

16^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Κλινικής Χημείας

11-13

Οκτωβρίου 2018
ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΥΠΟΛΗ
Ξενοδοχείο Astir Egnatia

Υπό την αιγίδα των:



International Federation
of Clinical Chemistry
and Laboratory Medicine



European Federation
of Clinical Chemistry
and Laboratory Medicine

Βιβλίο Περιλήψεων



Περιεχόμενα

Οργάνωση 4

Προφορικές Ανακοινώσεις 5-27

Αναρτημένες Ανακοινώσεις 29-55

ΚΛΑΣΣΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ 30-37

ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΑ 38-40

ΝΕΕΣ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΕΣ
ΜΕΘΟΔΟΙ ΚΑΙ ΤΕΧΝΙΚΕΣ 41-44

ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΑ 45-47

ΕΠΙΠΕΔΑ ΦΑΡΜΑΚΩΝ
ΚΑΙ ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΑ 48-49

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΕΝΔΟΚΡΙΝΟΛΟΓΙΑ 50-52

ΜΟΡΙΑΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ 53-55

Οργάνωση



Οργανωτική Επιτροπή

Πρόεδρος: Αναγνωστόπουλος Κωνσταντίνος

Μέλη:	Αρβανιτίδης Κωνσταντίνος	Κοτίνη Αθανασία
	Ασημακόπουλος Βύρων	Κώνστα Εύη
	Γρίσπου Ειρήνη	Λειμονή Ειρήνη
	Καλλέας Χριστόφορος	Μπαλκουρανίδου Ιωάννα
	Καμπουρομύτη Γεωργία	Μπότουλα Ευθυμία
	Καραγλάνη Μακρίνα	Πανοπούλου Μαρία
	Καρακασιλιώτης Ιωάννης	Τσίγαλου Χριστίνα
	Κοντογιώργης Χρήστος	Χαλιάσος Αλέξανδρος

Επιστημονική Επιτροπή

Πρόεδρος: Τέντες Ιωάννης

Μέλη:	Βελετζά Βουλιάνα	Μαυρομαρά Πηνελόπη
	Γρηγοράτου Ανδριανή	Μελπίδου Αγγελική
	Κατσάνη Κατερίνα	Νένα Ευαγγελία
	Κολιός Γεώργιος	Παγωνοπούλου Όλγα
	Κρούπης Χρήστος	Παπάνας Νικόλαος
	Κυρίου Λαμπρινή	Σειμένης Ιωάννης
	Κώνστα Ευγενία	Σπυροπούλου Παναγιώτα
	Λειμονή Ειρήνη	Σταμούλη Μαριλένα
	Λιαλιάρης Θεόδωρος	Ψαρρά Κατερίνα
	Λιανίδου Ευρίκλεια	Ψαχούλια Χριστίνα
	Μακρής Κωνσταντίνος	Χατζάκη Αικατερίνη
	Μανωλόπουλος Ευάγγελος	

Προφορικές Ανακοινώσεις

ΠΑ01

DISTINCT BIOMARKERS REFLECT PATHOPHYSIOLOGICAL DIFFERENCES OF SICKLE CELL DISEASE (SCD) SUB-PHENOTYPES: VISCOSITY-VASO-OCCLUSION VS. HEMOLYSIS-ENDOTHELIAL DYSFUNCTION

Ioannis Papassotiriou¹, Katerina Larissi², Alexandra Margeli¹, Marianna Politou³, Evangelos Terpos⁴, Ersi Voskaridou²

¹Department Of Clinical Biochemistry, "Aghia Sophia" Children's Hospital, Athens, Greece

²Thalassemia And Sickle Cell Disease Center, "Laikon" University General Hospital, Athens, Greece,

³Laboratory Of Hematology And Blood Bank Unit, "Aretaieio" Hospital, Athens University Medical School, Athens, Greece

⁴Department Of Clinical Therapeutics, Athens University Medical School, Athens, Greece

Background: Patients with SCD have variable phenotypes, with different severity of pain and other symptoms, including lung injury, stroke, leg ulcers, renal injury, osteonecrosis, and systemic pulmonary hypertension. Recently, two distinct sub-phenotypes have been defined: a) Patients with the Viscosity-Vaso-Occlusion sub-phenotype (VVO) suffer mainly from vaso-occlusive pain crises with a relatively high hemoglobin concentration and b) patients classified as the Hemolysis-Endothelial-Dysfunction sub-phenotype (HED) suffer from stroke and pulmonary hypertension with an elevated concentration of LDH. We aimed to explore the correlation of key biomarkers with the two sub-phenotypes of the disease, namely: Placental Growth Factor (PIGF) a member of the Vascular-Endothelial-Growth-Factor superfamily, which plays an important role in both inflammation and neo-angiogenesis; vWF:antigen, a multimeric plasma glycoprotein secreted by the endothelium; Growth-Differentiation-Factor-15 (GDF-15), a member of the TGF- β superfamily, which expression is strongly upregulated in response to oxidative stress, inflammation, tissue injury and in conditions related to ineffective erythropoiesis. We tested these biomarkers in patients with compound heterozygous SCD and beta-thalassemia (HbS/ β thal).

Methods: Ninety adult Caucasian patients with HbS/ β thal were included in the study, while 20-apparently healthy individuals, served as controls. Patients with HbS/ β thal were divided in two groups according to their LDH levels: High-LDH (LDH>270U/L) (HED-phenotype) group (42-patients) and the Normal-LDH (LDH<270U/L) (VVO-phenotype) group (48-patients). Along with hematologic and blood chemistry parameters determination, measurements of circulating levels of PIGF, vWF:antigen, GDF-15, hs-CRP, Cystatin C, hs-TnT and D-Dimers were performed in both groups of patients and controls.

Results: We found that patients with the HED-phenotype compared to the VVO-phenotype of the disease had lower Hb levels ($p<0.001$), higher Reticulocyte-Production-Index and higher bilirubin ($p<0.001$ and $p=0.004$, respectively), while there were no differences regarding HbF levels between the two groups. PIGF levels were significantly elevated only in patients with the HED-phenotype (22.6 ± 7.1 pg/mL) compared to the controls (15.2 ± 2.4 pg/mL) ($p<0.001$) and patients with the VVO-phenotype (18.2 ± 7.6 pg/mL) ($p=0.005$). vWF:antigen concentrations were markedly elevated in both groups of patients compared to controls (186.4 ± 81.7 and 157.8 ± 73.4 vs 85.3 ± 22.1 IU/dL, $p<0.001$), with the increase of vWF:antigen levels to be more pronounced in patients with the HED-phenotype ($p=0.008$). Similarly, GDF-15 levels were also markedly elevated in both groups of patients compared to controls ($2,346.2\pm 1295.6$ and $1,693.5\pm 1398.3$ vs 665.4 ± 221.9 pg/mL; $p<0.001$), with the increase of GDF-15 levels to be more pronounced in patients with the HED-phenotype ($p=0.006$). We found also significant higher levels of D-Dimers in patients with the HED-phenotype ($p<0.001$) compared to patients with the VVO-phenotype, while no differences were found in parameters of inflammation and renal function.

Conclusions: These findings demonstrate for the first time the correlation and involvement of PIGF, vWF:antigen and GDF-15 in the pathophysiological mechanisms of the HED sub-phenotype in patients with the HbS/ β thal. Although, there is a degree of overlapping between the two sub-phenotypes of SCD, the differences in the specific biomarkers were significant. Thus, these markers along with the clinical profile could better identify the two subtypes of SCD patients and drive an innovative approach with the use of direct personalized therapies for each specific sub-phenotype by targeting the predominant mechanism in this multifactorial disorder.

ΠΑ02

**ΔΕΥΤΕΡΟΠΑΘΗΣ ΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΩΣΗ ΟΦΕΙΛΟΜΕΝΗ ΣΤΗΝ Hb SAN DIEGO ή β109 (G11)
Val>Met ή GTG>ATG: ΔΟΜΙΚΗ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ**

**Ιωάννης Παπασωτηρίου¹, Δημήτριος Χριστούλας², Βαρβάρα Ντούνα³,
Joanne Traeger-Συνοδινού⁴**

¹Τμήμα Κλινικής Βιοχημείας, Νοσοκομείο Παίδων «Αγία Σοφία», Αθήνα

²Αιματολογική Κλινική, 251 Γενικό Νοσοκομείο Αεροπορίας Αθηνών, Αθήνα

³Αιματολογικό Εργαστήριο, Γενικό Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Αθηνών «Παναγιώτη και Αγλαΐας Κυριακού»

⁴Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

Η Hb San Diego βρέθηκε σε έναν έλληνα σμηνίτη ιατρό 24 ετών στα πλαίσια διερεύνησης ερυθροκυττάρωσης (Hb 187g/L καιHct 0.56v/v). Η ερυθροποιητίνη βρέθηκε 22.0 U/L (x5 αυξημένη σε σχέση με την αναμενόμενη). Στην ανάλυση των αιμοσφαιρινών με ce-HPLC βρέθηκαν κατά σειρά έκλουσης: HbF 0.3%, HbA 97.2%, και HbA₂ 2.4%, ενώ δεν διαχωρίστηκε παθολογική Hb. Η κλινική εξέταση του ασθενούς, καρδιολογική και αναπνευστική ήταν ελεύθερη παθολογικών ευρημάτων. Ο ασθενής δεν έφερε την μετάλλαξη της JAK2 V617F. Η ανάλυση της αλληλουχίας των βάσεων του DNA των β-γονιδίων του ασθενούς αποκάλυψε τη σημειακή μετάλλαξη GTG>ATG στο κωδικόνιο 109, που οδηγεί στην αλλαγή Val>Met (Hb SanDiego). Από τη μελέτη των λειτουργικών ιδιοτήτων του αιμολύματος του ασθενούς, προέκυψε σταθερότητα στην θερμότητα και την ισοπρωτανόλη καθώς και έλλειψη σχηματισμού εγκλείστων και σωματίων Heinz, μετά την προσθήκη οξειδωτικών παραγόντων. Η καμπύλη ισορροπίας Hb-O₂ του ολικού αίματος εμφάνισε σημαντική αύξηση της χημικής συγγένειας Hb-O₂ (P₅₀ 16.5mmHg) και ελάττωση της συνεργατικότητας των υποομάδων της Hb (συντελεστής Hill n₅₀ 2.2), ενώ ο λόγος Hb/2,3-DPG βρέθηκε 1:1 και η επίδραση πρωτονίων Bohr φυσιολογική. Λόγω της αυξημένης χημικής συγγένειας Hb-O₂ το μεταφερόμενο στους ιστούς οξυγόνο υπολογίσθηκε σε μόλις 2.2vol% σε μεικτή φλεβική πίεση 25.6 mmHg. Η αλλαγή β109 (G11)Val>Met στην επαφή α₁β₁ αλύσεων του μορίου της Hb, ευνοεί την υψηλής χημικής συγγένειας R-στερεοδιάταξη του μορίου της Hb. Γεγονός που οφείλεται μάλλον στη μεγαλύτερη πλευρική αλυσίδα της μεθειονίνης έναντι της βαλίνης, στην εξασθένιση των δεσμών υδρογόνου και τη δημιουργία νέων, που διαστρέφουν τοπικά τις β-αλυσίδες της Hb. Ευνοείται έτσι περισσότερο η μετάπτωση από την T-deoxy στην R-oxy στερεοδιάταξη, χωρίς όμως να αλλοιώνεται η σταθερότητα του μορίου. Η μετάλλαξη που δημιουργεί την Hb San Diego έχει περιγραφεί σε μεμονωμένα περιστατικά διαφόρων εθνικών ομάδων, γεγονός που μάλλον οφείλεται στην αλληλουχία των νουκλεοτιδίων μεταξύ κωδικονίου 108 και 109. Εκεί βρίσκεται μια αλληλουχία CpG που είναι η πιο συχνή αιτία μεταλλάξεων στο ανθρώπινο γονιδίωμα. Μεταλλάξεις σε CpG προκαλούνται όταν μεθυλιωμένο «C» υποστεί απαμίνωση και γίνεται «T», όπως συμβαίνει στην Hb San Diego. Τα αυξημένα επίπεδα της ερυθροποιητίνης και η ελάττωση της P₅₀ οδηγούν τη διάγνωση.

ΠΑ03

ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΒΙΟΔΕΙΚΤΩΝ ΚΑΙ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΟΥΣ ΜΕ ΝΕΥΡΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΥΣ ΔΕΙΚΤΕΣ ΣΕ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗΣ ΕΛΛΕΙΨΗΣ ΒΑΡΥΤΗΤΑΣ ΣΕ ΠΕΙΡΑΜΑ ΥΠΟΧΡΕΩΤΙΚΗΣ ΚΑΤΑΚΛΙΣΗΣ ΜΕ ΚΛΙΣΗ ΚΕΦΑΛΗΣ ΚΑΙ Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΑΝΤΙΣΤΑΘΜΙΣΤΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΣΜΩΝ

Christiane Muswamba-Nday¹, Χρήστος Φραντζίδης², Λυκούργος Χατζηϊωαννίδης³, Σωτηρία Γυλού¹, Δημήτρης Γαλιατσάτος¹, Φανή Ντογραματζή⁴, Πολυξένη Γκιβόγκλη², Εμμανουήλ Κωστάκης¹, Χριστίνα Πλωμαρίτη¹, Λίνα Κωνσταντάρα¹, Παντελεήμων Χρίσκος¹, Ζωή Αθανασιάδου⁴, Ελένη Βαγδατλή⁴, Graham Jackson⁵, Παναγιώτης Μπαμίδης², Χρυσούλα Κουρτίδου-Παπαδέλη²

¹Εργαστήριο Ιατρικής Φυσικής, Ιατρική Σχολή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη

²Εργαστήριο Ιατρικής Φυσικής, Ιατρική Σχολή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη, Ελληνική Εταιρεία Αεροπορικής Ιατρικής και Διαστημικής Έρευνας, Θεσσαλονίκη

³Τμήμα Γεωπονίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη

⁴Εργαστήριο Βιοχημείας, Γενικό Νοσοκομείο Θεσσαλονίκης Ιπποκράτειο, Θεσσαλονίκη

⁵Department of Chemistry, University of Cape Town, South Africa

Σκοπός: Να διερευνηθεί κατά πόσο βιοδείκτες όπως η αδενosίνη επηρεάζονται από την ακινησία και την έλλειψη μικροβαρύτητας και αν συσχετίζονται με δείκτες του νευρικού συστήματος.

Υλικό-Μέθοδοι: Η μελέτη αποτελεί τμήμα ενός μεγαλύτερου πειράματος που πραγματοποιήθηκε από την Ευρωπαϊκή διαστημική υπηρεσία στην Κολωνία. Κατά τη διάρκεια του πειράματος, 23 υγιείς εθελοντές παρέμεινα σε υποχρεωτική κατάκλιση με το κεφάλι 6° προς τα κάτω για διάστημα 60 ημερών. Κατά τη διάρκεια του πειράματος λαμβάνονταν ανά τακτά χρονικά διαστήματα δείγματα αίματος, ενώ πραγματοποιήθηκαν και πολυκαναλικές καταγραφές ύπνου. Η ανάλυση περιελάμβανε ανοσοχημικές τεχνικές εξαγωγής βιοδεικτών όπως είναι η αδενosίνη. Οι εγκεφαλογραφικές καταγραφές ύπνου σταδιοποιήθηκαν σύμφωνα με τους κανόνες της διεθνούς ακαδημίας ύπνου. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε προεπεξεργασία για την απόρριψη του θορύβου. Η ανάλυση περιελάμβανε τον υπολογισμό του βαθμού συγχρονισμού μεταξύ των ηλεκτροδίων και την ανάλυση της λειτουργικής οργάνωσής τους με τη θεωρία γράφων. Πιο συγκεκριμένα υπολογίστηκε ο βαθμός τοπικής επεξεργασίας της πληροφορίας μέσω του συντελεστή συνδεσιμότητας, ο βαθμός ολοκλήρωσης όπως εκφράζεται από την ταχύτητα μεταφοράς πληροφορίας (μήκος χαρακτηριστικού μονοπατιού) και ο βαθμός βελτιστοποίησης στην οργάνωση του δικτύου μέσω της ιδιότητας μικρόκοσμου.

Αποτελέσματα: Τα αποτελέσματα έδειξαν στατιστικώς σημαντική θετική συσχέτιση μεταξύ της τιμής της αδενosίνης και του μήκους του χαρακτηριστικού μονοπατιού εξετάζοντας τις τιμές πριν την έναρξη του πειράματος σε συνδυασμό με τις τιμές που ελήφθησαν κατά την 14^η μέρα του πειράματος ($r=0.37; p=0.0253$), την 30^η μέρα ($r=0.35; p=0.0344$) καθώς και από τον μέσο όρο των τιμών στις δύο αυτές διαφορετικές πειραματικές φάσης ($r=0.36; p=0.0267$).

Συμπεράσματα: Τα αποτελέσματα καταδεικνύουν πως η έλλειψη βαρύτητας επηρεάζει τη φυσιολογία του ανθρώπινου οργανισμού με μεταβολή βιοδεικτών που συσχετίζονται με τον μεταβολισμό (αδενosίνη) αλλά και με τη λειτουργική διασύνδεση απομακρυσμένων εγκεφαλικών περιοχών. Οι δύο αυτοί δείκτες συνδέονται με θετική συσχέτιση μεταξύ τους και επηρεάζονται από την ακινησία και τις συνθήκες μικροβαρύτητας. Τα προτεινόμενα αντίμετρα έχουν μερική αποτελεσματικότητα, οπότε θα πρέπει να δοθεί έμφαση στο σχεδιασμό νέων αποτελεσματικότερων που θα επιτρέψουν την ομαλότερη προσαρμογή του οργανισμού στις μακροχρόνιες διαστημικές πτήσεις.

ΠΑ04

ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΔΕΙΚΤΩΝ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΤΗΣ ΠΡΟΑΝΑΛΥΤΙΚΗΣ ΦΑΣΗΣ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΤΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ SIX SIGMA ΚΑΙ PARETO

Ζωή Αθανασιάδου¹, Πέτρος Καρκαλούσος²

¹Βιοχημικό Εργαστήριο, Γενικό Νοσοκομείο Θεσσαλονίκης Ιπποκράτειο, Θεσσαλονίκη
²Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών, Διαχείριση και Τεχνολογία Ποιότητας, Ελληνικό Ανοικτό Πανεπιστήμιο

Εισαγωγή: Το ISO 15189:2012 ορίζει ότι οι δείκτες ποιότητας αποτελούν πολύτιμο εργαλείο για την παρακολούθηση και την αξιολόγηση της απόδοσης των κρίσιμων πτυχών της εργαστηριακής διαδικασίας. Στα κλινικά εργαστήρια τα περισσότερα σφάλματα παρατηρούνται κατά την προ-αναλυτική φάση. Η χρήση της μεθόδου Six Sigma οδηγεί σε αντικειμενική αξιολόγηση των δεικτών ποιότητας. Όσο πιο υψηλό είναι το επίπεδο σίγμα (σ), τόσο λιγότερο είναι πιθανό μια διαδικασία να δημιουργήσει ελαττώματα. Σύμφωνα με τη μεθοδολογία Six Sigma, το επίπεδο ποιότητας 6σ αναφέρεται στην παραγωγή 3,4 ελαττωμάτων ανά εκατομμύριο προϊόντων (DPMO), όταν η μέση τιμή της διαδικασίας έχει μετατοπιστεί κατά 1,5σ από την προβλεπόμενη ιδανική τιμή.

Συμπληρωματικά προς την μέθοδο Six Sigma η ανάλυση Pareto διαχωρίζει τις σημαντικές πλευρές του προβλήματος (80%), από τις λιγότερο σημαντικές (20%) επιτυγχάνοντας την ιεράρχηση των δεικτών ποιότητας με βάση τον αριθμό των σφαλμάτων ανά εκατομμύριο δειγμάτων.

Σκοπός: Η ποσοτικοποίηση της ποιότητας μέσω της συλλογής, μελέτης και ανάλυσης δεικτών ποιότητας κατά την προ-αναλυτική φάση των εργαστηριακών δοκιμών βιοχημικού εργαστηρίου.

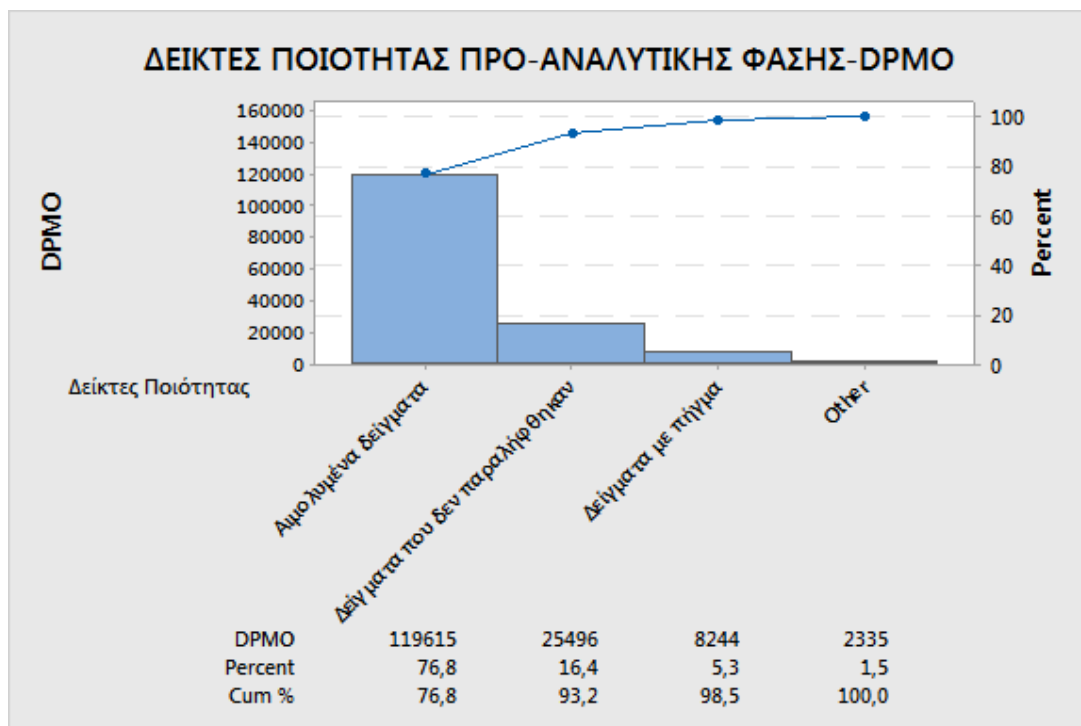
Υλικό-μέθοδοι: Συλλέχθηκαν στατιστικά δεδομένα, μέσω του LIS (Laboratory Information System), αναδρομικά για το χρονικό διάστημα από 1/12/17 έως 28/2/18 για τις εργάσιμες ημέρες, για ένα σύνολο 20984 δειγμάτων, προκειμένου να προσδιοριστούν δείκτες ποιότητας για την προ-αναλυτική φάση. Η μελέτη των δεικτών έγινε με την μέθοδο Six Sigma και την ανάλυση Pareto.

Αποτελέσματα: Δείκτες ποιότητας για την προ-αναλυτική φάση και τα αντίστοιχα DPMO και η τιμή σ από 1/12/17-28/12/18.

Δείκτες Ποιότητας	DPMO	Τιμή σ
Δείγματα που δεν παραλήφθηκαν	25496	3,5
Δείγματα με λανθασμένη αναγνώριση	1048	4,6
Αιμολυμένα δείγματα	119615	2,7
Δείγματα με πήγμα	8244	3,9
Δείγματα με ανεπαρκή ποσότητα	1287	4,6

Διάγραμμα Pareto: Δείκτες ποιότητας προ-αναλυτικής φάσης - DPMO (Minitab 17).

Συμπεράσματα: Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ο δείκτης ποιότητας «αιμολυμένα δείγματα» έχει τη δυσμενέστερη επίδραση στα αποτελέσματα των εργαστηριακών εξετάσεων με τιμή σ ίση με 2,6σ.



ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΜΕΘΟΔΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΑΡΩΜΑΤΙΚΩΝ ΑΜΙΝΟΞΕΩΝ ΜΕ ΗPLC/UV

Ε. Α. Χατζησταυρή, Γ. Ε. Τσότσου, Π. Καρκαλούσος

Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής, Αθήνα

Εισαγωγή: Τα αρωματικά αμινοξέα είναι η τυροσίνη, φαινυλαλανίνη και τρυπτοφάνη και ανήκουν στα είκοσι βασικά αμινοξέα του ανθρώπινου οργανισμού. Ονομάζονται αρωματικά διότι στο μόριο τους υπάρχει ένας αρωματικός δακτύλιος. Τα επίπεδα των αρωματικών αμινοξέων στο πλάσμα συνδέονται με γενετικές (π.χ. φαινυλκετονουρία), αλλά και επίκτητες ασθένειες (π.χ. γαστροοισοφαγικός καρκίνος).

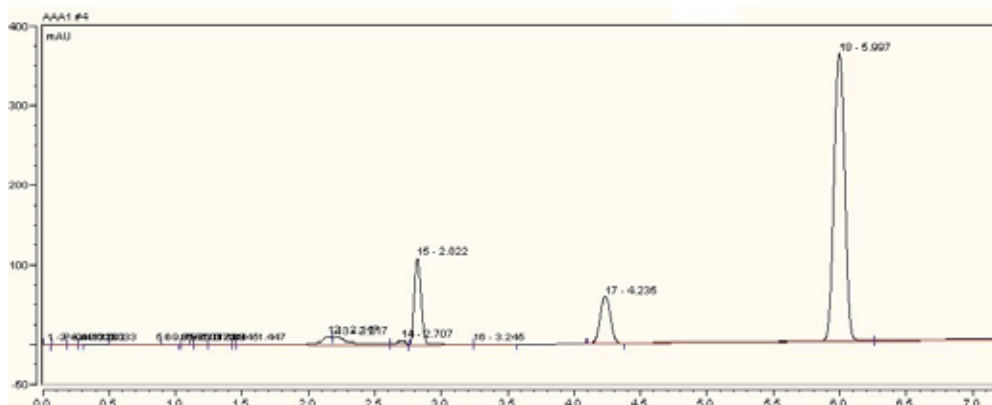
Σκοπός: Η ανάπτυξη ποσοτικής μεθόδου προσδιορισμού των αρωματικών αμινοξέων στο ανθρώπινο αίμα.

Μέθοδος: Χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της Υγρής Χρωματογραφίας Υψηλής Απόδοσης Αντίστροφης Φάσης (RP-HPLC) με ανιχνευτή UV/Vis.

Αποτελέσματα: Η ποσοτικοποίηση δεν ήταν ικανοποιητική λόγω έλλειψης εσωτερικού προτύπου, αλλά επιτεύχθηκε καλός διαχωρισμός των τριών αρωματικών αμινοξέων σε μικρό χρόνο (10 λεπτά). Μετά την αποπρωτείνωση του πλάσματος, η ανάλυσή τους διενεργήθηκε σε στήλη RP-C18 (Hypersil Gold C18 selectivity, 150x4,6mm, 175 Å) σε θερμοκρασία 25 °C. Ηέκλουση ήταν βαθμιδωτή με σύστημα διαλυτών 100mM ρυθμιστικό φωσφορικών pH 2,1 (90-70%): ακετονιτρίλιο (10-30%). Το όριο ανίχνευσης (LOD) υπολογίστηκε σε: 1,344 mM για την τυροσίνη, 0,761 mM για την φαινυλαλανίνη και 0,344 mM για την τρυπτοφάνη. Το όριο γραμμικότητας (LOL) ήταν τουλάχιστον: 5,086 mM για την τυροσίνη, 4,566 mM για την φαινυλαλανίνη και 1,603 mM για την τρυπτοφάνη.

Συμπεράσματα: Οι χρωματογραφικές συνθήκες στις οποίες καταλήξαμε επέτρεψαν τον ταυτόχρονο διαχωρισμό των τριών αρωματικών αμινοξέων σε πλάσμα, με μικρό χρόνο ανάλυσης. Πλεονέκτημα της μεθόδου αποτελεί η ανίχνευση με UV/Vis, ο οποίος είναι ο πιο συχνά απαντούμενος τύπος ανιχνευτή. Αντίθετα, άλλες ποσοτικές χρωματογραφικές μέθοδοι προσδιορισμού αρωματικών αμινοξέων βασίζονται σε ανίχνευση φθορισμομετρική ή σε φασματομετρία μάζας. Τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης και η έλλειψη επαναληψιμότητας και αναπαραγωγιμότητας προσδιορίστηκαν με την προτεινόμενη μέθοδο εκτός των αποδεκτών ορίων. Η επανάληψη των πειραματικών διεργασιών, παρουσία εσωτερικού προτύπου, πιθανόν να αποδείξει ότι οι προτεινόμενες χρωματογραφικές συνθήκες είναι επαρκείς για μία ικανοποιητικά ευαίσθητη μέθοδο ποσοτικού προσδιορισμού των αρωματικών αμινοξέων, με εφαρμογή στην κλινική διαγνωστική πράξη σε εργαστήρια που διαθέτουν μόνο ανιχνευτή UV/Vis σε σύζευξη με HPLC.

Χρωματογράφημα πρότυπου μείγματος αρωματικών αμινοξέων αναλογίας 1:1:1, μήκος κύματος ανίχνευσης 205 nm. Έκλουση τυροσίνης στα 2,8 min, φαινυλαλανίνης στα 4,2 min και τρυπτοφάνης στα 5,9 min.



ΠΑ06

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΜΗ ΣΤΕΡΟΕΙΔΩΝ ΑΝΤΙΦΛΕΓΜΟΝΟΔΩΝ ΦΑΡΜΑΚΩΝ ΣΕ ΟΡΟ ΑΙΜΑΤΟΣ ΜΕ ΑΕΡΙΑ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΣΥΖΕΥΓΜΕΝΗ ΜΕ ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑ ΜΑΖΑΣ

**Αδαμάντιος Κρόκος¹, Ελισάβετ Τσακελίδου¹, Ελένη Μιχοπούλου², Νικόλαος Ράϊκος¹,
Γεώργιος Θεοδωρίδης³, Ελένη Γκίκα¹**

¹Εργαστήριο Ιατροδικαστικής και Τοξικολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη

²Τμήμα Χημείας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη

³Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας, Τμήμα Χημείας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη

Εισαγωγή και στόχοι: Τα μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα (ΜΣΑΦ) καταναλώνονται ευρέως χωρίς ιατρική συνταγή και συχνά αποτελούν αιτία κυρίως παιδικών δηλητηριάσεων. Σε μια σύγχρονη μονάδα Κλινικής Τοξικολογίας η ύπαρξη αξιόπιστης αναλυτικής μεθόδου για τον προσδιορισμό των επιπέδων των ΜΣΑΦ είναι αναγκαία, ειδικά σε περιπτώσεις δηλητηριάσεων. Στόχος της εργασίας αυτής ήταν η διερεύνηση των βέλτιστων συνθηκών προκατεργασίας δείγματος με παραγωγοποίηση και την ανάπτυξη μεθόδου για τον προσδιορισμό 8 ΜΣΑΦ σε ορό αίματος και συγκεκριμένα των ακετυλοσαλικυλικό οξύ και σαλικυλικό οξύ, ιβουπροφαίνη, ακεταμινοφαίνη, νιφλουμινικό οξύ, μεφенаμικό οξύ, δικλοφενάκη, ναπροξένη και νιμεσουλίδη μετά από εκχύλιση υγρού-υγρού με τη χρήση αέριας χρωματογραφίας συζευγμένης με φασματομετρία μαζών (GC-MS).

Υλικά και Μέθοδοι: Ακολουθήθηκε η ακόλουθη προκατεργασία δείγματος: σε 200 μ L ορού αίματος, γίνεται ρύθμιση του pH στο 3,7 με προσθήκη 100 μ L ρυθμιστικού διαλύματος HCOOH/HCOONa και προστίθεται 1 mL οξικού αιθυλεστέρα. Ακολουθεί ανάδευση για 10 λεπτά και στη συνέχεια φυγοκέντρηση σε 10000 rpm για 5 λεπτά. Έπειτα απο παραλαβή της οργανικής φάσης και εξατμίση μέχρι ξηρού, ακολουθεί επαναδιάλυση σε 50 μ L BSTFA με 1% TMCS (αντιδραστήριο παραγωγοποίησης) και θέρμανση για 20 λεπτά στους 70°C. Τέλος γίνεται εισαγωγή 1 μ L του εκχυλίσματος για ανάλυση στο GC-MS. Ο χρόνος ανάλυσης είναι 15 λεπτά.

Αποτελέσματα: Οι χρόνοι συγκράτησης (R_t) για το ακετυλοσαλικυλικό οξύ, σαλικυλικό οξύ, ιβουπροφαίνη, ακεταμινοφαίνη, νιφλουμινικό οξύ, μεφенаμικό οξύ, δικλοφενάκη, ναπροξένη και την νιμεσουλίδη ήταν 5,6, 5,5, 6,2, 6,3, 9,3, 10,2, 10,3, 9,5, και 12,5 λεπτά αντίστοιχα. Πραγματοποιήθηκε επικύρωση της μεθόδου, με έλεγχο της γραμμικότητας που βρέθηκε στην περιοχή 0,5-50 μ g/mL για όλα τα ΜΣΑΦ με R^2 πάνω από 0,991 και όρια ποσοτικού προσδιορισμού (LOQ) από 6 έως 414 ng/mL. Ελέγχθηκε η εκλεκτικότητα και παρατηρήθηκε ότι δεν υπάρχουν παρεμπόδισεις από το υπόστρωμα. Η ακρίβεια και η πιστότητα εντός της ημέρας κυμάνθηκαν από 1,03 % έως 9,79 % και από 88 % έως 110 % αντίστοιχα και η ακρίβεια και η πιστότητα μεταξύ ημερών (κατά τη διάρκεια μια εβδομάδας) μεταξύ 1,87-10,79% και 91-113% αντίστοιχα.

Συμπέρασμα: Αναπτύχθηκε και επικυρώθηκε μια μέθοδος προσδιορισμού 8 ΜΣΑΦ με την χρήση GC-MS και εφαρμόστηκε με επιτυχία σε πραγματικά κλινικά δείγματα περιστατικών με πιθανή δηλητηρίαση από ΜΣΑΦ.

ΠΑ07

ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΟΥ ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΟΥ ΠΡΟΦΙΛ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΑΥΤΟΑΝΟΣΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΤΟΥ ΗΠΑΤΟΣ ΜΕ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΜΑΓΝΗΤΙΚΟΥ ΣΥΝΤΟΝΙΣΜΟΥ ΠΡΩΤΟΝΙΟΥ (1H NMR)

Αικατερίνη Δήμου¹, Καλλιόπη Αζαριάδη², Χριστίνα Κωσταρά¹, Καλλιόπη Ζάχου², Γεώργιος Νταλέκος², Ελένη Μπαϊρακτάρη¹

¹Εργαστήριο Κλινικής Χημείας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα

²Παθολογική Κλινική και Ομώνυμο Ερευνητικό Εργαστήριο, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Λάρισα

Σκοπός: Τα αυτοάνοσα νοσήματα του ήπατος (ANH) παρουσιάζουν άγνωστη αιτιοπαθογένεια και διαφορετική κλινική έκφραση. Σκοπός της μελέτης ήταν η διερεύνηση του μεταβολικού αποτυπώματος του αίματος ασθενών με ANH με φασματοσκοπία ¹H NMR, ώστε να διερευνηθεί η πιθανότητα ανεύρεσης βιοδεικτών, που να υποβοηθούν στη διάγνωση και την διάκριση ασθενών με διαφορετική κλινική έκφραση και να συμβάλλουν στην κατανόηση των παθογενετικών μηχανισμών.

Υλικό και μέθοδοι: Συλλέχθηκαν δείγματα αίματος από 43 υγιή άτομα και 132 ασθενείς με ANH: 51 με αυτοάνοση ηπατίτιδα (ΑΗ), 72 με πρωτοπαθή χολική χολαγγειίτιδα (ΠΧΧ) και 9 με πρωτοπαθή σκληρυντική χολαγγειίτιδα (ΠΣΧ). Οι μεταβολίτες μικρού μοριακού βάρους απομονώθηκαν με διήθηση του πλάσματος και τα φάσματα NMR καταγράφηκαν σε φασματογράφο 500MHz. Η ταυτοποίηση και ο ποσοτικός προσδιορισμός των μεταβολιτών πραγματοποιήθηκε με το πρόγραμμα Chenomx NMR suite.

Αποτελέσματα: Η ανάλυση με φασματοσκοπία ¹H NMR έδειξε πως το μεταβολικό προφίλ των τριών ομάδων των ασθενών διέφερε σημαντικά τόσο με των υγιών όσο και μεταξύ τους. Οι ασθενείς με ΑΗ παρουσίασαν στατιστικά σημαντικά αυξημένα επίπεδα καρνιτίνης, των μεταβολιτών που εμπλέκονται στον μηχανισμό παραγωγής ενέργειας (γαλακτικό, κιτρικό, πυροσταφυλικό), κετονοσωμάτων (ακετοξικό, 3-υδροξυβουτυρικό) καθώς και των κετοξέων του ενδιάμεσου μεταβολισμού των αμινοξέων διακλαδισμένης αλυσίδας (α-κετο-β-μεθυλοβαλερικό, 2-υδροξυ-ισοβαλερικό, 3-υδροξυ-ισοβουτυρικό). Τα επίπεδα της ακετόνης, των αμινοξέων γλουταμίνης, αλανίνης, ιστιδίνης, φαινυλαλανίνης, των αμινοξέων διακλαδισμένης αλυσίδας (λευκίνη, βαλίνη και ισολευκίνη) και των οξέων 3-υδροξυ-ισοβαλερικού και 2-υδροξυβουτυρικού ήταν στατιστικά σημαντικά μειωμένα στους ασθενείς με ΑΗ. Οι ασθενείς με ΠΧΧ παρουσίασαν στατιστικά σημαντικά αυξημένα επίπεδα σαρκοσίνης και των οξέων: οξικού, ακετοξικού, α-κετο-β-μεθυλοβαλερικού, 2-υδροξυ-ισοβαλερικού, 3-υδροξυ-ισοβουτυρικού, κιτρικού, πυροσταφυλικού και γαλακτικού, και μειωμένα επίπεδα 2-υδροξυβουτυρικού, γλουταμίνης, ιστιδίνης, αλανίνης και βαλίνης σε σχέση με τους υγιείς. Τέλος, τα επίπεδα της καρνιτίνης, σαρκοσίνης, τυροσίνης, χολίνης και των οξέων: οξικού, ακετοξικού, α-κετο-β-μεθυλοβαλερικού, 2-υδροξυ-ισοβαλερικού, 3-υδροξυ-ισοβουτυρικού, κιτρικού, πυροσταφυλικού και γαλακτικού ήταν στατιστικά σημαντικά αυξημένα στους ασθενείς με ΠΣΧ σε σχέση με τους υγιείς.

Συμπεράσματα: Οι ασθενείς με ANH παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές αλλαγές στο μεταβολικό προφίλ του αίματος σε σχέση με τους υγιείς, οι οποίες αντανakλούν διαταραχές σε διαφορετικά μεταβολικά μονοπάτια σε κάθε νόσημα τα οποία θα μπορούσαν να αποτελέσουν πιθανούς βιοδείκτες για την πρώιμη διάγνωση καθώς και την ανταπόκριση των ασθενών στη θεραπευτική αγωγή.

Η μελέτη χρηματοδοτήθηκε από την ΕΕΜΗ (2015-2017)

ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΜΕΘΟΔΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΟΥΡΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΣΕ ΚΛΙΝΙΚΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΜΕ HPLC ΑΝΤΙΣΤΡΟΦΗΣ ΦΑΣΗΣ

Χ. Μπάσσα¹, Γ. Ε. Τσότσου¹, Κ. Μακρή², Π. Καρκαλούσος¹

¹Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής, Αθήνα

²Βιοχημικό Εργαστήριο, Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών «Ο Ευαγγελισμός», Αθήνα

Εισαγωγή: Η Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης (HPLC) χρησιμοποιείται για τον ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό βιολογικών μορίων με τη βοήθεια μιας στήλης πληρωμένης με υλικό διαφόρων ιδιοτήτων, διαμέσου της οποίας ρέει μία κινητή φάση/διαλύτης. Στις στήλες «αντίστροφης φάσης» το υλικό πληρώσεως αποτελείται από πυριτία σιλανοποιημένη με υδρογονανθρακικές αλυσίδες (π.χ. 18 ατόμων C ή αλλιώς στήλη C18). Μη πολικά μόρια στο διαχωριζόμενο δείγμα αλληλεπιδρούν ισχυρά με τις αλυσίδες υδρογονάνθρακα και καθυστερούν να εξέλθουν, ενώ τα πολικά μόρια κινούνται ταχύτερα διαμέσου της στήλης και εκλούνται νωρίτερα.

Σκοπός: Η ανάπτυξη μεθόδου προσδιορισμού ουρικού οξέος με HPLC χρησιμοποιώντας στήλη RP-HPLC C18 χωρίς δεσμευμένα τελικά υδροξύλια (non end-capped), και η επικύρωση αυτής.

Υλικά και μέθοδος: Σε δείγματα ορού ασθενών με καρκίνο του παχέος εντέρου προσδιορίστηκε η συγκέντρωση του ουρικού οξέος, παράλληλα με HPLC αντίστροφης φάσης και με την φωτομετρική μέθοδο της ουρικής (Roche Hitachi).

Αποτελέσματα: Αναπτύχθηκε πρωτόκολλο προκατεργασίας δειγμάτων ορού και βαθμονομητών παρασκευασμένων σε ορό ελεύθερο ουρικού οξέος. Η προκατεργασία με τη βέλτιστη ανάκτηση περιελάβανε ανάμιξή τους με ακετονιτρίλιο σε κατ' όγκο αναλογία 1:1 και σε θερμοκρασία δωματίου, επακόλουθη φυγοκέντρωση σε 3700 rpm για απομάκρυνση των μετουσιωμένων πρωτεϊνών και διήθηση του υπερκειμένου με φίλτρο PVDF πόρων διαμέτρου 0,45 μm.

Αναπτύχθηκε επίσης πρωτόκολλο προσδιορισμού του ουρικού οξέος με HPLC χρησιμοποιώντας στήλη αντίστροφης φάσης διαστάσεων 250mm x 4,6 mm. Η στατική φάση αποτελούνταν από οξείδιο του πυριτίου συζευγμένο με δεκαοκτύλιο (C18) non end-capped, με μέγεθος σωματιδίων πληρωτικού υλικού 5 μm και με διάμετρο πόρων αυτών 110 Å. Η έκλυση ήταν ισοκρατική και η κινητή φάση αποτελούνται από ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών συγκέντρωσης 200 mM και pH 7,2, σε ανάμιξη με ακετονιτρίλιο, σε ποσοστιαία αναλογία 95:5 κατ' όγκο. Δείγματα και βαθμονομητές αναλύθηκαν στους 25°C, με ταχύτητα ροής 0,6 mL/min. Ο συνολικός χρόνος ανάλυσης ήταν 11 min και ο προσδιορισμός του ουρικού οξέος βασίστηκε στην απορρόφηση στα 292 nm. Η έλλειψη επαναληψιμότητας και αναπαραγωγιμότητας ήταν 3% και 2,5% αντίστοιχα, λίγο μεγαλύτερες από την κοινή μέθοδο ουρικής σε βιοχημικό αναλυτή. Η γραμμική συσχέτιση μεταξύ απορρόφησης στα 292 nm και συγκέντρωσης ουρικού οξέος επαληθεύτηκε τουλάχιστον μέχρι τα 21 mg/dL.

Συμπεράσματα: Το ουρικό οξύ μπορεί να προσδιοριστεί ποιοτικά με την προτεινόμενη μέθοδο HPLC/UV σε μη end-capped C18 στήλη. Η γραμμικότητα της μεθόδου RP HPLC/UV ήταν συγκρίσιμη με την χρωματομετρική μέθοδο (0 - 25 mg/dL). Υπήρξε πολύ καλή γραμμική συσχέτιση ($R^2 > 0,99$) μεταξύ εμβαδού κορυφής και συγκέντρωσης ουρικού οξέος, γεγονός που υποδεικνύει ότι επαρκεί η καθημερινή βαθμονόμηση της μεθόδου μόλις με δύο σημεία. Η επαναληψιμότητα και αναπαραγωγιμότητα της μεθόδου HPLC ήταν κατώτερη από την χρωματομετρική μέθοδο. Η συσχέτιση των τιμών της μεθόδου HPLC και της χρωματομετρικής μεθόδου ήταν κατώτερη των προσδοκιών ($P = 0,35$).

ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΛΙΠΙΔΙΚΟΥ ΠΡΟΦΙΛ ΤΩΝ HDL ΛΙΠΟΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΣΑΚΧΑΡΩΔΗ ΔΙΑΒΗΤΗ ΤΥΠΟΥ 2 ΚΑΙ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΕΓΚΑΤΕΣΤΗΜΕΝΗ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΗ ΝΟΣΟ

Χριστίνα Κωσταρά¹, Μωυσής Ελισάφ², Βασίλης Τσιμιχόδημος², Ελένη Μπαϊρακτάρη¹

¹Εργαστήριο Κλινικής Χημείας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα

²Τομέας Παθολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα

Σκοπός: Νέα δεδομένα δείχνουν πως η HDL-χοληστερόλη δεν είναι ικανοποιητικός δείκτης της αντιαθηρογόνου δράσης των HDLσωματιδίων και είναι αναγκαία η αναζήτηση νέων βιοδεικτών της λειτουργικότητάς τους. Μεταξύ αυτών, η λιπιδική σύσταση και δομή των HDL αποτελεί αντικείμενο εντατικής μελέτης, καθώς επηρεάζει όχι μόνο τις φυσικές και χημικές ιδιότητες των σωματιδίων αλλά και την ικανότητά τους να ασκούν την αντιαθηρογόνο δράση τους. Σκοπός της μελέτης ήταν η διερεύνηση του λιπιδικού προφίλ των HDL λιποπρωτεϊνών ασθενών με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 (ΣΔΤ2) και ασθενών με εγκατεστημένη καρδιαγγειακή νόσο με φασματοσκοπία ¹H NMR.

Υλικό και μέθοδοι: Συλλέχθηκαν δείγματα αίματος από 25 ασθενείς με εγκατεστημένη καρδιαγγειακή νόσο (οξύ στεφανιαίο σύμβαμα χωρίς ανάρταση του ST διαστήματος), 25 ασθενείς με ΣΔΤ2 πρόσφατης διάγνωσης και φυσιολογικά στεφανιαία αγγεία στον αγγειογραφικό έλεγχο και 30 άτομα χωρίς διαβήτη με φυσιολογικά στεφανιαία αγγεία (ομάδα ελέγχου). Τα άτομα επιλέχθηκαν ώστε να μην παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ως προς παράγοντες που παρεμβαίνουν στην ανάλυση των δεδομένων. Το λιπιδικό προφίλ των HDL λιποπρωτεϊνών καταγράφηκε με φασματοσκοπία ¹H NMR και η στατιστική επεξεργασία των δεδομένων έγινε με τις τεχνικές αναγνώρισης προτύπων.

Αποτελέσματα: Οι ασθενείς εμφάνισαν σημαντικές διαφορές σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου κυρίως στα επίπεδα των λιπαρών οξέων και των φωσφολιπιδίων των HDL σωματιδίων. Συγκεκριμένα, οι ασθενείς με ΣΔΤ2 εμφάνισαν αυξημένες συγκεντρώσεις κορεσμένων λιπαρών οξέων και μειωμένες συγκεντρώσεις ακόρεστων και ω-3 λιπαρών οξέων σε σχέση με τους υγιείς. Οι συγκεντρώσεις της σφιγγομυελίνης, φωσφατιδυλοχολίνης και εστεροποιημένης χοληστερόλης ήταν μειωμένες στους ασθενείς με ΣΔΤ2, ενώ οι συγκεντρώσεις της λυσοφωσφατιδυλοχολίνης και των τριγλυκεριδίων ήταν αυξημένες. Οι ασθενείς με καρδιαγγειακή νόσο παρουσίασαν τις ίδιες ποιοτικές διαφορές ως προς τους υγιείς αλλά σε πολύ πιο έντονο βαθμό από ότι οι ασθενείς με ΣΔΤ2. Τα γραφήματα OPLS-DA έδειξαν βαθμιαία διάκριση μεταξύ των υγιών, των ασθενών με ΣΔΤ2 και αυτών με καρδιαγγειακή νόσο με πολύ μικρή αλληλοεπικάλυψη.

Συμπεράσματα: Η λιπιδική σύσταση των HDL σωματιδίων των διαβητικών ασθενών εμφάνισε σημαντικές διαφοροποιήσεις σε σύγκριση με αυτή των υγιών ατόμων γεγονός που ενδέχεται να επηρεάζει σημαντικά τις αντιαθηρογόνες ιδιότητες της λιποπρωτεΐνης και τείνουν προς το προφίλ των ασθενών με εγκατεστημένη αθηρωματική νόσο των στεφανιαίων αγγείων.

ΠΑ10

ΜΟΡΙΑΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΩΝ RAS ΣΤΟ ΠΛΑΣΜΑ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΜΗ ΧΕΙΡΟΥΡΓΗΣΙΜΟ ΠΑΓΚΡΕΑΤΙΚΟ ΚΑΡΚΙΝΟ ΜΕΣΩ ΥΓΡΩΝ ΒΙΟΨΙΩΝ (ΨΗΦΙΑΚΉ PCR) ΚΑΙ ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΣΤΗΝ ΕΞΑΤΟΜΙΚΕΥΣΗ ΤΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ

Μυρτώ Καστρισιού¹, Χρήστος Τζάλλας², Γεώργιος Πενθερουδάκης^{3*}, Αγγελική Μαγκλάρα^{1*}

¹Εργαστήριο Κλινικής Χημείας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα ²Βιοχημικό Εργαστήριο, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Ιωαννίνων, Ιωάννινα ³Ογκολογική Κλινική, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Ιωαννίνων, Ιωάννινα

* ισάξια συνεισφορά

Οι υγρές βιοψίες, ένα σύνολο καινοτόμων, μη επεμβατικών τεχνικών για την ανάλυση βιολογικού υλικού του όγκου από το αίμα ασθενών με καρκίνο, κερδίζουν συνεχώς έδαφος στην έρευνα, αλλά και την καθημερινή πρακτική της ογκολογίας, με σαφή πλεονεκτήματα έναντι της βιοψίας ιστού. Ιδιαίτερα το κυκλοφορούν νεοπλασματικό DNA (circulating tumour DNA, *ctDNA*) φαίνεται να έχει μεγάλες δυνατότητες ως προβλεπτικός και προγνωστικός δείκτης για την αποτελεσματικότερη αντιμετώπιση της νόσου. Το πορογενές αδενοκαρκίνωμα παγκρέατος, μια νόσος με αυξανόμενη θνητότητα, διαγιγνώσκεται συχνά σε προχωρημένα στάδια, η αντιμετώπιση των οποίων παραμένει, ωστόσο, αμφιλεγόμενη. Η παρούσα μελέτη εξετάζει τη χρησιμότητα του *ctDNA* ως προβλεπτικού βιοδείκτη, για την αναγνώριση αρχικά μη χειρουργήσιμων περιπτώσεων που καθίστανται εξαιρεσιμες μετά από εισαγωγική χημειοθεραπεία, καθώς και ως προγνωστικού βιοδείκτη, παρουσία μεταστάσεων.

Δείγματα πλάσματος ασθενών με προχωρημένο ή μεταστατικό πορογενές αδενοκαρκίνωμα παγκρέατος, πριν την έναρξη χημειοθεραπείας και 4-6 εβδομάδες αργότερα, ελέγχθησαν για 34 μεταλλάξεις στα γονίδια *KRAS/NRAS* με BEAMing digital PCR. Η εν λόγω μέθοδος χαρακτηρίζεται από ιδιαίτερα υψηλή ευαισθησία και προσφέρει δυνατότητα ακριβούς ποσοτικοποίησης του μεταλλαγμένου DNA. Στηρίζεται στην κλασματοποίηση του δείγματος με πολλαπλές αραιώσεις πριν την PCR, ώστε να ενισχύονται, τελικά, επιτυχώς και τα μόρια μεταλλαγμένου DNA, που βρίσκονται σε πολύ χαμηλή συγκέντρωση (1:15.000). Ο ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός στηρίζεται στην ανάλυση των ενισχυμένων μορίων DNA με κυτταρομετρία ροής.

Μέχρι στιγμής έχουν αναλυθεί δείγματα από 5 ασθενείς. Το 100% των ασθενών έφερε μετάλλαξη στο κωδικόνιο 12 του εξονίου 2 του *KRAS*, ενώ ένας εξ αυτών έφερε επιπρόσθετη μετάλλαξη στο κωδικόνιο 61 του εξονίου 3 του *NRAS*. Μετά από 4-6 εβδομάδες χημειοθεραπείας, τέσσερις στους πέντε ασθενείς εμφάνισαν σημαντική πτώση των επιπέδων πλάσματος *KRAS*-μεταλλαγμένου *ctDNA*, συνοδευόμενη από σημαντική κλινική βελτίωση. Ένας εκ των πέντε ασθενών εμφάνισε δραματική αύξηση του φορτίου μεταλλάξεων *KRAS* στο πλάσμα, με ανάλογη επιδείνωση της κλινικής του κατάστασης.

Αν και πρόκειται για πρώιμα αποτελέσματα, της πρώτης κλινικής μελέτης υγρής βιοψίας με χρήση BEAMing στην Ελλάδα, η ανάλυσή τους δείχνει ότι η μεταβολή των επιπέδων *RAS*-μεταλλαγμένου *ctDNA* στο πλάσμα μπορεί να συσχετίζεται με την κλινική έκβαση των ασθενών με προχωρημένο παγκρεατικό καρκίνο, επιτρέποντας την επιλογή των κατάλληλων υποψηφίων για χειρουργική αντιμετώπιση, καθώς και την εκτίμηση της πρόγνωσης σε ασθενείς με μεταστάσεις.

ΠΑ11

ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΝΤΕΣ ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ ΣΤΟ ΣΑΚΧΑΡΩΔΗ ΔΙΑΒΗΤΗ ΤΥΠΟΥ II

**Μακρίνα Καραγλάνη¹, Μαρία Παναγοπούλου¹, Μαρία Μαρκάκη², Ιωάννα Μπαλγκουρανίδου¹,
Ευαγγελία Νένα³, Γεώργιος Κολιός¹, Ευάγγελος Μανωλόπουλος¹, Ιωάννης Τσαμαρδίνος⁴,
Ευστράτιος Μαλτέζος⁵, Νικόλαος Παπάνας⁵, Γεώργιος Μαστοράκος⁶, Αικατερίνη Αλεξίου-Χατζάκη⁷**

¹Εργαστήριο Φαρμακολογίας, Ιατρική Σχολή, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Αλεξανδρούπολη

²Τμήμα Επιστήμης Υπολογιστών, Πανεπιστήμιο Κρήτης, Κρήτη

³Εργαστήριο Υγιεινής και Προστασίας του Περιβάλλοντος, Ιατρική Σχολή, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο
Θράκης, Αλεξανδρούπολη

⁴Τμήμα Επιστήμης Υπολογιστών Πανεπιστήμιο Κρήτης, Κρήτη & Gnosis Data Analysis, Κρήτη

⁵Β' Παθολογική Κλινική, Γενικό Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Αλεξανδρούπολης, Αλεξανδρούπολη

⁶Μονάδα Ενδοκρινολογίας, Σακχαρώδη Διαβήτη και Μεταβολισμού, Αρεταίειο Νοσοκομείο, Πανεπιστήμιο
Αθηνών, Αθήνα

⁷Εργαστήριο Φαρμακολογίας & Ινστιτούτο Μοριακής Βιολογίας και Βιοτεχνολογίας, Ίδρυμα Έρευνας και
Τεχνολογίας, Ηράκλειο, Κρήτη

Σκοπός: Η ιστοειδική γονιδιακή έκφραση έχει δείχθει ότι καθορίζεται από τη DNA μεθυλίωση. Τυπικά παραδείγματα τα γονίδια της ινσουλίνης, της αμυλίνης και της γλυκοκινάσης που είναι αποκλειστικά μη μεθυλιωμένα (μεταγραφικά ενεργά) στα παγκρεατικά β-κύτταρα. Το ελεύθερο κυττάρων κυκλοφορούν DNA (ccfDNA) αποτελεί μια βιολογική οντότητα ελάχιστα επεμβατικής «υγρής βιοψίας», που φαίνεται να αντανakλά αξιόπιστα τις ιστοειδικές επιγενετικές τροποποιήσεις του ιστού από τον οποίο προέρχεται. Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η περιγραφή του μοτίβου μεθυλίωσης στο ccfDNA ορού ασθενών με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 (ΣΔΤ2) ώστε να αποδειχθεί η β-παγκρεατική του προέλευση και να αξιολογηθεί η δυνατότητά του να αντανakλά ποσοτικά την πορεία της παγκρεατικής βλάβης, μιας σημαντικής και κλινικά χρήσιμης παραμέτρου στη διαχείριση της ασθένειας.

Μέθοδοι: Αρχικά ποσοτικοποιήθηκε το ολικό ccfDNA στον ορό 96 ασθενών με ΣΔΤ2 και 71 υγιών εθελοντών. Ακολούθησε απομόνωση και χαρακτηρισμός του με τριχοειδική ηλεκτροφόρηση, επεξεργασία με όξινο θειώδες νάτριο και ποσοτικοποίηση της μεθυλίωσης των παγκρεατικών β-κυτταροειδικών γονιδίων ινσουλίνη, αμυλίνη και γλυκοκινάση με ποσοτική, ειδική για μεθυλίωση PCR (quantitative Methylation Specific PCR, qMSP). Τέλος, έγινε στατιστική επεξεργασία των μετρήσεων με κλινικές παραμέτρους.

Αποτελέσματα: Τα επίπεδα ολικού ccfDNA δεν διέφεραν μεταξύ ασθενών με ΣΔΤ2 και υγιών εθελοντών, όμως στους ασθενείς βρέθηκαν περισσότερα θραύσματα DNA μεγέθους πολλαπλάσιου των 160 βάσεων, που υποδεικνύει πιθανή απελευθέρωση του κατά τη διαδικασία της β-παγκρεατικής κυτταρικής απόπτωσης στους διαβητικούς ασθενείς. Οι qMSP μέθοδοι εκτιμήθηκαν ως προς την ευαισθησία και την ειδικότητά τους και συντάχθηκαν καμπύλες αναφοράς για ποσοτική ανάλυση της μεθυλίωσης κάθε γονιδίου. Στον ορό ασθενών παρατηρήθηκαν αυξημένα επίπεδα μη μεθυλιωμένων αλληλόμορφων των γονιδίων της ινσουλίνης και της αμυλίνης υποδεικνύοντας πιθανή μεγαλύτερη απώλεια β-παγκρεατικών κυττάρων σε σχέση με τους υγιείς εθελοντές. Οι ασθενείς σε προχωρημένο στάδιο που ελάμβαναν αγωγή με ινσουλίνη είχαν χαμηλότερα επίπεδα β-παγκρεατικού ccfDNA το οποίο πιθανώς οφείλεται στην ήδη εκτεταμένη βλάβη του ιστού.

Συμπεράσματα: Τα επίπεδα παγκρεατικού β-κυτταρικού ccfDNA ήταν σημαντικά υψηλότερα σε ασθενείς με ΣΔΤ2 σε σχέση με υγιείς εθελοντές. Η ιστοειδική μεθυλίωση β-παγκρεατικών γονιδίων ανιχνεύεται στο ccfDNA ορού ασθενών. Μπορεί έτσι να παρέχει μια ποσοτική ελάχιστα επεμβατική προσέγγιση για την δυναμική παρακολούθηση της απώλειας των β-παγκρεατικών κυττάρων και της εξέλιξης της νόσου, προκειμένου για την καθοδήγηση των θεραπευτικών επιλογών.

ΠΑ12

ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΣΗΜΕΙΑΚΟΥ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΥ ΣΤΟ TCF4 ΓΟΝΙΔΙΟ ΚΑΙ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΤΗΝ ΟΨΙΜΗΣ-ΕΝΑΡΞΗΣ ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΗ ΔΥΣΤΡΟΦΙΑ ΚΕΡΑΤΟΕΙΔΟΥΣ ΤΟΥ FUCHS ΣΤΟΝ ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ

Ανδριανή Διαμαντοπούλου¹, Μαριλίτα Μόσχου², Κωνσταντίνος Δρούτσας², Γεώργιος Κίτσος³, Χρήστος Κρούπης¹

¹Εργαστήριο Κλινικής Βιοχημείας, Αττικό Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

²Α' Οφθαλμολογική Κλινική, Νοσοκομείο Γ. Γεννηματάς, Ιατρική Σχολή Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, Αθήνα

³Πανεπιστημιακή Οφθαλμολογική Κλινική, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, Ιωάννινα

Εισαγωγή: Η ενδοθηλιακή δυστροφία του κερατοειδούς του Fuchs (FECD, Fuchs endothelial corneal dystrophy) αποτελεί μία προοδευτικά εξελισσόμενη, κληρονομική, αμφοτερόπλευρη διαταραχή του ενδοθηλίου του κερατοειδούς. Χαρακτηρίζεται από την απώλεια ενδοθηλιακών κυττάρων, την πάχυνση της μεμβράνης Descemet και το σχηματισμό εστιακών εναποθέσεων (ονομάζονται guttae). Στο τελικό στάδιο, παρουσιάζονται οίδημα στον κερατοειδή και επιθηλιακές φυσαλίδες με συνέπεια τη σημαντική μείωση της οπτικής οξύτητας (μπορεί να οδηγήσει ακόμα και σε τύφλωση) με τη μεταμόσχευση κερατοειδούς να αποτελεί τη μοναδική θεραπεία. Η πιο συχνή μορφή -η FECD όψιμης-έναρξης- μπορεί να είναι οικογενής ή σποραδική με εμφάνιση συνήθως μετά τα 50 έτη. Ένας σημειακός πολυμορφισμός στο 3^ο ιντρόνιο του γονιδίου του μεταγραφικού παράγοντα-4 (*TCF4*, g.97923C>A dbSNPrs613872) που κωδικοποιεί μέλος της οικογένειας E-πρωτεϊνών (E2-2), έχει συσχετιστεί σημαντικά με τη FECD, αυξάνοντας την πιθανότητα εμφάνισης της κατά 30 φορές σε ομόζυγα άτομα.

Μέθοδοι: Ο σκοπός ήταν η ανάπτυξη νέας μεθοδολογίας real-time PCR και ανάλυσης καμπυλών τήξης για τη γονοτύπηση του πολυμορφισμούrs613872 στο *TCF4* γονίδιο και η εφαρμογή της σε δείγμα 22 Ελλήνων FECD ασθενών (κριτήριο Krachmer ≥ 2) και 58 υγιών μαρτύρων, με ανάλογη κατανομή σε φύλο και ηλικία, στους οποίους απομονώθηκε DNA από περιφερικό αίμα, κατόπιν έγγραφης συγκατάθεσης, οφθαλμολογικής εξέτασης και συλλογής κλινικών δεδομένων. Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έγινε με το λογισμικό SNPStats.

Αποτελέσματα: Αναπτύχθηκε ταχεία και αξιόπιστη μεθοδολογία για τον πολυμορφισμό rs613872 του *TCF4* γονιδίου με τη χρήση δύο ανιχνευτών υβριδισμού για τη συμπληρωματική αλυσίδα στο όργανο LightCycler (Roche) και συλλέχθηκαν στοιχεία αναλυτικής επικύρωσης, (απόδοση E=1,89, αναπαραγωγικότητα $CV_{Cq} \leq 1,2\%$, T_m T αλληλίου 57,20°C και G αλληλίου 63,75°C $CV=1,7\%$ και $CV=1,25\%$ αντίστοιχα, $\Delta T_m=7,39$). Τα αποτελέσματα γονοτύπησης επιβεβαιώθηκαν 100% και με τη μέθοδο αναφοράς DNA Sequencing. Παρατηρήθηκε αύξηση του Gαλληλίου από 17,24% στους υγιείς σε 47,73% στους ασθενείς και στατιστικά σημαντική συσχέτιση με το νόσημα (OR 4,82, 95%CI 1,98-11,73 log-additive μοντέλο). Συσχέτιση του αλληλίου κινδύνου με την ηλικία και το φύλο, δε διαπιστώθηκε στα υπό εξέταση δείγματα.

Συμπεράσματα: Από τα παραπάνω προκύπτει ότι ο πολυμορφισμός rs613872 του *TCF4* γονιδίου συσχετίζεται στατιστικά σημαντικά με τηFECD όψιμης-έναρξης στον Ελληνικό πληθυσμό. Μελλοντικός στόχος είναι η επέκταση της μελέτης σε περισσότερα δείγματα ασθενών αλλά και στο υπόλοιπο τμήμα του *TCF4* γονιδίου.

ΠΑ13

ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΜΕΘΟΔΟΥ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΠΡΟΦΙΛ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ ΣΤΟ ΑΙΜΑ ΚΑΙ ΜΕΛΕΤΗ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ ΤΟΥΣ ΜΕ ΤΟΝ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟ ABCB1 2677G>T/A ΣΕ ΥΓΙΕΙΣ ΚΑΙ ΥΠΕΡΛΙΠΙΔΑΙΜΙΚΟΥΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ

Θωμάη Μουσκεφταρά¹, Ελένη Γκίκα¹, Ανδρεάνα Ασημοπούλου², Αντώνιος Γούλας³

¹Εργαστήριο Ιατροδικαστικής και Τοξικολογίας, Ιατρική Σχολή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη

²Εργαστήριο Οργανικής Χημείας, Τμήμα Χημικών Μηχανικών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη

³Εργαστήριο Κλινικής Φαρμακολογίας, Ιατρική Σχολή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη

Η πρωτεΐνη ABCB1 ανήκει στην οικογένεια κασετών δέσμευσης του ATP και εκφράζεται στο έντερο, το ήπαρ, τους νεφρούς και τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό. Λειτουργεί ως αντλία εκροής που εξωθει λιπόφιλα ξενοβιοτικά μόρια (φάρμακα), από τα κύτταρα. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, πολυμορφισμοί του γονιδίου ABCB1 είναι δυνατόν να επηρεάσουν την ομοιόσταση των λιπιδίων του αίματος και κυρίως αυτήν της χοληστερόλης (δεσμευμένης με λιποπρωτεΐνες ή ολικής).

Στην παρούσα εργασία διερευνήθηκε η πιθανότητα συσχέτισης των συγκεντρώσεων των ελεύθερων λιπαρών οξέων στο αίμα (NEFA) και του πολυμορφισμού ABCB1 2677 G> T / A. Για τον σκοπό αυτόν αναπτύχθηκε μέθοδος για την ανάλυση του προφίλ NEFA. Συγκεκριμένα, προσδιορίζονται εμμέσως μέσω των μεθυλεστέρων (FAMES) τους ποσοτικά είκοσι NEFA, (C14:0, C15:0, C15:1, C16:0, C16:1, C17:0, C17:1, C18:0, C18:1cis, C18:2cis, C20:0, C20:1n9, C20:2, C20:3n6, C20:4n6, C20:5, C23:0, C24:0 C24:1 και C22:6) στο αίμα. Η μέθοδος περιλαμβάνει προκατεργασία δύο σταδίων: την εκχύλιση των NEFA από ολικό αίμα με την μέθοδο Folch και την εστεροποίησή τους με CH₃OH/ HCl. Η ανάλυση έγινε με την τεχνική της αέριας χρωματογραφίας με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας (GC-FID) και έχει συνολική διάρκεια 31,5 min. Η μέθοδος αξιολογήθηκε ως προς την αξιοπιστία της χρησιμοποιώντας εμβολιασμένα δείγματα ολικού αίματος με πρότυπα διαλύματα των FAMES. Αξιολογήθηκαν η ακρίβεια, η επαναληψιμότητα, η γραμμικότητα, το όριο ανίχνευσης και η σταθερότητα των δειγμάτων.

Η μέθοδος εφαρμόστηκε για τον προσδιορισμό των συγκεντρώσεων των NEFA στο αίμα ευλιπιδαιμικών και υπερλιπιδαιμικών φορέων των τριών κύριων διαφορετικών γονοτύπων του πολυμορφισμού GG, GT και TT (συνολικό δείγμα n = 107). Με βάση τις συγκεντρώσεις των NEFA μελετήθηκε η διαφοροποίηση του προφίλ τους τόσο ανάμεσα στους υγιείς και τους ασθενείς αλλά και ανάμεσα στους διαφορετικούς γονότυπους για τον ίδιο πολυμορφισμό.

Για την εύρεση συσχετίσεων έγινε στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων με τη βοήθεια εργαλείων στατιστικής όπως: T-test, PCA, PLS-DA και OPLS-DA. Τα μοντέλα που κατασκευάστηκαν αναδεικνύουν διαφοροποιήσεις στις συγκεντρώσεις των C14:0, C16:0, C16:1, C18:1 μεταξύ των ευλιπιδαιμικών και υπερλιπιδαιμικών ιδιαίτερα στους γονότυπους GT και TT.

Γενικότερα παρατηρήθηκε ότι ο γονότυπος TT εμφανίζει μία τάση να έχει υψηλότερες τιμές ελεύθερων λιπαρών στο αίμα σε σχέση με τους άλλους δυο γονότυπους, κυρίως στην ομάδα των υπερλιπιδαιμικών.

ΠΑ14

ΜΟΡΙΑΚΟΣ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΙΟΥ ΤΩΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΩΝ ΘΗΛΩΜΑΤΩΝ ΜΕ MULTIPLEX REAL TIME PCR ΣΤΟΝ ΑΣΥΜΠΤΩΜΑΤΙΚΟ ΓΥΝΑΙΚΕΙΟ ΚΑΙ ΑΝΔΡΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ

Ειρήνη Μάστορα, Αθανάσιος Ζηκόπουλος, Ελισάβετ Χατζή, Ιωάννα Μπούμπα, Θωμάς Βρεκούσης, Ιωάννης Γεωργίου

Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Ιωαννίνων, Ιωάννινα

Σκοπός: Η προσβολή του αναπαραγωγικού συστήματος των γυναικών και των ανδρών από τον ιό των ανθρώπινων θηλωμάτων αποτελεί μία από τις πλέον κοινές σεξουαλικά μεταδιδόμενες περιπτώσεις ιογενούς αιτιολογίας. Σκοπός ήταν να μελετηθεί εάν ο ασυμπτωματικός πληθυσμός είναι εκτεθειμένος στον ιό HPV, καθώς και να καθοριστούν οι τύποι υψηλού και χαμηλού κινδύνου, ώστε να εκτιμηθεί η σημαντικότητα εμβολιασμού του γυναικείου πληθυσμού με το νέο προστατευτικό εμβόλιο και η σκοπιμότητα εμβολιαστικής κάλυψης του ανδρικού πληθυσμού έναντι του ιού.

Υλικό-Μέθοδοι: Η παρουσία του ιού HPV εξετάστηκε συνολικά σε 94 τραχηλικά δείγματα υγιών, Test Pap αρνητικών, μη εμβολιασμένων γυναικών και σε 57 ουρηθρικά δείγματα υγιών ανδρών αναπαραγωγικής ηλικίας. Η ανίχνευση και η τυποποίηση των ιών HPV υψηλού και χαμηλού κινδύνου πραγματοποιήθηκαν με τη μέθοδο της ποσοτικής αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης πραγματικού χρόνου έπειτα από την εξαγωγή γενετικού υλικού.

Αποτελέσματα: Ο ιός εντοπίστηκε σε 22 από τις 94 γυναίκες και σε 11 από τους 57 άνδρες. Στις γυναίκες, το ποσοστό εύρεσης των τύπων υψηλού κινδύνου ήταν 23,4%, ενώ στους άνδρες οι τύποι υψηλού κινδύνου βρέθηκαν σε ποσοστό 12,3% και οι τύποι χαμηλού κινδύνου σε ποσοστό 7%. Στις γυναίκες, οι HPV 52, HPV 39, HPV 59, HPV 16, HPV 31, HPV 33, HPV 56, HPV 18, HPV 51, HPV 58 και HPV 35 εντοπίστηκαν κατά σειρά με κλιμακούμενο ποσοστό, ενώ παρατηρήθηκε ταυτόχρονη παρουσία παραπάνω του ενός τύπου σε ποσοστό 9,6%. Στους άνδρες, ο HPV 31 και ο HPV 33 εντοπίστηκαν σε ποσοστό 5,3%, ο HPV 52 σε ποσοστό 1,7% και ο HPV 6 και ο HPV 11 σε ποσοστό 3,5%.

Συμπεράσματα: Ο HPV συναντάται συνολικά σε ποσοστό 23,4% στις γυναίκες και σε ποσοστό 19,3% στους άνδρες, παρότι δεν προκαλεί κλινική εκδήλωση. Η συχνότητα του ιού σε αυτό το ποσοστό και μάλιστα σε δείγμα ασυμπτωματικών φορέων, είναι ανησυχητική. Τα ευρήματα λειτουργούν προσθετικά στη γενικότερη κατανόηση της επιδημιολογίας του ιού HPV στον πληθυσμό και αποτελούν χρήσιμα στοιχεία ως βασικές προηγηθείσες του εμβολιασμού μετρήσεις. Ακόμη, συμβάλλουν στην κατάδειξη της σπουδαιότητας αντικατάστασης του τετραδύναμου από το εννεαδύναμο HPV εμβόλιο και στην απόκτηση γνώσης σχετιζόμενης με την εισαγωγή του HPV εμβολιασμού και στα αγόρια.

ΠΑ15

ΜΕΘΥΛΙΩΣΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ESR1 ΣΕ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΠΡΩΤΟΠΑΘΩΝ ΟΓΚΩΝ ΚΑΙ ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΟΥ ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΝΤΟΣ ΚΑΡΚΙΝΙΚΟΥ DNA ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΟΡΩΔΗ ΚΑΡΚΙΝΟ ΩΟΘΗΚΩΝ ΥΨΗΛΟΥ ΒΑΘΜΟΥ ΚΑΚΟΗΘΕΙΑΣ

Λυδία Γιαννοπούλου¹, Σοφία Μαστοράκη¹, Paul Buderath², Αρετή Στρατή¹, Αικατερίνη Παυλάκη³, Sabine Kasimir-Bauer², Εύη Λιανίδου¹

¹Εργαστήριο Ανάλυσης Κυκλοφορούντων Καρκινικών Κυττάρων, Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας, Τμήμα Χημείας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

²Department of Gynecology and Obstetrics, University Hospital of Essen, University of Duisburg - Essen, Germany

³Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική, Τμήμα Παθολογίας, Νοσοκομείο ΙΑΣΩ, Μαρούσι, Αθήνα

Σκοπός: Το γονίδιο *ESR1* κωδικοποιεί τον υποδοχέα των οιστρογόνων ERα, που εκφράζεται σε μεγάλο βαθμό στον επιθηλιακό καρκίνο των ωοθηκών. Η μεθυλίωση του γονιδίου *ESR1* παρατηρείται συχνά σε πολλούς τύπους γυναικολογικών κακοηθειών. Ωστόσο μέχρι σήμερα, μόνο σε έναν μικρό αριθμό μελετών έχει γίνει προσπάθεια διερεύνησης του ρόλου της μεθυλίωσης του γονιδίου *ESR1* και της κλινικής σημασίας αυτής στον καρκίνο των ωοθηκών. Η παρούσα εργασία έχει σκοπό τη μελέτη μεθυλίωσης του γονιδίου *ESR1* σε δείγματα πρωτοπαθών όγκων και αντίστοιχου κυκλοφορούντος καρκινικού DNA (circulating tumor DNA, ctDNA) ασθενών με ορώδη καρκίνο ωοθηκών υψηλού βαθμού κακοήθειας (high-grade serous ovarian cancer, HGSC).

Υλικό-μέθοδοι: Για την ανίχνευση της μεθυλίωσης του γονιδίου *ESR1* εφαρμόστηκε μία εξαιρετικά ειδική και ευαίσθητη μεθοδολογία methylation-specific PCR σε πραγματικό χρόνο (real-time MSP). Η μεθυλίωση εξετάστηκε σε δύο ομάδες δειγμάτων ασθενών με HGSC: στην ομάδα Α (N=66 δείγματα πρωτοπαθών όγκων) και στην ομάδα Β (N=53 δείγματα πρωτοπαθών όγκων και N=50 αντίστοιχα δείγματα πλάσματος).

Αποτελέσματα: Η μεθυλίωση του γονιδίου *ESR1* ανιχνεύτηκε και στις δύο ομάδες δειγμάτων πρωτοπαθών όγκων: σε 32/66 (48.5%) ασθενείς της ομάδας Α και σε 15/53 (28.3%) της ομάδας Β. Σε 19/50 (38.0%) αντίστοιχα δείγματα πλάσματος της ομάδας Β ανιχνεύτηκε επίσης μεθυλίωση του γονιδίου. Στην ομάδα Β, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση της μεθυλίωσης του *ESR1* στα δείγματα πρωτοπαθών όγκων και αντίστοιχου ctDNA (P=0.004, χ^2 test). Επιπλέον, η παρουσία της μεθυλίωσης του γονιδίου *ESR1* στα δείγματα πρωτοπαθών όγκων της ομάδας Β συσχετίστηκε σημαντικά με την καλύτερη ολική επιβίωση (P=0.027, log-rank test) των ασθενών, καθώς και με βελτιωμένο διάστημα επιβίωσης χωρίς εξέλιξη της νόσου (P=0.041, log-rank test).

Συμπεράσματα: Στην παρούσα μελέτη αναφέρεται για πρώτη φορά η μεθυλίωση του γονιδίου *ESR1* στο ctDNA ασθενών με HGSC. Επιπλέον, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ της μεθυλίωσης του γονιδίου σε δείγματα πρωτοπαθών όγκων και αντίστοιχου ctDNA. Το πιο ενδιαφέρον αποτέλεσμα της μελέτης αποτελεί η στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ της μεθυλίωσης του γονιδίου *ESR1* και της καλύτερης κλινικής έκβασης των ασθενών με HGSC.

ΠΑ16

ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΠΟΛΥ-ΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΩΝ ΤΑΞΙΝΟΜΗΤΩΝ ΠΡΟΓΝΩΣΗΣ ΚΑΙ ΠΡΟΒΛΕΨΗΣ ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ ΜΕΣΩ ΤΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΤΟΥ ΕΛΕΥΘΕΡΟΥ ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΝ DNA

Μαρία Παναγοπούλου¹, Μακρίνα Καραγλάνη¹, Ιωάννα Μπαλκουρανίδου², Βασίλειος Βασιλακάκης³, Ειρήνη Μπιζιώτα⁴, Τριανταφυλλιά Κουκάκη⁴, Ευάγγελος Καραμιτρούσης⁴, Ευαγγελία Νένα⁵, Ιωάννης Τσαμαρδίνος³, Γεώργιος Κολιός¹, Εύη Λιανίδου⁶, Στυλιανός Κακολύρης⁴, Αικατερίνη Χατζάκη⁷

¹Εργαστήριο Φαρμακολογίας, Ιατρική Σχολή, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Αλεξανδρούπολη

²Εργαστήριο Φαρμακολογίας, Ιατρική Σχολή, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Αλεξανδρούπολη & Ογκολογική Κλινική, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Αλεξανδρούπολης, Αλεξανδρούπολη

³Τμήμα Επιστήμης των Υπολογιστών, Πανεπιστήμιο Κρήτης, Βούτες, Κρήτη, Ελλάδα & Gnosis Data Analysis, Βούτες, Κρήτη

⁴Ογκολογική Κλινική, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Αλεξανδρούπολης, Αλεξανδρούπολη

⁵Εργαστήριο Υγιεινής και Προστασίας του Περιβάλλοντος, Ιατρική Σχολή, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Αλεξανδρούπολη

⁶Analysis of Circulating Tumor Cells, Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα, Ελλάδα

⁷Εργαστήριο Φαρμακολογίας, Ιατρική Σχολή, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Αλεξανδρούπολη & Ίδρυμα Έρευνας και Τεχνολογίας, Βούτες, Κρήτη

Σκοπός: Το ελεύθερο κυττάρων κυκλοφορούν DNA (ccfDNA) στο πλάσμα ασθενών με καρκίνο αποτελεί μια ελάχιστα επεμβατική πηγή πολύτιμων κλινικών πληροφοριών. Σκοπός της συγκεκριμένης εργασίας ήταν η αξιολόγηση της προγνωστικής και προβλεπτικής αξίας του ccfDNA στον καρκίνο του μαστού με την ανάλυση πολλαπλών παραμέτρων και η ανάπτυξη πολύ-παραγοντικών ταξινομητών πρόγνωσης και πρόβλεψης ανταπόκρισης στη θεραπεία.

Υλικό-Μέθοδοι: Στη μελέτη συμπεριλήφθηκαν 35 υγιείς δότες, 150, 16 και 35 ασθενείς σε διάφορα στάδια νόσου, οι οποίοι ξεκινούσαν συμπληρωματική, προ-εγχειρητική και πρώτης γραμμής θεραπεία αντίστοιχα στην Ογκολογική κλινική του Π.Γ.Ν.Ε. Αρχικά πραγματοποιήθηκε απευθείας ποσοτικοποίηση του ccfDNA στο πλάσμα ασθενών και υγιών μέσω μιας φλουορομετρικής μεθόδου. Ακολούθησε απομόνωση του ccfDNA και μέτρηση του μεγέθους των θραυσμάτων του με τριχοειδή ηλεκτροφόρηση. Έπειτα πραγματοποιήθηκε ανάλυση της DNA μεθυλίωσης 5 γονιδίων (*MSH2*, *KLK10*, *SOX17*, *WNT5A*, *GATA3*) με quantitative methylationspecific PCR (QMSP). Τέλος, πραγματοποιήθηκε στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων με τα κλινικά και follow-up δεδομένα. Το JADBio toolkit χρησιμοποιήθηκε για την ανάδειξη πολύ-παραγοντικών ταξινομητών με προγνωστική και προβλεπτική αξία.

Αποτελέσματα: Η συγκέντρωση του ccfDNA ήταν στατιστικώς σημαντικά υψηλότερη στους ασθενείς σε σχέση με τους υγιείς ($p < 0.001$), ενώ συσχετίστηκε με μεγαλύτερη συχνότητα θανάτου, με μικρότερο ελεύθερο διάστημα προόδου νόσου (PFS) και απουσία ανταπόκρισης στη θεραπεία στο μεταστατικό καρκίνο. Όλα τα γονίδια που εξετάστηκαν εκτός από το *GATA3* εμφάνισαν υψηλότερα ποσοστά DNA μεθυλίωσης στους ασθενείς σε σχέση με τους υγιείς. Η μεθυλίωση των *WNT5A*, *SOX17* και *KLK10* συσχετίστηκε με τη παρουσία περισσότερων αρνητικών κλινικών χαρακτηριστικών ή και με κακή πρόγνωση. Η πολύ-παραγοντική ανάλυση ανέδειξε ένα γραμμικό μοντέλο με εξαιρετική διακριτική ικανότητα για την πρόβλεψη ανταπόκρισης στη φαρμακοθεραπεία (AUC 0.803, 95% confidence interval [0.606, 1.000]) στους μεταστατικούς ασθενείς. Τρεις πολύ-παραγοντικές υπογραφές ακόμα αναπτύχθηκαν με εξαιρετική απόδοση για τη χρήση τους στη διάγνωση, την πρόβλεψη και πρόγνωση.

Συμπεράσματα: Το ccfDNA αποτελεί ένα ισχυρό εργαλείο πρόγνωσης και πρόβλεψης, ιδιαίτερα στον μεταστατικό καρκίνο του μαστού. Περαιτέρω κλινική αξιολόγηση των πολύ-παραγοντικών ταξινομητών που αναπτύχθηκαν, θα μπορούσε να τους αναδείξει ως χρήσιμα εργαλεία στην κλινική πράξη.

ΠΑ17

ΕΞΩΤΕΡΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ: ΕΝΑ ΠΟΛΥΤΙΜΟ ΕΡΓΑΛΕΙΟ ΓΙΑ ΤΗΝ ΒΕΛΤΙΩΣΗ ΤΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΩΝ ΕΞΕΤΑΣΕΩΝ ΚΑΙ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΤΟΥΣ. ΕΠΕΚΤΑΣΗ ΤΟΥ ΕΣΕΑΠ ΣΤΗ ΝΕΑ ΜΟΡΙΑΚΗ “ΣΥΝΟΔΟ ΕΞΕΤΑΣΗ” (COMPANION TEST) EGFR ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΩΝ ΣΤΗΝ ΟΓΚΟΛΟΓΙΑ

Α. Ντζιφά¹, Χ. Κρούπης², Χ. Τσαφαράς³, Α. Χαλιάσος³, Ε. Λιανίδου¹

¹ Εργαστήριο Ανάλυσης Κυκλοφορούντων Καρκινικών Κυττάρων (ACTC Lab), Τμήμα Χημείας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

² Εργαστήριο Κλινικής Βιοχημείας, Αττικών Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών και Ε.ΣΥ.Δ.

³ ΕΣΕΑΠ - Διεργαστηριακό Σχήμα Ελέγχου Ικανότητας Διαγνωστικών Εργαστηρίων

Η εξωτερική αξιολόγηση της ποιότητας (EQA) είναι ένα σημαντικό εργαλείο για τη βελτίωση των επιδόσεων των εργαστηριακών εξετάσεων και η επιτυχής συμμετοχή σε αυτές αποτελεί απόλυτη προϋπόθεση για ένα εργαστήριο ώστε να διαπιστευθεί σύμφωνα με το πρότυπο ISO-1589. Τα εργαστήρια μοριακής διαγνωστικής, που εκτελούν τις παραπάνω εξετάσεις, θα πρέπει να συμμετέχουν σε προγράμματα EQA τα οποία είναι επίσης διαπιστευμένα σύμφωνα με το πρότυπο ISO-17043, ή τουλάχιστον σε συγκριτικές διεργαστηριακές δοκιμές.

Το “ΕΣΕΑΠ - Διεργαστηριακό Σχήμα Ελέγχου Ικανότητας Διαγνωστικών Εργαστηρίων” είναι μία αστική μη κερδοσκοπική Εταιρεία, στη οποία συμμετέχει η ΕΕΚΧ-ΚΒ, που έχει ως σκοπό τον έλεγχο, την παρακολούθηση, τη διασφάλιση και τη βελτίωση της ποιότητας των αποτελεσμάτων των κλινικών/διαγνωστικών εργαστηρίων, τον εντοπισμό των αναλυτικών σφαλμάτων και τη σύγκριση και σύγκλιση των αναλυτικών επιδόσεων μεταξύ των ως άνω εργαστηρίων. Το ΕΣΕΑΠ είναι μέλος της ομοσπονδίας των ευρωπαϊκών μη κερδοσκοπικών οργανισμών για τον εξωτερικό έλεγχο ποιότητας στην εργαστηριακή ιατρική (EQALM - European group of organizations involved in the EQA of Laboratory Medicine services). Από τον Ιούνιο του 2012 είναι διαπιστευμένο σύμφωνα με το πρότυπο ISO-17043 που διέπει τα διεργαστηριακά σχήματα εξωτερικού ελέγχου ποιότητας.

Η υγρή βιοψία, που βασίζεται στην ανάλυση κυκλοφορούντων καρκινικών (CTCs) και του αντίστοιχου DNA τους (ctDNA), παρέχει την δυνατότητα παρακολούθησης της εξέλιξης του όγκου σε πραγματικό χρόνο και αποτελεί ένα μοναδικό εργαλείο για την παρακολούθηση της θεραπείας των καρκινοπαθών με μια απλή εξέταση αίματος. Ωστόσο, η σωστή τυποποίηση και εφαρμογή των διαδικασιών ανάλυσης καθώς και των προ-αναλυτικών παραγόντων είναι ουσιώδης για την εφαρμογή των τεχνικών της υγρής βιοψίας στην καθημερινή κλινική πρακτική.

Ο έλεγχος των μεταλλάξεων του γονιδίου EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor -υποδοχέας αυξητικού επιδερμικού παράγοντα) είναι μια σημαντική και κρίσιμη παράμετρος στους ιστούς των μη-μικροκυτταρικών καρκίνων του πνεύμονα (Non-small cell lung carcinoma, NSCLC) για την λήψη θεραπευτικών αποφάσεων και εξειδικευμένης αντι-νεοπλασματικής αγωγής σύμφωνα με τα νέα δεδομένα της εξατομικευμένης Θεραπείας. Σήμερα, η γονοτύπωση ιστών για μεταλλάξεις του EGFR έχει ενσωματωθεί στην κλινική πρακτική ως προϋπόθεση για θεραπευτικές επιλογές, όπως οι αναστολείς της τυροσινικής κινάσης (TKI), αλλά και για την έγκαιρη ανίχνευση υποτροπών του όγκου. Ωστόσο, εμφανίζονται συχνά περιορισμοί όπως το περιορισμένο υλικό βιοψίας, η επίπονη και επεμβατική φύση της βιοψίας στους ιστούς, η δυσκολία συχνών επαναλήψεων καθώς και η ετερογένεια του όγκου. Η υγρή βιοψία, κατά συνέπεια, αποτελεί εναλλακτική τεχνική στην κλασική βιοψία ιστού, διότι είναι ελάχιστα επεμβατική και μπορεί να ξεπεράσει τους παραπάνω περιορισμούς, χρησιμοποιώντας υλικό (DNA) προερχόμενο από τον όγκο που εξάγεται από το περιφερικό αίμα. Η ανάλυση των μεταλλάξεων του EGFR στο κυκλοφορούν DNA του όγκου έχει αποδειχθεί ότι δίνει ισότιμες πληροφορίες με τη ιστοική βιοψία και επομένως έχει προταθεί ως πιθανή εναλλακτική τεχνική, πάντοτε συμπληρωματική της αρχικής ιστοικής βιοψίας.

Στα NSCLC, πολλές μελέτες έχουν ανιχνεύσει μια ισχυρή συσχέτιση μεταξύ των αποτελεσμάτων στο ctDNA και της ιστικής βιοψίας, επιβεβαιώνοντας έτσι τη χρήση της υγρής βιοψίας ως αξιόπιστη εναλλακτική τεχνική στην κλινική πρακτική. Έχουν επίσης διεξαχθεί αρκετές μελέτες για τον προσδιορισμό της προγνωστικής αξίας των γονιδιωματικών μεταλλάξεων του EGFR στο πλάσμα και για την επιβεβαίωση της χρησιμότητας του ctDNA στη λήψη αποφάσεων θεραπείας, αλλά και της θεραπευτικής παρακολούθησης της των ασθενών με NSCLC. Η ανάλυση του ctDNA για μεταλλάξεις του EGFR στο πλάσμα του ασθενούς μπορεί να δώσει πληροφορίες σχετικά με την έγκαιρη πρόβλεψη της απόκρισης σε θεραπεία με EGFR TKIs μέσα στις πρώτες κιόλας ημέρες της θεραπείας και η πρώιμη επανανίχνευση μεταλλάξεων EGFR υποδεικνύει την υποτροπή της νόσου πριν από την εμφάνιση οποιουδήποτε κλινικού ή απεικονιστικού συμπτώματος ή σημείου. Περαιτέρω, ο επαναλαμβανόμενος στο χρόνο, προσδιορισμός του γονοτύπου του ctDNA μπορεί να είναι χρήσιμος για την παρακολούθηση της θεραπευτικής αποτελεσματικότητας, όπως στην περίπτωση της οσιμερτινίτης (osimertinib, TAGRISSO, AstraZeneca Pharmaceuticals LP), ενός EGFR TKI σε σχέση με την εμφάνιση επίκτητης μετάλλαξης T790M στο εξόνιο 20 του γονιδίου EGFR. Για όλους αυτούς τους λόγους, το 2016, η Αμερικανική Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA) ενέκρινε την εξέταση της ανίχνευσης μεταλλάξεων cobas EGFR v2 (Roche Molecular Systems, Inc.) ως συνοδού διαγνωστικής εξέτασης (companion diagnostic test) για την, δεύτερης γραμμής, θεραπεία με osimertinib και για άλλους εκτός από τους ασθενείς με NSCLC που όμως εμφανίζουν τις κοινές μεταλλάξεις του EGFR. Πρόσφατα, το FDA επίσης ενέκρινε την osimertinib για τη θεραπεία πρώτης γραμμής του μεταστατικού NSCLC, σε περιπτώσεις με εξαλείψεις στο εξόνιο 19 ή με μεταλλάξεις L858R στο εξόνιο 21, ενισχύοντας περαιτέρω τη χρησιμότητα αυτής της εξέτασης ως την πιο ασφαλή και αξιόπιστη δοκιμασία για αυτές τις θεραπευτικές επιλογές.

Με βάση τη σημασία της επιλογής της κατάλληλης φαρμακευτικής αγωγής και της αποτελεσματικής παρακολούθησης της θεραπείας σε ασθενείς με NSCLC, οργανώσαμε ένα πρόγραμμα εξωτερικής αξιολόγησης ποιότητας της εξέτασης Cobas EGFR Mutation Test v2 σε ctDNA στο πλάσμα στη χώρα μας. Αυτή η, πιλοτική, δοκιμή ανίχνευσης των μεταλλάξεων του EGFR στο πλάσμα με την παραπάνω μέθοδο, αξιολόγησε την διεργαστηριακή αναπαραγωγιμότητα της ανίχνευσης της μετάλλαξης με την μέθοδο EGFR cobas v2 και την ποιότητα των παρεχόμενων υπηρεσιών των διαγνωστικών εργαστηρίων που συμμετείχαν σε αυτό. Το πρόγραμμα αυτό του ΕΣΕΑΠ, βρίσκεται υπό την αιγίδα του Εργαστηρίου Ανάλυσης Κυκλοφορούντων Καρκινικών Κυττάρων (ACTC lab) του Πανεπιστημίου Αθηνών. Το πρόγραμμα αυτό βασίστηκε στην διανομή 10 δειγμάτων πλάσματος (υλικά αναφοράς που αγοράστηκαν από την Horizon Discovery, Cambridge, UK) σε οκτώ εργαστήρια στην Ελλάδα. Τα υλικά που διανεμήθηκαν είναι δείγματα αναφοράς εξωτερικού ελέγχου ποιότητας για ctDNA, με όγκο 2 mL και περιλαμβάνουν μεταλλάξεις του EGFR (T790M, E746-A750del, L858R) σε διαφορετικές συγκέντρωση αλληλόμορφων: 5%, 0,5%, 0,05%, 0% (μη μεταλλαγμένο – wild type) που πιστοποιήθηκαν κατάλληλα χρησιμοποιώντας digital droplet PCR ως μέθοδο αναφοράς. Έξι από τα οκτώ εργαστήρια που συμμετείχαν στο πρόγραμμα ήταν διαπιστευμένα κατά ISO 15189 από τον Ε.ΣΥ.Δ. (Εθνικό Σύστημα Διαπίστευσης) για την εξέταση ανίχνευσης των μεταλλάξεων του EGFR σε ιστούς με τεχνικές όπως στον αναλυτή COBAS, με υβριδοποίηση λωρίδας (strip) της Vienna lab, με κλασικό DNA Sequencing, καθώς και με Next Generation Sequencing. Τρία από αυτά ήταν διαπιστευμένα και σε υπόστρωμα ανθρώπινου πλάσματος.

Το προσωπικό του ΕΣΕΑΠ ήταν υπεύθυνο για την αφαίρεση των αρχικών ετικετών της Horizon, την αντικατάστασή τους με τυχαίους αριθμούς (1-100), τη συσκευασία τους και την αποστολή τους, και την καταχώρηση των αποτελεσμάτων των εργαστηρίων και την αξιολόγηση των εκθέσεων αποτελεσμάτων τους. 10 ολόδια δείγματα απεστάλησαν με ξηρού πάγου σε κάθε εργαστήριο και αποθηκεύτηκαν στους -80°C μέχρι να αναλυθούν. Όλα τα εργαστήρια που συμμετείχαν είχαν μία εβδομάδα περιθώριο για να αναλύσουν τα δείγματα (ημερομηνία λήξης κάποιων δειγμάτων ελέγχου και μια εβδομάδα για να ετοιμάσουν και να στείλουν την αναφορά των αποτελεσμάτων τους στο ΕΣΕΑΠ. Όλα τα συμμετέχοντα εργαστήρια κλήθηκαν να στείλουν μια ξεχωριστή αναφορά για κάθε δείγμα, σύμφωνα με το πρότυπο απάντησης που χρησιμοποιούν για τους ασθενείς τους. Σε 5/8 εργαστήρια οι μεταλλάξεις EGFR ανιχνεύθηκαν με επιτυχία σε όλα τα δείγματα, ενώ σε 3/8 εργαστήρια εμφανίστηκαν διαφορές από το αναμενόμενο αποτέλεσμα. Συγκεκριμένα, ένα εργαστήριο δεν κατόρθωσε να ανιχνεύσει την μετάλλαξη T790M σε συγκέντρωση 5% αλληλόμορφων και ένα άλλο εργαστήριο απέτυχε να ανιχνεύσει την μετάλλαξη L858R σε συγκέντρωση 0,5% στο δείγμα # 3 και της απαλοιφής E746-A750 del σε συγκέντρωση 0,5% στο δείγμα # 5 (ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα). Είναι ενδιαφέρον ότι ένα τρίτο εργαστήριο ανίχνευσε μία επιπλέον μετάλλαξη

στο δείγμα # 1 και τέλος ένα άλλο εργαστήριο ανίχνευσε μια μετάλλαξη στο μη μεταλλαγμένο - αρνητικό δείγμα (ψευδώς θετικά αποτελέσματα). Σύμφωνα με τη σχετική βιβλιογραφία για τα EQAs στην Μοριακή Διαγνωστική, η επίδοση κρίθηκε εξαιρετική για 5 εργαστήρια, επαρκής για 2 εργαστήρια και ανεπαρκής για 1 εργαστήριο. Το μόνο εργαστήριο με χαμηλή επίδοση ξεκίνησε πρόσφατα αυτό το είδος εξετάσεων και η απειρία του ήταν ο προφανής λόγος για την χαμηλή του επίδοση στο πρόγραμμα.

Τα εργαστήρια αξιολογήθηκαν επίσης για τα ουσιώδη και τυπικά χαρακτηριστικά των εκθέσεων αποτελεσμάτων (χωρίς βαθμολόγηση). Η αξιολόγηση βασίστηκε όχι μόνο στην εμπειρία που αποκτήθηκε από άλλους παρόχους EQA (όπως το EMQN) που περιεγράφηκε πρόσφατα, αλλά και στις ανάγκες και προδιαγραφές του ISO 15189 και τις κατευθυντήριες οδηγίες του εθνικού φορέα διαπίστευσης του ΕΣΥΔ (<http://www.esyd.gr/portal/p/esyd/el/index.jsp>). Σύμφωνα με το πρότυπο ISO 15189, τα αποτελέσματα πρέπει να αναφέρονται «με ακρίβεια και σαφήνεια, σύμφωνα με τυχόν ειδικές οδηγίες για την αντίστοιχη παράμετρο», να σχολιάζεται η ποιότητα δείγματος, η καταλληλότητα του, η επαρκής ποσότητα του και να συμπεριλαμβάνονται ερμηνευτικές παρατηρήσεις. Ως εκ τούτου, ένα απαραίτητο χαρακτηριστικό γνώρισμα έκθεσης αποτελεσμάτων είναι ο τίτλος της εξέτασης, ή ένας σύντομος και περιεκτικός τίτλος εύληπτος για τον ασθενή και τον θεράποντα ιατρό που θα περιλαμβάνει το μετρούμενο μέγεθος - ιδιότητα (ανίχνευση μετάλλαξης), το γονίδιο που αναφέρεται και την είδος του δείγματος (ελεύθερο DNA που κυκλοφορεί στο πλάσμα). Μόνο 4/8 απαντητικά παρουσιάζονται με αποδεκτό και πλήρη τίτλο. Είναι ενδιαφέρον ότι μόνο 2/8 εργαστήρια σχολίασαν την ποιότητα του δείγματος καθώς και την επάρκεια του. Όσον αφορά τη διαδικασία μέτρησης, 7/8 εργαστήρια ανέφεραν το CE-IVD kit που χρησιμοποιήθηκε (δοκιμασία μετάλλαξης COBAS EGFR v2) ενώ μόνο 4/8 ανέφεραν ότι η μέθοδος ήταν real-time qPCR και περιέγραψαν τη διαδικασία απομόνωσης cDNA που χρησιμοποίησαν. Η πλατφόρμα COBAS z480 αναφέρθηκε στις 5/8 απαντήσεις. Επιπροσθέτως, το 7/8 των εργαστηρίων διευκρίνιζε ότι η ανάλυση των μεταλλάξεων περιορίστηκε στα εξόνια 18-21. Τρία εργαστήρια ανέφεραν ότι οι μεταλλάξεις που μπορούσαν να ανιχνευθούν ήταν 42, ενώ δύο παραθέτουν ένα σχετικό πίνακα σε προσάρτημα.

4/8 εργαστήρια ανέφεραν τις τιμές SQI (ημι-ποσοτικός δείκτης), όπως προέκυψαν από την πλατφόρμα COBAS και 3 εξήγησαν τη χρησιμότητά τους. Ωστόσο, η δοκιμή έχει έγκριση CE-IVD ως ποσοτική δοκιμή. 2/8 εργαστήρια ανέφεραν το LOD (όριο ανίχνευσης) ≥ 100 αντιγράφων/ml πλάσματος όπως δηλώνεται από τον κατασκευαστή, ενώ δύο ανέφεραν ότι απαιτούνται στο δείγμα $>10\%$ καρκινικών κυττάρων για αξιόπιστη ανάλυση, ένα προφανές σφάλμα που προέρχεται από την χρησιμοποίηση απαντητικού για ιστοική βιοψία. Δύο εργαστήρια ανέφεραν πιθανούς περιορισμούς: μια εκτίμηση της πιθανότητας σφάλματος, μια αποποίηση ότι δεν μπορεί να αποκλειστεί το ψευδώς αρνητικό αποτέλεσμα (λόγω χαμηλών επιπέδων DNA από μεταλλαγμένα κύτταρα ή μετάλλαξης σε άλλα εξόνια του EGFR) και μια δήλωση ότι πρέπει να επακολουθήσει συμβουλευτική για τις περαιτέρω ενέργειες από τον θεράποντα ιατρό. 4/8 εργαστήρια διατύπωσαν ερμηνευτικό σχόλιο σχετικά με τη φύση των ανιχνευμένων μεταλλάξεων EGFR και την επίδρασή τους στην επιλογή του TKI (μεταλλάξεις ενεργοποίησης ή ανθεκτικότητας στην αντίστοιχη φαρμακευτική αγωγή) και μόνο δύο ανέφεραν τη νόσο (NSCLC). Μόνο 2/8 εργαστήρια περιέγραψαν την αλληλουχία αναφοράς του γονιδίου EGFR (NM_005228.3) και χρησιμοποίησαν την κατάλληλη ονοματολογία HGVS για την περιγραφή του τύπου της αλλαγής (τόσο στο μεταλλαγμένο νουκλεοτίδιο όσο και στο επίπεδο της παραγόμενης πρωτεΐνης). 4/8 εργαστήρια παρείχαν σχετικές βιβλιογραφικές αναφορές στην υποσημείωση της έκθεσης αποτελεσμάτων.

Όσον αφορά τα τυπικά χαρακτηριστικά της έκθεσης, σύμφωνα με το πρότυπο ISO 15189, η έκθεση πρέπει να περιλαμβάνει τουλάχιστον τα εξής: ταυτοποίηση ασθενούς, παραπέμποντα ιατρό, τύπο δείγματος, ημερομηνία συλλογής δειγμάτων, ημερομηνία και χρόνο απελευθέρωσης των αποτελεσμάτων, προσωπικό που εγκρίνει τα αποτελέσματα, τον αριθμό σελίδας και τον συνολικό αριθμό σελίδων. Όλα τα εργαστήρια καταχώρησαν σωστά το προς έλεγχο δείγμα και έδωσαν την ημερομηνία αναφοράς. Τα μισά από αυτά προσδιόρισαν παραπέμποντα (το ΕΣΕΑΠ) και τα μισά ανέφεραν την ημερομηνία συλλογής δειγμάτων (άφιξη στο εργαστήριο). Ο τύπος του πρωτογενούς δείγματος αναφέρθηκε σωστά σε 6/8 εργαστήρια (αναφέρθηκε ένα ως ορός και ένα άλλο ως αίμα συλλεχθέν σε EDTA). Η απαιτούμενη σελιδοποίηση ακολουθήθηκε σε 5/8 εργαστήρια (εξαιρουμένου του προσαρτήματος). Απαντητικό μιας σελίδας (συνίσταται) δόθηκε από 4/8 εργαστήρια. Όλες οι απαντήσεις υπογράφηκαν όπως απαιτείται από το εξουσιοδοτημένο προσωπικό (σε δύο εργαστήρια, καταχωρήθηκαν περισσότερες από 2 υπογραφές). Δύο από τα τρία εργαστήρια

που είχαν διαπιστευθεί για ανίχνευση μεταλλάξεων EGFR χρησιμοποίησαν το λογότυπο διαπίστευσης (με μερικά επουσιώδη σφάλματα σχετικά με το μέγεθος και τις κατάλληλες πληροφορίες) ενώ ένα άλλο, το χρησιμοποίησε χωρίς να είναι διαπιστευμένο για αυτό το είδος δείγματος.

Συμπερασματικά, πραγματοποιήσαμε για πρώτη φορά μια επιτυχημένη πιλοτική δοκιμή προγράμματος EQA σε ctDNA στο πλάσμα για τη δοκιμασία ανίχνευσης μεταλλάξεων Cobas® EGFR σε διαγνωστικά εργαστήρια χρησιμοποιώντας 10 δείγματα πλάσματος πιστοποιημένα ως υλικά αναφοράς. Τα αποτελέσματα της γονοτύπωσης ήταν ικανοποιητικά. Η συχνή χρήση θετικών μαρτύρων με πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις μεταλλάξεων του EGFR στο πλάσμα προτάθηκε σε όλα τα εργαστήρια προκειμένου να ελεγχθεί η ευαισθησία και η ειδικότητα της εξέτασης. Τα νέα ευρήματα σχετικά με τα χαρακτηριστικά των απαντητικών στη μελέτη μας περιεγράφηκαν λεπτομερώς και συμπληρώνουν αντίστοιχα από άλλες εργασίες. Οι διεργαστηριακές διαφορές που αναφέρθηκαν παραπάνω υπογραμμίζουν την επιτακτική ανάγκη συμμόρφωσης με την ορθή εργαστηριακή πρακτική και με συγκεκριμένες απαιτήσεις και κατευθυντήριες οδηγίες, ειδικά στον τομέα των εφαρμογών της υγρής βιοψίας, όπου η τυποποίηση των προ-αναλυτικών διαδικασιών είναι σημαντική. Ο EQA είναι ένα βασικό εργαλείο για τη βελτίωση της απόδοσης των εργαστηριακών εξετάσεων και η επιτυχής συμμετοχή στον EQA είναι απόλυτη αναγκαιότητα για ένα εργαστήριο που θέλει να διαπιστευθεί σύμφωνα με το πρότυπο ISO 15189. Συνεπώς, τα εργαστήρια που συμμετείχαν στο πρόγραμμά μας θα μπορούσαν να επωφεληθούν από αυτή τη συμμετοχή τους ώστε να ζητήσουν την διαπίστευση τους για αυτήν την παράμετρο. Η προσπάθειά μας για τον EQA στην ανίχνευση μεταλλάξεων EGFR στο πλάσμα θα πρέπει να επεκταθεί στο μέλλον και να περιλάβει και άλλες πλατφόρμες και κατάλληλες εναλλακτικές τεχνικές

ΠΑΡΑΟΞΟΝΑΣΗ-1 ΚΑΙ HDL-3 ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΧΡΟΝΙΑ ΝΕΦΡΙΚΗ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ

**Ελισάβετ Σαμουηλίδη¹, Κυριακή Βασιλείου², Μανώλης Παπαμανώλης³,
Εύα Κιούση³, Ειρήνη Γράψα³**

¹Βιοχημικό Τμήμα, Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών «Αλεξάνδρα», Αθήνα

²Μονάδα Τεχνητού Νεφρού, Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών «Ιπποκράτειο», Αθήνα

³Νεφρολογικό Τμήμα, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο «Αρεταίειο», Αθήνα

Εισαγωγή. Η δυσλιπιδαιμία και οι μεταβολές στην συγκέντρωση των λιποπρωτεϊνών του αίματος συμβάλλουν σημαντικά στην εμφάνιση της αρτηριοσκλήρωσης στους ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια (ΧΝΑ). Η μετατροπή της HDL-C από την HDL-2 μορφή της, η οποία έχει σχετικά μεγάλο μοριακό βάρος και αθηρο-προστατευτικές ιδιότητες, στην HDL-3, η οποία είναι μόριο μικρότερης πυκνότητας, είναι επιπλέον ένας από τους παράγοντες που οδηγούν στην εξέλιξη του οξειδωτικού στρες σε αυτούς τους ασθενείς. Σκοπός της μελέτης μας ήταν η σύγκριση των επιπέδων της PON1 και των HDL-C υποτάξεων σε ασθενείς με ΧΝΑ (στάδιο 2-5) και σε ασθενείς σε αιμοκάθαρση (ΑΙΜΚ).

Μέθοδοι. Ομάδα ασθενών με ΧΝΑ (n=46, 26 άνδρες, 20 γυναίκες, 51±17 ετών) συγκρίθηκε με ομάδα ασθενών σε ΑΙΜΚ (n=44, 19 άνδρες, 15 γυναίκες, 58±15 ετών) και υγιών ατόμων (ΦΜ, n=21, 11 άνδρες, 10 γυναίκες, 49±10 ετών). Οι HDL-2 και HDL-3 υποτάξεις της HDL-C απομονώθηκαν από τον ορό ασθενών και ΦΜ με τη μέθοδο καταβύθισης ενός σταδίου, με αντιδραστήριο ηπαρίνης/dextran sulfate/MnSO₄, και στη συνέχεια με την συμβατική μέθοδο προσδιορισμού της HDL-C στο υπερκείμενο. Η συγκέντρωση της PON1 στον ορό μετρήθηκε με μέθοδο ELISA.

Αποτελέσματα. Η συγκέντρωση της HDL-C ήταν χαμηλότερη στους ασθενείς σε σχέση με τους ΦΜ και ειδικά στους ΑΙΜΚ ασθενείς (43±14mg/dl) συγκριτικά με τους ΧΝΑ (54±17mg/dl, p=0.0008). Η HDL-3 ήταν σημαντικά χαμηλότερα στους ΑΙΜΚ (18±4mg/dl) από ότι στους ΧΝΑ (28±7) και ΦΜ (23±4, p<0.0001). Η HDL-2 δεν διέφερε στις ομάδες των ασθενών, αλλά ήταν οριακά χαμηλότερη στους μη ΑΙΜΚ ασθενείς (24±13 mg/dl) συγκριτικά με τους ΦΜ (33±9, p<0.05). Τα επίπεδα της PON1 ήταν ελαττωμένα στους ασθενείς συγκριτικά με τους ΦΜ και αυτή η ελάττωση ήταν πιο μεγάλη στους ΑΙΜΚ από ότι στους ΧΝΑ (16.13±8.21 έναντι 31.55±13.6 μg/ml, p<0.0001). Τα επίπεδα της PON1 συσχετιζόνταν θετικά με την συγκέντρωση της HDL-C και της HDL-3 και στις δύο ομάδες ασθενών.

Συμπεράσματα. Στους ασθενείς με ΧΝΑ, παρατηρείται ελάττωση της συγκέντρωσης της HDL-C που είναι πιο έντονη στους ΑΙΜΚ ασθενείς. Η αιμοκάθαρση δεν φαίνεται να επηρεάζει την συγκέντρωση της HDL-2 υποτάξης. Ωστόσο, η σημαντική μείωση της HDL-3 και της PON1 μπορεί να αντικατοπτρίζει την απώλεια της αντιοξειδωτικής ικανότητας της HDL-C στους ασθενείς αυτούς.



Αναρτημένες Ανακοινώσεις

ΜΕΛΕΤΗ ΒΙΟΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑΣ ΝΑΝΟ-ΒΙΟΚΕΡΑΜΙΚΟΥ ΥΛΙΚΟΥ ΓΙΑ ΟΣΤΙΚΗ ΑΝΑΓΕΝΝΗΣΗ

**Κωνσταντίνα Καζέλη¹, Ευγενία Λυμπεράκη², Γεωργία Πουρουτζίδου³, Δήμητρα Πατσιαούρα³,
Γεώργιος Σ. Θεοδώρου³, Ελέανα Κοντονασάκη⁴, Τριανταφυλλιά Ζορμπά³,
Θεόδωρος Λιαλιάρης¹, Κωνσταντίνος Χρυσάφης³**

¹Τμήμα Ιατρικής Σχολής Επιστημών Υγείας, Δημοκρίτειου Πανεπιστημίου Θράκης, Αλεξανδρούπολη

²Τμήμα Ιατρικών Εργαστηρίων, Αλεξάνδρειο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Θεσσαλονίκης,
Θεσσαλονίκη

³Τομέας Φυσικής Στερεάς Κατάστασης, Τμήμα Φυσικής, Σχολή Θετικών Επιστημών,
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη

⁴Εργαστήριο Προσθετικής, Τμήμα Οδοντιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη

Σκοπός της εργασίας: είναι η σύνθεση και μελέτη καινοτόμων νανοβιοκεραμικών υλικών ασβεστίου-πυριτίου ενισχυμένα με ιόντα μαγνησίου, με στόχο την αξιοποίησή τους σε πλήθος ορθοπεδικών και οδοντιατρικών εφαρμογών για την επαγωγή της οστεογένεσης/οδοντογένεσης.

Υλικά και Μέθοδοι: Τα βιοκεραμικά παρασκευάστηκαν με τη μέθοδο κολλοειδούς γέλης (sol-gel), η οποία αποτελεί «από πάνω προς τα κάτω» (Bottomup approach) μέθοδο σύνθεσης νανοσωματιδίων. Η αρχική ύαλος, στο τριαδικό σύστημα SiO_2 55 CaO 35 MgO 10 %κ.β., υπέστη θερμική κατεργασία σε τρεις θερμοκρασίες 835, 1000 και 1100°C. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε υγρή μηχανική άλεση (wetballmilling) όλων των δειγμάτων για την ελάττωση των νανο-συσσωμάτων που τείνει να δημιουργεί το υλικό, με χρήση σφαιρόμυλου από αχάτη για 3 ώρες με 30 λεπτά παύσης και ταχύτητα περιστροφής 300rpm. Ο έλεγχος βιοενεργότητας πραγματοποιήθηκε σε υγρό προσομοίωσης του πλάσματος του αίματος (SimulatedBodyFluid-SBF). Οι τεχνικές που χρησιμοποιήθηκαν για τον χαρακτηρισμό των υλικών ήταν η θερμική ανάλυση (TG-TDS), η Φασματοσκοπία Υπερύθρου (FTIR), η Περίθλαση ακτίνων-Χ (XRD) και η Ηλεκτρονική Μικροσκοπία Σάρωσης (SEM).

Αποτελέσματα: Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της θερμικής ανάλυσης στις θερμοκρασίες 1000 και 1100°C είχε ολοκληρωθεί η κρυστάλλωση φάσεων του υλικού ενώ το αρχικό υλικό είναι άμορφη ύαλος. Το υλικό σε όλες τις θερμοκρασίες αποτελείται από σωματίδια μικρο και νάνο κλίμακας. Τα φάσματα FTIR έδειξαν ότι τα υλικά εμφανίζουν τις χαρακτηριστικές κορυφές των πυριτικών υάλων. Στα αντίστοιχα φάσματα FTIR για τη συντιθέμενη ύαλο εμφανίζεται η ανάπτυξη των χαρακτηριστικών κορυφών απατίτη από την πρώτη μέρα εμβάπτισης στο SBF. Σε όλα τα υλικά μετά από θερμική κατεργασία εμφανίζονται οι χαρακτηριστικές κορυφές του βιολογικού υδροξυαπατίτη μετά από 3 μέρες εμβάπτισης στο διάλυμα. Τα αποτελέσματα αυτά επιβεβαιώθηκαν και από τις υπόλοιπες τεχνικές χαρακτηρισμού που χρησιμοποιήθηκαν.

Συμπεράσματα: Τα νανοβιοκεραμικά της παρούσας μελέτης, είναι βιοενεργά υλικά που μπορούν να ενσωματωθούν σε βιοπολυμερικά μοσχεύματα ενισχύοντας πιθανώς τις μηχανικές τους ιδιότητες αλλά και καθιστώντας τα ικανά να επάγουν την οστεογένεση, συμβάλλοντας καθοριστικά στην επιτυχία της βιοενσωμάτωσης. Κατά τη θερμική κατεργασία των υλικών δεν παρατηρήθηκε μείωση της βιοενεργότητάς τους.

AA02

ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΠΡΟΣΛΗΨΗΣ ΔΙΑΙΤΗΤΙΚΩΝ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ, ΗΛΕΚΤΡΟΛΥΤΩΝ ΚΑΙ ΙΧΝΟΣΤΟΙΧΕΙΩΝ ΜΕ ΤΟΝ ΑΘΗΡΩΜΑΤΙΚΟ ΔΕΙΚΤΗ ΣΕ ΥΓΙΕΙΣ ΑΙΜΟΔΟΤΕΣ

Ντιάνα Σαμαρά¹, Ευγενία Λυμπεράκη¹, Αγαθή Πρίτσα², Κυριακή Παπαδοπούλου², Γεώργιος Αβραμόπουλος³, Αικατερίνη Καζάκου⁴, Ευθυμία Τορμπαντώνη³, Αναστασία Χατζοπούλου¹

¹Τμήμα Ιατρικών Εργαστηρίων, Αλεξάνδρειο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη

²Τμήμα Διατροφής και Διαιτολόγιας Αλεξάνδρειο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη

³ Γενικό Νοσοκομείο Νάουσας

⁴Τμήμα Χημείας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη

Σκοπός: Ο ρόλος των διαιτητικών αντιοξειδωτικών στην πρόληψη εμφάνισης αθηρωματικής πλάκας παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον τα τελευταία χρόνια. Σκοπός αυτής της εργασίας είναι η μελέτη της επίδρασης των διαιτητικών αντιοξειδωτικών στον αθηρωματικό δείκτη υγιών αιμοδοτών.

Υλικό και μέθοδος: Συλλέχθηκαν ερωτηματολόγια δίαιτας τριών 24ώρων από 82 υγιείς αιμοδότες, 45 άνδρες και 37 γυναίκες, ηλικίας 20-52 ετών. Παράλληλα έγινε βιοχημικός έλεγχος λιπιδίων σε όλα τα άτομα που συμμετείχαν εθελοντικά στην έρευνα. Έγινε διατροφική ανάλυση και υπολογισμός του αθηρωματικού δείκτη σε όλους τους αιμοδότες. Ακολούθησε συσχέτιση της διατροφικής πρόσληψης βιταμίνης Α, βιταμίνης C, Σεληνίου, Χαλκού, Μαγνησίου, Ψευδαργύρου και Σιδήρου με τον αθηρωματικό δείκτη (Ολική χοληστερόλη/ HDL).

Αποτελέσματα: Από τα αποτελέσματά μας βρέθηκε ότι υπάρχει μη στατιστικά σημαντική αρνητική συσχέτιση του αθηρωματικού δείκτη με τις βιταμίνες Α και C με μεγαλύτερη αρνητική τάση να εμφανίζεται στην συσχέτιση του αθηρωματικού δείκτη με την πρόσληψη σεληνίου, σιδήρου μαγνησίου και χαλκού. Αντίθετα η πρόσληψη ψευδαργύρου δεν παρουσιάζει καμία συσχέτιση με τον αθηρωματικό δείκτη.

Συμπεράσματα: Σε προηγούμενες μελέτες παρουσιάστηκε συσχέτιση του αθηρωματικού δείκτη με τις αντιοξειδωτικές βιταμίνες καθώς και με το ηλεκτρολυτικό προφίλ των ατόμων κυρίως όσον αφορά τον Cu και τον Zn. Σε αυτήν την μελέτη ο κίνδυνος εμφάνισης αθηροσκλήρυνσης που υπολογίζεται με τον αθηρωματικό δείκτη φαίνεται να σχετίζεται με την πρόσληψη διαιτητικών αντιοξειδωτικών αλλά και κυρίως με την πρόσληψη ιχνοστοιχείων και ηλεκτρολυτών. Είναι άλλωστε γνωστός ο ρόλος κάποιων ιχνοστοιχείων, όπως του χαλκού και του ψευδαργύρου καθώς και της βιταμίνης C στην λιπιδική υπεροξειδωση. Οι μελέτες θα συνεχιστούν με περισσότερα δείγματα για να μπορέσουμε να προτείνουμε την διαιτητική λήψη ιχνοστοιχείων και βιταμινών για την μείωση του κινδύνου αθηροσκλήρυνσης.

AA03

**ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΗ ΟΞΕΩΣΗ ΚΑΙ Η ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΗΣ ΜΕ ΤΗ ΘΡΕΠΤΙΚΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ
ΣΤΗΝ ΑΙΜΟΚΑΘΑΡΣΗ**

Ευγενία Καράκου¹, Θεόδωρος Χήρας², Μαρία Καράκου³, Μάκρω Σονικιάν², Νικόλαος Τράκας¹

¹Βιοχημικό Τμήμα, Γενικό Νοσοκομείο Αττικής "Σισμανόγλειο - Αμαλία Φλέμινγκ", Αθήνα

²Μονάδα Τεχνητού Νεφρού, Γενικό Νοσοκομείο Αττικής "Σισμανόγλειο - Αμαλία Φλέμινγκ", Αθήνα

³Διεύθυνση Υγειονομικού Ελέγχου & Περιβαλλοντικής Υγιεινής Β. Τομέας, Νομαρχία Αττικής, Αθήνα

Εισαγωγή: Η μεταβολική οξέωση (ΜΟ) παίζει σημαντικό ρόλο στην κατάσταση θρέψης και την επιβίωση των ασθενών που υποβάλλονται σε αιμοκάθαρση (ΑΜΚ). Το φυσιολογοποιημένο άζωτο πρωτεΐνης (normalized protein equivalent of nitrogen appearance, nPNA) καθώς και η αλβουμίνη ορού χρησιμοποιούνται ως δείκτες πρόσληψης πρωτεϊνών και ενέργειας.

Σκοπός: Η αξιολόγηση της συσχέτισης μεταξύ πρωτεϊνικής πρόσληψης και μεταβολικής οξέωσης (ΜΟ) σε ασθενείς που υποβάλλονται σε χρόνια αιμοκάθαρση.

Υλικά και Μέθοδοι: Μελετήθηκαν 25 αιμοκαθαιρόμενοι ασθενείς (20 άνδρες, 5 γυναίκες) μέσης ηλικίας 62.2±13.7 ετών. Διενεργήθηκαν αιμοληψίες πριν τη συνεδρία ΑΜΚ για τον προσδιορισμό των pH, HCO₃⁻ (BIC) και αλβουμίνης ορού. Όσον αφορά το δείκτη εκτίμησης θρέψης nPNA, οι υπολογισμένες, με χρήση της εξίσωσης Bergstrom, τιμές PNA, κανονικοποιήθηκαν στο σωματικό βάρος. Οι ασθενείς χωρίστηκαν σε δύο ομάδες, σύμφωνα με τα επίπεδα HCO₃⁻, ομάδα Α: (< 22 mEq/L (ΜΟ)) και ομάδα Β: ≥ 22 mEq/L και εφαρμόστηκε το independent samples t-test. Η Στατιστική Ανάλυση των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκε με χρήση του προγράμματος SPSS v.19.0. Τα αποτελέσματα θεωρήθηκαν σημαντικά όταν p < 0.05.

Αποτελέσματα: Στην ομάδα Β των ασθενών με BIC ≥ 22 mEq/L, η μέση τιμή του δείκτη nPNA ήταν σημαντικά χαμηλότερη σε σχέση με την ομάδα Α με BIC < 22 mEq/L (nPNA: 1.02±0.11 vs 1.35±0.24 g/kg/day, p<0.001). Δεν υπήρξε σημαντική διαφορά στην αλβουμίνη μεταξύ των δύο ομάδων (3.95±0.37 vs 3.96±0.41 g/dL, p=0.932). Με χρήση γραμμικής παλινδρόμησης (συντελεστής συσχέτισης Pearson) στο σύνολο των ασθενών παρατηρήθηκε σημαντική αρνητική συσχέτιση του δείκτη nPNA με τα επίπεδα των HCO₃⁻ (R= -0.599, R²=0.360, p=0.002) και τις τιμές pH (R= -0.517, R²=0.270, p=0.008) και οριακά σημαντική θετική συσχέτιση με την αλβουμίνη ορού (R=0.405, R²=0.160, p=0.045).

Συμπεράσματα: Η πρωτεϊνική πρόσληψη των αιμοκαθαιρόμενων ασθενών επηρεάζει το βαθμό μεταβολικής οξέωσης (ΜΟ) πριν την αιμοκάθαρση.

AA4

ΜΕΤΡΗΣΗ ΤΗΣ ΛΙΠΟΠΡΩΤΕΙΝΗΣ Lp(a) ΚΑΙ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΤΟ ΛΙΠΙΔΑΙΜΙΚΟ ΠΡΟΦΙΛ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΤΟΥ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟΥ ΜΑΣ

Μαριλένα Σταμούλη¹, Ιωάννα Παναγιώτου¹, Αντωνία Μουρτζίκου², Σοφία Κουγιουμτζίδου¹, Αναστάσιος Σκληρής³, Εμμανουήλ Κωνσταντάκης¹

¹Βιοχημικό Τμήμα, Ναυτικό Νοσοκομείο Αθηνών, Αθήνα

²Εργαστήριο Διαγνωστικής Κυτταρολογίας, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Αττικών, Αθήνα

³Ανοσολογικό Τμήμα, Ναυτικό Νοσοκομείο Αθηνών, Αθήνα

Εισαγωγή: Η Lp(a) είναι παράγοντας κινδύνου καρδιαγγειακών παθήσεων. Συμβάλλει στην αύξηση της αθηρογένεσης μέσω πολλαπλών μηχανισμών, όπως η αυξημένη εναπόθεση χοληστερόλης στο τοίχωμα των αρτηριών, η αναστολή της ινωδόλυσης και η ενισχυμένη οξείδωση της LDL χοληστερόλης. Τα επίπεδα Lp(a) είναι γενετικά καθορισμένα και παραμένουν σχετικά σταθερά στην διάρκεια της ζωής ενός ατόμου χωρίς να επηρεάζονται από αλλαγές στον τρόπο ζωής. Ποικίλουν μεταξύ ατόμων διαφορετικών εθνικοτήτων. Σκοπός της εργασίας μας είναι η μέτρηση επιπέδων Lp(a) σε ασθενείς του νοσοκομείου μας και η συσχέτιση τους με τα επίπεδα της ολικής χοληστερόλης (CHOL), των τριγλυκεριδίων (TRG) και της HDL-χοληστερόλης (HDL-CHOL).

Υλικά και Μέθοδοι: εξετάστηκαν τα δείγματα ορού 1218 ασθενών (774 άνδρες και 444 γυναίκες) ηλικίας 18-60 ετών. Πριν τη δειγματοληψία προηγήθηκε νηστεία 14 ωρών. Επειδή η Lp(a) ενεργεί σαν πρωτεΐνη οξείας φάσης, δείγματα με ενδείξεις ενεργού φλεγμονής αποκλείστηκαν. Η μέτρηση των επιπέδων Lp(a), CHOL, TRG και HDL-CHOL έγινε στον βιοχημικό αναλυτή ADVIASiemens 1800 με τα kit 1417-0537, 1417-0047, 1417-0067 και 1417-0247 της MEDICON HELLAS SA αντίστοιχα. Η στατιστική επεξεργασία έγινε με το MINITAB 17. Το επίπεδο σημαντικότητας ορίστηκε σε 0.05

Αποτελέσματα: Οι βασικές στατιστικές παράμετροι του δείγματος απεικονίζονται στον παρακάτω πίνακα:

Variable	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3	Maximum
Lp(a)	27,08	1,08	37,63	0,06	2,97	11,38	35,76	481,45
CHOL	204,84	1,76	61,38	21,40	174,00	201,00	228,00	1788,00
TRG	117,77	1,89	65,78	24,00	72,00	102,00	147,00	655,00
HDL-CHOL	60,574	0,719	25,099	25,300	49,000	59,000	69,000	768,300

Συνολικά 359 (29.5 %) ασθενείς (227 άνδρες και 132 γυναίκες) είχαν επίπεδα Lp(a) μεγαλύτερα του φυσιολογικού (30.0 mg/dL). Η ανάλυση γραμμικής παλινδρόμησης έδειξε οριακή εξάρτηση με το φύλο (p=0.045).

Συζήτηση: Υψηλά επίπεδα Lp(a) αυξάνουν τον κίνδυνο ανάπτυξης στεφανιαίας νόσου και εγκεφαλικών αγγειακών επεισοδίων και μπορούν να εμφανιστούν και σε άτομα με φυσιολογικό λιπιδαιμικό προφίλ. Επιδημιολογικές και γενετικές μελέτες έδειξαν ότι τα αυξημένα επίπεδα Lp(a), ιδίως πάνω από 50 mg/dL, είναι ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για τις καρδιαγγειακές παθήσεις, γεγονός που επιβεβαιώνεται και από τα αποτελέσματά μας. Παθήσεις που μπορούν να προκαλέσουν αυξημένα επίπεδα Lp(a) είναι ο σακχαρώδης διαβήτης, η νεφρική ανεπάρκεια, οι καρδιαγγειακές και οι αγγειακές εγκεφαλικές διαταραχές.

AA05

ΕΠΙΠΕΔΑ ΑΛΚΑΛΙΚΗΣ ΦΩΣΦΑΤΑΣΗΣ ΣΤΟΝ ΟΡΟ ΠΑΙΔΙΩΝ ΚΑΙ ΕΦΗΒΩΝ ΜΕ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΣΙΤΙΣΗΣ.

Νικολέτα Χατζηϊωαννίδου¹, Φανή Ντογραματζή², Ζωή Αθανασιάδου², Ελένη Βαγδατλή²

¹Παράρτημα Χρόνιων Παθήσεων Θεσσαλονίκης “Ο Άγιος Παντελεήμονας”, Κέντρο Κοινωνικής Πρόνοιας Κεντρικής Μακεδονίας, Θεσσαλονίκη

²Βιοχημικό Εργαστήριο, Ιπποκράτειο Γενικό Νοσοκομείο Θεσσαλονίκης. Θεσσαλονίκη

Σκοπός: Οι Διαταραχές Σίτισης (Δ.Σ.) περιλαμβάνουν σοβαρές διαταραχές στη διατροφή και στο βάρος καθώς και σοβαρή υποβόσκουσα ψυχοπαθολογία. Από τα πιο σοβαρά συμπτώματα είναι η υπερβολική απώλεια βάρους που προέρχεται από αυστηρή στέρση τροφής ή καθαρτικές συμπεριφορές, με αναρτίθμητες επιπτώσεις στην υγεία του ατόμου. Κάποιες από τις πιο σημαντικές επιπλοκές της νόσου είναι σκελετικές όπως η οστεοπόρωση και η αναστολή ανάπτυξης στο ύψος.

Η ενεργότητα της ολικής Αλκαλικής Φωσφατάσης (ALP) του ορού είναι ο συνηθέστερα χρησιμοποιούμενος δείκτης οστικής παραγωγής και στην παιδική και στην εφηβική ηλικία, είναι κυρίως οστικής προέλευσης και απαντάται σε επίπεδα υψηλότερα των ενηλίκων.

Σκοπός της μελέτης είναι η αξιολόγηση των επιπέδων της ALP στον ορό παιδιών και εφήβων με Δ.Σ. (ασθενείς) και η εκτίμηση του πιθανού ρόλου αλλά και η σημαντικότητα του βιοχημικού αυτού δείκτη στους ασθενείς αυτούς.

Υλικό και μέθοδοι: Κατά την περίοδο 09/02/15 έως 13/08/18 μετρήθηκαν τα επίπεδα ALP στον ορό 22 παιδιών και εφήβων (18 κορίτσια και 4 αγόρια) από 10 έως 17 ετών (15,3±1,9) με Δ.Σ. καθώς και στον ορό 22 υγιών μαρτύρων εξομοιωμένους ως προς την ηλικία με τους ασθενείς (14,4±2,1). Οι μετρήσεις έγιναν σε αναλυτές της Beckman Coulter AU2700 και AU640.

Αποτελέσματα: Τα αποτελέσματά μας παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα.

Ομάδα	Αριθμός ατόμων	Μέση τιμή±SD ALP IU/L
Ασθενείς με Δ.Σ.	22	57,75±24,59*
Φυσιολογικοί μάρτυρες	22	171,98±93,14

*P<0.001

Όπως προκύπτει η ενεργότητα της ALP στον ορό μειώνεται στατιστικώς σημαντικά στα παιδιά και εφήβους με Δ.Σ.. Συγκεκριμένα ο δείκτης μείωσης ήταν 57,75/171,95=0,34

Συμπεράσματα: Τα παιδιά και έφηβοι με Δ.Σ. εμφανίζουν σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα ALP σε σύγκριση με συνομηλικούς τους. Το εύρημα αυτό ενδεχομένως να οφείλεται σε ορμονικές διαταραχές, στην υπομαγνησισαιμία, στην έλλειψη ψευδαργύρου και στην υποφωσφαταιμία ως συνέπεια εμέτων, υπερβολικής άσκησης, χρήσης διουρητικών ή καθαρτικών και ενίοτε του συνδρόμου επανασίτισης. Η μεγάλη αυτή διαφοροποίηση των τιμών της ALP στα άτομα αυτά θα μπορούσε, ίσως, να συμβάλλει στη διάγνωση των διαταραχών αυτών, δεδομένων των ισχυρών συναισθημάτων μυστικοπάθειας, άρνησης και ντροπής, που τα χαρακτηρίζουν με αποτέλεσμα να παρεμποδίζεται η έγκαιρη διάγνωση και η θετική θεραπευτική εξέλιξη της νόσου.

AA06

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΥΠΕΡΛΙΠΙΔΑΙΜΙΑΣ ΣΕ ΠΑΙΔΙΑ ΚΑΙ ΕΦΗΒΟΥΣ ΜΕ ΣΥΝΔΡΟΜΑ ΠΟΥ ΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΟΝΤΑΙ ΣΤΙΣ ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΠΡΟΣΛΗΨΗΣ ΤΡΟΦΗΣ

Νικολέτα Χατζηϊωαννίδου¹, Φανή Ντογραματζή², Ζωή Αθανασιάδου², Ελένη Βαγδατλή²

¹Παράρτημα Χρόνιων Παθήσεων Θεσσαλονίκης “Ο Άγιος Παντελεήμονας” Κέντρο Κοινωνικής Πρόνοιας Κεντρικής Μακεδονίας, Θεσσαλονίκη

²Βιοχημικό Εργαστήριο, Ιπποκράτειο Γενικό Νοσοκομείο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη

Σκοπός: Διαταραχή Πρόσληψης Τροφής (Δ.Π.Τ.) είναι μία επίμονη διαταραχή της διατροφής ή της σχετιζόμενης με την διατροφή συμπεριφοράς που έχει σε σημαντικό βαθμό αρνητικές επιπτώσεις στην υγεία και την ψυχοκοινωνική λειτουργικότητα του ατόμου. Πρόκειται για σύνδρομο όπου περιλαμβάνονται η νευρογενής ανορεξία και η νευρογενής βουλιμία.

Στους πάσχοντες από αυτά ως συχνή μεταβολική διαταραχή παρατηρείται υπερλιπιδαιμία παρά τον υποσιτισμό και την αποφυγή γευμάτων πλούσιων σε λιπαρά και χοληστερόλη. Μάλιστα συγκαταλέγονται στις αιτίες δευτεροπαθούς δυσλιπιδαιμίας στα παιδιά-εφήβους αυξάνοντας τον κίνδυνο για καρδιαγγειακή νόσο όταν αυτά φτάνουν στη μέση ηλικία

Σκοπός της εργασίας είναι η διερεύνηση των επιπέδων της ολικής χοληστερόλης (CHOL), των τριγλυκεριδίων (TRI), της χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης (LDL) και της υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης (HDL) και οι ενδεχόμενες μεταβολές τους σε παιδιά και εφήβους με Δ.Π.Τ., σε σύγκριση με φυσιολογικούς μάρτυρες.

Υλικό και μέθοδοι: Κατά την περίοδο 09/02/15 έως 13/08/18 μετρήθηκαν τα επίπεδα CHOL., TRI., HDL, στον ορό 21 παιδιών και εφήβων (17 κορίτσια και 4 αγόρια) από 10 έως 17 ετών (15,3±1,9) με Δ.Π.Τ. καθώς και στον ορό 21 υγιών μαρτύρων εξομοιωμένους ως προς την ηλικία με τους ασθενείς (14,4±2,1). Οι μετρήσεις έγιναν σε αναλυτές της Beckman Coulter AU2700 και AU640, ενώ η LDL προσδιορίστηκε υπολογιστικά με την εξίσωση Friedewald.

Αποτελέσματα: Τα αποτελέσματά μας παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα

Αριθμός ατόμων	Μέση τιμή±SD			
	CHOL mg/dL	TRI mg/dL	HDL mg/dL	LDL mg/dL
Ασθενείς με Δ.Π.Τ n=21	185,71±38,26*	76,14±36,2**	64,95±19,53***	105,38±33,37****
Φυσιολογικοί μάρτυρες n=21	145,24±30,11	65,70±27,62	52,01±12,40	80,05±22,15

*p<0,001 **p>0,05 ***p<0,05 ****p<0,05

Συμπεράσματα: Τα παιδιά-έφηβοι με Δ.Π.Τ παρουσίασαν σημαντικά υψηλότερη μέση τιμή CHOL, HDL και LDL σε σχέση με τους μάρτυρες παιδιά-έφηβους, ενώ η μέση τιμή των TRI δεν παρουσιάζει σημαντική διαφορά ανάμεσα στις δύο ομάδες.

Τα ευρήματα αυτά θα μπορούσαν να οφείλονται σε ορμονικές διαταραχές όπως ο υποθυρεοειδισμός που ορισμένες φορές παρουσιάζουν οι πάσχοντες, αλλά και στην κινητοποίηση λίπους για παραγωγή ενέργειας, σε μειωμένο σχηματισμό χολικών οξέων, κινητοποίηση χοληστερόλης από τους περιφερειακούς ιστούς προς το ήπαρ, αύξηση απορρόφησης εξωγενούς χοληστερόλης και άλλους σύμπλοκους μηχανισμούς που πολλοί παραμένουν άγνωστοι.

Η καλύτερη γνώση των βασικών μηχανισμών που οδηγούν στις αλλαγές του μεταβολισμού των λιποπρωτεϊνών θα μπορούσε να συμβάλει στην καλύτερη διαχείριση των ασθενών αυτών.

AA07

ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΒΙΟΧΗΜΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ ΣΤΟΝ ΟΡΟ ΠΑΙΔΙΩΝ ΚΑΙ ΕΦΗΒΩΝ ΜΕ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΣΙΤΙΣΗΣ

Νικολέτα Χατζηϊωαννίδου¹, Ζωή Αθανασιάδου², Φανή Ντογραματζή², Ελένη Βαγδατλή²

¹Παράρτημα Χρόνιων Παθήσεων Θεσσαλονίκης “Ο Άγιος Παντελεήμονας”, Κέντρο Κοινωνικής Πρόνοιας Κεντρικής Μακεδονίας, Θεσσαλονίκη

²Βιοχημικό Εργαστήριο, Ιπποκράτειο Γενικό Νοσοκομείο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη

Σκοπός: Οι Διαταραχές Σίτισης (Δ.Σ.) αποτελούν μια ευρεία ομάδα ψυχολογικών διαταραχών, οι οποίες ορίζονται από την υπερβολική ενασχόληση με το σωματικό βάρος και σχήμα, συνοδευόμενες από ελλιπή, ακατάλληλη, ακανόνιστη ή υπερβολική πρόσληψη τροφής που μπορεί να οδηγήσει σε πλειάδα επιπλοκών (καχεξία, καρδιακές, αιματολογικές, σκελετικές, αναπαραγωγικές, νευροψυχιατρικές κ.α). Συνηθέστερες διαταραχές σίτισης αποτελούν η νευρογενής ανορεξία και η νευρογενής βουλιμία.

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η αξιολόγηση των επιπέδων των βιοχημικών δεικτών Γλυκόζης (Gluc), Ασβεστίου (Ca), Φωσφόρου (Ph), Καλίου (K), Νατρίου (Na), Ολικών λευκωμάτων (TP), Αλβουμίνης (ALB), Μαγνησίου (Mg) και Σιδήρου (Fe) στον ορό των παιδιών και εφήβων με Δ.Σ..

Υλικό και μέθοδοι: Κατά την περίοδο 09/02/15 έως 13/08/18 μετρήθηκαν τα επίπεδα των παραπάνω δεικτών στον ορό 22 παιδιών και εφήβων (18 κορίτσια και 4 αγόρια) από 10 έως 17 ετών με Δ.Σ.. Οι μετρήσεις έγιναν σε αναλυτές της Beckman Coulter AU2700 και AU640.

Αποτελέσματα: Ο Πίνακας δείχνει τον αριθμό και το ποσοστό % των παιδιών και εφήβων με Δ.Σ που εμφάνισαν μειωμένα επίπεδα των παραπάνω βιοχημικών δεικτών στον ορό.

	Gluc	Ca	Ph	K	Na	TP	ALB	Mg	Fe
Επίπεδα στον ορό	<75 mg/dL	<9,2 mg/dL	<3,6 mg/dL	<3,5 mmol/L	<136 mmol/L	<6,6 g/dL	<3,5 g/dL	<1,9 mg/dL	<60 μg/dL
Άτομα με Δ.Σ. n=22	13	6	7	2	5	6	1	6	10
Ποσοστό%	59%	27,3%	31,8%	9,1%	22,7%	27,3	4,5%	27,3%	36,4%

Συμπεράσματα: Τα παιδιά και έφηβοι με Δ.Σ. εμφανίζουν σε μεγάλο ποσοστό ελαττωμένα επίπεδα Γλυκόζης και Σιδήρου στον ορό. Σχετικά μικρότερο αλλά επίσης σημαντικό είναι το ποσοστό αυτών που εμφανίζουν ελαττωμένα επίπεδα φωσφόρου, ασβεστίου, ολικών λευκωμάτων και μαγνησίου στον ορό, ενώ είναι πολύ μικρό το ποσοστό αυτών, που εμφανίζουν ελαττωμένα επίπεδα Καλίου και Αλβουμίνης στον ορό τους. Οι προαναφερόμενες διαταραχές πιθανώς να είναι μεταβολικές επιπλοκές που εμφανίζονται ως δευτερογενείς συνέπειες της ασπίας ή της πρόκλησης εμέτων και χρήσης καθαρικών φαρμάκων, πρακτικές που καταφεύγουν οι ασθενείς αυτοί για τον έλεγχο του σωματικού τους βάρους, ή ορισμένες να οφείλονται στο σύνδρομο επανασίτισης. Κρίνεται απαραίτητη η περαιτέρω διερεύνηση των αιτιών μείωσης των βιοχημικών αυτών δεικτών καθώς και της συμβολής τους στην πρόβλεψη αλλά και έγκαιρη διάγνωση των επιπλοκών της νόσου

Η ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΜΕΤΑΒΛΗΤΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΣΚΛΗΡΟΣΤΙΝΗΣ ΚΑΙ ΤΟΥ DKK1 ΣΕ ΥΓΙΕΙΣ ΕΘΕΛΟΝΤΕΣ

**Τρουφωνίδα Ιουλία¹, Πασανικολάκη Αθηνά¹, Λιάκου Χρύσα², Τουρνής Συμεών²,
Ευθυμιόπουλος Νίκος², Μαρκέτου Ελένη¹, Μακρής Κωνσταντίνος¹**

¹Βιοχημικό Τμήμα, Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών ΚΑΤ, Αθήνα

*²Εργαστήριο Έρευνας Μυοσκελετικών Παθήσεων των Οστών "Θ. Γαρουφαλίδης",
Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα*

Εισαγωγή: Η ανακάλυψη του σηματοδοτικού μονοπατιού του Wnt/b-catenin έχει συνεισφέρει στην καλύτερη κατανόηση των κυτταρικών και μοριακών μηχανισμών της οστικής εναλλαγής (bone remodeling). Παίζει σημαντικό ρόλο στη διατήρηση της σκελετικής υγείας ρυθμίζοντας την διαφοροποίηση, τον πολλαπλασιασμό και την επιβίωση των οστεοβλαστών. Η οικογένεια του Wnt περιλαμβάνει περισσότερες από 15 πρωτεΐνες. Η Σκληροστίνη (αποτελεί προϊόν του γονιδίου SOST) και το Dickkopf-1 (DKK1) (αποτελεί προϊόν του γονιδίου DKK1), είναι ανταγωνιστές του μονοπατιού του Wnt/b-catenin. Και οι δύο ενέχονται στην αναπτυξιακή διαδικασία των οστών με συνέπεια την αύξηση της ζήτησης της μέτρησης τους σε αρκετές κλινικές μελέτες. Δεν υπάρχουν όμως δεδομένα πάνω στην βιολογική μεταβλητότητα τα οποία είναι απαραίτητα για την σωστή ερμηνεία των αποτελεσμάτων και των διαδοχικών μετρήσεων αυτών των δεικτών.

Σκοπός της μελέτης ήταν ο υπολογισμός (1) της ενδοατομικής και διατομικής βιολογικής μεταβλητότητας (CVi και CVg) της Σκληροστίνης και του DKK1 σε μία ομάδα υγιών εθελοντών (2) της κλινικά σημαντικής μεταβολής (RCV) για τις δύο παραμέτρους και (3) του δείκτη ατομικότητας (ΔΑ).

Υλικό και μέθοδοι: Δεκατέσσερις υγιείς άνδρες και 14 υγιείς γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας με φυσιολογικό έμμηνο κύκλο συμμετείχαν στη μελέτη. Η μέση ηλικία (+SD) τους ήταν 42(12.5) και 38.7 (13.4) έτη αντίστοιχα. Δείγματα αίματος συλλεχθηκαν από όλους τους συμμετέχοντες μετά από ολονύκτια νηστεία, φυγοκεντρήθηκαν για 10 min στα 1,000 g εντός 30 min από τη συλλογή και φυλάχθηκαν στους -80 °C μέχρι την ημέρα της ανάλυσης τους. Η συλλογή για τους άνδρες έγινε δύο φορές την εβδομάδα για 4 συνεχόμενες εβδομάδες και για τις γυναίκες καθορίστηκε σύμφωνα με τον κύκλο κάθε γυναίκας κάθε δεύτερη ημέρα ξεκινώντας από την αρχή του κύκλου μέχρι την έναρξη του επόμενου. Η σκληροστίνη και το DKK1 μετρήθηκαν με την μέθοδο της ELISAs (Biomedical, Wien Austria). Η στατιστική ανάλυση για τον υπολογισμό των CVi και CVg έγινε με το SPSS.

Αποτελέσματα: Η μέθοδος μέτρησης της Σκληροστίνης είχε ευαισθησία 2.6pmol/L και συνολικό αναλυτικό σφάλμα (CVa) 6.63%. Αντίστοιχα το DKK-1 είχε ευαισθησία 1.7pmol/L και CVa=7.10 %. Για την Σκληροστίνη το CVi ήταν 26.05% για τις γυναίκες και 25.11%, για τους άνδρες ενώ το CVg ήταν 70.93% και 68.66% αντίστοιχα. Το RCV και ο ΔΑ υπολογίστηκαν στο 74.51%, και στο 0.37 αντίστοιχα και ήταν ίδιος και για άνδρες και για γυναίκες. Για το DKK1 το CVi ήταν 59.87% για τις γυναίκες και 57.12% για τους άνδρες ενώ το CVg ήταν 37.79% και 35.15% αντίστοιχα. Το RCV και ο ΔΑ για το DKK1 υπολογίστηκαν στο 167%, και στο 1.58 αντίστοιχα και ήταν ίδιος και για άνδρες και για γυναίκες

Συμπέρασμα: Τα επίπεδα της Σκληροστίνης και του DKK1 δεν μεταβάλλονται κατά την διάρκεια του εμμηνο κύκλου στις γυναίκες της αναπαραγωγικής ηλικίας. Το CVi και η υπολογιζόμενη RCV είναι πολύ υψηλά και στους άνδρες και στις γυναίκες. Η κλινική σημασία τέτοιων υψηλών RCV είναι αμφισβητήσιμη διότι τα επίπεδα και των δύο παραμέτρων στο αίμα ρυθμίζονται αυστηρά από συγκεκριμένους παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς και επομένως οι μεταβολές τους στο αίμα δεν θα μπορούσαν να μεταφραστούν σαν τυχαίες μεταβολές γύρω από ένα ομοιοστατικό μέσο όρο αλλά μάλλον σαν αποτέλεσμα της ενεργοποίησης ή της καταστολής του σηματοδοτικού τους μονοπατιού.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΩΝ PD-1/PD-L1 ΣΕ ΚΑΚΟΗΘΗ ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ

Αθανάσιος Δοδόπουλος¹, Κατερίνα Ψαρρά¹, Ειρήνη Γρηγορίου¹, Αλεξάνδρα Τσιρογιάννη¹,
Ευρύκλεια Λιανίδου²

¹Τμήμα Ανοσολογίας - Ιστοσυμβατότητας, Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών Ο Ευαγγελισμός, Αθήνα

²Εργαστήριο Ανάλυσης Κυκλοφορούντων Καρκινικών Κυττάρων, Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας, Τμήμα Χημείας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

Σκοπός: Στην παρούσα μελέτη προσδιορίστηκε με πολυπαραμετρική κυτταρομετρία ροής η έκφραση του PD-1 (Programmed Death-1) στα λεμφοκύτταρα και του PD-L1 (Programmed Death Ligand-1) στα παθολογικά κύτταρα ασθενών με αιματολογικά νεοπλασμάτα. Η αλληλεπίδραση των PD-1/PD-L1 επάγει ανοσοκαταστολή και προάγει την επιβίωση των νεοπλασματικών κυττάρων.

Υλικό – Μέθοδοι: Η ομάδα των ασθενών περιελάμβανε 117 άτομα με ALL (N=8), AML (N=41), MDS (N=18), CLL-SLL (N=20), NHL (N=19) και MM(N=10), ενώ η ομάδα ελέγχου 15 άτομα. Η μελέτη του PD-L1 στα κακοήθη κύτταρα και τα λεμφοκύτταρα των ασθενών όπως και του PD-1 στους υποπληθυσμούς των λεμφοκυττάρων ασθενών και μαρτύρων έγινε με συνδυασμούς πενταπλού και επταπλού φθορισμού αντίστοιχα.

Αποτελέσματα: Παρατηρήθηκε: Α) όσον αφορά την έκφραση του PD-L1 α) στατιστικά σημαντική διαφορά της έκφρασης του PD-L1 στα κακοήθη κύτταρα μεταξύ των νοσημάτων ($p=0,000$) με υψηλότερη έκφραση στην ALL ($2,02\pm 2,77\%$) και χαμηλότερη στο MM ($0,37\pm 0,26\%$) β) σημαντικά αυξημένη έκφραση στους ασθενείς με AML και λευκοπενία συγκριτικά με εκείνους με φυσιολογικό ή αυξημένο αριθμό λευκοκυττάρων κατά τη διάγνωση γ) οριακά σημαντική μείωση στα λευχαιμικά κύτταρα των ασθενών με AML που εκφράζουν λεμφοκυτταρικά αντιγόνα ($p=0,055$) σε σύγκριση με δείγματα ασθενών με AML αρνητικά για λεμφοκυτταρικά αντιγόνα. Β) όσον αφορά την έκφραση του PD-1 α) στατιστικά σημαντικά υψηλότερη έκφραση στα T λεμφοκύτταρα των ασθενών σε σχέση με τα B και NK λεμφοκύτταρα ($p<0,001$) γ) υπερέκφραση στα B κύτταρα των ασθενών με MDS >65 ετών σε σχέση με τους ασθενείς ≤ 65 ετών και αρνητική συσχέτιση των επιπέδων του PD-1 με την ηλικία των ασθενών με ALL δ) ε) υπερέκφραση στους θρομβοπενικούς ασθενείς με MDS συγκριτικά με τους ασθενείς με φυσιολογικές τιμές αιμοπεταλίων κατά τη διάγνωση στ) οριακά σημαντική μείωση στους ασθενείς με *NPM1*(+) AML ($p=0,056$) και στα T κύτταρα των ασθενών με *FLT3-ITD*(+) AML ($p=0,082$) συγκριτικά με εκείνους που δεν έφεραν τις ανωτέρω μεταλλάξεις.

Συμπεράσματα: Η μελέτη της έκφρασης των PD-1/PD-L1 στα κακοήθη αιματολογικά νοσήματα με πολυπαραμετρική κυτταρομετρία ροής παρέχει χρήσιμες πληροφορίες τόσο για την εξέλιξη της ανοσολογικής δυσλειτουργίας κατά την εξέλιξη της νόσου όσο και για την επιλογή των υποψήφιων ασθενών για ανοσοθεραπεία.

AA10

Η ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΟΥ ΔΕΙΚΤΗ IRF ΣΤΗΝ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΑΝΑΙΜΙΑΣ ΣΕ ΑΙΜΟΚΑΘΑΙΡΟΜΕΝΟΥΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ

**Ευγενία Καράκου¹, Ρέα Χατζηκυριάκου², Ελένη Αλαφάκη², Παγώνα Σκλαπάνη³,
Μαρία Μπακάλη², Νικόλαος Τράκας¹**

¹Βιοχημικό Τμήμα, Γενικό Νοσοκομείο Αττικής "Σισμανόγλειο - Αμαλία Φλέμινγκ", Αθήνα

²Αιματολογικό Τμήμα, Γενικό Νοσοκομείο Αττικής "Σισμανόγλειο - Αμαλία Φλέμινγκ", Αθήνα

³Κυτταρολογικό Τμήμα, Νοσοκομείο Μητέρα, Αθήνα

Εισαγωγή: Ασθενείς, στο τελικό στάδιο της νεφρικής νόσου, που υποβάλλονται σε χρόνια αιμοκάθαρση, συχνά υποφέρουν από αναιμία με ανεπάρκεια σιδήρου, που αντιμετωπίζεται με ερυθροποιητικούς παράγοντες, συνήθως με χορήγηση ανασυνδυασμένης ανθρώπινης ερυθροποιητίνης.

Σκοπός: Σε αιμοκαθαιρόμενους ασθενείς, η αξιολόγηση του δείκτη IRF (Immature Reticulocyte Fraction - Κλάσμα αωρότητας των δικτυοερυθροκυττάρων, ΔΕΚ) στην ανίχνευση αναιμίας.

Υλικά και Μέθοδοι: Μελετήθηκαν 25 αιμοκαθαιρόμενοι ασθενείς (20 άνδρες, 5 γυναίκες) μέσης ηλικίας 62.2 ± 13.7 ετών και 20 υγιή άτομα (άνδρες και γυναίκες, μέσης ηλικίας 62.9 ± 9.4 ετών). Προσδιορίστηκαν ο απόλυτος αριθμός ΔΕΚ (ΦΤ: $25-75 \times 10^9/L$) και ο δείκτης IRF (ΦΤ: 25-50%) (Sysmex XE 2100, Roche). Οι ακόλουθες παράμετροι, επίσης μετρήθηκαν: Σίδηρος (Fe) (ΦΤ: 50-165 $\mu g/dL$), Σιδηροδεσμευτική Ικανότητα (TIBC) (ΦΤ: 250-450 $\mu g/dL$), C-Αντιδρώσα Πρωτεΐνη (CRP) (ΦΤ: $<6 \text{ mg/L}$) (Cobas 6000 c501, Roche) και η φερριτίνη ορού (ADVIA Centaur-Siemens). Η Στατιστική Ανάλυση των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του προγράμματος SPSS v.19.0. Μετά τον έλεγχο κανονικότητας, εφαρμόστηκε το independent samples t-test. Τα αποτελέσματα θεωρήθηκαν σημαντικά όταν $p < 0.05$.

Αποτελέσματα: Στην ομάδα των ασθενών, οι μέσες τιμές των IRF, Fe και TIBC ήταν σημαντικά χαμηλότερες σε σχέση με την ομάδα ελέγχου (IRF: 11.8 ± 7.6 vs 27.9 ± 7.2 %, $p < 0.001$ -Fe: 60.6 ± 35.6 vs 96.3 ± 24.3 $\mu g/dL$, $p < 0.001$ -TIBC: 231.6 ± 45.1 vs $297.3 \pm 25.1 \mu g/dL$, $p < 0.001$), ενώ των CRP και φερριτίνης ήταν σημαντικά υψηλότερες (CRP: 33.8 ± 45.0 vs $1.6 \pm 0.9 \text{ mg/L}$, $p < 0.005$ -φερριτίνη: 467.7 ± 371.3 vs 75.7 ± 48.6 $\mu g/L$, $p < 0.001$). Δεν υπήρξε σημαντική διαφορά στον αριθμό ΔΕΚ μεταξύ των δύο ομάδων (37.9 ± 18.3 vs $40.9 \pm 9.9 \times 10^9/L$, $p = 0.491$). Με χρήση γραμμικής παλινδρόμησης (Pearson) στην ομάδα των ασθενών, παρατηρήθηκε σημαντική θετική συσχέτιση του IRF με τον αριθμό ΔΕΚ ($R = 0.515$, $R^2 = 0.270$, $p = 0.008$).

Συμπεράσματα: Το IRF θεωρείται μια σπουδαία και ευαίσθητη παράμετρος εκτίμησης της ερυθροποιητικής δραστηριότητας του μυελού και παρακολούθησης της απάντησης των αιμοκαθαιρόμενων ασθενών στη θεραπεία με EPO, πιο οικονομική και πιο γρήγορη από άλλες περισσότερο πολύπλοκες και δαπανηρές εξετάσεις, όπως η μέτρηση διαλυτών υποδοχέων τρανσφερίνης ή τα επίπεδα EPO στον ορό.

AA11

ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΗΣ ΣΟΒΑΡΗΣ ΘΡΟΜΒΟΠΕΝΙΑΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΠΙΒΙΩΣΗ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΜΥΕΛΟΔΥΣΠΛΑΣΤΙΚΑ ΣΥΝΔΡΟΜΑ ΕΝΔΙΑΜΕΣΟΥ-2 ΚΑΙ ΥΨΗΛΟΥ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΚΑΤΑ IPSS, ΠΟΥ ΥΠΟΒΑΛΛΟΝΤΑΙ ΣΕ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΜΕ 5-ΑΖΑΚΥΤΙΔΙΝΗ

Ευδοξία Καμουζά¹, Χρήστος Κοντός¹, Βασιλική Πατπά², Ιωάννης Κοτσιανίδης³, Σωτήρης Παπαγεωργίου², Αλεξάνδρα Κουράκλη⁴, Αργύρης Συμεωνίδης⁴, Νόρα-Αθηνά Βύνιου⁵, Θεόδωρος Βασιλακόπουλος⁶, Αθανάσιος Γαλανόπουλος⁷

¹Τομέας Βιοχημείας και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

²Αιματολογικό Τμήμα και Μονάδα Έρευνας, Β' Προπαιδευτική Παθολογική Κλινική, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο «Αττικόν», Αθήνα

³Αιματολογικό Τμήμα, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Αλεξανδρούπολη

⁴Αιματολογικό Τμήμα, Πανεπιστημιακή Παθολογική Κλινική, Γενικό Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Πατρών, Πάτρα

⁵Αιματολογικό Τμήμα, Α' Πανεπιστημιακή Παθολογική Κλινική, Γενικό Νοσοκομείο «Λαϊκό», Αθήνα

⁶Πανεπιστημιακή Αιματολογική Κλινική, Γενικό Νοσοκομείο «Λαϊκό», Αθήνα

⁷Αιματολογική Κλινική, Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών «Γ. Γεννηματάς», Αθήνα

Σκοπός: Οι υπομεθυλιωτικοί παράγοντες 5-αζακυτιδίνη (5-AZA) και δεσιταβίνη θεωρούνται η πλέον προτιμητέα θεραπεία για ασθενείς με μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα (ΜΔΣ) ενδιαμέσου-2 και υψηλού κινδύνου, σύμφωνα με το International Prognostic Scoring System. Οι ασθενείς που ανταποκρίνονται στην 5-AZA έχουν καλύτερη επιβίωση. Στην παρούσα μελέτη, εξετάσαμε την προγνωστική σημασία της σοβαρής θρομβοπενίας σε ασθενείς με ΜΔΣ ενδιαμέσου-2 και υψηλού κινδύνου, που υποβάλλονται σε θεραπεία με 5-AZA, κατά τη διάρκεια των πρώτων τριών ετών θεραπείας.

Υλικό-Μέθοδοι: Αυτή η αναδρομική μελέτη περιλάμβανε 225 ασθενείς ενδιαμέσου-2 και υψηλού κινδύνου κατά IPSS, καταχωρημένους στο ελληνικό μητρώο ΜΔΣ, οι οποίοι υποβλήθηκαν σε αγωγή με 5-AZA από το 2010 έως το 2018 και παρακολούθηθηκαν για χρονικό διάστημα τριών ετών. Τα πλήρη κλινικοπαθολογικά δεδομένα και δεδομένα επιβίωσης ήταν διαθέσιμα για όλους τους ασθενείς. Έγινε ανάλυση επιβίωσης Kaplan-Meier και ανάλυση παλινδρόμησης κατά Cox. Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας καθορίστηκε σε τιμή πιθανότητας μικρότερη από 0,050 ($P < 0,050$).

Αποτελέσματα: Η ομάδα ασθενών περιλάμβανε 1 (0,4%) περιστατικό RUCD, 8 (3,6%) περιστατικά RCMD, 3 (1,3%) περιστατικά RCMD-RS, 43 (19,1%) περιστατικά RAEB-1 και 170 (75,6%) περιστατικά RAEB-2. Σύμφωνα με το IPSS, 174 (77,3%) ασθενείς ταξινομήθηκαν στην ομάδα ενδιαμέσου-2 κινδύνου και 51 (22,7%) ασθενείς στην ομάδα υψηλού κινδύνου. Επίσης, σύμφωνα με το IPSS-R, 24 (10,7%) ασθενείς κατηγοριοποιήθηκαν στην ομάδα ενδιαμέσου κινδύνου, 106 (47,1%) ασθενείς στην υψηλού κινδύνου και 95 (42,2%) ασθενείς στην πολύ υψηλού κινδύνου. Όλοι οι ασθενείς αξιολογήθηκαν ως προς την ανταπόκριση στη θεραπεία με 5-AZA. Η συνολική αρχική ανταπόκριση (CR, PR και HI) ήταν 45,6%. Σε 56 (25,8%) ασθενείς παρατηρήθηκε σταθεροποίηση της νόσου (SD), ενώ 62 (28,5%) ασθενείς παρουσίασαν εξέλιξη της νόσου (PD). Η σοβαρή θρομβοπενία δεν φαίνεται να αποτελεί προβλεπτικό παράγοντα για την ανταπόκριση στη θεραπεία με 5-AZA. Ωστόσο, η σοβαρή θρομβοπενία αποτελεί ένα δυσμενή προγνωστικό παράγοντα για την ολική επιβίωση (OS) των ασθενών με ΜΔΣ ενδιαμέσου-2 και υψηλού κινδύνου κατά τα τρία πρώτα έτη θεραπείας με 5-AZA ($P=0,016$ με Kaplan-Meier και $HR=1.6$, 95%, $CI=1.08$, $P=0,019$ με ανάλυση παλινδρόμησης κατά Cox).

Συμπεράσματα: Η μελέτη έδειξε ότι η σοβαρή θρομβοπενία σε ασθενείς με ενδιαμέσου-2 και υψηλού κινδύνου ΜΔΣ που θεραπεύονται με 5-AZA προβλέπει χαμηλότερα ποσοστά ολικής επιβίωσης, κατά τη διάρκεια των πρώτων τριών ετών θεραπείας.

ASSOCIATION OF FIBROBLAST GROWTH FACTOR 21 PLASMA LEVELS WITH NEONATAL SEPSIS: PRELIMINARY RESULTS

Tania Siahnidou¹, Alexandra Margeli², Vasiliki Bourika¹, Ioannis Papassotiriou²

¹Neonatal Unit, First Department of Pediatrics, Athens University Medical School

²Department of Clinical Biochemistry, "Aghia Sophia" Children's Hospital, Athens, Greece

Background: Infections remain one of the leading causes of morbidity and mortality in neonatal age and may also have severe long-term consequences. Identification of new or complementary biomarkers of neonatal infection or sepsis is of great importance. Fibroblast growth factor 21 (FGF21) is a member of the FGF superfamily, consisting of FGF19, FGF21, and FGF23. FGF21 has emerged as a key regulator in the metabolism of glucose and lipids. A possible role of FGF21 in sepsis has been suggested by the observation of increased circulating levels of this hormone during experimental sepsis in mice. Moreover, its administration has a protective effect from the toxicity of lipopolysaccharide (LPS) and sepsis. FGF21 can also reduce the severity of cerulein-induced pancreatitis in mice, further indicating that FGF21 could modulate inflammation. These findings highlight the possible role of FGF21 as a biomarker and a therapeutic tool in mice with sepsis and an inflammatory state. As the involvement of FGF21 in neonatal infection is not known yet we aimed to explore the clinical value of circulating FGF21 levels as biomarker of neonatal infection.

Methods: Seventy-seven full-term neonates were included in the study: of them 25 with febrile bacterial infection and 52 without any infections. Along with hematologic and blood chemistry parameters, plasma levels FGF-21 were determined by means of an immunoenzymatic technique.

Results: Plasma FGF21 levels were significantly higher in neonates with infection compared to controls ($p < 0.001$). FGF21 levels on admission correlated significantly with serum CRP levels ($r_s = 0.487$, $p = 0.01$) and also with plasma glucose ($r_s = 0.446$, $p < 0.05$) and triglyceride levels ($r_s = 0.419$, $p < 0.05$). In multiple regression analysis, the correlation between FGF21 and CRP levels remained significant after adjustment for glucose or triglyceride levels. Receiver operating characteristic analysis of FGF21 levels resulted in significant areas under the curve (AUC) for detecting infected neonates on admission (AUC=0.965, $p < 0.001$).

Conclusions: Circulating FGF21 levels are increased at the acute phase of neonatal infection possibly reflecting and/or participating in the inflammatory process, and correlated also with metabolic parameters. Thus as sepsis is associated with insulin resistance, we can also hypothesize that the increase in plasma FGF21 observed in the neonates with infection might also be due, at least partly, to insulin resistance. Insulin resistance in sepsis is due to a decreased effect of insulin, but also reflects an imbalance between insulin and its counter-regulatory hormones such as cortisol, glucagon, growth hormone and catecholamines. FGF21 may be used as an early marker of neonatal infection, however, prior to its clinical usefulness, this biomarker must undergo through rigorous validation in multiple cohorts.

AA13

**ΑΥΞΗΜΕΝΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΤΟΥ BRAIN-DERIVED NEUROTROPHIC FACTOR
ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΚΟΙΛΙΟΚΑΚΗ**

**Ιωάννης Παπασωτηρίου¹, Κέλλυ Μιχαλακάκου¹, Δάφνη Μαργώνη², Ελευθερία Ρώμα²,
Χριστίνα Κανακά-Gantenbein²**

¹Βιοχημικό Τμήμα, Γενικό Νοσοκομείο Παίδων Αθηνών «Η Αγία Σοφία», Αθήνα

²Α΄ Παιδιατρική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών, Γενικό Νοσοκομείο Παίδων Αθηνών «Η Αγία Σοφία», Αθήνα

Εισαγωγή: Η πρωτεΐνη Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF), ανήκει στην οικογένεια των νευροτροφικών παραγόντων και ασκεί προστατευτική δράση στο νευρικό σύστημα, προάγοντας την πλαστικότητα των νευρώνων. Βρίσκεται σε αφθονία στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα, αλλά εκφράζεται επίσης στο γαστρεντερικό. Η κοιλιοκάκη είναι μία νόσος που χαρακτηρίζεται από φλεγμονή του εντέρου και έχει συνδεθεί με διάφορες νευρολογικές και ψυχιατρικές διαταραχές. Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν να εκτιμηθούν τα επίπεδα του BDNF στον ορό ασθενών με κοιλιοκάκη κατά τη διάγνωση και αυτών υπό δίαιτα ελεύθερη γλουτένης για περισσότερο από ένα έτος.

Μέθοδοι: 50 πρωτοδιαγνωσθέντες ασθενείς με κοιλιοκάκη (ηλικία 8.6 ± 3.7 έτη), 39 ασθενείς υπό δίαιτα ελεύθερη γλουτένης για περισσότερο από ένα έτος (ηλικία 10.4 ± 3.4 έτη) και 36 υγιείς μάρτυρες (ηλικία 8.0 ± 1.7 έτη) συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη. Έγινε καταγραφή των ανθρωπομετρικών στοιχείων των συμμετεχόντων και μέτρηση των κυκλοφορούντων επιπέδων BDNF στον ορό αυτών.

Αποτελέσματα: Βρέθηκε ότι: τα επίπεδα του BDNF ήταν σημαντικά υψηλότερα στους νεοδιαγνωσθέντες ασθενείς με κοιλιοκάκη συγκριτικά με αυτά των υγιών μαρτύρων ($26,110 \pm 8,204$ έναντι $19,630 \pm 8,093$ pg/ml, αντιστοίχως, $p < 0.001$). Παρομοίως, τα επίπεδα του BDNF ήταν σημαντικά υψηλότερα στους ασθενείς υπό δίαιτα συγκριτικά με αυτά των μαρτύρων ($28,860 \pm 7,992$ έναντι $19,630 \pm 8,093$ pg/ml, αντιστοίχως, $p < 0.001$). Τα επίπεδα του BDNF ήταν σημαντικά υψηλότερα στους ασθενείς υπό δίαιτα συγκριτικά με αυτούς κατά τη διάγνωση ($26,110 \pm 8,204$ έναντι $28,860 \pm 7,992$ pg/ml, αντιστοίχως, $p = 0.02$). Όταν οι ασθενείς κατά τη διάγνωση (όλοι είχαν θετικό ορολογικό έλεγχο κοιλιοκάκης) συγκρίθηκαν με εκείνους υπό δίαιτα και αρνητικό ορολογικό έλεγχο κοιλιοκάκης, παρατηρήθηκε μια τάση για υψηλότερες τιμές BDNF στους ασθενείς υπό δίαιτα ($30,012 \pm 3,675$ έναντι $26,301 \pm 2,668$ pg/ml, αντιστοίχως, $p\text{trend} = 0.09$). Ουδεμία διαφορά στις τιμές του BDNF παρατηρήθηκε ανάμεσα στους ασθενείς κατά τη διάγνωση και εκείνους υπό δίαιτα και θετικό ορολογικό έλεγχο κοιλιοκάκης. Τα επίπεδα του BDNF είναι ανεξάρτητα από τη συγκέντρωση των anti-tTG (νεοδιαγνωσθέντες ασθενείς: $r = 0.147$, $0 > 0.31$, ασθενείς υπό δίαιτα: $r = 0.114$, $p > 0.48$).

Συμπεράσματα: Οι ασθενείς με κοιλιοκάκη τόσο κατά τη διάγνωση, όσο και υπό δίαιτα, έχουν υψηλότερα επίπεδα BDNF. Το εύρημα αυτό πιθανά αντικατοπτρίζει την προστατευτική δράση που ασκεί το BDNF έναντι της χρόνιας φλεγμονής του εντέρου ή του χρόνιου stress από την ανάγκη συμμόρφωσης στη δίαιτα. Φαίνεται ότι το BDNF παίζει σημαντικό ρόλο στις ηλεκτροφυσιολογικές αλλαγές που συμβαίνουν στο ΚΝΣ των ασθενών με κοιλιοκάκη.

AA14

CIRCULATING SOLUBLE UROKINASE-TYPE PLASMINOGEN ACTIVATOR RECEPTOR (SUPAR) LEVELS REFLECT RENAL FUNCTION IN NEWLY DIAGNOSED PATIENTS WITH MULTIPLE MYELOMA WHO ARE TREATED WITH BORTEZOMIB-BASED THERAPY

Ioannis Papassotiriou¹, Gerasimos-Petros Papassotiriou², Efstathios Kastritis², Alexandra Margeli¹, Nikolaos Kanellias², Evangelos Eleutherakis-Papaiakovou², Ioannis Ntanasis-Stathopoulos², Maria Gavriatopoulou², Alexander Haliassos³, Meletios A. Dimopoulos², Evangelos Terpos²

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

²*Department of Clinical Therapeutics, Athens University Medical School, Athens, Greece*

³*Eseap, Athens, Greece*

Background: Renal impairment is a common complication of multiple myeloma. suPAR is the circulating form of a glycosyl-phosphatidylinositol-anchored three domain membrane protein that is expressed on a variety of cells, including immunologically active cells, endothelial cells, and podocytes. suPAR has been implicated in the pathogenesis of kidney disease, specifically focal segmental glomerulosclerosis and diabetic nephropathy, through interference with podocyte migration and apoptosis. We aimed to investigate a possible link between suPAR plasma levels and renal function decline in newly diagnosed patients with symptomatic myeloma before and after frontline therapy with bortezomib-based regimens.

Methods: We studied 47 newly-diagnosed MM patients (26M/20F, median age 69.5 years) before the administration of any kind of therapy and after best response to bortezomib-based therapy. Thirty (64%) patients had IgG-myeloma, 7(15%) had IgA and 10(21%) had light-chain only myeloma; 13(28%) patients had ISS-1, 19(40%) ISS-2 and 15(31%) had ISS-3 disease. Twenty-seven(57%) patients had eGFR<60 ml/min/1.73m², 23(49%) had eGFR<50 ml/min/1.73m² and 10(21%) had eGFR<30 ml/min/1.73m²; no patient was on dialysis. suPAR concentration was measured in the sera of all patients and of 24 healthy individuals by means of an immunoenzymatic assay (ViroGates, Denmark) along with a series of other blood chemistry markers: of renal function (Cystatin-C) and injury (NGAL); inflammation hs-CRP and IL-6; as well as parameters of cardiac function such as hs-Troponin-T and NT-proBNP. eGFR values were calculated based on CKD-EPI/Cystatin-C equation.

Results: We found that suPAR levels were elevated in MM patients at diagnosis compared to healthy individuals (4.1±2.2pg/mL (1.4-13.0pg/mL) vs. 1.8±0.3pg/mL (1.1-2.6pg/mL), p<0.001). Similarly, all other markers of cardio-renal dysfunction and inflammation were elevated in MM patients compared to controls (p<0.01 for all comparisons). suPAR levels strongly correlated with disease stage (ISS-1: 2.4±1.2pg/mL; ISS-2: 3.6±1.8pg/mL and ISS-3: 5.1±2.2pg/mL; p-ANOVA <0.001). After bortezomib-based frontline therapy (VCD=32, VTD=7, VMP=7, VD=1), 9(19%) patients achieved a complete response (CR), 11(23%) very good partial response (vgPR) and 19(40%) PR. Of 23 patients with eGFR<50 ml/min/1.73m², 18(78%) showed at least minor renal response to bortezomib-based frontline treatment, according to IMWG criteria. However, at patients' best response no significant changes of suPAR (4.4±2.7pg/mL) levels were observed (p=0.31). On the other hand, suPAR levels both at diagnosis and at best response strongly correlated with eGFR values (r=-0.700, p<0.001 and r=-0.890, p<0.001, respectively) and NGAL levels (r=0.657, p<0.001 and r=0.586, p<0.001, respectively). suPAR levels at diagnosis and at best response also correlated positively with log(IL-6) and log(hs-CRP) values (p<0.001) and markers of cardiac function hs-Troponin-T and NT-proBNP (p<0.001).

Conclusions: We conclude that suPAR levels are associated with renal function in patients with multiple myeloma both at diagnosis and at best response to bortezomib-based frontline therapy. Although suPAR correlates with disease stage, confirming previous observations, responders to anti-myeloma therapy continued to have elevated circulating suPAR, possibly reflecting persistent kidney damage, despite their renal response. Furthermore, suPAR correlated with the degree of inflammation and heart dysfunction in these patients. Future studies are needed in order to explore whether changes in suPAR may reflect increased risk for renal failure and/or progression in patients with multiple myeloma.

AA15

**PSA, fPSA, [-2] PROPSA ΚΑΙ PROSTATE HEALTH INDEX (PHI) ΣΤΗΝ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ
ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΠΡΟΣΤΑΤΗ**

**Γεώργιος Κολιός¹, Κλεονίκη Κοντοδήμου¹, Χρυσούλα Καλογερά¹, Ιωάννα Βλάχου¹,
Δημήτριος Μπαλτογιάννης², Σταύρος Τσαμπαλάς², Ελένη Μπαϊρακτάρη¹**

¹Βιοχημικό Εργαστήριο, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Ιωαννίνων, Ιωάννινα

²Ουρολογική Κλινική, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Ιωαννίνων, Ιωάννινα

Εισαγωγή: Ο προσδιορισμός του PSA ως προσυμπτωματικού ελέγχου στους άνδρες >50 ετών βρίσκεται υπό αμφισβήτηση εξαιτίας της περιορισμένης ειδικότητας του. Για το λόγο αυτό συνεχίζεται η έρευνα στην αναζήτηση νέων βιοδεικτών που θα μπορούσαν να αυξήσουν την ειδικότητα. Αναδρομικές μελέτες έχουν δείξει ότι η ισομορφή του προενζύμου του PSA, [-2]pPSA, αλλά και ο δείκτης *phi* (ProstateHealthIndex) μπορεί να ενισχύσει την εξειδίκευση του. Στην παρούσα εργασία παρουσιάζουμε τα πρώτα αποτελέσματα από την εισαγωγή του στο Νοσοκομείο μας.

Ασθενείς και μέθοδοι: Στα δείγματα ασθενών ενός μηνός (Μάιος 2018) του Νοσοκομείου μας για τους οποίους ζητήθηκε ο προσδιορισμός PSA, με τιμές PSA 2,0-10ng/ml και χωρίς προηγούμενο ιστορικό τιμών >10ng/ml, έγινε ο προσδιορισμός του [-2]pPSA και του δείκτη *phi* στον αναλυτή Beckman Coulter DXi800 και αξιολογήθηκαν τα αποτελέσματά τους.

Αποτελέσματα: Ο συνολικός αριθμός προσδιορισμών PSA στην διάρκεια του ενός μήνα ανήλθε σε 736, εκ των οποίων 227 (30,8%) βρισκόταν μεταξύ 2,0 και 10,0ng/ml. Ο παρακάτω πίνακας δείχνει την κατανομή των ασθενών (n=124) με τιμές PSA για δυο διαφορετικά επίπεδα τιμών PSA (2,0-4,0 και 4,0-10,0ng/ml), και για τιμές fPSA/PSA και *phi* μεγαλύτερες και μικρότερες του 0,25 και 20 αντίστοιχα.

PSA 2-4 ng/ml	phi <20	phi >20	PSA 4-10 ng/ml	phi <20	phi >20
fPSA/PSA >0,25	7	12	fPSA/PSA >0,25	3	7
fPSA/PSA <0,25	8	27	fPSA/PSA <0,25	8	47

Όπως φαίνεται από τον πίνακα 27/54 ασθενείς (50%) με τιμή PSA μεταξύ 2,0-4,0ng/ml έχουν λόγο fPSA/PSA <0,25 και *phi* >20 που απαιτεί περαιτέρω διερεύνηση. Στους ασθενείς με τιμή PSA μεταξύ 4,0 και 10,0ng/ml, 47/65 (72%) εμφανίζουν λόγο fPSA/PSA <0,25 και *phi* >20 και συνεπώς αποτελούν ομάδα υψηλού κινδύνου με αυξημένη πιθανότητα PCa.

Συμπέρασμα. Η εισαγωγή της μέτρησης του δείκτη [-2]pPSA παράλληλα με την μέτρηση του PSA και fPSA καθώς και του δείκτη *phi* που προκύπτει από αυτούς [$phi = (p2PSA/fPSA) \times (tPSA)^{1/2}$], μπορεί να βελτιώσει τα διαγνωστικά χαρακτηριστικά τους και παράλληλα με τις νέες απεικονιστικές μεθοδολογίες να περιορίσει τις βιοψίες του προστάτη στις απολύτως απαραίτητες. Η χρήση του βέβαια θα πρέπει να περιοριστεί μόνο στις περιπτώσεις που υπάρχουν οι απαραίτητες ενδείξεις (PSA 2,0–10,0ng/ml).

ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ ΣΤΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΤΗΣ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ Β12 ΚΑΙ ΤΟΥ ΦΥΛΛΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΤΗΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗΣ ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΤΟΥ Γ. Ν. ΚΟΖΑΝΗΣ

Γεωργία Γρηγοροπούλου¹, Φράνκα Παστόρε¹

¹Εργαστήριο Ιατρικής Βιοπαθολογίας, Γενικό Νοσοκομείο «Μαμάτσειο» - Μποδοσάκειο Ν. Κοζάνης, Κοζάνη

Σκοπός: Η παρούσα μελέτη έχει σκοπό να διερευνήσει την επίδραση της ηλικίας στα επίπεδα των βιταμινών Β12 και φυλλικού οξέος σε ασθενείς της Παθολογικής κλινικής.

Υλικό και μέθοδοι: Το υλικό της μελέτης αποτέλεσαν 182 ασθενείς της παθολογικής κλινικής του Γ.Ν. Κοζάνης μέσης ηλικίας 72.87±15.87. Ο προσδιορισμός στον ορό της συγκέντρωσης της Β12 και του φυλλικού οξέος πραγματοποιήθηκε στον ανοσολογικό αναλυτή Cobas 6000e601, της εταιρείας Roche με τη μέθοδο της ηλεκτροχημειοφωταύγειας.

Αποτελέσματα: Η επίδραση της ηλικιακής ομάδας των ασθενών στα επίπεδα των βιταμινών Β12 και φυλλικού οξέος αξιολογήθηκε με την κατηγοριοποίηση των ασθενών σε τρεις ομάδες σύμφωνα με τα επίπεδα της Β12 (<200 ng/L, 200-350 ng/L και >350 ng/L) και τρεις ομάδες σύμφωνα με τα επίπεδα του φυλλικού οξέος (<4 μg/L, 4-10 μg/L και >10 μg/L). Τα αποτελέσματα της επίδρασης της ηλικίας των ασθενών στα επίπεδα της Β12 και του φυλλικού οξέος παρουσιάζονται στον Πίνακα 1.

Όπως φαίνεται από τα αποτελέσματα του Πίνακα 1, καθώς αυξάνεται η ηλικιακή ομάδα των ασθενών αυξάνεται και το ποσοστό των ασθενών με χαμηλά επίπεδα Β12 <200 ng/L από 3.03% σε 28.57%. Αντίθετα, δεν παρατηρείται καμία συσχέτιση της ηλικίας με τα επίπεδα του φυλλικού οξέος.

Συμπεράσματα: Από τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης προκύπτει ότι η έλλειψη της βιταμίνης Β12 συσχετίζεται με την ηλικία των ασθενών ενώ αντίθετα τα επίπεδα του φυλλικού οξέος δεν επηρεάζονται από αυτήν.

Πίνακας 1: Επίδραση της ηλικιακής ομάδας στα επίπεδα της Β12 και του φυλλικού οξέος.

Ομάδα Ασθενών	Ποσοστά ασθενών				
	<60 ετών	60-69 ετών	70-79 ετών	80-89 ετών	>90 ετών
B12<200 ng/L	3.03%	13.79%	19.44%	28.57%	28.57%
B12 200-350 ng/L	33.33%	17.24%	22.22%	40.00%	21.43%
B12>350 ng/L	63.63%	68.97%	58.33%	31.43%	50.0%
Folate<4 μg/L	42.42%	27.59%	22.22%	20.00%	42.86%
Folate 4-10 μg/L	42.42%	65.52%	63.89%	62.86%	42.86%
Folate>10 μg/L	15.15%	6.90%	13.89%	17.14%	14.29%

AA17

ΕΠΙΠΟΛΑΣΜΟΣ ΑΝΤΙΚΕΝΤΡΟΜΕΡΙΔΙΑΚΩΝ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ
ΤΟΥ ΝΑΥΤΙΚΟΥ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟΥ ΑΘΗΝΩΝ

**Μαριλένα Σταμούλη¹, Αναστάσιος Σκληρής², Αντωνία Μουρτζίκου³, Ευαγγελία Μαρασίδη¹,
Κωνσταντίνα Ζερβού¹, Μαρία Τσεσμελή¹, Εμμανουήλ Μουρνιακάκης¹**

¹Βιοχημικό Τμήμα, Ναυτικό Νοσοκομείο Αθηνών, Αθήνα

²Ανοσολογικό Τμήμα, Ναυτικό Νοσοκομείο Αθηνών, Αθήνα

³Εργαστήριο Διαγνωστικής Κυτταρολογίας, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών «Αττικόν»,
Αθήνα

Εισαγωγή: Η μέτρηση των αντικεντρομεριδιακών αντισωμάτων (ACA) χρησιμοποιείται στην αξιολόγηση ασθενών με κλινικά συμπτώματα συμβατά με το σύνδρομο CREST. Σκοπός της εργασίας μας ήταν η διερεύνηση της συχνότητας των ACA σε ασθενείς στους οποίους έγινε έλεγχος αντιπυρηνικών αντισωμάτων (ANA).

Υλικά και Μέθοδοι: Μελετήθηκαν 5733 οροί ασθενών, [2899 άνδρες (50,56%) και 2834 γυναίκες (49,43%)], ηλικίας 18 ως 70 ετών (μέση τιμή 53,2 έτη). Η ανίχνευση των ANA έγινε με τη μέθοδο ELISA (ETI-LAB DIASORIN). Τα δείγματα με θετικό, ασθενώς θετικό και αμφίβολο αποτέλεσμα μελετήθηκαν και με την μέθοδο έμμεσου ανοσοφθορισμού (IFA) σε κύτταρα Hep-2 (INOVA Diagnostics Inc., San Diego, CA).

Αποτελέσματα: 306 (5.34 %) ασθενείς είχαν θετικά ANA. Τα είδη του φθορισμού που παρατηρήθηκαν ήταν στικτός σε 157 ασθενείς (2,74 %), ομογενής σε 124 (2,16 %), φθορισμός πυρηνίσκων σε 7 (0,12%) και φθορισμός κεντρομεριδίου σε 18 ασθενείς (0,31%, 4 άνδρες και 14 γυναίκες).

Συζήτηση: Το σύνδρομο CREST (Calcinosis, Raynaud's phenomena, Esophageal dysmobility, Sclerodaktyly και Telangiectasias) είναι μια παραλλαγή του σκληροδέρματος. Είναι συχνότερο στις γυναίκες και εμφανίζεται σε νεώτερη ηλικία από το σκληρόδερμα, ενώ είναι πολύ σπάνιο στα παιδιά. Τα ACA θεωρούνται ως η σφραγίδα του συνδρόμου CREST και επιτρέπουν την διάκρισή του από το σκληρόδερμα. Τα αποτελέσματα της εργασίας μας δείχνουν χαμηλή συχνότητα εμφάνισης τους και μεγαλύτερη συχνότητα εμφάνισης στις γυναίκες σε σχέση με τους άνδρες.

AA18

ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΕΛΛΕΙΨΗΣ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ Β12 ΚΑΙ ΦΥΛΛΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΤΗΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗΣ ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΤΟΥ Γ. Ν. ΚΟΖΑΝΗΣ

Γεωργία Γρηγοροπούλου, Φράνκα Παστόρε

Εργαστήριο Ιατρικής Βιοπαθολογίας, Γενικό Νοσοκομείο «Μαμάτσειο» - Μποδοσάκειο, Κοζάνης, Κοζάνη

Σκοπός: Η παρούσα μελέτη έχει σκοπό να διερευνήσει τα επίπεδα των βιταμινών Β12 και φυλλικού οξέος σε ασθενείς της Παθολογικής κλινικής καθώς επίσης και την επίδραση του φύλου των ασθενών σε αυτά.

Υλικό και μέθοδοι: Το υλικό της μελέτης αποτέλεσαν 182 ασθενείς της παθολογικής κλινικής του Γ.Ν. Κοζάνης (89 άνδρες μέσης ηλικίας 71.97 ± 16.8 και 93 γυναίκες μέσης ηλικίας 73.74 ± 15.01). Ο προσδιορισμός στον ορό της συγκέντρωσης της Β12 και του φυλλικού οξέος πραγματοποιήθηκε στον ανοσολογικό αναλυτή Cobas 6000 e601, της εταιρείας Roche με τη μέθοδο της ηλεκτροχημειοφωταύγειας.

Αποτελέσματα: Χαμηλά επίπεδα βιταμίνης Β12 (<200 ng/L) παρατηρήθηκαν σε ποσοστό 19.7% των ασθενών, ενδιάμεσα ($200-350$ ng/L) σε ποσοστό 30.2% και υψηλά (>350 ng/L) σε ποσοστό 50%. Η μέση τιμή της Β12 είναι 478.60 ± 378.88 .

Το 27.5% των ασθενών παρουσίασε χαμηλά επίπεδα φυλλικού οξέος (<4 μg/L), το 58.2% ενδιάμεσα ($4-10$ μg/L) και το 14.3% >10 μg/L. Η μέση τιμή του φυλλικού οξέος (Folate) είναι 6.39 ± 3.9 .

Το 5.5% των ασθενών, εμφάνισε ταυτόχρονα χαμηλά επίπεδα βιταμίνης Β12 (<200 ng/L) και χαμηλά επίπεδα φυλλικού οξέος (<4 μg/L).

Τα αποτελέσματα των επιπέδων της Β12, του φυλλικού οξέος ανάλογα με το φύλο παρουσιάζονται στον Πίνακα 1.

Συγκρίνοντας τα ποσοστά των ανδρών και γυναικών, για διαφορετικά επίπεδα συγκεντρώσεων της Β12, δεν παρατηρήθηκε καμία σημαντική διαφορά μεταξύ ανδρών και γυναικών. Αντίθετα το ποσοστό των ανδρών με χαμηλά επίπεδα φυλλικού οξέος (<4 μg/L) είναι σημαντικά υψηλότερο 38.2% σε σχέση με αυτό των γυναικών 17.2%.

Συμπεράσματα: Από τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης προκύπτει ότι το 19.7% των ασθενών της παθολογικής κλινικής παρουσίασε έλλειψη της βιταμίνης Β12. Επιπλέον, το 27.5% των ασθενών παρουσίασε έλλειψη φυλλικού οξέος (<4 μg/L) και ειδικότερα οι άνδρες σε υψηλότερο ποσοστό (38.2%) σε σχέση με τις γυναίκες (17.2%).

Πίνακας 1: Επίδραση του φύλου των ασθενών στα επίπεδα της Β12 και του φυλλικού οξέος.

Ομάδα Ασθενών	Αριθμός Ανδρών (Ποσοστά %)	Αριθμός Γυναικών (Ποσοστά %)
B12 <200 ng/L	19 (21.3%)	17 (18.3%)
B12 $200-350$ ng/L	21 (23.6%)	27 (29.0%)
B12 >350 ng/L	42 (47.2%)	49 (52.7%)
Folate <4 μg/L	34 (38.2%)	16 (17.2%)
Folate $4-10$ μg/L	50 (56.2%)	56 (60.2%)
Folate >10 μg/L	5 (5.6%)	21 (22.6%)

ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΔΟΣΕΩΝ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΗΣ ΚΑΙ ΦΩΤΟΜΕΤΡΙΚΗΣ ΜΕΘΟΔΩΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΤΟΥ IRINOTECAN ΣΤΟ ΠΛΑΣΜΑ

Παναγιώτα Γκοτζαμάνη, Βικτωρία Πέτρο, Γεωργία Ελένη Τσότσου, Πέτρος Καρκαλούσος

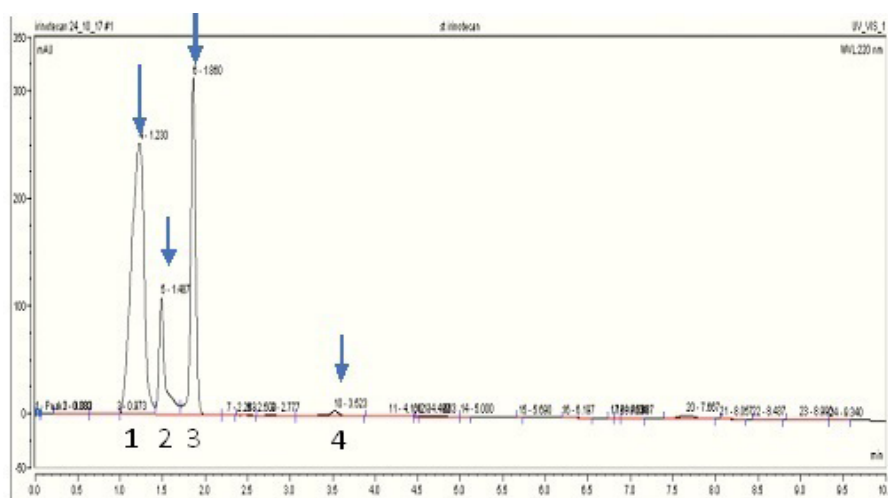
Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής, Αιγάλεω, Αθήνα

Εισαγωγή: Το irinotecan είναι αντικαρκινικό φάρμακο, παράγωγο της καμπθοθεκίνης, που δρα ως παρεμποδιστής της DNA τοποϊσομεράσης Ι. Καθώς παρουσιάζει στενό θεραπευτικό εύρος και φαρμακοκινητικό προφίλ με ενδοατομική διακύμανση, είναι απαραίτητη η παρακολούθηση των επιπέδων του στους ασθενείς.

Σκοπός - μέθοδος: Η ανάπτυξη μεθόδου ποσοτικού προσδιορισμού irinotecan σε πλάσμα. Αναπτύχθηκαν και επικυρώθηκαν μία χρωματογραφική (RP-HPLC/UV) και μία φωτομετρική μέθοδος.

Αποτελέσματα: Και στις δύο μεθόδους παρατηρήθηκε πολύ καλή γραμμική συσχέτιση μεταξύ συγκέντρωσης irinotecan και μετρούμενου σήματος (εμβαδόν κορυφής ή απορρόφηση). Το όριο γραμμικότητας βρέθηκε υψηλότερο των αναμενόμενων επιπέδων του irinotecan στο πλάσμα. Η επαναληψιμότητα και η αναπαραγωγιμότητα της μεθόδου HPLC UV δεν ήταν αποδεκτές, σε αντίθεση με την φωτομετρική μέθοδο, όπου η έλλειψη επαναληψιμότητας ήταν σε όλο το εύρος των εξεταζόμενων συγκεντρώσεων μικρότερη του 3,6%, και η έλλειψη αναπαραγωγιμότητας λίγο μεγαλύτερη του 10%. Το όριο ποσοτικοποίησης της HPLC UV υπολογίστηκε εκτός του εύρους των αναμενόμενων επιπέδων του φαρμάκου στο πλάσμα, ενώ στη φωτομετρική μέθοδο ήταν πολύ χαμηλότερο (~1000 ng/mL), υψηλότερα και τα δύο των κατώτερων αναμενόμενων επιπέδων irinotecan (10 ng/mL). Η ορθότητα της φωτομετρικής μεθόδου ήταν ικανοποιητική (bias 5 - 15%).

Συμπεράσματα: Η φωτομετρική μέθοδος αποδείχθηκε καταλληλότερη για τον ποσοτικό προσδιορισμό irinotecan στο πλάσμα όταν οι συγκεντρώσεις του είναι της τάξης των μg/mL. Έχει κατάλληλα όρια γραμμικότητας, πιστότητας, ορθότητας και παρεμποδίσεις, χωρίς όμως ικανοποιητικά χαμηλό όριο ποσοτικοποίησης. Επιπλέον στον φωτομετρικό προσδιορισμό δεν επιδρούν σημαντικά η αιμοσφαιρίνη, η χολερυθρίνη και τα τριγλυκερίδια του πλάσματος.



Χρωματογράφημα ανάλυσης irinotecan σε HPLC UV.

Με τα βέλη υποδεικνύονται οι τέσσερις κορυφές του φάσματος απορρόφησης του.

AA20

**ΗΠΑΤΙΚΗ ΚΑΙ ΝΕΦΡΙΚΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ
ΠΟΥ ΛΑΜΒΑΝΟΥΝ ΜΕΘΟΤΡΕΞΑΤΗ**

**Ανδριανή Γρηγοράτου, Αγγελική Μελπίδου, Αιμιλία Μάντζου, Ήρα Γαβρά,
Άντρη Προκοπίου-Αλευρά**

Βιοχημικό Εργαστήριο, Γενικό Νοσοκομείο «Ο Ευαγγελισμός», Αθήνα

Εισαγωγή – Σκοπός: Η μεθοτρεξάτη είναι αντιμεταβολίτης του φυλλικού οξέος με αντινεοπλασματικές και ανοσοτροποποιητικές ιδιότητες. Συνδέεται με τη διϋδροφυλλική αναγωγή (Dihydrofolate reductase, DHFR), που συμμετέχει στη σύνθεση του THF (Tetrahydrofolate), αναστέλλει τη δράση της και τη de novo σύνθεση της θυμιδίνης, τη σύνθεση πουρινών και πυριμιδινών, DNA και RNA, αμινοξέων και πρωτεϊνών.

Υλικά – Μέθοδοι: Μελετήθηκαν 112 δείγματα 37 αιματολογικών ασθενών (22 > και 15 +), 16-85 ετών, που ελάμβαναν μεθοτρεξάτη μεταξύ Φεβρουαρίου – Απριλίου 2015. Τα δείγματα προσκομίστηκαν για προσδιορισμό με τη μέθοδο της χημειοφωταύγειας (Chemiluminescence, CMIA) στον αναλυτή Architect (Abbott), 0h – 120h, μετά το πέρας της έγχυσης. Κατά μέσο όρο μετρήθηκαν 3 δείγματα/ασθενή. Οι τιμές μεθοτρεξάτης κυμαίνονταν μεταξύ 0.01-66.42μΜ. Έγινε έλεγχος ηπατικής (τρανσαμινάσες, γGT, χολερυθρίνη) και νεφρικής λειτουργίας (κρεατινίνη, ουρικό) στον αναλυτή Modular (Roche). Οι τιμές αναφοράς για: SGOT 5-37IU/L, SGPT 5-4IU/L, γGT 8-49IU/L, χολερυθρίνη <1mg/dL, κρεατινίνη 0,6-1,4mg/dL, ουρικό 3-7mg/dL.

Αποτελέσματα: 4 δείγματα είχαν υψηλή κρεατινίνη, ενώ 11 δείγματα 5 ασθενών (4 > και 1 +) είχαν υψηλό ουρικό, με μέγιστο στις 24/48h. Η SGOT ήταν υψηλή σε 25 δείγματα 13 ασθενών (6 > και 7 +) και η γGT σε 34 δείγματα 13 ασθενών (6 > και 7 +) στους αντίστοιχους χρόνους. Η SGPT παρουσίαζε αύξηση σε 17 δείγματα 10 ασθενών (3 > και 7 +), με μέγιστο στις 48h. Η χολερυθρίνη ήταν υψηλή σε 9 δείγματα 4 ασθενών (3 > και 1 +). Νεφροτοξικότητα (χωρίς παράλληλη ηπατοτοξικότητα) εμφάνισε 1 > ασθενής. Μόνον ηπατοτοξικότητα εμφάνισαν 11 ασθενείς (5 > και 6 +), ενώ νεφρο- και ηπατοτοξικότητα είχαν 4 ασθενείς (3 > και 1 +). Από τα 112 δείγματα, 80 δείγματα είχαν τιμές MTX<1,5μΜ, 27 είχαν 1.5<MTX<30μΜ και 5 MTX>30μΜ.

Συμπεράσματα: Επί του συνόλου των ασθενών νεφροτοξικότητα παρουσιάστηκε στο 2,7%, ηπατοτοξικότητα στο 29.7% και μικτή νεφρο-/ηπατοτοξικότητα στο 10,8%. Για MTX<1,5μΜ τα αντίστοιχα ποσοστά είναι νεφροτοξικότητα (3/80 δείγματα) 3,75%, ηπατοτοξικότητα (31/80 δείγματα) 38,75% και νεφρο-/ηπατοτοξικότητα (6/80 δείγματα) 7,5%. Εντός των τιμών αναφοράς ήταν το 51,25% των δειγμάτων με MTX<1,5μΜ. Στην περιοχή 1.5<MTX<30μΜ, κανένας ασθενής δεν παρουσίαζε νεφροτοξικότητα (0/27 δείγματα), ενώ ποσοστό 29.6% εμφάνιζε ηπατοτοξικότητα (8/27 δείγματα) και ταυτόχρονη νέφρο-/ηπατοτοξικότητα το 11.1% (3/27 δείγματα). Φυσιολογικά (με 1.5<MTX<30μΜ) ήταν το 59,30% των δειγμάτων. Για MTX>30μΜ όλοι οι ασθενείς παρουσίασαν είτε ηπατοτοξικότητα (3/5 δείγματα) 60%, ή νεφρο-/ηπατοτοξικότητα (2/5) 40%.

ΕΠΗΡΕΑΖΕΤΑΙ Ο ΚΙΡΚΑΔΙΟΣ ΡΥΘΜΟΣ ΤΗΣ ΚΟΡΤΙΖΟΛΗΣ ΣΙΕΛΟΥ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΗΠΙΕΣ ΚΡΑΝΙΟΕΓΚΕΦΑΛΙΚΕΣ ΚΑΚΩΣΕΙΣ?

Δανέβα Ε.¹, Μακρής Κ.², Στούκα Χ.³, Κορομπέλη Α.⁴, Τρυφωνίδου Ι.², Κακλαμάνος Ι.⁴, Μυριανθεύς Π.⁴

¹Νευροχειρουργική Κλινική ΚΑΤ, Γενικό Περιφερειακό Νοσοκομείο Αττικής, Αθήνα

²Βιοχημικό τμήμα ΚΑΤ, Γενικό Περιφερειακό Νοσοκομείο Αττικής, Αθήνα

³Ακτινολογικό τμήμα ΚΑΤ, Γενικό Περιφερειακό Νοσοκομείο Αττικής, Αθήνα

⁴ΕΚΠΑ, Τμήμα Νοσηλευτικής, ΓΟΝΚ «Άγιοι Ανάργυροι», Αθήνα

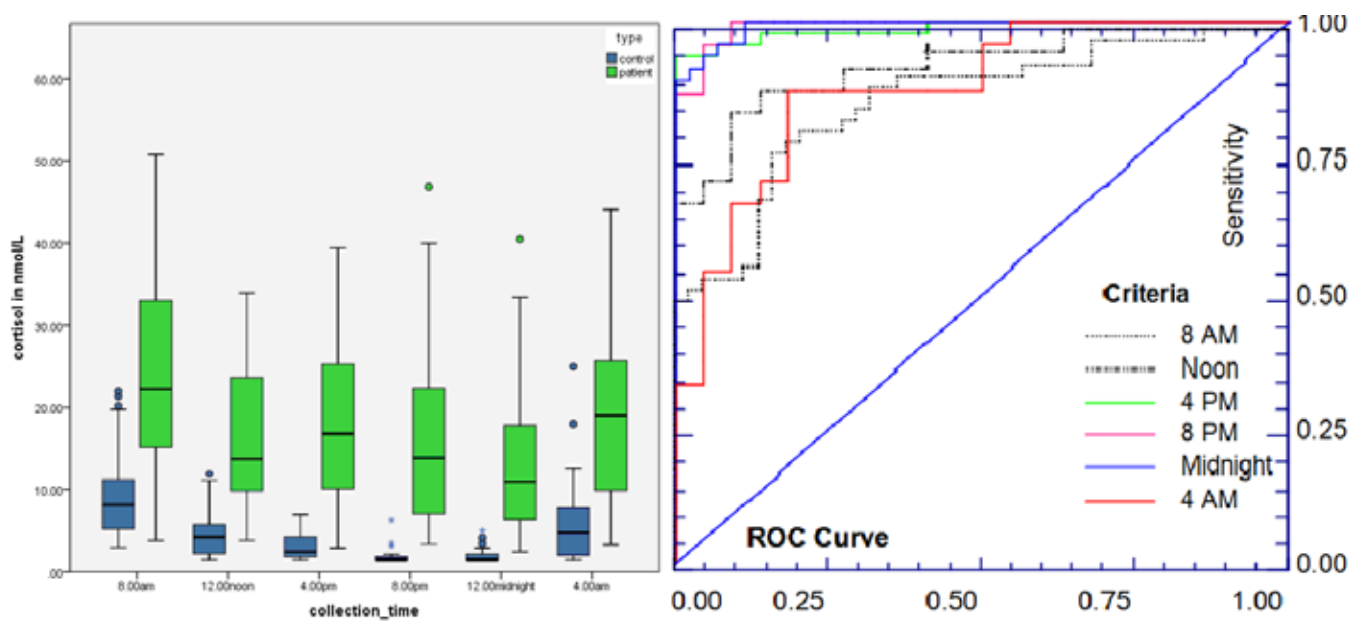
Εισαγωγή: Οι ήπιες κρανιο-εγκεφαλικές κακώσεις (ΚΕΚ) αποτελούν μια ξεχωριστή ομάδα στο τραύμα εξ' αιτίας της ενεργοποίησης του άξονος υποθαλάμου-υπόφυσης-επινεφριδίων (HPA). Η κορτιζόλη του σιέλου αποτελεί ένα καταξιωμένο αν και μη άμεσο δείκτη για την εκτίμηση των επιπέδων της ελεύθερης κορτιζόλης στο πλάσμα για την εκτίμηση της λειτουργίας του HPA-άξονος.

Σκοπός της μελέτης αυτής ήταν η διερεύνηση: (1) της δυνατότητας της μέτρησης της κορτιζόλης σιέλου και (2) η αξιοπιστία της σαν μέτρο εκτίμησης των κirkάδιων ρυθμών σε ασθενείς με ήπια ΚΕΚ (GCS=15) οι οποίοι νοσηλεύτηκαν στην νευροχειρουργική κλινική του νοσοκομείου μας

Υλικό– Μέθοδοι: Δείγματα σιέλου συλλέχθηκαν από 12 ασθενείς άνδρες μέσης ηλικίας $58.4 \pm 12,1$ ετών με ήπια ΚΕΚ (GCS=15) και από 11 υγιείς εθελοντές άνδρες, μέσης ηλικίας $41,2 \pm 18,9$ ετών ως ομάδα ελέγχου. Η συλλογή δειγμάτων η έγινε 4συνρεχόμενες ημέρες και ανά 4ωρο (8.00-12.00-16.00-20.00-24.00-04.00). Για την συλλογή των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε τε ειδικό σύστημα συλλογής Salivette της Sarstedt. Μετά την συλλογή τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν για 2 λεπτά στα 1000g. Στη συνέχεια το υπερκείμενο από όλα τα δείγματα φυλάχθηκε στους -80°C μέχρι την ημέρα της ανάλυσής τους. Η μέτρηση της κορτιζόλης στη σίελο έγινε με την μέθοδο της ηλεκτροχημειοφωτάυγειας (Roche). Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με το πρόγραμμα SPSS(v23).

Αποτελέσματα: Η μέση συγκέντρωση κορτιζόλης σιέλου ήταν σημαντικά υψηλότερη στους ασθενείς έναντι της ομάδας ελέγχουσε όλα τα χρονικά σημεία ($p < 0.001$) και καθ'όλη τη διάρκεια παρακολούθησης (αριστερή εικόνα). Οι ασθενείς παρουσιάζουν τον αναμενόμενο κirkάδιο ρυθμό (μειωμένες τιμές το απόγευμα και το βράδυ σε σχέση με τις πρωινές λήψεις) όπως και οι υγιείς εθελοντές ($p = 0,005$). Η ανάλυση των καμπύλων ROC που έγινε (δεξιά εικόνα) έδειξε ότι η επιφάνεια κάτω από την καμπύλη (AUC) ήταν σημαντικά μεγαλύτερη κατά τις απογευματινές-βραδινές λήψεις σε σύγκριση με τις πρωινές ($p < 0.05$).

Συμπεράσματα: Τα δεδομένα μας δείχνουν ενεργοποίηση του HPA-άξονα στις ήπιες ΚΕΚ. Η καλύτερη χρονική στιγμή δειγματοληψίας για την αξιολόγηση των επιπέδων της κορτιζόλης στη σίελο είναι μεταξύ 20.00 και 24.00.



AA22

ΕΠΙΠΕΔΑ ΤΗΣ ANTI-MULLERIAN HORMONE (AMH) ΣΕ ΓΥΝΑΙΚΕΣ ΚΑΙ Η ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΟΥΣ ΜΕ ΤΗΝ ΗΛΙΚΙΑ ΚΑΙ ΜΕ ΤΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΤΗΣ ΘΥΛΑΚΙΟΤΡΟΠΟΥ ΟΡΜΟΝΗΣ (FSH)

Κωνσταντίνα Παστρωμά¹, Αντιγόνη Καπετανάκη¹, Γεωργία Ζήση¹, Ειρήνη Λαμπρινουδάκη², Νικόλαος Βλάχος², Δημήτριος Ρίζος¹

¹Ορμονολογικό Εργαστήριο, Αρεταίειο Νοσοκομείο, Αθήνα

²Β' Μαιευτική - Γυναικολογική Κλινική Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αρεταίειο Νοσοκομείο, Αθήνα

Εισαγωγή: Η AMH είναι ομοδιμερής γλυκοπρωτεΐνη, συνδεδεμένη με δισουλφιδικό δεσμό και μοριακό βάρος 140kDa. Παράγεται από τα κοκκώδη κύτταρα των ωοθυλακίων και η παραγωγή της εξαρτάται από τον αριθμό και το στάδιο ανάπτυξης των ωοθυλακίων. Είναι σχεδόν μη ανιχνεύσιμη κατά τη γέννηση των θηλέων νεογνών, παρουσιάζοντας αύξηση μέχρι την εφηβική ηλικία. Στην αναπαραγωγική περίοδο τα επίπεδά της παραμένουν σχετικά σταθερά, μειώνονται σταδιακά όσο προσωράει η ηλικία της γυναίκας. Σκοπός της εργασίας αυτής η διερεύνηση της σχέσης της AMH με την ηλικία των γυναικών στον ελληνικό πληθυσμό, και η συσχέτισή της με τη θυλακιοτρόπο ορμόνη FSH.

Υλικό-μέθοδος: Το υλικό της μελέτης αποτέλεσαν 436 γυναίκες που προσήλθαν στο Ορμονολογικό Εργαστήριο του Αρεταίειου Νοσοκομείου από το 2012 έως και το 2017 για ορμονικό έλεγχο. Ο ποσοτικός προσδιορισμός της AMH έγινε με ELISA με το εμπορικό kit: Ultra sensitive AMH/MIS ELISA της Εταιρείας Ansh Labs (TX, USA) ενώ ο προσδιορισμός της FSH έγινε με τη μέθοδο Μικροσωματιδιακή Ανοσοεξέταση Χημειοφωταύγειας (CMIA): της εταιρείας Abbott στο αναλυτή Architect i-1000. Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια του MS-Excel.

Αποτελέσματα: Από τις 436 γυναίκες, μελετήθηκαν οι 384, ηλικίας από 15-52 ετών με μέση ηλικία: 36,8 έτη. Στο σύνολο των γυναικών (n=384) η διάμεση τιμή της AMH ήταν 1,5 ng/mL (range: 0,1 – 24 ng/mL). Όπως αναφέρεται και στην βιβλιογραφία τα επίπεδα της AMH ελαττώνονται με την ηλικία: από 7,6 ng/mL κατά μέσο όρο στα 13-18 έτη σε 0,34 ng/mL στα 48-53 έτη. Η AMH παρουσίασε αρνητική συσχέτιση με τη FSH (r=0,25; p<0,001; n=186).

Συμπέρασμα: Στην εργασία, μετρήθηκε η AMH σε ένα ικανοποιητικό αριθμό γυναικών και οι ευρεθείσες τιμές μπορούν να αξιοποιηθούν σαν τιμές αναφοράς του ελληνικού πληθυσμού.

Η ΑΚΕΡΑΙΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΕΛΕΥΘΕΡΟΥ ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΝΤΟΣ DNA ΠΛΑΣΜΑΤΟΣ (CFDNA INTEGRITY, CFDI) ΩΣ ΔΥΝΗΤΙΚΟΣ ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΣ ΒΙΟΔΕΙΚΤΗΣ ΣΤΟΝ ΜΕΤΑΣΤΑΤΙΚΟ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΣΤΟΜΑΧΟΥ

Ιωάννα Μπαλγκουρανίδου¹, Ειρήνη Μπιζιώτα¹, Ευάγγελος Καραμητρούσης¹, Τριανταφυλλιά Κουκάκη¹, Μακρίνα Καραγλάνη², Μαρία Παναγοπούλου², Απόστολος-Παναγιώτης Νικολακόπουλος¹, Χριστίνα-Αναστασία Σταμούλη¹, Κυριάκος Αμαραντίδης¹, Νικόλαος Ξενίδης¹, Αικατερίνη Αλεξίου-Χατζάκη², Μαρία Λαμπροπούλου³, Εύη Λιανίδου⁴, Στυλιανός Κακολύρης¹

¹Ογκολογική Κλινική, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Αλεξανδρούπολης, Αλεξανδρούπολη

²Εργαστήριο Φαρμακολογίας, Ιατρική Σχολή, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Αλεξανδρούπολη

³Εργαστήριο Ιστολογίας - Εμβρυολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Αλεξανδρούπολη

⁴Εργαστήριο Ανάλυσης Κυκλοφορούντων Καρκινικών Κυττάρων, Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας, Τμήμα Χημείας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

Σκοπός: Το ελεύθερο κυκλοφορούν DNA πλάσματος (cell free DNA, cfDNA) αποτελεί έναν πολλά υποσχόμενο μη επεμβατικό, ευαίσθητο βιοδείκτη για την μοριακή διάγνωση, πρόγνωση και παρακολούθηση της ανταπόκρισης της θεραπείας σε διάφορους τύπους καρκίνου. Οι ασθενείς με καρκίνο παρουσιάζουν υψηλότερη συγκέντρωση cfDNA σε σύγκριση με τους υγιείς. Επιπλέον το cfDNA των καρκινοπαθών αποτελεί την γενετική και επιγενετική ταυτότητα του όγκου. Ένα εξίσου σημαντικό χαρακτηριστικό του cfDNA είναι η ποιότητα του, η οποία συνεπάγεται την προέλευση του και αντιπροσωπεύεται από την ακεραιότητα του DNA (cfDI: DNA Integrity). Η cfDI δίνεται από τον λόγο των μεγαλύτερων θραυσμάτων DNA ως προς τα μικρότερα θραύσματα και υποδηλώνει τον βαθμό κατακερματισμού του DNA. Η αυξημένη αναλογία μεταξύ μεγαλύτερων θραυσμάτων προς τα μικρότερα αποπτωτικά θραύσματα, θα μπορούσε να αποτελέσει ένα πολλά υποσχόμενο δείκτη ανίχνευσης της προέλευσης του cfDNA στο αίμα.

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η μέτρηση της ακεραιότητας του DNA σε 50 δείγματα cfDNA ασθενών με μεταστατικό καρκίνο του στομάχου και σε 50 δείγματα cfDNA πλάσματος υγιών αιμοδοτών προκειμένου να διερευνηθεί η προγνωστική και προβλεπτική της αξία.

Υλικά-Μέθοδοι: Ο υπολογισμός του cfDI έγινε με qReal Time PCR, για τις επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες ALU, και συγκεκριμένα ALU115 και ALU247. Αρχικά πραγματοποιήθηκε καμπύλη αναφοράς και για τα δύο ζεύγη εκκινητών, η οποία αποτελείται από διαδοχικές δεκαδικές αραιώσεις DNA γνωστής συγκέντρωσης (100ng, 10ng, 1ng, 0,1ng, 0,01ng, 0,001ng). Με τη χρήση της αντίστοιχης καμπύλης αναφοράς πραγματοποιήθηκε η ποσοτικοποίηση των παραπάνω δειγμάτων DNA. Ακολούθως υπολογίστηκε ο λόγος ALU247/ALU115.

Αποτελέσματα: Όπως προκύπτει από τα πρώιμα αποτελέσματα αυτής της μελέτης η ακεραιότητα του cfDNA (cfDI) είναι αρκετά πιο υψηλή στα δείγματα των ασθενών με μεταστατικό καρκίνο του στομάχου (μέσος όρος μετρηθέντων τιμών: 0,51) σε σχέση με τους υγιείς αιμοδοτές (μέσος όρος μετρηθέντων τιμών: 0,27). Από την ανάλυση της επιβίωσης που πραγματοποιήθηκε προκύπτει ότι οι ασθενείς με χαμηλότερο cfDI έχουν μεγαλύτερο OS σε σύγκριση με τους ασθενείς με υψηλό cfDI.

Συμπεράσματα: Στην παρούσα μελέτη διαπιστώθηκε ότι η ακεραιότητα του cfDNA (cfDI) αποτελεί ένα πιθανό προγνωστικό δείκτη επιβίωσης ασθενών με μεταστατικό καρκίνο στομάχου. Κατά πόσο θα μπορούσε η cfDI να αποτελέσει προβλεπτικό παράγοντα ανταπόκρισης στη θεραπεία θα αποτελέσει προσεχές αντικείμενο της έρευνάς μας.

AA24

ΦΑΡΜΑΚΟΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΓΟΝΙΔΙΑΚΩΝ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΩΝ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΗΝ ΑΝΤΑΠΟΚΡΙΣΗ ΣΤΑ ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΑ ΦΑΡΜΑΚΑ ΚΑΠΕΣΙΤΑΒΙΝΗ ΚΑΙ 5-ΦΘΟΡΙΟΥΡΑΚΙΛΗ

**Ιωάννου Χαραλαμπία¹, Γεωργία Ράγια¹, Ιωάννα Μπαλγκουρανίδου², Νικόλαος Ξενίδης²,
Κυριάκος Αμαραντίδης², Ειρήνη Μπιζιώτα², Τριανταφυλλιά Κουκάκη²,
Στυλιανός Κακολύρης², Ευάγγελος Μανωλόπουλος¹**

¹Εργαστήριο Φαρμακολογίας, Ιατρικό Τμήμα, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Δραγάνα, Αλεξανδρούπολη

²Πανεπιστημιακή Ογκολογική Κλινική, Ιατρικό Τμήμα, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Αλεξανδρούπολη

Σκοπός: Η χορήγηση των χημειοθεραπευτικών φαρμάκων Καπεσιταβίνη/5-Φθοριοουρακίλη (CAP/5-FU) αποτελεί την πρακτική πρώτη γραμμή για την αντιμετώπιση συμπαγών όγκων. Τα ένζυμα DPYD, MTHFR και TYMS έχουν κεντρικό ρόλο στο μεταβολισμό των CAP/5-FU. Πολυμορφισμοί των γονιδίων DPYD, MTHFR και TYMS φαίνεται να επιδρούν σημαντικά στην ανταπόκριση στη CAP/5-FU φαρμακοθεραπεία. Στόχος της μελέτης ήταν η ανάλυση της συσχέτισης των πολυμορφισμών DPYD*2A, MTHFR C677T, TYMS-TSER και TYMS G>C 3R με τη συνολική ανταπόκριση ασθενών με καρκίνο στην αγωγή με CAP/5-FU.

Υλικά-Μέθοδοι: Στη μελέτη συμμετείχαν 101 ασθενείς (50 άνδρες, 49,5%) μέσης ηλικίας εμφάνισης νόσου 64,7 έτη (\pm 10,3) με διάγνωση καρκίνου [ορθοκολικός (55,4%), μαστού (20,8%), στομάχου (15,8%), παγκρέατος (5%), ωθηκών (3%)] που λαμβάνουν θεραπεία με CAP (81,8%) ή 5-FU (18,2%). Απομονώθηκε γενωμικό DNA από περιφερικό αίμα. Οι πολυμορφισμοί DPYD*2A, MTHFR C677T, TYMS-TSER και TYMS G>C 3R αναλύθηκαν με τη μέθοδο PCR-RFLP.

Αποτελέσματα: Η συχνότητα εμφάνισης των αλληλομόρφων DPYD*2A, MTHFR C677T, TYMS-TSER και TYMS G>C 3R ανέρχεται σε 0%, 30,7%, 34,16% και 44,06%, αντίστοιχα.

Οι φορείς του αλληλομόρφου MTHFR 677T είχαν αυξημένη πιθανότητα να χρειαστούν μειωμένη δόση CAP συγκριτικά με άτομα που δεν φέρουν το αλληλόμορφο αυτό (OR 5.13, $p=0.013$, 95% C.I. 1.42-18.59). Συγκεκριμένα, η δόση μειώθηκε κατά 500-1000mg ημερησίως (άνδρες: από 4000mg σε 3000mg ή από 3500mg σε 3000mg, γυναίκες: από 3500mg σε 3000mg ή από 3000mg σε 2500mg ή 2000mg).

Αναφορικά με τον τύπο του καρκίνου, ο πολυμορφισμός MTHFR σχετίστηκε με μείωση της δόσης στον ορθοκολικό καρκίνο ($p=0.035$), ενώ ο πολυμορφισμός TYMS-TSER σχετίστηκε με μείωση της δόσης στις ασθενείς με καρκίνο του μαστού ($p<0.001$).

Αναλύσεις στους διαφορετικούς τύπους καρκίνου ανέδειξαν, επίσης, σημαντικές συσχετίσεις ανάμεσα στους πολυμορφισμούς και την εμφάνιση ανεπιθύμητων ενεργειών [MTHFR C677T και αιματολογικές παρενέργειες στον ορθοκολικό καρκίνο ($p=0.057$), TYMS-TSER και γαστρεντερικές παρενέργειες στον καρκίνο του μαστού ($p=0.020$), TYMS G>C 3R και καταβολή/ζάλη στον καρκίνο στομάχου ($p=0.013$)].

Συμπεράσματα: Τα αποτελέσματά μας δείχνουν ότι οι πολυμορφισμοί MTHFR C677T, TYMS-TSER και TYMS G>C 3R αποτελούν δυνητικούς βιοδείκτες για την πρόβλεψη της αποτελεσματικότητας και της τοξικότητας της θεραπείας με CAP/5-FU. Η επέκταση της τρέχουσας γνώσης σχετικά με τη φαρμακογονιδιωματική των αντικαρκινικών φαρμάκων θα συμβάλει στη βελτίωση της εξατομίκευσης των δοσολογικών σχημάτων των CAP/5-FU.

AA25

ΟΙ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΙ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΤΩΝ ΤΕΛΟΜΕΡΑΣΩΝ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΗΝ ΗΛΙΚΙΑ ΕΜΦΑΝΙΣΗΣ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ

**Πετρούλα Κούλη¹, Γεωργία Ράγια¹, Ιωάννα Μπαλγκουρανίδου², Νικόλαος Ξενίδης²,
Κυριάκος Αμαραντίδης², Ειρήνη Μπιζιώτα², Τριανταφυλλιά Κουκάκη²,
Στυλιανός Κακολύρης², Ευάγγελος Γ. Μανωλόπουλος¹**

¹Εργαστήριο Φαρμακολογίας, Ιατρική Σχολή, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Αλεξανδρούπολη

²Πανεπιστημιακή Ογκολογική Κλινική, Ιατρική Σχολή, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Αλεξανδρούπολη

Σκοπός: Τα τελομερή είναι νουκλεοπρωτεϊνικές δομές που καλύπτουν τα άκρα των χρωματοσωμάτων και έχουν ουσιώδη ρόλο στη διατήρηση της ακεραιότητας και σταθερότητας των χρωματοσωμάτων και την προστασία αυτών από αποικοδόμηση. Η ταχύτερη βράχυνση των τελομερών οδηγεί σε πρόωξη γήρανση, χρωματοσωμική αστάθεια και αυξάνει την πιθανότητα καρκινογένεσης σε νεαρότερη ηλικία. Η de novo σύνθεση και η διατήρηση της ακεραιότητας των τελομερών πραγματοποιείται από τις τελομεράσες TERC και TERT. Πολυμορφισμοί των γονιδίων των τελομερασών σχετίζονται με το ρυθμό μείωσης του μεγέθους των τελομερών και ενδεχομένως με την ηλικία εμφάνισης καρκίνου. Σκοπός της εργασίας είναι η μελέτη συσχέτισης των λειτουργικών πολυμορφισμών TERC rs10936599C>T, TERT rs2736100T>G και rs2735940C>T με την ηλικία εμφάνισης καρκίνου του πνεύμονα και με τα κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών.

Υλικά-Μέθοδοι: Στη μελέτη συμπεριλήφθηκαν 56 ασθενείς (80,4% άντρες) με καρκίνο του πνεύμονα (9 μικροκυτταρικού, 47 μη-μικροκυτταρικού τύπου), μέσης ηλικίας 65,9 έτη ($\pm 9,9$). Απομονώθηκε γενωμικό DNA από περιφερικό αίμα. Οι πολυμορφισμοί TERC rs10936599C>T, TERT rs2736100T>G και rs2735940C>T αναλύθηκαν με τη μέθοδο PCR-RFLP.

Αποτελέσματα: Η συχνότητα εμφάνισης των αλληλομόρφων TERC rs10936599T, TERT rs2736100G και rs2735940T ανέρχεται σε 8,9%, 56,3% και 39,3%, αντίστοιχα. Ο πολυμορφισμός TERC rs10936599C>T σχετίστηκε με την ηλικία εμφάνισης της νόσου. Οι φορείς του αλληλομόρφου rs10936599T εμφάνισαν καρκίνο του πνεύμονα σε νεαρότερη ηλικία συγκριτικά με τους ασθενείς που δεν φέρουν το αλληλόμορφο αυτό [μέση ηλικία 57,5 έτη ($\pm 11,2$) έναντι 67,5 έτη ($\pm 9,7$), $p=0,011$]. Η παρουσία του αλληλομόρφου rs10936599T εξηγεί ποσοστό 11,7% της ποικιλομορφίας στην ηλικία εμφάνισης καρκίνου του πνεύμονα ($\beta=-9,436$, $p=0,011$, 95%CI -16.577, -2.295).

Επιπλέον, βρέθηκαν σημαντικές συσχετίσεις ανάμεσα στους πολυμορφισμούς και την εμφάνιση ανεπιθύμητων ενεργειών [TERC rs10936599C>T και αλλεργίες ($p=0,029$), TERT rs2736100T>G και rs2735940C>T και πνευμονικές παρενέργειες ($p=0,021$ και $p=0,032$, αντίστοιχα), TERC rs10936599C>T και οργανικές παρενέργειες ($p=0,041$)].

Συμπεράσματα: Η λειτουργική συνέπεια των πολυμορφισμών που αναλύθηκαν είναι η ταχύτερη βράχυνση των τελομερών και η πρόωρη κυτταρική γήρανση. Σύμφωνα με τα αποτελέσματά μας, οι φορείς του αλληλομόρφου TERC rs10936599T πιθανόν έχουν βραχύτερα τελομερή σε νεαρότερες ηλικίες, γεγονός που οδηγεί σε διακοπή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και κατ' επέκταση καρκινογένεση και εμφάνιση καρκίνου του πνεύμονα σε μικρότερη ηλικία. Παράλληλα, η χρωματοσωμική αστάθεια στους φορείς των αλληλομόρφων φαίνεται να σχετίζεται με την εκδήλωση διαφορετικών παρενεργειών.

