



Περιεχόμενα

- ΜΕΤΑΒΟΛΙΤΕΣ
ΕΞΩΣΩΜΑΤΩΝ
ΠΛΑΣΜΑΤΟΣ ΚΑΙ
MIRNAS... ΜΗ
ΜΙΚΡΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟ
ΚΑΡΚΙΝΟ ΠΝΕΥΜΟΝΑ
ΠΡΩΙΜΟΥ ΣΤΑΔΙΟΥ
- ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΒΙΟΔΕΙΚΤΩΝ
ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ ΜΕ
ΕΙΔΙΚΟΥΣ ΔΕΙΚΤΕΣ
ΡΕΥΜΑΤΟΕΙΔΟΥΣ
ΑΡΘΡΙΤΙΔΑΣ ...
- ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΣΥΓΧΡΟΝΩΝ
ΜΕΘΟΔΩΝ
ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ
ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΗΒΑ1C

Συντακτική Επιτροπή

ΑΝΔΡ. ΓΡΗΓΟΡΑΤΟΥ
ΕΥΗ ΚΩΝΣΤΑ
ΑΓΓΕΛ. ΜΕΛΠΙΔΟΥ
ΜΑΡΙΛ. ΣΤΑΜΟΥΛΗ

ΕΝΗΜΕΡΩΤΙΚΟ ΔΕΛΤΙΟ 49 – ΜΑΡΤΙΟΣ 2024

Αγαπητοί συνάδελφοι,

σας καλωσορίζω στο τεύχος Ιανουαρίου - Μαρτίου του Δελτίου της Εταιρείας Κλινικής Χημείας-Κλινικής Βιοχημείας.

Το παρόν τεύχος περιλαμβάνει ενδιαφέροντα άρθρα, που έχουν βραβευθεί στο 21ο Πανελλήνιο Συνέδριο Κλινικής Χημείας (12-14 Οκτωβρίου 2023). Συγχαρητήρια στους βραβευμένους συναδέλφους και αισιοδοξία για περισσότερες και ακόμη πιο ενδιαφέρουσες εργασίες στο φετινό μας Συνέδριο.

« Έσθλῶν μὲν γὰρ ἅπ' ἑσθλὰ διδάξειαι· ἦν δὲ κακοῖσι συμμίσηγης, ἀπολεῖς καὶ τὸν ἑόντα νόον»...*

Με φιλικούς χαιρετισμούς,

Ανδριανή Γρηγοράτου.

**Απ' τους καλούς πάντα καλό θα μάθης. Αν πηγαίνεις με τους κακούς, και το μυαλό που σούλαχε θα χάσης. Ξενοφώντας I-II
Απομνημονεύματα: Μετάφραση Κων. Βάρναλης. Εκδ. Ζαχαρόπουλου, Αθήνα, 1939.*

ΜΕΤΑΒΟΛΙΤΕΣ ΕΞΩΣΩΜΑΤΩΝ ΠΛΑΣΜΑΤΟΣ ΚΑΙ MIRNAS: ΈΝΑ ΑΝΕΞΕΡΕΥΝΗΤΟ ΠΕΔΙΟ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΡΟΒΛΕΨΗ ΥΠΟΤΡΟΠΗΣ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΜΗ ΜΙΚΡΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ ΠΡΩΙΜΟΥ ΣΤΑΔΙΟΥ

ΕΛΕΝΗ ΘΑΝΟΥ¹, ΒΙΒΗ ΜΠΑΦΙΤΗ², ΣΩΤΗΡΗΣ ΟΥΖΟΥΝΗΣ², ΑΘΑΝΑΣΙΟΣ ΚΩΤΣΑΚΗΣ³, ΒΑΣΙΛΗΣ ΓΕΩΡΓΟΥΛΙΑΣ⁴, ΕΥΗ ΛΙΑΝΙΔΟΥ¹, ΘΕΟΔΩΡΑ ΚΑΤΣΙΛΑ², ΑΘΗΝΑ ΜΑΡΚΟΥ¹

¹Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας, Τμήμα Χημείας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, 15771 Αθήνα, Ελλάδα.

²Ινστιτούτο Χημικής Βιολογίας, Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών, 11635 Αθήνα, Ελλάδα.

³Τμήμα Παθολογίας-Ογκολογίας, Γενικό Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Λάρισας, 41334 Θεσσαλία, Ελλάδα.

⁴Α΄ Ογκολογικό Τμήμα, Νοσοκομείο Metropolitan General, 15562 Χολαργός, Ελλάδα.

Ο καρκίνος του πνεύμονα είναι ο πιο συχνά διαγνωσμένος καρκίνος παγκοσμίως. Η παθοφυσιολογία του πνεύμονα είναι περίπλοκη και ελλιπώς κατανοητή. Δεν υπάρχουν συγκεκριμένα συμπτώματα για τον καρκίνο του πνεύμονα, ενώ οι περισσότεροι ασθενείς έχουν ήδη προχωρημένη νόσο κατά τη στιγμή της εκδήλωσης οποιουδήποτε συμπτώματος [1]. Ταξινομείται σε δύο βασικούς τύπους: τον **μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα (Non-Small Cell Lung Cancer, NSCLC)** και τον **μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα (Small Cell Lung Cancer, SCLC)**. Οι 3 κύριοι τύποι NSCLC είναι το αδenoκαρκίνωμα, το ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα και το μεγαλοκυτταρικό καρκίνωμα [2]. Ο NSCLC είναι μια ετερογενής νόσος, άρα η θεραπεία πρέπει να είναι εξατομικευμένη ανάλογα με την κλινική κατάσταση του ασθενούς, το στάδιο της νόσου, τον ιστολογικό κυτταρικό τύπο και το μοριακό προφίλ [3], [4].

Η ιστολογική εξέταση του όγκου, αν και αποτελεί μια επεμβατική διαδικασία για τη βιοψία ιστού συμπαγούς όγκου, εξακολουθεί να είναι η κύρια μέθοδος για τη διάγνωση του καρκίνου στις μέρες μας. Η δειγματοληψία όγκων από ορισμένους τύπους καρκίνου παραμένει δύσκολη με αποτέλεσμα την ανεπαρκή ποσότητα ιστού για γενετικό έλεγχο. Στην περίπτωση του προχωρημένου ή μεταστατικού NSCLC, το 31% των περιπτώσεων δεν έχουν προσβάσιμο ιστό [5].

Η **υγρή βιοψία (Liquid Biopsy, LB)** είναι μια προσέγγιση για τον εντοπισμό ή την ανίχνευση βιοδεικτών από σωματικά υγρά, όπως είναι το αίμα, το πλάσμα ή ο ορός, τα ούρα και το ΕΝΥ. Η υγρή βιοψία είναι μια μέθοδος, η οποία δίνει τη δυνατότητα παρακολούθησης ασθενών με καρκίνο σε τακτά χρονικά διαστήματα, την ανίχνευση **ελάχιστης υπολειπόμενης νόσου (Minimal Residual Disease, MRD)** και τη μελέτη μεταστάσεων και μηχανισμών αντίστασης στη θεραπεία. Περιλαμβάνει την ανάλυση των **κυκλοφορούντων καρκινικών κυττάρων (Circulating Tumor Cells, CTCs)**, του **κυκλοφορούντος καρκινικού DNA (circulating tumor DNA, ctDNA)**, του **κυκλοφορούντος εξωκυττάρου RNA (cell-free RNA, cfRNA)** και των **εξωκυττάρων κυστιδίων που προέρχονται από όγκους (Extracellular Vesicles, EVs)** [6].

Τα EVs κατηγοριοποιούνται σε τρεις κύριους τύπους ανάλογα με τον τόπο προέλευσής τους, την πυκνότητα, την έκφραση των δεικτών και το μέγεθός τους. Τα **αποπτωτικά σώματα (apoptotic bodies, ABs)**, τα **μικροκυτίδια (Microvesicles, MVs)** και τα **εξωσώματα (exosomes, EXOs)** [7]. Γενικά τα εξωσώματα εμπλέκονται στην αγγειογένεση, στη διαφοροποίηση των κυττάρων, στην ανοσορύθμιση, στη μεταβολική ισορροπία και στη νεοπλασία. Είναι πλούσια σε βιοδείκτες για τη διάγνωση και την πρόγνωση της νόσου. Οι βασικές τους εφαρμογές εστιάζουν στον καρκίνο [8]. Η ανίχνευση βιοδεικτών που προβλέπουν τον καρκίνο στα εξωσώματα μπορεί να συμβάλει στη

βελτίωση της ειδικότητας και της ευαισθησίας της έγκαιρης διάγνωσης των όγκων. Τα συστατικά που τα εξωσώματα φέρουν ποικίλλουν, ανάλογα με την κυτταρική τους προέλευση. Εντούτοις, όλα περιέχουν λιπίδια, πρωτεΐνες, νουκλεϊκά οξέα και μεταβολίτες [9].

Από την άλλη πλευρά, το cfRNA αποτελείται από μια ποικιλία μορίων RNA. Υπάρχει σε διάφορα σωματικά υγρά, όπως το αίμα, ο ορός και το πλάσμα, και εμπλέκεται σε πολλαπλές φυσιολογικές και παθολογικές διεργασίες [10]. Το cfRNA στο αίμα απελευθερώνεται από τα κύτταρα με ενεργή έκκριση ή μέσω απόπτωσης και νέκρωσης [11], [12].

Αρκετές κατηγορίες μικρών ρυθμιστικών **μη κωδικών μορίων RNA (non-coding RNAs, ncRNAs)**, τα οποία είναι και συστατικά των εξωσωμάτων και του cfRNA, έχει αποδειχθεί πως λειτουργούν ως βασικοί ρυθμιστές της γονιδιακής έκφρασης σε πολλά διαφορετικά κυτταρικά μονοπάτια και συστήματα [13]. Διακρίνονται σε **μεγάλα μη κωδικά RNAs (long non-coding RNAs, lncRNAs)** και σε **μικρά μη κωδικά RNAs (small ncRNAs)**, όπως είναι τα miRNAs [14].

Διαταραχές έκφρασης miRNAs έχει αποδειχθεί ότι συμβαίνουν κατά τη διάρκεια πολλών ασθενειών, συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου. Οι διαταραχές έκφρασης miRNAs στα καρκινικά κύτταρα συχνά έχουν τις ρίζες τους στον εντοπισμό των γονιδίων που τα κωδικοποιούν [15]. Όπως τα miRNAs, έτσι τα lncRNAs λειτουργούν, επίσης ως ογκογονίδια ή ογκοκατασταλτικά για τη ρύθμιση της ογκογένεσης [16].

Οι μεταβολίτες είναι μικρά μόρια και είναι ενδιάμεσα και προϊόντα του κυτταρικού μεταβολισμού. Βρίσκονται τόσο μέσα σε κύτταρα, όσο και στο πλάσμα και στα εξωσώματα. Διακρίνονται σε πρωτογενείς μεταβολίτες, οι οποίοι εμπλέκονται άμεσα στην ανάπτυξη και την αναπαραγωγή και σε δευτερογενείς μεταβολίτες, οι οποίοι δεν εμπλέκονται άμεσα σε διεργασίες. Έτσι, οι πρωτογενείς μεταβολίτες είναι κρίσιμοι για την επιβίωση ενός οργανισμού. Οι δευτερογενείς μεταβολίτες μπορεί να μην είναι τόσο σημαντικοί, αλλά η έλλειψη ή η ανεπάρκειά τους μπορεί να οδηγήσει σε βλάβη του οργανισμού. Η μεταβολομική είναι η μελέτη των προφίλ μεταβολιτών [17].

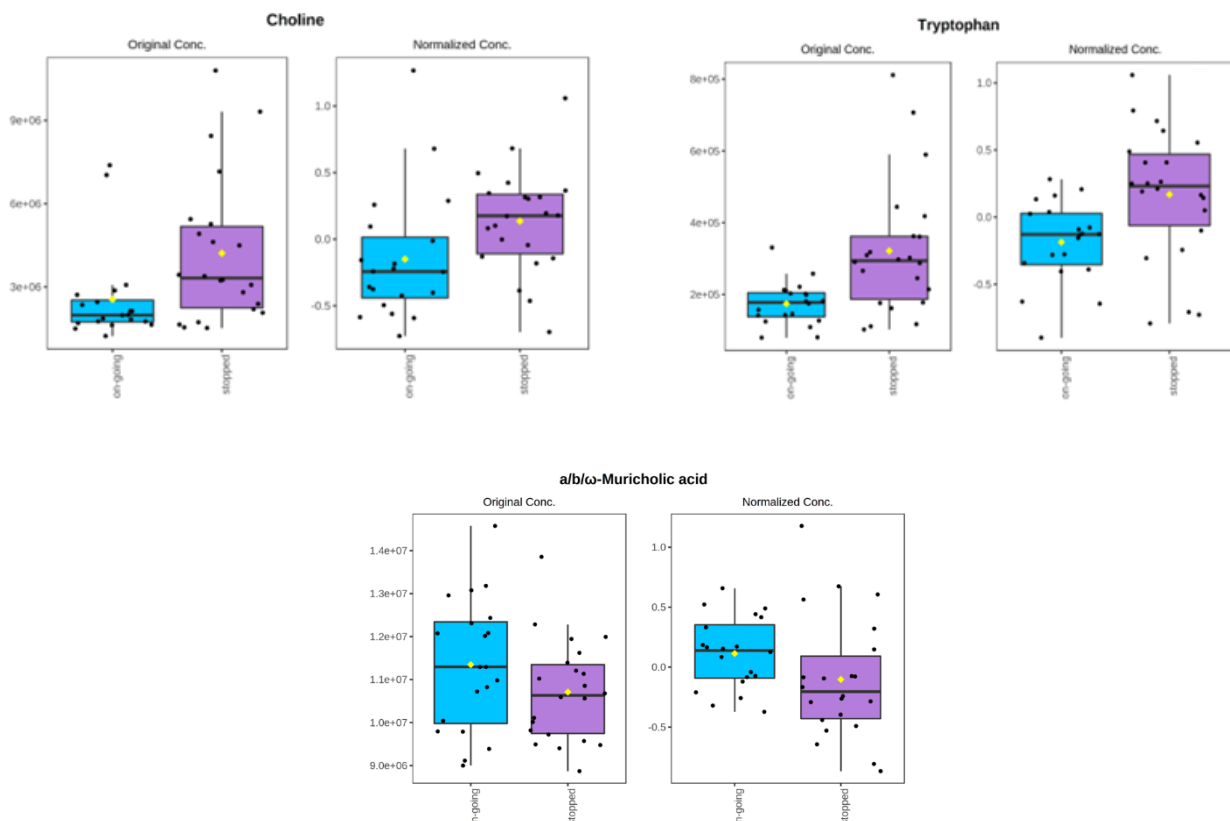
Σκοπός της εργασίας είναι η μεταβολομική ανάλυση στα εξωσώματα του πλάσματος ασθενών με NSCLC πρώιμου σταδίου, η μελέτη της έκφρασης των miRNAs miR-29a-3p-3p, miR-338-3p και miR-21 στα εξωσώματα του πλάσματος ασθενών με NSCLC πρώιμου σταδίου και η μελέτη της έκφρασης του lncRNA H19 στα εξωσώματα του πλάσματος και στο πλάσμα ασθενών με NSCLC πρώιμου σταδίου.

Στη μελέτη χρησιμοποιήθηκαν 50 δείγματα περιφερικού αίματος:

- ❖ 20 δείγματα ασθενών με NSCLC πρώιμου σταδίου, που δεν είχαν λάβει φαρμακευτική θεραπεία και δεν είχαν υποβληθεί σε χειρουργική αφαίρεση. Επίσης, δεν παρουσίασαν υποτροπή της νόσου σε follow-up 36 μηνών (baseline).
- ❖ 12 δείγματα ασθενών με NSCLC πρώιμου σταδίου, που δεν είχαν λάβει φαρμακευτική θεραπεία και δεν είχαν υποβληθεί σε χειρουργική αφαίρεση. Επίσης, παρουσίασαν υποτροπή της νόσου σε follow-up 36 μηνών που μετέπειτα παρουσίασαν υποτροπή της νόσου (**baseline**).

- ❖ 8 δείγματα ασθενών με NSCLC πρώιμου σταδίου στο χρονικό σημείο υποτροπής της νόσου (PD)
- ❖ 10 δείγματα υγιών δοτών (ομάδα ελέγχου)

Πραγματοποιήθηκε *in silico* ανάλυση σε βάσεις δεδομένων και σε βιβλιογραφία για την ανακάλυψη μεταβολιτών και miRNAs που εντοπίζονται σε εξωσώματα του πλάσματος σε ασθενείς με NSCLC πρώιμου σταδίου. Ακολούθησε μη στοχευμένη μεταβολομική εργαστηριακή ανάλυση των εξωσωμάτων του πλάσματος των δειγμάτων με NSCLC πρώιμου σταδίου. Κατόπιν, πραγματοποιήθηκε επεξεργασία των αποτελεσμάτων που προέκυψαν από το LC-MS για τον προσδιορισμό των μεταβολιτών και έγινε ο προσδιορισμός μεταβολικών μονοπατιών και σχέσεων. Μετά την επεξεργασία, διαπιστώθηκαν αυξημένα επίπεδα χολίνης και τρυπτοφάνης και μειωμένα επίπεδα α/β/ω-μουριχολικού οξέος στα εξωσώματα ασθενών με NSCLC πρώιμου σταδίου που υποτροπίασαν σε σχέση με τα εξωσώματα ασθενών με NSCLC πρώιμου σταδίου που δεν υποτροπίασαν [Σχήμα 1]. Οι μεταβολίτες αυτοί συνδέονται με τον μεταβολισμό των γλυκεροφωσfolιπιδίων.



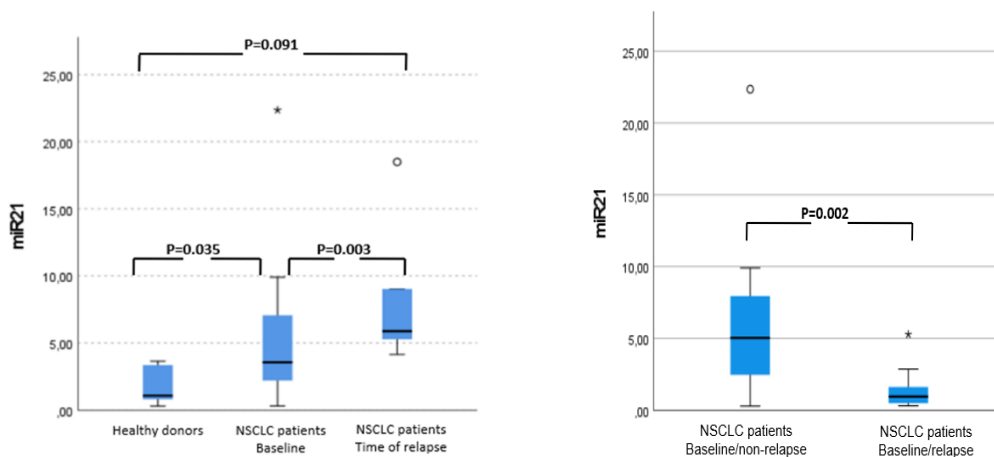
Σχήμα 1: Διαφοροποίηση επιπέδων χολίνης, τρυπτοφάνης και α/β/ω-μουριχολικού οξέος

Μετά τη σύνδεση των μεταβολιτών με τα αντίστοιχα μονοπάτια, οι μεταβολίτες συνδέθηκαν με τα μεταβολικά μονοπάτια στα οποία συμμετέχουν, από όπου προέκυψε ότι τα miR-29a-3p, miR-338-3p και lncRNA H19 συμμετέχουν επίσης στα μονοπάτια αυτά. Μελετήθηκε η έκφραση αυτών των ncRNAs, μαζί με το miR-21, του οποίου η προγνωστική αξία είχε ήδη εξακριβωθεί [18]. Ως housekeeping χρησιμοποιήθηκαν τα miR-191 και το cel-miR-39, το οποίο λειτούργησε ως εξωγενές control. Ακολούθησε

απομόνωση του ολικού RNA από τα εξωσώματα χρησιμοποιώντας το εμπορικά διαθέσιμο κιτ (miRNeasy Serum/Plasma Advanced Kit: for phenol- free isolation of total RNA including miRNA from serum and plasma samples, Qiagen). Κατά τη διαδικασία της αντίστροφης μεταγραφής χρησιμοποιήθηκε το εμπορικά διαθέσιμο κιτ αντιδραστηρίων «High- Capacity RNA-to-cDNA™Kit» (Applied Biosystems, ThermoScientific, Catalog Number: 4387406), ενώ για τον σχηματισμό cDNA από το RNA εξωσωμάτων με ειδικό RT εκκινητή για κάθε μελετούμενο miRNA, χρησιμοποιήθηκε το κιτ «High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit with RNase Inhibitor» (Applied Biosystems, Thermo Scientific, Catalog Number: 4374966). Ακολούθησε Real Time PCR για την έκφραση των ncRNAs.

Τα αποτελέσματα για την έκφραση των miRNAs έδειξαν ότι το 43,8 % του συνολικού αριθμού των ασθενών με NSCLC πρώιμου σταδίου εμφανίζει αυξημένη έκφραση miR-21, το 10 % του συνολικού αριθμού των ασθενών με NSCLC πρώιμου σταδίου εμφανίζει αυξημένη έκφραση miR-338, το 37,5 % του συνολικού αριθμού των ασθενών με NSCLC πρώιμου σταδίου εμφανίζει αυξημένη έκφραση miR-29a-3p.

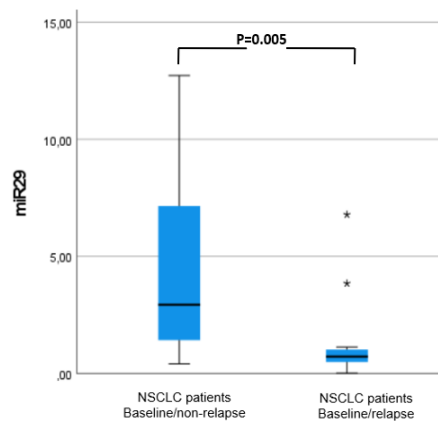
Συγκεκριμένα για το miR-21 υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στην έκφραση μεταξύ υγιών δοτών και ασθενών με NSCLC πρώιμου σταδίου σε baseline ($p = 0.035$). Η έκφραση μεταξύ υγιών δοτών και ασθενών με NSCLC πρώιμου σταδίου στο χρονικό σημείο της υποτροπής παρατηρήθηκε ότι δε διαφέρει στατιστικά ($p = 0.091$). Η έκφραση σε ασθενείς με NSCLC πρώιμου σταδίου στο χρονικό σημείο της υποτροπής φαίνεται αυξημένη σε σύγκριση με την έκφραση σε ασθενείς με NSCLC πρώιμου σταδίου σε baseline, και στατιστικά σημαντική ($p = 0.003$). Στην έκφραση του miR-21 παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ασθενών με NSCLC πρώιμου σταδίου σε φάση baseline που δεν υποτροπίασαν και ασθενών με NSCLC πρώιμου σταδίου σε φάση baseline που υποτροπίασαν ($p = 0.002$) [Σχήμα 2].



Σχήμα 2: Διαφοροποιήσεις στην έκφραση miR-21

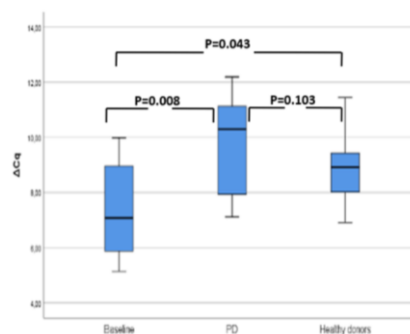
Για το miR-29a-3p υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στην έκφραση μεταξύ υγιών δοτών και ασθενών με NSCLC πρώιμου σταδίου σε baseline ($p = 0.027$). Η έκφραση μεταξύ υγιών δοτών και ασθενών με NSCLC πρώιμου σταδίου στο χρονικό σημείο της υποτροπής, παρατηρήθηκε ότι διαφέρει στατιστικά ($p = 0.007$). Η έκφραση σε ασθενείς με NSCLC πρώιμου σταδίου στο χρονικό σημείο της υποτροπής φαίνεται αυξημένη σε σύγκριση με την έκφραση σε ασθενείς με NSCLC πρώιμου σταδίου σε baseline, αλλά όχι στατιστικά

σημαντική ($p = 0.217$). Στην έκφραση του miR-29a-3p παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ασθενών με NSCLC πρώιμου σταδίου σε φάση baseline που δεν υποτροπίασαν και ασθενών με NSCLC πρώιμου σταδίου σε φάση baseline που υποτροπίασαν ($p = 0.005$). Το miR-338-3p εκφράζεται κυρίως στα δείγματα ασθενών με NSCLC πρώιμου σταδίου στο χρονικό σημείο της υποτροπής (4 / 8 δείγματα ασθενών στο σημείο της υποτροπής), γεγονός που ενδεχομένως σημαίνει ότι απαιτείται υψηλότερο καρκινικό φορτίο. Δεν παρατηρήθηκε έκφραση του lncRNA H19. Το αποτέλεσμα αυτό, ενδεχομένως είναι προέκταση της πολύ μικρής συγκέντρωσης RNA στα εξωσώματα.



Σχήμα 3: Διαφοροποιήσεις στην έκφραση miR-29a-3p

Για την έκφραση του lncRNA H19 στο πλάσμα παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά έκφρασης του H19 μεταξύ των δειγμάτων ασθενών NSCLC πρώιμου σταδίου σε baseline και των δειγμάτων υγιών δοτών ($p = 0.043$). Επίσης, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δειγμάτων ασθενών NSCLC πρώιμου σταδίου σε baseline και των δειγμάτων ασθενών NSCLC πρώιμου σταδίου σε PD ($p = 0.008$). Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δειγμάτων ασθενών NSCLC σε PD και των δειγμάτων υγιών δοτών ($p = 0.103$) [Σχήμα 4].



Σχήμα 4: Διαφοροποιήσεις στην έκφραση lncRNA H19

Συνοψίζοντας, μετά την *in silico* μελέτη αναδείχθηκαν οι κατάλληλοι μεταβολίτες και τα ncRNAs που αφορούν σε εξωσώματα πλάσματος ασθενών με NSCLC. Ακολούθησε εργαστηριακή ανάλυση των

μεταβολιτών και προσδιορίστηκαν με στατιστική ανάλυση αυτοί που εμφανίζουν διαφοροποίηση μεταξύ ασθενών με NSCLC πρώιμου σταδίου σε baseline και ασθενών με NSCLC πρώιμου σταδίου σε PD, δηλαδή εντοπίστηκαν **αυξημένα επίπεδα χολίνης και τρυπτοφάνης και μειωμένα επίπεδα α/β/ω-μουριχολικού οξέος**. Οι μεταβολίτες συνδέθηκαν με τα μεταβολικά μονοπάτια στα οποία συμμετέχουν, από όπου προέκυψε ότι τα miR-29a-3p, miR-338-3p και lncRNA H19 συμμετέχουν επίσης στα μονοπάτια αυτά. Μελετήθηκε η έκφραση αυτών των ncRNAs, μαζί με το miR-21 και προέκυψε ότι υπάρχει **υπερέκφραση των miR-21 και miR-29a-3p** σε ασθενείς με NSCLC πρώιμου σταδίου, **υπερέκφραση του miR-338-3p** σε δείγματα ασθενών NSCLC πρώιμου σταδίου σε PD και **απουσία έκφρασης του H19**, πιθανότατα λόγω ισχνής συγκέντρωσης mRNA στα εξωσώματα του πλάσματος ασθενών με NSCLC πρώιμου σταδίου. Μεταξύ ασθενών με NSCLC σε φάση baseline, τα **miR-21 και miR-29a-3p** εμφανίζονται **υπερεκφρασμένα** στους ασθενείς που δεν παρουσίασαν υποτροπή. Τέλος, μελετήθηκε η έκφραση του H19 στα πλάσματα ασθενών με NSCLC πρώιμου σταδίου και βρέθηκε ότι στο **60%** των δειγμάτων πλάσματος ασθενών με NSCLC πρώιμου σταδίου σε baseline εμφάνισαν **υπερέκφραση του lncRNA H19**, ενώ μόλις το **20%** των δειγμάτων PD εμφάνισαν **αυξημένη έκφραση του H19**.

Αναφορές:

1. Alduais Y, Zhang H, Fan F, Chen J, Chen B, *Non-small cell lung cancer (NSCLC): A review of risk factors, diagnosis, and treatment*, Medicine (United States) (2023) 102(8) E32899
2. Cesare Gridelli¹, Antonio Rossi, David P. Carbone, Juliana Guarize, Niki Karachaliou, Tony Mok, Francesco Petrella, Lorenzo Spaggiari and Rafael Rosell, *Non-small-cell lung cancer*, Nature Reviews Disease Primers
3. Sánchez-Ortega M, Carrera A, Garrido A, Role of NRF2 in lung cancer, *Cells*
4. Elena Elez, *ctDNA MONITORING IN mCRC: Clinical utilities*, Controversias en cancer colorrectal, 2018
5. Markou A, Tzanikou E, Lianidou E, *The potential of liquid biopsy in the management of cancer patients*, Seminars in Cancer Biology, 2022 Sep;84:69-79
6. Nicola Aceto, Aditya Bardia, David T. Miyamoto, Maria C. Donaldson, Ben S. Wittner, Joel A. Spencer, Min Yu, Adam Pely, Amanda Engstrom, Huili Zhu, Brian W. Brannigan, Ravi Kapur, Shannon L. Stott, Toshi Shioda, Sridhar Ramaswamy, David T. Ting, Charles P. Lin, Mehmet Toner, Daniel A. Haber, and Shyamala Maheswaran, *Circulating tumor cell clusters are oligoclonal precursors of breast cancer metastasis*, Cell (2014) 158(5) 1110-1122
7. Cortés-Hernández L, Eslami-S Z, Alix-Panabières C, *Circulating tumor cell as the functional aspect of liquid biopsy to understand the metastatic cascade in solid cancer*, Molecular Aspects of Medicine, Volume 72, April 2020, 100816

8. Karim Sidhom, Patience O. Obi and Ayesha Saleem, *A Review of Exosomal Isolation Methods: Is Size Exclusion Chromatography the Best Option?*, Int. J. Mol. Sci. 2020, 21(18), 6466
9. Raghu Kalluri, Valerie S. Lebleu, *The biology, function, and biomedical applications of exosomes*, SCIENCE 7 Feb 2020 Vol 367, Issue 6478
10. Evi Lianidou, Klaus Pantel, *Liquid biopsies*, Genes Chromosomes Cancer 2019 Apr;58(4):219-232
11. Mingyuan Li, Shuangshuang Li, Chunyang Du, Yinan Zhang, Yuan Li, Liqiang Chu, Xiao Han, Herve Galons, Yongmin Zhang, Hua Sun, Peng Yu, *Exosomes from different cells: Characteristics, modifications, and therapeutic applications*, European Journal of Medicinal Chemistry Volume 207, 1 December 2020, 112784
12. Yanqun Wang, Jie Li, Lu Zhang, Hai-Xi Sun, Zhaoyong Zhang, Jinjin Xu, Yonghao Xu, Yu Lin, Airu Zhu, Yuxue Luo, Haibo Zhou, Yan Wu, Shanwen Lin, Yuzhe Sun, Fei Xiao, Ruiying Chen, Liyan Wen, Wei Chen, Fang Li, Rijiang Ou, Yanjun Zhang, Tingyou Kuo, Yuming Li, Lingguo Li, Jing Sun, Kun Sun, Zhen Zhuang, Haorong Lu, Zhao Chen, Guoqiang Mai, Jianfen Zhuo, Puyi Qian, Jiayu Chen, Huanming Yang, Jian Wang, Xun Xu, Nanshan Zhong, Jingxian Zhao, Junhua Li, Jincun Zhao, and Xin Jin, *Plasma cell-free RNA characteristics in COVID-19 patients*, Genome Res. 2022 Feb; 32(2): 228–241
13. Wan, J. C. M. et al., *Liquid biopsies come of age: towards implementation of circulating tumour DNA*, Nat. Rev. Cancer 17, 223 (2017)
14. Breeshey Roskams-Hieter, Hyun Ji Kim, Pavana Anur, Josiah T. Wagner, Rowan Callahan, Elias Spiliotopoulos, Charles Ward Kirschbaum, Fehmi Civitci, Paul T. Spellman, Reid F. Thompson, Khashayar Farsad, Willscott E. Naugler & Thuy T. M. Ngo, *Plasma cell-free RNA profiling distinguishes cancers from pre-malignant conditions in solid and hematologic malignancies*, Precision Oncology, Volume 6, Article number: 28 (2022)
15. Beata Smolarz, Adam Durczyński, Hanna Romanowicz, Krzysztof Szyłto, Piotr Hogendorf, *miRNAs in Cancer (Review of Literature)*, Int J Mol Sci. 2022 Mar 3;23(5):2805
16. Yang, D.-C. et al, *CPC2: a fast and accurate coding potential calculator based on sequence intrinsic features*, Nucleic Acids Res. 45, W12–W16 (2017)
17. Altaf-Ul-Amin, Shigehiko Kanaya, Zeti-Azura Mohamed-Hussein, *Investigating Metabolic Pathways and Networks*, Encyclopedia of Bioinformatics and Computational Biology, Volume 3, 2019, Pages 489-503
18. Athina Markou, Emily G. Tsaroucha, Loukas Kaklamanis, Marianthi Fotinou, Vassilis Georgoulas, and Evi S. Lianidou, *Prognostic Value of Mature MicroRNA-21 and MicroRNA-205 Overexpression in Non–Small Cell Lung Cancer by Quantitative Real-Time RT-PCR*, Clinical Chemistry 54:10, 1696–1704 (2008)

ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΒΙΟΔΕΙΚΤΩΝ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ ΜΕ ΕΙΔΙΚΟΥΣ ΔΕΙΚΤΕΣ ΡΕΥΜΑΤΟΕΙΔΟΥΣ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΕΝΑΡΞΗ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ

Τσιακαλίδου Αθανασία¹, Ιωαννίδου Σταυρούλα ¹Καζέλη Κωνσταντίνα^{1,2}, Λυμπεράκη Ευγενία¹

¹ Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών, Διεθνές Πανεπιστήμιο Ελλάδος, Θεσσαλονίκη

² Τομέας Φυσικής Συμπυκνωμένης Ύλης και Υλικών, Τμήμα Φυσικής, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη

Η ρευματοειδής αρθρίτιδα (ΡΑ) είναι μία χρόνια αυτοάνοση πολυσυστηματική φλεγμονώδης νόσος και εκτιμάται ότι προσβάλλει, κατά προσέγγιση, το 1,8% του γενικού πληθυσμού^{1,2}. Η νόσος παρουσιάζει μεγάλη κλινική ετερογένεια και παρόμοια συμπτωματολογία με άλλες αρθρίτιδες, καθιστώντας δύσκολη την έγκαιρη διάγνωση της στα αρχικά στάδια². Οι συνηθέστεροι διαγνωστικοί δείκτες που ερευνώνται είναι ο ρευματοειδής παράγοντας (RF), τα αντισώματα κυκλικού κιτρουλλιωμένου πεπτιδίου (Anti-CCP), τα αντιπυρηνικά αντισώματα (ANA), η ταχύτητα καθίζησης των ερυθρών αιμοσφαιρίων (ΤΚΕ) και η c-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP)³. Παρόλα αυτά, έχει διαπιστωθεί ότι τα Anti-CCP και ο RF δεν ανιχνεύονται σε ένα σημαντικό ποσοστό ασθενών κατά την έναρξη της νόσου, ενώ σε ένα μικρό αριθμό ασθενών παραμένουν αρνητικά ακόμα και κατά τη διάρκεια, αλλά και την εκδήλωση της νόσου^{4,5}. Συνεπώς, κρίνεται αναγκαία η διερεύνηση συσχετιζόμενων με την νόσο βιοδεικτών στα πρώιμα στάδια της νόσου, με στόχο την αποτελεσματικότερη διαχείριση της ρευματοειδούς αρθρίτιδας.

Η συγκεκριμένη εργασία αφορά τα πρώιμα στάδια της νόσου και διερευνά τη συσχέτιση των δεικτών του οξειδωτικού στρες, περιλαμβάνοντας την καταλάση (CAT), την δισμουτάση του υπεροξειδίου (SOD), την υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx), τις δραστικές ρίζες οξυγόνου (ROS), τη βιταμίνη C και τη βιταμίνη D, με τους ειδικούς δείκτες ΡΑΗ μελέτη στοχεύει στην εύρεση πιθανών δεικτών για την έγκαιρη διάγνωση της νόσου.

Η συσχέτιση οξειδωτικού στρες και ρευματοειδούς αρθρίτιδας άρχισε να ερευνάται σχετικά πρόσφατα, τα τελευταία 30 χρόνια, με τις πρώιμες έρευνες να καταλήγουν σε αντιφατικά αποτελέσματα, καθώς πάσχοντες από ΡΑ είναι δυνατόν να έχουν τόσο υψηλά ποσοστά ROS στον ορό τους όσο και επίπεδα αντιοξειδωτικών. Αναλυτικότερα, ο Mateen και οι συνεργάτες του (2016: 4–10) ανακάλυψαν αυξημένα

επίπεδα ROS και λιπιδικής υπεροξειδάσης, ενώ ταυτόχρονα, παρατηρήθηκε μειωμένη αντιοξειδωτική ικανότητα (SOD, CAT, GR, βιταμίνη C, GSH), σε ασθενείς με ενεργή PA σε σύγκριση με τον υγιή πληθυσμό και σε ασθενείς με ανενεργή PA. Η διαταραχή αυτή της οξειδωαναγωγικής ισορροπίας μπορεί να συμβάλλει στην πρόκληση ιστικής βλάβης και στηνχρόνια έκβαση της νόσου. Τα επίπεδα των προαναφερθέντων αντιοξειδωτικών συστημάτων, με εξαίρεση την SOD, ήταν παρόμοια σε οροθετικούς και οροαρνητικούς PA ασθενείς⁶. Αντίθετα, σε άλλη έρευνα, των Garcia-Gonzalez, Gaxiola-Robles και Zenteno-Savin (2015: 50-52), ασθενείς με ενεργή PA παρουσίαζαν υψηλότερα ποσοστά οξειδωτικής βλάβης αλλά ταυτόχρονα και υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα, σε σύγκριση με τα υγιή άτομα. Τα συγκεκριμένα όμως επίπεδα των αντιοξειδωτικών δεν επαρκούν ώστε να συμβάλουν στη μείωση της οξειδωτικής βλάβης. Η συγκέντρωση της GSH, η δράση των GPx και SOD, αλλά και ο λόγος GSH/GSSG, ήταν υψηλότερα στους πάσχοντες από ρευματοειδή αρθρίτιδα σε σύγκριση με τα υγιή άτομα. Σύμφωνα με την έρευνα αυτή, τα επίπεδα της GPx είχαν θετική συσχέτιση με τα επίπεδα υπεροξειδωσης των λιπιδίων, αλλά και με τους μηχανισμούς αντιοξειδωτικής προστασίας, εύρημα που υποδηλώνει ότι η δράση της GPx αποτελεί πρωταρχικό αμυντικό μηχανισμό έναντι του οξειδωτικού στρες. Οι αυξημένες συγκεντρώσεις GSH δικαιολογούνται από την υψηλή δραστηριότητα της αναγωγάσης της γλουταθειόνης (glutathionereductase/GR) σε ασθενείς με χρόνια φλεγμονώδη νόσο, καθώς το ένζυμο αυτό είναι υπεύθυνο για τη διατήρηση της φυσιολογικής αναλογίας GSH/GSSG στο εσωτερικό του κυττάρου. Αναφορικά με τον λόγο SOD/GPx, η έρευνα ανέδειξε ότι ήταν υψηλότερος στους ασθενείς με ρευματοειδή αρθρίτιδα έναντι των υγείων. Οι Vasanthi, Nalini και Rajasekhar (2009: 31), σε έρευνα που διεξήγαγαν, παρατήρησαν ότι τα επίπεδα των βιταμινών E, C, D στον ορό ασθενών με PA ήταν μειωμένα σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου και τους πάσχοντες από ανενεργή ρευματοειδή αρθρίτιδα ($P < 0.001$)^{8,9}. Όσον αφορά την έρευνα του Mititelu και των συνεργατών του (2020: 5 – 10), παρατηρήθηκε θετική συσχέτιση οξειδωτικού στρες και PA, με μειωμένα επίπεδα ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (Total Antioxidant Capacity/TAC) σε πάσχοντες από PA¹⁰.

Υλικά και Μέθοδοι

Η επιλογή των ασθενών βασίστηκε σε αξιολογήσεις διαλογής όπως το ιατρικό ιστορικό, οι βασικές εργαστηριακές εξετάσεις και η φυσική εξέταση. Η έρευνα εγκρίθηκε από το επιστημονικό συμβούλιο του νοσοκομείου Ρεθύμνου με την προϋπόθεση της τήρησης όλων των κανόνων ηθικής και δεοντολογίας, καθώς και της προστασίας των προσωπικών δεδομένων, της διαφάνειας της

επεξεργασίας, της τήρησης της ανωνυμίας και γενικότερα της λήψης όλων των τεχνικών και οργανωτικών μέτρων, κατάλληλων για την προστασία των προσωπικών δεδομένων των συμμετεχόντων της έρευνας.

Αρχικά, συλλέχθηκαν 20 δείγματα αίματος υγιών ατόμων, ισάριθμων ως προς το φύλλο, και 77 δείγματα ατόμων στα αρχικά στάδια της ρευματοειδούς αρθρίτιδας, εκ των οποίων τα 20 ανήκουν σε άνδρες και τα 57 σε γυναίκες, ηλικιακής ομάδας από 34–59 ετών, χωρίς άλλα υποκείμενα νοσήματα. Οι ασθενείς, παρ' όλο που παρουσίαζαν προφίλ υγιών ατόμων, προσήλθαν στο Γενικό Νοσοκομείο Ρεθύμνου με πόνο στις αρθρώσεις, απώλεια όρεξης, ενώ παρουσίαζαν και πρωινή συσκαμψία ή/και δυσκαμψία έπειτα από ξεκούραση. Από όλους τους εθελοντές ελήφθη ολικό αίμα, ορός και πλάσμα αίματος στις 8.00 π.μ. Ο απομονωμένος ορός, το πλάσμα και το ομογενοποίημα αιμοπεταλίων μοιράστηκαν σε σωλήνες erpendorf και αποθηκεύτηκαν στους – 80 °C.

Στα δείγματα έγιναν οι ακόλουθοι προσδιορισμοί: η ταχύτητα καθίζησης ερυθροκυττάρων (ΤΚΕ), η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP: C-Reactive Protein), ο ρευματοειδής παράγοντας (RF: Rheumatoid Factor), τα τα αντισώματα κυκλικού κιτρουλλιωμένου πεπτιδίου (Anti-CCP: Anti-Cyclic Citrullinated Peptide), τα αντιπυρηνικά αντισώματα (ANA: Antinuclear Antibodies), τα αιμοπετάλια (PLT: Platelets), η ολική χοληστερόλη (TC: Total Cholesterol), η λιποπρωτεΐνη υψηλής πυκνότητας (HDL: High Density Lipoprotein), η λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας (LDL: Low Density Lipoprotein), τα τριγλυκερίδια (triglycerides), η γ-γλουταμυλοτρανσφεράση (γ-GT: γ-Glutamyl Transferase), η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx: Glutathione Peroxidase), η αλκαλική φωσφατάση (ALP: alkaline phosphatase), η αμυλάση (amylase), η καταλάση (CAT: Catalase), το υπεροξειδίο της δισμουτάσης (SOD: Superoxide Dismutase), το μαγνήσιο (Mg: magnesium), ο φώσφορος (P: phosphorus), το ασβέστιο (Ca: calcium) και οι βιταμίνες C και D (vitamin C and D). Οι τιμές των παραπάνω δεικτών των πασχόντων από ΡΑ συγκρίθηκαν με τις τιμές των υγιών εθελοντών, οι οποίοι είχαν όλους τους εξεταζόμενους δείκτες εντός φυσιολογικών ορίων. Αναλυτικότερα, για τον προσδιορισμό των ROS, χρησιμοποιήθηκε το αντιδραστήριο διοξική-διχλωροδιϋδροφθοροσκειΐνη (H₂DCFDA – φθορίζουσα χρωστική) που προσδιορίζει την ποσότητα H₂O₂ και άλλων δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) εντός του κυττάρου. Τελικά, η CM-H₂DCFDA μετρήθηκε, φθορισμομετρικά σε πλάκες μικροτιτλοποίησης με μαύρο τοίχωμα των 96 βοθρίων. Η ένταση του φθορισμού είναι ανάλογη με τα επίπεδα ROS εντός του κυτταροδιαλύματος.

Ο προσδιορισμός της δραστικότητας της καταλάσης-CAT έγινε με τον προσδιορισμό του H₂O₂ στα 240 nm. Η καταλάση καταλύει την διάσπαση του υπεροξειδίου του υδρογόνου προς νερό και οξυγόνο. Η μείωση της συγκέντρωσης του υπεροξειδίου συνοδεύεται από μείωση της απορρόφησης στα 240 nm. Η ενεργότητα της SOD προσδιορίστηκε φασματοφωτομετρικά. Η SOD είναι μεταλλοένζυμο που καταλύει την μετατροπή του σουπεροξειδίου σε υπεροξείδιο του υδρογόνου και αναστέλει την αναγωγή του μπλε νιτροτετραζολίου. Η μέθοδος βασίζεται στο σύστημα ξανθίνης/οξειδάσης της ξανθίνης που παράγει σουπεροξείδιο το οποίο ανάγει το μπλε του νιτροτετραζολίου σε φορμαζίνη. Η ενεργότητα της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης (GPx) μετρήθηκε έμμεσα μέσω της συζευγμένης αντίδρασης με την αναγωγή της γλουταθειόνης (GlutathioneReductase, GR). Η οξειδωμένη γλουταθειόνη (GSSG), που παράγεται ύστερα από την αναγωγή των υδρουπεροξειδίων από την GPx, μετατρέπεται ξανά στην ανηγμένη της μορφή από την αναγωγή της γλουταθειόνης (GR) και το NADPH, Η οξείδωση του NADPH σε NADP⁺ συνοδεύεται από μία μείωση στην απορρόφηση στα 340 nm. Υπό συνθήκες όπου η δραστικότητα της GPx μειώνεται, ο ρυθμός της μείωσης της απορρόφησης στα 340 nm είναι ανάλογος της δραστικότητας της GPx στο δείγμα.

Οι αιματολογικοί και βιοχημικοί δείκτες προσδιορίστηκαν με τη χρήση του βιοχημικού αναλυτή C702 και του ανοσολογικού αναλυτή C801 ενώ με τη χρήση των αναλυτών αιμόστασης acttop 750 cts και 550 cts προσδιορίστηκαν οι δείκτες PLT και TKE.

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται συνοπτικά οι μέθοδοι μέτρησης όλων των δεικτών:

Ουσία προς ανάλυση	Μέθοδος
TKE	Τροποποιημένη Westergren
CRP	Νεφελομετρία
RF	Ανοσοθλοσιμετρική
Anti-CCP-IgG	Μέθοδος Elisa
ANA	Έμμεσος ανοσοφθορισμός (IIF)
PLT	Κυτταρομετρία ροής με φθορισμό
ROS	Φθορισμομετρική

Χοληστερόλη	Φωτομετρική
HDL	Φωτομετρική
LDL	Φωτομετρική
Τριγλυκερίδια	Φωτομετρική
γ-GT	Φωτομετρική
GPx πλάσματος	Χρωματομετρική
ALP	Φωτομετρική
Αμυλάση	Φωτομετρική
CAT	Χρωματομετρική
SOD	Χρωματομετρική
Mg	Φωτομετρική
P	Φωτομετρική
Ca	Φωτομετρική
Vitamin C	Φωτομετρική
Vitamin D	Φωτομετρική

Πίνακας 1: Συνοπτικός πίνακας μεθόδων μέτρησης βιοδεικτών

Στατιστική Ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση για τον υπολογισμό του μέσου όρου και όλων των συσχετίσεων μεταξύ των μεταβλητών πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του στατιστικού πακέτου SPSS 22.0. Πιο συγκεκριμένα, η δοκιμασία t-Student test εφαρμόστηκε για τη διερεύνηση των συσχετίσεων των βιοχημικών, αιματολογικών και δεικτών του οξειδωτικού στρες με τους ειδικούς δείκτες PA. Σε όλες τις στατιστικές αναλύσεις, το επίπεδο σημαντικότητας (p-value) τέθηκε στα 0,001 και 0,05.

Αποτελέσματα

Στον πίνακα 2 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των μετρήσεων των βιοχημικών δεικτών, των δεικτών οξειδωτικού στρες και των ειδικών δεικτών PA, κατά την έναρξη της νόσου. Όπως διαφαίνεται και από

τον πίνακα, κατά την έναρξη της νόσου παρατηρείται αύξηση των τιμών τόσο των σχετιζόμενων με τη φλεγμονή δεικτών (ΤΚΕ, CRP, PLT, ANA) όσο και των ειδικών δεικτών ΡΑ (RF, Anti-CCP-Ig). Επιπρόσθετα, στην απαρχή της νόσου παρουσιάζεται μεγάλη αύξηση στις τιμές της αλκαλικής φωσφατάσης, της αμυλάσης και του φωσφόρου, καθώς και στις τιμές της ολικής και της LDL χοληστερόλης και των τριγλυκεριδίων και των ROS, ενώ παρατηρείται μείωση στις τιμές του μαγνησίου, του ασβεστίου, των βιταμινών C και D και της HDL χοληστερόλης.

Δείκτες	Φυσιολογικές Τιμές	Τιμές κατά την έναρξη της νόσου
ΤΚΕ (mm/h)	0–18	25,38
CRP (mg/dL)	0,08–0,8	4,39
RF (IU/ml)	0–35	46,37
Anti-CCP-IgG	<12	15,2
ANA (U/ml)	<1/100) (-)	1/333
PLT (10 ³ /μl)	130–400	308,91
ROS (μM)		65,43
Χοληστερόλη (mg/dL)	120–200	193,24
HDL (mg/dL)	>45 mg/dL	39,41
LDL (mg/dL)	<150	196,83
Τριγλυκερίδια (mg/dL)	<150	182,95
γ-GT (U/L)	5–50	156,97
Gpx (U/mgHb)	4,5–7,5	7,7
ALP (U/L)	20–120	234,37
Αμυλάση (U/L)	40–140	208,29
CAT (U/mgHb)	10,5–13	11,57
SOD (U/mgHb)	1,1–1,6	1,35
Mg (mg/dL)	1,9–3,1	1,35
P (mg/dL)	2,7–4,5	5,29
Ca (mg/dL)	8,3–10,5	6,79

Vitamin C (mg/dL)	0,6–2	0,34
Vitamin D (ng/mL)	30–100	15,16

Πίνακας 2: Μέσος όρος βιοδεικτών κατά την έναρξη της θεραπείας

Στον πίνακα 3 καταγράφονται οι τιμές συσχέτισης των βιοχημικών δεικτών και των δεικτών οξειδωτικού στρες με τους ειδικούς δείκτες RA, στα αρχικά στάδια της νόσου, χωρίς να έχει χορηγηθεί κάποιο θεραπευτικό φαρμακευτικό σκεύασμα. Όπως διαφαίνεται και από τον πίνακα, η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx) παρουσιάζει σημαντική θετική συσχέτιση με τη CRP ($r=0,561$), τον RF ($r=0,237$) και τα Anti-CCP-IgG ($r=0,362$) στην έναρξη της νόσου, με αποτέλεσμα να μπορεί να θεωρηθεί ως δείκτης έγκαιρης διάγνωσης της νόσου μαζί με τους ήδη υπάρχοντες δείκτες.

Τιμές R	CRP	RF	Anti-CCP-IgG	ANA	PLT
ROS	-0,081	-0,02	0,154	0,107	-0,123
Χοληστερόλη	-0,052	-0,265	0,079	0,064	0,069
HDL	0,1	0,079	-0,069	0,121	-0,162
LDL	-0,04	-0,086	-0,162	0,075	0,008
GPx	0,261	0,137	0,162	-0,034	0,029
CAT	0,202	-0,055	0,107	-0,207	0,157
SOD	-0,05	-0,051	0,156	-0,276	0,107
Mg	-0,048	-0,045	0,172	-0,021	-0,072
P	-0,066	0,026	0,175	0,311	0,111
Ca	-0,102	0,118	0,024	-0,034	-0,174
Vitamin C	0,291	0,024	-0,008	-0,07	0,025
Vitamin D	-0,163	-0,154	0,072	-0,051	0,01

Πίνακας 3: Τιμές συσχέτισης r μεταξύ των βιοδεικτών

Συμπεράσματα

Η ρευματοειδής αρθρίτιδα (ΡΑ) είναι η πιο κοινή, χρόνια, προοδευτική, συστηματική, φλεγμονώδης αρθρίτιδα άγνωστης αιτιολογίας, η οποία προσβάλλει κυρίως τα οστά και τις αρθρώσεις, μεταβάλλοντας τα επίπεδα ασβεστίου, φωσφόρου, μαγνησίου και αλκαλικής φωσφατάσης του ορού¹¹. Οι συγκεκριμένοι βιοδείκτες παρουσιάζουν σημαντική μεταβολή στα επίπεδα τους, στην αρχή της νόσου, καθιστώντας τους πιθανούς προγνωστικούς δείκτες εκδήλωσης της νόσου, γεγονός που προτείνεται και από την έρευνά μας.

Με βάση τα αποτελέσματα της έρευνας μας, παρατηρήθηκαν αυξημένες τιμές τόσο στους σχετιζόμενους με τη φλεγμονή δείκτες (ΤΚΕ, CRP, PLT, ANA), όσο και στους ειδικούς δείκτες ΡΑ (RF, Anti-CCP-Ig) στην έναρξη της νόσου, καθώς και αυξημένα επίπεδα φωσφόρου, αλκαλικής φωσφατάσης, αμυλάσης, ολικής χοληστερόλης, LDL χοληστερόλης και τριγλυκεριδίων και των ROS που σχετίζονται με λιπιδική υπεροξειδωση. Επίσης, στη αρχή της νόσου παρατηρούνται μειωμένα επίπεδα ασβεστίου, μαγνησίου, βιταμινών C και D και HDL χοληστερόλης.

Επίσης, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης (GPx) με τους ειδικούς δείκτες της ΡΑ. Αναλυτικότερα, η GPx παρουσιάζει σημαντική θετική συσχέτιση με τη CRP ($r=0,561$), τον RF ($r=0,237$) και τα Anti-CCP-IgG ($r=0,362$) στην έναρξη της νόσου, με αποτέλεσμα να μπορεί να θεωρηθεί ως δείκτης έγκαιρης διάγνωσης της νόσου, μαζί με τους ήδη υπάρχοντες δείκτες. Επιπλέον, στην έναρξη της νόσου παρατηρείται αύξηση των τιμών των ελευθέρων ριζών αλλά και της καταλάσης, ενώ αρνητική συσχέτιση παρουσιάζεται ανάμεσα στην CRP και την SOD, το οποίο συμφωνεί με τα αποτελέσματα παλαιότερης έρευνας.¹¹⁻¹³ Φαίνεται ότι αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί μπορεί να αυξάνονται προκειμένου να μειώσουν την αύξηση των ROS λόγω της φλεγμονής και της λιπιδικής υπεροξειδωσης. Η δισμουτάση (SOD) πιθανώς μειώνεται λόγω αναστολής του ενζύμου από την παρουσία υπεροξειδίου του υδρογόνου¹⁴. Άλλωστε η SOD αποτελεί την πρώτη γραμμή άμυνας έναντι του ανιόντος τους σουπεροξειδίου που παράγεται από τα ουδετερόφιλα. Ενώ η αύξηση των ROS παρατηρείται σε όλες τις ερευνητικές εργασίες, η δραστηριότητα της καταλάσης σε άλλες εμφανίζεται αυξημένη και σε άλλες μειωμένη¹⁵, ίσως λόγω της ανενεργοποίησης της από το υπεροξείδιο του υδρογόνου, ενώ σε άλλες εργασίες δεν παρουσιάζει στατιστικά σημαντική μεταβολή¹⁶.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Rheumatoid arthritis. Accessed November 23, 2023. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/rheumatoid-arthritis>
2. Radu AF, Bungau SG. Management of Rheumatoid Arthritis: An Overview. *Cells* 2021, Vol 10, Page 2857. 2021;10(11):2857. doi:10.3390/CELLS10112857
3. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: An American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum.* 2010;62(9):2569-2581. doi:10.1002/ART.27584
4. Venables P, BChir M, Maini RN. Diagnosis and differential diagnosis of rheumatoid arthritis. Accessed November 23, 2023. www.uptodate.com
5. Braschi E, Shojanian K, Michael Allan G. Anti-CCP: a truly helpful rheumatoid arthritis test? *Canadian Family Physician.* 2016;62(3):234. Accessed November 23, 2023. [/pmc/articles/PMC4984588/](https://pmc/articles/PMC4984588/)
6. Mateen S, Moin S, Khan AQ, Zafar A, Fatima N. Increased Reactive Oxygen Species Formation and Oxidative Stress in Rheumatoid Arthritis. *PLoS One.* 2016;11(4):e0152925. doi:10.1371/JOURNAL.PONE.0152925
7. García-González A, Gaxiola-Robles R, Zenteno-Savín T. Oxidative stress in patients with rheumatoid arthritis. *Rev Invest Clin.* 2015;67(1):46-53. doi:10.33899/mjn.2018.160078
8. G GT. Effects of Vitamin C and Vitamin E in rheumatoid arthritis-A randomized, open label, and comparative study in a tertiary care hospital. *Natl J Physiol Pharm Pharmacol.* 2022;12:9. doi:10.5455/njppp.2022.12.08383202207082022
9. Meena N, Chawla SPS, Garg R, Batta A, Kaur S. Assessment of Vitamin D in Rheumatoid Arthritis and Its Correlation with Disease Activity. *J Nat Sci Biol Med.* 2018;9(1):54. doi:10.4103/JNSBM.JNSBM_128_17
10. Mititelu RR, Pădureanu R, Băcănoiu M, et al. Inflammatory and Oxidative Stress Markers—Mirror Tools in Rheumatoid Arthritis. *Biomedicines* 2020, Vol 8, Page 125. 2020;8(5):125. doi:10.3390/BIOMEDICINES8050125
11. Investigating the importance and causes of rheumatoid arthritis and its effective treatments: a review study. doi:10.5281/ZENODO.4074226

12. Jin S, Zhao J, Li M, Zeng X. New insights into the pathogenesis and management of rheumatoid arthritis. *Chronic Dis Transl Med.* 2022;8(4):256-263. doi:10.1002/CDT3.43
13. van Delft MAM, Huizinga TWJ. An overview of autoantibodies in rheumatoid arthritis. *J Autoimmun.* 2020;110. doi:10.1016/J.JAUT.2019.102392
14. Kalpakcioglu B, Şenel K. The interrelation of glutathione reductase, catalase, glutathione peroxidase, superoxide dismutase, and glucose-6-phosphate in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol.* 2008;27(2):141-145. doi:10.1007/S10067-007-0746-3/TABLES/1
15. Olivieri O, Girelli D, Trevisan MT, et al. Red blood cell susceptibility to lipid peroxidation, membrane lipid composition and antioxidant enzymes in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 1991;18(8):1263-1264.
16. Veselinovic M, Barudzic N, Vuletic M, et al. Oxidative stress in rheumatoid arthritis patients: Relationship to diseases activity. *MolCellBiochem.* 2014;391(1-2):225-232. doi:10.1007/S11010-014-2006-6/TABLES/4

ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΣΥΓΧΡΟΝΩΝ ΑΥΤΟΜΑΤΟΠΟΙΗΜΕΝΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΕΠΙΠΕΔΩΝ HbA1c

ΑΝΔΡΙΑΝΑ ΔΙΑΜΑΝΤΟΠΟΥΛΟΥ¹, ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΑ ΣΑΡΡΗ¹, ΔΙΟΝΥΣΙΟΣ ΜΑΜΑΛΟΥΓΚΑΣ², ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ ΠΑΝΑΓΙΩΤΟΠΟΥΛΟΣ¹

1. ΒΙΟΧΗΜΙΚΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ, ΓΕΝΙΚΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ ΑΘΗΝΩΝ «ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΓΕΝΝΗΜΑΤΑΣ»

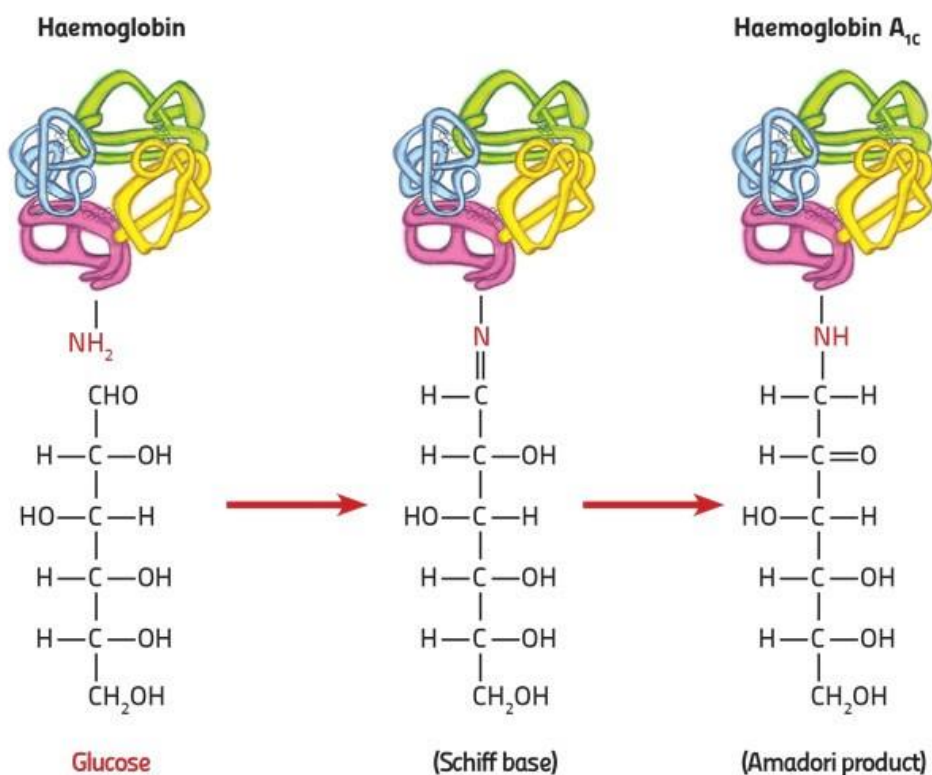
2. ABBOTT, ΑΘΗΝΑ, ΕΛΛΑΔΑ

Ο σακχαρώδης διαβήτης είναι μια ολοένα αυξανόμενη παγκόσμια απειλή για την υγεία. Η νόσος αποτελεί τη βασική αιτία θανάτου για περίπου 7.000.000 άτομα ετησίως σε όλο τον κόσμο και συνδέεται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών επεισοδίων, νεφρικής ανεπάρκειας, μόνιμων βλαβών του αμφιβληστροειδούς και άλλων σοβαρών επιπλοκών. Σύμφωνα με τη Διεθνή Ομοσπονδία Διαβήτη (International Diabetes Federation, IDF) ένας στους 10 ενήλικες, παγκοσμίως, ζουν με διαβήτη. Για το 2021, εκτιμάται ότι 537 εκατομμύρια (10,5%) έχουν κάποιο τύπο διαβήτη, αριθμός σχεδόν τριπλάσιος από το 2000 (151 εκατομμύρια ή 4,6%), ενώ πάνω από 6,7 εκατομμύρια θάνατοι οφείλονται σε αιτίες σχετιζόμενες με αυτόν. Ο αριθμός των παιδιών και εφήβων με διαβήτη τύπου 1 υπολογίζεται σε περισσότερο από 1,2 εκατομμύρια. Τα προγνωστικά είναι δυσοίωνα, καθώς αν δεν ληφθούν δραστικά μέτρα, ποσοστό 11,3% του παγκόσμιου πληθυσμού θα νοσεί από διαβήτη ως το 2030, το οποίο θα προσεγγίσει το 12,2% έως το 2045. Ως εκ τούτου, η έγκαιρη διάγνωση και η ρύθμισή του αποτελούν επιτακτική ανάγκη¹. Αρργοί σε αυτή την προσπάθεια είναι δύο βασικοί βιοχημικοί δείκτες, η αύξηση των οποίων είναι απόρροια της δυσλειτουργικότητας ή και της έλλειψης της ινσουλίνης: η γλυκόζη και η γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη (Glycated hemoglobin, glycosylated hemoglobin, hemoglobin A1c, HbA1c). Πλέον, λόγω της εξέλιξης των εργαστηριακών τεχνικών, η HbA1c θεωρείται ένας ευαίσθητος διαγνωστικός δείκτης.

Η αιμοσφαιρίνη A1c, το δεύτερο πιο άφθονο συστατικό αιμοσφαιρίνης στα ανθρώπινα ερυθροκύτταρα, σχηματίζεται από τη συμπύκνωση της γλυκόζης με τις αμινοτελικές αμινομάδες των β αλυσίδων της HbA. Είναι δομικά ταυτόσημη με την HbA εκτός από την παρουσία μιας εξόζης (γλυκόζη) στις β αλυσίδες, που συνδέεται με τη N-τελική αμινομάδα μέσω ενός μοναδικού σταθερού δεσμού κετοαμίνης, που σχηματίζεται από μια αναδιάταξη της βάσης Schiff (αλδιμίνη) (Εικόνα 1). Στη νορμογλυκαιμία, η βάση Schiff (αλδιμίνη) μπορεί να διασπαστεί ξανά σε γλυκόζη και HbA ενώ στην υπεργλυκαιμία μπορεί να υποβληθεί σε αναδιάταξη Amadori για να σχηματίσει σταθερή κετοαμίνη, η οποία δε μπορεί να

διαχωριστεί επειδή τα ανθρώπινα ερυθροκύτταρα δεν έχουν τα απαραίτητα ένζυμα (Εικόνα 1). Αυτό σημαίνει ότι η HbA_{1c}, συσσωρεύεται σε όλη τη διάρκεια ζωής των ερυθρών αιμοσφαιρίων και ότι η γλυκοζυλίωση δεν αποτελεί προϊόν ενζυματικής αντίδρασης αλλά προϊόν μη ενζυματικής συμπύκνωσης δύο άφθονων παραγόντων, της γλυκόζης και της αιμοσφαιρίνης.

Η αντίδραση ευνοείται από το γεγονός ότι οι N-τερματικές αμινομάδες της αιμοσφαιρίνης έχουν σχετικά χαμηλό pK, καθιστώντας τις πολύ αποτελεσματικά πυρηνόφιλα σε φυσιολογικά pH.⁵



Εικόνα 1. Σχηματισμός της γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης. Η HbA_{1c} αποτελεί ένα προϊόν Amadori που σχηματίζεται με ένα ενδιάμεσο βήμα βάσης Schiff.

Η γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη λοιπόν, είναι μια μορφή φυσιολογικής αιμοσφαιρίνης που προέρχεται από τη χημική ένωση αυτής με τη γλυκόζη. Η γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη είναι το ποσοστό (επί τοις εκατό, %) της αιμοσφαιρίνης που έχει υποστεί γλυκοζυλίωση και φυσιολογικά κυμαίνεται μεταξύ 4,3% και 6,1%. Όσο πιο υψηλά είναι τα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα τόσο πιο αυξημένο είναι το ποσοστό της γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης.

Όπως είπαμε ήδη, η HbA1c, αποτελεί έναν από τους κύριους βιοδείκτες σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη κι αυτό επειδή η συγκέντρωση της αιμοσφαιρίνης A1c, αντικατοπτρίζει τη μέση συγκέντρωση γλυκόζης στο αίμα τις προηγούμενες 12 εβδομάδες (χρόνος ζωής ερυθροκυττάρων), χωρίς να επηρεάζεται από βραχυπρόθεσμους παράγοντες όπως από οξείες γλυκαιμικές μεταβολές, από πρόσφατα γεύματα, φυσική άσκηση ή κάπνισμα. Επιπρόσθετα, δεν βασίζεται στην ικανότητα του ασθενούς να αυτοκαταγράψει τα επίπεδα αίματος γλυκόζης, προσδίδοντας μεγαλύτερη αξιοπιστία στο αποτέλεσμα.^{3,4} Τα τελευταία χρόνια η γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη χρησιμοποιείται για τη διάγνωση του σακχαρώδους διαβήτη, υπό την προϋπόθεση ότι η μέτρηση γίνεται με μέθοδο αναφοράς πιστοποιημένη από το Εθνικό Πρόγραμμα Τυποποίησης της Γλυκοζυλιωμένης Αιμοσφαιρίνης (National Glycohemoglobin Standardization Program- NGSP). Ως διαγνωστική τιμή για τον σακχαρώδη διαβήτη καθορίστηκε τιμή HbA1c $\geq 6,5\%$ ενώ τιμές HbA1c 5,7%-6,4% θεωρείται ότι συνδυάζονται με αυξημένο κίνδυνο εξέλιξης σε σακχαρώδη διαβήτη (δηλαδή ισοδύναμες με προδιαβήτη).

Καταλαβαίνει κανείς λοιπόν, ότι η ακριβής μέτρηση των επιπέδων της HbA1c είναι κρίσιμης σημασίας τόσο για τη διάγνωση όσο και για τη θεραπεία του σακχαρώδους διαβήτη². Για τον προσδιορισμό της έχουν αναπτυχθεί και αξιολογηθεί διάφοροι μέθοδοι, με την τριχοειδή ηλεκτροφόρηση, την χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (High-performance liquid chromatography, HPLC)⁶ και την ενζυματική μέθοδο⁷ να είναι οι ευρύτερα διαδεδομένες. Είναι πολύ σημαντικό να υπάρχει συμβατότητα επαναλαμβανόμενων μετρήσεων στο ίδιο εργαστήριο καθώς και μεταξύ διαφορετικών εργαστηρίων για την καλύτερη διαχείριση των ασθενών².

Γλυκοζυλιωμένη Αιμοσφαιρίνης HbA1c, AbbottLaboratories Ελλάς

Η εξέταση «Γλυκοζυλιωμένης Αιμοσφαιρίνης HbA1c» από την Abbott Laboratories Ελλάς, χρησιμοποιείται στη διάγνωση (όπως και για την παρακολούθηση) του σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2, για την αναγνώριση ασθενών που μπορεί να βρίσκονται σε κίνδυνο ανάπτυξης σακχαρώδους διαβήτη και για την παρακολούθηση του μακροπρόθεσμου ελέγχου της γλυκόζης αίματος σε άτομα με σακχαρώδη διαβήτη. Επιπλέον, είναι πιστοποιημένη από το NGSP (National Glycohemoglobin Standardization Program), είναι προτυποποιημένη κατά IFCC4 (International Federation of Clinical Chemistry) και είναι ιχνηλάσιμη από την μελέτη DCCT (Diabetes Control and Complications Trial). Δίνει τη δυνατότητα βελτίωσης της διαχείρισης των ασθενών, τόσο από πλευράς αναμονής για την εκτέλεση των παραδοσιακών μεθόδων διάγνωσης,

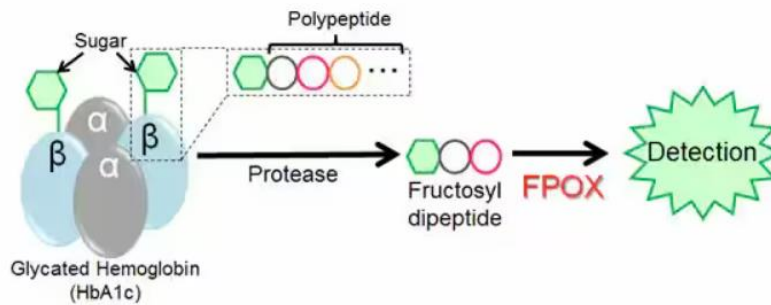
όσο και από πλευράς εγκυρότητας αποτελεσμάτων, μειώνοντας παράλληλα και τις αντίστοιχες δαπάνες συνολικής διαχείρισης αυτών των ασθενών, διότι:

- Εφαρμόζεται απ' ευθείας σε ολικό αίμα (γενική αίματος EDTA), χωρίς την προετοιμασία αιμολύματος, μειώνοντας τις πιθανότητες προαναλυτικού σφάλματος.
- Η ενζυμική μέθοδος δεν παρεμποδίζεται από κλάσματα αιμοσφαιρίνης όπως S, C, D, A2 και E (παρεμποδίζεται σημαντικά όμως από το κλάσμα F).

Αρχή της μεθόδου

Η εξέταση Alinity c Hemoglobin A1c⁸ συνίσταται στη μέτρηση δύο διαφορετικών συγκεντρώσεων: της γλυκιωμένης (ή γλυκοζυλιωμένης) αιμοσφαιρίνης (HbA1c) και της ολικής αιμοσφαιρίνης (Total Hb, THb). Οι δύο συγκεντρώσεις χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό του ποσοστού HbA1c (μονάδες NGSP) ή του κλάσματος αιμοσφαιρίνης σε mmol/mol (μονάδες IFCC4).

Τα δείγματα αίματος αρχικά αιμολύονται στον αναλυτή και υποβάλλονται σε εκτεταμένη πρωτεολυτική πέψη, διαδικασία που παράγει φρουκτοσυλ-αμινοξύ. Το φρουκτοσυλ-αμινοξύ παρουσία οξειδάσης φρουκτοσυλ-αμινοξέος (Fructosyl-Amino Acid Oxidase, FAOD) δημιουργεί υπεροξείδιο του υδρογόνου (Hydrogen peroxide, H₂O₂), η συγκέντρωση του οποίου είναι ανάλογη με αυτή της γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης στο αίμα. Στο δεύτερο στάδιο η υπεροξειδάση (peroxidase, POD) καταλύει την αντίδραση του H₂O₂ και ενός χρωμογόνου για την ανάπτυξη χρώματος, το οποίο είναι ανάλογο με τη συγκέντρωση του HbA1c στο δείγμα (Εικόνα 2). Η συνολική συγκέντρωση Hb λαμβάνεται με μέτρηση του χρώματος που παράγεται από την Hb που έχει υποστεί πέψη με τη συγκεκριμένη πρωτεάση (ειδικότερα, συγκεκριμένα N-αμινοτελικά φρουκτοσυλικά διπεπτίδια της αλυσίδας β της HbA1c) (μέθοδος διπεπτιδίων)⁵. Το τελικό αποτέλεσμα αναφέρεται ως η αναλογία συγκέντρωσης HbA1c προς THb.



Εικόνα 2. Στη μέθοδο των διπεπτιδίων χρησιμοποιείται μία πρωτεάση για τη διάσπαση της HbA1c στο δείγμα του αίματος και στη συνέχεια μετρώνται τα επίπεδα των σακχαροποιημένων διπεπτιδίων που παράγονται χρησιμοποιώντας τη δράση της οξειδάσης φρουκτοσυλ-πεπτιδίου (Fructosyl-peptide Oxidase, FPOX) η οποία ανήκει στην ενζυμική οικογένεια FAOD.

Σκοπός της εργασίας μας

ήταν να συγκριθούν οι τιμές της HbA1c που λαμβάνονται μέσω της μεθοδολογίας HPLC (Bio-Rad VARIANT II) που αποτελεί τη μέθοδο εκλογής (goldstandard) για τον προσδιορισμό της γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης και μέσω της ενζυμικής δοκιμασίας που προσφέρεται μέσω του αναλυτικού συστήματος Alinity c (Abbott). Οι δυο υπό εξέταση μεθοδολογίες παρουσιάζουν διαφορά και σε προαναλυτικό επίπεδο καθώς πριν την διαδικασία της ανάλυσης, με τη χρήση HPLC, τα δείγματα αναδεύονται (ομοιογένεια δείγματος) ενώ στο εργαστήριο μας, λόγω της χρήσης προαναλυτικού συστήματος και μεγάλου φόρτου εργασίας, τα δείγματα μπορεί να «στέκονται» έως και μία ώρα πριν την ανάλυσή τους. Στο πλαίσιο της εργασίας μας διερευνήσαμε επιπρόσθετα και τον παράγοντα της ανάδευσης όσον αφορά τις τιμές της HbA1c.

Η μεθοδολογία που ακολουθήθηκε

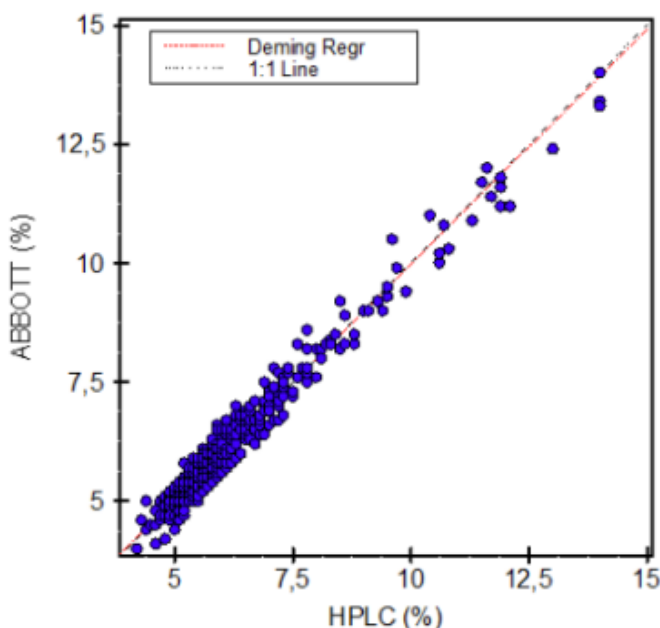
Εξετάστηκαν 498 τυχαία δείγματα ασθενών που συλλέχθηκαν σε σωληνάρια EDTA κατά την περίοδο έξι μηνών (Ιούνιος 2022-Δεκέμβριος 2022) στο νοσοκομείο Γ.Ν.Α. Γ.Γεννηματάς (Αθήνα) και κάλυπταν όλο το εύρος της γραμμικότητας των υπό εξέταση μεθόδων, δηλαδή συγκεντρώσεις HbA1c από 4,0% έως 14%. Τα δείγματα αυτά αναλύθηκαν και με τις δύο υπό εξέταση μεθόδους, HPLC και ενζυμική, και τα αποτελέσματα των μετρήσεων συγκρίθηκαν με στατιστικά εργαλεία (EP Evaluator).

Η παράμετρος ανάδευσης δειγμάτων όσον αφορά τις τιμές της HbA1c εξετάστηκε σε 80 δείγματα ασθενών. Πιο συγκεκριμένα, τα δείγματα αναδεύτηκαν χειροκίνητα και παρέμειναν στο προαναλυτικό σύστημα 1h μετά την ανάδευση, προτού αναλυθούν. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων αξιολογήθηκαν με στατιστικά εργαλεία (EP Evaluator).

Η γραμμικότητα, η ακρίβεια, η επαναληψιμότητα και η ανάκτηση των αποτελεσμάτων ελέγχθηκαν κατά τη διάρκεια της συγκεκριμένης περιόδου και για τις δύο μεθόδους.

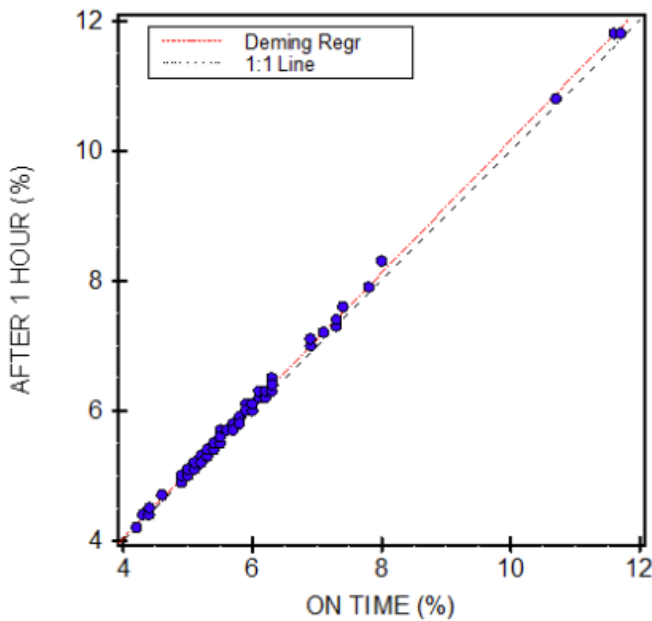
Αποτελέσματα και σχολιασμός

Συγκρίνοντας τις τιμές της HbA1c μεταξύ των δύο μεθόδων, παρατηρεί κανείς πως παρουσιάζουν μεγάλη σύγκλιση και οι μέθοδοι εξαιρετική συσχέτιση μεταξύ τους [συντελεστής συσχέτισης $R=0,9821$, συστηματικό σφάλμα Bias 0,01 (0,21 %)], όπως φαίνεται στην Εικόνα 3. Επιπρόσθετα, οι τιμές της HbA1c παρουσιάζουν σχεδόν ταυτόσημη τυπική απόκλιση μεταξύ των δύο μεθόδων (HPLC, τυπική απόκλιση $SD\ 6,10\pm 1,50$ έναντι Abbott enzymatic assay, τυπική απόκλιση $SD\ 6,11\pm 1,48$), υποστηρίζοντας περαιτέρω τη συμβατότητα των δύο μεθοδολογιών.



Εικόνα 3. Σύγκριση μεθόδων: HPLC έναντι ενζυμικής δοκιμασίας

Όσον αφορά την επίδραση του χρόνου που μεσολαβεί μεταξύ ανάδευσης και ανάλυσης στις τιμές της γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης, δεν παρατηρήθηκε διαφορά μεταξύ 0h και 1h [$R=0,9990$, Bias 0,08(1,30 %)], όπως φαίνεται στην Εικόνα 4.



Εικόνα 4. Σύγκριση της επίδρασης του χρόνου από την ανάδευση των δειγμάτων μέχρι την ανάλυση: σε χρόνο 0 (0h) έναντι μετά από 1h.

Συνοψίζοντας, παρατηρήσαμε πως τα αποτελέσματα των δύο υπό εξέταση μεθοδολογιών είναι συμβατά μεταξύ τους, επιτρέποντας τη χρήση της ενζυμικής μεθόδου της Abbott αντί της κυρίαρχης μεθόδου HPLC, ενώ φαίνεται πως είναι ασφαλής η κλινική αξιολόγηση των αποτελεσμάτων/τιμών HbA1c που προέρχονται είτε από διαφορετικά εργαστήρια είτε από το ίδιο κατόπιν αλλαγής μεθοδολογίας, διατηρώντας αξιοποιήσιμο το εργαστηριακό ιστορικό των ασθενών, με μικρότερη επιβάρυνση του ασθενούς. Τα αισιόδοξα αυτά, πρωταρχικά αποτελέσματα, θα διερευνηθούν σε μεγαλύτερο μέγεθος πληθυσμού, ενώ περαιτέρω ανάλυσης χρήζει και η προαναλυτική διαχείριση του δείγματος για την εξασφάλιση αξιόπιστων αποτελεσμάτων.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Standards of Medical Care in Diabetes—2021. *Diabetes Care* 1 January 2021; 44 (Supplement_1): S73–S84
2. Little RR and Rohlfing CL. The long and winding road to optimal HbA1c measurement. *Clin Chim Acta*. 2013 Mar 15;418:63-71.
3. SHERWANI SI, KHAN HA, EKHZAIMY A, MASOOD A, SAKHARKAR MK. Significance of HbA1c test in diagnosis and prognosis of diabetic patients. *Biomark Insights* 2016, 11:95–104
4. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Use of glycated haemoglobin (HbA1c) in diagnosis of diabetes mellitus: Abbreviated report of a WHO consultation. WHO, Geneva, 2011:6–11
5. Dixon HB. A reaction of glucose with peptides. *Biochem J*. 1972 Aug;129(1):203-8. doi: 10.1042/bj1290203.

6. Ellis, G., Diamandis, E. P., Giesbrecht, E. E., Daneman, D., & Allen, L. C. (1984). An automated “highpressure” liquid-chromatographic assay for hemoglobin A1c. *Clinical Chemistry*, 30(11), 1746–1752. doi:10.1093/clinchem/30.11.1746
7. Evaluation of a Next Generation Enzymatic Assay for Hemoglobin A1c on the Abbott ARCHITECT c8000 Chemistry System; Teodoro-Morrison T, Wang Y, Yip PM, AACC 2013.
8. ALINITY C HEMOGLOBIN A1c REAGENT Insert, G8-3579/R07.



IFCC WORLDLAB DUBAI 2024

MAY 26-30

26th International Congress of
Clinical Chemistry and Laboratory
Medicine

17th Congress of Arab Federation
of Clinical Biology

10th Saudi Society for Clinical
Chemistry Annual Meeting

Venue
Dubai World
Trade Centre
(WTC)

DEADLINES

15 January 2024

Deadline for poster abstract submission

31 March 2024

Deadline for reduced registration fees



Organizing Secretariat
info@dubai2024.org



11 Φεβρουαρίου Παγκόσμια Ημέρα Γυναικών στην Επιστήμη

8 Μαρτίου Παγκόσμια Ημέρα της Γυναίκας



<https://scienceeurope.org/news/empowering-women-in-science/>

«Εἶνε στοιχειωδῶς καὶ ἱστορικῶς γνωστὸν ὅτι ἡ γυναικεία κατάστασις εἰς τὴν κοινωνίαν ἑνὸς ἔθνους δεικνύει τὴν κοινωνικὴν αὐτοῦ κατάστασιν καὶ τὸν χαρακτήρα τῆς προόδου καὶ τοῦ πολιτισμοῦ αὐτοῦ, ὑπὲρ πᾶν ἄλλο ἀνεξαίρετως κοινωνικὸν φαινόμενον. Ὅσον περισσότερος εἶνε ὁ σεβασμὸς πρὸς τὴν γυναῖκα, περισσότερα εἶνε ἡ μόρφωσις αὐτῆς, τὸσον περισσότερον τὸ ἐπίπεδον τῆς κοινωνικῆς ἀναπτύξεως καὶ μορφώσεως τοῦ ἔθνους εἰς ὃ αὐτὴ ἀνήκει εἶνε μᾶλλον ὑψωμένον...

... Ἡ κοινωνικὴ, ἔθνικὴ καὶ ἀτομικὴ εὐημερία καθὼς καὶ ἡ οἰκογενειακὴ, θὰ ὑψωθῶσιν ἀπιστεῦτως μὲ τὴν μόρφωσιν τῆς γυναικός. Μορφώσατε τὴν γυναῖκα, κυριαὶ καὶ κύριοι, ὅσον μορφώνετε καὶ τὸν ἄνδρα.»

Στέφανος Ζωγραφίδης (1878 -1908) γιατρός του Πολεμικού Ναυτικού, από την Αμαλιάπολη Ν. Μαγνησίας, «Μορφώσατε την γυναίκα», 1904. Πηγή το βιβλίο των Αριστείδη Γ. Διαμαντή και Λάζαρου Ε. Βλαδίμηρου «Στέφανος Ζωγραφίδης» Εκδ. Free Spirit ΕΠΕ (2024), ISBN 978-618-87049-0-9.

Καλές οι παγκόσμιες ημέρες, όμως ας γιορτάζουμε την ημέρα της γυναίκας κάθε μέρα