



ΟΚΤΩΒΡΙΟΣ 2010

ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΙΚΟ ΤΕΥΧΟΣ 2



ΕΝΗΜΕΡΩΤΙΚΟ ΔΕΛΤΙΟ



ΠΡΑΚΤΙΚΑ ΣΥΝΕΔΡΙΟΥ



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ - ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ
Αλωπεκής 47 - 106 76 Αθήνα - τηλ.: 210 3645751
www.eekx-kb.gr

εστιάζω ρ. μετβ: θέτω ως κέντρο, κύριο σκοπό του ενδιαφέροντός μου ή της δράσης μου, επικεντρώνω



focus

• Συνέδρια

• Εκπαιδευτικές Εκδηλώσεις • Μαθήματα

• Ενημέρωση Κοινού

• Βιβλία

• Περιοδικά & Ανάτυπα

• Ενημερωτικά Έντυπα

• Εκπαιδευτικό Υλικό

• Μεταφράσεις

• Medical Writing

• Διαδίκτυο & Πολυμέσα

• Εκθεσιακά Συστήματα

• Δημιουργικός Σχεδιασμός

• Εταιρική Παρουσία

• www.focusonhealth.gr



focus on health ΕΠΕ

Ιωάννου Γενναδίου 16, Αθήνα, 11521 • Τ: 210 7223046 Φ: 210 7223220 • e-mail: info@focusonhealth.gr

εκδόσεις | **επικοινωνία** | διαφήμιση

Περιεχόμενα

- 5 Γενικές πληροφορίες
- 6 Χορηγοί/Βραβεία
- 7 Τελικό πρόγραμμα
- 11 Ομιλίες
- 39 Προφορικές ανακοινώσεις
- 51 Αναρτημένες ανακοινώσεις
- 89 Ευρετήριο συγγραφέων
- 91 Κατάλογος προέδρων - συντονιστών - ομιλητών

Διοικητικό Συμβούλιο

Πρόεδρος: Κ. Ψαρρά
 Αντιπρόεδρος: Α. Σταθάκη-Φερδεριγίου
 Γ. Γραμματέας: Φ. Καράμπαμπα
 Αν. Γεν. Γραμματέας: Α. Χαλιάσος
 Ταμίας: Ε. Μπότουλα
 Μέλη: Α. Διακουμή-Σπυροπούλου, Χ. Κρούπης

Ιδιοκτήτης: ΕΕΚΧ-ΚΒ

Αλμπεκής 47 - 106 76 Αθήνα
 Τηλ.: 210 3645751 - Fax: 210 3645392

Διευθύντρια Σύνταξης

Κ. Ψαρρά
 Νοταρά 39, 106 83 Αθήνα
 E-mail: stcps@hol.gr

Επιτροπή Σύνταξης

Μ. Βικεντίου, Μ. Γαροφαλάκη, Α. Γρηγοράτου,
 Ε. Κώνστα, Κ. Κωνσταντίνικου, Β. Λόη,
 Ν. Παπαγεωργάκης

Εκδότης

Σταμάτης Σταματόπουλος
 Focus on Health ΕΠΕ

Δημιουργικός Σχεδιασμός

Multimedia Trend ΕΠΕ

Επιμέλεια - Παραγωγή

Focus on Health ΕΠΕ
 Ιωάννου Γενναδίου 16, 11521 Αθήνα,
 Τηλ.: 210-7223046, Fax: 210-7223220
 E-mail: info@focusonhealth.gr

Κωδικός Διεύθυνσης Εποπτείας ΜΜΕ: 4283

ΕΠΙΣΤΟΛΗ ΤΗΣ ΠΡΟΕΔΡΟΥ ΤΟΥ ΣΥΝΕΔΡΙΟΥ

Αγαπητοί συνάδελφοι και φίλοι,

με χαρά σας προσκαλώ στο **9^ο Πανελλήνιο Συνέδριο**, που διοργανώνεται από την **Ελληνική Εταιρεία Κλινικής Χημείας-Κλινικής Βιοχημείας**. Το Συνέδριο θα διεξαχθεί στις σύγχρονες εγκαταστάσεις του **Κέντρου Τεχνών (ACS)** στο Χαλάνδρι στις **7, 8 και 9 Οκτωβρίου 2010**.

Όσοι απασχολείστε στα Διαγνωστικά εργαστήρια Κλινικής Χημείας ή σε Ερευνητικά Εργαστήρια ή σε Κέντρα σε αντικείμενα συναφή με την Κλινική Χημεία ή γενικότερα την Εργαστηριακή Ιατρική, γνωρίζετε καλά ότι το Συνέδριο αυτό, όπως και όλα τα προηγούμενα που έχει διοργανώσει η εταιρεία μας, αποτελεί κινητήρια δύναμη για την προώθηση της γνώσης και των νέων σύγχρονων τεχνολογιών στον τομέα της εργαστηριακής διάγνωσης, πρόγνωσης και πρόληψης. Επί πλέον συμβάλλει στην εφαρμογή πολιτικής Ποιότητας στη λειτουργία των διαγνωστικών εργαστηρίων τόσο στις αναλυτικές διαδικασίες, όσο και σε όλους τους τομείς που σχετίζονται με το διαγνωστικό έργο τους.

Η φετινή συνάντησή μας θα επικεντρωθεί στο θέμα της ενίσχυσης της συνεργασίας όλων των κλάδων, που απασχολούνται στο Κλινικό Εργαστήριο και νοιάζονται για το επιστημονικό και θεσμικό του ρόλο στον χώρο της Υγείας, καθώς και στην κατάργηση των ξεπερασμένων ρόλων και των κλαδικών στεγανών και στην καθιέρωση της συμμετοχικής λειτουργίας, του διαλόγου και της ανταλλαγής γνώσεων, εμπειριών και αντιλήψεων σε ισότιμη βάση. Είμαστε σίγουροι ότι θα αποδειχθεί, και κατά τις εργασίες του Συνεδρίου, όπως και στην καθημερινή πράξη, ότι στην πολύπλευρη δουλειά και επιστημονική εγρήγορση που απαιτεί το Εργαστήριο «...κανείς δεν περισεύει...».

Σας καλούμε λοιπόν να συμμετέχετε στο **9^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Κλινικής Χημείας** παρουσιάζοντας το επιστημονικό σας έργο και συζητώντας τις εμπειρίες και απόψεις σας κατά τη διάρκεια των εργασιών του. Ελπίζουμε στη δική σας ανταπόκριση, και υποσχόμαστε τις δικές μας προσπάθειες για την καλύτερη φιλοξενία και οργάνωση.

Η Πρόεδρος του Συνεδρίου

Φωτεινή Καράμπαμπα

ΔΙΟΙΚΗΤΙΚΟ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΙΑΣ ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ - ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ

Πρόεδρος:	Ψαρρά Αικατερίνη
Αντιπρόεδρος:	Σταθάκη-Φερδερίγου Αγγελική
Γεν. Γραμματέας:	Καράμπαμπα Φωτεινή
Αν. Γεν. Γραμματέας:	Χαλιάσος Αλέξανδρος
Ταμίας:	Μπότουλα Ευθυμία
Μέλη:	Διακουμή-Σπυροπούλου Παναγιώτα Κρούπης Χρήστος

ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΤΟΥ ΣΥΝΕΔΡΙΟΥ

Καράμπαμπα Φωτεινή

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Πρόεδρος:	Λιανίδου Ευρύκλεια		
Μέλη:	Βογιατζάκης Ευάγγελος	Καψιμάλη Βιολέττα	Σκορίλας Ανδρέας
	Βυλιώτου Βασιλική	Κρούπης Χρήστος	Σπυρόπουλος Βασίλης
	Γαροφαλάκη Μαρία	Κωτσοβασίλης Κωνσταντίνος	Σπυροπούλου Παναγιώτα
	Διαδιώτης Λουκάς	Ματσάγγος Σπυρίδων	Τσατσάνης Χρήστος
	Ζουλλιέν Ζεράρ	Μπάρδη Γεωργία	Φλέβα Αλεξάνδρα
	Κακλαμάνης Λουκάς	Μπαρτζελιώτου Αναστασία	Χριστόπουλος Θεόδωρος
	Καραμάνος Νίκος	Παπαλέξης Πέτρος	
	Καρίκας Γεώργιος-Αλβέρτος	Ρίζος Δημήτρης	

ΟΡΓΑΝΩΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Πρόεδρος:	Μπότουλα Ευθυμία		
Μέλη:	Αθανασιάδης Θεόφιλος	Δάγλα Κλεοπάτρα	Μακεδάκης Γιώργος
	Αλεξόπουλος Κώστας	Κολιός Γιώργος	Μαργέλη Αλεξάνδρα
	Βογιατζής Κωνσταντίνος	Λεϊμονή Ειρήνη	Πεσίνη Δήμητρα
	Βικεντίου Μυροφόρα	Λόη Βασιλική	Τογκουσίδης Ηλίας

ΥΠΕΥΘΥΝΗ ΧΟΡΗΓΙΩΝ - ΕΚΘΕΣΗΣ - ΔΙΑΦΗΜΙΣΗΣ

Μπότουλα Ευθυμία

ΓΕΝΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

ΣΗΜΑΝΤΙΚΕΣ ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΕΣ

• Προθεσμία Υποβολής Περιλήψεων Εργασιών	15-6-2010
• Απαντήσεις Αποδοχής Εργασιών	30-7-2010
• Τελευταία Προθεσμία Μειωμένης Συνδρομής	20-9-2010
• Ημερομηνίες Τέλεσης Συνεδρίου	7-9 Οκτωβρίου 2010
• Ώρες Συνεδριάσεων	7 Οκτωβρίου 2010: 16:30-20:30 8 Οκτωβρίου 2010: 09:30-21:00 9 Οκτωβρίου 2010: 09:30-21:30

ΤΟΠΟΣ ΔΙΕΞΑΓΩΓΗΣ ΣΥΝΕΔΡΙΟΥ

Κέντρο Τεχνών στο ACS.

ΓΛΩΣΣΑ

Επίσημη γλώσσα του Συνεδρίου θα είναι η Ελληνική. Οι διαλέξεις των ξένων ομιλητών θα γίνουν στην Αγγλική γλώσσα.

ΔΙΚΑΙΩΜΑ ΣΥΜΜΕΤΟΧΗΣ

Δικαίωμα συμμετοχής	Έως 20/9/2010	Μετά τις 20/9/2010
Μέλη της Εταιρείας	100 €	130 €
Τεχνολόγοι	50 €	80 €
Φοιτητές ή σπουδαστές	20 €	20 €

Το δικαίωμα συμμετοχής περιλαμβάνει:

- Παρακολούθηση επιστημονικών συνεδριάσεων
- Συνεδριακό υλικό (τσάντα συνεδρίου, τελικό πρόγραμμα, βιβλίο περιλήψεων, πιστοποιητικό παρακολούθησης)
- Καφέ και βουτήματα στα διαλείμματα
- Συμμετοχή στη δεξίωση υποδοχής και στην τελετή λήξης.

ΔΙΚΑΙΩΜΑ ΣΥΜΜΕΤΟΧΗΣ ΚΛΙΝΙΚΟΥ ΦΡΟΝΤΙΣΤΗΡΙΟΥ

Δικαίωμα συμμετοχής σε κλινικό φροντιστήριο	Έως 20/9/2010
	50 €

Σημείωση: Θα τηρηθεί σειρά προτεραιότητας με μέγιστη συμμετοχή τα 40 άτομα ανά Κλινικό Φροντιστήριο με βάση την ημερομηνία κατάθεσης της συμμετοχής.

Το δικαίωμα συμμετοχής Κλινικού Φροντιστηρίου περιλαμβάνει:

- Παρακολούθηση Κλινικού Φροντιστηρίου, παραλαβή πιστοποιητικού συμμετοχής και παραλαβή βιβλίου παρουσιάσεων του Φροντιστηρίου.

Σημείωση: Απαραίτητη προϋπόθεση για τη συμμετοχή σε Κλινικό Φροντιστήριο θεωρείται η ταυτόχρονη εγγραφή στο Συνέδριο.

ΕΚΘΕΣΗ

Στη διάρκεια του συνεδρίου θα λειτουργήσει έκθεση οργάνων και αντιδραστηρίων από τις εμπορικές Εταιρείες που δραστηριοποιούνται στο χώρο της Κλινικής Χημείας. Η έκθεση θα πραγματοποιηθεί στο χώρο του Συνεδριακού Κέντρου.

ΓΡΑΜΜΑΤΕΙΑ ΣΥΝΕΔΡΙΟΥ

Focus on Health

Ιωάννου Γενναδίου 16, 11521 Αθήνα, Τηλ.: 210-7223046, Fax: 210-7223220

e-mail: info@focusonhealth.gr

ΧΟΡΗΓΟΙ

Π.Ν. Γερολυμάτος Α.Ε.

Roche Diagnostics Α.Ε.

Alapis Medical and Diagnostics Α.Ε.

Abbott Diagnostics Α.Β.Ε.Ε.

Μάγειρας Διαγνωστικά Μηχανήματα Α.Ε.

Menarini Diagnostics Α.Ε.

Medicon Ελλάς Α.Ε.

Biorad Laboratories Μ. Ε.Π.Ε.

Siemens Α.Ε.

ΒΡΑΒΕΙΑ

Το βραβείο της καλύτερης προφορικής παρουσίασης αποτελεί προσφορά της κυρίας Σοφίας Κάκαρη, σε μνήμη του συζύγου της Νικολάου Δημητρίου.

Το βραβείο της καλύτερης αναρτημένης ανακοίνωσης αποτελεί προσφορά της ΕΕΚΧ-ΚΒ σε μνήμη του δάσκαλου και συμπαραστάτη της Κώστα Σέκερη.

ΤΕΛΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ

ΠΕΜΠΤΗ 07-10-2010	
16:30-18:30	Εγγραφές
18:00-18:30	Διάλειμμα καφέ
18:30-19:00	Έναρξη - Χαιρετισμοί Πρόεδροι: Ε. Λιανίδου, Κ. Ψαρρά, Φ. Καράμπαμπα
19:00-19:30	Εκδήλωση για τη ζωή και το έργο του Κ. Σέκερη Πρόεδροι: Α. Δεσίπρης, Ε. Λιανίδου Ομιλητής: Ε. Φραγκούλης
19:30-20:00	Standardisation and improvement of generic pre-analytical tools and procedures for <i>in vitro</i> diagnostics (SPIDIA Project) Πρόεδροι: Δεσίπρης, Ε. Λιανίδου Ομιλητής: M. Pazzagli
20:00-20:30	Μουσική εκδήλωση
20:30	Δεξίωση
ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ 08-10-2010	
09:30-11:00	Προφορικές ανακοινώσεις Πρόεδροι: Μ. Γαροφαλάκη, Γ. Μπάρδη <ol style="list-style-type: none"> 1. EVALUATION OF LIVER FIBROSIS IN PATIENTS WITH THALASSEMIA: THE IMPORTANT ROLE OF HYALURONIC ACID M. Papastamataki 2. ΕΠΙΚΥΡΩΣΗ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟΥ ΜΕΛΕΤΗΣ ΝΚ ΚΑΙ ΝΚΤ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΜΕ ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑ ΡΟΗΣ Ε. Κώνστα 3. ΕΠΙΚΥΡΩΣΗ ΤΟΥ ΑΝΟΣΟΦΑΙΝΟΤΥΠΟΥ ΤΩΝ ΜΥΕΛΟΔΥΣΠΛΑΣΤΙΚΩΝ ΣΥΝΔΡΟΜΩΝ Μ. Βικεντίου 4. ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΜΕΘΥΛΙΩΣΗΣ ΣΕ ΟΓΚΟΚΑΤΣΤΑΛΤΙΚΑ ΚΑΙ ΚΑΤΑΣΤΑΛΤΙΚΑ ΓΟΝΙΔΙΑ ΤΗΣ ΜΕΤΑΣΤΑΣΗΣ ΣΕ ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΝΤΑ ΚΑΡΚΙΝΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ (CTCs) Μ. Χειμωνίδου 5. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΝΤΩΝ ΚΑΡΚΙΝΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΜΕ ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑ ΡΟΗΣ Κ. Δάγλα 6. MICRO-RNAS PARTICIPATE IN THE CONTROL OF THE INFLAMMATORY RESPONSE: POTENTIAL MOLECULAR MARKERS FOR COMPENSATORY ANTI-INFLAMMATORY RESPONSE SYNDROME Χ. Δοξάκη 7. ΤΑΥΤΟΧΡΟΝΗ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΩΝ 15 ΣΥΧΝΟΤΕΡΩΝ ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΩΝ ΣΤΟ ΓΟΝΙΔΙΟ ΤΗΣ β-ΣΦΑΙΡΙΝΗΣ ΣΤΟΝ ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ ΜΕ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΕΠΕΚΤΑΣΗΣ ΕΚΚΙΝΗΤΗ ΚΑΙ ΒΙΟΑΙΣΘΗΤΗΡΑ DNA ΠΟΛΛΑΠΛΗΣ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ Φ. Παπανίκος 8. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΟΥ miRNA-21 ΣΤΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ PDCD4 ΣΤΟ ΜΗ ΜΙΚΡΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ Ι. Σουρβίνου 9. ΚΛΙΝΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ KLK5 & KLK14 ΤΗΣ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΣ ΤΩΝ ΚΑΛΙΚΡΕΪΝΩΝ ΩΣ ΝΕΩΝ ΜΟΡΙΑΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ Μ. Αυγέρης
11:00-11:30	Ειδικά θέματα διαπίστευσης. Στόχοι και δείκτες ποιότητας στα διαγνωστικά εργαστήρια Πρόεδροι: Μ. Γαροφαλάκη, Γ. Μπάρδη Ομιλήτρια: Α. Φερδεριγού
11:30-12:00	Διάλειμμα καφέ
12:00-12:30	Το γήρας και η έκπτωση της ανοσιακής επάρκειας Πρόεδροι: Β. Καψιμάλη, Α. Φλέβα Ομιλήτρια: Κ. Ψαρρά
12:30-13:00	Ιατρικές εφαρμογές ανασυνδυασμένης ερυθροποιητίνης και αναλόγων Πρόεδροι: Β. Καψιμάλη, Α. Φλέβα Ομιλήτρια: Χ. Τσιτσιμπίκου
13:00-14:00	Δορυφορικό Συμπόσιο με τη χορηγία της MEDIMEC
14:00-16:00	Γεύμα

16:00-16:30	Τα κυκλοφορούντα καρκινικά κύτταρα (Circulating Tumor Cells, CTCs), ως νέοι δείκτες καρκίνου Συντονιστής: Χ. Κρούπης Ομλήτρια: Ε. Λιανίδου	
16:30-18:00	Στρογγυλό τραπέζι: Νεότερες εξελίξεις στη μοριακή διαγνωστική του καρκίνου Συντονιστές: Χ. Κρούπης, Ε. Λιανίδου Χ. Κρούπης: Νέα γονίδια κληρονομούμενου καρκίνου του μαστού Α. Σκορίλας: Νέοι μοριακοί δείκτες για τη διαφορική διάγνωση και πρόγνωση του καρκίνου Γ. Σουγκλάκος: Από το εργαστήριο στην καθ' ημέρα κλινική πράξη: Ο δρόμος της εξατομικευμένης Ιατρικής	
18:00-18:30	Διάλειμμα καφέ	
18:30-19:00	Οι εξετάσεις στο σημείο φροντίδας (PoCT) Πρόεδρος: Α. Κακλαμάνης Ομλήτης: Β. Σπυρόπουλος	
19:00-21:00	Στρογγυλό τραπέζι: Οι μεταπτυχιακές σπουδές στην Κλινική Χημεία-Κλινική Βιοχημεία στην Ελλάδα Συντονίστρια: Ε. Λιανίδου Ε. Λιανίδου: Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Κλινικής Χημείας του Τμήματος Χημείας, ΕΚΠΑ: Παρουσίαση και αξιολόγηση 16 ετών συνεχούς λειτουργίας Ε. Φραγκούλης: Διατμηματικό Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Κλινικής Βιοχημείας - Μοριακής Διαγνωστικής, ΕΚΠΑ: Παρουσίαση και αξιολόγηση 8 ετών συνεχούς λειτουργίας Ν. Καραμάνος: Euro Master: Ευρωπαϊκή προοπτική των μεταπτυχιακών διπλωμάτων Ειδίκευσης Δ. Ρίζος: Οργάνωση και λειτουργία του Μητρώου Κλινικών Χημικών-Κλινικών Βιοχημικών: Μια σημαντική κατάκτηση της Κλινικής Χημείας στην Ελλάδα	
ΣΑΒΒΑΤΟ 09-10-2010		
09:30-11:00	<p>Προφορικές ανακοινώσεις Πρόεδροι: Α. Μπαρτζελιώτου, Ο. Παναγιωτάκης</p> <p>1. ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΓΡΑΜΜΙΚΗΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ ΜΕΤΑΞΥ ΣΥΣΤΑΤΙΝΗΣ C ΚΑΙ ΚΡΕΑΤΙΝΙΝΗΣ ΟΥΟΥ ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΝΕΦΡΙΚΗΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ Σ. Ιωαννίδου</p> <p>2. NEPHELOMETRIC MEASUREMENT OF CYSTATIN C, HOMOCYSTEINE AND C-REACTIVE PROTEIN IN PATIENTS WITH CHRONIC KIDNEY DISEASE (CKD) AND ASSOCIATION WITH CARDIOVASCULAR RISK M. Lagiou</p> <p>3. ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΒΙΟΧΗΜΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΤΗΣ ΟΣΤΕΟΛΥΣΗΣ ΣΤΗΝ ΟΣΤΙΚΗ ΜΕΤΑΣΤΑΣΗ M.-I.X. Έλληνα</p> <p>4. Η ΣΥΜΒΟΛΗ ΤΟΥ Β-ΤΥΠΟΥ ΝΑΤΡΙΟΥΡΗΤΙΚΟΥ ΠΕΠΤΙΔΙΟΥ BNP ΣΤΗΝ ΔΙΑΦΟΡΙΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΜΕΤΑΞΥ ΔΙΔΡΩΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΕΞΙΔΡΩΜΑΤΟΣ Ε. Παπαευσταθίου</p> <p>5. SIDERITIS EUBOEA EXTRACT MAY IMPROVE RISK FACTORS OF CARDIOVASCULAR DISEASE Ε. Κασσή</p> <p>6. ΜΕΛΕΤΗ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΓΛΥΚΟΖΗΣ ΚΑΙ ΓΛΥΚΟΖΥΛΩΜΕΝΗΣ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗΣ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΟΞΥ ΙΣΧΑΙΜΙΚΟ ΑΓΓΕΙΑΚΟ ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΟ ΕΠΕΙΣΟΔΙΟ Σ. Πατιάκας</p> <p>7. THE IMPACT OF VARIATION IN SERUM CREATININE DETERMINATIONS ON GFR ESTIMATION (EGFR) – ANALYSIS OF DATA FROM THE GREEK EXTERNAL QUALITY ASSESSMENT SCHEME Α. Haliassos</p> <p>8. ΜΗ ΕΠΕΜΒΑΤΙΚΟΣ ΠΡΟΓΕΝΝΗΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ, ΜΕ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΠΑΤΡΙΚΩΝ ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΩΝ, ΣΤΟ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΟ ΑΙΜΑ ΤΗΣ ΕΓΚΥΟΥ, ΓΙΑ ΤΙΣ ΔΥΟ ΣΥΧΝΟΤΕΡΕΣ ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΙΣ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗΣ ΑΝΑΙΜΙΑΣ ΣΤΟΝ ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ Α. Δεστούνη</p> <p>9. ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ ΜΕΤΑΓΡΑΦΩΝ TWIST1 ΚΑΙ CK-19 ΣΕ ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΝΤΑ ΚΑΡΚΙΝΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΚΑΡΚΙΝΟ ΜΑΣΤΟΥ Α. Στρατή</p>	<p>9:00-11:00 Κλινικό Φροντιστήριο I Η μοριακή διαγνωστική στο σύγχρονο Κλινικό Εργαστήριο Συντονιστές: Χ. Κρούπης, Ε. Λιανίδου Χ. Κρούπης: Μοριακή ανίχνευση DNA/RNA του ιού των ανθρώπινων θηλωμάτων HPV Μ. Γαροφαλάκη: Η μοριακή διαγνωστική στη διάγνωση και παρακολούθηση ασθενών με αιματολογικές κακοήθειες Δ. Παρασκευής: Μοριακή διάγνωση και HIV λοίμωξη: Ο ρόλος του σύγχρονου κλινικού εργαστηρίου Ε. Λιανίδου: High Resolution Melting Analysis (HRMA): Μία νέα τεχνική στην υπηρεσία της μοριακής διαγνωστικής</p> <p><i>Στο κλινικό φροντιστήριο θα γίνει παράλληλα και επίδειξη οργάνων Real time PCR, HRMA, και οργάνων για τον ποσοτικό προσδιορισμό DNA, και RNA.</i> Υπεύθυνες: Α. Μάρκου, Α. Στρατή</p> <p>11:00-13:00 Κλινικό Φροντιστήριο II Η Βιοπληροφορική στην υπηρεσία της μοριακής βιολογίας (Bioinformatics) Συντονίστρια: Α. Κουμάντου Σκοπός και Ιστορία της Βιοπληροφορικής Τεχνικές και εργαλεία της Βιοπληροφορικής Βάσεις βιολογικών δεδομένων Ανάλυση και Στοιχισή Αλληλουχιών/Γονιδιωμάτων Φυλογενετική Ανάλυση Ρυθμιστική Ανάλυση Ανάλυση πρωτεϊνικών δομών και αλληλεπιδράσεων πρωτεϊνών Πρωτεομική Κλινικές Εφαρμογές Προσδιορισμός γενετικών δεικτών ασθενειών Διαγνωστικοί δείκτες ασθενειών Σχεδιασμός φαρμάκων</p>

11:00-12:30	Αναρτημένες ανακοινώσεις Πρόεδροι: Β. Βυλλιώτου, Ν. Τράκας
12:30-13:00	Διάλειμμα καφέ
13:00-13:30	Φλεγμονή: Από τη φυσιολογική στην παθολογική διαδικασία Πρόεδροι: Δ. Ρίζος, Β. Λόη Ομιλήτρια: Β. Καψιμάλη
13:30-14:00	Φλεγμονή και μεταβολικό σύνδρομο: Βιοχημικοί και μοριακοί δείκτες Πρόεδρος: Β. Λόη, Δ. Ρίζος Ομιλητής: Χ. Τσατσάνης
14:00-15:00	Δορυφορικό συμπόσιο με τη χορηγία της ABBOTT
15:00-16:00	Γεύμα
16:00-17:30	Στρογγυλό τραπέζι: Ο έλεγχος του μεταγγιζόμενου αίματος Συντονιστές: Α. Δαδιώτης, Ν. Σπυροπούλου Ν. Σπυροπούλου: Ο ορολογικός έλεγχος του μεταγγιζόμενου αίματος Β. Ζευγώλης: Ο μοριακός έλεγχος του αίματος Κ. Σταμούλης: Αναδυόμενα νοσήματα που μεταδίδονται με το αίμα
17:30-18:00	Present and future of diagnostic testing Πρόεδρος: Ν. Καραμάνος Ομιλητής: Μ. Ferrari
18:00-18:30	Διάλειμμα καφέ
18:30-19:00	Παχυσαρκία στην εμμηνόπαυση Πρόεδρος: Δ. Ρίζος Ομιλητής: Γ. Μαστοράκος
19:00-20:30	Στρογγυλό τραπέζι: Βιοδείκτες καρδιαγγειακών νοσημάτων Συντονιστές: Ε.Δ. Βογιατζάκης, Α. Χαλιάσος Μ. Νικολάου: Καρδιακοί βιοδείκτες: Νεότερα δεδομένα Γ. Καρίκας: Ομοκυστεΐνη-παραοξονάση1: Δείκτες του καρδιαγγειακού συστήματος Ι. Παπασωτηρίου: Lp-<i>pl</i>a2, μυελοϋπεροξειδάση και gdf-15 νέοι δείκτες στην αξιολόγηση της καρδιαγγειακής νόσου
20:30-21:30	Εκδήλωση για την προσφορά των γυναικών επιστημόνων στην Κλινική Χημεία-Κλινική Βιοχημεία Συντονίστρια: Κ. Ψαρρά - Απονομή Βραβείων
21:30	Λήξη εργασιών συνεδρίου

ΟΜΙΛΙΕΣ

ΕΙΔΙΚΑ ΘΕΜΑΤΑ ΔΙΑΠΙΣΤΕΥΣΗΣ: ΣΤΟΧΟΙ ΚΑΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΣΤΑ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΑ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑ

Α. Σταθάκη-Φερδερίγου

Διευθύντρια Βιοχημικού Τμήματος, Νοσοκομείου «Ο Άγιος Σάββας»

Το Ινστιτούτο της Ιατρικής (Institute of Medicine, IOM) ορίζει την ποιότητα για τη φροντίδα των ασθενών ως τον «βαθμό που οι υπηρεσίες υγείας, για μεμονωμένα άτομα ή/και πληθυσμιακές μονάδες, αυξάνουν την πιθανότητα λήψεως επιθυμητών αποτελεσμάτων, συνεπή με την ισχύουσα επαγγελματική γνώση».

Με τη Διαπίστευση κατά ΕΛΟΤ EN ISO 15189:2007, τα εργαστήρια που εκτελούν *in vitro* εξετάσεις σε βιολογικά δείγματα, επιχειρούν ακριβώς την ικανοποίηση του κύριου αυτού «Στόχου Ποιότητας» (Quality Goals). Η ποσοτικοποίηση (σύγκριση με ένα κριτήριο) των προσπαθειών του εργαστηρίου προς επίτευξη ενός Στόχου Ποιότητας, περιγράφεται με τους «Δείκτες Ποιότητας» (Quality indicators).

Οι δείκτες ποιότητας αποτελούν χρήσιμα εργαλεία για τη συλλογή και ανάλυση δεδομένων με σκοπό:

- Την ταυτοποίηση, διάρθωση και συνεχή παρακολούθηση των προβλημάτων
- Τη βελτίωση της επίδοσης του εργαστηρίου
- Την ασφάλεια του ασθενούς με τον εντοπισμό και την αποτελεσματική παρέμβαση σε αναφεύμενα προβλήματα
- Την ενδυνάμωση της συνέπειας και προτυποποίησης των βασικών διαδικασιών λειτουργίας των διαγνωστικών εργαστηρίων.

Γ' αυτό, οι δείκτες ποιότητας, πρέπει να είναι σαφείς, μετρήσιμοι, αντικειμενικοί και να καλύπτουν όλα τα στάδια της εργαστηριακής δουλειάς όπως:

- Παραγγελία εξετάσεων
- Ταυτοποίηση ασθενούς, Δειγματοληψία, Μεταφορά
- Ταυτοποίηση δείγματος, Προετοιμασία
- Ανάλυση
- Απόδοση αποτελεσμάτων
- Ερμηνεία αποτελεσμάτων και άλλες ενέργειες.

Στις μετρούμενες ιδιότητες των εργαστηριακών διαδικασιών θα μπορούσαν να περιλαμβάνονται, π.χ.

- Αποδοτικότητα
- Αποτελεσματικότητα
- Οικονομία στα χρησιμοποιούμενα υλικά, στην ενέργεια, στα απόβλητα
- Ίση μεταχείριση των ασθενών (ανεξαρτήτως φύλου, εθνικότητας κοινωνικο-οικονομικής κατάστασης κ.ά.)

- Ασφάλεια
- Έγκαιρη απόδοση των αποτελεσμάτων.

Διάφορες επιστημονικές εταιρείες και οργανισμοί που δραστηριοποιούνται στον τομέα της υγείας έχουν συντάξει οδηγίες για την περιγραφή και την καθιέρωση στόχων και δεικτών ποιότητας (π.χ. η ΕΕΚΧ-ΚΒ στο 1^ο ΣΣΕ). Επίσης, σε εθνικό επίπεδο, τα αρμόδια υπουργεία (π.χ. ΚΛΙΑ 1988 στις ΗΠΑ) θεσπίζουν τη χρήση δεικτών ποιότητας για τον έλεγχο των παρεχομένων στους πολίτες υπηρεσιών, από τα Κλινικά Εργαστήρια διαφόρων ειδικοτήτων.

Τα διαγνωστικά εργαστήρια, στο πλαίσιο της διαπίστευσης των εξετάσεων που διενεργούν, απαιτείται από το σχετικό πρότυπο να χρησιμοποιούν δείκτες ποιότητας για την παρακολούθηση, αξιολόγηση και τεκμηρίωση της συνεισφοράς τους στην ποιότητα των υπηρεσιών που προσφέρουν.

Στην Ελλάδα, το Ε.Σ.Υ.Δ (Εθνικό Συμβούλιο Διαπίστευσης), στην αξιολόγηση των κλινικών εργαστηρίων που διενεργεί, έναν δείκτη ποιότητας του αναλυτικού σταδίου που εξετάζει είναι το z-score των εξετάσεων από τη συμμετοχή του εργαστηρίου σε εξωτερικό πρόγραμμα ελέγχου της ποιότητας.

ΓΗΡΑΣ ΚΑΙ ΕΚΠΤΩΣΗ ΑΝΟΣΙΑΚΗΣ ΕΠΑΡΚΕΙΑΣ

Κ. Ψαρρά

Χημικός

Εισαγωγή

Σε πρόσφατο τεύχος του περιοδικού *El Pais* «100 el elixir de la vida» αναφέρεται: 600 άτομα παγκόσμια έχουν ξεπεράσει τα 110 έτη ηλικίας. Είκοσι έζησαν περισσότερα από 115 χρόνια και μια Γαλλίδα έφθασε τα 122 έτη. Τι τους έκανε να γεράσουν πιο αργά από τους υπόλοιπους; Η επιστήμη έδειξε ότι το οφείλουν στα γονίδια τους και ότι όλοι είχαν εξαιρετικά ισχυρό ανοσιακό σύστημα. Το μυστικό της μακροζωίας φαίνεται να σχετίζεται με αυτά τα επιχειρήματα αλλά και με κάποιο συγκεκριμένο στυλ ζωής.

Η γήρανση είναι ένα φαινόμενο διηνεκούς ενδιαφέροντος ως παγκόσμιο φαινόμενο σε όλες τις ανθρώπινες κοινωνίες. Το γενετικό υπόβαθρο και οι βιοχημικές βάσεις των διεργασιών γήρανσης αποκαλύπτονται σήμερα με άνευ προηγουμένου λεπτομέρεια. Φαίνεται ότι ένα από τα κυριότερα εμπόδια, που πρέπει να υπερπηδηθούν για την επίτευξη μακράς και υγιούς ζωής είναι η διατήρηση καλής λειτουργίας του ανοσιακού συστήματος. Η κύρια αιτία θανάτου σε άτομα, που έχουν φθάσει σε «επιτυχημένη γήρανση» (που γενικά σημαίνει ότι δεν έχουν υποκύψει στον

καρκίνο ή σε καρδιαγγειακό νόσημα), είναι οι λοιμώξεις, που προκαλούνται από *ανοσογήρανση*.(1)

Ανοσογήρανση

Η επιδείνωση της λειτουργίας του ανοσιακού συστήματος λόγω γήρανσης (*immunosenescence – ανοσογήρανση*) πιστεύεται ότι συμμετέχει στη νοσηρότητα και θνησιμότητα του ανθρώπου, προκαλώντας μεγαλύτερη επίπτωση λοιμώξεων, καθώς και αυτοάνοσων φαινομένων και καρκίνου. Η ανοσογήρανση παρατηρείται τόσο στα βραχύβια όσο και στα μακρόβια είδη, ως συνάρτηση της ηλικίας τους σε σχέση με το μέσο όρο ζωής τους, παρά της χρονολογικής ηλικίας τους.(2) Αν και θεωρείται ότι έχει δηλητηριώδη αποτελέσματα μπορεί να εμφανίζει και ευεργετικές επιδράσεις στους ηλικιωμένους, όπως η μειωμένη οξεία απόρριψη στη μεταμόσχευση κερατοειδούς, νεφρού και ήπατος.

Γενικά πρέπει να σημειωθεί ότι έχει παρατηρηθεί θετική συσχέτιση μεταξύ καλής λειτουργίας του ανοσιακού συστήματος καθώς και απόλυτου αριθμού λεμφοκυττάρων και μακροζωίας. Υψηλό ποσοστό υπεραιωνόβιων έχουν σχετικά καλά διατηρημένη ανοσιακή λειτουργία σε σχέση με τους λιγότερο ηλικιωμένους και μακροχρόνια μελέτη των πολύ ηλικιωμένων έδειξε ότι η διαιτητική μη επιβίωση σχετιζόταν με μειωμένη πολλαπλασιαστική απάντηση των Τ κυττάρων σε μιτογόνα, υψηλό αριθμό CD8 Τ κυττάρων και χαμηλό αριθμό CD4 Τ και CD19 Β κυττάρων, τα δε αποτελέσματα αυτά είχαν σημασία ως σύνολο και όχι μεμονωμένα.

Επισκόπηση της λόγω γήρατος έκπτωσης της ανοσιακής επάρκειας

Η απορρύθμιση της λειτουργίας των Τ κυττάρων φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο στις διεργασίες της λόγω γήρατος έκπτωσης της ανοσιακής επάρκειας. Οι παράγοντες που συμμετέχουν φαίνεται να είναι α) ελλείμματα των αρχέγονων κυττάρων, β) υποστρόφη του θύμου, γ) ελλείμματα των κυττάρων παρουσιαστών αντιγόνου (APC – antigen presenting cells), δ) γήρανση των ανοσιακών κυττάρων σε ηρεμία, ε) διαταραχή των οδών ενεργοποίησης των ανοσιακών κυττάρων, στ) γήρανση της ικανότητας πολλαπλασιασμού των κλωνικά επεκτεινόμενων κυττάρων.(2)

Ωστόσο, πρόσφατες παρατηρήσεις δείχνουν ότι η ανοσογήρανση δεν συνοδεύεται από αναπόφευκτη και προοδευτική καταστροφή του ανοσιακού συστήματος, αλλά αποτελεί το αποτέλεσμα αναδιάταξης, όπου κάποιες λειτουργίες φαίνονται μειωμένες, άλλες παραμένουν αμετάβλητες ή και αυξάνονται. Επιπρόσθετα φαίνεται ότι το αρχαίο διαμέρισμα της φυσικής ανοσίας παραμένει σχετικά διατηρημένο στη διάρκεια της γήρανσης σε σχέση

με την πιο πρόσφατη και πιο εξεζητημένη ειδική ανοσία, που δείχνει βαθύτερες μεταβολές.

Σε κυτταρικό επίπεδο η εξαρτώμενη από την ηλικία απώλεια ανοσιακής λειτουργίας συσχετίζεται με τη συσσώρευση κυττάρων με 1) ελαττωμένη μεμβρανική ρευστότητα και εισροή Ca²⁺, 2) ελλείμματα στη μετάδοση μηνυμάτων, ιδιαίτερα στο κυτταρικό στρες και στα ρυθμιστικά μονοπάτια της οξειδοαναγωγής. Είναι σημαντικό ότι η ρύθμιση του ευαίσθητου στην κατάσταση οξειδοαναγωγής παράγοντα NF-κΒ τροποποιείται στα γηρασμένα Τ λεμφοκύτταρα και μπορεί να επηρεάζει αρκετούς διαφορετικούς στόχους μετάδοσης μηνύματος.(3)

Το κομμάτι των Τ λεμφοκυττάρων δείχνει μια εξαρτώμενη από την ηλικία ελάττωση του απόλυτου αριθμού των Τ λεμφοκυττάρων (CD3+), που αφορά τόσο τα CD4+ όσο και τα CD8+ λεμφοκύτταρα, που συνοδεύεται από αύξηση των NK κυττάρων με καλά διατηρημένη κυτταροτοξική ικανότητα και από ελάττωση των Β λεμφοκυττάρων. Ένα από τα κύρια χαρακτηριστικά του ανοσιακού συστήματος κατά τη γήρανση είναι μια προοδευτική εξαρτώμενη από την ηλικία ελάττωση των παρθένων Τ κυττάρων, που είναι ιδιαίτερα εκφρασμένη στα CD8+ κύτταρα στα πολύ ηλικιωμένα άτομα. Η προοδευτική εξάντληση αυτού του σημαντικού υποπληθυσμού, που είναι αφιερωμένος στην άμυνα έναντι νέων αντιγονικών ερεθισμών (ιογενών, νεοπλασματικών, βακτηριακών) θα μπορούσε να οφείλεται τόσο σε υποστρόφη του θύμου, όσο και στη χρόνια αντιγονική διέγερση σε όλη τη διάρκεια της ζωής, έχει δε ως συνέπεια και τον περιορισμό του φάσματος των υποδοχών των Τ λεμφοκυττάρων (T cell receptor - TCR repertoire). Επομένως, η ανοσιακή λειτουργία των ηλικιωμένων εξασθενεί λόγω εξάντλησης των παρθένων Τ κυττάρων που αντικαθίστανται από κλωνική επέκταση των CD28- Τ κυττάρων. Η προέλευση των CD28- κυττάρων δεν έχει διευκρινισθεί πλήρως αλλά θεωρείται ότι αντιπροσωπεύουν κύτταρα σε φάση γήρανσης του πολλαπλασιασμού, που χαρακτηρίζεται από βράχυνση των τελομερών και μειωμένη ικανότητα πολλαπλασιασμού.(4)

Ας σημειωθεί εδώ ότι το ανοσιακό σύστημα είναι ιδιαίτερα ευαίσθητο στη βράχυνση των τελομερών καθώς η επάρκεια των κυττάρων του ανοσιακού συστήματος εξαρτάται από την ανανέωση και κλωνική επέκτασή τους. Το μήκος των τελομερών φαίνεται να εξαρτάται από γενετικούς, επιγενετικούς, ορμονικούς (θετική επίδραση οιστρογόνων) και περιβαλλοντικούς παράγοντες (βράχυνση των τελομερών από οξειδωτικό στρες). Τα κύτταρα του ανοσιακού συστήματος είναι μοναδικά μεταξύ των σωματικών κυττάρων στο ότι μπορούν να αυξήσουν την έκφραση της τελομεράσης, του ενζύμου επιμήκυνσης των τελομερών και να περιορίσουν τη φθορά των

τελομερών κατά τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό λόγω ενεργοποίησης.(5)

Μείζον χαρακτηριστικό του ανοσιακού συστήματος στη γήρανση είναι η ενίσχυση των φλεγμονωδών απαντήσεων, καταστρεπτικών για τη μακροζωία. Έτσι έχουν παρατηρηθεί αυξημένα τύπου 1 αλλά και τύπου 2 CD8+ T κύτταρα, αλλά κύρια αυξάνονται τα τύπου 1 CD8+ κύτταρα και μάλιστα τα δραστικά/κυτταροτοξικά και τα μνημονικά. Μείζων δύναμη που οδηγεί σε χρόνια προ-φλεγμονώδη κατάσταση κατά τη γήρανση μπορεί να είναι επιμέρους ιογενείς λοιμώξεις από EBV και CMV, φαίνεται δε ότι σε άτομα ηλικίας μεγαλύτερης των 85 ετών υπερτερούν τα ειδικά για τον CMV CD8+CD28- παρά τα ειδικά για τον EBV CD8+CD28+ T λεμφοκύτταρα.(4)

Η χυμική ανοσία επίσης «φθίνει» λόγω γήρανσης, καθώς παρατηρείται ελάττωση του αριθμού των B λεμφοκυττάρων, (αν και με βραδύτερη βράχυνση τελομερών), ελάττωση παραγωγής ανοσοσφαιρινών (μέσω μεταστροφής τάξης), μειωμένη χημική συγγένεια αντισωμάτων και αύξηση παραγωγής αυτοαντισωμάτων.(1,5)

Τα κύτταρα της μη ειδικής ανοσίας παρουσιάζουν επίσης βράχυνση τελομερών. Ωστόσο, τα ώριμα κοκκιοκύτταρα, μονοκύτταρα και μαστοκύτταρα δεν υπόκεινται σε κυτταρική διαίρεση και το μήκος των τελομερών τους αντανάκλα τη φθορά των τελομερών των προγονικών κυττάρων του μυελού των οστών. Είναι ενδιαφέρον ότι μελέτες σε υπεραιωνόβιους έδειξαν αυξημένο αριθμό κοκκιοκυττάρων, αυξημένη φαγοκυτταρική ικανότητα και αυξημένη παραγωγή κυτταροκινών από τα κοκκιοκύτταρα. Αυτά τα αποτελέσματα διαφέρουν από τα αντίστοιχα σε ηλικιωμένους μικρότερης ηλικίας, που παρουσιάζουν μειωμένο αριθμό και λειτουργικότητα κοκκιοκυττάρων και μονοκυττάρων, υποδεικνύοντας ότι οι υπεραιωνόβιοι αποτελούν μια ειδική ομάδα ηλικιωμένων. Το ανοσιακό τους σύστημα φαίνεται να έχει αναδομηθεί με διαφορετικό τρόπο συνεισφέροντας σε επιτυχή γήρανση.

Τα NK κύτταρα, όπως και τα λοιπά κύτταρα του ανοσιακού συστήματος σε γήρανση, δείχνουν εξαρτώμενη από την ηλικία απώλεια τελομερών. Επιπρόσθετα, τα ώριμα NK κύτταρα (CD56weak CD16+) δείχνουν σημαντικά βραχύτερο μήκος τελομερών από τα άωρα (CD56bright CD16-). Όμως, αντίθετα με τα ώριμα κοκκιοκύτταρα, μονοκύτταρα και μαστοκύτταρα, τα NK κύτταρα μπορούν να μπουν σε πολλαπλασιασμό μετά από αντιγονική διέγερση και έχουν παρατηρηθεί ελαττωμένα επίπεδα τελομεράσης ακόμη και σε ώριμα κύτταρα.(5) Οι μελέτες που αφορούν τα NK κύτταρα σε ανοσογήρανση δείχνουν αλληλοσυγκρούμενα αποτελέσματα, ιδιαίτερα όσον αφορά τον αριθμό και την κυτταροτοξική τους ικανότητα. Οι περισσότερες μελέτες έδειξαν αύξηση του απόλυτου αριθμού και ποσοστού των NK κυττάρων στους ηλικιωμένους και

η κυτταροτοξική δραστηριότητα φαίνεται ανεπηρέαστη, ελαττωμένη ή/και αυξημένη. Οι υπεραιωνόβιοι ωστόσο δείχνουν καλά διατηρημένη κυτταροτοξικότητα και αυξημένο αριθμό NK κυττάρων.

Συμπεράσματα

Κατά την ανοσογήρανση η ειδική ανοσία προοδευτικά επιδεινώνεται με την ηλικία. Οι μεταβολές αφορούν τόσο τα T όσο και τα B λεμφοκύτταρα και αντίστοιχα τόσο την κυτταροεξαρτώμενη, όσο και τη χυμική ανοσία. Η φυσική ανοσία θεωρείται ότι διατηρείται σε μεγάλο βαθμό αν και παρατηρούνται κάποιες εξαρτώμενες από την ηλικία μεταβολές. Σημαντικές παράμετροι του ανοσιακού συστήματος διατηρούνται, ωστόσο, στους υπεραιωνόβιους στη διαδικασία «επιτυχούς γήρανσης». Το κύριο πρόβλημα της ανοσογήρανσης αφορά μια χρόνια προ-φλεγμονώδη κατάσταση, σαν αποτέλεσμα ανισορροπίας μεταξύ φλεγμονωδών και αντι-φλεγμονωδών δικτύων. Το “*inflamm-aging*” (φλεγμονογήρανση)(6) ορίζεται ως η εξαρτώμενη από την ηλικία αύξηση της φλεγμονώδους αντίδρασης και αποτελεί συνέπεια ισόβιου αντιγονικού φορτίου, πολύ συχνά χρόνιων ιογενών λοιμώξεων (CMV) και έκθεσης σε βλαπτικούς παράγοντες. Οι φλεγμονώδεις διεργασίες συσχετίζονται με ποικίλα, σχετιζόμενα με την ηλικία, νοσήματα και συνεισφέρουν τελικά σε ανεπιτυχή γήρανση. Η επιτυχής γήρανση αντιπροσωπεύεται από ενεηκοντούτηδες και υπεραιωνόβιους, που συχνά αποκαλύπτουν καλά διατηρημένες ανοσιακές παραμέτρους και παρουσιάζουν καλύτερους μηχανισμούς ελέγχου των φλεγμονωδών αντιδράσεων.

Επιλεγμένη βιβλιογραφία

1. Caruso C., Buffa S., Candore G. et al. Mechanisms of immunosenescence. *Immunity and ageing* 2009; 6:10.
2. Pawelec G., Remarque E., Barnett Y. et al. T cells and aging. *Frontiers in Bioscience* 1998; 3:59-99.
3. Mazzatti D J, Pawelec G, Longdin R et al. SELDI-TOF-MS ProteinChip array profiling of T-cell clones propagated in long-term culture identifies human profilin-1 as a potential bio-marker of immunosenescence. *Proteome Science* 2007; 5:7.
4. Sansoni P., Vescovini R., Fagnoni R. et al. The immune system in extreme longevity. *Exp Gerontol.* 2008; 43(2):61-5.
5. Kaszubowska L. Telomere shortening and ageing of the immune system. *J of Phys and Pharm* 2008; 59 (supl 9):169-186.
6. Salvioli S., Capri M., Valensin S. et al. Inflamm-aging, cytokines and aging: State of the art, new hypothesis on the role of mitochondria, and new perspectives from systems biology. *Current Pharmaceutical design* 2006; 12:3161-3171.

MEDICAL APPLICATIONS OF RECOMBINANT ERYTHROPOIETINS, ANALOGUES AND MIMETICS AND BIOMONITORING THEREOF

C. Tsitsimpikou

Sub. Secretary of Hellenic Society of Toxicology, Department of Drugs and Narcotics, General Chemical State Laboratory

The present report summarizes biochemical actions and side effects of recombinant erythropoietins (rhEPOs), their analogues and mimetics, their use as therapeutic and abuse as doping agents and the main analytical strategies developed to identify them in athletes' biological fluids. Patients suffering from a wide range of pathologies, such as chronic kidney disease, human brain diseases (like acute ischemic stroke, chronic schizophrenia and chronic progressive multiple sclerosis), chronic heart failure and several malignancies, have benefited from the administration of rhEPOs to correct severe anemia. At the moment, the biological effect of rhEPO is monitored in patients under treatment through measuring hemoglobin concentration. It could be proven useful, however, to directly monitor the actual levels of the administered drug and reveal a dose-dependent correlation with any possible clinical adverse effect observed, therefore being able to adopt a more patient-specific administration regime. The detection method presently approved for doping control is an isoelectric-focusing, double blotting, chemiluminescence assay based on charge differences between isoforms of rhEPOs and native urinary EPO. The advantages and limitations of this method are presented and commented. Indirect evidence of rhEPOs use is based on the analysis of blood parameters (haemoglobin, haematocrit, reticulocytes, macrocytes, etc.) and serum markers (concentration of EPO and serum transferrin receptors, etc.). Enrichment of the screened parameters with gene or biochemical markers revealing altered erythropoiesis could also be a complementary approach.

ΣΤΡΟΓΓΥΛΟ ΤΡΑΠΕΖΙ: ΝΕΟΤΕΡΕΣ ΕΞΕΛΙΞΕΙΣ ΣΤΗ ΜΟΡΙΑΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ

Συντονιστές: Χ. Κρούπης, Ε. Λιανίδου

ΝΕΟΤΕΡΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΣΤΟΝ ΚΛΗΡΟΝΟΜΟΥΜΕΝΟ ΚΑΡΚΙΝΟ ΜΑΣΤΟΥ ΚΑΙ ΩΘΗΚΩΝ. ΝΕΑ ΓΟΝΙΔΙΑ PALB2 ΚΑΙ RAD51C

Χ. Κρούπης

MSc, PhD, EurClinChem Λέκτορας Κλινικής Βιοχημείας-Μοριακής Βιολογίας, Αττικόν Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών

Σε ένα μεγάλο ποσοστό οικογενειών με κληρονομούμενο καρκίνο μαστού ή/και ωθηκίων (~50% αναλόγως

του πληθυσμού) δεν έχουν ανιχνευθεί έως τώρα παθολογικές μεταλλάξεις στο περιφερικό αίμα στα δύο σπάνια μεν αλλά υψηλής διεισδυτικότητας γονίδια *BRCA1* και *BRCA2*, παρ' όλες τις τεχνολογικές βελτιώσεις και την εξοχιστική πλέον γενετική ανάλυση που συμπεριλαμβάνει και τους μεγάλους γενωμικούς ανασυνδυασμούς και τις μη-εξονικές περιοχές. Ένα επιπλέον μικρό μεταλλάξεων επίσης ήταν γνωστό ότι υπήρχαν σε γονίδια της ίδιας κατηγορίας υψηλής διεισδυτικότητας *p53*, *PTEN*, *STK11*, *CDH1* τα οποία ωστόσο είναι ευκόλως αναγνωρίσιμα καθώς ο καρκίνος μαστού είναι μέρος ενός ευρύτερου συνδρόμου με πολλαπλούς καρκίνους. Το υπόλοιπο ποσοστό πιστεύεται ότι θα συμπληρωθεί είτε από συνδυασμό χαμηλής διεισδυτικότητας αλλά συχνών μεταλλαγμένων αλληλίων (μέσω genome-wide association studies) είτε από γονίδια μέτριας διεισδυτικότητας όπως τα *ATM*, *CHEK2*, *BRIP1*, *NBS1*, *RAD50* καθώς και το *PALB2* που πρωτοαναφέρθηκε το 2006 καθώς και το προσφάτως συσχετισθέν *RAD51C* [1-3].

Σε αυτά τα δύο τελευταία γονίδια θα αναφερθούμε ιδιαίτερα και θα γίνει προσπάθεια να ενταχθεί ο ρόλος τους στη συνολική προσπάθεια ενός κυττάρου για επιδιόρθωση των βλαβών του DNA και να εξηγηθεί πως συσχετίζονται και με την κακοήγη αναιμία Fanconi. Επίσης, θα δοθεί έμφαση στους πολλαπλούς ρόλους της πρωτεΐνης *BRCA1* και στην ερμηνεία του πιο επιθετικού φαινοτύπου των *BRCA1* καρκίνων. Τέλος, θα αναφερθούμε σε καινούργιες έξυπνες θεραπευτικές προσεγγίσεις για τους ασθενείς αυτούς, οι οποίες βασίστηκαν στη διαλεύκανση των μονοπατιών της DNA επιδιόρθωσης μέσω βασικής έρευνας.

Γονίδιο PALB2

Το γονίδιο αυτό εντοπίστηκε στο χρωμόσωμα 16 (16p12.1) και απλώνεται σε περιοχή 38,2 Kb [4]. Αποτελείται από 13 εξόνια που μεταγράφουν mRNA περίπου 3,5 Kb το οποίο κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη αποτελούμενη από 1186 αμινοξέα (131 KDa) με pI 6,4 και φορτίο -2. Τα εξόνια 4 και 5 είναι αισθητά μεγαλύτερα από τα υπόλοιπα. Το C-τελικό άκρο της πρωτεΐνης *PALB2* -μέσω WD40 περιοχών πλούσιων σε αμινοξέα τρυπτοφάνη και ασπαρτικό-προσκολλάται στο N-τελικό άκρο της πρωτεΐνης *BRCA2* (AA 10-40), συμβάλλοντας στον εντοπισμό του *BRCA2* σε πυρηνικές δομές χρωματίνης, εξ' ου και το πλήρες όνομά του γονιδίου *PALB2*, Partner And Localizer of *BRCA2* [4,5]. Ο συνεντοπισμός των *PALB2* και *BRCA2* αποδείχθηκε με πειράματα ανοσοκαθίζησης και ανοσοφθορισμού μετά από πρόκληση DNA βλαβών με ιονίζουσα ακτινοβολία. Επίσης έλλειμμα στην DNA επιδιόρθωση μέσω ομόλογου ανασυνδυασμού (HR) διαπιστώθηκε μετά από επιμόλυνση με siRNA έναντι του *PALB2*. Προσφάτως βρέθηκε επίσης ότι το N-τελικό άκρο του *PALB2* αλληλεπιδρά και με τη πρωτεΐνη *BRCA1* μέσω coiled coil περιοχών [6]! Γίνεται

πλέον φανερό ότι η DNA επιδιόρθωση με ομόλογο ανασυνδυασμό -στην οποία έχουν μεγάλο ρόλο και τα τρία προαναφερθέντα γονίδια- γίνεται μόνο μέσω υπερμεγεθών μοριακών συμπλεγμάτων [7].

Μεταλλάξεις στο DNA του γονιδίου *PALB2* σε ετεροζυγωτία ανιχνεύθηκαν για πρώτη φορά το 2007 σε οικογένειες με κληρονομούμενο καρκίνο του μαστού αλλά και με παρουσία άλλων καρκινωμάτων [8]. Έχουν ανευρεθεί επίσης σε καρκίνο μαστού στον άνδρα [9] και σε οικογενή καρκίνο παγκρέατος [10]. Διαλληλικές μεταλλάξεις ανιχνεύθηκαν σε περιπτώσεις κακοήθους αναιμίας Fanconi της παιδικής ηλικίας καθώς και σε όγκους της παιδικής ηλικίας [11,12]. Η αναιμία Fanconi (FA) είναι μια σπάνια υπολειπόμενη διαταραχή η οποία είναι ετερογενής κλινικά, ωστόσο έχει ως κοινό εργαστηριακό εύρημα την χρωμοσωματική ευθραυστότητα στον καρυότυπο και ιδιαίτερα μετά από καλλιέργεια ινοβλαστών των ασθενών με μιτομυκίνη C. Κλινικές εκδηλώσεις μπορεί να αποτελούν η προοδευτική εξασθένηση του μυελού των οστών, οι συγγενείς αναπτυξιακές ανωμαλίες και η προδιάθεση για καρκίνο στην παιδική ηλικία συμπεριλαμβανομένων της λευχαιμίας και συμπαγών όγκων (μυελοβλάστωμα, όγκος Wilms). Έως τώρα έχει χωριστεί σε τουλάχιστον 13 κατηγορίες, τις επονομαζόμενες ομάδες συμπληρωματικότητας (FA complementation groups) οι οποίες έχουν αποδοθεί τελικά σε μεταλλάξεις σε 13 γονίδια: *FANCA*-*A-N* (το D έχει δύο: D1 και D2, παραλείφθηκαν H και K). Η αποκατάσταση της έκφρασης του γονιδίου *PALB2* αποκαθιστά το κυτταρικό ελάττωμα της αναιμίας Fanconi της ομάδας N, γι' αυτό και αλλιώς καλείται *FANCN* [11]. Αντίστοιχα σε παλιότερες μελέτες, βρέθηκαν το γονίδιο *BRCA2* να αντιστοιχεί στο *FANCD1* και το γονίδιο *BRIP1* (παλαιότερα *BACH1*) στο *FANCF* [13].

Σε ασθενείς φέροντες *PALB2* μεταλλάξεις, η ηλικία έναρξης του καρκίνου μαστού καθώς και τα ιστοπαθολογικά χαρακτηριστικά (ιστολογικός τύπος, ανοσοϊστοχημική IHC μελέτη ορμονικών υποδοχέων ER/PgR, p53, Ki-67 και ογκογονιδίου HER2) μοιάζουν με καρκίνους προερχόμενους από *BRCA2* μεταλλάξεις [14,15]. Έως τώρα δεν έχει ανευρεθεί LOH (Loss of Heterozygosity) στους καρκινικούς ιστούς των ασθενών αυτών εκτός από μία μελέτη [16] και υπάρχει πιθανότητα να ισχύει το μοντέλο της απλοανεπάρκειας για τη δράση του ογκοκατασταλτικού αυτού γονιδίου [14,15].

Οι μεταλλάξεις που έχουν βρεθεί μέχρι τώρα στο γονίδιο *PALB2* είναι κυρίως κωδικόνια τερματισμού ή αλλαγής πλαισίου ανάγνωσης και απλώνονται σε όλη την έκταση του γονιδίου (ακόμη και στο τελευταίο 13° εξόνιο). Με μεθοδολογία MLPA, έχουν ανιχνευθεί και μεταλλάξεις με μεγάλους γενωμικούς ανασυνδυασμούς [11], ωστόσο εν γένει θεωρούνται σπανιότατες [15,17]. Έως

τώρα, παθογνωμικές *PALB2* μεταλλάξεις ανευρίσκονται σε διάφορους πληθυσμούς σε ποσοστό περίπου 1% των γυναικών με κληρονομούμενο καρκίνο μαστού και ωθηκών που έχουν εξετασθεί με γενετική ανάλυση των γονιδίων *BRCA1/2* και έχουν βρεθεί αρνητικές [14,16,18,19]. Σε κάποιους πληθυσμούς όπως στους Φιλανδούς ή τους Γάλλους του Καναδά ανευρέθηκαν επαναλαμβανόμενες ή ιδρυτικές μεταλλάξεις και μάλιστα ακόμη και σε ασθενείς στους οποίους δεν είχε γίνει επιλογή με βάση το οικογενειακό ιστορικό [14,15]. Στον Ελληνικό χώρο, στο εργαστήριο μας επιχειρήθηκε να γίνει γενετική ανάλυση σε 30 *BRCA(-)* ασθενείς με τη μεθοδολογία αναφοράς DNA Sequencing σε όλα τα εξόνια του *PALB2* γονιδίου. Η προσπάθεια υπήρξε εργώδης και εντοπίστηκαν μόνο πολυμορφισμοί όπως η παρανοηματική αλλοίωση c.1676 A G (Q559R) σε δύο δείγματα και η συνώνυμη c.3300 T G σε άλλα 3 δείγματα [20]. Λόγω της σπανιότητας των παθογνωμικών μεταλλάξεων επιβάλλεται ανάπτυξη γρήγορων μεθοδολογιών σάρωσης σε μεγάλα τμήματα όπως π.χ. η PTT από DNA στα μεγάλα εξόνια 4 και 5, κατά αναλογία με την προηγηθείσα λίαν αποτελεσματική εμπειρία στα γονίδια *BRCA* [21-23].

Γονίδιο *RAD51C*

Η πρωτεΐνη *RAD51C* μετέχει και αυτή στην DNA επιδιόρθωση μέσω ομόλογου ανασυνδυασμού και είναι προϊόν ενός εκ των πέντε παράλογων γονιδίων του *RAD51* (τα άλλα είναι -B, -D, *XRCC-2,-3*). Το γονίδιο εντοπίζεται στη 17q23 θέση και διαθέτει 9 εξόνια. Παθογνωμικές μεταλλάξεις του ανευρέθησαν σε ποσοστό 1,3% Γερμανίδων γυναικών με κληρονομούμενο καρκίνο μαστού και ωθηκών που είχαν εξετασθεί με γενετική ανάλυση των γονιδίων *BRCA1/2* και είχαν βρεθεί αρνητικές [24]. Οι μεταλλάξεις ήταν όλων των ειδών (κωδικονίου τερματισμού, αλλαγής πλαισίου ανάγνωσης, παρανοηματικές, ματισματος). Επίσης, υπομορφική παρανοηματική μετάλλαξη σε ομοζυγωτία ανευρέθηκε και σε μία οικογένεια με αιμομιξία όπου υπήρχαν περιστατικά με Fanconi-like αναιμία με κυρίως αναπτυξιακές συγγενείς ανωμαλίες. Ωστόσο, η προαναφερθείσα συχνότητα αμφισβητήθηκε σε άλλους πληθυσμούς [25,26].

Ρόλος στην επιδιόρθωση του DNA – Σύνδεση με αναιμία Fanconi

Καθημερινώς κάτω από την επίδραση περιβαλλοντικών εξωγενών παραγόντων (ακτινοβολίες, χημικές ουσίες κλπ) συμβαίνουν δεκάδες DNA βλάβες ανά κύτταρο ανά ημέρα. Τα σπασίματα διπλής έλικας (DSB, double stranded breaks) τα οποία προκύπτουν κάτω από την επίδραση ιονίζουσας ακτινοβολίας είναι τα πιο τοξικά και πρέπει να διορθωθούν άμεσα και με αλάθητο τρόπο. Ο ιδανικός

τρόπος είναι ο ομόλογος ανασυνδυασμός (HR, homologous Recombination) και όχι ο NHEJ (non-homologous end joining). Κύτταρα με έλλειμμα στον ομόλογο ανασυνδυασμό είτε οδηγούνται στην απόπτωση είτε σε καρκινογένεση λόγω της ένωσης σπασμένων χρωμοσωμάτων ή της συσσώρευσης μεταλλάξεων λόγω λαθών κατά την NHEJ. Ένα άλλο είδος βλάβης, οι δίκλωνοι δεσμοί (ICLs, Inter-strand crosslinks), οι οποίοι προκαλούνται υπό την επίδραση χημικών όπως η πλατίνα, η μιτομυκίνη C κ.λπ. καταλήγουν και αυτοί -εάν δεν επιδιορθωθούν- σε σπασίματα διπλής έλικας. Πρώτα απ' όλα όμως, πρέπει να εντοπιστούν και στη συνέχεια να επιδιορθωθούν με συνδυασμό μεθόδων επιδιόρθωσης όπως οι NER (Nucleotide excision repair), TLS (trans-lesion synthesis) και τελικά HR. Την ICL βλάβη εντοπίζουν μέσω ATR η ελικάση FANCM και η AP24 πρωτεΐνη και πάνω τους οικοδομείται ο βασικός πυρήνας του Fanconi συμπλέγματος (FANCA, -G, -F, -C, -B, AP100, -E, -L) [27]. Οι δύο τελευταίες έχουν δράση E3 λιγάσης της ουβικιτίνης και μονοουβικιτιλιώνουν τις FANCD2 και FANCI μέσω UBE2T2 [28]. Ο βασικός πυρήνας απομακρύνεται και οι FANCD2 και FANCI είτε συμμετέχουν είτε προσδένουν απλά τις πρωτεΐνες του ομόλογου ανασυνδυασμού BRCA2 (FANCD1), BRIP (FANCI), PALB2 (FANCN) και ίσως και την RAD51C, με τελικό εκτελεστή του HR την RAD51. Εάν δεν υπάρχει ICL, η βλάβη σπασίματος διπλής έλικας εντοπίζεται μέσω ATM και «μαρκάρεται» στη χρωματίνη με φωσφορυλίωση και στη συνέχεια με ουβικιτιλίωση για να έρθουν διαδοχικά αρχικά το σύμπλεγμα BRCA1-ABRAXAS-RAP80 και κατόπιν το σύμπλεγμα MRN (MRE11-RAD50-NBS1) για να συνεργασθούν με το προαναφερθέν σύμπλεγμα πρωτεϊνών που εκτελεί HR [29-31]. Από το προτεινόμενο μοντέλο επιδιόρθωσης των DSB και ICL βλαβών, γίνεται φανερό γιατί μεταλλάξεις σε ορισμένα γονίδια δίνουν μόνο Fanconi αναιμία, σε άλλα μόνο σύνδρομο καρκίνου μαστού ή/και ωθηκών, ενώ σε μερικά δίνουν και τα δύο σύνδρομα [32]!

Νεότερα για τον BRCAness φαινότυπο

Επίσης γίνεται φανερό γιατί μεταλλάξεις στο γονίδιο *BRCA1* προσδίδουν ένα πιο επιθετικό φαινότυπο στους καρκίνους των φορέων και μάλιστα σε πιο νεαρή ηλικία: η πρωτεΐνη *BRCA1* πέραν της συμμετοχής της στη αναδιαμόρφωση της χρωματίνης μετά από DSB καθώς και στον ομόλογο ανασυνδυασμό, μετέχει στο σύστημα ανίχνευσης βλαβών BASC (BRCA1-Associated Surveillance Complex), σταματάει τον κυτταρικό κύκλο στην S-φάση, ουβικιτιλιώνει μέσω της αλληλεπίδρασης με την πρωτεΐνη *BARD1* άλλους στόχους, έχει ρόλο στη μίτωση και ρυθμίζει μεταγραφικά άλλα γονίδια όπως το *ER* μέσω του *ESR1*. Είναι πολύ πιθανό η πρωτεΐνη *BRCA1* να συμμετέχει και σε άλλα μονοπάτια DNA επιδιόρθωσης και ειδικά των

βλαβών εκείνων που προκύπτουν από τους μεταβολίτες των οιστρογόνων και ίσως αυτό θα μπορούσε να εξηγήσει το παράδοξο ότι ενώ είναι γονίδιο έχει γενικό ρόλο στο κύτταρο, οι μεταλλάξεις του προδιαθέτουν κυρίως τις γυναίκες για καρκίνο μαστού και ωθηκών (ενώ οι άνδρες *BRCA* φορείς νοσούν αρκετά σπανιότερα από καρκίνους)!

Ένα 80% των *BRCA1* καρκίνων μαστού ανήκουν στην κατηγορία TNBC (Triple Negative Breast Cancer), δηλαδή το αποτέλεσμα στην ανοσοϊστοχημεία των καρκινικών ιστών είναι ER-/PgR-/HER2-. Εάν γίνει ανάλυση με μικροσυστοιχίες της έκφρασης γονιδίων στους ιστούς αυτούς, ταξινομούνται στον κακής πρόγνωσης βασικοειδή τύπο (basal) [15% όλων των καρκίνων μαστού] και όχι στους καλής πρόγνωσης αυλοκυτταρικούς (luminal) τύπους A και B αλλά και ούτε στην HER2+ υποκατηγορία, στην οποία οι ασθενείς μπορούν να λάβουν αποτελεσματική βιολογική θεραπεία mAb (π.χ. Herceptin) [33]. Τελευταία, έχει προστεθεί και άλλη μια κατηγορία κακής πρόγνωσης με EMT (epithelial to mesenchymal transition) χαρακτηριστικά και claudin-low έκφραση [34]. Η προσθήκη των αντιγόνων CK14 και CK5/6 τα οποία είναι δείκτες βασικοειδούς τύπου στην IHC μελέτη του ιστού αυξάνει την πιθανότητα εύρεσης *BRCA1* μετάλλαξης στη γενετική ανάλυση του περιφερικού αίματος κατά 148 φορές όταν συνυπάρχει ο TNBC φαινότυπος [35]! Ο φαινότυπος BRCAness όμως υπάρχει και σε ένα ποσοστό 25% του σποραδικού καρκίνου καθώς το ίδιο αποτέλεσμα μπορεί να προέλθει και με σίγαση της έκφρασης του *BRCA1* γονιδίου π.χ. με μεθυλίωση των CpG νησίδων στον υποκινητή του.

Έξυπνη θεραπευτική αντιμετώπιση TNBC

Έχει προταθεί η έννοια της «συνθετικής θνητότητας» (synthetic lethality) για τις περιπτώσεις καρκίνων όπου βασικό πρόβλημα αποτελεί γενετικό ελάττωμα σε ένα μονοπάτι DNA επιδιόρθωσης π.χ. τον HR στους TNBC ή/και BRCAness καρκίνους [31,36]. Εάν δοθεί χημειοθεραπευτικό σχήμα που αυξάνει σημαντικά τις βλάβες αυτές οι οποίες επιδιορθώνονται με το HR μονοπάτι (π.χ. πλατίνα), τότε τα καρκινικά κύτταρα ίσως καταφέρουν να επιζήσουν μέσω αύξησης της δραστηριότητας άλλων μονοπατιών επιδιόρθωσης όπως π.χ. το BER (Base excision repair). Εάν όμως συγχωρηγηθεί και ένας αναστολέας του άλλου μονοπατιού, όπως π.χ. ένας αναστολέας *PARP1* (poly (ADP-Ribose) Polymerase 1) ο οποίος παρεμποδίζει την BER επιδιόρθωση, τότε τα καρκινικά κύτταρα θα πεθάνουν ενώ τα φυσιολογικά τελικά θα καταφέρουν να ζήσουν με τον ένα μηχανισμό επιδιόρθωσης. Οι πρώτες κλινικές δοκιμές με τέτοιους αναστολείς (*BSI-201*, *Olaparib*) έχουν ξεκινήσει σε μεταστατικούς TNBC ασθενείς με σχετικά καλά αποτελέσματα αλλά και κάποιες παρενέργειες λόγω μη εκλεκτικότητάς τους ή ακόμη και ανθεκτικότητα λόγω

αναστροφής *BRCA* μετάλλαξης [37,38]. Ίσως η παραγωγή πιο εκλεκτικών έξυπνων θεραπευτικών στο μέλλον να αποτελέσει χημειοπροφύλαξη για τους *BRCA1* φορείς μεταλλάξεων αλλά πιθανόν και για φορείς άλλων γονιδίων όπως π.χ. του *PALB2* όπου και εκεί παρουσιάζεται έλλειμμα στο ίδιο μονοπάτι DNA επιδιόρθωσης.

Νέος αλγόριθμος γενετικής ανάλυσης για κληρονομούμενο καρκίνο μαστού ή/και ωοθηκών

Υπάρχει πληθώρα υπολογιστικών προγραμμάτων για την υποβοήθηση της γενετικής συμβουλευτικής σε ασθενείς με κληρονομούμενο καρκίνο μαστού ή/και ωοθηκών ή σε άτομα με υποψία για προδιάθεση για το σύνδρομο αυτό λόγω οικογενειακού ιστορικού ή σε φορείς μεταλλάξεων όπως τα *BRCA* Risk calculator, *BOADICEA* [39], *BRCAPRO*, *IBIS*, *FHAT*, *Penn*, *Manchester score* κ.λπ. καθώς και βιβλιογραφία για τη συγκριτική τους αξιολόγηση [40]. Είναι φανερό ότι μελλοντικές εκδόσεις των ανωτέρω προγραμμάτων πρέπει -σύμφωνα και με τα νεότερα δεδομένα που προαναφέρθηκαν- να περιλαμβάνουν στοιχεία πέραν της ηλικίας και του οικογενειακού ιστορικού όπως ο ιστολογικός τύπος και η *IHC* μελέτη (όταν υπάρχουν τα δεδομένα) αλλά και να συυπολογίζουν την πιθανότητα ύπαρξης μετάλλαξης και στα υπόλοιπα γονίδια που προδιαθέτουν για καρκίνο μαστού (όπως π.χ. στα γονίδια *PALB2*, *BRIP1*, *RAD51C* κ.λπ.). Στην Ελλάδα μετά την έγγραφη συγκατάθεση του ασθενούς κατά τη γενετική συμβουλευτική, καλό είναι να προηγείται η ανάλυση του εξονίου 20 στο γονίδιο *BRCA1* καθώς και η πλειονότητα των μεταλλάξεων αφορά τις μεταλλάξεις 5382insC και G5331A (G1738R) στο εξόνιο αυτό και έχουν αναπτυχθεί γρήγορες μέθοδοι για την αξιόπιστη ανίχνευσή τους [41,42].

Μελλοντικές εξελίξεις στην γενετική/επιγενετική ανάλυση κληρονομούμενου καρκίνου μαστού ή/και ωοθηκών

Με την έλευση των μεθόδων Next Generation Sequencing και με την ευκολία που παρέχουν, είναι πολύ πιθανό να συμπληρωθεί το ποσοστό οικογενειών με κληρονομούμενο καρκίνο μαστού ή/και ωοθηκών με ανιχνεύσιμη μετάλλαξη έως και το 100%: θα εντοπίζονται σε άλλα γονίδια της DNA επιδιόρθωσης με ομόλογο ανασυνδυασμό (εκτός αυτών που προαναφέρθηκαν εκτενώς). Οι μεταλλάξεις τους μπορεί να είναι παθογενετικές αλλά μπορεί και να ανευρεθούν περιπτώσεις με συνδυασμό υπομορφικών μεταλλάξεων σε πολλά από τα γονίδια με τελικό αποτέλεσμα πάντα έλλειμμα στον ομόλογο ανασυνδυασμό. Ίσως και η επιγενετική μελέτη μπορεί να βοηθήσει σημαντικά καθώς υποκινητές σε ορισμένα από τα γονίδια πιθανότατα θα ανευρεθούν μεθυλιωμένοι.

Βιβλιογραφία

- Hirshfield KM, Rebbeck TR, Levine AJ. Germline mutations and polymorphisms in the origins of cancers in women. *J Oncol* 2010;2010: 297671.
- Campeau PM, Foulkes WD, Tischkowitz MD. Hereditary breast cancer: new genetic developments, new therapeutic avenues. *Hum Genet* 2008;124: 31-42.
- Walsh T, King MC. Ten genes for inherited breast cancer. *Cancer Cell* 2007;11: 103-5.
- Xia B, Sheng Q, Nakanishi K, et al. Control of *BRCA2* cellular and clinical functions by a nuclear partner, *PALB2*. *Mol Cell* 2006;22: 719-29.
- Oliver AW, Swift S, Lord CJ, Ashworth A, Pearl LH. Structural basis for recruitment of *BRCA2* by *PALB2*. *EMBO Rep* 2009;10: 990-6.
- Sy SM, Huen MS, Chen J. *PALB2* is an integral component of the *BRCA* complex required for homologous recombination repair. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009;106: 7155-60.
- Livingston DM. Cancer. Complicated supercomplexes. *Science* 2009;324: 602-3.
- Rahman N, Seal S, Thompson D, et al. *PALB2*, which encodes a *BRCA2*-interacting protein, is a breast cancer susceptibility gene. *Nat Genet* 2007;39: 165-7.
- Silvestri V, Rizzolo P, Zanna I, et al. *PALB2* mutations in male breast cancer: a population-based study in Central Italy. *Breast Cancer Res Treat* 2010.
- Jones S, Hruban RH, Kamiyama M, et al. Exomic sequencing identifies *PALB2* as a pancreatic cancer susceptibility gene. *Science* 2009;324: 217.
- Xia B, Dorsman JC, Ameziane N, et al. Fanconi anemia is associated with a defect in the *BRCA2* partner *PALB2*. *Nat Genet* 2007;39: 159-61.
- Reid S, Schindler D, Hanenberg H, et al. Biallelic mutations in *PALB2* cause Fanconi anemia subtype FA-N and predispose to childhood cancer. *Nat Genet* 2007;39: 162-4.
- Patel KJ. Fanconi anemia and breast cancer susceptibility. *Nat Genet* 2007;39: 142-3.
- Erkko H, Xia B, Nikkila J, et al. A recurrent mutation in *PALB2* in Finnish cancer families. *Nature* 2007;446: 316-9.
- Foulkes WD, Ghadirian P, Akbari MR, et al. Identification of a novel truncating *PALB2* mutation and analysis of its contribution to early-onset breast cancer in French-Canadian women. *Breast Cancer Res* 2007;9: R83.
- Garcia MJ, Fernandez V, Osorio A, et al. Analysis of *FANCB* and *FANCN/PALB2* Fanconi Anemia genes in *BRCA1/2*-negative Spanish breast cancer families. *Breast Cancer Res Treat* 2008.

17. Pylkas K, Erkkö H, Nikkila J, Solyom S, Winqvist R. Analysis of large deletions in BRCA1, BRCA2 and PALB2 genes in Finnish breast and ovarian cancer families. *BMC Cancer* 2008;8: 146.
18. Tischkowitz M, Xia B, Sabbaghian N, et al. Analysis of PALB2/FANCN-associated breast cancer families. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104: 6788-93.
19. Cao AY, Huang J, Hu Z, et al. The prevalence of PALB2 germline mutations in BRCA1/BRCA2 negative Chinese women with early onset breast cancer or affected relatives. *Breast Cancer Res Treat* 2008.
20. Poupouridou N, Tsionou C, Spanos N, Dimas C, Kroupis C. Genetic analysis of PALB2 gene in BRCA (-) Greek patients with hereditary breast and ovarian cancer. *Clin Chem Lab Med* 2009;47: 5166.
21. Kroupis C, Lianidou E, Goutas N, et al. Atypical medullary breast carcinoma in a family carrying the 5382insC BRCA-1 mutation. *Breast J* 2003;9: 260-2.
22. Kroupis C, Lianidou E, Goutas N, et al. Genetic counseling of medullary breast cancer patients. *Clin Genet* 2004;65: 343-4.
23. Kroupis C* and Ladopoulou A*, Konstantopoulou I, et al. Germ line BRCA1 & BRCA2 mutations in Greek breast/ovarian cancer families: 5382insC is the most frequent mutation observed. *Cancer Lett* 2002;185: 61-70 (*equal contributing first authors).
24. Meindl A, Hellebrand H, Wiek C, et al. Germline mutations in breast and ovarian cancer pedigrees establish RAD51C as a human cancer susceptibility gene. *Nat Genet* 2010;42: 410-4.
25. Akbari MR, Tonin P, Foulkes WD, et al. RAD51C germline mutations in breast and ovarian cancer patients. *Breast Cancer Res* 2010;12: 404.
26. Zheng Y, Zhang J, Hope K, et al. Screening RAD51C nucleotide alterations in patients with a family history of breast and ovarian cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2010.
27. Moldovan GL, D'Andrea AD. How the fanconi anemia pathway guards the genome. *Annu Rev Genet* 2009;43: 223-49.
28. de Winter JP, Joenje H. The genetic and molecular basis of Fanconi anemia. *Mutat Res* 2009;668: 11-9.
29. Hoeller D, Dikic I. Targeting the ubiquitin system in cancer therapy. *Nature* 2009;458: 438-44.
30. Bergink S, Jentsch S. Principles of ubiquitin and SUMO modifications in DNA repair. *Nature* 2009;458: 461-7.
31. Jackson SP, Bartek J. The DNA-damage response in human biology and disease. *Nature* 2009;461: 1071-8.
32. Levy-Lahad E. Fanconi anemia and breast cancer susceptibility meet again. *Nat Genet* 2010;42: 368-9.
33. Sorlie T. Molecular portraits of breast cancer: tumour subtypes as distinct disease entities. *Eur J Cancer* 2004;40: 2667-75.
34. Hennessy BT, Gonzalez-Angulo AM, Stemke-Hale K, et al. Characterization of a naturally occurring breast cancer subset enriched in epithelial-to-mesenchymal transition and stem cell characteristics. *Cancer Res* 2009;69: 4116-24.
35. Lakhani SR, Reis-Filho JS, Fulford L, et al. Prediction of BRCA1 status in patients with breast cancer using estrogen receptor and basal phenotype. *Clin Cancer Res* 2005;11: 5175-80.
36. Tutt A, Ashworth A. Can genetic testing guide treatment in breast cancer? *Eur J Cancer* 2008;44: 2774-80.
37. Litman R, Gupta R, Brosh RM, Jr., Cantor SB. BRCA-FA pathway as a target for anti-tumor drugs. *Anticancer Agents Med Chem* 2008;8: 426-30.
38. Lord CJ, Ashworth A. Targeted therapy for cancer using PARP inhibitors. *Curr Opin Pharmacol* 2008;8: 363-9.
39. Antoniou AC, Cunningham AP, Peto J, et al. The BOADICEA model of genetic susceptibility to breast and ovarian cancers: updates and extensions. *Br J Cancer* 2008;98: 1457-66.
40. Panchal SM, Ennis M, Canon S, Bordeleau LJ. Selecting a BRCA risk assessment model for use in a familial cancer clinic. *BMC Med Genet* 2008;9: 116.
41. Kroupis C, Christopoulos K, Devetzoglou M, Tsiagas I, Lianidou ES. Asymmetric real-time PCR detection of BRCA1 5382insC mutation by melting curve analysis in the LightCycler. *Clin Chim Acta* 2008;390: 141-4.
42. Vorkas PA, Christopoulos K, Kroupis C, Lianidou ES. Mutation scanning of exon 20 of the BRCA1 gene by high-resolution melting curve analysis. *Clin Biochem* 2009.

ΝΕΟΙ ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΓΙΑ ΤΗ ΔΙΑΦΟΡΙΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΓΝΩΣΗ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ

A. Σκορίλας

Αναπλ. Καθηγητής Κλινικής Βιοχημείας, Τομέας Βιοχημείας & Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών

Με την ολοκλήρωση του προγράμματος αποκρυπτογράφησης του ανθρώπινου γονιδιώματος άνοιξε ο δρόμος για συστηματικότερη μελέτη του ρόλου των διάφορων νέων γονιδίων ή των μεταβολών της έκφρασής τους σε ποικίλες παθολογικές καταστάσεις και ιδιαίτερα στον καρκίνο. Το γεγονός αυτό οδηγεί στη δυνατότητα ανίχνευσης όχι μόνο νέων προγνωστικών ή και διαγνωστικών δεικτών, αλλά και σε νέες θεραπευτικές προσεγγίσεις με βάση τα βιολογικά χαρακτηριστικά του κάθε ασθενή.

Επιπρόσθετα, συμβάλλει στο σχεδιασμό νέων φαρμάκων, βασισμένων στους βιοχημικούς μηχανισμούς που ελέγχονται από τα νέα γονίδια.

Καρκινικός δείκτης ονομάζεται κάθε παράμετρος που βρίσκεται στα καρκινικά κύτταρα ή παράγεται από τον υγιή οργανισμό ως απάντηση στην παρουσία του όγκου και μπορεί να μετρηθεί ποσοτικά, παρέχοντας πληροφορίες σχετικά με τη διάγνωση, πρόγνωση και παρακολούθηση της θεραπευτικής αγωγής της νόσου. Μόρια που έχουν χαρακτηριστεί ως καρκινικοί δείκτες είναι:

- Ένζυμα, όπως το ειδικό προστατικό αντιγόνο - prostate-specific antigen (PSA), η όξινη προστατική φωσφατάση - prostatic acid phosphatase (PAP), τα ισοένζυμα της αλκαλικής φωσφατάσης - alkaline phosphatase (ALP), και τα ισοένζυμα της γαλακτικής αφυδρογονάσης - lactic dehydrogenase ή (LDH).
- Ορμόνες, όπως η ανθρώπινη χοριακή γοναδοτροπίνη - human chorionic gonadotropin (HCG).
- Αντιγόνα καρκινικών κυττάρων: Καρκινικά αντιγόνα (μεγάλου μοριακού βάρους βλενοπρωτεΐνες) - cancer antigens (CA), όπως το CA125, το CA19-9 και το CA15-3.
- Αντιγόνα που αντιστοιχούν στο εμβρυϊκό στάδιο της εξέλιξης, όπως το καρκινοεμβρυϊκό αντιγόνο - carcinoembryonic antigen (CEA) και η α-εμβρυϊκή πρωτεΐνη - alpha-fetoprotein (AFP).
- Συνάθροισμα αντιγόνων διαφοροποίησης - cluster of differentiation antigens (CDs), όπως τα CD17, CD44, CD31 κ.ά.
- Υποδοχείς ορμονών, όπως οι υποδοχείς οιστραδιόλης (estrogen receptors, ER) και προγεστερόνης (progesterone receptors, PR) στον καρκίνο του μαστού.
- Ογκογονίδια και ογκοκατασταλτικά γονίδια όπως το *HRAS*, το *KRAS* το *MYC*, το *ERBB2* και το *TP53*.

Εκτός από τους, μέχρι σήμερα, ευρέως αποδεκτούς βιοδείκτες που χρησιμοποιούνται σε μεγάλη κλίμακα, τα τελευταία χρόνια έχουν ανακαλυφθεί αρκετοί μοριακοί δείκτες καρκίνου με πολλά υποσχόμενα αποτελέσματα. Οι νέες καλλικρεΐνες (KIKs), το νέο αποπτωτικό γονίδιο *BCL2L12*, το σχετιζόμενο με τον καρκίνο της ωθήκης *SR-A1* και το νέο καρκινοεμβρυϊκό αντιγόνο *CEAL1* (*CEACAM19*) είναι μερικοί χαρακτηριστικοί εκπρόσωποι.

ΑΠΟ ΤΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΣΤΗΝ ΚΑΘ' ΗΜΕΡΑ ΚΛΙΝΙΚΗ ΠΡΑΞΗ: Ο ΔΡΟΜΟΣ ΤΗΣ ΕΞΑΤΟΜΙΚΕΥΜΕΝΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

Ι. Σουγκλάκος

Η σύγχρονη Ιατρική βασίζει τις θεραπευτικές αποφάσεις σε δεδομένα που προκύπτουν από μεγάλες διεθνείς κλινικές μελέτες και οι οποίες συγκρίνουν τη δράση θεραπευτικών

προσεγγίσεων σε μεγάλο αριθμό (συνήθως μερικές χιλιάδες) ασθενών με την ίδια υποκείμενη νόσο. Το όφελος που προκύπτει από μια τέτοια θεραπευτική προσέγγιση δεν είναι ενιαίο για όλους τους ασθενείς, ιδιαίτερα δε αν αναλογιστεί κανείς ότι και η ανοχή στη θεραπεία ποικίλει.

Η έννοια της εξατομικευμένης Ιατρικής προήλθε, αρχικώς, από την κλινική παρατήρηση ότι ασθενείς με την ίδια υποκείμενη νόσο οι οποίοι λαμβάνουν την ίδια θεραπεία όχι μόνο ανταποκρίνονται διαφορετικά στη φαρμακευτική αγωγή αλλά εμφανίζουν ανεπιθύμητες ενέργειες με διαφορετική συχνότητα και βαρύτητα. Ιδιαίτερα, στην ογκολογία όπου το όφελος από τη θεραπεία είναι σχετικώς μικρότερο και οι ανεπιθύμητες ενέργειες σοβαρές και συνήθεις, οι διαφοροποιήσεις από ασθενή σε ασθενή στην ανταπόκριση του όγκου και στην ανοχή της θεραπείας είναι καθοριστικός παράγοντας για τη συνολική υγεία του ασθενούς. Η κλινική αυτή παρατήρηση επιβεβαιώθηκε στη συνέχεια με την ανεύρεση πολύ διαφορετικών τιμών συγκέντρωσης διαφόρων φαρμάκων στο αίμα ή στα ούρα ασθενών με την ίδια νόσο που λάμβαναν την ίδια φαρμακευτική αγωγή. Μόνο αργότερα εξηγήθηκε η βιολογική βάση αυτών των διαφοροποιήσεων, όταν προσδιορίστηκαν τα ένζυμα που εμπλέκονται στο μεταβολισμό των διαφόρων φαρμάκων.

Σήμερα ο στόχος είναι να αξιοποιηθούν δεδομένα που προκύπτουν από διάφορες μεθοδολογίες ώστε να καθοριστεί η πιθανότητα ανταπόκρισης ή τοξικότητας από μια συγκεκριμένη θεραπεία σε ένα συγκεκριμένο ασθενή. Ιδιαίτερα στην ογκολογία για να οδηγηθούμε σε πρακτικά συμπεράσματα χρειάζεται η μελέτη του γονιδιώματος τόσο του ασθενούς όσο και του όγκου.

Υπάρχουν αρκετά παραδείγματα, τα οποία αποδεικνύουν τη σημαντική πρόοδο η οποία έχει επιτελεστεί τα τελευταία χρόνια. Η συστηματική αναζήτηση μεταλλαγών στην αλληλουχία του DNA στον όγκο οδήγησε την αποκάλυψη μεταλλάξεων οι οποίες είναι ζωτικές για την επιβίωση του καρκινικού κυττάρου (π.χ. στρωματικό όγκο του στομάχου) ή προσφέρουν πλεονέκτημα επιβίωσης σε αυτό. Η χρησιμοποίηση στοχευμένων θεραπειών ειδικών για την αναστολή των συγκεκριμένων στόχων οδήγησε, είτε σε αλλαγή της φυσικής ιστορίας της νόσου. Χαρακτηριστικότερο παράδειγμα αποτελεί η θεραπεία με *imatinib* για τους στρωματικούς όγκους του πεπτικού. Για τους ασθενείς με αυτή τη νόσο έως πριν λίγα χρόνια η μόνη διαθέσιμη θεραπεία ήταν η χειρουργική αφαίρεση καθώς οι όγκοι αυτοί είναι εξαιρετικά ανθεκτικοί στη χημειοθεραπεία και την ακτινοθεραπεία. Η αποκάλυψη ότι στο σύνολο των στρωματικών όγκων υπάρχει ενεργοποιημένος ένας διαμεμβρανικός υποδοχέας που οδηγεί σε ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό και αναστολή της διαφοροποίησης του κυττάρου, οδήγησε στην παρασκευή ενός

φαρμάκου που αναστέλλει τη λειτουργία του (imatimib). Η θεραπεία με αυτό το φάρμακο άλλαξε ριζικά τη φυσική ιστορία της νόσου. Παρ' αυτά στη συνέχεια αποδείχθηκε ότι οι ασθενείς των οποίων οι πρωτοπαθείς όγκοι έφεραν μετάλλαξη στο εξόνιο 19 του γονιδίου *kit* εμφάνιζαν μεγαλύτερη ανταπόκριση στη θεραπεία σε σχέση με αυτούς με μεταλλάξεις του εξονίου 21 ή με αγρίου τύπου *kit*.

Άλλο παράδειγμα αποτελεί η θεραπεία του ορθοκολικού καρκίνου. Οι γενετικές μεταλλάξεις που χαρακτηρίζουν τον ορθοκολικό καρκίνο, είναι πολύ καλά τεκμηριωμένες και οι συχνότερες από αυτές είναι οι μεταλλάξεις των *APC*, *KRAS* και *TP53* ακολουθούμενες σε συχνότητα από τις μεταλλάξεις των *PIK3CA* και *BRAF*. Η ανάλυση των γενετικών αυτών συμβαμάτων έχει αρχίσει να επηρεάζει τη χάραξη της θεραπευτικής στρατηγικής στον ορθοκολικό καρκίνο και η ανάλυση της μετάλλαξης του *KRAS* (που παρατηρείται στο 40% των περιπτώσεων) αντιπροσωπεύει ένα παράδειγμα για την ανάπτυξη βιοδεικτών στην εποχή της «θεραπείας μοριακής στόχευσης». Όπως έχει πλέον αποδειχθεί οι ασθενείς των οποίων ο πρωτοπαθής όγκος φέρει μεταλλάξεις του *KRAS* είναι ανθεκτικοί σε θεραπεία με μονοκλωνικά αντισώματα έναντι του EGFR, γεγονός που οδήγησε τον Ευρωπαϊκό Οργανισμό Φαρμάκων (ΕΜΕΑ) σε αλλαγή της ένδειξη για τη χρήση αυτών των φαρμάκων.

Πέραν της προβλεπτικής αξίας των μεταλλαγών του *KRAS*, η σημειακή μετάλλαξη V600E στο ογκογονίδιο *BRAF* φαίνεται ότι έχει τόσο προγνωστική όσο και προβλεπτική αξία. Οι μεταλλάξεις του *BRAF* χαρακτηρίζουν μια υποομάδα ασθενών (περίπου 10% του συνόλου του ορθοκολικού καρκίνου) με διαφορετική γενετική προέλευση, φυσική ιστορία και εξαιρετικώς δυσμενή πρόγνωση. Επίσης, οι ασθενείς των οποίων οι όγκοι φέρουν μεταλλάξεις του *BRAF* είναι ανθεκτικοί σε θεραπεία με μονοκλωνικά αντισώματα έναντι του EGFR. Επιπροσθέτως, οι μεταλλάξεις της *PIK3CA* στα εξόνια 9 και 20 (που αντιπροσωπεύουν >80% των μεταλλαγών ογκογονιδίου) έχουν συσχετισθεί με μειωμένη ανταπόκριση/αντοχή σε θεραπεία με μονοκλωνικά αντισώματα έναντι του EGFR.

Παρομοίως με τον OKK στο μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα (ΜΜΚΚΠ) μεταλλάξεις του *EGFR* και του *KRAS* παρατηρούνται σε περίπου 40% των περιπτώσεων ΜΜΚΚΠ. Αυτές οι μεταλλαγές συμβάλλουν στην έναρξη και την πρόοδο του όγκου (μεταλλαγές «οδηγοί») και καθορίζουν τη βιολογική συμπεριφορά και την πρόγνωση της νεοπλασίας, ενώ επηρεάζουν σημαντικά τις θεραπευτικές αποφάσεις.

Σχεδόν 90% των περιπτώσεων ΜΜΚΚΠ οι μεταλλάξεις του *EGFR* περιλαμβάνουν μια αντικατάσταση λευκίνη από αργινίνη στη θέση 858 (L858R) και μεταλλάξεις απαλοιφής στο εξόνιο 19 που προσβάλλουν τη συντηρημένη

ακολουθία LREA (deIE746-A750). Αυτές οι μεταλλαγές προκαλούν τη συστατική ενεργοποίηση της τυροσινικής κινάσης του EGFR, με αποσταθεροποίησή της διαμόρφωσης της, ακόμη ελλείψει διέγερσης από συζεύκτη. Οι μεταλλαγές παρέχουν υπερευαισθησία στους αναστολείς της τυροσινικής κινάσης του EGFR, gefitinib και erlotinib. Επίσης σε διαγονιδιωμικά ποντίκια, οι μεταλλαγές αυτές του *EGFR* οδηγούν στην ανάπτυξη αδενοκαρκινωμάτων τα οποία υποστρέφουν μετά από θεραπεία με αναστολείς της τυροσινικής κινάσης του υποδοχέα. Επιπλέον, η κινητική ανάλυση αυτών των μεταλλαγών έδειξε ότι οι απαλοιφές στο εξόνιο 19 προσφέρουν μεγαλύτερη ευαισθησία σε θεραπεία με erlotinib απ' ό,τι η L858R μετάλλαξη εύρημα το οποίο επιβεβαιώθηκε στη συνέχεια σε αναδρομικές μελέτες.

Εντούτοις, οι περισσότεροι ασθενείς παρά την αρχικώς εντυπωσιακή ανταπόκριση θα υποτροπιάσουν εντός 12 μηνών από την έναρξη της θεραπείας. Μελέτες που ανέλυσαν ιστό από την υποτροπή έδειξαν την ύπαρξη μιας δευτερογενούς μετάλλαξης του *EGFR*, στην οποία μια μεθειονίνη αντικαθιστά τη θρεονίνη στη θέση 790 (T790M). Αυτή η μετάλλαξη εμποδίζει τη δέσμευση του gefitinibe και του erlotinibe αλλά μπορεί να είναι ευαίσθητη σε δεύτερης γενεάς, «μη αντιστρεπτούς» αναστολείς τυροσινικής κινάσης. Η μετάλλαξη T790M έχει ανιχνευθεί σε CTCs ασθενών με ΜΜΚΚΠ που λάμβαναν θεραπεία με αναστολείς τυροσινικής κινάσης αρκετές εβδομάδες πριν την ανάδειξη κλινικής υποτροπής. Επίσης, η μείωση του αριθμού των CTCs συσχετιζόταν με κλινική ανταπόκριση ενώ η αύξηση του αριθμού τους προέβλεπε την υποτροπή στη θεραπεία.

Η ανάλυση των μεταλλαγών στον πρωτοπαθή όγκο ή τη μεταστατική βλάβη των ασθενών με ΜΜΚΚΠ είναι πολλές φορές αδύνατη. Περίπου στο 1/3 των ασθενών οι βλάβες βρίσκονται σε μη προσβάσιμες θέσεις και η διάγνωση τίθεται με κυτταρολογική εξέταση των πτυέλων ή των βρογχικών εκπλύσεων. Ακόμη σε αρκετές περιπτώσεις στο βιοψικό υλικό υπάρχουν μόνο μερικές δεκάδες νεοπλασματικά κύτταρα (<100) κάνοντας αδύνατη τη μοριακή ανάλυση. Συνολικά, περίπου στους μισούς ασθενείς δεν είναι διαθέσιμη η σημαντική πληροφορία για την ύπαρξη μεταλλάξεων του EGFR με αποτέλεσμα κάποιοι από αυτούς τους ασθενείς να στερούνται την πλέον αποτελεσματική θεραπεία για αυτούς. Επιπροσθέτως, είναι κλινικά δύσκολο και ηθικά επιλήψιμο η διενέργεια πολλών βιοψιών (με τους επακόλουθους κινδύνους) για να διαπιστωθεί η ανάπτυξη μετάλλαξης αντοχής (T790M). Όλα αυτά τα προβλήματα θα μπορούσαν να λυθούν με τη μελέτη των μεταλλάξεων στα CTCs ή/και στον ορό ασθενών με ΜΜΚΚΠ. Η εφαρμογή της μεθοδολογίας αυτή θα βοηθήσει τόσο στη χάραξη της θεραπευτικής

στρατηγικής όσο και στην παρακολούθηση των ασθενών κατά τη διάρκεια της θεραπείας.

Επίσης, ο προσδιορισμός της έκφρασης, της σύνθεσης δηλαδή πρωτεΐνης, διαφόρων γονιδίων που εμπλέκονται στο μεταβολισμό χημειοθεραπευτικών φαρμάκων μελετάται ευρύτατα τα τελευταία χρόνια και υπάρχουν άκρως ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Έχει βρεθεί ότι ο βαθμός έκφρασης αρκετών γονιδίων τροποποιεί το θεραπευτικό αποτέλεσμα και συμβάλλει ουσιαστικά στην ανθεκτικότητα των όγκων σε συγκεκριμένα χημειοθεραπευτικά φάρμακα. Για παράδειγμα, η έκφραση ενός γονιδίου (*ERCC1*) το οποίο εμπλέκεται στην επιδιόρθωση των βλαβών του DNA έχει αποδειχθεί ότι είναι αποφασιστικός παράγοντας για την ανταπόκριση των ασθενών με μη μικροκυτταρικό καρκίνωμα πνεύμονα που λαμβάνει χημειοθεραπεία με βάση την πλατίνα. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι η πλατίνα, ένα από τα παλαιότερα χρησιμοποιούμενα χημειοθεραπευτικά φάρμακα, αποτελεί τη ραχοκοκαλιά για τη θεραπεία του καρκίνου του πνεύμονα αλλά είναι ταυτόχρονα ένα ιδιαίτερα τοξικό φάρμακο με δυσκολία στη χορήγησή του. Ο εκ των προτέρων διαχωρισμός των ασθενών με βάση την έκφραση του *ERCC1* φαίνεται ότι συμβάλλει αποφασιστικά στη βελτίωση της αποτελεσματικότητας της θεραπείας αλλά και στην αποφυγή των ανεπιθύμητων ενεργειών στους ασθενείς που δεν αναμένεται όφελος. Επίσης, μία σειρά από άλλα γονίδια δείκτες (*BRCA1*, *RRM1*, *RRM2*, *XPD*, *TS*, *DPD* κ.λπ.) έχουν μελετηθεί και συνεχίζουν να μελετώνται σε πληθώρα διαφορετικών όγκων (μη μικροκυτταρικός καρκίνος πνεύμονα, καρκίνος ωθηκών, στομάχου, παχέος εντέρου). Προοπτικές μελέτες βρίσκονται ήδη σε εξέλιξη για να ταυτοποιηθεί αν τα προαναφερθέντα ευρήματα μπορούν να εφαρμοστούν και με ποιον τρόπο στην καθημερινή κλινική πράξη.

Όλα τα προαναφερθέντα δεδομένα υποδηλώνουν ότι όπως όλες οι ασθένειες και η νεοπλασματική νόσος εμφανίζει μεγάλη ετερογένεια. Επιπροσθέτως, κάθε ασθενής με νεοπλασματική νόσο είναι διαφορετικός όχι μόνο σε ό,τι αφορά τη διαφορετικότητα του σαν άτομο και το κοινωνικό περιβάλλον στο οποίο εντάσσεται, αλλά και το γενετικό του υλικό. Η αντιμετώπιση του ασθενούς με νεοπλασία σαν μοναδική περίπτωση και η εξατομικευση της θεραπείας αποτελεί τη μεγάλη πρόκληση για τη σύγχρονη ογκολογία. Οι σημαντικές εξελίξεις στη βιολογία και στην τεχνολογία καθιστούν το στόχο της εξατομικευμένης θεραπείας κάθε μέρα και περισσότερο ορατό. Αναφέρθηκαν μερικά παραδείγματα εφαρμογής της στην πράξη. Απαιτείται προσήλωση στο στόχο, δέσμευση των ερευνητών και επένδυση χρημάτων και χρόνου από τις σύγχρονες κοινωνίες για να επιτευχθεί ο στόχος όσο το δυνατόν συντομότερα.

IN VITRO ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΕΣ ΔΟΚΙΜΑΣΙΕΣ ΣΤΟ ΣΗΜΕΙΟ ΦΡΟΝΤΙΔΑΣ (POCT): ΠΑΡΟΥΣΑ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ

Β. Σπυρόπουλος

Εργαστήριο Βιοϊατρικής Τεχνολογίας, Τμήμα Τεχνολογίας Ιατρικών Οργάνων, ΤΕΙ Αθήνας

1. Εισαγωγή

Ως *in vitro* διαγνωστική δοκιμασία (POCT) ορίζεται οποιαδήποτε αναλυτική δοκιμασία, που εκτελείται για έναν ασθενή από έναν επαγγελματία υγείας, έξω από ένα συμβατικό εργαστηριακό περιβάλλον. Τα τελευταία χρόνια έχουμε μια ταχεία ανάπτυξη στη χρήση POCT, ως αποτέλεσμα σε μεγάλο βαθμό των τεχνολογικών προόδων στη Χημεία στερεάς φάσης και στη θεαματική βελτίωση των μικροεπεξεργαστών, με συνέπεια τη σμίκρυνση του εξοπλισμού. Οι πιο σύγχρονες συσκευές POCT είναι γενικά πιο αξιόπιστες και λιγότερο επιρρεπείς σε λάθη από τις παλιότερες.

Ο στόχος αυτής της παρουσίασης είναι να παρουσιασθούν κρίσιμες πλευρές σχετικά με τη διαχείριση και τη χρήση των *in vitro* διαγνωστικών δοκιμασιών, αναλωσίμων και συσκευών, στο σημείο φροντίδας, που περιλαμβάνουν:

- Τη σημασία εντοπισμού κλινικής ανάγκης πριν την εισαγωγή μιας υπηρεσίας POCT.
- Τα ζητήματα κλινικής διαχείρισης μιας υπηρεσίας POCT.
- Την ανάγκη για τη συμμετοχή των Κεντρικών Κλινικών Εργαστηρίων των κατά τόπους Νοσοκομείων σε όλες τις πτυχές μιας υπηρεσίας POCT.
- Την ανάγκη για εκπαίδευση και επίβλεψη του προσωπικού που συμμετέχει στην υπηρεσία POCT.

2. Σχεδιασμός μιας υπηρεσίας POCT

Η εφαρμογή POCT πρέπει να είναι η αποτελεσματική απάντηση σε μια έγκυρη και συνεχόμενη κλινική ανάγκη. Η έκβαση αξιολόγησης της κλινικής ανάγκης για μια υπηρεσία POCT εξαρτάται από:

- Την ομάδα ασθενών που τη χρειάζεται, το είδος και τον τρόπο παροχής της.
- Τη δυσκολία πρόσβασης στο παραδοσιακό εργαστήριο για τους ασθενείς.
- Το αν η υπηρεσία θα επιτρέψει ταχύτερη και πιο αποτελεσματική διάγνωση ή/και θεραπεία.
- Το αν προοιωνίζεται μετρήσιμο κλινικό και οικονομικό όφελος.

Οι πιθανές περιοχές για μια υπηρεσία POCT περιλαμβάνουν:

- Στο νοσοκομείο τα εξωτερικά ιατρεία, τα ΤΕΠ, τις ΜΕΘ, τα χειρουργεία, Ειδικές Μονάδες κ.λπ.

- Στην πρωτοβάθμια περίθαλψη περιλαμβάνουν τα Ιατρεία, τα Κέντρα Υγείας, τα Βιομηχανικά Ιατρεία, τα Φαρμακεία, την κατ' οίκον νοσηλεία και τον αυτοέλεγχο ασθενών.

Τα εργαστήρια των νοσοκομείων μπορούν να διαδραματίσουν σημαντικό ρόλο στην παροχή των συμβουλών για μια σειρά των ζητημάτων, όπως αγορές συσκευών, αντιδραστηρίων και αναλωσίμων, εκπαίδευση προσωπικού, ερμηνεία των αποτελεσμάτων, διασφάλιση ποιότητας, ασφάλεια κλπ. Σχετικά με τη σωστή επιλογή εξοπλισμού, πρέπει να προσδιορισθεί ο εξοπλισμός που ικανοποιεί τις συγκεκριμένες ανάγκες, καλύπτει τον αναμενόμενο φόρτο εργασίας, παρέχει το απαιτούμενο επίπεδο αναλυτικής ακρίβειας, ταιριάζει λειτουργικά στον διατιθέμενο χώρο, και παρουσιάζει συγκρίσιμα αποτελέσματα με εκείνα του κεντρικού εργαστηρίου. Υπάρχουν διάφορες μέθοδοι POCT όπως:

- Ταινίες απλών ή πολλαπλών δοκιμασιών, χωρίς συσκευή αποτίμησης (π.χ. δοκιμασίες ούρων).
- Μικρές συσκευές χειρός (π.χ. μετρητές γλυκόζης, γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη κ.λπ.).
- Επιτραπέζιες συσκευές (π.χ. αναλυτές αερίων αρτηριακού αίματος).

Η ανάγκη για καλύτερες επείγουσες διαγνωστικές μεθόδους, μαζί με τις υψηλές δαπάνες υγειονομικής περίθαλψης, έχει αυξήσει τη ζήτηση για προσιτές πλατφόρμες POCT, με υψηλή ευαισθησία, ειδικότητα και ταχύτητα αποτελεσμάτων, όπως ενδεικτικά:

- Φορητά συστήματα βασισμένα σε ταινίες ελέγχου πλευρικής ροής (lateral-flow test strips) και εφοδιασμένα, με ηλεκτρο-οπτικές μονάδες μέτρησης φθορισμού, συσσωρευτές και δυνατότητες ασύρματης μεταφοράς δεδομένων.
- Φορητά συστήματα βασισμένα σε πλατφόρμες δοκιμασιών για πυρηνικά οξέα που χρησιμοποιούν π.χ. την τεχνική RPA (Recombinase Polymerase Amplification).
- Μαγνητικές ανοσολογικές δοκιμασίες (Magnetic Immunoassays), βασισμένες στην τεχνολογία αντίχενωσης μαγνητικών σφαιριδίων, που αξιοποιούν τα μη γραμμικά χαρακτηριστικά γνωρίσματα εξαιρετικά παραμαγνητικών υλικών, που ενσωματώνονται στα σφαιρίδια, και εκτίθενται για τη μέτρηση, σε ένα εναλλασσόμενο μαγνητικό πεδίο δύο συχνοτήτων.

Στα πλαίσια του σχεδιασμού είναι απαραίτητη μια μελέτη σκοπιμότητας, που να εντοπίζει τα κλινικά και οικονομικά οφέλη, τα οποία αναμένονται σχετικά με την καλύτερη αξιοποίηση του ανθρώπινου δυναμικού και την οικονομία των υλικών πόρων. Η κλινική διαχείριση μιας υπηρεσίας POCT απαιτεί σαφήνεια στις διαδικασίες, κατάλληλη εκπαίδευση και τη χρήση συστημάτων Πληροφορικής, για τη βελτιστοποίηση της ροής των ασθενών και της ποιότητας των αναλυτικών αποτελεσμάτων.

Τα αναμενόμενα *πλεονεκτήματα* μιας υπηρεσίας POCT περιλαμβάνουν βελτιωμένους χρόνους, καλύτερη επιτήρηση ορισμένων περιστατικών, μικρότερους όγκους δειγμάτων και αντιδραστηρίων, ευκολότερη πρόσβαση στην υπηρεσία π.χ. για τους ηλικιωμένους. συμμετοχή των ίδιων των ασθενών στη φροντίδα της υγείας τους και τέλος, οικονομικά οφέλη, μολονότι η POCT είναι γενικά ακριβότερη από τις παραδοσιακές εργαστηριακές εξετάσεις, όμως, η εφαρμογή της μπορεί να μειώσει τον αριθμό επισκέψεων σε μια Υγειονομική μονάδα.

Τα πιθανά *μειονεκτήματα* μιας υπηρεσίας POCT περιλαμβάνουν, διπλασιασμό του εξοπλισμού, εμπλοκή προσωπικού με μη αναλυτικό υπόβαθρο, υπερβολική χρήση της διαθεσιμότητας μιας σειράς εξετάσεων, περιπλοκότητα και ασυμβατότητα στην αρχειοθέτηση των αποτελεσμάτων (LIS) και χωρίς την οικονομία κλίμακας του Κεντρικού Εργαστηρίου, η υπηρεσία POCT μπορεί να γίνει πολύ ακριβή.

3. Οργάνωση και διαχείριση μιας υπηρεσίας POCT

Σε μια υπηρεσία POCT συμμετέχει πλήθος συνεργατών, απαιτείται σχολαστική τήρηση των οδηγιών των κατασκευαστών των επιμέρους συστημάτων και σαφής καθορισμός αρμοδιοτήτων και υπευθυνοτήτων. Παρά τις βελτιώσεις στην τεχνολογία, η επιτυχία μιας υπηρεσίας POCT εξαρτάται από την αποτελεσματική οργάνωση και διαχείριση του προσωπικού και τη συστηματική και συνεχή του εκπαίδευση. Απαιτείται η ύπαρξη γραπτών τυποποιημένων λειτουργικών διαδικασιών (Standard Operating Procedures, SOP), σύμφωνων με ένα αναγνωρισμένο Πρότυπο Ποιότητας (π.χ. ISO).

Η Διασφάλιση Ποιότητας (Quality Assurance, QA) είναι ουσιαστικό συστατικό μιας υπηρεσίας POCT και περιλαμβάνει την ταυτοποίηση του ασθενή, την κατάλληλη επιλογή δοκιμασίας, τη λήψη ικανοποιητικού δείγματος, την εξέταση και την τεκμηρίωση όλων των διαδικασιών. Διακρίνουμε και εδώ εσωτερικό και εξωτερικό έλεγχο ποιότητας και η όλη διαδικασία πρέπει να πραγματοποιείται σε συνεργασία με το Κεντρικό Εργαστήριο, ενώ ένα σύνολο παράλληλων εξετάσεων δειγμάτων, μπορεί να αποτελέσει ένα πρόσθετο εργαλείο ελέγχου ποιότητας. Τέλος, η προγραμματισμένη προληπτική συντήρηση είναι ουσιαστική για την ασφάλη και αποτελεσματική χρήση των συσκευών POCT, και πρέπει να ακολουθεί τις οδηγίες του κατασκευαστή σχετικά με τις διαδικασίες, την κατάρτιση του προσωπικού και την τήρηση ημερολογίου συντήρησης και επισκευών.

Η πιστοποίηση και ενδεχομένως η διαπίστευση μιας υπηρεσίας POCT είναι ένα ανοιχτό ζήτημα. Στις περισσότερες χώρες δεν υπάρχουν αυτήν την περίοδο συγκεκριμένα πρότυπα για POCT. Ακολουθούνται *mutatis*

mutandis οι γενικές αρχές των *in vitro* διαγνωστικών εργαστηρίων, αλλά η επιθεώρηση και η αξιολόγηση θα την περιλάβουν στην πιστοποίηση που θα γίνει στο νοσοκομείο, στο Τμήμα (π.χ. ΜΕΘ) ή τη Μονάδα (π.χ. Κέντρο Υγείας) που ευρίσκεται, επισημαίνοντας και την ιδιαίτερη σύνδεσή της με το Κεντρικό Εργαστήριο. Στην ελληνική πραγματικότητα, αυτό θα έπρεπε λογικά να γίνεται αντίστροφα και η υπηρεσία POCT να πιστοποιείται μέσω του π.χ. Βιοχημικού Εργαστηρίου, δεδομένου ότι οι πιστοποιήσεις Κλινικών και Μονάδων είναι ακόμα πολύ περιορισμένες. Συνίσταται, οποιαδήποτε περιοχή παρέχει μια υπηρεσία POCT, να ενταχθεί μεσοπρόθεσμα σε μια διαδικασία πιστοποίησης. Είναι ουσιαστικό να τηρούνται ακριβή αρχεία και στατιστικές για τις συσκευές POCT (π.χ. διαγράμματα Levey-Jennings), να καταγράφονται και να εξετάζονται μαζί με το Κεντρικό Εργαστήριο τα ανώμαλα και οριακά αποτελέσματα και τέλος και να κοινοποιούνται στις αρμόδιες αρχές (όπου αυτές υπάρχουν) τα τυχόν μη αναμενόμενα συμβάματα (adverse incidents).

Υπάρχουν πολλές πτυχές στη σχέση της τεχνολογίας POCT και της τεχνολογίας πληροφοριών, ιδιαίτερα η διασύνδεση των συσκευών με τα εξωτερικά συστήματα δεδομένων, όπως οι διαχειριστικοί τερματικοί σταθμοί, τα ηλεκτρονικά αρχεία υγείας (EHR), και τα εργαστηριακά συστήματα πληροφοριών (LIS). Ένα σημαντικό ανοιχτό σημείο είναι η ένταξη των υπηρεσιών POCT στα πρότυπα διασφάλισης της συνέχειας της φροντίδας υγείας, σύμφωνα π.χ. με το πρότυπο E2369 (CCR), το ISO 13606-1,

και το prEN 13940, με την υιοθέτηση όλων των κρίσιμων χαρακτηριστικών γνωρισμάτων, και των καινοτόμων λειτουργικών λύσεων, που αναδύονται από απαιτήσεις αυτών των προτύπων. Η διασφάλιση της διαλειτουργικότητας των υπάρχοντων συστημάτων διαχείρισης πληροφοριών, απαιτεί στο εγγύς μέλλον την υιοθέτηση πρωτοτύπων οντολογιών, που να βασίζονται στην HL7 κλινική αρχιτεκτονική εγγράφων (Clinical Document Architecture, CDA), και εφαρμογές που να μετατρέπουν τα έγγραφα παραπομπής, σε ένα CDA-συμβατό σχήμα, και το περιεχόμενο των CDA-συμβατών εγγράφων σε περιπτώσεις μιας οντολογίας.

4. Συμπεράσματα και προοπτικές

Ενώ ορισμένοι τομείς της *in vitro* διαγνωστικής έχουν αλλάξει σημαντικά τα τελευταία 15 χρόνια, πολλά πράγματα παραμένουν ίδια. Πολλές από τις εξωτικές τεχνολογίες που προβλέφθηκαν (π.χ. microarrays, biomarkers, γενετικές εξετάσεις κ.λπ.) δεν χρησιμοποιούνται ιδιαίτερα έξω από την έρευνα, παρά την ύπαρξη ορισμένων αξιοπρόσεχτων εξαιρέσεων. Η αγορά POCT στρέφεται και στηρίζεται ακόμα σε μεγάλο βαθμό στις ίδιες περιοχές (γλυκόζη αίματος, test εγκυμοσύνης, πήξη, αέρια αίματος και καρδιακοί δείκτες), οι οποίες και παράγουν τον μεγάλο όγκο των πωλήσεων, ενώ σε πολλές άλλες περιοχές, η χρήση POCT είναι ακόμα αργή. Εντούτοις, εκατοντάδες εμπορικά διαθέσιμες διαγνωστικές δοκιμασίες έχουν ήδη εγκριθεί από το FDA για χρήση χωρίς συνταγή και για κατ'οίκον εφαρμογή (Πίνακας 1).

Πίνακας 1. Απόσπασμα από τον κατάλογο των εγκεκριμένων από το FDA αντιδραστηρίων για POCT.

486 Alcohol, Breath	184 Fructosamine	027 Luteinizing Hormone (LH)	021 Triglyceride
392 Allergen Specific IgE / Panel	122 Glucose	090 Methadone	188 Uric Acid
041 Amphetamines	116 Glucose Monitoring Devices	92 Methamphetamine /Amphetamine	448 Urinary Protein, Qualitative
103 Barbiturates	072 Glucose, Fluid	100 Methamphetamines	186 Urine Dipstick Or Tablet Analyte
101 Benzodiazepines	422 Glucose, Urine	256 Methylenedioxymethamphetamine	125 Urine hCG By Visual Color Tests
409 Bilirubin, Urine	208 Glycated Hemoglobin, Total	003 Microalbumin	264 Urine Qualitative Bilirubin
084 Cannabinoids (THC)	172 Glycosylated Hemoglobin (Hgb A1c)	143 Morphine	265 Urine Qualitative Dipstick Blood
171 Chloride	261 hCG, Serum, Qualitative	087 Opiates	266 Urine Qualitative Glucose
161 Cholesterol	370 hCG, Urine	030 Ovulation Test (LH) Visual Color	001 Urine Qualitative Ketone
086 Cocaine Metabolites	121 HDL Cholesterol	285 Oxycodone	268 Urine Qualitative Nitrite
159 Creatinine	016 Hemoglobin	408 pH, Urine	269 Urine Qualitative Dipstick pH
494 Estrone-3 Glucuronide	460 Hemoglobin A1	085 Phencyclidine (PCP)	270 Urine Qualitative Protein
274 Fecal Occult Blood	124 Ketone, Blood	245 Protein, Total (Urine)	271 Urine Qual. Urobilinogen
249 Fern Test, Saliva	352 Ketone, Urine	364 Semen	410 Urobilinogen, Urine
026 Follicle Stimulating Hormone	024 Lactic Acid (Lactate)	246 Tricyclic Antidepressants	042 Vaginal pH

Για το εγγύς μέλλον, οι πλέον υποσχόμενες αναδυόμενες μέθοδοι POCT περιλαμβάνουν:

- Συστήματα ανίχνευσης φθορισμού μεμονωμένων μορίων (π.χ. Καρδιολογία Singulex).
- Μεθόδους ανίχνευσης χωρίς επισήμανση (Quantum Dots και Whispering-Gallery Mode, WGM).
- Στα μοριακά POCT δύο σημαντικές επιτυχίες υπήρξαν οι ταχείες δοκιμασίες MRSA (Multi-drug Persistent *Staphylococcus Aureus*) και αυτή για το *Clostridium Difficile* στα κόπρανα με real-time PCR, ενώ πολλά φαίνεται να υπόσχονται οι ισοθερμικές μέθοδοι SMAP (SMart Amplification Processes), SMART (Signal Mediated Amplification of RNA Targets), LAMP (Loop-mediated isothermal AMPlification) και HDA (Helicase-Dependent Amplification).

• Τέλος, τα ευρηματικά συστήματα **Lab-on-a-Chip (LOC) φαίνεται να μην καταφέρνουν ακόμα τον συνδυασμό** Μικροηλεκτρονικής, Μικρορευστομηχανικής, Βιολογίας και Χημείας, σε χαμηλό κόστος και με αξιοπιστία και επαναληψιμότητα κατάλληλη για μεγάλης κλίμακας παραγωγή.

Έτσι, βαθμιαία, οι μέθοδοι ανίχνευσης θα γίνονται πιο αξιόπιστες, οι συσκευές θα εξακολουθήσουν να σμικρύνονται, ενώ η ζήτηση για γρηγορότερα αποτελέσματα και εξατομικευμένη Ιατρική θα εξωθεί την POCT σε νέες φυσικές αρχές και τεχνολογίες. Τέλος, η αύξηση του όγκου των υπηρεσιών της, θα συμβάλλει μεν στην περαιτέρω συρρίκνωση των Κεντρικών Εργαστηρίων, χωρίς όμως για το προβλέψιμο μέλλον, να απειλεί στα σοβαρά να τα εκτοπίσει ανεπιστρεπτί, από την παγκόσμια αγορά της *in vitro* διαγνωστικής.

Βιβλιογραφία

1. European Directive on IVD Medical Devices 98/79/EC.
2. Medical Devices Agency, Department of Health, Management and Use of IVD Point of Care Test Devices, DB (NI) 2002/03, June 2002.
3. NACB Laboratory Medicine Practice Guidelines: Evidence Based Practice for POCT, AACCC Press 2006.
4. Draft Guidance for Industry Cell Selection Devices for Point of Care Production of Minimally Manipulated Autologous Peripheral Blood Stem Cells, Food and Drug Administration, Center for Biologics Evaluation and Research, July 2007.
5. Point of Care Testing Implementation Guide, Australasian Association of Clinical Biochemists, 2008.
6. The Worldwide Market for In Vitro Diagnostic Tests, 7th Edition, Aug 1, 2010, Pub ID: KLI2613362.
7. Steve Ross, IVD Technology, 15th Anniversary Essay: Point-of-Care Testing: Examining the changes and developments in point-of-care testing technologies during the past 15 years.

8. F Vollmer and S Arnold, "Whispering-Gallery-Mode Biosensing: Label-Free Detection Down to Single Molecules," Nature Methods 5 (2008): 591–596.

ΣΤΡΟΓΓΥΛΟ ΤΡΑΠΕΖΙ: ΟΙ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΕΣ ΣΠΟΥΔΕΣ ΣΤΗΝ ΚΛΙΝΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ-ΚΛΙΝΙΚΗ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ

Συντονίστρια: Ε. Λιανίδου

ΟΡΓΑΝΩΣΗ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΟΥ ΜΗΤΡΩΟΥ ΚΛΙΝΙΚΩΝ ΧΗΜΙΚΩΝ-ΚΛΙΝΙΚΩΝ ΒΙΟΧΗΜΙΚΩΝ: ΜΙΑ ΣΗΜΑΝΤΙΚΗ ΚΑΤΑΚΤΗΣΗ ΤΗΣ ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ

Δ. Ρίζος

PhD, EurClinChem, Επίκ. Καθηγητής Κλινικής Χημείας Ιατρικής Σχολής ΠΑ, Πρόεδρος της Επιτροπής Μητρώου Κλινικών Χημικών-Κλινικών Βιοχημικών

Εισαγωγή

Η Ελληνική Εταιρία Κλινικής Χημείας-Κλινικής Βιοχημείας (ΕΕΚΧ-ΚΒ) ιδρύθηκε το 1989 από επιστήμονες που εργάζονταν στα κλινικά εργαστήρια των κρατικών νοσοκομείων της Ελλάδας. Είναι μέλος της IFCC από το 1994 και είναι επίσης μέλος της EFCC και EC4. Σχεδόν το 90% των μελών της Εταιρίας είναι χημικοί, βιοχημικοί, βιολόγοι, με τη συντριπτική πλειοψηφία αυτών να είναι κάτοχοι μεταπτυχιακών τίτλων (MSc, PhD). Περίπου 7% των μελών της Εταιρίας είναι γιατροί με ειδικότητα Βιοπαθολογίας ή Κλινικής Χημείας.

Ένας από τους κύριους στόχους της ΕΕΚΧ-ΚΒ από την ίδρυσή της, ήταν η επίσημη αναγνώριση της ειδικότητας της Κλινικής Χημείας-Κλινικής Βιοχημείας (ΚΧ-ΚΒ) και η δημιουργία ενός εκπαιδευτικού προγράμματος για την ειδικότητα στην Ελλάδα.

Βήματα για τη δημιουργία του Μητρώου

Τον Νοέμβριο του 2001, ο πρόεδρος της ΕΕΚΧ-ΚΒ συμμετείχε για πρώτη φορά στη συνεδρίαση της Επιτροπής Μητρώου της EC4 (EC4/RC). Μετά την ενθάρρυνση και τη συνεχή βοήθεια τόσο από την EC4/RC όσο και από το Διοικητικό Συμβούλιο της EC4, το Διοικητικό Συμβούλιο της ΕΕΚΧ-ΚΒ αποφάσισε να ξεκινήσει τη διαδικασία για τη δημιουργία ενός εθελοντικού μητρώου για τους ειδικευμένους επιστήμονες στην κλινική χημεία που να περιλαμβάνει τα ακόλουθα βήματα:

1. Σχηματισμός της Εθνικής Επιτροπής Μητρώου Κλινικών Χημικών-Κλινικών Βιοχημικών (ΕΜΚΧ-ΚΒ)
2. Θέσπιση κριτηρίων για την εγγραφή στο Μητρώο
3. Δημιουργία ενός εκπαιδευτικού προγράμματος στην Κλινική Χημεία-Κλινική Βιοχημεία
4. Μεταβατικές διατάξεις.

Σχηματισμός της ΕΜΚΧ-ΚΒ

Κατά τη διάρκεια του 2002 και του 2003, μετά από απόφαση του ΔΣ της ΕΕΚΧ-ΚΒ, επτά έμπειροι και εξειδικευμένοι συνάδελφοι έκαναν μεμονωμένα αίτηση να γίνουν μέλη του Ευρωπαϊκού Μητρώου (EC4 Register) η οποία έγινε αποδεκτή. Αυτοί οι συνάδελφοι, τον Ιανουάριο του 2004 απέτελεσαν την ΕΜΚΧ-ΚΒ με σκοπό:

- Τη θέσπιση των βασικών κριτηρίων για την εγγραφή στο Εθνικό Μητρώο
- Τις προσπάθειες για την επίτευξη ισοδυναμίας του Εθνικού Μητρώου με το Ευρωπαϊκό Μητρώο
- Την επεξεργασία του προγράμματος επαγγελματικής εκπαίδευσης και κατάρτισης για νέους επιστήμονες στην ΚΧ-ΚΒ.
- Την έγκριση εργαστηρίων ως κέντρων εκπαίδευσης.
- Την καθιέρωση της διαδικασίας και των προϋποθέσεων για την ανανέωση της εγγραφής (επανεγγραφής) στο Μητρώο.

Κριτήρια για την εγγραφή στο Μητρώο

Η ΕΜΚΧ-ΚΒ εισήγαγε τα κριτήρια εγγραφής στο Μητρώο λαμβάνοντας υπ' όψιν τα κριτήρια που ισχύουν για το Ευρωπαϊκό Μητρώο, καθώς και την ειδική κατάσταση της ΚΧ-ΚΒ στην Ελλάδα. Τα κριτήρια αυτά είναι:

- Πανεπιστημιακό πτυχίο Χημείας, Βιοχημείας, Βιολογίας, Ιατρικής, Φαρμακευτικής ή σε άλλο σχετικό βασικό αντικείμενο της επιστήμης
- Σύνολο εννέα (9) έτη σπουδών και μεταπτυχιακής ειδίκευσης στην ΚΧ-ΚΒ
- Τουλάχιστον τέσσερα (4) χρόνια μεταπτυχιακής ειδίκευσης στην ΚΧ-ΚΒ
- Ο υποψήφιος θα πρέπει να εργάζεται σε εργαστήριο ΚΧ-ΚΒ στην Ελλάδα.

Η μεταπτυχιακή ειδίκευση στην ΚΧ-ΚΒ

Η μεταπτυχιακή ειδίκευση στην ΚΧ-ΚΒ αποτελείται από την εργαστηριακή (πρακτική) εκπαίδευση και τη θεωρητική εκπαίδευση.

Η εργαστηριακή εκπαίδευση διαρκεί τουλάχιστον 4 χρόνια (για τα τετραετή πανεπιστημιακά πτυχία 5 χρόνια) και γίνεται σε εργαστήρια που έχουν εγκριθεί από την ΕΜΚΧ-ΚΒ ως εκπαιδευτικά κέντρα. Οργανώνεται σύμφωνα με τις προδιαγραφές που περιλαμβάνονται στο Φάκελο Επαγγελματικής Κατάρτισης (ΦΕΚ) που έχει δημιουργήσει η ΕΜΚΧ-ΚΒ.

Η θεωρητική εκπαίδευση πραγματοποιείται μέσα από τη μελέτη της ΚΧ-ΚΒ, όπως αυτή περιγράφεται στο εκπαιδευτικό πρόγραμμα, που οργανώθηκε σε 18 "Σεμινάρια".

Το εκπαιδευτικό πρόγραμμα της ΕΕΚΧ-ΚΒ

Το κύριο πρόβλημα που η ΕΕΚΧ-ΚΒ έπρεπε να επιλύσει, στο πλαίσιο της διαδικασίας για την κατάρτιση του

Μητρώου στην Ελλάδα, ήταν η έλλειψη **επίσημης** εκπαίδευσης και κατάρτισης των επιστημόνων που εργάζονταν για πολλά χρόνια στα κρατικά ή ιδιωτικά κλινικά εργαστήρια. Για να ξεπεραστεί η κατάσταση αυτή το ΔΣ της ΕΕΚΧ-ΚΒ και η ΕΜΚΧ-ΚΒ αποφάσισαν να οργανώσουν ένα εντατικό εκπαιδευτικό πρόγραμμα για όλους τους συναδέλφους, ανεξάρτητα από την επαγγελματική τους εμπειρία. Το εκπαιδευτικό αυτό πρόγραμμα αποτελείτο από 18 σεμινάρια, καθένα αφιερωμένο σε ένα διαφορετικό κομμάτι της ΚΧ-ΚΒ όπως αυτή περιγράφεται στο Syllabus της EC4.

Οργάνωση των Σεμιναρίων

Η ευθύνη για τη διοργάνωση των σεμιναρίων ανατέθηκε στην Επιστημονική και Εκπαιδευτική Επιτροπή της ΕΕΚΧ-ΚΒ. Η διάρκεια κάθε σεμιναρίου ήταν περίπου 6 ώρες και περιελάμβανε 6 έως 9 διαλέξεις (παρουσιάσεις). Κάθε ομιλητής έπρεπε να παρέχει ένα εκτεταμένο κείμενο 10 έως 15 σελίδες σχετικό με τη διάλεξη του. Τα κείμενα δημοσιεύονταν ως ξεχωριστό βιβλίο για κάθε σεμινάριο, το οποίο ήταν διαθέσιμο σε όλους τους συμμετέχοντες κατά την ημέρα του σεμιναρίου. Τα κείμενα ήταν επίσης διαθέσιμα στο διαδίκτυο, μέσω της ιστοσελίδας της Εταιρείας, τουλάχιστον 10 ημέρες πριν από την ημερομηνία του σεμιναρίου. Στο τέλος κάθε σεμιναρίου υπήρχε μια **προαιρετική γραπτή εξέταση** που αποτελείτο από 24 ερωτήσεις πολλαπλής επιλογής. Η επιτυχής ολοκλήρωση του εκπαιδευτικού προγράμματος των 18 Σεμιναρίων επιβεβαιωνόταν με την απονομή **Πιστοποιητικού Θεωρητικής Επάρκειας στην ΚΧ-ΚΒ** υπό τις εξής προϋποθέσεις:

- Παρακολούθηση τουλάχιστον 14 από τα 18 σεμινάρια (78%)
- Συνολική βαθμολογία στη γραπτή εξέταση τουλάχιστον ίση με το 60% της συνολικής μέγιστης βαθμολογίας (180 βαθμοί).

Στατιστικά στοιχεία του εκπαιδευτικού προγράμματος

Πραγματοποιήθηκαν δύο κύκλοι των 18 σεμιναρίων. Ο πρώτος κύκλος ξεκίνησε τον Οκτώβριο του 2003 και ολοκληρώθηκε τον Δεκέμβριο του 2005, ενώ ένας δεύτερος κύκλος των ίδιων σεμιναρίων ξεκίνησε τον Μάρτιο του 2005 και ολοκληρώθηκε τον Οκτώβριο του 2007.

Τα σεμινάρια παρακολούθησαν μέλη και μη μέλη της ΕΕΚΧ-ΚΒ. Εκατόν ογδόντα εννέα (189) συνάδελφοι ήταν η μέση συμμετοχή ανά σεμινάριο για τα σεμινάρια του 1ου κύκλου. Εκατόν σαράντα έξι (77%) από αυτούς ήταν μέλη της ΕΕΚΧ-ΚΒ και 43 (23%) μη μέλη. Η συμμετοχή ανά σεμινάριο του 2ου κύκλου ήταν 38 συνάδελφοι από τους οποίους 19 (50%) ήταν μέλη και 19 (50%) μη μέλη της

ΕΕΚΧ-ΚΒ. Η μέση συμμετοχή στις εξετάσεις για κάθε σεμινάριο του 1ου κύκλου ήταν σχεδόν 80% και το ποσοστό επιτυχίας ήταν 98,7%. Για τα σεμινάρια του 2ου κύκλου, η μέση συμμετοχή στις εξετάσεις ήταν χαμηλότερη (67,6%), αλλά με το ίδιο υψηλό ποσοστό επιτυχίας (96%).

Πεντακόσιοι (500) συνάδελφοι (277 μέλη και 223 μη μέλη της ΕΕΚΧ-ΚΒ) παρακολούθησαν τουλάχιστον ένα σεμινάριο από τον 1ο ή το 2ο κύκλο. Ογδόντα εννέα (89) μέλη της ΕΕΚΧ-ΚΒ συμμετείχαν σχεδόν σε όλα τα σεμινάρια (16-18 σεμινάρια), ενώ 169 μέλη παρακολούθησαν τουλάχιστον 10 σεμινάρια. Το μεγαλύτερο ποσοστό των μη μελών (152, 68,2%) παρακολούθησε από 1-3 σεμινάρια.

Εκατόν πενήντα τέσσερις (154) παρουσιάσεις δόθηκαν σε κάθε κύκλο Σεμιναρίων (περίπου 7 με 9 παρουσιάσεις ανά σεμινάριο) με 109 ομιλητές. Σαράντα οκτώ (48) από αυτούς ήταν ιατροί, 55 ήταν χημικοί, βιολόγοι, βιοχημικοί, κλινικοί χημικοί και 6 ήταν διαφόρων ειδικοτήτων. Τριάντα έξι (36) από τους ομιλητές ήταν Πανεπιστημιακοί ενώ 66 ήταν επαγγελματίες που εργάζονταν στα Νοσοκομειακά εργαστήρια.

Σε κάθε σεμινάριο, οι συμμετέχοντες συμπλήρωναν ένα ερωτηματολόγιο για την αξιολόγηση του επιστημονικού περιεχομένου και της οργάνωσης του σεμιναρίου. Εξήντα (60) συμμετέχοντες ανά σεμινάριο, κατά μέσο όρο, συμπλήρωναν το ερωτηματολόγιο. Περίπου 78% των απαντούντων δήλωσαν «ικανοποιημένοι» ή «πολύ ικανοποιημένοι» με το περιεχόμενο, καθώς και την οργάνωση των σεμιναρίων.

Επαγγελματική εργαστηριακή εκπαίδευση

Το Μάρτιο του 2005, το NCCRC ολοκλήρωσε την επεξεργασία του φακέλου Επαγγελματικής Κατάρτισης (ΦΕΚ). Ο ΦΕΚ περιλαμβάνει τις βασικές εργαστηριακές διαδικασίες, καθώς και τις διαδικασίες για την κλινική αξιολόγηση των αποτελεσμάτων και τη διαχείριση του εργαστηρίου που πρέπει να γνωρίζει ο ειδικευόμενος στην ΚΧ-ΚΒ. Για την κατάρτιση του ΦΕΚ χρησιμοποιήθηκε ως πρότυπο το «Training record for grade A trainee» της Ένωσης Κλινικών Βιοχημικών της Αγγλίας σε συνδυασμό με την εμπειρία στη χώρα μας.

Μεταβατικές διατάξεις

Προκειμένου να κριθούν οι ήδη υπηρετούντες συνάδελφοι για την ένταξη στο Μητρώο, ήταν απαραίτητο να θεσπιστούν μεταβατικές διατάξεις με ισχύ για συγκεκριμένο χρονικό διάστημα. Σύμφωνα με αυτές, οι υποψήφιοι για εγγραφή στο Μητρώο έπρεπε μέχρι το τέλος του 2005 να έχουν συμπληρώσει:

1. Τουλάχιστον 5 χρόνια απασχόλησης σε Εργαστήριο Κλινικής Χημείας και

2. Τουλάχιστον 100 μονάδες μεταβατικών διατάξεων (ΜΜΔ) ή, να κατέχουν Πιστοποιητικό Θεωρητικής Επάρκειας στην ΚΧ-ΚΒ

Μονάδες μεταβατικών διατάξεων μπορούσαν να συγκεντρωθούν από δύο τουλάχιστον από τις ακόλουθες πηγές:

- Επαγγελματική εμπειρία (έτη εργασίας)
- Εκπαιδευτική δραστηριότητα (Μεταπτυχιακές Σπουδές, Διδακτορικό κ.λπ.)
- Επιστημονική ή Ερευνητική δραστηριότητα (Δημοσιεύσεις, ανακοινώσεις, κ.λπ.)

Μετά το τέλος της μεταβατικής περιόδου, οι υποψήφιοι για το μητρώο θα κρίνονται με βάση τα Κριτήρια εγγραφής και θα πρέπει να έχουν πιστοποιημένη θεωρητική και επαγγελματική εκπαίδευση στην ΚΧ-ΚΒ.

Έναρξη του Μητρώου

Η απόφαση του Διοικητικού Συμβουλίου της ΕΕΚΧ-ΚΒ για τη δημιουργία του Μητρώου έγινε ομόφωνα δεκτή από τη Γενική Συνέλευση της Εταιρείας στις 02/06/2004. Τον Δεκέμβριο του 2004 το Διοικητικό Συμβούλιο της ΕΕΚΧ-ΚΒ οργάνωσε μια συνάντηση με τους Διευθυντές και υπευθύνους των βιοχημικών εργαστηρίων από περισσότερα από 20 νοσοκομεία της Αθήνας και των άλλων κύριων πόλεων, στην οποία αναλύθηκε η στρατηγική της Εταιρείας για τη δημιουργία του Μητρώου. Οι συμμετέχοντες συμφώνησαν να συνεργαστούν με την ΕΜΚΧ-ΚΒ για την οργάνωση της εκπαίδευσης των νέων εργαζομένων στα εργαστήριά τους.

Το μητρώο ξεκίνησε επίσημα τον Σεπτέμβριο του 2004. Ο υποψήφιος/α πρέπει να συμπληρώσει μια αίτηση και να συν-υποβάλει αναλυτικό βιογραφικό σημείωμα. Η ΕΜΚΧ-ΚΒ κρίνει την αίτηση σύμφωνα με τις μεταβατικές διατάξεις ή τα κριτήρια εγγραφής και αποφασίζει για την αποδοχή. Αιτήσεις για ένταξη με βάση τις μεταβατικές διατάξεις έγιναν δεκτές μέχρι το τέλος του 2006.

Λειτουργία του Μητρώου σήμερα

Το Μητρώο αριθμεί σήμερα 218 μέλη εκ των οποίων τα 85 είναι και μέλη του Ευρωπαϊκού Μητρώου. Για να γίνει ένας νέος συνάδελφος μέλος του Μητρώου σήμερα θα πρέπει:

- Να έχει πανεπιστημιακό πτυχίο Χημείας, Βιοχημείας, Βιολογίας, Ιατρικής, Φαρμακευτικής ή σε άλλο σχετικό βασικό αντικείμενο της επιστήμης.
- Να παρακολουθήσει την θεωρητική εκπαίδευση στην ΚΧ-ΚΒ και να δώσει γραπτές εξετάσεις. (Η ύλη της θεωρητικής εκπαίδευσής είναι η ύλη των 18 σεμιναρίων που είναι διαθέσιμη γραπτά και ηλεκτρονικά).
- Να συμπληρώσει τουλάχιστον τέσσερα (4) χρόνια εργαστηριακής εκπαίδευσης με βάση το ΦΕΚ το οποίο μπορεί να προμηθευτεί από την ΕΜΚΧ-ΚΒ.

- Να εργάζεται σε εργαστήριο ΚΧ-ΚΒ στην Ελλάδα.
Μέχρι σήμερα, περισσότεροι από 25 νέοι συνάδελφοι έχουν εκπαιδευτεί ή εκπαιδεύονται με βάση το ΦΕΚ.

Τι προσφέρει η εγγραφή στο Μητρώο;

- Αναγνώριση της θεωρητικής και εργαστηριακής επάρκειας στην άσκηση της ΚΧ-ΚΒ.
- Επιβεβαίωση της ενεργού άσκησης της ΚΧ-ΚΒ στην Ελλάδα.
- Δυνατότητα εγγραφής στο Ευρωπαϊκό Μητρώο (EC4: European Register of Specialists in Clinical Chemistry and Laboratory Medicine)

ΦΛΕΓΜΟΝΗ: ΑΠΟ ΤΗ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΣΤΗΝ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Β. Καψιμάλη

Επίκουρη Καθηγήτρια Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ

Φλεγμονή είναι η φυσιολογική βιολογική αντίδραση του οργανισμού που αποσκοπεί στην προστασία του από λοίμωξη, νόσο ή γενικότερα βλάβη. Πρόκειται για σύνθετο και πολύπλοκο μηχανισμό που στοχεύει στην περιχράκωση, περιορισμό, εξουδετέρωση του βλαπτικού παράγοντα αλλά και στην επανόρθωση και αποκατάσταση της ιστικής βλάβης, για να επανέλθει ο οργανισμός στη φυσιολογική του κατάσταση. Η οξεία φλεγμονώδης αντίδραση χαρακτηρίζεται από γρήγορη έναρξη και μικρή διάρκεια, συνοδεύεται δε από συστηματική απόκριση οξείας φάσεως με ταχεία μεταβολή των επιπέδων ορισμένων πρωτεϊνών του πλάσματος. Σημειώνεται επίσης ότι στην ουσία υπάρχει στενή συσχέτιση μεταξύ φλεγμονώδους και ανοσιακής απάντησης.

Το εναρκτήριο έναυσμα της οξείας φλεγμονής αποτελεί η σηματοδότηση μέσω υποδοχών της φυσικής ανοσίας (PRRs/pattern recognition receptors/υποδοχείς αναγνώρισης προτύπων, όπου περιλαμβάνονται και οι TLRs) που εκφράζονται εν προκειμένω στα μακροφάγα και αναγνωρίζουν το ξένο/επικίνδυνο. Η σύνδεση του υποδοχέα με το συνδέτη του (τα PAMPs/pathogen associated molecular patterns, ή τα DAMPs/damage associated molecular patterns) προκαλεί τη μεταγωγή μηνύματος που πυροδοτεί την ενεργοποίηση μεταγραφικών παραγόντων οι οποίοι ελέγχουν γονίδια εμπλεκόμενα στη φλεγμονή, ή πολυπρωτεϊνικών συμπλεγμάτων (inflammasomes) που ρυθμίζουν προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες. Ο NF-κΒ αποτελεί κύριο μεταγραφικό παράγοντα που ελέγχει κυτταροκίνες (IL-1, IL-6, TNF-α) την COX-2 αλλά και μεταλλοπρωτεϊνάσες. Χρησιμοποιούνται βέβαια και άλλα μεταγραφικά μονοπάτια, όπως συμβαίνει κατά τη σύνδεση του TLR3 με ιικό RNA οπότε εκφράζεται IFN-β με τη γνωστή αντι-ιική δράση.

Η εντοπισμένη οξεία φλεγμονώδης απάντηση είναι αγγειακή αντίδραση εστιασμένη κυρίως σε επίπεδο μικροκυκλοφορίας και τα βασικά κλινικά σημεία της (που περιγράφηκαν εδώ και περισσότερα από 2000 χρόνια) θερμότητα, ερυθρότητα, οίδημα, άλγος και διαταραχή λειτουργικότητας, αντανακλούν τα τρία μείζονα στοιχεία της φλεγμονής: 1) Αγγειοδιαστολή αρτηριολίων και αύξηση αιματικής ροής στην περιοχή της βλάβης, 2) αύξηση της διαπερατότητας των τοπικών αγγείων σε επίπεδο μετατριχοειδικών φλεβιδίων, 3) στρατολόγηση και μετανάστευση ουδετεροφίλων δια μέσου του αγγειακού ενδοθηλίου και συσσώρευση στον πάσχοντα ιστό. Πολλές από τις μεταβολές των αγγείων οφείλονται στην άμεση δράση ενζυμικών μεσολαβητών του πλάσματος (βραδυκινίνη, ινωδοπεπτιδία), στην έμμεση δράση αναφυλοτοξινών του συμπληρώματος (C3a, C4a, C5a) που προκαλούν αποκοκκίωση των σιτευτικών και απελευθέρωση ισταμίνης, αλλά και στη δράση των προσταγλανδινών (PGs).

Η διήθηση των ιστών από ουδετερόφιλα κορυφώνεται τις πρώτες 6 ώρες και συνοδεύεται από αύξηση της παραγωγής τους από το μυελό των οστών. Η στρατολόγηση των λευκοκυττάρων στην εστία της φλεγμονής προκαλεί απελευθέρωση νέων μεσολαβητών που ελέγχουν τη μετανάστευση και ενεργοποίηση άλλων κυττάρων που παράγουν επίσης μεσολαβητές, έτσι ώστε να συντηρείται και να μεγεθύνεται η φλεγμονώδης διαδικασία. Η συσσώρευση των λευκοκυττάρων μεσολαβείται από την εκλεκτική και συντονισμένη ενεργοποίηση μορίων προσκόλλησης και από τη δράση χημειοτακτικών παραγόντων. Εξελίσσεται δυναμικά σε διάφορες φάσεις με διαδοχικά βήματα που περιλαμβάνουν την αρχική προσκόλληση στο αγγειακό επιθήλιο, το κύλισμα, τη σταθερή πρόσδεση και την τελική διαπίδυση και εξαγγείωση που αποτελεί και το ζητούμενο.

Τα σιτευτικά κύτταρα συμμετέχουν επίσης και με την ενεργοποίησή τους προκαλείται αποκοκκίωση και έκλυση προσχηματισμένων μεσολαβητών (ισταμίνη) αλλά και σύνθεση λιπιδικών παραγώνων (PGs, λευκοτριένια/LTs, PAF) που αποτελούν αγγειορυθμιστικούς παράγοντες.

Η ιστική βλάβη ενεργοποιεί το σύστημα κινίνης-καλλικρείνης (με τελικό προϊόν τη βραδυκινίνη), το σύστημα πήξεως (ινική) και το ινωδολυτικό σύστημα (πλασμίνη) με αποτέλεσμα αγγειακές μεταβολές (αύξηση διαπερατότητας και διαστολή), άλγος, χημειοταξία ουδετεροφίλων, ενεργοποίηση συμπληρώματος.

Η ενεργοποίηση του συμπληρώματος (κλασική και εναλλακτική οδός) με το σχηματισμό των προϊόντων διάσπασης συμμετέχει ενεργά στη φλεγμονή. Η δέσμευση των αναφυλοτοξινών (C3a, C4a, C5a) στους υποδοχείς των σιτευτικών κυττάρων προκαλεί αποκοκκίωση και απελευθέρωση ισταμίνης και άλλων δραστικών μεσολαβητών.

Το σύστημα του συμπληρώματος συμμετέχει άμεσα στην καταστροφή των παθογόνων.

Η αποικοδόμηση των φωσφολιπιδίων της μεμβράνης προκαλεί την παραγωγή προϊόντων μεταβολισμού του αραχιδονικού οξέος (θρομβοξάνη, PGs, LTs), αλλά και του PAF, που αποτελούν σημαντικούς φλεγμονώδεις μεσολαβητές.

Η κινητοποίηση και ενεργοποίηση της φυσικής ανοσίας οδηγεί στην ταχεία εισροή φλεγμονωδών κυττάρων στην εστία της βλάβης. Όμως και οι κυτταρικοί πληθυσμοί που είναι εγκατεστημένοι στους ιστούς (αγγειακά ενδοθηλιακά κύτταρα, σιτευτικά, ινοβλάστες, δενδριτικά) λαμβάνουν ποικίλα ερεθίσματα και ανταποκρίνονται με την απελευθέρωση μεσολαβητών και τη στρατολόγηση επιπρόσθετων λευκοκυττάρων, μεγεθύνοντας έτσι τη φλεγμονώδη αντίδραση.

Τα σήματα διέγερσης που λαμβάνουν τα κύτταρα της φλεγμονής ενεργοποιούν μεταβολικές οδούς που οδηγούν στην αναπνευστική έκρηξη με την οποία παράγονται δραστικές ρίζες οξυγόνου και αζώτου (ROIs, RNIs). Οι τοξικοί αυτοί μεταβολίτες αλλά και οι μεσολαβητές των πρωτογενών και δευτερογενών κοκκίων των ουδετεροφίλων συμμετέχουν ενεργά στην εξουδετέρωση των παθογόνων.

Με την κάθαρση των βλαπτικών παραγόντων προετοιμάζεται η εστία της φλεγμονής για την ιστική αποκατάσταση. Κάτω από φυσιολογικές συνθήκες όλη αυτή η διαδικασία ελέγχεται και εξισορροπείται, αλλά η περαιτέρω διέγερση της φλεγμονώδους αντίδρασης μπορεί να προκαλέσει ιστική βλάβη/καταστροφή. Στην πλειονότητα των περιπτώσεων η φλεγμονή στη φυσιολογική της έκφραση, αποτελεί ένα εκλεπτυσμένο συντονισμένο πρόγραμμα για την ανακατασκευή της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας και δημιουργεί υποστηρικτικό περιβάλλον για την ιστική επούλωση παρά για την ιστική βλάβη.

Η εξουδετέρωση του βλαπτικού παράγοντα συνεπάγεται και τον τερματισμό της φλεγμονής και με μια σειρά ρυθμιστικών μηχανισμών επέρχεται ομαλοποίηση και επιδιόρθωση της ενδεχόμενης βλάβης. Στοιχεία της διαδικασίας αποκατάστασης και επανόδου στην ομοιόσταση, αποτελούν η απόπτωση, οι αντιφλεγμονώδεις κυτταροκίνες (IL-10, TGF-β), αντιοξειδωτικές ουσίες, αναστολείς των πρωτεασών. Πρόκειται για ένα πεδίο έντονου ερευνητικού ενδιαφέροντος που στοχεύει στο σχεδιασμό αποτελεσματικών και ασφαλών αντιφλεγμονωδών φαρμάκων.

Η τελική λοιπόν έκβαση της οξείας φλεγμονώδους αντίδρασης στην ιδανική περίπτωση, είναι η εξουδετέρωση και απομάκρυνση του βλαπτικού παράγοντα, η λύση και επούλωση της βλάβης καθώς και η αποκατάσταση της

φυσιολογικής λειτουργίας του πάσχοντος ιστού με επαναφορά στην ομοιόσταση.

Η χρόνια φλεγμονή αποτελεί συνήθως συνέπεια της αποτυχίας της οξείας φλεγμονής να ολοκληρώσει τη διαδικασία της κυρίως στη φάση αποδρομής και αποκατάστασης, οπότε δημιουργείται φαύλος κύκλος και η φλεγμονώδης αντίδραση παραμένει και παρατείνεται. Υπάρχουν όμως και περιπτώσεις όπου το ερέθισμα προκαλεί εξαρχής χρονιότητα. Οι παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί της χρόνιας φλεγμονής είναι ποικίλοι και πολύπλοκοι εμπλέκουν δε πολλά βιολογικά συστήματα όπως και στην οξεία φάση. Όμως το μείζον και προεξάρχον στοιχείο που τη διαφοροποιεί από την οξεία φλεγμονή, είναι η ιστική βλάβη και ο τύπος της κυτταρικής αντίδρασης δηλαδή η συσσώρευση και ενεργοποίηση των μακροφάγων. Επίσης, με την απελευθέρωση κυτταροκινών διεγείρεται ο πολλαπλασιασμός των ινοβλαστών και η παραγωγή κολλαγόνου, οπότε στη θέση της βλάβης μέσω ίνωσης δημιουργείται ουλώδης ιστός που μπορεί να παρεμποδίσει φυσιολογικές λειτουργίες. Η χρόνια φλεγμονή πιθανόν να προκαλέσει το σχηματισμό κοκκιώματος, ένα ιστολογικό μόρφωμα αποτελούμενο κεντρικά από ενεργοποιημένα μακροφάγα αλλά και πολυπύρηνα γιγαντοκύτταρα λόγω σύντηξης περιβαλλόμενα από επιθηλιοειδή κύτταρα, και περιφερικά από διεγερμένα λεμφοκύτταρα.

Μπορεί να συμβεί στην προσπάθεια περιχαράκωσης του παθογόνου (φυματίωση, λέπρα, βρουκέλλωση).

Στη χρόνια φλεγμονώδη αντίδραση συμμετέχουν και τα λεμφοκύτταρα που αποτελούν ανομοιογενή πληθυσμό με μια μεγάλη ποικιλία δράσεων (TH1, TH2, TH17, Tregs, Tc, γδ+T).

Άλλα κύτταρα που συμβάλλουν στην παθογένεια της χρόνιας φλεγμονής είναι τα ηωσινοφίλα (σε αλλεργικές αντιδράσεις και παρασιτικές λοιμώξεις) και τα ουδετερόφιλα.

Από πλευράς κυτταροκινών, η IFN-γ (προερχόμενη από TH1, NK, Tc) και ο TNF-α (από τα ενεργοποιημένα μακροφάγα) έχουν κεντρικό και πρωταρχικό ρόλο στη χρόνια φλεγμονή, ασκώντας πληθώρα δράσεων. Από τις σημαντικότερες δράσεις της IFN-γ είναι η ενεργοποίηση των μακροφάγων (και η αυξημένη, ως εκ τούτου, μικροβιοκτόνος δραστηριότητα) που σε μια χρόνια φλεγμονώδη αντίδραση επάγει την απελευθέρωση ενζύμων, ROIs, και RNIs που ευθύνονται για την πρόκληση βλάβης στους παρακείμενους ιστούς. Με τη συνέργεια IFN-γ και TNF-α διευκολύνεται επίσης η μετανάστευση κυττάρων και επιτείνεται η φλεγμονή. Σε παθολογικές καταστάσεις η χρόνια φλεγμονή μπορεί να είναι η αιτία εκσεσημασμένης καταστροφής της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας και ως εκ τούτου, οργανικής δυσλειτουργίας.

Η χρόνια φλεγμονώδης αντίδραση προκαλεί παθολογοανατομικές αλλοιώσεις διαφόρων οργάνων και αφορά ένα ευρύ φάσμα κλινικών διαταραχών και νοσημάτων όπως: αυτοάνοσα νοσήματα, χρόνιες λοιμώξεις και αντιδράσεις υπερευαισθησίας, αλλεργικά και πνευμονικά νοσήματα, φλεγμονώδεις νόσοι του εντέρου, αθηρωμάτωση, γήρας, σύνδρομο συστηματικής φλεγμονώδους αντίδρασης, αλλά και ορισμένες μορφές καρκίνου.

Βιβλιογραφία

1. Roitt's Essential Immunology, 11th edition 2006, p256-286.
2. Kuby Immunology, 6th edition 2007, p52-75.
3. Cecil Medicine, 23rd edition 2008, Chapter 45, Mechanisms of inflammation and tissue repair by Gary S Firestein, p270-277

ΦΛΕΓΜΟΝΗ ΚΑΙ ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ: ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΙ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ

Χ. Τσατσάνης, Α. Μαργιωρή

Εργαστήριο Κλινικής Χημείας, Ιατρικό Τμήμα, Πανεπιστήμιο Κρήτης και Εργ. Κλινικής Χημείας-Βιοχημείας, Π.Γ.Ν. Ηρακλείου

Το μεταβολικό σύνδρομο χαρακτηρίζεται από ήπια χρόνια συστηματική φλεγμονή η οποία προέρχεται από τον λιπώδη ιστό και είναι η κύρια αιτία της εμφάνισης αντίστασης στην ινσουλίνη και σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2. Τα αίτια της ήπιας φλεγμονής που σχετίζεται με το μεταβολικό σύνδρομο είναι πολλαπλά και κυρίως προέρχονται από τη δυσλειτουργία του λιπώδους ιστού λόγω της αύξησης του όγκου των λιποκυττάρων. Η αύξηση του λιπώδους ιστού έχει σαν αποτέλεσμα την αλλαγή του προφίλ των παραγόντων που εκκρίνουν τα λιποκύτταρα (λιποκίνες, κυτταροκίνες και χημειοκίνες) καθώς και την απόπτωσή τους που έχει σαν αποτέλεσμα την αύξηση του αριθμού των μακροφάγων που διηθούν τον λιπώδη ιστό και τη δημιουργία ενός φλεγμονώδους μικροπεριβάλλοντος. Η αλλαγή του προφίλ των παραγόντων που εκκρίνονται από τον λιπώδη ιστό έχει σαν αποτέλεσμα την αλλαγή της διεγερσιμότητας και απόκρισης του συστήματος φυσικής ανοσίας. Μελέτες της ομάδας μας έδειξαν ότι η αδιπονεκτίνη είναι κεντρικός ρυθμιστής της διεγερσιμότητας των μακροφάγων και ότι τα miRNA συμμετέχουν κι αυτά στον έλεγχο της απόκρισης του συστήματος φυσικής ανοσίας, προσφέροντας νέους δείκτες για την πρόγνωση και τον έλεγχο των επιπτώσεων του μεταβολικού συνδρόμου.

ΣΤΡΟΓΓΥΛΟ ΤΡΑΠΕΖΙ: Ο ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΟΥ ΜΕΤΑΓΓΙΖΟΜΕΝΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ

Συντονιστές: Α. Δαδιώτης, Ν. Σπυροπούλου

Ο ΟΡΟΛΟΓΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΟΥ ΜΕΤΑΓΓΙΖΟΜΕΝΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ

Ν. Διακουμή-Σπυροπούλου

Αιμοδοσία, Γ.Ν.Π. «Τζάνειο»

Εισαγωγή

Η μετάγγιση αίματος είναι μια ζωτική θεραπευτική πράξη, αλλά εμπεριέχει τον κίνδυνο της μετάδοσης μολυσματικών νόσων. Η ασφάλεια του αίματος, που στα πρώτα βήματα της Αιμοδοσίας είχε υποστεί την πρόκληση μόνο της σύφιλης (αμέσως μετά τον Β΄ Παγκόσμιο Πόλεμο) και αργότερα (1971) της ηπατίτιδας Β, κατέστη μείζον θέμα, ιατρικό και κοινωνικό, μετά την εμφάνιση του AIDS. Εισήχθησαν λοιπόν (1985) έλεγχοι για την αναζήτηση ιικών αντισωμάτων μεγάλης ευαισθησίας και ειδικότητας (ELISA 1ης, 2ης και 3ης γενεάς). Η ίδια ακολουθία γεγονότων επανελήφθη για την ανίχνευση της ηπατίτιδας C (1990).

Παράλληλα με τα ανωτέρω διαπιστώθηκε ότι η μη ανεύρεση αντιγόνων ή αντισωμάτων, παρείχε αξιόπιστη πληροφόρηση για την ασφάλεια του αίματος, όχι όμως απόλυτη. Έτσι εισήχθη η έννοια του «παραθύρου», του χρόνου δηλαδή που απαιτείται από τη στιγμή της μόλυνσης μέχρι την εργαστηριακή ανίχνευση θετικού αποτελέσματος. Η ιατρική των μεταγγίσεων, στη προσπάθειά της να περιορίσει το παράθυρο μετάδοσης ιογενών λοιμώξεων με το μεταγγιζόμενο αίμα, εισήγαγε (1999) τις μοριακές τεχνικές στον έλεγχο του κάτω από τον γενικό όρο NAT (Nucleic Acid Techniques).

Λοιμώδη νοσήματα μεταδιδόμενα με τη μετάγγιση

Όλα τα παράγωγα του αίματος έχουν τη δυνατότητα μετάδοσης παθογόνων, όπως ιούς, μικρόβια, παράσιτα. Σήμερα η μετάγγιση αίματος και παραγώγων είναι ασφαλέστερη, συγκριτικά με τις προηγούμενες δεκαετίες, λόγω της εισαγωγής ευαίσθητων και ειδικών εργαστηριακών τεχνικών ανίχνευσης.

Ο έλεγχος για τα μεταδιδόμενα με το αίμα νοσήματα στις Αιμοδοσίες περιλαμβάνει τους ακόλουθους μολυσματικούς παράγοντες:

- Τους ιούς για την ηπατίτιδα Β και C (HBV, HCV).
- Τον ιό του AIDS (HIV-1/2).
- Τον ιό HTLV-1/2.
- Την ωχρά σπειροχαίτη της σύφιλης (*Treponema Pallidum*).

Ηπατίτιδα Β

Ο ιός της ηπατίτιδας Β (HBV) ανήκει στην οικογένεια των *Herpadna-ίων* (*Herpadnaviridae*). Ο HBV δείχνει μικρού εύρους ακτίνα δράσης και ενσωματώνεται μόνον σε είδη παρόμοια με τον άνθρωπο, όπως οι γίββωνες, οι πίθηκοι *rhesus* κ.λπ. Ο ιός της ηπατίτιδας Β (HBV) είναι ένας μικρός DNA-ιός, με διάμετρο 42 nm. Αποτελείται από ένα επιφανειακό έλυτρο και ένα πυρηνικό τμήμα.

Το γονιδίωμα του ιού της ηπατίτιδας Β (HBV) αποτελείται από εν μέρει διπλή αλυσίδα DNA 3200 νουκλεοτιδίων. Σε μια οξεία λοίμωξη ανιχνεύεται στην κυκλοφορία ο ακέραιος ιός της ηπατίτιδας Β (σωματίδιο του Dane). Ταυτόχρονα ανιχνεύονται εκατοντάδες κενά έλυτρα (νημάτια και σωματίδια HBsAg).

Ο ορολογικός έλεγχος για την ηπατίτιδα Β γίνεται με την ανίχνευση του αντιγόνου επιφανείας της ηπατίτιδας Β (HbsAg) στον ορό των αιμοδοτών. Οι πρώτες μέθοδοι που εισήχθησαν το 1971, βασιζόνταν στις αρχές της ανοσοδιάχυσης και της παθητικής αιμοσυγκόλλησης. Το 1974 εισήχθη η RIA η οποία σύντομα αντικαταστάθηκε (1978-1980), από την ανοσοενζυμική μέθοδο ELISA.

Έχουν επίσης αναπτυχθεί μέθοδοι χημειοφωταύγειας ικανές να ανιχνεύσουν το αντιγόνο της ηπατίτιδας Β καθώς και αρκετές μεταλλάξεις του. Οι σύγχρονες ανοσοχημικές μέθοδοι εμφανίζουν ευαισθησία και ειδικότητα >99,9%. Ο χρόνος που μεσολαβεί από τη μόλυνση του δότη μέχρι την εμφάνιση στον ορό ανιχνεύσιμου HbsAg, ανέρχεται σε 4-8 εβδομάδες.

Η «λανθάνουσα» (*occult*) λοίμωξη από τον ιό της ηπατίτιδας Β ορίζεται ως η παρουσία ιικού DNA στο αίμα, χωρίς την ύπαρξη ανιχνεύσιμου HBsAg. Η «λανθάνουσα» (*occult*) λοίμωξη από τον ιό της ηπατίτιδας Β εντοπίστηκε πριν 20 περίπου χρόνια. Εντούτοις, η ενασχόληση με τη σχεδόν «σιωπηλή» αυτή μορφή της λοίμωξης, εντάθηκε τα τελευταία χρόνια, λόγω:

- Της αύξησης της ευαισθησίας των μοριακών τεχνικών ανίχνευσης του HBV-DNA.
- Της διεύρυνσης της χρήσης των μοριακών αυτών τεχνικών ανίχνευσης του HBV-DNA στους αιμοδότες.

Έτσι, ήρθαν στην επιφάνεια πολλές περιπτώσεις ασυμπτωματικών φορέων ηπατίτιδας Β με αρνητικό HBsAg. Η *occult* ηπατίτιδα Β είναι δυνατόν να οφείλεται:

- Σε μεταλλαγμένα στελέχη του ιού HBV που διαφεύγουν των ορολογικών μεθόδων.
- Σε πολύ χαμηλή και μη ανιχνεύσιμη συγκέντρωση του HBsAg, σε χρόνια λοίμωξη, ή προς το τέλος της λοίμωξης.
- Στην παρουσία άλλων ιών που παρεμβαίνουν στην παραγωγή του HBsAg.
- Σε άτομα που ανάρρωσαν από μια οξεία λοίμωξη, στην οποία ο HBV παραμένει, κυρίως σε «κρύπτες», όπως π.χ. στον ηπατικό ιστό.

Ηπατίτιδα C

Ο ιός της ηπατίτιδας C ανήκει στην οικογένεια των Φλαβιϊών. Το γενετικό του υλικό αποτελείται από μονόκλωνο RNA μήκους 9500 νουκλεοτιδικών βάσεων, το οποίο κωδικοποιεί μια πολυπρωτεΐνη (πρόδρομο) μήκους 3010 αμινοξέων, η οποία διασπάται στις δομικές και μη δομικές πρωτεΐνες του ιού.

Ο ιός, δεν είναι μια μοναδική οντότητα, αλλά μια οικογένεια με διαφορετικές γενετικές δομές και διαφορετικούς υποτύπους. Διάφορες ακολουθίες του ιού μπορούν να υφίστανται, όχι μόνον σε διαφορετικά μολυσμένα άτομα, αλλά ακόμα και στο ίδιο πρόσωπο. Ο ιός της ηπατίτιδας C παρουσιάζει μεγάλη γενετική ετερογένεια ανάμεσα στα διάφορα στελέχη, τόσο σε επίπεδο νουκλεοτιδίων, όσο και σε επίπεδο αμινοξέων.

Καλά διατηρημένες περιοχές του ιού εμφανίζονται να είναι η του 5' άκρου μη κωδικογραφούσα περιοχή και η C1, η οποία κωδικοποιεί την πρωτεΐνη του πυρήνα. Η ομοιότητα αυτής της περιοχής, ανάμεσα στα διάφορα στελέχη του HCV είναι 97-100%.

Η απομόνωση του ιού της ηπατίτιδας C (1988) είχε ως αποτέλεσμα τη δημιουργία ειδικών διαγνωστικών δοκιμασιών για την ανίχνευση αντισωμάτων στον ορό των αιμοδοτών έναντι του ιού αυτού. Η πρώτη ανοσοενζυμική μέθοδος, η ELISA 1^{ης} γενιάς εισήχθη στις αιμοδοσίες το 1989 και είχε ευαισθησία 70-80%. Ακολούθησε η ELISA 2^{ης} γενιάς το 1991 με ευαισθησία 95%, η οποία αντικαταστάθηκε από την ELISA 3^{ης} γενιάς το 1993, με ευαισθησία και ειδικότητα που πλησιάζουν το 100%.

Έχουν επίσης αναπτυχθεί μέθοδοι χημειοφωταύγειας ικανές να ανιχνεύσουν αντιγόνα και αντισώματα για δομικές και μη πρωτεΐνες του HCV, χρησιμοποιώντας κατάλληλους ιχνηθέτες όπως η μεθυλική ακριδίνη κ.λπ. Εμφανίζουν επίσης ευαισθησία και ειδικότητα που πλησιάζουν το 100% (>99,5%). Τα αντιγόνα που χρησιμοποιούνται προέρχονται κυρίως από τις καλά συντηρημένες περιοχές του ιού.

Ο χρόνος που μεσολαβεί από τη μόλυνση του δότη μέχρι την εμφάνιση στον ορό ανιχνεύσιμων αντισωμάτων με τις σύγχρονες ανοσοχημικές τεχνικές, ανέρχεται στις 70 ημέρες.

Ο ιός HIV

Ο ιός HIV (*Human Immunodeficiency Virus*), ο αιτιολογικός παράγοντας του Συνδρόμου Επικτητής Ανοσολογικής Ανεπάρκειας, είναι ένας RNA-ιός, που ανήκει στους ρετροϊούς. Το Σύνδρομο Επικτητής Ανοσολογικής Ανεπάρκειας πρωτοεμφανίστηκε το 1981 πριν ανακαλυφθεί ο υπεύθυνος ιός, ο οποίος απομονώθηκε το 1984 από τους Montagnier και Gallo. Ο ιός HIV 1 απαντάται κυρίως στην Ευρώπη και στις ΗΠΑ, ενώ ο ιός HIV-2 στη Δ. Αφρική.

Οι πρωτεΐνες του ιού για τις οποίες ο ξενιστής αναπτύσσει αντισώματα είναι:

- **gag πρωτεΐνες:** Οι p24, p18 συνιστούν τον πυρήνα του ιού, περιβάλλουν και «προστατεύουν» το RNA του ιού.
- **pol πρωτεΐνες:** Οι p66/51, p31 συνιστούν την ανάστροφη μεταγραφάση.
- **env πρωτεΐνες:** Οι gp160, gp41, gp120 συνιστούν τις πρωτεΐνες του περιβλήματος του ιού.

Οι ορολογικοί δείκτες με τους οποίους παρακολουθούμε την ορολογική εξέλιξη της HIV λοίμωξης, είναι:

- Το αντιγόνο p 24, το οποίο εμφανίζεται πρώτο στον ορό περίπου τη 12^η ημέρα, για να εξαφανιστεί μετά από 4-6 ημέρες.
- Ακολουθεί η ανάπτυξη των αντισωμάτων την 22^η-32^η ημέρα σαν αντίδραση του ξενιστή στις πρωτεΐνες του πυρήνα και του περιβλήματος του ιού.

Ο ορολογικός έλεγχος των αιμοδοτών για την ύπαρξη αντι-HIV αντισωμάτων στον ορό των αιμοδοτών εισήχθη στις αιμοδοσίες το 1985 με την ELISA 1ης γενιάς. Το σύστημα ανίχνευε μόνο IgG αντισώματα. Στα αντιδραστήρια 2ης γενιάς (1988), οι πρωτεΐνες που συνδέονται με τη στερεά φάση είναι ανασυνδυασμένες, ενώ εισάγεται στον έλεγχο και ο ιός HIV-2. Το σύστημα εξακολουθεί να ανιχνεύει μόνο IgG αντισώματα.

Τα αντιδραστήρια της τρίτης γενιάς βασίζονται σε ανασυνδυασμένες πρωτεΐνες, ανιχνεύουν τον ιό HIV-1 και HIV-2, αλλά επιπλέον ανιχνεύουν αντισώματα IgG και IgM, γεγονός που μειώνει το «παράθυρο». Εμφανίζουν ειδικότητα και ευαισθησία πολύ κοντά στο 100%.

Σήμερα, τα αντιδραστήρια τέταρτης γενιάς, που βασίζονται κυρίως στη μέθοδο της χημειοφωταύγειας ανιχνεύουν ταυτόχρονα:

- Αντιγόνα και αντισώματα IgG και IgM για τους HIV I και HIV II.
- Τον υπότυπο O του HIV I.

Για τον σκοπό αυτό ευρίσκονται συνδεδεμένα στη στερεά φάση ανασυνδυασμένα αντιγόνα και μονοκλωνικά αντισώματα. Αυτά προέρχονται από σταθερές αλληλουχίες (καλά συντηρημένες) των πρωτεϊνών του περιβλήματος, του ιού HIV I και HIV II.

Η ειδικότητα των σύγχρονων ανοσοχημικών τεχνικών πλησιάζει το 99,5% σε μελέτες που έγιναν σε δείγματα ασθενών και αιμοδοτών. Η ευαισθησία των σύγχρονων ανοσοχημικών τεχνικών αγγίζει το 100%, σε μελέτες που έγιναν σε άτομα διαγνωσμένα ως HIV θετικά. Με τα αντιδραστήρια 4ης γενιάς ανιχνεύεται η ορομετατροπή περίπου την 22η ημέρα μετά τη λοίμωξη.

Ο ιός HTLV

Οι ιοί HTLV-1 και HTLV-2 (Human T Lymphotropic Virus) είναι RNA-ρετροϊοί.

Ευρίσκονται κυρίως στη Ν.Α. Ιαπωνία, στην Καραϊβική και στην υπόλοιπη Αμερική. Προκαλούν αιματολογικές ή νευρολογικές παθήσεις περίπου στο 5% των προσβεβλημένων. Η δομή του ιού είναι παρόμοια με αυτή του HIV και η ανίχνευσή του γίνεται με τον προσδιορισμό αντισωμάτων στον ορό των αιμοδοτών. Στην Ελλάδα ο έλεγχος εισήχθη το 1997.

Η σύφιλη

Η σύφιλη (ωχρά σπειροχαίτη, *Treponema Pallidum*) ήταν ο πρώτος μολυσματικός παράγοντας για τον οποίον άρχισε να γίνεται έλεγχος στο μεταγγιζόμενο αίμα στα τέλη της δεκαετίας του '40 και στις αρχές του '50. Ο προσδιορισμός της μόλυνσης από σύφιλη βασίζεται στη χρησιμοποίηση ορολογικών δοκιμασιών, μη ειδικών αντισωμάτων της καρδιολιπίνης, εφαρμόζοντας τις παραλλαγές VDRL και RPR, της αρχικής δοκιμασίας του Wasserman. Παρέμεινε ο μοναδικός έλεγχος για τα επόμενα τριάντα χρόνια.

Επιβεβαιωτικές δοκιμασίες

Η επιβεβαίωση των HBV, HCV και HIV λοιμώξεων βασίζεται κυρίως στην ανίχνευση HBV-DNA, HCV-RNA και HIV-RNA στον ορό. Όμως, εξακολουθούν να χρησιμοποιούνται περιστασιακά για τον HCV και υποχρεωτικά για τον HIV οι επιβεβαιωτικές δοκιμασίες για αντισώματα, με την τεχνική της ανοσοκαθήλωσης (Immunoblotting), όπως π.χ. η HCV RIBA III και η HIV Western Blot.

Συχνότητα λοιμώξεων σε ελεγχθείσες μονάδες αίματος

Σύμφωνα με τη Διεύθυνση Ανάπτυξης Μονάδων Υγείας και την ανάλυση από το ΣΚΑΕ, για τη χρονική περίοδο 1996-2007, οι συχνότερες λοιμώξεων σε 6.052.933 ελεγχθείσες μονάδες αίματος (θετικά ορολογικά δεδομένα) ήταν οι ακόλουθες:

Δείκτης	Ποσοστό %	Θετικά ανά 100.000 αιμοδοτές
HBsAg	0,410	410
Αντι-HCV	0,100	100
Αντι-HIV	0,008	8
Αντι-HTLV	0,001	1
Σύφιλη	0,016	16

Προοπτικές

Κλείνοντας, είναι χρήσιμο να παρατηρήσουμε ότι διεξάγεται συνεχώς έρευνα για την ανάπτυξη δοκιμασιών ανίχνευσης αντιγόνων και αντισωμάτων πολλαπλών παθογόνων παραγόντων μεταδομένων μέσω μετάγγισης. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι η τεχνολογική πρόοδος οδήγησε την ευαισθησία των νεότερων γενεών ορολογικών δοκιμασιών για αντισώματα και των συνδυασμένων δοκιμασιών για αντιγόνα και αντισώματα, των HIV, HBV και HCV πολύ κοντά σε αυτή των NAT.

Υπάρχει επίσης μεγάλη πρόοδος στην ανάπτυξη δοκιμασιών βασισμένων σε νέες τεχνολογίες, που περιλαμβάνουν τα microarray chips και τη νανοτεχνολογία, με ευαισθησία και ειδικότητα τέτοια που να επιτρέπει τον ταυτόχρονο έλεγχο για πολλαπλούς παράγοντες με ένα εξαιρετικά οικονομικό τρόπο.

Ευελπιστούμε ότι αυτές και άλλες νέες τεχνολογίες θα καταστούν διαθέσιμες για τον έλεγχο των αιμοδοτών και μαζί με τη χρήση μεθόδων αδρανισμού των παθογόνων παραγόντων, η μετάγγιση αίματος θα καταστεί μια εξαιρετικά ασφαλής διαδικασία σε όλο τον κόσμο.

Βιβλιογραφία

1. J.H. Strauss, E.G. Strauss, "Viruses and Human Disease", Academic Press 2002.
2. Philip Kiely, Kyall Walker, Susan Parker, Anthea Cheng, Analysis of sample-to-cutoff ratios on chemiluminescent immunoassays used for blood donor screening highlights the need for serologic confirmatory testing, *Transfusion*, Volume 50, 1344-1351, June 2010.
3. Naoko Matsubara, Osamu Kusano, Yasuhiro Sugamata et al, A novel hepatitis B virus surface antigen immunoassay as sensitive as hepatitis B virus nucleic acid testing in detecting early infection, *Transfusion*, Volume 49, 585- 595, March 2009.
4. Editorial: Pooled hepatitis B virus DNA testing by nucleic acid amplification: Implementation or not, *Transfusion*, Volume 45, 1243-1246, August 2005.
5. C. Velati, Occult B hepatitis- still a risk for transfusions? *Vox Sanguinis*, Volume 5, 73-76, July 2010.
6. C. Bianco, Testing strategies looking forward, *Vox Sanguinis* Volume 5, 230-233, July 2010.
7. Screening donated blood for transfusion transmitted infections (Manual) www.who.ch
8. Δελτίο Επιδημιολογικής επιτήρησης λοιμώξεων που μεταδίδονται με το Αίμα (1996-2007), ΚΕΕΛΠΝΟ-ΣΚΑΕ, Νοέμβριος 2008.

Ο ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΟΥ ΜΕΤΑΓΓΙΖΟΜΕΝΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ ΜΕ ΜΟΡΙΑΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ

B. Ζευγώλης

Βιοχημικός, PhD, Εθνικό Κέντρο Αιμοδοσίας

Η μετάδοση λοιμωδών νοσημάτων μέσω μετάγγισης αίματος ή παραγώγων αυτού αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα προβλήματα που σχετίζονται με τη σύγχρονη αιμοδοσία. Πάνω από 20 παθογόνοι παράγοντες είναι δυνατόν να μεταδοθούν μέσω μετάγγισης γεγονός που καθιστά τον έλεγχο μιας μονάδας αίματος, πριν από τη μετάγγισή της, απολύτως αναγκαίο.

Για πολλές δεκαετίες ο έλεγχος του αίματος αφορούσε τον έλεγχο της αντίδρασης του οργανισμού στη μόλυνση (ορολογικός έλεγχος), δηλαδή την ανίχνευση αντισωμάτων έναντι των παθογόνων παραγόντων ή σε ορισμένες περιπτώσεις ανίχνευσης μικροβιακών αντιγόνων (HBsAg). Αυτό συνέβαλε τα μέγιστα στην ασφάλεια του αίματος αλλά ένα ποσοστό ρίσκου παρέμενε κυρίως λόγω τεσσάρων παραγόντων: της περιόδου «παραθύρου» διάγνωσης, δηλαδή της περιόδου πριν τη δημιουργία αντισωμάτων (ορομετατροπή), τις σπάνιες ομάδες ή υπότυπους των ιών και τις μεταλλάξεις τους, τη «σιωπηρή» μόλυνση (immunosilent infection) και τα εργαστηριακά λάθη.

Η ανάγκη για ακόμη καλύτερο έλεγχο των προς μετάγγιση μονάδων αίματος οδήγησε στην ανάπτυξη και την εφαρμογή των τεχνικών ελέγχου μέσω ενίσχυσης νουκλεϊκών οξέων [NAT, Nucleic Acid Testing] ή όπως συνηθέστερα ονομάζουμε Μοριακό Έλεγχο. Η εφαρμογή αυτών των τεχνικών, με πολύ υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα, μπορούσε να συμβάλει καθοριστικά στη μείωση της περιόδου «παραθύρου», καθώς για πρώτη φορά ανιχνεύονταν η ύπαρξη των ίδιων των ιών (μέσω των νουκλεϊκών τους οξέων) και όχι της ανοσολογικής απόκρισης του οργανισμού. Αυτό είχε ως αποτέλεσμα την ταχύτερη ανίχνευση της μόλυνσης και τη μείωση του κινδύνου μόλυνσης μέσω μετάγγισης. Οι μοριακές τεχνικές που χρησιμοποιούνται συχνότερα για τον έλεγχο των μονάδων αίματος είναι η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (Polymerase Chain Reaction, PCR), η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης «πραγματικού χρόνου» (Real-time PCR, RT-PCR) και η μέθοδος ενίσχυσης μέσω της μεταγραφής (Transcription Mediated Amplification, TMA).

Η χρήση των μοριακών τεχνικών στον έλεγχο αίματος ξεκινάει στα μέσα της δεκαετίας του '90, από την ευρωπαϊκή βιομηχανία πλάσματος με τον έλεγχο μονάδων πλάσματος που προορίζονταν για κλασματοποίηση, αρχικά για τον ιό HCV με τη μορφή μικροδεξαμενών. Σύντομα ακολούθησε και ο έλεγχος για τον ιό HIV-1, ενώ λίγο αργότερα για τον ιό HBV. Τόσο η Ευρωπαϊκή Επιτροπή όσο

και ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας ωθούν τις χώρες στην υιοθέτηση του Μοριακού Ελέγχου έτσι ώστε να επιτευχθεί η μέγιστη δυνατή ασφάλεια για το μεταγγιζόμενο αίμα. Η εξέλιξη των τεχνολογιών NAT οδήγησε στη δημιουργία αυτόματων συστημάτων στις αρχές του 2004, τα οποία επέτρεψαν τον έλεγχο των μονάδων αίματος σε διαμόρφωση μονήρη δότη.

Στη χώρα μας ο μοριακός έλεγχος του αίματος ξεκίνησε το 1999 στο Ε.Κ.Π.Π.Α. με τον έλεγχο του πλάσματος που προοριζόταν για κλασματοποίηση και τις μονάδες αίματος του Κέντρου Αιμοδοσίας του Γ.Κ. Πειραιά, για τον ιό της ηπατίτιδας C σε μικροδεξαμενές των 24 δειγμάτων με τη μέθοδο RT-PCR και το σύστημα Cobas Ampliscreen. Το 2002 ξεκίνησε να εφαρμόζεται στην Ελλάδα η μέθοδος TMA με τη δοκιμασία ελέγχου Procleix[®] HIV-1/HCV σε ημιαυτόματο σύστημα στο Π.Γ.Ν. Ρίο-Πατρών και σε μορφή μοναδιαίου δότη. Από το 2004 εφαρμόστηκε η δοκιμασία Procleix[®] Ultrio[®] (HIV-1/HCV/HBV), με την οποία μέχρι το 2008 ελέγχονταν περίπου το 70% των μονάδων της χώρας. Από τον Οκτώβριο του 2008 όλες οι μονάδες αίματος της χώρας ελέγχονται με τεχνικές μοριακού ελέγχου σε 9 κέντρα σε όλη τη χώρα, με τη δοκιμασία Procleix[®] Ultrio[®] στο σύστημα Procleix[®] Tigris[®] και με τη δοκιμασία TaqScreen MPX στο σύστημα Cobas S201.

Παρότι η ασφάλεια του αίματος έχει βελτιωθεί αισθητά με τη χρήση των μοριακών τεχνικών, ο κίνδυνος μετάδοσης λοιμώξεων με τη μετάγγιση παραμένει εφόσον νέοι λοιμογόνοι παράγοντες εμφανίζονται ή παλαιότεροι αλλάζουν σε σχέση με τα επιδημιολογικά χαρακτηριστικά τους.

ΑΝΑΔΥΟΜΕΝΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΠΟΥ ΜΕΤΑΔΙΔΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΟ ΑΙΜΑ

Κ. Σταμούλης

Αιματολόγος, Γ.Ν. Νίκαιας

Στις ημέρες μας γίνεται όλο και πιο εμφανές ότι οι περιβαλλοντολογικές αλλαγές μπορούν να επηρεάσουν σημαντικά τη συμπεριφορά των λοιμωδών νοσημάτων και ιδιαίτερα αυτών που μεταδίδονται μέσω διαβιβαστών (vectors) και κατά συνέπεια, και την ασφάλεια του αίματος, αφού αυτά τα νοσήματα αποτελούν έναν από τους ανερχόμενους κινδύνους στη σύγχρονη μεταγγισιοθεραπεία.

Η γνώση μας σχετικά με τον τρόπο με τον οποίο αλλαγές στη λειτουργικότητα των οικοσυστημάτων επηρεάζουν την ανθρώπινη υγεία είναι αρκετά περιορισμένη και αυτό διότι:

- Οι επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία είναι βαθμιαίες, καθότι οι αλλαγές στη λειτουργικότητα των οικοσυστημάτων επέρχονται με την πάροδο δεκαετιών. Έτσι, εκλείπουν πρώιμες ενδείξεις των επιπτώσεων στην υγεία.

- Οι επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία συνήθως είναι πολυπαραγοντικές. Για παράδειγμα η εμφάνιση της ελονοσίας σε ορεινές περιοχές μπορεί να οφείλεται σε αλλαγές στη χρήση της γης, μετακινήσεις πληθυσμών, αλλαγές στα προγράμματα ψεκασμών αλλά και σε τοπικές κλιματικές αλλαγές.¹

- Πρόσφατες έρευνες σχετικά με τις συνέπειες των κλιματικών αλλαγών, έχουν δείξει ότι διάφορα συστήματα, εξαιρουμένων του ανθρώπου, έχουν ήδη αρχίσει να απαντούν στις πρόσφατες τάσεις υπερθέρμανσης του πλανήτη.² Για παράδειγμα, υπάρχουν σημαντικές αποδείξεις υποχώρησης των πάγων και μείωσης των χιονοπτώσεων, ενώ παράλληλα έχει παρατηρηθεί τάση προς μετακίνηση σε υψηλότερα υψόμετρα των πτηνών, εντόμων και των φυτών καθώς και συντομότερη έναρξη της περιόδου αναπαραγωγής. Τα οικοσυστήματα διατηρούνται μέσω αυτόνομων διαδικασιών (ρυθμίζοντας τροφή, νερό, ενέργεια) και εντός ορισμένων ορίων μπορεί να «επιδιορθώσουν» τις συνέπειες. Παρόλα αυτά, οι χρόνιες και σημαντικές διαταραχές που προκαλούνται από τον άνθρωπο στο περιβάλλον, κάποια στιγμή, θα μειώσουν ή θα υπερκεράσουν τη δυνατότητα αυτών των συστημάτων για ρύθμιση και προσαρμογή και τότε μπορεί να προκληθούν μη γραμμικές αλλαγές στο σύστημα.

- Οι διάφορες αλλαγές στο περιβάλλον διαφέρουν όσον αφορά την ευκολία με την οποία μπορούν να ανιχνευθούν οι επιπτώσεις τους στην ανθρώπινη υγεία. Για παράδειγμα, η μείωση του στρώματος του όζοντος στη στρατόσφαιρα και κατά συνέπεια, η αυξημένη έκθεση σε υπεριώδη ακτινοβολία, έχει ενοχοποιηθεί για την αύξηση του καρκίνου του δέρματος και την εμφάνιση καταρράκτη.

Γενικά, θεωρείται ότι η αλλαγή του κλίματος θα αυξήσει ορισμένες αλληλεπιδράσεις μεταξύ του περιβάλλοντος και της υγείας των ανθρώπων με ισχυρότερες και πιο εμφανείς επιπτώσεις από τις μέχρι τώρα γνωστές. Ο τρόπος με τον οποίο θα βιώσουν τέτοιου είδους επιπτώσεις στην υγεία του πληθυσμού τους οι διάφορες χώρες θα είναι άνισος. Η φύση και η ένταση των τελικών επιπτώσεων θα εξαρτηθεί από την ικανότητα προσαρμογής και τις ενέργειες των συστημάτων υγείας καθώς και από την πρόσβαση των διαφόρων ομάδων πληθυσμού στις υπηρεσίες αυτές.

Τα συστήματα υγείας είναι ευάλωτα στα ακραία καιρικά φαινόμενα, και αυτό γιατί η κλιματική αλλαγή μπορεί να έχει αντίκτυπο σε αυτά λόγω αύξησης της ζήτησης υγειονομικών υπηρεσιών που υπερβαίνουν τις ικανότητες των εν λόγω συστημάτων. Επίσης, ενδέχεται να διαταράξει την ικανότητά τους να αντεπεξέλθουν στη ζήτηση κλονίζοντας την υποδομή, την τεχνολογία και τη διαθεσιμότητα του εργατικού δυναμικού και των οικονομικών πόρων.

Από τους περιβαλλοντικούς παράγοντες που φαίνεται να επηρεάζουν περισσότερο την ανθρώπινη υγεία είναι οι κλιματικές αλλαγές. Η συμπεριφορά ορισμένων λοιμωδών νοσημάτων φαίνεται να αλλάζει ως συνέπεια των παρατηρούμενων κλιματικών αλλαγών. Μεταξύ των κυριότερων υπόπτων βρίσκονται η ελονοσία, ο δάγκειος πυρετός, η χολέρα και ο κίτρινος πυρετός. Όμως συνεχίζουν να λείπουν εκτεταμένες αποδείξεις, κάνοντας δύσκολη τη συσχέτιση με τις κλιματικές αλλαγές

Η παγκόσμια οργάνωση υγείας καταλήγει ότι οι κλιματικές αλλαγές μπορούν να παίξουν έναν σχετικά μικρό αλλά όχι

αμελητέο ρόλο στο σύνολο των θανάτων παγκοσμίως, «σκοτώνοντας» σχεδόν πάνω από 150.000 ανθρώπους τον χρόνο, εν μέρει μέσω της αύξησης των λοιμωδών νοσημάτων.

Δεν πρέπει να ξεχνάει κανείς ότι η ελονοσία κάποτε ήταν αρκετά συχνή σε πολλές περιοχές της Ευρώπης³ και επεκτάθηκε βόρεια μέχρι τις περιοχές του Αρκτικού κύκλου,⁴ παρόλο που ήταν συχνότερη στις Μεσογειακές χώρες και στην ανατολική ηπειρωτική Ευρώπη. Επαναλαμβανόμενες επιδημίες παρατηρήθηκαν στην Ανατολική Ευρώπη, Αρμενία, Αζερμπαϊτζάν, και Τουρκία.⁵ Καμιά όμως από αυτές τις επιδημίες δεν μπόρεσε να συσχετισθεί με την κλιματική

Πίνακας 1. Λοιμώξεις από Arbo-ιούς που μεταδίδονται μέσω μετάγγισης.

Νόσος / αιτία	Ξενιστής	Επώαση (ημέρες)	Συμπτωματολογία	Γεωγραφική / Εποχική κατανομή
Διαβιβαστής: κουνούπι				
Chikungunya (Alphavirus)	Πρωτεύοντα	2-12	Πυρετός, ναυτία, έμετος, αρθραλγίες, φωτοφοβία, εξάνθημα	Αφρική, Ινδία, Ασία. Ευρώπη Μάιο-Ιούλιο
Dengue (Flavivirus)	Άνθρωπος	4-7	Πυρετός, κεφαλαλγία, μυαλγίες, αρθραλγίες, εγκεφαλίτις, αιμορραγική νόσος, θάνατος	Αφρική, Ασία, Αυστραλία, Ινδία, Βόρεια, Κεντρική, Νότια Αμερική Καλοκαίρι
Japanese Encephalitis (Flavivirus)	Θηλαστικά (χοίρος), πτηνά	5-15	Πυρετός, κεφαλαλγία, λήθαργος, σπασμοί	Ασία, Κίνα, Ινδία, Ιαπωνία, Κορέα Μάιος-Οκτώβριος
La cross Encephalitis (Bunyavirus)	Μικρά θηλαστικά	4-14	Πυρετός, κεφαλαλγία, ναυτία, έμετοι, εγκεφαλίτιδα	ΗΠΑ, Καναδάς
Murray Valley Encephalitis & Kunjin (Flavivirus)	Θηλαστικά, πτηνά	2-14	Πυρετός, κεφαλαλγία έμετοι, διάρροια, θανατηφόρα εγκεφαλίτις	Αυστραλία, Νέα Γουινέα Ιανουάριος-Απρίλιος
Ross River & Barbah Forest (Alphavirus)	Θηλαστικά, πτηνά	3-21	Πυρετός, εξάνθημα, πολυαρθρίτιδα	Αυστραλία, Δυτικά Νησιά Ειρηνικού
Sandfly fever (Naples/Sicilia/Toscana) (Phlebovirus)	Θηλαστικά (τρωκτικά)	2-12	Πυρετός, καταβολή, συμμετοχή νευρικού συστήματος	Ευρώπη, Μέση Ανατολή, Νοτιοανατολική Ασία, Κεντρική & Νότια Αμερική
St Luis Encephalitis (Flavivirus)	Θηλαστικά, πτηνά	4-21	Κεφαλαλγία, πυρετός, ναυτία, θανατηφόρος συμμετοχή νευρικού συστήματος	Κυρίως ΗΠΑ Ιούνιος- Οκτώβριος
West Nile fever (Flavivirus)	Θηλαστικά, πτηνά	2-14	Πυρετός, κεφαλαλγία, μυαλγίες, αρθραλγίες θανατηφόρος συμμετοχή νευρικού συστήματος	Αφρική, Ευρώπη, Μέση Ανατολή, Αμερική Μάιο-Οκτώβριο
Western Equine Encephalitis (Alphavirus)	Θηλαστικά, πτηνά	5-10	Πυρετός, κεφαλαλγία, ναυτία-έμετοι, ραιβόκρονο, θανατηφόρος συμμετοχή νευρικού συστήματος	Δυτική-Βόρεια Αμερική, Νότια Αμερική Καλοκαίρι
Yellow Fever (Flavivirus)	Πρωτεύοντα	3-7	Κεφαλαλγία, πόνος, ίκτερος, αιμορραγία, ταχυκαρδία, θάνατος	Τροπική Αφρική, Κεντρική & Νότια Αμερική Εποχές Βροχοπτώσεων
Διαβιβαστής: κρότωνες				
Colorado tick fever (coltivirus)	Θηλαστικά (τρωκτικά)	3 - 20	Πυρετός εξάνθημα, εγκεφαλίτις στα παιδιά	Δυτική Βόρεια Αμερική Μάρτιο-Σεπτέμβριο
Powassan Encephalitis (Flavivirus)	Θηλαστικά (τρωκτικά), πτηνά	7 - 14 34 ;	Πυρετός, έμετοι, αναπνευστικά προβλήματα, θανατηφόρα εγκεφαλίτιδα	Βόρεια Αμερική, Ρωσία, Κίνα, Νοτιοανατολική Ασία Ιούνιος-Σεπτέμβριος
Tickborne Encephalitis (Flavivirus)	Πτηνά, Θηλαστικά	7 - 14	Κεφαλαλγία, πυρετός, ναυτία, παράλυση, κώμα, θάνατος	Ανατολική Ευρώπη, πρώην ΕΣΣΔ

αλλαγή, ενώ ήταν εμφανής η συσχέτιση με τις επιδεινούμενες κοινωνικοοικονομικές συνθήκες, με διακοπή των προγραμμάτων προφύλαξης έναντι της ελονοσίας κ.ά. Τοπική μετάδοση της ελονοσίας στη Δυτική Ευρώπη είναι πιθανή, όμως το πιθανότερο είναι να είναι περιορισμένη σε λίγα περιστατικά και σποραδικά. Στην Ιταλία όπου η ελονοσία έχει εξαλειφθεί εδώ και 40 χρόνια, παρατηρήθηκε πρόσφατα⁶ τοπική μετάδοση του *plasmodium vivax*, ηπιότερο παράσιτο, σε σχέση με το *plasmodium falciparum* κυρίως διότι μπορεί να αναπτυχθεί γρηγορότερα σε χαμηλότερες θερμοκρασίες. Η δυναμική της μετάδοσης επιπλέκεται ακόμη περισσότερο καθότι ορισμένοι διαβίβατες μπορούν να μεταφέρουν μόνο συγκεκριμένα στελέχη του παρασίτου. Για παράδειγμα, ο διαβίβαστής *Anopheles atroparvus* είναι ανθεκτικός στα τροπικά στελέχη του *plasmodium falciparum*⁷ αλλά όχι στα Ευρωπαϊκά στελέχη.⁸

Περιστασιακά περιστατικά ελονοσίας εμφανίζονται στην Ευρώπη όταν μολυσμένα κουνούπια «εισάγονται» μέσω αεροπλάνων προερχόμενων από τροπικές χώρες. Από το 1969 έχουν αναφερθεί 60 τέτοιες περιπτώσεις σε μια σειρά Ευρωπαϊκές χώρες.⁹ Ακόμη μεγαλύτερο πρόβλημα αποτελεί ο αυξανόμενος αριθμός ασθενών που μολύνονται κατά τη διάρκεια υπερατλαντικών ταξιδιών. Στο Ην. Βασίλειο αναφέρονται κάθε χρόνο περίπου 2.000 περιστατικά, γεγονός που προκαλεί ιδιαίτερη ανησυχία λόγω της ταχείας μετάδοσης πολυανθεκτικών στελεχών του παρασίτου.

Από αυτή την κατηγορία των νοσημάτων το ενδιαφέρον εστιάζεται κυρίως στις λοιμώξεις από *Arbo-ιούς* (ως αυτές που επηρεάζονται περισσότερο από τις κλιματικές αλλαγές), ιδιαίτερα λόγω του γεγονότος ότι οι περισσότερες είναι ασυμπτωματικές στους ανθρώπους και έτσι υπάρχει μεγαλύτερη ευκαιρία αίμα, όργανα και ιστοί που έχουν προέλθει από δότες στη φάση της ιαιμίας να μεταδώσουν τους *arbo-ιούς* στους τελικούς αποδέκτες. Στον πίνακα 1 απεικονίζονται οι κυριότερες για τον άνθρωπο λοιμώξεις από *Arbo-ιούς* που μπορούν να μεταδοθούν με τη μετάγγιση αίματος.

Όσο το κλίμα θερμαίνεται, πολλοί διαβίβατες -όχι μόνο αυτοί που μεταδίδουν την ελονοσία- είναι πιθανόν να επεκταθούν προς την Ευρώπη. Ένας κύριος διαβίβαστής του Δάγγειου πυρετού, ο *Aedes albopictus*, επεκτάθηκε σε 22 βόρειες επαρχίες της Ιταλίας από τότε που εισήχθη για πρώτη φορά πριν οκτώ χρόνια.¹⁰ Λοιμώξεις προκαλούμενες από τους *Arbo-ιούς* που μεταδίδονται μέσω κουνουπιών μπορούν να προκαλέσουν σημαντική θνητότητα και θνησιμότητα στην Ευρώπη και να απειλήσουν τόσο την ασφάλεια όσο και την επάρκεια του αίματος.

Είναι δύσκολο να προβλεφθεί πότε και που θα υπάρξουν νέα κρούσματα, όμως θεωρείται δυνατό να καθορισθούν οι πιθανές περιοχές εμφάνισης της λοίμωξης εάν χαρτογραφηθούν οι κλιματικές αλλαγές που ευνοούν την ανάπτυξη του εμπλεκόμενου διαβίβαση.

Βιβλιογραφία

1. Reiter P, Thomas C, Atkinson P, Hay S, Randolph S, Rogers D, et al. Global warming and malaria: a call for accuracy. *The Lancet Infectious Diseases* 2004;323-324.
2. Houghton J, Ding Y, Griggs D, Noguer M, Linden P, Dai X, et al. Climate change 2001: The Scientific basis. Contribution of working group I to the third Assessment Report of the International Panel on Climate Change, Cambridge: Cambridge University Press.
3. Bruce-Chwatt L, Zulueta JD. The rise and fall of malaria in Europe. London, Oxford University Press, 1980.
4. Molineaux L. The epidemiology of human malaria as an explanation of its distribution, including some implications for its control. New York, Churchill Livingstone, 1988.
5. Sabatinelli G. Contextual determinants of malaria in the WHO European Region. Paper presented at: Contextual Determinants of Malaria: an International Workshop, Lausanne, Switzerland, 14-18 May. Pittsburgh, PA, Center for Integrated Study of the Human Dimensions of Global Change, Carnegie Mellon University, USA, 2000 (unpublished document).
6. Simini B. First case of indigenous malaria reported in Italy for 40 years. *Lancet*, 1997, 350:717.
7. Ribeiro H et al. An attempt to infect *Anopheles atroparvus* from Portugal with African *Plasmodium falciparum*. *Revista Portuguesa de Doencas Infecciosas*, 1989, 12: 81-82.
8. Ramsdale CD, Coluzzi M. Studies on the infectivity of tropical African strains of *Plasmodium falciparum* to some southern European vectors of malaria. *Parasitologia*, 1975, 17:39-48.
9. Danis M, Mouchet M, Giacomini T, Guillet P, Legros F, Belkaïd M. Indigenous, introduced and airport malaria in Europe. *Med Mal Infect*. 1996 Apr;26 Suppl 3:393-6.
10. Romi R, Di Luca M, Majori G. Current status of *Aedes albopictus* and *Aedes atropalpus* in Italy. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 1999, 15:425-427.

PRESENT AND FUTURE OF DIAGNOSTIC TESTING

M. Ferrari

Vita-Salute San Raffaele University, Center for Genomics, Bioinformatics and Biostatistics, Genomic Unit for the Diagnosis of Human Pathologies, San Raffaele Scientific Institute, and Diagnostica e Ricerca San Raffaele, Milan, Italy

The completion of human genome project and the development of new technologies for DNA testing started the revolution of the diagnostic laboratory. For the diagnosis of genetic diseases, DNA-based diagnostics provide

a sensitive alternative to protein-based diagnostics. Mutation detection is one of the most important areas of molecular diagnostics today and can be divided into two categories: a diagnostic mode, where specific tests are designed to detect known mutations and a scanning mode, where a stretch of DNA is searched for unknown mutations.

Advances in DNA analysis to develop methods, which are increasingly specific, sensitive, fast, simple, automatable, and cost-effective, are considered paramount. These demands are currently driving the rapid evolution of a diverse range of newer technologies.

Every day, researchers discover the functions of new genes and increase the knowledge that can be translated into clinical practice.

This growth in knowledge fuels, in turn, the expansion of DNA testing both for diagnosis and prediction of disease susceptibility. Moreover in the post genomic era, the screening of many different genetic polymorphisms and copy number variations in large populations represents a major goal that will facilitate the understanding of individual genetic variability in the development of multifactorial diseases and drug response and toxicities.

For the future of genomics is demanding the rapid evolution of miniaturization and high-throughput genotyping technologies toward increased speed and reduced cost.

Through miniaturization of the test platform, microchip-based nucleic acid technologies allow rapid analysis of genetic information in large sample populations thus reducing time and manual work.

Moreover nanotechnologies are arising as a new field to develop diagnostic applications. Nanotechnology -the creation and utilization of materials, devices, and systems through the control of matter on the nanometer- has been applied to molecular diagnostics. Nanotechnologies enable the diagnosis at single cell and molecule level and some of these can be incorporated in the current molecular diagnostics such as biochips. These technologies will extend the limits of current molecular diagnostics and enable point-of-care diagnosis as well as the development of personalized medicine. Although the potential diagnostic applications are unlimited, most important current applications are foreseen in the areas of biomarker research, cancer diagnosis and detection of infectious microorganisms.

Scientists are on the brink of discovering the genetic factors in diabetes, heart disease, common cancers, high blood pressure, asthma, mental illness -virtually any disease that tends to run in families.. The use of personal genetic information to predict disease susceptibility and guide proactive care has the power to transform our entire

healthcare system. In the future, knowing one's genetic code will allow a person to make lifestyle and environmental changes at an early age to avoid or lessen the severity of a genetic disease. Advance knowledge of susceptibility will allow for careful monitoring and early intervention. Knowledge of a patient's genetic profile will allow a doctor to prescribe the most effective medication with least amount of side effects. The profile will also show how well the body metabolizes allowing doctors to determine the safest and most effective dosage. Prescribing drugs with little or no side effects will increase patient compliance.

In this arena Laboratory Medicine should play a major role.

ΣΤΡΟΓΓΥΛΟ ΤΡΑΠΕΖΙ: ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΩΝ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ

Συντονιστές: Ε.Δ. Βογιατζάκης, Α. Χαλιάσος

ΚΑΡΔΙΑΚΟΙ ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ: ΝΕΟΤΕΡΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Μ. Νικολάου

Καρδιολόγος

Οι βιοδείκτες είναι μόρια που μπορούν να μετρηθούν στο περιφερικό αίμα των ασθενών, αντανακλούν ένα βιοχημικό μονοπάτι των υποκείμενων παθοφυσιολογικών μηχανισμών, και χρησιμεύουν δυναμικά στην κλινική πράξη για τη διάγνωση, ανίχνευση της υπο-κλινικής νόσου, την εκτίμηση της πρόγνωσης και την καθοδήγηση της θεραπείας με αντίστοιχη μείωση του κόστους. Τρία είναι τα κύρια χαρακτηριστικά ενός βιοδείκτη που τον καθιστούν κλινικά χρήσιμο για την εκτίμηση των ασθενών: α) να είναι εύκολα διαθέσιμος (ακόμα και παρακλίνια) για επανειλημμένες μετρήσεις με λογικό κόστος, β) να παρέχει επιπρόσθετες πληροφορίες από την κλινική εξέταση, και γ) να διευκολύνει τον κλινικό γιατρό στη λήψη θεραπευτικής απόφασης.

Η σύγχρονη βιβλιογραφία έχει αναδείξει τον κυρίαρχο ρόλο των βιοδεικτών αυξημένης τοιχωματικής τάσης έναντι των άλλων βιολογικών δεικτών στη διαγνωστική προσέγγιση και εκτίμηση της πρόγνωσης των ασθενών με ΚΑ. Τα νατριουρητικά πεπτιδία, συγκεκριμένα το Β-τύπου νατριουρητικό πεπτιδίο (BNP) και το αμινοτελικό άκρο του προπεπτιδίου (NT-proBNP), έχουν αποδείξει την κλινική εφαρμογή τους στη διάγνωση, πρόγνωση και θεραπεία της καρδιακής ανεπάρκειας. Έτσι, επίπεδα NT-proBNP=340 pg/ml είχαν την καλύτερη ευαισθησία και ειδικότητα για τη διάγνωση της ΚΑ σε ασθενείς που προσέρχονται με δύσπνοια, ενώ και η χρήση του BNP φάνηκε ότι υπερτερεί έναντι της κλινικής εκτίμησης στη μείωση της συχνότητας των νοσοκομειακών εισαγωγών (περίπου 30% λιγότερες εισαγωγές) και του κόστους

νοσηλείας (1800 δολάρια ανά ασθενή) των ασθενών με οξεία δύσπνοια. Τόσο στην οξεία όσο και στη χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια, το BNP παρέχει σημαντικές προγνωστικές πληροφορίες αφού για κάθε αύξηση του κατά 100 pg/ml αυξάνει ο κίνδυνος θανάτου των ασθενών αυτών κατά 35%. Νεότεροι βιολογικοί δείκτες, όπως η προαδρενομεδουλίνη φαίνεται πως επίσης διαθέτει διαγνωστική και προγνωστική αξία στο τμήμα επειγόντων περιστατικών.

Η χρήση νεότερων βιοδεικτών στη διάγνωση των οξέων στεφανιαίων συνδρόμων έχει ακολουθήσει επίσης αλματώδη εξέλιξη τα τελευταία έτη. Οι τροπονίνες υψηλής ευαισθησίας, αλλά και νεότεροι δείκτες όπως η IMA (ischemia modified albumin) καθώς και h-FABP (heart type fatty acid binding protein), φαίνεται πως αποτελούν χρήσιμους δείκτες για την πρωιμότερη διάγνωση των οξέων στεφανιαίων συνδρόμων.

ΟΜΟΚΥΣΤΕΙΝΗ-ΠΑΡΑΟΞΟΝΑΣΗ1: ΔΕΙΚΤΕΣ ΤΟΥ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ

Γ.Α. Καρίκας

Τμήμα Ιατρικών Εργαστηρίων, Σχολή Επ. Υγείας και Πρόνοιας, Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Αθήνας

Οι καρδιαγγειακές παθήσεις (Κ.Π.) αποτελούν και για τη χώρα μας την πρώτη αιτία θανάτου. Σύμφωνα με πρόσφατα στοιχεία της Εθνικής Στατιστικής Υπηρεσίας, 50.000 άτομα χάνονται κάθε χρόνο από έμφραγμα μυοκαρδίου, αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια και ρήξη ανευρύσματος της αορτής.

Η πρόοδος της εργαστηριακής διαγνωστικής, με την ανάπτυξη προγνωστικών και διαγνωστικών καρδιοδεικτών, έχει συμβάλει σημαντικά στην πρόληψη, αξιολόγηση και αντιμετώπιση των Κ.Π. Στην ομάδα αυτή συμπεριλαμβάνονται, η ομοκυστεΐνη (ΟΜΟ) και πρόσφατα το ενζυμικό σύστημα της παραοξονάσης1 (PON1).

Ενας μεγάλος αριθμός αναδρομικών και προοπτικών μελετών, έχουν τεκμηριώσει τη συσχέτιση υπερομοκυστεϊναιμίας (ΥΟΜΟ)-στεφανιαίας νόσου, αγγειακής εγκεφαλικής νόσου και περιφερικών αγγειακών διαταραχών, ακόμη και σε άτομα με φυσιολογική χοληστερόλη.

Η ΥΟΜΟ πιστεύεται ότι εξαρτάται τόσο από γενετικούς, όσο και περιβαλλοντικούς παράγοντες (περιλαμβανομένης της διατροφής). Με βάση το σχηματισμό και μεταβολισμό της ΟΜΟ, η έλλειψη ενζύμων (συνθετάση μεθειονίνης, πολυμορφισμοί MTHFR, συνθετάση κυσταθειονίνης, κ.ά.), βιταμινών (φυλλικό οξύ, Β6, Β12) θεωρούνται τα αίτια της ΥΟΜΟ στο πλάσμα. Εκτός των ανωτέρω, η ηλικία, το φύλο, το κάπνισμα, διάφορες παθήσεις όπως και η χρήση συγκεκριμένων φαρμάκων, μπορούν να οδηγήσουν σε ΥΟΜΟ.

Η PON1 (στην ίδια ομάδα απαντούν οι υπό μελέτη παραοξονάσες 2 και 3) είναι μια λακτονάση-εστεράση, γνωστή από την υδρόλυση οργανοφωσφορικών εστέρων (παραθείο). Η ανθρώπινη PON1 είναι μια γλυκοπρωτεΐνη Μ.Β 43 kDa και είναι συνδεδεμένη με την προστατευτική HDL-C. Κατέχει αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις δράσεις. Προστατεύει την αθηρωματογόνο LDL-C από την οξείδωση, συμβάλλει στη λειτουργικότητα της HDL-C, ενώ φαίνεται ότι συνδέεται βιοχημικά με την ΟΜΟ, αφού υδρολύει τη θειολακτόνη της ΟΜΟ, με συνέπεια τη μείωση των επιπέδων της ΟΜΟ στο πλάσμα. Η δραστηριότητα της PON1 βρέθηκε μειωμένη σε καρδιαγγειακές και νεφρικές παθήσεις, διαβήτη τύπου 1 και διαβήτη τύπου 2.

LP-PLA₂, GDF-15 ΚΑΙ MPO ΝΕΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΣΤΗΝ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΗΣ ΝΟΣΟΥ

Ιωάννης Παπασωτηρίου

*PhD, EurClinChem, Δ/ντης Βιοχημικού Τμήματος
ΓΝΠ Αθηνών «Η Αγία Σοφία»*

Τα τελευταία χρόνια έχουν προταθεί αρκετοί δείκτες που σχετίζονται με την φλεγμονή και τις βλάβες του μυοκαρδίου. Οι πιο γνωστοί είναι αυτοί που σχετίζονται με τη συστηματική φλεγμονή, δηλαδή η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP), το ινωδογόνο και το αμυλοειδές Α του ορού (SAA), όλοι δείκτες οξείας φάσης παραγόμενοι στο ήπαρ. Στις φλεγμονώδεις διεργασίες ενέχονται και διάφορες κυτταροκίνες, όπως η ιντερλευκίνη (IL)-1b, η IL-6 και ο παράγοντας α νέκρωσης του όγκου (tumor necrosis factor alpha, TNF-a). Όλοι αυτοί οι δείκτες φλεγμονής σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο καρδιαγγειακών νόσων, αλλά δεν αποτελούν κριτήρια θεραπευτικής επιτυχίας.

Άλλοι γνωστοί δείκτες είναι αυτοί που συναντώνται σε πιο προχωρημένα στάδια της αθηρωμάτωσης, όταν ήδη έχει συμβεί βλάβη στο μυοκάρδιο και εδώ περιλαμβάνονται οι τροπονίνες και η κινάση της κρεατίνης MB, που απελευθερώνονται από τα τραυματισμένα κύτταρα του μυοκαρδίου. Τυχόν αυξημένα επίπεδα τους είναι ενδεικτικά εμφράγματος του μυοκαρδίου ή/και καρδιακής ανεπάρκειας. Σε αυτές τις περιπτώσεις ομοίως αυξάνονται άλλοι δείκτες εντοπισμένοι στα τοιχώματα των αγγείων όπως τα μόρια προσκόλλησης ICAM-1 (Intercellular Adhesion Molecule 1), VCAM-1 (Vascular Cell Adhesion Molecule 1), και E-σελεκτίνη και P-σελεκτίνη κλπ (1, 2).

Πρόσφατα έχουν εντοπιστεί νέοι δείκτες που παράγονται από τα μακροφάγα και δρουν μέσα στο τοίχωμα των αγγείων, όπως το σύμπλοκο λιποπρωτεΐνη-φωσφολιπάση A₂ (Lp-PLA₂) και η εκκκριτική φωσφολιπάση A₂. Επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει ότι η ταυτόχρονη μέτρηση

των επιπέδων της hs-CRP και της Lp-PLA₂ μπορεί να επαυκαθορίσει το βαθμό κινδύνου των ατόμων για καρδιαγγειακά συμβλήματα. Η Lp-PLA₂ είναι μια λιπάση της σερίνης που δεν εξαρτάται από το ασβέστιο και σχετίζεται με την χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη (LDL). Τα αποτελέσματα των μελετών σε συνδιασμό με τις συστάσεις της ΑΗΑ/CDC (American Heart Association/Centers for Disease Control) και του NCEP III (National Cholesterol Education Program III) των ΗΠΑ καθιστούν την Lp-PLA₂ κατάλληλη για την λεπτομερέστερη εκτίμηση της επικινδυνότητας για καρδιαγγειακό νόσημα ή ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο και την ανάγκη για εντατικοποίηση της θεραπευτικής παρέμβασης (3).

Ενας άλλος πρόσφατος δείκτης είναι ο GDF-15 (Growth Differentiation Factor-15). Ο GDF-15 προκαλεί στρες και αποτελεί μέλος της υπεροικογένειας των κυτταροκινών του TGF-beta. Σε μοντέλα ζώων, ο GDF-15 επάγεται στην καρδιά σε ανταπόκριση στην ισχαιμική βλάβη εξαιτίας υποαιμάτωσης, στην αυξημένη πίεση και στην καρδιακή ανεπάρκεια, πιθανώς μέσω οδών και προφλεγμονωδών σημάτων που εμπλέκονται κυτταροκίνες και μέσω οξειδωτικών, εξαρτώμενων από το στρες διεργασιών. Έχει αναφερθεί πρόσφατα ότι τα επίπεδα του GDF-15 που κυκλοφορούν στο αίμα αυξάνονται και συνδέονται ανεξάρτητα με τη θνησιμότητα, τον κίνδυνο επανεμφάνισης εμφράγματος του μυοκαρδίου και τις επιπτώσεις των πρώιμων επεμβάσεων σε ασθενείς στους οποίους έχει διαγνωσθεί non-ST οξύ στεφανιαίο σύνδρομο. Οι κλινικές δοκιμές πραγματοποιήθηκαν σε επιλεγμένους ασθενείς υψηλού κινδύνου. Για το λόγο αυτό, η χρησιμότητα του GDF-15 στον βαθμό κινδύνου πρέπει να διερευνηθεί σε ετερογενείς, μη επιλεγμένους ασθενείς με πόνο στην καρδιά (4).

Ενας τρίτος ενδιαφέρον δείκτης είναι η μυελοϋπεροξειδάση (MPO), που απελευθερώνεται από ενεργοποιημένα ουδετερόφιλα και μονοκύτταρα κατά τη διάρκεια φλεγμονής. Πρόσφατα ανακοινώθηκε ότι η MPO παράγεται και σε ενδοθηλιακά κύτταρα ως απάντηση στο οξειδωτικό στρες. Η MPO συμβάλλει στη φλεγμονή των αγγείων μέσω εξάντλησης του νιτρικού οξειδίου (NO) στα αγγεία με επαγόμενη ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, όπως επίσης και μέσω προαγωγής της οξειδωσης της LDL. Σε ασθενείς με οξύ στεφανιαίο σύνδρομο, η συκέντρωση της MPO στο πλάσμα εμφανίστηκε αυξημένη και ίσως να μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως προγνωστικός δείκτης. Παρομοίως, η συκέντρωση της MPO βρέθηκε αυξημένη σε ασθενείς με σταθερή χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια και μπορεί να προγνώσει δυσμενείς κλινικές εκβάσεις (5).

Οι παραπάνω πρωτεΐνες προσδιορίζονται στο πλάσμα και στον ορό των ασθενών. Συγκεκριμένα η Lp-PLA₂

με αυτοματοποιημένη μέθοδο σε βιοχημικούς αναλυτές, ο GDF-15 με ELISA ή χημειοφωταύγεια και η MPO με αυτοματοποιημένες μεθόδους σε ανοσολογικούς αναλυτές.

Βιβλιογραφία

1. Circulation, 121: 2388 – 2397, 2010.
2. BMC Medicine, 8:3 4, 2010.
3. Lancet, 375: 1536-1544, 2010.
4. Eur J Heart Fail. 2010 Sep 13. [Epub ahead of print].
5. Clin. Chem, 56: 944 – 951, 2010.

ΕΚΔΗΛΩΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΡΟΣΦΟΡΑ ΤΩΝ ΓΥΝΑΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΩΝ ΣΤΗΝ ΚΛΙΝΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ – ΚΛΙΝΙΚΗ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ

Κ. Ψαρρά

Χημικός

Μια τιμητική εκδήλωση γίνεται για να τιμηθούν κάποια άτομα, να τους αποδοθεί δηλαδή η τιμή που τους αρμόζει από αυτούς που θέλουν να τους την αποδώσουν. Η τιμή αυτή δείχνει την ευγνωμοσύνη και την εκτίμηση προς τα άτομα αυτά αναφορικά προς το έργο, που έχουν επιτελέσει σε σχέση με τα άτομα που τους τιμούν. Εξίσου σημαντικός σκοπός μιας τιμητικής εκδήλωσης είναι... το παράδειγμα και η παρακίνηση προς μίμηση για τους νεότερους.

Στην παρούσα εκδήλωση, στο Συνέδριο του 2010, όταν το 2011 έχει ανακηρυχθεί το διεθνές έτος Χημείας και όταν το 2011 συμπίπτει με την 100η επέτειο απονομής Βραβείου Nobel στη Marie Curie, μας δίνεται η ευκαιρία να εορταστεί η συνεισφορά των γυναικών στην επιστήμη και μάλιστα στην επιστήμη της Κλινικής Χημείας. Στην παρούσα εκδήλωση θα τιμηθούν οι συνάδελφοι κυρίες (με αλφαβητική σειρά) Ευτυχία Αναγνώστο-Κακαρά, Βασιλική Ιωαννίδου, Σοφία Κάκαρη, Αγγελική Σαραντάκου και Ιφιγένεια Φωκά, που επί μακρόν θεράπευσαν την επιστήμη της Κλινικής Χημείας στην Ελλάδα και που υπήρξαν ενεργά μέλη της Ελληνικής Εταιρείας Κλινικής Χημείας – Κλινικής Βιοχημείας.

Θα ήταν απλό να αναφερθούμε στο εκτεταμένο επιστημονικό βιογραφικό καθεμιάς από τις κυρίες καθηγήτριες, τις δασκάλες μας, που τιμούμε σήμερα.

Νομίζω όμως ότι η σημερινή εκδήλωση θέλει πάνω από όλα να δείξει γιατί οι συνάδελφοι αυτές είναι ξεχωριστές για μας, γιατί θελήσαμε να τις τιμήσουμε όλες μαζί, γιατί νομίζουμε ότι τους ανήκει αυτή η ξεχωριστή τιμή, διότι τιμώντας αυτές τιμούμε τη γυναίκα, την επιστήμονα, την Κλινική Χημεία. Ο χαρακτηρισμός δάσκαλος-δασκάλα στην προκειμένη περίπτωση είναι, νομίζω, και η κυριότερη σχέση που συνδέει τις συναδέλφους με εμάς που τις τιμούμε, είναι οι δασκάλες μας, όλων μας. Μας δίδαξαν την Κλινική Χημεία όλες τους, μας δίδαξαν όμως πάνω

από όλα την επιβίωση και τη νίκη της Ελληνίδας γυναίκας-επιστήμονα σε πολλαπλά εχθρικό περιβάλλον. Ήταν σε όλα μειοψηφία και εμείς οι κλινικοί χημικοί, ιδιαίτερα στη χώρα αυτή, γνωρίζουμε πολύ καλά στο πετσί μας, τι θα πει μειοψηφία ή μειονότητα.

Οι συνάδελφοι αυτές σε εποχές δύσκολες για πανεπιστημιακές σπουδές, σε εποχές ανδροκρατούμενες, σε επιστήμες ανδροκρατούμενες, 1) ήταν γυναίκες και έγιναν επιστήμονες, 2) σπούδασαν θετικές επιστήμες, 3) αποφάσισαν να ασχοληθούν με την κλινική χημεία, μη αναγνωρισμένη από τότε μέχρι σήμερα σε συνεχή αγώνα να αποδείξουν το αυταπόδεικτο, να καθιερώσουν την εργασία τους, να πείσουν για την ορθότητα της εργασίας τους, 4) και το σημαντικότερο: σε όλους αυτούς τους αγώνες διακρίθηκαν. Τον κέρδισαν τον αγώνα τον καλό και κατέλαβαν διακεκριμένες θέσεις στο πανεπιστήμιο και στα εργαστήρια, στο εσωτερικό και στο εξωτερικό, τα ονόματά τους αναφέρονται και θα αναφέρονται στα συγγράμματα, στα ιδρύματα όπου υπηρέτησαν, στις επιστημονικές εταιρείες, όπου συμμετείχαν και θα είναι πάντα πρώτα διότι απλούστατα αποτέλεσαν

την πρωτοπορία, υπήρξαν οι πρώτες, που άνοιξαν το δρόμο, που έδειξαν το δρόμο.

Με λίγα λόγια, οι συνάδελφοι αυτές, οι γυναίκες αυτές, απλά «δεν κάθισαν ήσυχες».

Στον πρόλογο του βιβλίου του Δρ χημικού Κίμωνος Παναγόπουλου «Αναλυτική και εφαρμοσμένη Βιοχημεία», που εκδόθηκε το 1953 και αποτέλεσε το πρώτο ελληνικό βιβλίο Βιοχημείας, αναφέρει ο καθ. Γ. Ιωακείμογλου: «Αι εν αυτώ περιγραφόμενοι μέθοδοι έχουν πλειστάκις υποστεί την βάσανον...». Την βάσανον κατά την εκτέλεση των μεθόδων την έχουν γνωρίσει βέβαια όλες οι τιμώμενες, αλλά και την απέραντη ικανοποίηση της επιτυχίας και της εκπλήρωσης του έργου τους.

Νομίζω ότι τα λόγια της χαράκτριας Τόνιας Νικολαΐδη σε μια συνέντευξή της, αρμόζουν στα χείλια των αγαπημένων συναδέλφων που τιμούμε σήμερα: «Τελικά αναρωτιέμαι τι θα έχει μείνει για μένα στο σουρωτήρι του χρόνου. Θα έχει απομείνει αυτό που δεν μπορεί να μου πάρει κανένας, ότι απόλαυσα εγώ η ίδια το ταξίδι, με την ψυχή και το μυαλό και τις αισθήσεις μου».

ΠΡΟΦΟΡΙΚΕΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ

EA 01

EVALUATION OF LIVER FIBROSIS IN PATIENTS WITH THALASSEMIA: THE IMPORTANT ROLE OF HYALURONIC ACID

M. Papastamataki,¹ Ch. Voyagis,² E. Premetis,³
P. Delaporta,⁴ A. Kattamis,⁴ V. Ladis,⁴ I. Papassotiriou¹

¹Department of Clinical Biochemistry, "Aghia Sophia" Children's Hospital

²Alapis Medical & Diagnostics SA

³Hematology Laboratory, "Aghia Sophia" Children's Hospital

⁴First Department of Pediatrics, Athens University Medical School

Background: Patients with transfusion-dependent thalassemia major often develop liver fibrosis due to liver iron overload and/or hepatitis virus C (HCV) infection. Hyaluronic acid (HA) plays a prominent role in the pathogenesis of liver fibrosis and the elevation of serum HA concentration is due to either increased synthesis by inflammatory cells and hepatic stellate cells or impaired degradation by sinusoidal endothelial cells (SECs) and thus is proposed as a non-invasive biomarker of liver fibrosis either by itself and/or included in the Hepascore formula.

Patients and Methods: In this study we evaluated prospectively a screening of liver fibrosis in 201 adult patients aged 19-54 years with transfusion-dependent thalassemia major, based on HA measurements. 41/201 patients were HCV-RNA (+). HA was measured with a turbidimetric assay applied on a clinical chemistry analyzer. The Hepascore was computed from the results by using the model previously published.

Results: The main results of the study showed that: a) HA levels were increased in 110/201 (55%) thalassemia patients 85.0 ± 10.3 ng/ml, ranged from 15.0-1495.0 μ g/l, compared to 20.8 ± 7.4 μ g/l reference laboratory values, $p < 0.001$, b) HA levels were significantly higher in HCV-RNA(+) compared to HCV-RNA(-) patients, 171.6 ± 202 vs 53.8 ± 35.5 μ g/l, $p < 0.0001$ c) no significant correlations were found between HA levels and/or Hepascore with ferritin and liver iron content (LIC) assessed with MRI ($p > 0.324$ and $p > 0.270$, respectively).

Conclusions: HA measurements contribute to the assessment of liver fibrosis in patients with transfusion dependent thalassemia major and might be a useful tool for the clinical doctor to decide if the liver biopsy is truly needed. Furthermore, our study indicates that in thalassemic patients liver fibrosis is independent from liver siderosis, two

different problems for these patients that should be solved. Finally, HA measurements in association with MRI measurements could provide useful information to the physicians about the liver pathology in thalassemic patients.

EA 02

ΕΠΙΚΥΡΩΣΗ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟΥ ΜΕΛΕΤΗΣ ΝΚ ΚΑΙ ΝΚΤ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΜΕ ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑ ΡΟΗΣ

Ε. Κώνστα,¹ Κ. Ψαρρά,² Β. Καψιμάλη,³

Χρ. Παπαστεριάδη²

¹Β' Παθολογική Προπαιδευτική Κλινική, Αιματολογική Μονάδα, Π.Γ.Ν. «Αττικόν»

²Τμήμα Ανοσολογίας-Ιστοσυμβατότητας,

Γ.Ν.Α. «Ο Ευαγγελισμός»

³Εργαστήριο Μικροβιολογίας, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Εισαγωγή: Η κυτταρομετρία ροής χρησιμοποιείται τόσο σε διαγνωστικό όσο και σε ερευνητικό επίπεδο, κυρίως στα πεδία της αιματολογίας και της ανοσολογίας, με ευρεία κλίμακα εφαρμογών. Για το λόγο αυτό, τόσο ο έλεγχος της καλής λειτουργίας του κυτταρομετρητή ροής όσο και η επικύρωση των μεθόδων της κυτταρομετρίας ροής κρίνονται αναγκαία.

Υλικό και Μέθοδοι: Για την επικύρωση του πρωτοκόλλου μελέτης των ΝΚ και ΝΚΤ κυττάρων CD3-ECD/CD56-PC5/CD2-FITC/CD16-PE, χρησιμοποιήθηκε το περιφερικό αίμα ενός φυσιολογικού μάρτυρα, ενός ασθενούς με ΝΚ λεμφοκυττάρωση και ένα δείγμα ελέγχου μονιμοποιημένου πλήρους αίματος. Πραγματοποιήθηκε έλεγχος της επαναληψιμότητας εντός ημέρας (N=6) και αναπαραγωγιμότητας (N=4), έλεγχος ανθεκτικότητας και ακρίβειας, ενώ προσδιορίστηκε το όριο ανίχνευσης του πρωτοκόλλου.

Αποτελέσματα: Στον έλεγχο της εντός ημέρας επαναληψιμότητας, παρατηρήθηκε διατήρηση του ποσοστού του συνόλου των λεμφοκυττάρων (CV=0,66-2,7%), των ΝΚ κυττάρων (CV=3,5-15%) και των υποπληθυσμών τους [CD3-CD56+(CV=4,9-11%), CD3-CD16+(CV=1,8-8,2%)], ενώ παρατηρήθηκε μεταβολή στο ποσοστό των ΝΚΤ λεμφοκυττάρων (CV=3,1-33%) και των υποπληθυσμών τους [CD3+CD56+(CV=2,6-24%), CD3+CD16+(CV=8,6-36%)]. Στον έλεγχο της αναπαραγωγιμότητας, διαπιστώθηκε πιστότητα στα ποσοστά των ΝΚ, ΝΚΤ κυττάρων και των υποπληθυσμών τους μέχρι και την τρίτη ημέρα των μετρήσεων. Το σύστημα αντιδραστηρίων λύσης ερυθρών αιμοσφαιρίων Immunoprep βρέθηκε καταλληλότερο, ενώ η χρήση του 75% της προτεινόμενης ποσότητας

μονοκλωνικών αντισωμάτων και 5 min επώαση δείγματος-μονοκλωνικών αντισωμάτων δεν επηρέασαν τα αποτελέσματα της μέτρησης. Η αραιώση 1:16 του δείγματος ελέγχου αποδείχθηκε ως η βέλτιστη για την εύρεση των ορίων ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης του πρωτοκόλλου. Ο έλεγχος ακρίβειας πραγματοποιήθηκε μέσω της σύγκρισης των μετρήσεων του ίδιου δείγματος σε δύο διαφορετικούς κυτταρομετρητές ροής.

Συμπεράσματα: Η επικύρωση του πρωτοκόλλου μελέτης των NK και NKT κυττάρων παρέχει σημαντικές πληροφορίες τόσο σε διαγνωστικό όσο και σε ερευνητικό επίπεδο. Η συνεχιζόμενη βελτίωση της αξιοπιστίας της πληροφορίας, που δίδεται από την κυτταρομετρική ανάλυση πρέπει να αποτελεί βασική αρχή κάθε εργαστηρίου.

ΕΑ 03

ΕΠΙΚΥΡΩΣΗ ΤΟΥ ΑΝΟΣΟΦΑΙΝΟΤΥΠΟΥ ΤΩΝ ΜΥΕΛΟΔΥΣΠΛΑΣΤΙΚΩΝ ΣΥΝΔΡΟΜΩΝ

Μ. Βικεντίου,¹ Κ. Ψαρρά,² Β. Καψιμάλη,³

Χ. Παπαστεριάδη² Μ. Κουππάρης⁴

¹Β' Παθολογική και Προπαιδευτική Κλινική, Π.Γ.Ν. «Αττικόν»

²Τμήμα Ανοσολογίας-Ιστοσυμβατότητας,

Γ.Ν.Α. «Ο Ευαγγελισμός»

³Εργαστήριο Μικροβιολογίας, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

⁴Τμήμα Χημείας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Εισαγωγή: Η χρήση της κυτταρομετρίας ροής στη διάγνωση και πρόγνωση των Μυελοδυσπλαστικών Συνδρόμων (myelodysplastic syndromes, MDS), δεν έχει μέχρι σήμερα γενική εφαρμογή λόγω μη επικύρωσης των μεθόδων της. Ο σκοπός της εργασίας ήταν η επικύρωση του ανοσοφαινότυπου των MDS για την ευρύτερη εφαρμογή του στα κλινικά εργαστήρια.

Υλικό και Μέθοδοι: Χρησιμοποιήθηκε κυτταρομετρία ροής με 4 φθορίζουσες ουσίες για την επικύρωση του ανοσοφαινότυπου των πολυμορφοπύρηνων, των αώρων κυττάρων και των μονοκυττάρων. Χρησιμοποιήθηκαν τα κύτταρα Immuno-Trol™, ως δείγμα ελέγχου, περιφερικό αίμα (peripheral blood, **PB**) από υγιή μάρτυρα καθώς και **PB** και μυελός οστών (bone marrow, **BM**) από ασθενή με MDS. Έγινε έλεγχος επαναληψιμότητας (η=6) και αναπαραγωγιμότητας (η=4), ενώ προσδιορίστηκαν το όριο ανίχνευσης (detection limit, LOD), το όριο ποσοτικοποίησης (quantitation limit, LOQ), και η ακρίβεια της μεθόδου.

Αποτελέσματα: Κατά τον έλεγχο της επαναληψιμότητας, τόσο τα ποσοστά των κυττάρων όσο και η έκφραση των υπό μελέτη δεικτών ήταν σταθερά σε όλους τους κυτταρικούς πληθυσμούς. Κατά τον έλεγχο της αναπαραγωγιμότητας παρατηρήθηκε σταθερότητα των ποσοστών: α) των αώρων

κυττάρων **PB** MDS μέχρι την ημέρα 2 (CV=5,0%), β) των πολυμορφοπύρηνων **PB** MDS μέχρι την ημέρα 3 (CV=11%) και **BM** MDS μέχρι την ημέρα 4 (CV=3,0%), και γ) των μονοκυττάρων **PB** και **BM** MDS μέχρι την ημέρα 4 (CV=10% και CV=6,3%, αντίστοιχα). Η έκφραση των περισσότερων δεικτών ήταν σταθερή μέχρι την ημέρα 4. Τα LOD και LOQ ήταν: α) 8 και 24 κύτταρα/μl, για τα άωρα κύτταρα, β) 1 και 3 κύτταρα/μl, για τα πολυμορφοπύρηνια, και γ) 5 και 15 κύτταρα/μl, για τα μονοκύτταρα, αντίστοιχα. Το όριο ποσοτικοποίησης αντιστοιχεί σε αραιώση 1:16 του δείγματος ελέγχου. Η ακρίβεια της μεθόδου ελέγχθηκε μέσω του εξωτερικού ελέγχου ποιότητας.

Συμπεράσματα: Η επικύρωση του ανοσοφαινότυπου των MDS παρέχει πληροφορία η οποία αφενός αυξάνει την αξιοπιστία της μεθόδου και αφετέρου συμβάλλει στην άμεση εφαρμογή της στη διάγνωση και πρόγνωση των MDS.

ΕΑ 04

ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΜΕΘΥΛΙΩΣΗΣ ΣΕ ΟΓΚΟΚΑΤΑΣΤΑΛΤΙΚΑ ΚΑΙ ΚΑΤΑΣΤΑΛΤΙΚΑ ΓΟΝΙΔΙΑ ΤΗΣ ΜΕΤΑΣΤΑΣΗΣ ΣΕ ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΝΤΑ ΚΑΡΚΙΝΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ (CTCS)

Μ. Χειμωνίδου,^{1*} Α. Στρατή,^{1*} Α. Τζιτζιρα,¹

Γ. Σωτηροπούλου,² Ν. Μαλάμος,³ Β. Γεωργούλιας,⁴

Ε. Λιανίδου¹

¹Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Αθηνών

²Τμήμα Φαρμακευτικής, Σχολή Ιατρικών Επιστημών

³Μονάδα Ιατρικής Ογκολογίας, Νοσοκομείο Έλενα Βενιζέλου

⁴Εργαστήριο Καρκινικής Κυτταρικής Βιολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Κρήτης, Ηράκλειο

Εισαγωγή: Επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει ότι ο καρκίνος του μαστού αποτελεί τη δεύτερη αιτία θανάτου από κακοήθες νεόπλασμα και την πρώτη αιτία θανάτου γυναικών ηλικίας 40-49 ετών. Σε αντίθεση με τα φυσιολογικά, τα καρκινικά κύτταρα χαρακτηρίζονται από ειδικά πρότυπα υπερμεθυλίωσης στις CpG νησίδες των υποκινητών ορισμένων γονιδίων. Η μεθυλίωση των CpG νησίδων στον καρκίνο συνδέεται με τη φυσιολογική σίγαση της μεταγραφής τους και αποτελεί, επιπρόσθετα με τη μετάλλαξη, μηχανισμό σίγασης ογκοκατασταλτικών γονιδίων. Τα κυκλοφορούντα καρκινικά κύτταρα (CTCs) έχουν ήδη καθιερωθεί ως ισχυροί προγνωστικοί δείκτες σε ασθενείς με μεταστατικό καρκίνο μαστού και αποτέλεσε ιδιαίτερη πρόκληση η μελέτη της μεθυλίωσης του DNA τους.

Σκόπος: Η μελέτη της μεθυλίωσης των υποκινητών των γονιδίων *CST6*, *SOX17* και *BRMS1* στα CTCs και η συσχέτιση των αποτελεσμάτων με τα κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά των ασθενών.

Υλικό και Μέθοδοι: Χρησιμοποιήθηκε περιφερικό αίμα (20 ml σε EDTA) 56 ασθενών με πρώιμο καρκίνο

του μαστού πριν τη χορήγηση επικουρικής θεραπείας, 27 ασθενών με επιβεβαιωμένη μετάσταση και 23 υγιών αιμοδοτών. Τα CTCs απομονώθηκαν με φυγοκέντρηση διαβαμισμένης πυκνότητας με φικόλη, ακολούθησε εμπλουτισμός με ανοσομαγνητικά σφαιρίδια επικαλυμμένα με Ber-Ep4. Η ανάλυση της μεθυλίωσης του DNA επιτυγχάνεται με Methylation Specific PCR αφού έχει προηγηθεί επεξεργασία του DNA με όξινο θειώδες νάτριο. Η αρχή της μεθόδου βασίζεται στις διαφορές στην αλληλουχία που προκαλεί η κατεργασία του DNA με όξινο θειώδες νάτριο και η χρήση διαφορετικών ζευγών εκκινητών που αναγνωρίζουν μεθυλιωμένη και μη μεθυλιωμένη αλληλουχία αντίστοιχα. Όλα τα δείγματα ελέγχθηκαν ως προς την έκφραση της *CK-19* με qRT-PCR.

Αποτελέσματα: Στα CTCs ασθενών με πρώιμο καρκίνο του μαστού, παρατηρήθηκε μεθυλίωση του υποκινητή του γονιδίου *CST6* σε 17,9% των δειγμάτων, 30,4% στο *BRMS1* και 53,4% στο *SOX17*. Στα CTCs ασθενών με επιβεβαιωμένη μετάσταση, μεθυλίωση παρατηρήθηκε σε 37,0% των δειγμάτων στην *CST6*, 44,4% στο *BRMS1* και 74,1% στο *SOX17*.

Συμπεράσματα: Τα αποτελέσματά μας αποτελούν μια πρώτη απόδειξη ότι η μεθυλίωση των ογκοκατασταλτικών και μεταστατικών γονιδίων είναι ένα ιδιαίτερο χαρακτηριστικό των CTCs και επιβεβαιώνουν την ετερογένειά τους.

EA 05

ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΝΤΩΝ ΚΑΡΚΙΝΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΜΕ ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑ ΡΟΗΣ

Κ. Δάγλα,^{1,2} Κ. Ψαρρά,² Β. Καψιμάλη,³ Σ. Σπυριδάκης,⁴ Ε. Λιανίδου,¹ Χ. Παπαστεριάδη²

¹Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας, ΕΚΠΑ

²Τμήμα Ανοσολογίας-Ιστοσυμβατότητας, Γ.Ν.Α. «Ο Ευαγγελισμός»

³Εργαστήριο Μικροβιολογίας, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ

⁴Τμήμα Κυτταρομετρίας Ροής, Π.Ν. «ΜΕΝΤΙΜΕΚ»

Εισαγωγή: Τα κυκλοφορούντα καρκινικά κύτταρα (Circulating Tumor Cells, CTCs) ανιχνεύονται σε ποικίλους καρκίνους επιθηλιακής προέλευσης με κυτταρομετρικές τεχνικές όπως το σύστημα CellSearch και η ανοσοιστοχημεία, καθώς και με μοριακές τεχνικές όπως η real time qRT-PCR.

Σκοπός: Σκοπός της εργασίας μας είναι να αξιολογήσουμε την πιθανή χρήση της πολυπαραμετρικής κυτταρομετρίας ροής για την ανίχνευση και των χαρακτηρισμό των CTCs, μετά από θετική επιλογή τους, χρησιμοποιώντας ανοσομαγνητικά σφαιρίδια. Η προσέγγιση αυτή παρουσιάζει εξαιρετική δυσκολία, λόγω του ελάχιστου αριθμού των κυκλοφορούντων καρκινικών κυττάρων στο περιφερικό αίμα.

Υλικό και Μέθοδοι: Η αναλυτική ευαισθησία και ειδικότητα της πολυπαραμετρικής κυτταρομετρίας ροής

αξιολογήθηκαν με πειράματα εμβολιασμού κυττάρων της καρκινικής κυτταρικής σειράς MCF-7 σε 10 ml_ περιφερικό αίμα υγιών αιμοδοτών. Ακολούθησε διαχωρισμός των μονοπυρήνων κυττάρων με διαφορική φυγοκέντρηση σε φικόλη. Για τη θετική επιλογή των CTCs χρησιμοποιήθηκαν ανοσομαγνητικά σφαιρίδια (MACs, Miltenyi Biotec), συνδεδεμένα με μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι του EpCAM,. Για τη χρώση των κυττάρων, που απομονώθηκαν, χρησιμοποιήθηκαν τα μονοκλωνικά αντισώματα anti-Cytokeratin-FITC, CD340-PE (HER2), CD45-ECD, CD24-PC5 και CD44-PC7. Ο συνδυασμός CD24-PC5, CD44-PC7 χρησιμοποιείται για την ανίχνευση καρκινικών βλαστικών κυττάρων τα οποία έχουν τον φαινότυπο CD44⁺/CD24⁻. Η ανάλυση των δειγμάτων έγινε στον κυτταρομετρητή FC-500 (Beckman Coulter).

Αποτελέσματα: Χρησιμοποιώντας πολυπαραμετρική κυτταρομετρία ροής, ο ελάχιστος αριθμός κυττάρων που μπορούν να ανιχνευθούν αξιόπιστα είναι 10 κύτταρα MCF-7 ανά ml_ περιφερικού αίματος, όταν ο αρχικός όγκος είναι 10 ml_ (100 κύτταρα συνολικά). Η ανάκτηση των κυττάρων ήταν 5-10%. Η μέθοδος ανιχνεύει κύτταρα θετικά για το αντίσωμα anti-Cytokeratin, αρνητικά για το CD45, θετικά για το HER-2 με φαινότυπο CD24VCD44⁺.

Συμπεράσματα: Η ευαισθησία της κυτταρομετρίας ροής για την ανίχνευση των CTCs μετά από ανοσομαγνητικό εμπλουτισμό συμφωνεί με τα δεδομένα της βιβλιογραφίας και θεωρείται ικανοποιητική. Η ανάκτηση των εμβολιασθέντων κυττάρων είναι πολύ μικρή, αφού αναφέρεται με άλλες μεθόδους ανάκτηση 70-95% μετά από ανοσομαγνητικό εμπλουτισμό, και είναι πιθανό να οφείλεται στο διαχωρισμό με φικόλη, που σχετίζεται με μεγάλη απώλεια κυττάρων.

EA 06

MICRO-RNAS PARTICIPATE IN THE CONTROL OF THE INFLAMMATORY RESPONSE: POTENTIAL MOLECULAR MARKERS FOR COMPENSATORY ANTI-INFLAMMATORY RESPONSE SYNDROME (CARS) AND SEPSIS

C. Doxaki,¹ K. Vaporidi,² I. Liapis,¹ Y. Martinez,¹

A. Arranz,¹ D. Iliopoulos,³ M. Venihaki,¹

D. Georgopoulos,² A.N. Margioris,¹ C. Tsatsanis¹

¹Department of Clinical Chemistry, University of Crete School of Medicine, Heraklion, Crete, Greece

²Intensive Care Medicine, University of Crete School of Medicine, Heraklion, Crete, Greece

³Dana Farber Cancer Institute, Harvard Medical School, Boston, MA, USA

Background: Micro RNAs are small RNA molecules that regulate gene expression at the translational level by altering mRNA stability or by inhibiting its translation. MiRNA expression profile in macrophages is altered during

the inflammatory response. Earlier work from our group had shown that miR-155 and let-7e are regulated by PI3K/Akt1 and control the magnitude of the inflammatory response. Critically ill patients in the ICU develop Compensatory Anti-inflammatory Response Syndrome (CARS), responsible for potentially lethal infections and sepsis.

Aims: Aim of our work was to identify whether miRNAs are positively or negatively regulated during the development of endotoxin tolerance and whether they participate in the control of the innate immune response during sepsis, allowing them to be accounted as molecular markers of inflammation and sepsis.

Methods: Cultured primary macrophages and the macrophage cell line Raw264.7 were stimulated with LPS and analyzed for the expression of miR-155 and miR-146a. Cloning of the miR-155 and the miR-146a promoters and ChIP analysis revealed the mechanism of regulation of these miRNAs. Peripheral blood from patients with CARS was analyzed for the expression of miR-155 and miR-146a and pro-inflammatory cytokines.

Results: Our results indicated that miR-155 and miR-146 were induced upon macrophage activation and, in contrast to most transcripts, their expression was not suppressed but rather augmented in tolerized macrophages. FISH and ChIP analyses revealed that their genomic loci are regulated simultaneously by the transcription factors Cebp and NFκB. RNA isolated from peripheral blood monocytes from patients with CARS was analyzed for the expression of miR-155, miR-146 and the marker of endotoxin tolerance IRAK-M and NFκB, to determine potential association.

Conclusions: In conclusion, our data suggest that miR-155 and miR-146 are implicated in endotoxin tolerance and CARS and are potential novel molecular markers of macrophage sensitivity.

EA 07

ΤΑΥΤΟΧΡΟΝΗ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΩΝ 15 ΣΥΧΝΟΤΕΡΩΝ ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΩΝ ΣΤΟ ΓΟΝΙΔΙΟ ΤΗΣ Β-ΣΦΑΙΡΙΝΗΣ ΣΤΟΝ ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ ΜΕ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΕΠΕΚΤΑΣΗΣ ΕΚΚΙΝΗΤΗ ΚΑΙ ΒΙΟΑΙΣΘΗΤΗΡΑ DNA ΠΟΛΛΑΠΛΗΣ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ

Φ. Παπανίκος,¹ Α. Ηλιάδη,¹ Μ. Πετροπούλου,¹ Π. Ιωάννου,¹ Θ. Χριστόπουλος,² Ε. Καναβάκης,³ J. Traeger-Συνοδινού³

¹Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Αθηνών.

²Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Πατρών

³Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής, Πανεπιστήμιο Αθηνών

Εισαγωγή: Η β-θαλασσαιμία προκαλείται από μεταλλάξεις στο γονίδιο της β-σφαιρίνης (HBB, χρωμόσωμα

11p15.5). Οι συχνότερα απαντώμενες αλλαγές είναι σημειακές μεταλλάξεις, ενθέσεις ή ελλείψεις που περιορίζονται σε μικρό αριθμό νουκλεοτιδίων. Έχει αναπτυχθεί ποικιλία μεθόδων γονοτυπικού προσδιορισμού για το γονίδιο της β-σφαιρίνης. Μεταξύ των βασικότερων προποθέσεων κατά την επιλογή μεθόδου σε αναλύσεις ρουτίνας σε εργαστήρια μοριακής διάγνωσης περιλαμβάνονται η ειδικότητα, η ταχύτητα, η απλότητα και το κόστος.

Σκοπός: Ανάπτυξη βιοαισθητήρα πολλαπλής ανίχνευσης, τύπου ταινίας ξηρών αντιδραστηρίων για την ταχεία ανίχνευση των 15 συχνότερα απαντώμενων μεταλλάξεων στο γονίδιο της β-σφαιρίνης.

Υλικό και Μέθοδοι: Η μέθοδος περιλαμβάνει: (α) PCR για την ενίσχυση τμημάτων του γονιδίου της HBB που περιέχουν τις μεταλλάξεις, (β) τρεις 10-πλες αντιδράσεις PEXT του προϊόντος ενίσχυσης (χωρίς καθαρισμό) χρησιμοποιώντας πέντε ζεύγη αλληλο-ειδικών εκκινητών (κάθε εκκινητής φέρει στο 5' άκρο του μία μοναδική αλληλουχία αναγνώρισης) παρουσία biotin-dUTP και DNA (exo-) πολυμεράσης, και (γ) ανίχνευση καθενός από τα 3 προϊόντα PEXT σε ταινία ξηρών αντιδραστηρίων 10-πλής οπτικής ανίχνευσης με νανοσωματίδια χρυσού συζευγμένα με anti-biotin χωρίς τη χρήση ειδικής οργανολογίας. Τα νανοσωματίδια δεσμεύονται με τα προϊόντα επέκτασης μέσω αλληλεπίδρασης anti-biotin-biotin και τα υβρίδια αλληλεπιδρούν ειδικά με ακινητοποιημένα ολιγονουκλεοτίδια σε συγκεκριμένες, για κάθε ένα, περιοχές δοκιμασίας της ταινίας δημιουργώντας χαρακτηριστικές ερυθρές κηλίδες. Η αλληλεπίδραση των μη δεσμευμένων νανοσωματιδίων με βιοτινυλιωμένα ολιγονουκλεοτίδια στην περιοχή ελέγχου της ταινίας με σχηματισμό ερυθρής κηλίδας επιβεβαιώνει τη σωστή λειτουργία του αισθητήρα.

Αποτελέσματα: Υψηλή εξειδίκευση του γονοτυπικού προσδιορισμού επιτεύχθηκε με βελτιστοποίηση συνθηκών κάθε σταδίου της μεθόδου. Η μέθοδος αξιολογήθηκε με γονοτύπωση 46 χαρακτηρισμένων και 54 «τυφλών» δειγμάτων άγνωστου γονότυπου. Τα αποτελέσματα της γονοτυπικής ανάλυσης με την ταινία ξηρών αντιδραστηρίων για τα γνωστά και τα άγνωστα («τυφλά») δείγματα βρέθηκαν σε πλήρη συμφωνία με τις μεθόδους αναφοράς (DGGE, ARMS-PCR).

Συμπεράσματα: Αναπτύχθηκε μέθοδος ταχείας ανίχνευσης 15 μεταλλάξεων (30 αλληλόμορφα) στο γονίδιο της β-σφαιρίνης με 10-πλή αντίδραση PEXT και ανίχνευση με βιοαισθητήρα τύπου ταινίας ξηρών αντιδραστηρίων. Στα πλεονεκτήματα της μεθόδου περιλαμβάνονται η απευθείας ανάλυση των προϊόντων PCR, η απλότητα, ταχύτητα και το χαμηλό κόστος, χωρίς τη χρήση εξειδικευμένης οργανολογίας, ενώ το αποτέλεσμα της γονοτύπωσης μπορεί να αναγνωστεί δια γυμνού οφθαλμού.

ΕΑ 08**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΟΥ MIRNA-21 ΣΤΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ PDCD4 ΣΤΟ ΜΗ ΜΙΚΡΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ**Ι.Σ. Σουρβίνου,¹ Α. Μάρκου,¹ Λ. Κακλαμάνης,²Α.Γ. Τσαρουχά,³ Ε.Σ. Λιανίδου¹¹Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Αθηνών²Τμήμα Παθολογικής Ανατομικής, Ωνάσειο Καρδιοχειρουργικό Κέντρο³Γ.Ν. Νοσημάτων Θώρακος «Σωτηρία»

Εισαγωγή: Το microRNA-21 είναι ένα καλά χαρακτηρισμένο καρκινο-συνδεδεμένο miRNA καθώς έχει βρεθεί να υπερεκφράζεται σε τουλάχιστον εννέα τύπους συμπαγών όγκων αλλά και σε άλλες κακοήθειες. Ο ρόλος του miR-21 σχετίζεται με ποικίλες διεργασίες καρκινογένεσης. Η καταστολή της έκφρασης διαφόρων ογκοκατασταλτικών γονιδίων εξαιτίας της υπερέκφρασης του miR-21 έχει ήδη αποδειχθεί για τα γονίδια *PTEN* και *TPM1*. Προσφάτως, αποκαλύφθηκε ότι το γονίδιο *PDCD4* (programmed cell death 4) αποτελεί έναν ακόμη στόχο του miR-21 σε καρκινικές σειρές παχέως εντέρου και μαστού.

Σκοπός: Σκοπός της μελέτης μας ήταν να εξακριβωθεί η συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων έκφρασης του ώριμου miR-21 και της πρωτεΐνης PDCD4 σε καρκινικά δείγματα μη μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα και των γειτονικών τους μη καρκινικών ιστών ως προς την έκφραση του ώριμου miR-21 χρησιμοποιώντας ποσοτική RT-PCR πραγματικού χρόνου. Παράλληλα, τα πρωτεϊνικά επίπεδα PDCD4 αξιολογήθηκαν με πειράματα ανοσοϊστοχημείας. Σε αποπαραφινωμένες τομές από δείγματα ιστών εγκλεισμένων σε παραφίνη, πραγματοποιήθηκε χρώση με ειδικό anti-PDCD4 αντίσωμα, ενώ για την ανίχνευση χρησιμοποιήθηκε το HRP DAB kit (DAKO).

Αποτελέσματα: Μεταξύ των 40 καρκινικών ιστών που μελετήθηκαν ανιχνεύθηκε υποέκφραση του ώριμου miR-21, σε σύγκριση με τους γειτονικούς μη καρκινικούς ιστούς, σε 24 δείγματα (60%). Στους 15 από τους 24 αυτούς ασθενείς (62.5%), παρατηρήθηκε ότι η καταστολή του miR-21 συνοδευόταν από αύξηση των πρωτεϊνικών επιπέδων PDCD4. Υπερέκφραση του ώριμου miR-21 εμφανίστηκε σε 16 από τους 40 ασθενείς (40%), ενώ στους 8 από τους 16 αυτούς ασθενείς (50%) ανιχνεύθηκαν μειωμένα επίπεδα της πρωτεΐνης PDCD4. Συνολικά, σε 23 από τα 40 δείγματα μη μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα (57,5%), οι αλλαγές στα επίπεδα έκφρασης του miR-21 συσχετίστηκαν με αλλαγές στα επίπεδα έκφρασης της πρωτεΐνης PDCD4.

Συμπεράσματα: Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας καταδεικνύουν για πρώτη φορά ότι τα επίπεδα έκφρασης της πρωτεΐνης PDCD4 ρυθμίζονται από το ώριμο miR-21 στο μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα.

ΕΑ 09**ΚΛΙΝΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ *KLK5* & *KLK14* ΤΗΣ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΣ ΤΩΝ ΚΑΛΛΙΚΡΕΪΝΩΝ ΩΣ ΝΕΩΝ ΜΟΡΙΑΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ**Μ. Αυγέρης,¹ Γ. Παπαχριστοπούλου,^{1,2} Ε. Κύρκου,²Α. Σκορίλας¹¹Τομέας Βιοχημείας και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών²Ογκολογικό Νοσοκομείο «Γ. Γεννηματάς», ΙΚΑ-ΕΤΑΜ Αθηνών

Εισαγωγή: Ο καρκίνος του μαστού αποτελεί τη συχνότερη μορφή νεοπλασίας στο γυναικείο πληθυσμό και η διάγνωσή του στα αρχικά στάδια της νόσου είναι ιδιαίτερα σημαντική για την ευνοϊκή πρόγνωση των ασθενών. Η οικογένεια των ιστικών Καλλικρεϊνών αποτελείται από 15 γονίδια (*KLKs*) εκκρινόμενων πρωτεασών σερίνης. Διαφοροποίηση της έκφρασης των *KLKs* έχει ταυτοποιηθεί σε πλήθος κακοηθειών, αναδεικνύοντας την κλινική αξία τους στη διάγνωση και την πρόγνωση των ασθενών.

Σκοπός: Στόχος της εργασίας είναι η μελέτη των επιπέδων έκφρασης των γονιδίων *KLK5* και *KLK14* σε καλοήθεις και κακοήθεις όγκους του μαστού και η αξιολόγηση της κλινικής τους σημασίας στη διαφοροδιάγνωση και πρόγνωση των ασθενών με καρκίνο του μαστού.

Υλικά και Μέθοδοι: Σε συνέχεια της παθολογοανατομικής εκτίμησης, πραγματοποιήθηκε απομόνωση του ολικού RNA από 70 καρκινικά και 33 καλοήθη ιστικά δείγματα μαστού και αντίστροφη μεταγραφή του mRNA σε cDNA. Για τον προσδιορισμό των *KLK5* και *KLK14* επιπέδων έκφρασης, σχεδιάστηκαν ειδικοί PCR εκκινητές και αναπτύχθηκε υπερευαίσθητη μεθοδολογία PCR σε πραγματικό χρόνο (Real-Time PCR) με τη μέθοδο SYBR Green I. Η ποσοτικοποίηση της έκφρασης των ανώτερων γονιδίων στα δείγματα του μαστού πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια της 2^{−ΔΔCT} μεθόδου σύγκρισης των Ct, όπου ως γονίδιο αναφοράς χρησιμοποιήθηκε το *HPRT1* και ως βαθμονομητής η BT20 καρκινική σειρά μαστού.

Αποτελέσματα: Στατιστικά σημαντική μείωση των *KLK5* ($p < 0,001$) και αντίθετα αύξηση των *KLK14* ($p < 0,001$) mRNA επιπέδων έκφρασης, ανιχνεύθηκε στους κακοήθεις σε σύγκριση με τους καλοήθεις όγκους του μαστού. Η διαφοροποιημένη αυτή έκφραση των *KLK5* και *KLK14* βρέθηκε ικανή για την διάγνωση των ασθενών με καρκίνο του μαστού από εκείνους που φέρουν καλοήθεις αλλοιώσεις του αδένου. Επίσης, τα επίπεδα έκφρασης των

KLK5 και *KLK14* παρουσίασαν αρνητική και θετική, αντίστοιχα, συσχέτιση με τον βαθμό κακοήθειας “Grade” και την TNM σταδιοποίηση των ασθενών με καρκίνο, υπογραμμίζοντας τη σημασία τους στην εκτίμηση πρόγνωσης των ασθενών.

Συμπεράσματα: Τα αποτελέσματά μας αναδεικνύουν την κλινική αξία του προσδιορισμού των επιπέδων έκφρασης των *KLK5* και *KLK14* γονιδίων στη διαφοροδιάγνωση του καρκίνου του μαστού από τους καλοήθεις όγκους του οργάνου, καθώς και την πρόγνωση των ασθενών.

ΕΑ 10 ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΓΡΑΜΜΙΚΗΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ ΜΕΤΑΞΥ ΣΙΣΤΑΤΙΝΗΣ C ΚΑΙ ΚΡΕΑΤΙΝΙΝΗΣ ΟΡΟΥ ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΝΕΦΡΙΚΗΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ

Σ. Ιωαννίδου, Μ. Κοσμαρίκου, Ν. Κουδουμνάκης, Κ. Πριοβόλου, Ζ. Ζουλλιέν

Βιοχημικό Τμήμα, Γ.Ν. «Ο Ευαγγελισμός»

Εισαγωγή: Η σιστατίνη C ορού θεωρείται καλύτερος δείκτης εκτίμησης του ρυθμού σπειραματικής διήθησης σε σχέση με την κρεατινίνη διότι δεν επηρεάζεται από την ηλικία, το φύλο και τη μυϊκή μάζα.

Σκοπός: Η σύγκριση της ισχύος της γραμμικής συσχέτισης μεταξύ της σιστατίνης C (cys) και της κρεατινίνης (crea) ορού σε διάφορα επίπεδα νεφρικής λειτουργίας καθώς και η αξιολόγηση της τιμής σιστατίνης C ορού σε ασθενείς με αυξημένη τιμή C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP).

Υλικό και Μέθοδος: Το υλικό μας αποτέλεσαν οι οροί 669 ασθενών στους οποίους μετρήθηκε η κρεατινίνη με τη μέθοδο Jaffe και η σιστατίνη C με ανοσοενζυμική θολωσιμετρική μέθοδο σωματιδίων (PETIA) στους αυτοματοποιημένους αναλυτές modular (Roche). Τιμές αναφοράς για τη σιστατίνη C 0,5-0,96 mg/dl. Επίσης, συγκρίναμε το λόγο cys/crea μεταξύ 100 ασθενών με τιμή CRP <1 mg/dl και 100 ασθενών με τιμή CRP >1 mg/dl.

Αποτελέσματα: Στον πίνακα 1 φαίνονται οι τιμές του συντελεστή συσχέτισης r και του συντελεστή προσδιορισμού r² σε διαφορετικές τιμές κρεατινίνης ορού.

N	Crea (mg/dl)	r	r ²
227	<0,6	0,06	0,0
266	0,6-1,4	0,38	0,15
176	>1,4	0,62	0,38
669	Όλες	0,76	0,57

Η μέση τιμή του λόγου cys/crea διέφερε σε βαθμό στατιστικά σημαντικό (p=0,01) μεταξύ 100 ασθενών με CRP >1 (1,76) και 100 ασθενών με CRP <1 (1,27).

Συμπεράσματα: Στο σύνολο των ασθενών υπήρχε θετική γραμμική συσχέτιση μεταξύ των τιμών σιστατίνης C και κρεατινίνης ορού. Μαζί με την τιμή της κρεατινίνης ορού αύξαινε και η ισχύς της γραμμικής συσχέτισης. Στην πρόβλεψη του GFR από την τιμή της σιστατίνης C πρέπει να λαμβάνεται πάντα υπ’ όψιν η τιμή CRP ορού. Σε ασθενείς με αυξημένη CRP ορού υπάρχει ταχύτερη αύξηση της σιστατίνης C σε σχέση με την κρεατινίνη ορού.

ΕΑ 11 NEPHELOMETRIC MEASUREMENT OF CYSTATIN C, HOMOCYSTEINE AND C-REACTIVE PROTEIN IN PATIENTS WITH CHRONIC KIDNEY DISEASE (CKD) AND ASSOCIATION WITH CARDIOVASCULAR RISK

Μ. Lagiou,¹ Μ. Dalamaga,¹ C. Kroupis,¹ Α. Marouga,¹ Δ. Vlahakos,² C. Dimas¹

¹Clinical Biochemistry Department, Attikon University Hospital

²Dialysis Unit, 2nd University Internal Medicine Clinic, Attikon University Hospital

Introduction: The aim of the study was the nephelometric measurement of Cystatin C (CysC), C-reactive protein (CRP), and total Homocysteine (tHcy) in patients with Chronic Kidney Disease (CKD) and healthy subjects. Those parameters were compared to Creatinine (Crea) and Glomerular Filtration Rate (GFR) in relation to renal disease and associated also with cardiovascular events in CKD.

Methods: Sera samples (n=80) were collected from the Dialysis Unit of the 2nd Internal Medicine Clinic, Attikon University Hospital and the following measurements took place: CysC, tHcy and CRP in the nephelometric analyzer BN ProSpec (Dade Behring Siemens, Germany) and Crea in the automated biochemical analyzer ILAB 600 (Jaffe picrate reaction, Instrumental Laboratory, Italy). The GFR was calculated with the Cockcroft-Gault equation and subjects were categorized in 4 groups of 20 (0-controls, 1-asymptomatic, 2-intermediate and 3-patients in dialysis).

Results: Statistically significant positive correlations were found between CysC and Crea, except for group 3 (p=0.066). In patients, the equation describing CysC and Crea relation was $CysC=0.629Crea+0.445$ ($R^2=0.869$, linear regression). CysC increases in a linear fashion in CKD, however the correlation between CysC-GFR is not better than Crea-GFR. CysC is a better marker than Crea only for the discrimination between groups 1 and 2. Finally CysC, in relation to Crea, is a better predictor of cardiovascular events in patients with CKD (OR 4.8-95% C.I.=1.3-17.7, p=0.019) when its concentration is above 1.29 mg/dl. CRP

and tHcy didn't show statistically significant results in relation to cardiovascular events.

Conclusions: Creatinine is a better marker for CKD patients than Cystatin C in evaluation of renal disease. Its analysis costs less than Cystatin C and possesses a certified reference material (BRC-573) and a reference method (enzymatic). However, in CKD patients it seems that the nephelometric measurement of CysC is useful for the evaluation of cardiovascular risk.

ΕΑ 12

ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΒΙΟΧΗΜΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΤΗΣ ΟΣΤΕΟΛΥΣΗΣ ΣΤΗΝ ΟΣΤΙΚΗ ΜΕΤΑΣΤΑΣΗ

Μ.-Ι. Έλληνα, Ι. Κανάκης, Ν.Κ. Καραμάνος

Εργαστήριο Βιοχημείας, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Πατρών

Εισαγωγή: Το οστό βρίσκεται σε μια δυναμική μεταβολική διεργασία, που περιλαμβάνει τον επαναλαμβανόμενο σχηματισμό και απορρόφησης του. Όταν τα καρκινικά κύτταρα μεταναστεύουν μέσω της κυκλοφορίας στο περιβάλλον του οστού παράγουν κυτταροκίνες, χημειοκίνες και διάφορες ορμόνες, οι οποίες ενισχύουν την ενεργοποίηση των οστεοκλαστών με συνέπεια την αυξημένη λύση του οστού. Κατά την οστεόλυση, παρατηρείται διάσπαση του κολλαγόνου τύπου Ι και απελευθέρωση του Ν-τελοπεπτιδίου του (NTx), καθώς επίσης και μεταβολή στο ισοζύγιο του εξωκυττάρου ασβεστίου και φωσφόρου.

Σκοπός: Σημαντικό ποσοστό (30-65%) των ασθενών με μεταστατικό καρκίνο του πνεύμονα αναπτύσσει οστικές μεταστάσεις, οι οποίες κατά κύριο λόγο είναι οστεολυτικές. Συνεπώς, για τη βιοχημική αποτίμηση της πορείας της οστεόλυσης μέσω των προαναφερθέντων δεικτών θεωρήθηκε απαραίτητη η αξιολόγηση των ποιοτικών χαρακτηριστικών των μεθόδων προσδιορισμού τους.

Υλικά και Μέθοδοι: Πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις των επιπέδων του NTx (nM BCE/mM Creatinine) και των επιπέδων ασβεστίου (mM/mM Creatinine) και φωσφόρου (mM) σε δείγματα ούρων, με τη χρήση συναγωνιστικής ELISA και EIA, αντίστοιχα.

Αποτελέσματα: Βρέθηκαν ότι για το NTx, το χαμηλότερο όριο ανίχνευσης είναι 20 nM BCE και το όριο γραμμικότητας μέχρι 3000 nM BCE. Οι αντίστοιχες τιμές για ασβέστιο και φωσφόρο είναι 0,37-3,74 mmol/L, και 0,05-6,46 mmol/L. Τα επίπεδα του NTx που προσδιορίστηκαν στα ούρα κυμάνθηκαν από 35,7 nM BCE έως 2036,8 nM BCE, του ασβεστίου στο εύρος 0,013-7,01 mmol/L και του φωσφόρου μεταξύ 0,75-76,96 mmol/L. **Συμπεράσματα:** Καθώς οι προαναφερθείσες τιμές βρίσκονται εντός των ορίων επιτρεπτής ποσοτικοποίησης συμπεραίνεται ότι οι

προτεινόμενες μέθοδοι μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παρακολούθηση της πορείας οστεόλυσης στην οστική μετάσταση. Κατ'επέκταση, το NTx, το ασβέστιο και ο φωσφόρος μπορούν να θεωρηθούν ως σημαντικοί βιοχημικοί δείκτες για την αποτίμηση της πορείας της οστεόλυσης, στις οστικές μεταστάσεις.

ΕΑ 13

Η ΣΥΜΒΟΛΗ ΤΟΥ Β-ΤΥΠΟΥ ΝΑΤΡΙΟΥΡΗΤΙΚΟΥ ΠΕΠΤΙΔΙΟΥ ΒΝΡ ΣΤΗ ΔΙΑΦΟΡΙΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΜΕΤΑΞΥ ΔΙΔΡΩΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΕΞΙΔΡΩΜΑΤΟΣ

Ε. Παπαευσταθίου, Ι. Βυλλιώτου, Ε. Καράκου, Κ. Δεληδίνης, Ν. Τράκας

Εργαστήριο Κλινικής Χημείας, Γ.Ν.Α. Σισμανόγλειο

Εισαγωγή: Η πλευριτική συλλογή δεν είναι παθολογική για τη διάκριση μεταξύ διδρωμάτος και εξιδρωμάτος και γι' αυτό συχνά οδηγεί σε διαγνωστικό δίλλημα. Διδρωματικές και εξιδρωματικές πλευριτικές συλλογές διαχωρίζονται με τη μέτρηση της γαλακτικής δεϋδρογονάσης LDH και των επιπέδων των πρωτεϊνών στο πλευριτικό υγρό. Τα κριτήρια Light λανθάνουν στην ταξινόμηση σχεδόν 20% των διδρωμάτων, όπου τα κατατάσσονται σε εξιδρώματα.

Σκοπός: Ο σκοπός αυτής της εργασίας ήταν ο εντοπισμός της διαγνωστικής χρησιμότητας του BNP στο πλευριτικό υγρό και στον ορό του αίματος για τον διαχωρισμό διδρωματικών και εξιδρωματικών υπεζωκοτικών συλλογών.

Υλικά και Μέθοδοι: Συλλέξαμε ορό και πλευριτικό υγρό από 50 ασθενείς (28 άντρες-22 γυναίκες μέσου όρου ηλικίας 67,2±9,6) με πλευριτική συλλογή. Το BNP μετρήθηκε σε αναλυτή που χρησιμοποιεί τεχνολογία άμεσης χημειοφωταύγεια, με ανοσοπροσδιορισμό τύπου σάντουιτς δύο σημείων.

Αποτελέσματα: Οι συγκεντρώσεις BNP τόσο σε ορό όσο και σε πλευριτικό υγρό συνδιάζονται στενά. Η συσχέτιση των δύο συλλογών BNP ορού και πλευριτικού υγρού είναι υψηλή (R=0,839, r²=0,704, p<0,001). Η ευθεία παλινδρόμησης είναι: BNP πλευριτικού = 55.569 + 0,384 (BNP ορού). Σύμφωνα με αυτό η τιμή αναφοράς για τη διαγνωστική αξιολόγηση των διδρωμάτων σε BNP πλευριτικού είναι 93,96 pg/ml (για τον ορό ορίσαμε τα 100 pg/ml). Σε ασθενείς με διδρωματική συλλογή η τιμή του BNP ήταν σημαντικά αυξημένη.

ΠΛΕΥΡΙΤΙΚΟ ΥΓΡΟ: Ο μέσος όρος των τιμών BNP σε ασθενείς με:

- A. διδρωματικές συλλογές 381,32±273,31 pg/ml
- B. εξιδρωματικές συλλογές 30,17±27,55 pg/ml (p<0,001)

ΟΡΟΣ: Ο μέσος όρος των τιμών BNP σε ασθενείς με:

- A. διδρωματικές συλλογές 755,73±639,51 pg/ml
- B. εξιδρωματικές συλλογές 73,37±41,21 pg/ml (p<0,001).

Σε 8/50 δείγματα (16%) παρατηρήθηκε διαφορά ταξινόμησης μεταξύ των κριτηρίων Light και του BNP. Μετά τη λήψη ιστορικών των ασθενών επιβεβαιώθηκε ότι και τα 8 δείγματα αφορούσαν διδρωμάτα όπως αρχικά είχαν ταξινομηθεί με τη μέτρηση του BNP.

Συμπεράσματα: 1. Τα επίπεδα BNP τόσο στον ορό όσο και στο πλευριτικό υγρό ήταν αυξημένα σε όλους τους ασθενείς με διδρωμα. 2. Τα αποτελέσματά μας δηλώνουν ότι οι μετρήσεις BNP τόσο σε πλευριτικό όσο και σε ορό, βοηθούν στη διάκριση μεταξύ διδρωμάτων και εξιδρωμάτων, διορθώνοντας το σφάλμα των κριτηρίων Light.

EA 14

SIDERITIS EUBOEA EXTRACT MAY IMPROVE RISK FACTORS OF CARDIOVASCULAR DISEASE

E. Kassi,¹ C. Dimas,¹ M. Dalamaga,¹ A. Panagiotou,¹ K. Parisi,¹ Z. Papoutsis,² E. Spilioti,² P. Moutsatsou²

¹Department of Clinical Biochemistry, Medical School, University of Athens, Attikon University Hospital

²Department of Biological Chemistry, Medical School, University of Athens

Atherosclerosis is a chronic inflammatory process, with hyperlipidaemia and oxidative stress being among the main factors implicated in this process. Experimental studies provide support that plants and their active constituents play important role in the prevention of chronic diseases like atherosclerosis. Among these plants, the genus *Sideritis labiatae* (mountain tea) is gaining an increasing pharmacological interest due to its antioxidant properties. We decided to evaluate the activity of *Sideritis euboaea* aqueous extract mainly on the cardiovascular system and liver, by using serum parameters like lipids [total cholesterol, HDL, LDL, triglycerides, Lp(a)], hepatic enzymes, insulin resistance estimated by HOMA index, as well as, inflammatory markers like CRP, ferritin, homocysteine and total antioxidant status. A total of 47 participants (20 males and 27 females) were included in the study. The intervention group comprised 26 patients (9 males, 17 females) who consumed the functional food enriched with *Sideritis euboaea* aqueous extract and the control group comprised 21 patients (11 males, 10 females) who consumed the placebo food, for one month period. Initially data were assessed through simple cross-tabulations. Normality hypothesis was tested by Kolmogorov-Smirnov test, measures of asymmetry and Shapiro-Wilk test. Comparisons between cases and controls were conducted by using chi-square test for categorical variables and t-test for continuous variables. Paired t-test was used to evaluate the significance of difference in laboratory parameters between one month after receiving tea extract or gel and

at baseline. Subsequently, between-group comparisons were undertaken using analysis of covariance.

After one month intervention, total cholesterol as well as HOMA index were improved significantly in the group consumed *Sideritis euboaea* aqueous extract,

Initial cholesterol levels were significantly related to cholesterol levels after one-month (F=8.9, p=0.005). Adjusting for smoking status, gender and BMI, the main effect for the group was significant (F=6.5, p=0.015), with subjects in intervention group having significantly lower cholesterol levels (estimated mean=170.6, standard error=8.1) than subjects in the placebo group (estimated mean=199, SE=7.6). Moreover, baseline HOMA levels were significantly related to HOMA levels after one-month (F=5.76, p=0.02). Adjusting for smoking status, BMI and gender, the main effect for the group was significant (F=5.59, p=0.02), with subjects in the intervention group having significantly lower HOMA levels (estimated mean=1.59, standard error=0.36) than subjects in the placebo group (estimated mean=2.83, SE=0.37). No beneficial effects on other lipid parameters, as well as, antioxidant status were observed. Further studies are needed to elucidate the therapeutic role of *Sideritis euboaea* aqueous extract in atherogenesis process in human and to address its mechanisms of action.

EA 15

ΜΕΛΕΤΗ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΓΛΥΚΟΖΗΣ ΚΑΙ ΓΛΥΚΟΖΥΛΙΩΜΕΝΗΣ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗΣ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΟΞΥ ΙΣΧΑΙΜΙΚΟ ΑΓΓΕΙΑΚΟ ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΟ ΕΠΕΙΣΟΔΙΟ

Σ. Πατιάκας,¹ Α. Κότελης,⁴ Ι. Χουρσαλάς,²

Χ. Χαραλάμπους³

¹Μικροβιολογικό Εργαστήριο, Γ.Ν. Καστοριάς

²Εξωτερικό Ιατρείο Λιπιδίων, «Ωνάσειο» Καρδιοχειρουργικό Κέντρο Αθήνας

³Εξωτερικό Ιατρείο Λιπιδίων & Αθηροσκλήρωσης,

Παθολογική Κλινική, Ψυχιατρικό Νοσοκομείο Θεσσαλονίκης

⁴Αγροτικός Ιατρός, Γ.Ν. Καστοριάς

Σκοπός: Να διερευνηθούν τα επίπεδα γλυκόζης (Glu) και γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης (HbA_{1c}), σε ασθενείς με ιστορικό οξέος ισχαιμικού αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου (ΑΕΕ), σε σχέση με την ηλικία και την ύπαρξη ή όχι σακχαρώδους διαβήτη (ΣΔ), δεδομένου ότι ο ΣΔ σχετίζεται άμεσα με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης ΑΕΕ, ενώ στη βιβλιογραφία, ο επισταμένος έλεγχος της γλυκόζης του αίματος συσχετίζεται με σαφώς με τη μείωση της μικροαγγειοπάθειας, αλλά ωστόσο, η συσχέτιση του με τη μακροαγγειοπάθεια (όπως η αθηρωματική νόσος των εγκεφαλικών αγγείων) δεν είναι απόλυτα τεκμηριωμένη.

Υλικό και Μέθοδοι: Μελετήθηκαν αναδρομικά 86 περιπτώσεις ασθενών με οξύ ΑΕΕ στους οποίους ελέγχθηκαν, κατόπιν 12ώρης νηστείας στο Βιοχημικό Εργαστήριο, τόσο τα επίπεδα Glu, όσο και HbA_{1c}. Επρόκειτο για 29 άτομα ηλικίας 37-65 ετών (ομάδα 1), εκ των οποίων 13 ήταν γνωστοί σακχαροδιαβητικοί, και για 57 άτομα ηλικίας μεγαλύτερης 65-88 ετών (ομάδα 2), εκ των οποίων 19 έπασχαν από διαγνωσμένο ΣΔ.

Αποτελέσματα: Στην ομάδα 1 επίπεδα Glu ορού μεγαλύτερα των 120 mg/dl παρουσίασαν 10 άτομα. Επρόκειτο για 7 από τους 13 γνωστούς σακχαροδιαβητικούς, καθώς και για 3 πρωτοδιαγνωσθέντες. Από δε το σύνολο των 13 διαγνωσμένων σακχαροδιαβητικών 6 είχαν τιμή HbA_{1c}<7% και 7 τιμή HbA_{1c}>7%. Στην ομάδα 2 επίπεδα Glu ορού μεγαλύτερα των 120 mg/dl παρουσίασαν 11 άτομα. Επρόκειτο για 6 από τους 19 γνωστούς σακχαροδιαβητικούς, καθώς και για 5 πρωτοδιαγνωσθέντες. Από δε το σύνολο των 19 διαγνωσμένων σακχαροδιαβητικών 13 είχαν τιμή HbA_{1c}<7% και 6 τιμή HbA_{1c}>7%. Συνολικά, δηλαδή, εκ των 54 μη διαβητικών ασθενών όλων των ηλικιών με ισχαιμικό ΑΕΕ, σε 8 (ποσοστό 14,8%) διαπιστώθηκε πρωτοδιαγνωσθείς ΣΔ, ενώ, από την ομάδα των 32 διαβητικών ασθενών, (επίσης όλων των ηλικιών), παρόλο που ένα αρκετά υψηλό ποσοστό 59,4% (19 διαγνωσμένοι σακχαροδιαβητικοί) είχαν μάλλον ικανοποιητική ρύθμιση του ΣΔ (τιμές HbA_{1c}<7%), εντούτοις υπέστησαν οξύ ισχαιμικό ΑΕΕ.

Συμπεράσματα: Αποδεικνύεται, επομένως, ότι η ρύθμιση του σακχάρου με τιμές HbA_{1c}<7% σε σακχαροδιαβητικούς ασθενείς, μάλλον δεν είναι επαρκής για την προφύλαξη από ΑΕΕ, και συνεπώς, είναι σκόπιμο για την αποφυγή ΑΕΕ, η ρύθμιση του ΣΔ να στοχεύει σε επίπεδα HbA_{1c}<6,5%, ενώ, όπως φαίνεται από τη μελέτη μας, επιβάλλεται εντατικότερος έλεγχος του γλυκαιμικού προφίλ, ακόμη και σε ασυμπτωματικούς ασθενείς, προκειμένου να υπάρξει καλύτερη πρόληψη των ΑΕΕ, αφού το ποσοστό πρωτοδιαγνωσθέντος ΣΔ στους ασθενείς με ιστορικό ΑΕΕ (περίπου 15%) δεν είναι καθόλου ευκαταφρόνητο.

EA 16

THE IMPACT OF VARIATION IN SERUM CREATININE DETERMINATIONS ON GFR ESTIMATION (EGFR) – ANALYSIS OF DATA FROM THE GREEK EXTERNAL QUALITY ASSESSMENT SCHEME

A. Haliassos,¹ K. Makris,² S. Potamitis,² I. Drakopoulos,² D. Rizos³

¹ESEAP

²KAT Hospital, Biochemistry Department

³Hormones Laboratory, Areteion Hospital, Medical School, University of Athens

Glomerular filtration rate (GFR) is the best index of kidney function used to diagnose, stage and treat chronic kidney disease. International organizations recommend the use of GFR estimating equations based on serum creatinine concentration and other demographic and clinical variables to assess kidney function. Due to substantial interlaboratory variation, creatinine based equations require the calibration of the creatinine assays to be traceable to the laboratory that created the equation, otherwise a systematic bias occurs in the eGFR. In order to access these creatinine calibration variations we used data from the last 14 surveys of the Greek External Quality Assessment Scheme (ESEAP). The samples for these surveys were prepared from pooled human sera from donors by MCA-unit (Queen-Beatrix hospital, Netherlands). The number of participating laboratories was 266. The consensus mean was calculated for each sample (ranging from 0.81 to 2.19 mg/dL) and the percentage of deviation from the consensus mean was calculated for each laboratory. Our goal was to determine the level of accuracy and reproducibility of measurements among Greek laboratories and if this can be tolerated without compromising the clinical utility of the eGFR equation. For this purpose we focus on creatinine range between 1.00 and 1.55 mg/dL which corresponds to eGFR values near the therapeutic decision threshold of 60 ml/min/1.73 m². The table summarizes our results:

Sample #	1	12	3	4	10	5	8	11	13	6	9	2	14	7
mean	0.81	0.86	0.93	1.01	1.06	1.07	1.19	1.29	1.34	1.55	1.62	1.77	2.04	2.19
SD	0.14	0.17	0.11	0.15	0.33	0.14	0.14	0.12	0.17	0.14	0.21	0.11	0.14	0.15
CV	17.50	19.77	11.83	14.85	20.65	13.08	11.77	9.30	12.69	9.03	12.96	6.21	6.86	6.85
mean difference from consensus mean	11.36	13.75	8.57	10.04	12.75	9.25	11.1	10.5	9.61	8.41	7.8	7.4	7.1	6.9
nr of labs with bias >15% from consensus mean	56	84	41	51	53	53	42	44	49	32	21	26	28	30
(%) of labs	21.05	31.58	15.42	19.18	19.93	19.93	15.79	16.54	18.42	12.03	7.89	9.77	10.53	11.28

Reported values were subjected to a 3-SD test for the elimination of outliers. Using this as cut-off, less than 5 labs were removed in each survey. The mean bias of all participating labs ranged from 7.9 to 32.6 in all samples, but only from 12.3 to 19.9 in the region of measurements within the critical range. The number of laboratories that deviated more than 15% in this area ranged from 32 to 52. Our preliminary results cannot support the reporting of eGFR based on these creatinine measurements and we must support the current effort of IFCC and IVD manufacturers to a better harmonization of reported creatinine values.

ΕΑ 17

ΜΗ ΕΠΕΜΒΑΤΙΚΟΣ ΠΡΟΓΕΝΝΗΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ, ΜΕ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΠΑΤΡΙΚΩΝ ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΩΝ, ΣΤΟ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΟ ΑΙΜΑ ΤΗΣ ΕΓΚΥΟΥ, ΓΙΑ ΤΙΣ ΔΥΟ ΣΥΧΝΟΤΕΡΕΣ ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΙΣ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗΣ ΑΝΑΙΜΙΑΣ ΣΤΟΝ ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ

Α. Δεστούνη, Χ. Βρεττού, Γ. Δημησιάνος, Γ. Τούντα, Α. Κολιαλέξη, Α. Μαύρου, Ε Καναβάκης, J. Traeger-Συνοδινού

Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Χωρέμιο Ερευνητικό Εργαστήριο, Νοσοκομείο Παιδών «Η Αγία Σοφία»

Εισαγωγή: Η μη επεμβατική προγεννητική διάγνωση αποτελεί στόχο στη βελτίωση-εξέλιξη της προγεννητικής διάγνωσης (ΠΔ). Μια προσέγγιση εστιάζει στην ανίχνευση των εμβρυικών αλληλομόρφων, πατρικής προέλευσης, σε ελεύθερο εμβρυϊκό DNA (cfDNA) στο περιφερικό αίμα της εγκύου.

Σκοπός: Στην παρούσα εργασία για τις δύο συχνότερες μεταλλάξεις β-Μεσογειακής Αναιμίας (β-MA), IVSI-110 (HBBC:93-21G>A) και CD39 (HBBC:118C>T) (42% και 17% αντίστοιχα στην Ελλάδα) σχεδιάστηκε και βελτιστοποιήθηκε «fluorescent allele-specific PCR» δηλαδή φθορίζον PCR με χρήση τροποποιημένων αλληλομορφοειδικών εκκινητών (Locked Nucleic Acid-LNA) για την αύξηση της ειδικότητας.

Υλικό και Μέθοδοι: Για τη βελτιστοποίηση της μεθόδου χρησιμοποιήθηκαν διαδοχικές αραιώσεις, δείγματος γενετικού DNA ετεροζυγωτών για την κάθε μετάλλαξη, 60ng-6pg ανά αντίδραση. Για τον έλεγχο της ειδικότητας, η μέθοδος εφαρμόστηκε σε cfDNA που απομονώθηκε μετά από διαδοχικές φυγοκεντρήσεις πλάσματος με το DSP viral kit (Qiagen) από: α) 30 δείγματα πλάσματος όγκου 500 μl από άτομο φυσιολογικό για β-MA (αρνητικά), β) 30 δείγματα πλάσματος όγκου 500 μl, από άτομο φυσιολογικό για β-MA επιμολυσμένου με DNA από 30 λεμφοκύτταρα ετεροζυγώτη για τη μετάλλαξη (θετικά). Για τον έλεγχο της ευαισθησίας η μέθοδος εφαρμόστηκε στο

DNA από 30 μεμονωμένα λεμφοκύτταρα ενός ετεροζυγώτη για την υπό εξέταση μετάλλαξη έπειτα από επώαση με πρωτεΐνωση K για τη λύση των κυττάρων. Η εκτίμηση της μεθόδου για κλινική εφαρμογή έγινε στο περιφερικό αίμα 5 εγκύων για την ανίχνευση της πατρικής μετάλλαξης IVSI-110 (G>A) και 6 για την CD39 (C>T), οι οποίες προσήλθαν στο εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής για ΠΔ β-MA.

Αποτελέσματα: Η μέθοδος παρουσιάζει ειδικότητα 100%. Η ευαισθησία προσδιορίστηκε στο 96,6% για τη μετάλλαξη IVSI-110 (G>A) και 93,3% για την CD39 (C>T). Η πατρική μετάλλαξη ανιχνεύτηκε στο cfDNA από το περιφερικό αίμα των 3/11 εγκύων που κυοφορούσαν έμβρυα θετικά για την πατρική μετάλλαξη, ενώ δεν εντοπίστηκε στις 8/11 που κυοφορούσαν έμβρυα αρνητικά για την πατρική μετάλλαξη σύμφωνα με τα αποτελέσματα της ΠΔ.

Συμπεράσματα: Η μεθοδολογία αυτή υπόσχεται άμεση ανίχνευση των εμβρυϊκών μεταλλάξεων πατρικής προέλευσης στο περιφερικό αίμα εγκύων με ευαισθησία >90%.

ΕΑ 18

ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ ΜΕΤΑΓΡΑΦΩΝ *TWIST1* ΚΑΙ *CK-19* ΣΕ ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΝΤΑ ΚΑΡΚΙΝΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΚΑΡΚΙΝΟ ΜΑΣΤΟΥ

Α. Στρατή,¹ Ν. Μαλάμος,² Β. Γεωργούλιας,³ Ε. Λιανίδου¹
Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Αθηνών

²Μονάδα Ιατρικής Ογκολογίας, Νοσοκομείο Έλενα Βενιζέλου

³Τμήμα Ιατρικής Ογκολογίας, Π.Ν. Ηρακλείου, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Κρήτης

Εισαγωγή: Τα κυκλοφορούντα καρκινικά κύτταρα (CTCs) αντιπροσωπεύουν έναν σημαντικό βιολογικό μεταβατικό στάδιο στην εξάπλωση του καρκίνου του μαστού από τον πρωτογενή όγκο σε μεταστατική εστία. Η έκφραση του επιθηλιακού καρκινικού δείκτη κυτταροκερατίνη 19 (*CK-19*) στα CTCs, στον πρώιμο καρκίνο του μαστού έχει προγνωστική σημασία. Η έκφραση του *TWIST1* έχει συσχετισθεί με την επιθηλιακή-μεσεγχυματική μετάβαση, που αποτελεί ένα κρίσιμο συστατικό στον καταρράκτη της μετάστασης.

Σκοπός: Να μελετηθεί η έκφραση του μεταστατικού ρυθμιστή *TWIST1* σε σχέση με την έκφραση της *CK-19*, σε CTCs ασθενών με πρώιμο καρκίνο μαστού.

Υλικό και Μέθοδοι: Αναπτύχθηκε μεθοδολογία qRT-PCR για τον ποσοτικό προσδιορισμό του *TWIST1* στα CTCs. Η μέθοδος αξιολογήθηκε ως προς την ευαισθησία και ειδικότητα και εφαρμόστηκε σε 59 ασθενείς με πρώιμο καρκίνο μαστού, 26 ασθενείς με διαγνωσμένη μετάσταση και 16 υγιείς εθελοντές αιμοδότες. Για την απομόνωση

των CTCs χρησιμοποιήθηκαν ανοσομαγνητικά σφαιρίδια επικαλυμμένα με αντίσωμα έναντι του EpCAM, από 20 ml_ περιφερικού αίματος.

Αποτελέσματα: Η μεθοδολογία είναι ιδιαίτερα ειδική και ευαίσθητη. Στους 59 ασθενείς με χειρουργήσιμο καρκίνο μαστού, το κλάσμα των CTCs βρέθηκε θετικό για το mRNA της *CK-19* και του *TWIST1* σε 23 (39,0%) και 27 (45,8%) ασθενείς, αντίστοιχα. Η ανίχνευση των CTCs μέσω της έκφρασης της *CK-19* βρέθηκε να συσχετίζεται σημαντικά με την ηλικία ($P=0,022$), την εμμηνοπαυσιακή κατάσταση ($P=0,011$) και τον υποδοχέα προγεστερόνης ($P=0,010$), ενώ το *TWIST1* με μέγεθος όγκου >2 εκατ. ($P=0,026$). Η συμφωνία της έκφρασης της

CK-19 και του *TWIST1* ήταν 31/59 (52,5%). Στο CTC κλάσμα 26 ασθενών με διαγνωσμένη μετάσταση βρέθηκαν 14/26 (53,8%) ασθενείς θετικοί στην *CK-19* και 13/26 (50,0%) ασθενείς θετικοί στο *TWIST1*. Η συμφωνία της έκφρασης της *CK-19* και του *TWIST1* ήταν 21/26 (81,8%), η οποία είναι στατιστικά σημαντική ($P=0,005$).

Συμπεράσματα: Τα αποτελέσματά αυτά δείχνουν διακριτά επιθηλιακά και μεσεγχυματικά χαρακτηριστικά στα CTCs, στον καρκίνο του μαστού. Η έκφραση του μεταστατικού ρυθμιστή *TWIST1* στα CTCs πρέπει να ελεγχθεί περαιτέρω σε έναν μεγαλύτερο αριθμό ασθενών και να συσχετισθούν τα αποτελέσματα με την κλινική έκβαση.

ΑΝΑΡΤΗΜΕΝΕΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ

ΑΑ 01

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ ΣΤΗ ΘΡΟΜΒΟΕΜΒΟΛΙΚΗ ΝΟΣΟ

Β. Κυριαζή, Γ. Γεροντάρα, Μ. Οικονόμου, Α. Ρέγκλη, Κ. Μάτσης

Αιματολογικό Τμήμα, Ν.Θ.Π. «Η Παμμακάριστος»

Εισαγωγή: Τα αιμοπετάλια (ΑΜΠ) κατά την ενεργοποίησή τους μεταβάλλουν το σφαιρικό σχήμα και εκτείνουν ψευδοπόδια. Οι μορφολογικές αλλαγές των ΑΜΠ επηρεάζουν, σε ποικίλο βαθμό, τους δείκτες των αιματολογικών αναλυτών, όπως ο MPV (μέσος όγκος ΑΜΠ), PDW (εύρος κατανομής όγκου ΑΜΠ), P-LCR (αναλογία μεγάλων ΑΜΠ) και PCT (αιμοπεταλιοκρίτης).

Σκοπός: Αξιολόγηση της χρήσης των αιμοπεταλιακών δεικτών σε νοσηλευόμενους ασθενείς με αποδεδειγμένη θρομβοεμβολική νόσο.

Υλικό και Μέθοδοι: Εξετάστηκαν προοπτικά 40 δείγματα αίματος (Κ3ΕΔΤΑ) ασθενών (Α/Γ=19/21), διάμεσης ηλικίας 78 (εύρος 55-88) έτη και 21 υγιών μαρτύρων. Η μέτρηση κάθε δείγματος έγινε με δύο αναλυτές: Sysmex K-4500 (μεταβολής αντίστασης) και CELL-DYN Sapphire (οπτικής αρχής). Τα δείγματα 21 ασθενών (ομάδα Α) και της ομάδας ελέγχου αναλύθηκαν σε 3 ώρες από

τη συλλογή, ενώ 19 δείγματα ασθενών εξετάστηκαν σε 1 ώρα (ομάδα Β). Συγκρίθηκαν με δοκιμασία t-test οι μέσες τιμές των ΑΜΠ, MPV, PDW, PCT, P-LCR, μεταξύ των πασχόντων (ομάδα Α) και των υγιών ατόμων καθώς και η επίδραση του χρόνου επεξεργασίας του δείγματος (ομάδα Β) στις παραμέτρους αυτές.

Αποτελέσματα: Στην ομάδα Α με τον αναλυτή οπτικής αρχής παρατηρήθηκε αύξηση των MPV ($p=0,05$) και PDW ($p=0,001$), ενώ με τον αναλυτή μεταβολής αντίστασης, σημαντική διατηρήθηκε η αύξηση ως προς το PDW ($p=0,001$). Στην ομάδα Β παρατηρήθηκε αύξηση του PDW ($p=0,001$) στον αναλυτή οπτικής αρχής σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Από τη σύγκριση των ομάδων Α και Β διαπιστώθηκε σημαντική αύξηση του MPV ($p=0,05$) με το χρόνο, ενώ ο PDW δεν επηρεάστηκε. Δεν αποδείχθηκαν στατιστικώς σημαντικές μεταβολές στις τιμές ΑΜΠ, PCT και P-LCR.

Συμπεράσματα: Η σημαντική αύξηση του PDW στην ομάδα των ασθενών με αποδεδειγμένη ενεργοποίηση των ΑΜΠ σε σχέση με την ομάδα ελέγχου δεν επηρεάζεται από την τεχνολογία του αναλυτή ή το χρόνο επεξεργασίας του δείγματος. Επιπλέον, η ευκολία στη μέτρησή του θα μπορούσε να ενισχύσει τη χρήση του ως δείκτη πρώιμης διάγνωσης θρομβοεμβολικής νόσου.

ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΣΤΙΓΜΑΤΟΣ ΔΡΕΠΑΝΟΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΑΝΑΙΜΙΑΣ ΜΕ ΤΗΝ ΜΕΘΟΔΟ ΗPLC

Έφη Καλπάκη, Βασιλική Γαλάνη, Ευγενία Δρακοπούλου, Δημήτριος Τσικαλάκης, Μαρία Κρισιώτη, Π Τσαφταριδής, Βασιλική Βυλλιώτου

Βιοχημικό Εργαστήριο ΕΑΝΠ «Μεταξά», Πειραιά, Αιμοδοσία ΕΑΝΠ «Μεταξά», Πειραιά, Κέντρο Μεσογειακής Αναιμίας, Αθήνα

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Αν και οι περισσότερες μεταλλάξεις αιμοσφαιρινών έχουν περιορισμένη κλινική σημασία η ομόλογη αιμοσφαιρίνη HbC και HbS (Δρεπανοκυτταρική αναιμία) έχει σημαντικές κλινικές επιπτώσεις. Το στίγμα της Δρεπανοκυτταρικής αναιμίας είναι μία καλοήγητος κατάσταση αλλά σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες του Συμβουλίου της Ευρώπης (14η έκδοση 2008) συνιστάται τα άτομα αυτά να αποκλείονται από δότες αίματος. Στα πλαίσια αυτά εξετάστηκαν 2478 αιμοπεταλιοδότες την περίοδο 12/5/2008 έως 31/12/2009 με την μέθοδο ΗPLC για τον προσδιορισμό πιθανού στίγματος

ΜΕΘΟΔΟΙ-ΑΣΘΕΝΕΙΣ

Οι μετρήσεις έγιναν σε ολικό αίμα με K⁺-ETDA, στον αυτόματο αναλυτή αιμοσφαιρινών HA-8160 (Adams) βαθμονομημένο για την μέτρηση της γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης (HbA1c) αλλά και των αιμοσφαιρινών HbF και HbA2. Η μέθοδος βασίζεται στον διαχωρισμό αιμοσφαιρινών με κατιο-ιονοανταλλακτική στήλη με κατάλληλη κινητή φάση μεταβαλλόμενης συγκέντρωσης (gradient) προσδιοριζόμενες στα 405 nm. Με το σύστημα αυτό δεν είναι εφικτός ο διαχωρισμός μεταξύ της HbA2 και της HbS και επομένως δεν είναι εύκολη η διάγνωση της αναιμίας αλλά συνιστάται περεταίρω έλεγχος από το Κέντρο Μεσογειακής Αναιμίας (ΚΜΑ), σε άτομα που εμφανίζουν υψηλά τα δύο αυτά κλάσματα (HbF και HbA2/S).

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Βασική Διαγνωστική Αιματολογία 1984 Ι. Σταυριδής σελ. 205-210.
2. Οδηγός για την Παρασκευή, την χρήση και την διαδικασία της ποιότητας των προϊόντων αίματος. 2008. Σύσταση Αρ. τ. (95) 15, 89-90.
3. Ou Ch.-N. & Rognerud Ch.L. (1993) Rapid Analysis of Hemoglobin Variants by Cation-Exchange HPLC. Clin. Chem. 39(5), 820-824.
4. Garcia-Alcala H., Ruiz-Arguelles A. & Cedillo-Carvalho B. (2009) Effect of the Method to Measure Levels of Glycated Hemoglobin on Individual Clinical Decisions: Comparison of an Immunoassays with HPLC. Am J Clin Pathol 132, 332-335.
5. Clarke G.M. & Higgins T.N. (2000) Laboratory Investigation of Hemoglobinopathies and Thalassemias: Review and Update. Clin Chem 46(8B), 1284-1290.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Από τους 2478 αιματοπεταλιοδότες που προσήλθαν στην Αιμοδοσία του ΕΑΝΠ «Μεταξά» το 2009 71,3% ήταν άνδρες μέσης ηλικίας 45,3 χρόνων και το 28,7% γυναίκες με μέση ηλικία 43,5. Στο σύνολο του πληθυσμού οι 1230 (49.6%) αιμοδοτούσαν για πρώτη φορά από τους οποίους 4 δότες (0.32%) 3 άνδρες και 1 γυναίκα στο ανωτέρω χρονικό διάστημα, βρέθηκαν με στίγμα δρεπανοκυτταρικής αναιμίας και εστάλησαν στο ΚΜΑ για πλήρη έλεγχο, όπου και επιβεβαιώθηκαν.

	Αριθμός αιμοδωτών	Μέση ηλικία	Φορείς δρεπανοκυτταρικής αναιμίας
Άνδρες	1767 (71,3)	36,5	3
Γυναίκες	711 (28,7%)	35,2	1
Πρώτη φορά αιμοδότες	1229 (49,6%)	30,4	3
Παλαιοί αιμοδότες	1249 (50,4%)	37,5	1
Σύνολο	2478 (100%)	35,9	4

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Επειδή πολλοί από τους δότες αιμοπεταλίων δεν γνωρίζουν αν φέρουν το στίγμα της δρεπανοκυτταρικής αναιμίας κρίνεται αναγκαίος ο έλεγχος πριν την αιμοδότησή τους. Οι φορείς του στίγματος της δρεπανοκυτταρικής αναιμίας αποκλείονται από την αιμοδότηση, δεδομένου ότι υπάρχει πιθανότητα πρόκλησης σοβαρής επιπλοκής στους ίδιους και επιπλέον τα ερυθροκύτταρα που φέρουν το στίγμα της δρεπανοκυτταρικής είναι δυνατόν να προκαλέσουν σοβαρές επιπλοκές σε ειδικές κατηγορίες ασθενών (νεογνήνητα, ασθενείς με σοβαρή καρδιοαναπνευστική νόσο, Shock, οι συχνά μεταγχιζόμενοι καθώς και οι φορείς δρεπανοκυτταρικής αναιμίας). Η ΗPLC μέθοδος μέτρησης της γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης μπορεί να αποτελέσει μία αρχική αλλά αξιόπιστη διερεύνηση αποκλεισμού στίγματος δρεπανοκυτταρικής αναιμίας.

Επίπεδα προλακτίνης σε ασθενείς με αυτοάνοσα νοσήματα.

Ε. Κωνσταντινίδου¹, Θ. Γκιάκα¹, Θ.Γ.Κωνσταντινίδης¹, Χ. Τσίγαλου¹, Δ. Θεμελιδής¹, Ν.Γαλανόπουλος²
Γ. Καμπουρομήτη¹.

1.Τμήμα Βιοπαθολογίας ΕΣΥ, Πανεπιστημιακό γενικό Νοσοκομείο Αλεξανδρούπολης,
2. Εξωτερικό Ρευματολογικό Ιατρείο ΠΓΝ Αλεξανδρούπολης.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η προλακτίνη (PRL) έχει μεγάλη επίδραση στην ανοσολογική απόκριση, όπως δείχνουν πειραματικά δεδομένα σε ποντίκια. Η υπερπρολακτιναιμία είναι συχνό εύρημα στους ασθενείς με Συστηματικό Ερυθηματώδη Λύκο (ΣΕΛ) και ρευματοειδή αρθρίτιδα(PA).

ΣΚΟΠΟΣ

Ο σκοπός της μελέτης μας ήταν να εκτιμηθούν τα επίπεδα της προλακτίνης στους ασθενείς με σε ασθενείς με συγκεκριμένα αυτοάνοσα νοσήματα και η συσχέτιση με την ενεργότητα των νοσημάτων αυτών.

ΜΕΘΟΔΟΙ-ΑΣΘΕΝΕΙΣ

Το υλικό της μελέτης μας αποτέλεσαν 68 ασθενείς εξωτερικού ρευματολογικού ιατρείου του νοσοκομείου μας ηλικίας 50-78 ετών και 30 κλινικά υγιή άτομα συγκρίσιμα ως προς την ηλικία με την ομάδα ασθενών. Όλοι οι ασθενείς ήταν γυναίκες. Από το σύνολο των ασθενών οι 18 είχαν Συστηματικό Ερυθηματώδη Λύκο, 32 ρευματοειδή αρθρίτιδα και 18 Αγκυλωτική Σπονδυλαρθρίτιδα(ΑΣ). Σε όλα τα δείγματα προσδιορίσαμε την προλακτίνη, ρευματοειδή παράγοντα (RF), τα κλάσματα C₃, C₄, αντιπυρηνικά (ANA) και anti CCP's αντισώματα. Την προλακτίνη προσδιορίσαμε με τη μέθοδο ηλεκτροχημειοφωταύγειας (Roche), η ανίχνευση των ANA έγινε με IFA σε υπόστρωμα Hep-2 κυτάρων (BIOSNA), των anti-ds DNA με IFA (BIOFONS) και Elisa (AESCULISA), τα κλάσματα C₃, C₄ και RF με νεφελομετρία.(IMMAGE).

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα αποτελέσματά μας συμφωνούν με αντίστοιχα της διεθνούς βιβλιογραφίας και επιβεβαιώνουν την άποψη ότι η προλακτίνη αποτελεί έναν ισχυρό δείκτη ενεργότητας αυτοάνοσων νοσημάτων. Η προλακτίνη μπορεί να προσφέρει πολύτιμη βοήθεια στην παρακολούθηση των ασθενών με συστηματικά νοσήματα. Ωστόσο, απαιτούνται επιπλέον μελέτες, προκειμένου να διαλευκανθούν περισσότερο οι ανοσορυθμιστικοί μηχανισμοί δράσης της προλακτίνης.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Τα επίπεδα προλακτίνης στους ασθενείς με ΣΕΛ, PA, ΑΣ και ομάδα ελέγχου ήταν 24,2±12 ng/ml, 14.5±7 ng/ml, 12,9±8 ng/ml και 12,5±7 ng/ml αντίστοιχα. Στο σύνολο των ασθενών η τιμή της προλακτίνης πάνω από 30 ng/ml διαπιστώθηκε στους 5/18 ασθενείς (27,7%) με ΣΕΛ, 3/32 (9,6%) με PA και 1/18 (5,5%) με ΑΣ. Στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με τους μάρτυρες διαπιστώθηκε μόνο στους ασθενείς με ΣΕΛ (p < 0.001). Οι ασθενείς με υπερπρολακτιναιμία είχαν αυξημένους δείκτες ενεργότητας των αντίστοιχων νοσημάτων σε σχέση με εκείνους που είχαν φυσιολογική προλακτίνη.

ΠΙΝΑΚΑ 1 Προφίλ αντισωμάτων κατά τη διάρκεια της μελέτης στις ομάδες ασθενών με ή χωρίς υπερπρολακτιναιμία

	Φυσιολογική PRL	Αυξημένη PRL
Αριθμός (n)	59	9
Αντιπυρηνικά αντισώματα	54 (91,5%)	9 (100%)
Anti-ds DNA αντισώματα	42 (71%)	7 (77,7%)
Anti Sm	8 (13.5%)	2 (22%)
Anti Ro	34 (57%)	5 (55.5%)
Anti La	30 (51%)	4 (44%)
Anti CCP's	35 (59%)	8 (88.8%)
Χαμηλά C ₃ C ₄	10 (17%)	4 (44.%)

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1.Orbach H, Shoenfeld Y. Hyperprolactinemia and autoimmune diseases. Autoimmun Rev 2007.;6:537–542

ΑΑ 04**ΟΡΟΛΟΓΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΓΙΑ ΤΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΗΣ ΚΟΙΛΙΟΚΑΚΗΣ**

Β. Πολυμέρου,¹ Ε. Βασιλείου,¹ Β. Αγγελοπούλου,¹ Κ. Σακελλαρίου,¹ Κ. Κωνσταντινάκου,¹ Τζ. Κουρέα-Κρεμαστινού^{1,2}

*1*Εργαστήριο Ανοσολογίας και Ιστοσυμβατότητας, Βιοϊατρική Διεθνή Διαγνωστικά Εργαστήρια

*2*Τμήμα Δημόσιας και Διοικητικής Υγιεινής, Εθνική Σχολή Δημόσιας Υγείας

Εισαγωγή: Η κοιλιοκάκη είναι η μία από τις δύο αναγνωρισμένες μορφές της ευαίσθητης εντεροπάθειας στη γλουτένη (GSE), η οποία χαρακτηρίζεται από χρόνια φλεγμονή του εντερικού βλεννογόνου και λείανση του επιθηλίου. Η διάγνωση εξαρτάται από τις κλινικές εκδηλώσεις της νόσου και την παρουσία ειδικών αντισωμάτων, έναντι του ενδομυϊού IgA (EMA IgA), της ιστικής τρανσγλουταμινάσης IgG και IgA (hTTG IgG-IgA), και της γλιαδίνης IgG και IgA (AGA IgG-IgA) και τελευταία την ανίχνευση F-actin IgA αντισωμάτων.

Σκοπός: Σκοπός της παρούσης μελέτης είναι να προσδιορίσουμε τη συχνότητα των EMA-IgA, hTTG IgG-IgA, AGA IgG-IgA, στη διάγνωση της κοιλιοκάκης και να αξιολογήσουμε τη συσχέτιση μεταξύ αυτών και των F-actin IgA αντισωμάτων.

Υλικό και Μέθοδοι: Εξετάστηκαν 64 δείγματα ασθενών, ηλικίας 6-12 ετών με κλινικά συμπτώματα κοιλιοκάκης. Σε όλους τους ασθενείς έγινε έλεγχος για EMA-IgA με τη μέθοδο του ανοσοφθορισμού, hTTG IgG-IgA, AGA IgG-IgA και F-Actin IgA με τη μέθοδο ELISA. Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκε με το SPSS 16.0 και συσχετίσεις με $p < 0,05$ θεωρήθηκαν στατιστικά σημαντικές.

Αποτελέσματα: Στο σύνολο των 64 δειγμάτων που αναλύθηκαν ελέγχθηκαν οι συσχετίσεις μεταξύ των παραπάνω αντισωμάτων. Τα AGA-IgG βρέθηκαν να έχουν στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση με τα AGA-IgA ($R=0,686$, $p < 0,001$), με τα hTTG-IgA ($R=0,778$, $p < 0,001$), με τα EMA-IgA ($R=0,680$, $p < 0,001$), και με την F-Actin IgA ($R=0,612$, $p < 0,001$). Τα AGA-IgA βρέθηκαν να έχουν στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση με τα EMA-IgA ($R=0,715$, $p < 0,001$), τα hTTG-IgA ($R=0,796$, $p < 0,001$), και με την F-Actin IgA ($R=0,807$, $p < 0,001$). Τα EMA-IgA με τα hTTG-IgA ($R=0,925$, $p < 0,001$), ενώ η F-Actin IgA τόσο με τα EMA-IgA ($R=0,757$, $p < 0,001$), όσο και με τα hTTG-IgA ($R=0,785$, $p < 0,001$).

Συμπεράσματα: Από τη μελέτη μας διαπιστώνουμε ότι τα AGA-IgG, AGA-IgA, hTTG-IgG, hTTG-IgG, EMA-IgA αντισώματα αποτελούν σημαντικούς διαγνωστικούς δείκτες για την κοιλιοκάκη και μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε συνδυασμό με τα αντισώματα F-ακτίνης IgA, παρέχοντας μεγαλύτερη διαγνωστική αξία.

ΑΑ 05**ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΙ ΚΑΙ ΦΑΙΝΟΤΥΠΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΔΕΥΤΕΡΕΣ ΝΕΟΠΛΑΣΙΕΣ ΚΑΙ Β-ΧΡΟΝΙΑ ΛΕΜΦΟΓΕΝΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ**

Β. Κυριαζή,¹ Α. Κωστούρου,¹ Α. Μάρας,² Π. Κωνσταντινίδης,² Κ. Μάτσης¹

*1*Αιματολογικό Τμήμα, Ν.Θ.Π. «Η Παμμακάριστος»

*2*Παθολογική Κλινική, Ν.Θ.Π. «Η Παμμακάριστος»

Εισαγωγή: Η Β-Χρόνια Λεμφογενής Λευχαιμία (Β-ΧΛΛ) χαρακτηρίζεται από τη συνέκφραση CD5/CD19 στα ώριμα Β-λεμφοκύτταρα. Το 5% των πασχόντων αναπτύσσει δεύτερη κακοήθεια, λόγω ανοσοανεπάρκειας, EBV λοίμωξης ή κυτταρικού μετασχηματισμού.

Υλικό και Μέθοδοι: Αξιολογήθηκαν αναδρομικά τα ευρήματα της κυταρομετρίας ροής, της ανοσοϊστοχημείας και του βιοχημικού ελέγχου 4 ασθενών με Β-ΧΛΛ και δεύτερες κακοήθειες, οι οποίοι δεν είχαν ιστορικό λήψης θεραπείας για τη Β-ΧΛΛ.

Αποτελέσματα: Οι ασθενείς ήταν άνδρες ηλικίας 69-83 έτη κατά τη διάγνωση της Β-ΧΛΛ. Το μεσοδιάστημα από τη διάγνωση της Β-ΧΛΛ μέχρι τη δεύτερη κακοήθεια ήταν από 0 (ταυτόχρονη διάγνωση) έως 120 (διάμεση τιμή: 48,5) μήνες. Τα νεοπλάσματα ήταν: Β-Non Hodgkin Λέμφωμα (n=2), Hodgkin Λέμφωμα (n=1), καρκίνος πνεύμονα (n=1). Δεν παρατηρήθηκαν κλινικά ευρήματα εξέλιξης της Β-ΧΛΛ (Rai 0-II). Σε όλους παρατηρήθηκαν αυξημένα επίπεδα β₂-μικροσφαιρίνης (b2-m >2000 mcg/L), γαλακτικής δευδρογενάσης (LDH >225 U/L) και CRP (>5 mg/dL). Σε καμία περίπτωση δεν παρατηρήθηκε έκφραση των CD38 και ZAP70. Η κυταρομετρία ροής του περιφερικού αίματος ανέδειξε CD5+ Β-ΧΛΛ κύτταρα σε 3 δείγματα, ενώ σε 2 από αυτά το εύρημα δεν επιβεβαιώθηκε στην ανοσοϊστοχημεία μυελικού δείγματος. Το CD5- δείγμα περιφερικού αίματος συνοδεύτηκε από την ανάπτυξη CD5+ λεμφώματος στο μυελό των οστών.

Συμπεράσματα: Η διάγνωση των δεύτερων κακοήθειων στην πορεία της Β-ΧΛΛ είναι μια κλινική πρόκληση. Ο αριθμός των σχετικών μελετών στη βιβλιογραφία είναι περιορισμένος, ενώ ως δείκτες ενδεικτικοί της συνύπαρξης των δύο οντοτήτων αναγνωρίζονται το άρρεν φύλο, η προχωρημένη ηλικία, οι υψηλές τιμές LDH, CRP και β₂-μικροσφαιρίνης, η τροποποιημένη CD5 έκφραση στο μυελό και στο περιφερικό αίμα. Στην παθογένεια της νόσου εμπλέκονται το μικροπεριβάλλον του μυελού και οι ανοσιακές διαταραχές, λόγω του υποκείμενου νοσήματος ή της θεραπείας.

ΔΙΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΣΧΗΜΑΤΑ ΔΟΚΙΜΩΝ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΠΡΟ-ΑΝΑΛΥΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΜΕΤΑ-ΑΝΑΛΥΤΙΚΩΝ ΣΤΑΔΙΩΝ

Δημήτριος Γ. Θεοδώρου, Χημικός Μηχανικός ΕΜΠ, MSc, MBA

Priority ΑΕ, Τομέας Διαπίστευσης Εργαστηρίων, www.priority.com.gr

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι εργαστηριακές αναλύσεις περιλαμβάνουν μια σειρά βημάτων, π.χ. επιλογή μεθόδου, δειγματοληψία, μεταφορά - συντήρηση δείγματος, προετοιμασία δείγματος, μέτρηση, υπολογισμοί αποτελεσμάτων και αναφορά αποτελεσμάτων στο πελάτη. Τα βήματα πριν και μετά την μέτρηση συχνά αναφέρονται ως προ-αναλυτικά και μετα-αναλυτικά στάδια αντίστοιχα, και συνδέονται με σφάλματα που επηρεάζουν άμεσα την ποιότητα και την αξιοπιστία του τελικού αποτελέσματος. Η συμμετοχή σε Σχήματα Δοκιμών Ικανότητας (PT - Proficiency Testing) ή Εξωτερικού Ελέγχου Ποιότητας (EQA - External Quality Assessment) τις περισσότερες φορές εξασφαλίζει την αξιοπιστία της κυρίως μέτρησης αλλά δεν «ελέγχει» τα στάδια πριν και μετά από αυτή. Είναι, λοιπόν, αναγκαία η ύπαρξη κατάλληλων σχημάτων που θα τεκμηριώνουν την επίδοση του εργαστηρίου συνολικά και όχι μόνο στο στάδιο της αναλυτικής διαδικασίας.

ΜΕΘΟΔΟΙ

1. Απαιτήσεις προτύπου ISO 15189

Αν και συχνά οι Φορείς Διαπίστευσης δεν «επιμένουν» όσον αφορά στη συμμετοχή διαπιστευμένων ή υπό διαπίστευση κλινικών εργαστηρίων σε διεργαστηριακά σχήματα που ελέγχουν όχι μόνο τα αναλυτικά στάδια αλλά και τα προ-αναλυτικά / μετά-αναλυτικά στάδια, το ISO 15189 (πρότυπο διαπίστευσης κλινικών εργαστηρίων) είναι αρκετά ξεκάθαρο όσον αφορά τις απαιτήσεις του σε αυτό τον τομέα. Συγκεκριμένα στην παράγραφο 5.6.4 αναφέρει:

Τα προγράμματα εξωτερικού ελέγχου ποιότητας θα πρέπει, κατά το δυνατόν, να παρέχουν κλινικά σχετικές δοκιμασίες που προσομοιάζουν τα δείγματα των ασθενών και έχουν ως αποτέλεσμα τον έλεγχο ολόκληρης της διαδικασίας της εξέτασης, συμπεριλαμβανομένων προ- και μετά-αναλυτικών διαδικασιών

2. Σφάλματα Προ- και Μετά- Αναλυτικών Σταδίων

Ενδεικτικά προ- και μετά- αναλυτικά σφάλματα είναι:

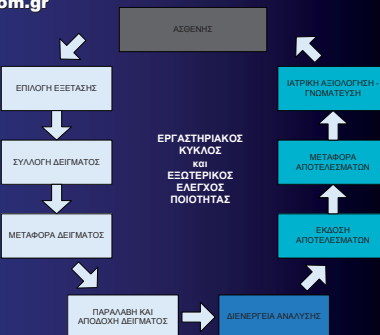
Σφάλματα στην λήψη	Κακή συντήρηση ή/και μεταφορά δείγματος
Ακατάλληλο δείγμα	Λάθος αντιγραφή αποτελέσματος ή ονόματος ασθενούς
Λάθος αντιπηκτικό	Καθυστερήση στην αποστολή των αποτελεσμάτων
Λάθος ή μη ασφαλής ταυτοποίηση του δείγματος	Λάθος υπολογισμός στις τιμές του αναλυτή
Λάθος ή ελλιπές παραπεμπτικό	Αποστολή αποτελεσμάτων σε λάθος αποδέκτη
Ελλιπής προετοιμασία του εξεταζόμενου	Απώλεια των αποτελεσμάτων
Προγραμματισμός στον αναλυτή λάθος εξέτασης	Λάθος τεχνική ή ιατρική αξιολόγηση-γνωμάτευση

Αν και τα προ- και μετά- αναλυτικά σφάλματα αποτελούν το 80% των εργαστηριακών σφαλμάτων, τόσο ο εσωτερικός όσο και ο εξωτερικός ποιοτικός έλεγχος εστιάζουν στο αναλυτικό στάδιο. Όσον αφορά στα σχήματα εξωτερικού ποιοτικού ελέγχου μετα-αναλυτικού σταδίου είναι διαδεδομένα μόνο σε συγκεκριμένες κατηγορίες εξετάσεων π.χ. Κλινικής Γενετικής. Τα σχήματα προ-αναλυτικών σταδίων είναι σε αρκετά πρώιμη φάση υλοποίησης.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Mario Plebani, *Jugoslav Med Biochem* 2005; 24 (3): 201-206
- Taverners, *Clinical Laboratory Management*, ISBN 0-583-08376-7, 1997
- <http://www.birminghamquality.org.uk> (UK NEQAS)
- <http://www.csqg.ch>

Η παραπάνω Αναρτημένη Ανακοίνωση, παρουσιάστηκε κατά τη διάρκεια του 9^{ου} Πανελληνίου Συνεδρίου Κλινικής Χημείας



- «Κλασικά» σχήματα εξωτερικού ποιοτικού ελέγχου
- Σχήματα εξωτερικού ποιοτικού ελέγχου που συναντώνται σε ειδικές κατηγορίες εξετάσεων (π.χ. κλινική γενετική)
- Εναλλακτικά σχήματα εξωτερικού ποιοτικού ελέγχου

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Ένα από τα πιο γνωστά σχήματα εξωτερικού ποιοτικού ελέγχου κλινικής χημείας για το μετά-αναλυτικό στάδιο είναι το «UK NEQAS for interpretative comments in Clinical Chemistry». Στον παρακάτω πίνακα αναγράφονται τα στοιχεία μιας διανομής του σχήματος αυτού.

Case Description	Distribution 115	Time window score: 1.10
A 47 year old man presented to his GP. Clinical details on the request form were Diabetes mellitus on oral hypoglycaemic agents. Overweight and hypertensive Serum results were • Cholesterol 6.7 mmol/L (<5.2) • Triglycerides 4.5 mmol/L (0.4 - 1.8) • HDL-cholesterol 0.9 mmol/L (0.9 - 1.8) • HbA1c 9.4% (good control <7%)		
Your comment Recent glycaemic control is relatively poor. If this can be improved, suggest that this is done and lipids rechecked before instituting active lipid-lowering therapy.		Average mark for this case: 1.20
Case Summary There were 127 participants, with 109 achieving a positive score (25th percentile 0.25, median 0.60, 75th percentile 0.80). There were three areas of disagreement: should one comment at all?; should one suggest immediate lipid-lowering therapy?; and should one suggest a statin, a fibrate or both? A personal view is that for secondary hyperlipidaemias, the primary cause should be tackled first Examples of low-scoring comments - Poorly controlled Type 2 diabetic - fasting sample. Repeat if required. Raised HbA1c, check patient is taking medicine and on low fat diet. Check LFTs, TSH, gamma-GT, urate, urine total protein and microalbumin Examples of high-scoring comments - Recent glycaemic control is relatively poor. If this can be improved, suggest that this is done and lipids rechecked before instituting active lipid-lowering therapy - HbA1c suggests poor glucose control (assuming no HbA1c variants). Assess diet and oral dose, consider statins and insulin. Repeat lipids fasting, and check 24 hr urine microalbumin		

Τα σχήματα εξωτερικού ποιοτικού ελέγχου προ- αναλυτικών σταδίων είναι δυνατόν να περιλαμβάνουν διανομή προβληματικών ή ακατάλληλων δειγμάτων και αξιολόγηση των εργαστηρίων ως προς τον χαρακτηρισμό και τον χειρισμό τους ή αξιολόγηση των εργαστηρίων μέσω ερωτηματολογίων/ case studies (CSCQ, Ελλάδα).

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η εμπειρία έχει δείξει ότι μόνο το 20% των λαθών στο εργαστήριο οφείλονται στα αναλυτικά στάδια και το υπόλοιπο 80% στα προ-αναλυτικά και μετά-αναλυτικά στάδια. Η συμμετοχή, λοιπόν, σε διεργαστηριακά σχήματα που ελέγχουν όλα τα στάδια είναι απαραίτητη ως ένα σημαντικό μέτρο διασφάλισης της αξιοπιστίας των αποτελεσμάτων του εργαστηρίου.

ΔΙΕΘΝΕΣ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΔΙΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΩΝ ΣΥΓΚΡΙΣΕΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΥΤΟΜΑΤΟΠΟΙΗΜΕΝΗ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΟΥΡΩΝ

Π. Κολλημένου¹, Μ. Χατζηκυριάκος¹, Α. Ευαγγελόπουλος¹

¹Roche Diagnostics (Hellas) A.E.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Από το Δεκέμβριο του 2009 δόθηκε η δυνατότητα στα εργαστήρια που διενεργούν τη μικροσκοπική εξέταση δείγματος ούρων με αυτοματοποιημένη μέθοδο να συμμετέχουν στο Πρόγραμμα Ελέγχου Ποιότητας UF-IQAS, το οποίο οργανώνεται από την εταιρία Sysmex και υποστηρίζεται σε εθνικό επίπεδο από τη Roche Diagnostics (Hellas) SA. Πρόκειται για ένα πρόγραμμα αξιολόγησης ποιότητας των 5 βασικών παραμέτρων: ερυθρά αιμοσφαίρια (RBC), λευκά αιμοσφαίρια (WBC), επιθηλιακά κύτταρα (EC), κύλινδροι (CAST), βακτήρια (BACT) καθώς και 7 τεχνικών παραμέτρων (Fsc, Fl, Fl2, Fscw, Imp, Cond και Fsc2).

ΜΕΘΟΔΟΣ

Σκοπός

Η παρούσα εργασία στοχεύει στην παρουσίαση του Προγράμματος Εξωτερικού Ελέγχου Ποιότητας UF-IQAS για αυτόματους αναλυτές μικροσκοπικής εξέτασης ούρων.

Υλικό

Διάλυμα Ελέγχου: UF-IQAS

Αναλυτές: Sysmex UF-100 & UF-100i

Μέθοδος

Όλοι οι συμμετέχοντες στο πρόγραμμα, λαμβάνουν ένα ξεχωριστό φιαλίδιο δείγματος ελέγχου UF-IQAS. Σε συγκεκριμένο χρονικό διάστημα, διεξάγονται 5 μετρήσεις στον αναλυτή, οι οποίες στη συνέχεια αποστέλλονται στη διοργανώτρια αρχή. Ακολουθεί η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων και η αποστολή της έκθεσης αξιολόγησης στον υπεύθυνο του εργαστηρίου.



ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Ο διεργαστηριακός έλεγχος ποιότητας στη μικροσκοπική εξέταση ούρων αποτελεί μια προβληματική περιοχή για πολλά εργαστήρια, πρωτίστως λόγω της απουσίας οργανωμένων σχημάτων. Η Roche Diagnostics (Hellas) S.A ως επίσημος αντιπρόσωπος του οίκου Sysmex στην Ελλάδα παρέχει τη δυνατότητα στα εργαστήρια που διενεργούν τη μικροσκοπική εξέταση δείγματος ούρων με αυτοματοποιημένη μέθοδο να αποτιμούν την ποιότητα των αποτελεσμάτων τους μέσω συγκρίσεων με ομοειδή εργαστήρια (peer group).

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Μετά τη συμμετοχή του εργαστηρίου στο πρόγραμμα αποστέλλεται η έκθεση αξιολόγησης, "**International Results**". Η έκθεση αυτή περιλαμβάνει μια αξιολόγηση των αποτελεσμάτων του εκάστοτε αναλυτή σε σύγκριση με τα αποτελέσματα της ομοειδούς ομάδας, που παρουσιάζεται τόσο αριθμητικά, όσο και γραφικά σε ιστόγραμμα.

Η στατιστική αξιολόγηση περιλαμβάνει - ανά παράμετρο, στοιχεία για την ορθότητα (ακρίβεια) και για την πιστότητα (επαναληψιμότητα), σε τρία πεδία, βάσει των πολλαπλών μετρήσεων του UF-IQAS control.

• Το πεδίο «**οι μετρήσεις σας**» παρουσιάζει, ανά παράμετρο, τη μέση τιμή (mean) των 5 μετρήσεων που εκτελέστηκαν στον αναλυτή, τη τυπική απόκλιση (SD), όπου δίνει πληροφορίες για την πιστότητα των μετρήσεων) και τον συντελεστή μεταβλητότητας (CV%, όπου αντιπροσωπεύει το SD ως επί τοις εκατό ποσοστό της μέσης τιμής).

• Το πεδίο «**οι δείκτες σας**» παρουσιάζει ανά παράμετρο τους δείκτες που δίνουν πληροφορίες τόσο για την ορθότητα, όσο και για την πιστότητα των αποτελεσμάτων του εργαστηρίου σε σύγκριση με αυτά της ομάδας.

Ο **δείκτης τυπικής απόκλισης (SDI)** δίνει πληροφορίες για την ορθότητα των μετρήσεων, σε σύγκριση με την ομάδα και υπολογίζεται από τον τύπο:

$$SDI = \frac{\text{Η μέση τιμή} - \text{η μέση τιμή της ομάδας}}{\text{Τυπική απόκλιση ομάδας (SD)}}$$

Το **SDI** μπορεί να είναι είτε αρνητικό είτε θετικό. Όσο πιο κοντά στο μηδέν είναι το αποτέλεσμα του **SDI**, τόσο πιο κοντά βρίσκονται τα αποτελέσματά στις μετρήσεις της ομάδας.

Ο **δείκτης πιστότητας (PI)** αναφέρεται στην πιστότητα των μετρήσεων σε σχέση με τη μέση τιμή των μεμονωμένων τυπικών αποκλίσεων (Mean SDI).

Ο τύπος υπολογισμού του είναι:

$$PI = \frac{\text{Δείκτης τυπικής απόκλισης του εργαστηρίου (SDI)}}{\text{Η μέση τιμή των μεμονωμένων τυπικών αποκλίσεων (Mean SDI)}}$$

Το **PI** είναι πάντα επάνω από το μηδέν. Όσο μικρότερο είναι, τόσο καλύτερη είναι η πιστότητα του αναλυτή σε σύγκριση με την ομάδα.

• Το πεδίο «**αποτελέσματα ομάδας**» παρουσιάζει τη μέση τιμή των μετρήσεων όλων των συμμετεχόντων στην ομάδα ανά παράμετρο και τη τυπική απόκλιση (SD) της ομάδας που ανήκει ο αναλυτής, μετά από το στατιστικό αποκλεισμό των εκτός ορίων αποτελεσμάτων, που εντοπίστηκαν. Επιπλέον δίνεται και ο μέσος όρος όλων των μεμονωμένων τυπικών αποκλίσεων όλων των συμμετεχόντων σε μια συγκεκριμένη ομάδα (Mean SDI). Αυτή η τιμή δείχνει το εύρος των μετρήσεων της ομάδας γύρω από τη μέση τιμή (Mean SDI).

Τα κατώτερα και τα ανώτερα όρια (L-Limit και U-Limit) καθορίζουν τη μέγιστη αποδεκτή απόκλιση από τη μέση τιμή της ομάδας. Τα όρια είναι ± 3 τυπικές αποκλίσεις (SD) πάνω ή κάτω από τη μέση τιμή της ομάδας, αντίστοιχα. Εάν μια ή περισσότερες από τις παραμέτρους είναι εκτός αυτών των ορίων, η ορθότητα των μετρήσεων δεν είναι αποδεκτή. Εάν μια ή περισσότερες από τις παραμέτρους παρεκκλίνει έντονα από τα αποτελέσματα ομάδας, είναι απαραίτητο να γίνουν περαιτέρω έλεγχοι για να εξασφαλιστεί η ορθή λειτουργία του αναλυτή.

• Το πεδίο «**όλοι οι συμμετέχοντες**» παρουσιάζει τη μέση τιμή και την τυπική απόκλιση όλων των συμμετεχόντων όλων των ομάδων ανά παράμετρο.

ΘΥΡΕΟΕΙΔΙΚΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΚΑΙ ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΑΠΝΟΙΑΣ

Θεοδώρα Γκιάκα, Χριστίνα Τσίγαλου, Πασχάλης Στειρόπουλος, Ιωάννης Γιαμούρας, Μαρίνα Ντάκα, Γεωργία Καμπουρομήτη

Τμήμα Βιοπαθολογίας Ε.Σ.Υ. του Π.Γ.Ν. Αλεξ/πολης
Πανεπιστημιακή Πνευμονολογική Κλινική του Δ.Π.Θ.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο ύπνος αποτελεί ζωτική ανάγκη και απαραίτητη προϋπόθεση για καλή υγεία τόσο σωματική, όσο και ψυχική. Το σύνδρομο απνοιών κατά τον ύπνο, είναι μια διαταραχή που χαρακτηρίζεται από επαναλαμβανόμενα επεισόδια πλήρους ή μερικής απόφραξης των ανωτέρων αεραγωγών κατά την διάρκεια του ύπνου, που οδηγούν σε διακοπή (άπνοια) ή σημαντική ελάττωση (υπόπνοια) της ροής του αναπνεόμενου αέρα [1].

Σκοπός:

Η συσχέτιση της θυρεοειδικής λειτουργίας σε ασθενείς με σύνδρομο άπνοιας στον ύπνο, στους οποίους δεν είχε παρατηρηθεί προηγουμένως κάποια θυρεοειδική δυσλειτουργία

ΜΕΘΟΔΟΙ-ΑΣΘΕΝΕΙΣ

Προσδιορίσαμε TSH και FT4 σε 79 άτομα (67 άνδρες και 12 γυναίκες) που προσήλθαν στο εργαστήριο ύπνου με την διάγνωση του συνδρόμου άπνοιας. Τα άτομα εξετάστηκαν με πλήρη πολυσωματοκαταγραφική μελέτη ύπνου στο εργαστήριο Ύπνου της Πνευμονολογικής Κλινικής του Δ.Π.Θ, για διερεύνηση πιθανής διαταραχής της αναπνοής στον ύπνο. Το σύνολο των ατόμων που επιλέχθηκαν, υπέγραψαν έντυπο εθελοντικής συμμετοχής και συγκατάθεσης. Ο προσδιορισμός των θυρεοειδικών ορμονών έγινε με ανοσοενζυμική μέθοδο με τελική ανάγνωση φθορισμού

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Σε ποσοστό που ανερχόταν σε 8,1% οι τιμές της TSH που θεωρείται ο πιο ενδεικτικός δείκτης της θυρεοειδικής λειτουργίας έδειξε εργαστηριακά υπολειτουργία του θυρεοειδούς, σε 4,1% εργαστηριακή υπερλειτουργία και το μεγαλύτερο ποσοστό των ατόμων ήταν εργαστηριακά ευθυρεοειδικοί ασθενείς με σύνδρομο άπνοιας

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα αποτελέσματά μας αναδεικνύουν την ανάγκη εργαστηριακού προσδιορισμού τουλάχιστον της TSH σε άτομα με σύνδρομο άπνοιας, γιατί αυτή η παθολογική κατάσταση (της άπνοιας) είναι αρκετά συχνή αφού πρόσφατες επιδημιολογικές μελέτες έχουν αποδείξει ότι από αυτή υποφέρει το 4-10% του γενικού πληθυσμού. Οι παθήσεις του θυρεοειδούς επειδή προκαλούν ίδια συμπτωματολογία με αυτή που προκαλεί το σύνδρομο της άπνοιας θα πρέπει να αποκλείονται πριν διερευνηθεί το σύνδρομο

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Winkleman, J. W., H. Goldaman, N. Piscatelli, S. E. Lukas, C. M. Dorsey, and S. Cunningham. Are thyroid function tests necessary in patients with suspected sleep apnea? *Sleep* 1996;19:790-793

Χρησιμότητα της μέτρησης των αντισωμάτων έναντι του υποδοχέα της TSH για την εκτίμηση της ενεργότητας της οφθαλμοπάθειας Graves

AA 09

Β. Λόη, Ν. Κλωνάρης, Τ. Τερζή, Ο. Καραγιάννη, Α. Βρυωνίδου

Τμήμα Ενδοκρινολογίας, Διαβήτη και Μεταβολισμού, Νοσοκομείο Ερυθρός Σταυρός, Αθήνα

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η νόσος Graves (NG) είναι μια συχνή αυτοάνοση ενδοκρινοπάθεια όπου αντισώματα τα οποία ενεργοποιούν τον υποδοχέα της TSH (TRAb) προκαλούν κλινικό υπερθυρεοειδισμό. Η οφθαλμοπάθεια Graves (OG) είναι μια από τις σημαντικότερες επιπλοκές της NG που προκύπτει από τη φλεγμονή των ιστών οπισθοβολβικά. Παρόλο που η κλινική χρησιμότητα του προσδιορισμού των αντισωμάτων TRAb για τη διάγνωση της GD είναι καλά τεκμηριωμένη, πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι η μέτρηση τους μπορεί να βοηθήσει στην εκτίμηση της ενεργότητας και της κλινικής πορείας της OG.

Σκοπός της μελέτης αυτής ήταν να προσδιοριστεί το διαχωριστικό cut-off όριο των TRAb για τον καθορισμό των ασθενών με ενεργό OG

ΜΕΘΟΔΟΙ-ΑΣΘΕΝΕΙΣ

Ασθενείς: Μελετήθηκαν 60 γυναίκες και 20 άνδρες με NG που ελάμβαναν αγωγή με αντιθυρεοειδικά και ήταν ευθυρεοειδικοί για τουλάχιστον 3 μήνες. Η διάρκεια της νόσου κυμαινόταν από 6 έως 72 μήνες. Σύμφωνα με τη Κλίμακα Κλινικής Αξιολόγησης της Ενεργότητας (CAS) της OG, 21 ασθενείς είχαν ενεργή OG και οι 59 μη ενεργό νόσο.

Μέθοδοι: Σε όλους τους ασθενείς μετρήθηκαν τα επίπεδα των FT4, T3 (AxSYM Abbot), TSH [electrochemiluminescence (ECL) Elecsys® 2010 Roche], TRAb (DYNOtest TRAb Human kit Brahms Ria kit), αντι-Tg και αντι-TPO [(ECL) Elecsys® 2010 Roche].

Ανάλυση πειραματικών δεδομένων: Οι τιμές των παραμέτρων συγκρίθηκαν στατιστικά με τη δοκιμασία Mann-Whitney.

Οι καμπύλες ευαισθησίας - ειδικότητας, και οι υπολογισμοί ευαισθησίας, ειδικότητας έγιναν με τη χρήση του λογισμικού Analyze it® General+Clinical Laboratory Statistics vsn 1.73, 1997-2000 Analyze-it Software, Ltd.

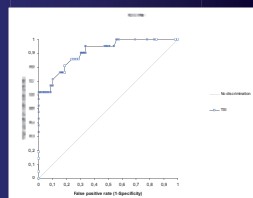
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Zophel K. et al Clinical review about TRAb assay's history. Autoimmunity Reviews 9 695-700 (2010)

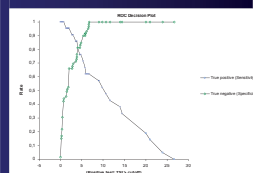
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Οι ασθενείς με ενεργό OG είχαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα TRAb σε σύγκριση με τους ασθενείς χωρίς ενεργό OG ενώ δεν διαπιστώθηκε διαφορά όσον αφορά τα επίπεδα των αντι-TPO και των αντι-Tg ($p < 0,001$, $p = 0,823$ και $p = 0,658$ αντίστοιχα, Mann Whitney test)

Group	Median	25%	75%
Ασθενείς με ενεργή οφθαλμοπάθεια (N=21)	TRAb=10,7 IU/L	5,1	20
Ασθενείς με μη ενεργή οφθαλμοπάθεια (N=59)	TRAb=1,6 IU/L	0,4	3,9



Test	Area	SE	95% CI
TRAb	0,91	0,036	0,84 έως 0,98



TRAb >cut off	TP rate (Sensitivity)	95% CI	TN rate (Specificity)	95% CI
4,0	0,810	0,58-0,95	0,814	0,69-0,90

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Ο προσδιορισμός των TRAb αποτελεί χρήσιμο δείκτη για την εκτίμηση της ενεργότητας της OG. Τιμές των TRAb υψηλότερες από 4 IU/L (ευαισθησία 81%, ειδικότητα 81,4%, απόδοση 81,3%) διαχωρίζουν ασθενείς με ενεργό OG από ασθενείς με μη ενεργό OG

Σε ασθενείς με OG, ο προσδιορισμός των TRAb θα μπορούσε να φανεί χρήσιμος στη λήψη αποφάσεων για τη χορήγηση αντι-φλεγμονώδους αγωγής κατά τη πορεία της νόσου.

Η παραπάνω Αναρτημένη Ανακοίνωση, παρουσιάστηκε κατά τη διάρκεια του 9ου Πανελληνίου Συνεδρίου Κλινικής Χημείας

ΑΑ 10**ΑΝΑΚΑΛΥΨΗ ΒΙΟΔΕΙΚΤΩΝ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΗΣ ΟΥΡΟΔΟΧΟΥ ΚΥΣΤΗΣ ΜΕ ΠΡΩΤΕΩΜΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ**

Ι. Ζωιδάκης, Π. Ζερεφός, Μ. Μακριδάκης,
Θ. Παπαδόπουλος, Α. Βλάχου
Εργαστήριο Βιοτεχνολογίας, Ίδρυμα Ιατροβιολογικών
Ερευνών Ακαδημίας Αθηνών

Εισαγωγή: Ο καρκίνος της ουροδόχου κύστης έχει σοβαρές οικονομικές και κοινωνικές επιπτώσεις. Τα διαθέσιμα μέσα (κυστεοσκόπηση, κυτταρολογική ανάλυση ούρων και βιοδείκτες) δεν επαρκούν για την έγκαιρη διάγνωση και συνεχή παρακολούθηση της εξέλιξης της νόσου. Η ανακάλυψη νέων βιοδεικτών είναι απαραίτητη. Τα ούρα περιέχουν χιλιάδες πρωτεΐνες, γεγονός που δυσχεραίνει τη συγκριτική πρωτεωμική ανάλυση για τον εντοπισμό βιοδεικτών.

Σκοπός: Η ανάπτυξη νέας πρωτεωμικής μεθοδολογίας για την ανακάλυψη βιοδεικτών του καρκίνου της ουροδόχου κύστης.

Υλικά και Μέθοδοι: Δείγματα ούρων από ασθενείς που πάσχουν από διαφορετικά στάδια καρκίνου της ουροδόχου κύστης συγκρίθηκαν με ούρα ατόμων που πάσχουν από ασθένειες του ουροποιητικού συστήματος. Οι πρωτεΐνες των ούρων διαχωρίστηκαν με χρωματογραφία στήλης νικελίου. Οι πρωτεΐνες που αλληλεπιδρούν με το νικέλιο αναλύθηκαν με ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα ακρυλαμιδίου και φασματομετρία μάζας. Η συγκέντρωση και ενεργότητα της μεταλλοπρωτεάσης-9 εκτιμήθηκαν με ανοσοαποτύπωση κατά Western, ζυμογραφία και φωτομετρία.

Αποτελέσματα: Η πρωτεωμική ανάλυση ούρων μετά από κλασματοποίηση με στήλη νικελίου επέτρεψε την ανακάλυψη αρκετών μεταλλοπρωτεϊνών στα καρκινικά δείγματα. Επικεντρωθήκαμε στη μελέτη της μεταλλοπρωτεάσης-9 που αποικοδομεί τις πρωτεΐνες του εξωκυττάρου χώρου. Η συγκέντρωση και οι τιμές της ενζυμικής δραστηριότητας της μεταλλοπρωτεάσης-9 είναι υψηλότερες στα καρκινικά δείγματα ούρων. Επιπλέον, τα επίπεδα της μεταλλοπρωτεάσης-9 αυξάνονται σημαντικά στα δείγματα ασθενών που πάσχουν από μεταστατικό καρκίνο της ουροδόχου κύστης σε σχέση με δείγματα πρώιμων μορφών καρκίνου.

Συμπεράσματα: Η μεταλλοπρωτεάση-9 είναι ένας υποψήφιος βιοδείκτης για τη διάγνωση και παρακολούθηση της εξέλιξης του καρκίνου της ουροδόχου κύστης.

ΑΑ 11**ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ ΤΡΟΠΟΝΙΝΗΣ-Ι ΣΤΟΝ DIMENSION ΚΑΙ ΣΤΟΝ COBAS**

Ι. Φωστήνης, Γ. Παπαδόπουλος, Ε. Μανώλη
Κεντρικά Εργαστήρια, «Ονάσειο» Καρδιοχειρουργικό Κέντρο

Εισαγωγή: Η τροπονίνη είναι το σύμπλεγμα πρωτεϊνών που ρυθμίζουν τη συστολή του γραμμωτού μυός. Βρίσκεται περιοδικά κατά μήκος του λεπτού νήματος των μυϊκών ινιδίων, συνδεδεμένη με την πρωτεΐνη τροπομυοσίνη. Το σύμπλεγμα της τροπονίνης αποτελείται από τρία ξεχωριστά στοιχεία πολυπεπτιδίων: την τροπονίνη-*C*, την τροπονίνη-*I* και την τροπονίνη-*T*. Το σύμπλεγμα εξυπηρετεί στη ρύθμιση της εξαρτώμενης από το ασβέστιο αλληλεπίδρασης μυοσίνης και ακτίνης και έτσι παίζει αποφασιστικό ρόλο στη μυϊκή συστολή. Αρκετές αναφορές στη βιβλιογραφία υποδηλώνουν ότι η καρδιακή τροπονίνη-*I* απελευθερώνεται στο αίμα μέσα σε λίγες ώρες από την έναρξη των συμπτωμάτων του εμφράγματος του μυοκαρδίου και παραμένει σε υψηλά επίπεδα επί αρκετές ημέρες μετά το έμφραγμα. Τα αθροιστικά δεδομένα από τις αναφορές αυτές υποδηλώνουν ότι τα επίπεδα της καρδιακής τροπονίνης-*I* γίνονται μη φυσιολογικά 48 ώρες μετά την έναρξη του πόνου στο στήθος, φθάνοντας στο ανώτατο σημείο στις 12-16 ώρες και παραμένουν αυξημένα επί 5-9 ημέρες μετά το έμφραγμα.

Σκοπός: Σκοπός της μελέτης ήταν η σύγκριση της προσφάτως αναπτυχθείσας από την εταιρία Roche τεχνικής 'Cobas Troponin-I' με την τεχνική 'Dimension CTNI', που αναπτύχθηκε από την εταιρία DADÉ-Behring, σε δείγματα ασθενών του Κέντρου μας. Η τεχνική 'Dimension CTNI' εφαρμόζεται στο εργαστήριο μας σαν ρουτίνα την τελευταία δεκαετία.

Υλικά και Μέθοδοι: Και στις δύο τεχνικές εφαρμόζονται ανοσομέθοδοι οι οποίες βασίζονται στην αρχή του 'sandwich'. Με τις δύο τεχνικές μετρήθηκε η συγκέντρωση της καρδιακής τροπονίνης *I* σε 77 φρέσκους ορούς του Κέντρου μας.

Αποτελέσματα: Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η γραμμικότητα μεταξύ των δύο μεθόδων είναι σχεδόν απόλυτη ($r=0,985$). Η συνάρτηση που διέπει τη σχέση των δύο μεθόδων είναι: $(\text{Cob-TNI}) = 0,94 \times (\text{Dim-TNI}) + 0,18$. Από τα δεδομένα αυτά είναι εμφανές ότι υπάρχει εξαιρετική συσχέτιση μεταξύ των δύο μεθόδων. Και οι δύο μέθοδοι δίνουν σχεδόν ταυτόσημα αποτελέσματα, λαμβάνοντας όμως υπόψη ότι η μέθοδος Cobas Troponin-I έχει όριο ανίχνευσης 0,16 ng/ml. Στην πραγματικότητα, από τον αναλυτή Cobas δεν δόθηκε κανένα αποτέλεσμα κάτω από τα 0,18 ng/ml. Αξίζει να σημειωθεί ότι το όριο αναφοράς της μεθόδου ταυτίζεται με το όριο ανίχνευσης. Το όριο ανίχνευσης αντίστοιχα της μεθόδου Dimension CTNI είναι 0,04 ng/ml, με όριο αναφοράς τα 0,07 ng/ml και κλινικό cut-off τα 0,10 ng/ml.

ΑΑ 12**ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ CKMB-ΜΑΖΑΣ ΣΤΟΝ DIMENSION ΚΑΙ ΣΤΟΝ COBAS**

I. Φωστήνης, Ε. Ψαρρός, Ε. Μανώλη

Κεντρικά Εργαστήρια, «Ωνάσειο» Καρδιοχειρουργικό Κέντρο

Εισαγωγή: Η κρεατινική κινάση (CK) είναι ένα διμερές ένζυμο το οποίο απαντάται σε τέσσερις διαφορετικές μορφές: ένα μιτοχονδριακό ισοένζυμο και τρία κυτταροπλασματικά ισοένζυμα, τα CK-MM (μυϊκός τύπος), CK-BB (εγκεφαλικός τύπος) και CK-MB. Το ισοένζυμο MB της κρεατινοκινάσης (CKMB) βρίσκεται κυρίως στον καρδιακό ιστό, ενώ πολύ χαμηλότερες συγκεντρώσεις παρατηρούνται στον σκελετικό μυ. Ο προσδιορισμός της CKMB μάζας αποτελεί εξέταση ρουτίνας ως μέρος του καρδιακού προφίλ και είναι χρήσιμος στη διάγνωση οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου (ΟΕΜ). Κατά κανόνα, σε περιπτώσεις ΟΕΜ χωρίς επιπλοκές, διαδοχικοί προσδιορισμοί εμφανίζουν ένα σχήμα στο οποίο τα επίπεδα του CKMB αυξάνονται εντός 4-8 ωρών μετά την έναρξη του πόνου, κορυφώνονται μεταξύ 12-24 ωρών και στη συνέχεια πέφτουν σε φυσιολογικά επίπεδα μέχρι τις 48 ώρες. Η CKMB μάζα είναι ο βιοχημικός δείκτης επιλογής για το περιεγχειρητικό έμφραγμα του μυοκαρδίου κατά τη διάρκεια των πρώτων 48 ωρών μετά την έναρξη του πόνου. Οι συγκεντρώσεις του CKMB έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί για την εκτίμηση της έκτασης του ΟΕΜ και επακόλουθου νέου εμφράγματος.

Σκοπός: Σκοπός της μελέτης ήταν η σύγκριση της προσφάτως αναπτυχθείσας από την εταιρία Roche τεχνικής 'Cobas mass-CKMB' με την τεχνική 'Dimension MMB', που αναπτύχθηκε από την εταιρία DADE-Behring, σε δείγματα ασθενών του Κέντρου μας. Η τεχνική 'Dimension MMB' εφαρμόζεται στο εργαστήριο μας σαν ρουτίνα την τελευταία δεκαετία.

Υλικά και Μέθοδοι: Και στις δύο τεχνικές εφαρμόζονται ανοσομέθοδοι οι οποίες βασίζονται στην αρχή του 'sandwich'. Με τις δύο τεχνικές μετρήθηκε η CKMB μάζα σε 77 φρέσκους ορούς του Κέντρου μας.

Αποτελέσματα: Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι γραμμικότητα μεταξύ των δύο μεθόδων είναι σχεδόν απόλυτη ($r=0,989$). Η συνάρτηση που διέπει τη σχέση των δύο μεθόδων είναι: $(\text{Cob-MMB}) = 1,0 \times (\text{Dim-MMB}) + 3,3$. Από τα δεδομένα αυτά είναι εμφανές ότι υπάρχει εξαιρετική συσχέτιση μεταξύ των δύο μεθόδων, λαμβάνοντας όμως υπόψη ότι τα αποτελέσματα της μεθόδου Cobas mass-CKMB εμφανίζουν μια προσαύξηση σε σχέση με τα αντίστοιχα της μεθόδου Dimension MMB (στην καμπύλη συσχέτισης των μεθόδων το σημείο τομής είναι 3,3) η οποία είναι σημαντική ιδιαίτερα για τιμές πέριξ τόσο των τιμών αναφοράς της μεθόδου Dimension MMB (0,0-3,6 ng/ml) όσο και του ορίου απόφασης για AMI της WHO (5,0 ng/ml).

ΑΑ 13**Η ΜΕΤΡΗΣΗ ΤΟΥ PROBNP ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΤΩΝ ΕΠΕΙΓΟΝΤΩΝ ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΩΝ**

Α. Γρηγοράτου, Α. Μελπιδου, Α. Μάντζου,

Κ. Βασιλειάδης, Α. Κάντζιος, Ζ. Ζουλλιέν

Βιοχημικό Εργαστήριο, Γ.Ν.Α. «Ο Ευαγγελισμός»

Εισαγωγή: Το νατριουρητικό πεπτίδιο BNP και η πρόδρομη μορφή του το proBNP (N-terminal pro B-type natriuretic peptide) είναι νευροορμόνες που συντίθενται και εκκρίνονται κυρίως από το κοιλιακό μυοκάρδιο. Ο προσδιορισμός τους συντελεί στον έγκαιρο εντοπισμό και την παρακολούθηση ασθενών με δυσλειτουργία της αριστερής κοιλίας σύμφωνα με πρόσφατες κατευθυντήριες οδηγίες (European Society of Cardiology). Ειδικότερα, στους ασθενείς με οξεία δύσπνοια, κόπωση ή οίδημα που προσέρχονται στο Τμήμα Επειγόντων Περιστατικών (ΤΕΠ) η μέτρηση του proBNP αποτελεί πολύτιμη πληροφορία. Τιμές μικρότερες από 150 pg/ml σπανίως σχετίζονται με δύσπνοια καρδιακής αιτιολογίας. Η ηλικία, το φύλο, το αυξημένο σωματικό βάρος, η αναιμία, η νεφρική λειτουργία και η αγωγή με β-αποκλειστές του ασθενούς πρέπει να λαμβάνονται υπόψη κατά την κλινική αξιολόγηση.

Υλικό και Μέθοδοι: Οι ασθενείς που προσήλθαν με καρδιακό άλγος ή δύσπνοια στα ΤΕΠ του Νοσοκομείου «Ο Ευαγγελισμός» το 2ο εξάμηνο του 2009 και μετρήθηκε το NT-proBNP. Η μέτρηση έγινε ανοσοενζυμικά με τη χρήση δύο μονοκλωνικών αντισωμάτων έναντι δύο διαφορετικών επιτόπων του NT-pro BNP. Μετρήθηκαν τα καρδιακά ένζυμα AST, ALT, LDH, CK, CK-MB, η τροπονίνη T καθώς και η CRP.

Αποτελέσματα: Το 2ο εξάμηνο του 2009 προσήλθαν 51.775 ασθενείς, 36.976 ασθενείς στο Παθολογικό Ιατρείο (ΠΙ) και 13.987 ασθενείς στο Καρδιολογικό Ιατρείο (ΚΙ). Καρδιολογικά ένζυμα μετρήθηκαν σε 7.878 ασθενείς (21%) του ΠΙ και σε 2.453 ασθενείς του ΚΙ (18%). Μετρήθηκαν επίσης η τροπονίνη T και η CRP. Το NT-pro BNP μετρήθηκε σε 467 ασθενείς (1%). Έγιναν 169 εισαγωγές, 76 εισαγωγές (45%) σε παθολογικές κλινικές, 44 εισαγωγές (26%) σε καρδιολογικές κλινικές και 49 (29%) εισαγωγές σε πνευμονολογικές κλινικές. Όλες οι μετρήσεις επανελήφθησαν μετά την εισαγωγή των ασθενών.

Συμπεράσματα: Η μέτρηση του NT-proBNP στους ασθενείς των ΤΕΠ είναι μια γρήγορη και αξιόπιστη μέθοδος και δίνει πολύτιμες πληροφορίες για την εκτίμηση της κατάστασής τους πριν και την παρακολούθησή τους μετά την εισαγωγή τους στο νοσοκομείο.

ΑΑ 14**ΣΧΕΣΗ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΟΜΟΚΥΣΤΕΪΝΗΣ ΜΕ ΤΙΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ ΤΟΥ ΛΙΠΙΔΑΙΜΙΚΟΥ ΠΡΟΦΙΛ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΙΣΧΑΙΜΙΚΗ ΚΑΡΔΙΑΚΗ ΝΟΣΟ**

Κ. Τσεπάνης, Κ. Κοντοπούλου, Β. Αδαμόπουλος, Μ. Κριτή

Μικροβιολογικό Εργαστήριο, Γ.Ν.Θ. «Γ. Γεννηματάς»

Εισαγωγή: Η υπερομοκυστεΐναιμία έχει αποδειχθεί από μελέτες ότι αποτελεί παράγοντα κινδύνου ανάπτυξης καρδιαγγειακής νόσου. Η καρδιαγγειακή νόσος εμφανίζεται σε σχετικά νεαρή ηλικία και αποτελεί σημαντική αιτία θνητότητας σε αναπτυσσόμενες και αναπτυγμένες χώρες.

Σκοπός: Η μελέτη αυτή αποσκοπεί στη διερεύνηση της σχέσης της συγκέντρωσης της ομοκυστεΐνης ορού και των βιοχημικών παραμέτρων στην ισχαιμική καρδιακή νόσο.

Υλικό και Μέθοδοι: Το δείγμα μας αποτέλεσαν 54 ασθενείς εκ των οποίων 51,85% (n=28) άντρες και 48,15% (n=26) γυναίκες. Οι ασθενείς χωρίστηκαν σε 3 ομάδες. Στην πρώτη (n=20) είχαν υποστεί πρόσφατο έμφραγμα μυοκαρδίου (MI), στη δεύτερη (n=18) συμπεριλαμβάνονταν ασθενείς με χρόνια σταθερή στηθάγχη (CIHD) και η τρίτη (n=16) αποτέλεσε την ομάδα ελέγχου (υγιείς). Η μέτρηση της ομοκυστεΐνης (Hcy) διενεργήθηκε στον αυτόματο αναλυτή ADVIA CENTAUR CP (Siemens) με τη μέθοδο της άμεσης χημειοφωτάυγας και ο προσδιορισμός της ολικής χοληστερόλης (TC), των τριγλυκεριδίων (TG), της HDL, της LDL κ! αι της VLDL πραγματοποιήθηκαν στον αυτοματοποιημένο αναλυτή COMBAS 6000 (Roche). Τα αποτελέσματα επεξεργάστηκαν με το στατιστικό λογισμικό πακέτο SPSS 17. Στατιστικές σημαντικές διαφορές θεωρούνταν όταν το p value <0,05.

Αποτελέσματα: Τα επίπεδα της TC και της LDL στον ορό ήταν στατιστικά σημαντικά αυξημένα στους ασθενείς με MI (p<0,001) σε σχέση με την ομάδα ελέγχου, ενώ δεν παρατηρήθηκαν στατιστικές σημαντικές διαφορές μεταξύ των ασθενών με CIHD (p>0,05) και της ομάδας ελέγχου. Η HDL διαπιστώθηκε ότι ήταν στατιστικά σημαντικά ελαττωμένη στους ασθενείς με MI (p<0,05) αλλά δεν ανευρέθηκε διαφορά ανάμεσα στην ομάδα ελέγχου και τους ασθενείς με CIHD. Στατιστικές σημαντικές διαφορές βρέθηκαν στις συγκεντρώσεις των TG (p<0,05) και της Hcy (p<0,001) μεταξύ των ασθενών και των δύο παθολογικών ομάδων και της ομάδας ελέγχου. Τέλος, δεν βρέθηκαν στατιστικές σημαντικές διαφορές στη συγκέντρωση της VLDL ούτε και στατιστικώς σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ των επιπέδων Hcy και των βιοχημικών παραμέτρων του λιπιδαιμικού προφίλ. Αναφέρεται ότι μετρήθηκε η βιταμίνη B12 και το φυλλικό οξύ σε όλες τις

ομάδες και δεν παρατηρήθηκαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές.

Συμπεράσματα: Η απουσία συσχέτισης των επιπέδων της Hcy και των βιοχημικών παραμέτρων του λιπιδαιμικού προφίλ ενισχύει την αντίληψη ότι η υπερομοκυστεΐναιμία αποτελεί ξεχωριστό παράγοντα κινδύνου ανάπτυξης καρδιαγγειακής νόσου. Υπάρχουν αρκετές εξηγήσεις για την υπερομοκυστεΐναιμία στις καρδιαγγειακές παθήσεις. Η πρώτη είναι ελάττωση του μεταβολισμού της Hcy σε μεθειονίνη γεγονός που αποκλείεται λόγω της μη υπαρξης στατιστικών σημαντικά διαφορών των επιπέδων της B12 και του φυλλικού μεταξύ των παθολογικών ομάδων και της ομάδας ελέγχου. Η άλλη είναι η ανεπάρκεια άλλων ενζύμων που εμπλέκονται στο μεταβολισμό της Hcy, πράγμα όμως που είναι πολύ σπάνιο γενετικό νόσημα (1/100.000). Η πιο πιθανή εξήγηση φαίνεται να είναι η μη φυσιολογική λειτουργία των συνενζύμων των βιταμινών, όπως για παράδειγμα η παρεμπόδιση της μετατροπής του φυλλικού στη βιολογικά ενεργή μορφή του.

ΑΑ 15**ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΗΠΑΤΙΚΗΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΣΕ ΑΣΥΜΠΤΩΜΑΤΙΚΟΥΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΕΝΑΝΤΙ ΙΟΥ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ C**

Σ. Ιωαννίδου, Μ. Πρατικάκη, Κ. Χάτσιου, Φ. Κατινάρη, Ζ. Ζουλλιέν

Βιοχημικό Τμήμα, Γ.Ν. «Ο Ευαγγελισμός»

Εισαγωγή: Τα άτομα με αντισώματα για τον ιό της ηπατίτιδας C συχνά είναι ασυμπτωματικά, παρακολουθούνται όμως κλινικά και εργαστηριακά για πιθανή επιδείνωση της ηπατικής λειτουργίας.

Σκοπός: Η καταγραφή των τιμών δεικτών ηπατικής λειτουργίας που θεωρούνται προγνωστικοί για την εξέλιξη προς χρόνια ενεργό ηπατίτιδα ή ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα κατά την παρακολούθηση ατόμων προσβεβλημένων από τον ιό της ηπατίτιδας C.

Υλικό και Μέθοδοι: Το υλικό μας αποτέλεσαν 227 οροί ατόμων αντι-HCV (+), 130 γυναικών και 97 ανδρών. Σε αυτοματοποιημένους αναλυτές modular (Roche) προσδιορίστηκαν οι ακόλουθες παράμετροι: αμινοτρανσφεράση της αλανίνης (ALT), αμινοτρανσφεράση του ασπαρτικού (AST), λόγος AST/ALT (AAR), ολική χοληρυθρίνη (TBIL), αλκαλική φωσφατάση (ALP), γαλακτική δεϋδρογενάση (LDH) και αλβουμίνη (ALB). Τιμές AST/ALT (AAR) ≥1, ALT >20 IU/L, TBIL >1,2 mg/dl, ALP >338 IU/L και ALB <3,5 g/dl χρησιμοποιήθηκαν ως προγνωστικοί δείκτες.

Αποτελέσματα: Από τα 227 άτομα, 78 άνδρες (60%) και 69 γυναίκες (71%) είχαν τιμές AAR ≥1, 14 άνδρες (11%) και 9 γυναίκες (9,8%) είχαν τιμές TBIL >1,2, 36 άνδρες

(31,5%) και 23 γυναίκες (25,8%) είχαν τιμές ALB <3,5 g/dl. Περίπου οι μισοί εξετασθέντες (52%) είχαν τιμές ALT >20 IU/L, ενώ μόνο 4 άτομα είχαν τιμές ALP >338 IU/L. Στον πίνακα 1 φαίνεται η σύγκριση των τιμών των επιμέρους παραμέτρων στα δύο φύλα.

Εξέταση	Άνδρες	Γυναίκες	p
ALT	26	22	0,01
TBIL	0,7	0,7	0,4
LDH	260	248	0,4
ALB	3,8	3,9	0,4
ALP	88	74	0,1

Συμπεράσματα: Ο δείκτης AAR ανέδειξε μεγαλύτερο αριθμό ατόμων σε κίνδυνο για επιδείνωση της ηπατικής λειτουργίας από τη μεμονωμένη τιμή της ALT και στα δύο φύλα. Μόνο η τιμή της ALT διέφερε σε βαθμό στατιστικά σημαντικό ανάμεσα στα δύο φύλα σε αυτή την ομάδα ατόμων.

ΕΛΛΕΙΨΗ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΤΟΥ ΥΠΟΔΟΧΕΑ ΤΡΑΝΣΦΕΡΡΙΝΗΣ ΜΕ ΨΥΧΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΣΕ ΗΛΙΚΙΩΜΕΝΟΥΣ ΧΡΟΝΙΟΥΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ.

Λάσκος Ε.¹, Κοσμά Αικ.², Κοντομήχος Α.¹, Καραγιάννη Ν.¹, Βούλγαρης Β.³, Κραβαριώτου Δ.¹, Αντωνίου Κ.¹, Νικολοπούλου Α.¹, Δημούτσος Μ.¹

¹Μικροβιολογικό & Βιοχημικό Εργαστήριο του Ψ.Ν.Α. «Δρομοκαΐτειο», ²Νευρολογικό Τμήμα του Ψ.Ν.Α. «Δρομοκαΐτειο», ³Παθολογικό Τμήμα του Ψ.Ν.Α. «Δρομοκαΐτειο»

ΕΙΣΑΓΩΓΗ-ΣΚΟΠΟΣ

Πρόσφατες έρευνες υποστηρίζουν ότι τα επίπεδα του υποδοχέα της τρανσφερρίνης (sTfR) εμφανίζονται αυξημένα σε ασθενείς με σχιζοφρένεια¹, διπολική διαταραχή^{1,2} και κατάθλιψη^{3,4}. Το συγκεκριμένο εύρημα είναι τόσο κοινό, ώστε κάποιοι ερευνητές προτείνουν τον sTfR ως διαγνωστικό βιοχημικό δείκτη⁴ για την περίπτωση της μείζονος κατάθλιψης και της σχιζοφρένειας. Αντίθετα, σε ηλικιωμένους ασθενείς, πάσχοντες από ήπια μορφή κατάθλιψης, δεν παρατηρείται αύξηση των επιπέδων του sTfR⁵.

Στην παρούσα μελέτη προσδιορίστηκαν τα επίπεδα του sTfR σε ηλικιωμένους χρόνιους ασθενείς με ψυχωσική συνδρομή προκειμένου να διαπιστωθεί αν υπάρχει θετική ή αρνητική συσχέτιση με τα αντίστοιχα επίπεδα του sTfR σε υγιή άτομα.

ΜΕΘΟΔΟΙ-ΑΣΘΕΝΕΙΣ

Σε όλα τα δείγματα προσδιορίστηκαν οι παρακάτω παράμετροι: Σίδηρος, TIBC, Φερριτίνη, Τρανσφερρίνη, Φυλλικό οξύ, B12, CRP (<7 mg/l), ΤΚΕ (<25 χιλ./ώρα) και Γενική Αίματος (22 παράμετροι). Οι μετρήσεις έγιναν στους αναλυτές Olympus AU400, AXSYM και Celltac F. Αποκλείστηκαν από την μελέτη τα άτομα (ασθενείς και υγιείς) των οποίων μία ή περισσότερες από τις παραπάνω παραμέτρους ήταν εκτός των φυσιολογικών τιμών που προτείνουν οι κατασκευαστές των αντιδραστηρίων. Τα επίπεδα sTfR μετρήθηκαν με την ανοσοθολώσιμη μεθοδο της Medicion SA στον αναλυτή Olympus AU400.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στον επόμενο πίνακα παρουσιάζονται οι ηλικίες, το φύλο καθώς και τα επίπεδα sTfR που μετρήθηκαν σε ηλικιωμένους ψυχιατρικούς ασθενείς και σε υγιή άτομα.

	Άνδρες	Γυναίκες	Ηλικία (έτη)	sTfR (nmol/l)
Ασθενείς	7	15	63 ± 10	14,9 ± 2,3
Υγιείς	12	19	66 ± 9	15,0 ± 2,1
p value*				0,88

*p value <0,05 είναι στατιστικά σημαντική διαφορά

ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Αν και τα βιβλιογραφικά δεδομένα^{1-3,5} στην πλειοψηφία τους συμφωνούν στο ότι τα επίπεδα του sTfR είναι αυξημένα στους ψυχικά ασθενείς σε σύγκριση με αυτά τους υγιείς, παρόμοια συσχέτιση δεν διαπιστώθηκε στην παρούσα μελέτη. Κάποιοι παράγοντες που ενδέχεται να ευθύνονται και να εξηγούν τα αποτελέσματα της παρούσης, είναι η μεγαλύτερη ηλικία καθώς και η μεγαλύτερη διάρκεια νόσησης στον πληθυσμό που μελετήθηκε. Επιπλέον επισημαίνεται πως η σχέση του μεταβολισμού του σιδήρου, συστατικό του οποίου αποτελεί ο sTfR, δεν έχει ακόμη διευκρινιστεί πλήρως όσον αφορά στις ψυχικές νόσους.

Συμπερασματικά η χρήση του sTfR ως κατάλληλου βιοχημικού δείκτη για τη διάγνωση ψυχικών νόσων, στην συγκεκριμένη κατηγορία ασθενών, δεν επιβεβαιώνεται οπότε απαιτείται περαιτέρω διερεύνηση.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Maes M, Bosmans E, Calabrese J, Smith R, Meltzer HY: Interleukin-2 and Interleukin-6 in schizophrenia and mania: effects of neuroleptics and mood stabilizers. *Journal of Psychiatric Research* 1995, 29:141-152.
2. Tsai SY, Lee HC, Chen CC, Lee CH: Plasma levels of soluble transferrin receptors and Clara cell protein (CC16) during bipolar mania and subsequent remission. *Journal of Psychiatric Research* 2003, 37:229-235.
3. Sluzewska A, Rybakowski J, Bosmans E, Sodjeska M, Berghmans R, Maes M, Wiktorowicz K: Indicators of immune activation in major depression. *Psychiatry Research* 1996, 64:161-167.
4. Maes M, Meltzer HY, Bosmans E, Bergamns R, Vandoolaeghe E, Ranjan R, Desnyder R: Increased plasma concentrations of interleukin-6, soluble interleukin-2 and transferrin receptor in major depression. *Journal of Affective Disorders* 1995, 35:301-309.
5. Baune BT, Eckardstein A, Berger K: Lack of association between iron metabolism and depressive mood in an elderly general population. *International Psychogeriatrics* 2006, 18:3, 437-444.

ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΟΜΟΚΥΣΤΕΪΝΗΣ ΚΑΙ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ Β12 ΚΑΙ ΦΥΛΛΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΣΕ ΓΕΝΙΚΟ ΔΕΙΓΜΑ ΑΣΘΕΝΩΝ

Πατιάκας Στέφανος¹, Παναγιωτέλλης Κώστας², Νίνης Ρολάνδος², Χουρσαλής Ιωάννης³

¹Μικροβιολογικό Εργαστήριο Γενικού Νοσοκομείου Καστοριάς, ²Εξωτερικό Ιατρείο Λιπιδίων & Αθηροσκλήρωσης Παθολογικής Κλινικής Ψυχιατρικού Νοσοκομείου Θεσσαλονίκης, ³Εξωτερικό Ιατρείο Λιπιδίων «Ωνάσειου» Καρδιοχειρουργικού Κέντρου Αθήνας,

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Να μελετηθούν τα επίπεδα της βιταμίνης Β12 και του φυλλικού οξέος του ορού του αίματος σε ασθενείς με υπερομοκυστεϊναιμία, δεδομένου ότι συχνά η ανεπάρκεια της βιταμίνης Β12 και του φυλλικού οξέος οδηγεί σε αύξηση των επιπέδων της ομοκυστεΐνης στο αίμα.

ΜΕΘΟΔΟΙ-ΑΣΘΕΝΕΙΣ

Υλικό της μελέτης μας αποτέλεσαν 96 ασθενείς με υπερομοκυστεϊναιμία (η τιμή της προσδιορίστηκε με τη βοήθεια της νεφελομετρίας) στους οποίους προσδιορίστηκαν παράλληλα (με τη βοήθεια της ηλεκτροχημειοφωταύγειας) και τα επίπεδα της βιταμίνης Β12 και του φυλλικού οξέος. Επρόκειτο για 51 άνδρες και 45 γυναίκες, εκ των οποίων 17 είχαν υποστεί πρόσφατα οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου, 15 ισχαιμικό αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, 23 ήταν χρόνιοι νεφροπαθείς που υποβαλλόταν σε αιμοκάθαρση, ενώ οι υπόλοιποι 41 έπασχαν από διάφορες άλλες παθήσεις.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Από το σύνολο των 96 ασθενών, 12 (ποσοστό 12,5%) παρουσίασαν μόνον επίπεδα βιταμίνης Β12 χαμηλότερα των κατώτερων φυσιολογικών επιπέδων, 8 (ποσοστό 8,3%) είχαν μόνον επίπεδα φυλλικού οξέος χαμηλότερα των κατώτερων φυσιολογικών επιπέδων, ενώ 4 ασθενείς (ποσοστό 4,2%) παρουσίασαν χαμηλότερα των κατώτερων φυσιολογικών επίπεδα, τόσο της Β12, όσο και του φυλλικού οξέος.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα αποτελέσματα, επομένως, της μελέτης μας, ενισχύουν την άποψη ότι η υπερομοκυστεϊναιμία, που αναμφισβήτητα αποτελεί σημαντικό προδιαθεσικό παράγοντα στην εμφάνιση αγγειακού συμβάματος, οφείλεται μεν συχνά στην ανεπάρκεια των βιταμινών Β12 και του φυλλικού οξέος, ωστόσο, στο μεγαλύτερο ποσοστό οφείλεται σε παράγοντες εντελώς ανεξάρτητους από τα επίπεδα των ως άνω βιταμινών.

ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΟΥΡΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΚΑΙ ΥΠΑΡΕΞΗΣ ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΟΥ ΣΥΝΔΡΟΜΟΥ ΣΕ ΔΕΙΓΜΑ ΓΕΝΙΚΟΥ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ

Πατιάκας Στέφανος¹, Παναγιωτέλλης Κώστας², Σαραφίδης Σπύρος¹, Νίνης Ρολάνδος², Χαραλάμπους Χαράλαμπος², Χουρσαλάς Ιωάννης³

¹Μικροβιολογικό Εργαστήριο Γενικού Νοσοκομείου Καστοριάς, ²Εξωτερικό Ιατρείο Λιπιδίων & Αθηροσκλήρωσης Παθολογικής Κλινικής Ψυχιατρικού Νοσοκομείου Θεσσαλονίκης, ³Εξωτερικό Ιατρείο λιπιδίων «Ωνάσειου» Καρδιοχειρουργικού Κέντρου Αθήνας,

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Να μελετηθεί το ποσοστό των ατόμων του γενικού πληθυσμού με Μεταβολικό Σύνδρομο (ΜΣ) που εμφανίζει ταυτόχρονα και αυξημένα επίπεδα ουρικού οξέος και να διερευνηθεί η κατανομή του στις διάφορες ηλικιακές ομάδες.

ΜΕΘΟΔΟΙ-ΑΣΘΕΝΕΙΣ

Υλικό της μελέτης μας αποτέλεσαν 185 άτομα, 87 άνδρες (ποσοστό 47,03%) και 98 γυναίκες (ποσοστό 52,97%), ηλικίας 22-76 ετών, που προσήλθαν στο εξωτερικό ιατρείο υπέρτασης & λιπιδίων της Παθολογικής Κλινικής του Ψυχιατρικού Νοσοκομείου Θεσσαλονίκης. Σε όλους προσδιορίστηκαν στον βιοχημικό αναλυτή τα επίπεδα του ουρικού οξέος του ορού του αίματος (παθολογικές θεωρήθηκαν οι τιμές > 5mg/dl), ενώ η αναζήτηση του ΜΣ βασίστηκε στα μείζονα κριτήρια του NCEP ATP III (National Cholesterol Education Program Third Adult Treatment Panel) που αναζητήθηκαν σε όλους και στα οποία περιλαμβάνονται, ως γνωστόν, τα εξής: α)Περίμετρος Μέσης >102 cm για τους άνδρες, και > 88 cm για τις γυναίκες, β)Αρτηριακή Πίεση > 130/85 mmHg, γ)Σάκχαρο αίματος >110 mg/dl, δ)Τριγλυκερίδια > 150 mg/dl και τέλος ε)HDL-χοληστερόλη < 40 mg/dl για τους άνδρες και < 50 mg/dl για τις γυναίκες.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Από το σύνολο των 185 ατόμων που συμμετείχαν στην μελέτη μας, 57, ποσοστό δηλαδή 30,81% παρουσίασε ΜΣ. Επρόκειτο για 22 άνδρες (επίπτωση 25,3%) και για 35 γυναίκες (επίπτωση 35,7%), ενώ από αυτούς αυξημένες τιμές ουρικού οξέος παρουσίασαν 42, (16 άνδρες και 26 γυναίκες), ποσοστό δηλαδή 73,68% των ατόμων με ΜΣ. Αναλόγως δε της ηλικίας η εμφάνιση του ΜΣ είχε ως εξής: ηλικία 22-40 ετών ποσοστό 14%, 40-55 ετών 26%, 55-70 ετών 32% και άνω των 70 ετών 28%.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Παρατηρείται, δηλαδή, ότι πολύ υψηλό ποσοστό (73,7%) των ατόμων με ΜΣ, (ανεξαρτήτως φύλου και ηλικίας), εμφανίζει και αυξημένες τιμές ουρικού οξέος > 5mg/dl, παρόλο που αυτό δεν συμπεριλαμβάνεται στα μείζονα διαγνωστικά κριτήρια του ΜΣ. Γίνεται, επομένως, αντιληπτό ότι η προσδιορισμός των επιπέδων του είναι πολλαπλά χρήσιμος και δεν θα πρέπει να παραλείπεται ποτέ στην αναζήτηση του ΜΣ που όπως φαίνεται από τη μελέτη μας έχει πολύ υψηλή επίπτωση στον πληθυσμό της πατρίδας μας, κυρίως στις γυναίκες, ολοένα και αυξανόμενη με την πάροδο της ηλικίας, και μάλιστα με «πρώιμη» εμφάνιση από όλο και πιο μικρές ηλικίες.

ΑΑ 19**ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΜΟΝΟΞΕΙΔΙΟΥ ΤΟΥ ΑΖΩΤΟΥ ΤΟΥ ΟΡΟΥ ΜΕ ΤΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΕΚΠΝΕΟΜΕΝΟΥ ΜΟΝΟΞΕΙΔΙΟΥ ΤΟΥ ΑΖΩΤΟΥ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΧΡΟΝΙΑ ΝΕΦΡΙΚΗ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ ΣΕ ΑΙΜΟΚΑΘΑΡΣΗ**

Ε. Σαμουηλίδη,¹ Α. Καρπούζα,¹ Κ. Κωστόπουλος,²
 Ν. Παπαϊωάννου,³ Λ. Βελέτζα,² Τ. Μπακιρτζή,³
 Ε. Γράψα³

¹Βιοχημικό Τμήμα Γ.Ν. «Αλεξάνδρα»

²Πνευμονολογικό Τμήμα Γ.Ν. «Αλεξάνδρα»

³Μονάδα Τεχνητού Νεφρού Γ.Ν. «Αλεξάνδρα»

Εισαγωγή: Το μονοξείδιο του αζώτου (NO) αποτελεί σημαντικό προϊόν των ενδοθηλιακών κυττάρων, το οποίο συμμετέχει στη ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης. Σκοπός της εργασίας ήταν η διερεύνηση της συσχέτισης μεταξύ των επιπέδων NO σε ορό και εκπνεόμενο αέρα ασθενών με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια, πριν και μετά την αιμοκάθαρση (AIMK).

Υλικό και Μέθοδοι: Η μελέτη πραγματοποιήθηκε με 10 υγιείς (5 άνδρες και 5 γυναίκες), ηλικίας 36±9 ετών (μέση τιμή ±SEM), και 10 ασθενείς (5 άνδρες και 5 γυναίκες), ηλικίας 58±3 ετών, που ήταν σε AIMK για διάστημα 73±16 μηνών, χωρίς αναπνευστικά προβλήματα. Η AIMK πραγματοποιείτο επί 3 φορές την εβδομάδα από 4 ώρες κάθε συνεδρία. Η συγκέντρωση του εκπνεόμενου μονοξειδίου (FENO) προσδιοριζόταν πριν και μετά την AIMK της δεύτερης εβδομαδιαίας συνεδρίας. Η μέτρηση FENO γινόταν με ειδικό αναλυτή και ηλεκτροχημική μέθοδο. Ταυτόχρονα, πρωινά δείγματα αίματος λαμβάνονταν πριν την AIMK μετά από 12ωρη νηστεία, για τη μέτρηση ολικού NO με τη μέθοδο νιτρικής ρεδοουκτάσης/αντίδρασης Griess, μετά από κατάλληλη αραίωση του ορού και υπερφυοκεντρίσής του σε σωληνάριο με φίλτρο 10.000 MWCO.

Αποτελέσματα: Η συγκέντρωση NO του ορού στην ομάδα των ασθενών ήταν σημαντικά αυξημένη έναντι των φυσιολογικών ατόμων (28,7±2,5 μmol/l έναντι 22,0±1,5, p<0,034). Η συγκέντρωση FENO πριν την AIMK ήταν σημαντικά υψηλότερη από ότι μετά (9,29±1,60 ppb έναντι 15,10±1,69, p<0,001), αλλά δεν διέφερε στατιστικά από αυτή των φυσιολογικών. Στους ασθενείς, η συγκέντρωση NO είχε σημαντική συσχέτιση με τη συγκέντρωση FENO μετά την AIMK (r=0,652, p=0,041).

Συμπεράσματα: Η συγκέντρωση μονοξειδίου του αζώτου στον ορό των ασθενών με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια φαίνεται να συσχετίζεται σημαντικά με τα επίπεδα του εκπνεόμενου μονοξειδίου του αζώτου μετά την αιμοκάθαρση. Το εύρημα αυτό πιθανά να έχει σημασία στην πρόγνωση και στον έλεγχο της ενδοθηλιακής λειτουργίας των παραπάνω ασθενών.

ΑΑ 20**ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΕΞΙΣΩΣΗΣ MDRD4 ΣΤΗΝ ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΟΥ ΡΥΘΜΟΥ ΣΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗΣ ΔΙΗΘΗΣΗΣ (ΡΣΔ) ΣΕ ΕΝΗΛΙΚΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΜΕΤΑΜΟΣΧΕΥΣΗ ΗΠΑΤΟΣ**

Γ. Άρσος,¹ Ζ. Αθανασιάδου,² Ι. Τσεχελίδης,¹
 Α. Ιακωβίδου,¹ Α. Σβούκας,¹ Γ. Σακαγιάννης,¹
 Α. Ζαγοριανού,² Α. Μουσελεμίδου,² Φ. Ντογραματζή²
¹Α' Εργαστήριο Πυρηνικής Ιατρικής, Ιατρική Σχολή Α.Π.Θ.
²Βιοχημικό Εργαστήριο, Γ.Ν.Θ. «Ιπποκράτειο»

Εισαγωγή: Η μεταμόσχευση ήπατος (ΜΗ) αποτελεί θεραπεία εκλογής για ασθενείς με προχωρημένη ηπατική νόσο. Στους ασθενείς αυτούς λόγω προϋπάρχουσας ηπατοπάθειας και/ή ανοσοκατασταλτικής αγωγής, συχνή είναι η επιδείνωση της νεφρικής λειτουργίας, της οποίας απαιτείται συνεχής παρακολούθηση. Η εξίσωση MDRD4 (Modification of Diet in Renal Disease, τεσσάρων παραγόντων: ηλικία, επίπεδα κρεατινίνης ορού (SCr), φύλο, φυλή) εκτιμά αδρά τον ΡΣΔ (E-ΡΣΔ).

Σκοπός: Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η αξιολόγηση του MDRD4/E-ΡΣΔ με μέτρηση της SCr με δύο διαφορετικές μεθόδους, έναντι μέτρησης του ΡΣΔ με ραδιοϊσοτοπική μέθοδο αναφοράς σε πληθυσμό ενηλίκων ασθενών με ΜΗ.

Υλικό και Μέθοδοι: Σε 102 ενήλικες ασθενείς (28 γυναίκες) με ΜΗ, ηλικίας 19-79 ετών, η SCr (mg/dl) μετρήθηκε με τη μέθοδο πικρικού οξέος (Jaffe, SCrJ) και με ενζυματική μέθοδο (SCrEn) και ο ΡΣΔ εκτιμήθηκε ως E-ΡΣΔ-J και E-ΡΣΔ-En αντιστοίχως. Ο ΡΣΔ μετρήθηκε με την κάθαρση πλάσματος του Chromium-51-EDTA (Cr-ΡΣΔ) με την τεχνική bolus χορήγησης-διπλής δειγματοληψίας και εκφράστηκε σε ml/min/1,73 m². Οι συσχετίσεις εκτιμήθηκαν με γραμμική παλινδρόμηση, η μεταξύ των μεθόδων συμφωνία με ανάλυση κατά Bland-Altman και οι διαφορές αξιολογήθηκαν με τη μη παραμετρική δοκιμασία Wilcoxon.

Αποτελέσματα: Τα επίπεδα της SCrJ ήταν υψηλότερα από αυτά της SCrEn (1,21±0,29 έναντι 1,09±0,30 mg/dl, p<0,001) και η μεταξύ τους συσχέτιση ισχυρή (r=0,96, p<0,0001). Αντιστρόφως, ο E-ΡΣΔ-J ήταν χαμηλότερος από τον E-ΡΣΔ-En (67,7±16,6 έναντι 78,3±23,0 ml/min/1,73 m², p<0,001) και αμφότεροι σημαντικά υψηλότεροι από τον Cr-ΡΣΔ. (56,3±13,3 ml/min/1,73 m², p<0,001 για αμφότερους). Οι μεταξύ των μεθόδων διαφορές ήταν 11,4±13,2, 22,0±17,5 και 10,6±9,2 ml/min/1,73 m² για τα ζεύγη E-ΡΣΔ-J/Cr-ΡΣΔ, E-ΡΣΔ-En/Cr-ΡΣΔ και E-ΡΣΔ-En/E-ΡΣΔ-J αντίστοιχα.

Συμπεράσματα: Η MDRD4, ανεξαρτήτως μεθόδου μέτρησης της SCr, υπερεκτιμά σημαντικά τον ΡΣΔ σε ασθενείς με ΜΗ και η υπερεκτίμηση είναι μεγαλύτερη με τη χρήση της SCrEn στην εξίσωση MDRD4. Το εύρημα αυτό είναι σημαντικό για τη ρύθμιση της δοσολογίας των νεφροτοξικών ανοσοκατασταλτικών φαρμάκων σε ασθενείς με ΜΗ.

AA 21

**ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΕΞΙΣΩΣΗΣ MDRD4 ΣΤΗΝ ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΟΥ ΡΥΘΜΟΥ ΣΠΕΙΡΜΑΤΙΚΗΣ ΔΙ-
ΗΘΗΣΗΣ (PΣΔ) ΣΕ ΕΝΗΛΙΚΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΝΕ-
ΦΡΙΚΗ ΜΕΤΑΜΟΣΧΕΥΣΗ**

Γ. Άρσος,¹ Φ. Ντογραματζή,² Ι. Τσεχελίδης,¹
Α. Σβούκας,¹ Α. Ιακωβίδου,¹ Γ. Σακαγιάννης,¹
Α. Μουσελεμίδου,² Α. Ζαγοριανού,² Ζ. Αθανασιάδου²
¹Α' Εργαστήριο Πυρηνικής Ιατρικής, Ιατρική Σχολή Α.Π.Θ.
²Βιοχημικό Εργαστήριο, Γ.Ν.Θ. «Ιπποκράτειο»

Εισαγωγή: Η νεφρική μεταμόσχευση (NM) αποτελεί θεραπεία εκλογής για ασθενείς με τελικού σταδίου νεφρική ανεπάρκεια. Λόγω ανοσοκατασταλτικής αγωγής και/ή υποτροπής της χρόνιας νεφρικής νόσου, συχνή είναι η επιδείνωση της λειτουργίας του νεφρικού μοσχεύματος, της οποίας απαιτείται συνεχής παρακολούθηση. Η εξίσωση MDRD4 (Modification of Diet in Renal Disease, τεσσάρων παραγόντων: ηλικία, επίπεδα κρεατινίνης ορού (SCr), φύλο, φυλή) εκτιμά αδρά τον PΣΔ (E-PΣΔ).

Σκοπός: Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η αξιολόγηση του MDRD4/E-PΣΔ με μέτρηση της SCr με δύο διαφορετικές μεθόδους, έναντι μέτρησης του PΣΔ με ραδιοϊσοτοπική μέθοδο αναφοράς σε πληθυσμό ενηλίκων ασθενών με NM.

Υλικό και Μέθοδοι: Σε 201 ενήλικες ασθενείς (84 γυναίκες) με NM, ηλικίας 20-72 ετών, η SCr (mg/dl) μετρήθηκε

με τη μέθοδο πικρικού οξέος (Jaffe, SCrJ) και με ενζυματική μέθοδο (SCrEn) και ο PΣΔ εκτιμήθηκε ως E-PΣΔ-J και E-PΣΔ-En αντιστοίχως. Ο PΣΔ μετρήθηκε με την κάθαρση πλάσματος του Chromium-51-EDTA (Cr-PΣΔ) με την τεχνική bolus χορήγησης-διπλής δειγματοληψίας και εκφράστηκε σε ml/min/1.73 m². Οι συσχετίσεις εκτιμήθηκαν με γραμμική παλινδρόμηση, η μεταξύ των μεθόδων συμφωνία με ανάλυση κατά Bland-Altman και οι διαφορές αξιολογήθηκαν με τη μη παραμετρική δοκιμασία Wilcoxon.

Αποτελέσματα: Τα επίπεδα της SCrJ ήταν ελαφρώς υψηλότερα από αυτά της SCrEn (1,79±0,77 έναντι 1,70±0,82 mg/dl, p<0,001) και η μεταξύ τους συσχέτιση εξαιρετική (r=0,99, p<0,0001). Αντιστρόφως, ο E-PΣΔ-J ήταν χαμηλότερος από τον E-PΣΔ-En (47,7±20,6 έναντι 52,7±25,1, p<0,001) ml/min/1,73 m² και αμφότεροι σημαντικά υψηλότεροι από τον Cr-PΣΔ (40,0±17,7 ml/min/1,73 m², p<0,001 για αμφότερους). Οι μεταξύ των μεθόδων διαφορές ήταν 7,6±11,2, 12,7±14,9 και 5,0±6,3 ml/min/1,73 m² για τα ζεύγη E-PΣΔ-J/Cr-PΣΔ, E-PΣΔ-En/Cr-PΣΔ και E-PΣΔ-En/E-PΣΔ-J αντίστοιχα.

Συμπεράσματα: Η MDRD4, ανεξαρτήτως μεθόδου μέτρησης της SCr, υπερεκτιμά τον PΣΔ σε ασθενείς με NM και η υπερεκτίμηση είναι μεγαλύτερη με τη χρήση της SCrEn. Το εύρημα αυτό είναι σημαντικό για την παρακολούθηση της λειτουργίας του μοσχεύματος και τη ρύθμιση της νεφροτοξικής ανοσοκατασταλτικής αγωγής σε ασθενείς με NM.

ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΥΠΕΡΛΙΠΙΔΑΙΜΙΩΝ ΜΕ ΤΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ ΣΤΟ ΑΙΜΑ

Λυμπεράκη Ευγενία, Ελευθερίου Φαίδρα, Σιώτη Ελευθερία, Σατανάκη Ασημένια, Μήτκα Στυλιανή, Πέτρου Χρήστος

Τμήμα Ιατρικών Εργαστηρίων, Σχολή Επαγγελματιών Υγείας και Πρόνοιας, Αλεξάνδρειο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Θεσσαλονίκης.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι υπερλιπιδαιμίες αποτελούν παράγοντα κινδύνου εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων και συνδέονται με το οξειδωτικό στρες. Οι ελεύθερες ρίζες και κυρίως οι δραστικές ρίζες οξυγόνου έχουν ως αποτέλεσμα την υπεροξειδωση των λιπιδίων οδηγώντας στο σχηματισμό οξειδωμένων λιποπρωτεϊνών LDL. Η οξειδωμένη LDL προκαλεί άθροιση εστέρων χοληστερόλης στα μακροφάγα και οδηγεί στο σχηματισμό αθηρωματικής πλάκας. Οι ελεύθερες ρίζες προέρχονται φυσιολογικά από τον αερόβιο μεταβολισμό ή είναι αποτέλεσμα εξωγενών παραγόντων. Επιπλέον, η οξείδωση των φωσφολιπιδίων της LDL συντελεί στη δημιουργία φλεγμονής και επομένως στη δημιουργία ελευθέρων ριζών. Κύριος τρόπος αντιμετώπισης των υπερλιπιδαιμιών είναι η μείωση των επιπέδων της LDL χοληστερόλης. Ορισμένα από τα φαρμακευτικά σκευάσματα που χρησιμοποιούνται για τη μείωση των επιπέδων χοληστερόλης είναι ουσίες με αντιοξειδωτική δράση, όπως η προβουκόλη. Είναι γνωστό ότι τρόφιμα πλούσια σε αντιοξειδωτικές ουσίες μπορούν να μειώσουν την οξείδωση της LDL.

ΜΕΘΟΔΟΙ-ΑΣΘΕΝΕΙΣ

Χρησιμοποιήθηκαν δείγματα 27 υπερλιπιδαιμικών ατόμων ηλικίας 35-70 ετών και 15 δείγματα υγιών ατόμων ίδιας ηλικίας και φύλου. Τα φάρμακα που λαμβάνουν όλοι οι ασθενείς είναι στατίνες. Οι αιμοληψίες έγιναν στις 8.00π.μ. □ Για τη μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας του ορού προσδιορίστηκε η επίδραση της προσθήκης 10 μl ορού στην οξείδωση του 2,2'-αζινο-δις(3-αιθυλβενζοθειαζόλινο)-6-σουλφονικού οξέος από το σύστημα ferryl μωσφαιρίνης-H₂O₂ με το antioxidant assay kit (Cayman). Η χοληστερόλη, τα τριγλυκερίδια και τα επίπεδα HDL- και LDL-χοληστερόλης προσδιορίστηκαν με ενζυμική χρωματομετρική μέθοδο σε βιοχημικό αναλυτή.

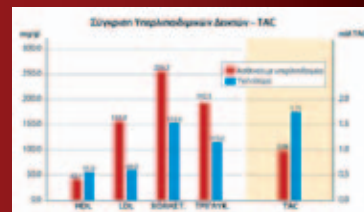
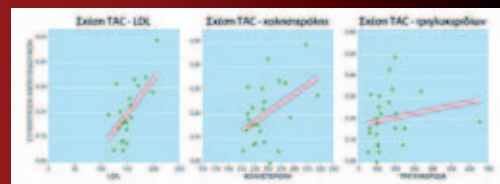
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Rui-Li Yang, Yong-Hui Shi, Gang Hao, Wu Li, and Guo-Wei Le Increasing Oxidative Stress with Progressive Hyperlipidemia in Human: Relation between Malondialdehyde and Atherogenic Index J Clin Biochem Nutr. 2008 November; 43(3): 154-158.
- Abudu N, Miller JJ, Attaelmannan M, Levinson SS. Vitamins in human arteriosclerosis with emphasis on vitamin C and vitamin E. Clin Chim Acta. 2004; 339:11-25.
- Marco N. Diaz, M.D., Balz Frei, Ph.D., Joseph A. Vita, M.D., and John F. Keane, M.D. Antioxidants and Atherosclerotic Heart Disease 1997 the new England Journal of Medicine 337:408-416

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική μείωση της TAC έως 50% σε όλα τα άτομα με υπερλιπιδαιμίες. Αντίθετα, παρατηρήθηκε θετική συσχέτιση της LDL, των τριγλυκεριδίων και της χοληστερόλης με την TAC ($p < 0.05$) όπως φαίνεται στα παρακάτω σχήματα.

	HDL mg/dl	LDL mg/dl	Χοληστερόλη mg/dl	Τριγλυκερίδια mg/dl	TAC mM
Υπερλιπιδαιμίες	42.1 ± 5,5	155.89 ± 28.3	256.3 ± 35,5	192.3 ± 23.5	0.9 ± 0.1
Φ.Τ.	>40	<100	<200	<150	1.72



ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα πολύ χαμηλά επίπεδα αντιοξειδωτικών στο αίμα συνδέονται με την εμφάνιση υπερλιπιδαιμιών και πιθανόν αποτελούν παράγοντα κινδύνου για καρδιαγγειακά νοσήματα. Ανάλογα συμπεράσματα έχουν παρατηρηθεί σε άλλες ερευνητικές εργασίες που εκτίμησαν συγκεκριμένες ουσίες με αντιοξειδωτική δράση. Επίσης τα αποτελέσματα δείχνουν ότι ο οργανισμός αντιστέκεται στις υπερλιπιδαιμίες με αύξηση πιθανόν των ενδογενών αντιοξειδωτικών. Πιθανόν πρέπει να εξεταστεί η λήψη τροφών πλούσιων σε αντιοξειδωτικά στην αρχή της υπερλιπιδαιμίας, όπως ήδη άλλωστε δείχνουν επιδημιολογικές μελέτες. Η ελεγχόμενη αύξηση της TAC με τη βοήθεια της διατροφής μπορεί να βοηθήσει στην πρόληψη και τη θεραπεία των υπερλιπιδαιμιών. Θα πρέπει να γίνουν έρευνες σε μεγαλύτερη ομάδα ατόμων καθώς και να προσδιοριστούν οι ενδογενείς ουσίες με αντιοξειδωτική δράση προκειμένου να επιβεβαιώσουμε τα αποτελέσματα.

Μελέτη των επιπέδων της βιταμίνης D στον ελληνικό παιδικό πληθυσμό

Α. Παπαδοπούλου¹, Μ. Μουστάκη¹, Ε. Λάπα¹, Ε. Γκολέ¹, Π. Γιάλλουρος², Π. Νικολαΐδου-Καρπαθίου¹

¹ Γ Παιδιατρική Κλινική, Ιατρική Σχολή, Γενικό Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο "ΑΤΤΙΚΟΝ", Αθήνα

² Διεθνές Ινστιτούτο Περιβάλλοντος και Δημόσιας Υγείας, Τεχνολογικό Πανεπιστήμιο Κύπρου, Λευκωσία, Κύπρος

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η υποβιταμίνωση D τείνει να αποτελέσει στις μέρες μας μείζον πρόβλημα της δημόσιας υγείας. Πολλοί παράγοντες, όπως η "ηλιοπροστασία", που ορθά εφαρμόζεται από τον πληθυσμό στα πλαίσια πρόληψης των κακοηθειών του δέρματος, η μόλυνση της ατμόσφαιρας και οι πολιτισμικές συνήθειες έχουν ενοχοποιηθεί για τα χαμηλά επίπεδα της βιταμίνης D.

Με σκοπό την αποτύπωση του προβλήματος στη χώρα μας προσδιορίζονται τα επίπεδα της 25(OH)D (ηπατικού μεταβολίτη της βιταμίνης D) σε παιδιά που εξετάζονται στα εξωτερικά ιατρεία της Κλινικής και δεν πάσχουν από νόσημα που μπορεί να τα επηρεάσει.

ΜΕΘΟΔΟΙ-ΑΣΘΕΝΕΙΣ

Αναλύθηκαν 263 δείγματα ορού αίματος παιδιών ηλικίας 1 μηνός-16 ετών (μέσος όρος ηλικίας: 4.25 ± 3.61 έτη), στα οποία προσδιορίστηκαν τα επίπεδα Ca, P, ALP, 25(OH)D και iPTH στον ορό. Η μέτρηση της 25(OH)D πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο EIA (ImmunoDiagnostic Systems Ltd) και η μέτρηση της iPTH με τη μέθοδο ELISA (Biomerica, INC).

Οι αιμοληψίες πραγματοποιήθηκαν σε όλη τη διάρκεια του έτους (Ιούνιος 2009-Μάιος 2010) και συνοδεύονταν από συμπλήρωση ερωτηματολογίου, όπου αναφερόταν η διατροφή, τα σωματομετρικά στοιχεία και ο φωτότυπος των παιδιών. Ο προσδιορισμός των φωτότυπων έγινε σύμφωνα με το πρότυπο του Fitzpatrick όπου τα παιδιά κατατάχθηκαν σε 4 κατηγορίες: 1. λευκό δέρμα, κόκκινα μαλλιά, 2. λευκό δέρμα, μπλε ή πράσινα μάτια και ξανθά μαλλιά, 3. λευκό δέρμα, καστανά ή μαύρα μάτια και καστανά μαλλιά και 4. σκούρο δέρμα, μαύρα μάτια και μαύρα μαλλιά.

Σε 158 παιδιά η αιμοληψία έγινε το χειμώνα και την άνοιξη και σε 105 το καλοκαίρι και το φθινόπωρο.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Greer F. 25-hydroxyvitamin D: functional outcomes in infants and young children. *Am J Clin Nutr* 2008; 88: 529S-33S.
- Nicolaΐδου P, Hatzistamatiou Z, Papadopoulou A, et al. Low vitamin D status in mother-newborn pairs in Greece. *Calcif Tissue Int* 2006 Jun;78(6):337-42
- Nicolaΐδου P, Kakourou T, Papadopoulou A et al. Low vitamin D status in preschool children in Greece *Nutrition Res* 2006; 26:620-625

Η παραπάνω Αναρτημένη Ανακοίνωση, παρουσιάστηκε κατά τη διάρκεια του 9^{ου} Πανελληνίου Συνεδρίου Κλινικής Χημείας

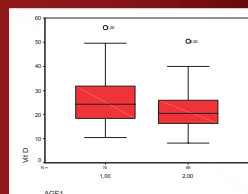
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Από τις μετρήσεις προέκυψαν: Ca: 9.79 ± 0.54 mg/dL, P: 4.92 ± 1.06 mg/dL, ALP: 204.93 ± 91.27 IU/L, 25(OH)D: 25.78 ± 10.52 ng/ml, PTH 20.25 ± 23.21 pg/ml. Τα επίπεδα της 25(OH)D συσχετίζονται αρνητικά με την PTH ($r = -0.324$, $p < 0.01$).

Τα επίπεδα της 25(OH)D το χειμώνα και την άνοιξη (23.61 ± 10.18 ng/ml, N=158) είναι στατιστικά σημαντικά χαμηλότερα ($p < 0.01$) από τα αντίστοιχα το φθινόπωρο και το καλοκαίρι (28.02 ± 9.83 ng/ml, N=105). 33,1% των παιδιών έχουν επίπεδα 25(OH)D ενδεικτικά υποβιταμίνωσης D (< 20 ng/ml) (44,9% το χειμώνα και την άνοιξη και 19% το καλοκαίρι και το φθινόπωρο) και 2,8 % ενδεικτικά σοβαρής υποβιταμίνωσης D (< 10 ng/ml).

Τα επίπεδα της 25(OH)D αυξάνονται με τον φωτότυπο των παιδιών.

Φωτότυπος	N	[25(OH)D] ng/ml
1	5	7.25±1.77
2	66	15.89±2.51
3	48	24.18±2.83
4	39	38.06±7.44



(Age 1<=5 ετών, age 2>5 ετών)

Η ηλικία των παιδιών βρίσκεται σε αρνητική συσχέτιση με τα επίπεδα της 25(OH)D ($r = -0.23$, $p < 0.04$).

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι σημαντικό ποσοστό παιδιών στη χώρα μας (33.1%) έχει υποβιταμίνωση D. Το ποσοστό αυτό είναι υψηλό κυρίως το χειμώνα και την άνοιξη (44.9%) και φαίνεται να αφορά περισσότερο τα παιδιά της σχολικής ηλικίας.

ΑΑ 24

ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΔΥΟ ΜΕΘΟΔΩΝ ΓΙΑ ΤΟΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΤΗΣ ΓΛΥΚΟΖΥΛΙΩΜΕΝΗΣ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗΣ (HBA1c)

Β. Πολυμέρου,¹ Χ. Βαζιργιαντζίκη,¹ Π. Βασιλάκη,¹ Σ. Ζιάγκας,¹ Γ. Σδρόλιας,¹ Τζ. Κουρέα-Κρεμαστινού^{1,2}

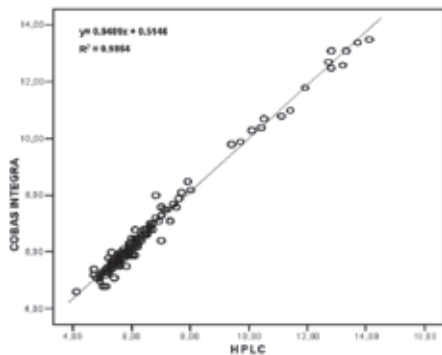
¹Εργαστήριο Ανοσολογίας και Ιστοσυμβατότητας, Βιοϊατρική Διεθνή Διαγνωστικά Εργαστήρια

²Τμήμα Δημόσιας και Διοικητικής Υγιεινής, Εθνική Σχολή Δημόσιας Υγείας

Εισαγωγή: Στον έλεγχο της γλυκαιμίας, εκτός από τον προσδιορισμό της γλυκόζης χρησιμοποιείται ως δείκτης και η Γλυκοζυλιωμένη Αιμοσφαιρίνη (HBA1c), για την εκτίμηση της μακροχρόνιας ρύθμισης των επιπέδων γλυκόζης σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη. Σκοπός της εργασίας είναι η συγκριτική μελέτη δύο μεθόδων για τον προσδιορισμό της HBA1c: με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) και θολοσιμετρία.

Υλικό και Μέθοδοι: Εξετάστηκαν 167 δείγματα και η μέτρηση των επιπέδων της HBA1c πραγματοποιήθηκε στον αυτόματο αναλυτή HPLC VARIANT (BIORAD) σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή και τις διαπιστευμένες μεθόδους του εργαστηρίου και με την μέθοδο της θολοσιμετρίας στον αυτόματο αναλυτή COBAS INTEGRA (Roche) με αντιδραστήρια 2^{nc} γενιάς και χωρίς παρεμβολές ακετυλιωμένης ή καρβαμυλιωμένης Hb. Για τη στατιστική επεξεργασία των δεδομένων χρησιμοποιήθηκε η ανάλυση γραμμικής παλινδρόμησης για την εκτίμηση της κλίσης, της τομής στον άξονα των y και του συντελεστή συσχέτισης (r).

Αποτελέσματα: Η στατιστική ανάλυση έδειξε πολύ καλή γραμμικότητα ($y=0.9489x+0.5146$, $R^2=0.9864$) και για τις δύο μεθόδους και άριστη συσχέτιση αποτελεσμάτων: $r=0,993$, $p<0,001$. Οι τιμές κυμάνθηκαν από 4,1 έως 14,1% HBA1c.



Συμπεράσματα: Από τη σύγκριση των τιμών μέτρησης της HBA1c, προκύπτει ότι οι δύο μέθοδοι παρουσιάζουν σχεδόν ταυτόσημα αποτελέσματα και μπορούν να εφαρμοστούν στη ρουτίνα των κλινικών εργαστηρίων με την ίδια αξιοπιστία.

ΑΑ 25

ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΩΝ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ADVIA CENTAUR ΚΑΙ LIAISON ΣΤΟΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΤΟΥ C-ΠΕΠΤΙΔΙΟΥ

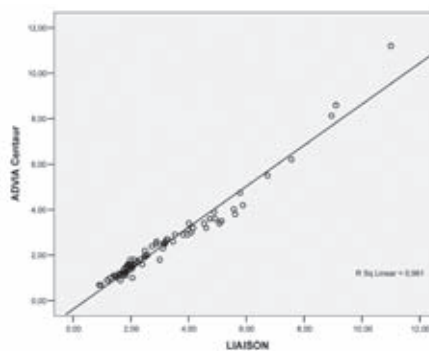
Ι. Βυλλιώτου, Ε. Καράκου, Ε. Παπαευσταθίου, Ε. Αναστασοπούλου, Ν. Τράκας
Εργαστήριο Κλινικής Χημείας, Γ.Ν.Α «Σισμανόγλειο»

Εισαγωγή: Στα β-κύτταρα του παγκρέατος η προ-ινσουλίνη διασπάται σε ινσουλίνη και σε C-πεπτιδίο. Το C-πεπτιδίο είναι ένα πολυπεπτιδίο (31 υπομονάδες αμινοξέων) που διασφαλίζει τη σωστή δομή της ινσουλίνης. Η διάσπαση του C-πεπτιδίου από την προ-ινσουλίνη αποκαλύπτει το C-τελικό άκρο της Β αλυσίδας, το οποίο επιτρέπει την αλληλεπίδραση της ινσουλίνης με τους υποδοχείς της. Η μέτρηση του C-πεπτιδίου χρησιμοποιείται για την αξιολόγηση των επιπέδων γλυκόζης σε νηστεία (Διαβήτης τύπου Ι ή ΙΙ) και τη διάγνωση ινσουλινωμάτων και β-κυτταρικών νεοπλασμάτων. Η θεραπεία με C-πεπτιδίο έχει χορηγηθεί σε διαβητικούς ασθενείς τύπου Ι.

Σκοπός: Η σύγκριση των δύο συστημάτων ADVIA Centaur και Liaison όσον αφορά στον προσδιορισμό του C-πεπτιδίου.

Υλικό και Μέθοδοι: Η μέθοδος που χρησιμοποιούν και τα δύο συστήματα είναι ανοσοπροσδιορισμός άμεσης χημειοφωταύγειας δύο πλευρών, τύπου "sandwich". Μετρήθηκαν τα επίπεδα C-πεπτιδίου σε 77 ασθενείς (30 άνδρες-47 γυναίκες μέσης ηλικίας 53,5 ετών) από τα Τακτικά Εξωτερικά Ιατρεία του Σισμανογλείου Νοσοκομείου.

Αποτελέσματα: Η στατιστική ανάλυση γραμμικότητας για τις δύο μεθόδους ανάλυσης, έδειξε άριστη συσχέτιση αποτελεσμάτων (Linear regression) ($r=0,980$, $r^2=0,961$, $p<0,001$) (Εικ. 1). Εξίσωση παλινδρόμησης: C-Peptide (Centaur) = 0,901 x C-Peptide (Liaison) - 0,372 ng/mL.



Συμπεράσματα: Τα δύο συστήματα μέτρησης C-πεπτιδίου παρουσιάζουν σχεδόν ταυτόσημα αποτελέσματα με αρκετά υψηλό βαθμό αξιοπιστίας και επαναληψιμότητας και μπορούν να εφαρμοσθούν με την ίδια σιγουριά.

Η ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΤΩΝ ΒΙΟΧΗΜΙΚΩΝ ΕΞΕΤΑΣΕΩΝ ΑΠΟ ΟΡΟ ΣΕ ΠΛΑΣΜΑ

A. Διαμαντοπούλου ¹, Β. Παπαδημητράκης ², Ε. Κοκόση ¹, Β. Τούνας ¹, Κ. Κωστοβασιλής ¹.

¹ Βιοχημικό τμήμα, Γ.Ν.Α. «Γεώργιος Γεννημάς»

² Abbott Laboratories Hellas

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το 2002 η Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας συνέστησε ότι το πλάσμα έχει λιγότερες παρεμβολές και εντονότερα συμπτώματα την παθολογική κατάσταση του ασθενούς σε σχέση με τον ορό ενώ εμφανίζει πλεονεκτήματα στη χρήση του. Έχουμε εξαικονόμηση χρόνου ορού επιπλέον την άμεση φυγοκέντρηση, έχουμε 15-20% περισσότερο όγκο πλάσματος από ότι ορός από τον ίδιο όγκο αίματος, αποφεύγεται η συνέχιση της πήξης που παρατηρείται συχνά στον ορό μετά τη φυγοκέντρηση με αποτέλεσμα να μπλοκάρουν οι βελόνες αναρρόφησης των αναλυτών κατά τη διεξαγωγή των εξετάσεων (στο εργαστήριο μας ήταν έντονο αυτό το φαινόμενο στα δείγματα των κλινικών της ΜΕΘ και της Νεφρολογικής τα οποία εκτός από τις τεχνικές βλάβες που προκαλούσαν στους αναλυτές συχνά ήταν αδύνατη η ύπαρξη επαρκούς ποσότητας ορού παρά τις επαναλαμβανόμενες φυγοκεντρήσεις, για τον υπολογισμό των εξετάσεων). Στο εργαστήριο μας υπήρχε η ανάγκη δύο δειγμάτων του ίδιου ασθενούς για την ύπαρξη ενός προαναλυτικού σταδίου που θα επέτρεπε την ταυτόχρονη μέτρηση τόσο των απλών βιοχημικών εξετάσεων όσο και πιο εξειδικευμένων εξετάσεων και την αυξημένη παράδοση των αποτελεσμάτων. Το εργαστήριο μας αξιολογήθηκε εκ νέου και έλαβε τη διαπίστωση σύμφωνα με το πρότυπο ΕΙΟΤ ΕΝ ISO 15189: 2007 από το Ε.Σ.Υ.Δ. χρησιμοποιώντας δεδομένα από μετρήσεις σε πλάσμα ηπαρίνης λιθίου. Παράλληλα με τις ποιοτικές αναλυτικές μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν στα πλαίσια της διαπίστωσης διερευνήθηκε και η παρούσα μελέτη συσχέτισης.

ΜΕΘΟΔΟΙ-ΑΣΘΕΝΕΙΣ

Σκοπός: Να διερευνηθεί η δυνατότητα ή μη χρησιμοποίησης πλάσματος (με χρήση αντιπηκτικού ηπαρίνης - λιθίου) ως υποκατάστατο του ορού σε 42 κλινικές βιοχημικές εξετάσεις (και ο ορός και το πλάσμα ηπαρίνης - λιθίου προτείνονται ως κατάλληλα δείγματα, από το κατασκευαστή στα εσωκλειστά των αντιδραστηρίων για τις 39 από τις 42 εξετάσεις).

Υλικά και Μέθοδοι: 230 τυχαία δείγματα ορού και πλάσματος (με αντιπηκτικό ηπαρίνης - λιθίου), ασθενών του νοσοκομείου μας, σε διάρκεια τριών μηνών, χρησιμοποιήθηκαν σαν δείγματα για τον προσδιορισμό βιοχημικών - ανοσοχημικών εξετάσεων. Σε κάθε εξέταση μετρήθηκαν από 40 έως 84 δείγματα. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν στους αυτόματους αναλυτές ARCHITECT ci16200 και ARCHITECT i2000 SR (Εταιρεία Abbott). Τα δείγματα ορού παρέμειναν για μισή ώρα ώστε να ολοκληρωθεί η διαδικασία της πήξης ενώ τα δείγματα του πλάσματος φυγοκεντρήθηκαν άμεσα και οι δύο φυγοκεντρήσεις πραγματοποιήθηκαν για 10 min στις 3000 στροφές. Οι μετρήσεις των αναλυτών έγιναν σε διάστημα 2 ωρών από τη μεταφορά των δειγμάτων στο εργαστήριο. Τα αποτελέσματα αξιολογήθηκαν με ανάλυση γραμμικής παλινδρόμησης. Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας καθορίστηκε στο 0,05.

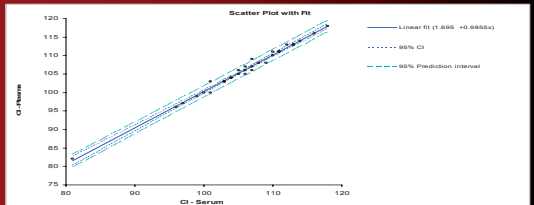
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

- Στις περισσότερες εξετάσεις η ανάλυση συσχέτισης έδειξε άριστη θετική συσχέτιση τιμών μεταξύ των δύο δειγμάτων (ορός - πλάσμα ηπαρίνης λιθίου).
- Για τις εξετάσεις της μελέτης που φέρουν (*) παρατηρήθηκαν σε ορισμένες μετρήσεις ανάμεσα στα δύο δείγματα μικρές αποκλίσεις, παρόλο που βρέθηκε ισχυρή θετική συσχέτιση στα επίπεδα των τιμών. Στην περίπτωση αυτών των εξετάσεων μέσω της εξίσωσης παλινδρόμησης φαίνεται ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί και το πλάσμα ηπαρίνης-λιθίου σαν δείγμα στο εργαστήριο επιτρέποντας την μετατροπή των αποτελεσμάτων των μετρήσεων από το ένα είδος δείγματος στο άλλο. Αξίζει να σημειωθεί ότι στην περίπτωση αυτών των εξετάσεων οι αποκλίσεις είναι μικρές και έτσι δεν αποκλείεται η διενέργεια αυτών των εξετάσεων σε πλάσμα γιατί δεν επηρεάζεται η κλίμακα αξιολόγησης τους.
- Τα αποτελέσματα της μελέτης παρέχουν στο εργαστήριο μας τη δυνατότητα να πραγματοποιεί τις 37 από τις παραπάνω εξετάσεις σε δείγμα πλάσματος ηπαρίνης - λιθίου.
- Η ύπαρξη δύο δειγμάτων του ίδιου ασθενούς στο εργαστήριο, οδήγησε στην επιτάχυνση της προαναλυτικής διαδικασίας, μειώνοντας στο ελάχιστο των καταμερισμό του δείγματος με τη διαδικασία του πιπεταρισμού και ελαχιστοποιώντας την ύπαρξη λαθών.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Οι εξετάσεις που μελετήθηκαν και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται συνοπτικά στον παρακάτω πίνακα.

ΕΞΕΤΑΣΗ	n	r Pearson	ΕΞΙΣΩΣΗ ΓΡΑΜΜΙΚΗΣ ΠΑΛΙΝΔΡΟΜΗΣΗΣ	R ²	p
1 ΓΛΥΚΟΖΗ	75	1,00	y=1,022 +0,9919x	1,00	<0,0001
2 ΟΥΡΙΑ	77	1,00	y=0,1612+0,988x	1,00	<0,0001
3 ΚΡΕΑΤΙΝΙΝΗ	77	1,00	y=0,0168+0,9922x	1,00	<0,0001
4 ΝΑΤΡΙΟ*	75	0,97	y=2,454+ 0,9799x	0,94	<0,0001
5 ΚΑΛΙΟ*	70	0,96	y=0,1129+0,9236x	0,92	<0,0001
6 ΧΑΛΙΟ*	42	1,00	y=1,695 + 0,9855x	0,99	<0,0001
7 ΛΕΙΒΕΡΙΟ*	65	0,97	y=0,9437 +0,921x	0,95	<0,0001
8 ΦΩΣΦΟΡΟΣ	62	0,99	y= -0,1576 +1,011x	0,98	<0,0001
9 ΜΑΓΝΗΣΙΟ*	64	0,96	y= -0,1315 + 0,9297x	0,92	<0,0001
10 ΑΣΤ	76	1,00	y=0,9722 + 0,9742x	1,00	<0,0001
11 ΑΛΤ	76	1,00	y=0,476 + 0,9731x	1,00	<0,0001
12 ΕΡΚ	72	1,00	y=0,07104 + 0,9756x	1,00	<0,0001
13 ΛΔΗ*	71	0,97	y=0,405 + 0,976x	0,95	<0,0001
14 ΑΛΚΡ	77	0,99	y=0,4124 + 0,9509x	0,99	<0,0001
15 γ - GT	78	1,00	y=4,644 + 0,9433x	1,00	<0,0001
16 ΑΜΥΛΑΣΗ	47	1,00	y=-0,06772 +1,0023x	1,00	<0,0001
17 ΛΑΘΟΥΜΙΝΗ	74	0,99	y=0,00217 + 0,9841x	0,99	<0,0001
18 ΟΑΙΚΣ ΗΡΗΤΙΝΕΣ*	74	0,98	y=0,454 + 0,9719x	0,97	<0,0001
19 ΟΑΙΚΗ ΧΟΛΕΡΥΘΙΝΗ	61	1,00	y= -0,004165+1,011x	1,00	<0,0001
20 ΑΜΕΧΗ ΧΟΛΕΡΥΘΙΝΗ	61	1,00	y=0,01108 + 0,9828x	1,00	<0,0001
21 ΧΟΛΙΣΤΕΡΟΛΗ	73	1,00	y=1,784 + 0,9761x	1,00	<0,0001
22 ΤΡΙΛΥΚΕΡΙΝΗ	73	1,00	y= -1,214 + 0,9766x	1,00	<0,0001
23 ULTRA HDL	69	0,99	y=0,4927 + 0,9795x	0,99	<0,0001
24 ΟΥΡΙΚΟ ΟΞΥ	84	0,99	y=0,0476 + 0,9816x	0,99	<0,0001
25 ΣΙΑΒΡΟΣ	68	1,00	y=-0,8269 + 0,9804x	1,00	<0,0001
26 CRP	69	1,00	y= -0,6889 + 1,009x	1,00	<0,0001
27 β ₂ Μικροσφαιρίνη	44	1,00	y=-0,07178 + 1,023x	1,00	<0,0001
28 ΟΜΟΚΥΣΤΕΙΝΗ	66	1,00	y=0,1806 + 0,9903x	0,99	<0,0001
29 CEA	60	0,99	y=0,01704 + 1,077x	0,98	<0,0001
30 AFP	70	0,99	y=0,07687 + 0,9732x	0,99	<0,0001
31 Ca19-9	70	1,00	y=-1,714 + 1,029x	0,99	<0,0001
32 Ca15-3	48	1,00	y=1,565 + 0,9231x	0,99	<0,0001
33 Ca125	48	0,99	y=1,293 + 0,902x	0,99	<0,0001
34 TP5A	47	1,00	y=-0,0543 + 1,012x	0,99	<0,0001
35 TP5A	10	0,99	y= -0,04065+1,032x	0,99	<0,0001
36 B12	50	0,99	y=116,52 + 1,002x	0,99	<0,0001
37 ΦΥΛΑΙΚΟ ΟΞΥ	53	0,98	y=0,4584 + 0,9456x	0,97	<0,0001
38 ΦΕΡΡΙΤΙΝΗ	61	1,00	y=6,15 + 0,9984x	0,99	<0,0001
39 TSH	52	1,00	y=-0,006867+ 1,002x	0,99	<0,0001
40 FT4**	53	0,96	y=0,2329 + 1,001x	0,93	<0,0001
41 ΤΡΟΠΟΝΙΝΗ I	64	1,00	y=-0,005495+ 1,104x	1,00	<0,0001
42 CK-MB	66	1,00	y=0,2415 + 1,168x	1,00	<0,0001



ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Rodney R. Miles, Richard F. Roberts, Angelica R. Putnam, and William L. Roberts Comparison of Serum and Heparinized Plasma Samples for Measurement of Chemistry Analytes Clin. Chem., Sep 2004; 50(1704 - 1706).
2. M. Nutter, Carl L. Hayden. Comparison of plasma to serum results for the Abbott Architect Total PSA and Free PSA assays. American Association for Clinical Chemistry Annual Meeting, July 23-27, 2006.
3. Burtis C, Ashwood E, Tietz Text book of clinical chemistry and molecular Diagnostics 4th ed. St Louis, MO: Saunders Elsevier, 2006.
4. Use of Anticoagulants in Diagnostic Laboratory Investigations. Geneva, Switzer World Health Organization, 2002. WHO document WHO/DIL/LAB/99.1 Rev.2.
5. Boyanton BL, Jr, Blick KE. Stability studies of twenty - four analytes in human plasma and serum. Clin. Chem. 2002, 48: 2242 - 2247.
6. Στατιστικές μέθοδοι ανάλυσης δεδομένων. Π. Γαλιάνης. Αρχείο Ελληνικής Ιατρικής 2009, 26(5):699-711.

ΑΑ 27**ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ NT-proBNP, ΠΡΟΚΑΛΣΙΤΟΝΙΝΗΣ (PCT) ΚΑΙ C-ΑΝΤΙΔΡΩΣΑΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ (CRP) ΣΕ ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΟΝΑΔΩΝ ΕΝΤΑΤΙΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ (ΜΕΘ)**

Σ. Αραμπατζή,¹ Α. Καλυκάκη,² Χ. Κανονίδου,² Ε. Πρωτονοταρίου,¹ Β. Τσαβδαρίδου,¹ Κ. Θυσιάδου,² Ο. Βασιλάκη,¹ Δ. Μιχαηλίδου,² Ε. Δίζα,¹ Μ. Καραμούζης²
¹Μικροβιολογικό Εργαστήριο, Π.Γ.Ν. Θεσσαλονίκης ΑΧΕΠΑ
²Εργαστήριο Κλινικής Βιοχημείας, Π.Γ.Ν. Θεσσαλονίκης ΑΧΕΠΑ

Εισαγωγή: Τα νατριουρητικά πεπτιδία αποτελούν οικογένεια πεπτιδίων με διουρητικές και αγγειοσυσταλτικές δράσεις. Το αμινοτελικό άκρο του εγκεφαλικού νατριουρητικού πεπτιδίου (NT-proBNP) εκκρίνεται κυρίως από τις κοιλίες της καρδιάς, ως επακόλουθο διάτασής τους. Υψηλά επίπεδα NT-proBNP εμφανίζονται επίσης κατά τη διάρκεια βακτηριακής λοίμωξης και σήψης. Η προκαλσιτονίνη (PCT) και η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP) αυξάνονται σε σοβαρές βακτηριακές λοιμώξεις και στη σήψη.

Σκοπός: Σκοπός της μελέτης μας ήταν η αξιολόγηση των επιπέδων του NT-proBNP, της PCT και της CRP σε λοιμώξεις ασθενών νοσηλευόμενων σε ΜΕΘ και η συσχέτισή τους με τον απομονωθέντα μικροοργανισμό και με την εντόπιση της λοίμωξης.

Υλικό και Μέθοδοι: Μελετήθηκαν τα επίπεδα του NT-proBNP, της PCT και της CRP σε 30 ασθενείς που νοσηλεύθηκαν σε ΜΕΘ του Π.Γ.Ν.Θ. ΑΧΕΠΑ και παρουσίασαν λοίμωξη επιβεβαιωμένη με καλλιέργειες. Το NT-proBNP προσδιορίστηκε με ηλεκτροχημειοφωταύγεια (Φ.Τ. <100 pg/ml), η PCT με χημειοφωταύγεια (Φ.Τ. <0,5 ng/ml) και η CRP με νεφελομετρία (Φ.Τ. 0,0-0,8 mg/dl).

Αποτελέσματα: Αυξημένα επίπεδα NT-proBNP και CRP βρέθηκαν σε όλα τα επεισόδια λοίμωξης, ενώ αυξημένες τιμές PCT μόνο σε 16 (53%) περιπτώσεις. Οι υψηλότερες τιμές NT-proBNP εμφανίστηκαν σε λοιμώξεις αναπνευστικού και βακτηριακούς, της PCT σε λοιμώξεις αναπνευστικού και βακτηριακούς, ενώ της CRP σε βακτηριακούς και λοιμώξεις φλεβικού καθετήρα. Παρατηρήθηκε στατιστική σημαντική συσχέτιση μεταξύ NT-proBNP και CRP ($p < 0,01$), ενώ δεν παρατηρήθηκε μεταξύ NT-proBNP και PCT ή μεταξύ CRP και PCT, όπως και μεταξύ του είδους του απομονωθέντα μικροοργανισμού και NT-proBNP, PCT ή CRP. Στις καλλιέργειες του αναπνευστικού στατιστικά σημαντική συσχέτιση παρατηρήθηκε μεταξύ NT-proBNP και CRP ($p < 0,01$), καθώς και μεταξύ PCT και CRP ($p < 0,05$).

Συμπεράσματα: 1) Τα επίπεδα του NT-proBNP σχετίζονται με τα επίπεδα της CRP σε σοβαρές λοιμώξεις. 2) Το NT-proBNP μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης καρδιακής δυσλειτουργίας για την παρακολούθηση βαριάς λοίμωξης και σήψης.

ΑΑ 28**ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΟΜΟΚΥΣΤΕΙΝΗΣ ΜΕ ΕΠΙΠΕΔΑ ΦΥΛΛΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΚΑΙ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ Β12 ΚΑΙ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΚΑΘΕ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ ΞΕΧΩΡΙΣΤΑ ΣΤΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΤΗΣ ΟΜΟΚΥΣΤΕΪΝΗΣ**

Κ. Τσεπάνης, Κ. Κοντοπούλου, Β. Αδαμόπουλος, Μ. Κριτή

Μικροβιολογικό Εργαστήριο, Γ.Ν.Θ. «Γ. Γεννηματάς»

Εισαγωγή: Η ομοκυστεΐνη είναι ένα θειούχο αμινοξύ, το οποίο παράγεται ενδοκυτταρίως από τον μεταβολισμό της μεθειονίνης και διοχετεύεται στην κυκλοφορία μέσω του πλάσματος, κυρίως σε οξειδωμένη μορφή, δεσμευμένη σε πρωτεΐνες. Η υπερομοκυστεϊναίμια θεωρείται παράγοντας κινδύνου για ανάπτυξη θρομβοεμβολικής νόσου. Συχνά σχετίζεται με έλλειψη φυλλικού οξέος και βιταμίνης Β12, γι' αυτό και η χορήγησή τους ασκεί προφυλακτική δράση έναντι θρομβοεμβολικής νόσου.

Σκοπός: Σκοπός της μελέτης μας είναι η μελέτη της συσχέτισης των επιπέδων της ομοκυστεΐνης με τα επίπεδα του φυλλικού οξέος και της βιταμίνης Β12 στον ορό και η μελέτη της επίδρασης του κάθε παράγοντα ξεχωριστά στα επίπεδα της ομοκυστεΐνης.

Υλικό και Μέθοδοι: Το δείγμα μας αποτέλεσαν 278 ασθενείς εκ των οποίων 49% άνδρες (n=135) και 51% γυναίκες (n=143) με μέσο όρο ηλικίας 52,34±4,34 έτη που υποβλήθηκαν σε καθορισμό επιπέδων ομοκυστεΐνης, φυλλικού οξέος και βιταμίνης Β12 στον ορό. Οι εξετάσεις διενεργήθηκαν στον αυτοματοποιημένο αναλυτή ADVIA CENTAUR CP (Siemens) με τη μέθοδο της άμεσης χημειοφωταύγεια και στα αποτελέσματα έγινε επεξεργασία με το στατιστικό λογισμικό πακέτο SPSS 17.

Αποτελέσματα: Ανευρέθηκε ισχυρή αρνητική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων της ομοκυστεΐνης και του φυλλικού οξέος ($r = -0,654$, Pearson's correlation $p = 0,01$) και της βιταμίνης Β12 ($r = -0,421$, Pearson's correlation $p = 0,01$). Με τη χρήση της linear regression analysis διαπιστώθηκε ότι για κάθε μονάδα μείωσης του φυλλικού οξέος και της βιταμίνης Β12 τα επίπεδα της ομοκυστεΐνης αυξάνονται κατά 0,249 ($p = 0,001$). Εξετάζοντας τους παράγοντες ξεχωριστά βρέθηκε ότι για κάθε μονάδα μείωσης του φυλλικού οξέος η ομοκυστεΐνη αυξάνεται κατά 0,198 ($p = 0,002$), ενώ για κάθε μονάδα μείωσης της Β12 αυξάνεται κατά 0,051 ($p = 0,001$). Τα επίπεδα της ομοκυστεΐνης επηρεάζονται κατά 79,5% από τα επίπεδα του φυλλικού και 20,5% από τα επίπεδα της Β12.

Συμπεράσματα: Τα επίπεδα του φυλλικού και της Β12 εμφανίζουν ισχυρή σχέση με τη συγκέντρωση της ομοκυστεΐνης στον ορό. Από την εργασία διαπιστώνεται ότι η επίδραση του φυλλικού είναι 3,88 φορές μεγαλύτερη από τη Β12. Τα αποτελέσματα συμφωνούν και με άλλων

ερευνητών που κατέδειξαν ότι η χορήγηση φυλλικού μπορεί να ελαττώσει κατά 25% τη συγκέντρωση της ομοκυστεΐνης, ενώ η χορήγηση B12 κατά 6%. Αυτό πιθανώς να οφείλεται στο γεγονός ότι το φυλλικό είναι η κύρια βιταμίνη που συμμετέχει στο δρόμο επαναμεθυλίωσης της ομοκυστεΐνης προς μεθειονίνη, ενώ η B12 παρεμβαίνει μετέπειτα ως συνένζυμο της συνθετάσης της μεθειονίνης.

AA 29 ΚΑΘΟΡΙΣΜΟΣ ΣΧΕΣΗΣ ΓΛΥΚΟΖΗΣ ΟΡΟΥ ΚΑΙ ΓΛΥΚΟΖΥΛΙΩΜΕΝΗΣ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗΣ

Κ. Τσεπάνης, Κ. Κοντοπούλου, Β. Αδαμόπουλος, Μ. Κριτή
Μικροβιολογικό Εργαστήριο, Γ.Ν.Θ. «Γ. Γεννηματάς»

Σκοπός: Σκοπός της εργασίας μας είναι η μελέτη της σχέσης μεταξύ της γλυκόζης ορού (BG) και της γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης (HbA1c) και ταυτόχρονα η σύγκριση των αποτελεσμάτων μας μεταξύ των δύο φύλων.

Υλικό και Μέθοδοι: Μελετήσαμε 500 ασθενείς, 54,4% (n=272) γυναίκες και 45,6% (n=228) άντρες, που υποβλήθηκαν σε εξέταση γλυκόζης ορού και γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης στο διάστημα Ιανουάριος 2008-Δεκέμβριος 2009. Οι 404 έπασχαν από σακχαρώδη διαβήτη και οι 96 ήταν υγιείς. Όλοι οι ασθενείς υποβλήθηκαν τουλάχιστον σε τρεις διαδοχικές εξετάσεις σε διάστημα μιας εβδομάδας και υπολογίστηκαν οι μέσοι όροι BG και HbA1c. Η μέτρηση της BG έγινε στον αναλυτή Combas 6000 (Roche) και της HbA1c στον αναλυτή (DCA Vantage, Siemens). Η στατιστική ανάλυση έγινε με το SPSS 16.

Αποτελέσματα: Με τη μέθοδο της γραμμικής παλινδρόμης λογιστικής ανάλυσης υπολογίστηκε ο μαθηματικός τύπος που συνδέει τη BG και τη HbA1c και βρέθηκαν τα εξής: • Για τις γυναίκες HbA1c (σε τιμές επί τοις εκατό) = $5,295 + 0,01 * (\text{τιμή BG σε mg/dl})$ ($r=0,8, R \text{ square}=0,64$ και $\text{Adjusted R square}=0,62$). • Για τους άντρες HbA1c (σε τιμές επί τοις εκατό) = $5,564 + 0,01 * (\text{τιμή BG σε mg/dl})$ ($r=0,65, R \text{ square}=0,42$ και $\text{Adjusted R square}=0,39$). • Γενικά HbA1c (σε τιμές επί τοις εκατό) = $5,415 + 0,01 * (\text{τιμή BG σε mg/dl})$ ($r=0,72, R \text{ square}=0,52$ και $\text{Adjusted R square}=0,50$).

Συμπεράσματα: Ο τύπος αυτός λόγω της ελλείψεως χαμηλών τιμών HbA1c στο δείγμα μας μπορεί να δίνει καλύτερα αποτελέσματα για διαβητικούς ασθενείς με HbA1c >6%. Η εξέταση HbA1c δεν μπορεί να διενεργείται συνέχεια, αλλά είναι απαραίτητο να έχουμε μια κατά προσέγγιση εκτίμηση για το πού κυμαίνεται στους διαβητικούς, γιατί οι υψηλές τιμές της σχετίζονται με αυξημένη συχνότητα επιπλοκών του σακχαρώδη διαβήτη. Τέλος, σύμφωνα με τα αποτελέσματά μας ο τύπος αυτός είναι πιο ευαίσθητος στο γυναικείο φύλο.

AA 30 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗΣ ΑΓΩΓΗΣ ΣΤΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΤΩΝ ΛΙΠΟΠΡΩΤΕΙΝΩΝ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΧΡΟΝΙΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ C

Ι. Κετίκογλου,¹ Ν. Γαλιατσάτος,² Ν. Αλεξανδρόπουλος,² Α. Μουλακάκης¹

¹Κρατική Παθολογική Κλινική, Γ.Ν.Α «Ιπποκράτειο»

²Βιοχημικό Τμήμα, Γ.Ν.Α. «Ιπποκράτειο»

Εισαγωγή: Είναι γνωστό ότι ο ιός της ηπατίτιδας C προκαλεί στεάτωση του ηπατικού παρεγχύματος. Όλοι οι γονότυποι της ηπατίτιδας αυτής προκαλούν στεάτωση, κυρίως όμως ο γονότυπος 3a. Έχει διαπιστωθεί ότι στον γονότυπο αυτόν τα επίπεδα χοληστερίνης του αίματος και τα επίπεδα των απολιποπρωτεϊνών Β είναι χαμηλά.

Σκοπός: Σκοπός της εργασίας αυτής είναι ο έλεγχος των επιπέδων των απολιποπρωτεϊνών του αίματος μετά από θεραπεία σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C (ΧΗC).

Υλικό και Μέθοδοι: Σε 83 ασθενείς με ΧΗC (63 άνδρες και 20 γυναίκες) μετρήθηκαν τα επίπεδα των απολιποπρωτεϊνών Α (apo A) (τ. αναφ. 110-160 mg/dl) και των απολιποπρωτεϊνών Β (apo B) (τ. αναφ. 60-130 mg/dl) προ και μετά τη θεραπεία με πεγκυλιωμένη ιντερφερόνη και ριμπαβιρίνη. **Αποτελέσματα:** Παρατίθενται τα επίπεδα των apo A και apo B (μέσοι όροι) προ και μετά τη θεραπεία, σε σχέση με τον γονότυπο και τον εκάστοτε αριθμό των ασθενών:

Είδος γονότυπου	Αριθμός ασθενών	apo B προ	apo B μετά	Apo a προ	Apo A μετά
1	32	71,8	75,9	134	123
2	4	69,6	69,9	120	123
3 a	37	66,5	75,1 ($p<0,05$)	128	121
4	8	74	71	120	103

Συμπεράσματα: Η θεραπευτική αγωγή στον γονότυπο 3a αυξάνει τα επίπεδα της apo B στο αίμα σε βαθμό στατιστικά σημαντικό αλλά όχι και της apo A. Η αύξηση αυτή συνοδεύεται από την εξάλειψη της στεάτωσης του ήπατος στον γονότυπο αυτό. Στους λοιπούς γονότυπους η θεραπευτική αγωγή δεν έχει επίδραση στα επίπεδα των apo A και apo B.

ΑΑ 31**Η ΠΡΟΣΗΛΩΣΗ ΣΤΟ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΟ ΠΡΟΤΥΠΟ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΣΕ ΣΥΝΔΥΑΣΜΟ ΜΕ ΤΗ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΜΕ ΣΤΑΤΙΝΗ ΜΠΟΡΕΙ ΣΗΜΑΝΤΙΚΑ ΝΑ ΜΕΙΩΣΕΙ ΤΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΤΩΝ ΛΙΠΙΔΙΩΝ ΣΕ ΗΛΙΚΙΩΜΕΝΟΥΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ. ΜΕΛΕΤΗ ΙΚΑΡΙΑ****Ν. Γαλιατσάτος,² Χ. Χρυσόχου,¹ Ι. Σκούμας,¹****Ε. Γιακουμή,¹ Γ. Τριανταφύλλου,¹ Γ. Σιάσος,¹****Θ. Ψαλτοπούλου,¹ Σ. Πλυταριά,¹ Β. Μεταξά,¹****Σ. Βογιατζόγλου,¹ Χ. Πίτσαβος,¹ Ν. Αλεξανδρόπουλος,²****Χ. Στεφανάδης¹***¹Α' Πανεπιστημιακή Καρδιολογική Κλινική Πανεπιστημίου Αθήνας, Γ.Ν.Α. «Ιπποκράτειο»**²Βιοχημικό Τμήμα, Γ.Ν.Α. «Ιπποκράτειο»*

Σκοπός: Σε μια προσπάθεια αξιολόγησης των καρδιαγγειακών παραγόντων κινδύνου και τη σχέση τους με τη μακροβιότητα στη νήσο Ικαρία διεξαγάγαμε μια πληθυσμιακή μελέτη υγείας και διατροφής. Στην παρούσα εργασία εκτιμήθηκαν τα επίπεδα λιπιδίων αίματος, και ο ρόλος της μεσογειακής διατροφής σε ένα δείγμα ηλικιωμένων ατόμων χωρίς καρδιαγγειακή νόσο.

Υλικό και Μέθοδοι: Από τον Ιούνιο μέχρι τον Οκτώβριο του 2009, μελετήσαμε 343 άνδρες και 330 γυναίκες ηλικίας από 65 έως 100 ετών. Οι διαιτητικές συνήθειες αξιολογήθηκαν μέσω ενός ερωτηματολογίου κατανάλωσης τροφίμων, όπου υπολογίστηκε το σκορ μεσογειακής διατροφής (ΜΔ) (εύρος 0-55).

Αποτελέσματα: 23% των ανδρών και 19% των γυναικών ανέφεραν γνωστή καρδιαγγειακή νόσο και εξαιρέθηκαν από την ανάλυση, 32% των ανδρών και 25% των γυναικών είχαν σακχαρώδη διαβήτη, 75% των ανδρών και 68% των γυναικών είχαν υπέρταση, 62% των ανδρών και 69% των γυναικών είχαν υπερχοληστερολαιμία, και 29% των ανδρών και 30% των γυναικών ήταν παχύσαρκοι. Η ανάλυση συμπεριέλαβε 245 άνδρες και 270 γυναίκες, χωρίς καρδιαγγειακή νόσο, μέσης ηλικίας 75 ετών. 43% των ανδρών και 54% των γυναικών είχαν ολική χοληστερόλη ορού >200 mg/dl. Από αυτούς 57% των ανδρών και 58% των γυναικών δήλωσαν άγνοια της κατάστασής τους. 20% των ανδρών και 8% των γυναικών είχαν HDL-C <35 mg/dl. 32% των ανδρών και 28% των γυναικών είχαν επίπεδα τριγλυκεριδίων >150 mg/dl. 42% των ανδρών και 46% των γυναικών είχαν LDL >130 mg/dl. Από εκείνους που είχαν γνωστή υπερλιπιδαιμία, το 54% των ανδρών και το 72% των γυναικών ακολουθούσαν δίαιτα, 73% των ανδρών και 61% των γυναικών ελάμβανε φαρμακευτική αγωγή. Οι συμμετέχοντες, στο άνω τριτημόριο της κλίμακας ΜΔ είχαν χαμηλότερες τιμές της LDL-C και μη-HDL-C (127±27 έναντι 121±35 και 147±41 έναντι 153±28, αντίστοιχα). Από αυτούς όσοι ελάμβαναν θεραπεία με στατίνες, είχαν

χαμηλότερο λόγο LDL προς HDL ($b=-0,36$, $p=0,032$) και χαμηλότερα επίπεδα LDL-C ($\beta=-0,188$, $p=0,04$), σε σύγκριση με εκείνους που δεν ελάμβαναν αγωγή και είχαν υποθετήσει δυτικού τύπου διατροφή.

Συμπεράσματα: Μεγάλο ποσοστό ηλικιωμένων ατόμων έχει υπερλιπιδαιμία. Η Μεσογειακή δίαιτα μπορεί να αποτελέσει συμπλήρωμα στη φαρμακευτική αγωγή για τη σημαντική μείωση των επιπέδων των λιπιδίων του αίματος.

ΑΑ 32**ΕΥΕΡΓΕΤΙΚΗ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΜΑΥΡΟΥ ΚΑΙ ΠΡΑΣΙΝΟΥ ΤΣΑΓΙΟΥ ΣΤΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΓΛΥΚΟΖΗΣ ΤΩΝ ΜΗ ΔΙΑΒΗΤΙΚΩΝ ΗΛΙΚΙΩΜΕΝΩΝ ΑΝΔΡΩΝ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΩΝ ΑΠΟ ΤΗ ΜΕΛΕΤΗ ΙΚΑΡΙΑ****Ν. Γαλιατσάτος,² Χ. Χρυσόχου,¹ Β. Μεταξά,¹****Μ. Στίγκου,¹ Σ. Μαματάς,¹ Μ. Ζαρομυτίδου,¹ Α. Κατέ,¹****Χ. Μυλωνάκης,¹ Χ. Πίτσαβος,¹ Ν. Αλεξανδρόπουλος,²****Χ. Στεφανάδης¹***¹Α' Πανεπιστημιακή Καρδιολογική Κλινική Πανεπιστημίου Αθήνας, Γ.Ν.Α. «Ιπποκράτειο»**²Βιοχημικό Τμήμα, Γ.Ν.Α. «Ιπποκράτειο»*

Εισαγωγή: Ο σακχαρώδης διαβήτης είναι μεταβολική διαταραχή που επηρεάζει μεγάλο μέρος του ηλικιωμένου πληθυσμού και σχετίζεται με αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο. Ακόμη και μη διαβητικά άτομα με υψηλά επίπεδα γλυκόζης νηστείας έχουν αυξημένη καρδιαγγειακή νοσηρότητα. Η κατανάλωση τσαγιού, μέσω αντιοξειδωτικών δράσεων, έχει συσχετισθεί με καρδιοπροστατευτική δράση. Στην παρούσα μελέτη αξιολογήθηκε η σχέση μεταξύ κατανάλωσης τσαγιού και επιπέδων γλυκόζης, σε δείγμα διαβητικών και μη, ηλικιωμένων κατοίκων της Ικαρίας, που έχει αναγνωρισθεί παγκοσμίως ως τόπος με χαμηλά ποσοστά καρδιαγγειακής θνητότητας και υψηλή μακροβιότητα.

Υλικό και Μέθοδοι: Από τον Ιούνιο έως τον Οκτώβριο του 2009, μελετήθηκαν 343 άνδρες και 330 γυναίκες, ηλικίας 65 έως 100 ετών. Οι διατροφικές συνήθειες αξιολογήθηκαν με ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων. Ένα διατροφικό σκορ που αξιολογεί τα εγγενή χαρακτηριστικά της μεσογειακής διατροφής (ΜΔ) υπολογίστηκε για κάθε άτομο (εύρος 0-55). Η διάγνωση του σακχαρώδους διαβήτη ετέθη όταν η γλυκόζη νηστείας πλάσματος ήταν μεγαλύτερα από 125 mg/dL ή επί ιστορικού χρήσης αντιδιαβητικών φαρμάκων.

Αποτελέσματα: 28% των ηλικιωμένων βρέθηκαν να πάσχουν από σακχαρώδη διαβήτη. Οι διαβητικοί σε σύγκριση με τους μη διαβητικούς είχαν την ίδια ηλικία (76±6 έναντι 75±6, $p=NS$), ήταν περισσότεροι άνδρες (55% έναντι 47%, $p=0,02$), χαμηλότερο επιπολασμό καπνιστών (16%

έναντι 18%, $p=0,02$), χαμηλότερη κατανάλωση τσαγιού (50% έναντι 57%, $p=0,03$), υψηλότερη συστολική αρτηριακή πίεση (148 ± 21 έναντι 141 ± 19 , $p=0,001$), υψηλότερα ποσοστά καρδιαγγειακής νόσου (26% έναντι 19%, $p=0,07$), υψηλότερο δείκτη μάζας σώματος ($29\pm 4,5$ έναντι 28 ± 4 , $p=0,01$) και χαμηλότερα επίπεδα χοληστερόλης (190 ± 44 έναντι 200 ± 40 , $p=0,01$), ενώ δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στο επίπεδο φυσικής δραστηριότητας, στα επίπεδα κρεατινίνης, στην κάθαρση κρεατινίνης και στη ΜΔ. Η ανάλυση γραμμικής παλινδρόμησης ανέδειξε ότι η κατανάλωση τσαγιού συσχετίζεται με χαμηλότερα επίπεδα γλυκόζης μόνο μεταξύ των μη διαβητικών ηλικιωμένων ατόμων ($Beta=-0,143$, $p=0,039$). Αντίθετα, η κατανάλωση τσαγιού δεν είχε καμία επίδραση στη γλυκόζη νηστείας σε διαβητικά άτομα.

Συμπεράσματα: Η κατανάλωση τσαγιού συσχετίζεται με μειωμένη γλυκόζη νηστείας σε ηλικιωμένα, μη διαβητικά άτομα, αποτυπώνοντας άλλη μια καρδιοπροστατευτική διατροφική παράμετρο των ηλικιωμένων κατοίκων, με υψηλά ποσοστά μακροζωίας, της νήσου Ικαρίας.

ΑΑ 33

Η ΣΩΜΑΤΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ ΕΛΑΤΤΩΝΕΙ ΤΟΝ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΟ ΚΙΝΔΥΝΟ ΣΕ ΗΛΙΚΙΩΜΕΝΟΥΣ ΜΟΝΙΜΟΥΣ ΚΑΤΟΙΚΟΥΣ ΤΟΥ ΝΗΣΙΟΥ ΙΚΑΡΙΑ ΑΝΕΞΑΡΤΗΤΑ ΑΠΟ ΤΟ ΒΑΘΜΟ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ

N. Γαλιατσάτος,² Χ. Χρυσόχου,¹ Β. Μεταξά,¹

Ι. Ανδρέου,¹ Γ. Σιάσος,¹ Σ. Λαγουδάκου,¹

Μ. Ζαρομυτίδου,¹ Ε. Χριστοφοράτου,¹ Ι. Σκούμας,¹

Ε. Οικονόμου,¹ Ν. Αλεξόπουλος,² Χ. Πίτσαβος,¹

Ν. Αλεξανδρόπουλος,² Χ. Στεφανιάδης¹

¹Α' Πανεπιστημιακή Καρδιολογική Κλινική Πανεπιστημίου Αθήνας, Γ.Ν.Α. «Ιπποκράτειο»

²Βιοχημικό Τμήμα, Γ.Ν.Α. «Ιπποκράτειο»

Εισαγωγή: Η φυσική δραστηριότητα έχει από καιρό συσχετιστεί με χαμηλότερα ποσοστά καρδιαγγειακής νοσηρότητας και θνησιμότητας. Πρόσφατα οι μόνιμοι κάτοικοι Ικαρίας φάνηκε ότι εμφανίζουν υψηλά ποσοστά μακροβιότητας και υγιούς γήρανσης. Η ύπαρξη φυσικής δραστηριότητας είναι ένας από τους κύριους παράγοντες υγιούς γήρανσης.

Σκοπός: Σε αυτή τη μελέτη αξιολογήσαμε τη σχέση μεταξύ του βαθμού φυσικής δραστηριότητας και της καρδιαγγειακής νόσου σε ηλικιωμένους κατοίκους Ικαρίας, ανεξάρτητα από το σωματικό βάρος.

Υλικό και Μέθοδοι: Από τον Ιούνιο μέχρι τον Οκτώβριο του 2009, μελετήσαμε 343 άνδρες και 330 γυναίκες ηλικίας από 65 έως 100 ετών, μόνιμους κατοίκους της Ικαρίας. Μεταξύ διαφόρων κοινωνικο-δημογραφικών παραγόντων, διατροφικών συνηθειών και συνηθειών του τρόπου ζωής όπως και κλινικών σημείων που αξιολογήθηκαν

κατά την κλινική εξέταση, εκτιμήθηκαν και καρδιαγγειακοί παράγοντες κινδύνου όπως η υπέρταση, ο διαβήτης, η υπερχοληστερολαιμία, η παχυσαρκία, ανθρωπομετρικοί δείκτες, ο βαθμός σωματικής δραστηριότητας και βιοχημικοί δείκτες που σχετίζονται με τον καρδιαγγειακό κίνδυνο, χρησιμοποιώντας το ερωτηματολόγιο IPAQ.

Αποτελέσματα: Η διαγεγνωσμένη καρδιαγγειακή νόσος υπήρχε στα 121 (18%) άτομα του υπό μελέτη πληθυσμού. Τα 401 (60%) άτομα ανέφεραν μέτρια φυσική δραστηριότητα, τα 159 (24%) υψηλή και τα υπόλοιπα (16%) χαμηλή φυσική δραστηριότητα. Εκείνοι με τον βαθμό υψηλής δραστηριότητας ήταν νεώτεροι (74 ± 6 vs. $76\pm 0,7$, $p=0,001$), ανδρικού φύλου (66% vs. 36%, $p=0,001$), είχαν μικρότερη περιφέρεια μέσης (101 ± 12 vs. 108 ± 11 , $p=0,001$), υψηλότερο επιπολασμό καπνίσματος (23% vs. 8%, $p=0,001$), κατανάλωση αλκοόλ (50% vs. 85%, $p=0,001$), υψηλότερο επιπολασμό υπερχοληστερολαιμίας (67% vs. 54%, $p=0,001$), υψηλότερη HDL (48 ± 11 vs. 45 ± 12 , $p=0,001$), χαμηλότερο επιπολασμό σακχαρώδους διαβήτη (33% vs. 27%, $p=NS$), και χαμηλότερο επιπολασμό καρδιαγγειακής νόσου (11% vs. 32%, $p=0,001$), ενώ δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές για τα επίπεδα της συστολικής και διαστολικής αρτηριακής πίεσης όπως και στις διατροφικές συνήθειες. Η ανάλυση λογισμικής παλινδρόμησης αποκάλυψε ότι ο βαθμός φυσικής δραστηριότητας συσχετιζόταν με 54% χαμηλότερες πιθανότητες να εμφανίσει κάποιος καρδιαγγειακή νόσο, μετά από προσαρμογή για παράγοντες όπως: φύλο, ηλικία, παχυσαρκία, σακχαρώδη διαβήτη και υπερχοληστερολαιμία. Επιπλέον, η πολύπαραγοντική ανάλυση μεταξύ όλων των κατηγοριών του ερωτηματολογίου IPAQ αποκάλυψε ότι η φυσική δραστηριότητα ελαττώνει το κίνδυνο καρδιαγγειακής νόσου ($p=0,032$). Κατά τη διαστρωμάτωση της ανάλυσης σύμφωνα με τις καπνιστικές συνήθειες, η φυσική δραστηριότητα ήταν ευεργετική στην εμφάνιση καρδιαγγειακού κινδύνου μόνο μεταξύ των μη καπνιστών ($OR=0,48$, $CI=0,33-0,77$, $p=0,001$). Επιπλέον, κατά τη διαστρωμάτωση της ανάλυσης σύμφωνα με το βαθμό παχυσαρκίας η φυσική δραστηριότητα ήταν ευεργετική και στους παχύσαρκους και μεταξύ των ατόμων με φυσιολογικό σωματικό βάρος (OR για παχύσαρκους=0,5, $CI=0,27-0,94$, $p=0,03$).

Συμπεράσματα: Η κατάσταση φυσικής δραστηριότητας φαίνεται να συσχετίζεται πολύ ισχυρά με παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου στους ηλικιωμένους ανεξάρτητα από την ύπαρξη παχυσαρκίας, αλλά όχι από τις καπνιστικές συνήθειες. Η φυσική δραστηριότητα που είναι αρκετά συχνή στους κατοίκους της Ικαρίας φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο για την υγιή γήρανση αυτού του πληθυσμού ο οποίος παρουσιάζει υψηλά ποσοστά μακροζωίας παγκοσμίως.

ΑΑ 34**ΕΥΕΡΓΕΤΙΚΗ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗΣ ΜΑΥΡΟΥ ΚΑΙ ΠΡΑΣΙΝΟΥ ΤΣΑΓΙΟΥ ΣΤΟ ΛΙΠΙΔΑΙΜΙΚΟ ΠΡΟΦΙΛ ΗΛΙΚΙΩΜΕΝΩΝ ΑΝΔΡΩΝ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΩΝ. ΜΕΛΕΤΗ ΙΚΑΡΙΑ**

N. Γαλιατσάτος,² X. Χρυσόχοου,¹ B. Μεταξά,¹

Γ. Βογιατζή,¹ Σ. Βογιατζόγλου,¹ Δ. Τσιαχρή,¹

Ε. Οικονόμου,¹ Κ. Δημητριάδης,¹ Γ. Μαρίνος,¹

Σ. Αθανασοπούλου,¹ Α. Βαλάτσου,¹ Χ. Πίτσαβος,¹

N. Αλεξανδρόπουλος,² X. Στεφανάδης¹

¹Α' Πανεπιστημιακή Καρδιολογική Κλινική Πανεπιστημίου Αθήνας, Γ.Ν.Α. «Ιπποκράτειο»

²Βιοχημικό Τμήμα, Γ.Ν.Α. «Ιπποκράτειο»

Εισαγωγή: Ο σακχαρώδης διαβήτης είναι μεταβολική διαταραχή που επηρεάζει μεγάλο μέρος του ηλικιωμένου πληθυσμού και σχετίζεται με αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο. Ακόμη και μη διαβητικά άτομα με υψηλά επίπεδα γλυκόζης νηστείας έχουν αυξημένη καρδιαγγειακή νοσηρότητα. Η κατανάλωση τσαγιού, μέσω αντιοξειδωτικών δράσεων, έχει συσχετισθεί με καρδιοπροστατευτική δράση. Στην παρούσα μελέτη αξιολογήθηκε η σχέση μεταξύ κατανάλωσης τσαγιού και επιπέδων γλυκόζης, σε δείγμα διαβητικών και μη, ηλικιωμένων κατοίκων της Ικαρίας, που έχει αναγνωριστεί παγκοσμίως ως τόπος με χαμηλά ποσοστά καρδιαγγειακής θνητότητας και υψηλή μακροβιότητα.

Υλικό και Μέθοδοι: Από τον Ιούνιο έως τον Οκτώβριο του 2009, μελετήθηκαν 343 άνδρες και 330 γυναίκες, ηλικίας 65 έως 100 ετών. Οι διατροφικές συνήθειες αξιολογήθηκαν με ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης

τροφίμων. Ένα διατροφικό σκορ που αξιολογεί τα εγγενή χαρακτηριστικά της μεσογειακής διατροφής (ΜΔ) υπολογίστηκε για κάθε άτομο (εύρος 0-55). Η διάγνωση του σακχαρώδους διαβήτη ετέθη όταν η γλυκόζη νηστείας πλάσματος ήταν μεγαλύτερα από 125 mg/dL ή επί ιστορικού χρήσης αντιδιαβητικών φαρμάκων.

Αποτελέσματα: 28% των ηλικιωμένων βρέθηκαν να πάσχουν από σακχαρώδη διαβήτη. Οι διαβητικοί σε σύγκριση με τους μη διαβητικούς είχαν την ίδια ηλικία (76 ± 6 έναντι 75 ± 6 , $p=NS$), ήταν περισσότεροι άνδρες (55% έναντι 47%, $p=0,02$), χαμηλότερο επιπολασμό καπνιστών (16% έναντι 18%, $p=0,02$), χαμηλότερη κατανάλωση τσαγιού (50% έναντι 57%, $p=0,03$), υψηλότερη συστολική αρτηριακή πίεση (148 ± 21 έναντι 141 ± 19 , $p=0,001$), υψηλότερα ποσοστά καρδιαγγειακής νόσου (26% έναντι 19%, $p=0,07$), υψηλότερο δείκτη μάζας σώματος ($29 \pm 4,5$ έναντι 28 ± 4 , $p=0,01$) και χαμηλότερα επίπεδα χοληστερόλης (190 ± 44 έναντι 200 ± 40 , $p=0,01$), ενώ δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στο επίπεδο φυσικής δραστηριότητας, στα επίπεδα κρεατινίνης, στην κάθαρση κρεατινίνης και στη ΜΔ. Η ανάλυση γραμμικής παλινδρόμησης ανέδειξε ότι η κατανάλωση τσαγιού συσχετίζεται με χαμηλότερα επίπεδα γλυκόζης μόνο μεταξύ των μη διαβητικών ηλικιωμένων ατόμων ($Beta=-0,143$, $p=0,039$). Αντίθετα, η κατανάλωση τσαγιού δεν είχε καμία επίδραση στη γλυκόζη νηστείας σε διαβητικά άτομα.

Συμπεράσματα: Η κατανάλωση τσαγιού συσχετίζεται με μειωμένη γλυκόζη νηστείας σε ηλικιωμένα, μη διαβητικά άτομα, αποτυπώνοντας άλλη μια καρδιοπροστατευτική διατροφική παράμετρο των ηλικιωμένων κατοίκων, με υψηλά ποσοστά μακροζωίας, της νήσου Ικαρίας.

Οπτική ανίχνευση του πολυμορφισμού CYP2C19*2 με διπλή αντίδραση επέκτασης εκκινητή και ταινία ξηρών αντιδραστηρίων με δύο ζώνες ανίχνευσης

Μαρία Α. Βλάχου¹, Κυριακή Μ. Γλυνού², Πηνελόπη Χ. Ιωάννου¹ και Θεόδωρος Κ. Χριστόπουλος^{3,4}

¹Τμήμα Χημείας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα. ²Medicon Hellas A.E., Γέρακας Αττικής. ³Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα. ⁴Ερευνητικό Ινστιτούτο Χημικής Μηχανικής και Χημικών Διεργασιών Υψηλής Θερμοκρασίας, Πάτρα.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα τελευταία χρόνια υπάρχει μεγάλο ενδιαφέρον για την ανάπτυξη μεθόδων ανίχνευσης σημειακών πολυμορφισμών που σχετίζονται με τον ξενοβιοτικό μεταβολισμό φαρμάκων. Στόχος της παρούσας εργασίας ήταν η ανάπτυξη μιας απλής και ταχείας μεθόδου ανίχνευσης του πιο κοινού πολυμορφισμού CYP2C19*2 (αντικατάσταση G→A), του γονιδίου CYP2C19 του κυτοχρώματος P450.

ΜΕΘΟΔΟΣ

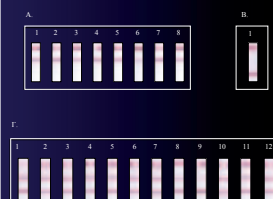
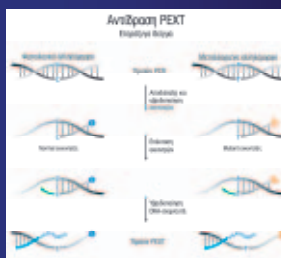
Τμήμα του γονιδίου που περιλαμβάνει τον πολυμορφισμό ενισχύεται μέσω PCR από γενωμικό DNA. Το προϊόν της PCR υποβάλλεται σε μία αντίδραση επέκτασης εκκινητή (PEXT) 6 κύκλων παρουσία δύο αλληλο-ειδικών εκκινητών, ενός φυσιολογικού, επισημασμένου στο 5' άκρο του με βιοτίνη, και ενός μεταλλαγμένου, επισημασμένου στο 5' άκρο του με φλουορεσκεΐνη. Το προϊόν της αντίδρασης PEXT περιέχει επίσης και ένα ολιγονουκλεοτίδιο - ανιχνευτή που είναι συμπληρωματικό της περιοχής επέκτασης των εκκινητών και φέρει στο 3' άκρο του ουρά poly (dA). Τα προϊόντα της αντίδρασης PEXT ανιχνεύονται σε ταινία ξηρών αντιδραστηρίων με δύο ζώνες δοκιμασίας. Ο εκκινητής που φέρει βιοτίνη ακινητοποιείται στη ζώνη της στρεπταβιδίνης και ο εκκινητής που φέρει φλουορεσκεΐνη ακινητοποιείται στη ζώνη που φέρει αντίσωμα έναντι της φλουορεσκεΐνης. Τέλος, σφαιρίδια χρυσού που είναι συζευγμένα με ουρά poly (dT), υβριδοποιούνται με το προϊόν ή τα προϊόντα της αντίδρασης PEXT μέσω αλληλεπίδρασης dA-dT, μόνο σε περίπτωση επέκτασης του εκκινητή.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Vlachou MA, Glynou KM, Ioannou PC, Christopoulos TK, Vartholomatos G., Biosens Bioelectron., 2010 Jun 25.
2. Glynou K, Ioannou PC, Christopoulos TK, Syriopoulou V., Anal Chem. 2003 Aug 15;75(16):4155-60.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στα πλαίσια βελτιστοποίησης του συστήματος πραγματοποιήθηκε μελέτη των παραμέτρων εκλεκτικότητας της αντίδρασης PEXT και της ταινίας διπλής ανίχνευσης με σκοπό τη μέγιστη διαφοροποίηση των προϊόντων επέκτασης των δύο αλληλίων. Η μέθοδος αξιολογήθηκε με την ανίχνευση του CYP2C19*2 σε 21 χαρακτηρισμένα δείγματα και τα αποτελέσματα της γονοτύπησης βρέθηκαν σε πλήρη συμφωνία.



: Ανάλυση δειγμάτων για τον προσδιορισμό γονοτύπου ως προς τη μετάλλαξη CYP2C19*2: (Α) φυσιολογικά δείγματα, (Β) δείγμα μεταλλαγμένου ομοζυγώτη, (Γ) δείγματα ετεροζυγώτων.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η παρούσα μέθοδος πλεονεκτεί έναντι των άλλων μεθόδων ανίχνευσης σημειακών πολυμορφισμών ως προς την ταχύτητα, απλότητα στην εκτέλεση, το χαμηλό κόστος, τη μη χρήση ειδικής οργανολογίας (ανίχνευση δια γυμνού οφθαλμού), ενώ για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων δεν απαιτείται ειδικά εκπαιδευμένο προσωπικό. Η μέθοδος μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ανίχνευση και άλλων γνωστών πολυμορφισμών/μεταλλάξεων με κατάλληλη επιλογή εκκινητών και ανιχνευτών.

AA 36

ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΗΣ ΟΞΕΙΔΩΜΕΝΗΣ LDL ΜΕ ΤΟ ΛΙΠΙΔΑΙΜΙΚΟ ΠΡΟΦΙΛ ΚΑΙ ΤΑ ΕΠΙΠΕΔΑ CRP ΟΡΟΥ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΝΕΦΡΙΚΗ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ ΣΕ ΑΙΜΟΚΑΘΑΡΣΗ

Ε. Σαμουηλίδη,¹ Α. Καρπούζα,¹ Ε. Γράψα,² Ε. Τζανάτου-Εξάρχου³

¹Βιοχημικό Τμήμα, Γ.Ν.Α «Αλεξάνδρα»

²Μονάδα Τεχνητού Νεφρού, Γ.Ν.Α «Αλεξάνδρα»

³Νεφρολογική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών, Γ.Ν. «Αρεταίειο»

Εισαγωγή: Η δυσλιποπρωτεϊναιμία και η μετατροπή της LDL στην οξειδωμένη της μορφή (oxLDL), είναι συνήθη φαινόμενα στους ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια και συντελούν στην ανάπτυξη οξειδωτικού στρες.

Σκοπός: Σκοπός της εργασίας ήταν η μελέτη της συσχέτισης μεταξύ της oxLDL ορού και της συγκέντρωσης λιπιδίων, λιποπρωτεϊνών, απολιποπρωτεϊνών καθώς και C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP) ασθενών με νεφρική ανεπάρκεια τελικού σταδίου σε αιμοκάθαρση (ΑΙΜΚ).

Υλικό και Μέθοδοι: Η μελέτη πραγματοποιήθηκε με 34 ασθενείς (19 άνδρες και 15 γυναίκες), ηλικίας 58±3 ετών (μέση τιμή ±SEM), που ήταν σε ΑΙΜΚ για διάστημα 73±16 μηνών. Σε κανένα από τους ασθενείς δεν γινόταν χορήγηση γλυκοκορτικοστεροειδών ή φάρμακων για τη μείωση των λιπιδίων. Η ΑΙΜΚ πραγματοποιείτο 3 φορές την εβδομάδα από 4 ώρες κάθε συνεδρία. Πρωινά δείγματα αίματος λάμβάνονταν μετά από 12ωρη νηστεία ακριβώς πριν τη δεύτερη εβδομαδιαία συνεδρία, για τη μέτρηση εξετάσεων σχετικών με τη νεφρική λειτουργία, τον έλεγχο ηλεκτρολυτών και λιπιδίων ορού. Η φυγοκέντρηση των δειγμάτων γινόταν 30' μετά την αιμοληψία, στα 2000xg και για 15' για την απομόνωση ορού, ο οποίος φυλασσόταν στους -80°C έως την ανάλυση. Η συγκέντρωση της CRP υψηλής ευαισθησίας (hs-CRP) προσδιορίστηκε με μέθοδο νεφελομετρίας και η oxLDL με μέθοδο ELISA.

Αποτελέσματα: Η ανάλυση συσχέτισης κατά Pearson μεταξύ της συγκέντρωσης oxLDL ορού και των μελετούμενων παραμέτρων έδειξε ισχυρή θετική συσχέτιση της oxLDL με τα επίπεδα της ολικής χοληστερόλης και της oxLDL με την LDL ($r=0,480$, $p=0,044$ και $r=0,544$, $p=0,019$ αντίστοιχα). Βρέθηκε επίσης αρνητική συσχέτιση μεταξύ της oxLDL με την HDL συγκέντρωση ($r=-0,589$, $p=0,027$). Η συσχέτιση της oxLDL με την συγκέντρωση της hs-CRP ήταν επίσης στατιστικώς σημαντική ($r=0,578$, $p=0,024$).

Συμπεράσματα: Τα υψηλά επίπεδα της οξειδωμένης LDL στους ασθενείς σε αιμοκάθαρση συσχετίζονται με χαμηλές συγκεντρώσεις HDL χοληστερόλης και υψηλά επίπεδα hs-CRP. Αυτό ενδέχεται να έχει σχέση με το μηχανισμό φλεγμονής και αρτηριοσκλήρυνσης που ενεργοποιείται στους χρόνια αιμοκαθαίρομενους ασθενείς.

AA 37

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΤΗΣ ΚΑΤΑΛΥΤΙΚΗΣ ΥΠΟΜΟΝΑΔΑΣ Α ΤΗΣ 3-ΚΙΝΑΣΗΣ ΤΗΣ ΦΩΣΦΑΤΙΔΥΛΟΪΝΟΣΙΤΟΛΗΣ (PIK3CA) ΣΕ ΟΓΚΟΥΣ ΤΟΥ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΤΗΣ ΓΥΝΑΙΚΑΣ

Π. Παπαλέξης,¹ Χ.Κ. Κοντός,¹ Π. Χριστόπουλος,²

Κ. Παπαδιάς,² Ν. Ανάγνου,³ Γ. Κρεατσάς,² Α. Σκορίλας¹

¹Τομέας Βιοχημείας και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών

²Β' Πανεπιστημιακή Μαιευτική & Γυναικολογική Κλινική, «Αρεταίειο» Νοσοκομείο

³Εργαστήριο Βιολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Αθηνών

Εισαγωγή: Οι 3-κινάσες της φωσφατιδυλοϊνositόλης (PI3Ks) είναι κινάσες φωσφοϊνositιδίων που ρυθμίζουν ένα πολύ σημαντικό μονοπάτι κυτταρικής σηματοδότησης, το οποίο εμπλέκεται σε μια πληθώρα διεργασιών, όπως στην επιβίωση των κυττάρων, τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, την κυτταρική προσκόλληση και την κινητικότητα. Οι κινάσες αυτές αποτελούνται από μια ρυθμιστική και μια καταλυτική υπομονάδα, μια εκ των οποίων είναι το καταλυτικό πολυπεπτίδιο α με μοριακό βάρος 110 kDa. Το γονίδιο που κωδικοποιεί την καταλυτική υπομονάδα α (PIK3CA) φαίνεται να βρίσκεται σε πολλαπλά αντίγραφα στο ανθρώπινο γονιδίωμα (γονιδιακή επέκταση) σε πολλές περιπτώσεις καρκίνου των ωθηκών, και αυτό οδηγεί συχνά σε αυξημένη έκφραση mRNA αυτού. Μια μικρότερου βαθμού γονιδιακή επέκταση του PIK3CA είναι, επίσης, συνηθισμένη στην καρκινογένεση του τραχήλου της μήτρας.

Σκοπός: Σκοπός της εργασίας ήταν η μελέτη της έκφρασης, σε επίπεδο mRNA, του γονιδίου PIK3CA σε κακοήθεις όγκους ενδομητρίου, τραχήλου μήτρας και ωθηκών, καθώς και σε καλοήθεις όγκους του γυναικείου αναπαραγωγικού συστήματος (ινομύματα).

Υλικό και Μέθοδοι: Συλλέχθηκαν 57 δείγματα ιστών γυναικών (πλακούντας, φυσιολογικός ιστός μήτρας, ινομύματα, καρκινικοί ιστοί από ενδομήτριο, τράχηλο και ωθήκες) από τη Β' Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου «Αρεταίειο». Έγινε ομογενοποίηση των ιστών με κονιορτοποίηση σε υγρό άζωτο, απομονώθηκε το ολικό RNA και ακολούθως παρασκευάστηκε cDNA με τη μέθοδο της αντίστροφης μεταγραφής. Στη συνέχεια, σχεδιάστηκαν ειδικοί εκκινητές PCR για την επιλεκτική ενίσχυση του cDNA του γονιδίου PIK3CA και έλαβε χώρα ποσοτικός προσδιορισμός της έκφρασης του γονιδίου PIK3CA με μεθοδολογία ποσοτικής PCR σε πραγματικό χρόνο (qRT-PCR) χρησιμοποιώντας τη χρωστική SYBR[®] Green. Το σταθερές έκφρασης

γονίδιο *GAPDH* χρησιμοποιήθηκε ως γονίδιο αναφοράς. Ακολούθησε εκτενής βιοστατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων.

Αποτελέσματα: Περίπου 40% των καρκινικών ιστών ενδομητρίου που μελετήθηκαν χαρακτηρίστηκαν ως θετικά, βάση του «cutoff» που προσδιορίστηκε, για την έκφραση mRNA του *PIK3CA*. Επίσης, η έκφραση των μεταγράφων mRNA του γονιδίου *PIK3CA* βρέθηκε ιδιαίτερα υψηλή στα δείγματα που εξετάστηκαν, έχοντας εύρος από 0,31 έως 3,95 c/c (μετάγραφα mRNA του *PIK3CA*/μετάγραφα mRNA του *GAPDH*). Η έκφραση mRNA του γονιδίου *PIK3CA* δεν βρέθηκε να σχετίζεται στατιστικώς σημαντικά με τον ιστολογικό τύπο (μη καρκινικοί ιστοί, ινομυώματα, καρκίνος του ενδομητρίου). Η λήψη ορμονών και το κάπνισμα, δύο γνωστοί προδιαθεσικοί παράγοντες, δεν επιδρούν στατιστικώς σημαντικά στην έκφραση mRNA του *PIK3CA*.

Συμπεράσματα: Η έκφραση του γονιδίου *PIK3CA*, σε επίπεδο mRNA, δεν σχετίζεται στατιστικώς σημαντικά με διάφορες κλινικοπαθολογικές παραμέτρους. Διαπιστώθηκε, όμως, υπερέκφραση του *PIK3CA*, σε επίπεδο mRNA, σε δείγματα καρκίνων του ενδομητρίου, γεγονός που συμφωνεί σε μεγάλο βαθμό με τη γονιδιακή επέκταση του *PIK3CA* που περιγράφεται στη διεθνή βιβλιογραφία και που ενισχύει τη σημαντικότητα του ρόλου του *PIK3CA* ως πιθανού ογκογονιδίου στον καρκίνο αυτό.

Η παρούσα εργασία εκπονήθηκε στα πλαίσια του Διατμηματικού Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών «Μοριακή Ιατρική» με χρηματοδότηση από το Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο και από Εθνικούς Πόρους (ΕΠΕΑΕΚ).

AA 38 GENETIC AND EPIGENETIC ANALYSIS OF *PALB2* GENE IN BREAST CANCER

N. Poupouridou,¹ N. Goutas² C. Tsionou,³ C. Dimas,¹ E. Lianidou,⁴ C. Kroupis¹

¹Clinical Biochemistry Department, Attikon University Hospital, University of Athens Medical School

²Pathology Laboratory, Evgenidio Hospital, University of Athens Medical School

³Breast Cancer Unit, Mitera Maternity and Surgery Hospital

⁴Analytical Chemistry Lab, Department of Chemistry, University of Athens

Introduction: Recent reports have included *PALB2* (Partner and localizer of *BRCA2*) in the growing list of hereditary cancer genes. Its mutations confer a moderate breast cancer risk in heterozygotes and Fanconi anemia in homozygotes (other name: *FANCM*). *PALB2* co-localizes with *BRCA2* (and *BRCA1*) in nuclear structures and enables error-free homologous recombination (HR) and

cycle checkpoint functions. Its important contribution to DNA repair, could be severely affected by epigenetic mechanisms. One such mechanism, methylation in the CpG island of the promoter, could silence its expression.

Methods: For the genetic analysis, 30 *BRCA(-)* Greek patients from families with breast and ovarian cancer were selected and the extracted DNA was subjected to PCR reactions with appropriate gene specific primers (IDT, USA). PCR products from all 13 *PALB2* exons and splice junctions were treated with ExoSAP-IT (USB). Then cycle sequencing reactions (Applied Biosystems, USA) were performed and unincorporated nucleotides were removed (NucleoSeq, Macherey Nagel, Germany). Finally, products were sequenced in the ABI310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, USA) and results were compared with the PubMed wild-type sequence. The epigenetic study was conducted in 15 frozen tissues from Greek patients with sporadic breast cancer. The extracted DNA was subjected to bisulfite conversion reaction (EZ-DNA Methylation-Gold Kit, Zymo, USA). Then, a Methylation-specific PCR methodology was developed and optimized with primers designed in silico (Invitrogen, USA).

Results: In two samples, the missense alteration c.1676A→G (Q559R) was detected and in other three samples the synonymous c.3300T→G. One specimen was detected positive for methylation in the *PALB2* promoter (8%).

Conclusions: The first *PALB2* genetic alterations in the Greek breast and ovarian cancer population were identified. Because of the rarity of mutations, methodologies for rapid scanning of mutations are urgently needed. The detection of the first *PALB2* methylated specimen in the Greek population indicates the importance of this tumorigenic mechanism.

AA 39 HPV16 VARIANT TYPING IN GREEK WOMEN WITH CERVICAL PRECANCEROUS LESIONS

S. Oliveira,¹ N. Poupouridou,¹ K. Mavrommatis,² N. Vourlidis,³ C. Kroupis¹

¹Clinical Biochemistry Dept, Attikon University Hospital, University of Athens Medical School

²Gynecology Clinic, Mitera Maternity and Surgery Hospital, Athens ³Cytology Laboratory, Mitera Maternity and Surgery Hospital, Athens

Introduction: Human papilloma virus (HPV) is the most common sexually transmitted agent worldwide and is responsible for precancerous lesions detected in the pap test and colposcopy-guided biopsies. HPV 16 and 18 are the most dangerous among oncogenic HPV types and are responsible for 70% of cervical cancer cases

worldwide. Persistent infection with an oncogenic HPV type is a known cause of progression to cervical cancer besides age, immune status and environmental influences. The purpose of this study is to identify variations in the DNA sequence of HPV16-infected Greek women that could facilitate our understanding of the imposed risk.

Methods: We used DNA from cervical samples of 45 Greek women with precancerous lesions (LSIL-HSIL) and simultaneous presence of HPV16 [average age: 29 years (range 20-77)]. A PCR reaction with specific primers in the E6 gene was performed (Invitrogen, USA) and treated with ExoSAP-IT (USB, USA). The cleaned products proceeded to Cycle sequencing (Big Dye Terminator, v1.1) and analysis in the ABI310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, USA). Results were compared with the prototype E6 HPV 16 sequence.

Results: The most frequently DNA alteration detected was the T350G (64.4%) leading to a leucine-to-valine change (L83V). Other mutations at the protein level were Q14H (2.2%)-H78Y (6.7%)-R17G (2.2%)-D56Y (2.2%)-R17I (2.2%)-Q14D (2.2%)-R17T (4.4%). Phylogenetic analysis based on E6 gene showed that the majority of cases (95.5%) belong to the European variant of HPV16 -with or without L83V- without any statistical difference between LSIL and HSIL patients. There were two samples belonging to variants NA1 and Af2. The second corresponds to a woman that progressed to cervical cancer despite intensive treatments.

Conclusions: This first report of HPV16 variants in the Greek population will help establish the relationship with the clinical course of disease. It will also be important for the design and efficacy of any E6/7 therapeutic vaccines arising in the future.

AA 40

ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ Α+Β+ ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΟΥ ΜΕΤΑΓΡΑΦΟΥ ΤΗΣ ΑΝΤΙΣΤΡΟΦΗΣ ΜΕΤΑΓΡΑΦΑΣΗΣ ΤΗΣ ΑΝΘΡΩΠΙΝΗΣ ΤΕΛΟΜΕΡΑΣΗΣ (hTERT) ΣΕ ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΝΤΑ ΚΑΡΚΙΝΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ (CTCS) ΘΕΤΙΚΑ ΣΤΗΝ ΚΥΤΤΑΡΟΚΕΡΑΤΙΝΗ 19 (CK-19) ΑΠΟ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΚΑΡΚΙΝΟ ΜΑΣΤΟΥ

Κ. Παρίση,¹ Α. Στρατή,¹ Ν. Μαλάμος,² Β. Γεωργούλιας,³ Ε.Σ. Λιανίδου¹

¹Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας, Τμήμα Χημείας, Ε.Κ.Π.Α.

²Ογκολογική Μονάδα, Νοσοκομείο «Ελενα Βενιζέλου»

³Εργαστήριο Βιολογίας του Καρκίνου, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Κρήτης, Ηράκλειο

Εισαγωγή: Η αντίστροφη μεταγραφή της ανθρώπινης τελομεράσης (hTERT) είναι η καταλυτική υπομονάδα της τελομεράσης, ενώ το α+β+ είναι το λειτουργικό εναλλακτικό μετάγραφο της hTERT. Τα κυκλοφορούντα καρκινικά

κύτταρα (CTCs) έχουν ήδη καθιερωθεί ως ισχυροί προγνωστικοί δείκτες σε ασθενείς με μεταστατικό καρκίνο μαστού. Η ερευνητική μας ομάδα έχει δείξει στο παρελθόν την προγνωστική σημασία των mRNA θετικών σε κυτταροκερατίνη 19 (CK-19) CTCs στον πρώιμο καρκίνο μαστού.

Σκοπός: Σκοπός της εργασίας ήταν η μελέτη της έκφρασης του α+β+ εναλλακτικού μεταγράφου της hTERT σε θετικά στην έκφραση της CK-19 CTCs με qRT-PCR.

Υλικό και Μέθοδοι: Χρησιμοποιήθηκε περιφερικό αίμα (20 ml σε EDTA) 24 ασθενών με πρώιμο καρκίνο μαστού πριν τη χορήγηση επικουρικής χημειοθεραπείας, 14 ασθενών με επιβεβαιωμένη μετάσταση και 17 υγιών γυναικών αιμοδοτών. Τα 39 δείγματα των ασθενών είχαν βρεθεί θετικά στην έκφραση της CK-19 με χρήση real time PCR (Stathopoulou et al, Int J Cancer 2006). Τα CTCs απομονώθηκαν με φυγοκέντρηση διαβαθμισμένης πυκνότητας με φικόλη, ακολούθησε εμπλουτισμός με ανοσομαγνητικά σφαιρίδια επικαλυμμένα με Ber-EP4, ενώ το mRNA απομονώθηκε χρησιμοποιώντας μαγνητικά σφαιρίδια επικαλυμμένα με ολιγο(dT)₂₅ και στη συνέχεια συντέθηκε cDNA. Η έκφραση του α+β+ μεταγράφου ελέγχθηκε τόσο στο κλάσμα των CTCs όσο και στο κλάσμα των PBMCs με qRT-PCR στο LightCycler (Mavroyiannou et al, Clin Chem, 2007).

Αποτελέσματα: Στα δείγματα CTCs mRNA θετικών στην CK-19 ανιχνεύθηκε έκφραση του α+β+ μεταγράφου σε 4/14 (29%) από ασθενείς με μετάσταση και σε 5/24 (21%) από ασθενείς με πρώιμο καρκίνο μαστού. Κανένα κλάσμα CTCs των 17 υγιών αιμοδοτών δε βρέθηκε θετικό στο μετάγραφο α+β+, ενώ τα αντίστοιχα PBMCs κλάσματα βρέθηκαν θετικά σε όλα τα δείγματα.

Συμπεράσματα: Από όσο γνωρίζουμε, αυτή είναι η πρώτη αναφορά έκφρασης του α+β+ εναλλακτικού μεταγράφου σε CTCs ασθενών με πρώιμο καρκίνο μαστού και επιβεβαιωμένη μετάσταση. Περαιτέρω μελέτες είναι απαραίτητες για την αξιολόγηση και επιβεβαίωση των ευρημάτων μας σε μεγαλύτερο αριθμό ασθενών.

AA 41

CYSTATIN M PROMOTER METHYLATION IN CELL-FREE DNA CIRCULATING IN PLASMA OF PATIENTS WITH NON-SMALL CELL LUNG CANCER

I. Balgouranidou,¹ P. Triantafyllou,¹ G. Sotiropoulou,² E. Tsaroucha,³ L. Kaklamanis,⁴ E.S. Lianidou¹

¹Laboratory of Analytical Chemistry, Department of Chemistry, University of Athens

²Department of Pharmacy, University of Patras

³"Sotiria" General Hospital for Chest Diseases

⁴Department of Pathology, Onassis Cardiac Surgery Center

Introduction: DNA methylation is a key event in tumorigenesis, since it can contribute to the inactivation

of tumor suppressor genes. *CST6* gene encodes cystatin M, a secreted inhibitor of lysosomal cysteine proteases which suppresses cell growth and invasion. *CST6* was found to be hypermethylated in breast cancer and other neoplasias.

Aim: The aim of the present work was to study for the first time the methylation status of *CST6* promoter in tumor tissues and circulating cell-free DNA in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC).

Patients and Methods: Lung carcinoma tissues and corresponding serum samples were obtained sequentially from 57 patients with NSCLC. Cell free circulating DNA was isolated from 200 μ L plasma from 48 out of these 57 patients and also from an independent group of 100 NSCLC patients, a total of 148 plasma tumor samples. A control group of 37 healthy individuals was detected. The extracted DNAs were subjected to a sodium bisulfite conversion reaction. Nested methylation specific polymerase reaction (MSP) for *CST6* promoter methylation was performed.

Results: *CST6* promoter was found to be methylated in 32/57 (56.1%) NSCLC tumor samples and in 26/57 (46.0%) adjacent non cancerous tissues. We evaluated for the first time the presence of *CST6* methylation in cell-free DNA circulating in plasma. *CST6* promoter was found methylated in 54/148 (36.5%) total NSCLC plasma samples but not in any of the control plasma samples.

Conclusions: This is the first time that *CST6* promoter methylation in cell free DNA circulating in plasma is reported. The detection of *CST6* promoter methylation in circulating cell-free DNA should be further evaluated as a biomarker in NSCLC patients in respect to their clinical outcome and overall survival.

AA 42 STUDY OF THE LEVELS OF HOMOCYSTEINE AND OF MEAN PLATELET VOLUME IN PATIENTS SUFFERING FROM CARDIOVASCULAR DISEASE

S. Arampatzi, C. Kanonidou, A. Nikolaidou, M. Karamouzis

Laboratory of Clinical Biochemistry, AHEPA University Hospital of Thessaloniki

Aim: Homocysteine (Hcy) is a sulfuric amino acid that is not taken up by nutrition but it composes a product of methionine amino acid metabolism. Hyperhomocysteinemia has been identified as an independent risk factor of cardiovascular disease and of thromboembolic incidents. It is well known that large platelets present greater functionality, produce more thromboxane A₂ (TXA₂), are more easily aggregated and present

increased expression of receptors on their membrane. Increased mean platelet volume (MPV) and platelet distribution width (PDW) have been connected to morbidity and cardiovascular mortality. Increased mean platelet volume (MPV) has been recognized as a risk factor for myocardial infarction in patients with coronary artery disease.

Purpose: The purpose of our study was the evaluation of the levels of homocysteine, of mean platelet volume and of platelet distribution width in patients with cardiovascular disease.

Materials and Methods: Our material consisted of 70 patients, (37 males and 33 females, aged 18-74 years old) suffering of coronary artery disease. A second group consisted of 40 healthy persons (20 males and 20 females of the same age group as the first). In these persons the levels of homocysteine (Hcy) were determined using the method of immunofluoropolarimetry on the AxSYM plus analyzer while the mean platelet volume (MPV) and the platelet distribution width (PDW) was calculated by the SYSMEX XE2100.

Results: Our results are presented on Table 1.

Table 1. Mean values (\pm SD) of Hcy, MPV and PDW in the group of patients and in the healthy group (H.G.).

Group	N	Hcy μ mol/l	MPV fL	PDW fL
H. G.	40	11.85 \pm 3.43	9.75 \pm 1.21	10.30 \pm 0.20
PATIENTS	70	*20.63 \pm 20.81	*11.17 \pm 0.97	*13.75 \pm 2.10

* $p < 0.05$

Mean values of Hcy, MPV and PDW on patients presented statistically significant difference ($p < 0.05$) with that of the healthy volunteer group. A positive correlation was found between the values of MPV and of PDW ($r = 0.648$, $p < 0.01$) while no positive correlation was found between the value of Hcy and the value of MPV or that of PDW.

Conclusions: From our study is concluded that the combination of measurement of levels of homocysteine in blood serum and of mean platelet volume are useful indices for the assessment of patients suffering of coronary artery disease and for their observation as far as the risk of new cardiovascular incidents is concerned.

ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΩΝ ΑΝΟΣΟΦΑΙΝΟΤΥΠΙΚΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ ΜΕ ΤΟΥΣ ΜΟΡΙΑΚΟΥΣ ΔΕΙΚΤΕΣ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΟΞΕΙΑ ΠΡΟΜΥΕΛΟΚΥΤΤΑΡΙΚΗΛΕΥΧΑΙΜΙΑ (ΟΠΛ)

Κ. Ψαρρά¹, Μ. Γαροφαλάκη², Ε. Γρηγορίου¹, Ε. Τζιότζιου², Μ. Παγώνη², Β. Καψιμάλη³, Ε. Νικολού², Ν. Χαρχαλάκης², Χρ. Παπαστεριάδη¹

1. Τμήμα Ανοσολογίας-Ιστοσυμβατότητας, Γ.Ν.Α. «Ο Ευαγγελισμός»
2. Κλινική Αιματολογική – Λεμφωμάτων και Εργαστήριο Μοριακής Βιολογίας, Γ.Ν.Α. «Ο Ευαγγελισμός»
3. Εργαστήριο Μικροβιολογίας, Ιατρική σχολή ΕΚΠΑ, Αθήνα

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Είναι γνωστό ότι για τη διάγνωση και παρακολούθηση της ΟΠΛ οι μοριακές τεχνικές αποτελούν μέθοδο αναφοράς, μέσω ανίχνευσης του υβριδικού γονιδίου PML/RARα, αν και ο ανοσοφαινότυπος με πολυπαραμετρική κυτταρομετρία ροής (ΠΚΡ) λόγω της ταχύτητας και της απλότητάς του φαίνεται να συνεισφέρει κύρια κατά τη διάγνωση.

ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η διερεύνηση της συνεισφοράς της ΠΚΡ στη μελέτη ασθενών με ΟΠΛ, με έμφαση στη συσχέτιση του ανοσοφαινότυπου με τους μοριακούς δείκτες.

ΜΕΘΟΔΟΙ-ΑΣΘΕΝΕΙΣ

Μελετήθηκαν 26 ασθενείς με ΟΠΛ, με ΠΚΡ. Στους ασθενείς αυτούς η διάγνωση και η παρακολούθηση έγινε παράλληλα με RTPCR ή/και RQ-PCR. Μελετήθηκαν επίσης μεταλλάξεις του γονιδίου FIt3 (ITD, TKD).

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. E. Paietta, et al. A Surrogate Marker Profile for PML/RARα Expressing Acute Promyelocytic Leukemia and the Association of Immunophenotypic Markers with Morphologic and Molecular Subtypes, Cytometry Part B (Clinical Cytometry), 59B:1-9 (2004)
2. B.A.A. Santana, et al. Asynchronous expression of myeloid antigens in leukemic cells in a PML/RARα transgenic mouse model, Braz J Med Biol Res, 39(5):615-620 (2006)
3. Uta Oelschlaegel, et al. HLA-DR^{neg} Patients Without Acute Promyelocytic Leukemia Show Distinct Immunophenotypic, Genetic, Molecular, and Cytomorphologic Characteristics Compared to Acute Promyelocytic Leukemia, Cytometry Part B (Clinical Cytometry) 76B:321-327 (2009)

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Όλοι οι ασθενείς παρουσίασαν κλασικό ανοσοφαινότυπο ΟΠΛ (CD33+ MPO+ HLADR- CD15+/- SSint CD45weak). Στο σύνολο των παραπάνω ασθενών ανιχνεύθηκε το υβριδικό γονίδιο PML/RARα (18 ασθενείς με μετάγραφο bcr1 και 8 με bcr3).

1) Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση ($p=0,009$) μεταξύ έκτοπης έκφρασης CD2 και μετάλλαξης στο FIt3, ενώ δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση με το είδος του μεταγράφου.

2) Αξίζει να σημειωθεί ότι οι ασθενείς με μετάγραφο bcr1 (12/18) παρουσίασαν θετικό το δείκτη CD117 με στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερη συχνότητα ($p=0,002$) σε σχέση με τους ασθενείς με bcr3, οι οποίοι παρουσίασαν φαινότυπο CD117 αρνητικό.

3) Οι ασθενείς με έκτοπη έκφραση δεικτών παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα σε σχέση με τα μοριακά ευρήματα.

Αριθμός ασθενών	Έκτοπη έκφραση	Μετάγραφο PML/RARα	Μεταλλάξεις FIt3
1	CD7	bcr1	-
4	CD2	bcr1(2)	ITD+
		bcr3(1)	TKD
		bcr1(1)	-
1	CD56	bcr3	-

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η ανίχνευση έκτοπης έκφρασης αντιγόνων συσχετίζεται με μεταλλάξεις του FIt3 γονιδίου. Ο ασυήθης CD117 αρνητικός φαινότυπος συσχετίζεται με το μετάγραφο bcr3 του PML/RARα. Ο ανοσοφαινότυπος με ΠΚΡ εκτός της συνεισφοράς του στην έγκαιρη και ταχεία διάγνωση της ΟΠΛ, φαίνεται να παρουσιάζει συσχετίσεις και με τους μοριακούς δείκτες. Αυτό που αξίζει να διερευνηθεί είναι η προγνωστική αξία αυτών των ευρημάτων σε μεγαλύτερη σειρά ασθενών.

AA 44**Η ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΗΣ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΤΩΝ ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΩΝ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ FLT3 ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΟΞΕΙΑ ΠΡΟΜΥΕΛΟΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ (ΟΠΛ)**

Μ. Παγώνη, Μ. Γαροφαλάκη, Ε. Τζιότζιου, Ε. Νικολού, Φ. Πανίτσας, Ε. Μπίκα, Α. Βούρτση, Σ. Δελήμαση, Σ. Γιγάντες, Ν. Χαρχαλάκης
 Αιματολογική - Λεμφωμάτων Κλινική και Εργαστήριο Μοριακής Βιολογίας, Γ.Ν.Α. «Ο Ευαγγελισμός»

Εισαγωγή: Οι μεταλλάξεις του γονιδίου Flt3, (ITDs, D835) ανιχνεύονται στην Οξεία Μυελογενή Λευχαιμία σε ποσοστό 20-30%, ενώ στην ΟΠΛ αναφέρονται μεγαλύτερα ποσοστά (30-50%). Οι μεταλλάξεις αυτές παρουσιάζουν ενδιαφέρον γιατί θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως προγνωστικός δείκτης ή/και δείκτης ελάχιστης υπολειμματικής νόσου (MRD). Ωστόσο, η αξία τους ως δείκτης MRD δεν έχει τεκμηριωθεί και η προγνωστική τους αξία δεν είναι αποσαφηνισμένη στην ΟΠΛ.

Υλικό και Μέθοδοι: Μελετήσαμε τη συχνότητα της παρουσίας των μεταλλάξεων του Flt3 και τη συσχέτισή τους με τα κλινικοεργαστηριακά ευρήματα στη διάγνωση και την έκβαση των ασθενών με ΟΠΛ, που διαγνώστηκαν στην Κλινική μας από το 1997 έως σήμερα.

Αποτελέσματα: Συνολικά αντιμετωπίστηκαν 56 ασθενείς βάσει του πρωτοκόλλου AIDA. Αναλύθηκαν δείγματα μυελού σε 44 ασθενείς στη διάγνωση, στο τέλος της θεραπείας σταθεροποίησης και στην υποτροπή. Μεταλλάξεις κατά τη διάγνωση ανιχνεύθηκαν σε 16 ασθενείς (ποσοστό 39%) (ITD n=9, D835 n=7). Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση της παρουσίας των μεταλλάξεων Flt3 με υψηλό αριθμό λευκών αιμοσφαιρίων (P=0,015), με την υποκοκκίωδη μορφή (M3V) (P=0,03) και οριακά σημαντική συσχέτιση με ασθενείς υψηλού κινδύνου (P=0,09). Υπήρχε τάση συσχέτισης των μεταλλάξεων του Flt3 με το μετάγραφο bcr3. Σημειώθηκαν 9 πρώιμοι θάνατοι. Έλεγχος μεταλλάξεων έγινε σε 4 από τους ασθενείς αυτούς, οι 3 ήταν θετικοί (ITD n=2, D835 n=1). Δεν υπήρξε διαφορά στην ανταπόκριση στη θεραπεία εφόδου ανάμεσα στους θετικούς και αρνητικούς για τις μεταλλάξεις ασθενείς. Εννέα ασθενείς υποτροπίασαν, από αυτούς οι 3 θετικοί για μεταλλάξεις στη διάγνωση (ITD n=1, D835 n=2). Κανείς δεν ήταν θετικός στην υποτροπή. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός της επαναλαμβανόμενης ανίχνευσης της μετάλλαξης D835 σε έναν ασθενή, που παραμένει PML/RARa αρνητικός μετά τη θεραπεία σταθεροποίησης επί 4 έτη. Λόγω του μικρού αριθμού των ασθενών δε μπορεί να συσχετισθεί η παρουσία των μεταλλάξεων του Flt3 με την επιβίωση χωρίς νόσο και τη συνολική επιβίωση.

Συμπεράσματα: Η παρουσία των μεταλλάξεων Flt3 φαίνεται να σχετίζεται με αρνητικούς προγνωστικούς παράγοντες (υψηλός αριθμός λευκών αιμοσφαιρίων, M3V, υψηλού κινδύνου ασθενείς, bcr3) στους ασθενείς με ΟΠΛ, γεγονός που οδηγεί στην εκτίμηση ότι εμπλέκονται στη μοριακή παθογένεια και βιολογία της νόσου. Τα ευρήματά μας δείχνουν ότι οι μεταλλάξεις του Flt3 δεν μπορούν να αποτελέσουν μοριακό δείκτη για την παρακολούθηση της MRD, γεγονός συμβατό με τα βιβλιογραφικά δεδομένα.

AA 45**ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΩΝ ΒΙΟΧΗΜΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ CEA, EGFR, GA 733-2, CA19-9 ΣΤΟΝ ΟΡΟ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ**

Α. Μουρτζίκου,¹ Χ. Κρούπης,¹ Σ. Χριστοδούλου,² Μ. Σκόνδρα,³ Δ. Πεκτασίδης,³ Γ. Αθανασάς,² Κ. Δήμα¹
¹Εργαστήριο Κλινικής Βιοχημείας, Π.Γ.Ν. «Αττικόν»
²Δ' Χειρουργική Κλινική, Π.Γ.Ν. «Αττικόν»
³Ογκολογική Κλινική, Π.Γ.Ν. «Αττικόν»

Εισαγωγή: Ο καρκίνος του παχέος εντέρου αποτελεί τον τρίτο σε συχνότητα καρκίνο για τους άντρες και τις γυναίκες και τη δεύτερη κατά σειρά αιτία θανάτου από καρκίνο και αντιπροσωπεύει το 13% όλων των καρκίνων. Η έγκαιρη διάγνωσή του, η σταδιοποίηση της νόσου, η επιλογή του κατάλληλου θεραπευτικού σχήματος αλλά και η εξατομίκευση της θεραπείας, αποτελούν τους βασικούς άξονες της σύγχρονης ιατρικής ογκολογίας και εργαστηριακής διαγνωστικής.

Σκοπός: Η μέτρηση των βιοχημικών δεικτών CEA, EGFR, GA 733-2 και CA19-9 στους ορούς ασθενών με καρκίνο του παχέος εντέρου. Για τους δείκτες GA 733-2 (ErCAM) και EGFR έγινε επικύρωση μεθόδων (analytical validation) με αντιδραστήρια που είναι προς το παρόν για ερευνητική χρήση. Συσχετίστηκαν οι δείκτες με τα κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά.

Υλικό και Μέθοδοι: Στην εργασία μας συμπεριλήφθηκαν 50 ασθενείς: 20 της χειρουργικής κλινικής (προ-εγχειρητικά) και 30 ασθενείς της ογκολογικής κλινικής (προ και κατά τη χημειοθεραπεία). Την ομάδα ελέγχου αποτέλεσαν 40 υγιείς αιμοδότες (30 άνδρες και 10 γυναίκες). Οι δείκτες CEA και CA19-9 μετρήθηκαν με ECLIA στον αυτόματο αναλυτή Cobas® 6000 της ROCHE, ενώ οι δείκτες EGFR και ErCAM (GA 733-2) με in house ELISA.

Αποτελέσματα: Οι μετρηθέντες βιοχημικοί δείκτες έδωσαν γραμμική συσχέτιση των δεικτών μεταξύ τους: συσχέτιση μεταξύ του CEA και του CA 19-9 (Spearman r=0,520, ρ=0,000), του CEA με το GA733-2 (Spearman r=0,464, ρ=0,001) και του CA 19-9 με το GA733-2 (Spearman r=0,436, ρ=0,002). Με τη δοκιμασία Mann-Whitney U διαπιστώθηκε ότι οι μέσες τιμές

των CEA (Mann-Whitney $11=649,500$, $\rho=0,000$), CA 19-9 (Mann-Whitney $11=555,000$, $\rho=0,000$) και EGFR (Mann-Whitney $11=0,000$, $P=0,000$) διαφοροποιούνται μεταξύ της ομάδας ελέγχου και της ομάδας των ασθενών στον πληθυσμό. Διαφοροποιούνται τα CA 19-9 (Kruskal-Wallis chi-square= $14,782$, $df=6$, $p=0,022$) και το GA733-2 (Kruskal-Wallis chi-square= $17,293$, $df=6$, $p=0,008$) στα διάφορα στάδια της νόσου. Διαφοροποιούνται τα CEA (Kruskal-Wallis chi-square= $4,681$, $df=1$, $\rho=0,031$), CA19-9 (Kruskal-Wallis chi-square= $4,040$, $df=1$, $p=0,044$) και GA733-2 (Kruskal-Wallis chi-square= $5,478$, $df=1$, $p=0,019$) στις ομάδες κλινικής κατάστασης των ασθενών τον πληθυσμό. Σχεδιάστηκαν επίσης καμπύλες ROC για τους εν λόγω δείκτες, με στόχο την ορθότερη αξιολόγηση και σύγκριση τους ως προς τη διαγνωστική ευαισθησία και ειδικότητα τους, στο σύνολο των δειγμάτων που μελετήθηκαν και τον καθορισμό του cut off value. Με βάση τις καμπύλες ROC και με 95% διάστημα εμπιστοσύνης για κάθε δείκτη προκύπτει ότι: το CA19-9 είναι ο δείκτης με τη μεγαλύτερη ευαισθησία (66,7%) στον καρκίνο του παχέος εντέρου θεωρείται δε ο καλύτερος προγνωστικός δείκτης, παράλληλα με τη σταδιοποίηση κατά Dukes, ενώ το CEA, το CA 19-9 και το EpCAM (GA733-2) είναι δείκτες με παρόμοια ειδικότητα (80%, 80% και 84% αντίστοιχα) για τη διαφοροποίηση των ασθενών με μεταστάσεις στον καρκίνο του παχέος εντέρου. Ο δείκτης EGFR είναι δείκτης χαμηλότερης ευαισθησίας (57,1%) και ειδικότητας (52%).

Συμπεράσματα: Αυτή ήταν μία πρώτη μελέτη η οποία μετά το πενταετές το follow-up αυτής της ομάδας ασθενών, αλλά και σε μεγαλύτερο δείγμα ασθενών θα μας επιτρέψει να εξάγουμε ασφαλέστερα συμπεράσματα για τη διαγνωστική ευαισθησία και ειδικότητα των ως άνω βιοδεικτών.

ΑΑ 46

ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΜΕΤΡΗΣΗΣ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΤΡΙΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ ΚΑΡΚΙΝΟΥ [CA 15-3, CA 125, CA 19-9] ΣΕ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΟΡΟΥ ΜΕΤΑΞΥ ΤΩΝ ΑΝΟΣΟΧΗΜΙΚΩΝ ΑΝΑΛΥΤΩΝ AXSYM ΚΑΙ ARCHITECT I2000SR.

Λ. Κυρίου,¹ Θ. Μπόννη,¹ Ε. Βεργενάκη,¹ Ε. Ανταλής,¹ Χ. Ψαχούλια,¹ Χ. Πάντζιου,¹ Α. Μουσταφέλλου,¹ Ε. Μπεκύρος,² Ε. Γεροβαγγέλη,³ Μ. Βασιλαματζής,⁴ Ζ. Ζουλλιέν¹

¹Βιοχημικό Τμήμα, Γ.Ν.Α. «Ο Ευαγγελισμός»

²Πάροχος "Lisora", Τμήμα Ανοσολογίας-Ιστοσυμβατότητας, Γ.Ν.Α. «Ο Ευαγγελισμός»

³Τμήμα Αιμοδοσίας Γ.Ν.Α. «Ο Ευαγγελισμός»

⁴Ογκολογική Κλινική Γ.Ν.Α. «Ο Ευαγγελισμός»

Εισαγωγή: Οι δείκτες καρκίνου (ΔΚ) CA 15-3, CA 125, CA 19.9 είναι γλυκοπρωτεϊνικά αντιγόνα μεγάλου

ΜΒ (~300 kDa, 200-250 kDa, ~1000 kDa αντίστοιχα), για τα οποία δεν υπάρχουν διεθνή πρότυπα βαθμονόμησης, ούτε μέθοδοι αναφοράς. Επιπρόσθετα είναι γνωστό ότι η μέτρηση των επιπέδων τους στον ορό μέσω ανοσοαναλύσεων ενσωματωμένων σε αυτόματους αναλυτές διαφορετικών κατασκευαστών αποκαλύπτει σημαντική διακύμανση των αποτελεσμάτων μεταξύ ίδιων δειγμάτων, ανάλογα με τον τύπο της ανοσοανάλυσης, τα χρησιμοποιούμενα αντι σώματα και την ειδικότητα των αντιδραστηρίων.

Σκοπός: Στα πλαίσια της αλλαγής των αντιδραστηρίων και συνοδού εξοπλισμού για την μέτρηση των ΔΚ στο Βιοχημικό Τμήμα, σκοπός της μελέτης υπήρξε η αξιολόγηση ύπαρξης διαφορών στα επίπεδα τιμών των τριών παραπάνω ΔΚ μεταξύ των μετρήσεων, στον παλαιότερο αναλυτή AxSYM (MEIA), και των αντίστοιχων μετρήσεων, στον νεότερο αναλυτή ARCHITECT i2000 (CMIA). Τελικός στόχος υπήρξε η ενημέρωση των κλινικών ώστε, βάσει των νέων δεδομένων, να αξιολογηθούν σωστά τα αποτελέσματα ΔΚ για τους ασθενείς του Νοσοκομείου και κυρίως για όσους συστηματικά παρακολουθούνται από την Ογκολογική Κλινική, δηλ. η κατά το δυνατόν ομαλή μετάβαση στην νέα μεθοδολογία προσδιορισμού των ΔΚ.

Υλικά και Μέθοδοι: Πραγματοποιήθηκαν παράλληλες μετρήσεις και με τις δύο μεθοδολογίες σε ορούς και των δύο φύλων προερχόμενων (α) από ασθενείς της Ογκολογικής Κλινικής του Γ.Ν.Α. «Ο Ευαγγελισμός» κατά το διάστημα 4.11.2009-2.2.2010 και (β) από υγιείς αιμοδότες, αρνητικούς στον έλεγχο για HIV, HBsAg, HCV και HTLV από το Τμήμα Αιμοδοσίας του Νοσοκομείου. Στον αυτόματο ανοσοχημικό αναλυτή AxSYM (ABBOTT) χρησιμοποιείται η μέθοδος MEIA (microparticle enzyme immunoassay), η οποία είναι μια ενζυμιοανοσοανάλυση με φθορισμογόνο υπόστρωμα. Στον αυτόματο ανοσοχημικό αναλυτή ARCHITECT i2000 (ABBOTT) χρησιμοποιείται η μέθοδος CMIA (chemiluminescence microparticle immunoassay), η οποία είναι ανοσοανάλυση χημειοφωταύγειας. Η αναζήτηση και στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε μέσω του προγράμματος "Lisora", που αποτελεί το LIS (Laboratory information system) του Βιοχημικού Εργαστηρίου και διαθέτει την ανάλυση γραμμικής παλινδρόμησης και το t-test, που χρησιμοποιήθηκαν στην σύγκριση των αποτελεσμάτων των ΔΚ με τις δύο προαναφερθείσες μεθοδολογίες.

Αποτελέσματα: Για την σύγκριση των αποτελεσμάτων του CA 15-3 μετρήθηκαν 213 οροί ασθενών της Ογκολογικής Κλινικής (73♂ και 140♀) και 100 οροί υγιών μαρτύρων (77♂ και 23♀). Για τους ασθενείς ευρέθη συντελεστής συσχέτισης $r=0,979$, συντελεστής προσδιορισμού $r^2=0,958$. Για τους υγιείς $r=0,956$, $r^2=0,913$, δηλ. πολύ ισχυρές συσχετίσεις για το CA 15-3 και στις δύο

ομάδες. Για την σύγκριση των αποτελεσμάτων του CA 125 μετρήθηκαν 375 οροί ασθενών της Ογκολογικής Κλινικής (199♂ και 176♀) και 22 οροί υγιών γυναικών αιμοδοτριών. Για τους ασθενείς ευρέθη $r=0.971$, $r^2=0.942$. Για τους υγιείς $r=0.963$, $r^2=0.927$, δηλ. πολύ ισχυρές συσχετίσεις για το CA 125 και στις δύο ομάδες. Για την σύγκριση των αποτελεσμάτων του CA 19.9 μετρήθηκαν 304 οροί ασθενών της Ογκολογικής Κλινικής (187♂ και 117♀) και 100 οροί υγιών αιμοδοτών (77♂ και 23♀). Για τους ασθενείς ευρέθη $r=0.829$, $r^2=0.686$, δηλ. οριακά πολύ ισχυρή συσχέτιση. Για τους υγιείς $r=0.744$, $r^2=0.554$, δηλ. ισχυρή συσχέτιση.

Συμπεράσματα: Η μέτρηση των υπο συζήτηση ΔΚ δεν μπορεί να εφαρμόζεται εναλλακτικά μεταξύ των αναλυτών AxSYM και ARCHITECT i2000 (Abbott) για τη συστηματική παρακολούθηση ασθενών λόγω σημαντικής διασποράς των τιμών, παρά την πολύ ισχυρή συσχέτιση (περίπτωση CA 15-3, CA 125) και ισχυρή συσχέτιση (περίπτωση CA 19.9) μεταξύ των δύο μεθόδων. Ιδιαίτερα για το CA 19.9, είναι απαραίτητο να γίνεται επανεκτίμηση των βασικών επιπέδων ορού σε κάθε ασθενή (rebaselining) με την νέα μεθοδολογία. Δεδομένου ότι τα παραπάνω αποτελέσματα αφορούν δύο ανοσοανάλυσεις όπου χρησιμοποιούνται αντισώματα της ίδιας εταιρείας (Fujirebio Diagnostics), εφαρμοσμένες σε δύο

ανοσοχημικούς αναλυτές της ίδιας κατασκευάστριας εταιρείας (Abbott), δεν φαίνεται ικανοποιητική η ερμηνεία των παρατηρούμενων διαφορών μόνο εξ αιτίας της μετάβασης από ενζυμοανάλυση με φθορισμογόνο υπόστρωμα σε ανοσοανάλυση χημειοφωταύγειας. Η φύση αυτών των μεγαλομοριακών γλυκοπρωτεϊνικών αντιγόνων και η έλλειψη διεθνών προτύπων για εναρμόνιση των ποκίλων αυτοματοποιημένων ανοσοπροδιορισμών μπορεί να θεωρηθούν ως πιθανές αιτίες της ευρεθείσας ασυμφωνίας, κύρια για το CA 19-9.

Βιβλιογραφία:

1. La'ulu SL and Roberts WL. Performance characteristics of five automated CA 19-9 assays. *Am J Clin Pathol* 2007;127:436-440.
2. Mongia SK, Rawlins ML, Owen WE and Roberts WL. Performance characteristics of seven automated CA 125 assays. *Am J Clin Pathol* 2006;125:921-927.
3. Slev PR, Rawlins ML and Roberts WL. Performance characteristics of seven automated CA 15-3 assays. *Am J Clin Pathol* 2006;125:752-757.
4. Packer SD, White P, Jewess P et al. Measurement of preparation of the Mucin tumor marker antigens on different immunoassay platforms - assessment of candidate reference material. *Clin Chem* 2009;55(6): A119.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ ΥΠΟΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΜΕ ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑ ΡΟΗΣ ΣΕ ΜΥΕΛΟΔΥΣΠΛΑΣΤΙΚΑ ΣΥΝΔΡΟΜΑ

Βαλαντή Ε. (1,2), Ψαρρά Κ. (2), Καψιμάλη Β. (3), Γρηγορίου Ε. (2),
Κουσουλάκος Σ. (1), Παπαστεριάδη Χρ. (2)

(1) Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών
(2) Τμήμα Ανοσολογίας-Ιστοσυμβατότητας, Γ.Ν.Α «Ο Ευαγγελισμός», Αθήνα
(3) Εργαστήριο Μικροβιολογίας, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Στα Μυελοδυσπλαστικά Σύνδρομα (MDS) εκτός της μυελικής σειράς, γίνονται προσπάθειες μελέτης και της λεμφικής σειράς.

ΣΚΟΠΟΣ

Η ανάλυση με κυτταρομετρία ροής (ΚΡ) του ανοσοφαινότυπου υποπληθυσμών λεμφοκυττάρων στο μυελό των οστών (Bone Marrow, BM) και περιφερικό αίμα (Peripheral Blood, PB) ασθενών με MDS, με σκοπό την ανίχνευση πιθανής διαταραχής της ανοσορρύθμισης.

ΜΕΘΟΔΟΙ-ΑΣΘΕΝΕΙΣ

Αναλύθηκαν δείγματα BM φυσιολογικών μαρτύρων (n=32) και ασθενών με MDS [n=37, 11 Low-Risk (5 RA, 3 RARS, 3 RCMD), 9 RAEB-1, 17 RAEB-2], MDS/AML (n=13) και MDS/MPD (n=2). Επιπλέον, μελετήθηκαν δείγματα PB φυσιολογικών μαρτύρων (n=14) και ασθενών με MDS [n=11, 4 Low-Risk (3 RA, 1 RCMD), 2 RAEB-1, 5 RAEB-2], MDS/AML (n=1) και MDS/MPD (n=2). Εφαρμόστηκε ΚΡ τετραπλού φθορισμού και τα πρωτόκολλα συνδυασμών: (I) CD4/CD127/CD3/CD25, για τον υποπληθυσμό των μη ενεργοποιημένων CD4⁺ T λεμφοκυττάρων (CD4⁺CD25⁻CD127^{high}) και (II) CD45/CD4/CD8/CD3-CD45/CD(56+16)/CD19/CD3, για τους άλλους υποπληθυσμούς λεμφοκυττάρων.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Iwase, O., et al. Analysis of bone marrow and peripheral blood immunoregulatory lymphocytes in patients with myelodysplastic syndrome, *Ann Hematol.* 1995, 74(6): 293-9.
- Hamdi, W., et al. Clinical significance of regulatory T cells in patients with myelodysplastic syndrome, *Eur J Haematol.*, 2009, 82(3): 201-7.
- Alfinito, F., et al. Immune dysregulation and dyserythropoiesis in the myelodysplastic syndromes, *Br J Haematol.*, 2010, 148(1): 90-8

Η παραπάνω Αναρτημένη Ανακοίνωση, παρουσιάστηκε κατά τη διάρκεια του 9^{ου} Πανελληνίου Συνεδρίου Κλινικής Χημείας

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Όσον αφορά το BM (Πίνακας 1), οι ασθενείς με MDS σε σχέση με τους φυσιολογικούς μάρτυρες παρουσίασαν: α) στατιστικά σημαντικά αυξημένο ποσοστό CD8⁺ T λεμφοκυττάρων (p=0.045) και β) μειωμένο ποσοστό μη ενεργοποιημένων CD4⁺ T λεμφοκυττάρων (p<0.001). Το ποσοστό των μη ενεργοποιημένων CD4⁺ T λεμφοκυττάρων βρέθηκε, επίσης, μειωμένο και σε ασθενείς με MDS/AML και MDS/MPD σε σχέση με τους φυσιολογικούς μάρτυρες (p=0.012 και p=0.001, αντίστοιχα). Τέλος, οι ασθενείς με MDS παρουσίασαν στατιστικά αυξημένο ποσοστό NKT [CD3⁺CD(16+56)⁺] (p=0.013, not shown).

Όσον αφορά το PB (Πίνακας 2), τόσο η υποκατηγορία RAEB-1 των MDS όσο και οι ασθενείς με MDS/MPD σε σχέση με την ομάδα ελέγχου εμφάνισαν μειωμένα ποσοστά CD8⁺ T λεμφοκυττάρων (p=0.026 και p=0.057, αντίστοιχα) και αυξημένα ποσοστά μη ενεργοποιημένων CD4⁺ T λεμφοκυττάρων (p=0.039).

BM Πίνακας 1	CD8 ⁺ T λεμφοκυτ. (%)	Μη ενεργοπ. CD4 ⁺ T λεμφοκυτ. (%)
	Mean values ±SD, p value	Mean values ±SD, p value
MDS-CONTROL	32.91 ± 12.12* vs 27.86 ± 8.32, p=0.045	36.97 ± 18.16 vs 51.08 ± 11.30, p<0.001
MDS/AML-CONTROL	p ns (όχι στατιστικά σημαντικό)	34.30 ± 19.87 vs 51.08 ± 11.30, p=0.012
MDS/MPD-CONTROL	p ns	20.63 ± 15.31 vs 51.08 ± 11.30, p=0.001

PB Πίνακας 2	CD8 ⁺ T λεμφοκυτ. (%)	Μη ενεργοπ. CD4 ⁺ T λεμφοκυτ. (%)
	Mean values ±SD, p value	Mean values ±SD, p value
RAEB-1-CONTROL	12.35 ± 2.19 vs 23.79 ± 5.52, p=0.026	68.38 ± 9.62 vs 47.26 ± 14.55, p=0.039
MDS/MPD-CONTROL	16.50 ± 0.71 vs 23.79 ± 5.52, p=0.057	63.54 ± 4.67 vs 47.26 ± 14.55, p=0.039

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Οι ασθενείς με MDS, MDS/AML και MDS/MPD παρουσιάζουν διαταραχές των υποπληθυσμών λεμφοκυττάρων στο BM και στο PB. Περαιτέρω μελέτη της λεμφικής σειράς, μπορεί να βοηθήσει στη διερεύνηση ανοσολογικών μηχανισμών, που επηρεάζουν την εξέλιξη των MDS.

ΑΑ 48**ΜΗ ΕΠΕΜΒΑΤΙΚΗ ΠΡΟΓΕΝΝΗΤΙΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΟΥ ΦΥΛΟΥ ΤΟΥ ΕΜΒΡΥΟΥ ΑΠΟ ΕΛΕΥΘΕΡΟ ΕΜΒΡΥΙΚΟ DNA ΤΗΣ ΜΗΤΡΙΚΗΣ ΚΥΚΛΟΦΟΡΙΑΣ**

Π. Αποστόλου,¹ Α. Κολιαλέξη,¹ Γ. Τούντα,¹ Χ. Βρεττού,¹ Ν. Παπαντωνίου,² Α. Αντσακλής,² Ε. Καναβάκης,¹ Α. Μαύρου¹

Εισαγωγή: Προγεννητική διάγνωση (ΠΔ) του φύλου του εμβρύου ενδείκνυται σε κήσεις αυξημένου κινδύνου εμφάνισης φυλοσύνδετου γενετικού νοσήματος καθώς και σε περιπτώσεις οικογενειακού ιστορικού που σχετίζεται με την ανάπτυξη αμφίβολων εξωγεννητικών οργάνων. Η ΠΔ πραγματοποιείται συνήθως με μελέτη γενετικού υλικού του εμβρύου που λαμβάνεται με βιοψία τροφοβλάστης ή με αμνιοκέντηση. Οι δύο αυτές τεχνικές όμως είναι επεμβατικές, με κίνδυνο αποβολής του εμβρύου ~1%. Μη επεμβατικός προσδιορισμός του φύλου του εμβρύου γίνεται συνήθως με υπερηχογράφημα και είναι εφικτός μετά την 11^η εβδομάδα της κύησης.

Σκοπός: Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η ανάπτυξη μιας αξιόπιστης και ευαίσθητης μεθόδου μη επεμβατικής ΠΔ του φύλου του εμβρύου το 1^ο τρίμηνο της κύησης από ελεύθερο εμβρυϊκό DNA που απομονώνεται από το περιφερικό αίμα της εγκύου.

Υλικά και Μέθοδοι: 7 ml περιφερικού αίματος σε EDTA ελήφθησαν από 70 εγκύους την 6-12 εβδομάδα της κύησης και η απομόνωση του ελεύθερου DNA έγινε με εμπορικά διαθέσιμο σύστημα. Όλες οι γυναίκες είχαν εγγραφώς δώσει τη συγκατάθεσή τους. Ακολούθησε πέψη με τη χρήση ενδονουκλεάσης ευαίσθητης στη μεθυλίωση (Acel) για την απομάκρυνση των μη μεθυλιωμένων αλληλουχιών μητρικής προέλευσης του γονιδίου *RASSF1A* και αντίδραση πολλαπλού PCR για τον ταυτόχρονο πολλαπλασιασμό αλληλουχιών των γονιδίων *SRY* και *DYS14* του χρωμοσώματος Y, του *RASSF1A* και της *ACTB* για επιβεβαίωση επιτυχούς ενζυμικής πέψης. Η ανίχνευση των προϊόντων πολλαπλασιασμού έγινε σε αυτόματο αναλυτή.

Αποτελέσματα: Η διάγνωση ήταν επιτυχής σε όλες τις περιπτώσεις χωρίς ψευδώς θετικά ή αρνητικά ευρήματα. Αλληλουχίες του χρωμοσώματος Y διαπιστώθηκαν σε 38 δείγματα. Στα 32 δείγματα με έμβρυο κορίτσι η παρουσία ελεύθερου εμβρυϊκού DNA επιβεβαιώθηκε από τον πολλαπλασιασμό αλληλουχιών του γονιδίου *RASSF1A* με ταυτόχρονη απουσία αλληλουχιών της *ACTB*.

Συμπέρασμα: Η μη επεμβατική ΠΔ από ελεύθερο εμβρυϊκό DNA είναι εφικτή ήδη από την 6^η εβδομάδα της κύησης και δίνει τη δυνατότητα περιορισμού των προγεννητικών ελέγχων που πραγματοποιούνται για φυλοσύνδετα νοσήματα.

ΑΑ 49**ΜΗ ΕΠΕΜΒΑΤΙΚΟΣ ΠΡΟΓΕΝΝΗΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ RHD ΤΟΥ ΕΜΒΡΥΟΥ ΑΠΟ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΟ ΑΙΜΑ ΤΗΣ ΕΓΚΥΟΥ**

Γ. Τούντα,¹ Α. Κολιαλέξη,¹ Π. Αποστόλου,¹ Χ. Βρεττού,¹ Ν. Παπαντωνίου,² Α. Αντσακλής,² Ε. Καναβάκης,¹ Α. Μαύρου¹

Εισαγωγή: Η ανοσοποίηση λόγω ασυμβατότητας του συστήματος Rh μεταξύ μητέρας-εμβρύου θεωρείται η συχνότερη αιτία αιμολυτικής νόσου του εμβρύου και του νεογνού που μπορεί να οδηγήσει σε αναιμία, εμβρυϊκό ύδρωπα ή ενδομήτριο θάνατο. Ο κίνδυνος ευαισθητοποίησης της εγκύου αντιμετωπίζεται με την προληπτική χορήγηση υπεράνοσης αντι-RhD σφαιρίνης σε όλες τις RhD αρνητικές εγκύους. Το 40% των RhD-αρνητικών εγκύων λαμβάνει έτσι άσκοπα ανοσοπροφύλαξη αφού κυοφορεί RhD-αρνητικό έμβρυο. Ο προγεννητικός έλεγχος (ΠΕ) του συστήματος RhD του εμβρύου μπορεί να πραγματοποιηθεί με μελέτη του γενετικού του υλικού που λαμβάνεται με βιοψία τροφοβλάστης ή με αμνιοπαρακέντηση. Οι δύο αυτές τεχνικές έχουν κίνδυνο αποβολής για το έμβρυο ~1% και αυξάνουν τον κίνδυνο ευαισθητοποίησης της εγκύου.

Σκοπός: Σκοπός της μελέτης είναι η ανάπτυξη αξιόπιστης και ευαίσθητης μεθόδου μη επεμβατικού ΠΕ του συστήματος RhD του εμβρύου από ελεύθερο DNA (cffDNA) της μητρικής κυκλοφορίας.

Υλικά και Μέθοδοι: 7 ml περιφερικού αίματος σε EDTA ελήφθησαν από 84 εγκύους 7-24 εβδομάδων. Όλες οι γυναίκες είχαν εγγραφώς δώσει τη συγκατάθεσή τους. Η απομόνωση του cffDNA έγινε με εμπορικά διαθέσιμο σύστημα. Ακολούθησε πέψη με τη χρήση ενδονουκλεάσης ευαίσθητης στη μεθυλίωση (Acel) για την απομάκρυνση των μη μεθυλιωμένων αλληλουχιών μητρικής προέλευσης του γονιδίου *RASSF1A* και αντίδραση πολλαπλού PCR για τον ταυτόχρονο πολλαπλασιασμό αλληλουχιών του γονιδίου *SRY*, των εξόνων 7 και 10 του *RHD* γονιδίου, του *RASSF1A* και της *ACTB*. Η ανίχνευση των προϊόντων πολλαπλασιασμού έγινε σε αυτόματο αναλυτή.

Αποτελέσματα: Αλληλουχίες του *RHD* γονιδίου ανιχνεύτηκαν σε 55 δείγματα. Σε 29 δείγματα με αρνητικό *RHD* αποτέλεσμα η παρουσία ελεύθερου εμβρυϊκού DNA επιβεβαιώθηκε από πολλαπλασιασμό του *SRY* και/ή του *RASSF1A* απουσία *ACTB*. Η διάγνωση ήταν επιτυχής σε 83/84 περιπτώσεις, ενώ διαπιστώθηκε και ένα ψευδώς θετικό αποτέλεσμα.

Συμπέρασμα: Ο μη επεμβατικός ΠΕ του συστήματος RhD από cffDNA είναι ακριβής, αξιόπιστος και η χρήση του μπορεί να περιορίσει την προληπτική χορήγηση υπεράνοσης αντι-RhD σφαιρίνης στις κήσεις με πραγματικό κίνδυνο ευαισθητοποίησης.

ΑΑ 50**ΜΕΛΕΤΗ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΟΞΥ ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ**Χ. Κανονίδου,¹ Σ. Αραμπατζή,¹ Ε. Κανονίδου,¹Α. Καλυκάκη,¹ Α. Νικολαΐδου,¹ Μ. Καραμούζης,² Ε. Δίζα¹¹Αιματολογικό Τμήμα, Εργαστήριο Μικροβιολογίας,

Π.Γ.Ν.Θ. ΑΧΕΠΑ

²Εργαστήριο Βιοχημείας, Π.Γ.Ν.Θ. ΑΧΕΠΑ

Εισαγωγή: Η έγκαιρη διάγνωση των ασθενών με οξύ στεφανιαίο σύνδρομο (ΟΣΣ) παραμένει μία εργαστηριακή πρόκληση. Οι τροπονίνες I (cTnI) και T (cTnT) αποτελούν τους καταλληλότερους βιοχημικούς δείκτες, με το μειονέκτημα ότι απαιτούνται περίπου 4 ώρες για να ανιχνευθεί η αύξηση των επιπέδων τους. Τα αιμοπετάλια παίζουν σημαντικό ρόλο στο σχηματισμό των αθηρωματικών βλαβών και στην απόφραξη των στεφανιαίων αρτηριών. Ο μέσος όγκος (MPV) και το εύρος κατανομής των αιμοπεταλίων (PDW) αποτελούν δείκτες αιμοπεταλιακής λειτουργικότητας και ενεργοποίησης, και ο MPV θεωρείται ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου επαναστένωσης των στεφανιαίων αρτηριών. Η αξιολόγηση των αιμοπεταλιακών δεικτών στη διάγνωση του ΟΣΣ συνιστά αντικείμενο μελέτης.

Σκοπός: Η μελέτη των μεταβολών του αριθμού των αιμοπεταλίων, του MPV και του PDW σε ασθενείς με ΟΣΣ και φυσιολογικούς μάρτυρες και η συσχέτισή τους με τις τιμές της cTnT.

Υλικό και Μέθοδοι: Εξετάστηκαν δείγματα αίματος 61 ασθενών με συμπτωματολογία προκάρδιου άλγους και βιοχημικά ευρήματα συμβατά με ΟΣΣ (cTnT>0,01 ng/ml) και 49 υγιών μαρτύρων αντίστοιχου φύλου και ηλικίας. Ασθενείς με αιματολογικές παθήσεις ή υπό αγωγή με αντιαιμοπεταλιακά αποκλείστηκαν. Ο προσδιορισμός των αιμοπεταλιακών δεικτών έγινε με τον αναλυτή XE-2100 Sysmex(ROCHE) με οπτική μέθοδο με φθορισμό και της cTnT με τον αναλυτή Elecsys Modular E170(ROCHE) με ανοσοδοκιμασία ηλεκτροχημειοφωταύγεια.

Αποτελέσματα: Οι ασθενείς με ΟΣΣ παρουσίασαν σημαντικά υψηλότερες τιμές του MPV (10,76±0,90 fL vs 9,79±0,61 fL, $p<0,001^*$) και του PDW (13,65±2,42 fL vs 12,64±0,43 fL, $p<0,001^*$) σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες. Ο αριθμός των αιμοπεταλίων στην ομάδα των ασθενών ήταν 229,14±77,52 K/μl_ και σε εκείνη των μαρτύρων 253,44±60,68 K/μl_ ($p=0,075$). Οι αιμοπεταλιακοί δείκτες δεν παρουσίασαν σημαντική συσχέτιση με τις τιμές της τροπονίνης ($p>0,05$).

Συμπεράσματα: Στους ασθενείς με ΟΣΣ οι τιμές των MPV και ο PDW βρέθηκαν σημαντικά υψηλότερες συγκρινόμενες με αυτές των υγιών μαρτύρων. Επειδή ο προσδιορισμός των παραπάνω παραμέτρων αποτελεί μία απλή και χαμηλού κόστους εργαστηριακή εξέταση, θα ήταν χρήσιμη η αξιολόγησή τους σε συνδυασμό με τους βιοχημικούς δείκτες για την έγκαιρη διάγνωση των ασθενών με ΟΣΣ.

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΣΥΓΓΡΑΦΕΩΝ

Assimakopoulou T.	66	Triantafyllou P.	63	Δέδε Β.	52
Babalís D.	65, 66	Tsafaras C.	69	Δεληπάλλα Ι.	34
Bairaktari E.	26	Tsaroucha E.G.	63, 65, 68	Δεστούνη Α.	28
Bakouri E.	70	Tsarouhas K.	69	Δήμου Β.	34
Balgkouranidou I.	63	Tselepis A.	26	Διαρεμέ Μ.	38
Cokkinos D.V.	26	Tsitsimpikou C.	69, 70	Δοβρίκη Ε.	44
Constantinou L.	69	Tzitzira A.	70, 71	Δρακοπούλου Α.	41
Dafni C.	26, 64	Varhalama E.	65	Ελευθεριάδης Μ.	27
Dagla K.	64	Voridis E.	71, 72	Ελευθερίου Φ.	39
Demponeras C.	65, 66	Yotova L.	40	Ελισάφ Μ.	33
Drakopoulos I.	65, 66	Zanov K.	40	Έλληνα Μ.Ι.	39
Drakoulis N.	26, 64	Zografos T.A.	71, 72	Εμμανουηλίδου Ε.	16
Elisaf M.	26	Zoubouloglou F.	65, 66	Ζαβαρόπουλος Π.	60
Georgoulías V.	28, 67, 68, 70, 71	Αγγουρίδης Ά.	33	Ζαφειροπούλου Β.	39
Giazitzoglou E.	71, 72	Αδαμόπουλος Σ.	61, 62	Ζερβού Ε.	25, 41
Goudar C.T.	36	Αθανασιάδου Ζ.	34, 35	Ζήση Σ.	33
Haliassos A.	65, 66, 69, 71, 72	Ακάλεστος Α.	27, 34	Ζουλιέν Ζ.	37, 41, 42, 52, 62
Kafkas N.	65, 66	Αλέπη Χ.	58	Ηλιάδη Α.	54
Kaklamanis L.	63, 65, 68	Αναγνωστόπουλος Κ.	43	Θεοχάρης Σ.	29, 53
Kapsimali V.	64	Αναγνώστου Γ.	48	Ιακωβίδου Α.	35
Katritsis D.G.	71, 72	Αναγνώστου-Κακαρά Ε.	42	Ιωαννίδου Σ.	41, 42
Kazakou P.	26	Αντωνάκης Γ.	42	Ιωάννου Π.	30, 54
Kioulafa M.	70, 71	Αποστολάκης Κ.	33	Ιωάννου-Αμαραντίδου Π.	30
Konstantinidou N.	65	Αποστολάκου Φ.	34	Καλλέας Χ.	43
Korovesis S.	71, 72	Αποστολιδης Ν.	62	Καλογερά Χρ.	12
Kostara C.	26	Αρμελίδου Α.	48	Καλογιάννη Δ.Π.	12
Kyriakides Z.	69	Άρσος Γ.	34, 35	Καναβάκης Ε.	30, 54
Lianidou E.S.	28, 63, 64, 65, 67, 68, 70, 71	Ασημακοπούλου Α	39, 43	Κάντζιος Α.	37
Makris K.	65, 66	Ασهماκούρα Ε.	30	Κάντζιου Ε.	45, 47, 48
Malamos N.	28, 67, 68, 70, 71	Βαλάρη Ο.	25, 35, 41, 44	Κάππου Π.	42
Markou A.	28, 67, 68	Βαλασούλης Γ.	35	Καραγγέλης Δ.Ε.	43
Matsuhashi S.	68	Βαρθολομάτος Γ.	35, 44	Καρακατσάνης Κ.	34, 35
Ozaki I.	68	Βασιλειάδης Κ.	37	Καράκου Ε.	61, 62
Pantiliari E.	70	Βερναρδής Σ.	36	Καραμάνης Γ.	44
Papasteriades C.	64	Βικεντίου Μ.	3, 63	Καραμάνος Ν.Κ.	29, 39, 43
Passi A.	29	Βίνη Μ.	25, 41	Καραμούτσιος Α.	44
Petraki M.	26	Βλαζάκης Β.	27, 34	Καραπαυλίδου Π.	45, 46, 47, 48, 60
Petraki P.	66	Βλάχου Ι.	12	Καραχρήστου Χ.	48
Potamitis S.	65, 66	Βράιλα Β.Μ.	54	Καρίκας Γ.Α.	49
Psarra K.	64	Γαβριέλη Ά.	28	Καρίκας Γ.	44
Rentoukas E.	69	Γαροφαλάκη Μ.	37	Καρκαλούσος Π.	38, 50
Rizos D.	65	Γεώργα Κ.	51	Καρπούζα Α.	58
Sotiropoulou G.	70, 71	Γαλελή Χρ.	39	Κατσαρώνης Π.	53
Sourvinou I.S.	68	Γιωτάκης Ι.	51	Καττάμης Α.	34
Spyridakis S.	64	Γουργιώτης Δ.	54	Καυκαρισίου Μ.	58
Strati A.	28, 65, 67, 68, 71	Γούτου Α.	57, 59	Καψιμάλη Β.	31, 33, 63
Theodoropoulos C.	63	Γράψα Ε.Ι.	58	Κέλλα Σ.	44, 51
Traeger-Συνοδινού J.	30, 54	Γρηγοράτου Α.	37, 52	Κλάπα Μ.Ι.	11, 36, 40
		Δαδιώτης Λ.	58	Κόκκαλης Β.	52

Κολαΐτης Ν.Ι.	44	Μπουρίκας Γ.	43	Σβούκας Α.	34
Κολιόπουλος Γ.	35	Νικηφοράκης Ε.	37	Σδράνης Γ.	12
Κολιός Γ.	12	Νικολαΐδης Κ.	44	Σιδηράς Γ.	45, 46
Κολιού Π.	44	Νικολού Ε.	37	Σκενδέρη Κ.	28
Κολοκυθά Α.	58	Νούσης Λ.	25, 41	Σούληη Κ.	49
Κορρές Στ.	51	Ντεγιάννης Δ.	61, 62	Σούφης Ε.	52
Κορτσάρης Α.	43	Ντόβα Λ.	25, 35, 41, 44	Σηγλιοπούλου Ί.	13
Κουράκλη-Συμεωνίδου Α.	34	Ντογραματζή Φ.	34, 35	Σπυροπούλου Π.	58
Κουράκλη Γ.Π.	53	Νώση Ε.	31	Σταθάκη-Φερδερίγου Α.	53
Κουρή Μ.	57	Ξενίδου Π.	35	Σταμουλακάτου Α.	30
Κουρτίδου Δ.	39	Οπλοποιάδης Δ.	56	Σταυρινού Λ.	62
Κουσάβα Α.Γ.	58	Παγώνη Μ.	37	Στολάκης Β.	53
Κούτρας Δ.	52	Παλαιολόγου Ν.	54	Στράντζαλης Γ.	62
Κραββαρίτου Μ.	51	Πάλλη Ζ.	53	Στράντζαλης Ν.	57, 59
Κρούπης Χ.	17	Παναγογιαννοπούλου Ε.	48	Σωτηρίου Ο.	45, 46, 47, 48, 60
Κώνστα Ε.	63	Παναγοπούλου Β.	58	Ταλίδης Φ.	25, 56
Κωσταρά Χ.	33	Παπαϊωάννου Ν.	58	Τέντες Ι.	43
Κώτση Ε.	58	Παπαϊωάννου Α.	44, 51	Τζανάτου-Εξάρχου Ε.	58
Λαδής Β.	34	Παπανδρέου Α.	53	Τζιάμαλης Μ.	45
Λενακάκη Α.	58	Παπανίκος Φ.	54	Τζιότζιου Ε.	37
Λιανού Β.	51	Παπαρρίζου Ζ.	59	Τουλιάτος Γ.	59
Λυκόκα Ε.	53	Παπασιλέκας Θ.	62	Τουρίκη Ε.	52
Λυμπεράκη Ε.	39	Παπαστεριάδη Χ.	31, 33, 63	Τράκας Ν.	61, 62
Μαζαρακιώτη Ε.	29	Παπασωτηρίου Ι.	30, 34	Τριβυζάκης Μ.	57
Μαλαβάκη Χ	29, 39	Παπαχρήστου Δ.Ι.	14	Τρούγκος Κ.	29, 53
Μάντζου Α.	37, 41	Παρασκευαΐδης Ε.	35	Τσαϊρέλη Β.	52
Μαργαρίτης Δ.	43	Παρθύμος Θ.	49	Τσακίρης Θ.	49
Μαργέλη Α.	28	Παρθύμος Ν.	49	Τσακίρης Στ.	49
Μαρκέλλου Χ.	29	Πασσαλίδου Ι.	45, 46, 47, 48, 60	Τσαταλάς Κ.	43
Μάρκου Α.	52	Πατιάκας Σ.	25, 55, 56	Τσεχελίδης Ι.	34, 35
Μαρμαρινός Α.	54	Πατρινός Γ.Π.	11	Τσιλιμίγκας Ν.Β.	43
Μάσσης Η.	47, 48	Πετροπούλου Μ.	30	Τσιρώνη Μ.	28
Ματσάγγος Σ.	58	Πέτρου Χ.	39	Τσιτσιλώνη Ο.	31
Μαυρογιάννη Δ.	29	Πέτσιου Α.	44	Τσολάκη Χ.	51
Μαυρογιώργου Μ.	25, 35, 41	Πιπεράκη Κ.	53	Φουφοπούλου Ε.	57
Μελέτης Γ.	35	Πλαγεράς Π.	44, 51	Φραντζάκη Π.	30
Μελπίδης Κ.	52	Πολίτου Δ.	42, 62	Φυλακτού Ε.	30
Μελπίδου Α.	37, 52	Πουλάκη Ε.	53	Χαιδάρογλου Α.	61, 62
Μηνόπουλος Ι.	48	Πουλάς Κ.	16	Χαλιάσος Α.	27
Μήτκα Σ.	39	Πρίγκος Ν.	53	Χαραλάμπους Χ.	25, 56
Μητσιακάρης Δ.	25, 55	Προμπονά Α.	42	Χαρίσης Γ.	41
Μιρκοπούλου Α.	46, 47	Ρέκλος Γ.	49	Χαρχαλάκης Ν.	37
Μιχαήλ Α.	25, 55, 56	Ρήγας Γ.	44	Χασιάκος Δ.	27
Μιχαηλίδη Χ.Ι.	53	Ρηνώτα Ελ.	63	Χάσιου Α.	45, 46, 47
Μοσχονάς Ν.Κ.	13	Ρίζος Δ.	27	Χατζηγιάνη Α.	44
Μπαϊρακτάρη Ε.	12, 33	Ρίζου Μ.	27	Χατζής Θ.	48
Μπαλταδάκης Ι.	37	Ρίτης Δ.	57, 59	Χελιώτη Ε.	28
Μπαξεβάνος Γ.	44	Ρουσάκης Ν.	55	Χλαπουτάκης Σ.	61, 62
Μπαρζελιώτου Α.	28	Ρούσος Κ.	25, 55, 56	Χριστόπουλος Θ.	12, 30, 54
Μπεκούλη Μ.	42	Σακαγιάννης Γ.	34, 35	Χρυσανθόπουλος Π.Κ.	36
Μπεκύρος Ε.	41	Σακελλάριος Θ.	58	Ψαρρά Κ.	31, 33, 63
Μπένου Ν.	53	Σαμαντάς Ε.	59	Ψαχούλια Χ.	62
Μπίκα Ε.	37	Σαμουηλίδη Ε.	58		

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΡΟΕΔΡΩΝ - ΣΥΝΤΟΝΙΣΤΩΝ - ΟΜΙΛΗΤΩΝ

Landegren U.	Prof. Dept of Genetics and Pathology, Uppsala University, Sweden
Patel D.	Immunology Division Representative UK NEQAS for Immunology
Αθανασιάδου Α.	Καθηγήτρια Γενικής Βιολογίας-Μοριακής Γενετικής, Πανεπιστήμιο Πατρών
Εμμανουηλίδου Ε.	Συνεργαζόμενος Ερευνητής, Εργαστήριο Νευροεκφυλιστικών Νόσων, Κέντρο Προληπτικής Ιατρικής, Νευροεπιστημών και Κοινωνικής Ψυχιατρικής Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών της Ακαδημίας Αθηνών (ΙΙΒΕΑΑ)
Θεοδώρου Γ.	Χημικός, Αιμοδοσία, Π.Γ.Ν. Πατρών
Καλογιάννη Δ.	Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Πατρών
Καρακάντζα Μ.	Επίκουρη Καθηγήτρια Εργαστηριακής Αιματολογίας, Αιμοδοσία Πανεπιστημιακή Αιματολογική Κλινική, Π.Γ.Ν. Πατρών
Καραμάνος Ν.	Καθηγητής Βιοχημείας, Πανεπιστήμιο Πατρών
Καράμπαμπα Φ.	Βιολόγος, Επικεφαλής Επιθεωρήτρια Συστημάτων Ποιότητας
Κλάπα Μ.	Εντεταλμένη Ερευνήτρια (Γ Βαθμίδας), Επικεφαλής Εργαστηρίου Μεταβολικής Μηχανικής και Συστημικής Βιολογίας, Ινστιτούτο Χημικής Μηχανικής & Χημικών Διεργασιών Υψηλής Θερμοκρασίας (ΕΙΧΗΜΥΘ/ΙΤΕ), Ίδρυμα Τεχνολογίας και Έρευνας (ΙΤΕ)
Κολιός Γ.	Χημικός, Βιοχημικό Εργαστήριο, Π.Γ.Ν. Ιωαννίνων
Κορδοπάτης Π.	Καθηγητής, Εργαστήριο Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων, Τμήμα Φαρμακευτικής, Πανεπιστήμιο Πατρών
Κρούπης Χ.	Λέκτορας Κλινικής Βιοχημείας-Μοριακής Βιολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Π.Γ.Ν. «Αττικόν»
Μακρής Γ.	Σύλλογος Μυασθενών Ελλάδος (H-MGA)
Μοσχονάς Ν.	Καθηγητής Βιολογίας-Ιατρικής Μοριακής Γενετικής, Ιατρική Σχολή, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών
Μπαϊρακτάρη Ε.	Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Κλινικής Χημείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων
Ονουφρίου Α.	Βιολόγος, Υπεύθυνη Βιοχημικού Εργαστηρίου, Π.Γ.Ν. Πατρών
Παναγιωτάκης Ο.	Κλινικός Χημικός, Βιοχημικό Τμήμα, Γ.Ν.Α. «Ο Ευαγγελισμός»
Παπανικόλας Π.	Διευθύνων Σύμβουλος, Γέφυρα Α.Ε.

Παπαχρήστου Δ.Ι.	Επίκουρος Καθηγητής, Εργαστήριο Ανατομίας-Ιστολογίας-Εμβρυολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Πατρών
Πατρινός Γ.	Επίκουρος Καθηγητής Φαρμακογονιδιωμικής, Τμήμα Φαρμακευτικής, Πανεπιστήμιο Πατρών
Πουλάς Κ.	Λέκτορας Βιοχημείας, Εργαστήριο Μοριακής Βιολογίας και Ανοσολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Πανεπιστήμιο Πατρών
Ρίζος Δ.	Χημικός, Επίκουρος Καθηγητής Κλινικής Χημείας Ιατρικής Σχολής, Πανεπιστήμιο Αθηνών
Σπηλιοπούλου Ί.	Καθηγήτρια, Εργαστήριο Μικροβιολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Πατρών
Σταθάκη-Φερδερίγου Α.	Διευθύντρια Βιοχημικού Τμήματος, Αντικαρκινικό-Ογκολογικό Ν.Α. «Ο Άγιος Σάββας»
Ταραβήρας Σ.	Επίκουρος Καθηγητής Φαρμακολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Πατρών
Τζάρτος Σ.	Καθηγητής Ανοσοβιολογίας, Εργαστήριο Μοριακής Νευρολογίας και Ανοσολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Πανεπιστήμιο Πατρών
Χαλιάσος Α.	Ιατρός-Κλινικός Χημικός, EurClinChem
Χριστόπουλος Θ.	Καθηγητής, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Πατρών
Ψαρά Κ.	Χημικός, Τμήμα Ανοσολογίας-Ιστοσυμβατότητας, Γ.Ν.Α. «Ο Ευαγγελισμός»



ΕΘΝΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΔΙΑΠΙΣΤΕΥΣΗΣ

Η διαπίστευση ενός **κλινικού εργαστηρίου**, σύμφωνα με το διεθνές πρότυπο ΕΛΟΤ EN ISO 15189, αποτελεί την επίσημη αναγνώριση ότι το εργαστήριο αυτό λειτουργεί με την απαιτούμενη τεχνική επάρκεια και την υπευθυνότητα, που αρμόζει στον ευαίσθητο χώρο των υπηρεσιών υγείας.



Η διαπίστευση κλινικών εργαστηρίων αναδεικνύει:

- ✓ την ορθή εργαστηριακή λειτουργία τους
- ✓ την υψηλή ποιότητα των παρεχόμενων υπηρεσιών τους
- ✓ την αξιοπιστία και εγκυρότητα των αποτελεσμάτων των ελέγχων & κλινικών δοκιμών που εκτελούν



Τα οφέλη από τη διαπίστευση ενός κλινικού εργαστηρίου είναι:

- ✓ η εξασφάλιση συγκρίσιμων αποτελεσμάτων ομοειδών μεθόδων εργαστηριακών δοκιμών
- ✓ η απόκτηση εμπιστοσύνης εκ μέρους του πολίτη στα αποτελέσματα των κλινικών δοκιμών
- ✓ η ενίσχυση του κύρους του εργαστηρίου και η βελτίωση της ανταγωνιστικότητάς του

Ένα κλινικό εργαστήριο, διαπιστευμένο από το Ε.Σ.Υ.Δ., αναγνωρίζεται ευρωπαϊκά και διεθνώς για την υψηλή ποιότητα και αξιοπιστία των υπηρεσιών, των σχετιζόμενων με τον κλινικό έλεγχο, που αυτό παρέχει.

Το εργαστήριο, παράλληλα αναβαθμίζεται και βελτιώνεται συνεχώς, μέσω των τακτικών ελέγχων συμμόρφωσης του εργαστηρίου, προς τις αυστηρές απαιτήσεις των προτύπων διαπίστευσης.

www.esyd.gr

Εθνικό Σύστημα Διαπίστευσης Α.Ε. - Ε.Σ.Υ.Δ.

Οσοέως 7, 176 76 Καλλιθέα

Τηλ.: 210 72.04.600, Fax: 210 72.04.555

E-mail: esyd@esyd.gr



Η προβολή του Ε.Σ.Υ.Δ. συγχρηματοδοτείται από το Ε.Π. Ανταγωνιστικότητα του Υπουργείου Ανάπτυξης και από την Ευρωπαϊκή Ένωση





cobas 8000

Η απάντηση της Roche στις υψηλές απαιτήσεις

Νέος αρθρωτός ανοσοβιοχημικός αναλυτής μεγάλων δυνατοτήτων

Ευελιξία • Υψηλή παραγωγικότητα • Ευφυής διαχείριση δειγμάτων • Άριστη ποιότητα και ασφάλεια



Το COBAS, COBAS C, COBAS E, MODULAR και LIFE NEEDS ANSWERS είναι σήματα κατατεθέντα από τη Roche

Roche Diagnostics (Hellas) A.E.

Ακακίων 54Α, 151 25 Μαρούσι, Τηλ: 210 8174000, Fax: 210 8174047



cobas[®]

Life needs answers