

Περιεχόμενα

- ΤΙΜΕΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΘΕΚΤΙΚΗ ΣΤΟ ΤΡΥΓΙΚΟ ΟΞΥ ΟΞΙΝΗ ΦΩΣΦΑΤΑΣΗ 5Β ΣΤΟΝ ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ
- GC-MS METABOLIC FINGERPRINTS OF DRIED BLOOD MICROSAMPLES
- IN COMPARISON TO PLASMA
- 28 ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΥ-ΠΑΓΚΟΣΜΙΑ ΗΜΕΡΑ ΚΑΤΑ ΤΗΣ ΛΥΣΣΑΣ

ΕΝΗΜΕΡΩΤΙΚΟ ΔΕΛΤΙΟ 59 – ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ 2026

Αγαπητοί συνάδελφοι,

σιγά σιγά οι παραλίες αδειάζουν , τα σχολεία άνοιξαν και εύχομαι το φθινόπωρο να σας βρίσκει όλους υγιείς και με θετική σκέψη.

Σε αυτό το τεύχος του Ενημερωτικού Δελτίου μπορείτε να διαβάσετε δύο πολύ αξιόλογες επιστημονικές εργασίες. Η πρώτη παρουσιάζει τα αποτελέσματα σχετικά με τον καθορισμό τιμών αναφοράς για τις συγκεντρώσεις της TRACP5b στον ενήλικο ελληνικό πληθυσμό, ενώ η δεύτερη τα αποτελέσματα της μελέτης του μεταβολικού αποτυπώματος μέσω αέριας-χρωματογραφίας -φασματομετρίας μαζών σε ξηρά μικροδείγματα αίματος.

Εκ μέρους της Οργανωτικής και της Επιστημονικής Επιτροπής σας προσκαλούμε να συμμετάσχετε στο 24ο Πανελλήνιο Συνέδριο Κλινικής Χημείας - Κλινικής Βιοχημείας, που θα διεξαχθεί στην Αθήνα από 5 ως 8 Νοεμβρίου 2026 στο Πολεμικό Μουσείο. Το Συνέδριο θα διαρκέσει τέσσερις ημέρες και το πρόγραμμα θα περιλαμβάνει δορυφορικά συμπόσια, ειδικές διαλέξεις, στρογγυλά τραπέζια, παρουσιάσεις μελετών, προφορικές και αναρτημένες ανακοινώσεις, διασφαλίζοντας πλήρη κάλυψη όλων των πεδίων της Κλινικής Χημείας -Κλινικής Βιοχημείας. Σας καλούμε να συμμετάσχετε ενεργά στις εργασίες του συνεδρίου μας.

Με συναδελφικούς χαιρετισμούς

Μαριλένα Σταμούλη

ΣΥΝΤΑΚΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Σ. ΚΑΡΑΘΑΝΟΣ
Ε. ΚΩΝΣΤΑ
Ε. ΛΕΙΜΟΝΗ
Μ. ΣΤΑΜΟΥΛΗ

ΤΙΜΕΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΘΕΚΤΙΚΗ ΣΤΟ ΤΡΥΓΙΚΟ ΟΞΥ ΟΞΙΝΗ ΦΩΣΦΑΤΑΣΗ 5b ΣΤΟΝ ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ

Ιουλία Τρυφωνίδη ^{1,2}, Παναγιώτα Μπέλμπα ³, Αθανάσιος Μυλωνάς ¹, Χρήστος Κρούπης ⁴, Pierre Lukas ⁵, Etienne Cavalier ⁵, Ευστάθιος Χρονόπουλος ², Κωνσταντίνος Μακρής ^{1,2}

1. Τμήμα Κλινικής Βιοχημείας, Γενικό Νοσοκομείο Αττικής ΚΑΤ, Κηφισιά, Αθήνα, Ελλάδα
2. Εργαστήριο Έρευνας των Παθήσεων του Μυοσκελετικού Συστήματος “Θ. Γαρουφαλίδης”, Γενικό Νοσοκομείο Αττικής ΚΑΤ, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ, Κηφισιά, Αθήνα, Ελλάδα
3. Τμήμα Αιμοδοσίας, Γενικό Νοσοκομείο Αττικής ΚΑΤ, Κηφισιά, Αθήνα, Ελλάδα
4. Τμήμα Κλινικής Βιοχημείας, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Αττικών, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ, Αθήνα, Ελλάδα
5. Department of Clinical Chemistry, University of Liege, CHU de Liege, CIRM, Liege, Belgium

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός: Οι δείκτες οστικής ανακατασκευής (BTMs) αντανakλούν τη μεταβολική δραστηριότητα του οστικού ιστού και μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παρακολούθηση της θεραπείας της οστεοπόρωσης. Η ανθεκτική στο τρυγικό οξύ φωσφατάση-ισομορφή 5b (TRACP-5b), αποτελεί δείκτη οστικής απορρόφησης που δεν επηρεάζεται από τη νεφρική λειτουργία ή την πρόσληψη τροφής και μπορεί να μετρηθεί στον ορό με ανοσοενζυμικές δοκιμασίες. Σκοπός αυτής της μελέτης ήταν ο καθορισμός τιμών αναφοράς (RI) για τις συγκεντρώσεις της TRACP5b στον ορό του ενήλικου ελληνικού πληθυσμού.

Μέθοδοι: Συλλέξαμε δείγματα από 431 φαινομενικά υγιείς Έλληνες (142 άνδρες, καθώς και 149 προεμμηνοπαυσιακές και 140 μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες), οι οποίοι συμμετείχαν εθελοντικά στη μελέτη. Συλλέχθηκαν δεδομένα για κοινωνικά και δημογραφικά χαρακτηριστικά, αναλυτικό ιατρικό αναμνηστικό, συμπεριλαμβανομένων και τυχόν φαρμακευτικών αγωγών, ενώ αποκλείστηκαν άτομα με ιατρικές καταστάσεις ή φαρμακευτικές αγωγές που επηρεάζουν τον οστικό μεταβολισμό. Η απορροφησιμετρία διπλής ενέργειας ακτίνων Χ (DXA) χρησιμοποιήθηκε για τη μέτρηση της οστικής πυκνότητας (BMD) σε όλους τους συμμετέχοντες. Όλες οι

αιμοληψίες πραγματοποιήθηκαν το πρωί μετά από ολονύκτια νηστεία. Οι συγκεντρώσεις της TRACP5b στον ορό μετρήθηκαν με αυτοματοποιημένη ανοσοδοκιμασία στον αναλυτή ISYS (Immunodiagnostic Systems, Boldon, Ηνωμένο Βασίλειο). Το διάστημα των τιμών αναφοράς ορίστηκε ως το κεντρικό διάστημα που περιλαμβάνει το 95% των τιμών του πληθυσμού μας. Οι τιμές αναφοράς προσδιορίστηκαν σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες που περιγράφονται στο οδηγό CLSI C28-A3 και για την ανάλυση των δεδομένων χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό MedCalc.

Αποτελέσματα: Η διάμεση ηλικία των ανδρών, των προ-εμμηνοπαυσιακών και των μετ-εμμηνοπαυσιακών γυναικών ήταν 49, 42 και 57 έτη αντίστοιχα. Τα αποτελέσματα της DXA έδειξαν ότι οι 342 από τους συμμετέχοντες στη μελέτη μας είχαν φυσιολογική BMD, 79 είχαν οστεοπενία και τέλος 10 είχαν οστεοπόρωση, οι οποίοι και αποκλείστηκαν από την ανάλυση των τιμών αναφοράς. Δεδομένου ότι τα δεδομένα μας δεν ακολουθούσαν κανονική κατανομή (έλεγχος με τη δοκιμασία Shapiro-Wilk) σε καμία από τις παραπάνω ομάδες και μετά από τον έλεγχο για ακραίες τιμές (έλεγχος Tukey), χρησιμοποιήθηκε η μη παραμετρική μέθοδος που προτείνεται από τον CLSI για τον καθορισμό των τιμών αναφοράς. Η ανάλυση πολλαπλής παλινδρόμησης έδειξε ότι η ηλικία, το φύλο, η εμμηνοπαυσιακή κατάσταση και η BMD είναι παράγοντες που επηρεάζουν σημαντικά τα επίπεδα της TRACP-5b. Η συσχέτιση κατά Spearman (ρ) μεταξύ των επιπέδων TRACP-5b και της ηλικίας και της BMD ήταν 0,296 και -0,315 ($p < 0,0001$ και στις δύο περιπτώσεις), υποδεικνύοντας ότι τα επίπεδα TRACP αυξάνονται με την ηλικία και ότι υπάρχει αντίστροφη σχέση μεταξύ BMD και TRACP-5b. Τα άτομα με οστεοπενία εμφάνισαν σημαντικά υψηλότερες τιμές TRACP5b σε σύγκριση με εκείνα με φυσιολογική BMD [διάμεσος (25ο, 75ο εκατοστημόριο)] 3,22 U/L (2,71-3,37) έναντι 2,40 U/L (1,95-3,08). Οι μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες εμφάνισαν σημαντικά υψηλότερες τιμές 3,19 U/L (2,63-3,83) σε σύγκριση με τις προ-εμμηνοπαυσιακές 2,19 U/L (1,75-2,68) και τους άνδρες 2,48 U/L (2,07-3,13). Προτείνονται συνεπώς ξεχωριστά διαστήματα αναφοράς για άτομα με φυσιολογική BMD (1,12-4,92 U/L), με οστεοπενία (1,69-6,12 U/L), όπως επίσης και χωριστά για άνδρες (1,15-5,04 U/L), προ-εμμηνοπαυσιακές (0,85-4,24 U/L) και μετ-εμμηνοπαυσιακές γυναίκες (1,29-6,92 U/L).

Συμπεράσματα: Με τη μελέτη αυτή δημιουργήσαμε τιμές αναφοράς για τις συγκεντρώσεις της TRACP5b στον ορό, των ενηλίκων Ελλήνων με χρήση μιας αυτοματοποιημένης ανοσοενζυμικής δοκιμασίας. Τα δεδομένα μας μπορούν να συμβάλουν στην ερμηνεία της οστικής ανακατασκευής στον ενήλικο Ελληνικό πληθυσμό.

REFERENCE INTERVALS FOR SERUM CONCENTRATIONS OF TARTARATE RESISTANT ACID PHOSPHATASE-5b FOR GREEK ADULT POPULATION

Ioulia Trifonidi ^{1,2}, Panagiota Belba ³, Athanasios Mylonas ¹, Christos Croupis ⁴, Pierre Lukas ⁵, Etienne Cavalier ⁵,
Efsthios Chronopoulos ², Konstantinos Makris ^{1,2}

1. Clinical Biochemistry Department, KAT General Hospital, Kifissia, Athens, Greece

*2. Laboratory of Research of Musculoskeletal System “Th. Garofalidis”, KAT General Hospital,
Medical School, University of Athens, Greece*

3. Blood Transfusion Center, KAT General Hospital, Kifissia, Athens, Greece

*4. Department of Clinical Biochemistry, Attikon University General Hospital, Medical School,
University of Athens, Greece*

5. Department of Clinical Chemistry, University of Liege, CHU de Liege, CIRM, Liege, Belgium

ABSTRACT

Background-Objective: Bone turnover markers (BTMs) reflect the metabolic activity of bone tissue and can be used to monitor osteoporosis therapy. Tartrate-resistant acid phosphatase, isoform 5b (TRACP-5b) is a bone resorption marker not influenced by renal function or food intake and can be measured in serum by immunoassays. We aimed to determine reference intervals (RIs) for serum concentrations of TRACP5b for the Greek adult population.

Methods: We collected samples from 431 apparently healthy Greeks (142 men as well as 149 pre- and 140 post-menopausal women), who volunteered to participate in our study. Data on socio-demographic characteristics, medical histories and medications were collected and subjects with conditions or receiving medications that affecting bone metabolism were excluded. Dual-energy x-ray absorptiometry (DXA) used to measure bone mineral density (BMD) in all participants. All blood collections were performed in the morning after overnight fast. Serum TRACP5b concentrations were measured by an automated immunoassay on the ISYS analyzer (Immunodiagnostic

Systems, Boldon, UK). The RIs was defined as the central 95% range. We determined RIs according to CLSI guide C28-A3 and using the MedCalc Software.

Results: The median age of men, pre- and post-menopausal women were 49, 42 and 57 years respectively. DXA results revealed that 342 participants had normal BMD, 79 were osteopenic and 10 had osteoporosis and were excluded from analysis. Since our data were not normally distributed (Shapiro-Wilk test) in any group and after testing for outliers (Tukey test), we used the non-parametric method suggested by the CLSI guide in order to determine the RIs. Multiple regression analysis revealed that age, sex, menopausal status and BMD were factors significantly affecting TRACP-5b levels. Spearman rank correlation (ρ) between TRACP-5b levels and age and BMD was 0.296 and -0.315 ($p < 0.0001$ in both cases) suggesting that TRACP-5b levels increase with age and there is an inverse relationship between BMD and TRACP-5b levels. Subjects with osteopenia exhibited significantly higher values for TRACP-5b compared to those with normal BMD [median(25,75percentiles)] 3.22U/L (2.71-3.37) vs 2.40U/L (1.95-3.08). Post-menopausal women exhibited significantly higher values 3.19U/L (2.63-3.83) compared to pre-menopausal 2.19U/L(1.75-2.68) and men 2.48U/L (2.07-3.13). Separate RIs are calculated and suggested for subjects with normal BMD (1.12-4.92U/L), with osteopenia (1.69-6.12U/L) as well as for men (1.15-5.04 U/L), pre-menopausal (0.85-4.24U/L) and postmenopausal women (1.29-6.92U/L).

Conclusion: We provide RIs for TRACP-5b concentrations in serum for the Greek adult population using an automated immunoassay. Our data may aid to interpret bone turnover in the Greek adult population.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι βιοχημικοί δείκτες οστικού μεταβολισμού έχουν χρησιμοποιηθεί για τη παρακολούθηση των μεταβολικών παθήσεων των οστών και κυρίως της οστεοπόρωσης, όπως και ως δείκτες αποτελεσματικότητας στη διαδικασία ανακάλυψης και ανάπτυξης φαρμάκων. Όσον αφορά στις βελτιώσεις στην κλινική έκβαση των οστικών καταγμάτων και στους φυσιολογικούς δείκτες της οστικής πυκνότητας (BMD) μπορεί να χρειαστούν χρόνια για να καταδειχθούν οι μεταβολές που θα μας δείξουν την αποτελεσματικότητα των θεραπευτικών παρεμβάσεων μας. Είναι λοιπόν επιθυμητό να χρησιμοποιούνται πρώιμοι προγνωστικοί βιοδείκτες που μπορούν να βοηθήσουν στη λήψη αποφάσεων, στην πρόγνωση της θεραπείας των ασθενών, και ακόμη στην ανάπτυξη νέων φαρμάκων.

Για τις θεραπείες που στοχεύουν στην αναστολή της οστικής απορρόφησης, εργαστηριακές δοκιμασίες που μπορούν να μετρήσουν αξιόπιστα την οστική απορρόφηση παρέχουν έναν πρώιμο και χρήσιμο δείκτη σε κλινικές μελέτες. Η TRACP είναι ένας από τους βιοδείκτες οστικής απορρόφησης που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για αυτόν τον σκοπό.

Οι ανθεκτικές στο τρυγικό οξύ όξινης φωσφατάσες (TRACPs) είναι στην πραγματικότητα μια ομάδα μεταλλοενζύμων που καταλύουν την υδρόλυση διαφόρων εστέρων και ανυδριτών φωσφορικού οξέος υπό όξινης συνθήκες αντίδρασης. Λόγω των δεσμευμένων μεταλλικών ιόντων που προσδίδουν έντονο χρώμα σε αυτά τα ένζυμα, είναι επίσης γνωστές ως πορφυρές όξινης φωσφατάσες (PAPs). Η αντοχή στην αναστολή της δράσης τους, από υψηλές συγκεντρώσεις του ανταγωνιστικού αναστολέα L-τρυγικού οξέος διακρίνει τις TRACP από τις όξινης φωσφατάσες λυσοσωμικής ή προστατικής προέλευσης, που απαντώνται σε πολλά κύτταρα και ιστούς θηλαστικών. Η TRACP αποτελείται από δύο ισομορφές, τις 5a και 5b. Τα μακροφάγα και τα δενδριτικά κύτταρα φαίνεται να εκκρίνουν μόνο την TRACP-5a. Η TRACP-5b εκφράζεται σε υψηλό βαθμό από τους οστεοκλάστες που απορροφούν το οστό και εκκρίνεται στην κυκλοφορία του αίματος ως ενεργό ένζυμο.

Υψηλότερη δραστηριότητα της TRACP-5b στο αίμα υποδηλώνει αυξημένο ρυθμό οστικής απορρόφησης σε ασθενείς με πρωτοπαθή οστεοπόρωση και οστική νόσο σε καρκινοπαθείς. Επιπλέον, η TRACP-5b παρουσιάζει χαμηλή ημερήσια διακύμανση, γεγονός που επιτρέπει ευελιξία στον χρόνο λήψης δειγμάτων. Η TRACP-5b έχει αποδειχθεί χρήσιμος βιοδείκτης για την παρακολούθηση της αποτελεσματικότητας θεραπειών που αναστέλλουν την οστική απορρόφηση, όπως η αλενδρονάτη, καθώς και για τη διάγνωση οστικών μεταστάσεων στον καρκίνο.

Μέχρι σήμερα έχουν δημοσιευθεί τρεις μέθοδοι για τη μέτρηση της δραστηριότητας της TRACP-5b. Η μία είναι μια κινητική μέθοδος, η οποία μπορεί να μετρήσει ειδικά την TRACP-5b παρουσία ηπαρίνης, ενός ειδικού αναστολέα της TRACP-5a. Οι άλλες δύο είναι ανοσοενζυμικές δοκιμασίες που συνδυάζουν την ανοσολογική σύνδεση με την ενζυμική δράση της TRACP-5b.

Η μία χρησιμοποιεί το α-ναφθυλοφωσφορικό (α-naphthyl phosphate) ως εκλεκτικό υπόστρωμα για την TRACP-5b, ενώ η άλλη βασίζεται στο βέλτιστο pH της TRACP-5b, το οποίο τη διαφοροποιεί από την TRACP-5a. Η ανοσοδοκιμασία η εκλεκτική ως προς το pH είναι εμπορικά διαθέσιμη και έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως σε κλινικές μελέτες και ιδιαίτερα στην Ιαπωνία. Αποτελεί τον κύριο βιοχημικό δείκτη παρακολούθησης και εκτίμησης της οστικής απορρόφησης, διότι σε αντίθεση με το καρβοξυτελικό τελοπεπτίδιο του κολλαγόνου τύπου I (C-terminal telopeptide of type I collagen, γνωστό και ως β-CTX-I) δεν επηρεάζεται από την λήψη τροφής και από την νεφρική

λειτουργία, με αποτέλεσμα να αποτελεί δυνητικά ένα βιοχημικό δείκτη παρακολούθησης της οστικής απορρόφησης που μπορεί να χρησιμοποιηθεί χωρίς περιορισμούς σε όλα τα μεταβολικά νοσήματα των οστών, ακόμη και της νεφρικής οστικής νόσου. Τέλος η TRACP-5b είναι σταθερή στον ορό σε αντίθεση με το β-CTX-I το οποίο είναι πολύ ασταθές και απαιτεί λήψη σε EDTA πλάσμα και φύλαξη σε πολύ χαμηλές θερμοκρασίες (<-70°C) για να συντηρηθεί σωστά.

Σύμφωνα με αυτά τα χαρακτηριστικά, η TRACP-5b μπορεί να είναι χρήσιμη σε διάφορες κλινικές καταστάσεις, όπως η οστεοπόρωση (είναι ο δείκτης οστικής απορρόφησης που συνιστά η Ιαπωνική Εταιρεία Οστεοπόρωσης) και στην παρακολούθηση του οστικού μεταβολισμού σε ασθενείς με χρόνια νεφρική νόσο (CKD), σε μεταμοσχευμένους ασθενείς και σε αιμοκαθαιρόμενους ασθενείς. Για όλους αυτούς τους λόγους η μέτρηση της TRACP-5b θεωρείται κατάλληλη εναλλακτική μέθοδος για την παρακολούθηση της οστικής απορρόφησης [16].

Σε ασθενείς που υπόκεινται σε αιμοκάθαρση, μια συγκέντρωση TRACP-5b $\leq 4,6$ U/L έχει αποδειχθεί ότι μπορεί να διακρίνει χαμηλό από υψηλό οστικό μεταβολισμό με ευαισθησία 89% και ειδικότητα 71%, ενώ σε ασθενείς σταδίου 4 έως 5D και σε λήπτες νεφρικού μοσχεύματος, η TRACP-5b ήταν ο καλύτερος βιοδείκτης για την πρόβλεψη χαμηλού οστικού μεταβολισμού.

Ιδανικά, οι δοκιμασίες θα πρέπει να μετρούν ειδικά την **άθικτη ενεργή μορφή της TRACP-5b** και όχι τη «**συνολική**» **TRACP-5b** ούτε τις μορφές **TRACP-5a**. Δύο δοκιμασίες με υψηλή ειδικότητα για την ενεργή μορφή της TRACP-5b έχουν αναπτυχθεί και είναι διαθέσιμες στην αγορά. Η πρώτη είναι μια ενζυμική ανοσοδοκιμασία (EIA), που αναπτύχθηκε από τη Nittobo Medical (Τόκιο, Ιαπωνία). Η δεύτερη είναι η δοκιμασία IDS TRACP-5b, διαθέσιμη ως αυτοματοποιημένη ανοσοδοκιμασία στην πλατφόρμα iSYS ή ως ELISA (Immunodiagnostic Systems, Boldon, Ηνωμένο Βασίλειο). Η δοκιμασία Nittobo χρησιμοποιείται ευρέως στην Ιαπωνία, ενώ οι δοκιμασίες IDS χρησιμοποιούνται περισσότερο σε άλλα μέρη του κόσμου. Ωστόσο, οι δύο μέθοδοι έχουν συγκριθεί πρόσφατα και σύμφωνα με την αξιολόγηση τους και οι δύο δοκιμασίες, Nittobo και IDS iSYS, παρέχουν συγκρίσιμα αποτελέσματα. Η εμπορική εργαστηριακή δοκιμασία της ιαπωνικής εταιρείας Nittobo δεν είναι διαθέσιμη στην Ελληνική αγορά. Από την άλλη, η αυτοματοποιημένη μέθοδος της εταιρείας IDS είναι πρόσφατα διαθέσιμη για εφαρμογή στον αυτόματο αναλυτή iSYS της εταιρείας. Στην μελέτη μας χρησιμοποιήσαμε την αυτοματοποιημένη ανοσοενζυμική μέθοδο της εταιρείας IDS για την δημιουργία τιμών αναφοράς στον Ελληνικό πληθυσμό.

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Περιγραφή της αναλυτικής μεθόδου

Τα επίπεδα της TRACP-5b μπορούν να προσδιοριστούν με κινητικές δοκιμασίες που έχουν αναπτυχθεί για την ειδική μέτρηση της ισομορφής 5b στον ορό. Ωστόσο, οι κινητικές δοκιμασίες για την TRACP-5b είναι ευαίσθητες στην αιμόλυση και ενδέχεται να στερούνται ειδικότητας, καθώς δεν έχουν την ικανότητα διακρίνουν μεταξύ των ισομορφών 5a και 5b. Για τον λόγο αυτό, έχουν αναπτυχθεί αρκετές ανοσοενζυμικές δοκιμασίες για την ποσοτικοποίηση των ισομορφών, με ειδικότητα προς την TRACP-5b και ανθεκτικότητα στην αιμόλυση. Σε αυτές τις δοκιμασίες, το pH είναι 6,1, όπου η δραστηριότητα της TRACP-5b είναι σχεδόν βέλτιστη, ενώ της TRACP-5a είναι ελάχιστη. Οι διαθέσιμες δοκιμασίες για την TRACP5b παρουσιάζονται στον Πίνακα 1.

Πίνακας 1. Αναλυτικά χαρακτηριστικά εμπορικών μεθόδων μέτρησης της TRACP-5b

Assay name/ manufacturer	Assay method	Limit of detection (U/L)/recovery (%)	Measuring range	Precision
Bone TRAP Finland	Manual ELISA, mAb, pH 6.1	0.06 U/L/ 96.6 ± 2.7%	-	Inter CV: 6.9% Intra CV: 3.2%
BoneTRAP® IDS	Manual ELISA, mAb, pH 6.1	1.3 U/L	1.0-10.0 U/L	Inter CV: 6.9% Intra CV: 3.2%
BoneTRAP® iSYS-IDS	Automated, mAb, pH 6.1	≤0.6 U/L	0.9-14.0 U/L	Inter CV: 5.0-13.6%
TRACP5b Nittobo Medical Co., Ltd	Manual ELISA, mAb, pH 6.4-6.6	0.02 U/L/ 91.5%	0.1-15.0 U/L	Inter CV: 4.3-8.3% Intra CV: 3.4-5.0%

Οι τρεις από αυτές είναι χειροκίνητες δοκιμασίες (Bone TRAP Finland, Bone TRAP IDS, TRACO5b Nittobo), και μία είναι αυτοματοποιημένη δοκιμασία (IDS-iSYS). Όλες αναφέρουν ότι μετρούν το ισόενζυμο 5b της TRACP.

Η δοκιμασία της εταιρείας Nitto bo διαφοροποιείται από τις άλλες στο ότι είναι μια ενζυμική ανοσοδοκιμασία ανοσοσύλληψης θραυσμάτων, η οποία χρησιμοποιεί δύο μονοκλωνικά αντισώματα (αντισώματα έναντι της ενεργής TRACP-5b και της ανενεργής TRACP-5b), επιτρέποντας την ιδιαίτερα ειδική μέτρηση της TRACP-5b χωρίς διασταυρούμενη αντίδραση με την TRACP-5a. Η εταιρεία ισχυρίζεται ότι η εξάλειψη των θραυσμάτων με την χρήση αυτού του ειδικού αντισώματος αυξάνει την ειδικότητα και την γραμμικότητα της μεθόδου, διότι τα αδρανή θραύσματα αποτελούν το 90% των μορίων της TRACP-5b που ανιχνεύονται στην κυκλοφορία, και με τη χρήση του αντισώματος αυτού απομακρύνονται, δίνοντας την δυνατότητα ακριβέστερης ποσοτικοποίησης της ενεργής TRACP-5b που βρίσκεται σε μικρότερες συγκεντρώσεις. Η δοκιμασία Nitto bo χρησιμοποιεί ως υπόστρωμα το 2-χλωρο-4-νιτροφαινυλοφωσφορικό (CNPP), το οποίο είναι ιδιαίτερα ειδικό για την TRACP-5b και το pH είναι μεταξύ 6,4 και 6,6. Το εύρος μέτρησης της μεθόδου είναι από 0,1 έως 15,0 U/L. Το όριο ανίχνευσης (LoD) έχει καθοριστεί από τον κατασκευαστή στα 0,1 U/L. Σε ιαπωνικό πληθυσμό, οι αναμενόμενες συγκεντρώσεις είναι 1,7–5,9 U/L στους άνδρες και 1,2–4,2 U/L στις γυναίκες.

Η δοκιμασία IDS iSYS TRAcP-5b (BoneTRAP®) που χρησιμοποιήσαμε στη μελέτη μας είναι μια αυτοματοποιημένη ανοσοενζυμική δοκιμασία που χρησιμοποιεί μαγνητικά σφαιρίδια για τη σύλληψη και των δύο ισομορφών TRACP-5 (της a και της b) μέσω ενός βιοτινυλιωμένου μονοκλωνικού αντισώματος. Η ειδικότητα της μεθόδου για την TRACP-5b επιτυγχάνεται με τη μέτρηση της ενζυμικής δραστηριότητας της ισομορφής χρησιμοποιώντας υπόστρωμα στο βέλτιστο pH=6,1 ειδικά για τον τύπο 5b. Η δοκιμασία IDS χρησιμοποιεί ως υπόστρωμα το p-νιτροφαινυλοφωσφορικό (pNPP). Το εύρος μέτρησης της μεθόδου είναι από 0,9 έως 14,0 U/L. Το όριο ανίχνευσης (LoD) και το όριο ποσοτικοποίησης (LoQ) έχουν καθοριστεί από τον κατασκευαστή σε $\leq 0,6$ U/L και $\leq 0,9$ U/L αντίστοιχα. Η συνολική ανακρίβεια (total error) της μεθόδου κυμαίνεται από 13,6% στο επίπεδο των 1,7 U/L έως 5,0% στο επίπεδο των 12,0 U/L. Τέλος, σύμφωνα πάντα με τον κατασκευαστή οι αναμενόμενες τιμές αναφοράς είναι 1,4–6,1 U/L στους άνδρες, 1,2–4,8 U/L στις προ-εμμηνοπαυσιακές γυναίκες και 1,1–6,9 U/L στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες.

Περιγραφή του πληθυσμού της μελέτης μας

Η προσέλευση και επιλογή των εθελοντών που συμμετείχαν στη μελέτη μας πραγματοποιήθηκε στην Ελλάδα, στο Γενικό Νοσοκομείο ΚΑΤ, ενώ οι μετρήσεις των βιοχημικών παραμέτρων των δειγμάτων πραγματοποιήθηκαν στο Τμήμα Κλινικής Βιοχημείας του ίδιου Νοσοκομείου καθώς και στο Τμήμα Κλινικής Χημείας του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου της Λιέγης του Βελγίου (CHU de Liège).

Η μελέτη εγκρίθηκε από την ηθική και επιστημονική επιτροπή του Γενικού Νοσοκομείου ΚΑΤ και διεξήχθη σύμφωνα με τη Διακήρυξη του Ελσίνκι, όπως αυτή αναθεωρήθηκε το 1983.

Όλοι οι συμμετέχοντες υπέγραψαν γραπτή συγκατάθεση ότι είχαν ενημερωθεί για τους σκοπούς της μελέτης πριν ενταχθούν σε αυτήν και συμπλήρωσαν λεπτομερές ερωτηματολόγιο σχετικά με την κατάσταση της υγείας τους. Υποβλήθηκαν επίσης σε γενική κλινική εξέταση, η οποία περιλάμβανε σειρά αντικειμενικών αξιολογήσεων και εξετάσεων. Συλλέχθηκαν δημογραφικά δεδομένα, όπως ηλικία, φύλο, εθνικότητα και τρέχουσα φαρμακευτική αγωγή. Μετρήθηκαν το βάρος και το ύψος και υπολογίστηκε ο δείκτης μάζας σώματος (BMI) για όλους τους συμμετέχοντες. Οι αιμοληψίες και οι εξετάσεις πραγματοποιήθηκαν από εκπαιδευμένο προσωπικό στο κέντρο μας στην Αθήνα. Η στρατολόγηση των συμμετεχόντων πραγματοποιήθηκε μεταξύ Σεπτεμβρίου 2022 και Δεκεμβρίου 2023. Όλοι οι συμμετέχοντες ήταν Καυκάσιοι (λευκοί) που διέμεναν στην Ελλάδα (η πλειονότητα ήταν Έλληνες και μόνο μια μικρή μειοψηφία προερχόταν από την περιοχή των Βαλκανίων).

Μέτρηση οστικής πυκνότητας (BMD)

Η οστική πυκνότητα μετρήθηκε στο ισχίο με τη μέθοδο απορρόφησης ακτίνων Χ διπλής ενέργειας (DXA) με συσκευή Lunar σε όλους τους συμμετέχοντες. Υπολογίστηκαν οι δείκτες Z και T σύμφωνα με τα ακόλουθα ηλικιακά κριτήρια:

1. Για ηλικίες < 50 ετών υπολογίστηκε ο δείκτης Z. Τιμή Z-score < -2,0 θεωρήθηκε οστεοπενία, ενώ Z-score > -2,0 θεωρήθηκε φυσιολογική οστική πυκνότητα.
2. Για ηλικίες > 50 ετών υπολογίστηκε ο δείκτης T. Τιμή T-score $\geq -1,0$ θεωρήθηκε φυσιολογική, τιμή μεταξύ -1,0 και -2,49 χαρακτηρίστηκε ως οστεοπενία και τιμή $\leq -2,5$ ως οστεοπόρωση.

Ορισμός εμμηνοπαυσιακής κατάστασης:

Οι γυναίκες κατηγοριοποιήθηκαν σε προ-εμμηνοπαυσιακές και μετ-εμμηνοπαυσιακές. Γυναίκες με κανονικό έμμηνο κύκλο θεωρήθηκαν προ-εμμηνοπαυσιακές. Γυναίκες άνω των 40 ετών χωρίς έμμηνο ρύση για 12 μήνες θεωρήθηκαν μετ-εμμηνοπαυσιακές. Ο ορισμός της περι-εμμηνοπαύσεως έγινε με βάση τη μέτρηση της FSH (τιμή FSH >30 mIU/mL χρησιμοποιήθηκε για την κατάταξη στη μετ-εμμηνοπαυσιακή ομάδα).

Κριτήρια επιλογής-αποκλεισμού

Όλοι οι συμμετέχοντες έπρεπε να είναι γενικά υγιείς. Αποκλείστηκαν άτομα που:

- Λάμβαναν θεραπεία για οστεοπόρωση ή είχαν διάγνωση μεταβολικής οστικής νόσου
- Είχαν ενδοκρινικές/μεταβολικές διαταραχές που επηρεάζουν τη βιταμίνη D ή τον οστικό μεταβολισμό
- Παρουσίαζαν διαταραχές του ασβεστίου ή του φωσφόρου (υπο-ασβεστιαμία, υπερ-ασβεστιαμία, κ.λπ.)

- Είχαν υποστεί κάταγμα τους τελευταίους 12 μήνες ή παθολογικό κάταγμα
- Είχαν υποβληθεί σε χειρουργείο ή μετάγγιση αίματος τους τελευταίους 12 μήνες
- Έπασχαν από χρόνια νεφρική νόσο (eGFR <60 mL/min)
- Έπασχαν από σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 ή 2
- Είχαν ρευματικά νοσήματα ή κακοήθεια (ενεργή ή στο ιστορικό)
- Είχαν ιστορικό ηπατικής νόσου
- Λάμβαναν φάρμακα που επηρεάζουν τον οστικό μεταβολισμό (κορτικοστεροειδή, διφωσφονικά, κ.ά.)
- Ήταν μετ-εμμηνοπαυσιακές γυναίκες υπό ορμονική θεραπεία ή προ-εμμηνοπαυσιακές που λάμβαναν αντισυλληπτικά
- Λάμβαναν ηπαρίνη, αντιανδρογόνα ή αναστολείς αρωματάσης
- Είχαν υπερπαραθυρεοειδισμό (PTH >120 pg/mL) ή υπερθυρεοειδισμό
- Ήταν έγκυες ή θήλαζαν
- Είχαν πρώιμη εμμηνόπαυση (<40 ετών)
- Είχαν υπερδοσολογία βιταμίνης D ή λάμβαναν υψηλές δόσεις (>1200 IU/ημέρα)

Συλλογή και επεξεργασία δειγμάτων

Η συλλογή και επεξεργασία των δειγμάτων βασίστηκε σε προκαθορισμένα πρότυπα και οδηγίες (CLSI EP28-A3C:2010), καθώς και στις προαναλυτικές απαιτήσεις των βιοδεικτών που μελετήθηκαν. Η αιμοληψία πραγματοποιήθηκε το πρωί (08:00–10:00), μετά από ολονύκτια νηστεία. Συλλέχθηκε φλεβικό αίμα σε σωληνάρια ορού (SST) και σωληνάρια K₃EDTA (Becton Dickinson) για την απομόνωση ορού και πλάσματος αντίστοιχα. Τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν και εντός 1 ώρας από τη συλλογή προετοιμάστηκαν aliquots των 0,5 mL σε κρυοφιαλίδια Sarstedt από πολυπροπυλένιο. Τα κρυοφιαλίδια αποθηκεύτηκαν άμεσα σε βαθιά κατάψυξη στους -80°C. Αιμολυμένα δείγματα απορρίφθηκαν.

Εργαστηριακές μετρήσεις

Οι TRACP5b, β-CTX-I, BALP, intact PINP (iPINP) καθώς και η 25(OH)D μετρήθηκαν με τη μέθοδο της χημειοφωταύγειας και τις εμπορικά διαθέσιμες αυτοματοποιημένες δοκιμασίες της εταιρείας IDS (Immunodiagnostic Systems plc, Boldon, UK) στον αυτόματο αναλυτή της εταιρείας iSYS Multi-Discipline Automated System. Η PTH μετρήθηκε με μια δεύτερης γενεάς μέθοδο η οποία βασίζεται στην ηλεκτρο-χημειοφωταύγεια (ECLIA) με εμπορικά διαθέσιμα αντιδραστήρια της εταιρείας Roche (Roche Diagnostics, GmbH, Germany) στον αυτόματο αναλυτή της εταιρείας Cobas e411. Το ασβέστιο, το μαγνήσιο, και ο φώσφορος μετρήθηκαν με τις εμπορικά διαθέσιμες φωτομετρικές βιοχημικές μεθόδους της εταιρείας ABBOTT στον αυτόματο αναλυτή Alinity-c

clinical chemistry analyzer (Abbott Laboratories, Chicago IL, USA). Η κρεατινίνη μετρήθηκε με την μέθοδο Jaffe της εταιρείας ABBOTT στον ίδιο αναλυτή. Η μέθοδος αυτή είναι ανιχνεύσιμη στην μέθοδο αναφοράς, isotope dilution mass spectrometry (ID-MS). Τέλος ο υπολογισμός του ρυθμού σπειραματικής διήθησης (eGFR) έγινε με τη χρήση της εξίσωσης του European Kidney Function Consortium (EKFC).

Στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων

Για τις κανονικά κατανεμημένες μεταβλητές παρουσιάζονται ο μέσος όρος και η τυπική απόκλιση (SD), ενώ οι συνεχείς μεταβλητές με ασύμμετρη κατανομή εκφράζονται ως διάμεσοι και ενδοτεταρτημοριακά εύρη (p25–p75). Για τις κατηγορικές μεταβλητές παρουσιάζονται ο αριθμός και τα ποσοστά (%).

Η δοκιμασία Shapiro–Wilk χρησιμοποιήθηκε για τον έλεγχο της κανονικότητας της κατανομής. Για τη διερεύνηση διαφορών μεταξύ ομάδων χρησιμοποιήθηκαν το t-test ή η ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) για κανονικά κατανεμημένες μεταβλητές, και τα μη παραμετρικά τεστ Mann–Whitney ή Kruskal–Wallis για μεταβλητές με ασύμμετρη κατανομή.

Οι τιμές αναφοράς (reference interval ή φυσιολογικό εύρος) για την TRACP-5b καθορίστηκαν ως το διάστημα στο οποίο βρίσκεται στο κεντρικό διάστημα της κατανομής το οποίο περιλαμβάνει το 95% των τιμών του πληθυσμού μας. Για ένα αμφίπλευρο διάστημα αναφοράς, όπου τόσο οι χαμηλές όσο και οι υψηλές τιμές θεωρούνται ύποπτες, υπολογίστηκαν δύο όρια τιμών αναφοράς: ένα κατώτερο όριο (με το 2,5% των υγιών ατόμων κάτω από αυτό) και ένα ανώτερο όριο (με το 2,5% των ατόμων πάνω από αυτό). Όπως συνιστάται και από τις οδηγίες CLSI C28-A3 υπολογίστηκε και ένα διάστημα εμπιστοσύνης 90% για κάθε όριο. Για τον υπολογισμό του διαστήματος αναφοράς χρησιμοποιήθηκαν τρεις μέθοδοι:

1. η μέθοδος της κανονικής κατανομής. Στη μέθοδο αυτή υπολογίζονται ο μέσος όρος, η διακύμανση και η τυπική απόκλιση των δεδομένων. Για ένα αμφίπλευρο διάστημα αναφοράς, τα όρια υπολογίζονται βάσει αυτών των παραμέτρων. Το διάστημα εμπιστοσύνης 90% για κάθε όριο υπολογίζεται σύμφωνα με τον Bland (2000). Η μέθοδος αυτή προϋποθέτει ότι τα δεδομένα ακολουθούν κανονική κατανομή, ενδεχομένως μετά από λογαριθμικό ή μετασχηματισμό Box-Cox. Δεν απαιτείται συγκεκριμένο ελάχιστο μέγεθος δείγματος, ωστόσο το συνιστώμενο είναι τουλάχιστον 40 άτομα.(1)
2. η μη παραμετρική μέθοδος των εκατοστημορίων (percentiles). Στη μέθοδο αυτή, τα φυσιολογικά όρια ορίζονται ως το 2,5ο και το 97,5ο εκατοστημόριο για αμφίπλευρο διάστημα. Σύμφωνα με τις οδηγίες CLSI, τα διαστήματα εμπιστοσύνης 90% υπολογίζονται με τη μέθοδο των Reed et al. (1971). Για την εφαρμογή της μεθόδου απαιτείται ελάχιστο μέγεθος δείγματος 120 ατόμων (CLSI, 2008), και τέλος

προαιρετικά με τη robust μέθοδο, όπως περιγράφεται στις οδηγίες CLSI C28-A3. Ο υπολογισμός του διαστήματος αναφοράς με τη robust μέθοδο (Horn & Pesce, 2005) βασίζεται σε επαναληπτική διαδικασία. Η αρχική κεντρική τιμή εκτιμάται με τη διάμεσο και η διασπορά με τη διάμεσο απόλυτη απόκλιση (MAD). Κατά την επαναληπτική διαδικασία, οι παρατηρήσεις σταθμίζονται ανάλογα με την απόστασή τους από την κεντρική τάση. Σε κάθε επανάληψη υπολογίζεται μια νέα εκτίμηση της κεντρικής τιμής, έως ότου η μεταβολή μεταξύ διαδοχικών επαναλήψεων γίνει αμελητέα. Στη συνέχεια υπολογίζονται σταθμισμένοι εκτιμητές διασποράς για τον προσδιορισμό των ορίων αναφοράς. Τα διαστήματα εμπιστοσύνης 90% για τα όρια αναφοράς εκτιμώνται με τη μέθοδο bootstrap (percentile interval method, Efron & Tibshirani, 1993). Η robust μέθοδος χρησιμοποιήθηκε ως εναλλακτική της μεθόδου εκατοστημορίων όταν το μέγεθος δείγματος ήταν μικρότερο από 120. Ο έλεγχος του πληθυσμού μας για ακραίες τιμές (outliers) έγινε με την χρήση της δοκιμασίας Tukey (1977).

Για όλες τις στατιστικές αναλύσεις χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό MedCalc (Mariakerke, Βέλγιο).

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Ο **Πίνακας 2** συνοψίζει τα βασικά χαρακτηριστικά και των 431 ατόμων που συμμετείχαν στη μελέτη μας, χωρισμένα σε τρεις ομάδες εκ των οποίων, η πρώτη ομάδα αποτελείται από 142 άνδρες, η δεύτερη από 149 προ-εμμηνοπαυσιακές γυναίκες και η τρίτη από 140 μετ-εμμηνοπαυσιακές γυναίκες.

Ο **Πίνακας 3** συνοψίζει τα βασικά χαρακτηριστικά και των 431 ατόμων που συμμετείχαν στη μελέτη μας, χωρισμένα σε τρεις ομάδες οι οποίες αποτελούνται, η πρώτη ομάδα από 342 άτομα (άνδρες και γυναίκες) με φυσιολογική οστική πυκνότητα, η δεύτερη από 79 άτομα (άνδρες και γυναίκες) με οστεοπενία και η τρίτη από 10 με οστεοπόρωση (9 γυναίκες και ένας άνδρας)

Στην **Εικόνα 1** φαίνεται ότι η κατανομή των τιμών της TRACP5b σε ολόκληρο τον πληθυσμό της μελέτης μας είναι θετικά ασύμμετρη με τις τιμές να συγκεντρώνονται προς τα αριστερά (δηλαδή στο χαμηλότερο άκρο της κλίμακας) και την "ουρά" να εκτείνεται προς τα δεξιά (positively skewed distribution). Η δοκιμασία Shapiro–Wilk έδειξε ότι η κατανομή των τιμών στο σύνολο του πληθυσμού αλλά και στις υποομάδες (άνδρες προ-εμμηνοπαυσιακές μετ-εμμηνοπαυσιακές γυναίκες) δεν είναι κανονική. Το ίδιο ισχύει και για τις υποομάδες που δημιουργούνται με βάση την οστική πυκνότητα (άτομα με φυσιολογική οστική πυκνότητα, άτομα με οστεοπενία και άτομα με οστεοπόρωση).

Πίνακας 2. Βασικά κλινικά και εργαστηριακά χαρακτηριστικά των τριών ομάδων των συμμετεχόντων στη μελέτη (χωρισμένες σε άνδρες, προ-εμμηνοπαυσιακές γυναίκες και μετ-εμμηνοπαυσιακές γυναίκες)

	Άνδρες	Προεμμηνοπαυσιακές Γυναίκες	Μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες	p-value(*)
N	142	149	140	
Ηλικία (έτη)	49.0 [42.0-60.0]	42.0 [36.8-46.0]	57.0 [53.0-63.0]	P<0.0001
BMI (kg/m ²)	27.42 [24.82-29.07]	23.44 [21.28-26.82]	25.97 [23.23-28.70]	P<0.0001
BMD (g/cm ²), total-Hip	1.033 (0.145)	0.982 (0.124)	0.899 (0.118)	P<0.001
Z-score	-0.391 (1.011)	-0.208 (0.906)	-0.260 (0.578)	P=0.410
T-score	-0.314 (1.152)	0.209 (1.072)	-0.862 (0.992)	P<0.001
Φυσιολογική Οστική πυκνότητα / Οστεοπενία / Οστεοπόρωση	120/21/1	146/3/0	76/55/9	
EKFC-eGFR	95.50 [85.87, 104.59]	100.39 [94.42, 105.93]	85.55 [78.74, 92.18]	P<0.001
Ασβέστιο mg/dL	9.5 [9.3-9.8]	9.3 [9.1-9.5]	9.5 [9.3-9.7]	P<0.0001
Φωσφορικά (mg/dL)	3.27 (0.50)	3.49 (0.45)	3.57 (0.44)	P<0.001
Μαγνήσιο (mg/dL)	2.0 [1.9-2.1]	2.0 [1.9-2.1]	2.1 [2.0-2.2]	
PTH (pg/mL) (2nd gen)	40.8 [31.7-54.0]	38.4 [30.4-49.7]	45.1 [37.7- 62.3]	P<0.0001
25(OH)D (ng/mL)	26.5 (9.31)	26.5 (7.78)	27.8 (8.47)	P=0.369
β-CTX-I (pg/mL)	371 [288-503]	313 [240-421]	469 [349-600]	P<0.0001
OCN (ng/mL)	17.25 [13.60-22.00]	16.5 [12.50-20.43]	18.5 [14.95-27.05]	P<0.0001
BALP (μg/L)	13.57 [10.51-16.78]	10.90 [9.11-14.19]	16.32 [12.78-20.46]	P<0.0001
intact-PINP (ng/mL)	54.55 [43.20-66.80]	48.70 [39.03-62.90]	63.25 [50.55-79.90]	P<0.0001
TRACP5b (U/L)	2.48 [2.07-3.13]	2.19 [1.75-2.68]	3.19 [2.63-3.83]	P<0.0001

BMI = Δείκτης μάζας σώματος εκφράζεται σε kg/m²

BMD = Οστική πυκνότητα εκφράζεται σε g/cm²

EKFC-eGFR = European Kidney Function Consortium-eGFR

eGFR = εκτιμώμενος δείκτης σπειραματικής διήθησης

Πίνακας 3. Βασικά κλινικά και εργαστηριακά χαρακτηριστικά των τριών ομάδων των συμμετεχόντων στη μελέτη (χωρισμένες σε άτομα με φυσιολογική οστική πυκνότητα, άτομα με οστεοπενία και άτομα με οστεοπόρωση ανεξάρτητα από το φύλο)

	Φυσιολογική οστική πυκνότητα	Οστεοπενία	Οστεοπόρωση	p-value(*)
N	342	79	10	
Ηλικία (έτη)	47.2 (11.02)	58.8 (8.61)	59.2 (4.58)	P<0.001
BMI	26.01 [22.86, 28.76]	25.51 [22.79, 27.04]	23.19 [21.50, 26.49]	P = 0.188
BMD (g/cm ²), total-Hip	1.009 [0.930, 1.090]	0.833 [0.799, 0.862]	0.687 [0.658, 0.702]	P<0.0001
Z-score	-0.204 (0.864)	-2.214 (0.495)	ΔΕ(*)	P<0.0001
T-score	-0.100 [-0.500, 0.500]	-1.400 [-1.650, 1.250]	-2.750 [-2.800, -2.600]	P<0.0001
	120/146/76	21/3/55	1/0/9	
EKFC-eGFR	95.53 (11.07)	84.20 (11.93)	83.03 (9.89)	P<0.001
Ασβέστιο mg/dL	9.42 (0.41)	9.50 (0.35)	9.66 (0.25)	P=0.050
Φωσφορικά (mg/dL)	3.43 (0.47)	3.49 (0.53)	3.59 (0.41)	P=0.356
Μαγνήσιο (mg/dL)	2.1 [2.0-2.2]	2.1 [2.0-2.2]	2.0 [2.0, 2.1]	P=0.310
Ολική αλκαλική φωσφατάση (U/L)	57 [47-71]	65 [55-77]	61 [51, 59]	P=0.001
PTH (pg/mL) (2nd gen)	40.80 [32.10, 53.10]	45.10 [37.75, 61.48]	44.40 [37.10-60.90]	P<0.05
25(OH)D (ng/mL)	26.86 (8.49)	26.72 (8.65)	30.59 (8.43)	P=0.423
β-CTX-I (pg/mL)	357 [266, 485]	476 [344, 610]	491 [386, 575]	P=0.0001
intact-PINP (ng/mL)	52.35 [43.00, 69.00]	62.90 [49.65, 83.60]	66.85 [59.70, 74.80]	P=0.0001
OCN (ng/mL)	16.9 [13.5, 21.0]	20.0 [15.1, 27.1]	24.46 [13.30, 35.60]	P=0.003
BALP (μg/L)	12.77 [10.06, 16.13]	16.27 [12.73, 20.10]	15.23 [11.98, 17.73]	P<0.0001
TRACP5b (U/L)	2.41 [1.95, 3.08]	3.22 [2.71, 3.77]	3.48 [2.65, 4.76]	P<0.0001

(*) ΔΕ= δεν εφαρμόζεται, όλα τα άτομα με οστεοπόρωση είναι άνω των 50ετών και υπολογίζεται μόνο το Z-score

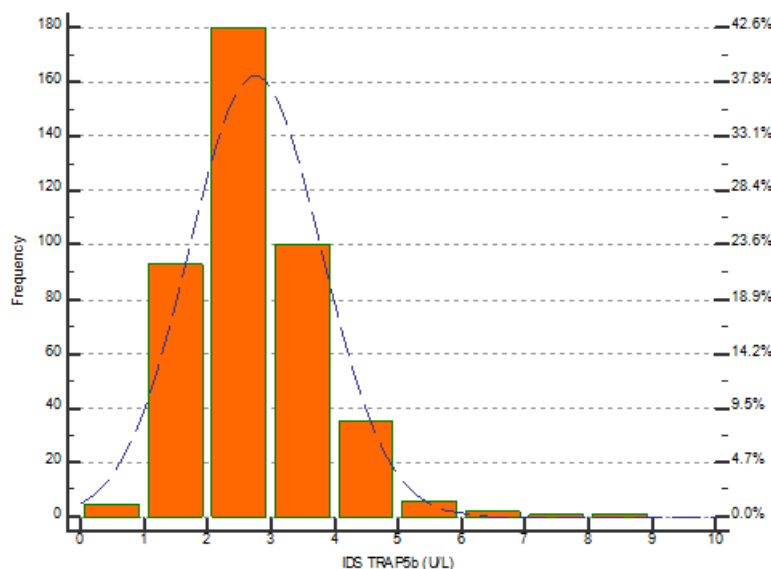
BMI = Δείκτης μάζας σώματος εκφράζεται σε kg/m²

BMD = Οστική πυκνότητα εκφράζεται σε g/cm²

EKFC-eGFR = European Kidney Function Consortium-eGFR

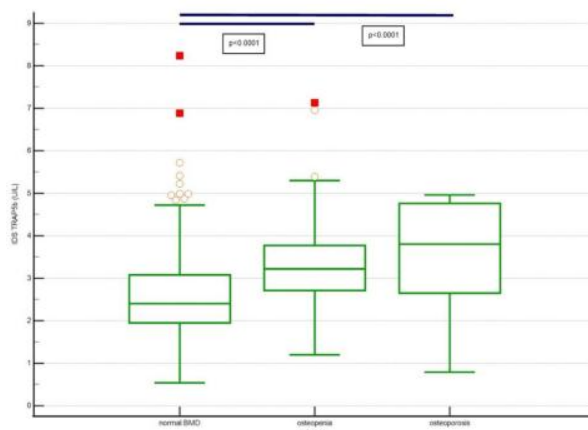
eGFR = εκτιμώμενος δείκτης σπειραματικής διήθησης

Εικόνα 1. Κατανομή των τιμών της TRACP5b στον πληθυσμό μας

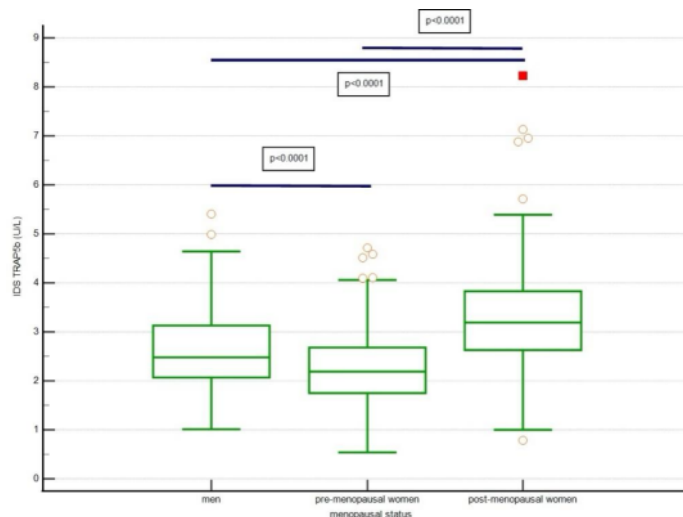


Για τη διερεύνηση διαφορών μεταξύ των υπο-ομάδων χρησιμοποιήθηκαν τα μη παραμετρικά τεστ Mann–Whitney ή Kruskal–Wallis, τα οποία έδειξαν ότι οι τιμές της TRACP-5b είναι σημαντικά χαμηλότερες στα άτομα με φυσιολογική οστική πυκνότητα σε σύγκριση με τα άτομα με οστεοπενία ή και οστεοπόρωση (Εικόνα 2). Το ίδιο ισχύει και για τις προ-εμμηνοπαυσιακές γυναίκες σε σχέση με τις μετ-εμμηνοπαυσιακές γυναίκες και στους άνδρες σε σχέση με τις γυναίκες (προ και μετα εμμηνοπαυσιακές) (Εικόνα 3)

Εικόνα 2. Τα άτομα με φυσιολογική οστική πυκνότητα παρουσιάζουν σημαντικά χαμηλότερες τιμές σε σχέση με τα άτομα που παρουσιάζουν οστεοπενία ή και οστεοπόρωση



Εικόνα-3. Τα άτομα με φυσιολογική οστική πυκνότητα παρουσιάζουν σημαντικά χαμηλότερες τιμές σε σχέση με τα άτομα που παρουσιάζουν οστεοπενία ή και οστεοπόρωση



Η ανάλυση πολλαπλής παλινδρόμησης (multiple regression analysis) έδειξε ότι παράγοντες όπως η ηλικία, το φύλο, η οστική πυκνότητα και η εμμηνόπαυση, είναι στατιστικά σημαντικοί παράγοντες που επηρεάζουν σημαντικά τις τιμές της TRACP-5b (Πίνακας 4).

Πίνακας 4. Αποτελέσματα ανάλυσης πολλαπλής παλινδρόμησης για την διερεύνηση διαφορετικών πηγών μεταβλητότητας στις τιμές της TRACP-5b

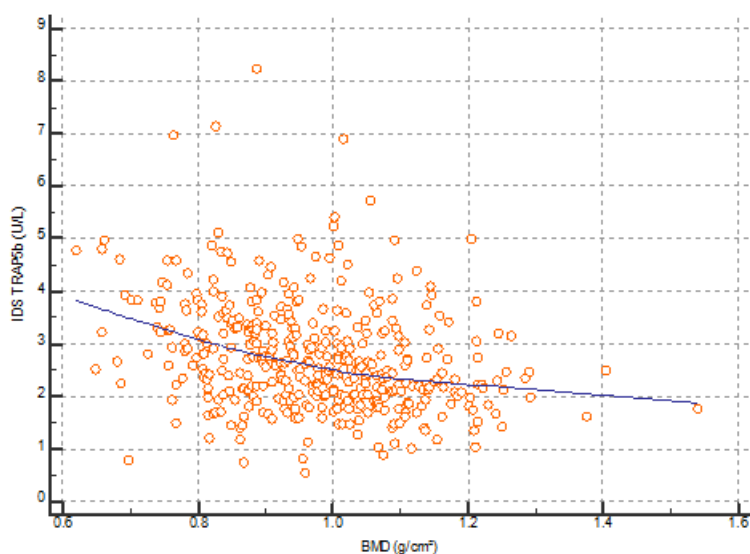
Ανεξάρτητη μεταβλητή	R	Std. Error	95% CI	P
Εμμηνόπαυση/Φύλο	0.1558	0.06566	0.02673 to 0.2849	0.0181
Ηλικία	0.0187	0.004922	0.009046 to 0.02840	0.0002
BMI	-0.0154	0.01240	-0.03982 to 0.008947	0.2140
BMD_g_cm ² _	-1.0512	0.4720	-1.9791 to -0.1234	0.0265

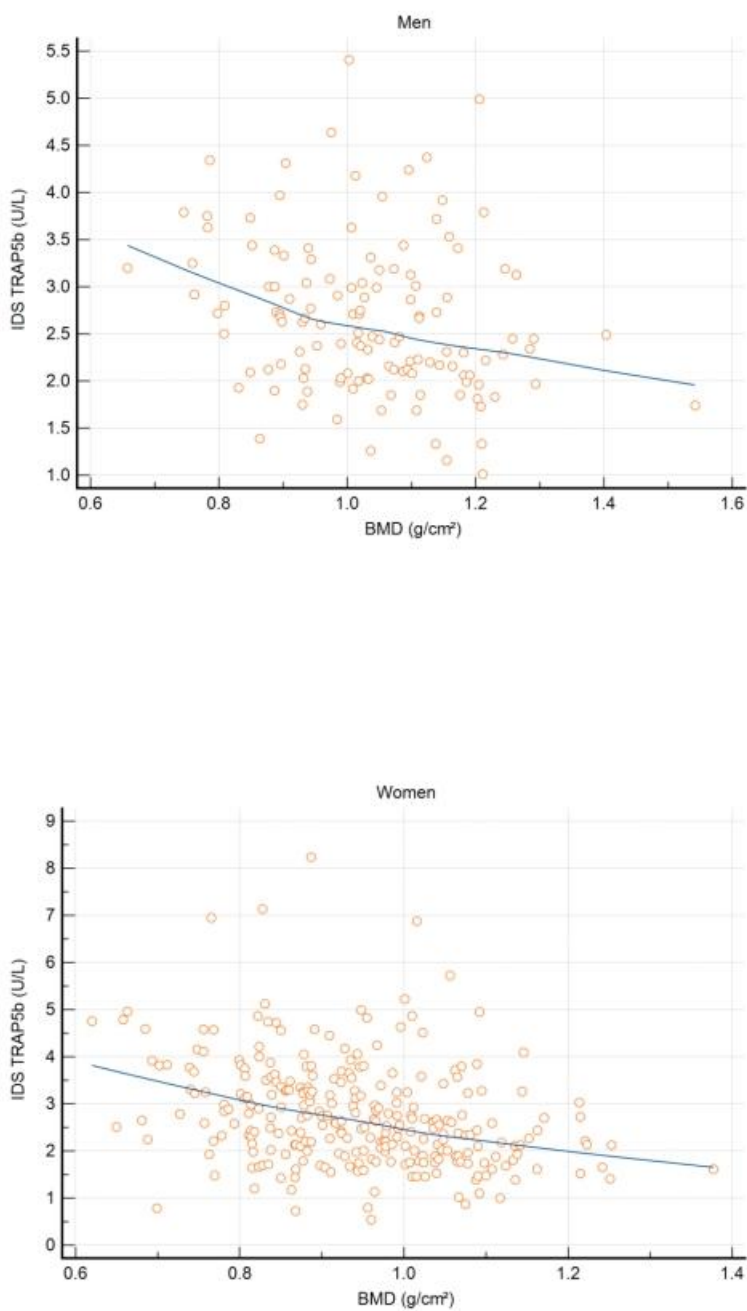
R= συντελεστής συσχέτισης, BMI=Δείκτης Μάζας Σώματος BMD= Οστική πυκνότητα

Αυτό επιβεβαιώθηκε και από τον υπολογισμό του συντελεστή συσχέτισης Spearman (Rho), ο οποίος χρησιμοποιήθηκε για να εκτιμηθεί ο βαθμός της συσχέτισης ανάμεσα στις μεταβλητές TRACP-5b, οστική πυκνότητα και ηλικία. Η συσχέτιση έδειξε ότι η TRACP-5b μειώνεται σημαντικά όσο αυξάνεται η οστική πυκνότητα (εικόνα-4) [Spearman's coefficient of rank correlation

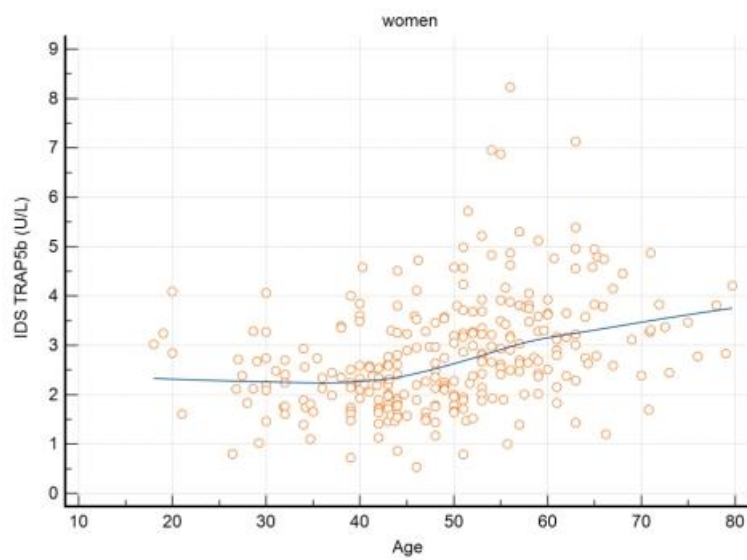
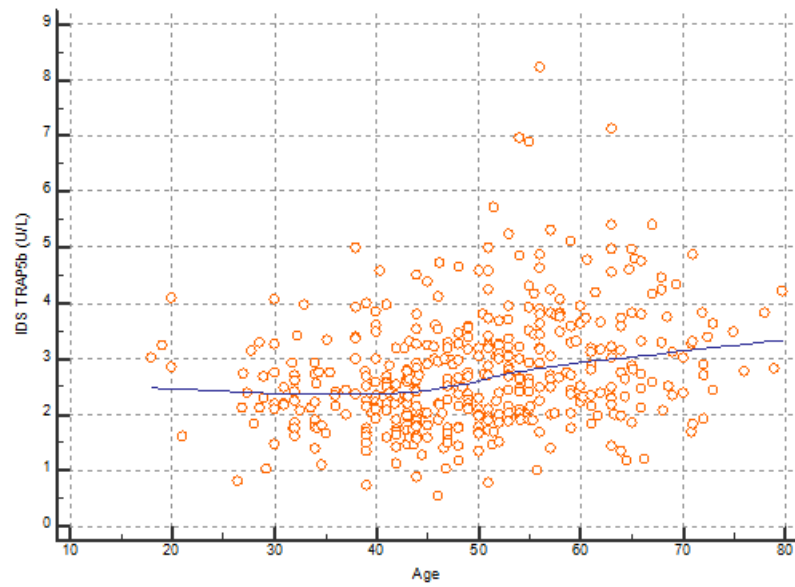
$Rho = -0.315$ $p < 0.0001$], και αυτή η συσχέτιση παρουσιάζεται εξίσου σημαντική και στους άνδρες [Spearman's coefficient of rank correlation $Rho = -0.249$ $p = 0.004$] και στις γυναίκες [Spearman's coefficient of rank correlation $Rho = -0.342$ $p < 0.0001$] αυξάνεται με την ηλικία [Spearman's coefficient of rank correlation $Rho = 0.295$ $p < 0.0001$] (Εικόνα 5). Η θετική συσχέτιση παρατηρείται μόνο στις γυναίκες [Spearman's coefficient of rank correlation $Rho = 0.362$ $p < 0.0001$] και όχι στους άνδρες [Spearman's coefficient of rank correlation $Rho = 0.064$ $p = 0.454$].

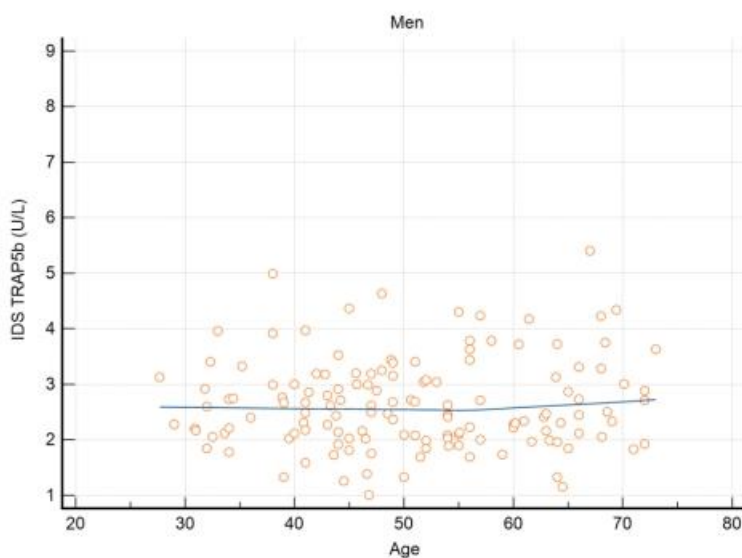
Εικόνα 4. Συσχέτιση των τιμών της TRACP-5b με την οστική πυκνότητα στο σύνολο του πληθυσμού μας και ξεχωριστά σε άνδρες και γυναίκες





Εικόνα 5. Συσχέτιση των τιμών της TRACP-5b με την ηλικία στο σύνολο του πληθυσμού μας και σε άνδρες και γυναίκες χωριστά





Τα παραπάνω δεδομένα μας υποδεικνύουν ότι ο υπολογισμός των τιμών αναφοράς πρέπει να λάβει υπόψη τους ακόλουθους παράγοντες: Οστική πυκνότητα, ηλικία, φύλο και εμμηνοπαυσιακή κατάσταση των γυναικών. Ο Πίνακας 5 συνοψίζει τις τιμές αναφοράς στις παρακάτω ομάδες.

Πίνακας-5. Τιμές αναφοράς για την TRACP-5b στον Ελληνικό πληθυσμό

	Κάτω όριο	95% CI	Άνω όριο	95% CI
IDS-iSYS TRACP-5b assay				
Άνδρες	1.15	1.00-1.33	5.04	4.83-5.41
Προ-εμμηνοπαυσιακές γυναίκες	0.85	0.54-1.17	4.24	3.85-4.72
Μετ-εμμηνοπαυσιακές γυναίκες	1.29	0.80-1.76	6.92	5.22-8.23
Άτομα με Φυσιολογική Οστική Πυκνότητα	1.12	0.87-1.33	4.92	4.58-5.41
Άτομα με Οστεοπενία	1.69	1.50-1.90	6.12	5.40-6.85

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η ανθεκτική στο τρυγικό όξινη φωσφατάση (TRACP) είναι μια γλυκοπρωτεΐνη που περιέχει σίδηρο και εκφράζεται σε υψηλά επίπεδα από τους οστεοκλάστες, τα φλεγμονώδη μακροφάγα και τα δενδριτικά κύτταρα. Δύο μορφές της TRACP κυκλοφορούν στο ανθρώπινο αίμα: η TRACP-5a, η οποία προέρχεται από τα μακροφάγα και τα δενδριτικά κύτταρα, και η TRACP-5b, η οποία προέρχεται από τους οστεοκλάστες. Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι η δραστηριότητα της TRACP-5b στον ορό συσχετίζεται με δείκτες οστικής απορρόφησης και μάλιστα με τον αριθμό των οστεοκλαστών. Αυτός ο βιοδείκτης διαθέτει ενδιαφέρουσες εγγενείς ιδιότητες και αξιολογείται όλο και περισσότερο στην έρευνα και την κλινική πράξη, ιδιαίτερα για την παρακολούθηση του οστικού μεταβολισμού σε ασθενείς με ΧΝΝ (χρόνια νεφρική νόσο). Επιπλέον, η δραστηριότητα της TRACP-5b στον ορό αποτελεί έναν πολλά υποσχόμενο νέο δείκτη με κλινική σημασία σε νοσήματα όπως η ρευματοειδής αρθρίτιδα (RA), και οι οστικές μεταστάσεις σε διάφορους καρκίνους, όπου παρατηρείται αυξημένη οστική απορρόφηση και καταστροφή. Η TRACP-5b, ως βιοχημικός δείκτης οστικής απορρόφησης παρουσιάζει σημαντικό κλινικό ενδιαφέρον και εδώ και αρκετά χρόνια χρησιμοποιείται στην καθημερινή κλινική πράξη στην Ιαπωνία. Για την σωστή αξιολόγηση των αποτελεσμάτων των μετρήσεων της είναι απαραίτητη η δημιουργία τιμών αναφοράς οι οποίες όχι μόνο θα λαμβάνουν υπόψη τις κατευθυντήριες οδηγίες δημιουργίας τιμών αναφοράς αλλά και όλες εκείνες τις παραμέτρους οι οποίες επηρεάζουν τις τιμές της.

Στη διεθνή βιβλιογραφία υπάρχουν πολύ λίγες μελέτες οι οποίες είναι ειδικά σχεδιασμένες για την δημιουργία τιμών αναφοράς στους ενήλικες και στις οποίες να λαμβάνονται υπόψη όλες οι παράμετροι που τυχόν επηρεάζουν τις τιμές της TRACP-5b (ήτοι ηλικία, φύλο και εμμηνοπαυσιακή κατάσταση στις γυναίκες και τέλος η οστική πυκνότητα). Τέλος σε όλες τις μελέτες οι μετρήσεις έχουν γίνει με χειροκίνητες μεθόδους ELISA.

Η παρούσα μελέτη παρουσιάζει τα εξής πλεονεκτήματα σε σχέση με τις παλαιότερες δημοσιευμένες μελέτες.

1. Καθορίσαμε τιμές αναφοράς για τον Ελληνικό πληθυσμό σε ένα δείγμα 431 ειδικά επιλεγμένων υγιών ατόμων, εκ των οποίων οι 142 ήταν άνδρες, και οι υπόλοιποι ήταν 149 και 140 αντίστοιχα πολύ καλά χαρακτηρισμένες προ-εμμηνοπαυσιακές και μετ-εμμηνοπαυσιακές γυναίκες.
2. Στην παρουσίαση των τιμών αναφοράς λαμβάνεται για πρώτη φορά υπόψη η οστική πυκνότητα και παρουσιάζονται τιμές αναφοράς χωριστά για άτομα με φυσιολογική οστική πυκνότητα και χωριστά για άτομα με οστεοπενία
3. Για πρώτη φορά η μέτρηση της TRACP-5b γίνεται με μια αυτοματοποιημένη ανοσοενζυμική δοκιμασία IDS-iSYS TRAcP 5b (BoneTRAP®) η οποία εκτελείται στον αυτόματο ανοσολογικό αναλυτή της εταιρείας iSYS.
4. Η ανάλυση των αποτελεσμάτων έγινε σύμφωνα με την οδηγία του CLSI EP28-A3. Στην οδηγία αυτή περιγράφεται αναλυτικά ο άμεσος τρόπος δημιουργίας τιμών αναφοράς που απαιτεί επιλογή των ατόμων

αναφοράς με συγκεκριμένα κριτήρια και ο αριθμός των ατόμων να είναι τέτοιος ώστε οι πιθανόν δημιουργούμενες υπο-ομάδες να περιλαμβάνουν τουλάχιστον 120 άτομα για ανάλυση ώστε να μπορεί να γίνει χρήση της προτεινόμενης παραμετρικής ή μη παραμετρικής ανάλυσης (ανάλογα με το αν τα δεδομένα μας ακολουθούν ή όχι την κανονική κατανομή). Στην περίπτωση που μια υπο-ομάδα έχει μικρότερο πληθυσμό από 120 τότε η οδηγία προτείνει την χρήση της robust μεθόδου. .

Στον **Πίνακα 6** παρουσιάζονται συνοπτικά όλες οι μελέτες που έχουν γίνει μέχρι σήμερα και παρουσιάζουν τιμές αναφοράς για την TRACP-5b.

1. Υπάρχει σημαντική ασυμφωνία στο τρόπο με τον οποίο χωρίζεται ο πληθυσμός σε υπο-ομάδες (άνδρες, γυναίκες) και δεν έχει γίνει υπολογισμός τιμών αναφοράς για τους άνδρες σε όλες τις μελέτες
2. Το εμμηνοπαυσιακό καθεστώς στις γυναίκες δεν λαμβάνεται υπόψη σε όλες τις μελέτες ώστε να παρουσιαστούν χωριστές τιμές αναφοράς
3. Η οστική πυκνότητα δεν αποτελεί παράγοντα δημιουργίας υποομάδων τιμών αναφοράς σε όλες τις μελέτες (καμμία μελέτη δεν παρουσιάζει τιμές αναφοράς σε οστεοπενικά άτομα)
4. Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων και η παρουσίασή τους διαφέρει από μελέτη σε μελέτη, και μόνο σε μία μελέτη η επεξεργασία γίνεται σύμφωνα με το πρότυπο του CLSI EP28-A3.
5. Η χρήση των μονάδων μέτρησης και του αριθμού των δεκαδικών είναι όμοια σε όλες τις μελέτες

Πίνακας 6. Δημοσιευμένες μελέτες στις οποίες γίνεται παρουσίαση τιμών αναφοράς για την TRACP-5b

	Κάτω όριο	95% CI	Άνω Όριο	95% CI
Ichihara et al. (έτος 2012) (Μέθοδος Nittobo, Japan, ELISA) (%)				
Men (n=1411)	2.09 ± 0.79 (mean ± SD)			
Women (n=1831)	1.81 ± 0.85 (mean ± SD)			
Nishizawa et al. (έτος 2008) (Μέθοδος Nitto-Boseki, Japan ELISA)				
Men (n=309) age:25-82	1.7 U/L	ΔΑ	5.9 U/L	ΔΑ
Premenopausal women (n=267)	1.2(*) U/L	ΔΑ	4.2(*) U/L	ΔΑ
Postmenopausal women (n=151)	2.4(*) U/L	ΔΑ	6.9(*) U/L	ΔΑ

Kikuchi et al. (έτος 2021) (Μέθοδος Nitobo, Japan ELISA)				
Men (n=855)	1.05 U/L	0.97-1.13	4.22 U/L	4.04-4.39
Women age: 18-44 (n=728) ^(§)	0.74 U/L	0.71-0.77	2.99 U/L	2.87-3.12
Women age: 45-65 (n=340) ^(§)	1.00 U/L	0.91-1.08	5.06 U/L	4.76-5.35
Cavalier et al. (έτος 2022) (Μέθοδος Nittobo, Japan ELISA)				
Men age:18.6-90.3 (n=119)	0.9 U/L	0.7-1.0	7.1 U/L	6.2-8.2
Women age<45 (n=50) ⁽⁺⁾	0.8 U/L	0.7-1.0	5.5 U/L	4.5-6.6
Women age>50 (n=120) ⁽⁺⁾	1.1 U/L	1.0-1.2	8.1 U/L	7.1-9.2
Botella et al. (έτος 2013) (Μέθοδος IDS, UK ELISA) ^(**)				
Postmenopausal women (n=134)	4.52 ± 0.08 (mean ± SD) U/L			
Ardawi et al. (έτος 2010) (Μέθοδος Quidel, USA, ELISA)				
Premenopausal women (n=1557)	3.66 (1.68 - 5.44) (geometric mean, 95% confidence intervals) U/L			
Postmenopausal women (n=568)	5.07 (4.15 – 5.98) (geometric mean, 95% confidence intervals) U/L			
Tokida et al. (έτος 2021) (Μέθοδος SLR, Japan ELISA)				
Men age: 50-89 (n=203) ^(#)	406.2 (± 174.2) mU/dL			
Women age: 50-89 (n=208) ^(#)	457.6 (± 154.8) mU/dL			
Mederle et al. (έτος 2018) (Μέθοδος Quidel, USA, ELISA) ^(**)				
Postmenopausal women (n=81)	2.9 ± 0.3 (mean ± SD) U/L			
Gerdhem et al. (έτος 2004) (Μέθοδος: Quidel,USA, ELISA) ^(**)				
Postmenopausal women (n=862)	3.4 ± 1.2 (mean ± SD) U/L			

ΔΑ=δεν αναφέρεται

(%) Πολυκεντρική μελέτη που περιλάμβανε Ιαπωνία, Κίνα, Κορέα, Ταϊβάν, Χονγκ-Κονγκ, Ινδονησία, Βιετνάμ και Μαλαισία. Δεν αναφέρονται χωριστές τιμές για προ-εμμηνοπαυσιακές και μετ-εμμηνοπαυσιακές γυναίκες.

(*) Στον υπολογισμό των ορίων συμπεριελήφθησαν μόνο όσες γυναίκες είχαν BMD > 0.809 g/cm² που αποτελεί το διαγνωστικό όριο της οστεοπόρωσης σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες της Ιαπωνικής εταιρείας μεταβολικών παθήσεων των οστών. Ο υπολογισμός των τιμών αναφοράς έγινε από τα λογαριθμικά μετασχηματισμένα δεδομένα επειδή οι τιμές της TRACP-5b στον ορό δεν ακολουθούσαν κανονική κατανομή και

οι τιμές αναφοράς ορίστηκαν ως το διάστημα της λογαριθμικής μέσης τιμής ± 1.96 SD και στη συνέχεια ακολούθησε απολογαρίθμηση των τιμών

(⁵) Ο διαχωρισμός των γυναικών έγινε με βάση την ηλικία και αυθαίρετα τοποθετήθηκε ως όριο τα 45 έτη. Για τον υπολογισμό των τιμών αναφοράς χρησιμοποιήθηκε η παραμετρική μέθοδος αφού πρώτα έγινε «normalization» των δεδομένων με την τροποποιημένη μέθοδο Box-Cox των Ichihara-Kawai, διότι τα δεδομένα δεν ακολουθούσαν την κανονική κατανομή.

(*) Ο διαχωρισμός των γυναικών έγινε με βάση την ηλικία και αυθαίρετα τοποθετήθηκαν δύο όρια τα 45 έτη ως ανώτερο όριο για την ομάδα των νεαρών γυναικών, και τα 60 έτη για την ομάδα των ηλικιωμένων γυναικών θεωρώντας ότι έτσι στην πρώτη ομάδα θα έχουν συμπεριληφθεί μόνο προ-εμμηνοπαυσιακές γυναίκες και στην δεύτερη μόνο μετ-εμμηνοπαυσιακές αφού δεν υπήρχαν δεδομένα για το εμμηνοπαυσιακό καθεστώς των γυναικών ούτε και για την οστική πυκνότητα. Για τον υπολογισμό των τιμών αναφοράς χρησιμοποιήθηκε η μη παραμετρική μέθοδος του CLSI που περιγράφεται στον οδηγό EP28-A3 και για την ομάδα των γυναικών όπου ο πληθυσμός ήταν < 120 άτομα χρησιμοποιήθηκε η «robust» μέθοδος.

(#) Από τις 208 γυναίκες οι 203 ήταν μετ-εμμηνοπαυσιακές. Οι τιμές αναφοράς παρουσιάζονται ως η μέση τιμή $\pm$ η τυπική απόκλιση. Οι μονάδες είναι mU/dL

(**) Δεν αποτελούν ειδικά σχεδιασμένες μελέτες για υπολογισμό τιμών αναφοράς. Ο πληθυσμός αναφοράς είναι ομάδα ελέγχου υγιών ατόμων σε κλινικές μελέτες.

Στη μελέτη μας φαίνεται ότι οι τιμές της TRACP-5b αυξάνονται με την ηλικία αλλά η αύξηση αυτή είναι σημαντική μόνο στις γυναίκες. Η ηλικιακή αύξηση του TRACP-5b στις γυναίκες μπορεί να εξηγηθεί από τη ραγδαία μείωση των επιπέδων οιστρογόνων στον ορό κατά την εμμηνόπαυση. Στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, τα οιστρογόνα καταστέλλουν τη δραστηριότητα των οστεοκλαστών προκαλώντας απόπτωση μέσω του υποδοχέα οιστρογόνων (ER), αποτρέποντας έτσι την οστική απορρόφηση και την έκκριση του TRACP-5b. Αντίθετα, μετά την εμμηνόπαυση, η δραστηριότητα των οστεοκλαστών αυξάνεται, οδηγώντας σε αυξημένη οστική απορρόφηση και έκκριση TRACP-5b. Για να αντισταθμιστεί η οστική απορρόφηση, ενισχύεται επίσης η δραστηριότητα των οστεοβλαστών, με αυξημένη απελευθέρωση της BAP.

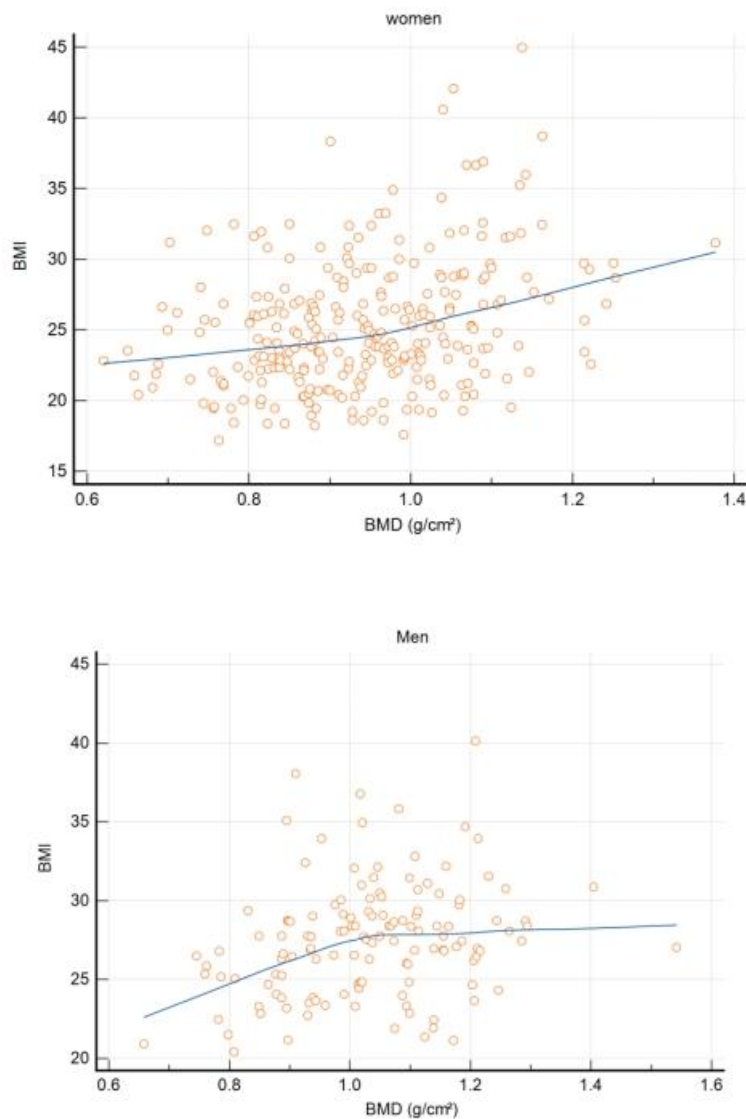
Στη μελέτη μας δεν φάνηκε το BMI να έχει επίδραση στις τιμές της TRACP5b (ούτε στους άνδρες ούτε και στις γυναίκες), αν και σε άλλες μελέτες έχει παρατηρηθεί αρνητική συσχέτιση η οποία εξηγείται από την καταστολή που υφίστανται οι οστεοκλάστες στην δράση τους,

μιας και η παχυσαρκία και γενικότερα η αύξηση του σωματικού βάρους έχει σημαντική επίδραση στην αύξηση της οστικής πυκνότητας, λόγω αυξημένης μηχανικής φόρτισης του σκελετού.

Γενικά ο δείκτης μάζας σώματος (BMI) συσχετίζεται με την οστική πυκνότητα, και αυτό φαίνεται και στη μελέτη μας (Εικόνα 6) και ιδιαίτερα στις γυναίκες [Spearman's coefficient of rank correlation $Rho = 0.325$ $p < 0.0001$]σε

σχέση με τους άνδρες [Spearman's coefficient of rank correlation $Rho = 0.259$ $p < 0.0026$] και αυτό ίσως συνεπάγεται ότι οι γυναίκες με χαμηλό BMI έχουν υψηλότερο κίνδυνο καταγμάτων σε σύγκριση με εκείνες με υψηλό BMI.

Εικόνα 6. Συσχέτιση BMI με οστική πυκνότητα σε άνδρες και γυναίκες



Αν και σχετικά πρόσφατη μελέτη αναφέρει ότι το υψηλό BMI αυξάνει την παραγωγή της λεπτίνης, μιας ορμόνης που μοιάζει με κυτταροκίνη, η οποία αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των οστεοκλαστών, εντούτοις η υπερβολική λιπώδης μάζα, και ιδιαίτερα η κοιλιακή παχυσαρκία, μπορεί να διαταράξει τον οστικό μεταβολισμό μέσω χρόνιας φλεγμονής και των αδιποκινών, οδηγώντας δυνητικά σε χαμηλότερη ποιότητα οστού. Επομένως, φαίνεται ότι ένα

υψηλό BMI μπορεί να έχει συνολικά κατασταλτική επίδραση στην οστική απορρόφηση και από την άλλη δεν βοηθά στην διατήρηση της ποιότητας των οστών.

Στη μελέτη μας ακόμη φάνηκε ότι υφίσταται μια αρνητική συσχέτιση μεταξύ της οστικής πυκνότητας και της TRACP-5b, γεγονός που σημαίνει ότι σε άτομα με υψηλές τιμές TRACP-5b και με χαμηλή οστική πυκνότητα η οστική απορρόφηση είναι αυξημένη.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΙΚΑ

Οι κλινικές επιπτώσεις των ευρημάτων της μελέτης μας συνοψίζονται στα ακόλουθα

1. Στη μελέτη μας αυτή παρουσιάζουμε για πρώτη φορά τιμές αναφοράς για την TRACP-5b σε ενήλικες άνδρες και γυναίκες (προ-εμμηνοπαυσιακές και μετ-εμμηνοπαυσιακές) με μια αυτοματοποιημένη ανοσοενζυμική δοκιμασία σε αυτόματο ανοσολογικό αναλυτή.
2. Στην έκδοση τιμών αναφοράς είναι απαραίτητο να λαμβάνεται υπόψη όχι μόνο το φύλο και η εμμηνοπαυσιακή κατάσταση των γυναικών, αλλά και η οστική πυκνότητα, παράγοντες οι οποίοι αποτελούν σημαντικές πηγές μεταβλητότητας της TRACP-5b
3. Αν και στη μελέτη μας το BMI δεν φάνηκε να επηρεάζει άμεσα τις τιμές της TRACP-5b ούτε στους άνδρες ούτε και στις γυναίκες, εν τούτοις έχει επίδραση στην οστική πυκνότητα με αποτέλεσμα άτομα με υψηλό BMI να παρουσιάζουν υψηλότερες τιμές οστικής πυκνότητας.

ΕΠΙΛΕΓΜΕΝΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Cassady AI, King AG, Cross NCP, Hume DA. Isolation and characterization of the genes encoding mouse and human type-5 acid phosphatase. *Gene* 1993;130:201-7.
- Janckila AJ, Yam LT. Biology and clinical significance of tartrate-resistant acid phosphatases: new perspectives on an old enzyme. *Calcif Tissue Int* 2009;85:465-83.
- Yaziji H, Janckila AJ, Lear SC, Martin AW, Yam LT. Immunohistochemical detection of tartrate-resistant acid phosphatase in non-hematopoietic human tissues. *Am J Clin Pathol* 1995;104:397-402.
- Lam WKW, Eastlund DT, Li C, Yam LT. Biochemical properties of tartrate-resistant acid phosphatase in serum of adults and children. *Clin Chem* 1978;24:1105-8.
- Chu P, Chao TY, Lin YF, Janckila AJ, Yam LT. Correlation between histomorphometric parameters of bone resorption and serum type 5b tartrate-resistant acid phosphatase in uremic patients on maintenance hemodialysis. *Am J Kidney Dis* 2003;41:1052-9.
- Halleen JM, Ylipahkala H, Alatalo SL, Janckila AJ, Heikkinen JE, Suominen H, et al. Serum tartrate-resistant acid phosphatase 5b, but not 5a, correlates with other markers of bone turnover and bone mineral density. *Calcif Tissue Int* 2002;71:20-5.
- Saunders PTK, Renegar RH, Raub TJ, Baumbach GA, Atkinson PH, Bazer FW, et al. The carbohydrate structure of porcine uteroferrin and the role of the high mannose chains in promoting uptake by the reticuloendothelial cells of the fetal liver. *J Biol Chem* 1985; 260:3658-65.

- Halleen J, Hentunen TA, Hellman J, VVŠVŠnVŠnen HK. Tartrate-resistant acid phosphatase from human bone: purification and development of an immunoassay. *J Bone Miner Res* 1996;11:1444-52.
- Iki M, Akiba T, Matsumoto T, Nishino H, Kagamimori S, Kagawa Y, et al. Reference database of biochemical markers of bone turnover for the Japanese female population. Japanese Population-based Osteoporosis (JPOS) Study. *Osteoporos Int*. 2004;15(12):981-91.
- de Papp AE, Bone HG, Caulfield MP, Kagan R, Buinewicz A, Chen E, et al. A cross-sectional study of bone turnover markers in healthy premenopausal women. *Bone*. 2007;40(5):1222-30.
- Gerdhem P, Ivaska KK, Alatalo SL, Halleen JM, Hellman J, Isaksson A, et al. Biochemical markers of bone metabolism and prediction of fracture in elderly women. *J Bone Miner Res*. 2004;19(3):386-93.
- Nishizawa Y, Inaba M, Ishii M, Yamashita H, Miki T, Goto H, et al. Reference intervals of serum tartrate-resistant acid phosphatase type 5b activity measured with a novel assay in Japanese subjects. *J Bone Miner Metab*. 2008;26(3):265-70.
- Ardawi MS, Maimani AA, Bahksh TA, Rouzi AA, Qari MH, Raddadi RM. Reference intervals of biochemical bone turnover markers for Saudi Arabian women: a cross-sectional study. *Bone*. 2010;47(4):804-14.
- Mederle OA, Balas M, Ioanoviciu SD, Gurban CV, Tudor A, Borza C. Correlations between bone turnover markers, serum magnesium and bone mass density in postmenopausal osteoporosis. *Clin Interv Aging*. 2018;13:1383-9.
- Cavalier E, Lukas P, Delanaye P. Analytical evaluation of the Nittobo Medical tartrate resistant acid phosphatase isoform 5b (TRACP-5b) EIA and comparison with IDS iSYS in different clinically defined populations. *Clin Chem Lab Med*. 2022;60(3):394-400.
- Kikuchi W, Ichihara K, Mori K, Shimizu Y. Biological sources of variations of tartrate-resistant acid phosphatase 5b in a healthy Japanese population. *Ann Clin Biochem*. 2021;58(4):358-67.
- Tokida R, Uehara M, Nakano M, Suzuki T, Sakai N, Ikegami S, et al. Reference values for bone metabolism in a Japanese cohort survey randomly sampled from a basic elderly resident registry. *Scientific Reports*. 2021;11(1):7822.
- Bland M (2000) An introduction to medical statistics, 3rd ed. Oxford: Oxford University Press.
- CLSI (2008) Defining, establishing, and verifying reference intervals in the clinical laboratory: approved guideline - third edition. CLSI Document C28-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Efron B, Tibshirani RJ (1993) An introduction to the Bootstrap. Chapman & Hall/CRC.
- Le Boedec K (2019) Reference interval estimation of small sample sizes: A methodologic comparison using a computer-simulation study. *Veterinary Clinical Pathology* 48:335-346.
- Horn PS, Pesce AJ (2005). Reference Intervals. A User's Guide. Washington, DC: AACC Press.
- Lentner C (Ed) (1982) Geigy Scientific Tables, 8th edition, Volume 2. Basle: Ciba-Geigy Limited.
- NCCLS (2000) How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory: approved guideline. 2nd edition. NCCLS document C28-A2. Wayne, PA: NCCLS.
- Reed AH, Henry RJ, Mason WB (1971) Influence of statistical method used on the resulting estimate of normal range. *Clinical Chemistry*, 17:275-284.
- Schoonjans F, De Bacquer D, Schmid P (2011) Estimation of population percentiles. *Epidemiology* 22: 750-751.
- Sheskin DJ (2011) Handbook of parametric and non-parametric statistical procedures. 5th ed. Boca Raton: Chapman & Hall /CRC.
- Tukey JW (1977) Exploratory data analysis. Reading, Mass: Addison-Wesl
- Pottel H, Bjork J, Courbebaisse M, Couzi L, Ebert N, Eriksen BO, et al. Development and Validation of a Modified Full Age Spectrum Creatinine-Based Equation to Estimate Glomerular Filtration Rate : A Cross-sectional Analysis of Pooled Data. *Ann Intern Med*. 2021;174(2):183-91
- Halleen JM, Alatalo SL, Suominen H, Cheng S, Jankila AJ, VVŠVŠnVŠnen KH. Tartrate-resistant acid phosphatase as a serum marker of bone resorption. *J Bone Miner Res* 2000;15:1337-45.
- Nishizawa Y, Miura M, Ichimura S, Inaba M, Imanishi Y, Shiraki M, et al. Executive summary of the Japan Osteoporosis Society guide for the use of bone turnover markers in the diagnosis and treatment of osteoporosis (2018 edition). *Clin Chim Acta* 2019; 498:101-7.
- Shidara K, Inaba M, Okuno S, Yamada S, Kumeda Y, Imanishi Y, et al. Serum levels of TRAP5b, a new bone resorption marker unaffected by renal dysfunction, as a useful marker of cortical bone loss in hemodialysis patients. *Calcif Tissue Int* 2008;82: 278-87.
- Evenepoel P, Claes K, Meijers B, Laurent MR, Bammens B, Naesens M, et al. Natural history of mineral metabolism, bone turnover and bone mineral density in de novo renal transplant recipients treated with a steroid minimization immunosuppressive protocol. *Nephrol Dial Transplant* 2020;35:697-705.

24TH

www.eekx-kb.gr

GREEK NATIONAL
CONGRESS OF CLINICAL
CHEMISTRY CLINICAL
BIOCHEMISTRY

MANAGING
THE CLINICAL
LABORATORY OF
THE FUTURE

5 → 8 NOV 2026

VENUE: ATHENS WAR MUSEUM

ORGANIZATION



UNDER THE AUSPICES OF



GC-MS metabolic fingerprints of Dried Blood Microsamples in comparison to Plasma

Daniel Marques De Silva^{*1,3}, Marlene N. Thaitumu^{*2,3}, Glykeria Avgerinou⁴, Anatoli Petridou⁴, Vassilis Mougios⁴, Georgios Theodoridis^{1,4}, Helen Gika^{2,4}

1 - Department of Chemistry, Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki, Greece.

2 - Department of Medicine, Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki, Greece.

3 - BiOMIC_AUTH, Center for Interdisciplinary Research and Innovation (CIRI-AUTH), Balkan Center, B1.4, 57001 Thessaloniki, Greece.

4 - School of Physical Education & Sport Science at Thessaloniki, Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki, Greece.

**Authors with equal contribution*

1. Εισαγωγή

Η μεταβολομική αποτελεί ένα σύγχρονο πεδίο της βιολογίας συστημάτων που προσφέρει την πιο άμεση και δυναμική καταγραφή της βιολογικής λειτουργίας ενός οργανισμού σε πραγματικό χρόνο, μέσω της συστηματικής μελέτης των χημικών αποτυπωμάτων που αφήνουν πίσω τους οι κυτταρικές διεργασίες. Το πλάσμα αποτελεί το κύριο δείγμα σε μελέτες μεταβολομικής αλλά και όχι μόνο. Ωστόσο, η συλλογή του μέσω φλεβοκέντησης είναι μια επεμβατική διαδικασία που απαιτεί εξειδικευμένο προσωπικό. Καθώς οι σύγχρονες εξελίξεις στις αναλυτικές και υπολογιστικές μεθόδους έχουν κάνει δυνατή την ανάλυση μόλις μερικών μικρολίτρων αίματος, οι τεχνικές μικροδειγματοληψίας αίματος (BμS) προσφέρουν μια πολύ ελκυστική εναλλακτική προσέγγιση στην βιοανάλυση. Τα μικροδείγματα αίματος όπως πχ. η ξηρή κηλίδα (DBS), επιτρέπουν την συλλογή δειγμάτων με ελάχιστα επεμβατικό τρόπο, εκτός κλινικών πλαισίων, συμπεριλαμβανομένου του σπιτιού. Οι κηλίδες ξηρού αίματος (DBS) εφαρμόζονται εδώ και δεκαετίες σε πολυάριθμες αναλύσεις, με κύριο επίκεντρο τη διάγνωση λοιμώξεων και τον προσυμπτωματικό έλεγχο για συγγενείς διαταραχές του μεταβολισμού. Ωστόσο, πρόσφατα εμφανίστηκαν καινοτόμες τεχνολογίες BμS, που ξεπερνούν ορισμένα από τα μειονεκτήματα των DBS, όπως η επίδραση του αιματοκρίτη. Οι νέες συσκευές ποσοτικής BμS προσφέρουν υψηλότερη ακρίβεια στον όγκο συλλογής και επομένως δυνατότητα ακριβούς αναλυτικής μέτρησης.

Εδώ παρουσιάζονται τα αποτελέσματα μιας μελέτης του μεταβολικού αποτυπώματος μέσω αέριας-χρωματογραφίας-φασματομετρίας μαζών (GC-MS) σε ξηρά μικροδείγματα αίματος. Στόχος ήταν να διερευνηθεί η πληροφορία που μπορούμε να λάβουμε από το μεταβολικό προφίλ τέτοιου είδους δειγμάτων, σε σχέση με το πλάσμα, που αποτελεί υλικό αναφοράς. Για το λόγο αυτό μελετήθηκαν δείγματα που λήφθηκαν με κλασικό τρόπο από σταγόνα αίματος σε Whatman card (DBS), όσο και από διαφορετικές συσκευές μικροδειγματοληψίας, όπως Mitra και capitainer. Μέρος της μελέτης εστίασε στην σύγκριση των μεταβολιτών μεταξύ τριχοειδικού αίματος που συλλέχθηκε σε Mitra BmS από την άκρη δακτύλου με τα αντίστοιχα δείγματα πλάσματος και πλήρους αίματος της ίδια στιγμής. Η μελέτη αυτή αποτελεί συνέχεια προηγούμενης μελέτης που πραγματοποιήθηκε στο μεταβολικό αποτύπωμα με υγρή χρωματογραφία-φασματομετρία μαζών (LC-HRMS) μικροδειγμάτων αίματος.

2. Υλικά και Μέθοδοι

Αξιολογήθηκαν τρεις διαφορετικές συσκευές μικροδειγματοληψίας: κάρτες Capitainer B 20 μ L, συσκευές Mitra VAMS 20 μ L και κάρτες Whatman protein saver. Φλεβικό αίμα συλλέχθηκε από δέκα υγιείς εθελοντές, σε κατάσταση νηστείας, κατόπιν γραπτής συγκατάθεσης και έγκρισης από την επιτροπή βιοηθικής του ΑΠΘ. Αυτό, προστέθηκε στις συσκευές μικροδειγματοληψίας και αφέθηκε να στεγνώσει για τρεις ώρες σε θερμοκρασία δωματίου πριν αποθηκευτεί στους -80°C . Για την προετοιμασία των δειγμάτων, 50 μ L υγρού φλεβικού αίματος ή το ισοδύναμο των 20 μ L από τις συσκευές BmS εκχυλίστηκαν χρησιμοποιώντας βελτιστοποιημένες συνθήκες διαλυτή. Κατά την μελέτη αρχικά μελετήθηκε η βελτιστοποίηση του συστήματος διαλυτών έκλουσης, όπου δοκιμάστηκαν τέσσερα συστήματα — MeOH, ACN, MeOH-H₂O (6:4) και ACN-MeOH (7:3). Στο εκχύλισμα μετά εφαρμόστηκε πρωτόκολλο παραγωγοποίησης δύο σταδίων που περιλαμβάνει μεθοξίωση για την προστασία των κετονικών ομάδων και τριμεθυλοσιλυλίωση για την αύξηση της πτητικότητας των πολικών μεταβολιτών. Η ανάλυση GC-MS πραγματοποιήθηκε σε σύστημα Bruker EVOQ-456 εξοπλισμένο με μη πολική τριχοειδή στήλη DBS-5, χρησιμοποιώντας ήλιο ως φέρον αέριο και σε λειτουργία πλήρους σάρωσης (full scan). Η επεξεργασία των δεδομένων έγινε με χρήση των λογισμικών MS-DIAL και XCMS, ενώ η ταυτοποίηση των μεταβολιτών βασίστηκε στην αντιστοίχιση φασμάτων μαζών και δεικτών συγκράτησης χρησιμοποιώντας τις βιβλιοθήκες NIST και Fiehn.

3. Αποτελέσματα και Συζήτηση

Με την μέθοδο ανάλυσης που εφαρμόστηκε, στο φλεβικό αίμα ταυτοποιήθηκαν πενήντα επτά μεταβολίτες, συμπεριλαμβανομένων αμινοξέων, οργανικών οξέων, σακχάρων και λιπαρών οξέων, οι οποίοι χρησιμοποιήθηκαν ως βάση σύγκρισης με τα μικροδείγματα ξηρού αίματος. Η μεθανόλη (MeOH) επιλέχθηκε ως ο βέλτιστος διαλυτής εκχύλισης, καθώς απέδωσε τον υψηλότερο συνολικά αριθμό ιόντων (features) και στις τρεις συσκευές BmS.

Αξιοσημείωτο είναι ότι στο εκχύλισμα των κηλίδων Whatman ανιχνεύτηκαν λιγότερα ιόντα και με χαμηλότερες εντάσεις, ανεξαρτήτως του διαλύτη που χρησιμοποιήθηκε, περιορίζοντας ενδεχομένως την κάλυψη της μεταβολικής πληροφορίας σε σύγκριση με τις νεότερες συσκευές.

Κατά τη σύγκριση των ΒμS και τα τρία είδη δειγμάτων έδωσαν παρόμοιο προφίλ, ενώ κατά την πολυπαραμετρική ανάλυση PCA φάνηκε σαφής διαχωρισμός μεταξύ του πλάσματος και των τριών ΒμS, υποδεικνύοντας ότι τα δείγματα ξηρού αίματος αποτυπώνουν ένα διαφορετικό μεταβολικό προφίλ από το πλάσμα. Η συσκευή Mitra, παρείχε το πιο διακριτό προφίλ μεταξύ των ΒμS και παρουσίασε μεγαλύτερες εντάσεις σημάτων για τις περισσότερες κατηγορίες μεταβολιτών, όπως για παράδειγμα τα αμινοξέα και τα λιπαρά οξέα.

Η συσκευή Capitainer είχε τη δεύτερη καλύτερη απόδοση, ενώ τα Whatman DBS παρουσίασαν χαμηλότερες εντάσεις για τους περισσότερους μεταβολίτες, με εξαίρεση την ισολευκίνη, τη μονοστεαρική γλυκερόλη και την παλμιτοϋλο-γλυκερόλη. Σημαντικές διαφορές εντοπίστηκαν επίσης σε συγκεκριμένους μεταβολίτες. Για παράδειγμα, η ασπαράγινη και η γλουταμίνη ήταν υψηλότερες στο εκχύλισμα πλάσματος από ό,τι στο Capitainer, ενώ το ερυθρονικό και το μηλικό οξύ ήταν υψηλότερα στο εκχύλισμα Mitra από ό,τι στο πλάσμα. Τα ευρήματα αυτά αφορούν στην ανάλυση εκχυλισμάτων ΒμS από φλεβικό αίμα, καθώς υπάρχει ο περιορισμός λήψης πολλαπλών δειγμάτων από τα ακροδάχτυλα για τη μελέτη των πειραματικών παραμέτρων.

Κατά την ανάλυση σύγκρισης του μεταβολικού αποτυπώματος αίματος με τριχοειδικό αίμα σε ΒμS έναντι ολικού αίματος και πλάσματος σε τρεις εθελοντες, η συσκευή Mitra παρείχε ικανοποιητικά αποτελέσματα όσον αφορά στον πλούτο των δεδομένων αλλά και στην δυνατότητα να αποτυπώνει τις βιολογικές διαφοροποιήσεις. Όπως αναμενόταν, παρατηρήθηκε μεγαλύτερη διαφορά μεταξύ ΒμS και πλάσματος, ενώ το ολικό αίμα βρισκόταν ενδιάμεσα. Δεκατέσσερις μεταβολίτες βρέθηκαν σε σημαντικά υψηλότερα επίπεδα στα μικροδείγματα Mitra σε σύγκριση με το πλάσμα και αίμα, ενώ σε ορισμένους μεταβολίτες, όπως το γλουταμινικό οξύ, ασπαρτικό οξύ, βαλίνη, σερίνη και μυοϊνσοιτόλη, η αφθονία ήταν διπλάσια ή και μεγαλύτερη στα Mitra σε σύγκριση με το αίμα. Αυτό θα μπορούσε να εξηγηθεί από την μεγαλύτερη συνάφεια του τριχοειδικού με το αρτηριακό αίμα, το οποίο συχνά περιέχει υψηλότερες συγκεντρώσεις ορισμένων μεταβολιτών, όπως τα αμινοξέα.

4. Συμπέρασμα

Η παρούσα μελέτη καταδεικνύει ότι τα ξηρά μικροδείγματα αίματος αποτελούν ένα αξιόπιστο και πρακτικό υποκατάστατο του αίματος και του πλάσματος στην μεταβολομική ανάλυση με GC-MS, εξασφαλίζοντας υψηλή κάλυψη μεταβολιτών με ελάχιστες διαφοροποιήσεις έναντι των συμβατικών υλικών αίματος. Λόγω της ευκολίας

στη συλλογή, της χαμηλής επεμβατικότητας και των απλοποιημένων εφοδιαστικών απαιτήσεων, τα ΒμS αναδεικνύονται σε μια βιώσιμη και ισχυρή εναλλακτική λύση. Επισημαίνεται, ωστόσο, ότι η πιθανή υποεκπροσώπηση ορισμένων ενώσεων σε ξηρά υποστρώματα καθιστά απαραίτητη την προσεκτική επικύρωση όταν πρόκειται για μεταβολίτες κρίσιμης σημασίας. Οι συσκευές μικροδειγματοληψίας επόμενης γενιάς (π.χ. Mitra, Capitainer) παρέχουν δεδομένα εφάμιλλα, και ενίοτε ανώτερα, των συμβατικών δειγμάτων πλάσματος. Συμπερασματικά, τα ΒμS δεν αποτελούν απλώς ένα υποκατάστατο του πλάσματος, αλλά ένα διακριτό, πολύτιμο υπόστρωμα στη μεταβολομική.

Βιβλιογραφικές Αναφορές

1. H. Gika, G. Theodoridis, R. S. Plumb and I. D. Wilson, in *Liquid Chromatography (Third Edition)*, eds. S. Fanali, B. Chankvetadze, P. R. Haddad, C. F. Poole and M.-L. Riekkola, Elsevier, Third Edition., 2023, vol. 2, pp. 403–429.
2. E. Bossi, E. Limo, L. Pagani, N. Monza, S. Serrao, V. Denti, G. Astarita and G. Paglia, *Metabolites*, 2024, DOI:10.3390/metabo14010046.
3. G. Nys, M. G. M. Kok, A. C. Servais and M. Fillet, *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 2017, 97, 326–332.
4. V. Londhe and M. Rajadhyaksha, *J Pharm Biomed Anal*, 2020, DOI:10.1016/j.jpba.2020.113102.
5. M. T. Ackermans, V. de Kleijne, F. Martens and A. C. Heijboer, *Clinica Chimica Acta*, 2021, 520, 179–185.
6. H. B. Wang, X. Xiao, X. Y. He and S. T. Wang, *Talanta*, 2024, DOI:10.1016/j.talanta.2024.126491.
7. E. E. Balashova, O. P. Trifonova, D. L. Maslov and P. G. Lokhov, *Health and Primary Care*, 2018, DOI:10.15761/hpc.1000154.
8. D. M. de Sá e Silva, M. Thaitumu, G. Theodoridis, M. Witting and H. Gika, *Metabolites*, 2023, DOI:10.3390/metabo13101038.
9. H. Nishio, S. Kodama, S. Yokoyama, T. Matsuo, T. Mio and K. Sumino, *Clinica Chimica Acta*, 1986, **159**, 77–82.
10. R. Zakaria, K. J. Allen, J. J. Koplin, P. Roche and R. F. Greaves, *EJIFCC*, 2016; **27(4)**, 288–317.
11. M. N. Thaitumu, D. M. De Sá e Silva, P. Louail, J. Rainer, G. Avgerinou, A. Petridou, V. Mougios, G. Theodoridis and H. Gika, *Metabolites*, 2025, DOI:10.3390/metabo15010062.
12. J. W. Lee, *Future Science Ltd*, 2014, DOI: 10.4155/bio.14.47.
13. J. Ivanisevic, D. Elias, H. Deguchi, P. M. Averell, M. Kurczyk, C. H. Johnson, R. Tautenhahn, Z. Zhu, J. Watrous, M. Jain, J. Griffin, G. J. Patti and G. Siuzdak, *Sci Rep*, 2015, DOI:10.1038/srep12757.

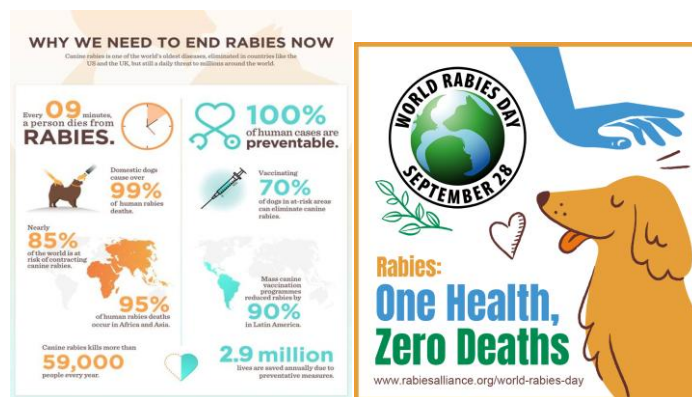
The work has been Funded by the European Union under the HORIZON-MSCA-2021 project 101073062 : HUMAN – Harmonising and unifying blood metabolic analysis networks.



28 ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΥ-ΠΑΓΚΟΣΜΙΑ ΗΜΕΡΑ ΚΑΤΑ ΤΗΣ ΛΥΣΣΑΣ

Η λύσσα είναι λοιμώδης ασθένεια του κεντρικού νευρικού συστήματος με μεγάλη θνησιμότητα. Μεταδίδεται στον άνθρωπο από το δάγκωμα και το σάλιο ζώων που είναι φορείς του ιού της λύσσας. Προσβάλλει όλα τα είδη θηλαστικών, κυρίως τα σαρκοβόρα, και διακρίνεται σε λύσσα των σκύλων και στη λύσσα των άγριων ζώων. Παγκοσμίως κάθε χρόνο 59.000 άνθρωποι πεθαίνουν από τη νόσο, με το 95% των θανάτων να καταγράφεται στην Ασία και την Αφρική. Η μετάδοση μπορεί να προληφθεί μέσω του εμβολιασμού των ζώων και της άμεσης θεραπείας των ανθρώπων μετά την έκθεσή τους στον ιό της λύσσας.

Η Παγκόσμια Ημέρα κατά της λύσσας πραγματοποιείται κάθε χρόνο στις 28 Σεπτεμβρίου, επέτειο του θανάτου του Louis Pasteur, με την υποστήριξη του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας και της Συμμαχίας για την καταπολέμηση της λύσσας (ARC). Έχει σαν σκοπό την ενημέρωση σχετικά με τις επιπτώσεις της νόσου στον άνθρωπο και στα ζώα, τη στήριξη της διαδικασίας για διενέργεια αυξημένων ελέγχων, καθώς και την παροχή πληροφοριών και συμβουλών για την πρόληψη της νόσου σε κοινότητες που βρίσκονται σε κίνδυνο.



Φέτος, η ARC δίνει έμφαση στο θέμα: «Λύσσα: Μία Υγεία, Μηδέν Θάνατοι». Η έννοια της «Μίας Υγείας» (One Health) είναι εξαιρετικά σημαντική, καθώς υπογραμμίζει ότι, όπως έδειξε η πανδημία COVID-19, η υγεία των ανθρώπων, των ζώων και του περιβάλλοντος είναι άρρηκτα συνδεδεμένες και αλληλεξαρτώμενες. Μόνο μέσα από μια ολιστική προσέγγιση συνεργασίας και συμμετοχής όλων των συναφών τομέων μπορεί να εξαλειφθεί αυτή η θανατηφόρος νόσος.

Η Ελλάδα θεωρείται επίσημα απαλλαγμένη χώρα, καθώς δεν έχει διαπιστωθεί κρούσμα λύσσας εδώ και δεκαετίες. Ο Εθνικός Οργανισμός Δημόσιας Υγείας και το Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων εφαρμόζουν πρόγραμμα δύο εμβολιαστικών εκστρατειών ετησίως, με εναέριες ρίψεις εμβολίων-δολωμάτων για τον εμβολιασμό των αλεπούδων. Επίσης, ο εμβολιασμός των ζώων συντροφιάς είναι υποχρεωτικός σύμφωνα με το νόμο.

Πηγές:

- <https://www.who.int/>
- <https://rabiesalliance.org/>
- <https://endrabiesnow.org/>
- <https://www.moh.gov.gr/>
- <https://eody.gov.gr/>
- <http://www.minagric.gr/index.php/el/>