

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ
« Κυτταρική και γενετική αιτιολογία, διαγνωστική και
θεραπευτική των ασθενειών του ανθρώπου »**

**ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ
μεταπτυχιακού τίτλου ειδίκευσης:**

**«Μελέτη του κερκάδιου ρυθμού έκκρισης κορτιζόλης σε ασθενείς
με μείζονα μεσογειακή αναιμία και σύγκριση με ομάδα υγιών
ατόμων. Διερεύνηση της επίπτωσης σωματικού και ψυχικού
stress στον ως άνω ρυθμό».**

Κώστας Ανυφαντάκης

Επιβλέποντες

Γεώργιος Χρούσος: Καθηγητής και Διευθυντής Α΄ Παιδιατρικής
Κλινικής Πανεπιστημίου Αθηνών, Νοσοκομείο παιδων 'Η Αγία Σοφία'

Ανδρέας Μαργιωρής: Καθηγητής Εργαστηριακής Ιατρικής Ιατρικού
Τμήματος Πανεπιστημίου Κρήτης

ΗΡΑΚΛΕΙΟ

2006

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	Σελ 4
ΣΥΜΜΕΤΕΧΟΝΤΕΣ.....	Σελ 6
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	Σελ. 7
ΓΕΝΙΚΑ ΓΙΑ ΤΗ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ.....	Σελ. 8
ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΒΑΣΗ - ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ	Σελ. 8
A) Τύποι αιμοσφαιρίνης:.....	Σελ. 9
B) Φαινοτυπική ετερογένεια:.....	Σελ. 9
ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΗΣ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗΣ ΑΝΑΙΜΙΑΣ	
A) Η θεραπεία με μεταγγίσεις αίματος στη μείζονα β-μεσογειακή αναιμία.....	Σελ. 10
B) Η σπληνεκτομή στη μείζονα β - μεσογειακή αναιμία:.....	Σελ. 10
<u>ΑΙΜΟΧΡΩΜΑΤΩΣΗ:</u>	
A) Επιπλοκές της υπερφόρτωσης με σίδηρο:.....	Σελ. 11
B) Εκτίμηση του βαθμού υπερφόρτωσης με σίδηρο:.....	Σελ. 11
Γ) Εκτίμηση των καρδιακών επιπλοκών της μείζονος θαλασσαιμίας: Σελ.....	...12
ΕΝΔΟΚΡΙΝΙΚΕΣ ΕΠΙΠΛΟΚΕΣ ΤΗΣ ΜΕΙΖΟΝΟΣ β- ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗΣ ΑΝΑΙΜΙΑΣ:	
A) Καθυστερημένη ανάπτυξη:.....	Σελ. 12
B) Καθυστερημένη είσοδος στην εφηβεία και υπογοναδισμός:Σελ.	13
Γ) Υποθυρεοειδισμός.....	Σελ. 14

Δ) Διαταραχή του μεταβολισμού των υδατανθράκων:.....	Σελ. 14
Ε) Υποπαραθυρεοειδισμός.....	Σελ. 15
ΣΤ) Οστεοπόρωση:.....	Σελ. 15
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	Σελ. 16
ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	Σελ.17
<u>ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ</u>	Σελ.18
ΑΣΘΕΝΕΙΣ.....	Σελ.18
ΜΕΘΟΔΟΙ.....	Σελ.19
ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ.....	Σελ. 19
<u>ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ</u>	Σελ.20
ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΚΑΙ ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ...	Σελ.21
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΨΥΧΟΜΕΤΡΙΚΩΝ ΔΟΚΙΜΑΣΙΩΝ ΚΑΙ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΩΝ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ.....	Σελ.24
<u>ΣΥΖΗΤΗΣΗ</u>	Σελ.27
ΠΕΡΑΙΤΕΡΩ ΣΤΟΧΟΙ.....	Σελ.27
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	Σελ.28
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....	Σελ. 30

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Πρόκειται για μελέτη που εκπονήθηκε στα πλαίσια του μεταπτυχιακού προγράμματος «Κυτταρική και Γενετική αιτιολογία, διαγνωστική και θεραπευτική των ασθενειών του ανθρώπου», για την απόκτηση μεταπτυχιακού τίτλου ειδίκευσης.

Οι κλινικές δοκιμασίες διενεργήθηκαν στη Μονάδα Μεσογειακής Αναιμίας της Α΄ Πανεπιστημιακής Κλινικής του Νοσοκομείου Παίδων 'Η Αγία Σοφία'. Το εργαστηριακό μέρος πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο ενδοκρινολογίας του 'Χορέμειου Ερευνητικού Κέντρου'.

Ολοκληρώνοντας τη μελέτη αυτή, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους κ. Β. Ζαννή Καθηγητή Βιοχημείας και κ. Δ. Μπούμπα, Καθηγητή Παθολογίας για την οργάνωση ενός μεστού και ολοκληρωμένου μεταπτυχιακού προγράμματος. Τον κ. Χ. Σαββάκη Καθηγητή Βιολογίας και ιδιαίτερα τον κ. Α. Κιουπάκη για την καθοδήγηση κατά τα πρώτα μου πειράματα στο εργαστήριο. Τον κ. Γ. Χρούσο, Καθηγητή Παιδιατρικής του Πανεπιστημίου Αθηνών, για την συνεχή ενθάρρυνση και τα ερεθίσματα που μου έδωσε για να προχωρήσω, παρά τις αντιξοότητες, στην ολοκλήρωση της κλινικής αυτής μελέτης. Επίσης τον κ. Α. Μαργιωρή, Καθηγητή Εργαστηριακής Ιατρικής, που με βοήθησε να κατανοήσω τις βασικές αρχές λειτουργίας του συστήματος που μελετήσαμε.

Θα ήταν παράλειψη να μην αναφέρω τον διευθυντή της μονάδας μεσογειακής αναιμίας κ. Β. Λαδή που παρείχε τις κατάλληλες συνθήκες για να υπάρξει καλή συνεργασία με τους ασθενείς της μελέτης μας. Επίσης τον παιδοψυχίατρο κ. Κ. Κολαΐτη που βοήθησε στην εκτίμηση του ψυχικού stress των ασθενών. Τέλος τη συνάδερφο κ. Σ. Σακκά καθώς και τις κ. Μ. Δρακοπούλου και Α. Σερετάκη για τη βοήθεια τους στην επεξεργασία των δειγμάτων.

Η συμπαράσταση που είχα από τους συμφοιτητές μου ήταν σημαντική και τους ευχαριστώ γι' αυτό. Ελπίζω να είναι αυτό για όλους μας το πρώτο σκαλοπάτι λαμπρής ερευνητικής πορείας. Θα ήθελα ιδιαίτερα να ευχαριστήσω την γραμματέα του προγράμματος κ.

Μ. Αδαμάκη που μας βοήθησε πολύ να ξεπεράσουμε τις όποιες αντιξοότητες.

Πολλοί άνθρωποι με βοήθησαν με την ενεργό συμμετοχή τους σε αυτή την μελέτη. Ένα μεγάλο ευχαριστώ θα ήθελα να απευθύνω στους φίλους και τις φίλες που διέθεσαν το χρόνο τους για να απαρτίσουν την ομάδα ελέγχου. Ακόμα περισσότερο όμως θα ήθελα να ευχαριστήσω τους ασθενείς με μείζονα μεσογειακή αναιμία που συμμετείχαν εθελοντικά και που αποτελούν για εμένα πηγή έμπνευσης.

Μεταπτυχιακό πρόγραμμα σπουδών του Ιατρικού τμήματος του Πανεπιστημίου Κρήτης:

‘Κυτταρική και γενετική αιτιολογία, διαγνωστική και θεραπευτική των ασθενειών του ανθρώπου.’

Πτυχιακή εργασία του φοιτητή: Κωνσταντίνου Ανυφαντάκη

Τίτλος: Μελέτη του κερκάδιου ρυθμού έκκρισης κορτιζόλης σε ασθενείς με μείζονα μεσογειακή αναιμία και σύγκριση με ομάδα υγιών ατόμων. Διερεύνηση της επίπτωσης σωματικού και ψυχικού stress στον ως άνω ρυθμό.

Επιστημονικός υπεύθυνος: Γεώργιος Χρούσος:

Καθηγητής και Διευθυντής Α΄ Παιδιατρικής Κλινικής Πανεπιστημίου Αθηνών, Νοσοκομείο παιδών ‘Η Αγία Σοφία’

Κύριος ερευνητής: Κωνσταντίνος Ανυφαντάκης:

Ειδικευόμενος ιατρός στην ενδοκρινολογία. Μεταπτυχιακός φοιτητής του Πανεπιστημίου Κρήτης στο πρόγραμμα «κυτταρική και γενετική αιτιολογία, διαγνωστική και θεραπευτική των νοσημάτων του ανθρώπου»

Βασίλειος Λαδής:

Υπεύθυνος μονάδας μεσογειακής αναιμίας Α' Παιδιατρικής κλινικής νοσοκομείου Παίδων 'Η Αγία Σοφία'

Κωνσταντίνος Κολαΐτης:

Διδάκτωρ, Παιδοψυχίατρος, επιμελητής Β' ΕΣΥ παιδοψυχιατρικής κλινικής Ιατρικής σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών.

Σοφία Σακκά:

Ιατρός, επιστημονική συνεργάτης Α' Πανεπιστημιακής κλινικής νοσοκομείου παιδών 'Η Αγία Σοφία'

Ηράκλειο 2006

Περίληψη:

Στόχος: Οι ασθενείς με μείζονα μεσογειακή αναιμία παρουσιάζουν εναπόθεση σιδήρου στους περισσότερους σωματικούς ιστούς μεταξύ των οποίων και στους ενδοκρινείς αδένες. Συνεπεία τούτου παρουσιάζουν μείζονα ενδοκρινικά προβλήματα όπως υπογοναδισμό, κοντό ανάστημα, υποθυρεοειδισμό, καθώς και διαταραχή του οστικού μεταβολισμού, του μεταβολισμού ασβεστίου καθώς και του μεταβολισμού των υδατανθράκων^{(1), (2), (3), (4)}. Στόχος της μελέτης αυτής είναι να διερευνηθούν, στους ασθενείς αυτούς, πιθανές διαταραχές του κερκάδιου ρυθμού έκκρισης κορτιζόλης και να διαπιστωθεί η ικανότητα του άξονα υποθάλαμος - υπόφυση - επινεφρίδια να ανταποκρίνεται φυσιολογικά σε καταστάσεις σωματικού και ψυχικού stress.

Ασθενείς - Μέθοδος: Σε 25 ασθενείς με μείζονα μεσογειακή αναιμία (14 άνδρες και 11 γυναίκες) με μέση ηλικία 29.2 έτη ελήφθησαν δείγματα αίματος σε δύο χρόνους (8:00πμ και 17:00μμ), για μέτρηση κορτιζόλης, τόσο μία τυχαία ημέρα όσο και κατά την ημέρα της τακτικής τους μετάγγισης. Οι ασθενείς συμπλήρωσαν τις ίδιες ημέρες ερωτηματολόγια, για την εκτίμηση της γενικής ψυχοπαθολογίας τους, του άγχους και της κατάθλιψης (ψυχολογική και σωματική διάσταση). Σε 15 υγιή άτομα (ομάδα ελέγχου) με μέση ηλικία 31.2 έτη ελήφθησαν στους ίδιους χρόνους και υπό τις ίδιες συνθήκες δείγματα αίματος για μέτρηση κορτιζόλης. Ο προσδιορισμός της κορτιζόλης του ορού έγινε με τη μέθοδο της χημειοφωταύγειας.

Αποτελέσματα: Στους ασθενείς με μείζονα μεσογειακή αναιμία διαπιστώθηκε φυσιολογική τιμή πρωινής και βραδινής κορτιζόλης πλάσματος καθώς και φυσιολογικός ημερονύκτιος ρυθμός έκκρισης κορτιζόλης. Διαπιστώθηκε επαρκής ικανότητα των επινεφριδίων να εκκρίνουν επιπρόσθετη ποσότητα κορτιζόλης σε καταστάσεις σωματικού και ψυχικού stress.

Συμπέρασμα: Στην παρούσα μελέτη δε διαπιστώθηκαν διαταραχές του άξονα υποθάλαμος - υπόφυση - επινεφρίδια σε ασθενείς με μείζονα μεσογειακή αναιμία.

Οι θαλασσαιμίες – Γενικά:

Οι θαλασσαιμίες είναι ομάδα γενετικών διαταραχών στις οποίες η παραγωγή αιμοσφαιρίνης είναι μερικώς ή πλήρως κατεσταλμένη εξαιτίας ελαττωματικής σύνθεσης μίας ή περισσότερων αλυσίδων σφαιρίνης. Έχουν περιγραφεί διάφοροι τύποι μεσογειακής αναιμίας (θαλασσαιμίας) ανάλογα με την αλυσίδα που είναι ελαττωματική. Οι τύποι με σοβαρή κλινική σημασία είναι οι β-, δβ και α- θαλασσαιμίες. Εκτιμάται ότι υπάρχουν παγκοσμίως περί τους 100.000 ασθενείς με ομόζυγο β-μεσογειακή αναιμία. Αυτοί βρίσκονται στις μεσογειακές χώρες, στις οποίες αναγνωρίστηκαν πρώτα, στην Ασία και την άπω ανατολή. Εξαιτίας της μετανάστευσης των πληθυσμών δεν υπάρχει σήμερα καμιά περιοχή σε όλο τον κόσμο στον οποίο η θαλασσαιμία να μην έχει προσβάλλει κάποιο ποσοστό των κατοίκων.

Στις περιπτώσεις που δεν διαγιγνώσκεται ενωρίς και και δεν δίδεται θεραπεία οι περισσότεροι ασθενείς πεθαίνουν πριν την ηλικία των 5 ετών. Για την ελάττωση της νοσηρότητας και θνησιμότητας απαιτείται η ακριβής ανίχνευση καθώς και συμβουλευτική στις ομάδες κινδύνου, αλλά και η προγεννητική διάγνωση. Χρειάζεται όμως να γίνουν πολλά ακόμα μέχρι να επιτευχθεί ο τελικός στόχος της πλήρους εξάλειψης της μεσογειακής αναιμίας.

Γενετική βάση και παθοφυσιολογία:

Τύποι αιμοσφαιρίνης:

Η μεταφορά του οξυγόνου από τους πνεύμονες στους ιστούς γίνεται με ένα εξειδικευμένο μόριο την αιμοσφαιρίνη, που βρίσκεται στα ερυθρά αιμοσφαίρια. Κάθε ερυθρό αιμοσφαίριο περιέχει περίπου 300 εκατομμύρια μόρια αιμοσφαιρίνης.

Κάθε μόριο αιμοσφαιρίνης αποτελείται από δύο ζεύγη πανομοιότυπων υπομονάδων τις αλυσίδες σφαιρίνης. Οι αλυσίδες σφαιρίνης εμφανίζονται διαδοχικά κατά τη διάρκεια της οντογένεσης και με τη σύζευξη τους σχηματίζουν τους τέσσερις ακόλουθους τύπους αιμοσφαιρίνης: α) Τις εμβρυϊκές αιμοσφαιρίνες, που ανιχνεύονται από την 3^η έως τη 10^η εβδομάδα της κύησης και είναι τα τετραμερή ζ₂ε₂, α₂ε₂ και ζ₂γ₂, β) Την εμβρυϊκή αιμοσφαιρίνη (HbF) που αποτελεί τον κύριο μεταφορέα οξυγόνου κατά τη διάρκεια της κύησης και είναι το τετραμερές α₂γ₂, γ) Την αιμοσφαιρίνη του ενήλικα (HbA α₂β₂) που αντικαθιστά την HbF λίγο μετά τη γέννηση και δ) Ένα μικρό ποσοστό της αιμοσφαιρίνης του ενήλικα που ονομάζεται HbA₂ (α₂δ₂).

Κάτω από φυσιολογικές συνθήκες τα ερυθρά αιμοσφαίρια του ενήλικα περιέχουν κατά προσέγγιση 98% HbA, ίχνη HbF και 2% HbA₂.

B- θαλασσαιμία: Φαινοτυπική ετερογένεια:

Οι φορείς της β- μεσογειακής αναιμίας (ένα προσβεβλημένο αλληλίο) έχουν χαμηλούς δείκτες MCH και MCV. Τα ερυθροκύτταρα τους παρουσιάζουν ήπιες μορφολογικές αλλοιώσεις. Παρατηρείται ακόμα αυξημένο επίπεδο αιμοσφαιρίνης HbA₂. Περιστασιακά συνοδεύεται από χαμηλά φυσιολογικά είτε ελαφρά κατώτερα από τα φυσιολογικά επίπεδα αιμοσφαιρίνης.

Η κληρονομηση δύο ελαττωματικών β-γονιδίων (ομόζυγος β-μεσογειακή αναιμία) έχει ως συνέπεια ένα ευρύ φάσμα κλινικών καταστάσεων που εκτείνεται από την ανάγκη για μεταγγίσεις (μείζων μεσογειακή αναιμία) μέχρι την ήπια έως μέτρια αναιμία (ενδιάμεση μεσογειακή αναιμία). Οι διαφορετικές μεταλλάξεις προκαλούν τους διάφορους τύπους μεσογειακής αναιμίας που σημειώνονται με τα παρακάτω συμβόλα. Το B⁰ αναφέρεται στην πλήρη ανυπαρξία παραγωγής β-σφαιρίνης από το προσβεβλημένο αλληλίο, το β⁺ αναφέρεται σε αλληλίο με κάποια υπολειπόμενη παραγωγή β-σφαιρίνης (περίπου 10%) και το β⁺⁺ αναφέρεται στην πολύ ήπια ελάττωση της παραγωγής β-σφαιρίνης. Μέχρι σήμερα έχουν αναφερθεί περισσότερες από 200 μεταλλάξεις σε θαλασσαιμικούς ασθενείς.

Η θεραπεία με μεταγγίσεις αίματος στη μείζονα β-μεσογειακή αναιμία.

Η θεραπεία στη μείζονα β-μεσογειακή αναιμία περιλαμβάνει τακτικές μεταγγίσεις αίματος. Οι ασθενείς μεταγγίζονται συνήθως κάθε 2 έως 5 εβδομάδες, ώστε να διατηρηθούν επίπεδα προ της επόμενης μετάγγισης μεταξύ 9 και 10.5g/dl. Αυτός ο τρόπος μεταγγίσεων οδηγεί σε φυσιολογική ανάπτυξη, επιτρέπει τις φυσιολογικές δραστηριότητες, καταστέλλει επαρκώς τη δραστηριότητα του μυελού των οστών και ελαχιστοποιεί τη συσσώρευση σιδήρου με τις μεταγγίσεις. Η απόφαση για την έναρξη θεραπείας με μεταγγίσεις αίματος θα πρέπει να βασιστεί στην οριστική διάγνωση μείζονος μεσογειακής αναιμίας. Η ποσότητα του μεταγγιζόμενου αίματος είναι συνήθως 10-15ml/Kg χορηγείται δε σε

διάστημα 3-4 ωρών. Το επίπεδο αιμοσφαιρίνης μετά τη μετάγγιση δε θα πρέπει να υπερβαίνει τα 15g/dl.

Η σπληνεκτομή στη μείζονα μεσογειακή αναιμία:

Πολλοί ασθενείς με μείζονα μεσογειακή αναιμία χρειάζεται να υποβληθούν σε σπληνεκτομή. Η σπληνεκτομή πρέπει να γίνει όταν α) Η ετήσια απαίτηση του ασθενούς σε αίμα είναι κατά 1,5 φορές μεγαλύτερη από ότι στους σπληνεκτομηθέντες, β) Η διόγκωση του σπλήνα συνοδεύεται από σχετική συμπτωματολογία γ) Όταν φοβόμαστε ότι λόγω της σπληνομεγαλίας μπορεί να προκληθεί ρήξη του σπληνός, γ) Όταν η λευκοπενία είτε η θρομβοκυτταροπενία, εξαιτίας του υπερσπληνισμού, προκαλεί κλινικά προβλήματα όπως επανειλημμένες βακτηριακές λοιμώξεις είτε αιμορραγία.

Αιμοσιδήρωση:

Η συσσώρευση σιδήρου στον οργανισμό συμβαίνει όταν η πρόσληψη του αυξάνεται επί μακρύ χρονικό διάστημα, είτε λόγω της μετάγγισης ερυθρών αιμοσφαιρίων, ή λόγω της αυξημένης απορρόφησης σιδήρου από τον γαστρεντερικό σωλήνα. Και οι δύο ως άνω καταστάσεις συμβαίνουν στη β-μεσογειακή αναιμία. Συγκεκριμένα οι μεταγγίσεις είναι το μεγαλύτερο πρόβλημα στη μείζονα και η αυξημένη απορρόφηση σιδήρου είναι το κυριότερο πρόβλημα στην ενδιάμεση μεσογειακή αναιμία. Επειδή δεν υπάρχει μηχανισμός απέκκρισης της περίσσειας του σιδήρου από τον οργανισμό θα πρέπει να ακολουθηθεί ειδική θεραπεία αποσιδήρωσης με χρήση χυλικών παραγόντων όπως είναι η δεσφεριοξαμίνη και η διφεριπρόνη.

Τοξικότητα λόγω της συσσώρευσης σιδήρου:

Ο σίδηρος είναι πολύ δραστικό μόριο καθώς μετατρέπεται εύκολα από τη τρισθενή στην δισθενή μορφή. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την πρόσληψη είτε την απώλεια ηλεκτρονίων και το σχηματισμό επιβλαβών ελεύθερων ριζών. Αυτές μπορούν να προκαλέσουν βλάβες σε διάφορους σχηματισμούς όπως τις λιπιδικές μεμβράνες τα οργανίδια και τα μόρια του DNA. Το αποτέλεσμα μπορεί να είναι ο κυτταρικός θάνατος, και η ανάπτυξη ίνωσης. Όταν η συγκέντρωση του στον οργανισμό είναι χαμηλή ο σίδηρος δεν προκαλεί βλάβες καθώς είναι συνδεδεμένος με μόρια όπως η τρανσφερίνη. Σε καταστάσεις αυξημένης συγκέντρωσης σιδήρου

εξαντλείται η σιδηροδεσμευτική ικανότητα τόσο μέσα στα κύτταρα όσο και στο πλάσμα. Έτσι παραμένει κάποια ποσότητα ελεύθερου σιδήρου που μπορεί να προκαλέσει ζημιά σε διάφορους ιστούς. Εάν δεν χορηγηθεί θεραπεία με χυλικούς παράγοντες για την απομάκρυνση του σιδήρου μπορεί να εμφανιστούν βλάβες.

Επιπλοκές της υπερφόρτωσης με σίδηρο:

Η υπερφόρτωση με σίδηρο, λόγω των μεταγγίσεων στη μείζονα θαλασσαιμία αποβαίνει καταστροφική κυρίως κατά τη δεύτερη δεκαετία της ζωής των ασθενών. Η σημαντικότερη βλάβη προκαλείται στο μυοκάρδιο και κατά συνέπεια εμφανίζονται καρδιακές επιπλοκές. Η υπερφόρτωση με σίδηρο προκαλεί επίσης βλάβη στην υπόφυση με συχνότερες επιπλοκές τον υπογοναδισμό και το κοντό ανάστημα. Συχνές είναι και οι ενδοκρινικές επιπλοκές, όπως ο σακχαρώδης διαβήτης, ο υποθυρεοειδισμός και ο υποπαραθυρεοειδισμός. Τέλος ζωτική σημασία για τον οργανισμό έχει η ανάπτυξη νόσου του ήπατος με ίνωση και τελικά κίρρωση, ιδίως όταν συνυπάρχει χρόνια ηπατίτιδα.

Εκτίμηση του βαθμού συσσώρευσης σιδήρου:

Υπάρχουν διάφοροι τρόποι εκτίμησης του βαθμού συσσώρευσης σιδήρου και κατά συνέπεια της επάρκειας της αγωγής αποσιδήρωσης:

A) Τα επίπεδα φερριτίνης ορού: Τα επίπεδα φερριτίνης γενικά αντανakλούν τις αποθήκες του οργανισμού σε σίδηρο. Έχει αποδειχθεί ότι έχουν προγνωστική σημασία στη μείζονα μεσογειακή αναιμία. Έχει βρεθεί ότι επίπεδα φερριτίνης ορού κάτω από 2500μg/l συνδυάζονται με ελαττωμένο κίνδυνο ανάπτυξης καρδιακών επιπλοκών. Ο στόχος όμως της θεραπευτικής μας παρέμβασης είναι επίπεδα φερριτίνης χαμηλότερα από 1000μg/l.

B) Η συγκέντρωση σιδήρου στο ήπαρ: θεωρείται ως εξέταση αναφοράς για την εκτίμηση του βαθμού συσσώρευσης σιδήρου στον οργανισμό. Συνήθως γίνεται με χημική εκτίμηση από δείγμα βιοψίας ήπατος. Επίσης υπάρχει η μη επεμβατική μέθοδος της MRI ήπατος.

Γ) Καταμέτρηση του απεκκρινόμενου στα ούρα σιδήρου.

Εκτίμηση των καρδιακών επιπλοκών της μείζονος β-μεσογειακής αναιμίας:

Οι καρδιακές επιπλοκές αποτελούν ένα από τα συχνότερα αίτια νοσηρότητας και ένα από τα κυριότερα αίτια πρόωρου θανάτου. Όταν απουσιάζει αποτελεσματική θεραπεία αποσιδήρωσης πολλοί ασθενείς αναπτύσσουν μυοκαρδιακή βλάβη με συνέπεια καρδιακή ανεπάρκεια, καρδιακή αρρυθμία και αιφνίδιο θάνατο είτε προοδευτική συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια με τελική κατάληξη τον θάνατο.

Ενδοκρινικές επιπλοκές της μείζονος β- μεσογειακής αναιμίας:

Οι ενδοκρινικές διαταραχές είναι από τις συχνότερες επιπλοκές της μείζονος β-μεσογειακής αναιμίας. Ακόμα και αν αρχίσει νωρίς συστηματική θεραπεία αποσιδήρωσης, είναι δυνατόν να αναπτυχθούν διαταραχές όπως η καθυστερημένη είσοδος στην εφηβεία και η υπογονιμότητα.

α) Καθυστέρηση της ανάπτυξης:

Κυριότεροι παράγοντες που προκαλούν την καθυστέρηση στην ανάπτυξη των ασθενών με μείζονα μεσογειακή αναιμία είναι η χρόνια αναιμία, ο υπογοναδισμός και η τοξικότητα που προκαλείται από τη θεραπεία αποσιδήρωσης. Άλλοι παράγοντες που συμμετέχουν είναι ο υποθυρεοειδισμός, ο υπερσπληνισμός, η ανεπάρκεια φιλικού οξέος, η αντίσταση στη δράση της αυξητικής ορμόνης, η ανεπάρκεια ψευδαργύρου, η χρόνια ηπατική νόσος και το ψυχοκοινωνικό stress.

Στις χώρες που η θεραπεία με μεταγγίσεις αίματος δεν είναι τακτική τα κύρια αίτια της καθυστέρησης της ανάπτυξης είναι η αναιμία, η ανεπάρκεια φυλλικού οξέως και ο υπερσπληνισμός. Στις χώρες όπου είναι διαθέσιμη η θεραπεία αποσιδήρωσης με δεσφεριοξαμίνη η τοξικότητα της ως άνω θεραπείας αποτελεί αίτιο καθυστέρησης της ανάπτυξης. Πριν την έναρξη της θεραπείας με αυξητική ορμόνη οι ασθενείς θα πρέπει να ελεγχθούν για υπογοναδισμό. Η θεραπεία με αυξητική ορμόνη μπορεί να προκαλέσει ελαττωμένη ευαισθησία στην ινσουλίνη και διαταραγμένη ανοχή στην γλυκόζη. Συμπληρωματικά σκεύασμα θειικού ψευδαργύρου θα πρέπει να χορηγείται σε ασθενείς με αποδεδειγμένη ανεπάρκεια ψευδαργύρου.

β) Καθυστερήση της εφηβείας και υπογοναδισμός:

Η καθυστερημένη είσοδος στην εφηβεία και ο υπογοναδισμός είναι κοινά ευρήματα σε ασθενείς με αυξημένη εναπόθεση σιδήρου. Η καθυστερημένη είσοδος στην εφηβεία ορίζεται ως η απουσία σημείων ενήβωσης στα κορίτσια στην ηλικία των 13 ετών και στα αγόρια στην ηλικία των 14 ετών. Ο υπογοναδισμός ορίζεται στα αγόρια από την απουσία αύξησης του μεγέθους των όρχεων που παραμένουν στην προεφηβική κατάσταση (μικρότεροι από 4ml). Στα κορίτσια ορίζεται ως η απουσία διόγκωσης του στήθους στην ηλικία των 16 ετών.

Η στασιμότητα ωρίμανσης μετά την είσοδο στην εφηβεία είναι σχετικά συχνή επιπλοκή σε ασθενείς με μείζονα μεσογειακή αναιμία με μέτρια ή βαριά αιμοχρωμμάτωση. Χαρακτηρίζεται από την στασιμότητα όσον αφορά την ανάπτυξη της εφηβείας για ένα ή περισσότερα έτη. Σε τέτοιες περιπτώσεις στα μεν αγόρια το μέγεθος των όρχεων παραμένει σταθερό στα 6-8ml, στα δε κορίτσια το μέγεθος των μαστών παραμένει στο στάδιο B3. Σε τέτοιες περιπτώσεις η ανάπτυξη σε ύψος είναι είτε σημαντικά ελαττωμένη είτε πλήρως απύουσα.

Η θεραπεία της καθυστερημένης έναρξης είτε της στασιμότητας στην ανάπτυξη της εφηβείας καθώς και του υπογοναδοτροπικού υπογοναδισμού εξαρτάται από παράγοντες όπως είναι η ηλικία, ο βαθμός της αιμοχρωμμάτωσης, η ζημιά στον άξονα υποθάλαμος – υπόφυση – γονάδες, η χρόνια ηπατική νόσος και η παρουσία ψυχολογικών προβλημάτων λόγω του υπογοναδισμού.

Για τα κορίτσια η θεραπεία ξεκινάει με τη χορήγηση από του στόματος αιθινυλοιστραδιόλης (2.5-5mg/ημέρα) επί 6 μήνες. Αν δεν επέλθει έμμηνη ρύση 6 μήνες μετά τη διακοπή της αγωγής, χορηγούνται οιστρογόνα από του στόματος σε σταδιακά αυξανόμενες δόσεις (αιθινυλοιστραδιόλη 5-10mg ημερησίως) για ακόμα 12 μήνες. Εάν δεν επισυμβεί αιμόρροια εκ διαφυγής, τότε χορηγείται θεραπεία υποκατάστασης με χαμηλές δόσεις συνδυασμού οιστρογόνων και προγεστερόνης.

Για την αντιμετώπιση της καθυστερημένης εφηβείας στα αγόρια, χορηγούνται κάθε μήνα χαμηλές δόσεις ενδομυϊκής τεστοστερόνης (25mg/m²) επί 6 μήνες. Ακολουθεί ορμονικός επανέλεγχος. Σε ασθενείς με υπογοναδοτροπικό υπογοναδισμό η θεραπεία μπορεί να συνεχιστεί μέχρι να αποκτηθεί φυσιολογικός

ρυθμός ανάπτυξης. Σημειώνουμε ότι μπορεί να χορηγηθεί ενδομυϊκώς μέχρι και 50-75mg depot τεστοστερόνης κάθε 7-10 ημέρες. Στην περίπτωση στασιμότητας της εφηβείας η θεραπεία περιλαμβάνει εστέρες τεστοστερόνης όπως ακριβώς χορηγούνται και στην καθυστερημένη εφηβεία και στον υπογοναδοτροφικό υπογοναδισμό.

γ) Υποθυρεοειδισμός

Αυτός μπορεί να συμβεί σε σοβαρά αναιμικούς είτε/ και σε ασθενείς με μείζονα β- μεσογειακή αναιμία με σοβαρή αιμοχρωμάτωση. Είναι ασυνήθης σε επαρκώς θεραπευόμενους ασθενείς.

Στον υποθυρεοειδισμό παρουσιάζονται συμπτώματα και σημεία όπως η καθυστέρηση της ανάπτυξης, η ελαττωμένη φυσική δραστηριότητα, η αύξηση του σωματικού βάρους, η μειωμένη επίδοση στο σχολείο, η καρδιακή ανεπάρκεια και η συσσώρευση περικαρδιακού υγρού. Η συχνότητα του υποθυρεοειδισμού είναι ελαφρά μικρότερη στις γυναίκες. Οι περισσότεροι ασθενείς έχουν πρωτοπαθή υποθυρεοειδισμό. Ο δευτεροπαθής υποθυρεοειδισμός λόγω βλάβης στην υπόφυση συμβαίνει πολύ σπάνια.

δ) Διαταραχή στο μεταβολισμό των υδατανθράκων:

Η διαταραγμένη ανοχή στην γλυκόζη και ο σακχαρώδης διαβήτης είναι συνέπειες της καταστροφής των β-κυττάρων εξαιτίας της μεγάλης εναπόθεσης σιδήρου, της χρόνιας ηπατικής νόσου, ιογενών λοιμώξεων είτε και γενετικών παραγόντων. Η παθογένεια μοιάζει με αυτήν του ΣΔ2.

Στην διαταραγμένη ανοχή στην γλυκόζη χρήσιμη είναι η αυστηρή τήρηση δίαιτας διαβητικού, η ελάττωση του σωματικού βάρους καθώς και η εντατική θεραπεία αποσιδήρωσης. Στους συμπτωματικούς ασθενείς συνήθως απαιτείται θεραπεία με ινσουλίνη. Παρατηρείται όμως δυσκολία στην επίτευξη των στόχων.

ε) Υποπαραθυρεοειδισμός

Η υπασβεστιαμία λόγω υποπαραθυρεοειδισμού είναι μία απώτερη επιπλοκή της αυξημένης εναπόθεσης σιδήρου καθώς και της αναιμίας. Αυτή η διαταραχή συνήθως αρχίζει μετά την ηλικία των 16 ετών. Οι περισσότεροι ασθενείς εμφανίζουν ήπια συμπτωματολογία. Οι πιο σοβαρές περιπτώσεις μπορεί να εκδηλωθούν με τέτανο, σπασμούς είτε καρδιακή ανεπάρκεια. Για τη θεραπεία του υποπαραθυρεοειδισμού χορηγούνται από του στόματος σκευάσματα ασβεστίου και βιταμίνης D.

στ) Οστεοπόρωση:

Η οστεοπόρωση χαρακτηρίζεται από χαμηλή οστική πυκνότητα και καταστροφή της αρχιτεκτονικής του οστού με αποτέλεσμα τον αυξημένο κίνδυνο καταγμάτων. Σους ασθενείς με μείζονα β-μεσογειακή αναιμία εμφανίζεται σε μεγάλο ποσοστό οστεοπόρωση και στα δύο φύλλα, τόσο στην οσφύ όσο και στο ισχίο. Η σοβαρότητα της νόσου αυξάνεται με την πρόοδο της ηλικίας. Ακόμα όμως και νεαροί ασθενείς παρουσιάζουν χαμηλότερη οστική πυκνότητα όταν συγκρίνονται με υγιή άτομα της ίδιας ηλικίας.

Οι παράγοντες που συμβάλουν στην εμφάνιση οστεοπόρωσης στους ασθενείς με μεσογειακή αναιμία είναι: α) Η αναιμία: είναι πιθανό ότι τα χαμηλά επίπεδα αιμοσφαιρίνης συμβάλλουν σημαντικά στην ανάπτυξη οστεοπόρωσης αλλά αυτή η συσχέτιση δεν έχει μελετηθεί επαρκώς, β) Γενετικοί παράγοντες έχουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη του οστίτη ιστού, γ) Τα στεροειδή του φύλου και ο οστικός μεταβολισμός: Ο υπογοναδισμός είναι ο κύριος παράγοντας που προκαλεί οστεοπόρωση σε αυτούς τους ασθενείς. Τόσο τα οιστρογόνα όσο και η προγεστερόνη συμβάλουν στον οστικό μεταβολισμό ελαττώνοντας την οστική απορρόφηση και αυξάνοντας τον οστικό σχηματισμό. Η τεστοστερόνη έχει ευθεία διεγερτική δράση στον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών. Δ) Άλλοι επιβαρυντικοί παράγοντες είναι η υπερφόρτωση με σίδηρο, η έλλειψη ασκορβικού οξέως, ο σακχαρώδης διαβήτης, ο υποπαραθυρεοειδισμός και ο υποθυρεοειδισμός.

Για τη θεραπεία των οστεοπενικών ασθενών χορηγείται δίαιτα πλούσια σε ασβέστιο και βιταμίνη D. Τα σκευάσματα

ασβεστίου θα πρέπει να χορηγούνται με προσοχή στους ασθενείς με μεσογειακή αναιμία επειδή έχει αναγνωριστεί υψηλό ποσοστό ασθενών με αυξημένη απέκκριση ασβεστίου στα ούρα και συνοδό νεφρολιθίαση. Σε υπογοναδικούς ασθενείς δίδεται θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης. Χρήσιμη θεωρείται η θεραπεία με διφωσφονικά σε ασθενείς με οστεοπόρωση.

Εισαγωγή:

Η παρούσα μελέτη αφορά ασθενείς πολλαπλά επιβαρημένους λόγω των επιπλοκών της νόσου τους. Είναι γνωστό ότι οι ασθενείς με μείζονα β-μεσογειακή αναιμία αδυνατούν να παράγουν λειτουργική αιμοσφαιρίνη, καθώς δεν συντίθενται οι β-υπομονάδες της. Έτσι είναι αναγκαίες τακτικές μεταγγίσεις αίματος για τη διατήρηση του αιματοκρίτη σε επίπεδα που επιτρέπουν τη φυσιολογική λειτουργία του οργανισμού. Λόγω των συχνών μεταγγίσεων εναποτίθενται μεγάλες ποσότητες σιδήρου σε διάφορους ιστούς με αποτέλεσμα να παρουσιάζεται δυσλειτουργία πολλών οργάνων, μεταξύ των οποίων και ενδοκρινών αδένων. Συχνές ενδοκρινικές επιπλοκές είναι ο υπογοναδισμός, η διαταραχή του μεταβολισμού των υδατανθράκων, ο υποθυρεοειδισμός, το κοντό ανάστημα και η διαταραχή του μεταβολισμού του ασβεστίου και του οστικού μεταβολισμού^{(1),(2),(3),(4)}. Οι διαταραχές αυτές έχουν γίνει αντικείμενο μελέτης καθώς αποτελούν κύριους στόχους της θεραπευτικής παρέμβασης.

Για τη μελέτη του άξονα υποθάλαμος - υπόφυση - επινεφρίδια στους ασθενείς αυτούς κρίναμε σημαντικό να μελετήσουμε επιμέρους:

- 1) Αν βρίσκονται σε φυσιολογικά όρια τα επίπεδα κορτιζόλης ορού το πρωί και το απόγευμα,
- 2) Αν διατηρείται ο φυσιολογικός ημερονύκτιος ρυθμός έκκρισης κορτιζόλης,

3) Αν ανταποκρίνεται φυσιολογικά ο ως άνω άξονας, εκκρίνοντας περισσότερη κορτιζόλη σε καταστάσεις σωματικού και ψυχικού stress.

Σε περίπτωση που δε θα διαπιστωθούν διαταραχές στις ως άνω μετρήσεις μας επιτρέπεται να θεωρήσουμε φυσιολογική τη λειτουργία του ως άνω άξονα σε ασθενείς που δεν παρουσιάζουν κλινική σημειολογία υπέρ- είτε υπό- κορτιζολαιμίας. Αν αντιθέτως διαπιστωθούν διαταραχές στις ως άνω μετρήσεις, τότε θα πρέπει να μελετηθεί εκτενέστερα η επίπτωση τους στην υγεία τους.

Σκοπός:

A) Σύγκριση πρωινών και βραδινών μετρήσεων κορτιζόλης ορού σε ασθενείς με μείζονα μεσογειακή αναιμία και σε ομάδα υγιών εθελοντών.

B) Διαπίστωση του φυσιολογικού κιρκάδιου ρυθμού έκκρισης κορτιζόλης σε ασθενείς με μείζονα μεσογειακή αναιμία.

Γ) Έλεγχος αν η μονοήμερη νοσηλεία για μετάγγιση αίματος αποτελεί σημαντικό στρεσογόνο παράγοντα σε ασθενείς με μείζονα μεσογειακή αναιμία^{(5), (6), (7)}.

Δ) Έλεγχος της ανταπόκρισης του άξονα υποθάλαμος - υπόφυση - επινεφρίδια σε σωματικό (λόγω της μετάγγισης αίματος) και ψυχικό (λόγω της μονοήμερης νοσηλείας) stress⁽⁸⁾.

E) Επί διαπίστωσης διαταραχών στις ως άνω δοκιμασίες συσχέτιση τους με την ακολουθούμενη θεραπεία αποσιδήρωσης, την προηγηθείσα σπληνεκτομή, τη σοβαρότητα της νόσου και την επαρκή ή μη θεραπεία αποσιδήρωσης.

Ασθενείς και μέθοδος:

1) Ασθενείς:

A) Επιλέξαμε, με τυχαίο τρόπο, 25 ασθενείς (14 άνδρες και 11 γυναίκες), ηλικίας 19 έως 37 ετών με μέσο όρο ηλικίας τα 29.2 έτη με μείζονα β-μεσογειακή αναιμία που παρακολουθούνται και μεταγγίζονται στην μονάδα μεσογειακής αναιμίας της Α' Πανεπιστημιακής κλινικής του νοσοκομείου παιδων 'Η Αγία Σοφία'. Από τη μελέτη αυτή αποκλείστηκαν οι ασθενείς με ενεργό λοίμωξη. Οι ασθενείς, αφού ενημερώθηκαν, έδωσαν γραπτή συγκατάθεση για τη συμμετοχή τους στη μελέτη. Εν συνεχεία συμπληρώθηκε λεπτομερές ιστορικό και ακολούθησε αντικειμενική εξέταση.

Σε μία τυχαία ημέρα (κατά την οποία οι ασθενείς δεν υποβλήθηκαν σε μετάγγιση) ελήφθησαν δείγματα αίματος στις ώρες 8:00πμ και 17:00μμ. Τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν άμεσα επί 5 λεπτά στις 3000 στροφές / λεπτό και εν συνεχεία απομονώθηκε ο ορός που τοποθετήθηκε στους -70 C° μέχρι να μετρηθεί η τιμή της κορτιζόλης. Την ημέρα της τακτικής τους μετάγγισης επίσης ελήφθησαν δείγματα αίματος στις ώρες 8:00πμ και 17:00μμ. Συγκεκριμένα μετά την πρωινή τους αιμοληψία για μέτρηση κορτιζόλης οι ασθενείς υποβλήθηκαν στην τακτική τους μετάγγιση που διήρκεσε περί τις 5 ώρες (9:00πμ έως 14:00μμ). Η νοσηλεία τους συνεχίστηκε μέχρι την ώρα 17:00 οπότε ελήφθη αίμα για μέτρηση κορτιζόλης. Τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν άμεσα επί 5 λεπτά στις 3000 στροφές / λεπτό και εν συνεχεία απομονώθηκε ο ορός που τοποθετήθηκε στους -70 C° μέχρι να μετρηθεί η τιμή της κορτιζόλης. Και κατά τις δύο προαναφερθείσες ημέρες οι ασθενείς συμπλήρωσαν ερωτηματολόγια κατάλληλα για την ηλικία τους, για την εκτίμηση της γενικής ψυχοπαθολογίας τους, του άγχους και της κατάθλιψης (ψυχολογική και σωματική διάσταση). Συγκεκριμένα χρησιμοποιήθηκαν οι κάτωθι κλίμακες αξιολόγησης: Hamilton's depression scale, Zung scale, SCL-90-R, STAI1-state, STAI2-trait.

B) Επιλέξαμε με τυχαίο τρόπο 15 εθελοντές (5 άνδρες και 10 γυναίκες), ηλικίας 23 έως 37 ετών με μ.ο. ηλικίας 31.2 έτη. Από τη μελέτη αυτή αποκλείστηκαν οι εθελοντές με ενεργό λοίμωξη. Σε μία

τυχαία ημέρα ελήφθησαν δείγματα αίματος στις ώρες 8:00πμ και 17:00μμ. Τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν άμεσα επί 5 λεπτά στις 3000 στροφές / λεπτό και εν συνεχεία απομονώθηκε ο ορός που τοποθετήθηκε στους -70 C° μέχρι να μετρηθεί η τιμή της κορτιζόλης.

2) Μέθοδος: Η μέτρηση των τιμών κορτιζόλης ορού έγινε στο ενδοκρινολογικό εργαστήριο του «ΧΟΡΕΜΕΙΟΥ Ε.Κ.». Ο προσδιορισμός της κορτιζόλης του ορού έγινε με τη χρήση αντιδραστηρίων της Nichols Advance με τη μέθοδο της χημειοφωταύγειας συναγωνιστικής σύνδεσης μίας θέσης. Συγκεκριμένα χρησιμοποιείται ιχνηθετημένο με βιοτίνη παράγωγο της κορτιζόλης, μαγνητικά σωματίδια με επίστρωση στρεπταβιδίνης και ένα πολυκλωνικό αντίσωμα έναντι της κορτιζόλης, ιχνηθετημένο με εστέρα ακριδίνης. Το μίγμα που περιέχει κορτιζόλη επωάζεται μαζί με την κορτιζόλη που είναι ιχνηθετημένη με βιοτίνη και το αντίσωμα που είναι ιχνηθετημένο με ακριδίνη. Μετά από την αρχική περίοδο επώασης στο μίγμα της αντίδρασης προστίθενται μαγνητικά σωματίδια με επίστρωση στρεπταβιδίνης και ακολουθεί δεύτερη περίοδος επώασης. Η κορτιζόλη που είναι ιχνηθετημένη με βιοτίνη και η κορτιζόλη στο δείγμα ανταγωνίζονται για μια περιορισμένη ποσότητα αντισώματος με ιχνηθέτηση χημειοφωταύγειας. Μετά την προσθήκη των μαγνητικών σωματιδίων με επίστρωση στρεπταβιδίνης, η ποσότητα του ιχνηθετημένου αντισώματος που έχει συλληφθεί από τα μαγνητικά σωματίδια θα είναι αντιστρόφως ανάλογη από την ποσότητα κορτιζόλης στον ορό.

3) Στατιστική επεξεργασία: Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με τη βοήθεια του στατιστικού πακέτου SPSS 12 και με τη χρήση των δοκιμασιών T-test, χ^2 -test, Linear Correlation και ANOVA.

Αποτελέσματα:

ΜΕΡΟΣ Α: ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΚΑΙ ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Οι παράγοντες που μελετήθηκαν ήταν (πίνακας Α1):

Πίνακας Α1

Δημογραφικά δεδομένα (2)	Ηλικία (Age), Φύλο (Sex)
Σωματομετρικά δεδομένα (6)	Ύψος (Height), Βάρος (Weight), Δείκτης Μάζας Σώματος (BMI), Ομφαλοσφυϊκή Περίμετρος (Waist), Λόγος περιμέτρου μέσης / περίμετρο ισχίων (WHR), Άνοιγμα χειρών (SPAN)
Θεραπευτικά δεδομένα (6)	Προηγηθείσα σπληνεκτομή (Splenectomy), Είδος θεραπείας αποσιδήρωσης (Therapy), Ηλικία κατά την πρώτη μετάγγιση αίματος (Age of first transfusion), Ηλικία κατά την έναρξη θεραπείας αποσιδήρωσης (Age of first deironization therapy), Θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης (Hormone Replacement Therapy), Μεταγγιζόμενο αίμα ανά έτος (Blood per year)
Επιπλοκές (5)	Υπογοναδισμός (Hypogonadism), Υποθυρεοειδισμός (Hypothyroidism), Λοίμωξη από ηπατίτιδα Β (HBV infection), Λοίμωξη από ηπατίτιδα C (HCV infection), Σακχαρώδης Διαβήτης (Diabetes Melitus)
Συνήθειες (1)	Κάπνισμα (Smoking)
Βιολογικές παράμετροι (1)	Φερριτίνη (Ferritin)
Μετρήσεις της κορτιζόλης (6)	Κορτιζόλη ορού ασθενών κατά την ημέρα μετάγγισης πρωί (Cortisol 1 morning) και απόγευμα (Cortisol 1 afternoon) και διαφορά των δύο τιμών (Cortisol 1 difference), Κορτιζόλη ορού ασθενών κατά την τυχαία ημέρα πρωί (Cortisol 2 morning) και απόγευμα (Cortisol 2

	afternoon) και διαφορά των δύο τιμών (Cortisol 2 difference), Κορτιζόλη ορού ομάδας ελέγχου κατά την τυχαία ημέρα πρωί (Cortisol 3 morning) και απόγευμα (Cortisol 3 afternoon) και διαφορά των δύο τιμών (Cortisol 3 difference)
--	--

ΠΙΝΑΚΑΣ Α2: Σωματομετρικοί παράγοντες ασθενών με μεσογειακή αναιμία.

	N	Min	Max	Mean	std. error of mean	std. dev.
Height	25	144,00	183,00	164,24	2,23	11,18
Weight	25	51,00	104,00	71,12	3,01	15,09
BMI	25	20,00	37,90	26,19	0,83	4,19
Waist	24	74,00	116,00	91,91	2,28	11,18
WHR	24	0,80	0,99	0,91	0,01	0,04
SPAN	24	145,00	186,00	169,08	2,29	11,22

Θεραπευτικά δεδομένα (πίνακας Α3):

Η ηλικία κατά την οποία ξεκίνησαν οι μεταγγίσεις των ασθενών με μείζονα μεσογειακή αναιμία ήταν κατά μέσο όρο τα 1,3 έτη και η μέση ηλικία έναρξης αποσιδήρωσης τα 5,5 έτη. Ο μέσος όρος μεταγγιζόμενου αίματος ανά έτος ήταν 12.502ml. Από τους 25 μελετούμενους ασθενείς οι 7 (28%) είχαν υποστεί σπληνεκτομή. Η πλειοψηφία των ασθενών 16 (67%) λαμβάνει θεραπεία αποσιδήρωσης με συνδυασμό δεσφεριοξαμίνης και διφεριπρόνης ενώ μικρότερος αριθμός ασθενών λαμβάνει μονοθεραπεία με δεσφεριοξαμίνη 5 (20,8%), είτε με διφεριπρόνη 3 (12,5%). Η πλειοψηφία των ασθενών 17 (68%) λαμβάνει θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης (οιστρογόνα & προγεστερόνη οι γυναίκες και τεστοστερόνη οι άνδρες).

ΠΙΝΑΚΑΣ Α3: Θεραπευτικά δεδομένα.

	N	Frequency (percent)	Min	Max	Mean	std. error of mean	std. dev.
Προηγούμενη σπληνεκτομή	25	Όχι 18 (72%) ναι 7 (28%)	-	-	-	-	-
Θεραπεία αποσιδήρωσης	24	δεσφεριοξαμίνη 5 (20,8%) διφεριπρόνη 3 (12,5%) συνδυασμός των δύο ανωτέρω 16 (66,7%)	-	-	-	-	-
Θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης	25	όχι 8 (32%) ναι 17 (68%)	-	-	-	-	-
Ηλικία έναρξης μεταγγίσεων	25	-	0,10	8,50	1,37	,38	1,93
Ηλικία έναρξης αποσιδήρωσης	24	-	2,00	15,00	5,45	0,69	3,41
Μεταγγιζόμενο αίμα ανά έτος	16	-	9010,00	16430,0	12501,8	504,1	2016,7

Όσο αφορά τις **επιπλοκές της νόσου** τους σημαντικός αριθμός (52%) των ασθενών πάσχει από πρωτοπαθή υπογοναδισμό, 44% από λοίμωξη HCV, 24% από υποθυρεοειδισμό, 16% από λοίμωξη HBV και 16% από σακχαρώδη διαβήτη. Ο επιπολασμός των ανωτέρω νόσων στην μελετούμενη ομάδα ασθενών είναι σημαντικά υψηλότερος από ότι στον γενικό πληθυσμό.

ΠΙΝΑΚΑΣ Α4: Επιπλοκές.

	N	Frequency (percent)
Hypogonadism	25	no 12 (48) yes 13 (52)
Hypothyroidism	25	no 19 (76) yes 6 (24)
HBV	25	no 21 (84) yes 4 (16)
HCV	25	no 14 (56) yes 11 (44)
Diabetes Melitus	25	no 17 (68) igt 4 (16) dm 4 (16)

Σημειώνουμε τον σημαντικό ποσοστό των **ασθενών που καπνίζουν** (44%). Οι ασθενείς που κάπνιζαν αλλά θέλησαν να συμμετάσχουν στην μελέτη μας συμφώνησαν να απέχουν από το κάπνισμα κατά τη διάρκεια της μελέτης.

ΠΙΝΑΚΑΣ Α5: Κάπνισμα.

	N	Frequency (percent)
Smoking	25	όχι 14 (56%) ναι 11 (44%)

Παρότι οι **τιμές φερριτίνης** των ασθενών έβαιναν μειούμενες κατά τα τελευταία έτη, ο μέσος όρος της φερριτίνης των 5 τελευταίων ετών βρέθηκε σχετικά υψηλός 3135,0 και ενδεικτικός μη επαρκούς θεραπείας αποσιδήρωσης.

ΠΙΝΑΚΑΣ Α6: Τιμές φερριτίνης (ng/ml).

	N	frequency (percent)	Min	Max	mean	std. error of mean	std. dev.
Ferritin	16	-	543,0	9946,	3135,62	621,40	2485,60

ΜΕΡΟΣ Β: Αποτελέσματα ψυχομετρικών δοκιμασιών και εργαστηριακών μετρήσεων.

A) Αρχικό μας μέλημα ήταν να διερευνήσουμε αν κάποιος ασθενής πάσχει από μείζονα κατάθλιψη, οπότε σύμφωνα με τα αποτελέσματα προηγούμενων μελετών θα έπρεπε να αποκλεισθεί από τη μελέτη μας.

ΠΙΝΑΚΑΣ Α7: Σκορ σε ψυχομετρικές δοκιμασίες για **διερεύνηση κατάθλιψης** (1: ημέρα μετάγγισης, 2: τυχαία ημέρα, HSD: Hamiltons depression scale, ZUNG: Zung depression scale).

	N	Min	max	mean	std. error of mean	std. dev.
HDS1	23	2,00	18,00	7,13	0,94	4,51
HDS2	16	0,00	16,00	5,31	1,11	4,46
ZUNG1	24	23,00	45,00	33,297	1,47	7,21
ZUNG2	15	26,00	44,00	36,33	1,59	6,17

Σύμφωνα με τις απαντήσεις τους στις δύο ανωτέρω δοκιμασίες για διερεύνηση κατάθλιψης συνάγεται ότι κανένας από τους ασθενείς που συμμετείχαν στη μελέτη μας δεν πάσχει από μείζονα κατάθλιψη.

B) Εν συνεχεία διερευνήσαμε εάν η **μονοήμερη νοσηλεία** των ασθενών προκειμένου να υποβληθούν σε μετάγγιση αίματος αποτελεί **αγχογόνο παράγοντα** για τους ασθενείς.

ΠΙΝΑΚΑΣ Α8: Σκορ σε **ψυχομετρικές δοκιμασίες** για την διαπίστωση **αυξημένου άγχους** (1: ημέρα μετάγγισης, 2: τυχαία ημέρα).

	N	Min	max	mean	std. error of mean	std. dev.
STAI1state1	25	24,00	51,00	37,76	1,50	7,51
STAI1state2	17	21,00	54,00	37,52	2,41	9,97
STAI2trait1	25	22,00	51,00	36,56	1,96	9,80
STAI2trait2	17	20,00	57,00	38,00	2,59	10,68
SIcanxiety1	25	1,00	19,00	6,00	0,90	4,53
SIcanxiety2	13	0,00	9,00	5,15	0,72	2,60

Από τη σύγκριση των σκορ των ανωτέρω δοκιμασιών στους ασθενείς με μεσογειακή αναιμία κατά την ημέρα της μετάγγισης (1) και την τυχαία ημέρα (2) διαπιστώνουμε ότι, παρότι χωρίς στατιστική σημαντικότητα, παρατηρείται αυξημένο άγχος κατά την μονοήμερη νοσηλεία των ασθενών προκειμένου να υποβληθούν σε μετάγγιση.

Γ) Μετρήσεις κορτιζόλης:

α) Διαπιστώσαμε ότι τόσο σε ασθενείς με μεσογειακή αναιμία όσο και στην ομάδα ελέγχου διατηρήθηκε ο φυσιολογικός κερκάδιος ρυθμός έκκρισης κορτιζόλης (Πίνακας Α9).

β) Συγκρίνοντας τις τιμές κορτιζόλης ορού των ασθενών με μεσογειακή αναιμία την τυχαία ημέρα με τις τιμές κορτιζόλης των ατόμων της ομάδας ελέγχου διαπιστώνουμε ότι οι πρωινές τιμές κορτιζόλης δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά ($p=0.40$, T test) μεταξύ τους, ενώ και οι αντίστοιχες βραδινές τιμές κορτιζόλης δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά ($p=0.47$, T test) μεταξύ τους (Πίνακας Α9).

ΠΙΝΑΚΑΣ Α9: Μετρήσεις κορτιζόλης (σε $\mu\text{g}/\text{dl}$, 2: τυχαία ημέρα σε ασθενείς με μεσογειακή αναιμία, 3: τυχαία ημέρα στους ασθενείς της ομάδας ελέγχου).

	N	Min	max	mean	std. dev.
Cortisol2 morning	21	10,07	26,70	18,6	5,21
Cortisol2 afternoon	21	4,01	24,85	11,13	5,49
Cortisol3 morning	15	14.14	26,36	17,16	5,21
Cortisol3 afternoon	15	5,08	15,40	8,82	5,49

γ) Στους ασθενείς με μεσογειακή αναιμία κατά την τυχαία ημέρα αιμοληψίας ο μέσος όρος διαφοράς πρωινής και βραδινής τιμής ήταν $7,53 \mu\text{g}/\text{dl}$. Κατά την ημέρα της μετάγγισης, οπότε υπήρξε και το

διεγερτικό ερέθισμα της ενδοφλέβιας πρόσληψης αίματος, στους ίδιους ασθενείς ο μέσος όρος της διαφοράς μεταξύ της πρωινής και της βραδινής τιμής κορτιζόλης ήταν στατιστικά σημαντικά μικρότερος και συγκεκριμένα 3,34 μg/dl. Η ελαττωμένη διαφορά μεταξύ πρωινής και βραδινής κορτιζόλης κατά την ημέρα της μετάγγισης είναι ενδεικτική ικανοποιητικής ανταπόκρισης του άξονα υποθάλαμος υπόφυση επινεφρίδια στο διεγερτικό ερέθισμα που δέχθηκαν οι ασθενείς αμέσως μετά την πρωινή αιμοληψία.

ΠΙΝΑΚΑΣ Α10: Μετρήσεις κορτιζόλης (σε μg/dl, 1: ημέρα μετάγγισης σε ασθενείς με μείζονα μεσογειακή αναιμία, 2: Τυχαία ημέρα σε ασθενείς με μείζονα μεσογειακή αναιμία)

	N	Min	max	mean	std. dev.
Cortisol1 morning	25	7,73	23,07	13,02	4,25
Cortisol1 afternoon	25	2,09	15,70	9,55	3,28
Cortisol1 difference	25	-1,81	12,29	3,43	3,54
Cortisol2 morning	21	10,07	26,70	18,66	5,21
Cortisol2 afternoon	21	4,01	24,85	11,13	5,49
Cortisol2 difference	21	-7,31	17,93	7,53	6,26

Συζήτηση:

A) Η σύγκριση των πρωινών και βραδινών μετρήσεων κορτιζόλης ορού σε ασθενείς με μείζονα μεσογειακή αναιμία και σε ομάδα υγιών εθελοντών απέδειξε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις δύο προαναφερθείσες ομάδες.

B) Διαπιστώθηκε φυσιολογικός κirkάδιος ρυθμός έκκρισης κορτιζόλης στους ασθενείς με μείζονα μεσογειακή αναιμία.

Γ) Η μονοήμερη νοσηλεία των ασθενών δεν αποτελεί στρεσογόνο παράγοντα στους ασθενείς με μείζονα μεσογειακή αναιμία, πιθανότατα λόγω της εξοικείωσης τους με τους χώρους και το προσωπικό της μονάδας μεσογειακής αναιμίας.

Δ) Ο άξονας υποθάλαμος - υπόφυση - επινεφρίδια ανταποκρίθηκε φυσιολογικά στο σωματικό stress, λόγω της μετάγγισης αίματος.

Περαιτέρω στόχοι:

A) Περαιτέρω μελέτη απαιτείται για να διαπιστώσουμε αν η ελεύθερη κορτιζόλη του ορού μπορεί να εκτιμηθεί με τη μέτρηση της ολικής κορτιζόλης ορού. Θεωρείται πιθανό ότι οι ασθενείς με μείζονα μεσογειακή αναιμία, λόγω της ηπατοπάθειας που παρουσιάζουν, απόρροια της αιμοχρωμάτωσης ήπατος και της λοίμωξης από ηπατοτρόπους ιούς, δεν συνθέτουν επαρκείς ποσότητες cortisole binding globulin (CBG). Χρήσιμη θα ήταν λοιπόν η μέτρηση επιπέδων κορτιζόλης στη σίελο η οποία δεν επηρεάζεται από την συγκέντρωση της CBG στο αίμα και αντανakλά τα επίπεδα της ελεύθερης κορτιζόλης του ορού ^{(9), (10)}.

B) Χρήσιμη θα ήταν η εκτίμηση των επιπέδων ACTH στον ορό των ασθενών πριν και μετά την διεγερτική διεργασία που επιτελείται κατά την μετάγγιση προκειμένου να διαπιστώσουμε το βαθμό ανταπόκρισης των επινεφριδίων στο διεγερτικό ερέθισμα της ACTH.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- 1.C. Vullo, V. de Sanctis, M Katz, B. Wonke, A.V Hoffbrand, B. Bagni, T Toressani, G. Tolis, M. Masiero, A. Di palma, L. Borgatti. Endocrine abnormalities in Thalassemia. Annals new york academy of science
2. Gulati R., Bhatia V., and Agarwal S. Early onset of endocrine abnormalities in b- thalassaemia major in a developing country. The journal of pediatric endocrinology and metabolism, 13, 651-656 (2000).
3. Chern J., Lin K., Tsai W., Wang S., Lu M., Lin.D., Lin K., Lo S. Hypogonadotropic hypogonadism and hematologic phenotype in patients with transfusion dependent beta-thalassemia. J Pediatr Hematol Oncol 25 (11) 880-884, (2003)
4. El-Hazmi M., Warsy A., and Al-Fawaz I. Iron-endocrine pattern in patients with b-thalassaemia Journal of tropical pediatrics 40 August, (1994).
- 5.Mikelli A., Tsiantis J. Brief report: Depressive symptoms and quality of life in adolescens with b-thalassaemia. Journal of Adolescence 27 213-216, (2004).
- 6.Tsiantis J., Dragonas TH., Richardson C., Anastasopoulos D., Masera G., Spinetta J., Psychosocial problems and adjustment of children with b-thalassaemia and their families. European Child & Adolescent Psychiatry 5:193-203 (1996).
7. Charmandari E., Merke D., Negro P., Keil M., Martinez P., Haim A., Gold P., and Chrousos GP. Endocrinologic and psychologic evaluation of 21-hydroxylase deficiency carriers and matched normal subjects: evidence for physical and/or psychologic vulnerability to stress.The journal of clinical endocrinology and metabolism 89(5)2228-2236, (2003).
8. Banani S., Omrani G. Cortisol and adrenocorticotropin hormone response to surgical stress (splenectomy) in thalassaemic patients. Pediatr. Surg. Int. 16: 400-403, (2000).
9. Chrousos GP Organisation and integration of the endocrine system. Pediatric Endocrinology, Saunders 1-14, (2002).
10. Chrousos GP Editorial: Glucocorticoid action networks- An

introduction to systems biology. The journal of clinical endocrinology and metabolism 89(2):563-564, (2004).

Παράρτημα:

A1) Ασθενείς με μείζονα β-μεσογειακή αναιμία

Αρ.	Ηλικία	Φύλο	Ύψος	Βάρος	ΔΜΣ	Περ. μέσης
1)	28,00	Άρρεν	176,00	77,00	24,80	86,00
2)	22,00	Άρρεν	168,00	66,00	23,40	83,00
3)	34,00	Άρρεν	165,00	67,00	24,60	88,00
4)	27,00	Άρρεν	163,00	78,00	29,50	100,00
5)	37,00	Θήλυ	156,00	92,00	37,90	114,00
6)	29,00	Άρρεν	176,00	102,0	32,80	111,00
7)	27,00	Θήλυ	146,00	52,00	24,30	86,00
8)	35,00	Άρρεν	178,00	83,00	26,00	98,00
9)	28,00	Θήλυ	152,00	55,00	23,80	77,00
10)	26,00	Άρρεν	172,00	72,00	24,30	87,00
11)	36,00	Άρρεν	183,00	86,00	25,70	98,00
12)	26,00	Θήλυ	162,00	61,00	23,20	87,00
13)	27,00	Άρρεν	144,00	58,00	27,90	88,00
14)	31,00	Θήλυ	149,00	58,00	26,10	82,00
15)	22,00	Άρρεν	168,00	78,00	27,60	98,00
16)	24,00	Θήλυ	169,00	104,0	36,40	116,00
17)	33,00	Άρρεν	169,00	72,00	25,40	93,00
18)	34,00	Θήλυ	161,00	56,00	21,70	77,00
19)	35,00	Άρρεν	174,00	80,00	26,50	98,00
20)	29,00	Θήλυ	157,00	60,00	24,40	87,00
21)	29,00	Θήλυ	144,00	53,00	25,40	93,00
22)	29,00	Άρρεν	178,00	83,00	26,20	97,00
23)	36,00	Θήλυ	167,00	72,00	25,80	93,00
24)	19,00	Άρρεν	171,00	62,00	21,20	81,00
25)	26,00	Θήλυ	158,00	51,00	20,00	74,00

A2) Ασθενείς με μείζονα β-μεσογειακή αναιμία

Αρ.	Σπληνεκτομή	Θεραπεία αποσιδήρωσης	Έναρξη* μεταγγίσεων	Έναρξη* αποσιδήρωσης
1)	no	3,00	1,00	3,00
2)	no	1,00	2,50	4,00
3)	no	3,00	1,00	3,50
4)	no	3,00	0,25	2,00
5)	yes	2,00	5,50	13,00
6)	yes	2,00	0,50	3,00
7)	no	3,00	1,40	3,50
8)	no	1,00	0,30	7,00
9)	no	1,00	0,20	5,00
10)	no	3,00	0,50	2,00
11)	yes	3,00	1,50	10,00
12)	no	3,00	0,50	4,00
13)	no	3,00	1,00	5,00
14)	no	3,00	8,50	10,00
15)	yes	2,00	1,00	4,00
16)	yes	1,00	0,20	3,00
17)	no	3,00	0,50	7,00
18)	no	3,00	0,50	5,00
19)	no	3,00	1,20	5,00
20)	no	3,00	0,50	15,00
21)	no	3,00	0,30	5,00
22)	no	1,00	4,00	5,00
23)	yes	3,00	0,50	6,00
24)	no	3,00	1,00	2,00
25)	yes	3,00	0,10	3,00

(1: δεσφериοξαμίνη, 2: διφεριπρόνη, 3: συνδυασμός δεσφериοξαμίνης και διφεριπρόνης, * ετών)

A3) Ασθενείς με μείζονα β-μεσογειακή αναιμία

Κορτιζόλη μετάγγιση πρωί	κορτιζόλη μετάγγιση βράδυ	Διαφορά κορτιζόλης πρωί-βράδυ	κορτιζόλη τυχαία μέρα πρωί	κορτιζόλη τυχαία μέρα βράδυ	κορτιζόλη τυχαία μέρα πρωί-βράδυ
10,98	7,03	3,95	16,53	4,01	12,52
9,43	8,80	0,63	14,85	9,24	5,61
23,07	15,70	6,37	21,10	18,15	2,95
16,70	15,23	1,47	10,07	17,38	-7,31
7,86	3,41	4,45	.	.	.
13,06	9,69	3,37	13,42	13,49	-0,07
12,06	11,31	0,75	26,70	24,85	1,85
9,73	11,15	-1,43	22,00	13,74	8,26
10,04	9,79	0,25	26,03	18,98	7,05
11,81	9,66	2,15	.	.	.
9,54	5,87	3,67	14,56	6,91	7,65
11,40	12,47	-1,07	21,48	6,66	14,82
19,10	6,81	12,29	.	.	.
7,73	2,09	5,64	10,92	11,28	-0,36
11,46	10,29	1,17	16,28	7,73	8,55
15,47	10,15	5,32	14,50	5,00	9,50
15,46	9,38	6,08	23,09	15,00	8,09
12,09	6,34	5,75	22,55	5,02	17,53
13,13	8,18	4,95	20,64	12,60	8,04
10,13	11,94	-1,81	22,69	4,76	17,93
22,05	11,17	10,88	17,01	8,34	8,67
13,80	13,29	0,51	.	.	.
19,88	13,20	6,68	24,78	12,16	12,62
10,94	7,84	3,10	22,45	9,48	12,97
8,77	8,10	0,67	10,31	9,01	1,30

A4) Ασθενείς με μείζονα β-μεσογειακή αναιμία

	Hamiltons μετάγγιση	Hamiltons τυχαία	Zung μετάγγιση	Zung τυχαία	X1 state μετάγγιση	X1 state τυχαία	X2 trait μετάγγιση	X2 τυχαία
1)	14,00	13,00	38,00	37,00	51,0	51,00	51,00	51,00
2)	6,00	4,00	34,00	32,00	29,00	50,00	35,00	
3)	8,00	5,00	34,00	.	50,0.	49,00	.	
4)	9,00	3,00	28,00	38,00	40,00	54,00	24,00	57,00
5)	8,00	.	30,00	.	33,00	.	37,00	.
6)	3,00	.	25,00	.	42,00	.	47,00	.
7)	13,00	6,00	39,00	.	35,00	34,00	35,00	32,00
8)	3,00	1,00	24,00	28,00	24,00	23,00	26,00	23,00
9)	8,00	7,00	45,00	39,00	42,00	38,00	37,00	45,00
10)	2,00	.	23,00	.	27,00	.	23,00	.
11)	3,00	2,00	35,00	39,00	25,00	28,00	26,00	38,00
12)	18,00	.	39,00	28,0	49,00	46,00	51,00	43,00
13)	4,00	.	29,00	.	33,00	.	24,00	.
14)	5,00	8,00	39,00	44,00	38,00	48,00	39,00	53,00
15)	4,00	.	31,00	40,00	36,00	41,00	41,00	44,00
16)	5,00	0,00	23,00	26,00	33,00	26,00	22,00	20,00
17)	-	9,00	.	41,00	38,00	37,00	37,00	39,00
18)	3,00	0,00	23,00	.	28,00	21,00	28,00	23,00
19)	3,00	.	28,00	.	23,00	.		
20)	14,00	.	42,00	.	44,00	.	37,00	.
21)	5,00	4,00	44,00	41,0	42,00	39,00	39,00	33,00
22)	6,00	.	36,00	.	36,00	.	41,00	.
23)	-	3,00	42,0	43,0	41,00	42,00	43,00	44,00
24)	6,00	4,00	27,00	28,00	38,00	33,00	49,00	29,00
25)	14,00	16,00	41,00	41,00	44,00	48,00	35,00	37,00

B) Ομάδα ελέγχου

Αρ.	Ηλικία	Κορτιζόλη πρωί	Κορτιζόλη βράδυ
1)	32,00	18,27	5,08
2)	30,00	26,36	11,67
3)	32,00	13,72	10,32
4)	26,00	14,47	15,40
5)	33,00	18,09	10,12
6)	34,00	19,39	5,18
7)	30,00	25,31	8,34
8)	35,00	18,36	11,64
9)	36,00	17,01	6,81
10)	37,00	14,90	7,96
11)	25,00	10,03	6,47
12)	23,00	13,33	8,47
13)	26,00	17,01	6,34
14)	37,00	14,14	7,13
15)	33,00	17,06	11,38