

Περιεχόμενα

- Διερεύνηση των επιπέδων cf-DNA στην πολλαπλή σκλήρυνση, για τον ρόλο τους ως βιοδείκτες της νόσου
- Η αφυδρογονάση της 6-φωσφορικής γλυκόζης (Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase, G6PD)
- AFCB-EFLM LM4MS

Συντακτική Επιτροπή

ΑΝΔΡ. ΓΡΗΓΟΡΑΤΟΥ

ΕΥΗ ΚΩΝΣΤΑ

ΑΓΓΕΛ. ΜΕΛΠΙΔΟΥ

ΜΑΡΙΑ. ΣΤΑΜΟΥΛΗ



ΕΝΗΜΕΡΩΤΙΚΟ ΔΕΛΤΙΟ 44 – ΔΕΚΕΜΒΡΙΟΣ 2022



Αγαπητοί συνάδελφοι,

ακόμη μια χρονιά πέρασε και καλωσορίζουμε την καινούργια που ανατέλλει. Να γράψουμε σ' αυτήν σαν σε λευκή κόλλα χαρτί, νέες προσδοκίες, πρωτόγνωρες εμπειρίες, φρέσκες ιδέες και αισιόδοξα ξεκινήματα.

Σε αυτό το τεύχος του Δελτίου μας, περιλαμβάνονται ενδιαφέροντα άρθρα για την σκλήρυνση κατά πλάκας, την αφυδρογονάση της 6-φωσφορικής γλυκόζης G6PD, το συνέδριο AFCB-EFLM LM4MS τον περασμένο Οκτώβριο, στο Ηράκλειο της Κρήτης και το προσεχές Παγκόσμιο και Πανευρωπαϊκό Συνέδριο [IFCC-EFLM EuroMedLab-WorldLab Congress 2023], στη Ρώμη. Ας ελπίσουμε ότι πράγματι, όλοι οι δρόμοι εξακολουθούν να οδηγούν εκεί, στη Ρώμη και θα συναντηθούμε μετά από χρόνια πανδημίας, με συναδέλφους μας από όλο τον κόσμο.

Καλή και δημιουργική Χρονιά, με υγεία, φωτεινά χαμόγελα και ευημερία για όλους.

Φιλικά,

Ανδριανή Γρηγοράτου

Διερεύνηση των επιπέδων cf-DNA στην πολλαπλή σκλήρυνση, για τον ρόλο τους ως βιοδείκτες της νόσου

Μαρία Παππά

Ινστιτούτο Βιοϊατρικών Ερευνών, Ιατρική Σχολή, Νευρολογική Κλινική Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Ιωαννίνων

Περίληψη

Οι νευρολογικές παθήσεις επηρεάζουν σήμερα περισσότερα από 1 δισεκατομμύριο άτομα παγκοσμίως. Λόγω της φύσης τους, συχνά η διάγνωσή τους είναι δύσκολη και ίσως πραγματοποιηθεί δεκαετίες μετά την έναρξη των βλαβών στον εγκέφαλο. Η εγκαθίδρυση καλά μελετημένων βιοδεικτών, ελάχιστα επεμβατικών και έγκυρων, μπορεί να βοηθήσει στην πρόγνωση και την ταχύτερη διάγνωση της νόσου. Μελετήσαμε εδώ τα επίπεδα cf-nDNA (ελεύθερο πυρηνικό) και cf-mtDNA (ελεύθερο μιτοχονδριακό) στο αίμα και στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό (ENY) ασθενών με Πολλαπλή Σκλήρυνση (*Multiple Sclerosis, MS*). Στόχος μας ήταν η διερεύνηση της χρησιμότητας αυτών των μορίων ως πιθανών βιοδεικτών σχετικών με τη νόσο. Αναπτύξαμε πρωτόκολλο ενίσχυσης cf-DNA απευθείας από βιολογικά υγρά χωρίς την προηγούμενη απομόνωσή του από αυτά. Παρατηρήσαμε αυξημένα επίπεδα cf-mtDNA στο ENY ασθενών με MS συγκριτικά με τους υγιείς, που ίσως αντανακλούν χαρακτηριστικά της φλεγμονής και αυξημένου κυτταρικού θανάτου. Αξίζει να σημειωθεί ότι cf-nDNA δεν ανιχνεύτηκε στο ENY κανενός υγιούς ατόμου, παρά μόνο σε πάσχοντες από νευρολογικό νόσημα, υποδηλώνοντας ίσως κάποιες εκφυλιστικές αλλοιώσεις στον εγκέφαλό τους. Σε ό,τι αφορά το ελεύθερο DNA στο αίμα, τα επίπεδα cf-mtDNA βρέθηκαν μειωμένα στους ασθενείς με MS, γεγονός που μπορεί να συνδέεται με μειωμένη μιτοχονδριακή δραστηριότητα που έχει παρατηρηθεί στη νόσο. Αντίθετα, τα επίπεδα του ελεύθερου πυρηνικού cf-nDNA ανιχνεύθηκαν αυξημένα στο αίμα των ασθενών από ό,τι των υγιών. Τα αποτελέσματα της μελέτης μας υποδηλώνουν ότι η διερεύνηση του cf-DNA σε δείγματα αίματος και ENY από ασθενείς με πολλαπλή σκλήρυνση μπορούν να συμβάλλουν στην ανάπτυξη νέων πληροφοριακών δεικτών για τη νόσο.

Εισαγωγή

Κυκλοφορούν DNA στα βιολογικά υγρά

Τα μόρια DNA που απελευθερώνονται από τα οργανίδια του πυρήνα και των μιτοχονδρίων εκτός του κυττάρου και κυκλοφορούν στα βιολογικά υγρά, ονομάζονται *circulating cellfree-DNA* (ccf-DNA) ή *cellfree-DNA* (cf-DNA) και είναι το *cellfree*-πυρηνικό DNA (cf-nDNA) και το *cellfree*-μιτοχονδριακό DNA (cf-mtDNA) αντίστοιχα. cf-DNA βρίσκεται σε όλα τα βιολογικά υγρά και η παρουσία του οφείλεται σε διεργασίες λύσης κυττάρων που τελούνται φυσιολογικά στο ανθρώπινο σώμα, όπως η απόπτωση, η νέκρωση, η NETosis και η πυρόπτωση, καθώς και στην έκκριση μέσω κυστιδίων [1,2].

Φυσιολογικά, η πλειοψηφία των θραυσμάτων cf-DNA που προκύπτουν απορροφώνται από τα φαγοκύτταρα, και έτσι στους υγιείς η συγκέντρωση cf-DNA είναι γενικά χαμηλή [1]. Σε παθολογικές καταστάσεις που αφορούν κυτταρικές ή ιστικές βλάβες, τα επίπεδα cf-DNA, διαφοροποιούνται από τα φυσιολογικά, καθιστώντας τα μόρια αυτά πολλά υποσχόμενους βιοδείκτες παθολογίας. Το ιδιαίτερο είναι ότι αποτελούν μη επεμβατικό βιοδείκτη για τη διάγνωση, την πρόγνωση, την απόκριση σε θεραπεία, ακόμα και την ανίχνευση ενδεχόμενης υποτροπής της νόσου [1]. Κυρίως για τις νευρολογικές παθήσεις, για τις οποίες δεν υπάρχουν πολλοί γνωστοί βιοδείκτες, μια τέτοια ανακάλυψη θα είναι ορόσημο για τη διάγνωση και την αντιμετώπιση, ιδιαίτερα κατά τα πρώτα στάδια της ασθένειας.

Πολλαπλή σκλήρυνση

Η πολλαπλή σκλήρυνση (*Multiple Sclerosis, MS*), γνωστή και ως σκλήρυνση κατά πλάκας είναι μια χρόνια φλεγμονώδης νόσος του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος, αυτοάνοσης αιτιολογίας. Επηρεάζει πολλαπλά συστήματα του οργανισμού, πέραν του νευρικού, όπως το μυοσκελετικό, το πεπτικό, το ουροποιητικό, την ομιλία και την όραση [3,4]. Σήμερα 2.8 εκατομμύρια άνθρωποι ζουν με MS παγκοσμίως [5].

Στόχος

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση των επιπέδων *cellfree*-πυρηνικού DNA και *cellfree*-μιτοχονδριακού DNA σε αίμα και εγκεφαλονωτιαίο υγρό (ENY) ασθενών με πολλαπλή σκλήρυνση, ως βιοδεικτών της νόσου. Προκειμένου να επιτύχουμε τη μικρότερη δυνατή απώλεια cf-DNA, το οποίο βρίσκεται ούτως ή άλλως σε χαμηλές συγκεντρώσεις, εγκαθιδρύσαμε πρωτόκολλο επεξεργασίας του πλάσματος του αίματος και του εγκεφαλονωτιαίου υγρού, και ενίσχυσης των μορίων σε αυτά με τη μέθοδο της PCR, χωρίς τη χρήση εμπορικά διαθέσιμων kit απομόνωσης, που μπορούν να οδηγήσουν σε μη επιθυμητή εκλεκτικότητα. Σήμερα δεν υπάρχουν καλά καθορισμένοι βιοδείκτες για την MS. Σε αρκετές ερευνητικές μελέτες έχουν συσχετιστεί τα επίπεδα cf-mtDNA στο ENY με την Πολλαπλή Σκλήρυνση, η βιβλιογραφία όμως υστερεί στη μελέτη των επιπέδων του στο αίμα. Υστερεί επίσης και στη μελέτη του cf-nDNA ως βιοδείκτη στα δύο βιολογικά υγρά. Εξετάσαμε τα μόρια DNA και στα δύο βιολογικά υγρά, για τη συνδυαστική πληροφορία που δίνουν για την κυτταρική βλάβη και τη μιτοχονδριακή φθορά που υφίσταται ο ανθρώπινος εγκέφαλος όταν πάσχει από τη νόσο.

Μέθοδοι

Επεξεργασία βιολογικών υγρών

Για τη μελέτη του cf-nDNA και cf-mtDNA είναι απαραίτητος ο διαχωρισμός των κυτταρικών από τα μη κυτταρικά στοιχεία του αίματος και του ENY. Σε ό,τι αφορά το αίμα, φυγοκεντρήθηκε στις 3000 rpm χωρίς φρένο για 20 λεπτά και το πλάσμα συλλέχθηκε για την ανίχνευση cf-nDNA και cf-mtDNA. Το ENY φυγοκεντρήθηκε σε ψυχόμενη φυγόκεντρο (4°C) στις 10000 rpm για 5 λεπτά. Συλλέχθηκε το υπερκείμενο για την ανίχνευση cf-nDNA και cf-mtDNA.

Στη συνέχεια, διαμορφώσαμε το πειραματικό πρωτόκολλο με το οποίο θα είναι εφικτή η ενίσχυση cf-DNA από το αίμα και το ENY, με καμία άλλη επεξεργασία των υγρών εκτός της φυγοκέντρωσης, μέσω της PCR αντίδρασης.

Δημιουργία πειραματικού πρωτοκόλλου

- Αναζήτηση κατάλληλων πυρηνικών και μιτοχονδριακών εκκινήτων, που να ενισχύουν αμπλικόνια 80-166bp και 20-100bp πυρηνικού και μιτοχονδριακού DNA αντίστοιχα [2]. Η αναζήτηση έγινε μέσω του εργαλείου βιοπληροφορικής ανάλυσης PrimerBlast
- Επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων του PrimerBlast, με τη μοριακή μέθοδο της PCR με template ανθρώπινο γενωμικό DNA (*humangenomic*DNA, hgDNA) από ανθρώπινη καρκινική σειρά κυττάρων BE2C, και ταυτόχρονη δοκιμή για τις κατάλληλες συνθήκες της αντίδρασης. Εξετάσαμε την αποτελεσματικότητα διαφορετικών ζευγών πυρηνικών και μιτοχονδριακών εκκινήτων σε προοδευτικά ελαττούμενη ποσότητα hgDNABE2C, σε διαφορετικές θερμοκρασίες στο στάδιο annealing. Σε αυτά τα πρώτα πειράματα χρησιμοποιήθηκε η Taqpol της minotech, ως τυπική πολυμεράση για την εγκαθίδρυση συνθηκών. Ενισχύθηκε επιτυχώς πυρηνικό και μιτοχονδριακόDNA
- Ελέγξαμε τα πλέον αποτελεσματικά ζεύγη μιτοχονδριακών εκκινήτων με template ανθρώπινο βιολογικό υγρό ωοθυλακικό υγρό, που προσομοιάζει στα βιολογικά υγρά ενδιαφέροντός μας. Δεν ενισχύθηκε cf-mtDNA υπό αυτές τις συνθήκες
- Διπλασιάσαμε την ποσότητα template και ενζύμου, και αυξήσαμε τη συγκέντρωση MgCl₂ για την ενίσχυση cf-nDNA και cf-mtDNA από ωοθυλακικό υγρό, ENY και πλάσμα αίματος. Cf-DNA ανιχνεύθηκε μόνο στο ωοθυλακικό υγρό, καθιστώντας το μέχρι στιγμής πρωτόκολλο ικανό για την ενίσχυση cf-nDNA και cf-mtDNA στο υγρό αυτό. Δοκιμή και με την Taqpol της Invitrogen επέφερε τα ίδια αποτελέσματα
- Στην επόμενη σειρά πειραμάτων, αντικαταστήσαμε την Taqpol με την Q5 pol της BioLabs, που προσφέρει υψηλότερη πιστότητα, ευαισθησία και ακρίβεια. Ενισχύθηκε επιτυχώς cf-nDNA και cf-mtDNA από ENY και πλάσμα αίματος, με τη βοήθεια της Q5 pol

Στοιχειομετρία PCR με Q5 pol :

	1x (Σε μL)
Q5reaction buffer5x	5
10mM dNTPs/25mM	0.2
10μM Primer S/20μM	0.625
10μM Primer A/20μM	0.625
Template (ENY ή πλάσμα αίματος)	2
Q5 High Fidelity DNApol	0.25
Q5 High GC Enhancer 5x	5
Nuclease Free Water	11.3
Final Volume	25

* 25μL/ ανά erppendorf αντίδρασης

Στάδια, Χρόνοι, Κύκλοι

- 98 ° C για 1'
 - | | | |
|-----------------|---|---|
| 98 ° C για 20" | } | γ |
| 72 ° C για 45 " | | |
 - 72 ° C για 2'
 - 4 ° C για άπειρο χρόνο
- χ βέλτιστη θερμοκρασία για το εκάστοτε σετ primers
γ αριθμός συνολικών κύκλων

Εικόνα1.

Στοιχειομετρία της PCR με την Q5 pol της Biolabs, για τελικό όγκο 25μL ανά αντίδραση

Εγκαθιδρύσαμε, λοιπόν, ένα πρωτόκολλο επεξεργασίας ENY και αίματος, και PCR αντίδρασης, τέτοιο ώστε να ενισχύονται άμεσα από αυτά μόρια cf-mtDNA και cf-nDNA, χωρίς τη χρήση kit απομόνωσης.

Βασικές παράμετροι πρωτοκόλλου:

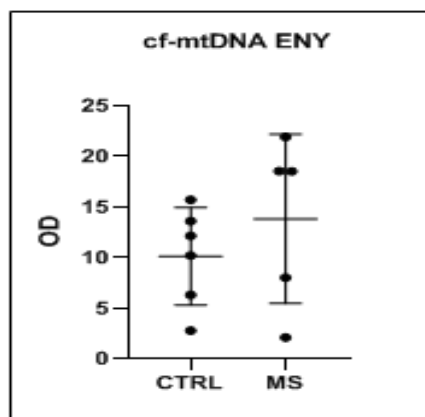
- 0.2μL Q5 rol ανά αντίδραση
- 2μLβιολογικού υγρού (ENY/αίμα) ανά αντίδραση
- 40 κύκλοι αντιδράσεων
- SYBRGreen για την ηλεκτροφόρηση

Τα βιολογικά υγρά απομονώθηκαν από τους ασθενείς στο πλαίσιο καθιερωμένων κλινικών αναλύσεων και εξετάσεων και όχι για τις ανάγκες της παρούσας μελέτης, με την έγκριση του Επιστημονικού Συμβουλίου του ΠΓΝΙ. Μεταξύ των πασχόντων από Πολλαπλή Σκλήρυνση, μελετήσαμε πιλοτικά και τις νόσους Ρευματοειδή Αρθρίτιδα, Άνοια, Επιληπτική Κρίση και Σπαστική Παραπάρεση. Η σύγκριση έγινε με άτομα που δεν πάσχουν από χρόνια νευρολογικό νόσημα (Υ, υγιείς, control).

Αποτελέσματα

Έλεγχος των επιπέδων cf-mtDNA στα δείγματα ENY

Παρατηρήθηκε μια αυξητική τάση στα επίπεδα cf-mtDNA στο ENY πασχόντων από MS σε σχέση με των υγιών.

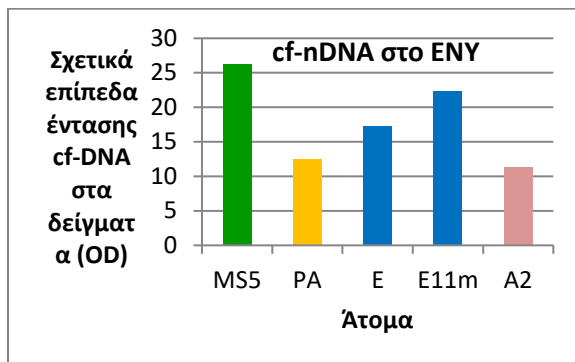


Εικόνα 2. Τα επίπεδα cf-mtDNA στο ENY των ασθενών MS παρουσίασαν αυξητική τάση σε σχέση με των υγιών.

Έλεγχος των επιπέδων cf-nDNA στα δείγματα ENY

cf-nDNA ανιχνεύτηκε μόνο σε πέντε από τα δεκαοκτώ δείγματα ENY που εξετάστηκαν, μεταξύ των οποίων ένας μόνο ασθενής με MS, ένας ασθενής με Ρευματοειδή Αρθρίτιδα (ΡΑ), ο ασθενής με την επιληπτική κρίση και στην πρώτη και στη

δεύτερη εξέτασή του (11 μήνες μετά), και ένας ανοιακός. Δεν ανιχνεύτηκε στο ENY κανενός υγιούς, ούτε στη Σπαστική Παραπάρεση.

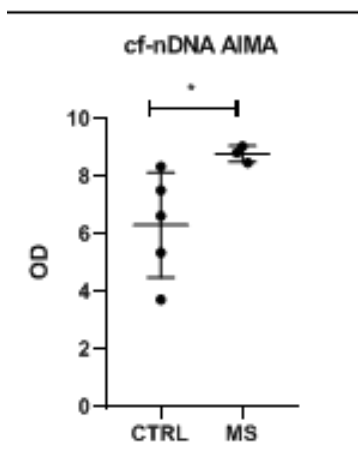


Εικόνα 3. Ο ασθενής MS5 παρουσίασε τα μέγιστα επίπεδα cf-nDNA στο ENY του.

Παρατηρήσαμε ότι το cf-nDNA ανιχνεύεται στο ENY πιο σπάνια από το cf-mtDNA και ανεξάρτητα από αυτό.

Έλεγχος των επιπέδων cf-nDNA στα δείγματα αίματος

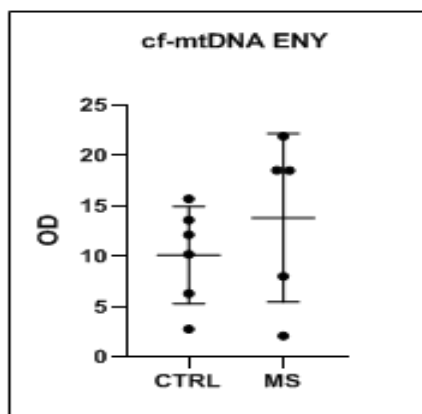
Σε αντίθεση με το ENY, cf-nDNA εντοπίζεται σε όλα τα δείγματα αίματος. Από την ποσοτικοποίηση των αποτελεσμάτων προκύπτει ότι τα επίπεδα cf-nDNA είναι στατιστικά σημαντικά αυξημένα στους ασθενείς με MS σε σχέση με τους υγιείς.



Εικόνα 4. Στατιστικά σημαντικά αυξημένα επίπεδα cf-Ndna των ασθενών με MS σε σχέση με τους υγιείς.

Έλεγχος των επιπέδων cf-mtDNA στα δείγματα αίματος

Τα επίπεδα cf-mtDNA των ασθενών με MS στο αίμα παρατηρήθηκαν μειωμένα σε σχέση με των υγιών, σε αντίθεση με τα επίπεδα cf-mtDNA στο ENY που παρουσιάστηκαν αυξημένα.



Εικόνα 5. Τα επίπεδα cf-mtDNA των ασθενών με MS στο αίμα εμφανίστηκαν μειωμένα σε σχέση με τους υγιείς.

Συζήτηση Αποτελεσμάτων-Συμπεράσματα

Εγκαθίδρυση πρωτοκόλλου για την ενίσχυση cf-DNA από αίμα και ENY

Στο πρώτο μέρος των πειραμάτων εγκαθιδρύσαμε πρωτόκολλο επεξεργασίας αίματος και ENY για την ενίσχυση cf-nDNA και cf-mtDNA σε αυτά, χωρίς τη μεσολάβηση kit απομόνωσης. Για την επιτυχία του πρωτοκόλλου είναι απαραίτητη η χρήση του ενζύμου Q5 pol και δε μπορεί να αντικατασταθεί από την taqpol της Minotech ή της Invitrogen. Αυτή η απευθείας από τα βιολογικά υγρά ανίχνευση cf-DNA έχει σημαντικό βιολογικό ενδιαφέρον, διότι μειώνει στο μέγιστο την όποια εκλεκτικότητα στην ανάκτηση μορίων DNA.

Έλεγχος επιπέδων cf-mtDNA και cf-nDNA στο ENY και στο αίμα

Παρουσιάζουμε εδώ ένα μοντέλο ερμηνείας των αποτελεσμάτων.

Σε παθολογικές παθήσεις, όπως η MS, τα νευρικά κύτταρα και τα ολιγοδενδροκύτταρα πεθαίνουν εξαιτίας της απομυελίνωσης και της φλεγμονής. Απελευθερώνεται έτσι, cf-nDNA και cf-mtDNA στο μεσεγχυματικό υγρό του εγκεφάλου (MEY). Το cf-mtDNA έχει μικρό μοριακό μέγεθος και δε σχηματίζει συσσωματώματα, γι' αυτό και μετακινείται εύκολα στο ENY. Αντίθετα το cf-nDNA συνδέεται με νουκλεοσώματα και πρωτεΐνες [6], αυξάνεται το μοριακό του μέγεθος και δεν είναι εύκολο να ανιχνευτεί στο ENY. Παρατηρήσαμε αυξημένα επίπεδα cf-mtDNA στους ασθενείς με MS σε σχέση με τους υγιείς,

και τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με μια μελέτη του 2017 [7]. Σε ό,τι αφορά το cf-nDNA, δεν ανιχνεύτηκε στο ΕΝΥ κανενός υγιούς ατόμου. Ανιχνεύτηκε εύκολα στους ασθενείς με διάφορα νευρολογικά προβλήματα, εκ των οποίων μόνο ένας έπασχε από MS. Το cf-nDNA δεν έχει ερευνηθεί ιδιαίτερα στη βιβλιογραφία και είναι ένα εύρημα της εργασίας μας, που αξίζει να μελετηθεί παραπάνω.

Το cf-mtDNA και το cf-nDNA που εντοπίζονται στο αίμα αντικατοπτρίζουν τη γενικότερη μεταβολική κατάσταση του οργανισμού. Η προέλευσή τους είναι η απόπτωση των αιμοποιητικών κυττάρων και γι' αυτό πάντα ανιχνεύονται στο αίμα. Στους ασθενείς με MS τα επίπεδα cf-mtDNA ήταν χαμηλότερα σε σχέση με των υγιών. Αυτό υποδηλώνει μειωμένη μιτοχονδριακή δραστηριότητα και διαταραχή του μεταβολισμού τους, η οποία αντανακλάται στο αίμα. Με αυτή την ερμηνεία συμφωνούν και πρόσφατες μελέτες που συσχετίζουν τη μιτοχονδριακή δυσλειτουργία με τη νόσο [8] και μάλιστα έχει προταθεί η αντιμετώπιση της μιτοχονδριακής βλάβης ως στρατηγική θεραπείας [9]. cf-nDNA ανιχνεύεται σχετικά εύκολα στο αίμα των υγιών. Σε αντίθεση με το cf-mtDNA, το πυρηνικό ανιχνεύτηκε στους ασθενείς σε αυξημένα επίπεδα σε σχέση με τους υγιείς, και μια έρευνα του 2010 παρατηρεί το ίδιο [10]. Αυτό ενδεχομένως να συνέβη διότι τα αποπτωτικά γεγονότα δεν είναι καλά ελεγχόμενα στους πάσχοντες από MS. Εναλλακτικά, κάποια διαταραχή στον αιματοεγκεφαλικό φραγμό, εξαιτίας φλεγμονής, μπορεί να επιτρέπει πιο εύκολα την έξοδο cf-nDNA στους ασθενείς.

Για την καλύτερη ανάλυση των αποτελεσμάτων και τη διεξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων είναι αναγκαία η αύξηση της κρίσιμης μάζας δειγμάτων και η επανάληψη των πειραμάτων, ώστε να εξασφαλιστεί η ορθότητά τους και η αξιοπιστία τους. Πιο ευαίσθητες τεχνικές, όπως η qPCR για τον έλεγχο των επιπέδων cf-DNA στα υγρά των ασθενών θα παράσχουν σε βάθος εξερεύνηση της κυτταρικής και μιτοχονδριακής δυσλειτουργίας στον εγκέφαλο που βάλλεται από πολλαπλή σκλήρυνση. Η επιπλέον γνώση της παθολογίας της νόσου θα οδηγήσει σε έγκαιρη διάγνωση και πρόγνωση, πιο στοχευμένη και αποτελεσματική θεραπεία και βελτίωση του επιπέδου ζωής των ασθενών, ώστε μια μέρα, όχι πολύ μακριά από σήμερα, η πολλαπλή σκλήρυνση να αποτελεί μια καλά κατανοητή πάθηση και πλήρως αντιμετωπίσιμη.

Βιβλιογραφία

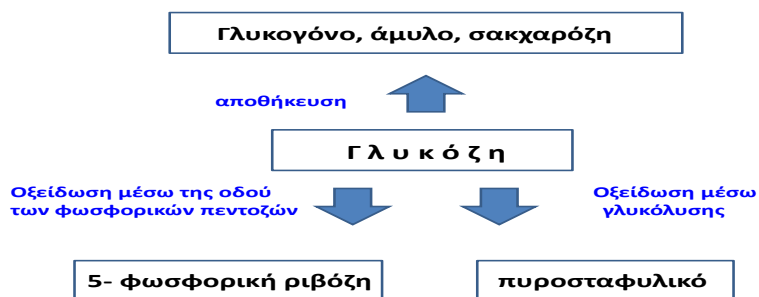
1. Bruno D.C.F. et al. Circulating nucleic acids in the plasma and serum as potential biomarkers in neurological disorders, *Braz. J. Med. Biol. Res.* (2020) 53(10)
2. Pös O., Biró O., Szemes T, Nagy B. Circulating cell-free nucleic acids: characteristics and applications, *European Journal of Human Genetics* (2018)26:937
3. Doshi A., Chataway J., Multiple Sclerosis: a treatable disease, *Clinical Medicine* (2016) 16(6):s53

4. Yamout B.I., et al., Multiple Sclerosis, *Semin Neurol* (2018) 38:212
5. Bakirtzis C., Grigoriadou E. et al., The Administrative Prevalence of Multiple Sclerosis in Greece on the Basis of a Nationwide Prescription Database, *Frontiers in Neurology* (2020)11:(1012)
6. Aolong Chen et al., Comparison of paired cerebrospinal fluid and serum cell-free mitochondrial and nuclear DNA with copy number and fragment length, *J Clin Lab Anal.* (2020) 00:e23238.
7. Varhaug K.N. et al., Increased levels of cell-free mitochondrial DNA in the cerebrospinal fluid of patients with multiple sclerosis, *Mitochondrion* (2017)34, p.32
8. Peixoto de Barcelos I. et al. Mitochondrial Dysfunction and Multiple Sclerosis, *Biology* (2019)8:37
9. Rosenkranz S. et al. Enhancing mitochondrial activity in neurons protects against neurodegeneration in CNS inflammation, *bioRxiv* (2020)
10. Liggett T. et al., Methylation patterns of cell-free plasma DNA in relapsing remitting multiple sclerosis, *Neurol Sci.* (2010)15:290

Η αφυδρογονάση της 6-φωσφορικής γλυκόζης (Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase, G6PD)

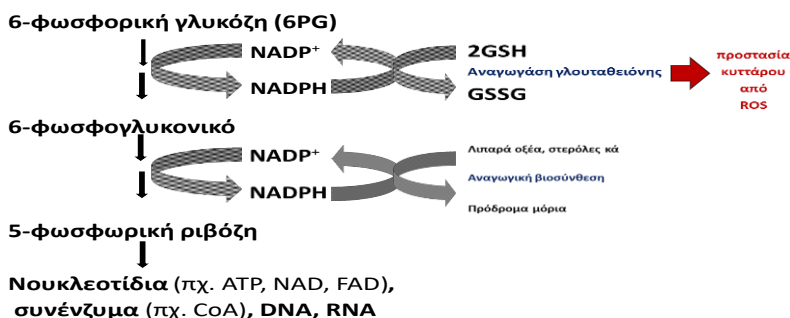
Α. Γιαννακάκης, Αγγ. Μελπίδου.

Η G6PD, αφυδρογονάση της 6-φωσφορικής γλυκόζης (Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase, EC1.1.1.49) είναι ένα κυτταροπλασματικό ένζυμο, μια οξειδοαναγωγή, που καταλύει το πρώτο και καθοριστικό της ταχύτητας βήμα στον οξειδωτικό κλάδο της οδού των φωσφορικών πεντοζών (Pentose Phosphate Pathway, PPP), που μετατρέπει τη 6-φωσφορική γλυκόζη σε 6-φωσφο-γλυκονο-δ-λακτόνη, ενώ παράλληλα παράγεται η ανηγμένη μορφή του συνενζύμου, φωσφορικό δινουκλεοτίδιο νικοτιναμίδιου αδενίνης (Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate, NADPH). Η δραστηριότητα της G6PD ρυθμίζεται από τη συγκέντρωση του NADPH. Δηλαδή με υψηλή συγκέντρωση NADPH, (όταν το NADPH συντίθεται ταχύτερα από ότι καταναλώνεται), αναστέλλεται αλλοστερικά η δράση της G6PD, η οποία με τη σειρά της αναστέλλει την οδό των PPP.



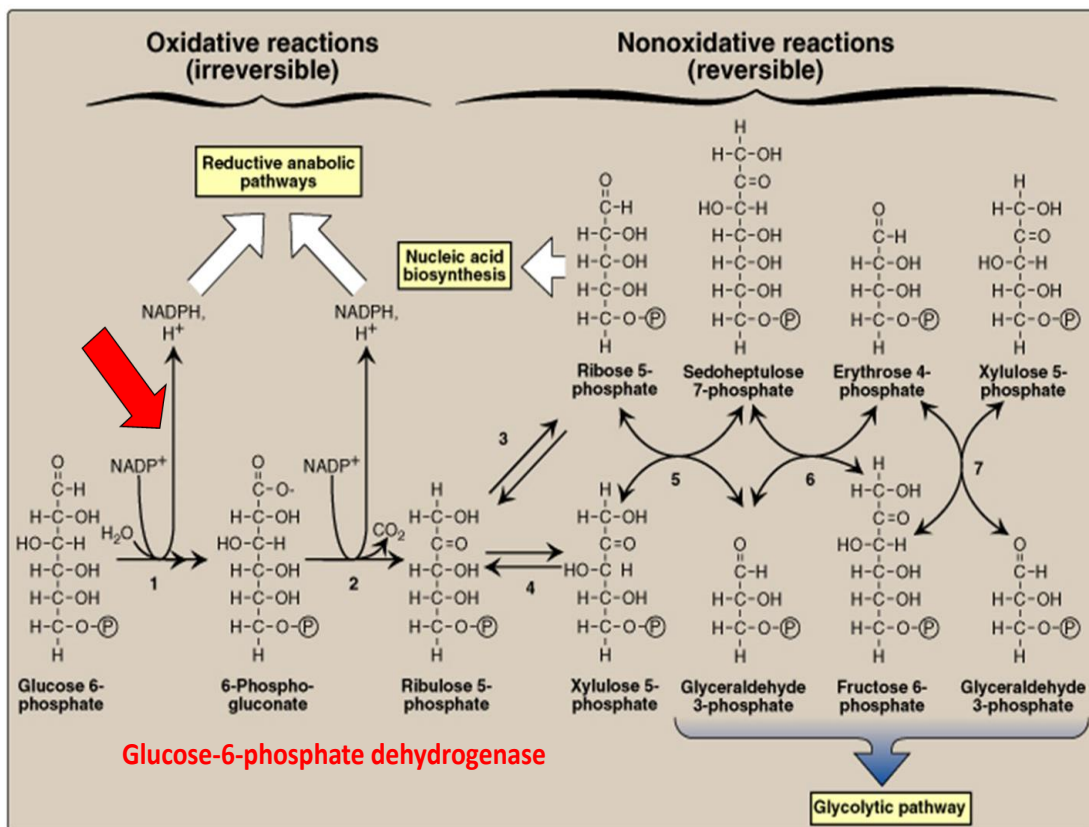
Εικ. 1. Ανασκόπηση του μεταβολισμού υδατανθράκων

Το NADPH που παράγεται από την οξειδωτική φάση της οδού των φωσφορικών πεντοζών (Pentose phosphate Pathway, PPP) ανάγει τη γλουταθειόνη GSH και προστατεύει το κύτταρο από τις ελεύθερες ρίζες (Reactive Oxygen Species, ROS)



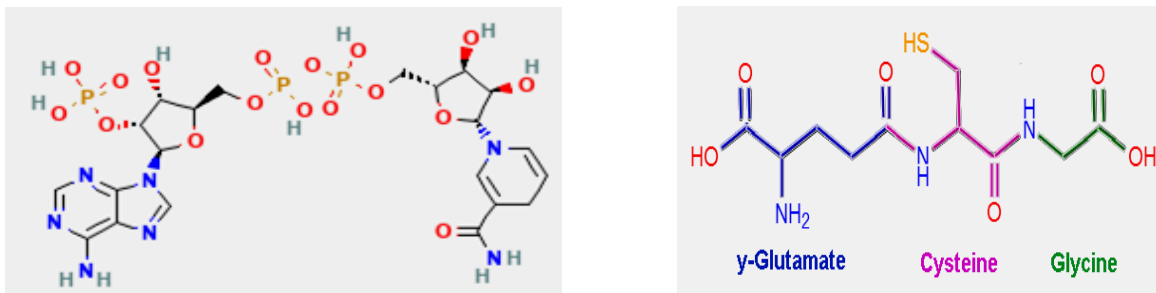
Εικ. 2. Η οδός των φωσφορικών πεντοζών PPP

Pentose Phosphate Pathway (PPP)



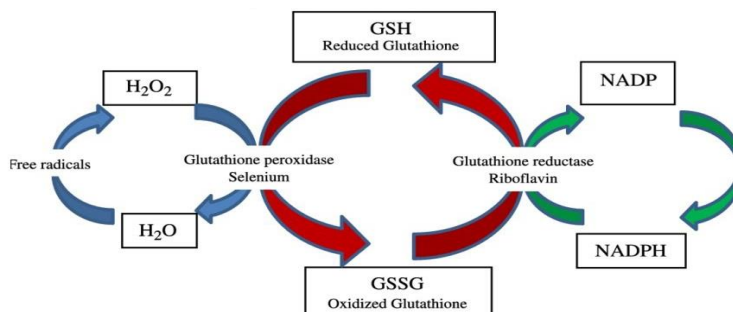
Εικ. 3. Αναλυτικά η οδός των φωσφορικών πεντοζών PPP

Στα περισσότερα κύτταρα ποσοστό μεγαλύτερο από 10% της παρεχόμενης 6-φωσφορικής γλυκόζης συμμετέχει στην οδό των φωσφορικών πεντοζών PPP. Ορισμένοι ιστοί, όπως ήπαρ, επινεφρίδια, όρχεις, ωθήκες, μαστοί, λιπώδης ιστός, ερυθροκύτταρα, χρειάζονται την εντονότερη λειτουργία της οδού PPP. Οι αντιδράσεις της οδού PPP διακρίνονται σε δύο φάσεις: 1η φάση- οξειδωτική και μη αντιστρεπτή φάση, η οποία παράγει το αναγωγικό συνένζυμο NADPH και είναι απαραίτητη για τη βιοσύνθεση λιπαρών οξέων, στερολών, νουκλεοτιδίων, νευροδιαβιβαστών και την προστασία από οξειδωτικό στρές, ιδιαίτερα για τα ερυθροκύτταρα, και 2η φάση- μη οξειδωτική και αντιστρεπτή φάση, κατά την οποία γίνεται αλληλομετατροπή σακχάρων C3, C4, C5, C6, C7 και παράγονται ενώσεις ενδιάμεσες της γλυκόλυσης και της γλυκονογένεσης.



Εικ. 4. NADPH και Ανηγμένη Γλουταθειόνη GSH. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/nadph#section=2D-Structure> και https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Glutathione_structure.png

Η οδός των φωσφορικών πεντοζών PPP υπάρχει στους περισσότερους οργανισμούς, ενώ δεν έχει βρεθεί μέχρι στιγμής στην επικράτεια των αρχαίων (Archaea, παλαιότερα ονομάζονταν αρχαιοβακτήρια), συνήθως αναερόβιων προκαρυωτικών – χωρίς πυρήνα ή μεμβρανώδη οργανίδια- μονοκύτταρων μικροοργανισμών, που έχουν διαφορετική εξελικτική ιστορία από τους υπόλοιπους μονοκύτταρους μικροοργανισμούς. Η G6PD δεν είναι απαραίτητη στις πρώτες φάσεις ανάπτυξης του εμβρύου. Όμως, η σοβαρή ανεπάρκεια της G6PD, ως συνέπεια της επιλεκτικής αδρανοποίησης του φυσιολογικού πατρικού αλληλόμορφου, βλάπτει την ανάπτυξη του πλακούντα και προκαλεί το θάνατο του εμβρύου. Δηλαδή όταν το έμβρυο εκτίθεται στο οξυγόνο, η G6PD είναι απαραίτητη για την επιβίωσή του.

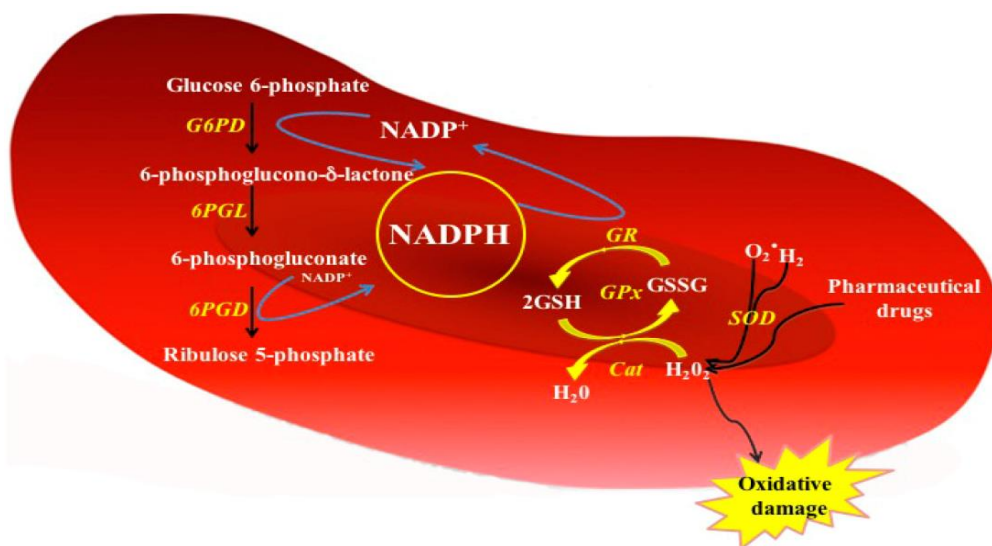


Εικ. 5. Η παρουσία NADPH οδηγεί σε αναγωγή του υπεροξειδίου του υδρογόνου από τη γλουταθειόνη, ώστε να εξουδετερωθούν οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου ROS και να προστατευτούν οι θειολικές ομάδες των πρωτεϊνών. Το NADPH, ένα βασικό ενδοκυττάριο αναγωγικό, είναι απαραίτητο για το σύστημα γλουταθειόνης και για άλλους εκκαθαριστές ελευθέρων ριζών ROS, για να διατηρηθεί η οξειδοαναγωγική ομοιόσταση.

Ανεπάρκεια της G6PD, επειδή η οδός G6PD/NADPH είναι η μόνη πηγή για την ανακύκλωση της ανημένης γλουταθειόνης, σημαίνει αδυναμία αντιμετώπισης των ROS, συνεπώς πρόκληση χημικής βλάβης στο DNA, στις πρωτεΐνες και τα ακόρεστα λιπίδια. Το ερυθροκύτταρο μεταφέρει οξυγόνο στους ιστούς και έχει διάρκεια ζωής 120 ημέρες. Παρότι στο ώριμο ερυθροκύτταρο δε γίνεται οξειδωτική φωσφορυλίωση, σύνθεση πρωτεϊνών, λιπιδίων και de novo σύνθεση DNA και RNA,

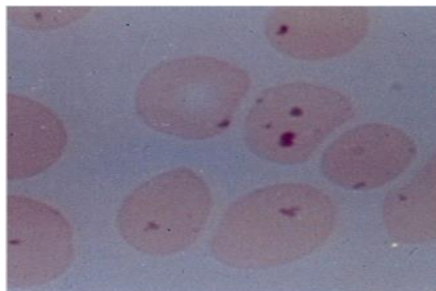
είναι ένα μεταβολικά ενεργό κύτταρο, που για να φέρει σε πέρας την αποστολή του, προστατεύει την αιμοσφαιρίνη από την οξειδωτική αποδόμηση και τη μετατροπή της σε μεθαιμοσφαιρίνη. Ενδοκυττάρια πρέπει να ρυθμίζεται στο βέλτιστο ο λόγος των συγκεντρώσεων (NADPH)/(NADP⁺) και η ισχύς του δεσμού οξυγόνου - αιμοσφαιρίνης. Επίσης πρέπει να διατηρείται ακέραιη η κυτταρική μεμβράνη των ερυθρών αιμοσφαιρίων. Όσο νεότερα είναι τα ερυθροκύτταρα, τόσο μεγαλύτερη ποσότητα G6PD περιέχουν.

Η ανεπάρκεια της G6PD είναι συνήθως υποκλινική, γιατί η αιμολυτική αναιμία αναπτύσσεται μετά τη χορήγηση οξειδωτικών φαρμάκων (ανθελονοσιακά, αντιμικροβιακά, αντιπυρετικά, βλ. Πίνακας 2), κατανάλωση κουκιών – φάβας (εξ ου και η ανεπάρκεια της G6PD λέγεται και κυαμισμός). Αυτοί οι περιορισμοί πρέπει να τηρούνται προσεκτικά, δεδομένου ότι δεν υπάρχει ειδική αγωγή, για όσους τους παραβαίνουν. Επίσης βακτηριακές ή ιογενείς λοιμώξεις - συμπεριλαμβανομένων και των κορονοϊών, όπου η φλεγμονώδης απάντηση συνδέεται με παραγωγή υπεροξειδίου στα μακροφάγα, μπορεί να προκαλέσουν αιμολυτική αναιμία, σε όσους έχουν ανεπάρκεια G6PD.



Εικ. 6. Η συμβολή της G6PD στην προστασία των ερυθρών αιμοσφαιρίων. Το NADPH χρησιμεύει ως πρωτονιοδότης στην οξειδωμένη GSSG. Συμμετέχουν επίσης τα ένζυμα Cat = Καταλάση, GPx = Υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (Glutathione peroxidase), GR = Αναγωγάση της γλουταθειόνης (Glutathione reductase), 6PGL = 6-φωσφογλυκοναλακτονάση, 6PGD = Αφυδρογονάση του 6-φωσφογλυκονικού (6-phosphogluconate dehydrogenase), SOD = Υπεροξειδική δισμουτάση (Superoxide dismutase), GSH = Ανηγμένη γλουταθειόνη, η GSSG = Οξειδωμένη γλουταθειόνη με δισουλφιδική γέφυρα -S-S-, το H₂O₂ = Υπεροξείδιο του υδρογόνου και η ·O₂⁻ = Σουπεροξειδική ρίζα. (Από το άρθρο: Gómez-Manzo S, Marcial-Quino J, Vanoye-Carlo A, Serrano-Posada H, Ortega-Cuellar D, González-Valdez A, Castillo-Rodríguez R A, Hernández-Ochoa B, Sierra-Palacios E, Bustamante E R, Arreguin-Espinosa R. Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase: Update and Analysis of New Mutations around the World. *IJMS* vol.17 (12, 2016. doi: 10.3390/ijms17122069).

Ένα κύτταρο μπορεί να αντιμετωπίσει με επιτυχία τις ROS, όταν ο λόγος GSH/GSSG, διατηρείται 500/1. Μετά από ένα οξύ αιμολυτικό επεισόδιο, στο μικροσκόπιο διακρίνονται τα σωμάτια Heinz, που αποτελούνται από μάζες αποδιαταγμένων μετουσιωμένων πρωτεϊνών, που έχουν προσκολληθεί στην κυτταρική μεμβράνη. 40-70% μείωση της δραστηριότητας της G6PD, έχει αποτέλεσμα 30-40% μείωση της συγκέντρωσης του (NADPH), συνεπώς ελλιπή αντιοξειδωτική προστασία και υπό κατάλληλες συνθήκες, κυτταρικό θάνατο.

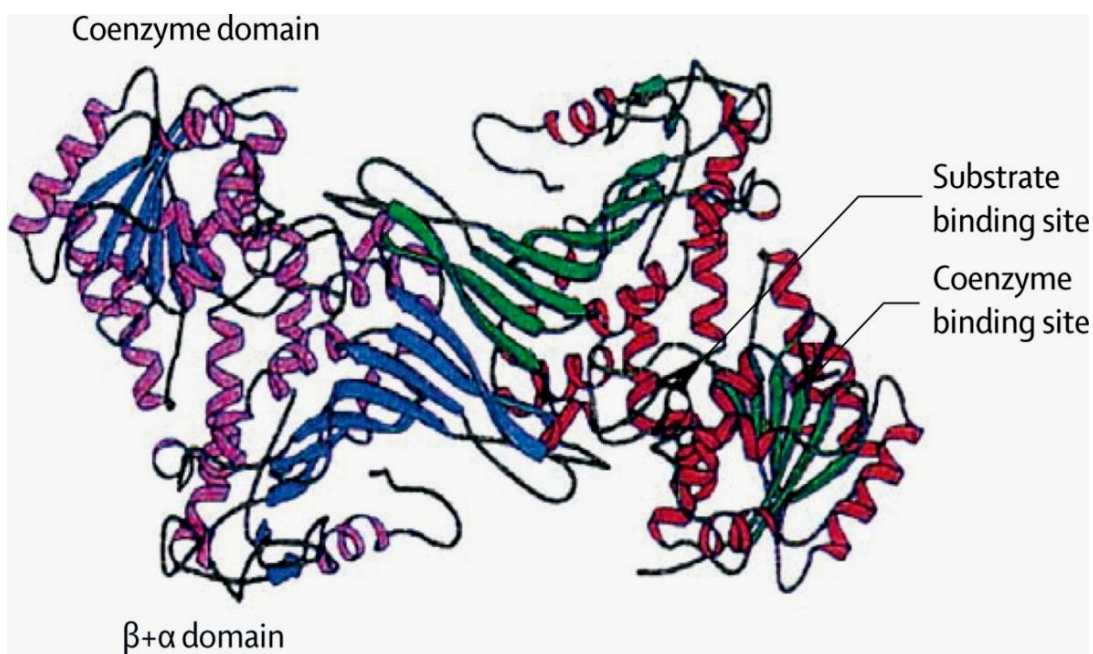


Εικ. 7. Σωμάτια Heinz. (Κ.Τρούγκος. Η οδός των φωσφορικών πεντοζών PPP. <https://slideplayer.gr/slide/12089734/>)

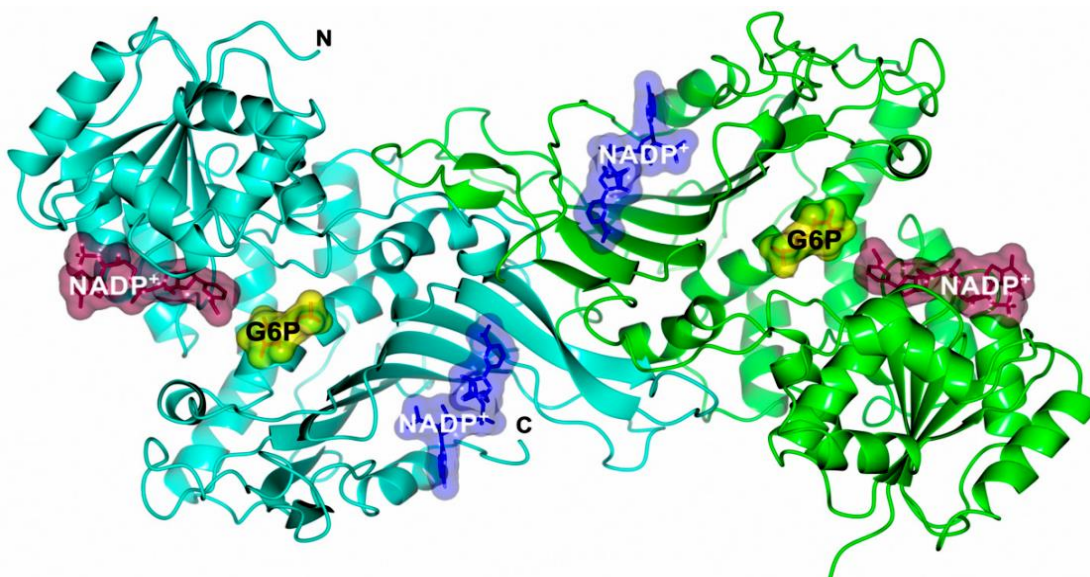
Πίνακας 1. G6PD (1932-2022): 90 χρόνια από την ανακάλυψή της	
1932	Στο Βερολίνο οι Otto Warburg και ο Walter Christian, εντόπισαν και στα ερυθρά αιμοσφαίρια και στη ζύμη, ένα ένζυμο του μεταβολισμού των υδατανθράκων που οξειδώνει τη 6-φωσφορική γλυκόζη, το ονόμασαν Zwischenferment και σήμερα ξέρουμε ότι πρόκειται για την G6PD. <i>Warburg O, Christian W. Uber ein neues oxydationsferment und sein absorptionspektrum. Biochem Z, 254, 438-58, 1932.</i>
1956	Ο Paul Carson στο Σικάγο, ανακάλυψε ότι οι ασθενείς που εμφάνισαν οξεία αιμολυτική αναιμία AHA (acute hemolytic anemia) μετά από χορήγηση του ανθελονοσιακού φαρμάκου πριμακίνη, έπασχαν από σοβαρή ανεπάρκεια G6PD στα ερυθρά αιμοσφαίρια τους. <i>Alving AS, Carson PE, Flanagan CL, Ickes CE. Enzymatic deficiency in primaquine-sensitive erythrocytes. Science, 124 (3220), 484-5, 1956.</i>
1957	Στη Γένοβα, οι Gennaro Sansone και Giuseppe Segni διαπίστωσαν πως όσοι παρουσίαζαν κυαμισμό, έπασχαν από ανεπάρκεια G6PD. <i>Sansone G, Segni G. New aspects of the biochemical alterations in the erythrocytes of patients with favism; almost complete absence of glucose-6-phosphate dehydrogenase [στα ιταλικά]. Boll Soc Ital Biol Sper, 34 (7), 327-9, 1957.</i>
	Στο Τελ Αβιβ ο Arie Szeinberg και οι συνεργάτες του απέδωσαν την κληρονομικότητα της ανεπάρκειας G6PD σε γονίδιο του χρωμοσώματος X.

1958	<i>Szeinberg A, Sheba C, Adam A. Enzymatic abnormality in erythrocytes of a population sensitive to Vicia faba or haemolytic anemia induced by drugs. Nature, 181 (4618) p. 1256, 1958.</i>
1961	Στην <u>Αθήνα</u> ο Σπύρος Δοξιάδης και στη Σαρδηνία ο Franco Panizon διαπίστωσαν ότι η ανεπάρκεια G6PD συνδέεται με σοβαρό κίνδυνο νεογνικού ίκτερου. <i>Doxiadis SA, Fessas P, Valaes T. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. A new aetiological factor of severe neonatal jaundice. Lancet, 1 (7172), 297-301, 1961 και Panizon F. Erythrocyte enzyme deficiency in unexplained kernicterus [letter] Lancet, 2 (7159), p. 1093, 1960.</i>
1962	Λόγω της απενεργοποίησης του ενός X χρωμοσώματος, σύμφωνα με την υπόθεση της M.Lyon, για τα φυλοσύνδετα γονίδια, τα ετερόζυγα θηλυκά άτομα, με δύο πληθυσμούς κυττάρων είναι γενετικά μωσαϊκά. <i>Beutler E, Yeh M, Fairbanks VF. The normal human female as a mosaic of X-chromosome activity: studies using the gene for C-6-PD-deficiency as a marker. Proc Natl Acad Sci USA, 48 (1), 9-16, 1962.</i>
1965	Οι Lucio Luzzatto και Normal Allan στη Νιγηρία, βρήκαν ότι η G6PDA ⁻ είχε διαφορετική δομή από την G6PDA, ότι δηλαδή δεν πρόκειται για μικρότερη συγκέντρωση του ίδιου ενζύμου. <i>Luzzatto L, Allan NC. Different properties of glucose 6-phosphate dehydrogenase from human erythrocytes with normal and abnormal enzyme levels. Biochem Biophys Res Commun, 21 (6), 547-54, 1965.</i>
1969	Οι Philip Cohen και Michael Rosemeyer δημοσιεύουν ότι στον άνθρωπο η ενεργός μορφή της G6PD υπάρχει σε ισορροπία διμερών με τετραμερή, που αποτελούνται από 2 ή 4 όμοιες υπομονάδες. <i>Cohen P, Rosemeyer MA. Subunit interactions of glucose-6-phosphate dehydrogenase from human erythrocytes. Eur J Biochem, 8 (1), 8-15, 1969.</i>
1980	Η Barbara Migeon στη Βαλτιμόρη χαρτογραφεί το γονίδιο της G6PD, που εδράζεται στο άκρο του μακρού σκέλους του X χρωμοσώματος, (Xq28). <i>Pai GS, Sprenkle JA, Do TT, Mareni CE, Migeon BR. Localization of loci for hypoxanthine phosphoribosyltransferase and glucose -6- phosphate dehydrogenase and biochemical evidence of nonrandom X chromosome expression from studies of a human X-autosome translocation. Proc Natl Acad Sci USA, 77 (5), 2810-13, 1980.</i>
1981 - 1986	Η πλήρης νουκλεοτιδική και αμινοξική αλληλούχιση ολόκληρου του γονιδίου G6PD. <i>Persico MG, Toniolo D, Nobile C, D'Urso M, Luzzatto L. cDNA sequences of human glucose 6-phosphate dehydrogenase cloned in pBR322. Nature, 294 (5843), 778-80, 1981.</i> και <i>Martini G, Toniolo D, Vulliamy T, Luzzatto L, Dono R, Viglietto G, Paonessa G, D'Urso M, Persico MG. Structural analysis of the X-linked gene encoding human glucose 6-phosphate dehydrogenase. EMBO J, 5 (8), 1849-55, 1986.</i>
	Η κρυσταλλογραφία ακτίνων X αποκάλυψε την τρισδιάστατη δομή του τετραμερούς της ανθρώπινης G6PD.

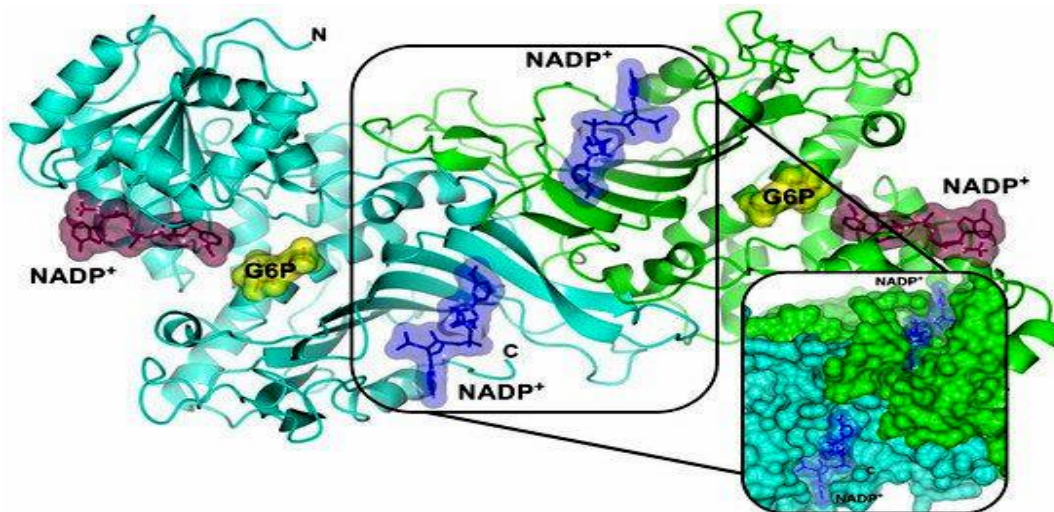
1983 - 1999	<i>Naylor CE, Rowland P, Basak AK, Gover S, Mason PJ, Bautista JM, Vulliamy TJ, Luzzatto L, Adams MJ. Glucose 6-phosphate dehydrogenase mutations causing enzyme deficiency in a model of the tertiary structure of the human enzyme. Blood, 87 (7), 2974-82, 1996.</i> και <i>Au SW, Naylor CE, Gover S, Vandeputte-Rutten L, Scopes DA, Mason PJ, Luzzatto L, Lam VM, Adams MJ. Solution of the structure of tetrameric human glucose 6-phosphate dehydrogenase by molecular replacement. Acta Crystallogr D Biol Crystallogr, 55 (Pt 4), 826-34, 1999.</i>
1995 - 2002	Η σοβαρή ανεπάρκεια της G6PD είναι θανατηφόρος για το έμβρυο. <i>Longo L, Camacho Vanegas O, Patel M, Rosti V, Li H, Waka J, Merghoub T, Pandolfi PP, Notaro R, Manova K, Luzzatto L. Maternally transmitted severe glucose 6-phosphate dehydrogenase deficiency is an embryonic lethal. EMBO J. 21(16): 4229-39, 2002. DOI: 10.1093/emboj/cdf426</i>



Εικ. 8. Η κρυσταλλογραφική δομή του διμερούς της ανθρώπινης wild-type (WT) G6PD. Στον άνθρωπο η G6PD βρίσκεται ως διμερές ή τετραμερές.



Εικ. 9. Τα δυο μονομερή μονομερή της ανθρώπινης wild-type (WT) G6PD είναι συμμετρικά ως προς τον άξονα διεπαφής τους και απεικονίζονται με γαλάζιο και πράσινο χρώμα. Το δομικό NADP⁺, το καταλυτικό NADP⁺ και η G6P (υπόστρωμα) παρουσιάζονται με μπλε, σκούρο μωβ και κίτρινο χρώμα αντίστοιχα. Στη G6PD το δεύτερο NADP⁺ υπάρχει μόνο σε ανώτερους οργανισμούς.



Εικ. 10. Διμερές της ανθρώπινης wild-type (WT) G6PD. Στο δεξί ένθετο, κοντινό πλάνο της επιφάνειας επαφής του διμερούς με τα δύο κοντινά δομικά NADP⁺, που συμβάλλουν στη σταθερότητα του ενζύμου. Από το άρθρο: Gómez-Manzo S, Marcial-Quino J, Ortega-Cuellar D, Serrano-Posada H, González-Valdez A, Vanoye-Carlo A, Hernández-Ochoa B, Sierra-Palacios E, Castillo-Villanueva A, Reyes-Vivas H. Functional and Biochemical Analysis of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase (G6PD) Variants: Elucidating the Molecular Basis of G6PD Deficiency. Catalysts 7(5), 135, 2017. <https://doi.org/10.3390/catal7050135> <https://www.mdpi.com/2073-4344/7/5/135/htm>

Πίνακας 2. Φάρμακα που σχετίζονται με αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία (Autoimmune hemolytic anemia, AHA) σε ασθενείς με ανεπάρκεια G6PD

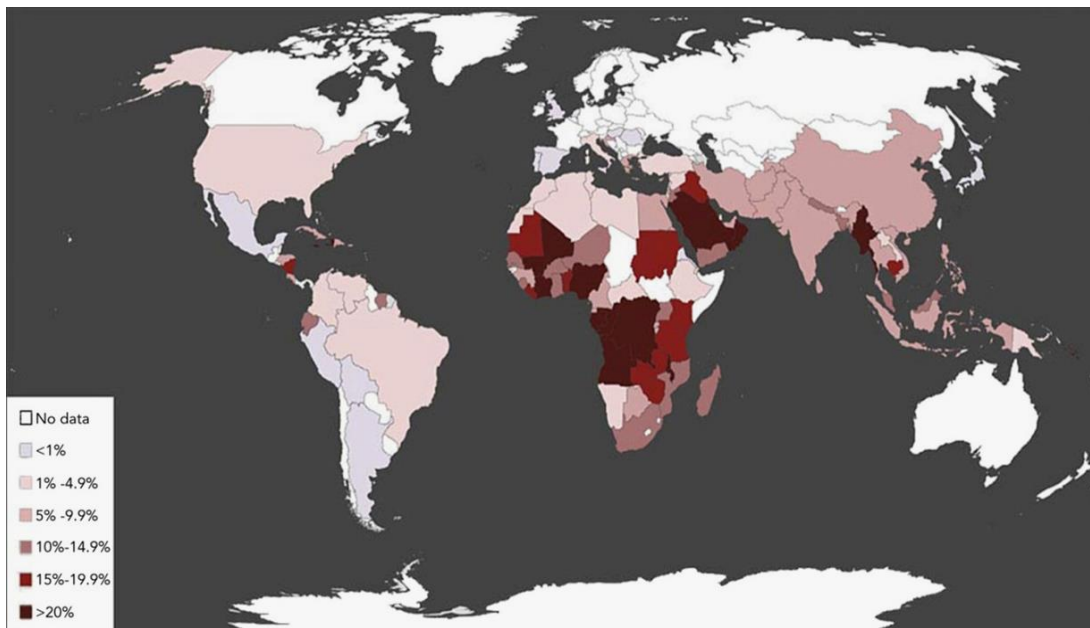
Βέβαιη αιμόλυση	Πιθανή αιμόλυση	Λιγότερο πιθανή αιμόλυση
<p>Ανθελονοσιακά</p> <p>Dapsone-containing combinations Pamaquine Primaquine Tafenoquine</p> <p>Άλλα φάρμακα</p> <p><u>Αντιμικροβιακά</u> Ciprofloxacin Moxifloxacin Nitrofurantoin (Furadantin) Nalidixic acid Niridazole Norfloxacin Sulfamethoxazole/cotrimoxazole</p> <p>Rasburicase (ανασυνδιασμένη ουρική οξειδάση) Pegloticase (ουρική αση)</p> <p>Glibenclamide ή Glyburide (αντιδιαβητικό)</p> <p>Phenazopyridine (Pyridium) (τοπικό αναλγητικό)</p> <p>Methylthionium chloride (Methylene blue) (χρωστική/αντίδοτο δηλητηριάσεων)</p>	<p>Chloroquine Quinidine Quinine *</p> <p><u>Αντιμικροβιακά</u> Sulfadiazine Sulfasalazine</p> <p>Aspirin * *</p> <p>Menadiol sodium phosphate (Vitamin K analog)</p> <p>Sulfonylureas (αντιδιαβητικά)</p> <p>Tolonium chloride (Toluidine blue, INN) χρωστική</p>	<p>Mepacrine</p> <p><u>Αντιμικροβιακά</u> Chloramphenicol</p> <p>Dimercaptosuccinic acid (αντίδοτο δηλητηριάσεων/διαγνωστικές δοκιμασίες)</p> <p>Vitamin K analogs</p> <p>Glibenclamide (αντιδιαβητικό)</p>
<p>Henna (<i>Lawsomia mermis</i>, Henna) φυτική βαφή για καλλωπισμό. Χημικές ενώσεις, όπως εκείνες που περιέχονται στη ναφθαλίνη, μπορούν επίσης να προκαλέσουν αιμολυτικό επεισόδιο.</p>		
<p>*Επίσης καλό θα ήταν να αποφεύγεται η κατανάλωση ποτών που περιέχουν κινίνη, όπως το tonic water ή κόκκινα κρασιά campari, καθώς και προϊόντα σόγιας που έχουν έκδοχα από φυτά των κυαμοειδών.</p>		

* *Ακετυλοσαλικυλικό οξύ. Δοσοεξαρτώμενη αιμόλυση, Ημερήσια δόση 75 - 100 mg, που συνήθως χορηγείται για προστασία από καρδιαγγειακά, είναι ασφαλής για άτομα με ανεπάρκεια G6PD.

Σύμφωνα με τα άρθρα a). Luzzatto L, Nannelli C, Notaro R. *Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. Hematol Oncol Clin North Am.* 30(2):373-393, 2016. b). Youngster I, Arcavi L, Schechmaster R, et al. *Medications and glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: an evidence-based review. Drug Saf.* 33(9):713-726. 2010. και c) Luzzatto L, Ally M, Notaro R. *Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. Blood* 136 (11): 1225-40, 2020. *Blood* 136,1225-40, 2020. DOI: 10.1182/blood.2019000944

Οι εξετάσεις που γίνονται για τη διερεύνηση της ανεπάρκειας της G6PD περιλαμβάνουν γενική αίματος, χολερυθρίνη, LDH. Επίσης στη διάγνωση βοηθούν και οι μοριακές τεχνικές και ο προσδιορισμός των επιπέδων NADPH (340 nm) και GSH. Το πρόγραμμα προληπτικού ελέγχου νεογνών, που εφαρμόζεται σε όλα τα νεογέννητα, τις πρώτες ημέρες ζωής τους, περιλαμβάνει και την εξέταση της έλλειψης του ενζύμου G-6PD. Τα αποτελέσματα πρέπει να αξιολογούνται με βάση το ατομικό και οικογενειακό ιστορικό, καθώς και τα κλινικά ευρήματα. Το ενδιαφέρον για την G6PD αναζωπυρώθηκε εν όψει της πανδημίας της COVID-19, επειδή ο FDA εφιστούσε την προσοχή, σχετικά με ασθενείς με ανεπάρκεια της G6PD, προκειμένου να χρησιμοποιήσουν φάρμακα, όπως χλωροκίνη, υδροξυχλωροκίνη (Πίνακας 2).

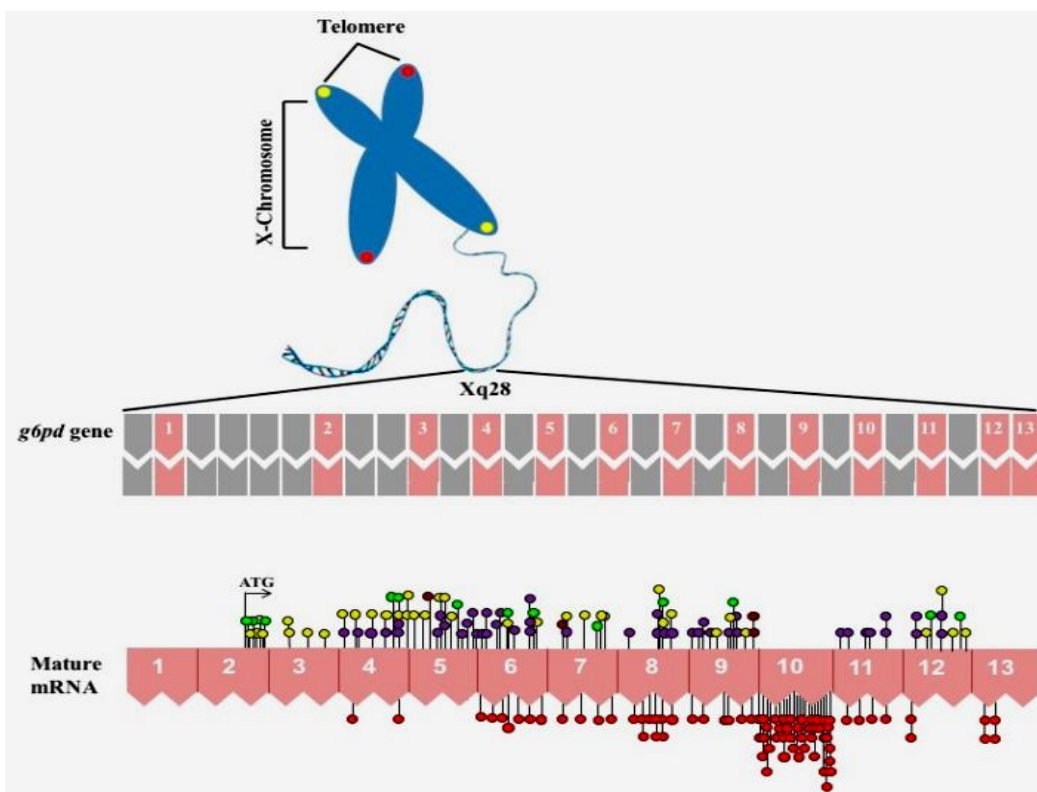
Η ανεπάρκεια της G6PD είναι η συνηθέστερη ενζυμοπάθεια. Το υπεύθυνο *G6PD* γονίδιο αποτελείται από 18.5 Kb - 13 εξώνια, 12 εσώνια, συνολικά 1545 bp - και εδράζεται στο μακρύ σκέλος του Χ χρωμοσώματος – περιοχή Χq28 (Εικ. 12). Οι επιδημιολογικές μελέτες διάφορων πληθυσμών κατέδειξαν ότι οι φορείς της ανεπάρκειας της G6PD (3.4% στον Ελληνικό πληθυσμό) προστατεύονται έναντι της ελονοσίας. Είναι πιθανό το υψηλό ποσοστό φορέας να οφείλεται και σε φυσική επιλογή έναντι της ελονοσίας. Εντοπίστηκε για πρώτη φορά στα μέσα του προηγούμενου αιώνα. Αρχικά διαπιστώθηκε ότι προκαλεί βλάβη στα ερυθρά αιμοσφαίρια, οδηγώντας σε οξεία αιμολυτική αναιμία, νεογνικό ίκτερο και χρόνια μη σφαιροκυτταρική αναιμία. Ο ακριβής μηχανισμός λύσης της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης δεν είναι γνωστός. Σύμφωνα με τον WHO ανάλογα με τη βαρύτητα της G6PD ανεπάρκειας υπάρχουν πέντε κατηγορίες, (Class I, II, III, IV, V) - οι I και II είναι πιο σοβαρές, γιατί η δραστηριότητα ενζύμου είναι μικρότερη από 10%. Η G6PD αποτελείται από 515 αμινοξέα και έχει μοριακό βάρος >59 kDa.



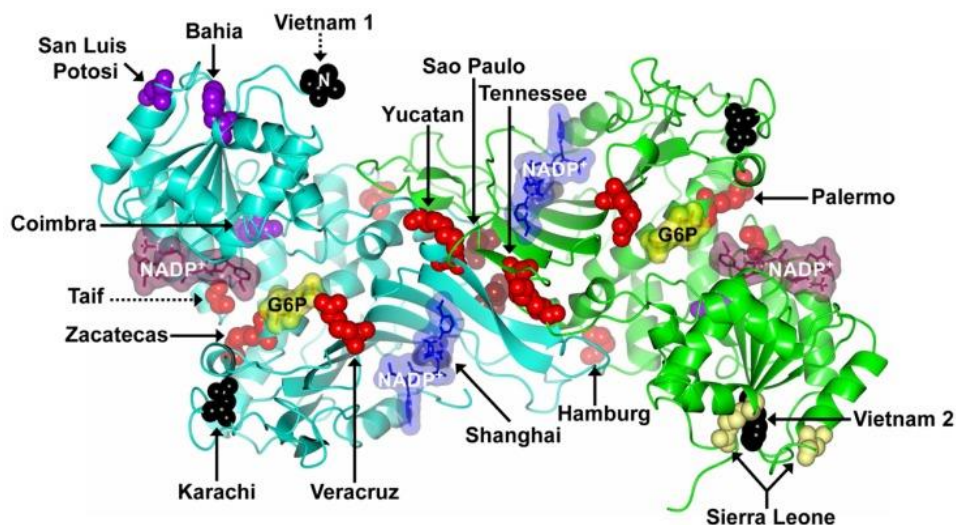
Εικ. 11 Επιδημιολογία της G6PD ανεπάρκειας. Αυτός ο παγκόσμιος χάρτης κατασκευάστηκε με βάση τα βιβλιογραφικά δεδομένα σχετικά με τη συχνότητα του πληθυσμού, που είναι φορείς πολυμορφικών αλληλόμορφων G6PD. Περισσότερα από 400 εκατομμύρια άτομα σε όλον τον κόσμο παρουσιάζουν μεταλλάξεις της G6PD. Ο υψηλότερος επιπολασμός G6PD ανεπάρκειας απαντάται στην Αφρική, τη λεκάνη της Μεσογείου, την Ασία (Αραβική και Ινδική Χερσόνησο) και τους Αφροαμερικανούς. (WHO Working Group: Beutler E, Gaetani G, der Kaloustian V, Luzzatto L, Niwa S, Pannich V, Sodeinde O, Belsey M, Kuliev A M, Modell B, Shah P M. G6PD deficiency. Bull World Health Organ, 67, 601-611, (1989). <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/264721/PMC2491315.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Ένα αλληλόμορφο στην περιοχή του X χρωμοσώματος, που δεν έχει ομολογία στο χρωμόσωμα Y, θα εκφραστεί στα αρσενικά άτομα, ακόμη κι αν είναι υπολειπόμενο. Στα οικογενειακά δέντρα παρατηρούμε ότι τα περισσότερα προσβεβλημένα άτομα είναι αρσενικά. Οι άνδρες κληρονομούν το χρωμόσωμα X από τη μητέρα τους. Οι πατέρες κληρονομούν το χρωμόσωμα X μόνο στις κόρες τους. Όλες οι κόρες ενός προσβεβλημένου άνδρα είναι φορείς και όχι ασθενείς. Οι γυναίκες εκφράζουν την ανεπάρκεια της G6PD μόνο αν είναι ομοζυγώτες. Οι κόρες μιας γυναίκας φορέα έχουν 50% πιθανότητα να είναι φορείς. (Εικ. 14). Ο μεσογειακός τύπος B(-) απαντάται κυρίως στις μεσογειακές χώρες, στη Μέση Ανατολή και την Ινδία. Οφείλεται σε μετάλλαξη του κωδικόνιου 563 (C->T), με αποτέλεσμα αντικατάσταση ενός

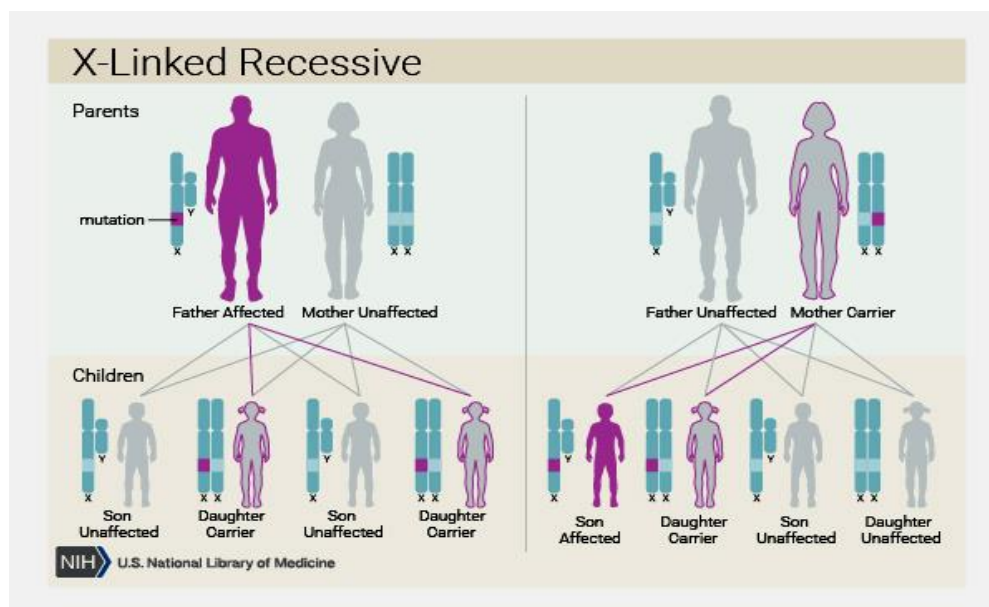
αμινοξέος στη θέση 188 (Ser->Phe). Ο μεσογειακός τύπος είναι ο συχνότερος στην Ελλάδα και συνοδεύεται από πλήρη σχεδόν ανεπάρκεια.



Εικ. 12. Σχηματική παράσταση του χρωμοσώματος X και κατανομή μεταλλάξεων στο ανθρώπινο γονίδιο της G6PD. Τα εσώνια απεικονίζονται με γκρι χρώμα και τα εξώνια (1-13) με ροζ. Στο κάτω μέρος, απεικονίζονται μεταλλάξεις που σχετίζονται με χρόνια μη σφαιροκυτταρική αιμολυτική αναιμία (κόκκινοι κύκλοι), μεταλλάξεις Τάξης II (μωβ κύκλοι), μεταλλάξεις Τάξης III (κίτρινοι κύκλοι), μεταλλάξεις Τάξης IV (καφετί κύκλοι). Οι πράσινοι κύκλοι αντιστοιχούν σε άγνωστης βαρύτητας μεταλλάξεις. Πηγή όπως και της Εικ.6.



Εικ. 13. Μεταλλάξεις στο γονίδιο της G6PD. Οι μεταλλάξεις Κατηγορίας I, II, III και IV παρουσιάζονται με κόκκινες, μπλε, κίτρινες και καφέ σφαίρες, αντίστοιχα. Οι άγνωστης βαρύτητας μεταλλάξεις εμφανίζονται με μαύρο. Πηγή όπως και της Εικ.6.



Εικ. 14. Χ-Φυλοσύνδετη υπολειπόμενη κληρονομικότητα έλλειψης της G6PD (X-linked recessive disorder): Πώς κληρονομούνται τα γονίδια που βρίσκονται στο Χ χρωμόσωμα και δεν έχουν αλληλόμορφα στο Υ, α) όταν φορέας είναι ο πατέρας και η μητέρα υγιής και β) όταν φορέας είναι η μητέρα και ο πατέρας υγιής. NIH (National Institutes of Health, National Center for Advancing Translational Sciences). <https://rarediseases.info.nih.gov/diseases/6520/glucose-6-phosphate-dehydrogenase-deficiency>

ΕΝΔΕΙΚΤΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Luzzatto L, Ally M, Notaro R. Glucose 6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Blood* 136,1225-40, 2020. DOI: 10.1182/blood.2019000944 <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006497120617190>
- Longo L, Vanegas OC, Patel M, et al. Maternally transmitted severe glucose 6-phosphate dehydrogenase deficiency is an embryonic lethal. *EMBO J.* 21(16):4229-39, 2002.
- Dore M P, Parodi G, Portoghese M, Pes G M. The controversial role of glucose 6-phosphate dehydrogenase deficiency on cardiovascular disease: a narrative review. *Oxid. Med. Cel. Longevity.* 2021 <https://doi.org/10.1155/2021/5529256> <https://www.hindawi.com/journals/omcl/2021/5529256/>
- Ψάριας Γ, Ηλιοπούλου Ε, Θεριανού Μ, Γκιζαριώτη Ζ, Πατρινός Γ, Σιαμόγλου Σ. Εξορθολογισμός της φαρμακευτικής χορήγησης χλωροκίνης και ρασμπουρικάσης σε ασθενείς με ανεπάρκεια του ενζύμου G6PD. *Εξατομικευμένη Ιατρική* 66 (2), 65-72, Μάιος- Αύγουστος 2020.
- Ινστιτούτο Υγείας του παιδιού. Φάρμακα ασύμβατα με την ανεπάρκεια του ενζύμου G6PD. <https://ich.gr/%CE%BB%CE%AF%CF%83%CF%84%CE%B1-%CE%B1%CE%BD%CE%B5%CF%80%CE%AC%CF%81%CE%BA%CE%B5%CE%B9%CE%B1%CF%82-%CF%84%CE%BF%CF%85-g6pd/>
- Muntoni S, Muntoni S., Gene-nutrient interactions in G6PD-deficient subjects--implications for cardiovascular disease susceptibility, *J Nutrigenet Nutrigenomics.* 1(1-2):49-54, 2008.
- Jensen Delfavero J, Jnah AJ, Newberry D. Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency and the Benefits of Early Screening. *Neonatal Netw. The Lancet Regional Health – Americas.* 39(5):270-82, 2020. doi: 10.1891/0730-0832.39.5.270.
- Nascimento J R, Brito-Sousa J D, Gomes Almeida A C, Melo M M, Farias Costa M R, Albuquerque Barbosa L R et al. Prevalence of glucose 6-phosphate dehydrogenase deficiency in highly malaria-endemic municipalities in the Brazilian Amazon: A region-wide screening study. *Lancet, Regional Health, Americas.* May 26, 2022. doi: <https://doi.org/10.1016/j.lana.2022.100273>
- Richardson S R, O'Malley G F. Glucose 6 Phosphate Dehydrogenase Deficiency. [Updated 2022 Sep 26]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470315/>
- Βλάχου Α, Καττάμης Α. Ενζυμοπενικές Αναιμίες. *Haema* 4(1): 66-77, 2013.
- Menounos P, Zervas C, Garinis G, Doukas C, Kolokithopoulos D, Tegos C, Patrinos G P. Molecular heterogeneity of the glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in the Hellenic population. *Hum Hered.* 50:237-241, 2000.
- Mason P J, Bautista J M, Gilsanz F, G6PD deficiency: the genotypephenotype association, *Blood Rev.* 21(5):267-83, 2007.
- Koralkova P, van Solinge W W, van Wijk R, Rare hereditary red blood cell enzymopathies associated with hemolytic anemia - pathophysiology, clinical aspects, and laboratory diagnosis, *Int J Lab Hematol.* 36(3):388-97, 2014.

- Rifkind J M, Nagababu E, Hemoglobin Redox Reactions and Red Blood Cell Aging, *Antioxid Redox Signal*. 18(17): 2274–2283, 2013.
- WHO. Malaria Policy Advisory Group Meeting 23—24 March 2022, Geneva, Switzerland Background document for Session 2. This document was prepared as a pre-read for the meeting of the Malaria Policy Advisory Group and is not an official document of the World Health Organization. WHO/UCN/GMP/MPAG/2022.01 Technical consultation to review the classification of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) https://cdn.who.int/media/docs/default-source/malaria/mpac-documentation/mpag-mar2022-session2-technical-consultation-g6pd-classification.pdf?sfvrsn=1f36be5e_7&download=true
- Braunstein E M, Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase (G6PD) Deficiency. Sep 2022. <https://www.msmanuals.com/home/blood-disorders/anemia/glucose-6-phosphate-dehydrogenase-g6pd-deficiency>
- Manganelli G, Fico A, Martini G, Filosa S, Discussion on pharmacogenetic interaction in G6PD deficiency and methods to identify potential hemolytic drugs, *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets*. 10(2):143-50, 2010.
- Πάγκαλης Γ, Αιματολογία στην κλινική πράξη, Εκδόσεις Π.Χ Πασχαλίδης, Αθήνα, 2008
- Τα άρθρα που περιλαμβάνονται στο κείμενο

Δεύτερο συνέδριο της Arab Federation of Clinical Biology (AFCB) - European Federation of Clinical Chemistry (EFLM) Laboratory Medicine for Mobile Societies (LM4MS), σε συνδιοργάνωση με το 20ο ετήσιο συνέδριο της Ελληνικής Εταιρίας Κλινικής Χημείας- Κλινικής Βιοχημείας (ΕΕΚΧ-ΚΒ) και το 29ο ετήσιο συνέδριο της Balkan Clinical Laboratory Federation (BCLF).



Σεραφείμ Καραθάνος
Βιολόγος MSc, ΕΣΕΑΠ

Με επιτυχία διεξήχθη το δεύτερο συνέδριο AFCB-EFLM LM4MS, σε συνδιοργάνωση με το 20ο ετήσιο συνέδριο της Ελληνικής Εταιρίας Κλινικής Χημείας- Κλινικής Βιοχημείας (ΕΕΚΧ-ΚΒ) και το 29ο ετήσιο συνέδριο BCLF. Το συνέδριο έλαβε χώρα στην πόλη του Ηρακλείου, κατά το διάστημα 2 έως 5 Οκτωβρίου 2022, υπό την αιγίδα της IFCC και του Πανεπιστημίου Κρήτης. Η διεξαγωγή του συνεδρίου, του οποίου κύριο θέμα ήταν η Εργαστηριακή Ιατρική στην περιοχή της Μεσογείου, έγινε με υβριδικό τρόπο (φυσική παρουσία και διαδικτυακή μετάδοση) για την όσο το δυνατόν μεγαλύτερη συμμετοχή εκπροσώπων και ομιλητών και σύμφωνα με τα ισχύοντα υγειονομικά πρωτόκολλα.

Η ολοένα αυξανόμενη μετακίνηση πληθυσμών, εξαιτίας πολέμων και κοινωνικοπολιτικοοικονομικών συνθηκών, στην ευρύτερη περιοχή της Μεσογείου, καθιστά επιτακτική την ανάγκη για υγειονομική περίθαλψη αυτών, όχι μόνο κατά την είσοδό τους στις χώρες φιλοξενίας αλλά και πέρα από τα σημεία εισόδου κατά τη διάρκεια παραμονής τους σε οικισμούς (hot spots, στρατόπεδα, κλπ). Μέσω του συνεδρίου λοιπόν, δόθηκε η δυνατότητα εποικοδομητικών συζητήσεων και ανταλλαγής απόψεων μεταξύ εργαστηριακών επιστημόνων και κλινικών ιατρών, που βρίσκονται στην πρώτη γραμμή παροχής υπηρεσιών σε πρόσφυγες και μετανάστες. Επίσης, προτάθηκαν στις υγειονομικές αρχές, αποδοτικότεροι τρόποι εργαστηριακών ελέγχων και ελέγχων υγείας των ανωτέρω πληθυσμών.

Οι συμμετέχοντες στο συνέδριο είχαν τη δυνατότητα να παρακολουθήσουν ομιλίες διακεκριμένων ελλήνων και ξένων επιστημόνων, καθώς και να γνωρίσουν νέες μεθοδολογίες και οργανολογίες μέσω των δορυφορικών συμποσίων των IVD εταιριών και της έκθεσης, που υπήρχε στον χώρο του συνεδρίου. Επίσης, λόγω των άριστων καιρικών συνθηκών που

επικράτησαν τις ημέρες του συνεδρίου, οι συμμετέχοντες είχαν τη δυνατότητα να επισκεφθούν την τοπική αγορά καθώς και διάφορα αξιοθέατα της πόλης. Παρακάτω φαίνονται αναλυτικά οι ομιλίες που πραγματοποιήθηκαν:

- Health Screening of refugees: policies and practices. Christos Lionis (GR)

SESSION 1: Improving immigrant and refugee access to primary care (I)

- TESTING FOR MALNUTRITION AND SKELETAL HEALTH IN CHILDREN OF REFUGEES AND IMMIGRANTS. Artemis Doulgeraki (GR)
- SCREENING FOR KIDNEY DISEASES IN THE CAMP: WHICH TOOLS FOR THE BEST EFFICIENCY?. Pierre Delanaye (BE)
- HEALTH SCREENING FOR WOMEN IN THE CAMP. Ioannis Mouzalas (GR)
- TOXICOLOGY AND DRUGS OF ABUSE TESTING IN THE CAMP. Abderrazek Hedhili (TN)
- ASSOCIATION OF SERUM CARBOXYLATED AND UNDERCARBOXYLATED OSTEOCALCIN WITH INDICES OF OBESITY, GLYCEMIA, AND CORONARY ATHEROSCLEROSIS DISEASE IN SYRIAN MEN. Shahrour Hosam Eddin (SY)
- MIRNA PROFILING AND WEIGHT LOSS: DIRECTED ACYCLIC GRAPHS PATHWAYS ON METABOLIC HORMONAL MARKERS IN BARIATRIC SURGERY. M. Demerdash Hala (EG)
- PROTEOMIC ANALYSIS REVEALS POSSIBLE BIOMARKERS OF Q-FEVER. Lyratzakis Alexandros (GR)
- THE “REAL WORLD” OF REFUGEES AND MIGRANTS IN THE MEDITERRANEAN AREA. Gianluca Rocco (IOM)

SESSION 2: How to make Easier and Wider the Implementation of Emerging Technologies

- HEALTH TECHNOLOGY ASSESSMENT: “THE 6W” (WHO, WHAT, WHERE, WHEN, WHY, WHERE , WHEREBY). Sergio Bernardini (IT)
- HOW TO APPLY THE USUAL QUALITY ASSESSMENT TOOLS TO AI LABMED APPLICATIONS. Damien Gruson (BE)
- IMPLEMENTING NEONATAL DIABETES DIAGNOSIS AND MONITORING. Ioannis Papassotiriou (GR)

SESSION 3: POCT applications in the diagnosis and screening of transmissible diseases

- POCT MOLECULAR BIOLOGY TESTS FOR INFECTIOUS DISEASES. Florence Doucet Populaire (FR)
- PROFICIENCY TESTING-ENSURING QUALITY IN ALL ASPECTS OF POCT. Sverre Sandberg (NO)
- SENSOR SYSTEMS APPLICATIONS FOR THE MOLECULAR ANALYSIS AT POC. Electra Gizeli (GR)
- RAPID ANALYSIS OF EMERGING AND MULTIRESTANT INFECTIONS IN REFUGEE CENTERS. Mariam Klouche (DE)

SESSION 4: Laboratory Medicine Sustainability in the Mediterranean area: how to make a collaborative network between North and South Mediterranean Countries

- LABORATORY MEDICINE WITH REDUCED RESOURCES AROUND THE MEDITERRANEAN SEA- KEY PERFORMANCE INDICATORS SELECTION AND IMPLEMENTATION. Shannan Ghassan (SY) -INTER - LABORATORY EXCHANGE OF KNOWLEDGE AND TECHNOLOGY AROUND OUR SEA - A MATTER FOR YOUNG SCIENTIST. Rania Abu Seir (PLE)
- INTER-LABORATORY EXCHANGE ON HEREDITARY METABOLIC DISEASES: AN ASSET IN NORTH-SOUTH TECHNOLOGY TRANSFER. Layachi Chabraoui (MA)
- PUBLIC AND PRIVATE LABORATORIES SYNERGIES. Abdurrahman Coskun (TR) 17:30 - 17:45

SESSION 5: The role of Laboratory Medicine in health care for migrants and refugees

- SIGNIFICANT IMPORTANCE OF LABORATORY MEDICINE IN THE HEALTH OF PALESTINIAN REFUGEES IN WEST BANK AND GAZA. Osama Najjar (PLE)
- A LAB FOR A CAMP? TOP TIPS TO DECIDE BETWEEN YES AND NO. Myrna Germanos (LB)
- LAB IN THE CAMP: ESSENTIAL NEEDS FOR LABS TESTING AND SAMPLE COLLECTION AND TRANSPORT TO CENTRAL HOSPITAL LABS. Sanja Stankovic (SRB)
- CONNECTIVITY AND COMPUTER SCIENCES APPLICATIONS IN LABORATORY MEDICINE: AN OPPORTUNITY TO SHARE PATIENT CARE IN THE MEDITERRANEAN AREA. Sergio Bernadini (IT)
- CONCURRENT MOLECULAR CHARACTERIZATION OF SAND FLIES AND LEISHMANIA PARASITES BY AMPLICON-BASED NEXT-GENERATION SEQUENCING. Al-Taradeh Mohammad (PLE)
- SYSTEMATIC COMPARISON OF DIFFERENT DERIVATISATION REAGENTS FOR DETERMINATION OF MULTIPLE VITAMIN D3 METABOLITES USING LC-MS/MS - LONG-TERM STABILITY DETERMINATION OF CHEMICAL DERIVATIVES. Alexandridou Anastasia (DE)
- ELEVATED LUTEINIZING HORMONE DESPITE NORMAL TESTOSTERONE LEVELS IN NEWLY DIAGNOSED PROSTATE CANCER PATIENTS. Najat Dereen (IR)
- WHAT IF WE ASK ABOUT AMMONIUM LEVELS? A CASE REPORT. Martínez Mayordomo Josefina (SP)
- GENETICS AND PERSONALIZED MEDICINE: THE FUTURE FOR GREECE AND THE MEDITERRANEAN REGION. Konstatinos Stratakis (GR)

SESSION 6: Newborn screening in the Mediterranean area

- OVERVIEW OF THE NATIONAL NEWBORN DSCREENING PROGRAM IN SAUDI ARABIA. Ali N Al-Odaib (KSA)
- NEWBORN SCREENING IN GREECE AND THE BALKAN AREA. Eleftheria Hatzidaki (GR)
- NEWBORN SCREENING IN ISRAEL. Suha Daas (IL)
- HOW TO COLLABORATE TO IMPROVE THE SCREENING POWER IN LOW OR MIDDLE INCOMES COUNTRIES: TF-GNS AND THE ROLE OF IFCC. Khosrow Adeli (CA)

SESSION 7: Improving immigrant and refugee access to primary care (II)

- CLINICAL IMPACT AND DIAGNOSTIC CHALLENGES OF TESTING FOR TRAUMATIC BRAIN INJURIES ON THE BORDER. Joan Montaner (SP)

- COMMUNITY-BASED SCREENING FOR PREDIABETES AND DIABETES WITH LIMITED RESOURCES. Ioannis Kyriazis (GR)
- THE IMPACT OF REFUGEE AND IMMIGRANT MOVEMENT ON BLOOD TRANSFUSION SERVICES. Elisavet Grouzi (GR)
- THE EFFECTIVENESS OF MIGRANT AND REFUGEE SCREENING FOR COMMUNICABLE DISEASES. Apostolos Veizis (GR)

SESSION 8: How to improve the benchmark and monitoring of vaccine efficacy

- INFECTIOUS DISEASE VACCINE PLATFORMS: PAVING THE WAY FOR NEW VACCINE AND THERAPEUTIC NANOMEDICINE PRODUCTS. Sophia Antimisiaris (GR)
- HOW TO MONITOR VACCINE EFFICACY AND THE DURATION OF PROTECTION. Mario Plebani (IT)
- HARMONIZATION/STANDARDIZATION OF SEROLOGICAL TESTS. Ian Young (UK)
- IMMUNE RESPONSE AND VACCINATION INDICES OF PROTECTION AND VACCINE EFFICACY: EXAMPLE OF ANTI-COVID-19 VACCINE. Hechmi Louzir (TN)

SESSION 9: Integrated Diagnostics on reduced resources environments

- IMPROVING DIAGNOSTICS OF CARDIOMETABOLIC DISEASE THROUGH INTEGRATED MULTI-OMICS APPROACHES. Miron Sopić (SRB)
- INTEGRATED DIAGNOSIS: EVIDENCE BASED THERAPY GUIDANCE IN ONCOLOGY. Tomris Ozben (TR)
- ARTIFICIAL INTELLIGENCE TOOLS FOR INTEGRATED DIAGNOSIS AND BIG DATA MANAGEMENT. Michael Neumaier (DE)
- QUALITY ASSESMENT OF TOTAL TESTING PROCESS AND PREANALYTICAL ERRORS IN A LAB FOR A CAMP: WHERE ARE WE IN COVID-19 PANDEMIC?. Pap Dragana (SRB)
- THE ASSOCIATION OF SEMINAL PLASMA BIOCHEMICAL CONSTITUENTS LEVEL AND DIFFERENT SEMINAL CONDITIONS. Bartolovic Daniela (SRB)
- CORRELATIONS BETWEEN D-DIMER, C REACTIVE PROTEIN AND HEMATOLOGIC DATA IN OUTPATIENTS WITH COVID-19. Shllaku Hamide (ALB)

SESSION 10: Training and education in Lab Medicine: towards a common Syllabus

- EU SYLLABUS FOR TRAINING IN LABORATORY MEDICINE. Evgenija Homsak (SVN)
- POST DEGREE TRAINING IN LABORATORY MEDICINE IN TUNISIA. Khalil Ben Abdallah (TN)
- POST DEGREE TRAINING IN LABORATORY MEDICINE THE YOUNG SCIENTISTS POINT OF VIEW. Evgenia Konsta (GR)
- POST-GRADUATE EDUCATION IN LABORATORY MEDICINE IN TURKEY. Aylin Sepici (TR)
- OBJECTIVES OF TASK GROUP OF YOUNG SCIENTISTS – NETWORK. Aleksei Tikhonov (FR)

SESSION 11: BCLF SESSION BCLF Session

- CLINICAL MASS SPECTROMETRY - A MAJOR TECHNOLOGICAL ADVANCES DRIVER IN LABORATORY MEDICINE. Dobrin Svinarov (BG)
- PHARMACOGENETIC ASPECTS OF ACENOCOUMAROL THERAPY IN PATIENTS WITH CARDIAC SURGERY: THE EFFECTS OF CYP2C9 AND VKORC1 GENE POLYMORPHISMS. Milena Velizarova (BG)
- SPECIALIZATION IN MEDICAL BIOCHEMISTRY IN THE REPUBLIC OF NORTH MACEDONIA - FUTURE PERSPECTIVES. Jasna Bogdanska (MK) - North Macedonian Society of Medical Biochemistry and Laboratory Medicine
- ACCREDITATION FROM A POSITIVE LEADERSHIP PERSPECTIVE. Katerina Tosheska-Trajkovska (MK) - North Macedonian Society of Medical Biochemistry and Laboratory Medicine
- NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE-WHERE DO WE STAND TODAY?. Aleksandra Klisic (ME) - Montenegrin Association of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine
- ESSENTIAL TRACE ELEMENTS: COMPLEX CROSS-TALKS IN INFLAMMATION. Irena Dimitrova Ivanova (BG)

<https://lm4ms.org/>



IFCC President Message

IFCC-EFLM EuroMedLab-WorldLab Congress
2023 – Rome, Italy

It is my great pleasure to formally announce the XXV IFCC-EFLM EuroMedLab Congress, which will be jointly hosted by IFCC, EFLM, and the Italian Society in partnership with MZ Events. I invite all of you to participate in the academic sessions, industry exhibits, and other offerings of this premier scientific event, taking place in Rome, Italy from May 21-25, 2023.

Indeed, the biannual EuroMedLab Congresses continue to act as leading forums in the field of laboratory medicine and clinical chemistry, bringing together scientists, laboratory specialists, clinicians, and industry colleagues to enable scientific exchange and advancement. The 2023 EuroMedLab Congress will feature innovative and diverse education opportunities, including lectures, symposia, recent advancements in clinical practice and science, poster presentations, and industry exhibits, as well as an excellent social program. Attendees will thereby have the chance to interact with distinguished experts from around the world.

Rome will provide the perfect setting for this experience, as a truly global city that is rich in history, stunning architecture, and a cosmopolitan atmosphere. The organizing and scientific conference committees are now busy planning outstanding scientific and social programs.

As IFCC continues to grow and expand its international reach, we remain committed to the key goal of advancing better healthcare worldwide. International forums such as the 2023

EuroMedLab Congress support us in this effort by ensuring our organization and field remain at the cutting edge. In support of this mission, the conference organizing committee and scientific organization committee are working hard to build a very strong program with a truly international faculty as well as industry workshop and exhibits. Stay tuned for more information over the coming year!

*Khosrow Adeli PhD, FCACB, DABCC, FAACC
IFCC President*



EFLM President Message

Dear Colleagues, and Friends,

On behalf of the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM), it gives me an immense pleasure and a great honor to invite you to attend the joint 25th International Congress of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (WorldLab) and 25th European Congress of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EuroMedLab) which will be hosted by the Italian Society of Clinical Biochemistry and Clinical Molecular Biology (SIBioC), on the occasion of their 55th Annual congress at the new Rome Convention Center “The Cloud” from May 21st to 25th, 2023. The congress will employ a blended approach of both physical and virtual interactions. The Scientific Program Committee has put together a fantastic multidisciplinary program covering a broad range of important themes such as basic concepts, advanced diagnostics and techniques used in laboratory medicine. The program will feature lectures, oral presentations, posters and high-level educational workshops. Distinguished international speakers and key opinion leaders will deliver presentations in health care, on recent diagnostic technologies, scientific advances, and challenges.

The In Vitro Diagnostic (IVD) Sector supports the Congress via organizing two important activities, high-level Educational Workshops on important topics with eminent speakers presenting the latest scientific advances in all disciplines pertinent to laboratory medicine. The IVD Sector also organizes a great exhibition providing the attendees a great opportunity to explore the recent novel technological advances and practical solutions fitting to the needs of clinical laboratories.

The objective of this meeting is not only to contribute to the advancement of laboratory medicine and to the dissemination of advanced knowledge, but also to foster the creation of an opportunity to establish professional and scientific links/bridges among the participants. On behalf of the EFLM, I look forward to meeting you at the Joint 25th WorldLab-EuroMedLab and 55th SIBioC Congress to be held in the excellent conference venue of Rome “The Cloud”, enjoying

inspirational scientific program, exhibition, networking, and social activities. I am confident that you will find your time rewarding and worthwhile.

*Professor Tomris Ozben, EuSpLM, Ph.D., D.Sci., Specialist in Clinical Biochemistry
EFLM, President*



SIBioC President Message

Dear Colleagues and Friends,

It is my great privilege and pleasure to invite you to WorldLab Euromedlab to be held in Rome from May 21st to 25th, 2023 on behalf of the Italian Society of Clinical Biochemistry and Clinical Molecular Biology, Sibioc-Laboratory Medicine.

For our Society, 2023 will be an extraordinary year! We have a unique opportunity to host both the 25th International Congress of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, World Lab and the 25th European Congress of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, EuroMedLab in the occasion of Sibioc's 55th Annual congress, in the most stylish and futuristic Convention Center "The Cloud" in our capital city, Rome.

The Rome Conference Organizing Committee has developed an impressive, remarkable and exciting scientific program, covering the most relevant and strategic areas for the future of Laboratory, Medicine and Patient Care. The scientific programme highlights the value of clinical laboratory testing by presenting the most updated information on the hottest topics in Laboratory Medicine. International speakers and key opinion leaders will review and present important issues regarding the profound changes expected in Laboratory Medicine following the introduction of new analytical technologies, new diagnostic strategies, innovation in digitalization, extensive data processing and the consequent integration and interpretation of clinical laboratory information.

We are looking forward to celebrate time together again following prolonged professional and social isolation due to the pandemic. We hope the 2023 WorldLab, Rome Conference will provide us a chance to learn remarkable, updated scientific skills from outstanding experts and to develop and encourage new and ongoing personal and professional relationships.

"The Cloud" Congress Center is a novel and unique location which offers innovative services, facilitating participants every comfort requirement. The location also offers a great opportunity

to visit the fascinating city of Rome; a city which has inspired people for millennia with its incredible history, works of art, collection of monuments and world-renowned cuisine.

“Eternal City” and its “dolce vita” lifestyle will help us all relax, appreciating the city’s beauty and charm wherever we may go, whether it be basking in the plentiful sunshine with a gelato in hand or walking through elegant piazzas and stumbling over magnificent sights, such as the Trevi Fountain or the Colosseum.

Sibioc is dedicated to making Rome 2023 an unforgettable meeting for all attendees.

I truly hope to welcome you to Rome next year!

With my warmest regards,

Tommaso Trenti

President of Italian Society of Clinical Biochemistry and Clinical Molecular Biology, Sibioc-Laboratory Medicine.



Congress President Message

Dear Colleagues and Friends,

it is my great pleasure to invite you to the WorldLab Euromedlab Rome 2023 – 25th INTERNATIONAL CONGRESS OF CLINICAL CHEMISTRY AND LABORATORY MEDICINE and 25th EUROPEAN CONGRESS OF CLINICAL CHEMISTRY AND LABORATORY MEDICINE that will be held in Rome from May 21st to 25th, 2023.

Rome, a city well-known for its Art and Culture, is happy to be the host of the event and will be honored to welcome you at the new Convention Center “The Cloud” placed in the heart of the city. This spectacular location promises to offer you an excellent conference venue with latest technology and functionality combined with the extraordinary history of Rome.

The Covid Pandemic forced us to change our life for years, to get in touch mainly by distance and to limit meetings with colleagues and friends.

During this challenging time we fought together against the spread of the virus and against Covid19 disease contributing to the screening, diagnosis, follow up and prognosis with a decisive impact in the outcome of Covid19 for millions of people all over the world.

From this tragedy we learnt that nobody can be left behind and that this is the main mission of IFCC that always has been the leader in developing evidence on the Value and impact of Laboratory Medicine in patient care and enhancing quality of clinical laboratory testing globally.

The Rome Conference Organizing Committee planned an exciting scientific programme to showcase the future of laboratory diagnostics. The event will be covering cutting edge science and disrupting technologies in laboratory medicine together with IVD Companies that will attend the great LabMed Exhibition in “The Cloud”. We are certain that the IFCC WorldLab EuroMedLab Rome 2023 will be a rewarding and unforgettable experience for all our participants attending from around the world.

Looking forward to meeting you all in Rome at IFCC WorldLab-Euromedlab 2023.

Yours truly,
Sergio Bernardini
Congress President



Scientific programme committee Chair Message

On behalf of The European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine and on behalf of the Scientific Programme Committee of the Congress, I warmly invite you to join us at the joint 25th International Congress of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (WorldLab) and 25th European Congress of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EuroMedLab) which will be hosted by the Italian Society of Clinical Biochemistry and Clinical Molecular Biology, on the occasion of their 55th Annual congress.

The COVID-19 pandemic was and still is a very difficult time for most of us, but it was also the opportunity to demonstrate the extraordinary value and significant contribution of our profession in the global joint battle against Sars-CoV-2 virus. Laboratory medicine was at the core of the defence strategy, providing tools for effective detection of COVID-19 infection, monitoring of the disease progression and measuring the function of the various elements of immunity. The 25th WorldLab-EuroMedLab will be the opportunity for us to further emphasize our value and contribution to the society and to the healthcare, discuss latest exciting developments in all areas of laboratory medicine and broaden our knowledge by learning from the best.

The Scientific Committee, which I have the honour to chair, will strive to put together an outstanding, challenging and inspirational programme. We will make sure to address most, if not all, of the topics suggested by the members of the International Scientific Advisory Board and do our best to deliver the content that fully meets your expectations.

None can guarantee that 25th WorldLab-EuroMedLab will be held in personal attendance, but my hopes are that, at the time of this event, the pandemic restrictions will be long gone and that we will have the opportunity to enjoy fully not only the scientific but also the social part of the conference.

What I am absolutely sure is that the organizers will make their best to ensure the safe environment and pleasant and enjoyable atmosphere for you. The beautiful city of Rome will be ready to welcome you warmly in May 2023.

Come to Rome, join us for the 25th WorldLab-EuroMedLab and enjoy the opportunity to get inspired by some extraordinary colleagues, experts and top scientists in our profession.

Help us make the 25th WorldLab-EuroMedLab a truly memorable meeting.

I look forward to meeting you all in Rome!

Professor Ana-Maria Šimundić
Scientific programme committee, chair

<https://2023roma.org/>



- 25th International Congress of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (WorldLab)
- 25th European Congress of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EuroMedLab)
- 55th SIBioC (Societa Italiana di Biochimica Clinica e Biologia Molecolare Clinica) Congress, Italian Society of Clinical Biochemistry and Clinical Molecular Biology, Sibioc-Laboratory Medicine.

25th WorldLab-EuroMedLab ΔΟΥΦΟΡΙΚΕΣ ΣΥΝΑΝΤΗΣΕΙΣ

1. 20 Μαΐου 2023 16th International Congress of Pediatric Laboratory Medicine XVI (ICPLM)
<https://2023roma.org/index.php/xvi-icplm/>
2. 20-21 Μαΐου 2023 CLINICAL MASS SPECTROMETRY: Validation and Accreditation of IVD and Laboratory Developed Test (LDT) in the new "Regulation EU 2017/746" ERA
<https://2023roma.org/index.php/clinical-mass-spectrometry/>
3. 20-21 Μαΐου 2023 Point-of-Care Testing: Home, Hospital and Beyond
<https://2023roma.org/index.php/poct-meeting/>
4. 21 Μαΐου 2023 The Road to Measurably Better Healthcare Performance: Integrated Clinical Care Workshop to Maximize Key Performance Indicators for Patients, Payors, Clinicians and Health Systems
<https://2023roma.org/index.php/mbhcp/>



<https://rivistanatura.com/il-ciclo-vitale-delle-farfalle-la-metamorfosi-di-una-crisalide/>

Ο χρόνος είναι γρήγορος ίσκιος πουλιών
Τα μάτια μου ορθάνοιχτα μες στις εικόνες του
Γύρω απ' την ολοπράσινη επιτυχία των φύλλων
Οι πεταλούδες ζουν μεγάλες περιπέτειες
Ενώ η αθωότητα
Ξεντύνεται το τελευταίο της ψέμα
Γλυκιά περιπέτεια Γλυκιά
Η Ζωή.

Οδυσσέας Ελύτης. Προσανατολισμοί, Εκδ. Πυρσός, Αθήνα 1940.

Ο χρόνος, σκέφτομαι, ίσως είναι μια αργοπορημένη τιμωρία – για ποιο
πανάρχαιο σφάλμα! ... Έτσι συνήθως χάνουμε τα πιο ωραία χρόνια μας,
από 'να τίποτα: ένα αύριο που άργησε ή ένα λυκόφως που κράτησε πολύ.

Τάσος Λειβαδίτης. Βιολέτες για μια εποχή, Εκδ. Κέδρος, Αθήνα 1985

Τη μέρα που ανακαλύφτηκε ο χρόνος οι άνθρωποι κούρδισαν τα ρολόγια κι
άρχισαν να τον κυνηγούν.

Κλείτος Κύρου. Εν όλω, Συγκομιδή 1943-1997, Εκδ. Άγρα, Αθήνα 1997.

Χρόνια που πέσαν πάνω μας, σαν προβολείς.
Μας τουφεκίζουν έναν, έναν
σαστισμένους λαγούς

Μιχάλης Γκανάς. Ακάθιστος Δείπνος, Εκδ. Καστανιώτης, Αθήνα, 1996.

Πού πάει ο καιρός που φεύγει (Εδώ Λιλιπούπολη)
Στίχοι: Μαριανίνα Κριεζή, Μουσική: Δημήτρης Μαραγκόπουλος
Διευθύνει ο Μάνος Χατζηδάκις

Ερμηνεία: Σαββίνα Γιαννάτου & Αντώνης Κοντογεωργίου

https://www.youtube.com/watch?v=Cm17EX2tCXY&list=PLqGCELh1Eqk_lK_Ba1aKFHWUwFBJqV9e9&index=6

