



ΕΕΚΚ-ΚΒ

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΕΤΑΙΡΙΑ ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ
ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ

17^ο

Πανελλήνιο Συνέδριο **ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ**

www.eekx-kb.gr

ΥΠΟ ΤΗΝ ΑΙΓΙΔΑ ΤΩΝ



International Federation
of Clinical Chemistry
and Laboratory Medicine



European Federation
of Clinical Chemistry
and Laboratory Medicine



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικό και Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών

21-23

Νοεμβρίου 2019

Royal Olympic, Αθήνα

ABSTRACT BOOK



Περιεχόμενα

Οργάνωση	3
----------	---

Προφορικές Ανακοινώσεις	4
-------------------------	---

Αναρτημένες Ανακοινώσεις	21
--------------------------	----

ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΑ	22
-------------	----

ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΑ	24
------------	----

ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ	26
-------------------	----

ΕΠΙΠΕΔΑ ΦΑΡΜΑΚΩΝ ΚΑΙ ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΑ	31
----------------------------------	----

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΕΝΔΟΚΡΙΝΟΛΟΓΙΑ	35
-----------------------------	----

ΚΛΑΣΣΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ	40
-------------------------	----

ΜΟΡΙΑΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ	58
---------------------	----

ΝΕΕΣ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΚΑΙ ΤΕΧΝΙΚΕΣ	74
--	----

Οργανωτική Επιτροπή

Πρόεδρος: Μπότουλα Ευθυμία
Μέλη: Γρίσου Ειρήνη
Κολιός Γεώργιος
Κώνστα Εύη
Λεϊμονή Ειρήνη
Νεοφύτου Παύλος
Σπυροπούλου Παναγιώτα
Σταμούλη Μαριλένα
Τογκουσίδης Ηλίας
Ψαρρά Αικατερίνη

Επιστημονική Επιτροπή

Πρόεδρος: Γρηγοράτου Ανδριανή
Μέλη: Αναγνωστόπουλος Κωνσταντίνος
Αποστόλου Θεοφάνης
Βενυχάκη Μαρία
Γαλιατσάτος Νικόλαος
Δήμα Κλεάνθη
Ηλιάδης Σταύρος
Καρκαλούσος Πέτρος
Κυρίου Λαμπρινή
Λιάκος Παναγιώτης
Λιανίδου Ευρύκλεια
Μαγκλάρα Αγγελική
Μακρής Κωνσταντίνος
Μελπίδου Αγγελική
Μουτσάτσου-Λαδικού Παρασκευή
Μπαϊρακτάρη Ελένη
Παπασωτηρίου Ιωάννης
Ρίζος Δημήτριος
Σκορίλας Ανδρέας
Τσατσάνης Χρήστος
Χαλιάσος Αλέξανδρος
Ψαχούλια Χριστίνα

Προφορικές Ανακοινώσεις

ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΜΕΘΟΔΟΥ ΣΤΟΧΕΥΜΕΝΗΣ ΠΡΩΤΕΟΜΙΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΜΕ ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑ ΜΑΖΑΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΚΛΙΝΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΠΙΘΑΝΩΝ ΒΙΟΔΕΙΚΤΩΝ ΕΝΑΝΤΙ ΤΗΣ ΣΚΛΗΡΥΝΣΗΣ ΚΑΤΑ ΠΛΑΚΑΣ

**Π. Λούπης¹, Μ. Μακρυδάκης¹, Α. Τερμεντζή², Ι. Ζωιδάκης¹, Κ. Βουμβουράκης³,
Ν. Θωμαΐδης⁴**

¹ Εργαστήριο Πρωτεομικής, Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών Ακαδημίας Αθηνών, Αθήνα

² Εργαστήριο Τοξικολογικού Ελέγχου Γεωργικών Φαρμάκων, Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο, Αθήνα

³ Β' Νευρολογική Κλινική, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών "Αττικόν", Αθήνα

⁴ Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας, Τμήμα Χημείας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

Η σκλήρυνση κατά πλάκας (πολλαπλή σκλήρυνση ή Σ.Κ.Π. εν συντομία) αποτελεί την πιο συχνή χρόνια φλεγμονώδη νόσο του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος (Κ.Ν.Σ.). Στη διάρκεια των τελευταίων δυο δεκαετιών υπήρξε αξιοσημείωτο ενδιαφέρον προς την κατεύθυνση εύρεσης βιοδεικτών έναντι της ΣΚΠ που θα μπορούσαν να βελτιώσουν την κλινική αντιμετώπισή της. Επί του παρόντος, η προσπάθεια εδραίωσης βιοδεικτών με τα επιθυμητά χαρακτηριστικά, στους οποίους θα στηρίζεται η εργαστηριακή διάγνωση της νόσου, παραμένει ατελέσφορη. Ευτυχώς, διαθέτουμε σήμερα τα εργαλεία εκείνα για την συστηματική εξέταση βιολογικών υγρών σε αναζήτηση βιοδεικτών που ιδανικά θα κάλυπταν ποικιλία αναγκών στην κλινική πρακτική. Συγκεκριμένα, η παρούσα μελέτη εστιάζει στην ανάπτυξη μεθόδων στοχευμένης πρωτεομικής ανάλυσης που στηρίζονται στην τεχνική υγρής χρωματογραφίας συζευγμένης με φασματομετρία μάζας (LC-MS/MS). Δείγματα ορού ασθενών και υγιών ατόμων αναλύθηκαν σε σχέση με ένα προκαθορισμένο σύνολο πρωτεϊνών (ιντερλευκίνες: IL-6, IL-10, IL-12A, IL-12B, IL17A, IL-17F, IL23A; ιντερφερόνες: IFN-β, IFN-γ; άλλες κυτταροκίνες: TNF-α, Osteopontin, CXCL-13; και η κολλαγενάση MMP-9) οι οποίες επιλέχθηκαν βιβλιογραφικά βάσει της βιολογικής τους συσχέτισης με μηχανισμούς παθογένεσης και εξέλιξης της νόσου. Αξιοποιώντας τις δυνατότητες που προσφέρει η υβριδική τεχνολογία του φασματογράφου μάζας (ole-orbitrap mass spectrometer) καταφέραμε να σχεδιάσουμε και να εφαρμόσουμε την πρωτοποριακή μέθοδο PRM (parallel reaction monitoring) για την ταυτοποίηση και, σε πρώτη φάση, σχετική ποσοτικοποίηση όλων των πρωτεϊνών της λίστας μας. Εν τέλει, κατέστη δυνατόν να λάβουμε μετρήσεις για όλες τις πρωτεΐνες σε όλα τα δείγματα, στηριζόμενοι αποκλειστικά στα ενδογενή πεπτίδια. Η καινοτομία της μεθόδου έγκειται στον προσδιορισμό μεγάλου αριθμού πρωτεϊνών με εξαιρετική ευαισθησία και ειδικότητα, χωρίς περιορισμούς στο είδος και τα χαρακτηριστικά, είτε των πρωτεϊνών, είτε των δειγμάτων. Υπερισχύει δε, έναντι των τεχνικών που βασίζονται σε αντισώματα, καθότι η ανάπτυξη αντισωμάτων υψηλής πιστότητας, για την κλινική αξιολόγηση του πλήθους νέων βιοδεικτών που προκύπτουν από την έρευνα, είναι μια χρονοβόρα όσο και δαπανηρή διαδικασία.

ΔΙΑΤΑΡΑΧΗ ΤΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΓΛΟΥΤΑΘΕΙΟΝΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΩΣΗΣ ΤΩΝ ΛΙΠΙΔΙΩΝ ΣΤΗΝ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΟΠΑΘΕΙΑ-Η: ΠΙΘΑΝΟΣ ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΤΗΣ Hb H

**Α. Καττάμης¹, Α. Γκίζη², Χ. Λαζαροπούλου², Π. Δελαπόρτα¹, Χ. Ποζιόπουλος²,
Ι. Παπασωτηρίου²**

¹ Α' Παιδιατρική Κλινική, Ιατρική Σχολή, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Γενικό Νοσοκομείο Παιδών Αθηνών "Η Αγία Σοφία", Αθήνα

² Βιοχημικό Τμήμα, Γενικό Νοσοκομείο Παιδών Αθηνών "Η Αγία Σοφία", Αθήνα

Εισαγωγή και Σκοπός: Οι ασθενείς με αιμοσφαιρινοπάθεια-Η παράγουν αιμοσφαιρίνη που αποτελείται από ένα τετραμερές β4-αλυσών (Hb H). Η Hb H χαρακτηρίζεται από υψηλή συγγένεια στο οξυγόνο, έλλειψη αλληλεπίδρασης των υποομάδων της Hb, αυξημένο βαθμό αστάθειας και αυτοοξειδωσης, με αποτέλεσμα το σχηματισμό αδιάλυτων σωματιδίων εντός των ερυθροκυττάρων, τοπική οξειδωτική βλάβη, δυσλειτουργία της μεμβράνης και βραχύτερο χρόνο ζωής των ερυθροκυττάρων. Η γλουταθειόνη (GSH) και τα ένζυμα που περιλαμβάνονται στον κύκλο οξειδοαναγωγής της γλουταθειόνης συνιστούν το ενδοκυττάριο αντιοξειδωτικό αμυντικό σύστημα του οργανισμού. Η μαλονδιαλδεΐδη (MDA) είναι ένα από τα τελικά προϊόντα υπεροξειδωσης πολυακόρεστων λιπαρών οξέων στα κύτταρα. Η αύξηση των ελεύθερων ριζών προκαλεί υπερπαραγωγή MDA, με αποτέλεσμα τα επίπεδα της MDA να αποτελούν αξιόπιστο δείκτη οξειδωτικού στρες. Σε ασθενείς με αιμοσφαιρινοπάθεια-Η μελετήσαμε το σύστημα γλουταθειόνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων και την υπεροξειδωση των λιπιδίων των μεμβρανών των κυττάρων σε συνδυασμό με την αντιοξειδωτική άμυνα των ασθενών.

Ασθενείς και Μέθοδοι: Είκοσι επτά ασθενείς με αιμοσφαιρινοπάθεια-Η που δεν είχαν λάβει προηγουμένως θεραπεία συμπεριλήφθησαν στη μελέτη καθώς και 15 φαινοτυπικά υγιή άτομα ως ομάδα ελέγχου. Παράλληλα με τις αιματολογικές και βιοχημικές παραμέτρους και τον ακριβή προσδιορισμό της Hb H με WCE-HPLC, μετρήθηκαν α) τα επίπεδα της ολικής GSH (GSht), η οξειδωμένη και η ανηγμένη μορφή της GSH (GSSG και GSHr αντίστοιχα) με RP-HPLC (φθοριομετρική ανίχνευση διέγερση 385 nm και εκπομπή 515 nm), β) τα επίπεδα της MDA με RP-HPLC (φθοριομετρική ανίχνευση διέγερση 532 nm και εκπομπή 550 nm), γ) τα επίπεδα των βιταμινών A και E με RP-HPLC (UV ανίχνευση στα 295 nm) και δ) τα επίπεδα της βιταμίνης C με RP-HPLC (UV ανίχνευση στα 254 nm).

Αποτελέσματα: Τα επίπεδα των GSht, GSSG και GSHr ήταν σημαντικά χαμηλότερα (κατά 25%, 45% και 17%, αντίστοιχα) στους ασθενείς με Hb H σε σύγκριση με τα αντίστοιχα των μαρτύρων ($p < 0.001$, $p < 0.001$ και $p = 0.02$ αντίστοιχα). Τα επίπεδα της MDA βρέθηκαν σημαντικά αυξημένα (κατά 67%) στους ασθενείς με Hb H σε σύγκριση με εκείνα των μαρτύρων. Δεν διαπιστώθηκαν σημαντικές διαφορές στα επίπεδα των βιταμινών A και C μεταξύ ασθενών με Hb H και μαρτύρων ($p > 0.341$ και $p > 0.420$, αντίστοιχα), ενώ τα επίπεδα της βιταμίνης E ήταν σημαντικά μειωμένα (κατά 50%) στους ασθενείς με αιμοσφαιρινοπάθεια-Η σε σύγκριση με τα αντίστοιχα των μαρτύρων ($p < 0.001$), και αντιστρόφως ανάλογα των επιπέδων της ολικής χολερυθρίνης ($r = -0.458$, $p = 0.03$). Στους ασθενείς με αιμοσφαιρινοπάθεια-Η βρέθηκαν σημαντικές συσχετίσεις της MDA με τα επίπεδα της φερριτίνης και τις συγκεντρώσεις της Hb H ($r = 0.423$, $p = 0.03$ και $r = 0.565$, $p = 0.002$, αντίστοιχα).

Συμπεράσματα: Από τα αποτελέσματα της μελέτης προκύπτουν δύο σημαντικά συμπεράσματα: α) Η μερική ανεπάρκεια του συστήματος γλουταθειόνης των ερυθροκυττάρων υποδεικνύει την αυξημένη οξειδωτική κατάσταση στην αιμοσφαιρινοπάθεια-Η, που οφείλεται στην αστάθεια της Hb H, σε μετουσίωση και την καθίζηση της στα ερυθροκύτταρα των ασθενών. β) Η ολική οξείδωση των λιπιδίων και η παραγωγή της MDA είναι επιζήμια για την κυτταρική ακεραιότητα και την κυτταρική λειτουργία, η οποία επιβαρύνεται περαιτέρω λόγω της μερικής ανεπάρκειας των τοκοφερολών. Αυτές οι παρατηρήσεις υποστηρίζουν το πιθανό κλινικό όφελος στους ασθενείς με αιμοσφαιρινοπάθεια-Η, από τη χορήγηση πρόδρομων ουσιών του συστήματος της γλουταθειόνης (πχ L-γλουταμίνης) ή/και βιταμίνης E.

ΠΑ03
ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΔΙΑΤΑΡΑΧΩΝ ΤΩΝ ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΩΝ ΔΡΟΜΩΝ ΣΤΟ ΔΙΑΒΗΤΗ ΚΥΗΣΗΣ

**Α. Δήμου¹, Λ. Σπανού², Ε. Αναστασίου², Χ. Κωσταρά¹, Κ. Τσιαφούλης³, Β. Τσιμιχόδημος⁴,
Ε. Μπαϊρακτάρη¹**

¹ Εργαστήριο Κλινικής Χημείας, Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα

² Διαβητολογικό Κέντρο, Τμήμα Ενδοκρινολογίας, Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών "Αλεξάνδρα", Αθήνα

³ Τμήμα Χημείας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα

⁴ Τομέας Παθολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Ιωαννίνων, Ιωάννινα

Σκοπός: Ο σακχαρώδης διαβήτης της κύησης είναι μια διαταραχή του μεταβολισμού και της ινσουλίνης, που εμφανίζεται ή για πρώτη φορά ανακαλύπτεται στη διάρκεια της εγκυμοσύνης, απαντάται με αυξημένη συχνότητα τα τελευταία χρόνια και οι αιτίες της εμφάνισής του δεν είναι ακόμα απολύτως σαφείς, όμως είναι απολύτως απαραίτητη η αποτελεσματική και έγκαιρη αντιμετώπισή του. Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση του μεταβολικού αποτυπώματος του αίματος εγκύων γυναικών με στόχο τη μελέτη των διαταραχών του μεταβολισμού και την ανεύρεση βιοδεικτών πρώιμης διάγνωσης του διαβήτη κύησης ώστε να μειωθεί ο κίνδυνος εμφάνισης επιπλοκών κατά την κύηση.

Υλικό-Μέθοδοι: Συλλέχθηκαν δείγματα αίματος από 69 υγιείς γυναίκες που εμφάνισαν διαβήτη κύησης και από 77 υγιείς γυναίκες ίδιας ηλικίας κύησης, δείκτη μάζας σώματος και επιπέδων λιπιδίων του ορού, που δεν εμφάνισαν διαταραχές της ομοιοστασίας των υδατανθράκων. Η συλλογή των δειγμάτων αίματος έγινε μεταξύ της 26^{ης} και 30^{ης} εβδομάδας της κύησης πριν την πραγματοποίηση της δοκιμασίας ανοχής γλυκόζης (OGTT) και πριν από οποιαδήποτε θεραπευτική παρέμβαση. Οι μεταβολίτες μικρού μοριακού βάρους απομονώθηκαν με διήθηση του ορού του αίματος και καταγράφηκαν με φασματοσκοπία ¹H-NMR 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 σημαντική διάκριση μεταξύ των μεταβολικών προφίλ των εγκύων γυναικών. Οι γυναίκες με διαβήτη κύησης σε σχέση με τις υγιείς, παρουσίασαν στατιστικά σημαντικά μειωμένα επίπεδα γλυκίνης, χολίνης, βεταΐνης, σερίνης, ασπαρτικού και πυροσταφυλικού οξέος που αντανακλούν διαταραχή στο μεταβολικό μονοπάτι γλυκίνης, σερίνης και θρεονίνης (glycine, serine, threonine metabolism, KEGG pathway), των αρωματικών αμινοξέων (ιστιδίνη, φαινυλαλανίνη) καθώς και των γλυκογενετικών αμινοξέων ασπαραγίνη, και μεθειονίνη. Επιπλέον, στην ομάδα των ασθενών παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση στα επίπεδα των κετονοσωμάτων (ακετοξικό, 3-υδροξυβουτυρικό), 2-υδροξυβουτυρικού οξέος καθώς και του ενδιάμεσου στον κύκλο της ουρίας αμινοξέος ορνιθίνη.

Συμπεράσματα: Το μεταβολικό προφίλ στο διαβήτη κύησης αντικατοπτρίζει διαταραχές μεταβολικών οδών, οι οποίες θα μπορούσαν να αποτελέσουν πιθανούς βιοδείκτες για την πρώιμη διάγνωση της νόσου με στόχο τη μείωση των επιπλοκών και του κινδύνου μεταγενέστερης εμφάνισης σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2.

ΠΑ04
ΤΑΧΥΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΠΡΟΚΑΛΣΙΤΟΝΙΝΗΣ ΜΕ ΟΠΤΙΚΟ ΑΝΟΣΟΑΙΣΘΗΤΗΡΑ
ΓΙΑ ΠΑΡΑΚΛΙΝΙΑ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΗΣ ΣΗΨΗΣ

**Δ. Τσουνίδη¹, Γ. Κουκουβίνος¹, Δ. Γουστουρίδης², Ι. Ράπτης², Β. Τσαούσης³,
Χ. Μητρόπουλος³, Σ. Κακαμπάκος¹, Π. Πέτρου¹**

¹ Εργαστήριο Ανοσοαναλύσεων / Ανοσοαισθητήρων, Εθνικό Κέντρο Έρευνας Φυσικών Επιστημών «Δημόκριτος», Αθήνα

² Thetametrisis A.E., Αθήνα

³ Medicon Hellas A.E., Αθήνα

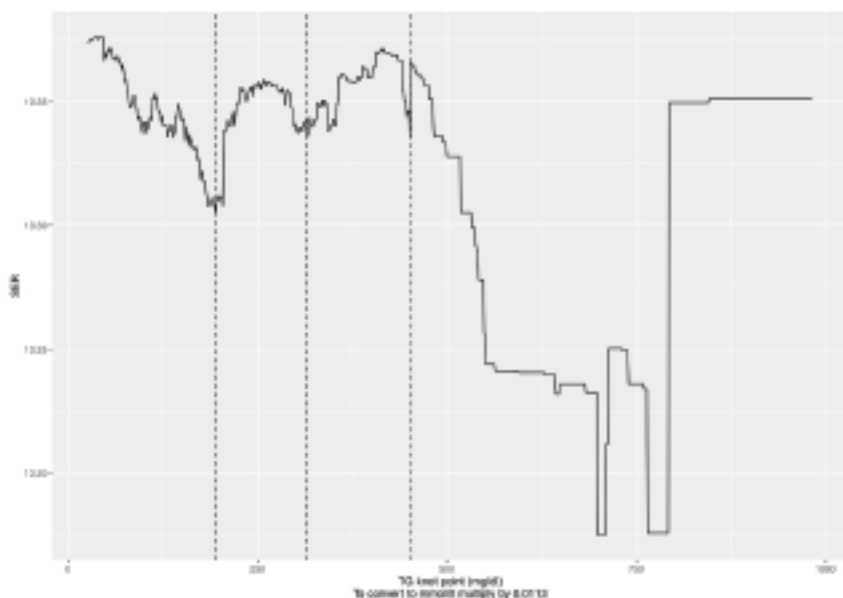
Η σήψη αποτελεί μία από τις συχνότερες αιτίες θανάτου σε νοσηλευόμενους ασθενείς παγκοσμίως. Η έγκαιρη διάγνωσή της είναι ιδιαίτερα σημαντική για την αποτελεσματική θεραπεία και την αύξηση του ποσοστού επιβίωσης και βασίζεται στην ανίχνευση βιοδεικτών στον ορό του αίματος, μεταξύ των οποίων η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, η προκαλσιτονίνη, η ιντερλευκίνη-6 και το γαλακτικό οξύ. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η ανάπτυξη μεθόδου για τον γρήγορο προσδιορισμό της προκαλσιτονίνης (PCT) σε ορό αίματος με τη χρήση οπτικού βιοαισθητήρα που βασίζεται στην φασματοσκοπία ανάκλασης λευκού φωτός (White Light Reflectance Spectroscopy, WLRS) στοχεύοντας στην παρακλινία εφαρμογή της. Η ανίχνευση βιοαντιδράσεων με WLRS βασίζεται στην παρακολούθηση της ολίσθησης του φάσματος ανάκλασης που δημιουργείται κατά την ανάκλαση λευκού φωτός από την επιφάνεια του αισθητήρα, η οποία αποτελείται από ψηφίδα πυριτίου (Si) που φέρει υμένιο διοξειδίου του πυριτίου (SiO₂), και στην οποία εφαρμόζεται μικρορευστομηχανική κυψελίδα για τη συνεχή διαβίβαση των αντιδραστηρίων. Η ολίσθηση του φάσματος μετατρέπεται από το λογισμικό που συνοδεύει το σύστημα WLRS σε φαινόμενο πάχος της βιομοριακής στοιβάδας επιτρέποντας την παρακολούθηση βιοαντιδράσεων σε πραγματικό χρόνο. Για τον προσδιορισμό της PCT αναπτύχθηκε ανοσοχημική μέθοδος μη ανταγωνιστικού τύπου, με ακινητοποίηση στην επιφάνεια του αισθητήρα μονοκλωνικού αντισώματος έναντι της PCT. Ακολουθεί διαβίβαση των προτύπων διαλυμάτων PCT ή δειγμάτων επί 15 λεπτά, και βιοτινυλιωμένου μονοκλωνικού αντισώματος που συνδέεται με διαφορετικό επίτοπο της PCT σε σχέση με το ακινητοποιημένο αντίσωμα επί 10 λεπτά. Τέλος, τα ανοσοσυμπλέγματα που έχουν δημιουργηθεί στην επιφάνεια του αισθητήρα αντιδρούν για 3 λεπτά με διάλυμα στρεπταβιδίνης. Όλα τα διαλύματα διαβιβάζονται με ταχύτητα ροής 30 μl/min. Το όριο ανίχνευσης της PCT που επιτεύχθηκε ήταν 0.2 ng/ml, και η δυναμική περιοχή κυμαίνονταν από 0.5 ng/ml έως 50 ng/ml. Ο προσδιορισμός χαρακτηριζόταν από υψηλή επαναληψιμότητα (συντελεστές διακύμανσης εντός και μεταξύ προσδιορισμών < 6.5 και 8.6%, αντίστοιχα) και ακρίβεια (% ανάκτηση 82-108%). Ο προσδιορισμός της PCT θα συνδυαστεί με τον προσδιορισμό της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης και της ιντερλευκίνης-6 ώστε να αναπτυχθεί μικροσύστημα βασισμένο στο WLRS για τον ταυτόχρονο προσδιορισμό των τριών αυτών αναλυτών με στόχο την ταχεία διάγνωση της σήψης.

ΠΑ05
ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΠΕΝΤΕ ΝΕΩΝ ΨΥΧΟΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ (NPS) ΣΕ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΟΛΙΚΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ
ΚΑΙ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΕΞΙ NPS ΣΕ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΟΥΡΩΝ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΙΚΗ GC-MS

Α. Αλεξανδρίδου, Ε. Γκίκα, Ο. Μαστρογιάννη, Α. Ορφανίδης, Ν.Ράικος

*Εργαστήριο Ιατροδικαστικής και Τοξικολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Αριστοτέλειο
Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη*

Οι νέες ψυχοδραστικές ουσίες (NPS) κερδίζουν όλο και περισσότερο έδαφος στην παράνομη αγορά ναρκωτικών παγκοσμίως, αποτελώντας κίνδυνο για τη δημόσια υγεία. Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η ανάπτυξη και επικύρωση μιας μεθόδου για την ανίχνευση και τον ποσοτικό προσδιορισμό πέντε NPS διαφορετικών κατηγοριών (συνθετικά κανναβινοειδή, οπιοειδή, καθιόνες). Οι ενώσεις μεφεδρόνη, 3,4-MDPV, AH-7921, JWH-018 και AM-2201 προσδιορίστηκαν ποσοτικά σε ολικό αίμα, ενώ ανιχνεύτηκαν σε δείγματα ούρων τόσο αυτές όσο και η μεθυλόνη με GC - MS . Οι προσδιοριζόμενες ουσίες παρελήφθησαν από τα δείγματα με εκχύλιση υγρού – υγρού, αφού προηγήθηκε βελτιστοποίηση των παραμέτρων της προκατεργασίας (pH, διαλύτες, δοκιμές παραγωγοποίησης). Για την κατασκευή των καμπυλών βαθμονόμησης επιμολύνθηκαν λευκά βιολογικά δείγματα με μεθανολικά πρότυπα των ουσιών. Για τον προσδιορισμό εφαρμόστηκε επιλεκτική παρακολούθηση ιόντων. Όσον αφορά την επικύρωση, η μέθοδος αποδείχθηκε πως έχει καλή γραμμικότητα για όλες τις ενώσεις. Τα όρια ανίχνευσης κυμάνθηκαν από 0,002 έως 0,08 µg/mL στα δύο υποστρώματα. Τα όρια ποσοτικού προσδιορισμού στο αίμα κυμάνθηκαν από 0,005 έως 0,25 µg/mL. Η ακρίβεια ήταν εντός των αποδεκτών ορίων και το επί τοις εκατό σφάλμα κυμάνθηκε από -17,97% έως 20% εντός της ημέρας και από -11,16% έως 18,87% εντός μίας εβδομάδας. Η πιστότητα κυμάνθηκε από 2,59% έως 17,17% (CV%) εντός της ημέρας και από 6,04% έως 13,72% (CV%) εντός μίας εβδομάδας. Από διεργαστηριακή δοκιμή μεταξύ του εργαστηρίου Ιατροδικαστικής και Τοξικολογίας του ΑΠΘ και του εργαστηρίου Τοξικολογίας της Ιατροδικαστικής Υπηρεσίας Θεσσαλονίκης προέκυψε μη στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων των δειγμάτων που αναλύθηκαν στα δύο εργαστήρια. Δεν παρατηρήθηκε φαινόμενο επίδρασης του υποστρώματος και για τα δύο υποστρώματα. Οι ενώσεις αποδείχθηκαν σταθερές στα δείγματα για δύο κύκλους ψύξης (-18 ο C) – απόψυξης και στα εκχυλίσματα για δύο μέρες στους 4 ο C. Ο έλεγχος ειδικότητας της μεθόδου απέδειξε ότι οι ενώσεις μπορούν να προσδιοριστούν χωρίς παρεμπόδιση παρουσία ενώσεων όπως MDMA, MBDB, κοκαΐνη, ηρωίνη, μεθαδόνη, κανναβιδιόλη και Δ9-τετραϋδροκανναβινόλη. Η μέθοδος που αναπτύχθηκε επιτρέπει τον ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό πέντε NPS που ανήκουν σε διαφορετικές κατηγορίες σε ολικό αίμα και τον ποιοτικό προσδιορισμό έξι NPS σε ούρα. Τέλος, αποτελεί ένα εύχρηστο «εργαλείο» σε ένα εργαστήριο τοξικολογίας, καθώς μπορεί να χρησιμοποιηθεί για αξιόπιστη και γρήγορη ανάλυση δειγμάτων αίματος ή ούρων.



ΠΑ06
ΠΙΛΟΤΙΚΗ ΣΤΟΧΕΥΜΕΝΗ ΜΕΤΑΒΟΛΟΜΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΜΕ LC/MS/MS ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ
ΜΕ ΔΡΕΠΑΝΟΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΝΟΣΟ

Φ. Πανέτσος¹, Ε. Βοσκαρίδου², Ι. Παπασωτηρίου³

¹ Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας, «Βιοιατρική», Αθήνα

² Κέντρο Αναφοράς Πρόληψης Θαλασσαιμίας και Δρεπανοκυτταρικής Νόσου, Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών
«Λαϊκό», Αθήνα

³ Βιοχημικό Τμήμα, Γενικό Νοσοκομείο Παιδών Αθηνών “Η Αγία Σοφία”, Αθήνα

Εισαγωγή-Σκοπός: Η απουσία μέχρι σήμερα ενός αποτελεσματικού θεραπευτικού παράγοντα για την αντιμετώπιση της Δρεπανοκυτταρικής Νόσου (ΔΝ) οφείλεται στη σύνθετη παθοφυσιολογία της νόσου. Η πρόσφατη εμφάνιση νέων θεραπευτικών παραγόντων οδήγησε στη σκέψη ότι η ανάλυση των μεταβολιτών θα μπορούσε να βοηθήσει στην αναγνώριση ενδογενών και εξωγενών δράσεων αυτών. Η χαμηλή βιοδιαθεσιμότητα της αργινίνης έχει σχετιστεί με έναν κλινικό φαινότυπο αυξημένου ρυθμού αιμόλυσης, κινδύνου πνευμονικής υπέρτασης και πρόωρης θνητότητας. Πρόσφατα εγκρίθηκε από τον FDA η χρήση της L-γλουταμίνης για τη θεραπευτική αντιμετώπιση ενηλίκων και παιδιών με ΔΝ, μετά από τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες, ενώ η χρήση της L-αργινίνης εξακολουθεί να είναι υπό διερεύνηση. Σε αυτό το πλαίσιο, σκοπός της μελέτης είναι να εντόπισουμε στοχευμένες διαταραχές μεταβολιτών σε ασθενείς ΔΝ που πιθανόν να συμβάλλουν στην πρόληψη και αντιμετώπιση των της ΔΝ.

Ασθενείς και Μέθοδοι: Στη μελέτη συμμετείχαν 30 ενήλικες Καυκάσιοι ασθενείς με HbS/β-Θαλ ηλικίας 45.6 ± 10.9 ετών (43% άρρενες) σε σταθερή κατάσταση νόσου, ενώ 20 υγιείς ενήλικες αντιστοίχων ηλικιών (45% άρρενες) χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες. Εκτός των μετρήσεων των αιματολογικών και βιοχημικών παραμέτρων, αναλύθηκαν από ξηρές σταγόνες ολικού αίματος 13 αμινοξέα και 2 παράγωγα αμινοξέων στοχευμένων μεταβολιτών κατόπιν εκχύλισης ξηρών σταγόνων αίματος σε διηθητικό χαρτί χρησιμοποιώντας LC/MS/MS, με παραγωγιοποίηση (AB-SCIEX-5500 triple-quadrupole QTRAP® LC/MS/MS-Systems).

Αποτελέσματα: Αναγνωρίστηκαν αρκετές μεταβολικές διαφορές στους πάσχοντες σε σχέση με τους μάρτυρες. Από τους μεταβολίτες που εμπλέκονται στη βιοσύνθεση της γλουταθειόνης, τα επίπεδα της L-γλουταμίνης βρέθηκαν χαμηλότερα στους ασθενείς συγκριτικά με τους μάρτυρες ($p=0.02$), ενώ τα επίπεδα της 5-οξυπρολίνης, ενός καταβολικού προϊόντος του μεταβολισμού της γλουταθειόνης, βρέθηκαν σημαντικά αυξημένα στους πάσχοντες συγκριτικά με τους μάρτυρες ($p<0.001$). Τα αμινοξέα του κύκλου της ουρίας που επίσης εμπλέκονται στην παραγωγή του οξειδίου του αζώτου (NO), η L-αργινίνη και η L-ορνιθίνη είχαν σημαντικά χαμηλότερες συγκεντρώσεις στους πάσχοντες συγκριτικά με τους μάρτυρες ($p=0.02$ και $p<0.001$, αντίστοιχα), ενώ τα επίπεδα L-κιτρουλίνης δεν βρέθηκαν σημαντικά χαμηλότερα στους HbS/β-Θαλ ασθενείς ($p=0.06$). Τέλος, αμινοξέα που σχετίζονται με τη βιοσύνθεση των κατεχολαμινών (ντοπαμίνης, νορεπινεφρίνης και επινεφρίνης), όπως η L-φαινυλαλανίνη και L-τυροσίνη και τα επίπεδα των μεταβολιτών των σουκινυλακετονών τους βρέθηκαν σημαντικά μειωμένα στους πάσχοντες συγκριτικά με τους μάρτυρες, ($p<0.001$). Δε βρέθηκαν σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ των μεταβολιτών και δεικτών αιμόλυσης, επιπέδων HbF και/ή φορτίου Fe.

Συμπεράσματα: Η μελέτη αυτή αποτελεί την πρώτη αναφορά για την παρουσία μεταβολικών διαταραχών σε καυκάσιους ασθενείς με HbS/β-Θαλ, μετά από ανάλυση ξηρών σταγόνων ολικού αίματος. Αναγνωρίστηκαν για πρώτη φορά σημαντικές μεταβολικές ανωμαλίες της βιοσύνθεσης της γλουταθειόνης και του NO που σχετίζονται με μειωμένες συγκεντρώσεις των μεταβολιτών που χρησιμεύουν ως υποστρώματα αυτών των μονοπατιών. Σημαντικό επίσης εύρημα είναι τα χαμηλά επίπεδα L-φαινυλαλανίνης και L-τυροσίνης, που αποτελούν βασικές πηγές για τη βιοσύνθεση πολλών νευροδιαβιβαστών. Ωστόσο, η τελευταία αυτή παρατήρηση χρήζει επιβεβαίωσης με μεγαλύτερες μελέτες. Συνεπώς, οι ασθενείς με ΔΝ βρίσκονται σε μια «ασταθή» κατάσταση σχετικά με την ανεπάρκεια διάφορων αμινοξέων, τα οποία φαίνεται να συμμετέχουν στην παθοφυσιολογία των επιπλοκών και χρήζουν περαιτέρω διερεύνησης. Η εξωγενής διόρθωση της ανεπάρκειας των ανωτέρω αμινοξέων πιθανόν να συμβάλει στη βελτίωση της κλινικής εικόνας της ΔΝ.

**Μ. Σιώπη¹, Χ. Μαλαβάκη², Β. Δραΐνας², Σ. Καρακατσάνης³, Χ. Ρουμπάκης⁴, Ε.Ελντέϊκ⁵,
Κ. Κοραντάνης⁶, Ε. Σαμπατάκου⁵, Ν. Σύψας⁶, Π. Τσιριγώτης⁴, Μ. Παγώνη³, Μ. Κλάπα²,
Ι. Μελετιάδης¹**

¹ Εργαστήριο Κλινικής Μικροβιολογίας, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο «Αττικών», Αθήνα

² Συστημικής Βιολογίας, Ινστιτούτο Επιστημών Χημικής Μηχανικής, ΙΤΕ/ΙΕΧΜΗ, Πάτρα

³ Αιματολογική Κλινική-Μ.Μ.Μ.Ο., Γενικό Νοσοκομείο «Ο Ευαγγελισμός - Οφθαλμιατρείο Αθηνών - Πολυκλινική», Αθήνα

⁴ Β' Προπαιδευτική Παθολογική Κλινική, Αιματολογική Μονάδα, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο «Αττικών», Αθήνα

⁵ Β' Παθολογική Κλινική, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών «Ιπποκράτειο», Αθήνα

⁶ Παθολογική Φυσιολογία, Ιατρική Σχολή, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

Σκοπός: Η διηθητική ασπεργίλλωση (ΔΑ) χαρακτηρίζεται από υψηλά ποσοστά θνητότητας (50-90%) παρά τη χορήγηση κατάλληλης αντιμυκητιακής θεραπείας. Η αξιόπιστη και έγκαιρη διάγνωση της εξακολουθεί να αποτελεί πρόκληση με αποτέλεσμα να τίθεται συχνά *post mortem* (70%). Καινοτόμες μεθοδολογίες, όπως η μεταβολομική, παρέχουν ελπίδες για πρώιμη διάγνωση. Σκοπό, λοιπόν, της παρούσας μελέτης αποτέλεσε η ταυτοποίηση ειδικού μεταβολομικού προφίλ σε ορούς αιματολογικών ασθενών με ΔΑ.

Υλικό-Μέθοδοι: Αναλύθηκαν 72 δείγματα 39 ασθενών με πιθανή (10) και χωρίς (29) ΔΑ κατά EORTS/MSG κριτήρια χρησιμοποιώντας τη γαλακτομαννάνη [GM] (Platelia *Aspergillus* EIA; Bio-Rad) ως μικροβιολογικό κριτήριο. Τα δείγματα αναλύθηκαν επίσης για 1,3-β-D γλυκάνη [BDG] (Fungitell, Associates Cape Cod) και *Aspergillus* DNA με PCR πραγματικού χρόνου (White *J Mol Diagn.* 2006). Η μεταβολομική ανάλυση 100μL ορού διεξήχθη με αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μάζας. Τα προφίλ 26 μεταβολιτών εξετάστηκαν με πολυμεταβλητή στατιστική ανάλυση ιεραρχικής ομαδοποίησης κατά Pearson κύριων συνιστωσών (PCA) και σημαντικότητας για μικροσυστοιχίες (TM4 MeV software 4.8.1). Η συσχέτιση μεταβολικού προφίλ-ΔΑ ελέγχθηκε με δοκιμασία κατά Fisher.

Αποτελέσματα: Οι οροί 8/10 ασθενών με ΔΑ είχαν παρόμοιο μεταβολομικό προφίλ [80% ευαισθησία], το οποίο ανιχνεύθηκε σε όλα τα εξεταζόμενα δείγματα τους, ακόμη και 1 μήνα πριν τα GM/PCR+ δείγματα, ενώ για 1 ασθενή με ΔΑ το μεταβολομικό προφίλ ήταν ειδικό δύο μήνες πριν. Των υπόλοιπων 2/10 εντοπίστηκαν στην περιοχή των ασθενών χωρίς ΔΑ αν και είχαν κάποια δείγματα BDG/PCR+ (1/4 ο ένας και 1/2 ο άλλος). Εντός του μεταβολομικού προφίλ της ΔΑ, υπήρξαν 11/29 ασθενείς χωρίς ΔΑ αν και υπήρχε ισχυρή υποψία για ΔΑ (4PCR/BDG+, 3BDG+ και χορήγηση βορικοναζόλης, 1BDG+ και μόλις 3 PCR/BDG/GM-). Από τους υπόλοιπους 18/29 ασθενείς χωρίς ΔΑ, 10/18 ήταν PCR/BDG/GM-, 3/18 είχαν μόνο BDG+, 3/18 είχαν μόνο ένα δείγμα PCR/BDG+ και μόλις 2/18 είχαν επαναλαμβανόμενα δείγματα PCR/BDG+.

Συμπεράσματα: Η μεταβολομική παρουσιάζει υψηλή διακριτική ικανότητα ασθενών με πιθανή ΔΑ (80%) με 91% αρνητική προγνωστική αξία, ενώ στην πλειονότητα των περιπτώσεων μπορεί να ανιχνεύσει ασθενείς με ΔΑ έως και ένα μήνα νωρίτερα από ότι η ανίχνευση της γαλακτομαννάνης.

**ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΕΡΥΘΡΟΠΟΙΗΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΜΥΕΛΟΥ ΤΩΝ ΟΣΤΩΝ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ
ΜΕ ΔΡΕΠΑΝΟΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΝΟΣΟ: ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ ΚΑΙ ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ
ΕΡΥΘΡΟΠΟΙΗΣΗΣ ΚΑΙ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ ΤΟΥ ΣΙΔΗΡΟΥ**

Ι. Παπασωτηρίου¹, Σ. Ζάλιου², Β. Τσαούσης², Μ. Δημοπούλου³, Π. Φλεβάρη³, Κ. Λαρίσση¹, Β. Κομνηνάκα³, Χ. Ποζιόπουλος¹, Μ. Πολίτου⁴, Ε. Τέρπος⁵, Ε. Βοσκαρίδου³

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

² Medicon Hellas Sa, Αθήνα

³ Κέντρο Αναφοράς Πρόληψης Θαλασσαιμίας και Δρεπανοκυτταρικής Νόσου, Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών «Λαϊκό», Αθήνα

⁴ Υπηρεσία Αιμοδοσίας - Αιματολογικό Εργαστήριο, Πανεπιστημιακό «Αρεταίειο Νοσοκομείο», Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

⁵ Θεραπευτική Κλινική, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών «Αλεξάνδρα», Αθήνα

Εισαγωγή-Σκοπός: Η αιμολυτική αναιμία, η αγγειακή απόφραξη και η μικροαγγειοπάθεια αποτελούν τους βασικούς παθογενετικούς μηχανισμούς της Δρεπανοκυτταρικής Νόσου (ΔΝ). Ο υποδοχέας τρανσφερίνης (TfR) διαμεσολαβεί στη μεταφορά του σιδήρου μέσα στα κύτταρα και είναι μετρήσιμη η διαλυτή μορφή του που κυκλοφορεί ως sTfR. Τα επίπεδα sTfR αντικατοπτρίζουν την ερυθροποιητική δραστηριότητα του μυελού των οστών (ΕΔΜ). Η ερυθροποίηση έχει αποδειχτεί ως ο κύριος ρυθμιστής των επιπέδων sTfR. Σκοπός μας ήταν να μελετήσουμε και να εκτιμήσουμε την ΕΔΜ σε ασθενείς με HbS/β-θαλ, βασιζόμενοι στις μετρήσεις sTfR, και να διερευνήσουμε πιθανές συσχετίσεις με κλινικές εκδηλώσεις της νόσου (αιμόλυση, αγγειοαποφρακτικές κρίσεις, οξύ θωρακικό σύνδρομο, φλεβική θρόμβωση, αρτηριακή θρόμβωση, άσηπτη νέκρωση, πνευμονική υπέρταση, φλεγμονή, νεφρική βλάβη, θεραπεία με υδροξυουρία) καθώς και άλλους βιοδείκτες ερυθροποίησης και μεταβολισμού του σιδήρου, όπως ο *Placental Growth Factor* (PlGF), ο *Growth Differentiation Factor-15* (GDF-15), η φερριτίνη και η Hepcidin-25.

Ασθενείς και Μέθοδοι: Στη μελέτη συμμετείχαν 90 ενήλικοι Καυκάσιοι ασθενείς με HbS/β-θαλ εκτός μεταγίσεων τουλάχιστον το τελευταίο εξάμηνο: 49 υπό υδροξυουρία (HU+) και 41 χωρίς θεραπεία (HU-) ενώ την ομάδα ελέγχου αποτέλεσαν 22 άτομα. Στους ασθενείς και στους μάρτυρες μετρήθηκαν μαζί με τις αιματολογικές και βιοχημικές παραμέτρους τα επίπεδα των κυκλοφορούντων sTfR, PlGF, GDF-15 και Hepcidin-25 χρησιμοποιώντας ανοσοενζυματικές τεχνικές. Η ερυθροποιητική δραστηριότητα του μυελού των οστών υπολογίστηκε από τον τύπο: *sTfR patient/mean sTfR controls*.

Αποτελέσματα: Βρέθηκε ότι: τα επίπεδα sTfR ήσαν σημαντικά αυξημένα σε όλους τους πάσχοντες συγκριτικά με τους μάρτυρες (4.8 ± 2.2 vs. 1.0 ± 0.2 mg/L, $p < 0.001$), με αποτέλεσμα την αύξηση της ΕΔΜ κατά 1.6-11.9 φορές. Δε βρέθηκε καμία συσχέτιση μεταξύ της ΕΔΜ και των κλινικών εκδηλώσεων της νόσου ή/και τη θεραπεία με υδροξυουρία *culocyte Production Index* (RPI) ($r = 0.645$, $p < 0.001$), LDH ($r = 0.570$, $p < 0.001$), χολερυθρίνη ($r = 0.540$, $p < 0.001$), PlGF ($r = 0.597$, $p < 0.001$) και τα επίπεδα της HbA ($r = -0.493$, $p < 0.001$) ενώ, δε βρέθηκε καμία συσχέτιση μεταξύ της ΕΔΜ και της HbF. Επιπλέον, οι τιμές της ΕΔΜ συσχετίστηκαν σημαντικά μόνο με τα επίπεδα GDF-15 ($r = 0.466$, $p < 0.001$), ενώ δε βρέθηκε καμία συσχέτιση με τα επίπεδα φερριτίνης και Hepcidin-25 ($r = 0.101$, $p > 0.351$ και $r = -0.043$, $p > 0.710$, αντίστοιχα), αλλά βρέθηκε αρνητική συσχέτιση μεταξύ της ΕΔΜ και του λόγου Hepcidin-25/Φερριτίνη ($r = -0.330$, $p = 0.005$).

Συμπεράσματα: Τα ευρήματά αποδεικνύουν ότι όλοι οι ασθενείς HbS/β-θαλ έχουν αυξημένη ερυθροποιητική δραστηριότητα του μυελού των οστών, όπως εκτιμάται από τα αυξημένα επίπεδα sTfR (αναμενόμενα σε μία χρόνια αιμόλυση). Η ερυθροποιητική δραστηριότητα του μυελού των οστών συσχετίστηκε σημαντικά με τη συνολική αιμοσφαιρίνη των ασθενών και τα ΔΕΚ και αρνητική συσχέτιση με το λόγο Hepcidin-25/Φερριτίνη, δείκτη του βαθμού έκφρασης της Hepcidin-25 σχετικής με το φορτίο σιδήρου, ενώ δεν βρέθηκε συσχέτιση με τη θεραπεία της υδροξυουρίας. Η ΕΔΜ συσχετίστηκε με τη συνολική αιμοσφαιρίνη και τα επίπεδα HbA αλλά όχι με την HbF. Συνεπώς, και με τη διαλείπουσα κυτταροτοξική δράση της υδροξυουρίας και του ερυθροποιητικού stress που προκαλεί και που οδηγεί σε επαγωγή HbF, φαίνεται ότι ο δείκτης ΕΔΜ-sTfR παραμένει αυξημένος με σύνθετο μηχανισμό δράσης.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΡΟΛΟΥ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ HTR2A ΚΑΙ DRD2 ΩΣ ΦΑΡΜΑΚΟΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΙΚΟΙ ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ ΣΤΗΝ ΕΞΑΤΟΜΙΚΕΥΣΗ ΤΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΣΧΙΖΟΦΡΕΝΙΚΩΝ ΚΑΙ ΣΥΝΑΙΣΘΗΜΑΤΙΚΩΝ ΨΥΧΩΣΕΩΝ ΣΕ ΚΑΥΚΑΣΙΟΥΣ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥΣ

Ζ. Κορδού¹, Γ.Π. Πατρινός^{1,2,3}, Ε.Ε. Τσερμπίνι¹

¹Εργαστήριο Φαρμακογονιδιωματικής και Εξατομικευμένης Θεραπείας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα

²Department of Pathology, College of Medicine and Health Sciences, United Arab Emirates University, Al-Ain, HAE

³ Zayed Center of Health Science, United Arab Emirates University, Al-Ain, HAE

Η σχιζοφρένεια (SZ) αποτελεί μία σοβαρή ψυχιατρική διαταραχή, μακράς διάρκειας, που μπορεί να οδηγήσει σε μεταβολές στην αντίληψη ενός ατόμου για την πραγματικότητα, καθώς επίσης σε μειωμένη λειτουργικότητα και γνωσιακή έκπτωση. Παγκοσμίως, επηρεάζει το 0,75%-1% του γενικού πληθυσμού. Τα συμπτώματα της σχιζοφρένειας διακρίνονται σε θετικά (παραληρητικές ιδέες και ψευδαισθήσεις), αρνητικά (δυσκολίες αντίληψης, σκέψης και συμπεριφοράς), και γνωσιακά (μειωμένη ικανότητα κατανόησης πληροφοριών και χρήσης αυτών). Η θεραπεία της SZ επικεντρώνεται στην ανακούφιση των συμπτωμάτων και περιλαμβάνει την χορήγηση αντιψυχωτικών φαρμάκων, όπως για παράδειγμα η κλοζαπίνη και η ρισπεριδόνη. Ωστόσο, μόνο το 70% των ασθενών σημειώνει ικανοποιητική βελτίωση των συμπτωμάτων. Στα πλαίσια της μελέτης μας πραγματοποιήθηκε μετα-ανάλυση με σκοπό τον εντοπισμό γενετικών αλλαγών που σχετίζονται με την ανταπόκριση των ασθενών με σχιζοφρένεια που βρίσκονταν υπό την χορήγηση κλοζαπίνης ή ρισπεριδόνης. Τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης ανέδειξαν δύο γενετικές αλλαγές, μία στο γονίδιο του υποδοχέα της σεροτονίνης 2A (HTR2A) και μία στο γονίδιο του υποδοχέα της ντοπαμίνης D2 (DRD2), ως πιθανούς φαρμακογονιδιωματικούς βιοδείκτες για την θεραπεία της SZ με δεύτερης γενιάς αντιψυχωτικά φάρμακα. Στη συνέχεια, ελέγχθηκαν οι συχνότητες των πολυμορφισμών αυτών σε τέσσερις διαφορετικούς Καυκάσιους πληθυσμούς. Συγκεκριμένα μελετήθηκαν 513 ασθενείς με σχιζοφρένεια και 440 υγιή άτομα ελληνικής, σλοβενικής, ιταλικής και κροατικής προέλευσης. Sequencing και SimpleProbe Analysis. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, η γενετική αλλαγή στο γονίδιο HTR2A βρέθηκε, να σχετίζεται με την ανταπόκριση των Ελλήνων ασθενών με SZ που λάμβαναν ρισπεριδόνη και και μπορεί πιθανά να χρησιμοποιηθεί ως φαρμακογονιδιωματικός βιοδείκτης για την ανταπόκριση των Ελλήνων ασθενών με σχιζοφρένεια στη ρισπεριδόνη.

ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΣΗ ΤΟΥ ΑΝΟΙΚΤΟΥ ΑΝΑΓΝΩΣΤΙΚΟΥ ΠΛΑΙΣΙΟΥ (ORF) ΤΟΥ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΟΥ ΠΕΠΤΙΔΙΟΥ MOTS-C ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΣΑΚΧΑΡΩΔΗ ΔΙΑΒΗΤΗ ΤΥΠΟΥ 2 ΚΑΙ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΗ ΝΟΣΟ

Ε. Μαράτου¹, Β. Λαμπαδιάρη², Α. Παπαδοπούλου³, Κ. Κατωγιάννης⁴, Φ. Κουσαθανά², Μ. Τάιχερτ⁵, Η. Κυριάκου⁵, Π. Μουτσάτσου¹, Α. Τσαντές⁵, Ι. Οικονομίδης⁴, Γ. Δημητριάδης²

¹ Εργαστήριο Κλινικής Βιοχημείας, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών «Αττικόν», Ιατρική Σχολή, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

² Β' Προπαιδευτική Παθολογική Κλινική, Μονάδα Έρευνας και Διαβητολογικό Κέντρο, Ιατρική Σχολή, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο «Αττικόν», Αθήνα

³ Γ' Παιδιατρική Κλινική, Ιατρική Σχολή, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο «Αττικόν», Αθήνα

⁴ Β' Καρδιολογική Κλινική, Ιατρική Σχολή, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο «Αττικόν», Αθήνα

⁵ Αιματολογικό Εργαστήριο και Μονάδα Αιμοδοσίας, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο «Αττικόν», Αθήνα

ΕΙΣΑΓΩΓΗ-ΣΚΟΠΟΣ: Το πεπτίδιο MOTS-c είναι μια μυοκίνη που κωδικοποιείται αποκλειστικά από το mtDNA. Το MOTS-c ανιχνεύθηκε σε διάφορους ιστούς καθώς και στην κυκλοφορία του αίματος. Τα επίπεδα του σε κατάσταση νηστείας διατηρούνται σταθερά σε ομοιοστατικούς ιστούς (όπως ο εγκέφαλος και η καρδιά), ενώ μειώνονται σε ιστούς στόχους της ινσουλίνης, όπως ο σκελετικός μυς. Η μελέτη του MOTS-c αποκάλυψε μια σειρά δεδομένων, τα οποία καταδεικνύουν τη σηματοδοτική δράση σε κυτταρικό και πιθανότατα σε ολοσωματικό επίπεδο. Έχει δειχθεί *in vivo* ότι βελτιώνει το μεταβολισμό στον σκελετικό μυ, την ευαισθησία στην ινσουλίνη και τη ρύθμιση της πρόσληψης βάρους. Ο σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η συσχέτιση των επιπέδων του MOTS-c με την καρδιαγγειακή έκβαση σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 (ΣΔτ2).

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ: Στη μελέτη συμμετείχαν 122 ασθενείς με ΣΔτ2 και εγκατεστημένη στεφανιαία νόσο (82 άνδρες and 40 γυναίκες, μέση ηλικία 67,6 έτη) που λάμβαναν διπλή αντιαιμοπεταλιακή αγωγή και παρακολουθήθηκαν επί δύο έτη. Στους ασθενείς αυτούς μετρήθηκαν: i) η αντίσταση στην κλοπιδογρέλη με κλασική Light Transmission Aggregometry (LTA) MOTS-c και του β αμυλοειδούς, iii) τα επίπεδα οξειδωτικού stress μέσω της μηλονικής διαλδεΰδης (MDA) και iv) έγινε αλληλούχιση με μέθοδο Sanger στο ανοιχτό αναγνωστικό πλαίσιο (sORF) που κωδικοποιεί το MOTS-c για τυχόν πολυμορφισμούς σε δείγματα 100 ασθενών.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ: Μετά διетή παρακολούθηση, 15 ασθενείς κατέληξαν. Τα μείζονα καρδιολογικά συμβάματα συσχετίστηκαν με αντίσταση στην κλοπιδογρέλη, υψηλά επίπεδα οξειδωτικού stress, επίπεδα του MOTS-c <167ng/ml και επίπεδα β αμυλοειδούς >50pg/ml, όπως προσδιορίστηκε από πολυπαραγοντική ανάλυση. Επίσης, υπάρχει θετική συσχέτιση με τα επίπεδα της HbA1c και της αντίστασης στην κλοπιδογρέλη ($p < 0.001$) και αρνητική συσχέτιση των επιπέδων του MOTS-c και της αντίστασης στην κλοπιδογρέλη ($p < 0.05$). Η αλληλούχιση αποκάλυψε έναν πολυμορφισμό ανοδικά του sORF του MOTS-c και μέσα στο γονίδιο 12S rRNA του mtDNA σε θέση που μένει να διευκρινιστεί εάν έχει ρυθμιστική δράση.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ: Τα χαμηλά επίπεδα κυκλοφορούντος MOTS-c σχετίζονται με αυξημένη θνησιμότητα στους ασθενείς με ΣΔτ2 με στεφανιαία νόσο. Μένει να διευκρινιστεί η μηχανισμός μέσω του οποίου μειώνονται τα επίπεδα του βιοενεργού πεπτιδίου MOTS-c στον ΣΔτ2 καθώς και η αξία του ως προγνωστικού δείκτη καρδιαγγειακής έκβασης σε ασθενείς υψηλού κινδύνου.

ΠΑ11
ΤΟ SMARTPHONE ΩΣ ΑΝΙΧΝΕΥΤΗΣ ΣΕ ΧΗΜΕΙΟΦΩΤΑΓΕΙΟΜΕΤΡΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΥΒΡΙΔΟΠΟΙΗΣΗΣ DNA
ΚΑΙ ΠΟΣΟΤΙΚΗΣ PCR

**Π. Καλλιγοσφύρη^{1,2}, Α. Σεβαστού¹, Η. Κυριακού¹, Σ. Τραγουλιάς¹, Δ. Καλογιάννη¹,
Θ. Χριστόπουλος^{1,2}**

¹, Πάτρα

² Ινστιτούτο Επιστημών Χημικής Μηχανικής (ΙΕΧΜΗ), Ίδρυμα Τεχνολογίας και Έρευνας (ΙΤΕ), Πάτρα

Η μοριακή αναγνώριση αλληλουχιών-στόχων νουκλεϊκών οξέων μέσω υβριδοποίησης με συμπληρωματικές αλληλουχίες-ανιχνευτές και η εκθετική ενίσχυση αλληλουχιών DNA/RNA με την αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης (PCR) αποτελούν τους πυλώνες όλων των μεθόδων της μοριακής διαγνωστικής. Η φθορισμομετρία, η φασματομετρία μάζας, η κυτταρομετρία ροής και η χημειοφωταυγειομετρία αποτελούν τη βάση όσον αφορά στον προσδιορισμό των προϊόντων ενίσχυσης. Οι μέθοδοι που αναφέρθηκαν απαιτούν δαπανηρό εξοπλισμό και εκπαιδευμένο προσωπικό. Στην παρούσα εργασία το smartphone εισάγεται ως χαμηλού κόστους ανιχνευτής χημειοφωταύγειας για την ανάπτυξη μεθόδων Α) υβριδοποίησης DNA και Β) ποσοτικής ανταγωνιστικής PCR (QCPCR). Όσον αφορά στην δοκιμασία υβριδοποίησης, μία ειδική αλληλουχία-ανιχνευτής ακινητοποιήθηκε σε φρεάτια μικροτιτλοδότησης όπου και υβριδοποιήθηκε με έναν βιοτινυλιωμένο και αποδιαταγμένο DNA στόχο. Ο προσδιορισμός των υβριδίων πραγματοποιήθηκε με την προσθήκη συζεύγματος αβιδίνης-υπεροξειδάσης σε συνδυασμό με ένα χημειοφωταυγειογόνο υπόστρωμα. Η εκπεμπόμενη ακτινοβολία ανιχνεύθηκε με ένα κοινό smartphone. Η αναλυτική επίδοση του smartphone συγκρίθηκε με αυτή μιας ψηφιακής φωτογραφικής μηχανής και ενός λουμινομέτρου (με φωτοπολλαπλασιαστή ως ανιχνευτή). Τα όρια ανίχνευσης του DNA στόχου ήταν 1.6, 2.4 και 1 pmol / L για το smartphone, την ψηφιακή κάμερα και το λουμινόμετρο αντίστοιχα. Για την QCPCR έγινε σύνθεση ενός κατάλληλου ανταγωνιστή DNA που είχε το ρόλο εσωτερικού προτύπου (IS). Σε κάθε αντίδραση ενίσχυσης προστέθηκαν 5000 μόρια του ανταγωνιστή, ο οποίος έχει το ίδιο μέγεθος και τις ίδιες θέσεις πρόσδεσης εκκινητών με το DNA στόχο. Τα προϊόντα ενίσχυσης του ανταγωνιστή και του μορίου στόχου προσδιορίστηκαν μέσω υβριδοποίησης. Η αναλογία των σημάτων που ελήφθησαν από το smartphone σχετίζεται με τον αριθμό των αντιγράφων του DNA στόχου στο δείγμα πριν από την ενίσχυση με PCR. Το smartphone, όσον αφορά την QCPCR, παρείχε μια αναλυτική περιοχή από 137 έως 9×10^5 αντίγραφα του DNA στόχου. Οι CV% για την QCPCR κυμάνθηκαν από 7-17%. Συμπερασματικά, το smartphone παρέχει απλότητα χρήσης, ανιχνευσιμότητα και ευρεία αναλυτική περιοχή για εφαρμογές σε αναλύσεις υβριδοποίησης και ποσοτικής PCR.

Acknowledgement

Μέρος της εργασίας αυτής χρηματοδοτήθηκε από το ίδρυμα Σταύρος Νιάρχος στα πλαίσια του έργου ARCHER S ("Advancing Young Researchers' Human Capital in Cutting Edge Technologies in the Preservation of Cultural Heritage and the Tackling of Societal Challenges"). Η εργασία αυτή υλοποιήθηκε επίσης στο πλαίσιο της Πράξης «Προηγμένες Ερευνητικές Δραστηριότητες στη Βιοϊατρική Τεχνολογία & Αγροδιατροφή» (MIS 5002469) που εντάσσεται στη «Δράση Στρατηγικής Ανάπτυξης Ερευνητικών και Τεχνολογικών Φορέων» και χρηματοδοτείται από το Επιχειρησιακό Πρόγραμμα «Ανταγωνιστικότητα, Επιχειρηματικότητα και Καινοτομία» στο πλαίσιο του ΕΣΠΑ 2014-2020, με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης (Ευρωπαϊκό Ταμείο Περιφερειακής Ανάπτυξης).

ΠΑ12
ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ 6 SNPS ΣΤΗ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΑΝΤΑΠΟΚΡΙΣΗ ΜΕ ΣΤΑΤΙΝΕΣ ΜΕ ΧΡΗΣΗ
ΤΟΥ ΑΛΓΟΡΙΘΜΟΥ TGS ΜΕΤΑΞΥ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ

Α. Ζούλια¹, Μ. Λάγιου^{1,2}, Μ. Σ. Κατσαρού¹, Μ. Παπασάββα¹, Χ. Δαγκλής³, Ν. Δρακούλης¹

¹ Ερευνητική Ομάδα Κλινικής Φαρμακολογίας και Φαρμακογονιδιωματικής, Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

² Εργαστήριο Κλινικής Βιοχημείας, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο «Αττικόν», Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

³ Τμήμα Στατιστικής και Ασφαλιστικής Επιστήμης, Πανεπιστήμιο Πειραιώς, Πειραιάς

Σκοπός: Χρήση του αλγορίθμου TGS (Total Genotype Score) για την αξιολόγηση της συνολικής επίδρασης σε ατομικό και πληθυσμιακό επίπεδο 6 πολυμορφισμών των γονιδίων CYP2C9 (rs1057910), HMGCR (rs17238540, rs17244841), APOE (rs429358, rs7412) και APOC1 (rs4420638), που συσχετίζονται με την ανταπόκριση στη θεραπεία με στατίνες.

Υλικά-Μέθοδοι: Σε DNA 643 Νοτιοανατολικών Ευρωπαίων Καυκάσιων εθελοντών (Southeast European Caucasian-SEC) πραγματοποιήθηκαν οι ανωτέρω γονοτυπήσεις (real - time PCR). Σε κάθε γονότυπο αντιστοιχήθηκε μία βαθμολογία (0-4 ανάλογα με τον αριθμό των αλληλομόρφων που προκαλούν μειωμένη ή αυξημένη ανταπόκριση στη θεραπεία, βάσει βιβλιογραφίας), η οποία ενσωματώθηκε στον αλγόριθμο ατομικά και στη συνέχεια υπολογίστηκε το πληθυσμιακό TGS, για τους SEC και κάθε έναν από τους υπόλοιπους πληθυσμούς (AFR, EUR, AMR, EAS, SAS). Για να διαπιστωθεί αν οι κατανομές TGS μεταξύ των πληθυσμών έχουν στατιστικά σημαντική διαφορά εφαρμόστηκε ο μη παραμετρικός έλεγχος Kruskal-Wallis ($\alpha=0,05$).

Αποτελέσματα: Η υψηλότερη μέση τιμή TGS ανιχνεύθηκε στους EAS (48,86) και τους SAS (48,16). Ακολουθούν οι AMR (47,48), οι SEC (46,42), οι EUR (45,94) και οι AFR (42,50). Από την συγκριτική μελέτη των κατανομών TGS παρατηρήθηκε ότι ο SEC πληθυσμός παρουσιάζει στατιστικά σημαντική διαφορά με τους AFR, τους SAS και τους EAS ($p<0,05$), ενώ η διαφορά είναι μη στατιστικά σημαντική σε σχέση με τους AMR ($p=0,108$) και τους EUR ($p=0,186$). Ανάλογα αποτελέσματα προέκυψαν και χωρίς την επίδραση του rs1057910.

Συμπεράσματα: Οι SEC είναι πιθανό να εμφανίσουν 1) καλύτερη ανταπόκριση στη θεραπεία με στατίνες από τους AFR, οι οποίοι ίσως χρειαστούν αυξημένη δοσολογία, 2) ελαφρώς μειωμένη ανταπόκριση στις στατίνες σε σύγκριση με τους EAS και SAS και κατ' επέκταση ίσως χρειαστούν αυξημένη δοσολογία στατινών ή αλλαγή της φαρμακευτικής αγωγής και 3) αναμένεται να παρουσιάσουν παρόμοια ανταπόκριση στην θεραπεία με στατίνες με τους EUR και τους AMR. Τα ίδια συμπεράσματα ισχύουν και χωρίς την επίδραση του rs1057910, δηλαδή είτε η θεραπεία περιλαμβάνει φλουβαστατίνη ή/και ροσουβαστατίνη είτε όχι.

NAME-PRO-ΥΠΟΒΟΗΘΟΥΜΕΝΗ ARMS-PCR (NAPA): ΜΙΑ ΝΕΑ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΒΕΛΤΙΩΣΗ ΤΗΣ ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΗΣ ARMS-PCR - ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΣΤΗΝ ΥΓΡΗ ΒΙΟΨΙΑ

Α. Μάρκου¹, Ε. Τζανίκου¹, Ι. Λαδάς², Μ. Μακρυγιώργος², Ε. Λιανίδου¹

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

² Department of Radiation Oncology, Dana-Farber Cancer Institute and Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School, Boston, Massachusetts

Εισαγωγή: Η αλληλοειδική ARMS-PCR είναι μία από τις πιο συχνά εφαρμοζόμενες μεθόδους ανίχνευσης μεταλλάξεων, εντούτοις ένα μεγάλο μειονέκτημά της είναι τα ψευδώς θετικά αποτελέσματα που προκύπτουν λόγω μη ειδικής ενίσχυσης που λαμβάνει χώρα με το WT DNA. Για να βελτιώσουμε την αναλυτική εξειδίκευση της ARMS-PCR, παρουσιάζουμε μια νέα προσέγγιση που ονομάζεται NAPA: NAME-Pro υποβοηθούμενη ARMS-PCR που αφαιρεί τα μη ειδικά σήματα που προκύπτουν στην ARMS-PCR προσθέτοντας ένα σύντομο ενζυμικό βήμα που «εξουδετερώνει» τα φυσιολογικά αλληλόμορφα.

Μέθοδοι: Εφαρμόσαμε το πρωτόκολλο NAPA για την ταυτόχρονη ανίχνευση δύο μεταλλάξεων της *PIK3CA* κινάσης (E545K και H1047R) σε κυκλοφορούντα καρκινικά κύτταρα (CTCs) και εξωκυττάριο DNA (cfDNA). Συγκρίναμε περαιτέρω το νέο πρωτόκολλο με α) ddPCR και β) την προηγούμενη δοκιμασία μας που βασίζεται στον συνδυασμό αλληλόμορφης, ασύμμετρης ταχείας PCR και ανάλυσης καμπυλών τήξης (Markou et al, CCR 2014).

Αποτελέσματα: Το πρωτόκολλο χαρακτηρίζεται από μεγάλη ευαισθησία αφού μπορεί να ανιχνεύσει έως και 0,5% μεταλλαγμένου παρουσία 99,5% φυσιολογικού DNA για την μετάλλαξη *PIK3CA* εξόνιο 9 (E545K) και 0,1% μεταλλαγμένου παρουσία 99,9% φυσιολογικού DNA για την μετάλλαξη *PIK3CA* exon 20 (H1047R). Η νέα μέθοδος NAPA παρουσιάζει υψηλή συμφωνία με α) ddPCR και β) τον συνδυασμό αλληλόμορφης, ασύμμετρης ταχείας PCR και ανάλυσης καμπυλών τήξης ($p = 0,001$).

Συμπεράσματα: Η νέα μέθοδος επιλύει το πρόβλημα των ψευδών θετικών σημάτων που προέρχεται από την κλασσική ARMS-PCR και παρέχει έναν ιδανικό συνδυασμό ταχύτητας, ακρίβειας και ευελιξίας και μπορεί να εφαρμόζεται εύκολα στα εργαστήρια διαγνωστικής ρουτίνας (Markou et al, Anal. Chem, 2019, in press).

**Α. Παπαδοπούλου¹, Γ. Βαλσαμάκης², Ε. Θυμαρά³, Α. Λαρυγγάκη¹, Σ. Θεοδώρου⁴,
Δ. Γραμματόπουλος⁵, Β. Παπαευαγγέλου¹, Γ. Μαστοράκος²**

¹ Γ' Παιδιατρική Κλινική, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο «Αττικών», Ιατρική Σχολή,
Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

² Μονάδα Ενδοκρινολογίας, Διαβήτη και Μεταβολικών Νοσημάτων, Αρεταίειον Πανεπιστημιακό
Νοσοκομείο, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

³ Α' Εργαστήριο Παθολογίας, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

⁴ Γ' Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο «Αττικών», Ιατρική Σχολή,
Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

⁵ Division of Translational Medicine, Clinical Sciences Research Laboratories, Warwick Medical School,
University of Warwick, University Hospital, Coventry, U.K.

Σκοποί: Στον πλακούντα, η πρωτεΐνη-στόχος της ραπαμυκίνης (mTOR) λειτουργεί ως αισθητήρας και μεταφορέας θρεπτικών στοιχείων στο έμβρυο, ενώ μελέτες σε ζωικά μοντέλα έχουν δείξει ότι υπερεκφράζεται σε κύησεις γυναικών με διαβήτη κύησης (ΔΚ). Στόχοι της εργασίας ήταν α) ο χαρακτηρισμός της έκφρασης της mTOR και ο κυτταρικός εντοπισμός της σε πλακούντες γυναικών με ΔΚ και χωρίς ΔΚ καθώς και β) η μελέτη της, τυχόν, επίδρασης του ΔΚ στην ενεργοποίηση της πλακουντιακής mTOR.

Υλικά και Μέθοδοι: Στη μελέτη συμπεριλήφθηκαν α) Έγκυες γυναίκες που εμφάνισαν ΔΚ (n=40) και τα νεογνά τους και β) Έγκυες γυναίκες χωρίς ΔΚ (n=33) και τα νεογνά τους. Η γλυκόζη των εμβρύων προσδιορίσθηκε σε δείγμα ορού από ομφαλοπλακουντιακό αίμα, ενώ η έκφραση της ολικής και της φωσφορυλιωμένης μορφής της TOR προσδιορίσθηκε σε βιοψίες πλακούντα με την τεχνική του Western blot (WB) και της ανοσοστοχμείας (IHC).

Αποτελέσματα: Η ανοσοστοχημική ανάλυση έδειξε ότι και οι δυο μορφές της mTOR, ολική και PmTOR, εκφράζονται σε μεγαλύτερο βαθμό στους τροφοβλάστες και σε μικρότερο στους συγκιοτροφοβλάστες στον πλακούντα των γυναικών και των 2 ομάδων. Μεγαλύτερη έκφραση (H-score) mTOR προσδιορίσθηκε στους πλακούντες των γυναικών με ΔΚ σε σύγκριση με τις γυναίκες χωρίς ΔΚ (p<0.009). Ο λόγος φωσφορυλιωμένης/ολικής πρωτεΐνης ήταν ελαττωμένος στην ομάδα με ΔΚ σε σχέση με την ομάδα χωρίς (0.95 έναντι 0.8, p=0.001). Επιπλέον, η έκφραση της mTOR στην ομάδα με ΔΚ ήταν αυξημένη στις συγκιοτροφοβλάστες και τα ενδοθηλιακά κύτταρα σε σχέση με τους αντίστοιχους τύπους κυττάρων στην ομάδα χωρίς ΔΚ (p<0.001). Καμία διαφορά δεν εντοπίστηκε στις τροφοβλάστες ή τα ενδοθηλιακά κύτταρα μεταξύ των δυο ομάδων γυναικών που μελετήθηκαν, γεγονός που υποδηλώνει ότι η ενεργοποίηση αυτής της κινάσης ρυθμίζεται από πολύ συγκεκριμένους παράγοντες, ενώ είναι ανεξάρτητη από αλλαγές στα συνολικά επίπεδα κινασών. Ο λόγος P/ολική mTOR ήταν ελαττωμένος στις συγκιοτροφοβλάστες της ομάδας με ΔΚ σε σχέση με την ομάδα χωρίς ΔΚ (p<0.001). Μια αρνητική συσχέτιση βρέθηκε μεταξύ του λόγου P/ολικο-mTOR στα ενδοθηλιακά κύτταρα με τον ΔΜΣ (BMI), τη γλυκόζη νηστείας της μητέρας και τη γλυκόζη του εμβρύου (p=0.005; p=0.025; p=0.026, αντίστοιχα).

Συμπεράσματα: Η έκφραση mTOR/PmTOR στον πλακούντα ρυθμίζεται με διαφορετικό τρόπο στους διάφορους κυτταρικούς τύπους και επηρεάζεται από την υπεργλυκαιμία του ΔΚ.

ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΗΣ ΠΟΣΟΤΙΚΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΩΝ TWIST1, CD24, CD44 ΚΑΙ ALDH1 ΜΕΤΑΓΡΑΦΩΝ ΣΕ ER-CAM-ΘΕΤΙΚΑ ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΝΤΑ ΚΑΡΚΙΝΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΠΡΩΙΜΟ ΚΑΡΚΙΝΟ ΜΑΣΤΟΥ

Α. Στρατή¹, Μ. Νικολάου², Β. Γεωργούλιας³, Ε. Λιανίδου¹

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

² Μονάδα Παθολογικής Ογκολογίας & Χημειοθεραπείας, Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική, Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών «Έλενα Βενιζέλου», Αθήνα

³ “Metropolitan General” Hospital, Holargos, “Mediterraneo” Hospital, Glyfada

Σκοπός: Σε αυτή τη μελέτη αξιολογήθηκε η πρόγνωση σημασία της ποσοτικής ανάλυσης των EMT-σχετιζόμενων μεταγράφων (*TWIST1*) και των μεταγράφων βλαστικών κυττάρων (SC) (*CD24*, *CD44*, *ALDH1*) σε ErCAM + κυκλοφορούντα καρκινικά κύτταρα (CTCs) ασθενών με πρώιμο καρκίνο του μαστού.

Υλικό-Μέθοδοι: 100 ασθενείς με πρώιμο στάδιο καρκίνου του μαστού και 19 υγιείς αιμοδότες συμμετείχαν στη μελέτη. Τα *CD24*, *CD44* και *ALDH1* μετάγραφα των ErCAM+ κυττάρων ποσοτικοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας μία νέα εξαιρετικά ευαίσθητη και ειδική πολλαπλή RT-qPCR μεθοδολογία, ενώ τα *TWIST1* μετάγραφα ποσοτικοποιήθηκαν με απλή RT-qPCR (Strati et al, Cells, 2019). Όλες οι ασθενείς βρίσκονταν υπό παρακολούθηση για περισσότερα από 5 χρόνια.

Αποτελέσματα: Βρέθηκε σημαντική θετική συσχέτιση μεταξύ υπερέκφρασης του *TWIST1* και του προφίλ *CD24*^{low}/*CD44*^{high}. Η ανάλυση Kaplan-Meier έδειξε ότι οι ασθενείς με ER / PR-αρνητικό (HR-) πρωτοπαθή όγκο και περισσότερους από 3 θετικούς λεμφαδένες που υπερεκφράζουν το *TWIST1* σε ErCAM+ κύτταρα είχαν σημαντικά χαμηλότερο ελεύθερο νόσου διάστημα (DFI) (log 0.001). Η μονομεταβλητή και πολυπαραγοντική ανάλυση έδειξε επίσης την πρόγνωση αξία της υπερέκφρασης του *TWIST1* και του προφίλ *CD24*^{low}/*CD44*^{high}, *CD24*^{low}/*ALDH1*^{high} τόσο για το DFI όσο και για το OS.

Συμπεράσματα: Η ανίχνευση της υπερέκφρασης του *TWIST1* και των μεταγράφων βλαστικών κυττάρων (*CD24*, *CD44*, *ALDH1*) σε ErCAM + CTCs παρέχει πρόγνωση πληροφορία σε ασθενείς με πρώιμο καρκίνο μαστού.

ΜΕΛΕΤΗ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΣΕ ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΝΤΑ ΚΑΡΚΙΝΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΜΗ ΜΙΚΡΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ (ΜΜΚΠ) ΥΠΟ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΜΕ OSIMERTINIB

Α. Ντζιφά¹, Α. Στρατή¹, Α. Κωτσάκης², Β. Γεωργούλιας³, Ε. Λιανίδου¹

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

² Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Λάρισας, Λάρισα

³ Ελληνική Ογκολογική Ερευνητική Ομάδα, Ηράκλειο, Κρήτη

Εισαγωγή: Οι ασθενείς με ΜΜΚΠ που δεν ανταποκρίνονται σε θεραπεία με πρώτης και δεύτερης γενιάς αναστολείς τυροσινικής κινάσης του *EGFR* (EGFR-TKIs) λόγω της εμφάνισης δευτερεύουσας μετάλλαξης του εξονίου 20 του γονιδίου *EGFR*, T790M, λαμβάνουν θεραπεία με osimertinib. Παρ'όλ' αυτά ένα ποσοστό αυτών εμφανίζει εκ νέου αντίσταση. Εντούτοις είναι σημαντική η κατανόηση των μοριακών μηχανισμών που οδηγούν στην υποτροπή. Η υγρή βιοψία ως μια μη επεμβατική προσέγγιση και συγκεκριμένα ο μοριακός χαρακτηρισμός των κυκλοφορούντων καρκινικών κυττάρων (circulating tumor cells, CTCs) μας προσφέρει τη δυνατότητα για παρακολούθηση των ασθενών κατά τη διάρκεια της θεραπείας ώστε να ανιχνεύουμε εγκαίρως τους πιθανούς μοριακούς μηχανισμούς αντίστασης σε αυτήν. Για το σκοπό αυτό, μελετήσαμε την έκφραση ενός συνόλου γονιδίων στα CTCs των ασθενών αυτών πριν τη θεραπεία με osimertinib και στην εμφάνιση της υποτροπής.

Υλικά και μέθοδοι: Συλλέχθηκαν δείγματα περιφερικού αίματος (15ml) ασθενών με ΜΜΚΠ πριν τη θεραπεία (baseline) και στην πρόοδο νόσου (progression disease, PD) και ακολούθησε απομόνωση των CTCs βάσει μεγέθους με το σύστημα μικροροών Parsortix, (ANGLE plc, UK). Στα CTCs έγινε απομόνωση του ολικού RNA και σύνθεση cDNA, με σκοπό την ανάλυση των επιπέδων γονιδιακής έκφρασης με RT-qPCR. Ειδικότερα, μελετήθηκε η έκφραση των γονιδίων: α) *B2M* ως γονίδιο αναφοράς, β) των κυτταροκερατινών *CK-8*, *CK-18*, *CK-19*, γ) των μεσεγχυματικών δεικτών *Vimentin* (*VIM*) και *TWIST-1*, δ) του γονιδίου *ALDH-1* ως δείκτης αρχέγονων καρκινικών κυττάρων, ε) του γονιδίου *EGFR* και στ) του γονιδίου *PD-L1*.

Αποτελέσματα: Στο baseline, τα επίπεδα έκφρασης των γονιδίων που ανιχνεύθηκαν στα CTCs ήταν: 2/25(8%) *CK-8*, 3/25(12%) *CK-18*, 4/25(16%) *CK-19*, 13/25(52%) *VIM*, 10/25(40%) *ALDH-1*, 2/25(8%) *PD-L1* ενώ δεν ανιχνεύθηκαν CTCs θετικά για *EGFR* και *TWIST-1*. Στα αντίστοιχα δείγματα, στο PD η έκφραση είχε ως εξής: 3/25(12%) *CK-8*, 8/25(32%) *CK-18*, 8/25(32%) *CK-19*, 13/25(52%) *VIM*, 4/25(16%) *TWIST-1*, 10/25(40%) *ALDH-1*, 9/25(36%) *PD-L1* και 1/25(4%) *EGFR*.

Συμπεράσματα: Σύμφωνα με τα παραπάνω αποτελέσματα παρουσιάζεται μεγάλη ετερογένεια στα επίπεδα γονιδιακής έκφρασης των CTCs τόσο για τον κάθε ασθενή πριν και μετά τη θεραπεία όσο και μεταξύ των ασθενών. Περαιτέρω μοριακός χαρακτηρισμός των CTCs σε επίπεδο γονιδιακής έκφρασης, DNA μεταλλάξεων, DNA μεθυλίωσης και miRNA θα μπορούσε να αποσαφηνίσει επιπλέον μοριακούς μηχανισμούς που εμπλέκονται στην αντίσταση σε θεραπεία με osimertinib.

Αναρτημένες Ανακοινώσεις

ΑΑ01

ΤΟ ΕΥΡΟΣ ΚΑΤΑΝΟΜΗΣ ΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΩΝ (RDW) ΚΑΙ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ (PDW) ΩΣ ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ ΙΣΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΒΛΑΒΗΣ ΣΤΟ ΣΑΚΧΑΡΩΔΗ ΔΙΑΒΗΤΗ

Ε. Βαγδατλή¹, Γ. Τσακίρογλου², Γ. Βαρύτη¹, Ε. Λυμπεράκη², Ζ. Αθανασιάδου¹,
Α. Διαμαντοπούλου¹, Β. Κωνσταντινίδου²

¹ Βιοπαθολογικό Εργαστήριο, Γενικό Νοσοκομείο Θεσσαλονίκης «Ιπποκράτειο», Θεσσαλονίκη

² Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών, Σχολή Επιστημών Υγείας, Διεθνές Πανεπιστήμιο Ελλάδος, Θεσσαλονίκη

Εισαγωγή: Η υπεργλυκαιμία, εκτός από τη γλυκίωση της αιμοσφαιρίνης, προκαλεί γλυκίωση και των πρωτεϊνών κυτταρικής επιφάνειας των ερυθροκυττάρων και μειώνει την παραμορφωσιμότητά τους, με αποτέλεσμα τον κατακερματισμό τους και την εμφάνιση ανισομεγέθων ερυθροκυττάρων και αύξηση του εύρους κατανομής τους (RDW). Επίσης σχετίζεται με βλάβη του ενδοθηλίου και έμμεση ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, αλλά και με άμεση ενεργοποίησή τους, με αποτέλεσμα αύξηση του μέσου όγκου τους (MPV) και πιθανώς ετερογένεια μεγέθους του πληθυσμού τους και αύξηση του εύρους κατανομής τους (PDW). Γνωρίζοντας ότι ο καλύτερος δείκτης ομοιόστασης της γλυκόζης είναι η γλυκιωμένη αιμοσφαιρίνη (HbA1c). **Σκοπός** της παρούσας αναδρομικής μελέτης ήταν να διερευνηθεί η σχέση της με το RDW και το MPV.

Υλικό-Μέθοδος: Μελετήθηκαν 1848 τυχαία άτομα, στα οποία τον τελευταίο χρόνο είχε μετρηθεί την ίδια ημέρα η HbA1c και το RDW-SD και PDW στη “γενική αίματος”. Εξαίρεθηκαν τα δείγματα που ο αναλυτής είχε δώσει μήνυμα “σωροί αιμοπεταλίων” και αυτά στα οποία υπήρχε παρεμβολή μικρών ερυθροκυττάρων ή γιγάντιων αιμοπεταλίων στη μέτρηση των αιμοπεταλίων και ερυθροκυττάρων αντίστοιχα. Τα άτομα χωρίστηκαν σε τρεις ομάδες: Α: με φυσιολογική ομοιόσταση γλυκόζης (HbA1c<5,7%), Β: με προδιαβήτη (HbA1c:5,7–6,4%), Γ: με διαβήτη (HbA1c≥6.5%). Με το SPSS22 έγινε συσχέτιση, στο σύνολο των δειγμάτων, του RDW-SD και PDW με την HbA1c με το Pearson Correlation test, έγινε το τεστ κανονικότητας των τριών ομάδων, προσδιορίστηκαν οι διάμεσοι αυτών και ακολούθησε σύγκρισή τους με το Mann-Whitney test. Ως στατιστικά σημαντικό θεωρήθηκε $p<0,05$.

Αποτελέσματα: Από τα 1848 δείγματα στα 92 υπήρχε παρεμβολή. Στα υπόλοιπα 1756, το RDW-CV δεν βρέθηκε να σχετίζεται με την HbA1c ($r=-0,024$, $p=0,313$) αλλά βρέθηκε συσχέτιση του PDW με την HbA1c ($r=0,027$ $p=0,019$). Κατά τη σύγκριση των τιμών των RDW-SD και PWD μεταξύ των τριών ομάδων, βρέθηκε: στατιστικά σημαντική αύξηση από την Α προς τη Γ ομάδα του RDW-SD (Α-Β και Α-Γ: $p<0,001$, Β-Γ: $p=0,005$)).

Συμπεράσματα: Η σταδιακή αύξηση του RDW και PDW από την ομάδα με φυσιολογική ομοιόσταση γλυκόζης, στον προδιαβήτη και διαβήτη, καταδεικνύει τη σοβαρή βλάβη που προκαλεί η γλυκόζη στα κύτταρα. Καθώς το RDW και το PDW είναι απλοί και εύχρηστοι παράμετροι, μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως βιοδείκτες παρακολούθησης των βλαβών που προκαλεί ο σακχαρώδης διαβήτης σε κυτταρικό και ιστικό επίπεδο.

**Φ. Ψαράκης¹, Κ. Παππά², Μ. Ιωάννου³, Α. Μπιλάλης⁴, Μ. Κοκονοζάκη⁵, Ρ. Βυζουκάκη⁶,
Ζ. Θεοδοσιάκη⁷, Α. Αλεγκάκης⁸, Μ. Αλεξανδράκης⁶**

¹ Κλινική Χειρουργικής Ογκολογίας, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Ηρακλείου, Ηράκλειο, Κρήτη

² Τμήμα Επειγόντων Περιστατικών, Γενικό Νοσοκομείο Ηρακλείου «Βενιζέλειο», Ηράκλειο, Κρήτη

³ Εργαστήριο Μοριακής Αιμοποίησης, Ινστιτούτο Μοριακής Βιολογίας και Βιοτεχνολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Κρήτης, Ηράκλειο, Κρήτη

⁴ Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

⁵ Αιματολογικό Εργαστήριο, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Ηρακλείου, Ηράκλειο, Κρήτη

⁶ Αιματολογικό Εργαστήριο, Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών «Ο Ευαγγελισμός - Οφθαλμιατρείο Αθηνών - Πολυκλινική», Αθήνα

⁷ Ηράκλειο, Κρήτη

⁸ Εργαστήριο Βιοστατιστικής, Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης, Ηράκλειο, Κρήτη

Σκοπός: Ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός και η αγγειογένεση είναι σημαντικοί για την ανάπτυξη και τη μετάσταση διαφόρων τύπων συμπαγών όγκων, συμπεριλαμβανομένων και των λεμφωμάτων του πεπτικού¹. Σ' αυτή την μελέτη εκτιμήθηκε η σχέση μεταξύ των δεικτών αγγειογένεσης CD31 και κυτταρικού πολλαπλασιασμού Ki-67 καθώς και των αιματολογικών βιοδεικτών LDH, β2-μικροσφαιρίνης και CRP σε ασθενείς με μη Hodgkin B λέμφωμα του γαστρεντερικού συστήματος, κατά την διάγνωση ώστε να καθορισθεί αν θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες δραστηριότητας νόσου.^{2, 3}

Υλικό και Μέθοδος: Το προς μελέτη υλικό περιλάμβανε δείγματα ιστού, από το πεπτικό. Μελετήθηκαν 43 ασθενείς, οι 22 ασθενείς (51,2%) του δείγματος ανήκουν στην Ομάδα Α με λέμφωμα Β κυτταρικής αρχής χαμηλής κακοήθειας MALT και οι υπόλοιποι 21 (48,8%) στην Ομάδα Β, με Λέμφωμα Β κυτταρικής αρχής υψηλής κακοήθειας. Στην Ομάδα Α είχαμε Άνδρες 15 (62,5%), Γυναίκες 7 (36,8%) και στην Ομάδα Β Άνδρες 9 (37,5%), και Γυναίκες 12 (63,2%) Δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά στην κατανομή κατά φύλο ($p=0,095$). Η ηλικία των συμμετεχόντων ήταν $64,2 \pm 13,8$ (ομάδα Α) και $64,4 \pm 16,1$ (Ομάδα Β) με $p=0,973$.

Αποτελέσματα: Το 39,3% των ασθενών της ομάδας Α (11 άτομα) δεν ζεί, ενώ το αντίστοιχο ποσοστό της ομάδας Β είναι 60,7% (17 άτομα ($p=0,033$)). Μεταξύ των δύο μελετώμενων ομάδων παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις μεταβλητές ($p<0,001$), δηλαδή χαμηλός δείκτης κυτταρικού πολλαπλασιασμού και μικροαγγειακής πυκνότητα για τα MALT λεμφώματα και υψηλός δείκτης κυτταρικού πολλαπλασιασμού και δείκτης μικροαγγειακής πυκνότητας για λεμφώματα υψηλής κακοήθειας. Η μέτρηση των παραγόντων Ki-67 και CD31 έγινε με τεχνικές ανοσοϊστοχημείας. Τα επίπεδα της CRP, LDH, και β2-μικροσφαιρίνη είχαν σημαντικά αυξηθεί σε ασθενείς με NHL χαμηλής και υψηλής κακοήθειας ($p = 0,009$ και $p = 0,015$, αντίστοιχα). Όλοι οι μετρούμενοι παράμετροι εκφραστήκαν σαν μέση τιμή και σταθερή απόκριση. Στις μη παραμετρικές μετρήσεις χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος Kruskal Wallis ή ANOVA προκειμένου να εκτιμηθούν διαφορές μεταξύ των δυο ομάδων. Οι συσχετίσεις μετρήθηκαν με συντελεστή συσχέτισης Spearman.

Συμπεράσματα: Είμαστε της άποψης ότι οι παράμετροι αγγειογένεσης CD31 και κυτταρικού πολλαπλασιασμού Ki-67 καθώς και οι αιματολογικοί βιοδείκτες LDH, β2-μικροσφαιρίνη και CRP, μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες δραστηριότητας νόσου σε ασθενείς με non-Hodgkin B λέμφωμα του πεπτικού συστήματος.

Βιβλιογραφία

1. Friedman, A.S., Friedberg, J.W., Aster J.C. (2015) Clinical Presentation and diagnosis of non-Hodgkin's lymphoma. Up To Date, Lister A., Connor R.F. editors, Wolters Kluwer, USA (www.uptodate.com).
2. Minna Taskinen^{ab} Esajantunen^c et al Impact of CD31-positive microvessel density in follicular lymphoma patients treated with immunochemotherapy [Volume 46, Issue 13](#), September 2010, Pages 2506-2512 [European Journal of Cancer](#)
3. Pavlidis A.N, Kalef-ezra J, Bourantas L.C, Lambrou A, Mavroudis A. Serum tumor markers in non-Hodgkin's lymphomas and chronic lymphocytic leukemia. The International Journal of Biological Markers 1993; 1: 14-20.
4. Child JA, Spati B, Illingworth S, Barnard D, Corbett S, Simmons AV, Stone J, Worthy TS, Cooper EH. Serum beta-2-microglobulin and C-reactive protein in the monitoring of lymphomas. Cancer 1980; 45: 318-26.
5. Litam P, Swan F, Cabanillas F, Tucker SL, McLaughlin P, Hagemeister FB, Rodriguez MA, Velasquez WZ. Prognostic value of serum s-2 microglobulin in low-grade lymphoma. Ann Int Med 1991; 114: 855-60.

ΑΑ03

ΣΥΝΔΡΟΜΟ KLIPPEL-TRENAUNAY-WEBBER: ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΟΥ

Μ. Σταμούλη¹, Σ. Κουγιουμτζίδου¹, Α. Μουρτζίκου², Χ. Νικολέρη¹, Χ. Πολέμικος¹,
Ε. Κωνσταντάκης¹

¹ Εργαστήριο Βιοπαθολογίας, Βιοχημικό Τμήμα, Ναυτικό Νοσοκομείο Αθηνών, Αθήνα

² Βιοχημικό Τμήμα, Γενικό Νοσοκομείο Δυτικής Αττικής «Η Αγία Βαρβάρα», Αθήνα

Σκοπός: Το σύνδρομο Klippel-Trenaunay-Webber (KTWS) είναι μία σπάνια διαταραχή, γενετικής αιτιολογίας, που υπάγεται στην κατηγορία των φακωμάτων. Ο εκτιμώμενος επιπολασμός είναι 1 κρούσμα/100.000 ανθρώπους παγκοσμίως. Οι ασθενείς που πάσχουν από το σύνδρομο παρουσιάζουν ασύμμετρη υπερτροφία των κάτω άκρων, δερματικό τριχοειδικό σπίλο, κίρσοι φλέβες και αγγειακές ανωμαλίες. Σκοπός της εργασίας είναι η παρουσίαση ενός περιστατικού με KTWS.

Υλικά και Μέθοδοι: Γυναίκα ηλικίας 20 ετών παρουσιάστηκε στο εργαστήριο μας, για τον συνήθη εργαστηριακό έλεγχο στα πλαίσια της παρακολούθησης για την πάθηση της. Διενεργήθηκαν βιοχημικές και αιματολογικές εξετάσεις, έλεγχος πηκτικότητας, ηλεκτροφόρηση πρωτεϊνών και ανοσοκαθήλωση, καθώς και έλεγχος αυτοαντισωμάτων.

Αποτελέσματα: Τα αποτελέσματα συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα:

ΓΕΝΙΚΑ ΑΝΑΤΕ	Wt	55.4	ΣΥΣΤΟΛΟ ΔΙΑΣΤΟΛΗ	BP	115/7	ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ	ΓΛΥΚΟΖΗ	118.8	ΛΙΠΙΔΙΑ	ΟΛΙΚΗ ΧΟΛΕΣΤΕΡΟΛΗ	188.8
	Hb	11.7		APTT	44.8		CHOL	22.7		ΑΣΤΕΡΟΧΟΛΕΣΤΕΡΟΛΗ	158.8
	HbC	3.4		TRIGLYCEROL	88.8		CHOL-EST	4.8		CHOL-EST	4.8
	HbCV	94.6		LDL-C	33.2		CHOL-EST-AM	175.9		CHOL-EST	175.9
	HbH	30.8		LDL-C	1.1		CHOL-EST-AM	77.8		CHOL-EST	77.8
	HbHb	37.8		LDL-C			CHOL-EST-AM	75.1		CHOL-EST	75.1
	HbHb	37.8		LDL-C			CHOL-EST-AM	75.1		CHOL-EST	75.1
	HbHb	37.8		LDL-C			CHOL-EST-AM	75.1		CHOL-EST	75.1
	HbHb	37.8		LDL-C			CHOL-EST-AM	75.1		CHOL-EST	75.1
	HbHb	37.8		LDL-C			CHOL-EST-AM	75.1		CHOL-EST	75.1
ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΑ	WBC	5.86	ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΑ	WBC	5.86	ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΑ	WBC	5.86	ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΑ	WBC	5.86
	RDW	13.7		RDW	13.7		RDW	13.7		RDW	13.7
	RDW	13.7		RDW	13.7		RDW	13.7		RDW	13.7
	RDW	13.7		RDW	13.7		RDW	13.7		RDW	13.7
	RDW	13.7		RDW	13.7		RDW	13.7		RDW	13.7
	RDW	13.7		RDW	13.7		RDW	13.7		RDW	13.7
	RDW	13.7		RDW	13.7		RDW	13.7		RDW	13.7
	RDW	13.7		RDW	13.7		RDW	13.7		RDW	13.7
	RDW	13.7		RDW	13.7		RDW	13.7		RDW	13.7
	RDW	13.7		RDW	13.7		RDW	13.7		RDW	13.7
	RDW	13.7		RDW	13.7		RDW	13.7		RDW	13.7

Συμπεράσματα: Το σύνδρομο KTWS οφείλεται σε χρωμοσωμική μετατόπιση t(8;14)(q22.3;q13). Δεν έχει καταγραφεί συσχέτιση με το φύλο, ούτε κάποια γεωγραφική κατανομή. Σύμφωνα με τις μελέτες του Timur και των συνεργατών του, στο σύνδρομο KTWS διάφορες μεταλλάξεις αναστέλλουν τη δραστηριότητα του γονιδίου AGGF1, το οποίο κωδικοποιεί έναν δυνητικά αγγειογενετικό παράγοντα, με αποτέλεσμα την αυξημένη αγγειογένεση. Οι αυξημένες τιμές CRP και φερριτίνης σχετίζονται με τη χρόνια φλεγμονή λόγω της νόσου, ενώ οι αυξημένες τιμές ινωδογόνου και δ-διμερών συνδέονται με τον αυξημένο κίνδυνο θρομβοφλεβίτιδας, φλεβικής θρόμβωσης και πνευμονικής εμβολής.

Γ. Νταλιάρδα, Ι.Λίλης, Μ. Σπέλλα, Γ. Θ. Σταθόπουλος

*Εργαστήριο Μοριακής Καρκινογένεσης Αναπνευστικού, Τομέας Φυσιολογίας, Τμήμα Ιατρικής,
Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα*

Το αδενοκαρκίνωμα είναι ο πιο κοινός τύπος καρκίνου του πνεύμονα και αποτελεί τη συχνότερη αιτία θνητότητας από καρκίνο παγκοσμίως. Επιδημιολογικές μελέτες υποδεικνύουν αυξημένο κίνδυνο αδενοκαρκινώματος πνεύμονα σε άτομα με χρόνια φλεγμονή που σχετίζεται με το κάπνισμα, η οποία γίνεται κλινικά εμφανής ως χρόνια απόφραξη. Είναι γενικά αποδεκτό ότι η φλεγμονή μεταβάλλει το μικροπεριβάλλον των μεταλλαγμένων επιθηλιακών κυττάρων, προωθώντας την επιβίωση και την ανάπτυξη τους. Το μικροπεριβάλλον του όγκου είναι σύνθετο και εκτός των καρκινικών κυττάρων περιλαμβάνει μια πληθώρα κυττάρων του ξενιστή όπως ενδοθηλιακά κύτταρα, ινοβλάστες, λεμφοειδή αλλά και μυελοειδή κύτταρα. Τα μακροφάγα είναι μυελοειδή κύτταρα που όπως και άλλα κύτταρα του ανοσοποιητικού, διηθούν ένα μεγάλο φάσμα όγκων. Παρόλα αυτά η τύχη και η λειτουργία των κυττάρων αυτών στο αδενοκαρκίνωμα του πνεύμονα δεν έχει διαλευκανθεί. Στόχος μας είναι να διερευνήσουμε τον ρόλο των μακροφάγων κατά τη διάρκεια ανάπτυξης του αδενοκαρκινώματος πνεύμονα από την επαγωγή του έως το στάδιο της μετάστασης. Χρησιμοποιήσαμε ζωικά πρότυπα πρώιμης επαγωγής αδενοκαρκινώματος αλλά και *in vivo* μοντέλα ανάπτυξης και διασποράς της νόσου τελικού σταδίου. Τα προαναφερθέντα μοντέλα συνδυάστηκαν με γενετικά τροποποιημένα ζωικά πρότυπα απαλοιφής και εντοπισμού των μακροφάγων με σκοπό να μελετηθεί η φυσική ιστορία της στρατολόγησης των κυττάρων αυτών στους όγκους καθώς και η αλληλεπίδραση τους με τα καρκινικά κύτταρα σε διαφορετικά στάδια της νόσου. Τα αποτελέσματά μας υποδεικνύουν ότι τα μακροφάγα επιστρατεύονται ενεργά στους όγκους των πνευμόνων και επάγουν τόσο την καρκινογένεση στο αναπνευστικό επίθλιο όπως επίσης και τη διασπορά των καρκινικών κυττάρων στην νόσο τελικού σταδίου.

ΑΑ05

ΙΧΝΗΛΑΣΙΜΟΤΗΤΑ ΣΤΗΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΙΑΤΡΙΚΗ: ΤΟ ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΔΙΚΤΥΟ TRACELABMED

**Χ. Αλεξόπουλος, Α. Γεωργοπούλου, Π. Γιαννικοπούλου, Η. Κακουλίδης, Ε. Σταθουδάκη,
Β. Σχοινά**

*Εργαστήριο Χημικής Μετρολογίας (ΕΧΗΜ/ΓΧΚ-ΕΙΜ) Χημική Υπηρεσία Μετρολογίας, Γενικό Χημείο του
Κράτους, Αθήνα*

Η εξασφάλιση ιχνηλασιμότητας στις χημικές μετρήσεις αποτελεί στοιχειώδη προϋπόθεση για την παροχή αξιόπιστων και συγκρίσιμων αναλυτικών αποτελεσμάτων και εργαστηριακών δεδομένων ανεξάρτητα από τη μέθοδο μέτρησης, το χρόνο και το χώρο που χρησιμοποιούνται για τη συλλογή και την καταγραφή τους. Ιδιαίτερα στο χώρο της υγείας, η απαίτηση για ιχνηλασιμότητα είναι θεμελιώδης, καθώς αφορά στην ποιότητα των πληροφοριών που παράγονται από τις κλινικές μετρήσεις. Στα πλαίσια αυτά, η ψήφιση της Οδηγίας που αφορά στις *in-vitro* διαγνωστικές συσκευές θέτει συγκεκριμένες απαιτήσεις όσον αφορά στην ιχνηλασιμότητα των μετρήσεων σε μεθόδους αναφοράς ανώτατης μετρολογικής ποιότητας. Η παρούσα εργασία αναφέρεται στη θέσπιση του ευρωπαϊκού δικτύου μετρολογίας στην εργαστηριακή ιατρική. Κύριος στόχος του δικτύου είναι η δημιουργία βιώσιμων δομών που θα προωθήσουν την ανάπτυξη της μετρολογίας στην Ευρώπη και θα παρέχουν μετρολογική ιχνηλασιμότητα σε *in vitro* διαγνωστικά (IVDs) και σχετικές υπηρεσίες στους ενδιαφερόμενους φορείς.

Λέξεις-Κλειδιά: συγκρίσεις-κλειδιά, εργαστηριακή ιατρική, ιχνηλασιμότητα, ευρωπαϊκά μετρολογικά δίκτυα.

ΕΠΑΛΗΘΕΥΣΗ ΜΕΘΟΔΟΥ ΚΑΙ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΟΥ ΝΕΟΥ ΒΙΟΔΕΙΚΤΗ HE4 (HUMAN EPIDYDIMIS PROTEIN 4) ΓΙΑ ΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΩΝ ΩΟΘΗΚΩΝ

Ε. Λύτη¹, Π. Παναγόπουλος², Π. Μουτσάτσου-Λαδικού¹, Σ. Καλανταρίδου², Γ. Βρυώνη³,
Χ. Κρούπης¹

¹ Εργαστήριο Κλινικής Βιοχημείας, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο «Αττικών», Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

² Γ' Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο «Αττικών», Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

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

Εισαγωγή: Η ανθρώπινη πρωτεΐνη επιδυμίδας 4 (HE4) αποτελεί ένα καινοτόμο βιοδείκτη για τον επιθηλιακό καρκίνο των ωοθηκών. Η μέτρηση του σε συνδυασμό με το CA125 στον αλγόριθμο ROMA εγκρίθηκε από το FDA για να προσδιοριστεί η πιθανότητα εύρεσης κακοήθειας σε χειρουργική επέμβαση σε γυναίκες που βρίσκονται πριν ή μετά την εμμηνόπαυση με παρουσία ωοθηκικής μάζας.

Σκοπός: Η αναλυτική επαλήθευση της μεθόδου CMIA για το HE4 (Abbott) στον ανοσοχημικό αναλυτή Architect i2000SR. Παράλληλα έγινε και αντίστοιχη επαλήθευση για τον καθιερωμένο δείκτη CA125 στον ίδιο αναλυτή και ελέγχθηκαν αναδρομικά αποτελέσματα ασθενών του Νοσοκομείου (2013-19) στο LIS.

Υλικά-Μέθοδοι Για τις παραμέτρους HE4/CA125 ελέγχθηκαν η πιστότητα (επαναληψιμότητα/αναπαραγωγιμότητα), η ορθότητα με controls και INSTAND διεργαστηριακό σχήμα και το όριο ανίχνευσης. Επιπρόσθετα, έλαβε χώρα σύγκριση μεθόδου με ELISA kit HE4 EIA-(CanAg) και για το CA125, με ανάλογη μεθοδολογία στο COBAS 8000 (Roche). Χρησιμοποιήθηκαν τα στατιστικά προγράμματα SPSS και Method Validator.

Αποτελέσματα Η αναπαραγωγιμότητα (%CV) για τους δύο βιοδείκτες HE4 και CA125 σε controls τριών επιπέδων ελέγχθηκε στις ίδιες εργαστηριακές συνθήκες και χρονικό διάστημα και ήταν για το (L)-4,38(M)-3,71 (H). Το μέσο %bias για το HE4 ήταν -12,61% και για το CA125 -2,56%. Τα όρια ανίχνευσης που δηλώνει ο κατασκευαστής επαληθεύτηκαν. Στη σύγκριση μεθόδων για το & intercept -0,648 (95%CI.: -8,301-7,118), $r=0,987$. Για το CA125 ($n=238$), η κλίση στην ανάλυση Passing-Pablok ήταν 1,052 (95%CI.:1,002-1,100) & intercept -1,54 (-2,13 έως -0,92), $r=0,993$. Η συσχέτιση των δύο βιοδεικτών ($n=321$) κατέδειξε στατιστική σημαντικότητα τόσο ποσοτικά ($r=0,441$ & $p<0,001$, $HE4=0,44*CA125+88,53$) όσο και ποιοτικά ($\chi^2<0,001$). Υπήρχε ωστόσο ασυμφωνία στο 21% των αποτελεσμάτων. Ανιχνεύθηκε συσχέτιση μεταξύ του HE4 και της ηλικίας ($\rho=0,311$, $p<0,001$, $HE4=1,39*[Ηλικία]-8,97$) και της τιμής κρεατινίνης ($\rho=0,317$, $p<0,001$, $HE4=20,18*[κρεατινίνη]+56,06$). Αντίστοιχη μελέτη πραγματοποιήθηκε για το CA125, και δεν εντοπίστηκε συσχέτιση.

Συμπεράσματα Από την αναλυτική επαλήθευση, φαίνεται πως απαιτείται μείωση του ολικού σφάλματος του αντιδραστηρίου HE4. Χρήζουν περαιτέρω κλινικής διερεύνησης τα περιστατικά όπου υπάρχει αναντιστοιχία μεταξύ των δύο βιοδεικτών. Η επίπτωση της ηλικίας και της νεφρικής λειτουργίας πρέπει να ληφθούν υπόψη μελλοντικά στη διαμόρφωση τιμών αναφοράς του HE4, ώστε να αυξηθεί η κλινική χρησιμότητα του βιοδείκτη.

Α. Μουρτζίκου¹, Μ. Σταμούλη², Ζ. Αθανασιάδου³, Π. Καρκαλούσος⁴, Μ. Τσεσμελή²

¹ Βιοχημικό Τμήμα, Γενικό Νοσοκομείο Δυτικής Αττικής «Η Αγία Βαρβάρα», Αθήνα

² Εργαστήριο Βιοπαθολογίας, Βιοχημικό Τμήμα, Ναυτικό Νοσοκομείο Αθηνών, Αθήνα

³ Εργαστήριο Βιοχημείας, Γενικό Νοσοκομείο Θεσσαλονίκης «Ιπποκράτειο», Θεσσαλονίκη

⁴ Τμήμα Ιατρικών Εργαστηρίων, Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής, Αθήνα

Σκοπός: Η ποσοτικοποίηση των επιδόσεων του εργαστηρίου και η υλοποίηση των στόχων του μπορούν να επιτευχθούν με τη χρήση δεικτών ποιότητας. Οι δείκτες προκύπτουν από πρωτογενή στοιχεία μετά από στατιστική επεξεργασία. Στην παρούσα εργασία έγινε εκτίμηση ορισμένων δεικτών που αφορούν στις επιδόσεις βιοχημικού εργαστηρίου. Όλοι οι δείκτες που παρουσιάζονται αφορούν στο προ-αναλυτικό στάδιο, στο οποίο συμμετέχουν και άτομα εκτός από το προσωπικό του εργαστηρίου.

Υλικά και Μέθοδοι: Η μέτρηση των δεικτών αφορά χρονικό διάστημα ενός έτους. Τα DPMO και Sigma Metrics υπολογίστηκαν με την εφαρμογή <http://www.westgard.com/six-sigma-calculators.htm>.

Αποτελέσματα: Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα

ΔΕΙΚΤΗΣ	N	ΕΥΡΟΛΟ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ	DPMO	SIGMA METRICS	ΠΙΘΑΝΑ ΑΙΤΙΑ
ΑΙΜΟΛΥΜΕΝΟ ΔΕΙΓΜΑ	705	75.384	30612	3,9	ΕΝ ΥΠΟ ΑΙΤΙΑ, ΧΕΙΡΙΣΜΟΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΑΙΜΟΛΥΜΕΝΙΑ, ΣΤΟΡΝΗ ΑΝΑΔΕΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ, ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ ΤΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ
ΑΠΛΗΡΕΣ ΔΕΙΓΜΑ	45	75.384	597	4,8	ΑΚΑΤΑΛΛΑΗΛΗ ΠΡΟΣΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΟΥ ΑΙΘΕΡΟΣ
ΑΚΑΤΑΛΛΗΛΟ ΔΕΙΓΜΑ	153	75.384	2030	4,4	ΑΚΑΤΑΛΛΑΗΛΗ ΠΡΟΣΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΟΥ ΑΙΘΕΡΟΣ, ΛΗΨΗ ΦΑΡΜΑΚΟΥ, ΣΕΛΑΦΑΦΙΔΟΥ ΚΥΛ, ΑΣΦΑΛΗΝΙΑ ΑΠΟ ΦΛΕΒΑ ΜΕ ΣΥΣΚΕΥΗ ΕΚΤΟΣΕ ΟΡΟΥ, ΑΚΑΤΑΛΛΑΗΛΟ ΦΙΛΙΣΙΣ
ΛΑΡΩΔΑΙΜΕΝΟ ΑΙΤΗΜΑ ΣΕ ΔΕΙΓΜΑ ΟΡΟΥ	149	75.384	3977	4,4	ΛΑΘΟΣ ΚΑΤΑΚΟΡΚΗΝ ΣΤΟ LIS ΛΟΓΟ ΕΛΛΕΙΠΟΥΣ ΕΚΤΑΜΕΥΣΗΣ, ΦΟΡΤΙΟΥ ΕΡΓΑΣΙΑΣ, ΕΚΠΙΣΤΗΣ
ΛΑΡΩΔΑΙΜΕΝΟ ΑΙΤΗΜΑ ΣΕ ΔΕΙΓΜΑ ΟΥΡΩΝ 24h	9	1.099	8990	4,2	ΛΑΘΟΣ ΚΑΤΑΚΟΡΚΗΝ ΣΤΟ LIS ΛΟΓΟ ΕΛΛΕΙΠΟΥΣ ΕΚΤΑΜΕΥΣΗΣ, ΦΟΡΤΙΟΥ ΕΡΓΑΣΙΑΣ, ΕΚΠΙΣΤΗΣ
ΑΠΕΠΑΡΚΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ	470	75.384	6235	4	ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΡΑΒΙΣΩΝ, ΝΕΟΓΝΟΝ, ΟΓΚΟΝΟΠΙΣΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ ΚΑΙ ΑΤΟΜΩΝ ΜΕ ΔΥΣΚΟΛΙΑ ΣΤΗΝ ΑΙΜΟΛΥΜΕΝΙΑ
ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΤΕΠ ΜΕ ΠΑΡΑΤΕΤΑΜΕΝΟ ΤΑΤ	25	428	38612	3,1	ΚΑΘΥΣΤΕΡΩΣΗ ΛΟΓΟ ΜΕΛΕΤΩΣ ΦΟΡΤΙΟΥ ΕΡΓΑΣΙΑΣ Η ΒΛΑΒΗΣ
ΑΠΟΛΕΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ	60	75.384	786	4,7	ΘΡΑΚΗ ΚΑΤΑ ΤΗ ΦΟΙΤΟΚΕΝΤΡΙΚΗ, ΑΠΟΛΕΙΑ ΚΑΤΑ ΤΗ ΜΕΤΑΦΟΡΑ, ΑΡΝΗΣΗ ΤΗΣ ΑΙΜΟΛΥΜΕΝΙΑΣ ΑΠΟ ΤΟΝ ΑΣΘΕΝΗ

Συμπεράσματα: το επίπεδο ποιότητας σίγμα είναι ικανοποιητικό, αλλά απέχει από τη βέλτιστη τιμή 6.0, επομένως όλοι οι δείκτες μπορούν να βελτιωθούν περαιτέρω. Οι δείκτες με τη χειρότερη επίδοση είναι το « δείγμα ΤΕΠ με παρατεταμένο χρόνο ΤΑΤ » και το « αιμολυμένο δείγμα », που μπορεί να οφείλονται σε διάφορα αίτια. Μέσω μελέτης FMEA έχει γίνει ανάλυση όλων των πιθανών αιτιών και εφαρμογή διορθωτικών ενεργειών, και αναμένεται εκ νέου εκτίμηση των δεικτών. Οι δείκτες ποιότητας πρέπει να είναι μετρήσιμοι, αντικειμενικοί, αξιόπιστοι, ευαίσθητοι, ειδικοί για τη διαδικασία που έχουμε επιλέξει και αποτελεσματικοί ως προς την επίτευξη των στόχων που έχουν τεθεί. Επιπλέον, πρέπει να επικαιροποιούνται σε τακτά χρονικά διαστήματα, ώστε οι στόχοι που αντιπροσωπεύουν να είναι ρεαλιστικοί.

Θ. Δημολένης, Ι. Βλάχου, Χ. Καλογερά, Χ. Τζάλλας, Γ. Χασιώτης, Ε. Μπαϊρακτάρη,
Γ. Κολιός

Βιοχημικό Εργαστήριο, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Ιωαννίνων, Ιωάννινα

Εισαγωγή: Η αιμόλυση αποτελεί την κύρια προαναλυτική αιτία απόρριψης ενός δείγματος και εμφανίζεται πέντε φορές πιο συχνά από τη δεύτερη αναφερόμενη αιτία, την ανεπαρκή ποσότητα δείγματος. Η αιμόλυση μπορεί να οφείλεται είτε σε κλινικά αίτια, είτε συνηθέστερα σε σφάλματα της διαδικασίας αιμοληψίας και μπορεί να αξιολογηθεί με βάση τη συγκέντρωση της ελεύθερης αιμοσφαιρίνης στον ορό ή το πλάσμα.

Σκοπός: Η διερεύνηση του αριθμού και της προέλευσης των αιμολυμένων δειγμάτων και η εκτίμηση της κλινικής σημασίας και του οικονομικού αντίκτυπου της αιμόλυσης.

Υλικά και Μέθοδοι: Μελετήθηκε αναδρομικά η επίδραση της αιμόλυσης, μετρούμενης ως LIH, στις κυριότερες βιοχημικές εξετάσεις, για περίοδο 18 μηνών (Ιανουαρίου 2018-Ιουνίου 2019, 237500 δείγματα), οι οποίες πραγματοποιήθηκαν σε βιοχημικούς αναλυτές της σειράς AU5800(Beckman Coulter). Χρησιμοποιήθηκαν τα δεδομένα του LIS(Πληροφορική Ελλάδος) του Εργαστηρίου, προκειμένου να προσδιοριστούν τα ποσοστά και η προέλευση των αιμολυμένων δειγμάτων, καθώς και η οικονομική επιβάρυνση που προκύπτει από την απόρριψη των εξετάσεων με βάση τους εφαρμοζόμενους κανόνες απόρριψης του εργαστηρίου (κοστολόγηση ΕΟΠΥΥ).

Αποτελέσματα: Στην παρούσα μελέτη και σε συμφωνία με την βιβλιογραφία, η αιμόλυση είχε κλινικά σημαντική επίδραση με βάση την τιμή RCV στις τιμές LDH, CK-MB, SGOT/AST, K και TBIL. Τα αιμολυμένα δείγματα (20954 δείγματα/8,67%) προέρχονται κυρίως από τον Παθολογικό Τομέα (30,26%) τα Εξωτερικά Ιατρεία (24,98%) και τα ΤΕΠ (21,29%). Η μεγαλύτερη αναλογία αιμολυμένων δειγμάτων σε σχέση με τα αποσταλμένα δείγματα προέρχεται από τον Παιδιατρικό Τομέα (15,12%) και στη συνέχεια τα ΤΕΠ (14,70%). Το κόστος απόρριψης των συγκεκριμένων εξετάσεων κυμαίνεται από 4,75€/δείγμα για H:1 έως 29,23€/δείγμα για H:5 και το συνολικό κόστος για την υπό εξέταση περίοδο σε 103481,54€.

Συμπεράσματα: Όπως προκύπτει από τη μελέτη, η αιμόλυση οδηγεί στην απόρριψη συγκεκριμένων εξετάσεων, επανασυλλογή των δειγμάτων, καθυστέρηση της διάγνωσης και σπατάλη πόρων που θα μπορούσαν να αποφευχθούν, με καλύτερη εκπαίδευση του προσωπικού που εμπλέκεται στις αιμοληψίες ή βελτίωση των συστημάτων αιμοληψίας (πχ κλειστά συστήματα αιμοληψιών).

Εξέταση	RCV (%)*	H:1 (0.50-0.99 g/l)	H:2 (1.00-1.99 g/l)	H:3 (2.00-2.99 g/l)	H:4 (3.00-5.00 g/l)	H:5 (>5.00 g/l)
LDH	21.3	A (Απόρριψη)	A	A	A	A
CK-MB	22.6		A	A	A	A
SGOT/AST	29.4			A	A	A
K	11.2			A	A	A
TBIL	51.9					A
ΣΥΝΟΛΙΚΟΙ ΑΡΙΘΜΟΙ ΑΠΟΡΡΙΦΘΕΝΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ, N=20580, (8,67%)		N=13114, (5,52%)	N=5382, (2,21%)	N=1236, (0,52%)	N=824, (0,35%)	N=24, (0,01%)
(*) RCV = $2^{1/2} \cdot Z \cdot [CV_A^2 + CV_I^2]^{1/2}$, όπου Z=1,65, CV _A : Η αναλυτική και CV _I : η ενδοασιατική διακύμανση της εξέτασης						

ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΟΥ ΜΕΤΡΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ SIGMA ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΑΝΑΛΥΤΙΚΗΣ ΑΠΟΔΟΣΗΣ ΒΙΟΧΗΜΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΣΕ ΑΥΤΟΜΑΤΟΥΣ ΑΝΑΛΥΤΕΣ ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ

Α. Τζωρτζόπουλος¹, Π. Μουτοπούλου²

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

² Βιοχημικό Εργαστήριο, Γενικό Νοσοκομείο Αγρινίου, Αγρίνιο

Το μετρικό σύστημα sigma αποτελεί ένα σύγχρονο εργαλείο ποιότητας των κλινικών εργαστηρίων το οποίο χρησιμοποιείται ως μέσο περιορισμού των αποκλίνουσων εργαστηριακών μετρήσεων, μείωσης της μεταβλητότητάς τους και βελτίωσης της ποιότητας των αναλυτικών διεργασιών συνολικά στο εργαστήριο. Η ανάλυση sigma συνδυάζει το συνολικό επιτρεπόμενο σφάλμα (Total allowable error, TEa), το συστηματικό σφάλμα (μεροληψία, bias) και την ακρίβεια (precision) δίνοντας μια τιμή που αποτελεί εργαλείο έκφρασης της ποιότητας μιας αναλυτικής διαδικασίας διαβαθμισμένης σε 6 επίπεδα, από 1-σ έως 6-σ.

Σκοπός: Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η αξιολόγηση της αναλυτικής και ποιοτικής απόδοσης δυο αυτόματων αναλυτών κλινικής χημείας σε 25 βιοχημικές παραμέτρους χρησιμοποιώντας μη αυθεντικά, εμπορικά διαθέσιμα αντιδραστήρια. Η αξιολόγηση της απόδοσης περιλάμβανε μετρήσεις ορθότητας (trueness), ακρίβειας (within run, within device/laboratory or total precision) και διενέργεια ανάλυσης sigma για όλες τις βιοχημικές παραμέτρους σε κάθε αναλυτή.

Υλικά και Μέθοδος: Η μελέτη πραγματοποιήθηκε στο βιοχημικό εργαστήριο του Γενικού Νοσοκομείου Αγρινίου χρησιμοποιώντας δυο αναλυτές κλινικής χημείας τύπου Siemens Advia 1800 (I και II), αναλώσιμα και αντιδραστήρια μη αυθεντικά της εταιρείας Medicon Hellas SA.

Αποτελέσματα:

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων ορθότητας που εκφράστηκε με το Bias% ήταν <20% για όλες τις βιοχημικές παραμέτρους και στους δυο αναλυτές ADVIA 1800.

Η ακρίβεια (Within run and total precision) εκφραζόμενη με το συντελεστή μεταβλητότητας (CV%) ήταν ≤9.85% και στους δυο αναλυτές για τις περισσότερες παραμέτρους με ορισμένες εξαιρέσεις (Mg, TB, DB, Cl, HDL and UA) που μελετήθηκαν και στα δυο επίπεδα (υψηλό και χαμηλό) συγκέντρωσης δειγμάτων και στους δυο βιοχημικούς αναλυτές.

Το μετρικό σύστημα sigma παρείχε κρίσιμες πληροφορίες για την ποιότητα της απόδοσης των αναλυτικών δοκιμών με τη χρήση των μη αυθεντικών αντιδραστηρίων για κάθε αναλυτή Advia 1800. Οι μετρούμενες τιμές sigma παρουσιάστηκαν σε ειδικά διαγράμματα (Method Decision Charts) δίνοντας μια ολοκληρωμένη εικόνα της ποιότητας των αναλύσεων.

Συμπεράσματα:

Οι δυο αναλυτές Advia 1800 παρουσίασαν συγκρίσιμους δείκτες αναλυτικής απόδοσης με εξαιρέσεις σε δοκιμές συγκεκριμένων μη αυθεντικών αντιδραστηρίων. Η μεθοδολογία sigma ήταν πολύ χρήσιμη για την ανάλυση του επιπέδου ποιότητας της αναλυτικής απόδοσης κάθε μη αυθεντικού αντιδραστηρίου υποστηρίζοντας την ανάγκη για εφαρμογή αυστηρού προγράμματος ελέγχου ποιότητας στο εργαστήριο και σε ορισμένες περιπτώσεις βελτιστοποίηση μεθόδων δοκιμών.

ΑΑ10

ΦΩΤΟΜΕΤΡΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΟΣΟΤΙΚΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΓΛΥΚΟΖΙΤΩΝ ΤΗΣ ΣΤΕΒΙΟΛΗΣ
ΣΕ ΕΜΠΟΡΙΚΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ

Ι. Ποτηριάδη, Γ. Ε. Τσότησου, Μ. Τράπαλη, Π. Καρκαλούσος

Εργαστήριο Χημείας, Βιοχημείας και Κοσμετολογίας, Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής, Αθήνα

Εισαγωγή: Γλυκαντικά βασιζόμενα σε στέβια κερδίζουν συνεχώς έδαφος στην προτίμηση του καταναλωτικού κοινού, καθώς δεν περιέχουν θερμίδες και είναι ασφαλή για κατανάλωση από διαβητικούς. Αποτελούνται κυρίως από δύο γλυκοζίτες τον stevioside (stev) και rebaudioside A (rebA). Η ανάλυση των πρώτων υλών στέβια βασίζεται σε ενόργανες τεχνικές που απαιτούν εξειδικευμένο εξοπλισμό και προσωπικό, με συνηθέστερη την HPLC, στην οποία δεν έχουν, συχνά, πρόσβαση μικρότερες βιομηχανικές μονάδες.

Σκοπός: Η εύρεση μιας απλής φωτομετρικής μεθόδου για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας των ολικών γλυκοζιτών στεβιόλης (TG) και του τύπου των γλυκοζιτών, κατά τον ποιοτικό έλεγχο εμπορικών προϊόντων.

Μέθοδος: Η μέθοδος βασίζεται στην υδρόλυση των γλυκοζιτών της στεβιόλης σε ισχυρά όξινο pH και υπό βρασμό, με απελευθέρωση γλυκόζης και στεβιόλης. Η παραγόμενη γλυκόζη προσδιορίζεται ποσοτικά με τη μέθοδο GOD/PAP, επιτρέποντας τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας των ολικών γλυκοζιτών στεβιόλης. Σε συνδυασμό με την καταβύθιση της αδιάλυτης στεβιόλης (άγλυκο τμήμα του μορίου) και τον ποσοτικό προσδιορισμό της τελευταίας βάσει της απορρόφησής της στο UV, η μέθοδος επιτρέπει τον προσδιορισμό του λόγου R [γλυκόζη]/[στεβιόλη] του δείγματος. Ο λόγος [γλυκόζη]/[στεβιόλη] βρέθηκε ενδεικτικός της σύστασης του δείγματος σε γλυκοζίτες της στεβιόλης.

Αποτελέσματα: Η μέθοδος επικυρώθηκε και εφαρμόστηκε με επιτυχία σε δείγματα, είτε πρώτων υλών είτε εμπορικών γλυκαντικών προϊόντων. Είναι απλή, ασφαλής και προσιτή, με ικανοποιητικά τεχνικά χαρακτηριστικά (επαναληψιμότητα, αναπαραγωγιμότητα, ακρίβεια, γραμμικότητα, όριο ποσοστοποίησης). Σημαντική συσχέτιση βρέθηκε μεταξύ της συνολικής περιεκτικότητας γλυκοζιτών στεβιόλης, όπως προσδιορίστηκαν με την προτεινόμενη μέθοδο και των αποτελεσμάτων του ποσοτικού προσδιορισμού αυτών με HPLC.

Συμπεράσματα: Η μέθοδος αποδείχθηκε ικανή να διακρίνει δείγματα γλυκαντικών που περιέχουν stev, σε διαφορετικά σχετικά ποσοστά, από αυτά που περιέχουν καθαρό rebA. Η προτεινόμενη μέθοδος αναμένεται να αποτελέσει ένα χρήσιμο εργαλείο για τον ποιοτικό έλεγχο πρώτων υλών που βασίζονται σε στέβια, σε βιομηχανικές μονάδες όπου η χρωματογραφική ανάλυση δεν είναι διαθέσιμη λόγω έλλειψης εξοπλισμού ή / και εξειδίκευσης.

**Μ. Τσιγαριδάκη¹, Ε. Φαρσαράκη¹, Σ. Πατιάκας², Α. Αθανασούλια², Κ. Παπουτσή³,
Φ. Αθουσάκη-Νεονάκη¹**

¹ Εργαστήριο Βιοχημείας, Γενικό Νοσοκομείο Ηρακλείου «Βενιζέλειο-Πανάνειο, Ηράκλειο, Κρήτη

² Μικροβιολογικό Εργαστήριο, Γενικό Νοσοκομείο Θεσσαλονίκης «Ο Άγιος Δημήτριος», Θεσσαλονίκη

³ Ιδιώτης Γιατρός

Εισαγωγή: Το βαλπροϊκό οξύ ανήκει σε μια ομάδα φαρμάκων που χορηγούνται για τη θεραπεία της επιληψίας (γενικευμένες τονικοκλονικές κρίσεις, τυπικές και άτυπες αφαιρέσεις καθώς και αφαιρέσεις με αυτοματισμό και εστιακές κρίσεις). Μεταξύ των κυριότερων δυνητικά σοβαρών αλλά σπάνιων παρενεργειών της λήψης του (σε εργαστηριακό επίπεδο) είναι η ηπατοξικότητα και η παγκρεατίτιδα. ΣΚΟΠΟΣ: Η μελέτη των επιπέδων του βαλπροϊκού οξέος και της αμυλάσης ορού σε ασθενείς που ελέγχθηκαν στο εργαστήριο μας για βαλπροϊκό οξύ.

Υλικό και Μέθοδος: Το υλικό μας ήταν δείγματα ορού από 105 ασθενείς. Η μέθοδος για το βαλπροϊκό οξύ είναι η Μικροσωματιδιακή Άνοσοεξέταση Χημειοφωταύγειας (CMIA) και για την αμυλάση ορού η φασματοφωτομετρία. Οι μετρήσεις έγιναν σε αναλυτές Architect .

Αποτελέσματα: Από τους 105 ασθενείς που μελετήθηκαν βρέθηκε μικρή αύξηση της αμυλάσης σε 14 ασθενείς , ποσοστό 14,7% οι οποίοι όμως νοσηλεύτηκαν στην ΜΕΘ για άλλους λόγους. Κανείς ασθενής δεν εμφάνισε παγκρεατίτιδα

Συμπεράσματα: Η θεραπευτική δόση που χρησιμοποιείται σε επιληπτικούς ασθενείς δεν προκαλεί αμυλασαιμία ικανή να προκαλέσει παγκρεατίτιδα, αν και αναφέρεται στη βιβλιογραφία ότι το βαλπροϊκό οξύ μπορεί να προκαλέσει παγκρεατίτιδα.

ΜΕΤΡΗΣΗ ΜΥΚΟΦΑΙΝΟΛΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΚΑΙ ΕΛΕΓΧΟΣ ΝΕΦΡΙΚΗΣ ΚΑΙ ΗΠΑΤΙΚΗΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΣΕ ΕΞΩΤΕΡΙΚΟΥΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΜΕΤΑΜΟΣΧΕΥΣΗ ΝΕΦΡΟΥ

Α. Γρηγοράτου, Α. Μελπίδου

Βιοχημικό Εργαστήριο, Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών «Ο Ευαγγελισμός - Οφθαλμιατρείο Αθηνών - Πολυκλινική», Αθήνα

Εισαγωγή: Το μυκοφαινολικό οξύ (Mycophenolate, MPA), ισχυρός αναστολέας του πολλαπλασιασμού των λεμφοκυττάρων, χρησιμοποιείται για την πρόληψη της οξείας απόρριψης αλλομοσχεύματος και τη θεραπεία ρευματοπαθειών. Στα ενεργοποιημένα λεμφοκύτταρα η ταχύτητα της de novo σύνθεσης πουρινών καθορίζεται από τη μετατροπή του IMP (Inosine Monophosphate) σε GMP (Guanosine Monophosphate), αντίδραση καταλυόμενη από την αφυδρογονάση του IMP (IMPDH-II), η οποία αναστέλλεται από το MPA. Η αναστολή της IMPDH-II αναστέλλει και τον πολλαπλασιασμό των λεμφοκυττάρων, γιατί ελέγχει την ενδοκυττάρια δεξαμενή νουκλεοτιδίων γουανίνης. Επίσης επάγει την απόπτωση των ενεργοποιημένων λεμφοκυττάρων. Το MPA συνδέεται με πρωτεΐνες (97%), ενώ δραστικό είναι μόνον το ελεύθερο κλάσμα του. Αποβάλλεται υπό μορφή αδρανούς μεταβολίτη (7-O-γλυκουρονίδιο, MPAG). Μεταβολή της νεφρικής λειτουργίας, των λευκωμάτων του ασθενούς ή του ρυθμού σχηματισμού του MPAG απαιτεί νέα ρύθμιση των χορηγούμενων δόσεων.

Σκοπός: Μέτρηση των επιπέδων του MPA και των βασικών παραμέτρων νεφρικής και ηπατικής λειτουργίας ασθενών με μεταμόσχευση νεφρού και τυχόν συσχέτιση με ανεπιθύμητες ενέργειες (γαστρεντερικές διαταραχές).

Υλικά και μέθοδοι: Μετρήθηκαν 93 δείγματα εξωτερικών ασθενών με μεταμόσχευση νεφρού (Ιανουάριος – Σεπτέμβριος 2017). Όλοι οι ασθενείς λάμβαναν παράλληλα αναστολείς καλσινευρίνης (κυκλοσπορίνη/tacrolimus) και προσήλθαν στο εργαστήριο για μέτρηση MPA λόγω γαστρεντερικών διαταραχών. Προσδιορίστηκαν τα επίπεδα MPA (συγκεντρώσεις «κατωφλίου», αναλυτής cobas c501), ουρίας, κρεατινίνης, SGOT, SGPT, γGT και αλκαλικής φωσφατάσης (ALP).

Αποτελέσματα: Στις τιμές του MPA που κυμαίνονται 0.2-23.0mg/L με μέσο όρο 3.51 mg/L, παρατηρείται μεγάλη ποικιλότητα, που δεν συσχετίζεται με τη βαρύτητα των γαστρεντερικών διαταραχών. Από τα 93 δείγματα τα 33 είχαν MPA<1.3mg/L, παρόλον ότι, σε ασθενείς με μεταμόσχευση νεφρού, μόνον τιμές MPA>1.3 /L με συγχρόνηση κυκλοσπορίνης και MPA>1.9mg/L με συγχρόνηση tacrolimus, σχετίζονται με μείωση της συχνότητας απόρριψης.

Το εύρος τιμών της ουρίας ήταν 38-128 mg/dl με μέσο όρο 74mg/dl και της κρεατινίνης αντίστοιχα 0.9-3.9mg/dl με μέσο όρο 1.87mg/dl. Παρατηρείται μία ελαφρά επιβάρυνση της νεφρικής λειτουργίας. Οι τιμές SGOT, SGPT, γGT και ALP ήταν εντός των τιμών αναφοράς.

Συμπεράσματα: Το μεγάλο εύρος των επιπέδων του MPA συμβαδίζει με τη σημαντική ποικιλότητα, που εμφανίζει η φαρμακοκινητική του στους μεταμοσχευμένους. Επειδή το θεραπευτικό παράθυρο του MPA δεν είναι πλήρως καθορισμένο, εξαρτάται μεταξύ άλλων από το είδος της μεταμόσχευσης, τα συγχρηγούμενα ανοσοκατασταλτικά, το χρόνο που παρήλθε από τη μεταμόσχευση, είναι σαφής η αναγκαιότητα παρακολούθησης των επιπέδων του, ώστε να ελαχιστοποιείται ο κίνδυνος απόρριψης του μοσχεύματος και οι ανεπιθύμητες ενέργειες του φαρμάκου.

ΑΑ13
ΥΠΟΚΑΛΙΑΙΜΙΑ ΚΑΙ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΛΙΘΙΟΥ

Μ. Τσιγαριδάκη¹, Ε. Φαρσαράκη¹, Σ. Πατιάκας², Α. Αθανασούλια², Κ. Παπουτσή³,
Φ. Αθουσάκη-Νεονάκη¹

¹ Εργαστήριο Βιοχημείας, Γενικό Νοσοκομείο Ηρακλείου «Βενιζέλειο-Πανάνειο, Ηράκλειο, Κρήτη

² Μικροβιολογικό Εργαστήριο, Γενικό Νοσοκομείο Θεσσαλονίκης «Ο Άγιος Δημήτριος», Θεσσαλονίκη

³ Ιδιώτης Γιατρός

Εισαγωγή: Τα άλατα Λιθίου χορηγούνται για τη θεραπεία της μανίας και για την προφύλαξη από υποτροπές της διπολικής και μονοπολικής διαταραχής (μανιακά και καταθλιπτικά επεισόδια). Στη διεθνή βιβλιογραφία αναφέρεται ότι η μακροχρόνια θεραπεία με άλατα Λιθίου είναι αιτία υποκαλιαιμίας (όπως και άλλα φάρμακα: νιφεδιπίνη, L-Dopa, διουρητικά, αντιβιοτικά κ.ά)

Σκοπός: Η μελέτη των διαταραχών του καλίου σε ασθενείς που λαμβάνουν Λίθιο θεραπευτικά.

Υλικό και Μέθοδοι: Το υλικό αποτέλεσαν δείγματα ορού από 15 ασθενείς με μακροχρόνια λήψη σκευασμάτων Λιθίου. Ο προσδιορισμός του Λιθίου έγινε με φασματοφωτομετρική μέθοδο και των ηλεκτρολυτών K⁺, Na⁺ με ISE (ιοντοεπιλεκτικά ηλεκτρόδια) σε αναλυτή Architect (το εργαστήριό μας μέχρι τέλος του 2016 αποτελούσε κέντρο αναφοράς για την Κρήτη στη μέτρηση του λιθίου), Φ.Τ. Λιθίου: 1,0-1,2 mmol/L (12 ώρες μετά τη χορήγηση της δόσης)

Αποτελέσματα και Συμπεράσματα: Υποκαλιαιμία δεν παρατηρήθηκε σε κανέναν ασθενή από τους 15 υπό μελέτη και στους οποίους τα επίπεδα Λιθίου ήταν εντός ορίων.

Η θεραπευτική δόση των αλάτων Λιθίου με επίπεδα στον ορό 0,6-1,2 mmol/L δεν προκαλεί υποκαλιαιμία.

ΑΑ14

ΤΑ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ ΕΝΙΣΧΥΟΥΝ ΤΗΝ ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΣΤΑ ΓΛΥΚΟΚΟΡΤΙΚΟΕΙΔΗ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΚΑΤΑΘΛΙΨΗ ΚΑΙ ΣΕ ΥΓΙΗ ΑΤΟΜΑ

Ε. Καραγλάνη¹, Π. Φερεντίνος², Κ. Τουρνικιώτη², Α. Τσαντές³, Α. Δουζένης²,
Π. Μουτσάτσου¹

¹ Εργαστήριο Κλινικής Βιοχημείας, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο «Αττικόν», Αθήνα

² Β΄ Ψυχιατρική Κλινική, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο «Αττικόν», Αθήνα

³ Εργαστήριο Αιμοδοσίας, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο «Αττικόν», Αθήνα

Σκοπός: Οι ασθενείς με κατάθλιψη εμφανίζουν διαταραχές στη δράση του υποδοχέα των γλυκοκορτικοειδών (GR) και αντίσταση στα γλυκοκορτικοειδή (GC). Πολλές μελέτες υποστηρίζουν ότι στην κατάθλιψη παρατηρείται αυξημένο οξειδωτικό στρες ενώ η χρήση αντιοξειδωτικών συνεισφέρει στην θεραπεία της κατάθλιψης. Εν τούτοις, ο ρόλος των αντιοξειδωτικών στο σηματοδοτικό μονοπάτι του υποδοχέα των γλυκοκορτικοειδών και στην αντίσταση στα γλυκοκορτικοειδή δεν έχει μελετηθεί. Σκοπός της παρούσης μελέτης ήταν η διερεύνηση του πιθανού ρόλου των αντιοξειδωτικών στην δράση του GR και στην αντίσταση στα γλυκοκορτικοειδή στην κατάθλιψη.

Υλικά-Μέθοδοι: Σε μονοπύρηνια κύτταρα περιφερικού αίματος (PBMCs) από εθελοντές αιμοδότες (20) και ασθενείς με κατάθλιψη (16) μετρήσαμε την ευαισθησία στα γλυκοκορτικοειδή α) μέσω προσδιορισμού της έκφρασης των γονιδίων στόχων του GR [*GILZ* (Glucocorticoid-Induced Leucine Zipper) και *FKBP5* (FK506 Binding Protein)] και β) μέσω προσδιορισμού της PHA (phytohemagglutinin)-επαγόμενης IL-6, απουσία και παρουσία δεξαμεθαζόνης (Dex) (10^{-7} M) υπό την επίδραση της αντιοξειδωτικής ένωσης α-τοκοτριενόλης (ATT) σε διάφορες συγκεντρώσεις (50, 100, 200 μM). Η ποσοτικοποίηση των επιπέδων mRNA των *GILZ* και *FKBP5* έγινε με Real-Time PCR και της IL-6 με ELISA. Το οξειδωτικό στρες εκτιμήθηκε με τον προσδιορισμό των επιπέδων της οξειδωμένης LDL (oxLDL) στο πλάσμα με ELISA.

Αποτελέσματα: Οι ασθενείς με κατάθλιψη εμφανίζουν μειωμένη έκφραση των γονιδίων *GILZ* και *FKBP5* και αυξημένα επίπεδα IL-6, τόσο στη βασική κατάσταση όσο και μετά την επίδραση με δεξαμεθαζόνη, σε σχέση με τους υγιείς. Η παρουσία ATT (50 και 100 μM) αύξησε σημαντικά την Dex-επαγόμενη έκφραση των γονιδίων *GILZ* και *FKBP5* και μείωσε τα επίπεδα της IL-6, με δοσοεξαρτώμενο τρόπο, τόσο στους υγιείς όσο και στους ασθενείς. Εν τούτοις, η ATT σε υψηλή συγκέντρωση (200 μM) μείωσε σημαντικά την έκφραση των γονιδίων *GILZ* και *FKBP5*. Οι ασθενείς εμφανίζουν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα oxLDL σε σχέση με τους υγιείς.

Συμπεράσματα: Τα ευρήματά μας υποστηρίζουν ότι οι ασθενείς με κατάθλιψη έχουν αντίσταση στα γλυκοκορτικοειδή και αυξημένο οξειδωτικό στρες, όπως αναμένεται. Τα αντιοξειδωτικά, σε ένα ορισμένο εύρος συγκεντρώσεων, βελτιώνουν την ευαισθησία στα γλυκοκορτικοειδή (μέσω ενίσχυσης της Dex-επαγόμενης έκφρασης των γονιδίων *GILZ* και *FKBP5* και μείωσης της IL-6) και σε αυτό το μονοπάτι μπορεί να οφείλεται, εν μέρει, η θεραπευτική δράση των αντιοξειδωτικών στην κατάθλιψη.

ΑΑ15
ΕΥΕΡΓΕΤΙΚΗ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΥΜΠΥΚΝΩΜΑΤΟΣ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΕΛΙΑΣ ΣΤΟ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟ
ΥΓΕΙΩΝ ΑΤΟΜΩΝ

Κ. Καλυβιανάκη¹, Σ. Κοινάκη², Ν. Μαλιαράκη³, Μ. Νινιράκη⁴, Ε. Μανολοπούλου⁵,
Α. Σπύρος⁵, Σ. Καργάκη⁶, Ε. Μούστου⁷, Μ. Τζαρδή⁷, Γ. Νότας¹, Χ. Λιονής², Η. Καστανάς^{1,4}, Μ. Καμπά^{1,4}

¹ Εργαστήριο Εργαστηριακής Ενδοκρινολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Κρήτης Ηράκλειο, Κρήτη

² Εργαστήριο Κλινικής, Κοινωνικής και Οικογενειακής Ιατρικής, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Κρήτης,
Ηράκλειο, Κρήτη

³ Εργαστήριο Κλινικής Χημείας, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Ηρακλαίου, Ηράκλειο, Κρήτη

⁴ Εργαστήριο Κλινικής Ανοσολογίας-Εργαστηριακής Ενδοκρινολογίας, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο
Ηρακλαίου, Ηράκλειο, Κρήτη

⁵ Εργαστήριο NMR, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης, Ηράκλειο, Ελλάδα

⁶ Εργαστήριο Περιβαλλοντικών Χημικών Διεργασιών, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης, Ηράκλειο,
Κρήτη

⁷ Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Κρήτης, Ηράκλειο, Κρήτη

Σκοπός: Η συνύπαρξη μεταβολικών διαταραχών όπως δυσλιπιδαιμία και δυσανεξία στη γλυκόζη, σε συνδυασμό με παχυσαρκία και αυξημένη αρτηριακή πίεση χαρακτηρίζουν το λεγόμενο Μεταβολικό Σύνδρομο (ΜΣ), μία προ-φλεγμονώδη, προ-θρομβωτική κατάσταση που οδηγεί σε αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου, σακχαρώδη διαβήτη και πρόωρου θανάτου. Πρωταρχικός στόχος των συστημάτων υγείας είναι η πρώιμη διάγνωση του συνδρόμου και η βελτίωση του σωματικού βάρους και των μεταβολικών του παραμέτρων (λιπίδια, γλυκόζη) είτε με τροποποίηση των διατροφικών συνηθειών ή/και φαρμακευτικά (με μεγάλο ετήσιο κόστος), αποσκοπώντας στην ομαλοποίηση του μεταβολισμού. Έτσι, εναλλακτικές θεραπείες, για την αντιμετώπιση του ΜΣ και των παρενεργειών του αποτελούν πρωταρχικό στόχο, τόσο για την υγεία των ασθενών, όσο και για την μείωση της φαρμακευτικής δαπάνης. Λαμβάνοντας υπόψιν βιβλιογραφικά δεδομένα για την ευεργετική επίδραση του ελαιολάδου και των φαινολικών συστατικών του στο λιπιδαιμικό προφίλ, στόχος της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση των ευεργετικών επιδράσεων τους στο μεταβολισμό υγιών ατόμων μετά τη κατανάλωση ενός συμπυκνώματος φαινολικών ενώσεων από ελιά.

Μέθοδοι: Πραγματοποιήθηκε μελέτη τύπου διασταυρούμενης μετάβασης (cross-over), με διαδοχικές φάσεις συγκεκριμένης παρέμβασης, οποίες διαχωρίζονται χρονικά από περιόδους έκπλυσης (wash-out). Η καθεμία παρέμβαση στη μελέτη μας ορίστηκε στις 4 εβδομάδες, ενώ η περίοδος έκπλυσης διήρκεσε 2 εβδομάδες. Υγιείς εθελοντές κατανάλωναν καθημερινά 30g λειτουργικού τροφίμου που περιείχε εγκαψυλωμένο φαινολικό συμπύκνωμα ελιάς. Αιματοληψία πραγματοποιήθηκε στην αρχή της πρώτης και στο τέλος της κάθε περιόδου για τον προσδιορισμό αιματολογικών και βιοχημικών παραμέτρων.

Αποτελέσματα: Ανάλυση των ευρημάτων της επίδρασης έδειξε ότι σε άτομα με αυξημένο καρδιο-μεταβολικό κίνδυνο, η κατανάλωση λειτουργικού τροφίμου με εγκαψυλωμένο συμπύκνωμα φαινολικών ενώσεων ελιάς είχε ως αποτέλεσμα μείωση στην τιμή της γλυκόζης νηστείας, των επιπέδων ινσουλίνης της ολικής χοληστερόλης καθώς και των επιπέδων της LDL και της οξειδωμένης LDL (oxLDL).

Συμπεράσματα: Τα παραπάνω ευρήματα υποδεικνύουν ότι οι φαινολικές ενώσεις ελιάς έχουν ευεργετική επίδραση στο γλυκαιμικό και λιπιδικό προφίλ, επιβεβαιώνοντας την ευεργετική επίδραση του ελαιολάδου η οποία πλέον δεν θα πρέπει να αποδίδεται μόνο στην παρουσία των πολυακόρεστων λιπαρών. Επιπλέον, το συμπύκνωμα φαινολικών ενώσεων θα μπορούσε να αποτελέσει μια πρώτη εναλλακτική προσέγγιση στην ομαλοποίηση του μεταβολισμού της γλυκόζης και των κυκλοφορούντων λιπιδίων.

ΣΧΕΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΤΩΝ ΑΝΔΡΟΓΟΝΩΝ (TESTO, D4-ANDROSTENDIONE), ΤΟΥ ΔΕΙΚΤΗ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΑΝΔΡΟΓΟΝΩΝ (FAI) ΚΑΙ ΤΗΣ SHBG ΜΕ ΤΗΝ ΗΛΙΚΙΑ ΤΩΝ ΓΥΝΑΙΚΩΝ

**Ε. Σκλαβόλια¹, Α. Καπετανάκη², Γ. Ζήση², Ε. Λαμπρινουδάκη³, Γ. Μαστοράκος⁴,
Ο. Γρηγορίου³, Δ. Ρίζος²**

¹ Μονάδα υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής, ΙΑΣΩ, Αθήνα

² Ορμονολογικό Εργαστήριο, Αρεταίειο Νοσοκομείο, Αθήνα

³ Β' Μαιευτική - Γυναικολογική Κλινική Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αρεταίειο Νοσοκομείο, Αθήνα

⁴ Μονάδα Ενδοκρινολογίας, Σακχαρώδη Διαβήτη και Μεταβολισμού, Αρεταίειο Νοσοκομείο, Αθήνα

Εισαγωγή: Τα ανδρογόνα, κατά σειρά μειούμενης συγκέντρωσης στο ορό και αυξανόμενης ισχύος: Θεϊκή δεϋδροεπιανδροστερόνη (DHEA-S), Δ4-Ανδροστενδιόνη (Δ4Α), Τεστοστερόνη (Τ), διυδροτεστοστερόνη, διαδραματίζουν βασικό ρόλο στον έλεγχο της λειτουργίας των ωοθηκών στη γυναίκα, ενεργώντας τόσο ως πρόδρομες ουσίες στη βιοσύνθεση των οιστρογόνων όσο και απευθείας μέσω του υποδοχέα ανδρογόνων των ωοθηκών. Σκοπός της εργασίας είναι η διερεύνηση της σχέσης των επιπέδων των ανδρογόνων Τ και Δ4Α, του δείκτη ελεύθερων ανδρογόνων (FAI), καθώς και της σφαιρίνης της συνδέουσας τις ορμόνες του φύλου (SHBG) με την ηλικία των γυναικών.

Υλικό και Μέθοδοι: Από το σύνολο των γυναικών που προσήλθαν στο Ορμονολογικό Εργαστήριο του Αρεταίειου Νοσοκομείου από το 2007 έως το 2012 επιλέχτηκαν για την εργασία 2620 δείγματα από 1550 γυναίκες, εξαιρώντας εκείνες με γνωστή παθολογία (όπως νεφρική νόσο, σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών κλπ). Ο προσδιορισμός της Τ έγινε με τη μέθοδο CMIA, στον αναλυτή Architect της Abbott. Ο προσδιορισμός της SHBG έγινε με τη μέθοδο ECLIA στον αναλυτή Cobas e 411 της Roche. Ο δείκτης FAI υπολογίστηκε με τον τύπο: $FAI = \text{Testo}(\text{ng/mL}) * 347 / \text{SHBG}(\text{nmol/L})$. Ο προσδιορισμός στη Δ4Α έγινε με ELISA kit της DiaMetra.

Αποτελέσματα: Τα επίπεδα της Τ ελαττώνονται σημαντικά με την ηλικία, από (Median, IQR) 0,78 ng/mL (0,6-1,0) στα 17-24,9 χρόνια σε 0,41 ng/mL (0,3-0,6) στα 65-72 χρόνια. Την ίδια σημαντική πτωτική τάση παρουσιάζουν και τα επίπεδα της Δ4Α: από 313 ng/dL (235-400) σε 78 ng/dL (54-107) για τα αντίστοιχα χρονικά διαστήματα. Τα επίπεδα της SHBG παραμένουν σχετικά σταθερά περί τα 60 nmol/L (39-89), κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγικής περιόδου ενώ παρουσιάζουν μικρή αύξηση μετά την εμμηνόπαυση. Τέλος, ο FAI μειώνεται σταθερά με την ηλικία από 5,9 (3,6-9,9) στα 17-24,9 χρόνια σε 2,0 (1,3-2,7) στα 65-72 χρόνια.

Συμπεράσματα: Τα αποτελέσματά μας είναι συγκρίσιμα με αυτά της διεθνούς βιβλιογραφίας. Θεωρούμε ότι μπορούν να αποτελέσουν τη βάση για τον υπολογισμό τιμών αναφοράς των ανδρογόνων κατά ηλικία για τον Ελληνικό πληθυσμό, έτσι ώστε να βοηθήσουν στη διάγνωση της υπερανδρογοναιμίας και των σημαντικών συνδρόμων και νοσημάτων που σχετίζονται με αυτήν.

ΜΕΤΡΗΣΗ ΜΕΤΑΤΡΕΠΤΙΚΟΥ ΕΝΖΥΜΟΥ ΤΗΣ ΑΓΓΕΙΟΤΕΝΣΙΝΗΣ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΤΟΥ ΝΑΥΤΙΚΟΥ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟΥ ΑΘΗΝΩΝ

Μ. Σταμούλη¹, Α. Μουρτζίκου², Ι. Παναγιώτου¹, Κ. Ζερβού¹, Α. Σκλήρης¹, Ε. Μαρασίδη¹

¹Εργαστήριο Βιοπαθολογίας, Βιοχημικό Τμήμα, Ναυτικό Νοσοκομείο Αθηνών, Αθήνα

²Βιοχημικό Τμήμα, Γενικό Νοσοκομείο Δυτικής Αττικής «Η Αγία Βαρβάρα», Αθήνα

Σκοπός: Το μετατρεπτικό ένζυμο της αγγειοτενσίνης (Angiotensin-Converting Enzyme-ACE) είναι μία γλυκο-πρωτεΐνη, που μετατρέπει το βιολογικά ανενεργό δεκαπεπτίδιο αγγειοτενσίνη-I στο οκταπεπτίδιο αγγειοτενσίνη-II. Αυτό εμφανίζει αγγειοσυσπαστική δράση και ελέγχει τη λειτουργικότητα των αγγείων, μέσω πολλών διαφορετικών μηχανισμών, μεταξύ των οποίων περιλαμβάνεται και η διέγερση του φλοιού των επινεφριδίων για έκκριση αλδοστερόνης. Σκοπός της εργασίας μας είναι η μέτρηση επιπέδων ACE σε ασθενείς του νοσοκομείου μας και η συσχέτιση αυτών με συγκεκριμένες παθήσεις.

Υλικά και μέθοδοι: Μετρήθηκαν τα επίπεδα ACE στον ορό 456 ασθενών (198 γυναίκες και 258 άνδρες) ηλικίας 18 ως 70 ετών. Η μέτρηση έγινε στο βιοχημικό αναλυτή Olympus AU 640 με το αντιδραστήριο της Medicon Hellas SA.

Αποτελέσματα: Τα επίπεδα ACE κυμαίνονται από 4,8 ως 105,3 U/L (ΦΤ: 20- 70 U/L). Μειωμένα επίπεδα του ενζύμου παρατηρήθηκαν σε 19 ασθενείς (8 γυναίκες και 11 άνδρες) και αυξημένα σε 50 ασθενείς (25 γυναίκες και 25 άνδρες). Οι διαφορές μεταξύ ανδρών και γυναικών ήταν στατιστικά σημαντικές (p-value<0.05). Η συσχέτιση με διάφορες παθήσεις παρουσιάζεται στον παρακάτω πίνακα:

ΕΠΙΠΕΔΑ ACE			
ΑΥΞΗΜΕΝΑ		ΜΕΙΩΜΕΝΑ	
	n		n
ΣΑΡΚΟΕΙΔΩΣΗ	1	ΧΑΠ	1
ΔΙΑΒΗΤΗΣ	12	ΚΥΣΤΙΚΗ ΪΝΩΣΗ	1
ΥΠΕΡΘΥΡΕΟΕΙΔΙΣΜΟΣ	8	ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΠΝΕΥΜΟΝΩΝ	3
ΑΥΤΟΑΝΟΣΟ ΝΟΣΗΜΑ	4	ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΜΕ ΣΤΕΡΟΕΙΔΗ	8
ΒΡΟΓΧΙΤΙΔΑ	21	ΥΠΟΘΥΡΕΟΕΙΔΙΣΜΟΣ	6
ΛΕΜΦΩΜΑ	4		
ΣΥΝΟΛΟ	50	ΣΥΝΟΛΟ	19

Συζήτηση: Το ACE βρίσκεται στα επιθηλιακά κύτταρα των πνευμόνων και σε μικρότερες συγκεντρώσεις στα αιμοφόρα αγγεία και τους νεφρούς. Η μέτρησή του βοηθά στη διάγνωση και παρακολούθηση της σαρκοείδωσης. Είναι αυξημένο στο 50% - 80% των ασθενών με ενεργή σαρκοείδωση και η συγκέντρωση του αυξάνει και μειώνεται ανάλογα με την πορεία της νόσου. Αυξημένα επίπεδα παρατηρούνται και σε πολλές άλλες περιπτώσεις (σακχαρώδης διαβήτης, υπερθυρεοειδισμός, φυματίωση, λέπρα, HIV λοίμωξη, οξεία και χρόνια βρογχίτιδα, νόσος του Gaucher, ιστιοπλάσμωση, λέμφωμα, αλκοολική κίρρωση και νοσήματα του συνδετικού ιστού). Μειωμένα επίπεδα του ενζύμου παρατηρούνται στην κυστική ίνωση, στη ΧΑΠ, σε κακοήθεια των πνευμόνων, υποθυρεοειδισμό, αιτία και μετά από θεραπεία με στεροειδή).

Η. Καραμέτος¹, Δ. Καψάλας¹, Π. Τσιμπόλη², Η. Τογκουσίδης², Κ. Γουργουλιάνης³

¹ Α' Παθολογική Κλινική, Γενικό Νοσοκομείο Βόλου «Αχιλλοπούλειο», Βόλος

² Βιοχημικό Τμήμα, Γενικό Νοσοκομείο Βόλου «Αχιλλοπούλειο», Βόλος

³ Πνευμονολογική Κλινική, Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Λάρισα

Η γήρανση είναι μια διαδικασία που μπορεί να επηρεάσει σχεδόν όλα τα συστήματα του σώματος. Μηχανισμοί που εμπλέκονται στη γήρανση είναι οι βλάβες από ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, μεταβολές στο DNA, μεταβολές στα χρωμοσώματα. Οι κυριότεροι βιολογικοί δείκτες γήρανσης που χρησιμοποιούνται είναι: Ορμόνες {του θυρεοειδή αδένος, διυδροεπιανδοστερόνη (DHEA), προγεστερόνη, τεστοστερόνη, μελατονίνη, αυξητική ορμόνη (GH)}. Η ΧΑΠ συμπεριλαμβάνεται στα σημαντικά αίτια νοσηρότητας και θνησιμότητας παγκοσμίως. Είναι ευρέως αποδεκτή η στενή σχέση μεταξύ γήρανσης και χρόνιων φλεγμονωδών νόσων. Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι να αποδείξει ότι η χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια ως συστηματική φλεγμονώδη νόσος οδηγεί πιο γρήγορα στην γήρανση των ανθρώπων που πάσχουν από αυτή. Το δείγμα αποτελείται από 119 άτομα, 70 (58,8%) ασθενείς με ΧΑΠ και 49 (41,2%) υγιείς. Στη παρούσα μελέτη βρέθηκε στο δείγμα της ομάδας ελέγχου ότι για αύξηση της ηλικίας κατά ένα έτος η DHEA μειώνεται κατά μέσο όρο κατά 1,26 μονάδες ($\beta = -1,26$, $SE = 0,62$, $p = 0.050$), ενώ η GH δεν βρέθηκε να μειώνεται σημαντικά με την ηλικία. Η διαφορά στο μέσο όρο του DHEA μεταξύ ομάδων ελέγχου και ΧΑΠ είναι 30,2. Άρα βάση της διαφοράς του DHEA ένας με ΧΑΠ είναι βιολογικά γηραιότερος κατά $30,2 / 1,26 = 24$ έτη.

ΑΑ19

ΕΠΙΒΕΒΑΙΩΣΗ ΜΙΑΣ ΚΑΙΝΟΥΡΙΑΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΓΙΑ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ LDL

Ε. Πετρίδου, Κ. Αναγνωστόπουλος

Εργαστήριο Βιοχημείας, Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Αλεξανδρούπολη

Σκοπός: Μια μέθοδος χαμηλού κόστους για τον προσδιορισμό της LDL είναι η εξίσωση Friedewald, με την LDL υπολογιζόμενη ως $LDL_f = \text{ολική χοληστερόλη} - HDL - (\text{τριγλυκερίδια}/5)$, όπου ο όρος τριγλυκερίδια/5 προσεγγίζει τη VLDL. Έχει προταθεί μια καινούρια μέθοδος υπολογισμού (LDL_n) όπου η τιμή 5 στον παρονομαστή δεν είναι σταθερή αλλά εξαρτάται από τα επίπεδα των τριγλυκεριδίων και της μη HDL χοληστερόλης.

Υλικό-Μέθοδοι: Δοκιμάσαμε την απόδοση αυτής της μεθόδου συγκρίνοντας απευθείας προσδιοριζόμενη με ενζυμική μέθοδο LDL_d , την εξίσωση Friedewald και την καινούρια μέθοδο υπολογισμού σε δείγμα 4598 ατόμων από το Γενικό Νοσοκομείο Κομοτηνής «Σισμανόγλειο».

Αποτελέσματα: Η εξίσωση Friedewald ισχύει για τιμές $TG < 400$ mg/dl. Κάποια κλινικά εργαστήρια χρησιμοποιούν αυτή την εξίσωση για τιμές $TG < 200$ mg/dl και για υψηλότερες τιμές εκτελούν άμεσο προσδιορισμό LDL_d . Εκτελέσαμε αρθρωτή γραμμική παλινδρόμηση (segmented linear regression) για να ελέγξουμε αν το κατώφλι των 200 mg/dl έχει νόημα, χρησιμοποιώντας το μοντέλο:

$$LDL_f = \text{intercept} + \text{slope} \cdot LDL_d \cdot I(TG < \text{knot})$$

όπου $I(TG < \text{knot})$ είναι η συνάρτηση ένδειξης (1 όταν $TG < \text{knot}$, αλλιώς 0).

Βρήκαμε ότι οι τιμές 195, 315 και 452 mg/dl ήταν σημεία καμπής για το τυπικό σφάλμα της παλινδρόμησης, όπως φαίνεται στην εικόνα.

Στη συνέχεια κατηγοριοποιήσαμε τις τιμές LDL σε 4 επίπεδα ($TG < 195$, $195 \leq TG < 315$, $315 \leq TG < 452$ και $TG \geq 452$ mg/dl) και εκτελέσαμε γραμμική παλινδρόμηση με την υπολογιζόμενη LDL ως εξαρτημένη και την LDL_d και TG ως ανεξάρτητες μεταβλητές, χρησιμοποιώντας το εξής μοντέλο:

$$LDL_{\text{calculated}} = \beta_0 + \beta_1 \cdot LDL_d + \beta_2 \cdot I(TG < 195) + \beta_3 \cdot I(TG < 195) \cdot TG + \beta_4 \cdot I(195 \leq TG < 315) + \beta_5 \cdot I(195 \leq TG < 315) \cdot TG + \beta_6 \cdot I(315 \leq TG < 452) + \beta_7 \cdot I(315 \leq TG < 452) \cdot TG + \beta_8 \cdot I(TG \geq 452) + \beta_9 \cdot I(TG \geq 452) \cdot TG$$

Τα αποτελέσματα ήταν αντικρουόμενα ανάμεσα στις τεταγμένες και τις κλίσεις. Εξαιτίας αυτού, κατατάξαμε τα επίπεδα LDL κατά NCEP III (5 επίπεδα)

Συμπεράσματα: Βρήκαμε ότι η τιμή $TG = 200$ mg/dl ως κατώφλι για χρησιμοποίηση άμεσου προσδιορισμού LDL έχει νόημα. Επίσης, η καινούρια μέθοδος υπολογισμού είναι καλύτερη από τη Friedewald στην κατηγοριοποίηση των επιπέδων της LDL για εκτίμηση καρδιαγγειακού κινδύνου.

ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΣΤΟ ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΙΚΟ ΜΟΝΟΠΑΤΙ ΤΟΥ ΥΠΟΔΟΧΕΑ ΤΩΝ ΓΛΥΚΟΚΟΡΤΙΚΟΕΙΔΩΝ (GR) ΣΤΟΝ ΣΑΚΧΑΡΩΔΗ ΔΙΑΒΗΤΗ ΤΥΠΟΥ 2

**Χ. Παναγιώτου¹, Β. Λαμπαδιάρη², Ε. Μαράτου¹, Κ. Γερομεριάτη¹, Α. Αρτεμιάδης³,
Γ. Δημητριάδης², Π. Μουτσάτσου¹**

¹ Εργαστήριο Κλινικής Βιοχημείας, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο «Αττικόν», Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

² Β' Προπαιδευτική Παθολογική Κλινική, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο «Αττικόν», Αθήνα

³ Α' Παιδιατρική Κλινική, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Γενικό Νοσοκομείο Παιδών Αθηνών «Η Αγία Σοφία», Αθήνα

Σκοπός: Οι μέχρι τώρα μελέτες υποστηρίζουν την αυξημένη δραστηριότητα του άξονα υποθαλάμου–υπόφυσης–επινεφριδίων (HPA) στον Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2 (ΣΔτ2) με συνέπεια την υπερκορτιζολαιμία. Οι δράσεις του άξονα HPA διαμεσολαβούνται από τον υποδοχέα των γλυκοκορτικοειδών (GR). Ωστόσο το σηματοδοτικό μονοπάτι του υποδοχέα δεν έχει μελετηθεί στον ΣΔτ2. Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση του πιθανού ρόλου του GR ως ο βιολογικός σύνδεσμος μεταξύ της υπερκορτιζολαιμίας και των μεταβολικών διαταραχών που παρατηρούνται στον ΣΔτ2.

Υλικό-Μέθοδοι: Σε κύτταρα PBMC από 33 ασθενείς με ΣΔτ2 και από 22 υγιή άτομα :

α) προσδιορίσαμε διάφορες παραμέτρους του σηματοδοτικού μονοπατιού του GR [επίπεδα πρωτεΐνης της φωσφορυλιωμένης μορφής του υποδοχέα (pGR-S211), έκφραση του γονιδίου *GRβ*]

β) αξιολογήσαμε την ευαισθησία στα γλυκοκορτικοειδή (μέσω προσδιορισμού της βασικής και της επαγόμενης από τη δεξαμεθαζόνη έκφρασης των γονιδίων *GILZ* (glucocorticoid-induced leucine zipper) και *FKBP5* (FK506 binding-protein) καθώς και των βασικών επίπεδων της πρωτεΐνης της ιντερλευκίνης 1β (IL-1β)).

γ) προσδιορίσαμε παραμέτρους της καμπύλης ημερήσιας έκκρισης κορτιζόλης σιέλου [απόκριση της κορτιζόλης στην αφύπνιση (CAR) και περιοχή κάτω από την καμπύλη (AUC_{total}, AUC_i)] οι οποίες χρησιμοποιήθηκαν ως μέτρο αξιολόγησης της δραστηριότητας του άξονα HPA

δ) υπολογίσαμε δείκτες γλυκαιμίας, λιπιδαιμίας, φλεγμονής και ενεργειακού μεταβολισμού

ε) ελέγξαμε τις πιθανές συσχετίσεις των παραμέτρων του σηματοδοτικού μονοπατιού του GR και των παραμέτρων της καμπύλης κορτιζόλης σιέλου με τους δείκτες γλυκαιμίας, λιπιδαιμίας, φλεγμονής και ενεργειακού μεταβολισμού.

Αποτελέσματα: Οι ασθενείς με ΣΔτ2 εμφάνισαν μειωμένα επίπεδα pGR-S211, αυξημένα επίπεδα έκφρασης του γονιδίου *GRβ*, μειωμένα επίπεδα mRNA *GILZ* και *FKBP5* και αυξημένα επίπεδα IL-1β συγκριτικά με τους υγιείς. Επιπλέον, παρουσίασαν πεπλατυσμένες καμπύλες DEX-επαγόμενης έκφρασης των γονιδίων *GILZ* και *FKBP5* (αντίσταση στα γλυκοκορτικοειδή) και μειωμένο προφίλ ημερήσιας έκκρισης κορτιζόλης σιέλου.

Συμπεράσματα: Όλες οι παραπάνω συσχετίσεις υποστηρίζουν την αρχική υπόθεση της μελέτης σύμφωνα με την οποία στον ΣΔτ2 υπάρχει διαταραγμένη λειτουργία του GR και αντίσταση στα GC τα οποία οδηγούν σε υπερδραστηριότητα του άξονα HPA και υπερκορτιζολαιμία. Οι παραπάνω δυσλειτουργίες οδηγούν με τη σειρά τους σε διαταραχές στο μεταβολισμό (υπεργλυκαιμία, υπερλιπιδαιμία) και αυξημένη φλεγμονή.

ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΤΗΣ ΑΔΕΝΟΣΙΝΗΣ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΟΥ ΥΠΝΟΥ ΚΑΤΩ ΑΠΟ ΣΥΝΘΗΚΕΣ
ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗΣ ΜΙΚΡΟΒΑΡΥΤΗΤΑΣ

C. Muswamba-Nday¹, X. A. Φραντζίδης¹, Λ. Χατζηϊωαννίδης², Δ. Γαλιατσάτος¹,
Π. Χρίσκος¹, Φ. Ντογραματζή², Ζ. Αθανασιάδου², Ε. Βαγδατλή², G. Jackson³, Χ. Κουρτίδου-Παπαδέλη⁴,
Π. Δ. Μπαμίδης¹

¹ Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστήμων Υγείας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη

² Γενικό Νοσοκομείο Θεσσαλονίκης «Ιπποκράτειο», Θεσσαλονίκη

³ University of Cape Town, South Africa

⁴ Ελληνική Εταιρεία Αεροπορικής Ιατρικής και Διαστημικής Έρευνας, Θεσσαλονίκη

Σκοπός: Η παρούσα μελέτη στοχεύει στη διερεύνηση εάν η αδενοσίνη (ΑΔΟ) που έχει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση και την προώθηση του ύπνου, επηρεάζεται από τη μικροβαρύτητα και αν η ΑΔΟ μπορεί να συσχετιστεί με δίκτυο εγκεφαλικής συνδεσιμότητας κατά τη διάρκεια του ύπνου.

Υλικό-Μέθοδοι: Στην Ευρωπαϊκή Υπηρεσία Διαστήματος στην Κολωνία της Γερμανίας, είκοσι τρεις υγιείς εθελοντές παρέμειναν σε υποχρεωτική κατάκλιση με κλίση κεφαλής 6° προς τα κάτω για 60 ημέρες. Μεταξύ αυτών, 12 άτομα χρησίμευσαν ως ομάδα ελέγχου και 11 άτομα πραγματοποίησαν φυσική άσκηση ως αντίμετρο και χρησίμευσαν ως ομάδα sledge. Τα δείγματα αίματος συλλέχθηκαν και τα πολυκαναλικές καταγραφές ύπνου διατηρήθηκαν σε συγκεκριμένα χρονικά διαστήματα κατά τη διάρκεια του πειράματος. Η μέτρηση της ΑΔΟ πραγματοποιήθηκε μέσω των δύο καταλυτικών ενζύμων αποαμινάσης της ΑΔΟ χρησιμοποιώντας τις κατάλληλες ανοσοχημικές τεχνικές. Τα μοντέλα λειτουργικής συνδεσιμότητας του φλοιού πραγματοποιήθηκαν σε δεδομένα από πολυκαναλικές καταγραφές ύπνου και αναλύθηκαν χρησιμοποιώντας θεωρία γραφημάτων για την εκτίμηση των συνολικών μετρήσεων απόδοσης καθώς και τη σημασία συγκεκριμένων κόμβων δικτύου και την ιεραρχική τους οργάνωση. Τέλος, έγινε και συσχέτιση της έκφρασης της ΑΔΟ με την δίκτυ συνδεσιμότητας του εγκεφάλου κατά τη διάρκεια του ύπνου.

Αποτελέσματα: Η έκφραση της ΑΔΟ είναι χρόνο-εξαρτώμενη διότι μειώνεται σταδιακά με το χρόνο κατά τη διάρκεια της πρώτης πειραματικής περιόδου (0-30 ημέρες) καθώς ελαφρώς αυξάνεται η έκφρασή της για τις υπόλοιπες πειραματικές ημέρες (31-60 ημέρες). Επιπρόσθετα, βρέθηκε ότι πολλοί κόμβοι έχουν σημαντικούς ρόλους στη δομή του εγκεφαλικού δικτύου κατά τη διάρκεια του ύπνου κάτω από τις ίδιες αυτές πειραματικές συνθήκες και η λειτουργικότητά τους στη συνέχεια συσχετίζεται με την έκφραση της ΑΔΟ στο αίμα.

Συμπεράσματα: Συμπερασματικά, διάφορες μεταβολές της έκφρασης της ΑΔΟ παρατηρήθηκαν λόγω της έλλειψης βαρύτητας που ενεργοποιώντας αντισταθμιστικούς μηχανισμούς προκειμένου να αποφευχθούν πιο επιζήμιες επιδράσεις στον οργανισμό με μια ελαφριά αύξηση της έκφρασης της ΑΔΟ μετά από τον πρώτο μήνα έλλειψης βαρύτητας. Επιπλέον, αποδείχθηκε ότι οι επιζήμιες επιδράσεις της μικροβαρύτητας ήταν πιο εμφανείς για τα άτομα που δεν έκαναν φυσική άσκηση κατά την διάρκεια του πειράματος. Το συνολικό αποτέλεσμα αποτελεί τη βάση για μελλοντικές μελέτες στον τομέα της βιοϊατρικής έρευνας και νευροεπιστημών.

ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΑΠΑΜΙΝΑΣΗΣ ΤΗΣ ΑΔΕΝΟΣΙΝΗΣ (ADA) ΚΑΙ ΤΟΥ ΙΣΟΕΝΖΥΜΟΥ ΤΗΣ (ADA2) ΣΤΟΝ ΟΡΟ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΚΑΡΚΙΝΟ ΠΝΕΥΜΟΝΑ

Ε. Καράκου¹, Β. Γεωργακοπούλου², Δ. Μελεμενή², Κ. Μαντζουράνης², Δ. Μερμίγκης²,
Γ. Πετσίνης², Ξ. Τσιαφάκη², Ν. Τράκας¹

¹ Βιοχημικό Τμήμα, Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών «Σισμανόγλειο - Αμαλία Φλέμινγκ», Αθήνα

² Α' Πνευμονολογική Κλινική, Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών «Σισμανόγλειο - Αμαλία Φλέμινγκ», Αθήνα

Σκοπός: Η Απαμινάση της αδενοσίνης (ADA–Adenosine Deaminase) αποτελεί σημαντικό ένζυμο του μεταβολισμού των πουρινών, καταλύει τη μετατροπή της αδενοσίνης σε ινοσίνη. Η συγκέντρωση του ενζύμου στον ορό αυξάνεται σε διάφορες ασθένειες και η μέτρηση των επιπέδων του μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως διαγνωστικό εργαλείο σε αρκετές περιπτώσεις. Η ενζυμική δράση της ADA οφείλεται σε δύο ισοένζυμα, ADA1 και ADA2. Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η αξιολόγηση της συσχέτισης μεταξύ της ADA και του ισοενζύμου της ADA2 στον ορό ασθενών με καρκίνο πνεύμονα.

Υλικό-Μέθοδοι: Στην μελέτη συμπεριλήφθηκαν συνολικά 33 ασθενείς της Α' Πνευμονολογικής Κλινικής του Νοσοκομείου μας (22 άνδρες, 11 γυναίκες) μέσης ηλικίας 66.9 ± 11.7 έτη, διαγνωσμένοι με καρκίνο πνεύμονα. Τα επίπεδα των ADA (ΦΤ: 4-20 U/L) και ADA2 (ΦΤ: 3.52-17.60 U/L) στον ορό των ασθενών προσδιορίστηκαν με ενζυμική μέθοδο, όπου ο αναστολέας του ισοενζύμου ADA1, EHNA, χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό του ADA2 (kit της Medicon – αυτόματος αναλυτής Cobas 6000-c501, Roche). Η Στατιστική Ανάλυση των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του στατιστικού προγράμματος SPSS v.19.0. Μετά τον έλεγχο κανονικότητας (Kolmogorov - Smirnov Test), εφαρμόστηκε η γραμμική παλινδρόμηση (συντελεστής συσχέτισης Pearson). Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως Μέση τιμή $\pm$ Τυπική Απόκλιση (Mean $\pm$ Standard Deviation) και θεωρήθηκαν στατιστικά σημαντικά όταν p -value < 0.05 .

Αποτελέσματα: Στο σύνολο των ασθενών, η μέση τιμή της ADA ήταν 12.61 ± 4.98 U/L, ενώ του ADA2 8.67 ± 4.10 U/L. Η χρήση της γραμμικής παλινδρόμησης (συντελεστής συσχέτισης Pearson) έδειξε στατιστικά σημαντική, ισχυρή θετική συσχέτιση της ADA με το ισοένζυμο της ADA2 ($R=0.953$, $R^2=0.908$, $p<0.001$). Η εξίσωση της γραμμικής παλινδρόμησης ήταν: $ADA_{\text{serum}} = 2.60 + 1.15 \cdot ADA2_{\text{serum}}$ δηλ. η ενεργότητα της ολικής ADA, για συγκεκριμένη τιμή ADA2, μπορεί να προβλεφθεί με εγκυρότητα.

Συμπεράσματα: Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης έδειξαν σημαντική θετική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων των ADA και ADA2 στον ορό ασθενών με καρκίνο πνεύμονα. Περαιτέρω μελέτες απαιτούνται για τη διερεύνηση της κλινικής αξίας των παραμέτρων ADA και ADA2 ορού στο συγκεκριμένο νόσημα.

ΑΑ23
ΕΛΕΓΧΟΣ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΓΛΥΚΟΖΙΟΜΕΝΗΣ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗΣ (HbA1c) ΣΕ ΑΝΔΡΕΣ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΕΣ
ΤΗ ΔΙΕΤΙΑ 2017 ΚΑΙ 2018

Μ. Τσιγαριδάκη¹, Ε. Φαρσαράκη¹, Σ. Πατιάκας², Κ. Παπουτσή³, Φ. Αθουσάκη-Νεονάκη¹

¹ Εργαστήριο Βιοχημείας, Γενικό Νοσοκομείο Ηρακλείου «Βενιζέλειο – Πανάνειο», Ηράκλειο, Κρήτη

² Μικροβιολογικό Εργαστήριο, Γενικό Νοσοκομείο Θεσσαλονίκης «Ο Άγιος Δημήτριος», Θεσσαλονίκη

³ Ιδιώτης Γιατρός

Εισαγωγή: Η HbA1c αποτελεί σημαντικό βιοδείκτη της γλυκαιμικής στάθμης τις προηγούμενες 120 μέρες (μέσος χρόνος ζωής των ερυθρών αιμοσφαιρίων) αφού είναι μια σταθερή ένωση της γλυκόζης με την A1 αιμοσφαιρίνη που παραμένει αδιάσπαστη καθ' όλη τη διάρκεια ζωής των ερυθρών αιμοσφαιρίων. Η μέτρηση της HbA1c αποτελεί ένα σοβαρά αξιολογήσιμο μεταβολικό μέτρο της ρύθμισης του Σ.Δ αλλά και διερεύνησης και εντόπισης μη διαγνωσθέντος διαβήτη, προκειμένου να προληφθούν οι σοβαρές επιπλοκές του.

Σκοπός: Στην παρούσα μελέτη καταγράφονται οι τιμές της HbA1c σε πληθυσμό που ελέγχθηκε στο εργαστήριό μας κατά τα έτη 2017 έως 2018 και γίνεται μελέτη και σύγκριση των επιπέδων της HbA1c στην παραπάνω περίοδο.

Υλικό και Μέθοδος: Τα δείγματα της HbA1c που εξετάστηκαν στο εργαστήριό μας την περίοδο 2017 έως 2018 ήταν 9664 από αυτά το 2017 είναι 4764 άτομα και 2018 είναι 4900. Τα άτομα χωρίστηκαν σε τέσσερις ομάδες με βάση την τιμή της HbA1c, Α) HbA1c ≤6,00% Β) HbA1c 6,01-7,00 % Γ) HbA1c 7,01- 8,00% Δ) HbA1c ≥ 8,01% Η HbA1c μετρήθηκε στον αναλυτή Adams με HPLC (Υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης)

Αποτελέσματα και συμπέρασμα:

	ΟΜΑΔΑ	2017 HbA1c		2018 HbA1c	
		ΑΤΟΜΑ	%	ΑΤΟΜΑ	%
≤6,00%	ΑΝΔΡΕΣ	671	14,08%	812	16,57%
	ΓΥΝΑΙΚΕΣ	962	20,19%	1014	20,69%
TOTAL		1633	34,27%	1826	37,26%
6,01-7,00%	ΑΝΔΡΕΣ	688	14,44%	787	16,06%
	ΓΥΝΑΙΚΕΣ	861	18,07%	860	17,55%
TOTAL		1549	32,51%	1647	33,61%
7,01-8,00%	ΑΝΔΡΕΣ	440	9,24%	384	7,84%
	ΓΥΝΑΙΚΕΣ	428	8,98%	410	8,37%
TOTAL		868	18,22%	794	16,21%
≥8,01%	ΑΝΔΡΕΣ	400	8,40%	362	7,39%
	ΓΥΝΑΙΚΕΣ	314	6,59%	271	5,53%
TOTAL		714	14,99%	633	12,92%
ΣΥΝΟΛΟ		4764	100,00%	4900	100,00%

Παρατηρείτε μια μικρή αύξηση των δειγμάτων κατά το 2018, ενώ τα ποσοστά των αποτελεσμάτων στις 4 ομάδες HbA1c παραμένουν περίπου στα ίδια επίπεδα.

Μ. Τσιγαριδάκη¹, Ε. Φαρσαράκη¹, Σ. Πατιάκας², Κ. Παπουτσή³, Φ. Αθουσάκη-Νεονάκη¹

¹ Εργαστήριο Βιοχημείας, Γενικό Νοσοκομείο Ηρακλείου «Βενιζέλειο – Πανάνειο», Ηράκλειο, Κρήτη

² Μικροβιολογικό Εργαστήριο, Γενικό Νοσοκομείο Θεσσαλονίκης «Ο Άγιος Δημήτριος», Θεσσαλονίκη

³ Ιδιώτης Γιατρός

Εισαγωγή: Ο Σ.Δ. τύπου II και οι επιπλοκές του (υπέρταση, διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια, νεφροπάθεια, νευροπάθεια, στεφανιαία νόσος κ.α.) αποτελούν την τρίτη αιτία θανάτου στη χώρα μας

Σκοπός: Η διερεύνηση της επίγνωσης διαβητικών ατόμων ηλικίας >65ετών σχετικά με τις επιπλοκές του Σ.Δ.

Υλικό και Μέθοδος: Μελετήθηκαν διαβητικά άτομα που ελέγχονται στο εργαστήριο μας 125 άντρες και 87 γυναίκες με μέσο όρο ηλικίας τα 67 έτη και μέσο όρο διάρκειας της νόσου τα 10 έτη. Ο εργαστηριακός έλεγχος αφορούσε στο σάκχαρο αίματος και στην HbA1c. Το σάκχαρο μετρήθηκε σε αναλυτή Architect (φασματοφωτομετρία) και η HbA1c μετρήθηκε στον αναλυτή Adams με HPLC (Υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης). Η πληροφόρησή μας προήλθε από ένα σύντομο ιστορικό - ερωτηματολόγιο κατά την αιμοληψία.

Αποτελέσματα και συμπέρασμα: Από τους ασθενείς που ελέχθησαν προέκυψαν τα ακόλουθα συμπεράσματα ? 1) το 18% παρακολουθείται από γενικό ιατρό, 2) το 7% από παθολόγο, 3) το 75% από Διαβητολόγο. Όσον αφορά στις επιπλοκές του Σ.Δ.1) το 92% γνωρίζει την αρτηριακή υπέρταση, 2) το 42% την δυσλιπιδαιμία, 3) το 37% τη στεφανιαία νόσο, 4) το 3% το εγκεφαλικό επεισόδιο και 5) το 75% έχει επισκεφτεί οφθαλμίατρο. Τέλος η πλειοψηφία ή το σύνολο αναγνωρίζει τη σημασία των εργαστηριακών εξετάσεων. Από την έρευνα αυτή προκύπτει ότι αν και ο Σ.Δ. τύπου II και οι επιπλοκές του αποτελούν τη τρίτη αιτία θανάτου στη χώρα μας, το επίπεδο της επίγνωσης των ατόμων αυτών δεν είναι ικανοποιητικό και μόνο η αρτηριακή υπέρταση αποτελεί ένα alarm για τον εν λόγω πληθυσμό

**Μ. Τσιγαριδακη¹, Σ. Πατιάκας², Ε. Φαρσαράκη¹, Α. Παπαγιαννάκη¹, Κ. Παπουτσή³,
Φ. Αθουσάκη-Νεονάκη¹**

¹ Εργαστήριο Βιοχημείας, Γενικό Νοσοκομείο Ηρακλείου «Βενιζέλειο – Πανάνειο», Ηράκλειο, Κρήτη

² Μικροβιολογικό Εργαστήριο, Γενικό Νοσοκομείο Θεσσαλονίκης «Ο Άγιος Δημήτριος», Θεσσαλονίκη

³ Ιδιώτης Γιατρός

Εισαγωγή: Το ουρικό οξύ συντίθεται ενδογενώς ως τελικό προϊόν μεταβολισμού των πουρινών του οργανισμού αλλά και εξωγενώς από την διάσπαση των πυρινοπρωτεϊνών της τροφής. Σε κλινικά υγιή πληθυσμό η αύξηση οφείλεται κυρίως σε λήψη τροφών που οδηγούν σε αύξηση του ουρικού εξωγενούς προέλευσης.

Σκοπός: Η μελέτη των επιπέδων του ουρικού οξέος σε άνδρες και γυναίκες του Νομού Ηρακλείου σε διάστημα 3 ετών (2014 - 2016).

Υλικό και Μέθοδος: Ελέγχθηκαν 83.089 άτομα, 46209 γυναίκες και 36.880 άνδρες τα έτη 2014 έως και 2016. Φυσιολογικές τιμές για άνδρες $\leq 7,2\text{mg/dl}$ και γυναίκες $\leq 6,0\text{mg/dl}$. Οι μετρήσεις έγιναν σε αναλυτές Architect με τη μέθοδο της φασματοφωτομετρίας.

Αποτελέσματα:

Ουρικό Οξύ	Όρια	2014	%	2015	%	2016	%
Άνδρας	1 - Φυσιολογικό ($\leq 7,2$)	9.748	77,29%	9.553	83,11%	10.290	80,55%
Άνδρας	2 - Υψηλό ($>7,2$)	2.864	22,71%	1.941	16,89%	2.484	19,45%
Άνδρας	Total	12.612	100,00%	11.494	100,00%	12.774	100,00%
Γυναίκα	1 - Φυσιολογικό ($\leq 6,0$)	13.082	80,58%	12.883	84,61%	12.187	82,64%
Γυναίκα	2 - Υψηλό ($>6,0$)	3.153	19,42%	2.344	15,39%	2.560	17,36%
Γυναίκα	Total	16.235	100,00%	15.227	100,00%	14.747	100,00%
Total		28.847		26.721		27.521	

Συμπέρασμα: Σε μεγαλύτερο ποσοστό οι άνδρες παρουσιάζουν αυξημένα επίπεδα ουρικού οξέος. Αυτό με μεγάλη πιθανότητα συνδέεται (στο πλαίσιο των καθημερινών κρητικών διατροφικών συνηθειών) στην κατανάλωση αλκοόλ με τα συνοδευτικά (ζωμοί από λιπαρά κρέατα, λιπαρά ψάρια, εντόσθια, κυνήγι κλπ) που αποτελούν μέρος της Κρητικής διατροφής και είναι τροφές πλούσιες σε πουρίνες, η λήψη των οποίων μπορεί να αυξήσει το ουρικό οξύ.

Α. Βλάχος¹, Μ. Βαλασοπούλου¹, Π. Μαλινδρέτος², Η. Τογκουσίδης¹

¹ Βιοχημικό Τμήμα, Γενικό Νοσοκομείο Βόλου «Αχιλλοπούλειο», Βόλος

² Μονάδα Τεχνητού Νεφρού, Γενικό Νοσοκομείο Βόλου «Αχιλλοπούλειο», Βόλος

Η μεταβολή βιοχημικών παραμέτρων (Κ, ρhοs, Ca, iPTH, Chol, TG) σε ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια, που υποβάλλονται σε αιμοκάθαρση σε σχέση με την ηλικία και τη μέση μηνιαία θερμοκρασία, κατά τη διάρκεια του έτους είναι θέμα που χρήζει μελέτης.

Σε αυτήν την κατεύθυνση μελετήθηκαν τα βιοχημικά δείγματα 60 ασθενών, ανδρών και γυναικών ηλικίας 26 έως 84 ετών σε βιοχημικούς αναλυτές **Architect ci16200**.

Παρατηρήθηκε εποχιακή διακύμανση στις τιμές των: Καλίου, Ασβεστίου, Τριγλυκεριδίων, Χοληστερίνης και Παραθορμόνης. Οι τιμές Φωσφόρου παρέμειναν σταθερές. Σε σύγκριση με τις ηλικιακές ομάδες χαμηλότερες μέσες τιμές Ασβεστίου και Φωσφόρου παρατηρήθηκαν στους άνω των 80 ετών, ενώ οι τιμές της χοληστερόλης και των τριγλυκεριδίων εμφανίζουν παράλληλη μείωση τους θερινούς μήνες και αύξηση τους χειμερινούς.

Οι παρατηρούμενες εποχιακές διακυμάνσεις των βιοχημικών δεικτών ακολουθούν το μοντέλο της διατροφής που ακολουθείται τους χειμερινούς μήνες με μεγαλύτερη κατανάλωση κρέατος και λιπαρών γευμάτων σε σύγκριση με τους καλοκαιρινούς μήνες που η διατροφή είναι πλουσιότερη σε λαχανικά και φρούτα.

ΑΝΑΦΟΡΑ ΤΡΙΩΝ ΠΕΡΙΠΤΩΣΕΩΝ ΜΕΤΑΣΤΑΤΙΚΩΝ ΟΥΡΟΘΗΛΙΑΚΩΝ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΩΝ ΜΕ ΥΨΗΛΟ ΕΠΙΠΕΔΟ ΤΟΥ CA19-9 ΣΤΟΝ ΟΡΟ

Χ. Καπριλιάν¹, Δ. Άνοιος¹, Χ. Κρούπης², Π. Μουτσάτσου², Ν. Ασημάκη¹, Α. Λαζαρή³,
Γ. Ε. Θωμοπούλου¹

¹ Κυτταρολογικό Εργαστήριο, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο «Αττικόν», Αθήνα

² Κλινικής Βιοχημείας και Μοριακής Διαγνωστικής, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο «Αττικόν», Αθήνα

³ 1ο Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

Σκοπός: Η παρουσίαση τριών περιπτώσεων μεταστατικών ουροθηλιακών καρκινωμάτων που διαγνώστηκαν κυτταρολογικά και είχαν αυξημένα επίπεδα CA19-9.

Υλικό- Μέθοδοι: Οι αναφερθείσες μεταστασεις ήταν 1) από πνεύμονα 2) ασκτικό υγρό και 3) από δερματική βλάβη στη δεξιά βουβωνική χώρα.

Οι ασθενείς παρακεντήθηκαν και τα υλικά εστάλησαν στο Κυτταρολογικό Εργαστήριο για μορφολογική και ανοσοκυτταροχημική εξέταση με τη χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων προκειμένου να εντοπισθεί η πρωτοπαθής εστία.

Αποτελέσματα : Τα επίπεδα του CA19-9 στον ορό ήταν : 190 U/ml στην πρώτη περίπτωση, 230U/ml στην 2η περίπτωση και 295U/ml στην 3η περίπτωση.

Ο ανοσοκυτταροχημικός έλεγχος κατέδειξε την παρουσία του CA19-9 σε ορισμένα καρκινικά κύτταρα και στις τρεις περιπτώσεις.

Συμπέρασμα : Αυξημένο επίπεδο του CA19-9 στον ορό δεν μπορεί να αποκλείσει το ουροθηλιακό καρκίνωμα. Η διαπίστωση αυτή χρήζει ευρύτερης μελέτης.

Μ. Τσιγαριδάκη¹, Ε. Φαρσαράκη¹, Σ. Πατιάκας², Κ. Παπουτσή³, Φ. Αθουσάκη-Νεονάκη¹

¹ Εργαστήριο Βιοχημείας, Γενικό Νοσοκομείο Ηρακλείου «Βενιζέλειο – Πανάνειο», Ηράκλειο, Κρήτη

² Μικροβιολογικό Εργαστήριο, Γενικό Νοσοκομείο Θεσσαλονίκης «Ο Άγιος Δημήτριος», Θεσσαλονίκη

³ Ιδιώτης Γιατρός

Εισαγωγή: Τα λιπίδια αποτελούν απαραίτητα συστατικά των κυττάρων του σώματος και παίζουν σημαντικό ρόλο στη λειτουργία τους. Τα υψηλά επίπεδα λιπιδίων στον ορό κατά την παιδική ηλικία προκαλούν μετέπειτα στην ενήλικη ζωή αθηροσκλήρωση και είναι ένας από τους κύριους παράγοντες κινδύνου ανάπτυξης στεφανιαίας νόσου.

Σκοπός: Μελετήθηκε το λιπιδαιμικό προφίλ παιδιών ηλικίας 4-16 ετών για τα έτη 2017 και 2018 για να διερευνηθούν πιθανές μεταβολές των επιπέδων χοληστερίνης, τριγλυκεριδίων HDL και LDL.

Υλικό και μέθοδος: Κατά τη διάρκεια του 2017 μετρήθηκαν 99 οροί παιδιών (49 αγόρια και 50 κορίτσια) ενώ το 2018 μετρήθηκαν 106 παιδιά (52 αγόρια και 54 κορίτσια). Η μέθοδος που χρησιμοποιήσαμε είναι φασματοφωτομετρία σε αναλυτές Architect.

Αποτελέσματα: Η μέση τιμή των μετρήσεων αποτυπώνεται στον παρακάτω πίνακα:

		2017 Μ.Τ	2018 Μ.Τ	ΕΠΙΘΥΜΗΤΑ ΕΠΙΠΕΔΑ
HDL	Αγόρια	37,73	41,75	>35mg/dl
	Κορίτσια	40,38	37,77	
LDL	Αγόρια	79,92	52,88	<110mg/dl
	Κορίτσια	83,80	68,92	
ΧΟΛΗΣΤΕΡΙΝΗ	Αγόρια	136,55	109,38	<170mg/dl
	Κορίτσια	155,70	137,15	
ΤΡΙΓΛΥΚΕΡΙΔΙΑ	Αγόρια	96,78	71,63	<130mg/dl
	Κορίτσια	74,10	88,69	

Συμπέρασμα: Μεταξύ αγοριών και κοριτσιών για τα έτη 2017 και 2018 δεν παρατηρούνται σημαντικές μεταβολές των τιμών των λιπιδίων στον ορό του αίματος και μάλιστα βλέπουμε ότι ο μέσος όρος για τις τιμές των λιπιδίων είναι μέσα στα επιθυμητά όρια.

AA29
ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΟΥ ΕΥΡΟΥΣ ΚΑΤΑΝΟΜΗΣ ΤΩΝ ΕΡΥΘΡΩΝ (RDW) ΜΕ ΤΗ ΓΛΥΚΟΖΥΛΙΩΜΕΝΗ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ
(HbA1c)

Ε. Καράκου¹, Ε. Αλαφάκη², Ε. Παπαευσταθίου¹, Α. Λεκκάκου³, Μ. Μπακάλη²,
Β. Πανούτσου¹, Ρ. Χατζηκυριάκου², Ν. Τράκας¹

¹ Βιοχημικό Τμήμα, Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών «Σισμανόγλειο -Αμαλία Φλέμινγκ», Αθήνα

² Αιματολογικό Τμήμα, Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών «Σισμανόγλειο -Αμαλία Φλέμινγκ», Αθήνα

³ Α' Πνευμονολογική Κλινική, Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών «Σισμανόγλειο -Αμαλία Φλέμινγκ», Αθήνα

Σκοπός: Η διερεύνηση της συσχέτισης μεταξύ του Εύρους Κατανομής των Ερυθρών Αιμοσφαιρίων (RDW – Red Cell Distribution Width) και της Γλυκοζυλιωμένης Αιμοσφαιρίνης (HbA1c).

Υλικό-Μέθοδοι: Πραγματοποιήθηκε μια αναδρομική αναζήτηση στη βάση δεδομένων του εργαστηριακού συστήματος πληροφοριών (LIS) του Βιοχημικού και Αιματολογικού Τμήματος του Νοσοκομείου μας, για την ανάκτηση αποτελεσμάτων RDW-CV (από τη γενική εξέταση αίματος, CBC) και HbA1c εξωτερικών ασθενών, ηλικίας 65 ετών και άνω, που προσήλθαν στα Τακτικά Εξωτερικά Ιατρεία, κατά τη διάρκεια του έτους 2018. Στην μελέτη συμπεριλήφθηκαν 835 άτομα (472 άνδρες, 363 γυναίκες) μέσης ηλικίας 73.0±7.0 έτη. Τα επίπεδα της HbA1c (ΦΤ: 3.0-6.0 %) στο ολικό αίμα των ασθενών προσδιορίστηκαν με υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης (HPLC) (αναλυτής HLC 723-G7 του οίκου TOSOH). Επίσης, με χρήση του αιματολογικού αναλυτή Sysmex XE 2100 της Roche, προσδιορίστηκε το εύρος κατανομής των ερυθρών (RDW-CV) (ΦΤ: 11.0-16.0 %) (υπολογιστική μέθοδος). Η Στατιστική Ανάλυση των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του προγράμματος SPSS v.19.0. Εφαρμόστηκαν η γραμμική παλινδρόμηση (Pearson), το independent samples t-test και το χ^2 test. Τα αποτελέσματα θεωρήθηκαν σημαντικά όταν $p < 0.05$.

Αποτελέσματα: Σε ολόκληρο τον πληθυσμό, η HbA1c συσχετίστηκε σημαντικά με τις τιμές του RDW ($r = 0.32$, $p < 0.001$). Η συγκέντρωση της HbA1c ήταν σημαντικά υψηλότερη σε ασθενείς με RDW > 16.0 % σε σχέση με εκείνους με RDW ≤ 16.0 % (HbA1c: 6.6 ± 0.96 vs. 6.3 ± 0.97 % - $p < 0.001$). Σύμφωνα με τις φυσιολογικές και παθολογικές (υψηλές) τιμές των HbA1c και RDW, οι ασθενείς χωρίστηκαν σε ομάδες, εφαρμόστηκε το χ^2 test και διαπιστώθηκε ότι στα άτομα με παθολογική (υψηλή) τιμή RDW, η πιθανότητα εμφάνισης υψηλής τιμής HbA1c ήταν 1.7 φορές μεγαλύτερη από ότι σε εκείνα με φυσιολογική τιμή RDW (Odds Ratio= 1.727, 95% CI: 1.093 – 2.730, $p = 0.018$).

Συμπεράσματα: Τα αποτελέσματα αυτής της αναδρομικής μελέτης δείχνουν σημαντική θετική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων της HbA1c και του RDW. Το RDW, μία σημαντική παράμετρος της γενικής αίματος, θα μπορούσε να συμβάλλει στην εκτίμηση του κινδύνου εμφάνισης σακχαρώδη διαβήτη και στην παρακολούθηση διαβητικών ασθενών.

ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΧΑΜΗΛΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΑΝΟΡΓΑΝΩΝ ΦΩΣΦΟΡΙΚΩΝ ΚΑΙ ΤΗΣ C-ΑΝΤΙΔΡΩΣΑΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΟΞΕΙΑ ΛΟΙΜΩΞΗ

**Μ. Τσιγαριδάκη¹, Ε. Φαρσαράκη¹, Σ. Πατιάκας², Α. Παπαγιαννάκη¹, Α. Αθανασούλια²,
Κ. Παπουτσή³, Φ. Αθουσάκη-Νεονάκη¹**

¹ Εργαστήριο Βιοχημείας, Γενικό Νοσοκομείο Ηρακλείου «Βενιζέλειο – Πανάνειο», Ηράκλειο, Κρήτη

² Μικροβιολογικό Εργαστήριο, Γενικό Νοσοκομείο Θεσσαλονίκης «Ο Άγιος Δημήτριος», Θεσσαλονίκη

³ Ιδιώτης Γιατρός

Εισαγωγή: Η υποφωσφαταιμία παρατηρείται συχνά σε ασθενείς με οξεία μικροβιακή λοίμωξη κυρίως από gram αρνητικά βακτηρίδια.

Σκοπός συσχέτιση χαμηλών επιπέδων συγκέντρωσης ανόργανου φωσφόρου και αυξημένων τιμών C- αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP) σε ορούς ασθενών.

Υλικό και Μέθοδος: Επιλέχθηκαν 170 δείγματα ορών της παιδιατρικής κλινικής και τα επείγοντα παιδιατρικά ιατρεία με CRP >5,0 mg/dl. Σε αυτά έγιναν και μετρήσεις φωσφόρου (Pi). Τόσο η CRP όσο και ο φωσφόρος μετρήθηκαν σε αυτόματο αναλυτή Architect, με την μέθοδο της φασματοφωτομετρίας. Φυσιολογικές τιμές CRP < 0,5 mg/dl και φωσφόρου 2,3-4,7 mg/dl.

Αποτελέσματα: Σε 68 δείγματα αίματος με τιμές CRP >5,0 mg/dl, ανιχνεύτηκε υποφωσφαταιμία με τις χαμηλότερες τιμές στα δείγματα με τις υψηλότερες τιμές CRP ενώ συχνά υποχωρούσε μετά τη σταθεροποίηση των επιπέδων της CRP στον ορό.

Συμπέρασμα: υποφωσφαταιμία αποτελεί συχνό εύρημα σε δείγματα αίματος ασθενών με οξεία λοίμωξη. Το γεγονός ότι παρατηρείται κατά τη φάση ανόδου των επιπέδων της CRP και αποκαθίσταται προτού αυτά επανέλθουν στα φυσιολογικά όρια, σημαίνει ότι η συγκέντρωση του φωσφόρου πιθανόν πλεονεκτεί συγκριτικά με την CRP ως δείκτης παρακολούθησης μιας λοίμωξης.

ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΠΡΩΙΝΗΣ ΤΙΜΗΣ ΓΛΥΚΟΖΗΣ ΚΑΙ ΓΛΥΚΙΩΜΕΝΗΣ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗΣ ΣΕ ΑΤΟΜΑ ΜΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΕΣ ΜΟΡΦΕΣ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗΣ

Μ. Καπετανά, Ι. Σδράνης, Σ. Τσίγκα, Γ. Χασιώτης, Ε. Μπαϊρακτάρη, Γ. Κολιός

Βιοχημικό Εργαστήριο, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Ιωαννίνων, Ιωάννινα

Εισαγωγή: Ο προσδιορισμός της γλυκιωμένης αιμοσφαιρίνης αποτελεί την καλύτερη απόδοση των μέσων τιμών γλυκόζης τριμήνου. Η παρουσία όμως παθολογικών μορφών αιμοσφαιρίνης με διαφορετικό χρόνο ημιζωής είναι προφανές ότι θα πρέπει να λαμβάνεται σοβαρά υπόψη κατά την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων.

Σκοπός: Η διερεύνηση της συσχέτισης των πρωινών τιμών γλυκόζης και γλυκιωμένης αιμοσφαιρίνης παρουσία διαφορετικών μορφών αιμοσφαιρίνης και η πιθανή επίδραση τους στην αξιολόγηση των μέσων τιμών γλυκόζης τριμήνου με βάση τον προσδιορισμό της HbA1c.

Υλικά και Μέθοδοι: Μελετήθηκε αναδρομικά η συσχέτιση των πρωινών τιμών γλυκόζης (AU5820/Beckman-Coulter) και γλυκιωμένης αιμοσφαιρίνης (VARIANTII/BIORAD) σε δείγματα ασθενών: α. με παθολογικές μορφές αιμοσφαιρίνης (I), β. παρουσία αυξημένων ποσοστών εμβρυικής αιμοσφαιρίνης (II), και γ. παρουσία της κορυφής P3 (III), σε σχέση με άτομα με φυσιολογική αιμοσφαιρίνη. Χρησιμοποιήθηκαν τα δεδομένα του LIS(Πληροφορική Ελλάδος) του Εργαστηρίου των δύο προηγούμενων ετών (ομάδες I & II) ή των δύο τελευταίων μηνών (φυσιολογικά άτομα και ομάδα III).

Αποτελέσματα: Ο παρακάτω πίνακας εμφανίζει τα χαρακτηριστικά της συσχέτισης και της εξίσωσης γραμμικής παλινδρόμησης μεταξύ της HbA1c και της γλυκόζης της ίδιας αιμοληψίας για τις τέσσερις διαφορετικές ομάδες πληθυσμού.

Όπως προκύπτει από τις τιμές του πίνακα την καλύτερη συσχέτιση μεταξύ της τιμής γλυκόζης και HbA1c εμφανίζουν οι ασθενείς της ομάδας I(παθολογική μορφή αιμοσφαιρίνης) και την χειρότερη οι ασθενείς της ομάδας II(αυξημένη συγκέντρωση εμβρυικής αιμοσφαιρίνης). Επιπλέον, η παρουσία παθολογικής μορφής αιμοσφαιρίνης συνδέεται με χαμηλότερη τιμή HbA1c για την ίδια τιμή γλυκόζης και αντίστροφα η παρουσία της κορυφής P3 με ψηλότερη τιμή HbA1c για την ίδια τιμή γλυκόζης. Η παρουσία αυξημένης ποσότητας εμβρυικής αιμοσφαιρίνης δεν φαίνεται να επηρεάζει την συσχέτιση των δύο μεγεθών αλλά εμφανίζει μεγαλύτερη διασπορά τιμών.

Συμπεράσματα: Από τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης προκύπτει ότι διαφορετικές ομάδες ασθενών εμφανίζουν διαφορετική συσχέτιση μεταξύ HbA1c και γλυκόζης, που θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη κατά την αξιολόγηση των μέσων επιπέδων γλυκόζης τριμήνου με την μέτρηση της συγκέντρωσης της HbA1c.

Ομάδα ασθενών	N	Εξίσωση συσχέτισης HbA1c%=a*Gluc+b	Συντελεστής Pearson (R)	Τυπικό σφάλμα
Φυσιολογικός πληθυσμός	975	0,016x+4,35	0,510	0,734
Ομάδα I	76	0,026x+2,94	0,691	0,906
Ομάδα II	45	0,016x+4,32	0,373	1,028
Ομάδα III	554	0,017x+4,53	0,453	1,053

ΜΕΛΕΤΗ ΤΡΙΓΛΥΚΕΡΙΔΙΩΝ ΣΕ ΑΝΔΡΕΣ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΕΣ ΣΕ ΣΧΕΣΗ ΜΕ ΤΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΓΛΥΚΟΖΙΟΜΕΝΗΣ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗΣ (HbA1c) ΤΗΝ ΠΕΡΙΟΔΟ 2014-2017

**Μ. Τσιγαριδάκη¹, Ε. Φαρσαράκη¹, Σ. Πατιάκας², Α. Παπαγιαννάκη¹,
Κ. Παπουτσή³, Α. Αθανασούλια², Φ. Αθουσάκη-Νεονάκη¹**

¹ Εργαστήριο Βιοχημείας, Γενικό Νοσοκομείο Ηρακλείου «Βενιζέλιο – Πανάνειο», Ηράκλειο, Κρήτη

² Μικροβιολογικό Εργαστήριο, Γενικό Νοσοκομείο Θεσσαλονίκης «Ο Άγιος Δημήτριος», Θεσσαλονίκη

³ Ιδιώτης Γιατρός

Εισαγωγή: Ο σακχαρώδης διαβήτης χαρακτηρίζεται από μια χρόνια διαταραχή του μεταβολισμού των υδατανθράκων, που συχνά συνοδεύεται επίσης από διαταραχή του μεταβολισμού πρωτεϊνών και λιπιδίων. Αυτή αποτελεί μια από τις αιτίες αθηροσκλήρυνσης που συνοδεύει τους διαβητικούς ασθενείς και προσβάλλει τόσο τα στεφανιαία όσο και τα περιφερικά αγγεία.

Σκοπός: Στην παρούσα μελέτη καταγράφονται οι τιμές της HbA1c και τριγλυκεριδίων σε πληθυσμό που ελέγχθηκε στο εργαστήριό μας την περίοδο 2014-2017

Υλικό και Μέθοδος: Τα δείγματα της HbA1c που εξετάστηκαν στο εργαστήριό μας την περίοδο 2014 έως 2017 ήταν 8769 εκ των οποίων 4,139 άνδρες και 4630 γυναίκες και χωρίστηκαν σε τέσσερις ομάδες με βάση την τιμή της HbA1c,

A) HbA1c 4,01 - 6,00% B) HbA1c 6,01-7,00% Γ) HbA1c 7,01- 8,00% ΓΔ) HbA1c ≥ 8,01%

Η HbA1c μετρήθηκε στον αναλυτή Adams με HPLC (Υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης), με φυσιολογικές τιμές 4-6%. Τα τριγλυκερίδια μετρήθηκαν σε αναλυτή Architect με φυσιολογικές τιμές < 150 mg/dl.

Αποτελέσματα και συμπέρασμα:

	ΟΡΙΑ/ HbA1c	ΑΤΟΜΑ	ΠΟΣΟΣΤΟ	ΤΡΙΓΛΥΚΕΡΙΔΙΑ/Μ.Τ.
Άνδρας	4,01 - 6,00	1.678	40,54%	135,10
Άνδρας	6,01 - 7,00	876	21,16%	148,85
Άνδρας	7,01 - 8,00	988	23,87%	164,70
Άνδρας	8,01 +	597	14,42%	221,61
Άνδρας	Total	4.139	100,00%	157,59
Γυναίκα	4,01 - 6,00	2.137	46,16%	119,25
Γυναίκα	6,01 - 7,00	1.021	22,05%	144,26
Γυναίκα	7,01 - 8,00	1.013	21,88%	156,80
Γυναίκα	8,01 +	459	9,91%	182,39
Γυναίκα	Total	4.630	100,00%	139,26

Τα αποτελέσματα αυτά καταδεικνύουν ότι όσο λιγότερο κοντά στις αποδεκτές τιμές είναι τιμή της HbA1c(>7%) τόσο μεγαλύτερη είναι η μέση τιμή των τριγλυκεριδίων και ιδιαίτερα στους άνδρες. Αυτό κυρίως οφείλεται στη μείωση της ινσουλίνης στον Σ.Δ. η οποία αναστέλλει τη δράση της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης (LPL) που αποσπά λιπαρά οξέα από τα τριγλυκερίδια με συνέπεια την υπερτριγλυκεριδαιμία. Η υπερτριγλυκεριδαιμία και η κακή ρύθμιση του Σ.Δ. συναντάται σε σχετικά μεγαλύτερα ποσοστά στους άνδρες. Όμως λόγω του υψηλού κινδύνου αγγειοπάθειας-αθηρωμάτωσης-στεφανιαίας νόσου αυτών των ασθενών είναι επιτακτική η ανάγκη καλής ρύθμισης του Σ.Δ. καθώς και του λιπιδαιμικού προφίλ.

ΜΕΛΕΤΗ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΑΥΞΗΜΕΝΕΣ ΤΙΜΕΣ ΑΜΜΩΝΙΑΣ (NH₃) ΟΡΟΥ ΚΑΙ ΤΑΥΤΟΧΡΟΝΗ ΜΕΤΡΗΣΗ ΤΩΝ ΗΠΑΤΙΚΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ (SGPT & SGOT) ΣΤΟΝ ΟΡΟ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ ΑΥΤΩΝ

Μ. Τσιγαριδάκη¹, Ε. Φαρσαράκη¹, Σ. Πατιάκας², Γ. Χατζηανέστης¹,
Κ. Παπουτσή³, Α. Αθανασούλια², Φ. Αθουσάκη-Νεονάκη¹

¹ Εργαστήριο Βιοχημείας, Γενικό Νοσοκομείο Ηρακλείου «Βενιζέλειο – Πανάνειο», Ηράκλειο, Κρήτη

² Μικροβιολογικό Εργαστήριο, Γενικό Νοσοκομείο Θεσσαλονίκης «Ο Άγιος Δημήτριος», Θεσσαλονίκη

³ Ιδιώτης Γιατρός

Εισαγωγή: Αμμωνία στο περιφερικό αίμα βρίσκεται σε πολύ μικρή ποσότητα. Κύρια πηγή αμμωνίας στο περιφερικό αίμα είναι ο γαστρεντερικός σωλήνας όπου γίνεται η διάσπαση των αμινοξέων και των άλλων αζωτούχων ουσιών του περιεχόμενου του παχέος εντέρου και της γλουταμίνης στο λεπτό και το παχύ έντερο, με τη δράση των πρωτεολυτικών ένζυμων όπως οι πρωτεάσες, οι αμινοξειδάσες και η ουρεάση, ένζυμο που παράγεται από τα μικρόβια της μικροβιακής χλωρίδας του εντέρου. Η αμμωνία αυτή απορροφάται από το εντερικό επιθήλιο και φέρεται στο ήπαρ μέσω της πυλαίας φλέβας. Εκεί πέφτει στο μεταβολικό κύκλο των krebs-Henseleit όπου χρησιμοποιείται στη σύνθεση της ουρίας που αποβάλλεται κατόπιν από το νεφρό με τα ούρα. Εάν κάποια διαταραχή εμποδίσει την φυσιολογική μετατροπή, η αμμωνία συσσωρεύεται στο αίμα. Τοξικά επίπεδα αμμωνίας στο αίμα οδηγούν σε **ηπατική εγκεφαλοπάθεια**. Η μέτρηση της αμμωνίας μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να καθοριστεί **αν η δυσλειτουργία του ήπατος είναι η αιτία συμπτωμάτων** όπως σύγχυση, υπερβολική υπνηλία, κώμα ή τρόμος. Μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί για την παρακολούθηση της αποτελεσματικότητας της θεραπείας **για νόσους του ήπατος, όπως η κίρρωση**.

Σκοπός: Η καταγραφή και μελέτη των αυξημένων τιμών της αμμωνίας ορού σε σύγκριση με τιμές δεικτών ηπατικής λειτουργίας όπως πυροσταφυλική (SGOT) και Οξαλοξικής τρανσαμίνωσης (SGPT).

Υλικό και μέθοδος: Το υλικό της εργασίας αποτελούν 48 άτομα άνδρες και γυναίκες με αυξημένες τιμές αμμωνίας >123mg/dl (Φ.Τ. 31-123mg/dl). Μετρήθηκαν και οι τιμές της SGOT (Φ.Τ. 5-35) και SGPT (Φ.Τ. 0-55). Η μέτρηση της Αμμωνίας έγινε με την μέθοδο της Γλουταμινικής αφυδρογονάσης (GLDH) και η SGPT & SGOT με ενζυμική μέθοδο. Οι μετρήσεις έγιναν σε αναλυτές Architect

Αποτέλεσμα: Από τους 48 ασθενείς με αυξημένα επίπεδα αμμωνίας, οι 20 (ποσοστό 41,67%) είχαν αυξημένες τιμές SGOT και οι 16 (ποσοστό 33,33%) αυξημένες τιμές SGPT

Συμπέρασμα: Οποιαδήποτε βαριάς μορφής ηπατοπάθεια λοιμώδους, τοξική, φαρμακευτική και ιογενής μπορεί να συνοδεύεται από αυξημένες τιμές αμμωνίας ορού. Οι αυξημένες τιμές αμμωνίας ορού είναι ένα στοιχείο για τον κλινικό ιατρό για την άμεση αντιμετώπιση των ηπατοπαθειών ασθενών προς αποφυγή της πλέον επείγουσας κατάστασης φερόμενης ως ηπατική εγκεφαλοπάθεια.

ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΤΩΝ ΤΑΙΝΙΩΝ ΟΥΡΩΝ ΜΕ ΘΕΤΙΚΕΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΟΥΡΩΝ ΣΤΟ Π.Γ.Ν.ΤΡΙΠΟΛΗΣ

Χ. Καμινιώτη, Ε. Παπαγεωργίου, Ε. Βιδάκη, Μ. Παπαδοπούλου

Μικροβιολογικό Εργαστήριο, Γενικό Παναρκαδικό Νοσοκομείο Τρίπολης “Η Ευαγγελίστρια”, Τρίπολη

Εισαγωγή : Οι ουρολοιμώξεις αποτελούν τη πιο συχνή λοίμωξη σε ασθενείς της κοινότητας και συμβάλλει στην αύξηση του κόστους της άμεσης ιατρικής περίθαλψης κάθε χρόνο. Επιπλέον, το 20% των γυναικών μετά το πρώτο επεισόδιο κυστίτιδας εμφανίζουν συχνά υποτροπές. Το stick ούρων αποτελεί μια άμεση, γρήγορη και φθηνή εξέταση για την πρώτη εικόνα τυχόν ουρολοίμωξης στους ασθενείς.

Σκοπός: Σκοπός της μελέτης είναι η ανάδειξη της αξιοπιστίας των χημικών χαρακτήρων των ταινιών μέτρησης ούρων σε σχέση με τις θετικές καλλιέργειες ούρων.

Υλικό και Μέθοδοι: Το υλικό αποτέλεσαν 3100 θετικές καλλιέργειες ούρων και ισάριθμες γενικές ούρων που μελετήθηκαν στο Μικροβιολογικό Εργαστήριο του Π.Γ.Ν. Τρίπολης από εξωτερικούς αλλά και νοσηλεύόμενους ασθενείς κατά τη τριετία 2016-2018. Χρησιμοποιήθηκαν ταινίες URS-10T 10 χημικών παραμέτρων της εταιρείας Healgen, U.S.A ενώ μελετήθηκαν : η αντίδραση της εστεράσης για τα λευκοκύτταρα, η αντίδραση της Griess για τα νιτρώδη και η αντίδραση της ψευδοϋπεροξειδάσης για την παρουσία αιμοσφαιρίνης-ερυθρών. Οι καλλιέργειες έγιναν σε συνήθη θρεπτικά υλικά (αιματούχο- Mac Conkey No2 της OXOID) και θετικές θεωρήθηκαν όλες όσες ο αριθμός των αποικιών ήταν πάνω από 10^5 CFU/MI.

Αποτελέσματα: Από τα 3100 θετικά δείγματα τα 2426 (78,3 %) αφορούσαν εξωτερικούς ασθενείς και τα 674 (21,7 %) νοσηλευόμενους κυρίως της ουρολογικής, παθολογικής, παιδιατρικής και χειρουργικής κλινικής. Από τα αποτελέσματα των 3100 δειγμάτων γενικής ούρων , τα 2633 (84,9 %) έδωσαν στοιχεία στο stick ενώ τα 467 (15,1%) ήταν αρνητικά. Στον παρακάτω πίνακα φαίνεται ο αριθμός των δειγμάτων ανά θετική αντίδραση.

Αντίδραση λευκοκυτταρικής εστεράσης (+)	Αντίδραση Griess (+)
2231 δείγματα ούρων (84,7%)	2010 δείγματα ούρων (76,3 %)

Συμπέρασμα: Η γενική ούρων είναι μια ταχεία και φθηνή μέθοδος για την αρχική εκτίμηση μιας ουρολοίμωξης. Η ευαισθησία των ταινιών εξέτασης ούρων είναι πολύ υψηλή όσον αφορά και τις δύο αντιδράσεις ανίχνευσης πυοσφαιρίων και νιτρωδών ουσιών (Griess) για την ποιοτική ανίχνευση μικροβίων. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την ανάδειξή τους σε χρήσιμα εργαλεία για τη διάγνωση λοίμωξης του ουροποιητικού συστήματος όταν δεν υπάρχει διαθέσιμο μικροβιολογικό εργαστήριο.

ΛΙΠΙΔΑΙΜΙΚΟ ΠΡΟΦΙΛ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΣΑΚΧΑΡΩΔΗ ΔΙΑΒΗΤΗ ΤΥΠΟΥ II

Μ. Τσιγαριδάκη¹, Ε. Φαρσαράκη¹, Σ. Πατιάκας², Κ. Παπουτσή³,
Φ. Αθουσάκη-Νεονάκη¹

¹ Εργαστήριο Βιοχημείας, Γενικό Νοσοκομείο Ηρακλείου «Βενιζέλειο – Πανάνειο», Ηράκλειο, Κρήτη

² Μικροβιολογικό Εργαστήριο, Γενικό Νοσοκομείο Θεσσαλονίκης «Ο Άγιος Δημήτριος», Θεσσαλονίκη

³ Ιδιώτης Γιατρός

Εισαγωγή: Ο Σ.Δ. τύπου II συνδέεται με αυξημένο κίνδυνο αθηρωμάτωσης και Στεφανιαίας Νόσου η οποία αποτελεί και τη κυριότερη αιτία θανάτου σε αυτούς τους ασθενείς. Οι διαταραχές της μεταβολικής ισορροπίας των λιπιδίων στο αίμα στον Σ.Δ. II συμβάλλουν στον αυξημένο κίνδυνο αθηρωμάτωσης.

Σκοπός: Η μελέτη της δυσλιπιδαιμίας σε ασθενείς με Σ.Δ. II σε συνάρτηση με την HbA1c και το σάκχαρο αίματος.

Υλικό και Μέθοδοι: 522 ασθενείς με Σ.Δ. II οι οποίοι χωρίστηκαν σε δύο ομάδες ανάλογα με την τιμή της HbA1c. Την πρώτη ομάδα αποτέλεσαν 381 ασθενείς με Σ.Δ. με HbA1c 6,3 - 8,0 (Μ.Τ.: 7,0%) και την δεύτερη 141 ασθενείς με Σ.Δ. με HbA1c >8,01 (Μ.Τ.: 10,96%) .Και στις δύο ομάδες (522 άτομα) υπήρχαν μετρήσεις Glu, Chol, HDL, LDL και TG

Η HbA1c μετρήθηκε με την HPLC (υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης -μέθοδος αναφοράς-στον αναλυτή G8 Variant) και το λιπιδαιμικό προφίλ με φασματοφωτομετρία στον αναλυτή Architect.

Αποτελέσματα και συμπεράσματα:

Ομάδα	Glu M.T.(mg/dl)	Chol M.T.(mg/dl)	HDL M.T.(mg/dl)	LDL M.T.(mg/dl)	TG M.T.(mg/dl)
A(381 άτομα) HbA1c:6,30%- 8,0% Μ.Τ.: 7,0%	165,34	211,72	41,51	139,61	197,38
B(141 άτομα) HbA1c > 8,01% Μ.Τ.:10,96%	211,30	269,91	35,09	172,39	226,55

Από τη μελέτη μας η οποία συμφωνεί με παρόμοιες μελέτες καταδεικνύεται ότι οι διαταραχές των λιπιδίων στον Σ.Δ. παρουσιάζονται σαφώς βελτιωμένες όταν υπάρχει καλύτερη ρύθμιση του Σ.Δ. τόσο με φαρμακευτική αγωγή όσο και με υπολιπιδαιμική δίαιτα ή και χορήγηση υπολιπιδαιμικών φαρμάκων.

ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΙΜΩΝ ΓΛΥΚΟΖΙΟΜΕΝΗΣ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗΣ (HbA1c) ΣΕ ΑΝΔΡΕΣ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΕΣ ΗΛΙΚΙΑΣ 23-50 ΕΤΩΝ το 2014 και 2017

**Μ. Τσιγαριδάκη¹, Ε. Φαρσαράκη¹, Σ. Πατιάκας², Α. Παπαγιαννάκη¹,
Κ. Παπουτσή³, Φ. Αθουσάκη-Νεονάκη¹**

¹ Εργαστήριο Βιοχημείας, Γενικό Νοσοκομείο Ηρακλείου «Βενιζέλειο – Πανάνειο», Ηράκλειο, Κρήτη

² Μικροβιολογικό Εργαστήριο, Γενικό Νοσοκομείο Θεσσαλονίκης «Ο Άγιος Δημήτριος», Θεσσαλονίκη

³ Ιδιώτης Γιατρός

Εισαγωγή: Η HbA1c είναι μια σταθερή ένωση της γλυκόζης με την A1 αιμοσφαιρίνη που παραμένει αδιάσπαστη καθ' όλη τη διάρκεια ζωής του ερυθρού αιμοσφαίριου και αποτελεί σημαντικό βιοδείκτη της γλυκαιμικής στάθμης τις προηγούμενες 120 μέρες (μέσος χρόνος ζωής των ερυθρών αιμοσφαιρίων). Η μέτρηση της HbA1c αποτελεί ένα σοβαρά αξιολογήσιμο μεταβολικό μέτρο της ρύθμισης του Σ.Δ αλλά και διερεύνησης και εντόπισης μη διαγνωσθέντος διαβήτη, προκειμένου να προληφθούν οι σοβαρές επιπλοκές του.

Σκοπός: Στην παρούσα μελέτη καταγράφονται οι τιμές της HbA1c σε πληθυσμό ηλικίας 23-50 ετών που ελέγχθηκε στο εργαστήριό μας κατά τα έτη 2014 και 2017 και γίνεται μελέτη και σύγκριση των τιμών της HbA1c στα παραπάνω έτη.

Υλικό και Μέθοδος: Υλικό μελέτης αποτέλεσε η ηλικιακή ομάδα 23-50 ετών άνδρες και γυναίκες. Τα δείγματα της HbA1c που εξετάστηκαν στο εργαστήριό μας την έτη 2014 και 2017 ήταν το 2014, 121 άνδρες και 180 γυναίκες και το 2017 182 άνδρες και 262 γυναίκες και χωρίστηκαν σε τέσσερις ομάδες με βάση την τιμή της HbA1c, Α) HbA1c 4,01-6,00 Β) HbA1c 6,01-7,00 % Γ) HbA1c 7,01- 8,00% Δ) HbA1c ≥ 8,01%. Η HbA1c μετρήθηκε στον αναλυτή Adams με HPLC (Υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης)

Αποτελέσματα και συμπεράσματα:

ΟΡΙΑ HbA1c	2014 ΑΝΔΡΕΣ		2017 ΑΝΔΡΕΣ		ΟΡΙΑ HbA1c	2014 ΓΥΝΑΙΚΕΣ		2017 ΓΥΝΑΙΚΕΣ	
	ΑΤΟΜΑ	HbA1c%	ΑΤΟΜΑ	HbA1c%		ΑΤΟΜΑ	HbA1c%	ΑΤΟΜΑ	HbA1c%
4,01-6,00	80	66,12%	105	57,69%	4,01-6,00	130	72,22%	156	69,03%
6,01-7,00	16	13,22%	34	18,68%	6,01-7,00	28	15,56%	39	17,26%
7,01- 8,00	12	9,92%	14	7,69%	7,01- 8,00	6	3,33%	12	5,31%
≥ 8,01	13	10,74%	29	15,93%	≥ 8,01	16	8,89%	19	8,41%
TOTAL	121	100,00%	182	100,00%	TOTAL	180	100,00%	262	100,00%

Συγκριτικά παρατηρούμε αύξηση τον ατόμων που έχουν προσέλθει για έλεγχο της HbA1c στο εργαστήριό μας το 2017 σε σχέση με το 2014. Οι γυναίκες είναι σε μεγαλύτερο αριθμό και ελέγχουν καλύτερα τα επίπεδα σακχάρου από ότι οι άνδρες.

AA37

ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ TARDBP DNA ΠΑΡΑΛΛΑΓΩΝ ΣΕ ΕΛΛΗΝΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΜΕΤΩΠΟΚΡΟΤΑΦΙΚΗ ΑΝΟΙΑ ΚΑΙ ΣΕ ΥΓΙΗ ΠΛΗΘΥΣΜΟ

Ε. Χαρωνίτη¹, Β. Παπαστεφανοπούλου^{1,2}, Χ. Φλώρου-Χατζηγιαννίδου¹, Χ. Κόρος²,
Ε. Στανίτσα², Ι. Παπατριανταφύλλου², Σ. Παπαγεωργίου², Χ. Κρούπης¹

¹Εργαστήριο Κλινικής Βιοχημείας, Αττικών Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

²Μονάδα Νοητικών Διαταραχών & Άνοιας, Β' Νευρολογική Κλινική, Ιατρική Σχολή Αττικών Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Σκοπός: Η ανάπτυξη καινοτόμου, ταχείας και αξιόπιστης μεθοδολογίας για την ανίχνευση σημειακού νουκλεοτιδικού πολυμορφισμού (SNP) p.Ile383Val (rs80356740, c.1147A>G) του *TARDBP* γονιδίου και η αξιολόγηση της σε Έλληνες ασθενείς με μετωποκροταφική άνοια (FTD, Frontotemporal Dementia), ώστε να προσδιοριστεί εάν αυτή η DNA παραλλαγή αποτελεί ιδρυτική μετάλλαξη.

Υλικά και μέθοδοι: Απομονώθηκε γενωμικό DNA από το περιφερικό αίμα συνολικά 133 Ελλήνων ασθενών με FTD, -ύστερα από ενημέρωση και ενυπόγραφη συγκατάθεσή τους- καθώς και από 60 δείγματα υγείων ατόμων. Σχεδιάστηκε μεθοδολογία Real-Time qPCR στην πλατφόρμα του LightCycler με τη χρήση ανιχνευτών ειδικών για την *TARDBP* παραλλαγή και στην συνέχεια ανάλυση καμπύλης τήξεως. Η επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων έγινε σε επιλεγμένα δείγματα με την μέθοδο DNA αλληλούχισης κατά Sanger. Στη συνέχεια χρησιμοποιήθηκαν προγράμματα βιοπληροφορικής για την αξιολόγηση της παραλλαγής και πιθανώς το χαρακτηρισμό της ως παθογενωμική ή όχι.

Αποτελέσματα: Η μεθοδολογία επιδείκνυε άριστη PCR απόδοση ($E=2,06$), αναπαραγωγιμότητα ($CV\%<3,5\%$) και ειδικότητα στην γονοτύπηση (Tm A αλληλίου 55,26 και G αλληλίου 65,82, $\Delta Tm=9,61$, $CV\%<2,5\%$). Η ανάλυση των καμπυλών τήξης της μεθόδου Real-Time qPCR επέτρεψε την αξιόπιστη ανίχνευση της παραλλαγής p.Ile383Val του γονιδίου *TARDBP* σε 5 ασθενείς FTD σε ετεροζυγωτία ενώ βρέθηκε και σε 1 δείγμα ελέγχου. Τα αποτελέσματα των προγραμμάτων βιοπληροφορικής ήταν αμφιλεγόμενα καθώς κάποια χαρακτηρίζουν την παραλλαγή ως μη-επιβλαβή ενώ άλλα την χαρακτηρίζουν ως υψηλά συντηρημένη και συνεπώς παθογόνο.

Συμπεράσματα: Καθώς από τους 5 ασθενείς που βρέθηκαν θετικοί για την παραλλαγή p.Ile383Val του γονιδίου *TARDBP*, 3 εμφάνισαν τον κλινικό φαινότυπο της σημασιολογικής FTD, ένας την συμπεριφορική FTD και μια ασθενής παρουσίασε συμπτώματα που εμπίπτουν σε περισσότερες από μία κατηγορίες, πιθανόν να σχετίζεται η συγκεκριμένη γονιδιακή παραλλαγή με την εμφάνιση της σημασιολογικής FTD. Οι 4 από τους 5 ασθενείς ήταν άρρενες οπότε εγείρεται το ερώτημα εάν το φύλο αποτελεί καθοριστικής σημασίας παράγοντα. Ο αριθμός των δειγμάτων είναι περιοριστικός ώστε να θεωρηθεί η παραλλαγή ως μετάλλαξη, ωστόσο διαπιστώθηκε μια ισχυρή ένδειξη, δεδομένου ότι η συχνότητα εμφάνισης του αλληλομόρφου αγγίζει μόλις το 0,002% στο γενικό Ευρωπαϊκό πληθυσμό ενώ παρουσιάστηκε στο 3,76% του δείγματος της παρούσας μελέτης. Απαιτούνται περαιτέρω λειτουργικές μελέτες για το χαρακτηρισμό της παραλλαγής ως παθογενωμικής μετάλλαξης.

ΜΕΛΕΤΗ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΑΝΔΡΟΓΟΝΙΚΟΥ ΥΠΟΔΟΧΕΑ ΚΑΙ ΤΩΝ ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΩΝ ΜΕΤΑΓΡΑΦΩΝ AR-V7 ΚΑΙ AR-567ES ΣΕ ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΝΤΑ ΚΑΡΚΙΝΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΚΑΙ ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΑ ΕΞΩΣΩΜΑΤΑ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΜΕΤΑΣΤΑΤΙΚΟ ΕΥΝΟΥΧΟΑΝΤΟΧΟ ΚΑΡΚΙΝΟ ΠΡΟΣΤΑΤΗ

Α. Στρατή¹, Μ. Ζαβρίδου¹, Ε. Μπουρνάκης², Σ. Μαστοράκη³, Ε. Λιανίδου¹

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

² Ογκολογική Μονάδα, 2ο Χειρουργικό Τμήμα, Αρεταίειο Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο, Ιατρική Σχολή, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

³ Analysis of Circulating Tumor Cells, Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

Εισαγωγή: Η έκφραση του εναλλακτικού μετάγραφου του ανδρογονικού υποδοχέα AR-V7 σε κυκλοφορούντα καρκινικά κύτταρα (CTCs) αποτελεί προγνωστικό βιοδείκτη που υποδεικνύει πρωτογενή ή επίκτητη αντοχή σε νέους αναστολείς σηματοδότησης του υποδοχέα των ανδρογόνων στον ευνουχοάντοχο μεταστατικό καρκίνο του προστάτη (mCRPC). Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε για πρώτη φορά το προφίλ έκφρασης των AR-FL, AR-V7 και AR-567es σε ποσοτικό επίπεδο σε CTCs και στα αντίστοιχα εξωσώματα που απομονώθηκαν από το πλάσμα ασθενών με mCRPC.

Μέθοδοι: Για πρώτη φορά αναπτύχθηκε και επικυρώθηκε αναλυτική μεθοδολογία πολλαπλής RT-qPCR για τη μελέτη της έκφρασης του AR (AR-FL) και των εναλλακτικών μεταγράφων AR-V7, AR-567es (Strati et al, Analyst, 2019). Στη συνέχεια, μελετήθηκαν τα επίπεδα έκφρασης του AR, AR-V7 και AR-567es και του γονιδίου αναφοράς B2M σε ErCAM+ CTC και στα αντίστοιχα εξωσώματα που απομονώθηκαν από το περιφερικό αίμα (20mL) 62 ασθενών με mCRPC και 10 υγιών αιμοδοτών. Η καταμέτρηση των CTC πραγματοποιήθηκε με το σύστημα CellSearch® (FDA cleared assay).

Αποτελέσματα: Στα CTCs το AR-FL ανιχνεύτηκε σε 64/69(92.3%), το AR-V7 σε 34/69(49.3%), το AR-567es σε 16/69(23.2%). Σε 52/69 δείγματα αναλύθηκαν τα αντίστοιχα εξωσώματα από το πλάσμα. Το AR-FL ανιχνεύτηκε σε 40/52(76.9%), το AR-V7 σε 4/52(7.7%) και το AR-567 σε 2/52(3.8%). Σε όλες τις περιπτώσεις τα εναλλακτικά μετάγραφα βρέθηκαν να εκφράζονται σε υψηλότερα επίπεδα στα CTCs από τα αντίστοιχα εξωσώματα, ενώ το AR-V7 ανιχνεύτηκε σε υψηλότερα ποσοστά από ότι το AR-567es. Με το σύστημα CellSearch®, τα CTC ανιχνεύτηκαν σε 52/69(75.4%) δείγματα ασθενών με mCRPC; 27/52(51.9%) από αυτά τα δείγματα ήταν CTC+/AR-V7+ και 14/52(26.9%) ήταν CTC+/AR-567es+, ενώ 7/17(41.2%) ήταν CTC-/AR-V7+ και 2/17(11.8 %) ήταν CTC-/AR-567es+.

Συμπεράσματα: Τα αποτελέσματά μας υποδεικνύουν για πρώτη φορά μία μεγάλη ετερογένεια στα επίπεδα έκφρασης των AR-FL, AR-V7 και AR-567es σε ErCAM+ CTCs και τα αντίστοιχα εξωσώματα ασθενών με mCRPC. Η κλινική σημασία αυτού του ευρήματος θα διερευνηθεί περαιτέρω σε μεγαλύτερη ομάδα ασθενών σε σχέση με την ανταπόκριση στη θεραπεία.

ΑΝΑΔΥΞΗ ΑΝΑΣΥΝΔΥΑΣΜΕΝΩΝ ΚΑΙ ΝΕΩΝ ΣΤΕΛΕΧΩΝ ΝΟΡΟΪΟΥ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΣΤΗΝ ΑΘΗΝΑ

Μ. Λαφαζάνη, Ν. Σιαφάκας, Γ. Χρονοπούλου, Σ. Πουρνάρας

Κλινική Μικροβιολογία, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών «Αττικόν», Αθήνα

Σκοπός: Η μελέτη είχε ως στόχο την καταγραφή της τρέχουσας τάσης των στελεχών των νοροϊών που κυκλοφορούν σε παιδιά στην Αθήνα.

Υλικό-Μέθοδοι: Κατά τη διάρκεια 19 μηνών (1/2016-7/2017), συλλέχθηκαν 35 στελέχη νοροϊών από παιδιατρικούς ασθενείς ηλικίας ενός μήνα μέχρι 14 ετών. Στη συνέχεια, κατά τη διάρκεια 12 μηνών (10/2017-10/2018), συλλέχθηκαν 25 δείγματα κοπράνων από ασθενείς ηλικίας 3 μηνών-40 ετών.

Όλα τα δείγματα επεξεργάστηκαν και ταυτοποιήθηκαν με βάση το γονίδιο της καψιδικής πρωτεΐνης VP1. Ακολούθησε συγκριτική φυλογενετική ανάλυση με αντίστοιχα στελέχη που κυκλοφορούν παγκοσμίως.

Αποτελέσματα: Ο GII.2 γονότυπος βρέθηκε ως επικρατέστερος (15/35, 42%). Ακολούθησε ο γονότυπος GII.4 (14/35, 40%), ενώ σε πολύ μικρότερα ποσοστά ανιχνεύθηκαν οι γονότυποι GII.6 (2/35, 6%) και GI.1 (2/35, 6%). Τέλος, δύο στελέχη ταυτοποιήθηκαν ως GII.3 (1/35, 3%) και GII.14 (1/35, 3%), αντίστοιχα. Έξι GII.4 στελέχη εμφάνισαν σημαντική γενετική απόκλιση από το πανδημικό στέλεχος 'Sydney 2012'. Όσον αφορά τα γενετικώς ανασυνδυασμένα στελέχη, οκτώ από τα 15 δείγματα, θετικά στον GII.2 γονότυπο, ταυτοποιήθηκαν ως GII.P16-GII.2 και ένα ως GII.P2-GII.2. Άλλοι ανασυνδυασμένοι τύποι νοροϊών (GII.Pe-GII.4, GII.P21-GII.4) εντοπίστηκαν σε πολύ μικρότερο αριθμό δειγμάτων, συγκεκριμένα σε ένα και δύο δείγματα, αντίστοιχα.

Όσο αφορά τα τελευταία 25 δείγματα, τα περισσότερα (20/25, 80%) ταυτοποιήθηκαν ως GII.4, εκ των οποίων τα 11 βρέθηκαν να είναι ανασυνδυασμένα. Συγκεκριμένα, εντοπίστηκαν οι GII.P16-GII.4 (8/25, 32%) και GII.Pe-GII.4 (3/25, 12%) ανασυνδυασμένοι γονότυποι. Δέκα GII.4 στελέχη εμφάνισαν σημαντική γενετική απόκλιση από το πανδημικό στέλεχος 'Sydney 2012'. Επιπρόσθετα ανιχνεύθηκε ένα στέλεχος θετικό στον GII.3 γονότυπο (4%). Τέλος, δυο δείγματα ταυτοποιήθηκαν ως GII.7 (8%) και άλλα δύο ως GII.6 (8%). Και τα δύο δείγματα που ανήκαν στον GII.6 γονότυπο ήταν ανασυνδυασμένα (GII.P7-GII.6).

Συμπεράσματα: Η παρούσα μελέτη αποτελεί δείγμα των επιδημιολογικών δεδομένων των νοροϊών στον ελληνικό χώρο. Απαραίτητη κρίνεται, ωστόσο, η συνεχής επιτήρηση για την εύρεση νέων γονοτύπων. Παρόλα αυτά, η θεματική ενότητα χρήζει περαιτέρω διερεύνησης.

Ε. Μπισούρης¹, Ε. Τσιαούση¹, Ε. Ζήνγκου¹, Γ. Κορδοπάτη¹, Π. Μαγκριώτης¹,
Γ. Παμπαλάκης², Γ. Σωτηροπούλου¹

¹ Τμήμα Φαρμακευτικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα

² Τμήμα Φαρμακευτικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης,
Θεσσαλονίκη

Σκοπός: Οι κλινικοί προσδιορισμοί πρωτεϊνών/ενζύμων συνήθως βασίζονται σε μεθοδολογίες που χρησιμοποιούν αντισώματα. Προσδιορίζουν τα επίπεδα πρωτεϊνών/ενζύμων χωρίς να παρέχουν πληροφορία για την ενεργότητα αυτών που ρυθμίζει την (παθο)φυσιολογία, μειονέκτημα που συχνά περιορίζει τη διαγνωστική αξία.

Υλικά-Μέθοδοι: Αναπτύχθηκαν ιχνηθέτες ενεργότητας (ABPs, activity-based probes) για τη χαρτογράφηση και ποσοτικοποίηση της ενεργότητας σερινοπρωτεασών με χρωμογόνα ρουτίνας. Συγκεκριμένα, συντέθηκε ένα νέο οργανοφωσφονικό παράγωγο βιοτίνης (B24P), το οποίο αναγνωρίζει ενεργές σερινοπρωτεάσες και αξιοποιήθηκε για την ανάπτυξη μιας νέας ιστοχημικής δοκιμής που ονομάστηκε «Ενεργογραφία» (Actinography) (Pampralakis et al. Chem Commun 53:3246-3248, 2017). Οργανοφωσφονικοί ABPs, ειδικοί για την πρωτεάση KLK7, σχεδιάστηκαν με μια νέα *in silico* προσέγγιση που περιλαμβάνει την ταυτοποίηση ειδικών υποστρωμάτων στη βάση δεδομένων MEROPS και χημική τροποποίηση ώστε να λειτουργούν διττά, δηλαδή ως ABPs και ως ειδικοί αναστολείς του ενζύμου-στόχου.

Αποτελέσματα: Ο ιχνηθέτης B24P χρησιμοποιήθηκε για τη μελέτη της ολικής σερινοπρωτεασικής ενεργότητας στην επιδερμίδα ποντικών *Spink5*^{-/-}, καθιερωμένο πρότυπο για το σύνδρομο Netherton, μιας πολύ σοβαρής ιχθύωσης. Η «Ενεργογραφία» συγκρίθηκε πλάι-πλάι με την *in situ* ζυμογραφία, τη μόνη διαθέσιμη μέθοδο για τον χωροταξικό ποσοτικό προσδιορισμό πρωτεολυτικών ενεργοτήτων σε ιστούς με συνεστιακή μικροσκοπία και χρήση φθορίζοντων υποστρωμάτων (BODIPY-καζεΐνη και ζελατίνη). Σημαντικό πλεονέκτημα της «Ενεργογραφίας» είναι ότι δεν απαιτεί πολύπλοκο εξοπλισμό και μπορεί εύκολα να ενσωματωθεί στη ρουτίνα του κλινικοχημικού εργαστηρίου. Οι ενεργότητες των σερινοπρωτεασών χαρτογραφήθηκαν και ποσοτικοποιήθηκαν με τον B24P σε ανθρώπινες δερματικές ασθένειες, όπως το σύνδρομο Netherton, η ατοπική δερματίτιδα, το APSS (acral peeling skin syndrome) κλπ. Ανακαλύφθηκε ότι τα επίπεδά της πρωτεόλυσης σχετίζονται με τη σοβαρότητα της ασθένειας (Zingkou et al. Exp Dermatol 28:86-89, 2019). Με τον ιχνηθέτη-αναστολέα KLK7-ABP ποσοτικοποιήθηκε η ενεργή KLK7 σε βιοψίες δέρματος ασθενών με σύνδρομο Netherton. Δεδομένου ότι ο ιχνηθέτης KLK7-ABP σχεδιάστηκε και ως αναστολέας αυτοκτονίας, υποθέσαμε ότι θα μπορούσε να έχει και θεραπευτική δράση. Πράγματι, εφαρμογή του KLK7-ABP στο δέρμα ποντικών *Spink5*^{-/-}/*Klk5*^{-/-}, όπου η KLK7 ενεργότητα είναι ασυνήθιστα υψηλή και υπεύθυνη για τα συμπτώματα, μείωσε σημαντικά την αποβολή και τη φλεγμονή.

Συμπεράσματα: Η «Ενεργογραφία» είναι μια καινοτόμος και εύκολη στην εφαρμογή ιστοχημική μεθοδολογία για τον προσδιορισμό ενζυμικών ενεργοτήτων με ποικίλες διαγνωστικές εφαρμογές. Περαιτέρω για πρώτη φορά προτείνεται ότι οι ιχνηθέτες-αναστολείς ενεργότητας μπορούν να αξιοποιηθούν ως θεραπευτικά εργαλεία (theranostics).

AA41
ΜΕΛΕΤΗ ΔΕΙΚΤΩΝ ΜΕΘΥΛΙΩΣΗΣ ΣΕ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΠΡΩΤΟΠΑΘΩΝ ΟΓΚΩΝ ΚΑΙ ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΟΥ
ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΝΤΟΣ ΚΑΡΚΙΝΙΚΟΥ DNA ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΟΡΩΔΗ ΚΑΡΚΙΝΟ ΩΟΘΗΚΩΝ ΥΨΗΛΟΥ ΒΑΘΜΟΥ
ΚΑΚΟΗΘΕΙΑΣ

Λ. Γιαννοπούλου¹, Κ. Γεωργιτσοπούλου¹, Ρ. Buderath², Α. Παυλάκη³, S. Kasimir-Bauer²,
Ε. Λιανίδου¹

¹ Εργαστήριο Ανάλυσης Κυκλοφορούντων Καρκινικών Κυττάρων, Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας, Τμήμα Χημείας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

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

³ Τμήμα Παθολογίας, Μαιευτική - Γυναικολογική Κλινική "ΙΑΣΩ", Αθήνα

Σκοπός: Ο καρκίνος των ωοθηκών χαρακτηρίζεται από ιστολογική και μοριακή ετερογένεια, με συχνότερο υπότυπο τον ορώδη καρκίνο ωοθηκών υψηλού βαθμού κακοήθειας (highgrade serous ovarian cancer, HGSC). Στον καρκίνο των ωοθηκών, υπερμεθυλίωση του DNA έχει ανιχνευθεί τόσο σε δείγματα πρωτοπαθών όγκων, όσο και σε κυκλοφορούν καρκινικό DNA (circulating tumor DNA, ctDNA). Η παρούσα εργασία έχει σκοπό τη μελέτη μεθυλίωσης 8 γονιδίων (*RASSF1A*, *ESR1*, *NR2F1*, *BRCA1*, *SOX17*, *RASSF10*, *CST6* και *MGMT*) σε δείγματα πρωτοπαθών όγκων και αντίστοιχου ctDNA ασθενών με HGSC.

Υλικό-μέθοδοι: Η μεθυλίωση των γονιδίων εξετάστηκε σε δύο ομάδες δειγμάτων ασθενών με HGSC: στην ομάδα Α (N=66 δείγματα πρωτοπαθών όγκων, κυρίως πρώιμου σταδίου) και στην ομάδα Β (N=61 δείγματα πρωτοπαθών όγκων και 58 αντίστοιχα δείγματα πλάσματος, κυρίως προχωρημένου σταδίου). Για την μελέτη της μεθυλίωσης, αναπτύχθηκαν εξαιρετικά ειδικές και ευαίσθητες μεθοδολογίες methylation-specific PCR σε πραγματικό χρόνο (real-time MSP).

Αποτελέσματα: Μεθυλίωση των γονιδίων παρατηρήθηκε και στις δύο ομάδες δειγμάτων πρωτοπαθών όγκων, σε διαφορετικές συχνότητες. Γενικότερα, στην ομάδα Α η μεθυλίωση για όλα τα γονίδια ανιχνεύτηκε σε υψηλότερα ποσοστά συγκριτικά με την ομάδα Β. Στα αντίστοιχα ctDNA της ομάδας Β, εξετάστηκε η μεθυλίωση των γονιδίων *RASSF1A*, *ESR1* και *NR2F1* και ανιχνεύτηκε σε ποσοστά 25,9%, 39,7% και 1,7%, αντίστοιχα. Επιπλέον, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση της μεθυλίωσης του *ESR1* στα δείγματα πρωτοπαθών όγκων και αντίστοιχου ctDNA (P=0,004). Στα δείγματα πρωτοπαθών όγκων της ομάδας Β, η μεθυλίωση των γονιδίων *RASSF1A* και *NR2F1* συσχετίστηκε σημαντικά με χειρότερες OS (P=0,049) και PFS (P<0,001), αντίστοιχα. Αντιθέτως, η παρουσία της μεθυλίωσης του γονιδίου *ESR1* συσχετίστηκε σημαντικά με καλύτερες OS (P=0,027) και PFS (P=0,041).

Συμπεράσματα: Τα αποτελέσματά μας καταδεικνύουν ότι η εκτίμηση της μεθυλίωσης συγκεκριμένων γονιδίων, δύναται να οδηγήσει σε συμπεράσματα αναφορικά με την πρόγνωση των ασθενών με καρκίνο ωοθηκών. Άμεσο στόχο μας αποτελεί η διερεύνηση της μεθυλίωσης των γονιδίων αυτών σε περισσότερα δείγματα ctDNA ασθενών με HGSC.

«Το έργο συγχρηματοδοτείται από την Ελλάδα και την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο) μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Ανάπτυξη Ανθρώπινου Δυναμικού, Εκπαίδευση και Διά Βίου Μάθηση», στο πλαίσιο της Πράξης «Ενίσχυση του ανθρώπινου ερευνητικού δυναμικού μέσω της υλοποίησης διδακτορικής έρευνας» (MIS-5000432), που υλοποιεί το Ίδρυμα Κρατικών Υποτροφιών (ΙΚΥ)»

ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΩΝ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ *PIK3CA* ΣΕ ΜΟΝΗΡΗ ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΝΤΑ ΚΑΡΚΙΝΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΩΝΤΑΣ ΤΟΝ ΣΥΝΔΥΑΣΜΟ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑΣ NAPA (NaME-PrO-assisted ARMS) ΚΑΙ ΤΗΣ DROPLET DIGITAL PCR

Δ. Στεργιοπούλου¹, Α. Μάρκου¹, Ε. Τζανίκου¹, L. Oomens², J. Broekmaat², A. Tibbe²,
B. Γεωργούλιας³, Ε. Λιανίδου¹

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

² Vycap Bv, Enschede, The Netherlands

³ Α' Ογκολογικό Τμήμα, ΙΑΣΩ General, Αθήνα

Εισαγωγή: Η παρουσία μεταλλάξεων του γονιδίου *PIK3CA* φαίνεται να είναι πιο συχνή στον μεταστατικό καρκίνο του μαστού και παίζει σημαντικό ρόλο στην ανταπόκριση σε μοριακά-στοχευμένες θεραπείες. Η ανάλυση μονήρων κυττάρων συμβάλλει σημαντικά στην μελέτη ετερογένειας στα CTCs και στην διερεύνηση του ρόλου στην μετάσταση και στην αντίσταση στη θεραπεία. Σκοπός της μελέτης ήταν η ανίχνευση μεταλλάξεων του γονιδίου *PIK3CA* (E545K, H1047R) σε μονήρη CTCs, που απομονώθηκαν μέσω του CellSearch® και του συστήματος VyCAP. Οι μεταλλάξεις του γονιδίου *PIK3CA* ανιχνεύθηκαν χρησιμοποιώντας την πρόσφατα αναπτυχθείσα, από το εργαστήριό μας, μεθοδολογία NAPA (Markou et al, Anal. Chemistry, 2019) που βασίζεται στο συνδυασμό NaME-PrO-assisted ARMS και την Droplet Digital PCR (ddPCR).

Μέθοδοι: CTCs από το περιφερικό αίμα δύο ασθενών με μεταστατικό καρκίνο μαστού απομονώθηκαν και καταμετρήθηκαν μέσω του συστήματος CellSearch® σε δύο διαφορετικές χρονικές στιγμές. Μονήρη CTCs απομονώθηκαν από τα CellSearch® cartridges με το σύστημα VyCAP. Σε όλα τα μονήρη κύτταρα πραγματοποιήθηκε ενίσχυση ολόκληρου του γονιδιώματος (WGA) χρησιμοποιώντας το Ampli1™ WGA Kit. Επιπλέον, ελέγχθηκε η ποιότητα των Ampli1 WGA προϊόντων χρησιμοποιώντας το VyCAP WGA Quality Control mix. Όσα Ampli1 WGA προϊόντα βρέθηκαν να έχουν καλή ποιότητα προχώρησαν στη διαδικασία ανίχνευσης των μεταλλάξεων του *PIK3CA* χρησιμοποιώντας την υψηλά ευαίσθητη NAPA μεθοδολογία και την ddPCR.

Αποτελέσματα: Μετά τον έλεγχο της ποιότητας των Ampli1 WGA προϊόντων, 22/42 απομονωμένα μονήρη CTCs και ομάδες μικρού αριθμού CTCs (2, 5, 10 και 46) αναλύθηκαν για την ανίχνευση των μεταλλάξεων του *PIK3CA* (E545K, H1047R). Στα CTCs που απομονώθηκαν από την ασθενή #1 ανιχνεύθηκε η μετάλλαξη E545K σε 3/12 μονήρη CTCs, σε 2/2 ομάδες των 2 CTCs, σε 1/3 ομάδες των 10 CTCs και σε 1/1 ομάδα των 46 CTCs. Από την ασθενή #2 ανιχνεύθηκε η μετάλλαξη E545K σε ένα μονήρες CTC. Καμία από τις μεταλλάξεις του *PIK3CA* δεν ανιχνεύθηκε στην ομάδα των 10 λευκοκυττάρων (WBCs).

Συμπεράσματα: Η πρόσφατα αναπτυχθείσα μεθοδολογία μας για την ανίχνευση των μεταλλάξεων του *PIK3CA* (E545K, H1047R) που βασίζεται στη NAPA και τη ddPCR είναι υψηλής ευαισθησίας, ειδική και μπορεί να εφαρμοστεί σε υλικό DNA που προέρχεται από μονήρη CTCs. Η κλινική σημασία των μεταλλάξεων του *PIK3CA* σε μονήρη CTCs θα εκτιμηθεί σε μεγαλύτερο αριθμό κλινικών δειγμάτων.

ΜΕΛΕΤΗ ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΗΣ ΤΗΣ ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΧΡΗΣΙΜΟΤΗΤΑΣ ΤΗΣ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΩΝ RAS ΣΤΟ ctDNA ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΜΕΤΑΣΤΑΤΙΚΟ ΚΑΡΚΙΝΟ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ/ΟΡΘΟΥ ΜΕ ΨΗΦΙΑΚΗ PCR

Μ. Καστρισίου¹, Γ. Ζαρκαβέλης², Α. Κουγιουμτζή¹, Χ. Τζάλλας³, Π. Νίκου³, Ε. Σαλούστρος⁴, Α. Κωτσάκης⁴, Α. Μπατιστάτου⁵, Γ. Πενθερουδάκης², Α. Μαγκλάρα¹

¹ Εργαστήριο Κλινικής Χημείας, Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα

² Ογκολογική Κλινική, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Ιωαννίνων, Ιωάννινα

³ Βιοχημικό Εργαστήριο, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Ιωαννίνων, Ιωάννινα

⁴ Ογκολογική Κλινική, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Λάρισας, Λάρισα

⁵ Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής, Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα

Η παρούσα εργασία αφορά στη μελέτη ασθενών με μεταστατικό καρκίνο παχέος εντέρου/ορθού με υγρές βιοψίες για την ανίχνευση μεταλλάξεων RAS στο κυκλοφορούν DNA του όγκου (ctDNA). Ο έλεγχος των γονιδίων *KRAS* και *NRAS* στον ιστό αποτελεί μέρος της τρέχουσας ογκολογικής πρακτικής για την επιλογή των ασθενών που θα ωφεληθούν από παράγοντες έναντι του υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGFR) μαζί με χημειοθεραπεία. Καθώς το προφίλ RAS μπορεί να αλλάξει στην πορεία της νόσου, με δυνητική επίδραση στην αποτελεσματικότητα των αντι-EGFR, ο επανέλεγχος με υγρές βιοψίες εξετάζεται ως προβλεπτικός και προγνωστικός βιοδείκτης.

Σε ασθενείς με μεταστατικό καρκίνο παχέος εντέρου/ορθού έγινε λήψη 20 mL περιφερικού αίματος στις χρονικές στιγμές της διάγνωσης, του μέσου της θεραπείας πρώτης γραμμής και των επιδεινώσεων της νόσου. Το πλάσμα που απομονώθηκε ελέγχθηκε για 34 μεταλλάξεις στα γονίδια *KRAS* και *NRAS*, με την ψηφιακή αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης BEAMing, με αναλυτική ευαισθησία 0,01% και δυνατότητα ποσοτικού προσδιορισμού των επιπέδων μεταλλαγμένου DNA ως κλάσμα μεταλλαγμένων αλληλομόρφων (MAF).

Από τους 67 ασθενείς που εντάχθηκαν στη μελέτη, οι 17 εμφάνισαν επιδείνωση της νόσου κατά την πρώτη γραμμή και εξ αυτών μία ασθενής και κατά τη δεύτερη γραμμή θεραπείας. Συνολικά, έχουν ληφθεί 99 δείγματα περιφερικού αίματος, στα οποία συμπεριλαμβάνονται δείγματα από το μέσον της θεραπείας για το ¼ των ασθενών. Μέχρι σήμερα, έχει αναλυθεί το 80% των δειγμάτων και η επεξεργασία τους αναμένεται να ολοκληρωθεί πριν την έναρξη του συνεδρίου. Τα πρώτα αποτελέσματα ανέδειξαν μεταλλάξεις RAS σε >50% των ασθενών, με υψηλό ποσοστό συμφωνίας με τον έλεγχο του ιστού. Παρότι η πλειονότητα των ασθενών διατηρούσε το ίδιο προφίλ RAS κατά την επιδείνωση της νόσου, αναδείχθηκε μία τουλάχιστον περίπτωση διαφοροποίησης του αποτελέσματος της υγρής βιοψίας.

Τα δεδομένα μας αναδεικνύουν υψηλή συμφωνία της υγρής βιοψίας με τις μεθόδους ιστού για την ανίχνευση μεταλλάξεων RAS. Η ταυτοποίηση ασθενών που εμφανίζουν μεταβολή του προφίλ RAS στην πορεία της νόσου αναδεικνύει την ανάγκη μοριακού επανελέγχου του όγκου στην επιδείνωση, με υγρές βιοψίες. Η μέχρι σήμερα ανάλυση του ctDNA στο μέσον της θεραπείας υπονοεί την ύπαρξη συσχέτισης των μεταβολών του MAF με την κλινική πορεία των ασθενών, που αναμένεται να επικυρωθεί με την αύξηση του δείγματος της μελέτης.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ RAS ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΩΝ ΣΤΟ ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΝ ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΟ DNA (ctDNA) ΜΕΣΩ ΨΗΦΙΑΚΗΣ PCR ΩΣ ΠΡΟΒΛΕΠΤΙΚΟΥ ΔΕΙΚΤΗ ΣΤΟ ΜΗ ΧΕΙΡΟΥΡΓΗΣΙΜΟ ΚΑΡΚΙΝΟ ΠΑΓΚΡΕΑΤΟΣ

Σ. Γκούρα¹, Α. Κουγιουμτζή², Μ. Καστρισίου², Χ. Τζάλλας³, Π. Νίκου³, Κ. Γκρέπη⁴,
Α. Γούσια⁴, Γ. Πενθερουδάκης¹, Α. Μαγκλάρα²

¹ Ογκολογική Κλινική, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Ιωαννίνων, Ιωάννινα

² Εργαστήριο Κλινικής Χημείας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα

³ Βιοχημικό Εργαστήριο, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Ιωαννίνων, Ιωάννινα

⁴ Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής, Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα

Η υγρή βιοψία και ειδικότερα το κυκλοφορούν νεοπλασματικό DNA (circulating tumor DNA, ctDNA) αποτελεί ένα πολλά υποσχόμενο εργαλείο μοριακής διαγνωστικής για την ανάπτυξη και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών στον καρκίνο. Στην περίπτωση του παγκρεατικού καρκίνου, στο 80% των περιπτώσεων η διάγνωση γίνεται σε προχωρημένα στάδια όπου η νόσος είναι μη εξαιρέσιμη. Είναι, λοιπόν, επιτακτική η ανάγκη εύρεσης βιοδεικτών, οι οποίοι θα σχετίζονται με την πρόγνωση των ασθενών αυτών ή/και με την επιλογή των κατάλληλων υποψηφίων για χειρουργική αντιμετώπιση. Το ογκογονίδιο *KRAS* φέρει μεταλλάξεις στα εξώνια 2 ή 3 στο 90% των ασθενών με παγκρεατικό καρκίνο και για το λόγο αυτό μελετάται ο ρόλος του ως βιοδείκτης. Στόχος της εργασίας είναι η μελέτη συμφωνίας της ανάλυσης RAS μεταλλάξεων στον ιστό και στο πλάσμα ασθενών με ανεγχείρητο παγκρεατικό καρκίνο, καθώς και η αξιολόγηση της κλινικής χρησιμότητας της ανάλυσης αυτής στο πλάσμα.

Δείγματα πλάσματος ασθενών με τοπικά προχωρημένο ή μεταστατικό πορογενές αδενοκαρκίνωμα παγκρέατος πριν την έναρξη της χημειοθεραπείας και 4-6 εβδομάδες αργότερα, ελέγχθηκαν για 34 μεταλλάξεις στα γονίδια *KRAS* και *NRAS* (κωδικόνια 12, 13, 59, 61, 117, 146) με BEAMing Digital PCR, η οποία αποτελεί τεχνική υψηλή ευαισθησίας που δίνει τη δυνατότητα ποσοτικοποίησης των μεταλλαγμένων αλληλομόρφων στο πλάσμα (Mutant Allele Fraction, MAF). Ο προσδιορισμός των αντίστοιχων μεταλλάξεων στον ιστό πραγματοποιήθηκε με allele-specific RT-PCR χρησιμοποιώντας την πλατφόρμα Cobas της Roche.

Μέχρι στιγμής έχουν αναλυθεί 38 δείγματα από 22 ασθενείς. Σε 14 δείγματα πλάσματος, πριν την έναρξη της θεραπείας, ανιχνεύθηκαν μεταλλάξεις στο κωδικόνιο 12 του εξωνίου 2 του *KRAS*, και επιπρόσθετα σε ένα δείγμα ανιχνεύθηκε και μετάλλαξη στο κωδικόνιο 61 του εξωνίου 3 του *NRAS*, ενώ στους υπόλοιπους ασθενείς δεν ανιχνεύθηκαν μεταλλάξεις. Σε 10 ασθενείς ελέγχθηκαν και δείγματα ιστού και στους 8 από αυτούς υπήρχε συμφωνία μεταξύ ιστού και πλάσματος. Η ανάλυση δειγμάτων ιστού θα επεκταθεί και στους άλλους ασθενείς, ενώ θα γίνει και συσχέτιση των αποτελεσμάτων από την ιστική και υγρή βιοψία με κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά.

Σύμφωνα με τα μέχρι στιγμής αποτελέσματα, η ανάλυση των RAS μεταλλάξεων στο ctDNA σχετίζεται με την κλινική έκβαση των ασθενών με προχωρημένο παγκρεατικό καρκίνο, και ως εκ τούτου θα μπορούσε να αποτελέσει ένα πιθανό προβλεπτικό και προγνωστικό βιοδείκτη της νόσου.

ΜΟΡΙΑΚΟΣ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΜΥΚΟΠΛΑΣΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΤΟΥ ΟΥΡΕΟΠΛΑΣΜΑΤΟΣ ΜΕ MULTIPLEX REAL TIME PCR ΣΤΟΝ ΑΣΥΜΠΤΩΜΑΤΙΚΟ ΓΥΝΑΙΚΕΙΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ

Ε. Μάστορα, Α. Ζηκόπουλος, Ε. Χατζή, Ι. Μπούμπα, Ι. Γεωργίου

Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Ιωαννίνων, Ιωάννινα

Σκοπός: Η προσβολή του ουροποιογεννητικού συστήματος των γυναικών από τους μικροοργανισμούς *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis* και *Ureaplasma parvum*, *Ureaplasma urealyticum* αποτελεί μία από τις πλέον κοινές σεξουαλικά μεταδιδόμενες περιπτώσεις μικροβιακής αιτιολογίας. Σκοπός ήταν να μελετηθεί εάν ο ασυμπτωματικός γυναικείος πληθυσμός είναι εκτεθειμένος στο μυκόπλασμα και στο ουρεόπλασμα και να καθοριστούν τα διάφορα στελέχη, καθώς η συχνότητα αποικισμού του μυκοπλάσματος και του ουρεοπλάσματος στο γενικό πληθυσμό και η συμμετοχή τους στην παθογένεια ποικίλων λοιμώξεων απαιτεί τη χρήση της κατάλληλης διαγνωστικής μεθόδου.

Υλικό-Μέθοδοι: Η παρουσία του μυκοπλάσματος και του ουρεοπλάσματος εξετάσθηκε συνολικά σε 94 τραχηλικά δείγματα υγιών, Test Pap αρνητικών, γυναικών αναπαραγωγικής ηλικίας. Η ανίχνευση και η ταυτοποίηση των στελεχών *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis* και *Ureaplasma parvum*, *Ureaplasma urealyticum* πραγματοποιήθηκαν με τη μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης πραγματικού χρόνου έπειτα από την εξαγωγή γενετικού υλικού.

Αποτελέσματα: Τα σεξουαλικά μεταδιδόμενα παθογόνα εντοπίσθηκαν συνολικά σε 34 από τις 94 γυναίκες. Το ποσοστό εύρεσης ήταν 36,2%. Το στέλεχος *Ureaplasma parvum* εντοπίσθηκε σε 32 από τις 94 γυναίκες (34,0%), το στέλεχος *Mycoplasma hominis* εντοπίσθηκε σε 2 από τις 94 γυναίκες (2,2%), ενώ τα στελέχη *Mycoplasma genitalium* και *Ureaplasma urealyticum* δεν εντοπίσθηκαν σε καμία γυναίκα. Ωστόσο, παρατηρήθηκε ταυτόχρονη παρουσία παραπάνω του ενός μικροοργανισμού (*Mycoplasma hominis* και *Ureaplasma parvum*) σε ποσοστό 5,9%.

Συμπεράσματα: Τα άτυπα ουροπαθογόνα μικρόβια *Ureaplasma parvum* και *Mycoplasma hominis* συναντώνται συνολικά σε ποσοστό 36,2% στις γυναίκες, παρότι δεν προκαλούν κλινική εκδήλωση. Τα ευρήματα λειτουργούν προσθετικά στη γενικότερη κατανόηση της επιδημιολογίας του μυκοπλάσματος και του ουρεοπλάσματος στον πληθυσμό, ενώ η ανίχνευση και η ταυτοποίησή τους με τη μοριακή μέθοδο, η οποία χαρακτηρίζεται από υψηλότερη ευαισθησία και ειδικότητα σε σχέση με τις υπόλοιπες μεθόδους, θεωρείται ενδεδειγμένη. Τελικά, η στενή παρακολούθηση του επιπολασμού των σεξουαλικά μεταδιδόμενων παθογόνων επί ασυμπτωματικού πληθυσμού αποτελεί τη σπουδαιότερη ενέργεια για τον περιορισμό της μετάδοσης των εν λόγω μικροοργανισμών.

ΠΟΛΥΚΕΝΤΡΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΚΑΙ ΚΛΙΝΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΩΝ miR-181a/miR-203 ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΗΣ ΩΟΘΗΚΗΣ

**Κ. Πανουτσοπούλου¹, Μ. Αυγέρης¹, Κ. Μαυρίδης¹, T. Dreyer², J. Dorn², E. Obermayr³,
A. Reinthaller³, Κ. Μιχαηλίδου¹, S. Mahner⁴, I. Vergote⁵, I. Braicu⁶, J. Sehouli⁶,
R. Zeillinger³, V. Magdolen², Α. Σκορίλας¹**

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

² Clinical Research Unit, Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine, Technical University of Munich, Munich, Germany

³ Molecular Oncology Group, Department of Obstetrics and Gynecology, Comprehensive Cancer Center-Gynecologic Cancer Unit, Medical University of Vienna, Vienna, Austria

⁴ Department of Gynecology, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Germany

⁵ Department of Gynecologic Oncology, Leuven Cancer Institute, University Hospitals Leuven, Ku Leuven, Leuven, Europe

⁶ Department of Gynecology, Charité University Medicine, Campus Virchow, Berlin, Germany

Ο καρκίνος της ωοθήκης αποτελεί την γυναικολογική κακοήθεια με τη μεγαλύτερη θνησιμότητα στις αναπτυγμένες χώρες. Η απουσία πρώιμων συμπτωμάτων και αποτελεσματικών βιοδεικτών οδηγεί στην διάγνωση των ασθενών σε προχωρημένα στάδια της νόσου και, συνεπώς, σε κακή πρόγνωση. Τα μη κωδικά μόρια RNAs (ncRNAs), που περιλαμβάνουν τα microRNAs (miRNAs), αποτελούν τους σημαντικότερους ρυθμιστές της γονιδιακής έκφρασης σε μετα-μεταγραφικό επίπεδο και πολλά υποσχόμενους μοριακούς βιοδείκτες πρόγνωσης και μετα-θεραπευτικής παρακολούθησης των ασθενών σε πλήθος νεοπλασιών.

Σκοπός: Προσδιορισμός και κλινική αξιολόγηση των miR-181a και miR-203 ως προγνωστικούς μοριακούς βιοδείκτες σε ασθενείς με επιθηλιακό καρκίνο ωοθήκης.

Υλικό-Μέθοδοι: Αρχικά αναπτύχθηκε πρωτόκολλο αξιόπιστου ποσοτικού προσδιορισμού των miR-181a και miR-203 σε βιολογικά δείγματα. Απομόνωση ολικού RNA πραγματοποιήθηκε από ιστοτεμάχια όγκων n=103 (ομάδα ελέγχου) και n=100 (ομάδα επικύρωσης - πολυκεντρική μελέτη OVCAD) ασθενών με επιθηλιακό καρκίνο ωοθήκης, οι οποίοι υποβλήθηκαν σε χειρουργική επέμβαση και χημειοθεραπεία με χρήση πλατίνας. Ακολούθησε πολυαδενυλίωση του 3'-άκρου του RNA και αντίστροφη μεταγραφή. Τα επίπεδα των miR-181a και miR-203 προσδιορίστηκαν ποσοτικά μέσω qPCR μεθοδολογίας, και την χρήση του snoRNA RNU48 ως γονίδιο αναφοράς. Τέλος, διεξήχθη εκτενής βιοστατιστική ανάλυση.

Αποτελέσματα: Η ανάλυση επιβίωσης της ομάδας ελέγχου ανέδειξε την ισχυρή κλινική αξία των miR-181a και miR-203 στον επιθηλιακό καρκίνο ωοθήκης, καθώς η υπερέκφρασή τους σχετίζεται με σημαντικά μειωμένη ολική επιβίωση των ασθενών (miR-181a: HR=1.904, p=0.037; miR-203: HR=1.741, p=0.029) και αυξημένη πιθανότητα μετα-θεραπευτικής εξέλιξης της νόσου (miR-181a: HR=1.868, p=0.026; miR-203: HR=1.721, p=0.024), ανεξάρτητα από την ηλικία, το στάδιο FIGO, το βαθμό διαφοροποίησης του όγκου, το μέγεθος του υπολειπόμενου όγκου και την ανταπόκριση των ασθενών στη χημειοθεραπεία (miR-181a: p=0.019; miR-203: p<0.001). Η ανάλυση της ανεξάρτητης ομάδας επικύρωσης (πολυκεντρική μελέτη OVCAD) επιβεβαίωσε τη δυσμενή ολική επιβίωση των ασθενών με επιθηλιακό καρκίνο ωοθήκης που υπερεκφράζουν τα miR-181a και miR-203 σε σχέση με τους ασθενείς με χαμηλότερα επίπεδα έκφρασης (miR-181a: HR=1.625, p=0.044; miR-203: HR=1.644, p<0.001). Τέλος, πολυπαραμετρικά μοντέλα πρόγνωσης των ασθενών, όπου συνδυάζουν τα miR-181a/203 επίπεδα με κλινικούς προγνωστικούς δείκτες της νόσου, οδήγησαν στην σημαντική βελτίωση της πρόγνωσης και διαστρωμάτωσης κινδύνου των ασθενών.

Συμπεράσματα: Τα miR-181a/miR-203 αποτελούν νέους μοριακούς δείκτες για την εξατομικευμένη πρόγνωση και αντιμετώπιση του επιθηλιακού καρκίνου ωοθήκης.

Ευχαριστίες: Η παρούσα έρευνα διεξήχθη στο πλαίσιο χρηματοδότησης του Ιδρύματος Σταύρος Νιάρχος στο Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

ΠΑΡΑΛΛΑΓΕΣ ΤΟΥ ΑΡΙΘΜΟΥ ΑΝΤΙΓΡΑΦΩΝ (CNVs) ΣΕ ΜΟΝΗΡΗ ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΝΤΑ ΚΑΡΚΙΝΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΑΣΘΕΝΟΥΣ ΜΕ ΜΕΤΑΣΤΑΤΙΚΟ ΚΑΡΚΙΝΟ ΜΑΣΤΟΥ

Δ. Στεργιοπούλου¹, Α. Μάρκου¹, F. Fontana², M. Terracciano², V. D. Monaco², A. Ferrarini², N. Manaresi²,
B. Γεωργούλιας³, Ε. Λιανίδου¹

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

² Menarini Silicon Biosystems Spa, Castel Maggiore, Bologna, Italy

³ Α' Ογκολογικό Τμήμα, ΙΑΣΩ General, Αθήνα

Εισαγωγή: Η ανάλυση των κυκλοφορούντων καρκινικών κυττάρων (CTCs) στο επίπεδο του ενός κυττάρου μπορεί να συμβάλει στην παρακολούθηση της εξέλιξης της νόσου καθώς και στην επιλογή της καλύτερης θεραπευτικής αγωγής. Ο συνδυασμός του συστήματος CellSearch[®] και της τεχνολογίας DEPAarray[™] επιτρέπει την απομόνωση μονήρων CTCs υψηλής καθαρότητας για μετέπειτα μοριακή ανάλυση. Σκοπός της μελέτης αυτής ήταν να ερευνηθεί η ύπαρξη ετερογένειας ως προς τις παραλλαγές αριθμού αντιγράφων σε μονήρη CTCs ασθενούς με μεταστατικό καρκίνο μαστού, όπου το εργαστήριό μας παρακολουθεί την πορεία της νόσου για μεγάλο χρονικό διάστημα.

Μέθοδοι: Από το περιφερικό αίμα της ασθενούς, το οποίο συλλέχθηκε τη στιγμή της υποτροπής, καταμετρήθηκαν και απομονώθηκαν CTCs χρησιμοποιώντας το σύστημα CellSearch[®]. Μετά την καταμέτρηση, απομονώθηκαν μονήρη CTCs με την τεχνολογία DEPAarray[™] NxT. Τα μονήρη CTCs, ένα σύνολο 18 CTCs και αντίστοιχα λευκοκύτταρα που απομονώθηκαν από το εμπλουτισμένο δείγμα αναλύθηκαν περαιτέρω διαδικασία ενίσχυσης ολόκληρου του γονιδιώματος (WGA) με το Ampli1[™] WGA Kit και ελέγχθηκε η ποιότητά τους με το Ampli1[™] QC Kit. Τα Ampli1 WGA προϊόντα τα οποία είχαν καλή ποιότητα (Genome Integrity Index, GII>2) τα επεξεργασθήκαμε περαιτέρω για τη δημιουργία βιβλιοθήκης με το Ampli1[™] LowPass Kit και ακολούθησε αλληλούχηση αυτών με την πλατφόρμα IonTorrent[™].

Αποτελέσματα: Με το σύστημα CellSearch[®] καταμετρήθηκαν 105 CTCs/7,5mL περιφερικού αίματος (CK+CD45-DAPI+). Από το DEPAarray ανακτήθηκαν και τελικά αλληλουχήθηκαν 9 μονήρη CTCs, μία ομάδα 18 CTCs και 2 μονήρη λευκοκύτταρα ως μάρτυρες (control). Η πλειοψηφία των μονήρων CTCs (8/9) είχαν παρόμοιο CNV προφίλ με αξιοσημείωτη ύπαρξη ενός αντιγράφου του γονιδίου TP53. Ένα μονήρες CTC παρουσίασε εντελώς διαφορετικό CNV προφίλ με πλήρη έλλειψη του χρωμοσώματος 10 καθώς και άλλες χρωμοσωμικές αλλαγές το οποίο πιθανόν να βρίσκεται στη διαδικασία της απόπτωσης. Τα λευκοκύτταρα εμφάνισαν το αναμενόμενο CNV προφίλ, ενώ η ομάδα των 18 CTCs είχαν παρόμοιο CNV προφίλ με εκείνο των 8 μονήρων CTCs.

Συμπεράσματα: Η συνέργεια του συστήματος CellSearch[®] και της πλατφόρμας DEPAarray[™] σε συνδυασμό με την Ampli1[™] πορεία μας επέτρεψε την αποκάλυψη των εντυπωσιακά παρόμοιων προφίλ ως προς τις παραλλαγές του αριθμού αντιγράφων μεταξύ των μονήρων CTCs της ασθενούς. Αυτή η προσέγγιση μπορεί να συμβάλει στην αναγνώριση και τον χαρακτηρισμό ετερογενών CTCs αποκαλύπτοντας την συσχέτιση της ετερογένειας με την εξέλιξη της νόσου και την αντίσταση στη θεραπεία.

ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ ΕΜΦΑΝΙΣΗΣ ΑΡΟΕ ΑΛΛΗΛΙΩΝ: ΜΙΑ ΜΕΛΕΤΗ ΣΕ ΠΛΗΘΥΣΜΟ ΤΗΣ ΝΟΤΙΑΣ ΕΛΛΑΔΑΣ

Β. Παπαστεφανοπούλου^{1,2}, Ε. Στανίτσα¹, Α. Σιμούδης², Ε. Χαρωνίτη², Χ. Φλώρου-Χατζηγιαννίδου², Ι. Μπεράτης², Ρ. Αντωνέλου¹, Χ. Κορρός¹, Ν. Ανδρονάς¹, Ν. Βοσκού¹, Κ. Κοντόκωστας¹, Ι. Παπατριανταφύλλου¹, Χ. Κρούπης², Σ. Παπαγεωργίου¹

¹ Μονάδα Νοητικών Διαταραχών/Άνοιας, Β' Νευρολογική Κλινική, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

² Εργαστήριο Κλινικής Βιοχημείας, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο «Αττικών», Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

Σκοπός: Η διερεύνηση της συχνότητας των τριών αλληλίων E2, E3 (φυσιολογικό) και E4 και των γονοτύπων του γονιδίου της απολιποπρωτεΐνης Ε (APOE) σε πληθυσμό ατόμων με νόσο Alzheimer (NA), Ήπια Νοητική Έκπτωση (HNE) και υγιή πληθυσμό ηλικιωμένων (YH) στην Νότια Ελλάδα.

Υλικό-Μέθοδοι: Συμμετείχαν 96 υγιή YH άτομα (ηλικίας 62,04±10,71), 115 HNE ασθενείς (71,83±8,09) και 165 NA ασθενείς (72,48±7,97). Συλλέχθηκε περιφερικό αίμα από διαδοχικά προσερχόμενους ασθενείς της Μονάδας Νοητικών Διαταραχών/Άνοιας της Β' Νευρολογικής Κλινικής του Π.Γ.Ν. «Αττικών», καθώς και τους συνοδούς τους ύστερα από ενημέρωση και ενυπόγραφη συγκατάθεσή τους. Στους ασθενείς έγινε νευρολογικός και νευροψυχολογικός έλεγχος. Η απομόνωση του DNA έγινε με HighPure PCR Template Kit (Roche) και η γονοτύπηση της απολιποπρωτεΐνης έγινε με τη μέθοδο της real-time PCR (TIB MolBiol) στην πλατφόρμα LightCycler (Roche) στο Εργαστήριο Κλινικής Βιοχημείας του Νοσοκομείου. Αποτελέσματα θετικά για μη-φυσιολογικά αλληλία επιβεβαιώνονταν και με συμβατική PCR-RFLP μέθοδο.

Αποτελέσματα: Στον YH πληθυσμό οι συχνότητες APOE αλληλίων ήταν 4,7% E2, 90,5% E3 και 5,8% E4. Στους HNE ασθενείς: 4,8% E2, 79,1% E3 και 17,0% E4. Στους NA ασθενείς: 2,7% E2, 78,2% E3 και 18,5% E4. Αναφορικά με τους γονότυπους, ομοζυγώτες E3/E3 ήταν 81,3% των YH, 61,7% των HNE ασθενών και 63,6% των NA ασθενών. Ομοζυγώτες E4/E4 ήταν 1% των YH, 2,6% των HNE ασθενών και 7,3% των NA ασθενών. Δεν βρέθηκαν ομοζυγώτες E2/E2. Ετεροζυγώτες E2/E4 ήταν 1% των YH, 0,9% των HNE ασθενών, όμως κανένας ασθενής με NA. E3/E4 ήταν 8,3% των YH, 27,8% των HNE ασθενών και 22,4% των NA ασθενών. E2/E3 ήταν 8,3% των YH, 7% των HNE ασθενών και 6,7% των NA ασθενών. Η παρουσία τουλάχιστον ενός E4 APOE αλληλίου ανιχνεύθηκε στο 10,4% των YH, στο 31,3% των HNE ασθενών και στο 29,7% των NA ασθενών.

Συμπεράσματα: Επιβεβαιώνονται τα ευρήματα πολλών διεθνών μελετών σχετικά με την υψηλότερη συχνότητα του παθολογικού APOE4 αλληλίου στις άνοιες, αν και σε μικρότερο ποσοστό από άλλους πληθυσμούς (π.χ. Βορειοευρωπαϊκό). Χαρακτηριστικά, η ομοζυγωτία E4/E4 είναι στατιστικά σημαντικά υψηλότερη στους NA ασθενείς. Για το APOE2 αλληλίο ακόμη δεν μπορεί να επαχθεί κάποιο συμπέρασμα. Η γονοτύπηση θα μπορούσε δυνητικά να συνεισφέρει στην πρωιμότερη διάγνωση της NA και στη διαστρωμάτωση ασθενών κλινικών μελετών.

ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΣΗΜΕΙΑΚΩΝ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΩΝ (SNPS) ΣΤΑ ARMS2 ΚΑΙ CFH ΓΟΝΙΔΙΑ ΠΟΥ ΕΝΕΧΟΝΤΑΙ ΣΤΗΝ ΗΛΙΚΙΑΚΗ ΕΚΦΥΛΙΣΗ ΤΗΣ ΩΧΡΑΣ ΚΗΛΙΔΑΣ ΜΕ ΤΗ ΝΟΣΟ ALZHEIMER'S

Α. Χ. Σιμούδης¹, Β. Παπαστεφανοπούλου^{1,2}, Ε. Χαρωνίτη¹, Μ. Παπαδοπούλου¹,
Ε. Στανίτσα², Ι. Παπατριανταφύλλου², Σ. Παπαγεωργίου², Χ. Κρούπης¹

¹ Εργαστήριο Κλινικής Βιοχημείας, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο «Αττικών», Ιατρική Σχολή, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

² Μονάδα Νοητικών Διαταραχών/Άνοιας, Β' Νευρολογική Κλινική, Ιατρική Σχολή, Εθνικό Και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

Εισαγωγή: Η ηλικιακή εκφύλιση της ωχράς κηλίδας (ΗΕΩΚ) αποτελεί εκφυλιστική νόσο του οφθαλμού, που μπορεί να οδηγήσει σε σημαντική απώλεια της κεντρικής όρασης. Ισχυρή συσχέτιση με τη νόσο έχει διαπιστωθεί στους Καυκάσιους για το σημειακό πολυμορφισμό (SNP) A69S (rs10490924) του γονιδίου ARMS2 καθώς ο πολυμορφισμός αυτός ενέχεται στην εξαρτώμενη από το οξειδωτικό στρες βλάβη των φωτοϋποδοχέων του αμφιβληστροειδούς. Επίσης, ισχυρή συσχέτιση με τη νόσο έχει διαπιστωθεί για το SNP Y402H (rs1061170) στο γονίδιο του παράγοντα Η του συμπληρώματος (CFH) που συμμετέχει στη φυσιολογική ανοσία. Τα δύο αυτά SNPs εξηγούν το 25% περίπου των περιπτώσεων ΗΕΩΚ. Τελευταία στη βιβλιογραφία αναφέρεται επισταμένα σχέση μεταξύ της ΗΕΩΚ και της νόσου Alzheimer (NA) και μάλιστα, πιθανολογείται η δυνατότητα πρώιμης διάγνωσης της γνωσιακής εκφύλισης του εγκεφάλου και της NA μέσω χρήσης της αναίμακτης οπτικής τομογραφίας συνοχής (OCT) στον αμφιβληστροειδή.

Σκοπός: Η διερεύνηση της πιθανής συσχέτισης μεταξύ της ΗΕΩΚ και της NA, όπως αυτή αποδίδεται από την ανάλυση των δύο προαναφερθέντων SNPs.

Υλικό και μέθοδοι: Συλλέχθηκε περιφερικό αίμα από διαδοχικά προσερχόμενους ασθενείς της Μονάδας Νοητικών Διαταραχών/Άνοιας της Β' Νευρολογικής Κλινικής του Π.Γ.Ν. «Αττικών», καθώς και τους συνοδούς τους ύστερα από ενημέρωση και ενυπόγραφη συγκατάθεσή τους. Στους ασθενείς έγινε νευρολογικός και νευροψυχολογικός έλεγχος. Συμμετείχαν 38 υγιή άτομα (ηλικίας 57,39±4,59) και 120 NA ασθενείς (72,90±7,77). Η απομόνωση του DNA έγινε με High Pure PCR Template Kit (Roche) στο Εργαστήριο Κλινικής Βιοχημείας του Νοσοκομείου. Η CFH γονοτύπηση εκτελέστηκε με real-time qPCR-melting curve analysis που έχει αναπτυχθεί από την ερευνητική μας ομάδα στη πλατφόρμα LightCycler (Roche) και η ARMS2 γονοτύπηση με PCR-RFLP μέθοδο.

Αποτελέσματα και συμπεράσματα: Με τη χρήση της στατιστικής ανάλυσης SNPstats δεν διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση ούτε με το CFH [Odds Ratio=0,90 (95%C.I.=1,54-1,49), p=0,68] ούτε με το ARMS2 γονίδιο [OR=1,29 (0,60-2,77), p=0,5]. Ωστόσο, η μελέτη πρέπει να διευρυνθεί στο μέλλον σε υποομάδες των δύο νοσημάτων καθώς και σε άλλους γενετικούς βιοδείκτες (μεταλλάξεις ή πολυμορφισμούς) σε γονίδια που ενέχονται σε κοινούς μηχανισμούς παθογένειας και στα δύο νοσήματα.

ΤΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΤΩΝ ΤΙΜΩΝ ΤΗΣ 25 –ΥΔΡΟΞΥ- ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ D ΣΤΟΝ ΟΡΟ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΝΕΥΡΟΕΚΦΥΛΙΣΤΙΚΕΣ ΝΟΣΟΥΣ ΩΣ ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΣ ΔΕΙΚΤΗΣ ΤΗΣ ΒΑΡΥΤΗΤΑΣ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ

Β. Μπαλωμένος¹, Ι. Μπισχινιώτη², Κ. Γεωργιάδη¹, Α. Στρατάκη³, Α. Πιστόλα³, Β. Σουφτάς⁴,
Α. Ζησιμόπουλος²

¹ Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Αλεξανδρούπολη

² Τμήμα Μοριακής Βιολογίας & Γενετικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Αλεξανδρούπολη

³ Τμήμα Πυρηνικής Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Έβρου, Αλεξανδρούπολη

⁴ Τμήμα Ακτινολογίας & Επεμβατικής Ακτινολογίας, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Έβρου, Αλεξανδρούπολη

Σκοπός: Η νόσος του Πάρκινσον (ΝΠ) αποτελεί μία από τις συχνότερες νευροεκφυλιστικές νόσους ενώ η αντιμετώπισή της παραμένει περιορισμένη. Επιπλέον, διαταραχές με παρόμοια κλινικά συμπτώματα με την νόσο του Πάρκινσον δυσχεραίνουν την φαρμακευτική αγωγή και την περεταίρω μελέτη της. Για το λόγο αυτό, η μεγαλύτερη ακρίβεια στη διάγνωση είναι εξέχουσας σημασίας. Έχει αναφερθεί ότι ασθενείς με νευροεκφυλιστικές νόσους παρουσιάζουν χαμηλά επίπεδα της 25-Υδροξυ-βιταμίνης D (25-OH Vit D) στον ορό.

Στην παρούσα έρευνα μελετάται το επίπεδο των τιμών της 25-OH Vit D στον ορό ασθενών που εμφάνιζαν παρκινσονικά συμπτώματα και υποβάλλονταν σε σπινθηρογραφικό έλεγχο εγκεφάλου με ¹²³I-ιοφλουπάνιο με σκοπό να συσχετισθούν με την βαρύτητα της νόσου.

Υλικά και Μέθοδοι: Μελετήθηκαν 45 ασθενείς 25 γυναίκες και 20 άνδρες ηλικίας 48-73 ετών (mean 62 ±2 έτη). Οι ασθενείς προέρχονταν από τις νευρολογικές κλινικές του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Αλεξανδρούπολης (Π.Γ.Ν.Α) και από εξωτερικούς νευρολόγους και προσήλθαν για σπινθηρογραφικό έλεγχο εγκεφάλου στο Τμήμα Πυρηνικής Ιατρικής του Π.Γ.Ν.Α μετά από εκδήλωση παρκινσονικών συμπτωμάτων. Ο τομογραφικός σπινθηρογραφικός έλεγχος (SPECT) με ¹²³I-ιοφλουπάνιο DaTscan™ αφορά τη διαφορική διάγνωση των ασθενών σε σχέση με τον ιδιοπαθή τρόπο και τον τρόπο που εκδηλώνεται ως αποτέλεσμα προσυναπτικών παρκινσονικών συνδρόμων, στα οποία περιλαμβάνονται η νόσος του Πάρκινσον, η ατροφία πολλαπλών συστημάτων και η προϊούσα υπερπυρηνική παράλυση.

Πριν το σπινθηρογράφημα πραγματοποιήθηκε αιμοληψία για τον προσδιορισμό των τιμών της 25-OH Vit D στον ορό των ασθενών. Η μέθοδος ήταν η ραδιοανοσολογική μέθοδος RIA με αντιδραστήρια (kit) της εταιρείας DIASORIN ITALY.

Στατιστική Ανάλυση: Έγινε με το χ^2 student test και η συσχέτιση με την Pearson correlation

Αποτελέσματα: Με τη χρήση μοριακής απεικόνισης DAT-SPECT έγινε δυνατός ο προσδιορισμός των ατόμων εκείνων που παρουσίαζαν μείωση στους μεταφορείς ντοπαμίνης που βρίσκονται στη μεμβράνη ντοπαμινεργικών νευρώνων και αποτελεί χαρακτηριστική παθοφυσιολογία των προσυναπτικών παρκινσονικών συνδρόμων, όπως η ΝΠ.

Από τους 45 ασθενείς που μελετήθηκαν οι 7 παρουσίασαν ιδιοπαθή τρόπο, οι 28 παρκινσονικά σύνδρομα, 2 νόσο του Pick και 8 αληθή ΝΠ.

Οι ασθενείς με ιδιοπαθή τρόπο παρουσίασαν επάρκεια στις τιμές της 25-OH Vit D στον ορό ($p < 0.005$). Το 95% των λοιπών ασθενών παρουσίασαν ανεπάρκεια ή έλλειμμα των τιμών της 25-OH Vit D ($p < 0.005$). Επισημαίνεται ότι ασθενείς με σοβαρές βλάβες στο σπινθηρογράφημα και σοβαρή συμπτωματολογία εμφάνιζαν λίαν χαμηλές τιμές 25-OH Vit D ($p < 0.005$).

Συμπεράσματα: Ο προσδιορισμός των τιμών της 25-OH Vit D στον ορό των ασθενών με νευροεκφυλιστικές νόσους θα μπορούσε να θεωρηθεί ως προγνωστικός δείκτης της βαρύτητας της νόσου. Χρειάζονται περαιτέρω κλινικές μελέτες για την πιθανή βελτίωση της συμπτωματολογίας των ασθενών και της ποιότητας ζωής τους μετά από συμπληρωματική θεραπεία με βιταμίνη D.

ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΙΝΤΡΟΝΙΚΟΥ LOXL1 ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΥ ΜΕ ΨΕΥΔΟΑΠΟΦΟΛΙΔΩΤΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΚΑΙ ΓΛΑΥΚΩΜΑ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ

Μ. Κ. Παπαδοπούλου¹, Κ. Τζίκα¹, Δ. Χήρας², Γ. Κίτσος², Χ. Κρούπης¹

¹ Εργαστήριο Κλινικής Βιοχημείας, Ιατρική Σχολή, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο «Αττικόν», Αθήνα

² Οφθαλμολογική Κλινική, Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα

Εισαγωγή: Το ψευδοαποφολιδωτικό σύνδρομο (pseudoexfoliation syndrome, PEX) είναι μία σχετιζόμενη με την ηλικία διαρραχή της εξωκυττάριας μήτρας, η οποία χαρακτηρίζεται από την παραγωγή και την προοδευτική συσσώρευση ενός ινώδους υλικού σε διάφορους ενδοφθάλμιους και εξωφθάλμιους ιστούς. Το PEX συνδέεται στενά με την ανάπτυξη ψευδοαποφολιδωτικού γλαυκώματος (pseudoexfoliation glaucoma, PEXG). Το PEXG θεωρείται ο πιο κοινός τύπος δευτερογενούς γλαυκώματος ανοιχτής γωνίας και χαρακτηρίζεται από υψηλότερη ενδοφθάλμια πίεση και χειρότερη πρόγνωση από το πρωτογενές γλαύκωμα ανοιχτής γωνίας. Το PEX είναι κοινό στην Ελλάδα (11,9% σε άτομα >60 χρονών). Σε προηγούμενη έρευνα μας (αλλά και σε πολλές παγκόσμιες μελέτες) μελετήθηκαν δύο σημειακοί νουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί (SNPs) του LOXL1 γονιδίου οξειδάσης της λυσίνης-1 (G153D και R141L) και βρέθηκε ότι συνδέονται ισχυρά τόσο με το PEX, όσο και με το PEXG. Ωστόσο, η συχνότητα των ανωτέρω πολυμορφισμών βρέθηκε υψηλή και στα άτομα των ομάδων ελέγχου, ενώ περαιτέρω λειτουργικές μελέτες και προγράμματα βιοπληροφορικής αδυνατούν να εξηγήσουν τη συσχέτιση τους με το νόσημα.

Σκοπός: Η ανάπτυξη καινοτόμου και αξιόπιστης ανίχνευσης ενός νέου ιντρονικού LOXL1 πολυμορφισμού (rs11638944, C>G) -που με βάση τη πιο πρόσφατη διεθνή μελέτη επηρεάζει τα επίπεδα LOXL1 στους οφθαλμικούς ιστούς- καθώς και η αξιολόγηση του σε PEX/PEXG Ελληνικό πληθυσμό.

Υλικό-Μέθοδοι: Αναλύθηκαν 44 PEX, 62 PEXG και 77 δείγματα υγιών μαρτύρων, ίδιας κατανομής φύλου και ηλικίας. Για τη LOXL1 γονοτύπηση αναπτύχθηκε και βελτιστοποιήθηκε μεθοδολογία Real-Time qPCR με ανάλυση καμπυλών τήξεως, καθώς και συμβατική PCR-RFLP μέθοδος. Σε επιλεγμένα δείγματα η ορθότητα ελέγχθηκε με τη μέθοδο αναφοράς DNA Sequencing. Για την αξιολόγηση του πολυμορφισμού χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα SNPStats.

Αποτελέσματα-Συμπεράσματα: Η μεθοδολογία qPCR ήταν ταχεία, οικονομική, επιδεικνύοντας καλή απόδοση, πιστότητα και ορθότητα στη γονοτύπηση (C:Tm=53,50°C, G:Tm=62,70°C, ΔTm=9,20°C). Τα αποτελέσματα έδειξαν ισορροπία κατά Hardy-Weinberg. Για το PEX: αύξηση συχνότητας C αλληλίου από 23% σε 55% στους υγιείς μάρτυρες, αύξηση συχνότητας CC ομοζυγώτη από 7% σε 29% στους υγιείς μάρτυρες, ενώ η σύνδεση του πολυμορφισμού με το PEX χαρακτηρίζεται από OR=0,23(0,12-0,44), p<0,0001. Για το PEXG: αύξηση συχνότητας C αλληλίου από 16% σε 55% στους υγιείς, αύξηση συχνότητας CC ομοζυγώτη από 2% σε 29% στους υγιείς, ενώ η σύνδεση του πολυμορφισμού με το PEXG χαρακτηρίζεται από OR=0,13(0,07-0,27), p<0,0001. Συνεπώς, τα αποτελέσματα είναι ενδιαφέροντα και χρήζουν περαιτέρω μελέτης ώστε να διαπιστωθεί εάν το C αλληλίο δρα προστατευτικά.

ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΕΠΙΔΟΣΗΣ ΤΟΥ ΘΕΡΜΙΚΟΥ ΚΥΚΛΟΠΟΙΗΤΗ Mic ΜΕ ΤΟ LightCycler® 2.0 ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΗΣ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΣΕ ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΝΤΑ ΚΑΡΚΙΝΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ

Θ. Λόντρα, Α. Στρατή, Α. Μάρκου, Ε. Λιανίδου

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

Σκοπός: Η μελέτη προ-αναλυτικών παραγόντων και η ανάπτυξη αναλυτικών μεθόδων για τον μοριακό χαρακτηρισμό των κυκλοφορούντων καρκινικών κυττάρων (CTCs) είναι πολύ σημαντικές. Ο σκοπός της συγκεκριμένης μελέτης ήταν η σύγκριση της επίδοσης του θερμικού κυκλοποιητή Mic (BioMolecularSystems, BMS) με το μηχάνημα LightCycler® 2.0 (CE-IVD, Roche) για την μελέτη γονιδιακής έκφρασης στα CTCs.

Υλικά-Μέθοδοι: Τα CTCs απομονώθηκαν από 20mL περιφερικό αίμα με τη χρήση ανοσοεπισημασμένων μαγνητικών σφαιριδίων που φέρουν στην επιφάνεια τους αντισώματα έναντι του επιθηλιακού δείκτη EPCAM. Για την σύγκριση των δύο μηχανημάτων χρησιμοποιήθηκαν 30 δείγματα cDNAs ασθενών με καρκίνο μαστού, τα οποία και αναλύθηκαν ταυτόχρονα με το ίδιο ακριβώς πρωτόκολλο και στα δύο μηχανήματα.

Αποτελέσματα: Από τα 30 δείγματα των ασθενών τα 12 ήταν θετικά για την έκφραση του γονιδίου *CK-19* (40%) ενώ τα υπόλοιπα 18 ήταν αρνητικά (60%). Η συσχέτιση μεταξύ του Mic (BMS) και του LightCycler® 2.0 (Roche) ήταν 100%, καθώς και τα δύο μηχανήματα έδωσαν σχεδόν ταυτόσημα Cq για τα ίδια δείγματα ($p < 0.001$ chi-square). Για τον έλεγχο της επαναληψιμότητας χρησιμοποιήθηκαν 3 δείγματα cDNA της κυτταρικής σειράς MCF-7 όπου το κάθε δείγμα αναλύθηκε 6 φορές στο ίδιο πείραμα. Τα CVs κυμάνθηκαν από 0.6% - 4.96%

Συμπεράσματα: Τα αποτελέσματά μας υποδεικνύουν ότι το Mic (BMS) συγκρινόμενο με το LightCycler® 2.0 είναι ένα αξιόπιστο μηχάνημα για RT-qPCR αναλύσεις και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την μελέτη γονιδιακής έκφρασης σε CTCs. Τα κύρια πλεονεκτήματα του μηχανήματος Mic είναι α) η αυξημένη ταχύτητα αναλύσεων, που οφείλεται στο διαφορετικό σύστημα θέρμανσης και β) το σχετικά χαμηλό του κόστος.

ΑΑ53

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΛΙΠΙΔΙΚΗΣ ΣΥΣΤΑΣΗΣ ΤΩΝ HDL ΛΙΠΟΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΜΗ ΑΛΚΟΟΛΙΚΗ ΛΙΠΩΔΗ ΝΟΣΟ ΤΟΥ ΗΠΑΤΟΣ

Σ. Καρτσώλη¹, Χ. Κωσταρά², Β. Τσιμιχόδημος³, Δ. Χριστοδούλου¹, Ε. Μπαϊρακτάρη²

¹ Γαστρεντερολογική Κλινική, Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα

² Εργαστήριο Κλινικής Χημείας, Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα

³ Β' Παθολογική Κλινική, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Ιωαννίνων, Ιωάννινα

Σκοπός: Η μη Αλκοολική Λιπώδης Νόσος του Ήπατος (NAFLD) είναι η πιο συχνή χρόνια ηπατική νόσος και η συχνότητά της αναμένεται να αυξηθεί στο μέλλον. Μέχρι και σήμερα δεν έχει βρεθεί ένας ειδικός και ευαίσθητος βιοδείκτης διάγνωσης και εξέλιξης της νόσου, ενώ πρόσφατα η NAFLD προτάθηκε ως ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου εκδήλωσης της Καρδιαγγειακής Νόσου (CHD). Σκοπός της μελέτης ήταν η διερεύνηση του λιπιδικού προφίλ των HDL λιποπρωτεϊνών σε ασθενείς με NAFLD, με στόχο την ανάδειξη βιοδεικτών διάγνωσης και την πιθανή εξήγηση του αυξημένου καρδιαγγειακού κινδύνου που παρουσιάζουν οι εν λόγω ασθενείς.

Υλικό - Μέθοδοι: Συλλέχθηκαν δείγματα ορού από 20 ασθενείς με μη αλκοολική λιπώδη νόσο ήπατος (υπερηχογραφικά επιβεβαιωμένη), 20 ασθενείς με εγκατεστημένη καρδιαγγειακή νόσο και 20 υγιή άτομα. Εκχυλίστηκαν τα λιπίδια των HDL λιποπρωτεϊνών και το λιπιδικό προφίλ τους καταγράφηκε με φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού πρωτονίου ¹H-NMR.

Αποτελέσματα: Οι ασθενείς με NAFLD εμφάνισαν σημαντικές αλλαγές ως προς τους υγιείς που αφορούσαν κυρίως στο προφίλ των φωσφολιπιδίων (γλυκεροφωσφολιπιδίων και σφιγγολιπιδίων) και των λιπαρών οξέων των HDL λιποπρωτεϊνών. Πιο συγκεκριμένα, οι ασθενείς με NAFLD εμφάνισαν στατιστικά σημαντικά μειωμένη % περιεκτικότητα σε φωσφατιδυλοχολίνη, φωσφατιδυλοϊνοσιτόλη και αυξημένη περιεκτικότητα σε σφιγγολιπίδια κυρίως λόγω της αύξησης των κεραμιδίων. Το μέσο μήκος αλυσίδας των λιπαρών οξέων και η περιεκτικότητα του σωματιδίου σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα όπως αραχιδονικό, εικοσαπεντανοϊκό και εικοσιδιεξαενοϊκό οξύ ήταν στατιστικά σημαντικά μειωμένα στους ασθενείς με NAFLD σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Συγκριτικά με τους CHD ασθενείς, οι ασθενείς με NAFLD παρουσίασαν στατιστικά σημαντικά αυξημένη περιεκτικότητα σε σφιγγολιπίδια, σφιγγομυελίνη, κεραμίδια και μειωμένη σε φωσφατιδυλοϊνοσιτόλη. Τέλος, η περιεκτικότητα σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, λινελαϊκό και εικοσιδιεξαενοϊκό οξύ ήταν αυξημένη στους ασθενείς με NAFLD, ενώ το μέσο μήκος αλυσίδας των λιπαρών οξέων ήταν μειωμένο.

Συμπεράσματα: Οι διαφορές που παρατηρήθηκαν στη σύσταση των φωσφολιπιδίων και των λιπαρών οξέων των HDL λιποπρωτεϊνών στους ασθενείς με NAFLD σε σχέση τους υγιείς, αντανακλούν τις διαταραχές του μεταβολισμού των λιπιδίων που συμμετέχουν στην παθοφυσιολογία της NAFLD και μπορούν πιθανά να αποτελέσουν βιοδείκτες διάγνωσης και εξέλιξης της. Ακόμη, οι διαφορές αυτές ενδέχεται να επηρεάζουν τις ανταθηρογόνες ιδιότητες της HDL λιποπρωτεΐνης και να εξηγούν εν μέρει τον αυξημένο κίνδυνο καρδιαγγειακής νόσου που παρουσιάζουν οι ασθενείς με NAFLD.



Conferre S.A.

Οργανωτικό - Συντονιστικό Γραφείο/Γραμματεία: Συνεδριακή Α.Ε./Conferre S.A.: "The art of Bringing People Together"
Α. Σταύρου Νιάρχου, Θέση Μάρες 455 00 Ιωάννινα, Τηλ: +30 26510 68610, Fax: +30 26510 68611, E-mail: info@conferre.gr, Website: www.conferre.gr