

NUKLEARNA MEDICINA, ZDRAVSTVENI CENTAR ZAJEČAR

PROCENA AUTOIMUNE STIMULACIJE ŠTITASTA ŽLEZDE MERENJEM NASTANKA cAMP U SUSPENZIJI TIREOCITA

Paunković J., Paunković N., Nikolić K.

SAŽETAK

Prikazana je metoda za merenje stimulacije nastanka cAMP u suspenziji svinjskih tireocita i rezultati dobijeni tom metodom u različitim grupama pacijenata. Metoda predstavlja vlastitu modifikaciju referentnih metoda i ima značajne prednosti: dostupnost normalnog tkiva štitnjače u velikoj količini, jednostavniji način izvodjenja koji ne zahteva postojanje laboratorije za kulturu ćelija, kao i dobru preciznost i reproducibilnost rezultata (intra-assay varijacija 9,9% i inter-assay varijacija 17,6%). Metoda je testirana korišćenjem seruma pacijenata u različitim fazama Graves-ove bolesti i zdravih osoba (kontrolna grupa). Prvu grupu su činili serumi pacijenata sa nelečenom Graves-ovom bolešću. Od 14 ispitivanih seruma 13 je imalo pozitivan nalaz (93%) a korelacija sa radioreceptorskim testom bila je zadovoljavajuća ($r=0,57$; $p<0,05$). Posebno su testirani serumi bolesnika koji su posle kraćeg lečenja methimazolom ispoljili dugotrajnu hipotireozu uz pozitivne nalaze radioreceptorskog testa ali negativnu generaciju cAMP.

UVOD

1956 Adams i Purves zapažaju tireostimulantnu aktivnost različitu od TSH u serumu pacijenata sa Graves-ovom bolešću

1960 McKenzie i sar. razvijaju test na miševima – LATS

1980 testovi koji koriste jednoslojne kulture tireocita (FRTL, humane, svinjske)^{1,2}

1991 testovi na receptore za TSH³

1993 vlastita modifikacija sa suspenzijom tireocita svinja⁴

METODA

Svinjske štitnjače se ispiraju Dulbecovim puferom, fino iseckaju na ledu i prebace u Hanks pufer sa kolagenazom (1 mg/ml). Inkubira se na 37°C u toku 30 min i filtrira se. Ponoviti tri puta.

Centrifugovanje 10 min na 200 x g. Resuspenzija u Hanks puferu.

0,5 ml seruma sa 1,5 ml PEG se centrifugira 20 min na 2800 x g i resuspenduje u 0,6 ml inkubacionog pufera.

Preinkubacija od 30 min do 2h.

0,5 ml ćelijske suspenzije i 0,5 ml IgG se inkubira 2h na 37°C, centrifugira se i 0,2 ml supernatanta se prenosi u 0,5 ml hladne destilisane vode.

U ovako diluiranom supernatantu se određuje koncentracija cAMP konvencionalnom RIA metodom (Amersham, CIS).

V kongres endokrinologa Jugoslavije, Beograd, 1993.

REZULTATI

Fig. 1 % cAMP generation by stimulation

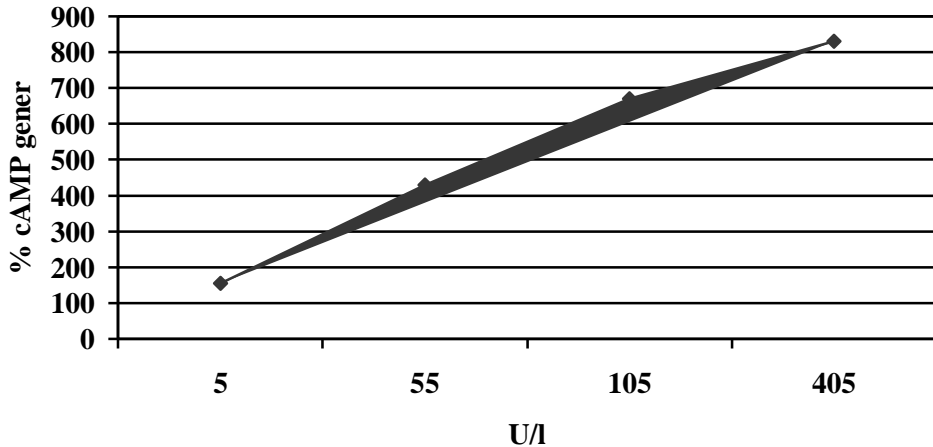
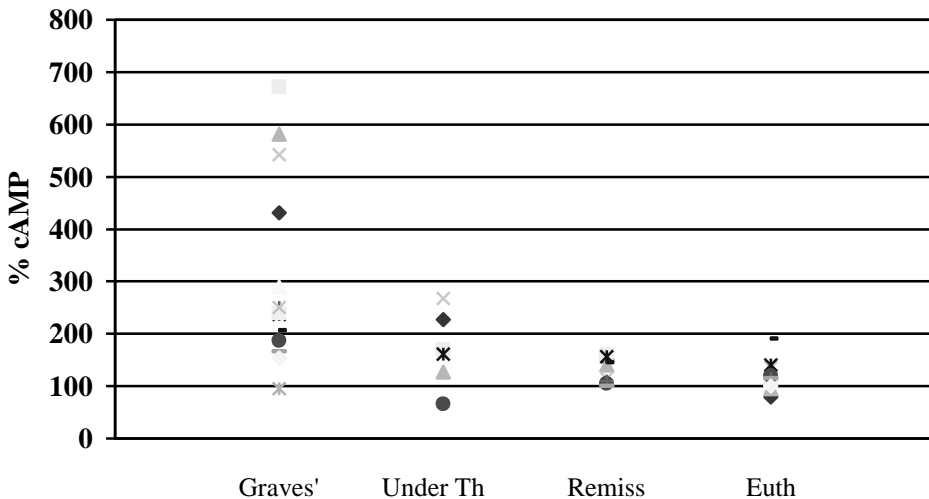


Fig. 2 cAMP in patients with Graves' disease



ZAKLJUČAK

Metoda koju smo razvili omogućuje korišćenje velikih količina tireoidnog tkiva bez predhodne alteracije oboljenjem ili terapijom

Ne zahteva postojanje laboratorije za kulturu tkiva

Daje precizne i reproducibilne rezultate: intra-assay varijacija 9,9%; inter-assay varijacija 17,6%

Dala je pozitivne nalaze u 13 od 14 (93%) nelečenih pacijenata od Graves-ove bolesti

V kongres endokrinologa Jugoslavije, Beograd, 1993.

LITERATURA

- 1 Ambesi-Impimbato et al. Proc Natl Acad Sci USA 1980, 77:3455.
- 2 Kasagi K., Konishi J., Iida Y. et al.: J Clin Endocrinol Metab 1982, 54:108
- 3 Filleti S., Foti D., Constance et al. J Clin Endocrinol Metab 1991, 72:1096
- 4 Paunkovic J.: Doktorska disertacija, Beograd, 1993.

V kongres endokrinologa Jugoslavije, Beograd, 1993.