



ΕΝΗΜΕΡΩΤΙΚΟ ΔΕΛΤΙΟ 29 – ΑΠΡΙΛΙΟΣ 2019

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

- ΠΡΟΣΚΛΗΣΗ ΣΤΗΝ ΕΤΗΣΙΑ ΓΕΝΙΚΗ ΣΥΝΕΛΕΥΣΗ
- DISTINCT BIOMARKERS REFLECT PATHOPHYSIOLOGICAL DIFFERENCES OF SICKLE CELL DISEASE SUB-PHENOTYPES: VISCOSITY-VASO-OCCLUSION VS. HEMOLYSIS-ENDOTHELIAL DYSFUNCTION
- ΟΙ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΙ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΤΩΝ ΤΕΛΟΜΕΡΑΣΩΝ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΗΝ ΗΛΙΚΙΑ ΕΜΦΑΝΙΣΗΣ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ
- ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΠΟΛΥ-ΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΩΝ ΤΑΞΙΝΟΜΗΤΩΝ ΠΡΟΓΝΩΣΗΣ ΚΑΙ ΠΡΟΒΛΕΨΗΣ ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ ΜΕΣΩ ΤΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΤΟΥ ΕΛΕΥΘΕΡΟΥ ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΝ DNA.
- PSA, FPSA, [-2] PROPSA ΚΑΙ PROSTATE HEALTH INDEX (PHI) ΣΤΗΝ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΠΡΟΣΤΑΤΗ
- ΤΟ ΣΑΓΟΝΙ ΤΩΝ ΑΨΒΟΥΡΓΩΝ

Το χειμώνα πρώτα έρχεται η βροχή μ' αυτόν τον πάντα νικημένο ήχο σι, σι, σι.... Κι όλη τη νύχτα ακούω και διαβάζω τη βροχή, σίγμα πλάι σε γιώτα, γιώτα κοντά στο σίγμα, κρυστάλλινα ψηφία που τσουγκρίζουν και μουρμουρίζουν ένα εσύ, εσύ, εσύ.¹

Έτσι όταν έρχεται το χιόνι μετά τη φωτιά, ακόμη και οι δράκοι πεθαίνουν.²

Βουνά και πεδιάδες, τίποτα δε μένει-τα πήρε όλα το χιόνι.³
Απλώθηκε ο χειμώνας σαν ένα σώμα που ξεχειλίζει από άστρα... Όλα κρυστάλλινα λαμποκοπούν. Όλα περίτρομα φτερουγίζουν.⁴

Γι' αυτό όλες τις πίκρες, τις λύπες και τις απογοητεύσεις γράψτες στο χιόνι. Άφησέ τες να λιώσουν και να χαθούν μαζί του και βγες να προϋπαντήσεις την Άνοιξη που έρχεται.

Μην παραλείψεις όμως να διαβάσεις τις πολύ ενδιαφέρουσες βραβευμένες εργασίες του περασμένου Πανελληνίου Συνεδρίου στην Αλεξανδρούπολη και τη μελέτη για τις ενδογαμίες στον οίκο των Αψβούργων.

Με συναδελφικούς χαιρετισμούς και ανοιξιάτικη διάθεση, Χρόνια πολλά σε όλους,

Ανδριανή Γρηγοράτου

1. Κική Δημουλά «Τα πάθη της βροχής» από τη συλλογή «Το λίγο του κόσμου», εκδ. Νεφέλη, 1971.

2. J.R.R. Tolkien (1892 –1973), *The Hobbit or There and Back Again*, 1937.

3. Naitō Jōsō (1662 –1704), ποίηση haïku.

4. Τάκης Βαρβιτσιώτης (1916 - 2011), «Όμως το χιόνι πάντα μένει», εκδ. Ίνδικτος, 2002.

Πρόσκληση στην ετήσια Γενική Συνέλευση της Ελληνικής Εταιρίας Κλινικής Χημείας

Αγαπητοί συνάδελφοι,

Το ΔΣ της Εταιρείας σας προσκαλεί σε Τακτική Γενική Συνέλευση που θα πραγματοποιηθεί το Σάββατο 4 Μαΐου 2019 και ώρα 17:30 στα γραφεία μας, Αλωπεκής 47, 1^{ος} όροφος, στην Αθήνα. Σε περίπτωση που δεν υπάρξει απαρτία, η Συνέλευση θα επαναληφθεί τη Δευτέρα 6 Μαΐου 2019 στον ίδιο χώρο και την ίδια ώρα. Σε περίπτωση που δεν θα υπάρξει και πάλι απαρτία, η **οριστική Γενική Συνέλευση** θα γίνει στα γραφεία της Ελληνικής Εταιρίας Κλινικής Χημείας- Κλινικής Βιοχημείας Αλωπεκής 47, την

Τρίτη 7 Μαΐου 2019, ώρα 17.00

Θέματα:

- 1) Απολογισμός του ΔΣ
- 2) Οικονομικός απολογισμός του ΔΣ
- 3) Το ΕΣΕΑΠ και η ΕΕΚΧ-ΚΒ
- 4) Διάφορα θέματα

Η παρουσία όλων των συναδέλφων είναι απαραίτητη προκειμένου να ακουστούν όλες οι απόψεις πάνω στα προβλήματα του κλάδου. Υπενθυμίζουμε ότι δικαίωμα συμμετοχής στη ΓΣ έχουν, εκτός των τακτικών, και τα αρωγά μέλη της Εταιρείας.

Distinct Biomarkers Reflect Pathophysiological Differences of Sickle Cell Disease Sub-phenotypes: Viscosity-Vaso-Occlusion vs. Hemolysis-Endothelial Dysfunction

1ο Βραβείο Προφορικής Ανακοίνωσης στο 16ο Πανελλήνιο Συνέδριο Κλινικής Χημείας

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

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

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

³Laboratory of Hematology and Blood Bank Unit, "Aretaieio" Hospital, Athens University Medical School, Athens, Greece,

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

Address for correspondence

Ioannis Papassotiriou, PhD

Department of Clinical Biochemistry,

"Aghia Sophia" Children's Hospital, 115 27 Athens, Greece

Tel +30-213-2013931

Fax +30-213-2013171

e-mail: biochem@paidon-agiasofia.gr, ipapassotiriou@gmail.com

Introduction

Sickle Cell Disease (SCD) results from inheritance of a mutant β -globin allele (Glu6>Val), either as 2 copies or with an allele specifying deficient or defective β -globin, yielding rigid, adhesive, lysis-prone erythrocytes. These properties account for the clinical manifestations of SCD, including chronic hemolytic anemia and episodic vaso-occlusion, affecting many organs (1).

Patients with Sickle Cell Disease (SCD) have variable phenotypes, with different severity of pain and other symptoms, including lung injury, stroke, leg ulcers, renal injury with proteinuria, osteonecrosis, and systemic and pulmonary hypertension. These phenotypes result from erythrocyte injury caused by HbS and its deoxygenation-induced polymerization. Recently, two distinct sub-phenotypes have been defined: Patients with the Viscosity-Vaso-Occlusion sub-phenotype (VVO) suffer mainly from vaso-occlusive pain crises with a relatively high hemoglobin concentration and Patients classified as the Hemolysis-Endothelial Dysfunction sub-phenotype (HED) suffer from stroke and pulmonary hypertension with an elevated concentration of LDH (2).

In this context, we aimed to explore the correlation of key biomarkers with the two sub-phenotypes of the disease, namely: Placental growth factor (PlGF) is a member of the vascular endothelial growth factor superfamily, which plays an important role in both inflammation and neo-angiogenesis. Recently it has been reported that markers of iron overload are associated with high plasma level of PlGF and early mortality (3-5).

Furthermore, in SCD patients, hemolysis can lead to a prothrombotic state by increasing the activity of von Willebrand factor (vWF), a multimeric plasma glycoprotein secreted by the endothelium (6-7). ADAMTS-13 is a member of the ADAMTS (A Disintegrin and Metalloprotease with Thrombospondin type 1 repeats) family that cleaves vWF. Recent observations suggest that SCD patients suffer from an acquired ADAMTS-13 deficiency primarily because Hb competitively binds and blocks the proteolysis of vWF, leading to the accumulation of ultra-large VWF multimers in circulation and on endothelium (8).

Growth Differentiation Factor-15 (GDF-15), also known as Macrophage Inhibitory Cytokine 1 (MIC-1) or Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drug-Activated Gene (NAG-1) is a member of the Transforming Growth Factor-beta superfamily. Expression of the GDF-15 gene in cardiomyocytes, vascular smooth muscle cells, and endothelial cells is strongly upregulated in response to oxidative stress, inflammation and tissue injury. Increased GDF-15 concentrations have been associated with an adverse prognosis in patients with acute coronary syndromes and chronic heart failure (9). Recently, GDF-15 and Twisted Gastrulation Protein (TWG1) have been proposed to be erythroblast-derived factors, although not erythroblast specific, that mediate Hcpidin-25 suppression under conditions of increased erythropoietic activity. In particular, high levels of serum GDF-15 associate with ineffective erythropoiesis and may reflect a certain type of bone marrow stress or erythroblast apoptosis (10).

Patients and Methods

Ninety adult Caucasian patients with HbS/ β thal were included in the study, while 20 apparently healthy individuals, of similar age and gender, served as controls. Patients with HbS/ β thal were divided in two groups according to their LDH levels: High-LDH (LDH>270U/L) (HED-phenotype) group (42 patients) and the Normal-LDH (LDH<270U/L) (VVO-phenotype) group (48 patients).

Along with hematologic and blood chemistry parameters determination, measurements of circulating levels of: PlGF, GDF-15, hs-TnT, vWF: antigen, D-Dimers, hs-CRP, Cystatin C, and ADAMTS-13 were performed in both groups of patients and controls using RUO and IVD immunoenzymatic techniques.

In details the specific parameters were measured: hs-CRP and Cystatin C by means of turbidimetric assays using the Roche Cobas 6000 Chemistry Analyzer; PlGF, GDF-15* and hs-TnT were measured by electrochemiluminescence immunoassays (Roche Cobas e411); vWF: antigen and D-Dimers by means of latex particle-enhanced immunoturbidimetric assays (ACL Top 3G, Instrumentation Laboratory); ADAMTS-13 antigen by an immunoenzymatic technique (R&D Systems).

Statistical Analyses

Data are presented as mean \pm SD, and the level of statistical significance was considered at $p < 0.05$. All the statistical procedures were performed using the *Statgrafics Plus* version 5.1 for Windows program (Graphic Software System). We used the standardized skewness and standardized kurtosis, to determine whether the sample comes from a normal distribution. Values of these statistics outside the range of -2 to +2 indicate significant departures from normality, which would tend to invalidate many of the statistical procedures normally applied to this data. These values

integrated automatically from the program, indicating which parameters needed to transform in either log or reciprocal or square root. These transformations were used then for correlations between parameters.

Results

We found that patients with the HED-phenotype compared to the VVO-phenotype of the disease had lower Hb levels ($p<0.001$), higher Reticulocyte Production Index, and higher serum bilirubin ($p<0.001$ and $p=0.004$, respectively), while there were no differences regarding Hb F levels between the two groups. PlGF levels were significantly elevated only in patients with the HED-phenotype ($22.6\pm 7.1\text{pg/mL}$) compared to the Controls ($15.2\pm 2.4\text{pg/mL}$), ($p<0.001$) and patients with the VVO-phenotype ($18.2\pm 7.6\text{pg/mL}$), ($p=0.005$), (Figure 4). vWF: antigen concentrations were markedly elevated in both groups of patients compared to controls (186.4 ± 81.7 and 57.8 ± 73.4 vs. $85.3\pm 22.1\text{IU/dL}$, $p<0.001$), with the increase of vWF:antigen levels to be more pronounced in patients with the HED-phenotype ($p=0.008$), (Figure 5). In contrary, ADAMTS-13 antigen, levels were significantly lower in patients with both sub-phenotypes of SCD, compared to controls, ($p=0.009$). Similarly, GDF-15 levels were also markedly elevated in both groups of patients compared to controls ($2,346.2\pm 1,295.6$ and $1,693.5\pm 1,398.3$ vs. $665.4\pm 221.9\text{pg/mL}$, $p<0.001$), with the increase of GDF-15 levels to be more pronounced in patients with the HED-phenotype ($p=0.006$), (Figure 6).

Regarding other parameters tested we found significant higher levels of D-Dimers in patients with the HED-phenotype ($p<0.001$) compared to patients with the VVO-phenotype, (Figure 7),

While, no differences were found in parameters of inflammation and renal function, (Figure 8).

In patients with HED-phenotype LDH correlated positively with PlGF and GDF-15 levels ($r=0.319$, $p<0.05$, and $r=0.392$, $p=0.024$, respectively), while no such correlations were found in patients with the VVO-phenotype.

Discussion

The relative roles of hemolysis and vaso-occlusion in the pathophysiology of SCD, is a subject of some controversy. The hyperhemolysis paradigm (HHP), through which it is hypothesized that chronic hemolysis in SCD sequentially causes increased cell-free plasma hemoglobin, nitric oxide biodeficiency, endothelial dysfunction, pulmonary hypertension, and vascular complications, led to the concept of 2 different subphenotypes of SCD: one characterized by the constellation of high hemoglobin levels, vaso-occlusive pain crises, acute chest syndrome, and osteonecrosis and the other by hemolysis, pulmonary hypertension, priapism, leg ulcers, and stroke. The controversy involves both the concept that there might be a clear divide between these 2 subphenotypes and the extent of the overlap between them. Furthermore, studies supporting the HHP have mostly been conducted in the United States, and to date, its appraisal in the context of SCD in Africa has been extremely limited (11-12).

The interplay among genetics, HbS polymerization–dependent hemolysis and sickling, vasoocclusion-dependent ischemia-reperfusion injury, endothelial dysfunction–dependent vasculopathy, and aseptic inflammation contribute to the pathophysiology of SCD, which promotes acute and chronic complications of the CNS, heart, lung, kidney, liver, and other organs. Basic and clinical studies over past decade have led to the understanding of the cellular, molecular, and biophysical mechanisms that promote these pathophysiological events and inspired the development of several prophylactic therapies that are either FDA approved or currently in clinical trials.

Here we demonstrated for the first time in the literature the correlation and involvement of PlGF, vWF: antigen and GDF-15 proteins in the pathophysiological mechanisms of the Hemolysis-Endothelial Dysfunction sub-phenotype of SCD in patients with the HbS/ β thal genotype. Although, there is a degree of overlapping between the two sub-phenotypes of SCD, the differences in the specific biomarkers were significant. Thus, these markers along with the clinical profile could better identify the two subtypes of SCD patients and drive an innovative approach with the use of

direct personalized therapies for each specific sub-phenotype by targeting the predominant mechanism in this multifactorial disorder. However, recent findings showing a potential role for innate immune pathways in promoting aseptic inflammation in SCD suggest that our current understanding of the SCD pathophysiology is still incomplete, and future studies should be aimed at harnessing the innate immune pathways to design new therapies for SCD. Furthermore, recently experimental studies in transgenic mice with SCD demonstrating, that blockade of plasma PlGF decreases plasma pro-inflammatory biomarker levels; reduces plasma LDH levels and organ congestion; reduces vascular stasis in the dorsal skinfold chamber model and thus blockade of PlGF could be a potential therapeutic approach for SCD (13).

References

1. Kato GJ, Piel FB, Reid CD, Gaston MH, Ohene-Frempong K, Krishnamurti L, Smith WR, Panepinto JA, Weatherall DJ, Costa FF, Vichinsky EP. Sick cell disease. *Nat Rev Dis Primers*. 2018 Mar 15; 4:18010.
2. Kato GJ, Steinberg MH, Gladwin MT. Intravascular hemolysis and the pathophysiology of sickle cell disease. *J Clin Invest*. 2017 Mar 1;127(3):750-760.
3. Brittain JE, Hulkower B, Jones SK, Strayhorn D, De Castro L, Telen MJ, Orringer EP, Hinderliter A, Ataga KI. Placenta growth factor in sickle cell disease: association with hemolysis and inflammation. *Blood*. 2010 Mar 11;115(10):2014-20.
4. Kalra VK, Zhang S, Malik P, Tahara SM. Placenta growth factor mediated gene regulation in sickle cell disease. *Blood Rev*. 2018 Jan;32(1):61-70.
5. Kelaidi C, Kattamis A, Apostolou F, Poziopoulos C, Lazaropoulou C, Delaporta P, Kanavaki I, Papassotiriou I. PlGF and sFlt-1 levels in patients with non-transfusion-dependent thalassemia: Correlations with markers of iron burden and endothelial dysfunction. *Eur J Haematol*. 2018 Jun;100(6):630-635.
6. Kanavaki I, Makrythanasis P, Lazaropoulou C, Kattamis A, Tzanetea R, Kalotychoy V, Rombos I, Papassotiriou I. Adhesion molecules and high-sensitivity C-reactive protein levels in patients with sickle cell beta-thalassaemia. *Eur J Clin Invest*. 2012 Jan;42(1):27-33.
7. Chen J, Hobbs WE, Le J, Lenting PJ, de Groot PG, López JA. The rate of hemolysis in sickle cell disease correlates with the quantity of active von Willebrand factor in the plasma. *Blood*. 2011 Mar 31;117(13):3680-3.
8. Sins JWR, Schimmel M, Luken BM, Nur E, Zeerleder SS, van Tuijn CFJ, Brandjes DPM, Kopatz WF, Urbanus RT, Meijers JCM, Biemond BJ, Fijnvandraat K. Dynamics of von Willebrand factor reactivity in sickle cell disease during vaso-occlusive crisis and steady state. *J Thromb Haemost*. 2017 Jul;15(7):1392-1402.
9. Kastiris E, Papassotiriou I, Merlini G, Milani P, Terpos E, Basset M, Akalestos A, Russo F, Psimenou E, Apostolou F, Roussou M, Gavriatopoulou M, Eleutherakis-Papaiakovou E, Fotiou D, Ziogas DC, Papadopoulou E, Pamboucas C, Dimopoulos MA, Palladini G. Growth differentiation factor-15 is a new biomarker for survival and renal outcomes in light chain amyloidosis. *Blood*. 2018 Apr 5;131(14):1568-1575.
10. Tanno T, Porayette P, Sripichai O, Noh SJ, Byrnes C, Bhupatiraju A, Lee YT, Goodnough JB, Harandi O, Ganz T, Paulson RF, Miller JL. Identification of TWSG1 as a second novel erythroid regulator of hepcidin expression in murine and human cells. *Blood*. 2009 Jul 2;114(1):181-6.
11. Dubert M, Elion J, Tolo A, Diallo DA, Diop S, Diagne I, Sanogo I, Belinga S, Guifo O, Wamba G, Ngo Sack F, Boidy K, Kamara I, Traore Y, Diakite CO, Gbonon V, Faye BF, Seck M, Deme Ly I, Chelo D, N'Guetta R, Diop IB, Gaye B, Jouven X, Ranque B. Degree of anemia, indirect markers of hemolysis, and vascular complications of sickle cell disease in Africa. *Blood*. 2017 Nov 16;130(20):2215-2223.
12. Piel FB, Williams TN. Subphenotypes of sickle cell disease in Africa. *Blood*. 2017 Nov 16;130(20):2157-2158.

13. Gu JM, Yuan S, Sim D, Abe K, Liu P, Rosenbruch M, Bringmann P, Kauser K. Blockade of placental growth factor reduces vaso-occlusive complications in murine models of sickle cell disease. *Exp Hematol.* 2018 Apr;60:73-82.

Legends to the Figures

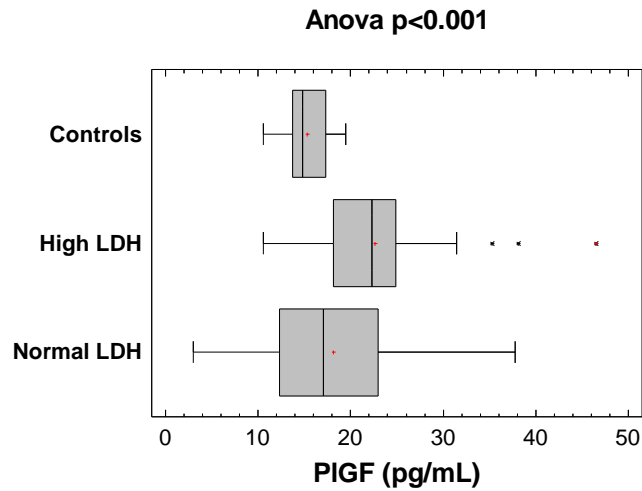


Figure 1. Comparison of PIGF levels of patients with HbS/ β thal with high and low LDH levels and controls. Boxes represent the interquartile range; lines inside boxes represent the median value; cross represents mean marker; whiskers represent the lowest and highest observations, respectively, ($p<0.001$).

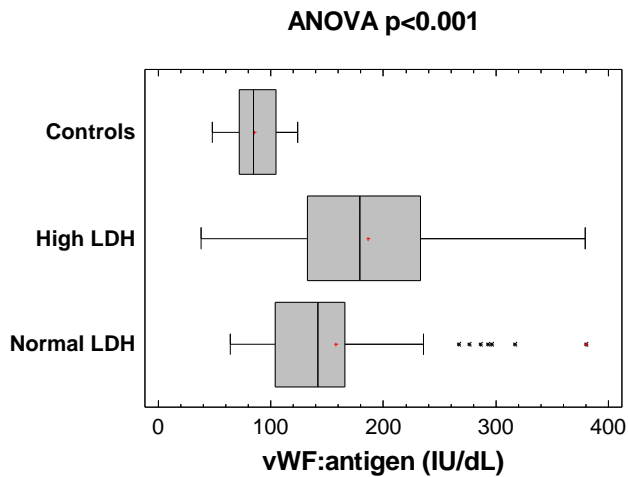


Figure 2. Comparison of vWF:antigen levels of patients with HbS/ β thal with high and low LDH levels and controls. Boxes represent the interquartile range; lines inside boxes represent the median value; cross represents mean marker; whiskers represent the lowest and highest observations, respectively, ($p<0.001$).

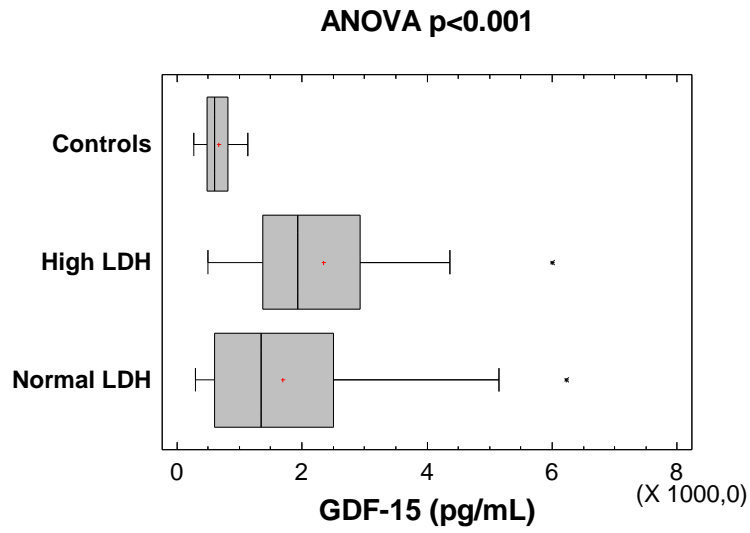


Figure 3. Comparison of GDF-15 levels of patients with HbS/ β thal with high and low LDH levels and controls. Boxes represent the interquartile range; lines inside boxes represent the median value; cross represents mean marker; whiskers represent the lowest and highest observations, respectively, ($p < 0.001$).

Οι πολυμορφισμοί των γονιδίων των τελομερασών σχετίζονται με την ηλικία εμφάνισης καρκίνου του πνεύμονα

1ο Βραβείο Αναρτημένης Ανακοίνωσης στο 16ο Πανελλήνιο Συνέδριο Κλινικής Χημείας

Πετρούλα Κούλη¹, Γεωργία Ράγια¹, Ιωάννα Μπαλγκουρανίδου², Νικόλαος Ξενίδης², Κυριάκος Αμαραντίδης², Ειρήνη Μπιζιώτα², Τριανταφυλλιά Κουκάκη², Στυλιανός Κακολύρης², Ευάγγελος Γ. Μανωλόπουλος^{1*}

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

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

*** Συγγραφέας επικοινωνίας**

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα τελομερή είναι νουκλεοπρωτεϊνικές περιοχές- σύμπλοκα, οι οποίες βρίσκονται στα άκρα των ευκαρυωτικών γραμμικών χρωματοσωμάτων. (Lange, 2009) Χαρακτηρίζονται από επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες του βνουκλεοτιδίου TTAGGG και έχουν ως βασικό ρόλο να αποτρέπουν την αναγνώριση των χρωματοσωμικών άκρων ως περιοχές βλάβης του γονιδιώματος. (Mohammad A. Jafri, 2016) Έτσι, προστατεύουν τη χρήσιμη γενετική πληροφορία από τη φθορά, εξασφαλίζουν τον πλήρη διπλασιασμό των χρωματοσωμάτων και διατηρούν τη γενετική σταθερότητα και βιωσιμότητα του κυττάρου. (O'Sullivan RJ, 2010)

Η βράχυνση των τελομερών αποτελεί μια φυσιολογική διαδικασία του οργανισμού, κατά την οποία χάνεται μία τελομερική επανάληψη σε κάθε κύκλο αντιγραφής, εξαιτίας του προβλήματος λήξης της αντιγραφής. Αν το τελομερές δεν αποκατασταθεί σε μήκος με κάποιο μηχανισμό επιδιόρθωσης, η κάθε κυτταρική διαίρεση το καταναλώνει. (Anagha Killedar, 2015) Τα σωματικά κύτταρα σταματούν τη διαίρεση, όταν τα τελομερή τους είναι εξαιρετικά μικρά, οπότε και επέρχεται μόνιμη διακοπή του κυτταρικού κύκλου και τα κύτταρα περιορίζονται σε μια κατάσταση γήρατος και καθίστανται πλέον βιολογικά ανενεργά. (Chiodi I, 2016)

Στη διαδικασία της φθοράς των τελομερών, δρα ανασταλτικά η τελομεράση, η οποία επιτελεί την ενζυματική αποκατάσταση των άκρων των χρωματοσωμάτων, και αποτρέπει την απώλεια των γενετικά κωδικοποιημένων πληροφοριών κατά τη διάρκεια της μίτωσης. Η βασική λειτουργία της τελομεράσης, είναι να καταλύει την επέκταση του τελομερικού DNA στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς, προσθέτοντας επαναλήψεις DNA στα άκρα των χρωματοσωμάτων. Στα φυσιολογικά κύτταρα, η απουσία τελομεράσης έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση του μήκους του τελομερούς, την κυτταρική γήρανση και συνεπώς τη διακοπή του κυτταρικού κύκλου. (DePinho, 2010)

Γενικά, η φθορά των τελομερών μπορεί να οδηγήσει σε συγκεκριμένες κυτταρικές αλλαγές, οι οποίες δεν ευνοούν την προσαρμογή, εμποδίζουν τη διαίρεση των κυττάρων και την αναπλήρωση των ιστών, οδηγούν σε χρωματοσωμική αστάθεια λόγω ανακατατάξεων του γονιδιώματος και προκαλούν, σε πολλές περιπτώσεις, καρκινογένεση. (Maciejowski J, 2017) (Mohammad A. Jafri, 2016)

Τα καρκινικά κύτταρα σχετίζονται με το μήκος των τελομερών με δύο τρόπους: η ενεργοποίηση τελομεράσης και γενικότερα η υπερέκφρασή της, συμβάλλει στη διατήρηση των τελομερών πάνω από ένα μήκος, επομένως παρακάμπτεται η κυτταρική γήρανση και τα καρκινικά κύτταρα αθανατοποιούνται. Από την άλλη, η απώλεια ενεργότητας της τελομεράσης προκαλεί την ταχύτερη βράχυνση των τελομερών. Τα δυσλειτουργικά αυτά τελομερή, προκαλούν μη φυσιολογική συγκόλληση των άκρων διαφορετικών χρωματοσωμάτων, με αποτέλεσμα να δημιουργείται χρωματοσωμική αστάθεια, μία βασική αιτία καρκινογένεσης. (Anagha Killedar, 2015) (Maciejowski J, 2017)

Στο σύμπλοκο της τελομεράσης, ανήκει η πρωτεΐνη TERT (Telomerase Reverse Transcriptase) που πραγματοποιεί την επέκταση των τελομερών και η υπομονάδα TERC (Telomerase RNA Component), την οποία χρησιμοποιεί η πρώτη ως μήτρα. (Maciejowski J, 2017) Η ταυτόχρονη έκφραση των TERT και TERC εξασφαλίζει την καταλυτική δραστηριότητα της τελομεράσης. (Maciejowski J, 2017) Πολυμορφισμοί των δύο αυτών γονιδίων του συμπλόκου της τελομεράσης, σχετίζονται με το ρυθμό μείωσης του μεγέθους των τελομερών και ενδεχομένως με την ηλικία εμφάνισης καρκίνου. Σκοπός της εργασίας είναι η μελέτη συσχέτισης των λειτουργικών πολυμορφισμών TERC rs10936599C>T, TERT rs2736100T>G και rs2735940C>T με την ηλικία εμφάνισης καρκίνου του πνεύμονα και με τα κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών.

ΜΕΘΟΔΟΙ

Στη μελέτη συμπεριλήφθηκαν 56 ασθενείς (80,4% άντρες) με καρκίνο του πνεύμονα (9 μικροκυτταρικού, 47 μη-μικροκυτταρικού τύπου), μέσης ηλικίας 65,9 έτη ($\pm 9,9$) που λαμβάνουν συγκεκριμένη θεραπεία και παρακολουθούνται στην Ογκολογική Κλινική του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Αλεξανδρούπολης. Στο σύνολο των συμμετεχόντων, απομονώθηκε γενωμικό DNA από περιφερικό αίμα. Οι πολυμορφισμοί TERC rs10936599C>T, TERT rs2736100T>G και TERT rs2735940C>T αναλύθηκαν με τη μέθοδο PCR-RFLP, με χρήση των περιοριστικών ενδονουκλεασών *MluCI*, *SfcI* και *HpaII*, αντίστοιχα.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Η συχνότητα εμφάνισης των αλληλομόρφων TERC rs10936599T, TERT rs2736100G και rs2735940T ανέρχεται σε 8,9%, 56,3% και 39,3%, αντίστοιχα. (Πίνακας 1)

	Γονότυποι	N (%)	95% C.I.	Αλληλόμορφα	N (%)	95% C.I.	χ^2	p-value
TERC rs10936599	CC	47 (83,9)	72,7-91,7	C	102 (91,1)	84,7-95,3	0,827	0,363
	CT	8 (14,3)	6,9-25,2	T	10 (8,9)	4,7-15,3		
	TT	1 (1,8)	0,2-0,8					
TERT rs2736100	TT	10 (17,9)	9,6-29,4	T	49 (43,7)	34,8-53,0	0,152	0,696
	TG	29 (51,8)	38,9-64,5	G	63 (56,3)	47,0-65,2		
	GG	17 (30,3)	19,5-43,2					
TERT rs2735940	TT	22 (39,3)	27,3-52,4	T	68 (60,7)	51,5-69,4	0,578	0,447
	TC	24 (42,9)	30,5-55,9	C	44 (39,3)	30,6-48,5		
	CC	10 (17,8)	9,6-29,4					

Πίνακας 1 - Συχνότητες γονοτύπων και αλληλομόρφων των πολυμορφισμών TERC rs10936599 C>T, TERT rs2736100 T>G και TERT rs2735940 T>C σε ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα

Ο πολυμορφισμός TERC rs10936599C>T σχετίστηκε με την ηλικία εμφάνισης της νόσου. Οι φορείς του αλληλομόρφου rs10936599T εμφάνισαν καρκίνο του πνεύμονα σε νεαρότερη ηλικία συγκριτικά με τους ασθενείς που δεν φέρουν το αλληλόμορφο αυτό [μέση ηλικία 57,5 έτη ($\pm 11,2$) έναντι 67,5 έτη ($\pm 9,7$), ($\beta = -9,436$, $p = 0.011$, 95%CI -16.577, -2.295)]. Η παρουσία του αλληλομόρφου rs10936599T εξηγεί ποσοστό 11,7% της ποικιλομορφίας στην ηλικία εμφάνισης καρκίνου του πνεύμονα. (Πίνακας 2)

Γονότυποι TERC rs10936599	N	Ηλικία εμφάνισης καρκίνου	β	P-value	95% C.I.
CC	47	66,94 ($\pm 9,642$)	-9,436	0,011	2,295-16,577
CT	8	57,50 ($\pm 6,719$)			

Πίνακας 2 - Συσχέτιση γονοτύπων του πολυμορφισμού TERC rs10936599 C>T με την ηλικία εμφάνισης καρκίνου του πνεύμονα

Επιπλέον, βρέθηκαν σημαντικές συσχετίσεις ανάμεσα στους πολυμορφισμούς και την εμφάνιση ανεπιθύμητων ενεργειών. Συγκεκριμένα, η συχνότητα των γονοτύπων TERC rs10936599 CT και TT ήταν αυξημένη στους ασθενείς που εμφάνισαν αλλεργίες μετά το πρώτο ($p = 0,029$) και το δεύτερο ($p = 0,047$) θεραπευτικό σχήμα, καθώς και στους ασθενείς που εμφάνισαν καταβολή ή ζάλη ($p = 0,041$). Στους ασθενείς με πνευμονικές παρενέργειες, οι γονότυποι TERC rs2736100 TG και GG είχαν χαμηλότερη συχνότητα εμφάνισης ($p = 0,021$), ενώ η συχνότητα των γονοτύπων TERC rs2735940 TC και CC ήταν αυξημένη ($p = 0,032$). Δερματολογικές παρενέργειες παρατηρήθηκαν μόνο κατά τη χορήγηση του δεύτερου θεραπευτικού σχήματος ($p = 0,006$). (Πίνακας 3)

Είδος παρενεργειών		Παρενέργειες ανά γονότυπο (ναι/ όχι)	P-value
TERC rs10936599	Αλλεργίες 1 ^{ου} σχήματος	CT (67%/11,3%)	0,029
		TT (0/1,9%)	
	Αλλεργίες 2 ^{ου} σχήματος	CT (100%/12,7%)	0,047
		TT (0/1,9%)	
Καταβολή/ζάλη 2 ^{ου} σχήματος	CT (27,3%/11,2%)	0,041	
	TT (9,1%/0)		
TERC rs2736100	Αναπνευστικές παρενέργειες 1 ^{ου} σχήματος	TG (47,7%/53,6%) GG (13,3%/36,6%)	0,021
TERC rs2735940	Αναπνευστικές παρενέργειες 1 ^{ου} σχήματος	TC (33,3%/46,3%) CC (40,1%/9,8%)	0,032

Πίνακας 3 - Συσχέτιση γονοτύπων TERC rs10936599 C>T, TERC rs2736100 T>G και TERC rs2735940 T>C με την εμφάνιση παρενεργειών

Τέλος, στην ομάδα ασθενών που μελετήθηκε, το 2,6% έλαβε υποστηρικτική αγωγή με αντιψυχωσικά ή αντικαταθλιπτικά φάρμακα.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Οι ασθένειες που σχετίζονται με το μήκος των τελομερών έχουν διαφορετικές εκφάνσεις που σχετίζονται άμεσα με την ηλικία των ατόμων. Η τελομεράση μπορεί να διεγείρει την εξέλιξη του όγκου, εξασφαλίζοντας τη διατήρηση των τελομερών κάτω από ένα κριτικά μικρό μήκος, με αποτέλεσμα είτε την πρόωρη κυτταρική γήρανση ή την απόπτωση. Η έλλειψη τελομεράσης, μπορεί να συνεισφέρει στα αρχικά στάδια της ανάπτυξης του καρκίνου. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα που προκύπτουν από την παρούσα μελέτη, οι φορείς του αλληλομόρφου TERC rs10936599T πιθανόν έχουν βραχύτερα τελομερή σε νεαρότερες ηλικίες, γεγονός που οδηγεί σε πρόωρη διακοπή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και χρωματοσωμική αστάθεια. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την εμφάνιση καρκίνου του πνεύμονα σε μικρότερη ηλικία, και συγκεκριμένα μία δεκαετία νωρίτερα, όπως προκύπτει από τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης έρευνας. Παράλληλα, η χρωματοσωμική αστάθεια στους φορείς των αλληλομόρφων φαίνεται να σχετίζεται με την εκδήλωση διαφορετικών παρενεργειών και σε διαφορετικές συχνότητες, ανάμεσα στους ασθενείς. Επιπλέον, ο καρκίνος είναι μία ασθένεια άμεσα συνυφασμένη με την εκδήλωση μείζονος καταθλιπτικής διαταραχής και άλλων ψυχιατρικών νόσων. Αν και ένα μεγάλο ποσοστό των καρκινοπαθών λαμβάνει υποστηρικτική αγωγή με αντικαταθλιπτικά και αντιψυχωσικά φάρμακα, ενδιαφέρον αποτελεί το γεγονός ότι μόλις 2,6% των ασθενών της παρούσας μελέτης βρίσκεται υπό αγωγή με κάποιο ψυχιατρικό φάρμακο. Θα μπορούσε, ωστόσο, να ληφθεί υπόψη το γεγονός ότι στην κλινική πράξη δεν είναι πάντα εύκολα ανιχνεύσιμες οι ψυχικές διαταραχές, εξαιτίας της δυσκολίας που υπάρχει στη διάκριση μεταξύ ιατρικών και ψυχιατρικών συμπτωμάτων. (Ostuzzi G, 2015)

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Anagha Killedar, M. D.-T. (2015). A Common Cancer Risk-Associated Allele in the hTERT Locus Encodes a Dominant Negative Inhibitor of Telomerase. *PLoS Genet.* , σ. 11(6): e1005286.
2. Bernadotte A, M. V. (2016). Markers of cellular senescence. Telomere shortening as a marker of cellular senescence. *Aging (Albany NY)* , σσ. ;8(1):3-11.
3. Bernardes de Jesus B, B. M. (2013). Telomerase at the intersection of cancer and aging. *Trends Genet* , σσ. ;29(9):513-20.
4. Chiodi I, M. C. (2016). Telomere and telomerase stability in human diseases and cancer. σσ. ;21:203-24.
5. DePinho, S. E. (2010). Telomeres and telomerase in cancer. *Carcinogenesis* , σσ. ;31(1):9–18.
6. Jafri MA, A. S. (2016). Roles of telomeres and telomerase in cancer, and advances in telomerase-targeted therapies. *Genome Med.* , σ. ;8(1):69.
7. JW, S. (2016). Role of Telomeres and Telomerase in Aging and Cancer. *Cancer Discov.* , σσ. 6(6):584-93.
8. Lange, T. d. (2009). How Telomeres Solve the End-Protection Problem. *Science* , σ. ;326(5955):948. .
9. Maciejowski J, d. L. (2017). Telomeres in cancer: tumour suppression and genome instability. *Nat Rev Mol Cell Biol.* , σσ. 18(3):175-186.
10. Mohammad A. Jafri, S. A. (2016). Roles of telomeres and telomerase in cancer, and advances in telomerase-targeted therapies. *Genome Med.* , σ. ;8:69.

11. Ostuzzi G, M. F. (2015). Antidepressants for the treatment of depression in people with cancer. *Cochrane Database Syst Rev.* , σ. (6):CD011006.
12. O'Sullivan RJ, K. J. (2010). Telomeres: protecting chromosomes against genome instability. *Nat Rev Mol Cell Biol.* , σσ. ;11(3):171-81.
13. Savage SA, G. S. (2013). The long and short of telomeres and cancer association studies. *J Natl Cancer Inst* , σσ. ;105(7):448-9.
14. Zhao Z, P. X. (2014). Telomere length maintenance, shortening, and lengthening. *J Cell Physiol* , σσ. ;229(10):1323-9.
15. Zhu X, H. W. (2016). The association between telomere length and cancer risk in population studies. *Sci Rep.* , σ. ;6:22243.

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

2ο Βραβείο Προφορικής Ανακοίνωσης στο 16ο Πανελλήνιο Συνέδριο Κλινικής Χημείας

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

1 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑΣ, ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ, ΔΗΜΟΚΡΙΤΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΡΑΚΗΣ, ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΥΠΟΛΗ, ΕΛΛΑΔΑ,

2 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑΣ, ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ, ΔΗΜΟΚΡΙΤΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΡΑΚΗΣ, ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΥΠΟΛΗ, ΕΛΛΑΔΑ & ΟΓΚΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ, ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΟ ΓΕΝΙΚΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΥΠΟΛΗΣ, ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΥΠΟΛΗ, ΕΛΛΑΔΑ.

3 ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΩΝ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΩΝ, ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ, ΒΟΥΤΕΣ, ΚΡΗΤΗ, ΕΛΛΑΔΑ & GNOSIS DATA ANALYSIS, ΒΟΥΤΕΣ, ΚΡΗΤΗ, ΕΛΛΑΔΑ

4 ΟΓΚΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ, ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΟ ΓΕΝΙΚΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΥΠΟΛΗΣ, ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΥΠΟΛΗ, ΕΛΛΑΔΑ.

5 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΥΓΙΕΙΝΗΣ ΚΑΙ ΠΡΟΣΤΑΣΙΑΣ ΤΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ, ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ, ΔΗΜΟΚΡΙΤΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΡΑΚΗΣ, ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΥΠΟΛΗ, ΕΛΛΑΔΑ.

6 ANALYSIS OF CIRCULATING TUMOR CELLS, ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΑΝΑΛΥΤΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ, ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ, ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ, ΑΘΗΝΑ, ΕΛΛΑΔΑ

7 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑΣ, ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ, ΔΗΜΟΚΡΙΤΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΡΑΚΗΣ, ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΥΠΟΛΗ, ΕΛΛΑΔΑ & ΙΔΡΥΜΑ ΕΡΕΥΝΑΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΕΛΛΑΔΑΣ, ΒΟΥΤΕΣ, ΚΡΗΤΗ, ΕΛΛΑΔΑ

Περίληψη

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

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

Αποτελέσματα: Η συγκέντρωση του ccfDNA ήταν στατιστικώς σημαντικά υψηλότερη στους ασθενείς σε σχέση με τους υγιείς ($p < 0.001$), ενώ συσχετίστηκε με μεγαλύτερη συχνότητα θανάτου, με μικρότερο ελεύθερο διάστημα προόδου νόσου (PFS) και απουσία ανταπόκρισης στη θεραπεία στο μεταστατικό καρκίνο. Όλα τα γονίδια που εξετάστηκαν

εκτός από το GATA3 εμφάνισαν υψηλότερα ποσοστά DNA μεθυλίωσης στους ασθενείς σε σχέση με τους υγιείς. Η μεθυλίωση των WNT5A, SOX17 και KLK10 συσχετίστηκε με τη παρουσία περισσότερων αρνητικών κλινικών χαρακτηριστικών ή και με κακή πρόγνωση. Η πολύ-παραγοντική ανάλυση ανέδειξε ένα γραμμικό μοντέλο με εξαιρετική διακριτική ικανότητα για την πρόβλεψη ανταπόκρισης στη φαρμακοθεραπεία (AUC 0.803, 95% confidence interval [0.606, 1.000]) στους μεταστατικούς ασθενείς. Τρεις πολύ-παραγοντικές υπογραφές ακόμα αναπτύχθηκαν με εξαιρετική απόδοση για τη χρήση τους στη διάγνωση, την πρόβλεψη και πρόγνωση.

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

Εισαγωγή

Ο καρκίνος του μαστού αποτελεί την πιο συχνά διαγνωσθείσα κακοήθεια στις γυναίκες παγκοσμίως (Ferlay, Soerjomataram et al. 2015). Ενώ, η επιβίωση και η θεραπευτική αντιμετώπιση εξαρτώνται από το μέγεθος του όγκου, τη διήθηση των λεμφαδένων, την έκφραση των ορμονικών υποδοχέων και την ύπαρξη μεταστάσεων. Όμως, ο καρκίνος του μαστού αποτελεί μια ετερογενή νόσο, κατά την οποία συχνά αναπτύσσεται μετάσταση και ανοχή στη φαρμακοθεραπεία. Προς το παρόν η εξέλιξη της νόσου παρακολουθείται μέσω απεικονιστικών μεθόδων και επίπονων βιοψιών. Πρόσφατα, η εισαγωγή της «υγρής βιοψίας», η οποία αποτελεί μια ελάχιστα επεμβατική προσέγγιση απομόνωσης ccfDNA, CTCS (κυκλοφορούντα καρκινικά κύτταρα), εξωσωμάτων κ.α θα μπορούσε να αποτελέσει πηγή κλινικά χρήσιμων πληροφοριών στην εξατομικευμένη ιατρική (Pantel and Alix-Panabieres 2013, Alix-Panabieres and Pantel 2016). Αν και υπάρχουν παραδείγματα FDA-εγκεκριμένων κυκλοφορούντων βιοδεικτών (Lamb and Dhillon 2017), οι πλειοψηφία αυτών, βρίσκεται ακόμα σε ερευνητικό στάδιο. Μικρές ποσότητες ccfDNA ανιχνεύονται στο αίμα υγιών ατόμων ενώ η ποσότητα του είναι αυξημένη στον καρκίνο (Schwarzenbach, Hoon et al. 2011, Elshimali, Khaddour et al. 2013). Θεωρείται ότι απελευθερώνεται από τον όγκο και αντιπροσωπεύει το γενετικό και επιγενετικό προφίλ του (Lu and Liang 2016). Αρκετές μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί με σκοπό την ανεύρεση επιγενετικών τροποποιήσεων σχετιζόμενων με τον καρκίνο στο ccfDNA. Έτσι ώστε να αναπτυχθούν βιοδείκτες έγκαιρης διάγνωσης, ακριβής πρόγνωσης και δυναμικής παρακολούθησης της φαρμακοθεραπείας (Balgouranidou, Chimonidou et al. 2016, Matthaios, Balgouranidou et al. 2016, Mastoraki, Strati et al. 2018). Επιπλέον η μελέτη της κατανομής και του μεγέθους των θραυσμάτων του ccfDNA θα μπορούσε να προσφέρει χρήσιμες πληροφορίες όπως η προέλευση του ccfDNA και ο μηχανισμός απελευθέρωσης του (Jiang, Chan et al. 2015) (Mouliere and Rosenfeld 2015). Ακόμη, έχει αποδειχθεί ότι το ccfDNA είναι αυξημένο στους ασθενείς με καρκίνο του μαστού σε σχέση με τους υγιείς (Leon, Shapiro et al. 1977), ενώ η μεθυλίωση ογκοκατασταλτικών γονιδίων που εντοπίζονται στον όγκο, ανιχνεύονται σε μεγάλο βαθμό και στο αντίστοιχο ccfDNA (Chimonidou, Strati et al. 2013) (14).

Ο στόχος της δικής μας μελέτης ήταν να συμβάλουμε στην ανίχνευση τροποποιήσεων στο ccfDNA ασθενών με πρώιμο και προχωρημένου σταδίου καρκίνο του μαστού και να εκμαιεύσουμε πληροφορίες με κλινική αξία. Για αυτό το σκοπό σε ομάδες ασθενών και υγιών μελετήσαμε την κατανομή των θραυσμάτων και τα επίπεδα του ccfDNA, καθώς και το προφίλ μεθυλίωσης πέντε γονιδίων σχετιζόμενων με το καρκίνο του μαστού τα οποία επιλέχθηκαν βάση προηγούμενων μελετών (Jonsson, Dejmek et al. 2002, Yousef, Yacoub et al. 2004, Chimonidou, Strati et al. 2013, McCleskey, Penedo et al. 2015, Kappil, Liao et al. 2016). Το πάνελ των γονιδίων μελέτης αποτελείτο από τα εξής γονίδια: Wnt Family Member 5A (WNT5A), Spy-box 17 (SOX17), GATA Binding Protein 3 (GATA3), MutS protein

homolog 2 (MSH2) and kallikrein 10 (KLK10). Τα αποτελέσματα της μελέτης αναλύθηκαν μέσω συμβατικής στατιστικής ανάλυσης. Επιπλέον, πραγματοποιήθηκε πολυ-παραγοντική ανάλυση, όπου χρησιμοποιήθηκε ένα καινοτόμο, πλήρως αυτοματοποιημένο εργαλείο μηχανικής εκμάθησης για την παραγωγή ταξινομητών πρόγνωσης και πρόβλεψης (JAD Bio software, Gnosis Data Analysis).

Μέθοδοι

Για τη διεξαγωγή της μελέτης πραγματοποιήθηκαν οι παρακάτω διαδικασίες:

1. Διαχωρισμός των ομάδων ανάλογα με το στάδιο της νόσου και τη θεραπεία και απομόνωση πλάσματος πριν την έναρξη της θεραπείας από: Α) 150 γυναίκες όπου υποβλήθηκαν πρόσφατα σε αφαίρεση πρωτοπαθούς όγκου, πριν την έναρξη της συμπληρωματικής θεραπείας, Β) 34 γυναίκες με μεταστατική νόσο πριν την έναρξη της πρώτης γραμμής θεραπείας και Γ) 16 γυναίκες πριν την έναρξη της προ-εγχειρητικής θεραπείας. Επιπλέον πραγματοποιήθηκε λήψη πλάσματος από 35 υγιείς γυναίκες.
2. Μέτρηση των επιπέδων του μη προοδευμένου ccfDNA, απευθείας στο πλάσμα μέσω μίας φλουορομετρικής μεθόδου υψηλής ευαισθησίας (10 pg/μl to 100 ng/μl).
3. Απομόνωση και ποιοτική ανάλυση του ccfDNA. Η απομόνωση πραγματοποιήθηκε μέσω ενός εμπορικά διαθέσιμου kit ενώ η ποιοτική αξιολόγηση μέσω PCR πραγματικού χρόνου (Real-Time) για το γονίδιο GAPDH.
4. Η ανάλυση της κατανομής και του μεγέθους των θραυσμάτων, του απομονωμένου ccfDNA πραγματοποιήθηκε με τριχοειδή ηλεκτροφόρηση.
5. Χημική τροποποίηση με όξινο θειώδες νάτριο του απομονωμένου ccfDNA με ένα εμπορικά διαθέσιμο kit για την ανάλυση της DNA μεθυλίωσης. Κατά τη διαδικασία αυτή, όλες οι μη μεθυλιωμένες αλλά όχι οι μεθυλιωμένες κυτοσίνες μετατρέπονται σε ουρακίλες.
6. Ποσοτική ειδική για τη μεθυλίωση PCR πραγματικού χρόνου (qMSP), για την ανάλυση της κατάστασης μεθυλίωσης των υποκινητών των γονιδίων WNT5A, GATA3, MSH2, SOX10 και του εξωνίου 3 του KLK10. Επιπλέον αναπτύχθηκε μια ανεξάρτητη της μεθυλίωσης qMSP για το γονίδιο της ακτίνης (ACTB) .
7. Μονο-παραγοντική και πολυ-παραγοντική ανάλυση αποτελεσμάτων, μέσω συμβατικής στατιστικής ανάλυσης και του εργαλείου JAD Bio.

Αποτελέσματα

Η συγκέντρωση του ccfDNA στο πλάσμα ήταν στατιστικώς σημαντικά υψηλότερη στους ασθενείς σε σχέση με τους υγιείς. Επιπλέον η συγκέντρωση του ccfDNA δεν συσχετίστηκε με τα κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά ή την ηλικία. Ενώ, η υψηλή συγκέντρωση του ccfDNA συσχετίστηκε στατιστικώς σημαντικά με βραχύτερη επιβίωση και απουσία ανταπόκρισης στη φαρμακοθεραπεία στην ομάδα των ασθενών με μεταστατική νόσο.

Η ανάλυση των θραυσμάτων του απομονωμένου ccfDNA έδειξε τρεις μηχανισμούς απελευθέρωσης σε όλες τις ομάδες ασθενών και στους υγιείς: απόπτωση (τμήματα 166bp και πολλαπλάσια αυτού), ενεργή απελευθέρωση (τμήματα 2000bp) και νέκρωση (τμήματα πάνω από 10000bp). Οι ασθενείς προχωρημένου σταδίου εμφάνισαν και θραύσματα μικρότερα από 166bp.

Η ανάλυση μεθυλίωσης των γονιδίων έδειξε ότι όλα τα μελετώμενα γονίδια εκτός του GATA3 εμφάνισαν στατιστικώς σημαντικά υψηλότερα ποσοστά μεθυλίωσης στο ccfDNA των ασθενών σε σχέση με τους υγιείς. Με συμβατική στατιστική ανάλυση προέκυψαν σημαντικές συσχετίσεις της μεθυλίωσης των γονιδίων με τα κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά και την επιβίωση.

Η πολυ-παραγοντική ανάλυση με το εργαλείο JAD bio ανέδειξε 4 ταξινομητές. Ο πρώτος αφορούσε έναν ταξινομητή πρόβλεψης με τέσσερα χαρακτηριστικά, ενώ αναπτύχθηκε ένα δένδρο απόφασης (decision tree), το οποίο μπορούσε ικανοποιητικά να διαχωρίσει τους ασθενείς που θα εμφανίσουν πρόοδο νόσου ή μερική ανταπόκριση ή σταθερή νόσο στο πρώτο κλινικό έλεγχο. Ο δεύτερος ταξινομητής πρόβλεψης αποτελείτο από ένα χαρακτηριστικό και αφορούσε μια λογιστική παλινδρόμηση για το διαχωρισμό των ασθενών με μεταστατική νόσο σε ασθενείς που ανταποκρίνονται ή δεν ανταποκρίνονται στη θεραπεία. Ο τρίτος ταξινομητής πρόγνωσης αποτελείτο από τέσσερα χαρακτηριστικά και αφορούσε μια ανάλυση επιβίωσης των ασθενών με μεταστατική νόσο οι οποίοι διαχωρίστηκαν σε τρία επίπεδα θνησιμότητας ανάλογα με τα πειραματικά και κλινικά δεδομένα. Ο τελευταίος ταξινομητής με 6 χαρακτηριστικά αφορούσε το διαχωρισμό των καρκινοπαθών από τους υγιείς, όπου προέκυψε ένα μοντέλο λογιστικής παλινδρόμησης με εξαιρετικό AUC (area under the curve).

Κύρια συμπεράσματα

Η μελέτη μας αποτελεί την πρώτη εργασία στον καρκίνο του μαστού η οποία εξετάζει τα πειραματικά δεδομένα σε συνδυασμό με τα κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών για τη δημιουργία πολυ-παραγοντικών ταξινομητών. Επιπλέον στη συγκεκριμένη μελέτη αναλύθηκε για πρώτη φορά η μεθυλίωση των υποκινητών των γονιδίων WNT5A, GATA3 και MSH2 και του εξωνίου 3 του KLK10 στο ccfDNA στο καρκίνο του μαστού με στατιστικώς σημαντικά ευρήματα.

Τα αποτελέσματα μας ενισχύουν περαιτέρω την αξία του ccfDNA ως κλινικά χρήσιμου βιοδείκτη όσον αφορά τις διαφοροποιήσεις της συγκέντρωσής του, την κατανομή των θραυσμάτων του και του προφίλ μεθυλίωσης του στους ασθενείς με καρκίνο του μαστού σε σχέση με τους υγιείς. Συγκεκριμένα, στη μελέτη μας αναδεικνύεται το ccfDNA ως ένας ισχυρός προγνωστικός και προβλεπτικός ταξινομητής στο μεταστατικό καρκίνο του μαστού. Έπειτα από κλινική αξιολόγηση, όλοι οι ταξινομητές που δημιουργήθηκαν βασισμένοι στο ccfDNA, θα μπορούσαν να συμβάλουν στην πρόγνωση και πρόβλεψη, ανταποκρινόμενοι στην ανάγκη για ανεύρεση ελάχιστα επεμβατικών μεθόδων στο δρόμο της εξατομικευμένης ιατρικής.

Βιβλιογραφία

Alix-Panabieres, C. and K. Pantel (2016). "Clinical Applications of Circulating Tumor Cells and Circulating Tumor DNA as Liquid Biopsy." *Cancer Discov* 6(5): 479-491.

Balgkouranidou, I., M. Chimonidou, G. Milaki, E. Tsaroucha, S. Kakolyris, V. Georgoulas and E. Lianidou (2016). "SOX17 promoter methylation in plasma circulating tumor DNA of patients with non-small cell lung cancer." *Clin Chem Lab Med* 54(8): 1385-1393.

Chimonidou, M., A. Strati, N. Malamos, V. Georgoulas and E. S. Lianidou (2013). "SOX17 promoter methylation in circulating tumor cells and matched cell-free DNA isolated from plasma of patients with breast cancer." *Clin Chem* 59(1): 270-279.

Elshimali, Y. I., H. Khaddour, M. Sarkissyan, Y. Wu and J. V. Vadgama (2013). "The clinical utilization of circulating cell free DNA (CCFDNA) in blood of cancer patients." *Int J Mol Sci* 14(9): 18925-18958.

- Ferlay, J., I. Soerjomataram, R. Dikshit, S. Eser, C. Mathers, M. Rebelo, D. M. Parkin, D. Forman and F. Bray (2015). "Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012." *Int J Cancer* 136(5): E359-386.
- Jiang, P., C. W. Chan, K. C. Chan, S. H. Cheng, J. Wong, V. W. Wong, G. L. Wong, S. L. Chan, T. S. Mok, H. L. Chan, P. B. Lai, R. W. Chiu and Y. M. Lo (2015). "Lengthening and shortening of plasma DNA in hepatocellular carcinoma patients." *Proc Natl Acad Sci U S A* 112(11): E1317-1325.
- Jonsson, M., J. Dejmek, P. O. Bendahl and T. Andersson (2002). "Loss of Wnt-5a protein is associated with early relapse in invasive ductal breast carcinomas." *Cancer Res* 62(2): 409-416.
- Kappil, M. A., Y. Liao, M. B. Terry and R. M. Santella (2016). "DNA Repair Gene Expression Levels as Indicators of Breast Cancer in the Breast Cancer Family Registry." *Anticancer Res* 36(8): 4039-4044.
- Lamb, Y. N. and S. Dhillon (2017). "Epi proColon ((R)) 2.0 CE: A Blood-Based Screening Test for Colorectal Cancer." *Mol Diagn Ther* 21(2): 225-232.
- Leon, S. A., B. Shapiro, D. M. Sklaroff and M. J. Yaros (1977). "Free DNA in the serum of cancer patients and the effect of therapy." *Cancer Res* 37(3): 646-650.
- Lu, J. L. and Z. Y. Liang (2016). "Circulating free DNA in the era of precision oncology: Pre- and post-analytical concerns." *Chronic Dis Transl Med* 2(4): 223-230.
- Mastoraki, S., A. Strati, E. Tzanikou, M. Chimonidou, E. Politaki, A. Voutsina, A. Psyrris, V. Georgoulas and E. Lianidou (2018). "ESR1 Methylation: A Liquid Biopsy-Based Epigenetic Assay for the Follow-up of Patients with Metastatic Breast Cancer Receiving Endocrine Treatment." *Clin Cancer Res* 24(6): 1500-1510.
- Matthaios, D., I. Balgkouranidou, A. Karayiannakis, H. Bolanaki, N. Xenidis, K. Amarantidis, L. Chelis, K. Romanidis, A. Chatzaki, E. Lianidou, G. Trypsianis and S. Kakolyris (2016). "Methylation status of the APC and RASSF1A promoter in cell-free circulating DNA and its prognostic role in patients with colorectal cancer." *Oncol Lett* 12(1): 748-756.
- McCleskey, B. C., T. L. Penedo, K. Zhang, O. Hameed, G. P. Siegal and S. Wei (2015). "GATA3 expression in advanced breast cancer: prognostic value and organ-specific relapse." *Am J Clin Pathol* 144(5): 756-763.
- Mouliere, F. and N. Rosenfeld (2015). "Circulating tumor-derived DNA is shorter than somatic DNA in plasma." *Proc Natl Acad Sci U S A* 112(11): 3178-3179.
- Pantel, K. and C. Alix-Panabieres (2013). "Real-time liquid biopsy in cancer patients: fact or fiction?" *Cancer Res* 73(21): 6384-6388.
- Schwarzenbach, H., D. S. Hoon and K. Pantel (2011). "Cell-free nucleic acids as biomarkers in cancer patients." *Nat Rev Cancer* 11(6): 426-437.
- Yousef, G. M., G. M. Yacoub, M. E. Polymeris, C. Popalis, A. Soosaipillai and E. P. Diamandis (2004). "Kallikrein gene downregulation in breast cancer." *Br J Cancer* 90(1): 167-172.

- "Η παρούσα εργασία αφορά τμήμα διδακτορικής διατριβής η οποία συγχρηματοδοτήθηκε μέσω της Πράξης «Πρόγραμμα χορήγησης υποτροφιών για μεταπτυχιακές σπουδές δεύτερου κύκλου σπουδών» του ΙΚΥ. Επιχειρησιακό Πρόγραμμα «Ανάπτυξη Ανθρώπινου Δυναμικού, Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση», του ΕΣΠΑ 2014-2020 με τη συγχρηματοδότηση του Ευρωπαϊκού Κοινωνικού Ταμείου."

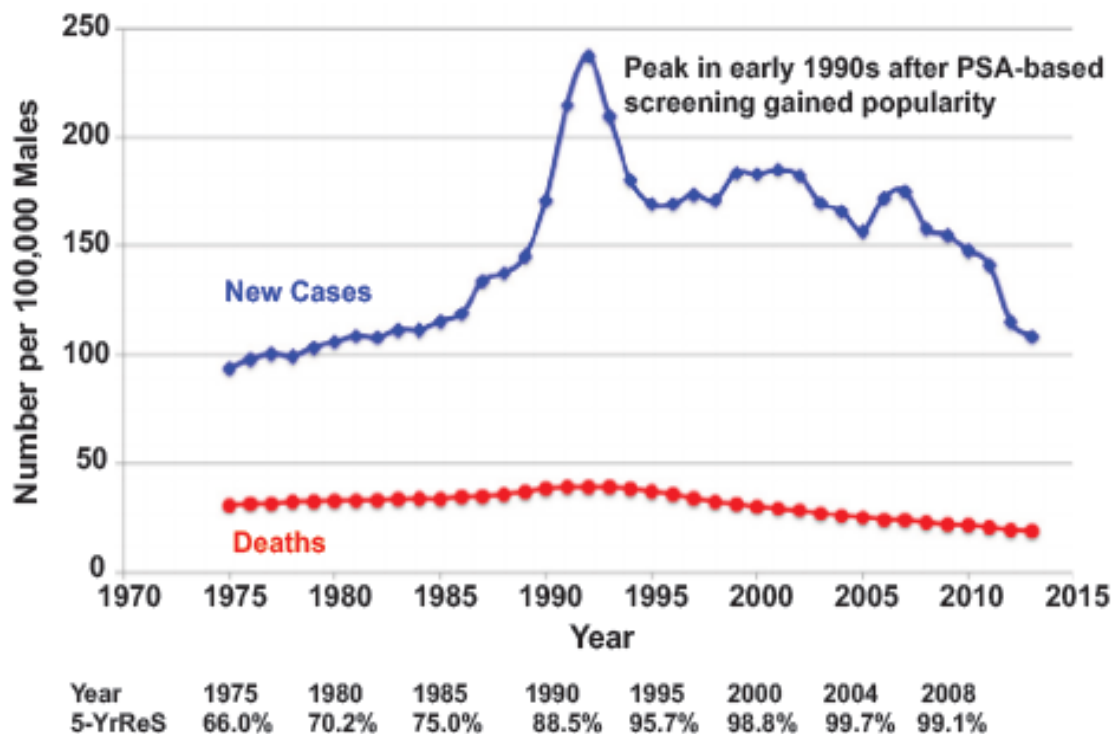
PSA, fPSA, [-2] proPSA και Prostate Health Index (phi) στην ανίχνευση ασθενών με καρκίνο του προστάτη

2ο Βραβείο Αναρτημένης Ανακοίνωσης στο 16ο Πανελλήνιο Συνέδριο Κλινικής Χημείας

Γεώργιος Κολιός¹, Κλεονίκη Κοντοδήμου¹, Χρυσούλα Καλογερά¹, Ιωάννα Βλάχου¹, Δημήτρης Μπαλτογιάννης², Σταύρος Τσαμπαλάς², Ελένη Μπαιρακτάρη¹.

1. Βιοχημικό Εργαστήριο (Κλινικής Χημείας), και 2. Ουρολογική Κλινική, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Ιωαννίνων, Ιωάννινα

Ο καρκίνος του προστάτη (PCa), είναι ο τρίτος πιο συχνός καρκίνος παγκοσμίως και η συχνότερη κακοήθεια στον δυτικό κόσμο. Επίσης είναι ο πιο κοινός καρκίνος στους άντρες, υπεύθυνος για το περίπου 25% του συνόλου των περιπτώσεων. Το γεγονός αυτό οφείλεται κατά ένα μεγάλο ποσοστό και στην εκτεταμένη και αυξανόμενη χρήση του ειδικού προστατικού αντιγόνου (Prostate Specific Antigen- PSA) κατά τα τελευταία 25 χρόνια, σε μια προσπάθεια να μειωθεί η θνησιμότητα που προκαλεί (εικόνα 1).

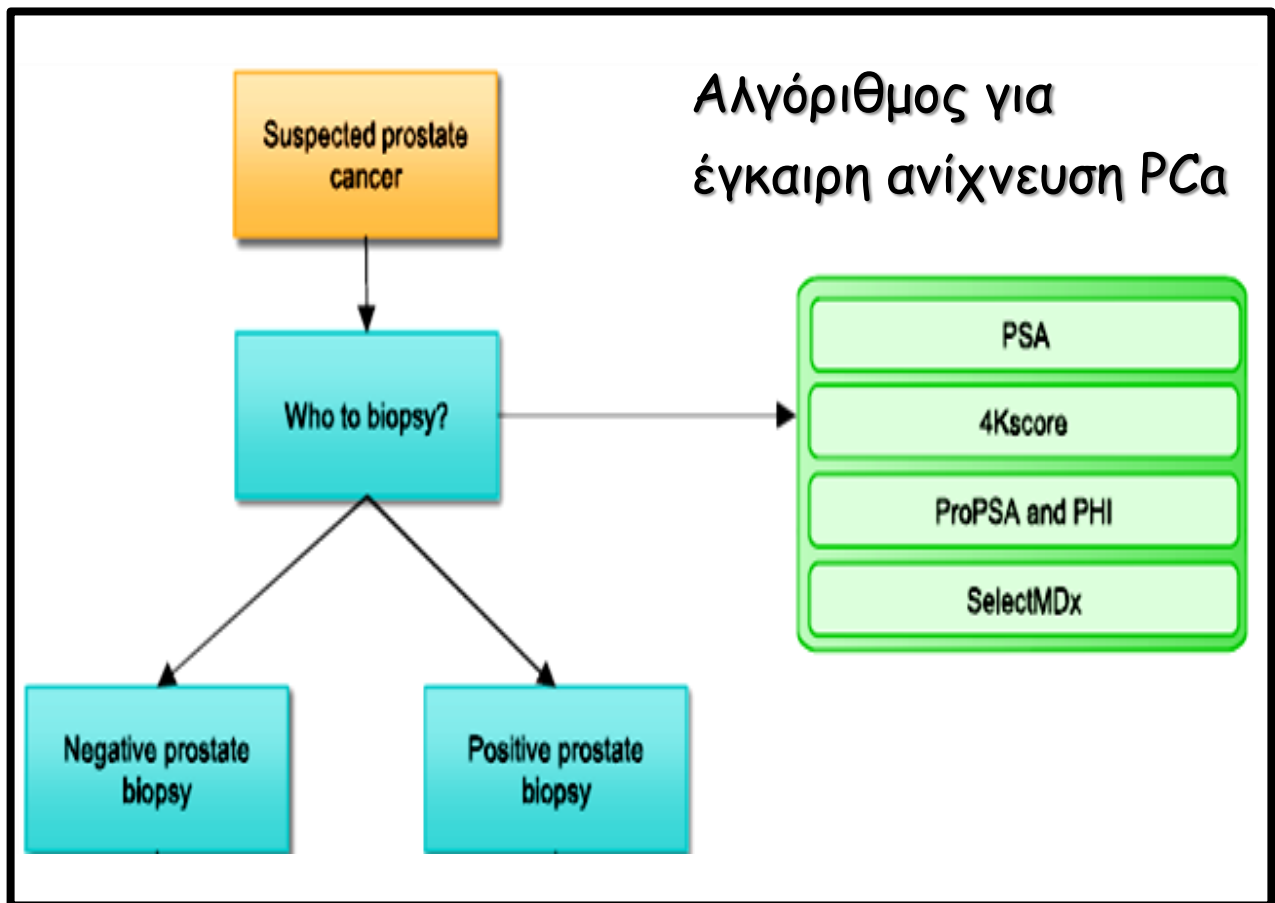


Εικόνα 1. Καρκίνος του προστάτη: νέες περιπτώσεις, θάνατοι και επιβίωση 5-ετών. (Προσαρμογή από Rosalyn W. Stewart et al. 2017)

Ο προσυμπτωματικός έλεγχος για καρκίνο του προστάτη με τη χρήση του PSA, είναι ένα από τα πιο αμφιλεγόμενα θέματα στη βιβλιογραφία της ουρολογίας. Πολλές μελέτες κυρίως μετά το 2009 δημοσίευσαν στοιχεία που οδήγησαν σε αντικρουόμενες θέσεις και προτεινόμενες πολιτικές. Το 2017 η Αμερικανική Υπηρεσία Προληπτικών Υπηρεσιών (USPSTF) εξέδωσε μια νέα οδηγία (1) σύμφωνα με την οποία οι άνδρες ηλικίας 55-69 ετών πρέπει να ενημερώνονται

για τα οφέλη και τις συνέπειες του προσυμπτωματικού προσδιορισμού του PSA, καθώς αυτό μπορεί να σχετίζεται με ένα μικρό μόνο όφελος επιβίωσης, ενώ τοποθετείται κατά του προσυμπτωματικού προσδιορισμού PSA για άτομα μεγαλύτερα των 70 ετών. Επιπλέον σύμφωνα με την οδηγία οι κλινικοί γιατροί δε θα πρέπει να προχωρούν σε προσυμπτωματικό έλεγχο στους άνδρες που δεν εκφράζουν την επιθυμία τους για έλεγχο. Αντίστοιχες είναι και οι οδηγίες από την Ευρωπαϊκή Ένωση Ουρολογίας (EAU) (2). Συνιστούν επίσης ότι θα πρέπει να γίνεται περαιτέρω αξιολόγηση κινδύνου σε ασυμπτωματικούς άνδρες με αρνητικά ευρήματα κατά την δακτυλική εξέταση (DRE) και επίπεδα (PSA) μεταξύ 2-10 ng/ml πριν από τη διενέργεια βιοψίας του προστάτη με:

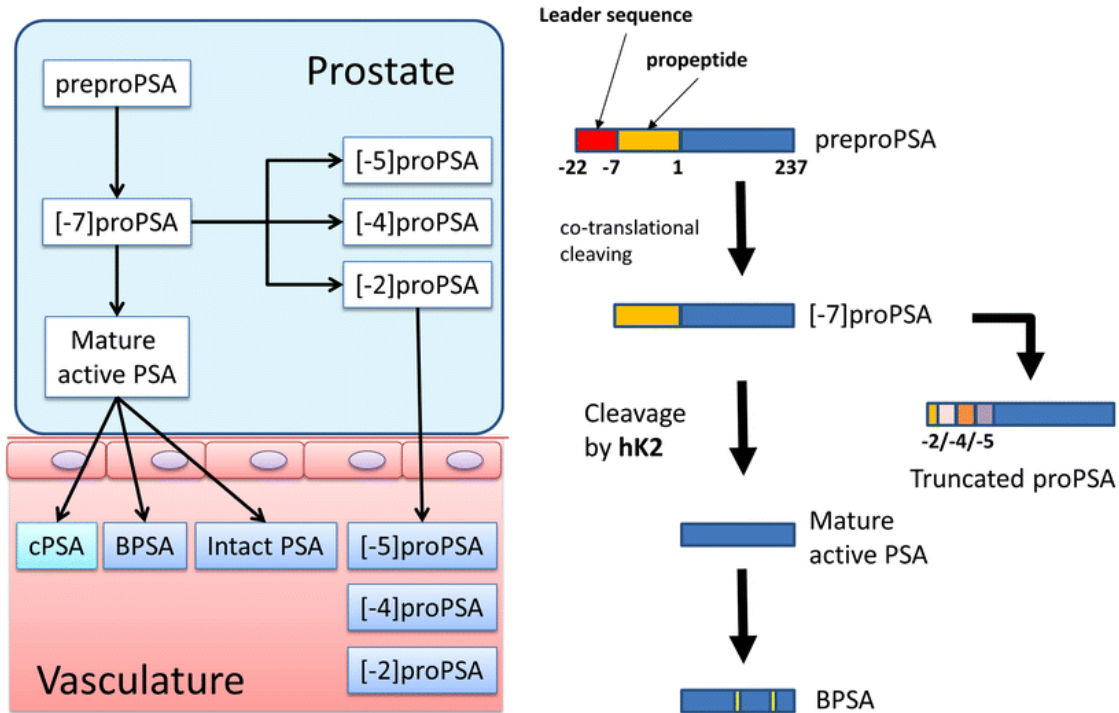
- υπολογισμό κινδύνου (risk calculator)
- μια πρόσθετη δοκιμασία ορού ή ούρων (p2PSA & PHI index, 4K-score, PCA3), ή
- MRI Απεικόνιση



Εικόνα 2. Αλγόριθμος για έγκαιρη ανίχνευση καρκίνου του προστάτη: Χρησιμοποιούμενοι δείκτες για επιλογή ασθενών που θα πρέπει να προχωρήσουν σε βιοψία. (Προσαρμογή από Shannon McGrath et al. 2016)

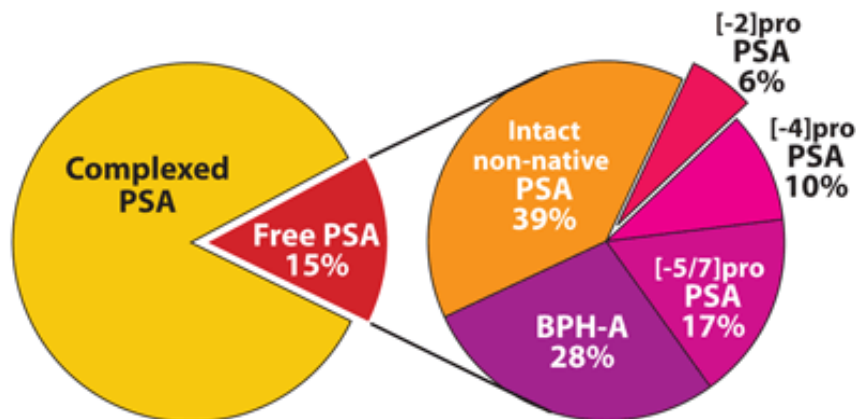
Σε κάθε περίπτωση οι οδηγίες έχουν ως στόχο τη μείωση του αριθμού των ασθενών που υποβάλλονται σε περιττές διαγνωστικές εξετάσεις, πρακτικά δηλαδή τόσο τον περιορισμό των περιστατικών που υποβάλλονται σε βιοψία με αρνητικό αποτέλεσμα, όσο και τη μείωση των περιστατικών που υποβάλλονται σε άσκοπη θεραπεία (overtreatment), επικεντρώνοντας στην ανίχνευση μόνο του επιθετικού καρκίνου του προστάτη (Gleason score ≥ 7).

Στην προσπάθεια αυτή δοκιμάστηκαν παράγωγα του PSA, όπως το ελεύθερο PSA (Free PSA-fPSA), το καλοήθες PSA (Benign or Nicked PSA- BPSA), το άθικτο PSA (Intact PSA-iPSA) ή το σύμπλοκο PSA(Complexed PSA, cPSA) ή ακόμη άλλες προσεγγίσεις του προσδιορισμού (PSA Density, PSA velocity) που θα μπορούσαν να βελτιώσουν την αποτελεσματικότητά του. Αργότερα δε εισήχθησαν και οι προσδιορισμοί άλλων παραγώγων του PSA, όπως του προδρόμου μορίου 2proPSA και του υπολογισμού του δείκτη υγείας του προστάτη (Prostate Health Index -phi), ο προσδιορισμός της καλλικρεΐνης 2, του isoPSA κ.λ.π. (6).



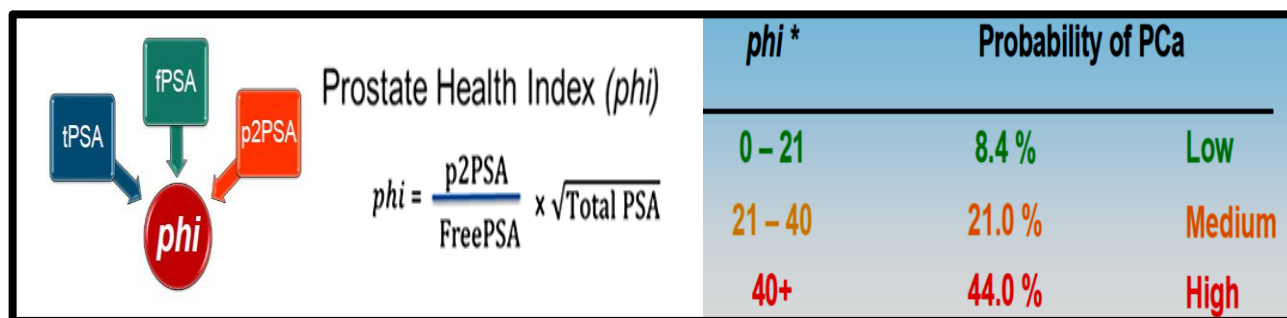
Εικόνα 3. Πορεία σχηματισμού του ώριμου PSA και των ισομορφών του. Αρχικά από τη μεταγραφή του γονιδίου της καλλικρεΐνης 3, που βρίσκεται στον γενετικό τόπο Ch 19q13.41 παράγεται η πρόδρομη μορφή του PSA (preproPSA) για να παραχθεί στη συνέχεια το 7 proPSA. Η πρόδρομη αυτή μορφή μπορεί είτε να δώσει τα κολοβά προϊόντα 5,4 και 2 proPSA, είτε να μετατραπεί με τη δράση της καλλικρεΐνης 2 στην ενεργή μορφή του PSA. Το PSA εκκρίνεται στην κυκλοφορία και κυκλοφορεί για την προστασία του ως σύμπλοκο με την α1 αντιχυμοθρυψίνη, τον αναστολέα της α1 πρωτεάσης ή την α2 μακροσφαιρίνη καθώς και στις ανενεργές ελεύθερες μορφές του καλοήθους PSA και του αθικτου PSA. Ελεύθερα κυκλοφορούν επίσης τα κολοβά προϊόντα 5,4 και 2 proPSA. (Προσαρμογή από Balk SP, et al.2003).

Το pro-PSA αποτελεί πρόδρομο μόριο του PSA, με ένα 7-πεπτιδίο στο αρχικό αμινικό άκρο που εμποδίζει το ενεργό κέντρο του ενζύμου. Το προ-πεπτιδίο αφαιρείται σταδιακά με την δράση της καλλικρεΐνης-2 ώστε να σχηματιστεί τελικά η ενεργή η μορφή του PSA. Το p2PSA δεν μπορεί να μετατραπεί σε ώριμο (ενεργό) PSA οπότε και συσσωρεύεται μετρούμενο ως κλάσμα του freePSA (fPSA) (εικόνα 4). Οι ασθενείς με καρκίνο του προστάτη εμφανίζουν αυξημένη τιμή p2PSA, χαμηλότερα ποσοστά fPSA/TPSA και υψηλότερα επίπεδα του λόγου p2PSA/fPSA. Αυξημένες τιμές p2PSA σχετίζονται επίσης με αυξημένη πιθανότητα ανίχνευσης επιθετικού καρκίνου (Gleason score ≥ 7).



Εικόνα 4. Εκατοστιαία σύσταση των μορφών του του fPSA (ελεύθερου PSA) στον ορό ασθενών με καρκίνο του προστάτη και τιμή ολικού PSA 4-10 ng/ml (Προσαρμογή από Stephen D. Mikolajczyk and Harry G. Rittenhouse, 2003)

Ο δείκτης υγείας του προστάτη (Prostate Health Index-phi) είναι ένας δείκτης που συνδυάζει την μέτρηση του 2-proPSA του ολικού PSA και του free PSA (7,8,9).



Στην παρούσα εργασία παρουσιάζουμε τα πρώτα αποτελέσματα από την εισαγωγή στο Νοσοκομείο μας του προσδιορισμού του προενζύμου του PSA, p2PSA, αλλά και του δείκτη phi.

Ασθενείς και μέθοδοι

Στα δείγματα ασθενών ενός μήνα (Μάιος 2018) του Νοσοκομείου μας για τους οποίους ζητήθηκε ο προσδιορισμός PSA, με τιμές PSA 2,0-10 ng/ml και χωρίς προηγούμενο ιστορικό τιμών PSA >10 ng/ml, έγινε ο προσδιορισμός του fPSA, του λόγου fPSA/TPSA, του 2pPSA, του λόγου 2pPSA/fPSA και του δείκτη phi, στον αναλυτή Beckman Coulter DXi800 και αξιολογήθηκαν τα αποτελέσματά τους. Οι τιμές αναφοράς του Εργαστηρίου για το PSA είναι <4,0 ng/ml και για το λόγο fPSA/TPSA >0,25 ενώ για τον δείκτη phi ως cutoff χρησιμοποιήθηκε το <20 που σχετίζεται με χαμηλή πιθανότητα εμφάνισης καρκίνου του προστάτη.

Αποτελέσματα

Ο συνολικός αριθμός προσδιορισμών PSA στην διάρκεια του ενός μήνα ανήλθε σε 736, εκ των οποίων 227 (30,8%) βρισκόταν μεταξύ 2,0 και 10,0 ng/ml και 192 (25,0%) δεν είχαν προηγούμενο ιστορικό με PSA >10 ng/ml. Ο παρακάτω πίνακας δείχνει την κατανομή των ασθενών (119/192) με τιμές PSA 2,0-10 ng/ml για τους οποίους κατέστη δυνατό να γίνει ο προσδιορισμός fPSA και 2pPSA, για δυο διαφορετικά επίπεδα τιμών PSA (2,0-4,0 και 4,0-10,0 ng/ml), και για τιμές fPSA/PSA και phi μεγαλύτερες και μικρότερες του 0,25 και 20 αντίστοιχα.

ΠΙΝΑΚΑΣ. Κατανομή ασθενων με βάση τις τιμές PSA, fPSA/PSA και δείκτη phi

PSA 2-4 ng/ml (n=54)	phi <20 (n=15)	phi >20 (n=39)	PSA 4-10 ng/ml (n=65)	phi <20 (n=11)	phi >20 (n=54)
fPSA/PSA >0,25 (n=19)	7	12	fPSA/PSA >0,25 (n=10)	3	7
fPSA/PSA <0,25 (n=35)	8	27	fPSA/PSA <0,25 (n=55)	8	47

Όπως φαίνεται από τον πίνακα 65/119 ασθενείς εμφάνιζαν τιμή PSA >4,0 ng/ml (85/119 με τιμή PSA >3,1 ng/ml, το όριο του Π.Ο.Υ.) και καλύπτουν τα κριτήρια για περαιτέρω διερεύνηση με δακτυλική εξέταση και βιοψία με βάση την εκτίμηση κινδύνου μόνο με την τιμή του PSA. Αν ως κριτήριο εκτίμησης κινδύνου χρησιμοποιηθεί ο συνδυασμός του PSA και του δείκτη phi (PSA >2,0 και phi >20) 93/119 καλύπτουν τα κριτήρια. Όπως φαίνεται επίσης 39/54 (72%) ασθενείς με τιμή PSA μεταξύ 2,0-4,0 ng/ml έχουν phi >20 (μέση και υψηλή πιθανότητα εμφάνισης PCa) και επιπλέον 12/54 λόγω fPSA/PSA >0,25 ήταν δηλαδή θετικοί μόνο στον δείκτη phi. Αντιστρόφως στους ασθενείς με τιμή PSA μεταξύ 4,0 και 10,0 ng/ml, 11/65 (15%) εμφανίζουν δείκτη phi <20 εκ των οποίων μάλιστα 3 εμφάνισαν και λόγω fPSA/PSA >0,25 και συνεπώς δεν αποτελούν ομάδα υψηλού κινδύνου για PCa.

Συμπέρασμα

Τα αποτελέσματα μας έδειξαν αλλαγή στη σύνθεση του πληθυσμού που πρέπει να υποβληθεί σε βιοψία σύμφωνα με τα αναθεωρημένα κριτήρια των USPSTF και EAU (1,2). Η εισαγωγή της μέτρησης του δείκτη 2pPSA παράλληλα με την μέτρηση του PSA και fPSA καθώς και του δείκτη phi που προκύπτει από αυτούς, μπορεί να βελτιώσει τα διαγνωστικά χαρακτηριστικά τους (8,9). Η χρήση του βέβαια θα πρέπει να περιοριστεί μόνο στις περιπτώσεις που υπάρχουν οι απαραίτητες ενδείξεις (PSA:2,0–10,0 ng/ml) (10). Η εισαγωγή των νέων απεικονιστικών μεθοδολογιών (MRI) σε συνδυασμό με το δείκτη phi θα μπορούσε να περιορίσει τις βιοψίες του προστάτη στις απολύτως απαραίτητες, με όφελος τόσο για τον ασθενή όσο και για το Σύστημα Υγείας.

Βιβλιογραφία

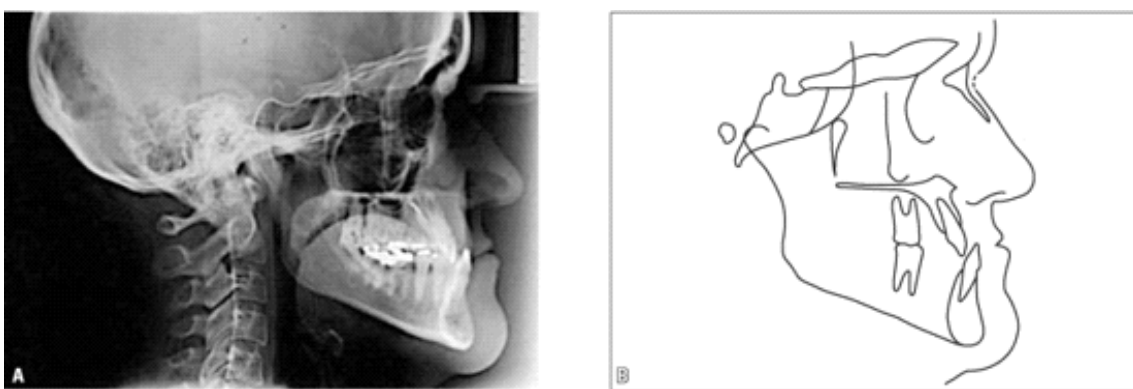
1. Screening for Prostate Cancer, US Preventive Services Task Force Recommendation Statement *JAMA*. 2018;319(18):1901-1913.
2. EAU-ESTRO-SIOG Guidelines on Prostate Cancer. Part 1: Screening, Diagnosis, and Local Treatment with Curative Intent. *Eur Urol*. 2017, 71(4):618-629
3. Rosalyn W. Stewart, Sergio Lizama, Kimberly Peairsa, Heather F. Sateia, Youngjee Choi (2017). Screening for prostate cancer. *Seminars in Oncology* 44 (2017) 47–56
4. Shannon McGrath, Daniel Christidis, Marlon Perera, Sung Kyu Hong, Todd Manning, Ian Vela, Nathan Lawrentschuk (2016). Prostate cancer biomarkers: Are we hitting the mark? *Prostate Int* 2016 (4) 130-135
5. Balk SP, Ko YJ, Bubley GJ (2003). Biology of prostate-specific antigen. *J Clin Oncol*. 2003 21(2):383-91.
6. Ola Bratt and Hans Lilja (2015). Serum markers in prostate cancer detection. *Curr Opin Urol*. 2015, 25(1): 59–64.

7. Stephen D. Mikolajczyk and Harry G. Rittenhouse (2003). Pro PSA: a more cancer specific form of prostate specific antigen for the early detection of prostate cancer. *Keio J Med* 2003; 52 (2): 86-91
8. Xavier Filella and Nuria Giménez (2013). Evaluation of [- 2] proPSA and Prostate Health Index (phi) for the detection of prostate cancer: a systematic review and meta-analysis. *Clin Chem Lab Med* 2013; 51(4): 729–739.
9. Brian V. Le, Christopher R. Griffin, Stacy Loeb, Gustavo F. Carvalhal, Donghui Kan, Nikola A. Baumann, and William J. Catalona (2010). [-2] pro-PSA is more accurate than total and free PSA in differentiating prostate cancer from benign disease in a prospective prostate cancer screening study. *J Urol.* 2010 April ; 183(4): 1355–1359
10. Catalona WJ, Partin AW, Sanda MG, Wei JT, Klee GG, Bangma CH, Slawin KM, Marks LS, Loeb S, Broyles DL, Shin SS, Cruz AB, Chan DW, Sokoll LJ, Roberts WL, van Schaik RH, Mizrahi IA. (2011). A multicenter study of [-2]pro-prostate specific antigen combined with prostate specific antigen and free prostate specific antigen for prostate cancer detection in the 2.0 to 10.0 ng/ml prostate specific antigen range. *J Urol* 2011;185:1650-5

Το σαγόι των Αψβούργων (The Habsburg jaw)

Κωνσταντίνα Καλύβα, Μεταπτυχιακή φοιτήτρια ΕΚΠΑ

Μακρογναθία ή προγναθισμός της κάτω γνάθου (mandibular prognathism / class III malocclusion) ονομάζεται η σοβαρή ορθοδοντική ανωμαλία, κατά την οποία το σώμα και οι κλάδοι της κάτω γνάθου σχηματίζουν μεταξύ τους μία υπέρμετρα αμβλεία γωνία. Έως τώρα έχουν καταγραφεί διαφορετικές εκφάνσεις του ίδιου χαρακτηριστικού. Σε ήπιες κλινικές περιπτώσεις το πρόβλημα είναι μάλλον αισθητικό, ενώ στις πιο σοβαρές είναι αδύνατη η φυσιολογική λειτουργία του στόματος. Οι δύο γνάθοι δεν συγκλίνουν μεταξύ τους με αποτέλεσμα διεργασίες που θεωρούνται απλές, όπως η μάσηση της τροφής, η κατάποση και η ομιλία, καθίστανται ιδιαίτερα δύσκολες στα άτομα με βαριά κλινική εικόνα. Οι φέροντες παρουσιάζουν την εικόνα ενός πλήρους «πώγωνα».



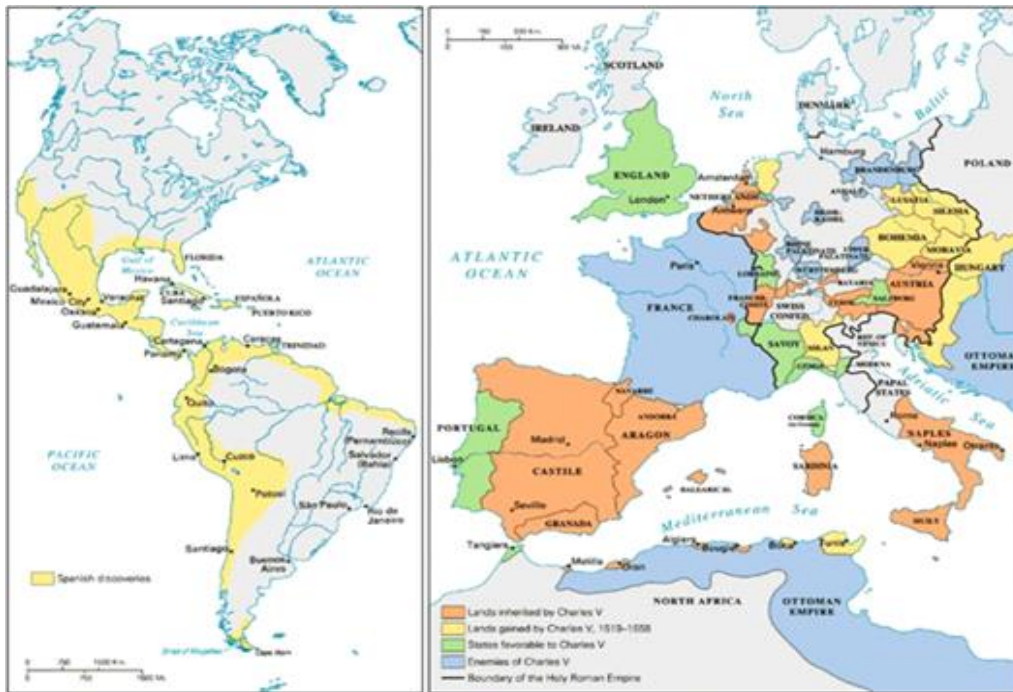
Εικόνα 1: Πλάγια κεφαλομετρική ακτινογραφία (A) και κεφαλομετρική ιχνογράφιση (B).

Ο προγναθισμός της κάτω γνάθου αναφέρεται συχνά στη βιβλιογραφία και ως «το σαγόι των Αψβούργων», λόγω της έντονης γναθοπροσωπικής ανωμαλίας που εκδήλωναν τα μέλη της ομώνυμης δυναστείας. Το «σαγόι των Αψβούργων» μοιάζει μάλλον πλήρως μελετημένο, με τους επιστήμονες να κάνουν λόγο για έναν έντονο προγναθισμό σε συνδυασμό με παχύ κάτω χείλος, επίπεδες παριές, ελαφριά εκτροπή των κάτω βλεφάρων προς τα έξω και σε ορισμένες περιπτώσεις κраниοσυνοστέωση (Thompson & Winter, 1988). Δεκάδες έργα τέχνης, από αγάλματα και πορτρέτα μέχρι κέρματα και μετάλλια, αποτυπώνουν με ακρίβεια τη συγγενή πάθηση της οικογένειας, ενώ δεν είναι λίγες οι φορές που ερευνητές βασίστηκαν στην μακροσκοπική παρατήρηση, για να εξάγουν κάποιο συμπέρασμα σχετικά με την κληρονομικότητα της νόσου (G. Hart, 1971). Ωστόσο, μόλις πρόσφατα (2014) ο Peacock και οι συνεργάτες του παρατηρώντας εκ νέου τα έργα τέχνης της δυναστείας διατύπωσαν κάτι, που ανέτρεπε την μέχρι τώρα ισχύουσα αντίληψη: η εικόνα της δυσπλασίας καθίσταται ιδιαίτερα έντονη, όχι τόσο λόγω της κακής κατασκευής της κάτω γνάθου, αλλά κυρίως λόγω της ανεπάρκειας που εμφανίζει η άνω γνάθος των Αψβούργων. Ειδικό επιστήμονες στην στοματική, γναθοπροσωπική, οδοντιατρική και πλαστική χειρουργική αξιολογώντας μακροσκοπικά τρία τουλάχιστον πορτρέτα των επτά Αψβούργων αυτοκρατόρων και συγκρίνοντάς τα με δυσμορφίες ατόμων της σύγχρονης εποχής διατύπωσαν την άποψη, ότι η κύρια αιτία παραμόρφωσης είναι η ανεπάρκεια της άνω γνάθου, η οποία οδηγεί σε υποπλασία του μέσου τριμορίου, ρινική παραμόρφωση (γαμψή ράχη, πτωτικό ακρορίνιο) και προτεταμένο κάτω χείλος.

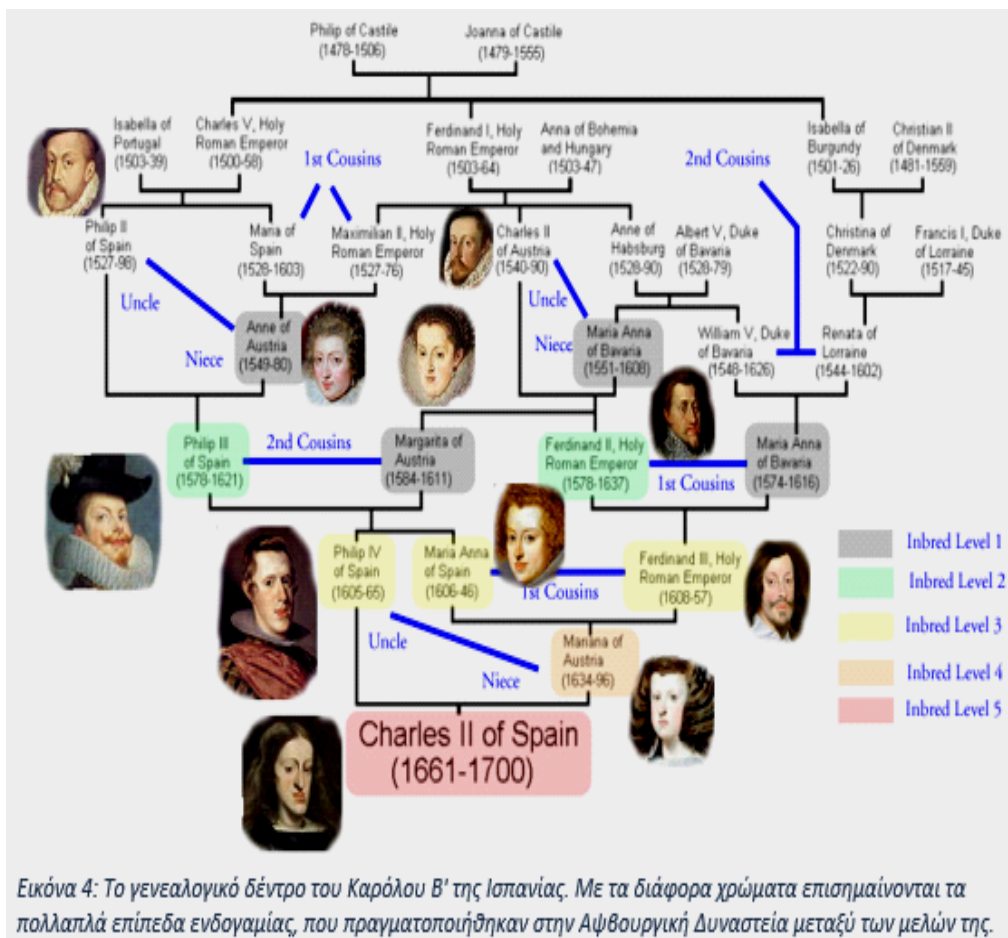


Εικόνα 2: Μέσα σε 8 γενιές Αψβούργων βασιλιάδων το χαρακτηριστικό του προγναθισμού της κάτω γνάθου ενισχύθηκε σημαντικά. (Α) Μαξιμιλιανός Α' της Αγίας Ρωμαϊκής Αυτοκρατορίας (1459-1519), (Β) Κάρολος Κουίντος ή Ε' της Αγίας Ρωμαϊκής Αυτοκρατορίας (1500-1558), (Γ) Φίλιππος Β' της Ισπανίας (1527-1598), (Δ) Φίλιππος Δ' της Ισπανίας (1605-1665), (Ε) Κάρολος Β' της Ισπανίας (1661-1700).

Ιστορικά, ο πρώτος Αψβούργος αυτοκράτορας που αναπαραστάθηκε καλλιτεχνικά ήταν ο Μαξιμιλιανός Α' (1459-1519) της Αγίας Ρωμαϊκής Αυτοκρατορίας. Το γνώρισμα της μακρογναθίας μεταβιβάστηκε επίσης στον υιό του, Φίλιππο Α' της Καστίλης, καθώς και στον εγγονό του, Κάρολο Κουίντο, ο οποίος αποδεχόμενος την πολιτική κληρονομιά του Οίκου των Trastámara και το θρόνο της Αγίας Ρωμαϊκής Αυτοκρατορίας (Sacrum Romanum Imperium), διοικούσε «μία αυτοκρατορία στην οποία ο ήλιος δεν έδυε ποτέ». Το 16ο αιώνα τέσσερα εκατομμύρια τετραγωνικά χιλιόμετρα βρίσκονταν υπό την εδαφική κυριαρχία των Αψβούργων, περιλαμβάνοντας κράτη, που στο σύγχρονο χάρτη εκτείνονται από την Αμερική και την Ευρώπη έως και την Άπω Ανατολή. Ηγέτες καταχθόνιου χαρακτήρα, που χρησιμοποιούσαν τους λαούς κατά το δοκούν, πραγματοποιούσαν θρησκευτικές και κοινωνικές εκκαθαρίσεις με απώτερο στόχο αφ' ενός μεν τη διατήρηση της θρησκευτικής ομοιογένειας κατά τα πρότυπα του Καθολικισμού που οι ίδιοι πρέσβευαν, αφ' ετέρου δε την καθιέρωση ειρηνικού καθεστώτος τύπου Pax Romana. Η γραμμή διαδοχής της αυτοκρατορίας όφειλε να παρουσιάζει ομοιογένεια, ώστε το «αίμα» των Αψβούργων να μείνει «αμόλυντο» και η εδαφική επικράτεια ακέραιη. Έκτοτε, έγινε σωρεία αιμομικτικών σχέσεων μεταξύ συγγενών 1^{ου} και 2^{ου} βαθμού. Εύστοχα λοιπόν οι σύγχρονοί τους κρίνοντας από τον όγκο του πλούτου και της δύναμης που συγκέντρωναν στα χέρια τους αναφέρουν: *"Bella gerant alii. Tu felix Austria nube"* (Ας πολεμούν οι άλλοι. Εσύ ευτυχισμένη Αυστρία κάνε γάμους).



Εικόνα 3: Η παγκόσμια αυτοκρατορία του Καρόλου Ε' (πορτοκαλί – κίτρινο). Με μπλε χρώμα απεικονίζονται οι εχθροί του κράτους του, ενώ με πράσινο οι σύμμαχοί του. Πηγή: "Western Society: A brief history", Copyright ©2010 by Bedford/St. Martin's, κεφάλαιο 14, σελίδα 349.

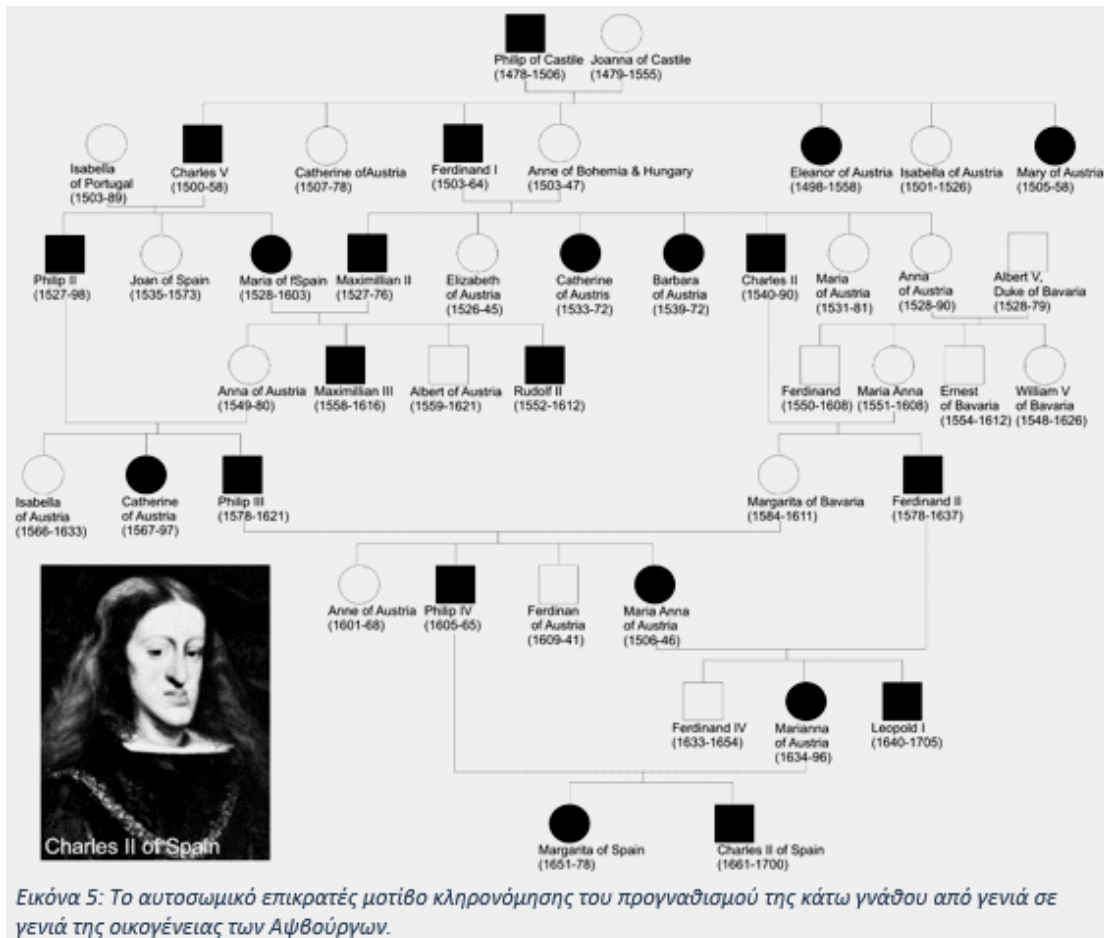


Εικόνα 4: Το γενεαλογικό δέντρο του Καρόλου Β' της Ισπανίας. Με τα διάφορα χρώματα επισημαίνονται τα πολλαπλά επίπεδα ενδογαμίας, που πραγματοποιήθηκαν στην Αψβουργική Δυναστεία μεταξύ των μελών της.

Οι απόγονοί τους εμφάνιζαν ήδη από τη βρεφονηπιακή ηλικία (0-10 ετών) τόσο υψηλά ποσοστά θνησιμότητας, όσο και συσσώρευση γενετικών ανωμαλιών. Μία εξ αυτών ήταν ο προγναθισμός της κάτω γνάθου. Το πρόβλημα ήταν έντονο στον Αψβούργο βασιλιά Κάρολο Κουίντο, με στόμα τόσο δύσμορφο, που ήταν αδύνατο να κλείσει. Χαρακτηριστικά, στα πλαίσια της πρώτης επίσκεψής του στην Ισπανία οι αυλικόι του φαίνεται να λένε: «Μεγαλειότατε, κλείστε το στόμα σας· οι μύγες αυτής της χώρας είναι πολύ αυθάδεις».

Μία ματιά στο πορτρέτο του τελευταίου Αψβούργου βασιλιά, Κάρολου Β΄ της Ισπανίας (1661 –1700), είναι αρκετή, ώστε να μας πείσει για το βαθμό, στον οποίο μπορεί να εκδηλωθεί το φαινοτυπικό χαρακτηριστικό. Ο Κάρολος Β΄, γνωστός και ως «ο Μαγεμένος» (El Hachizado), εμφάνιζε έντονη πρόταξη της κάτω γνάθου σε σημείο αδυναμίας μάσησης της τροφής, ενώ η υπερμεγέθης γλώσσα του προκαλούσε εντονότατη σιελόρροια. Γραπτές πηγές του Άγγλου πρεσβευτή Alexander Stanhope, ο οποίος έζησε για ένα μεγάλο χρονικό διάστημα με τη βασιλική οικογένεια και του εδόθη η δυνατότητα να παρατηρήσει από κοντά την εύθραυστη υγεία του Καρόλου Β΄, επιβεβαιώνουν τα παραπάνω. Συγκεκριμένα, σε σχετικό γράμμα, που συνέταξε στις 19 Σεπτεμβρίου 1696, απευθυνόμενος σε κυβερνητικό εκπρόσωπο της χώρας του, ο Stanhope αναφέρει με πολύ γλαφυρό τρόπο: «ο βασιλιάς προς στιγμήν απέφυγε το μοιραίο· υπάρχει όμως ακόμα ο φόβος της υποτροπής παρά το νεαρό της ηλικίας του (35 ετών). Εμφανίζει παλινδρόμηση. Το εξαιρετικά προεξέχον σαγόνι του δεν επιτρέπει την σύγκλιση των δύο οδοντικών σειρών με αποτέλεσμα η τροφή να καταπίνεται αμάσητη. [...]». Σε μία άλλη ιστορική πηγή, ο βασιλιάς σκιαγραφείται από τον Gonzalo Alvarez, καθηγητή του Πανεπιστήμιου του Santiago de Compostela της Γαλικίας στην Ισπανία. Χαρακτηριστικά αναφέρει: «Αδυναμία άρθρωσης λόγου έως την ηλικία των τεσσάρων ετών και αδυναμία βάδησης έως την ηλικία των οκτώ. Κοντός, αδύναμος, ισχνός, με όψη γέρου στην ηλικία των τριάντα, φέρει οιδήματα στα πέλματα, στα πόδια, στην κοιλιά και στο πρόσωπο. Παντρεύτηκε δύο φορές, η μία στην ηλικία των 18 και η δεύτερη στα 29. Δεν άφησε, ωστόσο, απογόνους. Στα τελευταία χρόνια της ζωής του υπέφερε από παραισθήσεις και επεισόδια σπασμών [...]». Η οικονομική κρίση που έπληττε τότε την Ισπανία, το πρόβλημα της διαδοχής και η κοινωνική πίεση τον οδήγησε αναπόφευκτα σε νευρικό κλονισμό και απόσυρση από την πολιτική σκηνή. Μέσα στη δίνη των συμπτωμάτων της κατάθλιψης και του παραλογισμού (απαιτούσε συχνά την εκταφή των προγόνων του) έβρισκε παρηγοριά στον Καθολικισμό και στην προσευχή. Πέντε μέρες πριν από τα 39α γενέθλια του, έπειτα από ένα εμπύρετο επεισόδιο με κοιλιακούς πόνους, δύσπνοια και κώμα, την 1^η Νοεμβρίου του 1700 κατέληξε στη Μαδρίτη.

Τότε οι αναπηρίες του Καρόλου Β΄ αποδίδονταν σε μάγια και όχι στην κληρονομική μεταβίβαση γενετικών ανωμαλιών. Η κυριότερη εξ αυτών μάλλον είναι η ανευπλοειδία φυλετικών χρωμοσωμάτων και συγκεκριμένα η πεντασωμία 49,XXXXY. Η σπάνια αυτή περίπτωση, που αφορά μόνο τον αντρικό πληθυσμό, θεωρείται παραλλαγή του συνδρόμου Klinefelter (47, XXY), όπως ακριβώς και τα σύνδρομα 48,XXYY ή 48,XXXY είναι μια χρωμοσωμική ανωμαλία, που χαρακτηρίζεται από αυξημένο κίνδυνο συγγενών παραμορφώσεων, νευροαναπτυξιακών/ψυχολογικών προβλημάτων και υπεργοναδοτροπικό υπογοναδισμό (βλάβη στις γονάδες δηλ. το όργανο-στόχο και εν προκειμένω στους όρχεις και αντιρροπιστική αύξηση των γοναδοτροφινών, λόγω διαταραχής της λειτουργίας του άξονα ΥΥΓ, Υποθάλαμος: εκλυτική ορμόνη GnRH των γοναδοτροφινών – Υπόφυση: γοναδοτροφίνες δηλ. LH ωχρινοτρόπος και FSH θυλακιοτρόπος – Γονάδες: τεστοστερόνη). Η δυσλειτουργία των όρχεων εκδηλώνεται με διαταραχές στην έκκριση ορμονών και τη γαμετογένεση, επομένως ελάχιστα ή ανύπαρκτα σπερματοζώαρια. Η επίπτωση της πεντασωμίας 49,XXXXY εκτιμάται γύρω στις 1:85.000 – 1:100.000 γεννήσεις αρρένων και αποδίδεται αφενός μεν σε λάθη κατά τη μειωτική διαίρεση των χρωμοσωμάτων, αφετέρου δε σε αιμομικτικές σχέσεις.



Ποικίλες βιβλιογραφικές μελέτες εικάζουν ότι κεντρική θέση στην αιτιολογία του προβλήματος κατέχουν τα αυτοσωμικά χρωμοσώματα και οι ενδείξεις συνηγορούν υπέρ ενός ατελώς επικρατούς γονιδίου (ατελώς επικρατή γονίδια: ο φαινότυπος των ετερόζυγων ατόμων είναι ενδιάμεσος των φαινότυπων των δύο ομόζυγων). Ο Rubbrecht το 1930 και ο Strohmayer το 1937 ήταν οι πρώτοι, που υποστήριξαν ότι ο προγναθισμός της κάτω γνάθου διαβιβάστηκε σε πολλές γενεές της αψβουργικής γενεαλογίας, ως το κυρίαρχο χαρακτηριστικό ενός τέτοιου γονιδίου. Την ίδια άποψη ενστερνίστηκαν οι Stiles και Luke (1953), που περιέγραψαν μια οικογένεια στην οποία τα μέλη 4 γενεών εμφάνιζαν προγναθισμό και διετύπωσαν την άποψη, ότι η επικράτηση του αγνώστου αυτοσωμικού γονιδίου δεν είναι πλήρης σε ετερόζυγες καταστάσεις. Σε μεταγενέστερη δημοσίευση, το 1965, ο Gorlin και οι συνεργάτες του αναφέρουν, ότι τα σύνδρομα 47,XXY (σύνδρομο Klinefelter), 48,XXYY, 48,XXXY και 49,XXXXY συνδέονται με τον προγναθισμό της κάτω γνάθου, ενώ ενδιαφέρον παρουσιάζει η προοδευτική αύξηση της έντασης του φαινοτυπικού χαρακτηριστικού αυξανόμενου του αριθμού των X χρωμοσωμάτων. Πολύ αργότερα (1993), σε ανάλογη μελέτη οι Wolff, Wienker και Sander μελετώντας το γενεαλογικό δέντρο 13 οικογενειών με 409 μέλη, σε βάθος 23 γενεών, αναφέρουν ότι, το αυτοσωμικό επικρατές γονίδιο McKusick No *176700, πολύ χαμηλής συχνότητας (0.0001), φαίνεται να συνδέεται με προγναθισμό της κάτω γνάθου και εμφανίζει ατελή επικράτηση σε ετερόζυγη κατάσταση. Σε ανάλογη μελέτη των Cruz και συν. (2008), όπου μελετήθηκαν 55 οικογένειες με ανευπλοειδίες του τύπου 47,XXY, 48,XXYY και 49,XXXXY και εμφάνιση προγναθισμού (ήτοι 158 άνδρες και 214 γυναίκες), η κληρονομική μεταβίβαση του χαρακτηριστικού αυτού ήταν αυτοσωματικού επικρατούς χαρακτήρα στο 89,1% των περιπτώσεων. Συγκεκριμένα, σε 32 οικογένειες παρατηρήθηκε ατελής και σε 17 πλήρης επικράτηση του φαινοτυπικού χαρακτηριστικού, οδηγώντας στο συμπέρασμα, ότι ο βαθμός επικράτησής του καθορίζεται από ένα ατελώς επικρατές αυτοσωμικού χαρακτήρα γονίδιο με σαφείς ενδείξεις μενδελικής κληρονομικότητας.

Μαζί με το θάνατο του Καρόλου Β' «έσβησε» και ο Ισπανικός Οίκος της δυναστείας των Αψβούργων. Στη διαθήκη του ο βασιλιάς όρισε ως διάδοχο του θρόνου του το Φίλιππο της Γαλλίας, Δούκα του Ανζού, ο οποίος ήταν εγγονός της ετεροθαλούς αδερφής του, Μαρίας Θηρεσίας της Ισπανίας και απόγονος της δυναστείας των Βουρβόνων.

Βιβλιογραφία

- (2017). Forbidden Fruit: Six Shocking Real Life Incest Stories Throughout History. <http://all-that-is-interesting.com/famous-incest>
- (2017). 49,XXXXY syndrome. <https://rarediseases.info.nih.gov/diseases/5679/49xxxxy-syndrome>
- Indian Dental Academy. (2016). Genetics & Malocclusion - II. <https://www.slideshare.net/indiandentalacademy/genetics-in-malocclusion-ii-anupam-orthodontic-courses-by-indian-dental-academy>
- Victor A. McKusick, C. L. K. (2015). % 176700 Prognathism, Mandibular. <https://www.omim.org/entry/176700#Grabb1968>
- Lowery, G. (2015). The Habsburg Jaw and Other Royal Inbreeding Deformities. <https://owlcation.com/humanities/The-Habsburg-Jaw-And-Other-Royal-Inbreeding-Deformities-and-Disorders>
- Peacock, Z. S., Klein, K. P., Mulliken, J. B., & Kaban, L. B. (2014). The Habsburg Jaw—Re-examined. *American Journal of Medical Genetics Part A*, 164(9), 2263–2269. <http://doi.org/10.1002/ajmg.a.36639>
- Ceballos, F. C., & Álvarez, G. (2013). Royal dynasties as human inbreeding laboratories: the Habsburgs. *Heredity*, 111, 114. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1038/hdy.2013.25>
- Tartaglia, N., Ayari, N., Howell, S., D'Epagnier, C., & Zeitler, P. (2011). 48,XXYY, 48,XXXYY and 49,XXXXYY syndromes: not just variants of Klinefelter syndrome. *Acta Paediatrica (Oslo, Norway : 1992)*, 100(6), 851–860. <http://doi.org/10.1111/j.1651-2227.2011.02235.x>
- Daily Mail Reporter. (2009). How keeping it in the family spelled the end of the line for the Hapsburg royal dynasty. Retrieved from <http://www.dailymail.co.uk/sciencetech/article-1170143/How-keeping-family-spelled-end-line-inbred-royal-dynasty.html>
- Alvarez, G., Ceballos, F. C., & Quinteiro, C. (2009). The role of inbreeding in the extinction of a European royal dynasty. *PLoS ONE*. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0005174>
- Cruz, R. M., Krieger, H., Ferreira, R., Mah, J., Hartsfield, J., & Oliveira, S. (2008). Major gene and multifactorial inheritance of mandibular prognathism. *American Journal of Medical Genetics Part A*, 146A(1), 71–77. <http://doi.org/10.1002/ajmg.a.32062>
- Bui, C., King, T., Proffit, W., & Frazier-Bowers, S. (2006). Phenotypic Characterization of Class III Patients A Necessary Background for Genetic Analysis. *564 Angle Orthodontist*, 76(4).
- Jon Cowans. (2003). *Early Modern Spain: A Documentary History*. University of Pennsylvania Press. Retrieved from <https://books.google.gr>
- Αγγελόπουλος Άγγελος Π., Παπανικολάου Σταύρος Ι., Α. Ε. (2000). *Σύγχρονη στοματική και γναθοπροσωπική παθολογία* (3η Έκδοση). Κ. & Ν. ΛΙΤΣΑΣ Ο.Ε.
- Πάπυρος-Λαρούς-Μπριτάννικα. (1996). Αψβούργοι (ρ. Τόμος 13, 102-109). Εκδοτικός Οργανισμός Πάπυρος.
- Wolff, G., Wienker, T. F., & Sander, H. (1993). On the genetics of mandibular prognathism: analysis of large European noble families. *Journal of Medical Genetics*. <http://doi.org/10.1136/jmg.30.2.112>
- Thompson, E. M., & Winter, R. M. (1988). Another family with the “Habsburg jaw”. *Journal of Medical Genetics*, 25(12), 838–842.
- Hodge, G. P. (1977). A medical history of the Spanish Habsburgs. As traced in portraits. *JAMA*, 238(11), 1169–1174.

- Hart, G. D. (1971). The Habsburg jaw. *Canadian Medical Association Journal*, 104(7), 601–603.
- Grabb, W. C., Hodge, G. P., Dingman, R. O., & Oneal, R. M. (1968). The Habsburg jaw. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 42(5), 442–445.
- Gorlin, R. J., Redman, R. S., & Shapiro, B. L. (1965). Effect of X-Chromosome Aneuploidy on Jaw Growth. *Journal of Dental Research*, 44(1), 269–282. <http://doi.org/10.1177/00220345650440012201>
- Rubbrecht, O. (1939). A study of the heredity of the anomalies of the jaws. *American Journal of Orthodontics and Oral Surgery*, 25(8), 751–779. [http://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0096-6347\(39\)90224-3](http://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0096-6347(39)90224-3)
- Strohmayer, W. (1937). *Die Vererbung des Habsburger Familientypus. Eine erbphysiognomische Betrachtung auf genealogischer Grundlage*. Nova Acta Leopoldina.
- Rubbrecht, O. (1930). *Der Unterkieferprognathismus und dessen Vererbung nach dem Mendelschen Gesetz*. Province Dentaire.



Communications and Publications Division (CPD) of the IFCC
Editor: Katherina Psarra, MSc, PhD
Department of Immunology - Histocompatibility
Evangelismos Hospital, Athens, Greece
E-mail: enews@ifcc.org

International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine



N° 1/2 – January/February 2019

EDITORIAL

Message from the eNews Editor

*by Katherina Psarra
eNews Editor*

It is my pleasure and honor to address this editorial to you as the new IFCC eNews Editor and Chair of the WG-IFCC News. I take this opportunity to wish you all a happy and productive New Year in your personal and professional life.

I would like to underline the importance of sharing the IFCC news with you, in order to have a better communication between IFCC and IFCC member societies, as well as with everybody working in a laboratory. A lot of IFCC news come from all over the world and it is probably the only opportunity to come in contact with the achievements and the needs of colleagues in the broader IFCC family.

In this issue you will find information about the future of laboratory medicine as it was presented during the IFCC General Conference in Budapest, as well as at the regional congresses all over the world.

Special attention should be given to our young colleagues, the future of our profession. A special presentation concerns their activities within IFCC member societies, congresses or other scientific organizations.

Dear colleagues, I hope that you will pay special attention to the IFCC eNews and possibly provide your feedback and communications.



Katherina Psarra

<http://www.ifcc.org/media/477657/ifccenewsfebruary2019.pdf>

Η Κατερίνα Ψαρρά, άξια εν όπλοις συνάδελφος, είναι από τον περασμένο Ιανουάριο, η νέα εκδότρια των e-news IFCC (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine). Της ευχόμαστε από καρδιάς πάντα επιτυχίες και επιστημονικά επιτεύγματα!

Στο σταθμό του μετρό στον Άλιμο, ο περασμένος χρόνος μας έφερε μια καινούργια φίλη. Η polycolor γατούλα φιλική και χαδιάρα, μας περιμένει υπομονετικά κάθε πρωί για να δώσει μια νότα τρυφερότητας στην καθημερινότητά μας. Οι επιβάτες του μετρό έχουν κερδίσει την εμπιστοσύνη της και εκείνη, αληθινή απόγονος της Μπάστ, της θεάς-γάτας των αρχαίων Αιγυπτίων, κάθεται αγέρωχη ή λιάζεται νωχελικά ξαπλωμένη μπροστά στις κυλιόμενες σκάλες στην είσοδο του σταθμού.



<https://www.youtube.com/watch?v=Pm5w7gHEtJI>

CATS (musical composed by Andrew Lloyd Webber, based on Old Possum's Book of Practical Cats by T. S. Eliot): Elaine Paige original London Grizabella – Memory.

...I must wait for the sunrise, I must think of a new life and I mustn't give in.
