά χρησιμοποιήθηκαν 4 διαφορετικά θερμοκήπια.

Τα αποτελέσματα των επιπέδων PDE για όλο το σώμα (άθροισμα πάνω και κάτω μέρος σώματος, κεφαλιού και χεριών) κυμάνθηκαν από 0.7-5.4 μg δ.ο./h. Οι τιμές DFR για τις θερμοκηπιακές καλλιέργειες τομάτας ήταν 11.5 and 110 ng δ.ο./ cm^2 για τα EC και SC σκευάσματα, αντίστοιχα, ενώ για την πιπεριά οι αντίστοιχες τιμές ήταν 136 και 85 ng δ.ο./ cm^2 . Βάσει των ανωτέρω αποτελεσμάτων έγινε ο προσδιορισμός του συντελεστή μεταφοράς (TC), οι μέσες τιμές του οποίου κυμάνθηκαν από 9306 μέχρι 318761 cm^2/h .

Η μελέτη διεξήχθη στο πλαίσιο του έργου BROWSE (Bystander, Resident, Operator and Worker Exposure models for plant protection products; www.browseproject.eu), το οποίο είναι ένα Ευρωπαϊκό FP7 πρόγραμμα με στόχο την ανάπτυξη βελτιωμένων μοντέλων υπολογισμού των επιπέδων έκθεσης σε φ.π. των χρηστών-ψεκαστών (operators), των εργατών (workers), των παρευρισκόμενων (bystanders) και των κατοίκων (residents) σε αγροτικές περιοχές.

Μείωση της Διασποράς του Ψεκαστικού Νέφους στις Συνθήκες της Ελλάδας. Μια Πιλοτική Μελέτη στο Πλαίσιο του Έργου LIFE+ EcoPest

Άγγελος Τσακινιάκης¹, Richard Glass², Κωνσταντίνος Κασιώτης¹ και Κυριακή Μαχαίρα^{1}*

¹Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο, Στ. Δέλτα 8, 145 61 Κηφισιά, Αθήνα, Ελλάδα

²The Food and Environment Research Agency, Sand Hutton York, YO41 1LZ, Ην. Βασίλειο

Το έργο EcoPest (LIFE07 ENV/GR/000266) είχε ως κεντρικό πυρήνα του το στόχο της μείωσης της επικινδυνότητας από τις αγροχημικές εισροές, όπως είναι τα γεωργικά φάρμακα (γ.φ.), στην περιοχή της Βοιωτίας. Η ομάδα του έργου ανέπτυξε ένα στρατηγικό σχέδιο για την ελαχιστοποίηση των εισροών από την γεωργία το οποίο εφαρμόστηκε σε πιλοτική κλίμακα σε 900 εκτάρια αγροτικής γης με αροτριάιες καλλιέργειες (βαμβάκι, καλαμπόκι, βιομηχανική τομάτα) στην περιοχή της λεκάνης του Βοιωτικού Κηφισού.

Στην παρούσα εργασία παρουσιάζονται τα αποτελέσματα από πειραματικές μετρήσεις της διασποράς του ψεκαστικού νέφους (ψ.ν.) κατά την εφαρμογή γ.φ. με τυπικό ψεκαστικό εξοπλισμό και πρακτικές χαρακτηριστικές για την πιλοτική περιοχή, ως προς την εφαρμογή των γ.φ. σε αροτριάιες καλλιέργειες. Επίσης προτείνονται μέτρα για την μείωση της διασποράς του ψ.ν. εφαρμόζοντας τη χρήση τεχνολογιών ελάττωσης της διασποράς όπως είναι τα χαμηλής διασποράς ακροφύσια. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως ποσοστό της δόσης εφαρμογής σε συνάρτηση με την απόσταση από το άκρο της μπάρας ψεκασμού. Διεξήχθησαν 3 πειράματα με τυπικά για την περιοχή ψεκαστικά μηχανήματα που έφεραν μπάρα ψεκασμού μήκους 12m προσαρτημένη σε τρακτέρ. Στο ένα πείραμα χρησιμοποιήθηκαν συμβατικά ακροφύσια ενώ στα άλλα δύο ακροφύσια χαμηλής διασποράς.

Τα πειράματα διεξήχθησαν σε μεγάλη ανοικτή καλλιεργήσιμη αγροτική έκταση και κατά τη διάρκειά τους καταγράφονταν οι μετεωρολογικές συνθήκες ενώ σε όλα χρησιμοποιήθηκε η χρωστική "Sunset Yellow" και κατάλληλο πρόσθετο. Η διασπορά του ψ.ν. παρατηρήθηκε βάσει της εναπόθεσης της χρωστικής στα διάφορα δοσίμετρα (μέσα δειγματοληψίας) που ήταν ξύλινοι πήχεις και τρυβλία Petri επικαλυμμένα με χαρτί χρωματογραφίας.

Τα ληφθέντα δείγματα εκχυλίστηκαν με διάλυμα ακετόνης-απιονισμένου νερού και η ποσότητα της χρωστικής προσδιορίστηκε φασματοφωτομετρικά. Η διασπορά του ψ.ν. έτεινε στο μηδέν σε απόσταση 2m από το σημείο ψεκασμού του ψεκαστικού υγρού όταν χρησιμοποιήθηκαν ακροφύσια χαμηλής διασποράς, ενώ η αντίστοιχη απόσταση για τα συμβατικά ακροφύσια ήταν 7m.

Στην παρούσα μελέτη επαληθεύτηκε η σημαντική συμβολή των ακροφυσίων χαμηλής διασποράς στην μείωση της διασποράς. Επιπρόσθετα, έγινε διάχυση των αποτελεσμάτων στους αγρότες της περιοχής και παράλληλα προωθήθηκε η διαπίστωση της αναγκαιότητας για υιοθέτηση στρατηγικής για την ελαχιστοποίηση της διασποράς του ψ.ν. και των δυνητικών επιπτώσεων αυτής στο περιβάλλον.

Η μεταθανάτια διάγνωση του οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου: Προκλήσεις, περιορισμοί και νέοι διαγνωστικοί δείκτες.

Δημήτριος Γαλεντέρης¹, Βαλεντίνη Τζιούφα², Σουλτάνα Μεδίσκου³, Τριανταφυλλιά Κολέτσα², Λήδα Κοβάτση¹

¹Εργαστήριο Ιατροδικαστικής και Τοξικολογίας, Τμήμα Ιατρικής, ΑΠΘ

²Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής, Τμήμα Ιατρικής, ΑΠΘ

³Εργαστήριο Ιστολογίας-Εμβρυολογίας, Τμήμα Ιατρικής, ΑΠΘ

Η αναγνώριση της συμμετοχής της καρδιάς στον μηχανισμό του αιφνίδιου θανάτου (Sudden Cardiac Death-SCD) και ειδικότερα του οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου (Acute Myocardial Infarction-AMI) αποτελεί μία από τις σημαντικότερες προκλήσεις στη καθημερινή διαγνωστική διαδικασία της Ιατροδικαστικής.

Η διαδικασία της διάγνωσης δεν παρουσιάζει δυσκολία όταν οι μακροσκοπικές αλλοιώσεις της νέκρωσης είναι εμφανείς, όταν η διαδικασία νέκρωσης-επούλωσης του μυοκαρδίου έχει ξεπεράσει τις πρώτες κρίσιμες έξι ώρες ώστε μικροσκοπικά να γίνεται αντιληπτή, ή όταν στην μακροσκοπική εξέταση των στεφανιαίων αγγείων είναι εμφανή τα μείζονα κριτήρια διάγνωσης του SCD και AMI.

Ωστόσο, στις περισσότερες περιπτώσεις τα παραπάνω ευρήματα απουσιάζουν και προκύπτουν διάφορο-διαγνωστικά ερωτήματα. Ειδικά μάλιστα όταν ο χρόνος επιβίωσης είναι μικρός και ο θάνατος οφείλεται στη νέκρωση των μυοκαρδιακών κυττάρων, υπάρχει δυσχέρεια στη διαπίστωση της αιτίας θανάτου διότι δεν αναγνωρίζονται χαρακτηριστικές αλλοιώσεις στο μυοκάρδιο ούτε μακροσκοπικά, ούτε μικροσκοπικά. Οι τεχνικές που χρησιμοποιούνται σήμερα στην καθημερινή Ιατροδικαστική πράξη, στερούνται της απαιτούμενης ευαισθησίας και ειδικότητας ώστε να διαγνώσουν την αιτία θανάτου στις περιπτώσεις αυτές.

Στην παρούσα εργασία θα παρουσιάσουμε τους διάφορους δείκτες νέκρωσης των μυοκαρδιακών ινών, όπως αυτοί ανιχνεύονται μεταθανάτια στο αίμα αλλά και στο περικαρδιακό υγρό, σε συνάρτηση με τον χρόνο επιβίωσης του ασθενούς. Θα παρουσιαστεί η αλληλουχία εμφάνισης των δεικτών στο αίμα, καθώς και η χρονική στιγμή κατά την οποία βρίσκονται στη μέγιστη τιμή τους. Θα αναφερθούν νέοι δείκτες, οι οποίοι σύμφωνα με την νεότερη βιβλιογραφία φαίνεται ότι έχουν την απαιτούμενη ευαισθησία ώστε να καλύψουν αυτό το διαγνωστικό κενό. Οι νέοι αυτοί δείκτες αναμένεται να αποδειχθούν χρήσιμοι και πληροφοριακοί στη διάγνωση του εμφράγματος του μυοκαρδίου μεταθανάτια, όταν ο χρόνος επιβίωσης είναι μικρότερος της μίας ώρας.

Προσδιορισμός δεικτών οξειδωτικού στρες στο αίμα και τους ιστούς από νεαρά χοιρίδια κρεατοπαραγωγής μετά από χορήγηση τροφής με πολυφαινολικά πρόσθετα από υγρά απόβλητα ελαιοτριβείου

Κωνσταντίνος Γερασόπουλος^{1,2}, Ελένη Γκίκα¹, Δημήτριος Στάγκος¹, Νίκος Γκουτζουρέλας¹, Στυλιανός Κόκκας², Παναγιώτης Γούλας², Κωνσταντίνος Πετρωτός², Αναστάσιος Μπέσιος¹, Δημήτριος Κουρέτας¹

¹Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Πλούτωνος 26 & Αιόλου, Λάρισα 41221.

²Τμήμα Μηχανικής Βιοσυστημάτων, Τ.Ε.Ι. Θεσσαλίας, Λάρισα 41110

Τα τελευταία χρόνια παρουσιάζεται έντονο ερευνητικό ενδιαφέρον σχετικά με φυτικές τροφές με αντιοξειδωτική δράση (1). Ο σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η διατροφή γουρουνιών κρεατοπαραγωγής, στο στάδιο του απογαλακτισμού, με ζωοτροφές που περιείχαν πολυφαινολικά πρόσθετα, από επεξεργασμένα υγρά αποβλήτων ελαιοτριβείου (YAE), έτσι ώστε να διερευνηθεί αν θα υπήρχε ενίσχυση των αντιοξειδωτικών μηχανισμών τους. Τα νεαρά γουρούνια χωρίστηκαν σε δύο ομάδες: στην Α (ομάδα ελέγχου), που ελάμβανε το σιτηρέσιο απογαλακτισμού και στην Β ομάδα η οποία ελάμβανε το σιτηρέσιο

που περιείχε τα πολυφαινολικά πρόσθετα. Πραγματοποιήθηκαν αιμοληψίες – ιστοληψίες (ηπατικός – καρδιακός – πνευμονικός – νεφρικός – τετρακέφαλος μυς), αρχίζοντας από την ηλικία των δύο (2) ημερών. Εκτελέστηκε προσδιορισμός των TBARS (δείκτης λιπιδικής υπεροξειδωσης), των πρωτεϊνικών καρβονυλίων (δείκτης πρωτεϊνικής οξειδωσης) και της συνολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (TAC). Επίσης, προσδιορίστηκαν η ανηγμένη γλουταθειόνη (GSH) και η δραστηριότητα της καταλάσης. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα πολυφαινολικά πρόσθετα αυξάνουν την αντιοξειδωτική ικανότητα των νεαρών γουρουνιών. Συγκεκριμένα, η ομάδα Β σε σχέση με την ομάδα ελέγχου, κατά την τελευταία αιμοληψία αυξάνει την τιμή της TAC κατά 17% και παρουσιάζονται στατιστικά σημαντικές μειωμένες συγκεντρώσεις στην οξειδωση των πρωτεϊνών κατά 18% στο πλάσμα και κατά 33% στον ηπατικό ιστό, στην οξειδωση των λιπιδίων κατά 39% στο πλάσμα και κατά 27% στον καρδιακό ιστό, αλλά και αυξημένη δραστηριότητα της καταλάσης κατά 25% στο αιμόλυμα και κατά 43% στον νεφρικό ιστό. Όσον αφορά στη μέτρηση της GSH στο αιμόλυμα, παρατηρείται μια αύξηση στις τιμές της από την ημέρα του απογαλακτισμού μέχρι την τεσσαρακοστή όγδοη ημέρα και στις δύο ομάδες. Η πολυφαινολική ομάδα όμως, παρουσιάζει τη μεγαλύτερη τιμή (4,4 μmol/gr αιμοσφαιρίνης), η οποία είναι αυξημένη και στατιστικά σημαντική σε σχέση με την τιμή της ομάδας ελέγχου κατά 23%. Συμπερασματικά, η χρήση των πολυφαινολικών προσθέτων από τα επεξεργασμένα ΥΑΕ αύξησαν την αντιοξειδωτική δράση σε χοίρους κρεατοπαραγωγής σε νεαρή ηλικία.

Βιβλιογραφία

1) Stagos D, Portesis N, Spanou C, Mossialos D, Aligiannis N, Chaita E, Panagoulis C, Reri E, Skaltsounis L, Tsatsakis AM, Kouretas D. Correlation of total polyphenolic content with antioxidant and antibacterial activity of 24 extracts from Greek domestic Lamiaceae species. Food Chem Toxicol. 2012 50(11):4115-24.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΣΤΕΜΦΥΛΩΝ ΣΕ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ ΕΝΖΥΜΑ ΜΥΪΚΩΝ ΚΑΙ ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ

N. Γκουτζουρέλας¹, Χ. Καραπούλιου¹, Α. Χουσμκεκερίδου¹, Δ. Στάγκος¹, Ν. Αληγιάννης², Ιωάννης Καφαντάρης¹, Λ. Σκαλτσούνης², Δ. Κουρέτας¹

¹Τμήμα Βιοχημείας-Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Λάρισα

²Τμήμα Φαρμακευτικής, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

Εισαγωγή

Είναι καλά τεκμηριωμένο ότι το οξειδωτικό στρες σχετίζεται με δυσμενείς καταστάσεις για τον οργανισμό. Μελέτες έχουν δείξει ότι αντιοξειδωτικά, όπως πολυφαινόλες μπορούν να μειώσουν το οξειδωτικό στρες επάγοντας την έκφραση και τη δραστηριότητα ενζύμων με αντιοξειδωτική δράση. Στην παρούσα μελέτη εξετάσαμε την επίδραση ενός εκχυλίσματος στεμφύλων, πλούσιο σε πολυφαινόλες, το οποίο έχει μελετηθεί *in vivo* σε προηγούμενες εργασίες (1), στην αντιοξειδωτική ικανότητα μυϊκών και ενδοθηλιακών κυττάρων.

Μέθοδος

Μυϊκά κύτταρα C2C12 και ενδοθηλιακά κύτταρα EAhy926 καλλιεργήθηκαν με την προσθήκη του εκχυλίσματος σε δυο μη κυτταροτοξικές συγκεντρώσεις, 2,5 και 10 μg/ml για τα C2C12, και 0,250 και 0,068 μg/ml για τα EAhy926. Στη συνέχεια απομονώθηκαν οι ολικές πρωτεΐνες των κυττάρων και εξετάστηκε η έκφραση των αντιοξειδωτικών ενζύμων οξυγενάση της αίμης (HO-1), καταλάση (CAT), υπεροξειδική δισμουτάση (SOD-1) και λιγάση γλουταμίνης-κυστεΐνης (γ-GCS) με Western blot ανάλυση. Επίσης, οι δραστηριότητες της καταλάσης (CAT), της υπεροξειδικής δισμουτάσης (SOD-1) και της τρανσφεράσης της γλουταθειόνης (GST) προσδιορίστηκαν φασματοφωτομετρικά. Τα επίπεδα των ενζύμων και η δράση τους προσδιορίστηκαν έπειτα από 3, 6, 12, 18 και 24 ώρες καλλιέργειας.

Αποτελέσματα- Συζήτηση

Το εξεταζόμενο εκχύλισμα μείωσε σημαντικά τα επίπεδα και τη δραστικότητα της CAT στα C2C12, 18 και 24 ώρες μετά την χορήγησή του σε συγκεντρώσεις 2,5 και 10 μg/ml σε σχέση με την καλλιέργεια ελέγχου ενώ στα EAHy926 δεν παρουσιάστηκε κάποια σημαντική διαφορά. Τα επίπεδα της SOD-1 καθώς και η δραστικότητά της δεν επηρεάστηκαν από την χορήγηση του εκχυλίσματος στα C2C12 και EAHy926. Καμία διαφορά δεν παρατηρήθηκε και στα επίπεδα της HO-1. Ωστόσο παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση της γ-GCS και στις δυο κυτταρικές σειρές έπειτα από τη χορήγηση του εκχυλίσματος. Η δραστικότητα της GST αυξήθηκε σημαντικά στις δυο κυτταρικές σειρές έπειτα από τη χορήγηση του εκχυλίσματος. Παρατηρούμε λοιπόν ότι το εκχύλισμα βελτιώνει τα επίπεδα αντιοξειδωτικών ενζύμων που σχετίζονται με το μεταβολισμό της γλουταθειόνης, ενός σημαντικού ενδογενούς αντιοξειδωτικού. Η γ-GCS αποτελεί το πρώτο ένζυμο της βιοσύνθεσης της γλουταθειόνης, ενώ η GST αποτελεί ένα ένζυμο που παίζει καθοριστικό ρόλο στον μεταβολισμό της. Σε προηγούμενη εργασία βρέθηκε ότι η χορήγηση του συγκεκριμένου εκχυλίσματος αυξάνει σημαντικά τα επίπεδα της γλουταθειόνης, και μειώνει το οξειδωτικό στρες, και στις δυο κυτταρικές σειρές στις αντίστοιχες συγκεντρώσεις (2). Συμπεραίνουμε λοιπόν ότι η αύξηση της αντιοξειδωτικής άμυνας από το εκχύλισμα στεμφύλων σε ενδοθηλιακά και μυϊκά κύτταρα σχετίζεται κυρίως με την αύξηση των επιπέδων και της δραστικότητας των ενζύμων που σχετίζονται με το μεταβολισμό της γλουταθειόνης.

Βιβλιογραφία

- 1) Veskoukis AS, Kyparos A, Nikolaidis MG, Stagos D, Aligiannis N, Halabalaki M, Chronis K, Goutzourelas N, Skaltsounis L, Kouretas D. The antioxidant effects of a polyphenol-rich grape pomace extract in vitro do not correspond in vivo using exercise as an oxidant stimulus. *Oxid Med Cell Longev.* 2012;2012:185867.
- 2) Goutzourelas N, Stagos D, Demertzis N, Mavridou P, Karterolioti H, Georgadakis S, Kerasiote E, Aligiannis N, Skaltsounis L, Statiri A, Tsioutsouliti A, Tsatsakis A, Hayes W, Kouretas D. Effects of polyphenolic grape extract on the oxidative status of muscle and endothelial cells. 2014 (in press).

ΕΠΟΥΛΩΣΗ ΚΑΤΑΚΛΙΣΕΩΝ ΣΕ ΜΥΕΣ ΜΕ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΘΑΛΑΣΣΙΟΥ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥ

Παπουτσή Μαριέττα, Παπαευναγγέλου Αικατερίνη, Δεμερτζής Νικόλαος, Κυριαζή Μαρία, Παπαϊωάννου Γεώργιος Θ., Ράλλης Μιχαήλ*

Εργαστήριο Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη Ζωγράφου, 15571 Αθήνα

Εισαγωγή

Ως κατάκλιση χαρακτηρίζεται η κυτταρική νέκρωση μιας δερματικής περιοχής του σώματος που προκαλείται από διακοπή της μικροκυκλοφορίας στους ιστούς λόγω αδιάκοπης πίεσης (Reddy et al. 2008). Αναπτύσσονται συνήθως πάνω από προεξοχές οστών. Τα συνήθη ανατομικά μέρη στα οποία υπάρχει προδιάθεση δημιουργίας ελκών πίεσης είναι η εξωτερική πλάγια πλευρά των μηρών, ο κόκκυγας, οι πτέρνες και τα ισχιακά κυρτώματα (Saha et al. 2013). Αποτελεσματική θεραπευτική αντιμετώπιση δεν υπάρχει μέχρι σήμερα. Μελετήθηκαν διάφοροι τύποι πρωτότυπων για την ασθένεια αυτή σκευασμάτων σε μοντέλο άτριχων γερασμένων μυών.

Υλικά και Μέθοδοι

50 γερασμένοι αρσενικοί μύες τύπου SKH-1, χωρίστηκαν σε 10 ομάδες. Στο κάτω μέρος της πλάτης αυτών πραγματοποιήθηκαν strippings και κατόπιν ακτινοβολήθηκαν με λάμπα ξένον Oriel 68820 [UVA:1300 μW/cm², UVB:1400 μW/cm²]. Η ίδια διαδικασία επανελήφθη κατά την 5η και 13η ημέρα. Μετά την δημιουργία των πληγών σε κάθε ομάδα, πλην των μαρτύρων, εφαρμόζονταν καθημερινά τα κάτωθι σκευάσματα:

ΟΜΑΔΑ	ΣΚΕΥΑΣΜΑ
1	- (Μάρτυρες)
2	Ελαιόλαδο
3	Προπυλενογλυκόλη
4	Κρασί
5	Ελαιόλαδο- Θαλάσσιος Οργανισμός
6	Προπυλενογλυκόλη- Θαλάσσιος Οργανισμός
7	Κρασί-Θαλάσσιος Οργανισμός
8	Ελαιόλαδο- Προπυλενογλυκόλη- Θαλάσσιος Οργανισμός
9	Σαπούνι (50%νερό-50% σαπουνι)
10	Ελαιόλαδο- προπυλενογλυκόλη– κρασί

Αξιολογήθηκε η κλινική εικόνα με οπτική παρατήρηση και φωτοτεκμηρίωση, το βάρος, η άδηλη απώλεια του νερού (Tewameter TM30, Courage-Khazaka, Germany), η ερυθρότητα (Mexameter MX18, Courage-Khazaka, Germany), το οξειδωτικό στρες, και η ιστοπαθολογική εικόνα.

Επίσης έλαβε χώρα τοξικολογική εκτίμηση του θαλασσίου οργανισμού σε αρσενικούς και θηλυκούς μύες τύπου SKH-2 μετά από στοματική χορήγηση σε δόση 5g/kg σύμφωνα με το πρωτόκολλο προσδιορισμού του LD50².

Αποτελέσματα- Συζήτηση

Με βάση την κλινική εικόνα όλες οι ομάδες εμφάνισαν ταχύτερη επούλωση σε σχέση με τους μάρτυρες. Ειδικότερα οι ομάδες με τον θαλάσσιο οργανισμό (5, 8) και αυτή με τον συνδυασμό ελαίου-προπυλενογλυκόλης-κρασί (10) έδωσαν τα καλύτερα αποτελέσματα. Η κλινική αξιολόγηση επιβεβαιώθηκε και από τις μετρήσεις της άδηλης απώλειας νερού και της ερυθρότητας. Εκκρεμούν οι μετρήσεις του οξειδωτικού στρες και οι ιστοπαθολογικές εξετάσεις οι οποίες σύντομα ευελπιστείται να διενεργηθούν-ολοκληρωθούν.

Οι υφιστάμενες παρατηρήσεις καταλήγουν στο συμπέρασμα ότι η ταχύτερη σημαντικότερη επούλωση ελήφθη από το ελαϊκό εκχύλισμα του θαλάσσιου οργανισμού και από το μίγμα ελαιολάδου-προπυλενογλυκόλης-κρασιού.

Βιβλιογραφία

Reddy et al. Treatment of pressure ulcers: a systematic review. JAMA. 2008 Dec 10;300(22):2647- 62.

Saha et al. Pressure ulcer treatment strategies: comparative effectiveness. Rockville (MD): Agency for Healthcare Research and Quality; 2013 May. (Comparative Effectiveness Review; No.90).

Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health, Dressing Materials for the Treatment of Pressure Ulcers in Patients in Long-Term Care Facilities: A Review of the Comparative Clinical Effectiveness and Guidelines, 2013 November

ΠΡΩΤΟΓΕΝΗΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΙΝΟΒΛΑΣΤΩΝ ΩΣ ΜΟΝΤΕΛΑ ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΚΩΝ ΜΕΛΕΤΩΝ

Δεμερτζής Νικόλαος^{1*}, Φωτοπούλου-Σταματέλου Αικατερίνη¹, Γκίνης Σπυρίδων¹,
Μαραλόγιου- Γραμματικάκη Στεφανία¹, Αντύπας Σπυρίδων², Ράλλης Μιχαήλ¹

1: Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

2: Χειρουργική Κλινική, Νοσοκομείο Παίδων Αγία Σοφία, Αθήνα

Εισαγωγή

Οι ινοβλάστες συναντώνται ως βασικά κύτταρα σε αρκετούς ιστούς του οργανισμού, όπως το χόριο και το καρδιαγγειακό σύστημα. Παράγουν σημαντικά εξωκυττάρια συστατικά, με χαρακτηριστικά παραδείγματα το κολλαγόνο και τις γλυκοζαμινογλυκάνες. Επίσης, ο ρόλος τους στην επούλωση των πληγών είναι σημαντικός (Singh et al. 2014). Οι πρωτογενείς καλλιέργειες ινοβλαστών σε σχέση με τις αντίστοιχες κυτταρικές σειρές, εμφανίζουν σημαντικά πλεονεκτήματα, απεικονίζοντας καλύτερα την *in vivo* κατάσταση. Ακόμα, οι συγκεκριμένες καλλιέργειες συνιστούν ένα ιδιαίτερα αξιόπιστο μοντέλο μελέτης των φυσιολογικών και παθολογικών καταστάσεων του οργανισμού και της αξιολογήσεως της φαρμακολογικής δράσης και τοξικότητας διαφόρων ουσιών.

Υλικά-Μέθοδοι

A. Μύες

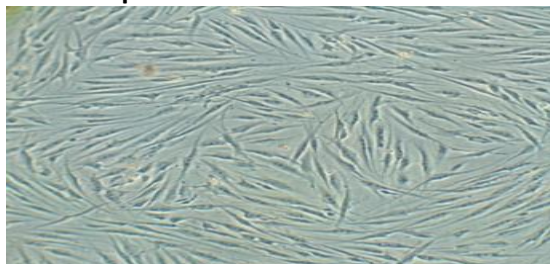
Για την δημιουργία πρωτογενούς καλλιέργειας ινοβλαστών, αφαιρείται το δέρμα από νεογνά άτριχων μυών τύπου SKH-1 ή SKH-2, τα οποία και θανατώνονται με τρόπο ο οποίος είναι αποδεκτός από την νομοθεσία. Στην συνέχεια το δέρμα τοποθετείται σε διάλυμα PBS το οποίο περιέχει Διασπάση (Dispase) 0,07 U/mL και Κολλαγενάση (Collagenase) 0,3 U/mL. Η επώαση δεν διαρκεί παραπάνω από 1,5 ώρα, λόγω κινδύνου καταστροφής των κυττάρων που απελευθερώνονται στο διάλυμα. Μετά το πέρας της επώασης αφαιρούμε τα υπολείμματα του ιστού με ηθμό και φυγοκεντρούμε στα 1000 rpm για δέκα λεπτά, με στόχο να σταματήσει η δράση των πρωτεολυτικών ενζύμων και διαλύουμε το ίζημα σε PBS. Επαναλαμβάνουμε την φυγοκέντρωση και διαλύουμε το ίζημα στο θρεπτικό μέσο.

B. Ανθρώπινοι ινοβλάστες

Η πρωτογενής καλλιέργεια ινοβλαστών προέρχεται από ιστό φιμώσεων ανήλικων αγοριών, όπου ελήφθη με τη σύμφωνη γνώμη των εθελοντών και της επιτροπής του Νοσοκομείου Παίδων Αγία Σοφία. Αρχικά, απομακρύνθηκε ο λιπώδης ιστός και έγινε διαχωρισμός επιδερμίδας-χορίου με παραμονή 21 ώρες σε διάλυμα Διασπάσης 1U/mL στους 4°C. Στην συνέχεια γίνεται ο διαχωρισμός χορίου επιδερμίδας, με το χόριο να τοποθετείται σε διάλυμα Κολλαγενάσης 70 U/mL επί 48 ώρες. Στο τελικό στάδιο έγινε φυγοκέντρωση σε 1000rpm επί 10 λεπτά και τα κύτταρα συλλέχθηκαν σε φλάσκα με θρεπτικό μέσο.

Για την ανάπτυξη των κυττάρων, χρησιμοποιείται θρεπτικό μέσο, το οποίο περιέχει 10% FBS, DMEM, 1% L-Glutamine και 1% Antibiotic-Antimycotic, ενώ για την ανακαλλιέργεια των κυττάρων εφαρμόζουμε διάλυμα αραιωμένου 1:4 διαλύματος 25% Τρυψίνης-EDTA:PBS.

Αποτελέσματα



Καλλιέργεια Ινοβλαστών

Συζήτηση

Τα κύτταρα που συλλέγονται με τους ανωτέρω τρόπους διαχωρισμού, εμφανίζουν στην αρχή έντονο ρυθμό πολλαπλασιασμού. Κάθε πέρασμα αντιστοιχεί σε χρονικό διάστημα περίπου 3-4 ημερών. Όμως, για να αποφευχθούν τα φαινόμενα εκφυλισμού των κυττάρων, προτιμάται τα πειράματα να γίνονται με καλλιέργειες που βρίσκονται στα πρώτα περάσματα.

Βιβλιογραφία

Singh et al. Effect of Extracts of Terminalia chebula on Proliferation of Keratinocytes and Fibroblasts Cells: An Alternative Approach for Wound Healing, Evid Based Complement Alternat Med. 2014; 2014: 701656.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΦΥΤΙΚΩΝ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΩΝ ΑΠΟ ΤΑ ΓΕΝΗ *SALVIA*, *SIDERITIS* ΚΑΙ *MENTHA* ΣΤΗΝ ΑΥΞΗΣΗ ΚΑΡΚΙΝΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΗΠΑΤΟΣ (HepG2) ΚΑΙ ΤΡΑΧΗΛΟΥ ΤΗΣ ΜΗΤΡΑΣ (HeLa)

Δέσποινα-Αικατερίνη Καραγκίνη¹, Κωνσταντίνα Κρεατσούλη¹, Δημήτριος Στάγκος¹, Αντώνιος Ματάκος¹, Νεκτάριος Αληγιάννης², Λέανδρος Σκαλτσούνης², Δημήτριος Κουρέτας¹

¹Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Πλούτονος 26 & Αιόλου, Λάρισα 41221

²Τομέας Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων, Φαρμακευτική Σχολή, Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη Ζωγράφου, Αθήνα 15771

Ο καρκίνος αποτελεί τη δεύτερη πιο συχνή αιτία θανάτου. Η εκδήλωση του καρκίνου οφείλεται ως επί το πλείστον σε περιβαλλοντικούς παράγοντες, ενώ σε κάποιο ποσοστό υπάρχει και γενετική βάση της νόσου, με την έννοια της προδιάθεσης ορισμένων ατόμων για συγκεκριμένες μορφές καρκίνου.

Καθώς το πρόβλημα του καρκίνου λαμβάνει ολοένα και μεγαλύτερη έκταση, ενώ ταυτόχρονα οι συμβατικές χημειοθεραπευτικές μέθοδοι εμφανίζονται πολλές φορές αναποτελεσματικές, τα τελευταία χρόνια έχουν αναπτυχθεί νέες θεραπευτικές προσεγγίσεις. Μία σημαντική στρατηγική στην καταπολέμηση του καρκίνου αποτελεί και η χημειοπροστασία, που σημαίνει την πρόληψη της εμφάνισης του καρκίνου μέσω της χορήγησης βιοδραστικών μη θρεπτικών συστατικών των φυτικών τροφών (τα οποία ονομάζονται φυτοχημικά συστατικά) είτε ως μέρος της διαίτας είτε ακόμα με τη μορφή συμπληρωμάτων διατροφής. Χαρακτηριστική είναι η προσπάθεια ανάπτυξη χημειοπροφυλακτικών παραγόντων, από τις φυτικές πολυφαινόλες.

Στην παρούσα εργασία εξετάστηκε η επίδραση 17 πολυφαινολικών εκχυλισμάτων, από ενδημικά ελληνικά είδη, και συγκεκριμένα από τα γένη *Salvia* (φασκόμηλο), *Sideritis* (τσάι του βουνού) και *Mentha* (μέντα), στην αύξηση καρκινικών κυττάρων ήπατος (HepG2) και τραχήλου της μήτρας (HeLa) τα οποία έχουν σημαντική βιοδραστικότητα (1). Η εκτίμηση της δράσης τους έγινε με τη μέθοδο του ΧΤΤ.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ανασταλτική δράση όλων των εκχυλισμάτων στην κυτταρική αύξηση και των δύο καρκινικών σειρών με τιμές IC₅₀ που κυμαίνονται στα HepG2 από 240 έως 1045 μg/mL και από 110 έως 1075 μg/mL στα HeLa. Ισχυρότερη δράση στα HepG2 παρουσίασαν τα μεθανολικά εκχυλίσματα από *Salvia officinalis*, *Salvia pomifera calycina* και *Salvia pomifera pomifera* με τιμές IC₅₀ 240, 325 και 396 μg/mL, ενώ στα HeLa τα υδατικά εκχυλίσματα από *Salvia argentea*, *Salvia pomifera calveina* και *Mentha longifolia* με IC₅₀ 110, 260 και 287 μg/mL αντίστοιχα. Κατά συνέπεια, τα παραπάνω εκχυλίσματα υποδηλώνουν μια πιθανή χημειοπροφυλακτική δράση έναντι των εξεταζόμενων τύπων καρκίνου και θα πρέπει να γίνουν επιπλέον μελέτες για τους μοριακούς μηχανισμούς δράσης.

Βιβλιογραφία

1) Stagos D, Portesis N, Spanou C, Mossialos D, Aligiannis N, Chaita E, Panagoulis C, Reri E, Skaltsounis L, Tsatsakis AM, Kouretas D. Correlation of total polyphenolic content with

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΑΙΓΟΠΡΟΒΕΙΑΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ ΟΡΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΕ ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ EA.hy926

Ε. Κερασιώτη, Β. Γεωργατζή, Α. Τζίμη, Α. Μπέσιος, Δ. Στάγκος, Δ. Κουρέτας

Τμήμα Βιοχημείας-Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Λάρισα 41221

Εισαγωγή

Η ενδοθηλιακή κυτταρική δομή και η λειτουργική ακεραιότητα είναι σημαντικές στη διατήρηση του αγγειακού τοιχώματος και της κυκλοφοριακής λειτουργίας. Εκτός από το ρόλο τους ως ένας επιλεκτικός φραγμός διαπερατότητας, τα ενδοθηλιακά κύτταρα είναι ικανά να επιτελούν μια ποικιλία μεταβολικών και συνθετικών λειτουργιών. Η κυτταρική βλάβη του ενδοθηλίου είναι ένα χαρακτηριστικό γνώρισμα πολλών παθολογικών καταστάσεων όπως της αθηροσκλήρωσης, της απώλειας της μεμβρανικής λειτουργίας και της θρόμβωσης (1). Η υπερβολική παραγωγή ελευθέρων ριζών (ROS) μπορεί να συμβάλλει σε αγγειακές ασθένειες με επαγωγή της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας. Μια από τις κύριες κυτταρικές αντιοξειδωτικές αποκρίσεις είναι η επαγωγή αντιοξειδωτικών ενζύμων μέσω του κυτταροπλασματικού συστήματος Nrf2-Kear1. Ο ορός γάλακτος, είναι το υγρό που απομένει κατά τη διάρκεια παρασκευής του τυριού μετά την αφαίρεση της καζεΐνης του γάλακτος. Είναι πλούσιος σε κυστεΐνη και μεθειονίνη, οι οποίες συμβάλλουν στην ενίσχυση της αντιοξειδωτικής άμυνας του οργανισμού μέσω ενδοκυτταρικής μετατροπής τους σε γλουταθειόνη (GSH) (2). Εξετάσαμε, λοιπόν, 1) την επίδραση της πρωτεΐνης σε δείκτες οξειδωτικού στρες και 2) την επίδραση της στον μεταγραφικό παράγοντα Nrf2 στα ενδοθηλιακά κύτταρα EA.hy926.

Μεθοδολογία

Προσδιορίστηκαν τα επίπεδα της (GSH) και των ROS με κυτταρομετρία ροής στην κυτταρική μυϊκή σειρά EA.hy926 υπό την επίδραση του οξειδωτικού παράγοντα t-BHP, καθώς και η επίδραση της πρωτεΐνης ορού γάλακτος στην πρωτεϊνική έκφραση του Nrf2 και των αντιοξειδωτικών ενζύμων καταλάση (CAT), υπεροξειδική δισμουτάση-1 (SOD-1), οξυγενάση της αίμης-1 (HO-1) και συνθετάση της γ-γλουταμυλ-κυστεΐνης (γ-GCS) με Western blot ανάλυση. Προσδιορίστηκε επίσης η ενζυμική δράση της CAT, της SOD και της τρανσφεράσης της γλουταθειόνης (GST).

Αποτελέσματα

Στα κύτταρα στα οποία προηγήθηκε η χορήγηση της αιγοπρόβειας πρωτεΐνης ορού γάλακτος, τα επίπεδα της GSH αυξήθηκαν έως 141% και τα επίπεδα των ROS μειώθηκαν έως 58,5% σε σύγκριση με τα κύτταρα στα οποία χορηγήθηκε μόνο ο οξειδωτικός παράγοντας t-BHP.

Τα πρωτεϊνικά επίπεδα του Nrf2 αυξήθηκαν κατά 170% καθώς επίσης αυξήθηκαν τα πρωτεϊνικά επίπεδα της CAT, της SOD-1, της HO-1 έως 21%, 57,5%, 23% και 24%, αντίστοιχα σε σχέση με το control. Τα πρωτεϊνικά επίπεδα της GCS δεν επηρεάστηκαν. Τα επίπεδα ενζυμικής δράσης της CAT, της SOD και της GST αυξήθηκαν έως 84%, 37,5% και 33,5% αντίστοιχα, σε σχέση με το control.

Συμπεράσματα

Η πρωτεΐνη ορού τυρογάλακτος ενισχύει την αντιοξειδωτική ικανότητα ενδοθηλιακών κυττάρων μέσω επαγωγής του μοριακού μονοπατιού Nrf2.

Βιβλιογραφία

1. Sumpio, B.E, Riley, J.T, Dardik, A. (2002). Cells in focus: endothelial cell. International journal of biochemistry and cell Biology, 34, 1508-1512.

2. Walzem, R.L., Dillard, C.J., German, J.B., 2002. Why components: millennia of evolution create functionalities for mammalian nutrition: what we know and what we may be overlooking. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 42, 353-375.



Η παρούσα έρευνα έχει συγχρηματοδοτηθεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο - ΕΚΤ) και από εθνικούς πόρους μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» του Εθνικού Στρατηγικού Πλαισίου Αναφοράς (ΕΣΠΑ) – Ερευνητικό Χρηματοδοτούμενο Έργο: Ηράκλειτος ΙΙ . Επένδυση στην κοινωνία της γνώσης μέσω του Ευρωπαϊκού Κοινωνικού Ταμείου.

Η θεραπευτική αντιμετώπιση της εξάρτησης από οπιοειδή με τη χρήση υποκαταστάτων στην Ελλάδα. Η μετάβαση από τη Μεθαδόνη στη Βουπρενορφίνη. Πλεονεκτήματα και προκλήσεις.

Μάντση Μαίρη

Ψυχίατρος-Υπεύθυνη της Ε' μονάδας του ΟΚΑΝΑ, ΓΝΘ «ΑΧΕΠΑ», Θεσσαλονίκη

Η θεραπεία με την χρήση υποκατάστατων απευθύνεται αποκλειστικά σε άτομα εξαρτημένα από οπιούχα (ηρωίνη, κωδεΐνη). Στην Ελλάδα, την αποκλειστικότητα στη θεραπεία αυτή την έχει ο ΟΚΑΝΑ μέσω των θεραπευτικών Μονάδων Φαρμακευτικής Αντιμετώπισης της Εξάρτησης.

Η δυνατότητα της χορήγησης υποκαταστάτων στην Ελλάδα, δόθηκε με τον νόμο 2161/93. Τα προγράμματα Υποκατάστατων του ΟΚΑΝΑ, άρχισαν να λειτουργούν πιλοτικά το 1996 με ουσία υποκατάστασης τη Μεθαδόνη. Από το Μάρτιο του 2001 προστέθηκε και η Βουπρενορφίνη ως μια εναλλακτική ουσία με σαφή πλεονεκτήματα έναντι της Μεθαδόνης. Η Βουπρενορφίνη είναι ημισυνθετικό παράγωγο της θηβαΐνης, ενός αλκαλοειδούς του οπίου. Είναι ένας μερικός αγωνιστής των μ υποδοχέων των οπιούχων και μερικός ανταγωνιστής των κ υποδοχέων, γεγονός που προσδίδει στο φάρμακο ασυνήθιστα φαρμακοκινητικά και φαρμακοδυναμικά χαρακτηριστικά που του δίνουν ξεχωριστές ιδιότητες και το καθιστούν κατάλληλο για χρήση σε περιπτώσεις εξάρτησης από οπιοειδή. Ως υποκατάστατο χρησιμοποιείται διεθνώς εδώ και πολλά χρόνια σε πολλές χώρες, όπως στη Γαλλία όπου 75.000 ασθενείς ακολουθούν θεραπεία υποκατάστασης με Βουπρενορφίνη.

Ο ΟΚΑΝΑ διαθέτει σήμερα 54 Θεραπευτικές Μονάδες Φαρμακευτικής Αντιμετώπισης της Εξάρτησης πανελλαδικά. Οι μονάδες διαθέτουν είτε Μεθαδόνη, είτε Βουπρενορφίνη, είτε και τα δύο υποκατάστατα, δίνοντας τη δυνατότητα στους ασθενείς να επιλέξουν το υποκατάστατο που θα λάβουν.

Λόγω των σαφών πλεονεκτημάτων της Βουπρενορφίνης έναντι της Μεθαδόνης, ο ΟΚΑΝΑ έχει επιλέξει τα τελευταία χρόνια το άνοιγμα μονάδων που χορηγούν μόνο Βουπρενορφίνη. Η χρήση της Βουπρενορφίνης στη θεραπεία της εξάρτησης από οπιοειδή έχει πολλά πλεονεκτήματα αλλά και προκλήσεις, όπως η διασπορά του φαρμάκου στη μαύρη αγορά και η χρήση της από τους εξαρτημένους, εκτός θεραπευτικού πλαισίου (ενέσιμη).

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΧΡΟΝΙΑΣ ΧΡΗΣΗΣ ΗΡΩΙΝΗΣ ΣΤΟΝ ΟΣΤΙΚΟ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟ

Στέργιος Μπαλοδήμος¹, Σαμουήλ Ντούγκου¹, Μιχαήλ Καραμούζης², Κάκια Νικολάου³, Λήδα Κοβάτση¹

¹Εργαστήριο Ιατροδικαστικής & Τοξικολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

²Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Τμήμα Ιατρικής, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

³Τμήμα Αποκατάστασης Εξαρτημένων ΙΑΝΟΣ, Ψυχιατρικό Νοσοκομείο Σταυρούπολης, Θεσσαλονίκη

Τα οπιοειδή μπορούν να επηρεάσουν τον οστικό μεταβολισμό με διάφορους τρόπους και συστηματικοί χρήστες οπιοειδών μπορεί να διατρέχουν υψηλότερο κίνδυνο εμφάνισης χαμηλής οστικής πυκνότητας.

Σκοπός της εργασίας ήταν η μελέτη της επίδρασης της χρόνιας χρήσης ηρωίνης στις βιοχημικές παραμέτρους του οστικού μεταβολισμού. Επιπροσθέτως, διερευνήθηκε εάν η προσβολή από τον ιό της ηπατίτιδας C επηρεάζει τις παραμέτρους αυτές.

Στη μελέτη συμμετείχαν εθελοντικά 58 χρήστες ηρωίνης και 24 υγιή άτομα, ηλικίας 20-50 ετών. Όλοι οι συμμετέχοντες ήταν ελεύθεροι παθήσεων που επηρεάζουν τον οστικό μεταβολισμό.

Για το σκοπό της μελέτης, προσδιορίστηκαν στον ορό του αίματος οι ακόλουθες παράμετροι: οστεοκαλσίνη, αμινοτελικό πεπτίδιο του προκολλαγόνου τύπου I (PINP), καρβοξυτελικό πεπτίδιο του κολλαγόνου τύπου I (β-CTX), ολικό ασβέστιο (Ca), ανόργανος φώσφορος (Pi), παραθορμόνη (PTH) και οστικό ισόένζυμο της αλκαλικής φωσφατάσης (ALP). Ο προσδιορισμός τους έγινε με φασματοφωτομετρία, ELISA και ηλεκτροχημειοφωταύγεια.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματά μας, παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ χρηστών ηρωίνης και υγιών εθελοντών στις τιμές της PTH ($11,01 \pm 5,76$ vs $21,15 \pm 10,19$ αντίστοιχα) και στις τιμές του PINP ($74,76 \pm 33,44$ vs $52,29 \pm 19,11$ αντίστοιχα). Στατιστικά σημαντικές διαφορές παρατηρήθηκαν επίσης στις τιμές του β-CTX ($0,44 \pm 0,17$ vs $0,34 \pm 11,00$ αντίστοιχα), και της ALP ($71,74 \pm 15,24$ vs $64,21 \pm 10,99$ αντίστοιχα).

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης δείχνουν ότι οι χρόνιοι χρήστες ηρωίνης εμφανίζουν υψηλότερες τιμές, σε σχέση με υγιή άτομα, σε εκείνους τους δείκτες που δηλώνουν αυξημένη οστεοκλαστική δραστηριότητα. Οι νεότερες παράμετροι του οστικού μεταβολισμού ενισχύουν την άποψη ότι οι χρήστες οπιοειδών εμφανίζουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης οστεοπόρωσης.

Ο ΝΕΟΣ ΝΟΜΟΣ ΠΕΡΙ ΝΑΡΚΩΤΙΚΩΝ-ΜΙΑ ΟΡΘΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΑΠΕΝΑΝΤΙ ΣΤΟ ΠΡΟΒΛΗΜΑ.

Κάκια Νικολάου

*Ψυχίατρος-Επιστημονικά Υπεύθυνη Τμήματος Αποκατάστασης Εξαρτημένων ΙΑΝΟΣ
Ψυχιατρικό Νοσοκομείο Σταυρούπολης, Θεσσαλονίκης*

Η ελληνική νομοθεσία περιορίστηκε κατά το δεύτερο μισό του 20^{ου} αιώνα σε μια πολιτική καταστολής της εξάπλωσης της χρήσης και εμπορίας ψυχοδραστικών ουσιών με την ποινικοποίηση της χρήσης/εξάρτησης, με αποτέλεσμα μεγάλο ποσοστό του πληθυσμού των ελληνικών φυλακών (30-40%) να αποτελείται από έγκλειστους για πράξεις σχετικές με ναρκωτικά. Ο Νόμος περί Ναρκωτικών 1729/1987 εισήγαγε τις πρώτες διαφοροποιήσεις μεταξύ ποινής/τιμωρίας και θεραπείας και ενέκρινε την ίδρυση του ΚΕΘΕΑ. Ακολούθησαν πολλαπλές τροποποιήσεις (1738/1987, 2161/1993, 3459/2006, 3811/2009), οι οποίες προσπάθησαν να διορθώσουν λανθασμένες πεποιθήσεις και διαστρεβλωμένες απόψεις στην νοοτροπία και στην στάση απέναντι στο πρόβλημα. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί ο 2161/1993, με τον οποίο εγκρίθηκε η ίδρυση του ΟΚΑΝΑ και η χορήγηση υποκαταστάτων. Οι αποσπασματικές, έστω, αυτές μεταρρυθμίσεις έχουν συμβάλει στη διόρθωση αρκετών αγκυλώσεων.

Ο τελευταίος νόμος 4139/2013 τοποθετείται πιο ορθολογικά απέναντι στο πρόβλημα, διαχωρίζει την ποινική μεταχείριση από την θεραπεία, αναγνωρίζοντας έτσι την υποκείμενη εξάρτηση και δίνοντας το δικαίωμα επιλογής σε αποδεδειγμένα εξαρτημένους. Θέτει πιο ήπιες ποινές σε εξαρτημένους, ιδιαίτερα σε ανήλικους, ενισχύει την θεραπεία εντός των

σωφρονιστικών καταστημάτων και θεσμοθετεί ακόμα και προγράμματα υποκατάστασης στις φυλακές. Ανώτατο όργανο αποφάσεων για τα ναρκωτικά είναι η Διυπουργική Επιτροπή για το Εθνικό Σχέδιο Δράσης κατά των Ναρκωτικών στην οποία προεδρεύει ο Πρωθυπουργός. Το Εθνικό Σχέδιο Δράσης εκπονείται από την Εθνική Επιτροπή Σχεδιασμού και Συντονισμού για την Αντιμετώπιση των Ναρκωτικών, στην οποία προεδρεύει ο Εθνικός Συντονιστής, ρόλος που θεσμοθετείται για πρώτη φορά.

Ανάπτυξη και επικύρωση μεθόδου για τον προσδιορισμό της δονεπεζίλης σε εγκεφαλονωτιαίο υγρό με την τεχνική UHPLC-DAD

Λήδα Κοβάτση¹, Μάγδα Τσολάκη², Ολυμπία Γκατζίμα², Μαρία Πετροχειλίου³, Βικτωρία Σαμανίδου*³

¹ Εργαστήριο Ιατροδικαστικής και Τοξικολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

² 3^η Νευρολογική Κλινική, Γ.Ν.Θ. «Γ. Παπανικολάου», Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

³ Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας, Τμήμα Χημείας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Η δονεπεζίλη χρησιμοποιείται φαρμακευτικά στην επιβράδυνση της εξέλιξης της νόσου Alzheimer. Δρα αναστέλλοντας την υδρόλυση της ακετυλοχολίνης (ACh, νευροδιαβιβαστής) από την ακετυλοχολινεστεράση (AChE), με αποτέλεσμα να διατηρούνται υψηλά τα επίπεδα του συγκεκριμένου νευροδιαβιβαστή.

Σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία, η δραστηριότητα της ακετυλοχολινεστεράσης στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό (ENY), η οποία εξαρτάται από τη συγκέντρωση του φαρμάκου σε αυτό, έχει σημαντική επίδραση στην κλινική εικόνα του ασθενούς. Κατά συνέπεια, η παρακολούθηση τόσο της ενεργότητας του ενζύμου, όσο και της συγκέντρωσης του φαρμάκου στο ENY έχει ιδιαίτερη κλινική σημασία σύμφωνα με τα νεότερα επιστημονικά δεδομένα.

Για το σκοπό αυτό, αναπτύχθηκε και επικυρώθηκε μία μέθοδος για τον προσδιορισμό της δονεπεζίλης σε ENY με την τεχνική της Υγρής Χρωματογραφίας Υπερ-Υψηλής Απόδοσης (UHPLC) με ανιχνευτή παράταξης φωτοδιόδων (DAD). Η μέθοδος επικυρώθηκε, με τη χρήση εσωτερικού προτύπου, σε εμβολιασμένα δείγματα ENY ως προς τη γραμμικότητα, την ακρίβεια, την πιστότητα και τη σταθερότητα. Η έκλυση της δονεπεζίλης στα 2,4 λεπτά επιτεύχθηκε ισοκρατικά σε στήλη Shim-Pack XR-ODS (3,0 mm I.D. × 75 mm) (Shimadzu), ενώ η ανίχνευση έγινε στα 232 nm.

Η μέθοδος εφαρμόστηκε σε δείγματα ENY που ελήφθησαν από ασθενείς με νόσο Alzheimer που λαμβάνουν δονεπεζίλη, και οι συγκεντρώσεις του φαρμάκου θα συσχετιστούν με την ενεργότητα της ακετυλοχολινεστεράσης και την κλινική εικόνα των ασθενών.

ΠΡΩΤΟΓΕΝΗΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΑΝΘΡΩΠΙΝΩΝ ΚΕΡΑΤΙΝΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΚΑΙ ΜΕΛΑΝΙΝΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΑΠΟ ΦΙΜΩΣΕΙΣ ΑΝΗΛΙΚΩΝ ΑΓΟΡΙΩΝ ΩΣ ΜΟΝΤΕΛΑ ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΚΩΝ ΜΕΛΕΤΩΝ

Φωτοπούλου-Σταματέλου Κατερίνα*¹, Δεμερτζής Νίκος¹, Γκίνης Σπύρος¹, Αντύπας Σπυρίδων², Ράλλης Μιχαήλ¹

1. Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα
2. Α' Χειρουργική Κλινική, Νοσοκομείο Παίδων Αγία Σοφία, Αθήνα

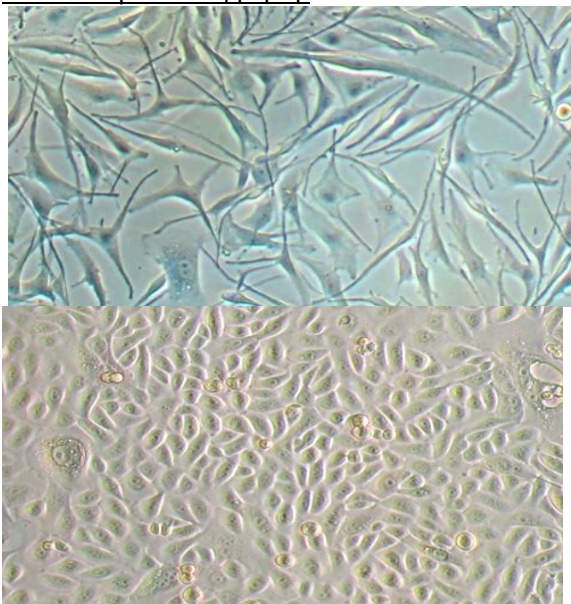
Σκοπός: Οι καλλιέργειες κερατινοκυττάρων και μελανοκυττάρων αποτελούν ένα ιδιαίτερα αξιόπιστο μοντέλο μελέτης των φυσιολογικών και παθολογικών καταστάσεων του δέρματος και της αξιολογήσεως της φαρμακολογικής δράσης και τοξικότητας διαφόρων ουσιών.

Υλικά και Μέθοδοι: Χρησιμοποιήθηκε ιστός από φιδώσεις ανήλικων αγοριών, όπου ελήφθη με τη σύμφωνη γνώμη των εθελοντών και της επιτροπής του Νοσοκομείου Παίδων Αγία Σοφία. Αρχικά, απομακρύνθηκε ο λιπώδης ιστός και έγινε διαχωρισμός επιδερμίδας-χορίου με παραμονή 21 ώρες σε διάλυμα Διασπάσης 1U/mL στους 4°C.

Κατόπιν η επιδερμίδα τοποθετήθηκε σε αραιωμένο 1:4 διάλυμα 25% Τρυψίνης-EDTA:PBS για διαδοχικές επτάλεπτες αναδεύσεις, μέχρι να παρατηρηθεί λύση του ιστού. Ακολούθησε εξουδετέρωση του ενζύμου με διάλυμα Αναστολέα Τρυψίνης 0,5μg/mL και έγιναν δύο φυγοκεντρήσεις, σε 1000rpm επί 10 και 3 λεπτά αντίστοιχα. Τα κύτταρα συλλέχθηκαν σε φλάσκα με θρεπτικό μέσο Keratinocyte SFM. Μετά από 10 ημέρες, προστέθηκαν 4mL αραιωμένου 1:4 διαλύματος 25% Τρυψίνης-EDTA:PBS και μετά από 7λεπτά 5mL FBS. Έγινε φυγοκέντρηση σε 1000 rpm επί 10λεπτά και συλλογή των κυττάρων σε νέες φλάσκες με Keratinocyte SFM. Στην αρχική φλάσκα παρέμειναν τα κερατινοκύτταρα, ενώ στις νέες καλλιεργήθηκαν τα μελανοκύτταρα.

Η πρώτη αλλαγή θρεπτικού μέσου για κάθε καλλιέργεια γινόταν σε 48 ώρες και οι επόμενες ανά 2-3 ημέρες.

Αποτελέσματα-Συζήτηση:



Από αριστερά προς τα δεξιά: Καλλιέργεια Μελανοκυττάρων, Καλλιέργεια Κερατινοκυττάρων

Συμπεράσματα: Τα κύτταρα που λήφθηκαν με τη συγκεκριμένη τεχνική είχαν έντονο ρυθμό πολλαπλασιασμού και επίσης ήταν πολύ καλής ποιότητας. Ακόμα, επιτεύχθηκε διαχωρισμός μελανοκυττάρων-κερατινοκυττάρων με τη χρήση αραιωμένου 1:4 διαλύματος 25% Τρυψίνης-EDTA:PBS, ενώ τα μελανοκύτταρα κατέστη δυνατόν να καλλιεργηθούν και αυτά στο μέσο Keratinocyte SFM, το οποίο χρησιμοποιείται στην βιβλιογραφία ως ειδικό για τα κερατινοκύτταρα.

Νεότερες μέθοδοι στην εκτίμηση του χρόνου θανάτου

Τσαλικίδης Χ¹, Ζησόπουλος Κ², Μπερετούλη Ε³

¹Εργαστήριο Ιατροδικαστικής και Τοξικολογίας, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Ιωαννίνων

²Εργαστήριο Ιατροδικαστικής και Τοξικολογίας, Ιατρική Σχολή Α.Π.Θ

³Εργαστήριο Γενικής Παθολογίας και Παθολογικής Ανατομικής, Ιατρική Σχολή Α.Π.Θ

Ο προσδιορισμός του χρόνου θανάτου είναι από τις μεγαλύτερες προκλήσεις στις ιατροδικαστικές επιστήμες. Η μεθοδολογία που ακολουθήθηκε μέχρι σήμερα βασιζόταν κυρίως στη μελέτη των φυσικών διεργασιών των πτωματικών φαινομένων της θερμοκρασιακής εξίσωσης με το περιβάλλον, των σταδίων της ακαμψίας των μυών και της εγκατάστασης των υποστάσεων του αίματος στο δέρμα σε συνάρτηση με παράγοντες που τα επηρέαζαν όπως οι θερμοκρασιακές αλλαγές κ.ά. Τα συμπεράσματα οδηγούσαν πολλές φορές σε ανακριβή αποτελέσματα και μόνο εκτίμηση μεγάλου χρονικού εύρους μπορούσαν να δώσουν η οποία αυξάνεται δραματικά όσο απομακρυνόμαστε χρονικά από το τελικό γεγονός. Μάλιστα ορισμένοι ερευνητές την έχουν εγκαταλείψει.

Η ανάγκη ακριβέστερου προσδιορισμού του χρόνου θανάτου οδήγησε τους ερευνητές σε αναζήτηση νέων μεθόδων. Οι κυριότερες εστιάζονται στη μελέτη:

- Των βιοχημικών μεταβολών των κυττάρων όπως τις αλλαγές στα ενεργειακά αποθέματα τους
- Των αλλοιώσεων του γενετικού κώδικα
- Της αποδόμησης συγκεκριμένων ιστών με την βοήθεια της σύγχρονης απεικονιστικής τεχνολογίας και της φασματοσκοπίας
- Των ιστολογικών μεταβολών με ειδικές χρώσεις
- Των μεταβολών του κερατοειδούς με την βοήθεια των υπερήχων
- Των χημικών ενώσεων του υδατοειδούς υγρού
- Της σύσπασης των μυών μετά από διέγερση τους

Οι παραπάνω μελέτες διενεργούνται κυρίως σε ελεγχόμενο περιβάλλον και αυτό διότι οι μεταβλητές που επηρέαζαν τις παλαιές μεθόδους έχουν εφαρμογή και στις σύγχρονες, π.χ. η θερμοκρασία. Τα αποτελέσματα είναι ενθαρρυντικά και δημιουργούν ένα νέο πεδίο ερευνών που μπορεί να δώσει ακριβέστερα στοιχεία στο δυσεπίλυτο, όπως φαινόταν μέχρι σήμερα, πρόβλημα του προσδιορισμού του χρόνου θανάτου.