

ΙΑΝΟΥΑΡΙΟΣ-ΦΕΒΡΟΥΑΡΙΟΣ 2015 ΤΟΜΟΣ 104 ΤΕΥΧΟΣ Ι

# ιατρικὴ

ΔΙΜΗΝΙΑΙΑ ΕΚΔΟΣΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ



Συστάσεις για την πρόσληψη λαχανικών και φρούτων  
Λοίμωξη από *Clostridium difficile*  
Πρωτεΐνη ALK και ανθρώπινη νεοπλασία  
Εποχικές διακυμάνσεις της βιταμίνης D στην Αττική  
Δερματικές γέφυρες πέους

Recommendations for vegetable and fruit intake  
*Clostridium difficile* infection  
ALK protein in human neoplasia  
Seasonal variations of vitamine D in Attica  
Penile skin bridges



**iatriki**

PUBLISHED BIMONTHLY BY THE SOCIETY FOR MEDICAL STUDIES

JANUARY-FEBRUARY 2015 VOLUME 104 No 1

# ΙΑΤΡΙΚΗ

ΔΙΜΗΝΙΑΙΑ ΕΚΔΟΣΗ  
ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ



# iatriki

BIMONTHLY PUBLISHED BY THE  
SOCIETY FOR MEDICAL STUDIES

## ΙΔΙΟΚΤΗΣΙΑ, ΣΥΝΤΑΞΗ

### ΕΤΑΙΡΕΙΑ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

Σεβαστουπόλεως 76, 115 26 Αθήνα  
Τηλ. (210) 69 82 950 – 69 94 258

FAX: (210) 69 94 258

e-mail: eis-iatriki@otenet.gr

www.etaireia-iatrikon-spoudon.org.gr

## ΕΚΔΟΤΗΣ-ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ

Ιωάννης Καραϊτιανός

## ΕΠΙΜΕΛΕΙΑ ΕΚΔΟΣΗΣ

### Διαφημίσεις

Εγγραφές συνδρομητών-Επιταγές:



**BETA** Ιατρικές Εκδόσεις

ΜΟΝΟΠΡΟΣΩΠΗ ΕΠΕ

ΑΔΡΙΑΝΕΙΟΥ 3 & ΚΑΤΕΧΑΚΗ

115 25 ΑΘΗΝΑ (Ν. ΨΥΧΙΚΟ)

☎ 210-67 14 371 – 67 14 340

FAX: 210-67 15 015

e-mail: betamedarts@otenet.gr

e-shop: www.betamedarts.gr

## EN ISO 9001:2000

### Υπεύθυνος τυπογραφείου

Α. Βασιλάκου

Αδριανείου 3 – 115 25 Αθήνα

Τηλ. (210) 67 14 340

## Εργασίες

### Επιστημονική αλληλογραφία

### Συνδρομές μελών

ΕΤΑΙΡΕΙΑ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

Συνδρομή μελών 60 €

## ΕΤΗΣΙΕΣ ΣΥΝΔΡΟΜΕΣ 2014

(περιλαμβανομένου Φ.Π.Α. 6,5%)

Γιατροί 60 €

Φοιτητές 40 €

Εταιρείες-Οργανισμοί- 130 €

Βιβλιοθήκες 130 €

Ευρωπαϊκή Ένωση 90 €

Λοιπές Χώρες 120 €

## ΔΙΟΙΚΗΤΙΚΟ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟ

### Πρόεδρος

Ι. Καραϊτιανός

### Αντιπρόεδρος

Κ. Μαυραντώνης

### Γενικός Γραμματέας

Α. Γαλήνας

### Αν. Γενικός Γραμματέας

Κ. Στάμου

### Ταμίας

Π. Αθανασίου

### Μέλη

Δ. Δημητρουλόπουλος

Α. Ζέτος

Χρ. Καλαντζής

Ι. Καλλιάντος

## ΣΥΝΤΑΚΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

### Διευθυντής Σύνταξης

Α. Πεφάνης

### Αν. Διευθύντρια Σύνταξης

Ντ. Τηνιακού

### Μέλη

Α. Αδαμόπουλος

Π. Αθανασίου

Α. Αλεξοπούλου

Π. Καλοχαϊρέτης

Α. Καραϊτιανού-Βελονάκη

Ι. Καραϊτιανός

Μ. Καραμάνου

Α. Καραφουλίδου

Α. Κυρούδη-Βούλγαρη

Χ. Κώσταλος

Η. Μυγδάλης

Ν. Παπαντωνίου

Θ. Πέππας

Λ. Ραλλιδης

Γ. Σακοράφας

Κ. Συρίγος

Π. Τζαρδής

## EDITED BY THE

### SOCIETY FOR MEDICAL STUDIES

76, Sevastoupoleos str,  
GR-115 26 Athens, Greece

Tel. (+30) 210-69 82 950 – 69 94 258

FAX: (+30) 210-69 94 258

e-mail: eis-iatriki@otenet.gr

## PUBLISHER-DIRECTOR

I. Karaitianos

## EDITING

Subscription and  
Advertising Enquiries:



**BETA** Medical Publications

3, ADRIANIΟΥ STR.

GR-115 25 ATHENS -GREECE

☎ +30210-67 14 371 – 67 14 340

FAX: +30210-67 15 015

e-mail: betamedarts@otenet.gr

e-shop: www.betamedarts.gr

## EN ISO 9001:2000

### Printing supervision

A. Vassilakou

3, Adrianiou str. – GR-115 25 Athens

Tel. (+30) 210-67 14 340

## Papers' submission

## Scientific correspondence

## Fees payment

SOCIETY FOR MEDICAL STUDIES

Members' subscription 60 €

## 2014 ANNUAL SUBSCRIPTION

(VAT 6,5% included)

Greece

Personal edition 60 €

Student edition 40 €

Library edition 130 €

European Union 90 €

Other Countries 120 €

## ADVISORY BOARD

### President

I. Karaitianos

### Vice President

K. Mavrandonis

### Secretary General

A. Galinas

### Dep. Secretary General

K. Stamou

### Treasurer

P. Athanassiou

### Members

D. Dimitroulopoulos

A. Zetos

Chr. Kalantzis

I. Kalliatos

## EDITORIAL BOARD

### Editor-in-Chief

A. Pefanis

### Dep. Editor in Chief

D. Tiniakos

### Members

A. Adamopoulos

P. Athanassiou

A. Alexopoulou

P. Kalocheritis

A. Karaitianou-Velonaki

I. Karaitianos

M. Karamanou

A. Karafoulidou

A. Kiroudi-Voulgari

Ch. Kostalos

H. Migdalis

N. Papantoniou

Th. Peppas

L. Rallidis

G. Sakorafas

K. Syrigos

P. Tzardis

## Περιεχόμενα

### Ειδικό άρθρο

#### Πρόσληψη λαχανικών και φρούτων.

**Σχέση με υγεία και συστάσεις για ενήλικες στην Ελλάδα.**

*B. Μπενέτου, Κ. Μπελογιάννη, Χρ.Μ. Καστορίνη, Κ. Ζώτα, Ε. Παπαδημητρίου, Ι. Σπυρίδης, Α. Βελουδάκη, Δ. Παναγιωτάκος, Α. Λινού*

11

### Ανασκοπήσεις

**Λοίμωξη από *Clostridium difficile*. Μετάδοση, παθογένεια, διάγνωση και σύγχρονη αντιμετώπιση.**

*Μ. Μέλιου, Α. Πεφάνης*

31

### Ο ρόλος της πρωτεΐνης ALK

**στη νεοπλασία. Γ. Καραγκούνης,**

*Γ. Στράντζαλης, Δ. Σακάς, Ντ.Γ. Τηνιακού*

43

### Ερευνητική εργασία

**Εποχικές διακυμάνσεις της D [25(OH)D, 1-25(OH)<sub>2</sub>D] σε περιπατητικούς ενήλικες στο λεκανοπέδιο Αττικής**

**(Β. πλάτος 38°). Π.Ν. Συγκελλάκης, Φ. Μαλανδρινού, Λ. Μαθιοπούλου, Αικ. Ψαρρού, Ευ. Κωνσταντέλλου**

60

### Εικόνες στην Ιατρική

**Δερματικές γέφυρες πέους μετά από περιτομή. Γ. Καμπούρογλου, Κ. Νίκας**

69

**Οδηγίες για τους Συγγραφείς**

71

## Contents

### Special article

#### Vegetable and fruit intake.

**Associations with health and guidelines for adults in Greece.**

*V. Benetou, K. Belogianni, Ch.M. Kastorini, D. Zota, E. Papadimitriou, I. Spiridis, A. Veloudaki, D. Panagiotakos, A. Linos*

11

### Reviews

#### *Clostridium difficile* infection.

**Transmission, pathophysiology, diagnosis and current treatment.**

*M. Meliou, A. Pefanis*

31

#### The role of ALK in human neoplasia.

*G. Karagkounis, G. Stranjalis,*

*D. Sakas, D.G. Tiniakos*

43

### Original paper

#### Seasonal variations

**of 25(OH)D and 1-25(OH)<sub>2</sub>D in apparently healthy adults living in a temperate region**

**(Athens, N. latitude 38°). P.N. Singhellakis, F. Malandrinou, L. Mathiopoulou, C. Psarrou, E. Konstantellou**

60

### Images in Medicine

#### Penile skin bridges after circumcision.

*G. Kampouroglou, K. Nikas*

69

#### Instructions to Authors

73

## Πρόσληψη λαχανικών και φρούτων Σχέση με υγεία και συστάσεις για ενήλικες στην Ελλάδα

**B. Μπενέτου,<sup>1</sup> K. Μπελογιάννη,<sup>2</sup>  
Χρ.Μ. Καστορίνη,<sup>2</sup> K. Ζώτα,<sup>2</sup>  
E. Παπαδημητρίου,<sup>2</sup> I. Σπυρίδης,<sup>2</sup>  
A. Βελουδάκη,<sup>2</sup> Δ. Παναγιωτάκος,<sup>3</sup> A. Λινού<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Εργαστήριο Υγιεινής, Επιδημιολογίας & Ιατρικής Στατιστικής, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, <sup>2</sup>Ινστιτούτο Προληπτικής, Περιβαλλοντικής και Εργασιακής Ιατρικής, Prolepsis, <sup>3</sup>Σχολή Επιστημών Υγείας & Αγωγής, Τμήμα Επιστήμης Διατροφολογίας-Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο, Αθήνα

**ΕΙΣΑΓΩΓΗ** Η υψηλή πρόσληψη λαχανικών ή/και φρούτων έχει συσχετιστεί με ευεργετικές επιδράσεις στην υγεία. Ο βαθμός και το επίπεδο τεκμηρίωσης της σχέσης αυτής είναι σημαντικό να διερευνηθεί προκειμένου να διατυπωθούν συστάσεις για τον γενικό, κατά τεκμήριο υγιή, ενήλικο πληθυσμό. **ΥΛΙΚΟ-ΜΕΘΟΔΟΣ** Μελετήθηκε η σχέση της πρόσληψης λαχανικών ή/και φρούτων με τη στεφανιαία νόσο, τα αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια (ΑΕΕ), τον σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 και τις κακοήθειες νεοπλασίες και διενεργήθηκε διαβάθμιση της τεκμηρίωσης των σχέσεων αυτών. Συνεκτιμώντας επιπλέον παράγοντες διαμορφώθηκαν ποσοτικές και ποιοτικές συστάσεις.

**ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ** Υπάρχει ευρεία συμφωνία των επιστημονικών δεδομένων ότι η μεγαλύτερη πρόσληψη λαχανικών ή/και φρούτων σε σχέση με τη χαμηλότερη, σχετίζεται με μειωμένο κίνδυνο στεφανιαίας νόσου, ΑΕΕ, σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2, καρκίνου του παχέος εντέρου και της στοματικής κοιλότητας, ενώ η πλειοψηφία των δεδομένων συμφωνούν ότι σχετίζεται με μειωμένο κίνδυνο καρκίνου του οισοφάγου και του στομάχου. Οι τελικές συστάσεις διαμορφώθηκαν στις τέσσερις μερίδες λαχανικών και στις τρεις μερίδες φρούτων ημερησίως.

## Vegetable and fruit intake Associations with health and guidelines for adults in Greece

**V. Benetou,<sup>1</sup> K. Belogianni,<sup>2</sup>  
Ch.M. Kastorini,<sup>2</sup> D. Zota,<sup>2</sup>  
E. Papadimitriou,<sup>2</sup> I. Spiridis,<sup>2</sup>  
A. Veloudaki,<sup>2</sup> D. Panagiotakos,<sup>3</sup> A. Linos<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Department of Hygiene, Epidemiology & Medical Statistics, School of Medicine, National and Kapodistrian University of Athens, <sup>2</sup>Institute of Preventive Medicine, Environmental and Occupational Health, Prolepsis, <sup>3</sup>School of Health Science and Education, Department of Nutrition and Dietetics, Harokopio University, Athens, Greece

**INTRODUCTION** High vegetable and/or fruit intake has been associated with beneficial effects on health. Nevertheless, the level of scientific evidence supporting these associations needs to be investigated in order to formulate dietary guidelines for the general adult population.

**MATERIAL-METHOD** The association between vegetable and fruit intake and incidence of coronary heart disease, stroke, type 2 diabetes and cancer was investigated and the level of evidence of these associations was graded. Quantitative and qualitative guidelines were subsequently developed taking into account several other factors.

**RESULTS** There is general agreement of evidence that the highest intake of vegetables and/or fruits compared to the lowest intake is associated with lower risk of coronary heart disease, stroke, type 2 diabetes, colorectal and oral cancer, while the majority of the evidence has shown that is also associated with lower risk of esophageal and stomach cancer. The final recommendations were set to 4 servings of vegetables and 3 servings of fruits daily.

**CONCLUSIONS** The recommended daily consumption of 4 servings of vegetables and 3 servings of fruits for adults living in Greece is based on sound

**ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ** Η σύσταση της καθημερινής κατανάλωσης τεσσάρων μερίδων λαχανικών και τριών μερίδων φρούτων από τους ενήλικες στην Ελλάδα βασίζεται σε επιστημονικά τεκμηριωμένα δεδομένα, συμβαδίζει με τις διατροφικές συνήθειες και παραδόσεις, είναι πρακτικά εφαρμόσιμη και συνιστάται να ενθαρρυνθεί από όλους τους επαγγελματίες υγείας προς όφελος της υγείας του πληθυσμού.

**Λέξεις ευρετηρίου** Φρούτα, λαχανικά, διατροφικές συστάσεις-οδηγίες, μερίδες, υγεία, χρόνια νοσήματα, ενήλικες, Ελλάδα.

*Αλληλογραφία:* Β. Μπενέτου, Εργαστήριο Υγιεινής, Επιδημιολογίας & Ιατρικής Στατιστικής, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Μικράς Ασίας 75, 115 27 Γουδί, Αθήνα  
e-mail: vbenetou@med.uoa.gr

*evidence, complies with their dietary habits and traditions, is practically feasible and should be encouraged by all health professionals.*

**Key words** Fruits, vegetables, dietary guidelines, servings, health, chronic diseases, adults, Greece.

*Corresponding author:* V. Benetou, Department of Hygiene, Epidemiology & Medical Statistics, School of Medicine, National and Kapodistrian University of Athens, 75 Mikras Asias street, GR-115 27 Goudi, Athens, Greece  
e-mail: vbenetou@med.uoa.gr

## 1. Εισαγωγή

Η πρόσληψη επαρκών ποσοτήτων λαχανικών και φρούτων, ως σημαντικό χαρακτηριστικό μιας υγιεινής διατροφής, περιλαμβάνεται στις διατροφικές συστάσεις (ή κατευθυντήριες οδηγίες) σε επίπεδο τροφίμων (food-based dietary guidelines) αναγνωρισμένων διεθνών και εθνικών οργανισμών και φορέων υγείας (πίνακες 1, 2).

Πολυάριθμες επιδημιολογικές έρευνες, σε κατά τεκμήριο υγιείς πληθυσμούς ανά τον κόσμο, έχουν συσχετίσει την υψηλή πρόσληψη λαχανικών ή/και φρούτων με μειωμένη επίπτωση ή/και θνησιμότητα από σημαντικά χρόνια νοσήματα, όπως τα καρδιαγγειακά και οι κακοήθεις νεοπλασίες.<sup>1-6</sup> Η περιεκτικότητά των λαχανικών και των φρούτων σε πλήθος βιταμινών, ανόργανων στοιχείων, διαιτητικών ινών και άλλων βιοδραστικών ουσιών (π.χ. φλαβονοειδή), μέσω διαφόρων μηχανισμών, καθιστούν τη συσχέτιση αυτή βιολογικά πιθανή.<sup>7</sup> Ωστόσο, ένας αριθμός ερευνών δεν έχει επιβεβαιώσει την ευεργετική επίδραση των τροφίμων αυτών στην πρόληψη κάποιων χρονίων νοσημάτων, και ιδιαίτερα των κακοήθων νεοπλασιών<sup>4,8-10</sup> ενώ παράλληλα, καινούργια ευρήματα προκύπτουν διαρκώς από τη μελέτη της εν λόγω σχέσης.

Για τον λόγο αυτόν, και ιδιαίτερα προκειμένου να αναπτυχθούν διατροφικές συστάσεις/οδηγίες σε επίπεδο τροφίμων για τον γενικό πληθυσμό μιας χώρας είναι σημαντικό να προηγηθεί ανασκόπηση και αξιολόγηση της υπάρχουσας γνώσης για τη σχέση της διατροφής με την υγεία.<sup>11,12</sup> Ερευνητικοί και επιστημονικοί φορείς υγείας υψηλού κύρους έχουν χρησιμοποιήσει συγκεκριμένη μεθοδολογία για να αξιολογήσουν τον βαθμό και το επίπεδο της επιστημονικής τεκμηρίωσης της σχέσης αυτής.<sup>7,13-15</sup> Η τάση αυτή τείνει να επικρατήσει στον χώρο της έρευνας καθώς για την επιστημονική υποστήριξη και έκδοση κατευθυντηρίων συστάσεων/οδηγιών, σε κλινικό ή άλλο επίπεδο, ακολουθείται η μεθοδολογία που βασίζεται σε τεκμήρια ή ενδείξεις (evidence-based guidelines), όπως το σύστημα GRADE από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας.<sup>16</sup> Επιπλέον, στην περίπτωση των διατροφικών συστάσεων/οδηγιών, αρκετές χώρες έχουν θεσπίσει την, ανά τακτά χρονικά διαστήματα, ανανέωσή τους (όπως οι ΗΠΑ, η Αυστραλία και οι Σκανδιναβικές χώρες) προκειμένου, μεταξύ άλλων, να ενσωματώνουν τα νεότερα ερευνητικά δεδομένα.<sup>13,15</sup>

Στόχος της εργασίας αυτής είναι να παρουσιάσουν: (α) τα υπάρχοντα ερευνητικά δεδομένα και η αξιολόγηση της επιστημονικής τεκμηρίωσης

**Πίνακας 1.** Συστάσεις για την πρόσληψη λαχανικών και φρούτων επιλεγμένων διεθνών και εθνικών Οργανισμών/Φορέων υγείας για υγιείς ενήλικες

Οργανισμός/ Φορέας υγείας	Συστάσεις (αριθμός μεριδων ημερησίως)			Ορισμός μερίδας	
	Φρούτα	Λαχανικά	Φρούτα & Λαχανικά	Φρούτα	Λαχανικά
WHO 2012 <sup>20</sup>	2	2 ½*		1 μερίδα ισοδυναμεί με: • 1 μικρό μήλο • 1 μεγάλο αχλάδι • 32 ρόγες σταφύλια • 8 μεγάλες φράουλες • 1 μεγάλο πορτοκάλι ή ροδάκινο • 1 φέτα καρπούζι • ½ φλ. ξερά φρούτα • 1 φλ. 100% χυμό φρούτου 1 φλιτζάνι=240 mL	1 μερίδα ισοδυναμεί με: • 1 φλ. μαγειρεμένα λαχανικά • 1 φλ. κομμένο αγγούρι ή κου- νουπίδι • 2 μέτρια καρότα • 1 μεγάλη ντομάτα • 2 φλ. ωμά φυλλώδη λαχανικά 1 φλιτζάνι=240 mL
WHO 2000 <sup>86</sup>			5-6 (~ 400 g)	1 μερίδα ισοδυναμεί με 1 φρούτο όπως 1 μήλο ή 1 αχλάδι	1 μερίδα ισοδυναμεί με περίπου 80 g
WCRF 2007 <sup>7</sup>			≥5 (≥400 g)	Δεν ορίζεται	Δεν ορίζεται
HSPH 2011 <sup>87</sup>	2-3 φορές/ ημέρα	Κατανάλωση πληθώρας		Δεν ορίζεται	Δεν ορίζεται
Mediterranean Diet Foundation 2011 <sup>22</sup>	1-2 σε κάθε κύριο γεύμα	≥2 σε κάθε κύριο γεύμα		Δεν ορίζεται. Παροτρύνεται να κα- θοριστεί ξεχωριστά από κάθε χώρα	Δεν ορίζεται. Παροτρύνεται να κα- θοριστεί ξεχωριστά από κάθε χώρα
American Heart Association 2006 <sup>88</sup>			«Καταναλώστε διατροφή πλούσια σε φρούτα & λαχα- νικά»*	Δεν ορίζεται	Δεν ορίζεται
European Guidelines on CVD 2012 <sup>67</sup>	2-3 (200 g)	2-3 (200 g)		Δεν ορίζεται	Δεν ορίζεται

\*Η πατάτα συμπεριλαμβάνεται στα λαχανικά

**Πίνακας 2.** Συστάσεις για την πρόσληψη λαχανικών και φρούτων διαφόρων χωρών ανά τον κόσμο για υγιείς ενήλικες

Χώρες	Συστάσεις (αριθμός μεριδων ημερησίως)			Ορισμός μερίδας	
	Φρούτα	Λαχανικά	Λαχανικά & Φρούτα	Φρούτα	Λαχανικά
Ελλάδα 1999 <sup>23</sup>	3 μικρομε- ρίδες	6 μικρομερίδες (~ 600 g)		1 μικρομερίδα ισοδυναμεί με: • 1 μήλο (80 g) • 1 μπανάνα (60 g) • 1 πορτοκάλι (100 g) • 200 g πεπόνι ή καρπούζι • 30 g σταφύλια	1 μικρομερίδα (περίπου 100 g) ισο- δυναμεί με: • 1 φλ. του τσαγιού ωμά φυλλώδη λαχανικά • ½ φλ. μαγειρεμένα ή ψιλοκομμένα • 1 φλιτζάνι=200 mL
Ισπανία 2012 <sup>81</sup>	1-2 σε κύριο κάθε γεύμα	≥2 σε κάθε κύριο γεύμα		1 μερίδα ισοδυναμεί με 120-200 g	1 μερίδα ισοδυναμεί με 150-200 g
Ισπανία (SENC)2004 <sup>70</sup>	≥3	(≥300 g) Επιθυμητό: ≥400 g		1 μερίδα ισοδυναμεί με 120-200 g	1 μερίδα ισοδυναμεί με 150-200 g (ωμά)
Πορτογαλία 2003 <sup>71</sup>	3 με 5	3 με 5		1 μερίδα ισοδυναμεί με 1 φρούτο μεσαίου μεγέθους (160 g)	1 μερίδα ισοδυναμεί με: • 2 φλ. ωμά λαχανικά (180 g) • 1 φλ. μαγειρεμένα λαχανικά (140 g)
Γαλλία 2012 <sup>81</sup>			≥5	1 μερίδα ισοδυναμεί με 80-100 g (όλες οι μορφές και οι χυμοί)	1 μερίδα ισοδυναμεί με 80-100 g (όλες οι μορφές)

(Συνεχίζεται)

Πίνακας 2. (Συνέχεια)

Χώρες	Συστάσεις (αριθμός μερίδων ημερησίως)			Ορισμός μερίδας	
	Φρούτα	Λαχανικά	Λαχανικά & Φρούτα	Φρούτα	Λαχανικά
Ηνωμένο Βασίλειο 2011 <sup>69</sup>			≥5	1 μερίδα ισοδυναμεί με 80 g ή <ul style="list-style-type: none"> <li>• 1 μήλο/πορτοκάλι/αχλάδι</li> <li>• ½ κομμάτι μεγάλου φρούτου</li> <li>• 1 φέτα πεπόνι</li> <li>• 2 μικρά φρούτα π.χ. μανταρίνια</li> <li>• 1 χούφτα σταφύλια</li> <li>• 1 κ.σ. αποξηραμένα φρούτα</li> </ul>	1 μερίδα ισοδυναμεί με: <ul style="list-style-type: none"> <li>• 3 γεμάτα κ.σ. λαχανικά (ωμά, μαγειρεμένα, κατεψυγμένα ή κονσερβοποιημένα)</li> <li>• 1 μέτριο μπολ ανάμεικτης σαλάτας</li> </ul>
Σουηδία 2012 <sup>68</sup>	250–350 g, μέγιστο 100 mL χυμός	>2 g φυτικές ίνες*: 125–175 g <2 g φυτικές ίνες**: 125–175 g		Δεν ορίζεται ξεχωριστά	Δεν ορίζεται ξεχωριστά
Σκανδιναβικές χώρες 2011 <sup>69</sup>					
1) Νήσοι Φερόε+Δανία	–	–	6 τεμάχια		
2) Νορβηγία	≥2	≥3	–		
3) Φινλανδία	–	–	Όχι σύσταση		
4) Ισλανδία	≥200 g	≥200 g	500 g		
ΗΠΑ 2010 <sup>90***</sup>	Γυναίκες: <ul style="list-style-type: none"> <li>• 19–30 ετών: 2</li> <li>• &gt;31 ετών: 1½</li> </ul> Άνδρες: <ul style="list-style-type: none"> <li>• &gt;19 ετών: 2</li> </ul>	Γυναίκες: <ul style="list-style-type: none"> <li>• 19–50 ετών: 2½</li> <li>• &gt;50 ετών: 2</li> </ul> Άνδρες: <ul style="list-style-type: none"> <li>• 19–50 ετών: 3</li> <li>• &gt;50 ετών: 2½</li> </ul>		1 μερίδα ισοδυναμεί με: <ul style="list-style-type: none"> <li>• 1 φλ. φρούτα</li> <li>• 1 φλ. 100% φυσικός χυμός</li> <li>• ½ φλ. αποξηραμένα φρούτα</li> </ul> (υπάρχει αναλυτική λίστα) 1 φλιτζάνι=240 mL	1 μερίδα ισοδυναμεί με: <ul style="list-style-type: none"> <li>• 1 φλ. ωμά λαχανικά</li> <li>• 1 φλ. μαγειρεμένα</li> <li>• 1 φλ. χυμό λαχανικών</li> <li>• 2 φλ. ωμά πράσινα φυλλώδη λαχανικά</li> </ul> 1 φλιτζάνι=240 mL
Καναδάς 2011 <sup>91</sup>			Γυναίκες: <ul style="list-style-type: none"> <li>• 19–50 ετών: 7–8</li> <li>• &gt;50 ετών: 7</li> </ul> Άνδρες: <ul style="list-style-type: none"> <li>• 19–50 ετών: 8–10</li> <li>• &gt;50 ετών: 7</li> </ul>	1 μερίδα ισοδυναμεί με: <ul style="list-style-type: none"> <li>• 1 μέτριο φρέσκο λαχανικό ή φρούτο ή 125 mL κομμένο</li> <li>• 1 φλ. σαλάτα ή ωμά πράσινα φυλλώδη λαχανικά</li> <li>• ½ φλ. μαγειρεμένα πράσινα φυλλώδη λαχανικά</li> <li>• ¼ φλ αποξηραμένα φρούτα</li> <li>• ¼ mL χυμό</li> </ul> 1 φλιτζάνι=250 mL	
Αυστραλία 2013 <sup>18</sup>	Γυναίκες: <ul style="list-style-type: none"> <li>19–70 ετών: 2</li> </ul> Άνδρες: <ul style="list-style-type: none"> <li>19–50 ετών: 2</li> <li>51–70 ετών: 2</li> </ul>	Γυναίκες: <ul style="list-style-type: none"> <li>19–70 ετών: 5</li> </ul> Άνδρες: <ul style="list-style-type: none"> <li>19–50 ετών: 6</li> <li>51–70 ετών: 5½</li> </ul>		1 μερίδα ισοδυναμεί με 150 g ή <ul style="list-style-type: none"> <li>• 1 μεσαίου μεγέθους φρούτο,</li> <li>• 2 μικρού μεγέθους φρούτα,</li> <li>• 1 φλ. τεμαχισμένα ή κονσερβοποιημένα φρούτα</li> <li>• ½ φλ. 100% φυσικό χυμό</li> <li>• 30 g αποξηραμένα φρούτα ή 1½ κ.σ. σταφίδες</li> </ul> 1 φλιτζάνι= 250 mL	1 μερίδα ισοδυναμεί με 75 g ή: <ul style="list-style-type: none"> <li>• ½ φλ. μαγειρεμένα πράσινα ή πορτοκαλί λαχανικά</li> <li>• 1 φλ. πράσινα φυλλώδη ή ωμά λαχανικά</li> <li>• 1 μέτριο μεγέθους ντομάτα</li> <li>• ½ φλ. καλαμπόκι</li> <li>• ½ μεσαίου μεγέθους πατάτα ή άλλο αμυλώδες λαχανικό</li> </ul> 1 φλιτζάνι=250 mL

1 φλ.=1 φλιτζάνι, g=γραμμάρια

\*Λαχανικά με &gt;2 g φυτικές ίνες: μπρόκολο, άσπρο λάχανο, φασόλια, μπιζελία, σπανάκι, καρότα κ.ά.

\*\*Λαχανικά με &lt;2 g φυτικές ίνες: μαρούλι, ντομάτες, αγγούρι, πιπεριά, κρεμμύδι και μανιτάρια κ.ά.

\*\*\* Οι ποσότητες αναφέρονται σε άτομα που κάνουν λιγότερο από 30 min μέτριας έντασης φυσική δραστηριότητα την ημέρα, πέρα από τις καθημερινές δραστηριότητες. Άτομα με πιο έντονη σωματική δραστηριότητα μπορούν να καταναλώνουν περισσότερο.

σης για τη σχέση της πρόσληψης λαχανικών και φρούτων με τη νοσηρότητα από χρόνια νοσήματα και (β) οι ποσοτικές και ποιοτικές συστάσεις για την πρόσληψη λαχανικών και φρούτων για τον ενήλικο, κατά τεκμήριο υγιή, πληθυσμό στην Ελλάδα καθώς και οι παράμετροι που συνεκτιμήθηκαν για τη διαμόρφωσή τους.

## 2. Υψικό και μέθοδος

### 2.1. Αξιολόγηση της επιστημονικής τεκμηρίωσης των ερευνητικών δεδομένων

Μελετήθηκε η σχέση της πρόσληψης λαχανικών και φρούτων με την επίπτωση των κυριότερων, μη-μεταδιδόμενων, χρόνιων νοσημάτων στην Ελλάδα και συγκεκριμένα με την επίπτωση των καρδιαγγειακών νοσημάτων (κυρίως της στεφανιαίας νόσου και των αγγειακών εγκεφαλικών επεισοδίων), του σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2 και των κακοήθων νεοπλασιών. Δευτερευόντως, μελετήθηκε και η σχέση με τη θνησιμότητα από τα νοσήματα αυτά. Προκειμένου να αξιολογηθούν τα υπάρχοντα ερευνητικά δεδομένα και να διατυπωθούν οι συστάσεις έγινε διαβάθμιση (ή αλλιώς ταξινόμηση ή ιεράρχηση) της επιστημονικής τεκμηρίωσης/γνώσης (grading the evidence) ακολουθώντας τα παρακάτω βήματα:

*1ο Βήμα:* Την αναζήτηση και καταγραφή των συμπερασμάτων της διαβάθμισης, για την υπό εξέταση σχέση, διεθνών και εθνικών οργανισμών/φορέων υγείας. Από την αναζήτηση εντοπίστηκαν και καταγράφηκαν τα πορίσματα του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (ΠΟΥ) το 2003,<sup>14</sup> του Παγκόσμιου Ταμείου για την Έρευνα για τον Καρκίνο (World Cancer Research Fund, WCRF) το 2007,<sup>7</sup> της Συμβουλευτικής Επιτροπής για τις Διατροφικές Οδηγίες (Dietary Guidance Advisory Committee, USDA) των ΗΠΑ για την έκδοση των διατροφικών οδηγιών το 2010<sup>15</sup> και του Εθνικού Ιατρικού Ερευνητικού Κέντρου (National Health Medical Research Center, NHMRC)<sup>13</sup> της Αυστραλίας για την έκδοση των διατροφικών οδηγιών το 2013.

*2ο Βήμα:* Την ανασκόπηση της βιβλιογραφίας (με έμφαση στις μετα-αναλύσεις) στη βάση δεδομένων PubMed από το έτος 2008 (έναν χρόνο νωρίτερα από την τελευταία ανασκόπηση που διεξήχθη στο πλαίσιο της επιστημονικής τεκμηρίωσης των διατροφικών οδηγιών της Αυστραλίας από το NHMRC) μέχρι τον Νοέμβριο του 2014 (για την εργασία αυτή) με στόχο να εντοπιστούν τα νεότερα ερευνητικά δεδομένα που δεν είχαν συμπεριληφθεί στη διαβάθμιση των φορέων που εντοπίστηκαν στο Βήμα 1. Η αναζήτηση πραγμα-

τοποιήθηκε με τη χρήση λέξεων «κλειδιά» ανάλογα με το εξεταζόμενο νόσημα. Επιπλέον, πραγματοποιήθηκε αναζήτηση στις βιβλιογραφικές αναφορές των πλήρων άρθρων, για την εύρεση εργασιών που δεν είχαν βρεθεί μέσω της αναζήτησης στη βάση δεδομένων.

*3ο Βήμα:* Για την τελική αξιολόγηση της επιστημονικής τεκμηρίωσης της υπό εξέταση σχέσης που θα καθορίσει και τη διατύπωση της τελικής σύστασης/οδηγίας, με βάση τα αποτελέσματα των Βημάτων 1 και 2 (παραθέτονται συνοπτικά στον πίνακα 3) χρησιμοποιήθηκε συνδυασμός Τάξεων και Επιπέδων (πίν. 4). Οι Τάξεις των συστάσεων που διακρίνονται σε 3 διαβαθμίσεις (Τάξη I, II, III) και αφορούν στο σύνολο των ερευνητικών δεδομένων που έχουν αξιολογηθεί, αποτυπώνουν την ύπαρξη και την κατεύθυνση της συσχέτισης μεταξύ του εξεταζόμενου διατροφικού παράγοντα και της εξεταζόμενης έκβασης και το επίπεδο συμφωνίας μεταξύ των ερευνών και των ερευνητών για τη σχέση αυτή. Η διαβάθμιση της Τάξης καθορίζει τη διατύπωση της σύστασης/οδηγίας. Τα Επίπεδα διακρίνονται επίσης σε 3 διαβαθμίσεις (Α, Β και Γ) και αφορούν στον τύπο και στη μεθοδολογία των ερευνών από τις οποίες προέρχονται τα εκάστοτε ερευνητικά δεδομένα. Η διαβάθμιση αυτή βασίστηκε στην αντίστοιχη που έχει αναπτυχθεί από την Ευρωπαϊκή Εταιρεία Καρδιολογίας (European Society of Cardiology, Recommendations for Guidelines Production, [www.escardiol.org/knowledge/guidelines/rules](http://www.escardiol.org/knowledge/guidelines/rules)) με τροποποιήσεις που έγιναν στη συνέχεια από την ερευνητική ομάδα προκειμένου να εκφραστεί καλύτερα η φύση των δεδομένων της διατροφής που διαφέρει σε σχέση με τη φαρμακευτική ή άλλη θεραπευτική αγωγή.<sup>17</sup>

### 2.2. Λαχανικά και φρούτα:

*Ποια τρόφιμα περιλαμβάνονται σε αυτές τις ομάδες τροφίμων*

Για τη μελέτη της επίδρασης των λαχανικών και φρούτων στην υγεία, όπως και για τη διατύπωση των διατροφικών συστάσεων/οδηγιών για τον γενικό πληθυσμό, ήταν ανάγκη να διευκρινιστεί ποια τρόφιμα συμπεριλαμβάνονται στις συγκεκριμένες ομάδες τροφίμων. Το σημείο αυτό δεν διευκρινίζεται σε όλες τις μελέτες, ενώ οι ερευνητές δεν συμφωνούν πάντα με την κατάταξη μεμονωμένων τροφίμων στις συγκεκριμένες ομάδες τροφίμων. Χαρακτηριστικά παραδείγματα αποτελούν η πατάτα, που ενώ σύμφωνα με τη βοτανολογική της προέλευση ανήκει στα λαχανικά, λόγω της υψηλής της περιεκτικότητας σε άμυλο (περίπου 15–20%) κατατάσσεται συχνά στην ομάδα των δημητριακών, όπως και το αγγούρι, η πιπεριά, το κολοκύθι και η ντομάτα, που ενώ ανήκουν βοτανολογικά

**Πίνακας 3.** Διαβάθμιση επιστημονικής τεκμηρίωσης επιλεγμένων διεθνών και εθνικών Οργανισμών/Φορέων υγείας καθώς και ευρήματα μετα-αναλύσεων (μετά το έτος 2008) για τη σχέση της πρόσληψης λαχανικών και φρούτων με τα καρδιαγγειακά νοσήματα, τον σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 και τις κακοήθεις νεοπλασίες διαφόρων εντοπίσεων

Οργανισμοί/Φορείς υγείας	WCRF (2007) <sup>1</sup>	WHO (2003) <sup>7</sup>	USDA (2010) <sup>8</sup>	NHMRC (2011) <sup>9</sup>	Μετα-αναλύσεις (2008+)
Καρδιαγγειακά νοσήματα	-	Φρούτα & λαχανικά ↓↓↓	Φρούτα & λαχανικά (>5 μερίδες/ημέρα) ↓↓	-	Wang et al 2014 <sup>1</sup> : Φρούτα & λαχανικά ↓
Στεφανιαία νόσος	-	-	Φρούτα & λαχανικά ↓↓	Λαχανικά ↓↓ Φρούτα ↓↓	Mente et al 2009 <sup>5</sup> : Φρούτα & λαχανικά ↓
Αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια	-	-	Φρούτα & λαχανικά ↓↓	Λαχανικά ↓↓ Φρούτα ↓↓	Hu et al 2014 <sup>2</sup> : Φρούτα & λαχανικά ↓
Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2			Φρούτα & λαχανικά ↓	Λαχανικά ° Φρούτα ↓	Cooper et al 2012 <sup>3</sup> : Φρούτα & λαχανικά (>5 vs 2 μερίδες/ημέρα) ↓ Φρούτα °, Λαχανικά ° Βολβόι (2 μερίδες vs 0 μερίδες/εβδ) ↓ Πράσινα φυλλώδη λαχανικά (>5 vs 1 μερίδα/εβδομάδα) ↓  Carter et al 2010 <sup>32</sup> : Φρούτα & λαχανικά °, Φρούτα °, Λαχανικά °, Πράσινα φυλλώδη λαχανικά ↓
Κακοήθεις νεοπλασίες					
Παχέος εντέρου**	Τρόφιμα που περιέχουν φυτικές ίνες ↓↓↓ Λαχανικά ↓ Σκόρδο ↓↓ Φρούτα ↓	Φρούτα & λαχανικά ↓↓		Φρούτα & λαχανικά ↓ Λαχανικά ~ Σπανάκι ↓ Σταυρανθή λαχανικά ° # Καρότα °, Πατάτες ° Φασόλια °, Φακές ° Φρούτα °	Aune et al 2011 <sup>6</sup> : Φρούτα και λαχανικά ↓, Φρούτα ↓, Λαχανικά ↓ Wu et al 2013 <sup>35</sup> : Σταυρανθή λαχανικά ° (οριακή σημαντική προστατευτική σχέση) Johnson et al 2013 <sup>33</sup> : Φρούτα ↓, Λαχανικά ↓
Στοματικής κοιλότητας	Λαχανικά ↓↓, Φρούτα ↓↓ Αμυλώδεις βολβοί ~ <sup>‡</sup>	Φρούτα & λαχανικά ↓↓		Λαχανικά ↓ Φρούτα ↓	
Φάρυγγα	Λαχανικά ↓↓, Φρούτα ↓↓ Αμυλώδεις βολβοί ~				
Λάρυγγα	Λαχανικά ↓↓, Φρούτα ↓↓ Αμυλώδεις βολβοί ~				
Οισοφάγου	Λαχανικά ↓↓, Φρούτα ↓↓ Αμυλώδεις βολβοί ~	Φρούτα & λαχανικά ↓↓		Λαχανικά ° Φρούτα ~	Islami et al 2009 <sup>92</sup> : Λαχανικά τουρσί °
Στομάχου	Λαχανικά ↓↓, Φρούτα ↓↓ Βολβώδη λαχανικά (allium) ↓↓ <sup>†</sup> Πατάτες ~, Αμυλώδεις βολβοί ~	Φρούτα & λαχανικά ↓↓		Λαχανικά ~ Φρούτα ~	

(Συνεχίζεται)

**Πίνακας 3.** (Συνέχεια)

Οργανισμοί/Φορείς υγείας	WCRF (2007) <sup>1</sup>	WHO (2003) <sup>7</sup>	USDA (2010) <sup>8</sup>	NHMRC (2011) <sup>9</sup>	Μετα-αναλύσεις (2008+)
Πνεύμονα	Λαχανικά ↓, Φρούτα ↓↓ Αμυλώδεις βολβοί ~			Λαχανικά ~, Φρούτα ~ Σταυρανθή ↓	Wakai et al 2011 <sup>37</sup> : Φρούτα °
Ρινοφάρυγγα	Λαχανικά ↓, Φρούτα ↓ Ραπανάκι τουρσί ~			Λαχανικά ↓ Φρούτα ↓	
Μαστού*	Λαχανικά ~ Φρούτα ~			Φρούτα ° Λαχανικά ~	Jung et al 2013 <sup>39</sup> : Λαχανικά ER (-) ↓, Λαχανικά ER (+) °, Φρούτα ER (-) ° Aune et al 2012 <sup>38</sup> : Φρούτα και λαχανικά ↓, Φρούτα ↓, Λαχανικά °

<sup>‡</sup>Αμυλώδεις βολβοί: πατάτα, γλυκοπατάτα, ρίζες, μανιόκα, κ.ά., <sup>†</sup>Βολβώδη λαχανικά: σκόρδο, κρεμμύδι, πράσο, κ.ά. <sup>\*\*</sup>Σταυρανθή λαχανικά: κουνουπίδι, μπρόκολο, λάχανο, κ.ά. WCRF: \* 2010, \*\*2011

ER: Estrogen Receptor

WHO: ↓↓↓: convincing evidence, πειστικές ενδείξεις, μείωση κινδύνου, ↓↓: probable evidence, αρκετά πιθανές ενδείξεις, μείωση κινδύνου, ↓: possible evidence, πιθανές ενδείξεις, μείωση κινδύνου,

↑↑↑: convincing evidence, πειστικές ενδείξεις, αύξηση κινδύνου, ↑↑: probable evidence, αρκετά πιθανές ενδείξεις, αύξηση κινδύνου, ↑: possible evidence, πιθανές ενδείξεις, αύξηση κινδύνου, °: no relationship, δεν υπάρχει συσχέτιση, ~: insufficient, ανεπαρκείς ενδείξεις

WCRF: ↓↓↓: convincing evidence, πειστικές ενδείξεις, μείωση κινδύνου, ↓↓: probable evidence, αρκετά πιθανές ενδείξεις, μείωση κινδύνου, ↓: limited/suggestive evidence, περιορισμένες ενδείξεις, μείωση κινδύνου,

↑↑↑: convincing evidence, πειστικές ενδείξεις, αύξηση κινδύνου, ↑↑: probable evidence, αρκετά πιθανές ενδείξεις, αύξηση κινδύνου, ↑: limited/suggestive evidence, περιορισμένες ενδείξεις, αύξηση κινδύνου, °: substantial effect on risk unlikely, είναι σχεδόν απίθανο να υπάρχει συσχέτιση, ~: limited/no conclusion, ανεπαρκείς ενδείξεις

USDA-DGAC: ↓↓↓: Strong (evidence), ισχυρές ενδείξεις, μείωση κινδύνου, ↓↓: Moderate, μέτριες ενδείξεις, μείωση κινδύνου, ↓: Limited, περιορισμένες ενδείξεις, μείωση κινδύνου,

↑↑↑: Strong, ισχυρές ενδείξεις αύξηση κινδύνου, ↑↑: Moderate, μέτριες ενδείξεις, αύξηση κινδύνου, ↑: Limited, περιορισμένες ενδείξεις, αύξηση κινδύνου,

°°°: ισχυρές ενδείξεις, δεν υπάρχει συσχέτιση, °°: Moderate, μέτριες ενδείξεις, δεν υπάρχει συσχέτιση, °: Limited, περιορισμένες ενδείξεις δεν υπάρχει συσχέτιση, ~: Expert Opinion Only, Grade Not Assignable: γνώμη ειδικών μόνο, μη διαβαθμισμένο <http://www.nutritionevidencelibrary.com/topic.cfm?cat=3210>

NHMRC, Commonwealth of Australia: ↓↓↓: Grade A (convincing association), πειστική συσχέτιση, μείωση του κινδύνου, ↓↓: Grade B (probable association), αρκετά πιθανή συσχέτιση, μείωση του κινδύνου, ↓: Grade C (suggestive association), πιθανή συσχέτιση, μείωση του κινδύνου, ↑↑↑: Grade A (convincing association), πειστική συσχέτιση, αύξηση του κινδύνου, ↑↑: Grade B (probable association), αρκετά πιθανή συσχέτιση, αύξηση του κινδύνου, ↑: Grade C (suggestive association), πιθανή συσχέτιση, αύξηση του κινδύνου, °°°: Grade A (convincing association), πειστική, δεν υπάρχει συσχέτιση, °°: Grade B (probable association), πολύ πιθανή, δεν υπάρχει συσχέτιση, °: Grade C (suggestive association), πιθανή, δεν υπάρχει συσχέτιση, ~: Grade D indicates that the body of evidence is weak and any recommendation must be applied with caution, ασθενή δεδομένα για ασφαλείς συστάσεις.

Πρόσφατες μετα-αναλύσεις (2008 +): ↓: μείωση του κινδύνου, ↑: αύξηση του κινδύνου, °: δεν υπάρχει συσχέτιση

στα φρούτα, κατατάσσονται κατά κανόνα στα λαχανικά.<sup>7,18-20</sup> Επίσης, σε κάποιες περιπτώσεις στην ομάδα των λαχανικών συμπεριλαμβάνονται και τα όσπρια.

### 2.3. Διαμόρφωση διατροφικών συστάσεων για τον γενικό πληθυσμό

Προκειμένου να διαμορφωθούν οι ποσοτικές και ποιοτικές συστάσεις/οδηγίες για την πρόσληψη λαχανικών και φρούτων από τον ενήλικο, κατά τεκμήριο υγιή, πληθυσμό (ηλικίας 18-65 ετών) στην Ελλάδα μελετήθηκαν και συνεκτιμήθηκαν, σύμφωνα και με τις συστάσεις διεθνών οργανισμών,<sup>71,72</sup> εκτός από τα αποτελέσματα της διαβάθμισης της επιστημονικής τεκμηρίωσης, επιπλέον σημαντικές παράμετροι:

α. Οι διατροφικές συνήθειες του ελληνικού πληθυσμού στην παρούσα χρονική περίοδο και οι διαχρονικές μεταβολές τους. Στο πλαίσιο αυτό έγινε αναζήτηση και καταγραφή των στοιχείων κατανάλωσης λαχανικών και φρούτων για την Ελλάδα από τρεις διαθέσιμες πηγές διατροφικών πληροφοριών: τα Φύλλα Ισοζυγίου Τροφίμων από τη βάση δεδομένων FAOSTAT του Οργανισμού Τροφίμων και Γεωργίας των Ηνωμένων Εθνών (FAO), τις Έρευνες Οικογενειακών Προϋπολογισμών της βάσης δεδομένων του προγράμματος DAFNE (Data Food Networking) και τις δημοσιευμένες επιδημιολογικές διατροφικές έρευνες με στοιχεία για την κατανάλωση τροφίμων σε επίπεδο ατόμου.

**Πίνακας 4.** Διαβάθμιση της τάξης των συστάσεων

Τάξη σύστασης	Ορισμός τάξης	Προτεινόμενη διατύπωση σύστασης
Τάξη I	Γενική ευρεία συμφωνία επιστημονικών δεδομένων ή/και μεγάλων οργανισμών (WCRF, WHO, USDA, συστάσεις Αυστραλίας κ.ά.) ότι ένα τρόφιμο ή μία ομάδα τροφίμων έχει ευεργετική (ή επιβαρυντική αντίστοιχα) δράση για την υγεία	Συνιστάται η κατανάλωση (ή ο περιορισμός αντίστοιχα) του τροφίμου ή της ομάδας τροφίμων
Τάξη II	Αντικρουόμενα επιστημονικά δεδομένα ή/και ασυμφωνία μεγάλων οργανισμών αναφορικά με τις επιδράσεις ενός τροφίμου ή μίας ομάδας τροφίμων στην υγεία	
Τάξη IIα	Η πλειοψηφία των επιστημονικών δεδομένων/απόψεων συγκλίνει ότι το τρόφιμο ή η ομάδα τροφίμων έχει ευεργετική (ή επιβαρυντική αντίστοιχα) δράση για την υγεία	Προτείνεται η κατανάλωση (ή ο περιορισμός αντίστοιχα) του τροφίμου ή της ομάδας τροφίμων
Τάξη IIβ	Η πλειοψηφία των επιστημονικών δεδομένων/απόψεων συγκλίνει ότι δεν παρατηρείται κάποια συσχέτιση του τροφίμου ή της ομάδας τροφίμων με την υγεία	Δεν φαίνεται να υπάρχει κάποια επίδραση του τροφίμου ή της ομάδας τροφίμων στην υγεία, ούτως ώστε να δικαιολογεί τη σύσταση για κατανάλωση ή περιορισμό, αντίστοιχα
Τάξη IIγ	Τα επιστημονικά δεδομένα/απόψεις δεν είναι επαρκή, ούτως ώστε να τεκμηριωθεί η σχέση του τροφίμου ή της ομάδας τροφίμων για την υγεία	Οποιαδήποτε σύσταση θα πρέπει να δίνεται με προσοχή
Τάξη III	Γενική ευρεία συμφωνία επιστημονικών δεδομένων ή/και μεγάλων οργανισμών (WCRF, WHO, USDA, συστάσεις Αυστραλίας, κ.ά.) ότι ένα τρόφιμο ή μία ομάδα τροφίμων δεν έχει κάποια επίδραση στην υγεία	Δεν παρατηρείται κάποια επίδραση του τροφίμου ή της ομάδας τροφίμων στην υγεία, ούτως ώστε να δικαιολογεί τη σύσταση για κατανάλωση ή περιορισμό αντίστοιχα
Διαβάθμιση του Επιπέδου των Συστάσεων με βάση τον τύπο των μελετών		
Επίπεδο Α	Τα δεδομένα προέρχονται από $\geq 1$ μετα-αναλύσεις προοπτικών μελετών ή τυχαιοποιημένων κλινικών δοκιμών ή/και $\geq 1$ πολυκεντρικές τυχαιοποιημένες κλινικές δοκιμές	
Επίπεδο Β	Τα δεδομένα προέρχονται από $\geq 2$ τυχαιοποιημένες κλινικές δοκιμές ή $\geq 2$ προοπτικές επιδημιολογικές μελέτες ή $\geq 5$ επιδημιολογικές μελέτες ασθενών-μαρτύρων ή $\geq 5$ μη τυχαιοποιημένες κλινικές δοκιμές	
Επίπεδο Γ	Συμφωνία των ειδικών ή/και δεδομένα από μη πειραματικές επιδημιολογικές μελέτες (συγχρονικές και ασθενών-μαρτύρων)	

β. Η θέση των συγκεκριμένων ομάδων τροφίμων στις προτιμήσεις και τη διατροφική παράδοση των Ελλήνων διαχρονικά καθώς και η διαθεσιμότητά τους στην Ελλάδα.

γ. Η διασφάλιση της υιοθέτησης του συνολικού διατροφικού προτύπου της ελληνικής παραδοσιακής διατροφής, που αποτελεί μία από τις εκδοχές της παραδοσιακής μεσογειακής διατροφής, και ένα από τα γνωστότερα διατροφικά πρότυπα για τα οφέλη του στην υγεία.<sup>21,22</sup>

δ. Οι διατροφικές οδηγίες για τους ενήλικες στην Ελλάδα που εκδόθηκαν το 1999 από το Ανώτατο Ειδικό Επιστημονικό Συμβούλιο Υγείας (ΑΕΕΣΥ) του Υπουργείου Υγείας.<sup>23</sup>

ε. Οι διατροφικές συστάσεις/οδηγίες αναγνωρισμένων διεθνών οργανισμών υγείας καθώς και σχετικών τμημάτων πανεπιστημίων, ιδρυμάτων και φορέων διεθνούς κύρους καθώς και οι πλέον πρόσφατες διατροφικές συστάσεις ευρωπαϊκών και άλλων χωρών με παράδοση στη σύνταξη διατροφικών συ-

στάσεων, όπως οι ΗΠΑ και η Αυστραλία (πίνακες 1 και 2).

στ. Οι διατροφικές συστάσεις σε επίπεδο θρεπτικών συστατικών και συγκεκριμένα, οι Διατροφικές ή Διαιτητικές Τιμές Αναφοράς (Dietary Reference Values, DRV).<sup>24,25</sup> Οι τιμές αυτές αποτελούν ομάδα τιμών (συνήθως 3–6 τιμές) που αναφέρονται στην πρόσληψη ενός θρεπτικού συστατικού με στόχο να αποφευχθεί η ανεπάρκεια ή η υπερκατανάλωσή του, να καλυφθούν οι μεταβολικές ανάγκες του οργανισμού για τη διατήρηση και την αύξηση καθώς και για να προληφθούν χρόνια νοσήματα. Οι τιμές αυτές συνιστάται να λαμβάνονται υπ' όψιν κατά τη διαμόρφωση διατροφικών συστάσεων σε επίπεδο τροφίμων.<sup>11,12</sup>

ζ. Η ανάγκη οι διατροφικές συστάσεις καθώς και οι καλλιέργειες, η παραγωγή και η επεξεργασία των τροφίμων που θα προταθούν να συμβαδίζουν με τον σεβασμό για το περιβάλλον, την προστασία και τη διατήρησή του. Επιπλέον, συνεκτιμήθηκαν το

κόστος αγοράς των τροφίμων και η ανάγκη ενίσχυσης της τοπικής παραγωγής.

Οι τελικές διατροφικές συστάσεις διαμορφώθηκαν, μετά την εκτίμηση όλων παραπάνω παραμέτρων, από τη συνεργασία επιτροπής διακεκριμένων επιστημόνων που συγκροτήθηκε ειδικά για τον σκοπό αυτόν και της ερευνητικής ομάδας ανάπτυξης του έργου «Δημιουργία και ευρεία διάχυση Γενικού και Ειδικών Εθνικών Διατροφικών Οδηγών-ΕΥ ΔΙΑ...ΤΡΟΦΗΝ». Το έργο πραγματοποιήθηκε κατά το χρονικό διάστημα 2011–2014 και συγχρηματοδοτήθηκε από το Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο και από εθνικούς πόρους με φορέα λειτουργίας το Υπουργείο Υγείας.

### 3. Αποτελέσματα

#### 3.1. Πρόσληψη λαχανικών και φρούτων και καρδιαγγειακά νοσήματα

Η προστατευτική συσχέτιση της πρόσληψης λαχανικών και φρούτων έναντι των καρδιαγγειακών νοσημάτων αξιολογείται ως πειστική (ή ισχυρή) ή ως αρκετά πιθανή από τους διεθνείς οργανισμούς και τους εθνικούς φορείς που έχουν διεξάγει διαβάθμιση της επιστημονικής τεκμηρίωσης. Τα νεότερα ερευνητικά δεδομένα από μετα-αναλύσεις (κυρίως προοπτικών ερευνών) που δημοσιεύθηκαν κατά το διάστημα 2008–2014 επιβεβαιώνουν την κατεύθυνση και τον βαθμό της συσχέτισης.<sup>1,2,5,13–15</sup> Στον πίνακα 3 παρουσιάζονται αναλυτικά τα στοιχεία αυτά. Η σχέση είναι ευθέως αντίστροφη, ενώ δεν έχει βρεθεί ανώτατο όριο πέραν του οποίου η κατανάλωση λαχανικών και φρούτων σταματά να επιδρά ευεργετικά στην υγεία.

Συγκεκριμένα, αναφορικά με την επίπτωση της στεφανιαίας νόσου, η πρόσληψη λαχανικών και φρούτων μαζί έχει συσχετιστεί με 17% μικρότερο κίνδυνο [Σχετικός Κίνδυνος (ΣΚ): 0,83, 95% Διάστημα Εμπιστοσύνης (95% ΔΕ): 0,77–0,89] όταν καταναλώνονται περισσότερες από 5 μερίδες (>391 g) σε σχέση με λιγότερες από 3 μερίδες (<235 g) την ημέρα,<sup>26</sup> 4% μικρότερο κίνδυνο (ΣΚ: 0,96, 95% ΔΕ: 0,93–0,99) ανά μερίδα (περίπου 106 g) αύξησης κατανάλωσης λαχανικών και φρούτων την ημέρα<sup>27</sup> και 21% μικρότερο κίνδυνο (ΣΚ: 0,79, 95% ΔΕ: 0,72–0,87) μεταξύ της υψηλότερης και της χαμηλότερης πρόσληψης λαχανικών και φρούτων μαζί.<sup>5</sup>

Αναφορικά με τα αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια, η αύξηση της πρόσληψης φρούτων (κατά 200 g/ημέρα) βρέθηκε ότι μειώνει κατά 32% (ΣΚ: 0,68, 95% ΔΕ: 0,56–0,82), και λαχανικών (κατά 200 g/ημέρα) κατά 11% (ΣΚ: 0,89, 95% ΔΕ: 0,81–0,98) τον κίνδυνο εμφάνισης αγγειακών εγκεφαλικών επεισοδίων.<sup>2</sup>

Σε σχέση με τη θνησιμότητα από καρδιαγγειακά νοσήματα, πρόσφατη μετα-ανάλυση έδειξε ότι η κατανάλωση κάθε επιπλέον μερίδας φρούτων και λαχανικών μαζί, οδηγεί σε μείωση της θνησιμότητας κατά 4% (ΣΚ: 0,96, 95% ΔΕ: 0,92–0,99), κάθε επιπλέον μερίδα φρούτων (80 g) σε μείωση κατά 5%, οριακά στατιστικά σημαντικά (ΣΚ: 0,95, 95% ΔΕ: 0,91–1,00) και κάθε μερίδα λαχανικών (77 g) σε μείωση κατά 4% (ΣΚ: 0,96, 95% ΔΕ: 0,93–0,99).<sup>1</sup>

Με βάση τα παραπάνω, η διαβάθμιση της επιστημονικής τεκμηρίωσης της εν λόγω συσχέτισης αξιολογήθηκε ως υψηλή για τη διαμόρφωση συστάσεων πρόσληψης λαχανικών και φρούτων από τον γενικό πληθυσμό (Τάξη I, Επίπεδο A), καθώς υπάρχει ευρεία συμφωνία των επιστημονικών δεδομένων ότι η κατανάλωσή τους συμβάλλει στην πρόληψη της στεφανιαίας νόσου και των αγγειακών εγκεφαλικών επεισοδίων, και τα στοιχεία προκύπτουν από περισσότερες από μία μετα-αναλύσεις προοπτικών ερευνών (πίν. 5).

#### 3.2. Δεδομένα από μελέτες που διενεργήθηκαν στον ελληνικό πληθυσμό

Δεδομένα από την ελληνική συμμετοχή στη μελέτη ΕΠΙΚ έδειξαν ότι η κατανάλωση φρούτων συσχετίστηκε με μικρότερη νοσηρότητα και θνησιμότητα από στεφανιαία νόσο στις γυναίκες.<sup>28</sup> Η μελέτη ασθενών-μαρτύρων CARDIO2000 έδειξε ότι τα άτομα με υψηλή κατανάλωση φρούτων (≥5 την ημέρα) σε σχέση με αυτά με χαμηλή κατανάλωση (<1 την ημέρα) εμφάνιζαν κατά 72% μικρότερο κίνδυνο στεφανιαίας νόσου [Σχετικός Λόγος (ΣΛ): 0,28, 95% ΔΕ: 0,11–0,54]. Ομοίως, η κατανάλωση λαχανικών >3 ημέρες την εβδομάδα συσχετίστηκε με μείωση της εμφάνισης οξέος στεφανιαίου συνδρόμου (οξύ έμφραγμα μυοκαρδίου ή ασταθής στηθάγχη) κατά 70% (ΣΛ: 0,30, 95% ΔΕ: 0,22–0,40), ενώ για κάθε φρούτο που καταναλώθηκε την ημέρα, η πιθανότητα εμφά-

**Πίνακας 5.** Πίνακας αποτελεσμάτων διαβάθμισης της ερευνητικής υπόθεσης ότι «Η υψηλότερη σε σχέση με τη χαμηλότερη πρόσληψη λαχανικών και φρούτων σχετίζεται με ευεργετικές επιδράσεις στην ανθρώπινη υγεία, και συγκεκριμένα χαμηλότερο κίνδυνο καρδιαγγειακών νοσημάτων, σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2 και κακοήθων νεοπλασιών»

Ερευνητική υπόθεση		Τάξη	Επίπεδο
Η υψηλότερη, σε σχέση με τη χαμηλότερη, πρόσληψη λαχανικών και φρούτων σχετίζεται με ευεργετικές επιδράσεις στην ανθρώπινη υγεία	Καρδιαγγειακά νοσήματα	I	A
	Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2	II α <sup>‡</sup>	A
	Κακοήθεις νεοπλασίες	I*	A
		IIa**	

\*Τάξη I: Ισχύει για τον καρκίνο του παχέος εντέρου και της στοματικής κοιλότητας

\*\* Τάξη II α: Ισχύει για τον καρκίνο του οισοφάγου και του στομάχου, ‡ Ισχύει κυρίως για τα πράσινα φυλλώδη λαχανικά,

Τάξη I: Γενική ευρεία συμφωνία επιστημονικών δεδομένων και/ή μεγάλων οργανισμών (WCRF, ΠΟΥ, USDA, συστάσεις Αυστραλίας, κ.ά.) ότι ένα τρόφιμο ή ομάδα τροφίμων έχει ευεργετική (ή επιβαρυντική αντίστοιχα) δράση για την ανθρώπινη υγεία

Τάξη IIα: Η πλειοψηφία των επιστημονικών δεδομένων/απόψεων συγκλίνει ότι το τρόφιμο ή η ομάδα τροφίμων έχει ευεργετική (ή επιβαρυντική αντίστοιχα) δράση για την ανθρώπινη υγεία

Τάξη IIβ: Η πλειοψηφία των επιστημονικών δεδομένων/απόψεων συγκλίνει ότι δεν παρατηρείται κάποια συσχέτιση του τροφίμου ή της ομάδας τροφίμων με την ανθρώπινη υγεία

Τάξη IIγ: Τα επιστημονικά δεδομένα/απόψεις δεν είναι επαρκή για να τεκμηριωθεί η σχέση του τροφίμου ή ομάδας τροφίμων με την ανθρώπινη υγεία

Επίπεδο A: Τα δεδομένα προέρχονται από  $\geq 1$  μετα-αναλύσεις προοπτικών μελετών ή τυχαιοποιημένων κλινικών δοκιμών ή/και  $\geq 1$  πολυκεντρικές τυχαιοποιημένες κλινικές δοκιμές

Επίπεδο B: Τα δεδομένα προέρχονται από  $\geq 2$  τυχαιοποιημένες κλινικές δοκιμές ή  $\geq 2$  προοπτικές επιδημιολογικές μελέτες ή  $\geq 5$  επιδημιολογικές μελέτες ασθενών-μαρτύρων ή  $\geq 5$  μη-τυχαιοποιημένες κλινικές δοκιμές

Επίπεδο Γ: Συμφωνία των ειδικών και/ή δεδομένα από συγχρονικές επιδημιολογικές μελέτες ή επιδημιολογικές μελέτες ασθενών-μαρτύρων

νισης του συνδρόμου αυτού μειώθηκε κατά 10% (ΣΛ: 0,90, 95% ΔΕ: 0,85–0,97).<sup>29</sup> Ωστόσο, οι περισσότερες μελέτες που έχουν διενεργηθεί στον ελληνικό πληθυσμό, έχουν μελετήσει το συνολικό διατροφικό πρότυπο σε σχέση με τα χρόνια νοσήματα και όχι τη μεμονωμένη κατανάλωση λαχανικών και φρούτων.<sup>30–31</sup>

### 3.3. Πρόσληψη λαχανικών και φρούτων και σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2

Η προστατευτική επίδραση της πρόσληψης λαχανικών και φρούτων στην πρόληψη του σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2 αξιολογείται ως αρκετά πιθανή από τους περισσότερους διεθνείς οργανισμούς και τους εθνικούς φορείς που έχουν διεξάγει διαβάθμιση της επιστημονικής τεκμηρίωσης. Επιπλέον, τα νεότερα ερευνητικά δεδομένα από μετα-αναλύσεις ενισχύουν την τεκμηρίωση της ευεργετικής αυτής σχέσης (πίν. 3).<sup>3,13–15,32</sup>

Συγκεκριμένα, η κατανάλωση 5 μερίδων (400 g) την εβδομάδα πράσινων φυλλωδών λαχανικών σε σύγκριση με μία μερίδα (80 g) την εβδομάδα βρέθηκε ότι σχετίζεται με 8% (ΣΚ: 0,92, 95% ΔΕ: 0,87–0,97) μικρότερο κίνδυνο της νόσου, ενώ η κα-

τανάλωση 9 μερίδων συγκριτικά με μία μερίδα την εβδομάδα με μικρότερο κίνδυνο κατά 16% (ΣΚ: 0,84, 95% ΔΕ: 0,74–0,94).<sup>3</sup> Ανάλογα είναι και τα δεδομένα μετα-ανάλυσης όπου η υψηλότερη (143 g) συγκριτικά με τη χαμηλότερη πρόσληψη (21 g) πράσινων φυλλωδών λαχανικών φαίνεται να σχετίζεται με 14% (ΣΚ: 0,86, 95% ΔΕ: 0,77–0,97) μειωμένη επίπτωση σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2.<sup>32</sup>

Με βάση τα παραπάνω, η διαβάθμιση της επιστημονικής τεκμηρίωσης της εν λόγω συσχέτισης αξιολογήθηκε ως ικανοποιητική για τη σύνταξη συστάσεων (Τάξη IIα, Επίπεδο: (A) ειδικά για τα πράσινα φυλλώδη λαχανικά, δεδομένου ότι η πλειοψηφία των επιστημονικών δεδομένων συγκλίνει ότι η συγκεκριμένη ομάδα τροφίμων δρα προστατευτικά στην πρόληψη του σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2 και το επίπεδο των ερευνών που έχουν διεξαχθεί είναι υψηλό (πίν. 5).

### 3.4. Πρόσληψη λαχανικών και φρούτων και κακοήθεις νεοπλασίες

3.4.1. Παχύ έντερο. Η κατανάλωση λαχανικών και φρούτων σχετίζεται με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του παχέος εντέρου και η

συσχέτιση αυτή αξιολογείται ως πολύ πιθανή ή πιθανή από τους διεθνείς οργανισμούς και τους εθνικούς φορείς που έχουν διεξάγει διαβάθμιση της επιστημονικής τεκμηρίωσης. Οι νεότερες μετα-αναλύσεις επιβεβαιώνουν τη σχέση αυτή και ενισχύουν την τεκμηρίωσή της (πίνακες 3 και 5).

Συγκεκριμένα, η κατανάλωση 3 μερίδων φρούτων (450 g) την ημέρα συγκριτικά με τη μηδενική κατανάλωση σχετίστηκε με 16% μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του παχέος εντέρου (ΣΚ: 0,84, 95% ΔΕ: 0,75–0,96) και η κατανάλωση 5 μερίδων λαχανικών (375 g) την ημέρα σε σχέση με τη μηδενική, με 14% μειωμένο κίνδυνο (ΣΚ: 0,86, 95% ΔΕ: 0,78–0,94).<sup>33</sup> Παρόμοια ήταν και τα αποτελέσματα μετα-ανάλυσης όπου η πιθανότητα εμφάνισης καρκίνου του παχέος εντέρου, συγκρίνοντας την υψηλότερη με τη χαμηλότερη κατανάλωση, μειώθηκε κατά 8% (ΣΚ: 0,92, 95% ΔΕ: 0,86–0,99) από την κατανάλωση λαχανικών και φρούτων μαζί, κατά 10% (ΣΚ: 0,90, 95% ΔΕ: 0,83–0,98) από την κατανάλωση μόνο φρούτων και κατά 9% (ΣΚ: 0,91, 95% ΔΕ: 0,86–0,96) από την κατανάλωση μόνο λαχανικών,<sup>34</sup> ενώ ισχυρή προστατευτική δράση φαίνεται να έχουν τα σταυρανή λαχανικά (π.χ. μπρόκολο, λάχανο, κουνουπίδι).<sup>35</sup> Για τον λόγο αυτόν η διαβάθμιση της επιστημονικής τεκμηρίωσης της εν λόγω συσχέτισης αξιολογήθηκε ως υψηλή για τη σύνταξη συστάσεων (Τάξη Ι, Επίπεδο Α) (πίν. 5).

**3.4.2. Στοματική κοιλότητα.** Υπάρχει ευρεία συμφωνία των επιστημονικών δεδομένων ότι η κατανάλωση φρούτων και λαχανικών προστατεύει από την εμφάνιση καρκίνου της στοματικής κοιλότητας.<sup>7,13,14</sup> (πίν. 3). Ειδικότερα, η κατανάλωση κάθε επιπλέον μερίδας φρούτου/ημέρα φαίνεται ότι μειώνει σημαντικά τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του στόματος κατά 49% (ΣΛ: 0,51, 95% ΔΕ: 0,40–0,65), ενώ η κατανάλωση κάθε επιπλέον μερίδας λαχανικών/ημέρα κατά 50% (ΣΛ: 0,50, 95% ΔΕ: 0,38–0,65).<sup>36</sup> Για τον λόγο αυτόν η διαβάθμιση της επιστημονικής τεκμηρίωσης της εν λόγω συσχέτισης αξιολογήθηκε ως υψηλή για τη διαμόρφωση συστάσεων (Τάξη Ι, Επίπεδο Α) (πίν. 5).

**3.4.3. Άλλες εντοπίσεις.** Η πλειονότητα των επιστημονικών δεδομένων συγκλίνει ότι η κατανάλωση λαχανικών και φρούτων φαίνεται να δρα προστατευτικά έναντι της εμφάνισης καρκίνου

του στομάχου και του οισοφάγου.<sup>7,14</sup> Για τον λόγο αυτόν η διαβάθμιση της επιστημονικής τεκμηρίωσης αξιολογήθηκε ως αρκετά υψηλή (Τάξη ΙΙα, Επίπεδο Α) (πίν. 5).

Πιθανός είναι και ο προστατευτικός ρόλος της κατανάλωσης λαχανικών και φρούτων στην εμφάνιση καρκίνου του φάρυγγα και του λάρυγγα, αλλά και της κατανάλωσης φρούτων στην εμφάνιση καρκίνου του πνεύμονα (πίν. 3).<sup>7,13,37</sup> Πρόσφατα δεδομένα αναδεικνύουν επίσης μια πιθανή προστατευτική επίδραση της κατανάλωσης λαχανικών και/ή φρούτων έναντι της εμφάνισης καρκίνου του μαστού.<sup>38,39</sup> Ωστόσο, τα ευρήματα αυτά δεν είναι επαρκή για να τεκμηριωθούν σε υψηλό ή αρκετά υψηλό βαθμό οι παραπάνω αναφερόμενες συσχετίσεις.

### 3.5. Δεδομένα από μελέτες που διενεργήθηκαν στον ελληνικό πληθυσμό

Ευρήματα από την προοπτική μελέτη ΕΠΙΚ στον ελληνικό πληθυσμό έδειξαν ότι η αυξημένη κατανάλωση λαχανικών και φρούτων συσχετίστηκε με μείωση της επίπτωσης του καρκίνου κάθε εντόπισης κατά 6% για κάθε αύξηση ενός πεμπτημορίου κατανάλωσης των λαχανικών και φρούτων μαζί, κυρίως μεταξύ των γυναικών.<sup>40</sup> Επίσης, αρκετές έρευνες ασθενών-μαρτύρων έδειξαν ότι η κατανάλωση φρούτων και/ή λαχανικών μειώνει σημαντικά την πιθανότητα εμφάνισης διαφόρων εντοπίσεων καρκίνου, όπως ο καρκίνος του στομάχου, του παχέος εντέρου, του μαστού, του πνεύμονα και του θυρεοειδούς.<sup>41–45</sup>

### 3.6. Θνησιμότητα από κάθε αιτία

Ενδιαφέρον παρουσιάζει και η μελέτη της σχέσης κατανάλωσης λαχανικών και φρούτων με τη μακροβιότητα και τη θνησιμότητα από κάθε αιτία. Δεδομένα προοπτικών μελετών δείχνουν ότι η υψηλή κατανάλωση φρούτων και λαχανικών σχετίζεται με μειωμένη θνησιμότητα από κάθε αιτία.<sup>1</sup> Ειδικότερα, πρόσφατα δεδομένα έδειξαν ότι η θνησιμότητα από κάθε αιτία μειώθηκε κατά 5% (ΣΚ: 0,95, 95% ΔΕ: 0,92–0,98) για κάθε αύξηση μερίδας φρούτων και λαχανικών μαζί, κατά 6% (ΣΚ: 0,94, 95% ΔΕ: 0,90–0,98) για κάθε αύξηση μερίδας φρούτων και κατά 5% (ΣΚ: 0,95, 95% ΔΕ: 0,92–0,99) για κάθε αύξηση μερίδας λαχανικών.<sup>1</sup>

Επιπλέον, η μελέτη ΕΠΙΚ, στην οποία συμμετείχαν 451.151 άτομα από 10 ευρωπαϊκές χώρες, έδειξε ότι η κατανάλωση λαχανικών και φρούτων για το υψηλότερο τεταρτημόριο σε σχέση με το χαμηλότερο συσχετίστηκε με 10% μείωση της θνησιμότητας από κάθε αιτία (ΣΚ: 0,90, 95% ΔΕ: 0,86–0,94), σχέση που επηρεάστηκε κυρίως από τη θνησιμότητα από στεφανιαία νόσο.<sup>46</sup> Παρόμοια αποτελέσματα προέκυψαν από πρόσφατη προοπτική μελέτη στη Σουηδία όπου οι συμμετέχοντες που δεν κατανάλωναν ποτέ φρούτα και λαχανικά ζούσαν 3 έτη λιγότερο και είχαν 53% (ΣΚ: 1,53, 95% ΔΕ: 1,19–1,99) μεγαλύτερο κίνδυνο θνησιμότητας σε σχέση με όσους κατανάλωναν 5 μερίδες την ημέρα.<sup>47</sup> Τα παραπάνω ευρήματα συμφωνούν με αυτά παλαιότερων μελετών.<sup>48–50</sup> Ωστόσο για τα δεδομένα σχετικά με τη θνησιμότητα από κάθε αιτία δεν διενεργήθηκε διαβάθμιση του επιπέδου της επιστημονικής τεκμηρίωσης στο πλαίσιο της εργασίας αυτής.

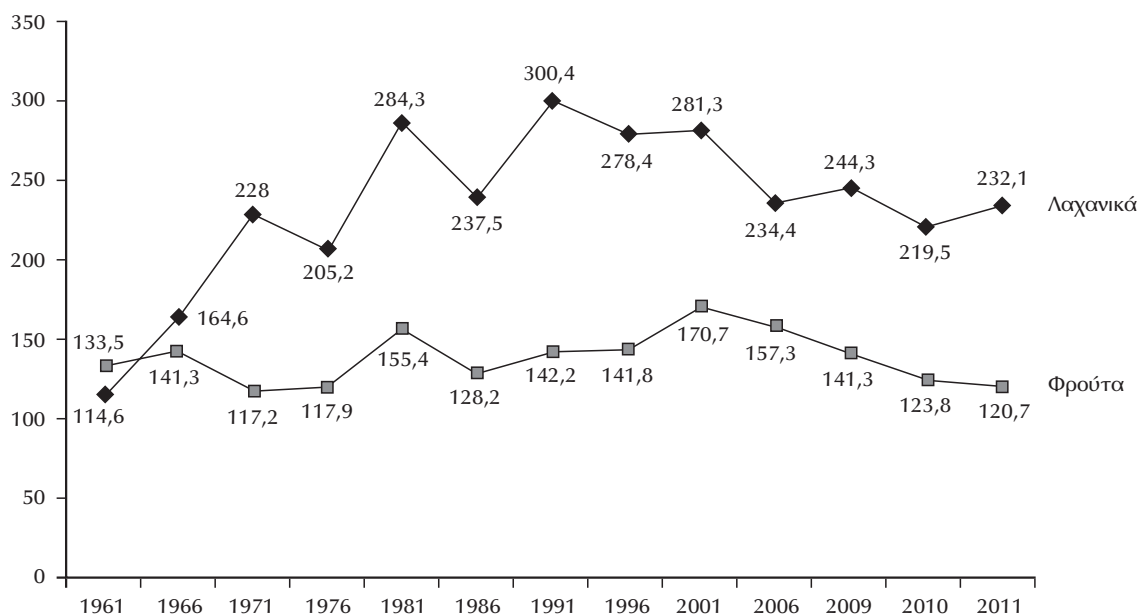
### 3.7. Κατανάλωση λαχανικών και φρούτων στον ελληνικό πληθυσμό και διαχρονικές τάσεις

Σύμφωνα με τα τελευταία στοιχεία από τα Φύλλα Ισοζυγίου Τροφίμων του FAO (<http://faostat.fao.org/site/354/default.aspx>, accessed on 05/02/14) η παροχή λαχανικών (χωρίς τις πατάτες και τα όσπρια) το έτος 2011 υπολογίζεται σε 232,1 kg/άτομο/έτος και η παροχή φρούτων σε 120,7 kg/άτομο/έτος. Διαχρονικά, από το 1961 (παροχή λαχανικών 114,6 kg/άτομο/έτος και φρούτων 133,5 kg/άτομο/έτος) μέχρι το 2011 φαίνεται ότι η παροχή των λαχανικών έχει αυξηθεί στην Ελλάδα, ενώ η παροχή των φρούτων φαίνεται να μειώνεται μετά το 2000 (σχήμα 1). Πρέπει να σημειωθεί ότι η παροχή λαχανικών και φρούτων αφορά στα λαχανικά και φρούτα που προορίζονται για κατανάλωση από το σύνολο του πληθυσμού της Ελλάδας, σε καθορισμένες χρονικές περιόδους, και εκφράζεται σε κατά κεφαλήν παροχή λαχανικών ή φρούτων (σε kg/άτομο/έτος).

Στοιχεία για τη διαθεσιμότητα λαχανικών και φρούτων, από τις έρευνες οικογενειακών προϋπολογισμών σε αντιπροσωπευτικό δείγμα ελληνικών νοικοκυριών, που αναφέρεται στο σύνολο

που είναι διαθέσιμα για κατανάλωση από τα μέλη ενός νοικοκυριού και προέρχονται από την αγορά, την ίδια παραγωγή και την ανταλλαγή σε είδος, δείχνουν ότι το έτος 2004 η μέση διαθεσιμότητα λαχανικών (φρέσκων και μεταποιημένων) στην Ελλάδα υπολογίστηκε σε 283 g/άτομο/ημέρα, ενώ η διαθεσιμότητα των φρούτων (φρέσκων και μεταποιημένων) την ίδια χρονιά ήταν στα 264 g/άτομο/ημέρα (<http://www.nut.uoa.gr/dafnesoftweb/> accessed on 3/12/12).

Ωστόσο, τόσο η παροχή όσο και η διαθεσιμότητα των τροφίμων υπερεκτιμούν την πραγματική ατομική κατανάλωση, η οποία μπορεί να εκτιμηθεί μόνο από επιδημιολογικές διατροφικές έρευνες και τη βοήθεια ειδικών μεθόδων εκτίμησης της διατροφικής πρόσληψης των πληθυσμών. Έτσι, μελέτη των στοιχείων για την ατομική πρόσληψη λαχανικών και φρούτων που αφορούν στο χρονικό διάστημα 1994–1999, σε δείγμα 20.882 ατόμων, ηλικίας 25–86 ετών, από όλη την Ελλάδα, έδειξε ότι η μέση κατανάλωση λαχανικών ήταν 481 g/ημέρα στους άνδρες και 553 g/ημέρα στις γυναίκες, ενώ η μέση κατανάλωση φρούτων ήταν 307 g/ημέρα στους άνδρες και 382 g/ημέρα στις γυναίκες, με συνολικά 788 g για τους άνδρες και 935 g για τις γυναίκες μέση ημερήσια κατανάλωση λαχανικών και φρούτων. Οι παραπάνω τιμές έχουν αναχθεί στην ίδια ενεργειακή πρόσληψη, ενώ η καταγραφή των δεδομένων έγινε με τη χρήση προτυπωμένου ημι-ποσοτικού ερωτηματολογίου συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων.<sup>51</sup> Στη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ η οποία έλαβε χώρα το 2001–2002 σε αντιπροσωπευτικό δείγμα 3042 ατόμων, ηλικίας 18–76 ετών, από την περιοχή της Αττικής, με τη χρήση ημι-ποσοτικού ερωτηματολογίου συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων, η κατανάλωση λαχανικών ήταν κατά μέσον όρο 34 μικρομερίδες/εβδομάδα στους άνδρες και 35 στις γυναίκες, μικρότερη από την προτεινόμενη με βάση τις διατροφικές οδηγίες του 1999 (42 μικρομερίδες/εβδομάδα, μία μικρομερίδα ισοδυναμεί με περίπου 100 g λαχανικών), ενώ για τα φρούτα, ήταν κατά μέσον όρο 26 μικρομερίδες/εβδομάδα στους άνδρες και 28 στις γυναίκες, μεγαλύτερη από την προτεινόμενη (21 μικρομερίδες/εβδομάδα, μία μικρομερίδα ισοδυναμεί με 30–200 g ανάλογα με το φρούτο).<sup>23,52</sup>



Σχήμα 1. Διαχρονική μεταβολή της παροχής λαχανικών και φρούτων (kg/άτομο/έτος) στην Ελλάδα κατά το χρονικό διάστημα 1961–2011

Πηγή στοιχείων: FAO-FAOSTAT, 2015, <http://faostat.fao.org/site/354/default.aspx>

Ενδιαφέρον έχουν τα διαχρονικά στοιχεία της ατομικής κατανάλωσης λαχανικών και φρούτων στην Ελλάδα. Σύμφωνα με την κλασική Μελέτη των Επτά χωρών που διενεργήθηκε τη δεκαετία του 1960, η ημερήσια πρόσληψη λαχανικών και φρούτων σε δείγμα 68 ενηλίκων στην Κρήτη και την Κέρκυρα υπολογίστηκε στα 191 g και 464 g, αντίστοιχα (συνολικά 655 g λαχανικών και φρούτων ημερησίως).<sup>53</sup> Επίσης, τα στοιχεία από τη διατροφή 182 ηλικιωμένων (>των 70 ετών) σε τρία χωριά της Ελλάδας, κατά τη δεκαετία του 1980, έδειξαν ότι η μέση ημερήσια κατανάλωση λαχανικών ήταν 297 g για τους άνδρες και 236 g για τις γυναίκες, και φρούτων 254 g για τους άνδρες και 222 g για τις γυναίκες.<sup>54</sup> Πρέπει ωστόσο να τονιστεί ότι τα στοιχεία αυτά δεν προέρχονται από αντιπροσωπευτικά δείγματα του ελληνικού πληθυσμού και επομένως οι γενικεύσεις για το σύνολο του ελληνικού πληθυσμού δεν είναι ασφαλείς.

### 3.8. Ποσοτικές και ποιοτικές συστάσεις

Μετά την αξιολόγηση και μελέτη όλων των σχετικών παραμέτρων όπως αυτές παρουσιάζονται στη μεθοδολογία, οι ποσοτικές και ποιοτικές συ-

στάσεις για την πρόσληψη των λαχανικών διαμορφώθηκαν ως εξής:

Συνιστάται η κατανάλωση 4 μερίδων από ποικιλία λαχανικών καθημερινά. Στα λαχανικά αυτά συμπεριλαμβάνονται όλα τα ωμά και μαγειρεμένα λαχανικά, τα αμυλώδη λαχανικά όπως ο αρακάς, το καλαμπόκι και η κολοκύθα αλλά δεν συμπεριλαμβάνεται η πατάτα και τα είδη της. Η μία μερίδα λαχανικών ισοδυναμεί με περίπου 150–200 g ωμά ή μαγειρεμένα λαχανικά. Παραδείγματα μερίδας είναι: 1 φλιτζάνι (των 240 mL) μαγειρεμένα ή ψιλοκομμένα ωμά λαχανικά, 2 φλιτζάνια (των 240 mL) ωμά πράσινα φυλλώδη λαχανικά (π.χ., μαρούλι, ρόκα κ.ά.), 2 μέτρια καρότα, 1 μέτριο αγγούρι, 1 μεγάλη ντομάτα ή 1 φλιτζάνι των 240 mL τριμμένη ντομάτα.

Για τη διευκόλυνση της επίτευξης της ημερήσιας σύστασης συνιστάται η κατανάλωση λαχανικών σε κάθε κύριο γεύμα (πρωινό, μεσημεριανό και βραδινό). Επίσης, η κατανάλωση ωμών λαχανικών ενθαρρύνεται να είναι καθημερινή και συχνή, καθώς με το μαγείρεμα τα λαχανικά χάνουν μέρος από τα θρεπτικά συστατικά τους. Ωστόσο, για την κατανάλωση των ωμών λαχανικών, και ιδιαίτερα για τα φυλλώδη, θα πρέπει να προηγη-

ται το πολύ καλό πλύσιμο με άφθονο τρεχούμενο νερό. Η κατανάλωση ποικιλίας από διαφορετικά λαχανικά (με διαφορετικά χρώματα) βοηθάει στην πρόσληψη διαφορετικών ομάδων βιταμινών και ανόργανων στοιχείων. Επίσης, τα μαγειρευτά «λαδερά» φαγητά, όπου τα λαχανικά συνδυάζονται με το ελαιόλαδο, ως χαρακτηριστικά φαγητά της ελληνικής παραδοσιακής διατροφής, καθώς και τα χόρτα, τρόφιμα που αφθονούν στην ελληνική γη και είναι πλούσια σε αντιοξειδωτικές ουσίες, συνιστώνται και βοηθούν στην κάλυψη της ημερήσιας σύστασης.

Αναφορικά με την πρόσληψη φρούτων, συνιστάται η κατανάλωση 3 μερίδων από ποικιλία φρούτων καθημερινά. Στα φρούτα συμπεριλαμβάνονται όλα τα ωμά φρούτα, τα αποξηραμένα φρούτα (π.χ., δαμάσκηνα, σταφίδες, κ.ά) καθώς και οι φυσικοί χυμοί φρούτων (100%, χωρίς προσθήκη ζάχαρης). Η μία μερίδα φρούτου ισοδυναμεί με περίπου 120–200 g. Για τα μετρίου μεγέθους φρούτα, όπως το μήλο και το πορτοκάλι, η μερίδα αντιστοιχεί σε ένα φρούτο, ενώ για τα μικρότερα μεγέθους φρούτα μία μερίδα μπορεί να είναι: 2 μικρά φρούτα, π.χ., μανταρίνια, βανίλιες, περίπου 8 φράουλες ή 30 ρόγες σταφυλιού (μεγέθους σουλτανιάς), 4 αποξηραμένα φρούτα (π.χ., βερίκοκα), 1½ κουτάλι της σούπας σταφίδες. Όπως και στην περίπτωση των λαχανικών, και για τον ίδιο λόγο, προτιμάται και στα φρούτα η κατανάλωση ποικιλίας από διαφορετικά φρούτα (με διαφορετικά χρώματα). Σε σχέση με τους φυσικούς χυμούς φρούτων, μία μερίδα φρούτων ισοδυναμεί με ένα ποτήρι (125 mL) φυσικού χυμού. Η κατανάλωση μεγαλύτερης ποσότητας συνιστάται να μη συνυπολογίζεται στην ημερήσια πρόσληψη φρούτων. Αυτό προτείνεται διότι είναι ανάγκη να ενισχυθεί η κατανάλωση ολόκληρων φρούτων, και όχι των χυμών τους, καθώς με την παρασκευή του χυμού χάνεται μέρος των φυτικών ινών του φρούτου. Επισημαίνεται ότι η σύσταση αφορά μόνο στους φυσικούς χυμούς φρούτων χωρίς προστιθέμενα σάκχαρα ή συντηρητικά. Αντίθετα, η κατανάλωση χυμών φρούτων με προστιθέμενα σάκχαρα και συντηρητικά συνιστάται να αποφεύγεται. Για την κατανάλωση των φρούτων με τη φλούδα θα πρέπει να προηγείται το πολύ καλό πλύσιμο με τρεχούμενο νερό.

Επίσης, πρέπει να σημειωθεί ότι ενώ τα αποξηραμένα φρούτα αποτελούν μία θρεπτική επιλογή μικρογεύματος, συνιστάται να καταναλώνονται με μέτρο, καθώς περιέχουν περισσότερες θερμίδες από τα φρέσκα φρούτα.

Η εποχικότητα των λαχανικών και των φρούτων ενθαρρύνεται επίσης καθώς πρόκειται για τρόφιμα που είναι συνήθως φρεσκότερα και πιο οικονομικά, ιδιαίτερα όταν καλλιεργούνται κοντά στην περιοχή όπου διαμένει ο καταναλωτής. Ταυτόχρονα η κατανάλωσή τους ενισχύει την τοπική παραγωγή και οικονομία και συμβάλλει στη μείωση της ρύπανσης του περιβάλλοντος, η οποία προκαλείται από τη μεταφορά των τροφίμων με τα διάφορα μεταφορικά μέσα σε μεγάλες αποστάσεις.<sup>55–56</sup> Αναλυτικότερα, οι συστάσεις για τον γενικό πληθυσμό, σε απλή γλώσσα, βρίσκονται στο διαδίκτυο στην ιστοσελίδα του προγράμματος ΕΥ...ΔΙΑΤΡΟΦΗΝ [www.diatrofikoiodigoi.gr](http://www.diatrofikoiodigoi.gr).

#### 4. Συζήτηση

Το αποτέλεσμα της αξιολόγησης των επιστημονικών δεδομένων για τη σχέση της πρόσληψης λαχανικών και φρούτων με την υγεία κατέληξε ότι υπάρχει ευρεία συμφωνία για την ευεργετική τους δράση στην πρόληψη της στεφανιαίας νόσου και των αγγειακών εγκεφαλικών επεισοδίων, του σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2 (κυρίως για τα πράσινα φυλλώδη λαχανικά), του καρκίνου του παχέος εντέρου και της στοματικής κοιλότητας και συμφωνία της πλειονότητας των δεδομένων για ευεργετική δράση τους στην πρόληψη του καρκίνου του οισοφάγου και του στομάχου.<sup>1–3,5–7,13–15,32,33</sup> Ο βαθμός της προστασίας έναντι των παραπάνω νοσημάτων διαφέρει από μελέτη σε μελέτη και εξαρτάται από τον τρόπο ανάλυσης και παρουσίασης των αποτελεσμάτων (π.χ. ανά μερίδα ή γραμμάρια αύξησης, υψηλή προς χαμηλή κατανάλωση). Επίσης, η σχέση φαίνεται να είναι γραμμική (ευθέως αντίστροφη) χωρίς να έχει προσδιοριστεί κάποια ουδός ή ανώτερο όριο όπου αρχίζει ή σταματάει η ευεργετική τους δράση, αντίστοιχα.

Από την εργασία αυτή δεν μπόρεσε να προσδιοριστεί αν τα φρούτα ή τα λαχανικά είναι περισ-

σότερο ευεργετικά για την υγεία, καθώς τα στοιχεία κρίθηκαν ανεπαρκή για μια γενική σύσταση, ενώ πρέπει να σημειωθεί ότι δεν μελετήθηκαν μεμονωμένα φρούτα και λαχανικά. Υπάρχουν ενδείξεις για ευεργετική δράση στην πρόληψη των κακοήθων νεοπλασιών συγκεκριμένων υποομάδων λαχανικών, όπως τα πράσινα φυλλώδη και τα σταυρανθή λαχανικά (π.χ. κουνουπίδι, μπρόκολο, λάχανο).

Οι πιθανοί υποκείμενοι βιολογικοί μηχανισμοί που έχουν διατυπωθεί για να εξηγηθεί η σχέση της κατανάλωσης λαχανικών και φρούτων με τα καρδιαγγειακά νοσήματα είναι αρκετοί. Συνοπτικά, η αντιοξειδωτική δράση συστατικών όπως τα καροτενοειδή, οι βιταμίνες C και E, έχει συσχετιστεί με μείωση της οξειδωσης της LDL-χοληστερόλης, το κάλιο με μείωση της αρτηριακής πίεσης, οι διαιτητικές ίνες με μείωση της έκκρισης ινσουλίνης, της ολικής χοληστερόλης και της αρτηριακής πίεσης, το φυλλικό οξύ με μείωση της ενδοθηλιακής βλάβης μέσω της μείωσης των επιπέδων της ομοκυστεΐνης του πλάσματος και τα φλαβονοειδή με ισχυρή αντιθρομβωτική δράση.<sup>57</sup>

Οι αντίστοιχοι βιολογικοί μηχανισμοί για τις κακοήθειες νεοπλασίες εντοπίζονται στην αντιοξειδωτική δράση των φυτοχημικών ουσιών (όπως, καροτενοειδή, φαινολικές ουσίες) που προλαμβάνει ή μειώνει το οξειδωτικό στρες που προκαλείται στον οργανισμό από τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου και άλλους οξειδωτικούς παράγοντες, προστατεύοντας το DNA των κυττάρων από την οξειδωτική βλάβη και την περαιτέρω δημιουργία μεταλλάξεων των βάσεων, βλάβη των μονών ή διπλών αλυσίδων, σπάσιμο χρωμοσωμάτων και ανακατατάξεών τους.<sup>7,58</sup>

Οι υποκείμενοι βιολογικοί μηχανισμοί με τους οποίους τα λαχανικά και τα φρούτα προστατεύουν από την εμφάνιση σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2 δεν είναι διευκρινισμένοι.<sup>3,32</sup> Η αντιοξειδωτική δράση των φυτοχημικών ουσιών μπορεί να προστατεύει τον οργανισμό από τον σακχαρώδη διαβήτη. Ειδικά για τα πράσινα φυλλώδη λαχανικά υπάρχουν ενδείξεις ότι προστατεύουν το ενδοθήλιο μέσω της δράσης τους στον μεταβολισμό του νιτρικού οξειδίου και της L-αργινίνης, όπως επίσης μέσω του μαγνησίου που ενδέχεται να βελτιώνει τον μεταβολισμό της γλυκόζης.<sup>3</sup>

Οι προαναφερόμενες δράσεις των μικροθρεπτικών συστατικών που περιέχονται στα λαχανικά και τα φρούτα φαίνεται να προκύπτουν κατά την κατανάλωση ολόκληρου του λαχανικού ή του φρούτου και την αλληλεπίδραση και συνέργεια των συστατικών μεταξύ τους, ενώ είναι ενδιαφέρον ότι δεν έχει βρεθεί να εκδηλώνονται, τουλάχιστον όχι ακόμα, από την κατανάλωση μεμονωμένων διατροφικών συστατικών που έχουν δοθεί με τη μορφή διατροφικών συμπληρωμάτων.<sup>58,59</sup> Για τον λόγο αυτόν ενθαρρύνεται η κατανάλωση ποικιλίας λαχανικών και φρούτων με διαφορετικά χρώματα καθώς οι φυτοχημικές ουσίες, που ευθύνονται για το χρώμα των λαχανικών και των φρούτων, διαθέτουν αντιοξειδωτικές και αντικαρκινικές ιδιότητες και δρουν συνεργικά.<sup>60-63</sup>

Τεκμηριώνοντας επιστημονικά την ευεργετική επίδραση της πρόσληψης των λαχανικών και των φρούτων στην υγεία, υποστηρίζεται με ασφάλεια η σύσταση της καθημερινής κατανάλωσής τους από τον γενικό πληθυσμό. Ωστόσο, ένα περαιτέρω βήμα αποτέλεσε η ποσοτικοποίηση των διατροφικών συστάσεων, καθώς αυτή, μεταξύ άλλων, βοηθά τον πληθυσμό να κατανοήσει τη σημασία της ποσότητας των τροφίμων που καταναλώνει.<sup>64</sup> Η ποσοτικοποίηση αυτή έγινε συνεκτιμώντας το γεγονός ότι ο ελληνικός πληθυσμός καταναλώνει υψηλές ποσότητες λαχανικών και φρούτων, υψηλότερες σε σύγκριση με τους περισσότερους ευρωπαϊκούς λαούς, αλλά και τη δυσμενή πραγματικότητα ότι οι διατροφικές συνήθειες των Ελλήνων απομακρύνονται σταδιακά από το συνολικό πρότυπο της παραδοσιακής ελληνικής διατροφής, της οποίας βασικό χαρακτηριστικό αποτελούν τα λαχανικά και τα φρούτα.<sup>65,66</sup>

Η μικρότερη συνιστώμενη πρόσληψη που προτείνεται από τους εθνικούς και διεθνείς οργανισμούς και τους φορείς υγείας που έχουν εκδώσει κατευθυντήριες οδηγίες σε επίπεδο τροφίμων είναι τα 400 g λαχανικών και φρούτων μαζί, που αντιστοιχούν σε 5 μερίδες φρούτων και λαχανικών (όπως WHO 2000, WCRF 2007, European Guidelines on CVD 2012, Γαλλία 2012, Ηνωμένο Βασίλειο 2011).<sup>7,14,67-69</sup> Ωστόσο, υψηλότερη ημερήσια πρόσληψη τόσο φρούτων (3 μερίδες ή και

περισσότερο) όσο και λαχανικών ( $\geq 400$  g) συνιστούν άλλοι οργανισμοί (όπως το Mediterranean Diet Foundation 2011, οι διατροφικές οδηγίες για ενήλικες στην Ελλάδα του 1999, η Ισπανία 2004, η Πορτογαλία 2003, η Αυστραλία 2013).<sup>18,22,23,70,71</sup> Οι τελικές ποσοτικές συστάσεις μέσης ημερήσιας κατανάλωσης 600–800 g λαχανικών και 360–600 g φρούτων για τους Έλληνες ενήλικες είναι μεν υψηλότερες από τις συστάσεις των περισσότερων χωρών (με εξαίρεση μερικών μεσογειακών, όπως η Ισπανία), ωστόσο θεωρήθηκαν οι ενδεδειγμένες προκειμένου να προαχθεί η κατανάλωσή τους και να παραμείνει σε υψηλά επίπεδα. Επιπλέον, οι ποσοτικές αυτές συστάσεις συμβαδίζουν με το πρότυπο της παραδοσιακής ελληνικής διατροφής και τις συνιστώμενες ατομικές ανάγκες σε επίπεδο ενέργειας και θρεπτικών συστατικών, συμπέρασμα που προέκυψε όταν οι συστάσεις ελέγχθηκαν με εβδομαδιαία διαιτολόγια που δημιουργήθηκαν με βάση τη συχνότητα και ποσότητα κατανάλωσης των ομάδων τροφίμων που προτείνονται από τον διατροφικό οδηγό του προγράμματος ΕΥ...ΔΙΑΤΡΟΦΗΝ.<sup>72–77</sup>

Για τον καθορισμό της μερίδας των φρούτων και των λαχανικών, ελλείπει κάποιου κοινά αποδεκτού ορισμού, μελετήθηκαν οι μερίδες που προτείνονται από τους διεθνείς οργανισμούς και εθνικούς φορείς με στόχο τη χρήση σε διατροφικές οδηγίες για τον γενικό πληθυσμό. Συχνά η μία μερίδα λαχανικών ή/και φρούτων ισοδυναμεί με 80 g αλλά τελικά φαίνεται να κυμαίνεται ευρέως (πίνακες 1 και 2).<sup>78,79</sup> Ελήφθη ακόμα υπ' όψιν ότι η χρήση μερίδων που μεταφράζονται σε κοινές μονάδες μέτρησης που χρησιμοποιούνται στη μαγειρική (π.χ. ένα φλιτζάνι του 240 mL, ένα κουτάλι της σούπας) είναι πιο κατανοητές και προτιμούνται από τους καταναλωτές σε σχέση με τη χρήση των γραμμαρίων.<sup>80</sup> Ιδιαίτερα για τα λαχανικά και τα φρούτα και προκειμένου οι συστάσεις να είναι απλές, να αποτυπώνονται εύκολα στη μνήμη και να μην αποθαρρύνουν τον πληθυσμό από τον μεγάλο αριθμό μερίδων που συνιστάται να καταναλώνουν ημερησίως, δεν υιοθετήθηκαν οι μικρότερες σε ποσότητα μερίδες (όπως η μερίδα των 80 g λαχανικών) αλλά οι μεγαλύτερες (όπως η μερίδα των 150–200 g) ώστε η προτεινόμενη μία μερίδα να αντιστοιχεί σε ένα πιάτο σαλάτα με ωμά ή βρα-

στά λαχανικά (περίπου 200 g), 1 μέτριο φρούτο κ.ά. Αυτές οι μερίδες υιοθετούνται και στις εθνικές διατροφικές οδηγίες της Ισπανίας.<sup>70,81</sup> Στο σημείο αυτό πρέπει να σημειωθεί ότι η μερίδα που αναφέρεται στο κείμενο αυτό (στα αγγλικά αποκαλείται *serving size*) αφορά στην ποσότητα που συνιστάται να καταναλώνεται από ένα άτομο σε ένα γεύμα ή μικρογεύμα, και όχι στην ποσότητα που καταναλώνεται στην πραγματικότητα από ένα άτομο (στα Αγγλικά αποκαλείται *portion size*) που συνήθως είναι μεγαλύτερη από την προτεινόμενη.<sup>82</sup>

Η παρούσα εργασία είχε κάποιους περιορισμούς, όπως την έλλειψη πρόσφατων στοιχείων για την ατομική πρόσληψη λαχανικών και φρούτων από αντιπροσωπευτικό δείγμα του ελληνικού πληθυσμού, η οποία δεν επέτρεψε να αξιολογήσουμε με ακρίβεια τις διατροφικές συνήθειες του ελληνικού πληθυσμού και τις υπάρχουσες τάσεις. Επιπλέον, όσον αφορά στη χρησιμοποίησις διαβάθμιση της επιστημονικής γνώσης δεν έγινε συστηματική ποιοτική αξιολόγηση όλων των ανευρεθέντων ερευνών μετά το 2008. Ωστόσο, η ποιοτική αξιολόγηση των περισσότερων μεμονωμένων εργασιών (π.χ. προοπτικών επιδημιολογικών ερευνών) έγινε στο πλαίσιο των μετα-αναλύσεων που συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη, ενώ η μεθοδολογία που ακολουθήθηκε για την αξιολόγηση της σχέσης της διατροφής με την υγεία συμφωνεί και με άλλους αξιόπιστους φορείς στον χώρο της διατροφής (π.χ. Γερμανική Εταιρεία Διατροφής).<sup>83</sup> Ακόμα, στην περίπτωση της μελέτης της διατροφής μεγάλο μέρος της υπάρχουσας έρευνας προέρχεται από μη πειραματικές επιδημιολογικές μελέτες (π.χ. προοπτικές επιδημιολογικές μελέτες) που μεθοδολογικά δεν μπορούν να τεκμηριώσουν καταληκτικά μια αιτιολογική συσχέτιση μεταξύ ενός παράγοντα και ενός νοσήματος. Αυτό συμβαίνει γιατί λόγω της φύσης της διατροφής (κομμάτι του καθημερινού τρόπου ζωής) είναι πολύ δύσκολο να διεξαχθούν πειραματικές επιδημιολογικές μελέτες, π.χ. τυχαίοι και τυφλές κλινικές δοκιμές και για μεγάλο χρονικό διάστημα, ώστε να εκτιμηθεί η επίπτωση χρονίων νοσημάτων. Για τον λόγο αυτόν ωστόσο, στην περίπτωση της διατροφής και προκειμέ-

νου να διατυπωθούν συστάσεις για τον πληθυσμό, οι ειδικοί που αξιολογούν το επίπεδο της τεκμηρίωσης για έναν διατροφικό παράγοντα θεωρούν επαρκείς και τις μη πειραματικές επιδημιολογικές μελέτες.<sup>17</sup> Τέλος, πρέπει να σημειωθεί ότι δεν μελετήθηκε με διαβάθμιση η συσχέτιση της πρόσληψης λαχανικών και φρούτων με μια σειρά άλλων χρονίων νοσημάτων, όπως τα νοσήματα του αναπνευστικού συστήματος (π.χ. η χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια), των οφθαλμών (π.χ. η εκφύλιση της ωχράς κηλίδας και ο καταρράκτης), των οστών (π.χ. η οστεοπόρωση και η ρευματοειδής αρθρίτιδα), η εκκολπώματωση και η άνοια, για τα οποία υπάρχουν νεότερα δεδομένα για ευεργετική επίδραση των λαχανικών και φρούτων στην πρόληψη των νοσημάτων αυτών.<sup>38-41</sup> Σημαντική διαφαίνεται επίσης η πιθανή συσχέτιση της κατανάλωσης λαχανικών και φρούτων με μειωμένο κίνδυνο παχυσαρκίας.<sup>4,13,15,84,85</sup>

Συμπερασματικά, η σύσταση της καθημερινής κατανάλωσης τεσσάρων μεριδών λαχανικών και τριών μεριδών φρούτων από τους ενήλικες στην Ελλάδα βασίζεται σε επιστημονικά τεκμηριωμένα δεδομένα και είναι δυνατόν να συμβάλει στην πρόληψη των σημαντικότερων χρονίων νοσημάτων βελτιώνοντας την υγεία του πληθυσμού. Επιπλέον, είναι συμβατή με τις διατροφικές συνήθειες και παραδόσεις και είναι πρακτικά εφαρμόσιμη λόγω της διαθεσιμότητας των τροφίμων αυτών στην ελληνική γη και αγορά. Η κατανάλωση λαχανικών και φρούτων συνιστάται να ενθαρρυνθεί από όλους τους επαγγελματίες υγείας αλλά και να προσεγγιστεί μέσα στο πλαίσιο μιας ευρύτερης συντονισμένης εθνικής πολιτικής όπου θα συμπράξουν όλοι ο εμπλεκόμενοι φορείς ακολουθώντας τις συστάσεις διεθνών οργανισμών και υιοθετώντας επιτυχημένες και δοκιμασμένες παρεμβάσεις.<sup>79</sup>

Ευχαριστίες

Ευχαριστούμε θερμά τα μέλη της Επιστημονικής Επιτροπής του Εθνικού Διατροφικού Οδηγού για Ενήλικες που αναπτύχθηκε στα πλαίσια της Πράξης «Ευ Δια...Τροφήν»: Μαρία Αλεβιζάκη,<sup>1</sup> Ευανθία Διαμάντη-Κανδαράκη,<sup>2</sup> Αντώνη Ζαμπέλα,<sup>3</sup> Δημήτριο Λινό,<sup>4</sup> Ιωάννη Μανιό,<sup>5</sup> Αναστάσιο Μόρτογλου,<sup>6</sup> Βασιλική Μπενέτου,<sup>7</sup> Δημοσθένη Παναγιωτάκο,<sup>8</sup>

Αναστασία Πανταζοπούλου-Φωτεινά,<sup>9</sup> Ευσταθία Φουσέκη<sup>10</sup> και Θεοδώρα Ψαλτοπούλου<sup>11</sup> για τη συμβολή τους στην ολοκλήρωση του Έργου. Ευχαριστούμε, επίσης, τις κα Άννα Κανδαράκη, κα Έλενα Δημητρακοπούλου, κα Παναγιώτα Καρνάκη και κα Γεωργία Φουκανέλη για τη συμβολή τους στην υλοποίηση του Έργου.

<sup>1</sup>Καθηγήτρια Ενδοκρινολογίας-Θεραπευτικής, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών

<sup>2</sup>Καθηγήτρια Παθολογίας-Ενδοκρινολογίας, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών

<sup>3</sup>Καθηγητής Διατροφής του Ανθρώπου, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

<sup>4</sup>Καθηγητής Χειρουργικής, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών

<sup>5</sup>Αναπληρωτής Καθηγητής Διατροφικής Αγωγής-Διατροφικής Αξιολόγησης, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

<sup>6</sup>Παθολόγος-Ενδοκρινολόγος, Διευθυντής Τομέα Ενδοκρινολογίας, Ιατρικό Κέντρο Αθηνών

<sup>7</sup>Παιδίατρος, Επίκουρη Καθηγήτρια Υγιεινής και Επιδημιολογίας, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών

<sup>8</sup>Καθηγητής Βιοστατιστικής-Επιδημιολογίας της Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

<sup>9</sup>Ιατρός Δημόσιας Υγείας-Ιατρός Εργασίας, τέως Γενική Διευθύντρια Δημόσιας Υγείας Υπουργείου Υγείας

<sup>10</sup>Διευθύντρια Συμβουλευτικού Επαγγελματικού Προσανατολισμού και Εκπαιδευτικών Δραστηριοτήτων, Υπουργείο Παιδείας και Θρησκευμάτων, Πολιτισμού και Αθλητισμού

<sup>11</sup>Παθολόγος, Επίκουρη Καθηγήτρια Επιδημιολογίας και Προληπτικής Ιατρικής, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών

Η πράξη «Δημιουργία και Ευρεία Διάχυση Γενικού και Ειδικών Εθνικών Διατροφικών Οδηγών – Ευ Δια...Τροφήν» υλοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Προληπτικής, Περιβαλλοντικής και Εργασιακής Ιατρικής, Prolepsis. Ανήκει στο Επιχειρησιακό Πρόγραμμα «Ανάπτυξη Ανθρώπινου Δυναμικού» 2007–2013 και συγχρηματοδοτήθηκε από το Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο (ΕΚΤ) και από Εθνικούς Πόρους.

## Βιβλιογραφία

1. Wang X, Ouyang Y, Liu J et al. Fruit and vegetable consumption and mortality from all causes, cardiovascular disease, and cancer: systematic review and dose-response meta-analysis of prospective cohort studies. *BMJ* 2014, 349:g4490
2. Hu D, Huang J, Wang Y et al. Fruits and vegetables consumption and risk of stroke: a meta-analysis of prospective cohort studies. *Stroke* 2014, 45:1613–1619
3. Cooper AJ, Forouhi NG, Ye Z et al. InterAct Consortium. Fruit and vegetable intake and type 2 diabetes: EPIC-InterAct prospective study and meta-analysis. *Eur J Clin Nutr* 2012, 66:1082–1092
4. Boeing H, Bechthold A, Bub A et al. Critical review: vegetables and fruit in the prevention of chronic diseases. *Eur J Nutr* 2012, 51:637–663
5. Mente A, de Koning L, Shannon HS et al. A systematic review of the evidence supporting a causal link between dietary factors and coronary heart disease. *Arch Intern Med* 2009, 169:659–669
6. Aune D, Lau R, Chan DS et al. Nonlinear reduction in risk for colorectal cancer by fruit and vegetable intake based on meta-analysis of prospective studies. *Gastroenterology* 2011, 141:106–118
7. World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research. Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: a Global Perspective. Washington DC, AICR, 2007
8. Willett WC. Fruits, vegetables, and cancer prevention: turmoil in the produce section. *J Natl Cancer* 2010, 102:510–511
9. Hung HC, Joshipura KJ, Jiang R et al. Fruit and vegetable intake and risk of major chronic disease. *J Natl Cancer Inst* 2004, 96:1577–1584
10. Key TJ, Appleby PN, Davey GK et al. Mortality in British vegetarians: review and preliminary results from EPIC-Oxford. *Am J Clin Nutr* 2003, 78:533–538
11. WHO/FAO (World Health Organization/Food and Agriculture Organization), 1998. Preparation and use of food-based dietary guidelines. Report of a joint FAO/WHO consultation. WHO technical report series n 880, WHO, Geneva
12. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition, and Allergies (NDA); Scientific Opinion on establishing Food-Based Dietary Guidelines. *EFSA Journal* 2010, 8:1460
13. A review of the evidence to address targeted questions to inform the revision of the Australian Dietary Guidelines. Australian Government. Department of Health and Ageing. National Health and Medical Research Council. Commonwealth of Australia, 2011
14. Food based dietary guidelines in the WHO European Region. Nutrition and Food Security Programme WHO Regional Office for Europe Copenhagen, Denmark, World Health Organization 2003
15. Dietary Guidelines Advisory Committee. 2010. Report of the Dietary Guidelines Advisory Committee on the Dietary Guidelines for Americans, 2010, to the Secretary of Agriculture and the Secretary of Health and Human Services. US Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Washington, DC, May 2010
16. Guyatt GH, Oxman AD, Vist GE et al. GRADE Working Group. GRADE: an emerging consensus on rating quality of evidence and strength of recommendations. *BMJ* 2008, 336:924–926
17. Mann JI. Evidence-based nutrition: Does it differ from evidence-based medicine? *Ann Med* 2010, 42:475–486
18. Eat for Health. Australian Dietary Guidelines. Summary. Australian Government. National Health and Medical Research Council. Department of Health and Ageing. Commonwealth of Australia, 2013
19. Nordic Nutrition Recommendations 2012. Part 1. Summary, principles and use. 5th ed. *Nordic Council of Ministers* 2013
20. World Health Organization. Regional Office for the Eastern Mediterranean. Promoting a healthy diet for the WHO Eastern Mediterranean Region: user-friendly guide/World Health Organization 2012
21. Sofi F, Macchi C, Abbate R et al. Mediterranean diet and health. *Biofactors* 2013, 39:335–342
22. Bach-Faig A, Berry EM, Lairon D et al. Mediterranean Diet Foundation Expert Group. Mediterranean diet pyramid today. Science and cultural updates. *Publ Health Nutr* 2011, 14: 2274–2284
23. Υπουργείο Υγείας και Πρόνοιας, Ανώτατο Ειδικό Επιστημονικό Συμβούλιο Υγείας. Διατροφικές Οδηγίες για ενήλικες στην Ελλάδα. *Αρχ Ελλην Ιατρ* 1999, 16:615–625
24. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies, (NDA); Scientific Opinion on principles for deriving and applying Dietary Reference Values. *EFSA Journal* 2010, 8:1458
25. IoM (Institute of Medicine). National Research Council. Dietary Reference Intakes: The Essential Guide to Nutrient Requirements. The National Academies Press, Washington, DC, 2006
26. He FJ, Nowson CA, Lucas M et al. Increased consumption of fruit and vegetables is related to a reduced risk of coronary heart disease: meta-analysis of cohort studies. *J Hum Hypertens* 2007, 21:717–728
27. Dauchet L, Amouyel P, Hercberg S et al. Fruit and vegetable consumption and risk of coronary heart disease: a meta-analysis of cohort studies. *J Nutr* 2006, 136:2588–2593
28. Dilis V, Katsoulis M, Lagiou P et al. Mediterranean diet and CHD: the Greek European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition cohort. *Br J Nutr* 2012, 108:699–709
29. Panagiotakos DB, Pitsavos C, Kokkinos P et al. Consumption of fruits and vegetables in relation to the risk of developing acute coronary syndromes; the CARDIO2000 case-control study. *Nutr J* 2003, 2:2
30. Panagiotakos D, Pitsavos C, Chrysohoou C et al. Dietary patterns and 5-year incidence of cardiovascular disease: a multivariate analysis of the ATTICA study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2009, 19:253–263
31. Misirli G, Benetou V, Lagiou P et al. Relation of the traditional Mediterranean diet to cerebrovascular disease in a Mediterranean population. *Am J Epidemiol* 2012, 176:1185–1192
32. Carter P, Gray LJ, Troughton J et al. Fruit and vegetable intake and incidence of type 2 diabetes mellitus: systematic review and meta-analysis. *BMJ* 2010, 341:4229

33. Johnson CM, Wei C, Ensor JE et al. Meta-analyses of colorectal cancer risk factors. *Cancer Caus Cntrl* 2013, 24:1207–1222
34. Aune D, Lau R, Chan DS et al. Nonlinear reduction in risk for colorectal cancer by fruit and vegetable intake based on meta-analysis of prospective studies. *Gastroenterology* 2011, 141:106–118
35. Wu QJ, Yang Y, Vogtmann E et al. Cruciferous vegetables intake and the risk of colorectal cancer: a meta-analysis of observational studies. *Ann Oncol* 2013, 24:1079–1087
36. Pavia M, Pileggi C, Nobile CG et al. Association between fruit and vegetable consumption and oral cancer: a meta-analysis of observational studies. *Am J Clin Nutr* 2006, 83:1126–1134
37. Wakai K, Matsuo K, Nagata C et al. Research Group for the Development and Evaluation of Cancer Prevention Strategies in Japan. Lung cancer risk and consumption of vegetables and fruit: an evaluation based on a systematic review of epidemiological evidence from Japan. *Jpn J Clin Oncol* 2011, 41:693
38. Aune D, Chan DS, Vieira AR et al. Fruits, vegetables and breast cancer risk: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Breast Cancer Res Treat* 2012, 134:479–493
39. Jung S, Spiegelman D, Baglietto L et al. Fruit and vegetable intake and risk of breast cancer by hormone receptor status. *J Natl Cancer Inst* 2013, 105:219–236
40. Benetou V, Orfanos P, Lagiou P et al. Vegetables and fruits in relation to cancer risk: evidence from the Greek EPIC cohort study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008, 17:387–392
41. Kalandidi A, Katsouyanni K, Voropoulou N et al. Passive smoking and diet in the etiology of lung cancer among non-smokers. *Cancer Caus Cntrl* 1990, 1:15–21
42. Manousos O, Day NE, Trichopoulos D et al. Diet and colorectal cancer: a case control study in Greece. *Int J Cancer* 1983, 32:1–5
43. Markaki I, Linos D, Linos A. The influence of dietary patterns on the development of thyroid cancer. *Eur J Cancer* 2003, 39:1912–1919
44. Trichopoulos D, Ouranos G, Day NE et al. Diet and cancer of the stomach: a case-control study in Greece. *Int J Cancer* 1985, 36:291–297
45. Trichopoulou A, Katsouyanni K, Stuver S et al. Consumption of olive oil and specific food groups in relation to breast cancer risk in Greece. *J Natl Cancer Inst* 1995, 87:110–116
46. Leenders M, Sluijs I, Ros MM et al. Fruit and vegetable consumption and mortality: European prospective investigation into cancer and nutrition. *Am J Epidemiol* 2013, 178:590–602
47. Bellavia A, Larsson SC, Bottai M et al. Fruit and vegetable consumption and all-cause mortality: a dose-response analysis. *Am J Clin Nutr* 2013, 98:454–459
48. Genkinger JM, Platz EA, Hoffman SC et al. Fruit, vegetable, and antioxidant intake and all-cause, cancer, and cardiovascular disease mortality in a community-dwelling population in Washington County, Maryland. *Am J Epidemiol* 2004, 160:1223–1233
49. Rissanen TH, Voutilainen S, Virtanen JK et al. Low intake of fruits, berries and vegetables is associated with excess mortality in men: the Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor (KIHD) Study. *J Nutr* 2003, 133:199–204
50. Steffen LM, Jacobs DR Jr, Stevens J et al. Associations of whole-grain, refined-grain, and fruit and vegetable consumption with risks of all-cause mortality and incident coronary artery disease and ischemic stroke: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Am J Clin Nutr* 2003, 78:383–390
51. Νάσκα Α, Ορφανός Φ, Χλόππσιος Ι και συν. Οι διατροφικές συνήθειες των Ελλήνων. Ευρωπαϊκό Πρόγραμμα συνεργασίας Ιατρικής και Κοινωνίας (ΕΠΙΚ). *Αρχ Ελλην Ιατρ* 2005, 22:259–269
52. Arvaniti F, Panagiotakos DB, Pitsavos C et al. Dietary habits in a Greek sample of men and women: the ATTICA study. *Cent Eur J Publ Hlth* 2006, 14:74–77
53. Kromhout D, Keys A, Aravanis C et al. Food consumption patterns in the 1960s in seven countries. *Am J Clin Nutr* 1989, 49:889–894
54. Trichopoulou A, Kouris-Blazos A, Vassilakou T et al. Diet and survival of elderly Greeks: a link to the past. *Am J Clin Nutr* 1995, 61(Suppl 6):1346–1350
55. Carlsson-Kanyama A, Gonzalez AD. Potential contributions of food consumption patterns to climate change. *Am J Clin Nutr* 2009, 89:1704–1709
56. Gussow JD, Clancy KL. Dietary guidelines for sustainability. *J Nutr Educ* 1986, 18:1–5
57. European Heart Network. Diet, Physical Activity and Cardiovascular Disease Prevention. Brussels: European Heart Network, 2011
58. Lui RH. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. *J Nutr* 2004, 134:347–385
59. Lui HL. Health-promoting components of fruits and vegetables in diet. *Adv Nutr* 2013, 4:384–392
60. Heber D. Vegetables, fruits and phytoestrogens in the prevention of diseases. *J Postgrad Med* 2004, 50:145–149
61. Chu YF, Sun J, Wu X et al. Antioxidant and antiproliferative activities of common vegetables. *J Agric Food Chem* 2002, 50:6910–6916
62. Liu RH. Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. *Am J Clin Nutr* 2003, 78(Suppl 3):517–520
63. Sun J, Chu YF, Wu X et al. Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. *J Agric Food Chem* 2002, 50:7449–7454
64. Faulkner GP, Pourshahidi LK, Wallace JM et al. Serving size guidance for consumers: is it effective? *Proc Nutr Soc* 2012, 71:610–621
65. Kontogianni MD, Vidra N, Farmaki AE et al. Adherence rates to the Mediterranean diet are low in a representative sample of Greek children and adolescents. *J Nutr* 2008, 138:1951–1956
66. da Silva R, Bach-Faig A, Raidó Quintana B et al. Worldwide variation of adherence to the Mediterranean diet, in 1961–1965 and 2000–2003. *Publ Hlth Nutr* 2009, 12:1676–1684
67. Perk J, De Backer G, Gohlke H et al. European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012). The Fifth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease
63. Büchner FL, Bueno-de-Mesquita HB, Ros MM et al. Variety in fruit and vegetable consumption and the risk of lung cancer

- in the European prospective investigation into cancer and nutrition. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010, 19:2278–2286
64. Jeurnink SM, Bóchner FL, Bueno-de-Mesquita HB et al. Variety in vegetable and fruit consumption and the risk of gastric and esophageal cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Int J Cancer* 2012, 131:963–973
69. Food Standards Agency. *Your guide to the eatwell plate – Helping you eat a healthier diet*. Food Standards Agency, London, 2011
70. Sociedad Española de Nutrición Comunitaria (SENC). *Guía de la alimentación saludable*. SENC-Instituto, Madrid, 2004
71. A nova RODA DOS ALIMENTOS ...um guia para a escolha alimentar diária! Garra, 2003
72. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA); Scientific Opinion on Dietary Reference Values for energy. *EFSA Journal* 2013, 11:3005
73. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA); Scientific Opinion on Dietary Reference Values for protein. *EFSA Journal* 2012, 10:2557
74. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition, and Allergies (NDA); Scientific Opinion on Dietary Reference Values for carbohydrates and dietary fibre. *EFSA Journal* 2010, 8:1462
75. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition, and Allergies (NDA); Scientific Opinion on Dietary Reference Values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, trans fatty acids, and cholesterol. *EFSA Journal* 2010, 8:1461
76. Institute of Medicine - IoM, United States Department of Agriculture-USDA (IoM, Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids, 2005
77. IoM (Institute of Medicine). National Research Council. *Dietary Reference Intakes: The Essential Guide to Nutrient Requirements*. The National Academies Press, Washington, DC, 2006
78. Lewis HB, Ahern AL, Jebb SA. How much should I eat? A comparison of suggested portion sizes in the UK. *Publ Hlth Nutr* 2012, 15:2110–2117
79. Joint FAO/WHO Workshop on Fruit and Vegetables for Health (2004: Kobe, Japan) *Fruit and vegetables for health: Report of a Joint FAO/WHO Workshop, 1–3 September, 2004, Kobe, Japan*
80. Pollard CM, Day AM, Binns CW. Consumer perceptions of fruit and vegetables serving sizes. *Publ Health Nutr* 2008, 12:637–643
81. van Dooren C, Kramer G. *Food patterns and dietary recommendations in Spain, France and Sweden*. Gouda, Blonk Milieu Advies BV, 2012
82. Institute of Grocery Distribution. *Portion size: a review of existing approaches*. England: Institute of Grocery Distribution, 2008
83. The Nutrition Report 2012. Summary. German Nutrition Society/Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V. Godesberger Allee 18 D–53175 Bonn Germany www.dge.de
84. Alinia S, Hels O, Tetens I. The potential association between fruit intake and body weight - a review. *Obes Rev* 2009, 10: 639–647
85. Ledoux TA, Hingle MD, Baranowski T. Relationship of fruit and vegetable intake with adiposity: a systematic review. *Obes Rev* 2011, 12:143–150
86. World Health Organization. *Country wide integrated non communicable disease intervention (CINDI) programme*. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe, 2000
87. Harvard School of Public Health (HSPS). Department of Nutrition. *Healthy Eating Pyramid, 2008 and Healthy Eating Plate, 2011*
88. American Heart Association Nutrition Committee, Lichtenstein AH, Appel LJ, Brands M et al. *Diet and lifestyle recommendations revision 2006: a scientific statement from the American Heart Association Nutrition Committee*. *Circulation* 2006, 114:82–96
89. Jeppesen C, Bjerregaard P, Young K. *Food-based dietary guidelines in circumpolar regions Circumpolar Health Supplements* 2011, 8
90. US Department of Agriculture and US Department of Health and Human Services. *Dietary Guidelines for Americans, 2010*. 7th ed. US Government Printing Office, December, Washington, DC, 2010
91. Her Majesty the Queen in Right of Canada, represented by the Minister of Health Canada. *Eating well with Canada's Food guide. A resource for Educators and Communicators*. Health Canada, Ottawa, 2011
92. Islami F, Ren JS, Taylor PR et al. Pickled vegetables and the risk of oesophageal cancer: a meta-analysis. *Br J Cancer* 2009, 101:1641–1647

Iatriki 2015, 104(1):31–42

Iatriki 2015, 104(1):31–42

## Λοίμωξη

### από *Clostridium difficile*

#### Μετάδοση, παθογένεια, διάγνωση και σύγχρονη αντιμετώπιση

**M. Μέλιου, Α. Πεφάνης**

Παθολογική Κλινική, ΓΝΝΘΑ «Η Σωτηρία», Αθήνα

**ΠΕΡΙΛΗΨΗ** Η λοίμωξη από *C. difficile* αποτελεί σοβαρό πρόβλημα στην κλινική πράξη όντας σημαντικός παράγοντας νοσηρότητας και θνητότητας. Όντας ένα ιδιαίτερα ανθεκτικό παθογόνο, ευθύνεται για μεγάλο αριθμό λοιμώξεων ετησίως. Δεξαμενές του αποτελούν το έδαφος, το νερό, οι τροφές αλλά και το νοσοκομειακό περιβάλλον και προσωπικό. Με κυριότερο παράγοντα κινδύνου την προηγηθείσα χρήση αντιβιοτικών αλλά και άλλους όπως την ηλικία, τη μακρά νοσηλεία, τη χρήση ρινογαστρικού σωλήνα σίτισης και την ανοσοκαταστολή, αφορά σε πλήθος των ασθενών. Η νοσογονικότητά του οφείλεται στην προσβολή του βλεννογόνου του εντέρου με σχηματισμό ψευδομεμβρανών. Η κλινική εικόνα της λοίμωξης κυμαίνεται από ασυμπτωματική φορεία μέχρι βαρύ διαρροϊκό σύνδρομο, τοξικό megacolon και σήψη. Η διάγνωση βασίζεται στην ανίχνευση των τοξινών και στην αναερόβια καλλιέργεια κοπράνων συνδυασμένη με κλινικά κριτήρια. Η απομόνωση του ασθενούς και η διακοπή των εμπλεκόμενων αντιβιοτικών αποτελούν βάση της θεραπείας. Η αντιμικροβιακή θεραπεία βασίζεται στην από του στόματος χρήση βανκομυκίνης, μετρονιδαζόλης ή φινταξομυκίνης η οποία αποτελεί τον κορμό της θεραπείας στις υποτροπιάζουσες περιπτώσεις. Η «μεταμόσχευση» κοπράνων από υγιείς δότες φαίνεται να υπερτερεί της φαρμακευτικής θεραπείας και πιθανόν να αποτελέσει τη μελλοντική βάση της θεραπευτικής προσέγγισης.

**Λέξεις ευρετηρίου** *Clostridium difficile*, βανκομυκίνη, φινταξομυκίνη, ψευδομεμβρανώδης κολίτιδα.

**Αλληλογραφία:** Α. Πεφάνης, Παθολογική Κλινική ΓΝΝΘΑ «Η Σωτηρία», Λεωφ. Μεσογείων 152, 115 27 Αθήνα  
e-mail: apefan@ med.uoa.gr

## *Clostridium difficile*

### infection

#### Transmission, pathophysiology, diagnosis and current treatment

**M. Meliou, A. Pefanis**

Department of Medicine, “Sotiria” General and Chest Diseases Hospital of Athens, Athens, Greece

**ABSTRACT** *Clostridium difficile* infection remains an important problem in clinical medicine and is an important morbidity and mortality factor. Being an extremely durable pathogen, it is responsible for a great number of infections annually. Pools of transmittance include the ground, water, food but also hospital environment and staff. With risk factors that include previous antibiotic use, age, long hospital stay, use of nasogastric tube and immunosuppression it concerns a great number of patients. Pathogenic mechanism includes the formation of pseudomembranes in the colon. Clinical course varies from asymptomatic carriage to serious diarrhea, megacolon and sepsis. Diagnosis is based on detection of toxins and anaerobic fecal culture combined with clinical criteria. Patient isolation and discontinuation of implicated antibiotics constitute the base for treatment. Antimicrobial treatment is based on the per os use of vancomycin, metronidazole or fidaxomicin which constitutes the treatment of choice for recurrences. Fecal transplantation by healthy donors appears to be superior to pharmacological therapy and will probably be the basis of treatment in the future.

**Key words** *Clostridium difficile*, vancomycin, fidaxomicin, pseudomembranous colitis.

**Corresponding author:** A. Pefanis, Department of Medicine, “Sotiria” General and Chest Diseases Hospital of Athens, 152 Mesogeion Ave, GR-115 27 Athens, Greece  
e-mail: apefan@ med.uoa.gr

## 1. Εισαγωγή

Το *Clostridium difficile* αποτελεί μείζον πρόβλημα στη νοσοκομειακή περίθαλψη. Είναι το μοναδικό νοσοκομειακό παθογόνο αναερόβιο και σπορογόνο, γεγονός που καθιστά την εκρίζωσή του ιδιαίτερα δύσκολη καθώς επιβιώνει στο περιβάλλον για περισσότερο από 5 μήνες στη σπορογόνο μορφή ενώ για την ανάπτυξη λοίμωξης απαιτούνται λιγότεροι από 10 σπόροι.<sup>1</sup> Υπολογίζεται ότι αποτελεί το αίτιο για μισό εκατομμύριο λοιμώξεις και σχεδόν τριάντα χιλιάδες θανάτους στις ΗΠΑ<sup>2</sup> με κόστος που αγγίζει τις 9000 δολάρια ανά λοίμωξη και το 1–4,8 δις δολάρια ανά έτος.<sup>3</sup> Στην Ελλάδα η επίπτωση της λοίμωξης από κλωστηρίδιο (*Clostridium difficile* infection – CDI) παραμένει άγνωστη τόσο λόγω ελλιπούς καταγραφής όσο και συχνής υποδιάγνωσης. Βέβαια σύμφωνα με την πανελλαδική μελέτη σημειακού επιπολασμού της CDI υπό την επωνυμία C-DEFINE, ο επιπολασμός αυτής στα 21 ελληνικά νοσοκομεία που συμμετείχαν στη μελέτη, ήταν 0,51% (CIs=0,31–0,69%), ενώ αφορούσε στο 17% (CIs=11,17–22,83%) των αιτίων διάρροιας στους 5536 νοσηλευόμενους ασθενείς που ελέγχθηκαν.<sup>4</sup>

## 2. Χαρακτηριστικά και μετάδοση

Το *C. difficile* είναι ένα Gram θετικό σπορογόνο, αυστηρά αναερόβιο βακτήριο το οποίο ανευρίσκεται στο έντερο ανθρώπων και ζώων, στο έδαφος ή το νερό. Δύναται να ανευρεθεί είτε ως σπόρος είτε στη βλαστική του μορφή. Οι βλαστικές μορφές μπορούν να επιβιώσουν στο περιβάλλον και σε υγρές επιφάνειες για αρκετές ώρες ενώ είναι ευαίσθητες στην έκθεση σε γαστρικό οξύ και στα κοινά αντισηπτικά και αλκοολούχα διαλύματα. Αντίθετα οι σπόροι μπορούν να επιβιώσουν για μήνες στο περιβάλλον και ταυτόχρονα παρουσιάζουν ανθεκτικότητα στα αντισηπτικά και στα γαστρικά υγρά.<sup>1</sup>

Δεξαμενές του *C. difficile* στην κοινότητα αποτελούν το έδαφος, το νερό, οι τροφές και τα κατοικίδια ενώ αποτελεί και μέρος της φυσιολογικής χλωρίδας του γαστρεντερικού συστήματος στο 1–3% των υγιών μη νοσηλευόμενων ενηλίκων ενώ στα νεογνά φτάνει έως και το 45%.<sup>5</sup> Στο νοσοκομειακό περιβάλλον ο αποικισμός αγγίζει το 20–40% ενώ

σε οίκους ευγηρίας το 50%. Ο ασυμπτωματικός αποικισμός ανάλογα με τον μελετούμενο πληθυσμό αναφέρεται από 10% έως 52% και φαίνεται να μην αυξάνει τον κίνδυνο συμπτωματικής λοίμωξης ενώ υπάρχουν ενδείξεις ότι μπορεί να προστατεύει από ανάπτυξη συμπτωματικής νόσου.<sup>6</sup> Χαρακτηριστικά, στη μελέτη των Shim JK et al όπου μελετήθηκαν 618 μη αποικισμένοι ασθενείς και 192 ασυμπτωματικοί φορείς, που εισήχθησαν σε νοσοκομείο και παρακολούθηθηκαν με τουλάχιστον 2 καλλιέργειες κοπράνων, ανά εβδομάδα, συμπτωματική λοίμωξη από *C. difficile* ανέπτυξε 3,6% των μη αποικισμένων σε αντίθεση με 1,1% των φορέων (P=0,024).<sup>6</sup>

Η μετάδοση του *C. difficile* μπορεί να γίνει μέσω των χεριών του προσωπικού ή των ασθενών, από άτομο σε άτομο ή από επαφή με μολυσμένες επιφάνειες. Απαραίτητες προϋποθέσεις για πρόκληση νόσου είναι η κατάποση του *C. difficile*, η ύπαρξη διαταραχής της φυσιολογικής εντερικής χλωρίδας και η παραγωγή τοξινών από το *C. difficile*.

## 3. Παράγοντες κινδύνου

Η έκθεση σε αντιβακτηριακή θεραπεία και κυρίως σε αντιμικροβιακά ευρέος φάσματος αποτελεί τον βασικό παράγοντα κινδύνου για ανάπτυξη συμπτωματικής λοίμωξης.<sup>6</sup> Παράγοντες κινδύνου για ανάπτυξη πρώτου επεισοδίου συμπτωματικής λοίμωξης από *C. difficile* είναι: (α) η αντιμικροβιακή θεραπεία κατά τη διάρκεια των τελευταίων 3 μηνών καθώς και η χρήση πολλαπλών αντιμικροβιακών,<sup>7,8,10,11</sup> (β) η ανοσοκαταστολή,<sup>8,9</sup> (γ) η ηλικία άνω των 65 ετών,<sup>10,11</sup> (δ) η ύπαρξη σοβαρής υποκείμενης νόσου,<sup>10,11</sup> (ε) η προηγηθείσα χειρουργική επέμβαση στο γαστρεντερικό ή η ύπαρξη ρινογαστρικού σωλήνα σίτισης,<sup>11–13</sup> (στ) οι θεραπείες μείωσης της γαστρικής οξύτητας,<sup>11</sup> (ζ) η παραμονή σε μονάδα εντατικής θεραπείας,<sup>11</sup> η) η παρατεταμένη νοσηλεία<sup>14</sup> και (θ) η χρήση αντινεοπλασματικών παραγόντων.<sup>8,9</sup>

Στην ελληνική μελέτη C-DEFINE οι παράγοντες κινδύνου που ανεδείχθησαν, ήταν ηλικία άνω των 68 ετών (OR=4,54, CIs=1,45–14,05, P=0,009) και η προηγηθείσα θεραπεία με κολιστίνη (OR=4,77, CIs=1,14–19,89, P=0,032). Αν συνέτρεχαν και οι

δύο αυτοί παράγοντες ο σχετικός κίνδυνος ανάπτυξης οκταπλασιαζόταν (OR=8,12, P=0,026).<sup>4</sup> Χαρακτηριστικό είναι το γεγονός ότι, στη συγκεκριμένη μελέτη<sup>4</sup> ο επιπολασμός της CDI στις αιματολογικές κλινικές ήταν πολύ μεγαλύτερος σε σχέση με τις Παθολογικές και τις Χειρουργικές κλινικές (P=0,023).

Τα αντιμικροβιακά που έχουν συσχετιστεί με πρόκληση νοσοκομειακής λοίμωξης με *C. difficile* είναι κυρίως οι κεφαλοσπορίνες 2ης έως 4ης γενιάς και η κλινδαμυκίνη ενώ ακολουθούν οι καρβαπενέμες, η κοτριμοξαζόλη, οι φθοριοκινολόνες και οι συνδυασμοί πενικιλινών (πίν. 1).<sup>15</sup> Αντίθετα, στην πρόκληση λοίμωξης στην κοινότητα ενοχοποιείται κυρίως η κλινδαμυκίνη ενώ ακολουθούν οι κεφαλοσπορίνες, οι καρβαπενέμες, οι κινολόνες και οι πενικιλίνες (πίν. 2).<sup>16</sup> Η χορήγηση αμινογλυκοσιδών και τετρακυκλινών δεν φαίνεται να αποτελεί παράγοντα κινδύνου για ανάπτυξη CDI.

#### 4. Παθογένεια

Η παθογένεια της λοίμωξης από το *C. difficile* βασίζεται στη διαταραχή της φυσιολογικής χλωρίδας του εντέρου, κυρίως από τη χρήση αντιβιοτικών, με αποτέλεσμα τη μειωμένη ποικιλότητα στο έντερο.<sup>17</sup> Η τυχαία κατάποση σπόρων κλωστηριδίου και η μετατροπή σε βλαστικές μορφές στο ήδη διαταραγμένο έντερο οδηγεί σε αποικισμό. Η διαταραχή της επιθηλιακής συνοχής, η απελευθέρωση φλεγμονωδών παραγόντων, οι φλεγμονώδεις αλλοιώσεις και ο σχηματισμός ψευδομεμβρανών στο έντερο αποτελούν την αλληλουχία ανάπτυξης συμπτωματικής κολίτιδας οφειλόμενης

στο *C. difficile*.<sup>17</sup> Χαρακτηριστικό είναι το γεγονός ότι δεν αναπτύσσουν συμπτωματική λοίμωξη όλοι όσοι θα αποικιστούν από κλωστηρίδιο. Το γεγονός αυτό υποδηλώνει ότι ενέχονται και άλλοι παράγοντες πέραν από την παρουσία του βακτηρίου στην παθογένεια της κλινικής νόσου.<sup>18</sup> Τρεις εκδοχές έχουν συσχετιστεί με τη μετάδοση του *C. difficile* και την εκδήλωση κλινικής νόσου (σχήμα 1). Έκθεση σε μη τοξινογόνο στέλεχος θα οδηγήσει σε ασυμπτωματικό αποικισμό καθώς η μη παραγωγή τοξίνης δεν οδηγεί στην κλινική εκδήλωση συμπτωμάτων κολίτιδας. Το ίδιο συμβαίνει και με την έκθεση σε τοξινογόνο μεν στέλεχος, ενός ανοσοεπαρκούς ασθενούς με αντισωματική απάντηση (IgG) έναντι της τοξίνης A. Ο ασθενής αυτός χάρη στην επαρκή ανοσολογική απάντηση δύναται να εμποδίσει την εκδήλωση κλινικής νόσου. Αντίθετα, έκθεση σε τοξινογόνο στέλεχος και μη επαρκής συνοδός αντισωματική απάντηση στην τοξίνη A οδηγεί στο πρώτο επεισόδιο συμπτωματικής νόσου και ενέχεται στις υποτροπές.<sup>19–21</sup>

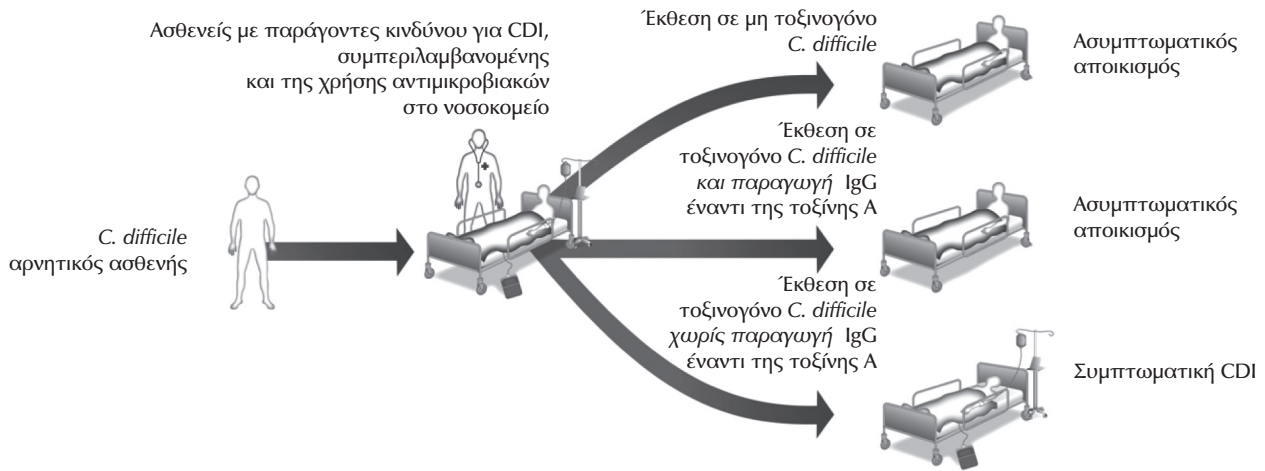
Μετά την πρώτη συμπτωματική νόσο από *C. difficile*, το 25% των ασθενών θα παρουσιάσει υποτροπή ενώ 45–65% εξ αυτών θα εμφανίσει πολλαπλές υποτροπές.<sup>22–25</sup> Υποτροπή των συμπτωμάτων μπορεί να εμφανισθεί λόγω παροδικής δυσλειτουργίας του εντέρου σε ώς και 35% των ασθενών τις πρώτες 2 εβδομάδες μετά την ανάρρωση, ενώ 4% μπορεί να έχουν συμπτώματα ώς και 3 μήνες μετά λόγω ανάπτυξης μεταλοιμώδους συνδρόμου ευερέθιστου εντέρου, χωρίς αυτό να θεωρείται υποτροπή της νόσου.<sup>26</sup> Παράγοντες κινδύνου για υποτροπή της λοίμωξης αποτελούν η ανοσοκαταστολή, η έκθεση σε

**Πίνακας 1.** Αντιμικροβιακά που συνδέονται με πρόκληση νοσοκομειακής λοίμωξης από *C. difficile* (CDI) (μετα-ανάλυση)<sup>15</sup>

Κατηγορία αντιμικροβιακού	OR (95%CI)	Αρ. Μελετών
Κεφαλοσπορίνες γ' γενιάς	3,20 (1,80–5,71)	6
Κλινδαμυκίνη	2,86 (2,04–4,02)	6
Κεφαλοσπορίνες β' γενιάς	2,23 (1,47–3,37)	6
Κεφαλοσπορίνες δ' γενιάς	2,14 (1,30–3,52)	2
Καρβαπενέμες	1,84 (1,26–2,68)	6
Κοτριμοξαζόλη	1,78 (1,04–3,05)	5
Φθοριοκινολόνες	1,66 (1,17–2,35)	10
Συνδυασμοί πενικιλινών	1,45 (1,05–2,02)	6

**Πίνακας 2.** Αντιμικροβιακά που συνδέονται με πρόκληση λοίμωξης από *C. difficile* (CDI) στην κοινότητα (μετα-ανάλυση)<sup>16</sup>

Κατηγορία αντιμικροβιακού	OR (95%CI)
Κλινδαμυκίνη	16,80 (7,48–37,76)
Κεφαλοσπορίνες+Καρβαπενέμες	5,68 (2,12–15,23)
Φθοριοκινολόνες	5,50 (4,26–7,11)
Πενικιλίνες	2,71 (1,75–4,21)
Μακρολίδες	2,65 (1,92–3,64)
Κοτριμοξαζόλη	1,81 (1,34–2,43)
Τετρακυκλίνες	0,92 (0,61–1,40)



Σχήμα 1. Η σημασία της φυσιολογικής άμυνας στην παθογένεια της λοίμωξης από *C. difficile* (CDI)<sup>19</sup>

αντιβακτηριακούς παράγοντες που επηρεάζουν τη φυσιολογική χλωρίδα του εντέρου,<sup>10,21,27,28</sup> η μη διακοπή του υπευθύνου αντιβιοτικού,<sup>29</sup> η νεφρική δυσλειτουργία,<sup>27,30,31</sup> η ηλικία άνω των 65 ετών,<sup>10,21,27,32</sup> η ανεπαρκής ανοσολογική απάντηση έναντι στην τοξίνη του κλωστηριδίου,<sup>10</sup> η σοβαρή υποκείμενη νόσος,<sup>10,27</sup> η παρατεταμένη νοσηλεία,<sup>32</sup> η νοσηλεία σε μονάδα εντατικής θεραπείας,<sup>28</sup> η μεγάλη βαρύτητα του αρχικού επεισοδίου και η χορήγηση αντιόξινων.<sup>10</sup>

## 5. Κλινική εικόνα και βαρύτητα

Η κλινική εικόνα της λοίμωξης από *C. difficile* ποικίλλει από ελαφρά διάρροια μέχρι σηπτική καταπληξία και τοξικό megacolon. Η βαρύτητα της λοίμωξης ταξινομείται σε 4 κλινικά σύνδρομα (1) απλό αποικισμό, (2) μη ειδική κολίτιδα, (3) ψευδομεμβρανώδη κολίτιδα, (4) κεραυνοβόλο κολίτιδα.<sup>33</sup> Το 20% των ασθενών με σοβαρή λοίμωξη δεν παρουσιάζουν διαρροϊκό σύνδρομο παρά μόνο διάταση του εντέρου και ειλεό. Ακόμα, η σοβαρή λοίμωξη από *C. difficile* μπορεί να εκδηλωθεί με εικόνα SIRS, με ανεξήγητο εμπύρετο, κοιλιακό άλγος και λευχαιμοειδή αντίδραση. Η κεραυνοβόλος δε μορφή είναι δυνατόν να απαιτήσει κολεκτομή για τη θεραπεία αν και ακόμα και σε αυτές τις περιπτώσεις η θνητότητα φτάνει το 67%.

Η ταξινόμηση της βαρύτητας του πρώτου επεισοδίου βασίζεται στη μέτρηση των λευκών αιμοσφαιρίων και στην τιμή κρεατινίνης. Έτσι, ήπιας

ή μέτριας βαρύτητας χαρακτηρίζεται το επεισόδιο αν τα λευκά αιμοσφαίρια είναι <15.000 κυτ./mL ή η κρεατινίνη ορού είναι <1,5 επί τη βασική τιμή, σοβαρό αν τα λευκά αιμοσφαίρια είναι >15.000 κυτ./mL ή η κρεατινίνη ορού είναι >1,5 επί τη βασική τιμή, ενώ σοβαρό με επιπλοκές αν συνυπάρχει υπόταση, καταπληξία, ειλεός ή megacolon (πίν. 3).<sup>34</sup> Η χαμηλή τιμή της αλβουμίνης ορού, η ηλικία άνω των 65 ετών και η βαριά συννοσηρότητα σηματοδοτούν βαρεία νόσο σύμφωνα με τις ευρωπαϊκές κατευθυντήριες οδηγίες.<sup>27</sup>

## 6. Διάγνωση

Η διάγνωση της λοίμωξης από *C. difficile* απαιτεί τα εξής κριτήρια: ύπαρξη άνω των 3 μη σχηματισμένων κενώσεων το 24ωρο ή ακτινολογικές

Πίνακας 3. Ταξινόμηση της βαρύτητας της λοίμωξης από *C. difficile* σύμφωνα με τις αμερικανικές κατευθυντήριες οδηγίες<sup>34</sup>

Ορισμός	Κλινικοεργαστηριακά ευρήματα
Πρώτο επεισόδιο, ήπιας ή μέτριας βαρύτητας	WBC < 15.000 κυτ./mL ή Κρεατινίνη < 1,5 × βασική τιμή
Πρώτο επεισόδιο, σοβαρό	WBC > 15.000 κυτ./mL ή Κρεατινίνη > 1,5 × βασική τιμή
Πρώτο επεισόδιο, σοβαρό με επιπλοκές	Υπόταση, σηπτική καταπληξία, ειλεός, megacolon

WBC: Λευκά αιμοσφαίρια

ενδείξεις ειλεού ή τοξικού megάκολου και θετικό τεστ για τοξινογόνο στέλεχος του *C. difficile* ή ενδοσκοπικές ή ιστοπαθολογικές ενδείξεις ψευδομεμβρανώδους κολίτιδας.<sup>27</sup> Η διαφοροδιάγνωση μεταξύ αποικισμού και λοίμωξης δεν δύναται να γίνει μόνο με εργαστηριακά κριτήρια.<sup>6</sup> Το 46% των ανιχνευόμενων *C. difficile* είναι μη τοξινογόνα και δεν δύναται να προκαλέσουν κλινική νόσο χωρίς όμως αυτό να μπορεί να δείχθει με τις συνηθείς εργαστηριακές μεθόδους.<sup>6</sup> Για τον λόγο αυτόν εργαστηριακός έλεγχος θα πρέπει να γίνεται μόνο σε συμπτωματικούς ασθενείς<sup>27</sup> ενώ δεν απαιτείται εργαστηριακός επανέλεγχος μετά το πέρας της θεραπείας καθώς 56% των ασθενών με επιτυχή θεραπεία συνεχίζουν να αποβάλλουν σπόρους έως και 6 εβδομάδες μετά.<sup>24</sup>

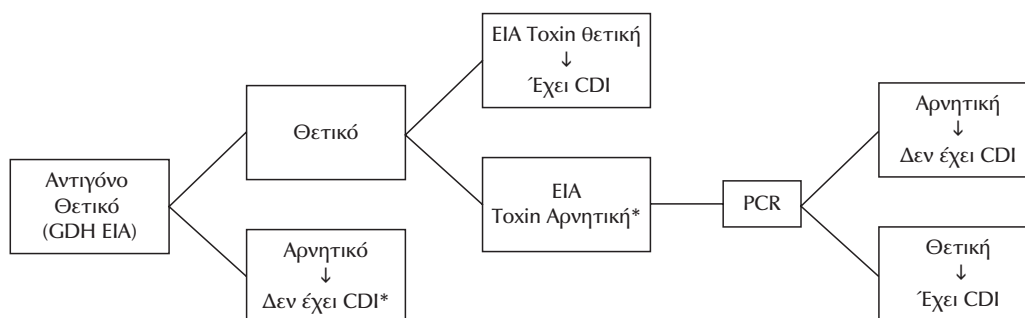
Η διαγνωστική τεχνική που αποτελεί τον χρυσό κανόνα είναι η αναερόβια καλλιέργεια κοπράνων ενώ η ταυτοποίηση του είδους γίνεται μέσω συγκολλητινοαντιδράσεων, EIA και PCR καθώς και η δοκιμασία κυτταροτοξικότητας η οποία ανιχνεύει έως και 3 pg τοξίνης και έχει ευαισθησία 94–100% και ειδικότητα 99%. Αν και η τεχνική αυτή αποτελεί τη βάση της διάγνωσης, απαιτεί μακρό χρόνο και εξειδικευμένο εξοπλισμό που συχνά δεν μπορεί να διατεθεί σε κλινικό περιβάλλον. Για τον λόγο αυτόν συχνότερα χρησιμοποιούνται ταχείες διαγνωστικές μέθοδοι.

Οι ταχείες διαγνωστικές μέθοδοι χωρίζονται σε μεθόδους αναζήτησης αντιγόνου (με EIA ή ανο-

σοχρωματογραφία) που προσφέρουν υψηλή ευαισθησία αλλά χαμηλή ειδικότητα, σε μεθόδους αναζήτησης τοξινών με χαμηλή ευαισθησία αλλά υψηλή ειδικότητα και σε μοριακές τεχνικές με υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα που όμως συχνά ανιχνεύουν τοξινογόνα στελέχη και σε ασυμπτωματικούς ασθενείς και πολλοί ειδικοί τάσσονται κατά της ευρείας χρήσης τους. Σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες του American College of Gastroenterology ένας συμπτωματικός ασθενής θα πρέπει να ελέγχεται πρώτα με εξέταση ανίχνευσης αντιγόνου, σε περίπτωση θετικού αποτελέσματος με ανίχνευση τοξίνης και μόνο σε περίπτωση αρνητικής τοξίνης με μοριακή μέθοδο (σχήμα 2).<sup>35</sup>

## 7. Αντιμετώπιση

Η αντιμετώπιση της συμπτωματικής λοίμωξης από *C. difficile* περιλαμβάνει, την απομόνωση του ασθενούς για την αποφυγή μετάδοσης στους συνοσηλεύομενους ασθενείς, τη διακοπή των ενοχοποιούμενων αντιβιοτικών, την ενυδάτωση και διόρθωση των πιθανώς συνυπαρχουσών ηλεκτρολυτικών διαταραχών, τη διακοπή των πιθανώς χορηγούμενων αναστολέων αντλίας πρωτονίων και τη φαρμακευτική θεραπεία. Η χρήση αντιδιαρροϊκών και αναλγητικών θα πρέπει να αποφεύγεται, καθώς η αντιπερισταλτική τους δράση μπορεί να προκαλέσει τοξικό megάκολο.<sup>27</sup>



\* Η μέθοδος δίδει ~10% ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα  
GDH: Glutamate Dehydrogenase (μεθόδους αναζήτησης αντιγόνου *C. difficile*)  
EIA: Enzyme Immunoassay  
PCR: Polymerase Chain Reaction

**Σχήμα 2.** Διαγνωστική προσέγγιση λοίμωξης από *C. difficile* (CDI)<sup>35</sup>

Εναλλακτικές θεραπείες όπως ανοσοθεραπεία με ανθρώπινα μονοκλωνικά αντισώματα έναντι της τοξίνης Α και Β ή παθητική ανοσοποίηση με άνοσο ορό γάλακτος δεν υποστηρίζονται από ισχυρά, ακόμα, δεδομένα. Η δε χορήγηση προβιοτικών και ρητινών ή πολυμερών που δεσμεύουν τις τοξίνες δεν αποτελούν ισχυρή σύσταση.<sup>27</sup>

### 7.1. Αντιμικροβιακή θεραπεία

Ποικίλα αντιμικροβιακά έχουν δοκιμαστεί για τη θεραπεία της κλωστηριδιακής κολίτιδας. Ακολουθεί βραχεία αναφορά σε έκαστο εξ αυτών.

**7.1.1. Οι κλασικές θεραπευτικές επιλογές.** Η μετρονιδαζόλη ανήκει στην κατηγορία των νιτροϊμιδαζολών. Αποτελεί προφάρμακο που δρα ενδοκυτταρίως και συνδέεται στο DNA, διαταράσσοντας τη δομή του αναστέλλει τη σύνθεση των νουκλεϊκών οξέων των βακτηρίων με αποτέλεσμα τον θάνατό τους. Απορροφάται από τον γαστρεντερικό σωλήνα κατά 80% και μεταβολίζεται από το ήπαρ. Η μετρονιδαζόλη χρησιμοποιείται για τη θεραπεία της κλωστηριδιακής λοίμωξης από τη δεκαετία του 1980 όταν και φάνηκε η αποτελεσματικότητά της έναντι του κλωστηριδίου, με πολύ χαμηλότερο κόστος σε σχέση με την ακριβή, μέχρι τότε χρησιμοποιούμενη, βανκομυκίνη.<sup>36</sup>

Η βανκομυκίνη αποτελεί την κλασική θεραπεία για την κλωστηριδιακή κολίτιδα. Ανήκει στα γλυκοπεπτιδία και δρα εμποδίζοντας τη σύνθεση του κυτταρικού τοιχώματος. Η από του στόματος χορήγηση βανκομυκίνης αποτελούσε θεραπευτική πρακτική για την αντιμετώπιση διαρροϊκών συνδρόμων ακόμα και πριν γίνει γνωστό ότι σφείλονταν στο *C. difficile*.<sup>37</sup>

Η βακιτρακίνη δρα επίσης διαταράσσοντας τη σύνθεση του κυτταρικού τοιχώματος έχοντας βακτηριοκτόνο δράση. Χρησιμοποιήθηκε στη θεραπεία της κλωστηριδιακής κολίτιδας από το 1980, λόγω όμως δυσανεξίας των ασθενών λόγω πικρής γεύσης και ναυτίας, μεγάλου κόστους και μη υπεροχής σε σχέση με τις άλλες θεραπείες έχει εγκαταλειφθεί.<sup>38</sup>

Η τείκοπλανίνη ανήκει και αυτή στα γλυκοπεπτιδία και δρα αναστέλλοντας τον πολυμερισμό της πεπτιδογλυκάνης και ως εκ τούτου τη σύνθεση του κυτταρικού τοιχώματος των βακτηρίων. Η τείκοπλανίνη φαίνεται να έχει αποτελέσματα συγκρίσιμα με αυτά της βανκομυκίνης στη θεραπεία της λοίμωξης από κλωστηρίδιο, αλλά είναι πιο ακριβή.<sup>39</sup>

Το φουσιδικό οξύ δρα παρεμβαίνοντας στη σύνθεση πρωτεϊνών των βακτηρίων μέσω παρεμβολής στη λειτουργία των ριβοσωμάτων. Το φουσιδικό έχει επίσης δοκιμαστεί με ικανοποιητικά αποτελέσματα στη θεραπεία του *C. difficile*.<sup>39</sup>

Η νιταζοξανίδη, ένα αντιπρωτοζωϊκό φάρμακο, που δρα παρεμβαίνοντας σε ένα ένζυμο απαραίτητο για τον αναερόβιο μεταβολισμό, δοκιμάζεται στη θεραπεία της κλωστηριδιακής νόσου. Αν και φαίνεται να είναι δραστική *in vitro* έναντι του *C. difficile* και να προλαμβάνει τη λοίμωξη σε πειραματόζωα *in vivo*, δεν έχει ακόμα αποδειχθεί να αποτελεί θεραπευτική επιλογή στην ήδη εγκατεστημένη νόσο<sup>40</sup> αν και μελέτες διενεργούνται ακόμα. Επίσης, μελέτες φάσης 3 διενεργούνται επί του παρόντος για την κδαζολίδη και τη σουροτομυκίνη.

Τέλος, η φινταξομυκίνη αναδεικνύεται ως σοβαρή θεραπευτική επιλογή σε όλο και περισσότερες μελέτες.

**7.1.2. Φινταξομυκίνη.** Η φινταξομυκίνη είναι η πρώτη σε μια σειρά νέων αντιβακτηριακών γνωστών και ως μακροκυκλικών.<sup>41</sup> Γνωστή και ως tiacumicin B, προκύπτει ως προϊόν ζύμωσης από το βακτήριο *Dactylosporangium aurantiacum* και περιέχει έναν ακόρεστο 18-μελή πυρήνα μακροκυκλικών με δύο εξαιρετικά λειτουργικά σάκχαρα ως πλευρικές αλυσίδες.<sup>41,42</sup> Ο κύριος μεταβολίτης της fidaxomicin είναι ένα προϊόν υδρόλυσης, το OP-1118 ή desisobutyryl fidaxomicin που δημιουργείται μέσω της υδρόλυσης του Ο-ισοβουτυλικού εστέρα, ο οποίος βρίσκεται στη θέση 4.<sup>43</sup> Η φινταξομυκίνη φαίνεται να έχει βακτηριοκτόνο δράση έναντι του *C. difficile*.<sup>44</sup> Ακόμα, η φινταξομυκίνη φαίνεται να έχει ελάχιστη επίδραση επί της εντερικής μικρο-

χλωρίδας.<sup>44</sup> *In vitro* αναστέλλει τόσο την παραγωγή σπόρων όσο και την παραγωγή τοξινών,<sup>45</sup> ενώ φαίνεται να έχει μακρά μετα-αντιβιοτική δράση.<sup>43</sup> Σε υγιείς ενήλικες εθελοντές, η από του στόματος χορήγηση fidaxomicin σε δόσεις εντός του εύρους των 100–450 mg κατέληξε σε αμελητέα συστηματική απορρόφηση του φαρμάκου, με τα επίπεδα στο πλάσμα να είναι συχνά κάτω από τα ανιχνεύσιμα όρια.<sup>45–47</sup> Οι συγκεντρώσεις στο πλάσμα παρατηρούνται εντός 15 λεπτών μετά τη δόση και παραμένουν ανιχνεύσιμες για >24 ώρες μετά τη δόση.<sup>46</sup> Ακόμα και στις υψηλότερες δόσεις, δεν υπάρχουν ενδείξεις συσσώρευσης του φαρμάκου, μετά από πολλαπλές δόσεις, για 10 συνεχόμενες ημέρες.<sup>45</sup> Οι μέγιστες συγκεντρώσεις στο πλάσμα (Cmax) για τη fidaxomicin και τον OP-1118 μειώθηκαν κατά 22% και 33%, αντίστοιχα, σε κατάσταση σίτισης συγκριτικά με την κατάσταση νηστείας.<sup>47</sup> Ωστόσο, αυτό δεν θεωρείται κλινικά σημαντικό, διότι η συστηματική έκθεση δεν έχει σχέση με την αποτελεσματικότητα της fidaxomicin στη CDI. Συνεπώς, η fidaxomicin μπορεί να ληφθεί με ή χωρίς τροφή.

Η χρήση της φινταξομικίνης φαίνεται να ενέχεται σε χαμηλότερο βαθμό στην ανάπτυξη ανθεκτικών στη βανκομικίνη εντεροκόκκων σε σύγκριση με τη βανκομικίνη όπως φαίνεται στη μελέτη των Nerandzic et al.<sup>48</sup> Αφορά σε μια ανάλυση υποομάδων 301 ασθενών με CDI που συμμετείχαν στη διπλά-τυφλή, τυχαιοποιημένη, δοκιμή φάσης 3 της fidaxomicin (200 mg δύο φορές ημερησίως) έναντι της βανκομικίνης (125 mg τέσσερις φορές ημερησίως), εκ των οποίων οι 247 παρουσίασαν αρνητικό δείγμα κοπράνων για VRE κατά την εισαγωγή τους στη δοκιμή. Στο τέλος της θεραπείας, διαπιστώθηκε ότι μόνο το 7% των ασθενών που έλαβαν θεραπεία με fidaxomicin αποικίσθηκε με VRE σε σύγκριση με το 31% των ασθενών που ακολούθησαν θεραπεία με βανκομικίνη ( $P < 0,001$ ).<sup>48</sup> Όπως προαναφέρθηκε η φινταξομικίνη φαίνεται να προστατεύει την εντερική μικροχλωρίδα σε σχέση με τη θεραπεία με βανκομικίνη. Στη μελέτη των Louie et al, 12 άτομα έλαβαν φινταξομικίνη 200 mg δις ημερησίως ενώ 8 έλαβαν βανκομικίνη

125 mg τετράκις ημερησίως και μελετήθηκαν οι συγκεντρώσεις του *Bacteroides fragilis* την πρώτη και τη δέκατη ημέρα. Η ομάδα της βανκομικίνης παρουσίαζε μείωση του πληθυσμού σε αντίθεση με την ομάδα της φινταξομικίνης όπου ο πληθυσμός παρέμεινε ανέπαφος.<sup>44</sup> Πολλές κλινικές μελέτες έχουν δημοσιευθεί για την αποτελεσματικότητα της φινταξομικίνης στη θεραπεία της κλωστηριδιακής κολίτιδας με αποτελέσματα εφάμιλλα της βανκομικίνης και χαμηλότερα ποσοστά υποτροπών.<sup>22,29,41,45</sup>

## 7.2. Ο ρόλος των προβιοτικών

Η λοίμωξη από *C. difficile* ευνοείται από τη διαταραχή της εντερικής χλωρίδας από τη χρήση αντιβιοτικών. Τα προβιοτικά είναι ζωντανοί μικροοργανισμοί που δύνανται να αποκαταστήσουν, ως έναν βαθμό, τη σύσταση της εντερικής χλωρίδας.<sup>49,50</sup> Όπως αναφέρθηκε και νωρίτερα, η χρήση των προβιοτικών στη θεραπεία και την πρόληψη της λοίμωξης και των υποτροπών παραμένει αμφιλεγόμενη και η χρήση τους δεν αποτελεί σύσταση από τις κατευθυντήριες οδηγίες καθώς δεν στηρίζεται από ισχυρά επιστημονικά δεδομένα.<sup>27</sup> Ακόμα, σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς έχουν αναφερθεί περιστατικά μυκηταιμίας από τη χρήση προβιοτικών. Κάποιες μελέτες βέβαια, όπως αυτή του Bakken σε μια σειρά περιστατικών, προτείνουν τη χρήση προβιοτικών σε συνδυασμό με σταδιακά μειούμενες δόσεις βανκομικίνης με ενθαρρυντικά αποτελέσματα.<sup>51</sup>

## 7.3. Τοξινοδεσμευτικά

Τυχαιοποιημένες μελέτες έχουν δείξει ότι μη απορροφήσιμα πολυμερή όπως η χολεστυραμίνη δεν δεσμεύουν τις τοξίνες του *C. difficile* και επομένως δεν έχουν θέση στη θεραπεία της κλωστηριδιακής λοίμωξης. Το Tolevamer αποτελεί ένα πολυμερές που δύναται να δεσμεύσει τις τοξίνες A και B, όμως, νεότερα δεδομένα δείχνουν μη αποτελεσματικότητα στον έλεγχο της λοίμωξης από *C. difficile*.<sup>52</sup> Τα πολυμερή αντίθετα μπορεί να δεσμεύσουν άλλα μόρια όπως αυτό της βανκομικίνης και να αποδειχθούν επιβλαβή

στην προσπάθεια θεραπείας της λοίμωξης από *C. difficile*.<sup>34</sup>

#### 7.4. Ανοσοθεραπεία

Ο ρόλος της θεραπείας με ανοσοσφαιρίνες παραμένει ασαφής καθώς επί του παρόντος υπάρχουν λίγα στοιχεία. Βέβαια, στη μελέτη των Lowy et al που συνέκριναν τη χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων έναντι των τοξινών Α και Β σε συνδυασμό με την κλασική θεραπεία έναντι κλασικής θεραπείας σε συνδυασμό με placebo, η πρώτη ομάδα είχε χαμηλότερο ποσοστό υποτροπών (7% έναντι 25%).<sup>23</sup> Μελέτες φάσης 3 διενεργούνται ακόμα.

#### 7.5. Ο ρόλος της χειρουργικής

Στις επιπλοκές από τη λοίμωξη με *C. difficile* θέση έχει και η χειρουργική αντιμετώπιση. Πολλοί μελετητές προτείνουν τη χειρουργική εκτίμηση όλων των ασθενών με σοβαρή λοίμωξη. Ολική κολεκτομή με ειλεοστομία έχει θέση σε περιπτώσεις διάτρησης του παχέος εντέρου ή σε περιπτώσεις συστηματικής φλεγμονής μη ανταποκρινόμενης στην αντιβιοτική αγωγή, συμπεριλαμβανομένων του τοξικού megacolon και του σοβαρού ειλεού. Καλύτερη πρόγνωση έχει η πραγματοποίηση της επέμβασης πριν η κολίτιδα γίνει πολύ σοβαρή, ενώ ως δείκτης βαρύτητας χρησιμοποιείται η τιμή γαλακτικού οξέος άνω του 5 mmol/L. Η χρήση της τεχνικής με ειλεοστομία παράκαμψης και έκπλυση του παχέος εντέρου με ενδοκολική έγχυση βανκομυκίνης, με ενδοφλέβια χορήγηση μετρονιδαζόλης αποτελεί μια πιθανή μελλοντική εναλλακτική επιλογή.<sup>53</sup>

#### 7.6. Χορήγηση μικροβιώματος κοπράνων από υγιή δότη

Η χορήγηση μικροβιώματος κοπράνων από υγιή δότη (μεταμόσχευση κοπράνων) φαίνεται να αποκαθιστά την εντερική χλωρίδα σε ασθενείς με πολλαπλές υποτροπές κλωστηριδικής λοίμωξης, με μηδενικές ανεπιθύμητες ενέργειες.<sup>54-56</sup> Με τα πρώτα στοιχεία να έχουν δημοσιευθεί από το 2011, με μια σειρά 317 ασθενών που υπεβλήθησαν σε χορήγηση μικροβιώματος κοπράνων από υγιή δότη μέσω ρινογαστρικού σωλήνα, κλύσμα-

τος ή γαστροσκοπίου, όπου 92% παρουσίασε κλινική βελτίωση,<sup>54</sup> όλο και περισσότερες μελέτες δημοσιεύονται με ποσοστά επιτυχίας περί το 90%. Χαρακτηριστικό είναι το γεγονός πως η μελέτη των van Dood et al που σκοπό είχε να συγκρίνει την αποτελεσματικότητα της μονοθεραπείας με βανκομυκίνη έναντι της χορήγησης μικροβιώματος κοπράνων από υγιή δότη σε συνδυασμό με βανκομυκίνη διεκδικεί λόγω ενδιάμεσων αποτελεσμάτων που αναδεικνυαν μεγάλη υπεροχή της χορήγησης μικροβιώματος.<sup>57</sup> Τέλος, είναι διαθέσιμη από του στόματος αγωγή με κατεψυγμένη μικροχλωρίδα από κόπρανα υγιών δοτών.<sup>58</sup> Βέβαια, όλα τα δεδομένα εξακολουθούν να είναι υπό μελέτη και υπό έγκριση από τους αρμόδιους οργανισμούς.

## 8. Ευρωπαϊκές κατευθυντήριες οδηγίες θεραπείας της CDI<sup>27</sup>

Το πρώτο μη σοβαρό επεισόδιο δύναται να αντιμετωπισθεί με μετρονιδαζόλη 500 mg τρεις ημερησίως ή βανκομυκίνη 125 mg τετράκις ημερησίως, ή φινταξομυκίνη 200 mg δις ημερησίως για δέκα ημέρες (πίν. 4).<sup>27</sup> Σε σοβαρό πρώτο επει-

**Πίνακας 4.** Συστάσεις της European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID)<sup>27</sup> για από του στόματος αγωγή σε μη-σοβαρό πρώτο επεισόδιο λοίμωξης από *C. difficile*

Συστασόμενη θεραπεία	Ισχύς των δεδομένων
Μετρονιδαζόλη 500 mgx3, για 10 ημέρες	A-I
Βανκομυκίνη 125 mgx4, για 10 ημέρες	B-I
Fidaxomicin 200 mgx2, για 10 ημέρες	B-I
Βανκομυκίνη 500 mgx4, για 10 ημέρες	C-I
Διακοπή χορήγησης αντιβιοτικού (-ών) και παρακολούθηση της ανταπόκρισης για 48 ώρες	C-II

- A Υποστηρίζει ισχυρά τη σύσταση για χρήση
- B Υποστηρίζει μετρίως τη σύσταση για χρήση
- C Υποστηρίζει οριακά τη σύσταση για χρήση
- D Υποστηρίζει τη σύσταση για ΑΠΟΦΥΓΗ
- I Ενδείξεις από τουλάχιστον μία σωστά σχεδιασμένη τυχαιοποιημένη μελέτη
- II Ενδείξεις από τουλάχιστον μία καλά σχεδιασμένη κλινική μελέτη χωρίς τυχαιοποίηση, από μελέτες κοόρτης ή ασθενών μαρτύρων ή από εντυπωσιακά αποτελέσματα από πειραματικές μελέτες
- III Ενδείξεις με βάση απόψεις από έγκυρα κέντρα βασισμένα στην κλινική εμπειρία, περιγραφικές μελέτες, αναφορές από ειδικούς και επιτροπές

σόδιο πρώτη επιλογή αποτελεί η βανκομυκίνη σε δόση 125 mg τετράκις ημερησίως ακολουθούμενη σε βαθμό σύστασης από τη φινταξομικίνη η οποία κερδίζει συνεχώς έδαφος στη θεραπεία της κλωστηριδιακής λοίμωξης (πίν. 5).<sup>22,27</sup>

Στις υποτροπές πρώτη επιλογή, πλέον, αποτελεί η φινταξομικίνη ενώ ακολουθεί η βανκομυκίνη και η μετρονιδαζόλη (πίν. 6). Η φινταξομικίνη αποτελεί θεραπεία εκλογής και στις περιπτώσεις που λόγω συννοσηρότητας η διακοπή των συγχωρηγούμενων αντιβιοτικών είναι αδύνατη.<sup>29</sup> Στις πολλαπλές υποτροπές, επίσης η φινταξομικίνη αποτελεί θεραπεία πρώτης εκλογής ή εναλλακτικά η βανκομυκίνη, αρχικά για δέκα ημέρες και εν συνεχεία με ώσεις 2- ημερών για τρεις εβδομάδες (πίν. 7). Στις πολλαπλές υποτροπές θα πρέπει να εξετάζεται η περίπτωση μεγαλύτερης δόσης βανκομυκίνης (500 mg, 4 φορές ημερησίως για 4

**Πίνακας 5.** Συστάσεις της ESCMID<sup>27</sup> για από του στόματος αντιμικροβιακή αγωγή σε σοβαρό πρώτο επεισόδιο λοίμωξης από *C. difficile*

Συνιστώμενη θεραπεία	Ισχύς των δεδομένων*
Βανκομυκίνη 125 mgx4, για 10 ημέρες	A-I
Fidaxomicin 200 mgx2, για 10 ημέρες	B-I**
Βανκομυκίνη 500 mgx4, για 10 ημέρες	B-III
Μετρονιδαζόλη 500 mgx3, για 10 ημέρες	D-I

\*Για τις επεξηγήσεις της κατηγοριοποίησης βλέπε πίνακα 4

\*\*Δεν υπάρχουν στοιχεία που να υποστηρίζουν τη χρήση της fidaxomicin σε απειλητική για τη ζωή CDI (D-III)

**Πίνακας 6.** Συστάσεις της ESCMID<sup>27</sup> για από του στόματος αντιμικροβιακή αγωγή στη πρώτη υποτροπή ή όταν υπάρχει κίνδυνος υποτροπής λοίμωξης από *C. difficile*

Συνιστώμενη θεραπεία	Ισχύς των δεδομένων*
Fidaxomicin 200 mgx2, για 10 ημέρες **	B-I
Βανκομυκίνη 125 mgx4, για 10 ημέρες	B-I
Μετρονιδαζόλη 500 mgx3, για 10 ημέρες	C-I
Βανκομυκίνη 500 mgx4, για 10 ημέρες	C-III

Τα στοιχεία για την αντιμετώπιση της υποτροπής της CDI με από του στόματος βανκομυκίνη ή fidaxomicin θεωρούνται ισότιμα, εκτός κι αν η νόσος έχει εξελιχθεί από μη σοβαρή, σε σοβαρή.

\*Για τις επεξηγήσεις της κατηγοριοποίησης βλέπε πίνακα 4

\*\*Η Fidaxomicin δεν σχετίστηκε με λιγότερες υποτροπές της CDI όταν αυτή οφειλετο σε ριβότυπο 027 σε αντίθεση με μη-027 ριβότυπους.

**Πίνακας 7.** Συστάσεις της ESCMID<sup>27</sup> για από του στόματος αντιμικροβιακή αγωγή σε ασθενείς με πολλαπλές (>1) υποτροπές λοίμωξης από *C. difficile*

Συνιστώμενη θεραπεία	Ισχύς των δεδομένων*
Fidaxomicin 200 mgx2, για 10 ημέρες	B-II
Βανκομυκίνη 125 mgx4, για 10 ημέρες, κατόπιν χορήγηση κατά ώσεις (125-500 mg/ημέρα κάθε 2-3 ημέρες για τουλάχιστον 3 εβδομάδες)	B-II
Βανκομυκίνη 125 mgx4, για 10 ημέρες, κατόπιν σταδιακή μείωση σε 125 mg κάθε ημέρα	B-II
Βανκομυκίνη 500 mgx4, για 10 ημέρες	C-II
Μετρονιδαζόλη 500 mgx3, για 10 ημέρες	D-II

Τα στοιχεία για την αντιμετώπιση της υποτροπής της CDI με από του στόματος βανκομυκίνη ή fidaxomicin θεωρούνται ισότιμα, εκτός κι αν η νόσος έχει εξελιχθεί από μη σοβαρή, σε σοβαρή. Η Fidaxomicin δεν σχετίστηκε με λιγότερες υποτροπές της CDI όταν αυτή οφειλετο σε ριβότυπο 027 σε αντίθεση με μη-027 ριβότυπους.

\* Για τις επεξηγήσεις της κατηγοριοποίησης βλέπε πίνακα 4

ημέρες) σε συνδυασμό με εντερική έκπλυση και ρινοδωδεκαδακτυλική έγχυση κοπράνων από υγιή δότη (πίν. 8).<sup>27</sup>

Σε περιπτώσεις που δεν είναι δυνατή η από του στόματος θεραπεία η ενδοφλέβια μετρονιδαζόλη σε συνδυασμό με ενδοκολονική έγχυση βανκομυκίνης αποτελούν τις πρώτες επιλογές.<sup>27</sup>

**Πίνακας 8.** Συστάσεις της ESCMID<sup>27</sup> για εναλλακτική, μη αντιμικροβιακή, αγωγή σε συνδυασμό με αντιμικροβιακή αγωγή σε ασθενείς με πολλαπλές υποτροπές λοίμωξης από *C. difficile*

Παρέμβαση...	Σε συνδυασμό με:	Ισχύς των δεδομένων*
Χορήγηση μικροβιώματος κοπράνων από υγιή δότη	Βανκομυκίνη 500 mgx4, για 4 ημέρες + εντερική έκπλυση + ρινοδωδεκαδακτυλική έγχυση κοπράνων από υγιή δότη	A-I
Προβιοτικά	Βανκομυκίνη ή Μετρονιδαζόλη + <i>Saccharomyces boulardii</i> ή + <i>Lactobacillus spp.</i>	D-I
Παθητική ανοσοθεραπεία με άνοσο ορό γάλακτος	Άνοσος ορός από πρωτόγαλα	D-I

\* Για τις επεξηγήσεις της κατηγοριοποίησης βλέπε πίνακα 4

## 9. Πρόληψη

Η πρόληψη της λοίμωξης από *C. difficile* αποτελεί τον κορμό για τη μείωση των κρουσμάτων. Ο περιορισμός της μη απαραίτητης χορήγησης αντιβιοτικών, η μείωση της διάρκειας θεραπείας με αυτά, η χρήση αντιμικροβιακών που δεν συνδέονται με ανάπτυξη CDI, καθώς και τα μέτρα προστασίας με απομόνωση του αποικισμένου ασθενούς και χρήση μέτρων υγιεινής στην επαφή με τον ασθενή, αποτελούν τη βάση πρόληψης της μετάδοσης.<sup>27</sup>

## 10. Συμπεράσματα

Η λοίμωξη από *C. difficile* αποτελεί σοβαρό πρόβλημα στην κλινική πράξη, όντας σημαντι-

κός παράγοντας νοσηρότητας και θνητότητας. Η πρόληψη της μετάδοσης στο νοσοκομειακό περιβάλλον καθώς και η έγκαιρη διάγνωση και θεραπεία αποτελούν τον κορμό της επιτυχούς αντιμετώπισης. Η διενέργεια διαγνωστικού ελέγχου θα πρέπει να γίνεται μόνο σε συμπτωματικούς ασθενείς. Βάση της θεραπευτικής αντιμετώπισης αποτελεί η μετρονιδαζόλη για τις ήπιες μορφές και η βανκομυκίνη και η φινταξομυκίνη για τις σοβαρότερες, με τη δεύτερη να αποτελεί σημαντικό όπλο στις υποτροπιάζουσες περιπτώσεις. Τέλος, η χορήγηση μικροβιώματος κοπράνων από υγιείς δότες φαίνεται να έχει ενθαρρυντικά αποτελέσματα στις υποτροπές, ενώ ο ρόλος της στο πρώτο επεισόδιο παραμένει υπό μελέτη.

## Βιβλιογραφία

- Ryan KJ, Ray CG (eds) Sherris Medical Microbiology. 4th ed McGraw Hill, 2004:322–324
- States Lessa FC, Mu Y, Bamberg WM, Beldavs ZG, Dumyati GK, Dunn JR et al. Burden of *Clostridium difficile* in the United States. *N Engl J Med* 2015, 372:825–834
- R. Douglas Scott II The Direct Medical costs of Healthcare-Associated Infections in US Hospitals and the Benefits of Prevention, *Economist* March 2009
- Pefanis A, Vogiatzakis E, Petrikos G et al. Point-prevalence of *Clostridium difficile* infections (CDI) in Greek hospitals: a cross-sectional study (C.DEFINE study). European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID) 2014, Barcelona, Spain, P0757
- Rousseau C, Poilane I, De Pontual L et al. *Clostridium difficile* carriage in healthy infants in the community: a potential reservoir for pathogenic strains. *Clin Infect Dis* 2012, 55:1209–1215
- Shim JK, Johnson S, Samore MH et al. Primary symptomless colonisation by *Clostridium difficile* and decreased risk of subsequent diarrhea. *Lancet* 1998, 351:633–636
- Bartlett JG. Historical perspectives on studies of *Clostridium difficile* and *C. difficile* infection. *Clin Infect Dis* 2008, 46(Suppl 1): 4–11
- Bilgrami S, Feingold JM, Dorsky D et al. Incidence and outcome of *Clostridium difficile* infection following autologous peripheral blood stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1999, 23:1039–1042
- Barbut F, Corthier G, Charpak Y et al. Prevalence and pathogenicity of *Clostridium difficile* in hospitalized patients. A French multicenter study. *Arch Intern Med* 1996, 156:1449–1454
- Bauer MP, Notermans DW, van Benthem BH et al. *Clostridium difficile* infection in Europe: a hospital-based survey. *Lancet* 2011, 377:63–73
- Bigardi GE. Risk factors for *Clostridium difficile* infection. *J Hosp Infect* 1998, 40:1–15
- Thibault A, Miller MA, Gaese C. Risk factors for the development of *Clostridium difficile*-associated diarrhea during a hospital outbreak. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1991, 12:345–348
- Bliss DZ, Johnson S, Savik K et al. Acquisition of *Clostridium difficile* and *Clostridium difficile*-associated diarrhea in hospitalized patients receiving tube feeding. *Ann Intern Med* 1998, 129:1012–1019
- Gerding DN, Olson MM, Peterson LR et al. *Clostridium difficile*-associated diarrhea and colitis in adults. A prospective case-controlled epidemiologic study. *Arch Intern Med* 1986, 146:95–100
- Slimings C, Riley TV. Antibiotics and hospital-acquired *Clostridium difficile* infection: update of systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother* 2014, 69:881–891
- Brown KA, Khanafer N, Daneman N et al. Meta-analysis of antibiotics and the risk of community-associated *Clostridium difficile* infection. *Antimicrob Agents Chemother* 2013, 57: 2326–2332
- Bagdasarian N, Rao K, Malani PN. Diagnosis and treatment of *Clostridium difficile* in adults: a systematic review. *JAMA* 2015, 313:398–408

18. Poutanen SM, Simor AE. *Clostridium difficile*-associated diarrhea in adults. *CMAJ* 2004, 171:51–58
19. Rupnik M, Wilcox MH, Gerding DN. *Clostridium difficile* infection: new developments in epidemiology and pathogenesis. *Nat Rev Microbiol* 2009, 7:526–536
20. Kyne L, Warny M, Qamar A et al. Asymptomatic carriage of *Clostridium difficile* and serum levels of IgG antibody against toxin A. *N Engl J Med* 2000, 342:390–397
21. Kyne L, Warny M, Qamar A et al. Association between antibody response to toxin A and protection against recurrent *Clostridium difficile* diarrhea. *Lancet* 2001, 357:189–193
22. Louie TJ, Miller MA, Mullane KM et al. Fidaxomicin versus vancomycin for *Clostridium difficile* infection. *N Engl J Med* 2011, 364:422–431
23. Lowy I, Molrine DC, Leav BA et al. Treatment with monoclonal antibodies against *Clostridium difficile* toxins. *N Engl J Med* 2010, 362:197–205
24. McFarland LV, Elmer GW, Surawicz CM. Breaking the cycle: treatment strategies for 163 cases of recurrent *Clostridium difficile* disease. *Am J Gastroenterol* 2002, 97:1769–1775
25. McFarland LV, Surawicz CM, Greenberg RN et al. A randomized placebo-controlled trial of *Saccharomyces boulardii* in combination with standard antibiotics for *Clostridium difficile* disease. *JAMA* 1994, 271:1913–1918
26. Piche T, Vanbiervliet G, Pipau FG et al. Low risk of irritable bowel syndrome after *Clostridium difficile* infection. *Can J Gastroenterol* 2007, 21:727–731
27. Debast SB, Bauer MP, Kuijper EJ. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: update of the treatment guidance document for *Clostridium difficile* infection. *Clin Microbiol Infect* 2014, 20(Suppl 2):1–26
28. Hu MY, Katchar K, Kyne L et al. Prospective derivation and validation of a clinical prediction rule for recurrent *Clostridium difficile* infection. *Gastroenterology* 2009, 136:1206–1214
29. Mullane KM, Miller MA, Weiss K et al. Efficacy of fidaxomicin versus vancomycin as therapy for *Clostridium difficile* infection in individuals taking concomitant antibiotics for other concurrent infections. *Clin Infect Dis* 2011, 53:440–447
30. Do AN, Fridkin SK, Yechouron A et al. Risk factors for early recurrent *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *Clin Infect Dis* 1998, 26:954–959
31. Mullane KM, Cornely OA, Crook DW et al. Renal impairment and clinical outcomes of *Clostridium difficile* infection in two randomized trials. *Am J Nephrol* 2013, 38:1–11
32. Pepin J, Alary ME, Valiquette L et al. Increasing risk of relapse after treatment of *Clostridium difficile* colitis in Quebec, Canada. *Clin Infect Dis* 2005, 40:1591–1597
33. Bartlett JG, Gerding DN. Clinical recognition and diagnosis of *Clostridium difficile* infection. *Clin Infect Dis* 2008, 46(Suppl 1):S12–S18
34. Cohen SH, Gerding DN, Johnson S et al. Clinical practice guidelines for *Clostridium difficile* infection in adults: 2010 update by the society for healthcare epidemiology of America (SHEA) and the infectious diseases society of America (IDSA). *Infect Control Hosp Epidemiol* 2010, 31:431–455
35. Surawicz CM, Brandt LJ, Binion DG et al. Guidelines for diagnosis, treatment, and prevention of *Clostridium difficile* infections. *Am J Gastroenterol* 2013, 108:478–498
36. Teasley DG, Gerding DN, Olson MM et al. Prospective randomized trial of metronidazole versus vancomycin for *Clostridium difficile*-associated diarrhoea and colitis. *Lancet* 1983, 2:1043–1046
37. Tedesco F, Markham R, Gurwith M et al. Oral vancomycin for antibiotic-associated pseudomembranous colitis. *Lancet* 1978, 2:226–228
38. Young GP, Ward PB, Bayley N et al. Antibiotic associated colitis due to *Clostridium difficile*: double-blind comparison of vancomycin with bacitracin. *Gastroenterology* 1985, 89:1038–1045
39. Wenisch C, Parschalk B, Hasenhöndl M et al. Comparison of vancomycin, teicoplanin, metronidazole, and fusidic acid for the treatment of *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *Clin Infect Dis* 1996, 22:813–818
40. McVay CS, Rolfe RD. *In vitro* and *in vivo* activities of nitazoxanide against *Clostridium difficile*. *Antimicrob Agents Chemother* 2000, 44:2254–2258
41. Miller M. Fidaxomicin (OPT-80) for the treatment of *Clostridium difficile* infection. *Expert Opin Pharmacother* 2010, 11:1569–1578
42. Swanson RN, Hardy DJ, Shipkowitz NL et al. *In vitro* and *in vivo* evaluation of tiacumicins B and C against *Clostridium difficile*. *Antimicrob Agents Chemother* 1991, 35:1108–1111
43. Babakhani, Farah et al. “Postantibiotic effect of Fidaxomicin and its major metabolite, OP-1118, against *Clostridium difficile*. *Antimicrob Agents Chemother* 2011, 55:4427–4429
44. Louie TJ, Emery J, Krulicki W et al. OPT-80 eliminates *Clostridium difficile* and is sparing of bacteroides species during treatment of *C. difficile* infection. *Antimicrob Agents Chemother* 2009, 53:261–263
45. European Medicines Agency European public assessment report (EPAR): DIFICLIR: scientific discussion. Published 2011 [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/EPAR\\_-\\_Public\\_assessment\\_report/human/002087/WC500119707.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Public_assessment_report/human/002087/WC500119707.pdf)
46. FDA Meeting Briefing Document for Anti-Infective Drugs Advisory Committee, 5 April 2011 (NDA 201699), <http://www.fda.gov/downloads/AdvisoryCommittees/CommitteesMeetingMaterials/Drugs/Anti-InfectiveDrugsAdvisoryCommittee/UCM249354.pdf>
47. Shue YK, Sears PS, Shangle S et al. Safety, tolerance, and pharmacokinetic studies of OPT-80 in healthy volunteers following single and multiple oral doses. *Antimicrob Agents Chemother* 2008, 52:1391–1395
48. Nerandzic MM, Mullane K, Miller MA et al. Reduced acquisition and overgrowth of vancomycin-resistant enterococci and *Candida* species in patients treated with fidaxomicin versus vancomycin for *Clostridium difficile* infection. *Clin Infect Dis* 2012, 55(Suppl 2):121–126

49. Segarra-Newnham M. Probiotics for *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *Ann Pharmacother* 2007, 41:1212–1221
50. Safdar N, Barigala R, Said A et al. Feasibility and tolerability of probiotics for prevention of antibiotic-associated diarrhoea in hospitalized US military veterans. *J Clin Pharm Ther* 2008, 33:663–668
51. Bakken JS. Staggered and tapered antibiotic withdrawal with administration of kefir for recurrent *Clostridium difficile* infection. *Clin Infect Dis* 2014, 59:858–861
52. Johnson S, Louie TJ, Gerding DN et al. Vancomycin, metronidazole, or tolevamer for *Clostridium difficile* infection. *Clin Infect Dis* 2014, 59:345–354
53. Luciano JA, Zuckerbraun BS. *Clostridium difficile* infection: prevention, treatment, and surgical management. *Surg Clin North Am* 2014, 94:1335–1349
54. Gough E, Shaikh H, Manges AR. Systematic review of intestinal microbiota transplantation (fecal bacteriotherapy) for recurrent *Clostridium difficile* infection. *Clin Infect Dis* 2011, 53:994–1002
55. Kassam Z, Lee CH, Yuan Y et al. Fecal microbiota transplantation for *Clostridium difficile* infection. *Am J Gastroenterol* 2013, 108:500–508
56. Cammarota G, Ianiro G, Gasbarrini A. Fecal microbiota transplantation for the treatment of *Clostridium difficile* infection. *J Clin Gastroenterol* 2014, 48:693–702
57. van Nood E, Vrieze A, Nieuwdorp M et al. Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile*. *N Engl J Med* 2013, 368:407–415
58. Youngster I, Russell GH, Pindar C et al. Oral, capsulized, frozen fecal microbiota transplantation for relapsing *Clostridium difficile* infection. *JAMA* 2014, 312:1772–1778

Iatriki 2015, 104(1):43 – 59

Iatriki 2015, 104(1):43 – 59

## Ο ρόλος της πρωτεΐνης ALK στη νεοπλασία

Γ. Καραγκούνης,<sup>1</sup> Γ. Στραντζαλής,<sup>2</sup>  
Δ. Σακάς,<sup>2</sup> Ντ.Γ. Τηνιακού<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup>Παθολογοανατομικό Εργαστήριο, <sup>2</sup>Νευροχειρουργική Κλινική, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, ΓΝΑ «Ο Ευαγγελισμός», <sup>3</sup>Εργαστήριο Ιστολογίας-Εμβρυολογίας, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα, <sup>4</sup>Institute of Cellular Medicine, Faculty of Medical Sciences, Newcastle University, UK

**ΠΕΡΙΛΗΨΗ** Η πρωτεΐνη ALK (Anaplastic Lymphoma Kinase, κινάση του αναπλαστικού λεμφώματος) ανήκει στην οικογένεια των υποδοχών τυροσινικής κινάσης και φυσιολογικά εμπλέκεται σε πολλαπλές σηματοδοτικές οδούς που ρυθμίζουν διάφορες κυτταρικές διεργασίες. Εκτός από τα αναπλαστικά μεγαλοκυτταρικά λεμφώματα, εκτεταμένες έρευνες έχουν αναδείξει αλλαγές του γονιδίου ALK σε πολλά νεοπλάσματα. Αυτές οι αλλαγές μπορεί να αφορούν σε σημειακές μεταλλάξεις και πολλαπλά αντίγραφα του γονιδίου (νευροβλάστωμα), διαμεταθέσεις (π.χ NPM-ALK σε περιπτώσεις φλεγμονώδους μυοϊνοβλαστικού όγκου) και αναστροφές (EML4-ALK σε περιπτώσεις μη μικροκυτταρικών καρκινωμάτων πνεύμονα, MMKΠ). Οι χημειοθεραπευτικές πρωτεΐνες που παράγονται από τις γονιδιακές μεταθέσεις συνήθως οδηγούν σε ενεργοποίηση και συνεχή δράση της ALK πρωτεΐνης και των σηματοδοτικών οδών στις οποίες αυτή εμπλέκεται, με τελικό αποτέλεσμα τον υπέρμετρο πολλαπλασιασμό κυττάρων και την εξέλιξη σε κακοήθεια. Η ALK και οι υποδοχείς τυροσινικών κινασών γενικότερα αποτελούν ελκυστικό ερευνητικό στόχο για την ανάπτυξη στοχευμένων αντικαρκινικών θεραπειών. Αναστολείς πρωτεϊνικών κινασών, όπως το Crizotinib, χορηγούνται ήδη σε ενδεδειγμένες περιπτώσεις MMKΠ και η χρήση τους προβλέπεται να επεκταθεί και σε άλλα νεοπλάσματα στο εγγύς μέλλον.

**Λέξεις ευρετηρίου** ALK, νεοπλασία, υποδοχείς τυροσινικής κινάσης, αναστροφή, μετάθεση, σηματοδοτική οδός, πολλαπλασιασμός, πρόγνωση.

*Αλληλογραφία:* Ντ.Γ. Τηνιακού, MD PhD FRCPath, Μικράς Ασίας 75, 115 27 Γουδί, Αθήνα  
e-mail: dtiniak@med.uoa.gr

## The role of ALK in human neoplasia

G. Karagkounis,<sup>1</sup> G. Stranjalis,<sup>2</sup>  
D. Sakas,<sup>2</sup> D.G. Tiniakos<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup>Department of Pathology, <sup>2</sup>Department of Neurosurgery, Medical School, National and Kapodistrian University of Athens, “Evangelismos” General Hospital, <sup>3</sup>Laboratory of Histology & Embryology, Medical School, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece, <sup>4</sup>Institute of Cellular Medicine, Faculty of Medical Sciences, Newcastle University, UK

**ABSTRACT** ALK (Anaplastic Lymphoma Kinase) belongs to the tyrosine kinase receptor family and normally is involved in multiple signaling pathways affecting various intracellular functions. In addition to anaplastic large cell lymphomas, extensive research has revealed changes in ALK genes in many human neoplasms i.e. point mutations and multiple gene copies (neuroblastoma), translocations (NPM-ALK in inflammatory myofibroblastic tumors) and inversions (EML4-ALK in non-small cell lung carcinomas, NSCLC). Translocations and inversions result in fusion proteins that usually lead to continuous activation of the signaling pathways regulated by ALK and thus abnormal cell proliferation and eventually neoplastic change. ALK and receptor tyrosine kinases in general are an appealing target for the development of personalised therapies. EML4-ALK inhibitors like Crizotinib are already being used in NSCLC and their use in the treatment of other neoplasms is hoped to expand in the immediate future.

**Key words** ALK, neoplasia, tyrosine kinase receptors, inversion, translocation, signaling pathway, proliferation, prognosis.

*Corresponding author:* D.G. Tiniakos, MD PhD FRCPath, 75 Mikras Asias street, GR-115 27 Goudi, Athens, Greece  
e-mail: dtiniak@med.uoa.gr

## 1. Γενικά για την πρωτεΐνη ALK

### 1.1. Υποδοχείς τυροσινικών κινάσων

Οι υποδοχείς τυροσινικής κινάσης είναι διαμεμβρανικές πρωτεΐνες που μεταφέρουν σήματα από την κυτταρική μεμβράνη στο εσωτερικό του κυττάρου, μέσω μιας διαδικασίας που ονομάζεται μεταβίβαση σήματος. Η διαδικασία ξεκινάει στην κυτταρική μεμβράνη, όταν ένα εξωκυττάριο σήμα προσδένεται με το μεμβρανικό τμήμα της κινάσης με αποτέλεσμα την προσκόλλησή της σε μια παρόμοια κινάση (διμερισμός). Μετά τον διμερισμό, ακολουθεί η φωσφορυλίωση όπου προσκολλάται στην κινάση μια φωσφορομάδα ( $PO_4^{3-}$ ). Η φωσφορυλίωση ενεργοποιεί λειτουργικά την κινάση η οποία στη συνέχεια μεταφέρει τη φωσφορομάδα σε μια άλλη πρωτεΐνη στο εσωτερικό του κυττάρου, ενεργοποιώντας την με παρόμοιο τρόπο. Αυτή η διαδικασία συνεχίζει μέσω μιας σειράς πρωτεϊνών και ονομάζεται «σηματοδοτική οδός» (signaling pathway), γνωστή στην ελληνική επιστημονική ορολογία και ως «μονοπάτι». Τέτοιου είδους σηματοδοτικές οδοί είναι σημαντικές σε πολλές κυτταρικές διεργασίες όπως η κυτταρική ανάπτυξη, η ωρίμανση, η διαφοροποίηση και ο πολλαπλασιασμός.<sup>1</sup>

### 1.2. Γονίδιο ALK

Το γονίδιο *ALK* ανήκει στην οικογένεια γονιδίων του «συμπλέγματος διαφοροποίησης» CD (cluster of differentiation), η οποία κωδικοποιεί πρωτεΐνες επιφανείας της κυτταρικής μεμβράνης που δρουν συχνά ως υποδοχείς σημάτων, συνδέτες (ligands) ή ως μόρια προσκόλλησης (adhesion molecules). Η αρίθμηση των CD στον άνθρωπο φθάνει έως και το 364<sup>2</sup> και όλο και αυξάνει.

Το γονίδιο *ALK* κωδικοποιεί τη σύνθεση μιας πρωτεΐνης που ονομάζεται κινάση του αναπλαστικού λεμφώματος (Anaplastic Lymphoma Kinase, ALK) και ανήκει στους υποδοχείς τυροσινικής κινάσης. Η ALK είναι γνωστή και ως CD246; NBLST3.<sup>3</sup>

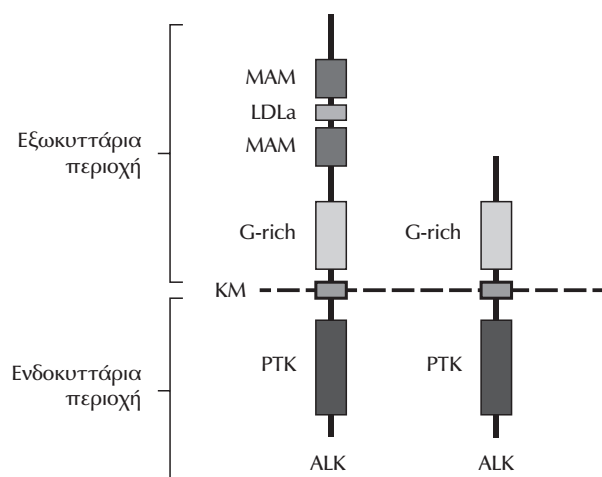
Γονίδια ορθόλογα με το ανθρώπινο γονίδιο *ALK* παρατηρούνται σε περίπου 140 οργανισμούς, μεταξύ των οποίων χιμπατζήδες, σκύλοι, βοοειδή, ποντίκια, αρουραίοι, κόττες, ψάρια-ζέβρες (zebrafish), μύγες (*Drosophila*) και κουνούπια.

Στον άνθρωπο εντοπίζεται στο βραχύ σκέλος του χρωμοσώματος 2 (2p23) μεταξύ των ζευγών βάσεων 29.415.640 και 30.144.477. Το γονίδιο αποτελείται από 29 εξώνια που καταλαμβάνουν έκταση 728.793 ζευγών βάσεων. Μετά τη μεταγραφή του, δημιουργείται mRNA μήκους 6226 ζευγών βάσεων που κωδικοποιεί μία γλυκοπρωτεΐνη 200 kDa μήκους 1620 αμινοξέων.<sup>4</sup>

### 1.3. Πρωτεΐνη ALK

Το πλήρες μόριο της ALK περιγράφηκε το 1997 ως έχον κλασική δομή υποδοχέα τυροσινικής κινάσης.<sup>5</sup> Η πρωτεΐνη αποτελείται από ένα εξωκυττάριο τμήμα, μια υδρόφοβη περιοχή που αντιστοιχεί στο διαμεμβρανικό τμήμα της και ένα ενδοκυττάριο τμήμα με λειτουργία κινάσης. Η ALK ανήκει στην υπερ-οικογένεια των υποδοχών ινσουλίνης (IR) και βάσει της ομολογίας της κινάσης στην υπο-ομάδα της λευκοκυτταρικής τυροσινικής κινάσης (LTK).

Το εξωκυττάριο τμήμα της ALK περιέχει έναν μοναδικό συνδυασμό περιοχών που περιλαμβάνει το N-τελικό άκρο, στη συνέχεια δύο MAM περιοχές (merlin, A5 πρωτεΐνη και υποδοχέας τυροσινικής κινάσης mu), ένα «μοτίβο» λιποπρωτεΐνης χαμηλού μοριακού βάρους α (LDLa) άγνωστης λειτουργίας και μια περιοχή πλούσια σε γλυκίνη που βρίσκεται κοντά στην κυτταρική μεμβράνη (σχήμα 1).

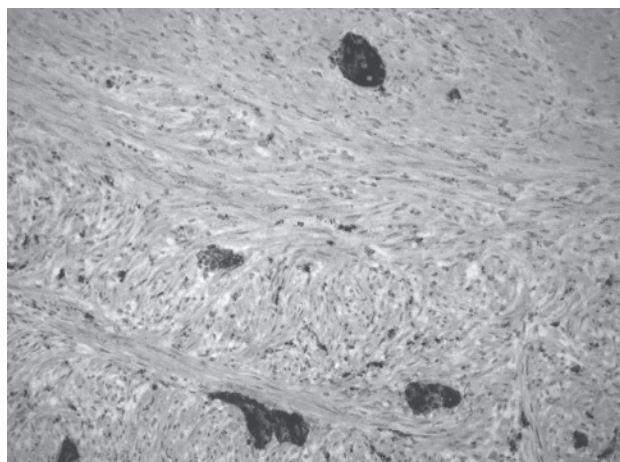


**Σχήμα 1.** Σχηματική αναπαράσταση της δομής της κινάσης του αναπλαστικού λεμφώματος (ALK) και της λευκοκυτταρικής τυροσινικής κινάσης (LTK) (τροποποίηση από<sup>153</sup>)

Η ALK στη Δροσόφιλα παίζει ρόλο στην ανάπτυξη των λείων μυϊκών ινών του εντέρου ενώ στα θηλαστικά παίζει ρόλο κυρίως στην ανάπτυξη του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος (ΚΝΣ). Παρόλο που η ακριβής λειτουργία της ALK είναι ακόμα άγνωστη, πιστεύεται ότι δρα σε αρχικά στάδια της ανθρώπινης ανάπτυξης και βοηθά στην ανάπτυξη των νευρικών κυττάρων (νευρώνων) και του εγκεφάλου. Στη μετεμβρυϊκή ζωή εκφράζεται μόνο σε ορισμένα νευρογλοιακά κύτταρα και σε νευρώνες του ΚΝΣ, καθώς και σε λιγοστά ενδοθηλιακά κύτταρα και περικύτταρα στον εγκεφαλικό φλοιό, τον υποθάλαμο και τα βασικά γάγγλια.<sup>5</sup> Σε εκτεταμένους ελέγχους αντισωμάτων που πραγματοποιούνται από το NordiQC (Nordic Immunohistochemical Quality Control), ως θετικός ανοσοϊστοχημικός μάρτυρας για την ALK χρησιμοποιείται η σκωληκοειδής απόφυση και συγκεκριμένα τα γαγγλιακά της κύτταρα, όπου παρατηρείται μέτρια έως ισχυρή κοκκιώδης κυτταροπλασματική ανοσοϊστοχημική χρώση (εικ. 1). Η ανίχνευση και η κατανομή της ALK στους φυσιολογικούς ιστούς του ανθρώπου περιγράφεται στον πίνακα 1.

#### 1.4. Συνδέτες (ligands) της ALK

Στα θηλαστικά οι συνδέτες της ALK είναι η πλειοτροφίνη (pleiotrophin-PTN, επίσης γνωστή ως heparin binding growth associated molecule/HB-GAM ή heparin binding neurotrophic factor/



**Εικόνα 1.** Θετική κοκκιώδης κυτταροπλασματική ανοσοχρώση για την ALK στα γάγγλια της σκωληκοειδούς αποφύσεως (χρωμογόνο διαμινοβενζιδίνη, μεγέθυνση x200)

Πίνακας 1. Κατανομή της ALK πρωτεΐνης στους φυσιολογικούς ιστούς (τροποποίηση από<sup>154</sup>)

Ιστός	Παρουσία ALK
<i>Αιμοποιητικό σύστημα</i>	
Εμβρυϊκό ήπαρ (16 εβδ.)	-
Μυελός οστών	-
Περιφερικό αίμα	-
<i>Ανοσοποιητικό σύστημα</i>	
Αμυγδαλές	-
Σπλήνας	-
Λεμφαδένες	-
Θύμος αδένας	-
<i>Γαστρεντερικό σύστημα</i>	
Ήπαρ	-
Δωδεκαδάκτυλο	-
Στόμαχος	-
Σκωληκοειδής απόφυση	+
<i>Ουροποιογεννητικό σύστημα</i>	
Νεφρός	-
Προστάτης	-
Όρχις	-
Πλακούντας	-
<i>Νευρικό σύστημα</i>	
Εγκεφαλικός φλοιός, υποθάλαμος	+
Παρεγκεφαλίδα	+
Βασικά γάγγλια, θαλαμικοί πυρήνες	+

HBNF ή osteoblast specific factor/OSF-1 ή heparin affinity regulatory peptide/HARP) και η Midkine (MK) (επίσης γνωστή ως retinoic acid-inducible heparin-binding protein/RIHB). Τα μόρια αυτά εμπλέκονται στη νευρωνική ανάπτυξη, τη μετανάστευση κυττάρων και την αγγειογένεση. Αμφότεροι οι συνδέτες διατηρούνται στην εξελικτική διαδικασία σε είδη όπως η Δροσόφιλα. Μέχρι στιγμής είναι γνωστό ότι τα μόρια αυτά συνδέονται και μεταβιβάζουν σήματα μέσω του υποδοχέα RPTPβ/ζ (receptor protein tyrosine phosphatase β/ζ) και της N-syndecan, ενώ η MK επίσης προσδέεται στην πρωτεΐνη LRP (LDL related protein) και στις ιντεγκρίνες α4β1 και α6β1.<sup>6-8</sup> Έχουν περιγραφεί δύο διαφορετικές ισομορφές της πλειοτροφίνης, οι PTN15 και PTN18. Η PTN15 ενοχοποιείται για ανάπτυξη

γλοιοβλαστώματος μέσω της ALK ενώ η PTN18 μέσω του μορίου RPTPβ/ζ.<sup>9</sup>

Θεωρείται ότι η ενεργοποίηση της ALK από την πλειοτροφήνη οδηγεί σε ενίσχυση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και ότι η λειτουργία αυτή εξαρτάται από την πρωτεϊνική κινάση B (PBK/Akt) εμπλέκοντας το μονοπάτι της PI3K ως στόχο του σήματος PTN-ALK.<sup>10,11</sup> Επιπρόσθετα, πιθανώς η ALK αναστέλλει τη διαδικασία της απόπτωσης μέσω του μονοπατιού MAPK. Πράγματι, έχει παρατηρηθεί ότι ελάττωση της ALK σε κυτταρικές σειρές γλοιοβλαστώματος προκαλεί αυξημένη απόπτωση των νεοπλασματικών κυττάρων, ιδιότητα που πιθανόν να αποτελέσει κριτήριο επιλογής της ALK ως φαρμακευτικού στόχου στο γλοιοβλάστωμα.<sup>11</sup>

Η διαβίβαση σήματος μέσω της ενεργοποίησης της ALK από τη MK θεωρείται ότι επάγει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό με την αλληλεπίδραση των μορίων IRS-1 (IR substrate-1) και Shc και με τελική ενεργοποίηση του πυρηνικού παράγοντα κ-B (Nuclear Factor κ B-NFκB).<sup>12</sup>

### 1.5. Έκφραση της ALK

#### στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα

Η ανακάλυψη ότι νέοι νευρώνες και γλοία δημιουργούνται κατά τη διάρκεια της ενήλικου ζωής από αδιαφοροποίητα, πολυδύναμα αρχέγονα κύτταρα (stem cells), οδήγησε στην υπόθεση ότι τα αρχέγονα αυτά κύτταρα σχετίζονται με την ανάπτυξη νεοπλασμάτων. Η πρωτεΐνη ALK και οι δύο βασικοί συνδέτες της PTN και MK υπερεκφράζονται κατά την ανάπτυξη του ΚΝΣ, ιδιαίτερα στους συμπαθητικούς νευρώνες, οι οποίοι με την κατάλληλη γονιδιακή προδιάθεση οδηγούν στην ανάπτυξη του νευροβλαστώματος. Επιπρόσθετα, μελέτες δείχνουν τον σημαντικό ρόλο της αλληλεπίδρασης των πρωτεϊνών PTN και ALK κατά τη βλάβη των νευρώνων.<sup>13</sup>

Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι η απενεργοποίηση των PTN και ALK σε επίπεδο γεννητικών κυττάρων (germ line) δεν επηρεάζει την επιβίωση του εμβρύου και δεν προκαλεί ανατομικές ανωμαλίες, εντούτοις επηρεάζει τη συμπερι-

φορά, τη μνήμη και τη γονιμότητα των πειραματόζωων.<sup>14</sup>

Αναλυτικότερα, μελέτες με *in situ* υβριδισμό με ανιχνευτές RNA σε έμβρυα ποντικών έδειξαν ότι η ALK εκφράζεται στο ΚΝΣ και το περιφερικό νευρικό σύστημα (ΠΝΣ), καθώς και στο εντερικό νευρικό σύστημα (μυεντερικό πλέγμα). Στον εγκέφαλο, μετάγραφα (transcripts) της ALK εντοπίζονται στο στέλεχος, τον μεσεγκέφαλο, τον διεγκεφαλο και τον τελεγκέφαλο. Επιπρόσθετα, εντοπίζονται αυξημένα στο γάγγλιο της 5ης εγκεφαλικής συζυγίας (γάγγλιο τριδύμου). Σε έμβρυα μίας εβδομάδας παρατηρήθηκε αυξημένη έκφραση της ALK στη μιτροειδή και έξω κοκκώδη στιβάδα του οσφρητικού βολβού, στον οπίσθιο πλάγιο πυρήνα, τον παραδεσμικό πυρήνα και την αβέβαιη ζώνη (zona incerta) του θαλάμου και τον μεσεγκέφαλο. Επίσης, υψηλότερα επίπεδα ALK παρατηρήθηκαν στον ερυθρό πυρήνα και το άνω διδύμιο, ενώ μικρότερη έκφραση παρατηρήθηκε στην υποθαλαμική περιοχή και στο κάτω διδύμιο. Άλλες περιοχές με ελαφρά αύξηση των ALK μεταγράφων ήταν η πυραμιδική στιβάδα και ο εγκεφαλικός φλοιός. Πολύ ισχνά σήματα εντοπίστηκαν στην παρεγκεφαλίδα, στα κύτταρα Purkinje και στα κύτταρα Golgi, ενώ δεν παρατηρήθηκαν σήματα στον ιππόκαμπο ή στην οδοντωτή (dentate) έλικα.<sup>5</sup>

### 1.6. Λειτουργική σημασία αλληλεπίδρασης ALK-στρώματος

Η αλληλεπίδραση μεταξύ νεοπλασματικών κυττάρων και των κυττάρων του στρώματος είναι παράγοντας καθοριστικής σημασίας για την εξέλιξη προς κακοήθεια και απαιτείται για τη μετανάστευση των καρκινικών κυττάρων, την αγγειακή διήθηση και την εγκατάσταση και διασπορά μεταστάσεων σε απομακρυσμένα όργανα. Στο στρώμα καρκινωμάτων μαστού έχει παρατηρηθεί σημαντική υπερέκφραση (up-regulation) των ALK, LTK και PTN σε σχέση με το γειτονικό φυσιολογικό στρώμα.<sup>15</sup> Αντίστοιχα, στο στρώμα πορογενών αδενοκαρκινωμάτων παγκρέατος παρατηρήθηκε μόνο υπερέκφραση της LTK και της PTN σε σχέση με το στρώμα του φυσιολογικού παγκρέατος.<sup>16</sup>

### 1.7. Πρότυπα ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της ALK

Το γονίδιο ALK υφίσταται διαμεταθέσεις, μεταλλάξεις ή ενισχύσεις σε πλειάδα κακοήθων όγκων. Οι χρωμοσωμικές μεταθέσεις είναι οι πιο συχνά παρατηρούμενες αλλαγές και οδηγούν στη δημιουργία πολλαπλών χιμαιρικών γονιδίων (fusion genes) κατά την ογκογένεση, όπως τα ALK/EML4, ALK/AT1C, ALK/TFG, ALK/NPM1, ALK/SQSTM1, ALK/VCL, ALK/CLTC, ALK/TPM4<sup>17</sup> κ.ά.

Το γονίδιο-στόχος με το οποίο θα συγχωνευτεί το γονίδιο της ALK κατά τη διαδικασία της διαμετάθεσης έχει επηρεάσει την εντόπιση της πρωτεΐνης εντός του κυττάρου και κατ'επέκταση την ερμηνεία της ανοσοϊστοχημικής της έκφρασης (εικ. 2). Κυτταροπλασματική, πυρηνική και πυρηνιακή (nucleolar) έκφραση σχετίζονται με τη μετάθεση NPM/ALK, η μεμβρανική και διάχυτη κυτταροπλασματική έκφραση με την TPM3/ALK, η διάχυτη κυτταροπλασματική με την TRCK fusion gene/ALK και τις διαμεταθέσεις AT1C/ALK, η κοκκιώδης κυτταροπλασματική με τη μετάθεση βαριάς αλυσίδας κλαθρίνης CTLC/ALK, και η πυρηνική έκφραση με τη μετάθεση RANBP2/ALK. Όλες αυτές οι μεταθέσεις έχουν ως αποτέλεσμα τον διμερισμό του N-τελικού άκρου της ALK και την επακόλουθη ενεργοποίησή του, η οποία φαίνεται να έχει ογκογόνο δράση.<sup>17</sup>



**Εικόνα 2.** Έντονη κοκκιώδης κυτταροπλασματική ανοσοχρώση για την ALK σε γλιοβλάστωμα (χρωμογόνο διαμινοβενζιδίνη, μεγέθυνση x200)

### 1.8 ALK, χρωμογόνο in situ υβριδισμό (chromogenic in situ hybridization, CISH) και φθορίζων in situ υβριδισμό (fluorescent in situ hybridization, FISH)

Η μέθοδος του FISH αποτελεί τον κύριο τρόπο ανίχνευσης των διαμεταθέσεων του ALK γονιδίου και βιβλιογραφικά παρουσιάζει τη μεγαλύτερη ευαισθησία και ειδικότητα. Παρόλ' αυτά, έχει αρκετά μειονεκτήματα. Αποτελεί μια ειδική μέθοδο που απαιτεί την παρουσία μικροσκοπίου φθορισμού, τα φθορίζοντα σήματα χάνονται γρήγορα με το πέρασμα του χρόνου και την έκθεση στο φως, ενώ η αξιολόγηση των δειγμάτων πρέπει να γίνεται από έμπειρο και εκπαιδευμένο παθολογοανατόμο.

Μεγάλος αριθμός δειγμάτων από μη μικροκυτταρικά καρκινώματα πνεύμονα (ΜΜΚΠ) μελετήθηκε για ανίχνευση διαμεταθέσεων της ALK με τις μεθόδους FISH, CISH και με ανοσοϊστοχημεία. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η μέθοδος CISH είναι εξίσου ευαίσθητη και ειδική με τη μέθοδο FISH, έχει λιγότερα μειονεκτήματα (πιο απλή εφαρμογή, υψηλή επαναληψιμότητα, ευκολότερη αξιολόγηση) και μπορεί να αποτελέσει ένα χρήσιμο διαγνωστικό εργαλείο για την ανίχνευση διαμεταθέσεων της ALK.<sup>18</sup>

## 2. ALK και όγκοι του αιμοποιητικού συστήματος

### 2.1. ALK και αναπλαστικό μεγαλοκυτταρικό λέμφωμα (ALCL, Anaplastic Large Cell Lymphoma)

Το ALCL είναι υπότυπος του Non Hodgkin λεμφώματος και διακρίνεται σε: (α) πρωτοπαθές δερματικό, (β) πρωτοπαθές συστηματικό ALK-θετικό (ALK<sup>+</sup>) και (γ) πρωτοπαθές συστηματικό ALK-αρνητικό (ALK<sup>-</sup>). Το ALK<sup>+</sup> ALCL θεωρείται καλύτερης προγνώσεως από το αντίστοιχο ALK-αρνητικό.<sup>19,20</sup> Παρόλ' αυτά έχει αναφερθεί μία περίπτωση συστηματικού ALK<sup>+</sup> ALCL που επεκτάθηκε στον εγκέφαλο ασθενούς μετά από μακροχρόνιο διάστημα ελεύθερο νόσου.<sup>21</sup>

Στα ALCL, το γονίδιο ALK συνήθως συγχωνεύεται με το γονίδιο της νουκλεοφωσμίνης (NPM) και λιγότερα συχνά με τα γονίδια TPM3, TFG,

ATIC ή άλλα γονίδια. Παρόλο που έχει συσχετισθεί με καλή πρόγνωση, 25% των ασθενών πεθαίνουν από τη νόσο εντός 5 ετών. Σε μελέτη 26 ασθενών με ALK<sup>+</sup> ALCL, 21 ασθενείς είχαν διαμετάθεση του ALK στο γονίδιο NPM, 3 ασθενείς στο γονίδιο TPM3, ένας ασθενής στο γονίδιο ATIC και κανένας στο γονίδιο TFG. Το ανασυνδυασμένο γονίδιο υπερεκφραζόταν σε 4 περιπτώσεις και αυτοί οι ασθενείς έζησαν λιγότερο σε σύγκριση με τους ασθενείς με χαμηλότερη έκφραση του NPM-ALK.<sup>20</sup>

### 2.1.1. Μοριακά μονοπάτια στο ALK-θετικό ALCL.

(α) Το μοριακό μονοπάτι STAT3. Τα μέλη της οικογένειας μεταγραφικών παραγόντων STAT ενεργοποιούνται μέσω σηματοδότησης από ιντερφερόνες, κυτταροκίνες και αυξητικούς παράγοντες (signal transducer and activator of transcription, STAT).<sup>22</sup> Η φωσφορυλίωση των τυροσινών STAT από τυροσινικές κινάσες, κυρίως τις κινάσες Janus (JAKs), διευκολύνει τον διμερισμό των STAT. Αυτό επιτρέπει στις STAT να μεταφέρονται στον πυρήνα και να προάγουν τη μεταγραφή γονιδίων που εμπλέκονται στον πολλαπλασιασμό, την κυτταρική επιβίωση και την ανοσολογική απάντηση.<sup>22,23</sup> Η ενεργοποίηση της STAT3 έχει ενοχοποιηθεί για την ανάπτυξη των ALK<sup>+</sup> ALCL. Η STAT3 έχει βρεθεί ενεργοποιημένη σε κυτταρικές σειρές και σε δείγματα ασθενών με ALCL,<sup>24,25</sup> όπως επίσης και σε κύτταρα ποντικών με τη μετάθεση NPM-ALK.<sup>26,27</sup> Η αναστολή της STAT3 σε κυτταρικές σειρές μειώνει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και επάγει την απόπτωση. Η STAT3 είναι απαραίτητη σε έμβρυα ποντικών για την κακοήγη μετατροπή ινοβλαστών καθώς και για τη συνεχιζόμενη επιβίωση T-λεμφοκυττάρων ποντικού προκληθέντων μέσω ενεργοποίησης του χιμαιρικού γονιδίου NPM-ALK.<sup>28,29</sup>

Η STAT3 ασκεί τις βιολογικές δράσεις της στα ALK<sup>+</sup> ALCL ελέγχοντας πολλαπλά γονίδια που επάγουν κυτταρικό πολλαπλασιασμό (*Cyclin D1*, *Cyclin D3*, *c-Myc*, *ICOS*, *C/EBPβ*), αντιαποπτωτικά γονίδια (*Bcl-xL*, *Survivin*, *Bcl-2*, *Mcl-1*, *Bcl2Al*), και τα *CD30*, *PD-L1*, *TIMP-1*, *Socs3*, *Hifla*, *Twist1*, *IL10* και *IL2Ra*.<sup>30-39</sup> Ακόμα η STAT3 είναι υπεύθυνη για την απενεργοποίηση γονιδίων των T-λεμφοκυττάρων που συνήθως δεν εκφράζο-

νται στα ALK<sup>+</sup> ALCL, συμπεριλαμβανομένων των *CD3ε*, *ZAP-70*, *LAT*, και *SLP-76*.<sup>40</sup>

Η μετάθεση NPM-ALK φαίνεται ότι προάγει την τυροσινική φωσφορυλίωση της STAT3. Παρόλ' αυτά, δεν υπάρχει πλήρης συμφωνία για το εάν η τυροσινική φωσφορυλίωση της STAT3 εξαρτάται από την JAK3<sup>41</sup> ή εάν λαμβάνει χώρα μέσω άμεσης φωσφορυλίωσης από την NPM-ALK.<sup>42</sup> Η φωσφατάση σερίνης/θρεονίνης PP2A σχετίζεται με θετική ρύθμιση της δραστηριότητας της STAT3 σε ALK<sup>+</sup> ALCL. Η σηματοδότηση της STAT3 αυξάνεται στα ALK<sup>+</sup> ALCL πιθανώς γιατί δεν εκφράζεται ο αναστολέας της, η PIAS3. Επίσης, σε ALK<sup>+</sup> λεμφώματα η τυροσινική φωσφατάση SHP-1 συχνά σιγεί μέσω μεθυλίωσης του DNA<sup>43,44</sup> γεγονός που έχει σημαντική επίδραση καθώς η SHP-1 ρυθμίζει αρνητικά την NPM-ALK.<sup>45-47</sup>

Οι κυτταροκίνες παίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της STAT3 στα ALK<sup>+</sup> ALCL. Η σηματοδότηση μέσω των υποδοχέων των ιντερλευκινών (IL) IL9, IL21 και IL22 προάγει την ενεργοποίηση της STAT3, πιθανώς λόγω αυτοκρινούς σηματοδότησης. Επίσης, η NPM-ALK προάγει την έκφραση της υπομονάδος IL22R1 του υποδοχέα της IL22, ενισχύοντας τη συσχέτιση της NPM-ALK με τη σηματοδότηση κυτταροκινών στα ALCL.<sup>48-50</sup>

(β) Το μονοπάτι MEK/ERK. Τα εξωκυττάρια σήματα που επεξεργάζονται οι κινάσες σερίνης/θρεονίνης ERK1 και ERK2 προάγουν τον πολλαπλασιασμό, την επιβίωση, τη διαφοροποίηση και την κυτταρική μετανάστευση.<sup>51</sup> Αυτές οι κινάσες ενεργοποιούνται από υποδοχείς αυξητικών παραγόντων μέσω αντιδράσεων-καταρράκτη. Η αρχή γίνεται με την ενεργοποίηση της Ras GTPάσης, η οποία ενεργοποιεί την κινάση σερίνης/θρεονίνης Raf-1. Έπειτα, η Raf-1 ενεργοποιεί τις κινάσες MAP/ERK1 και 2 (MEK1 και 2), οι οποίες φωσφορυλιώνουν και ενεργοποιούν τις ERK. Το μονοπάτι ERK βρίσκεται ενεργοποιημένο σε κυτταρικές σειρές ALK<sup>+</sup> ALCL και σε δείγματα ασθενών και παίζει σημαντικό ρόλο στην αύξηση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και την αναστολή της απόπτωσης. Επώαση με τον αναστολέα των MEK1/2 U0126, ελαττώνει τον

πολλαπλασιασμό και αυξάνει την απόπτωση σε κυτταρικές σειρές ALK<sup>+</sup> ALCL. Δύο σημαντικοί ρυθμιστές της σηματοδότησης του μονοπατιού MEK/ERK είναι η κινάση σερίνης/θρεονίνης mTOR (mammalian target of rapamycin) και ο μεταγραφικός παράγοντας JunB.<sup>52,53</sup>

Το μοριακό μονοπάτι του mTOR ενεργοποιείται στα ALK<sup>+</sup> ALCL, όπως αναδείχθηκε σε δείγματα ασθενών από τη φωσφορυλίωση του mTOR και επόμενους στόχους του mTOR μονοπατιού.<sup>52-58</sup> Εφαρμογή του αναστολέα του mTOR ραπαμυκίνη (rapamycin) σε κυτταρικές σειρές ALK<sup>+</sup> ALCL έχει ως αποτέλεσμα μειωμένο πολλαπλασιασμό και ενεργοποίηση της απόπτωσης.<sup>53,55,59,60</sup> Ο μειωμένος κυτταρικός πολλαπλασιασμός λόγω αναστολής του mTOR εν μέρει οφείλεται σε αποφωσφορυλίωση της πρωτεΐνης του ρετινοβλαστώματος (Rb protein), σε μειωμένη έκφραση της κυκλίνης A και αυξημένη έκφραση των κυκλινο-εξαρτώμενων αναστολέων κινάσης, p27kip1 και p21waf1. Η αυξημένη απόπτωση ως απάντηση σε θεραπεία με ραπαμυκίνη σχετίζεται με μειωμένη έκφραση των αντιαποπτωτικών πρωτεϊνών Bcl-2, Bcl1xL, Mcl-1 και c-FLIP.<sup>53</sup>

Η μεταγραφή του JunB προάγεται από το μονοπάτι MEK σε κυτταρικές σειρές ALK<sup>+</sup> ALCL μέσω του μεταγραφικού παράγοντα ETS-1. Ο JunB ανήκει στην οικογένεια των μεταγραφικών παραγόντων AP-1, που εκφράζονται ιδιαίτερα συχνά σε κυτταρικές σειρές και δείγματα ασθενών με ALK<sup>+</sup> ALCL. Ο JunB επίσης επηρεάζει τα φαινοτυπικά χαρακτηριστικά του ALK<sup>+</sup> ALCL μέσω της προαγωγής της μεταγραφής του CD30 και της πρωτεάσης σερίνης Granzyme B. Η ενεργοποίηση των Raf-1, MEK και ERK σε κυτταρικές σειρές ALK<sup>+</sup> ALCL εξαρτάται από την ενεργότητα και την έκτοπη έκφραση της NPM-ALK. Η Raf-1 ενεργοποιείται από την NPM-ALK, αλλά απ' ό,τι φαίνεται δεν απαιτείται για την ενεργοποίηση της ERK σε κυτταρικές σειρές ALK<sup>+</sup> ALCL.<sup>52,54,56,61-69</sup>

(γ) Το μονοπάτι PI3K/Akt. Το μονοπάτι της κινάσης φωσφατιδυλινοσιτόλη 3/Akt (PI3K/Akt) ρυθμίζει την κυτταρική ανάπτυξη, τη διαφοροποίηση, την απόπτωση, τον μεταβολισμό και τη μετανάστευση. Η PI3K αποτελείται από δύο υπομονάδες, τη ρυθμιστική υπομονάδα p85 και την κα-

ταλυτική υπομονάδα p110. Φωσφορυλιώνει φωσφολιπίδια ινοσιτόλης στη θέση 3 του δακτυλίου ινοσιτόλης, τα οποία στη συνέχεια ενεργοποιούν πρωτεΐνες του κυτταροσκελετού, κυρίως όμως την κινάση σερίνης/θρεονίνης Akt.

Στα ALK<sup>+</sup> ALCL η μοριακή σηματοδότηση μέσω του μονοπατιού PI3K προάγει την κυτταρική επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό. Ως αποτέλεσμα, εφαρμογή αναστολέων της PI3K σε κυτταρικές σειρές ALK<sup>+</sup> ALCL με έκτοπη έκφραση NPM-ALK επάγει την απόπτωση και μειώνει τον πολλαπλασιασμό.<sup>70-72</sup> Οι αναστολείς της PI3K επίσης αποτρέπουν την κακοήγη εξαλλαγή των Rat-1 ινοβλαστών από την NPM-ALK.<sup>71</sup>

Το υπόστρωμα της Akt, η γλυκογονική συνθετάση κινάση-3β (GSK-3β) είναι σημαντικός στόχος της σηματοδότησης NPM-ALK στα ALK<sup>+</sup> ALCL. Η φωσφορυλίωση της GSK-3β από την Akt στην σερίνη 9 έχει ως αποτέλεσμα την αναστολή της δραστηριότητάς της. Επομένως, στα ALK<sup>+</sup> ALCL η αναστολή της φωσφορυλίωσης της GSK-3β αποτελεί θεραπευτικό στόχο.<sup>70,72,73</sup> Στα ALK<sup>+</sup> ALCL το μονοπάτι NPM-ALK/PI3K/Akt ενεργοποιεί επίσης το μονοπάτι SHH (Sonic Hedgehog). Το SHH είναι ένα εκκρινόμενο μόριο το οποίο όταν συνδέεται με τον υποδοχέα του, το Patched, σταματά την αναστολή του συν-υποδοχέα Smoothened από το Patched. Αυτό επιτρέπει στο ελεύθερο πλέον Smoothened να ενεργοποιήσει τους μεταγραφικούς παράγοντες GLI (glioma associated).<sup>73</sup> Το SHH και ο GLI1 υπερεκφράζονται σε πρωτοπαθή ALK<sup>+</sup> ALCL, ενώ η έκφρασή τους σε κυτταρικές σειρές εξαρτάται από τη δραστηριότητα των NPM-ALK και της PI3K.<sup>72</sup>

Επόμενος στόχος της μεταγωγής σημάτων στο μονοπάτι Akt είναι ο μεταγραφικός παράγοντας FOXO3a.<sup>74</sup> Η φωσφορυλίωση του FOXO3a από την Akt έχει ως αποτέλεσμα την πρόσδεσή του στις πρωτεΐνες 14-3-3, η οποία μετακινεί το FOXO3a στο κυτταρόπλασμα, όπου πλέον αδυνατεί να προάγει τη μεταγραφή.<sup>75</sup> Το FOXO3a φωσφορυλιώνεται σε κυτταρικές σειρές ALK<sup>+</sup> ALCL και σε κύτταρα που εκφράζουν έκτοπα την NPM-ALK.<sup>75</sup> Ακολούθως, η σηματοδότηση της NPM-ALK έχει ως αποτέλεσμα τη μειωμένη έκφραση μεταγραφικών στόχων του FOXO3a,

όπως η προ-αποπτωτική πρωτεΐνη Bim-1 και ο αναστολέας του κυτταρικού κύκλου p27kip1.<sup>76,77</sup> Η σηματοδότηση μέσω του μονοπατιού NPM-ALK/PI3k/Akt διατηρεί χαμηλά τα επίπεδα του p27kip1 μέσω φωσφορυλίωσης του καθιστώντας τον στόχο για πρωτεοσωμική λύση.<sup>78-79</sup>

Η ενεργοποίηση του μονοπατιού PI3K στα ALK<sup>+</sup> ALCL εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την ενεργότητα της NPM-ALK. Η PI3K συμπλέκεται με την NPM-ALK σε κυτταρικές σειρές ALK<sup>+</sup> ALCL και σε κύτταρα που απομονώνονται από γενετικά τροποποιημένα NPM-ALK ποντίκια.<sup>80</sup> Η Akt ενεργοποιείται σε κυτταρικές σειρές αλλά και δείγματα ασθενών με ALK<sup>+</sup> ALCL. Η ενεργοποίησή της εξαρτάται από την ενεργότητα των NPM-ALK και PI3K. Τέλος, η PTEN, μια φωσφατάση που αποφωσφορυλιώνει τα προϊόντα λιπιδίων της PI3K δεν εκφράζεται σε μερικά ALK<sup>+</sup> ALCL ανθρώπου, γεγονός που μπορεί να παίζει ρόλο στην ενεργοποίηση της Akt.<sup>81-86</sup>

## 2.2. ALK και διάχυτα λεμφώματα

από μεγάλα Β κύτταρα

(Diffuse Large B Cell Lymphomas, DLBCL)

Μεταξύ των DLBCL υπάρχει μια υποκατηγορία ALK<sup>+</sup> όγκων με πλασμαβλαστική μορφολογία η οποία πρωτοπεριγράφηκε το 1997.<sup>87</sup> Έως σήμερα, έχουν παρουσιαστεί στη διεθνή βιβλιογραφία περίπου 60 περιπτώσεις σε όλες τις ηλικίες και είναι επικρατέστερα σε άρρνες (άρρνες/θήλεα: 5/1). Τα ALK<sup>+</sup> DLBCL συνήθως συνεκφράζουν την ALK με EMA (epithelial membrane antigen), CD138 και κυτταροπλασματική ανοσοσφαιρίνη (Ig). Επίσης, είναι αρνητικά για Β-κυτταρικούς δείκτες (CD20, CD79a), τον Τ-κυτταρικό δείκτη CD3 και, συνήθως, για το CD30. Τα ALK<sup>+</sup> DLBCL είναι πιο επιθετικά και έχουν μειωμένη απάντηση στη θεραπεία. Η πιο συχνή χρωμοσωμική μετάθεση είναι η t(2;17)(p23;q23) που δημιουργεί τη χιμαιρική πρωτεΐνη CTLC-ALK, ενώ έχουν περιγραφεί και λίγες περιπτώσεις με NPM-ALK μεταθέσεις. Πρόσφατα, αναφέρθηκε ένας τρίτος τύπος DLBCL, με εισαγωγή της ακολουθίας 3-ALK στο χρωμόσωμα 4q22-24. Το νεόπλασμα έχει φαινοτυπικά και ανοσοϊστοχημικά χαρακτηριστικά

DLBCL αλλά και εστιακή, κοκκιώδη κυτταροπλασματική έκφραση της ALK.

Η μετάθεση NPM-ALK επάγει ενεργοποίηση της STAT3 στα ALK<sup>+</sup> DLBCL με τη μετάθεση CLTC-ALK. Επομένως, οι αναστολείς της STAT3 είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθούν θεραπευτικά στα ALK<sup>+</sup> DLBCL.<sup>88</sup>

## 2.3. ALK και εξωμυελικό πλασματοκύττωμα

Οι Wang et al δημοσίευσαν περίπτωση CLTC-ALK εξωμυελικού πλασματοκυττώματος.<sup>89</sup>

## 3. ALK και όγκοι επιθηλιακής προέλευσης

### 3.1. ALK και καρκίνωμα πνεύμονα

Μεταλλάξεις της ALK πρωτεΐνης έχουν ανιχνευθεί σε ένα μικρό ποσοστό (1-5%) ΜΜΚΠ. Τα ALK<sup>+</sup> ΜΜΚΠ συνήθως είναι χαμηλής έως μέσης διαφοροποίησης, έχουν συμπαγή, αδενική ή/και ηθμοειδή μορφολογία, με ή χωρίς παραγωγή βλέννης και συχνά με παρουσία κυττάρων δίκην σφραγιστήρος δακτυλίου (signet ring). Τα κύτταρα εμφανίζουν ανισοπυρήνωση, αυξημένο μέγεθος πυρήνα και συχνά ενδοκυτταροπλασματικά ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρηνα.<sup>90</sup>

Η διαμετάθεση Echinoderm microtubule-associated protein-like 4 - ALK (EML4-ALK) είναι αναγνωρισμένη ως ογκογόνος στα ΜΜΚΠ. Ανοσοϊστοχημικά, όγκοι με τη συγκεκριμένη διαμετάθεση συχνά εμφανίζουν ήπια έως μέτρια κοκκιώδη κυτταροπλασματική ανοσοχρώση στα περισσότερα νεοπλασματικά κύτταρα (NordiQC Lung Anaplastic Lymphoma Kinase Assesment Run 39/2013). Σε μη καπνιστές ασθενείς, η υπερέκφραση της ALK λόγω διαμετάθεσης EML4-ALK έχει συσχετισθεί με μικρότερο χρόνο επιβίωσης.<sup>91</sup> Η διαμετάθεση EML4/ALK συνήθως παρατηρείται σε αδενοκαρκινώματα, ωστόσο πρόσφατα δημοσιεύθηκε μία περίπτωση EML4/ALK πλακώδους καρκινώματος πνεύμονα.<sup>92</sup> Σε άλλη πρόσφατη δημοσίευση αναφέρεται αδενοκαρκίνωμα χαμηλής διαφοροποίησης με έντονη υπερέκφραση της ALK σε 60χρονο Κορεάτη άνδρα. Με τη χρήση PCR και αλληλούχισης γονιδιώματος αναδείχθηκε η μετάθεση TPR-ALK [t(1;2)(q31.1;p23)] που κωδι-

κοποιεί μια χιμαιρική πρωτεΐνη 1192 αμινοξέων, με άγνωστη λειτουργία.<sup>93</sup>

Η διαμετάθεση της ALK συνήθως δεν συνυπάρχει με διαμεταθέσεις του γονιδίου *KRAS*, οι οποίες παρατηρούνται συνηθέστερα σε καπνιστές. Όμως, πρόσφατα δημοσιεύθηκε μία περίπτωση ασθενούς με αδενοκαρκίνωμα πνεύμονα με ταυτόχρονη παρουσία μεταθέσεων ALK και *KRAS*. Το νεόπλασμα ήταν ευμέγεθες με μείζονα διάμετρο 13 cm και έδωσε σύντομα μεταστάσεις στο ΚΝΣ. Ο ασθενής απεβίωσε μετά από 8 μήνες.<sup>94</sup> Έχει αναφερθεί περίπτωση *EML4-ALK*<sup>+</sup> αδενοκαρκινώματος πνεύμονα μετά από θεραπεία για οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία σε παιδική ηλικία.<sup>95</sup>

Η έκφραση της ALK θεωρείται προβλεπτικός δείκτης για την επιλογή στοχευμένης θεραπείας στα αδενοκαρκινώματα πνεύμονα. Επί του παρόντος υπάρχει στοχευμένη θεραπεία έναντι της ανασυνδυασμένης πρωτεΐνης *EML4-ALK* (φαρμακευτική ουσία Crizotinib) η οποία χορηγείται ήδη σε ορισμένες περιπτώσεις αδενοκαρκινώματος πνεύμονα και ταυτόχρονα υπάγεται σε κλινικές μελέτες ως προς την ασφάλεια και αποτελεσματικότητά της σε ALCL και σε νευροβλαστώματα. Παρόλ' αυτά, έχει αναφερθεί η ανάπτυξη αντίστασης στο Crizotinib σε ασθενείς υπό θεραπεία με όγκους που έχουν διαμεταθέσεις του γονιδίου *ALK*. Ήδη εξετάζονται αναστολείς τυροσινικής κινάσης (TKIs, tyrosine kinase inhibitors) δεύτερης γενιάς, όπως το Ceritinib, που δρουν σε ήδη ανθεκτικά στο Crizotinib αδενοκαρκινώματα πνεύμονα.<sup>96,97</sup>

Σύμφωνα με σύσταση των πρόσφατων οδηγιών της Διεθνούς Εταιρείας για τη Μελέτη του Καρκίνου του Πνεύμονα και του Κολεγίου Αμερικανών Παθολογοανατόμων [International Association for the Study of Lung Cancer (IASLC)/College of American Pathologists (CAP)], στα ΜΜΚΠ εκτός από τον έλεγχο για μεταλλάξεις του υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGFR) επιβάλλεται έλεγχος και για διαμεταθέσεις της ALK.<sup>98</sup>

### 3.2. ALK και καρκίνωμα μαστού

Μικρό ποσοστό (<2%) *ALK*<sup>+</sup> καρκινωμάτων μαστού αναφέρονται στη βιβλιογραφία.<sup>99</sup> Η ALK

εκφράζεται πιο έντονα στον όγκο σε σχέση με το παρακείμενο φυσιολογικό παρέγχυμα.<sup>100</sup> Η *PTN* και η *RPTPβ/ζ* επίσης εκφράζονται στο καρκίνωμα του μαστού<sup>101,102</sup> και φαίνεται ότι η έμμεση ενεργοποίηση της ALK μέσω της οδού *PTN/RPTPβ/ζ* μπορεί να έχει ογκογόνο δράση στον μαστό.<sup>103</sup>

### 3.3. ALK σε πλακώδες καρκίνωμα οισοφάγου

Σε κινέζικη δημοσίευση παρουσιάστηκε περίπτωση *TPM4-ALK* πλακώδους καρκινώματος οισοφάγου. Με τη χρήση δισδιάστατης ηλεκτροφόρησης και υγρής χρωματογραφίας αναγνωρίστηκαν διαφορές σε 22 πρωτεΐνες μεταξύ του φυσιολογικού οισοφάγου και του νεοπλασματος. Οι λειτουργίες των εν λόγω πρωτεϊνών σχετίζονται με σηματοδοτικές οδούς, κυτταρικό πολλαπλασιασμό, γλυκόλυση, ρύθμιση της μεταγραφικής διαδικασίας, διαδικασίες οξειδωτικού στρες και αναδίπλωσης πρωτεϊνών.<sup>104</sup>

### 3.4. ALK και καρκίνωμα παχέος εντέρου

Η ALK υπερεκφράζεται σε μικρό ποσοστό (<2%) καρκινωμάτων παχέος εντέρου (ΚΠΕ).<sup>99</sup> Σε μελέτη 770 ασθενών με ΚΠΕ, 26 ασθενείς (3,4%) είχαν όγκους με αύξηση των αντιγράφων του γονιδίου *ALK* η οποία συσχετίστηκε με χειρότερη πρόγνωση.<sup>105</sup>

### 3.5. ALK και καρκίνωμα παγκρέατος

Πρόσφατη μελέτη 99 ασθενών με πορογενές αδενοκαρκίνωμα παγκρέατος (ΠΑΠ) έδειξε απουσία ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της ALK,<sup>106</sup> ενώ σε μελέτη 140 ΠΑΠ και 46 νευροενδοκρινικών νεοπλασμάτων παγκρέατος αναφέρεται σπάνια ανοσοϊστοχημική έκφραση της ALK, χωρίς όμως συνοδό διαμετάθεση του γονιδίου.<sup>107</sup>

### 3.6. ALK και νεφροκυτταρικό καρκίνωμα

Έχουν περιγραφεί τρεις περιπτώσεις νεφροκυτταρικού καρκινώματος (renal cell carcinoma, RCC) με τη διαμετάθεση βινκουλίνης/*ALK* [*VCL/ALK*, t(2;10)(p23;q22)].<sup>108-110</sup> Και οι τρεις περιπτώσεις αφορούσαν σε παιδιά που έφεραν το στίγμα της δρεπανοκυτταρικής αναιμίας. Οι όγκοι εμφάνιζαν διακριτή μορφολογία με πολυγωνικά

ή ατρακτοκυτταρικά κύτταρα με άφθονο ηωσινόφιλο κυτταρόπλασμα και πολλούς ενδοκυτταροπλασματικούς αυλούς. Παρόλο που ο αριθμός των περιστατικών είναι μικρός, τα ευρήματα δείχνουν ότι τα VCL-ALK RCC έχουν διακριτά κλινικά και παθολογοανατομικά χαρακτηριστικά. Δύο περιπτώσεις RCC ενηλίκων (36 και 53 ετών) με μεταθέσεις της ALK με τα γονίδια *TPM3* και *EML4*<sup>111</sup> περιγράφηκαν σε ιαπωνική μελέτη. Οι ασθενείς δεν έπασχαν από δρεπανοκυτταρική αναιμία και η μορφολογία των όγκων (θηλώδες και αταξινόμητο) ήταν διαφορετική από την περιγραφείσα για τη διαμετάθεση VCL-ALK. Αναφέρονται δύο ακόμα περιπτώσεις διαυγοκυτταρικών ALK<sup>+</sup> RCC ενηλίκων με θηλώδη αρχιτεκτονική και επιθετική κλινική συμπεριφορά, χωρίς τη διαμετάθεση VCL-ALK.<sup>112</sup> Σύμφωνα με την πιο πρόσφατη ταξινόμηση των νεφρικών νεοπλασμάτων (2013), το ALK<sup>+</sup> RCC δεν θεωρείται ξεχωριστή οντότητα, δεδομένου του μικρού αριθμού περιπτώσεων που έχουν περιγραφεί έως τώρα.<sup>113</sup>

### 3.7. ALK και επιθετικές μορφές καρκίνου του θυρεοειδούς

Ο καρκίνος του θυρεοειδούς περιλαμβάνει καλά διαφοροποιημένους αλλά και αποδιαφοροποιημένους τύπους. Οι τελευταίοι έχουν υψηλή θνησιμότητα και δεν απαντούν στις ως τώρα διαθέσιμες θεραπείες. Σε δύο δημοσιεύσεις αποδιαφοροποιημένων αναπλαστικών καρκινωμάτων θυρεοειδούς (Anaplastic Thyroid Cancer, ATC) παρατηρήθηκε η διαμετάθεση στριατίνης/ALK (striatin/ALK, STRN/ALK). Επίσης, αναδείχθηκαν δύο νέες σημειακές μεταλλάξεις στις θέσεις C3592T και G3602A, στο εξόνιο 23 του *ALK* γονιδίου. Οι μεταλλάξεις αυτές αυξάνουν δραματικά τις δυνατότητες τυροσινικής κινάσης της ALK και ενεργοποιούν το PI3K/Akt αλλά και το μονοπάτι MAP σε κυτταρικές σειρές ποντικών. Επιπρόσθετα, η έκφραση της STRN-ALK εξαλλάσσει κυτταρικές σειρές *in vitro* και επάγει ογκογένεση σε ποντικούς. Η δράση αυτής της χιμαιρικής πρωτεΐνης μπορεί να ανασταλεί από το Crizotinib και από το TA6684, έναν νέο, εκλεκτικό, ALK αναστολέα.<sup>114,115</sup>

## 4. ALK και όγκοι μεσεγγυματογενούς προέλευσης

Υπερέκφραση της ALK έχει παρατηρηθεί σε σαρκώματα Ewing, κακοήθεις όγκους από το έλυτρο των περιφερικών νεύρων (Malignant Peripheral Nerve Sheath Tumor/MPNST), ραβδομυοσαρκώματα,<sup>116</sup> λειομυοσαρκώματα, και κακοήθη ινώδη ιστιοκυττώματα.<sup>117</sup> Στους τρεις τελευταίους τύπους μεσεγγυματογενών όγκων, η υπερέκφραση της ALK προκαλείται από αυξημένο αριθμό αντιγράφων της χρωμοσωμικής περιοχής 2p23.<sup>117</sup>

### 4.1. ALK και φλεγμονώδης μυοϊνοβλαστικός όγκος «φλεγμονώδης ψευδοόγκος»

Ο φλεγμονώδης μυοϊνοβλαστικός όγκος (inflammatory myofibroblastic tumor, IMT) είναι ένας καλοήθης όγκος μεσεγγυματογενούς προέλευσης που χαρακτηρίζεται από την παρουσία ενός έντονου συνοδού φλεγμονώδους διηθήματος αποτελούμενου από πλασματοκύτταρα και λεμφοκύτταρα. Παρόλο που συνήθως εμφανίζεται σε νέους ανθρώπους, μπορεί να παρατηρηθεί σε όλες τις ηλικίες. Οι IMT πρωτοπεριγράφηκαν στον πνεύμονα και θεωρούνταν μεταφλεγμονώδεις αλλοιώσεις και όχι κακοήθεις εξεργασίες. Έχουν περιγραφεί στα περισσότερα όργανα, παρόλο που είναι πιο συχνοί ενδοκοιλιακά, στο οπισθοπεριτόναιο και στον πνεύμονα.<sup>118</sup> Η συσχέτιση της έκφρασης της ALK με τη μετάθεση 2p23 σε IMT δείχνει ότι αυτοί οι όγκοι ή ένας υποπληθυσμός τους, είναι νεοπλασματικής προελεύσεως και όχι αντιδραστικής.<sup>119</sup> Περαιτέρω μελέτες έχουν επιβεβαιώσει την παρουσία διαφόρων ALK-χιμαιρικών πρωτεϊνών σε IMT, όλες από τις οποίες περιέχουν το λειτουργικό κομμάτι κινάσης της ALK μαζί με διάφορες συνοδές πρωτεΐνες. Έως σήμερα έχουν περιγραφεί οι: TPM3-ALK, TPM4-ALK, ATIC-ALK, CLTC-ALK, CARS (cysteinyl-tRNA synthetase)-ALK, RANBP2 (Ran-binding protein 2)-ALK και η SEC31L1 (SEC31 homologue A)-ALK. Σε 35-60% των IMT παρατηρούνται διαμεταθέσεις της ALK, ενώ οι ALK<sup>+</sup> IMT προσβάλλουν συχνότερα νεότερους ανθρώπους.<sup>119-123</sup> Οι ALK<sup>+</sup> IMT υποτροπιάζουν περίπου στο 50% των περιπτώσεων,

χωρίς να μεθίστανται. Η προγνωστική σημασία της έκφρασης της ALK στους IMT δεν έχει ακόμα διευκρινισθεί.<sup>123,124</sup>

#### 4.2. Άτυπο ινώδες ιστοκύττωμα

Αναφέρεται περίπτωση ALK<sup>+</sup>/CD30<sup>+</sup> άτυπου ινώδους ιστοκυττώματος που επιβεβαιώθηκε με FISH.<sup>125</sup>

### 5. ALK και όγκοι νευρογλοιακής προέλευσης

Η PTN ρυθμίζει τη φωσφορυλίωση της ALK και κατά συνέπεια την ενεργοποίηση της PKB/Akt στα γλοιοβλαστώματα. Σε κυτταρικές σειρές γλοιοβλαστωμάτων χωρίς ALK ή μετά από επώαση με MK (U87MG), παρατηρήθηκε χαμηλότερος ρυθμός κυτταρικού πολλαπλασιασμού σε σχέση με τις γονεϊκές κυτταρικές σειρές.<sup>126</sup> Σε *in vivo* μοντέλα κυτταρικών σειρών γλοιοβλαστωμάτων από ξενομοσχεύματα (xenograft model) (U87), αναστέλλεται η ανάπτυξη του όγκου με συνδυασμένη στοχοποίηση της ALK και της PTN.<sup>127</sup> Επίσης, σε κυτταρικές σειρές γλοιοβλαστωμάτων ανθρώπου, η ενεργοποίηση του άξονα PTN/ALK *in vitro* και *in vivo*, έχει συσχετισθεί με χειρότερη πρόγνωση.<sup>128</sup>

### 6. ALK και μελανοκυτταρικοί όγκοι

Οι άτυποι σπίλοι του Spitz αντιπροσωπεύουν μια κατηγορία νεοπλασμάτων που συνήθως προβάλλουν άτομα νεαρής ηλικίας. Ιστολογικά, αποτελούνται από χαρακτηριστικά ατρακτοκυτταρικά αλλά και επιθηλιοειδή μελανοκύτταρα, με μεγάλο εύρος των πυρηνικών τους χαρακτηριστικών και των μεταβολών στο στρώμα. Σε υποκατηγορίες σπύλων Spitz έχουν αναδειχθεί χιμαιρικές κινάσες, χωρίς όμως να υπάρχουν επαρκή δεδομένα για τα κλινικά και παθολογοανατομικά χαρακτηριστικά των όγκων. Σε πρόσφατη μελέτη των Busam et al αναφέρονται 17 περιπτώσεις (9 άρρενες, 8 θήλεα 2–35 ετών) με νεοπλάσματα τύπου Spitz με χιμαιρικές ALK πρωτείνες. Όλοι οι όγκοι είχαν την εικόνα σύνθετων μελανοκυτταρικών εξεργασιών με κυρίως χοριακή ανάπτυξη και χαρακτηριστική μορφολογία. Το κυριότερο

ιστολογικό χαρακτηριστικό ήταν η πλεξοειδής (plexiform) ενδοχοριακή ανάπτυξη αναστομούμενων δεσμίδων από άτυπα μελανοκύτταρα. Σχεδόν όλοι οι όγκοι ήταν αμελανωτικοί και έντονα θετικοί για την ALK. Οι μεταθέσεις της ALK επιβεβαιώθηκαν με φθορίζοντα *in situ* υβριδισμό (FISH) και τα γονίδια-στόχοι ήταν το *TPM3* ή το *DCTN1* (dynactin 1).<sup>129</sup>

Έχουν περιγραφεί ελάχιστες περιπτώσεις ALK<sup>+</sup> φακιδοειδούς μελανώματος των άκρων ή των βλεννογόνων.<sup>130</sup>

### 7. ALK και όγκοι της παιδικής ηλικίας

#### 7.1. ALK και νευροβλάστωμα

Το νευροβλάστωμα είναι ο πιο συχνός συμπαγής όγκος της παιδικής ηλικίας και μπορεί να εμφανιστεί οπουδήποτε κατά μήκος του συμπαθητικού νευρικού συστήματος. Αυτή η κατηγορία όγκων συνήθως επιδεικνύει ετερογενή βιολογικά και κλινικά χαρακτηριστικά, ενώ κάποιοι υπότυποι υπόκεινται αυτόματη διαφοροποίηση ή ίαση με λίγη ή και καθόλου θεραπεία. Ο γονιδιακός επίτοπος της ALK είναι ενισχυμένος τόσο σε κυτταρικές σειρές, όσο και σε δείγματα νευροβλαστωμάτων από ασθενείς. Το 2008, πέντε πρωτοποριακές μελέτες ανέδειξαν την ύπαρξη μεταλλαγών της ALK που την καθιστούσαν υπερενεργή σε οικογενείς και σε σποραδικές περιπτώσεις νευροβλαστωμάτων. Όλες οι μεταλλαγές (εκτός από μία) της ALK θεωρούνται ότι ενισχύουν τη λειτουργία της. Από ό,τι φαίνεται, ασθενείς με ALK<sup>+</sup> νευροβλαστώματα έχουν χειρότερη πρόγνωση.<sup>131–144</sup>

#### 7.2. ALK και μυελοβλάστωμα

Σε πρόσφατη ανάλυση 52 μυελοβλαστωμάτων παρατηρήθηκε διαγραφή μιας βάσης στο εξόνιο 23 (3605delG) σε βλαστικά κύτταρα ενός έντονα αναπλαστικού νεοπλάσματος ενώ σε 3 περιπτώσεις βρέθηκε υπερέκφραση του mRNA της ALK. Η διαγραφή της γουανίνης οδηγεί σε δημιουργία ενός κωδικονίου παύσης στο εξόνιο 25 στην περιοχή κινάσης της τυροσίνης της ALK. Ακόμα δεν έχει διευκρινιστεί εάν αυτή η βραχυθυμία μεταλλαγμένη ALK παίζει κάποιον σηματοδοτικό ρόλο στις κυτταρικές διεργασίες.<sup>145</sup>

### 7.3. ALK και ραβδομυοσάρκωμα παιδικής ηλικίας

Οι van Gaal et al σε μελέτη 145 ραβδομυοσάρκωμάτων παιδικής ηλικίας έδειξαν ότι στα κυψελιδικού τύπου ραβδομυοσάρκωματα (alveolar RMS, ARMS) παρατηρείται εντονότερη κυτταροπλασματική ανοσοχρώση της ALK και πολλαπλά αντίγραφα του ALK γονιδίου σε σχέση με τα εμβρυϊκά ραβδομυοσάρκωματα (embryonal RMS, ERMS). Στα ERMS, ενίσχυση της ALK συσχετίστηκε με μεταστατική νόσο και βραχύτερο προσδόκιμο επιβίωσης.<sup>146</sup>

Οι γονιδιακές ανωμαλίες της ALK στα ραβδομυοσάρκωματα και ιδιαίτερα στα ARMS έχουν συσχετισθεί με χειρότερη πορεία νόσου και πτωχή επιβίωση.<sup>147-152</sup> Η ALK φαίνεται ότι συμβάλλει στην παθογένεια των ARMS και ίσως αποτελέσει θεραπευτικό στόχο γι' αυτούς τους όγκους.

## 8. Επίλογος

Ο αριθμός των νεοπλασμάτων που σχετίζονται με διαταραχές της ALK όλο και αυξάνει. Οι διεθνείς οδηγίες για έλεγχο μεταθέσεων ή/και ανα-

διατάξεων της ALK σε καρκινώματα πνεύμονα<sup>98</sup> είναι ενδεικτικές της υψηλής σημασίας του ευρήματος. Η εφαρμοσμένη έρευνα έχει στραφεί στην ανάπτυξη αναστολέων των υποδοχέων τυροσινικής κινάσης 1ης γενιάς (Crizotinib) και 2ης γενιάς (Ceritinib, LDK378, AP26113 κ.ά.) με ενθαρρυντικά ως τώρα αποτελέσματα. Στόχος είναι η επέκταση της ασφαλούς χορήγησης των φαρμάκων και σε άλλους όγκους με γονιδιακές ανωμαλίες σχετιζόμενες με την ALK. Εντούτοις, υπάρχουν αντικρουόμενα συμπεράσματα στη βιβλιογραφία όσον αφορά στον ρόλο που διαδραματίζει η ALK στη βιολογική συμπεριφορά των νεοπλασμάτων και στην προγνωστική και προβλεπτική της σημασία, ερωτήματα που πρέπει να διαλευκανθούν με περαιτέρω μελέτες.

Ευχαριστίες

Ευχαριστούμε τον κ. Θ. Αργυράκο, Επιμελητή Α' για τη συμβολή του στην ανασκόπηση της βιβλιογραφίας και την κ. Δ. Ροντογιάννη, Διευθύντρια Παθολογοανατομικού Εργαστηρίου, ΓΝΑ «Ο Ευαγγελισμός» για τις χρήσιμες συμβουλές κατά την κριτική αναθεώρηση του άρθρου.

## Βιβλιογραφία

1. Krauss G. Biochemistry of Signal Transduction and Regulation 4th, Enlarged and Improved Edition. Wiley-VCH, 2008:15
2. Zola H, Swart B, Banham A et al. CD molecules 2006-human cell differentiation molecules. *J Immunol Methods* 2007, 319:1-5
3. Morris SW, Kirstein MN, Valentine MB et al. Fusion of a kinase gene, ALK, to a nucleolar protein gene, NPM, in non-Hodgkin's lymphoma. *Science* 1994, 263:1281-1284
4. ALK anaplastic lymphoma receptor tyrosine kinase [Homo sapiens (human)] Retrieved July 23, 2015 from NCBI gene database website: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/238>
5. Iwahara T, Fujimoto J, Wen D et al. Molecular characterization of ALK, a receptor tyrosine kinase expressed specifically in the nervous system. *Oncogene* 1997, 14:439-449
6. Polgar D, Leisser C, Maier S et al. Truncated ALK derived from chromosomal translocation t(2;5)(p23;q35) binds to the SH3 domain of p85-PI3K. *Mutat Res* 2005, 570:9-15
7. Muramatsu H, Zou K, Sakaguchi N et al. LDL receptor-related protein as a component of the midkine receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 2000, 270:936-941
8. Muramatsu H, Zou P, Suzuki H et al. Alpha4beta1- and alpha6beta1-integrins are functional receptors for midkine, a heparin-binding growth factor. *J Cell Sci* 2004, 117:5405-5415
9. Lu KV, Jong KA, Kim GY et al. Differential induction of glioblastoma migration and growth by two forms of pleiotrophin. *J Biol Chem* 2005, 280:26953-26964
10. Bowden ET, Stoica GE, Wellstein A. Anti-apoptotic signaling of pleiotrophin through its receptor, anaplastic lymphoma kinase. *J Biol Chem* 2002, 277:35862-35868
11. Powers C, Aigner A, Stoica GE et al. Pleiotrophin signaling through anaplastic lymphoma kinase is rate-limiting for glioblastoma growth. *J Biol Chem* 2002, 277:14153-14158
12. Kuo AH, Stoica GE, Riegel A T et al. Recruitment of insulin receptor substrate-1 and activation of NF-κB essential for midkine growth signaling through anaplastic lymphoma kinase. *Oncogene* 2007, 26:859-869
13. Mi R, Chen W, Hoke A. Pleiotrophin is a neurotrophic factor for spinal motor neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007, 104:4664-4669

14. Li R, Morris SW. Development of anaplastic lymphoma kinase (ALK) small-molecule inhibitors for cancer therapy. *Med Res Rev* 2008, 28:372–412
15. Finak G, Bertos N, Pepin F et al. Stromal gene expression predicts clinical outcome in breast cancer. *Nat Med* 2008, 14:518–527
16. Buchholz M, Braun M, Heidenblut A et al. Transcriptome analysis of microdissected pancreatic intraepithelial neoplastic lesions. *Oncogene* 2005, 24:6626–6636
17. Tennstedt P, Strobel G, Bölch C et al. Patterns of ALK expression in different cancer types. *J Clin Pathol* 2014, 67:477–481
18. Kim H, Yoo SB, Choe JY et al. Detection of ALK gene rearrangement in non-small cell lung cancer: a comparison of fluorescence *in situ* hybridization and chromogenic *in situ* hybridization with correlation of ALK protein expression. *J Thorac Oncol* 2011, 6:1359–1366
19. Wan W, Albom MS, Lu L et al. Anaplastic lymphoma kinase activity is essential for the proliferation and survival of anaplastic large-cell lymphoma cells. *Blood* 2006, 107:1617–1623
20. Li C, Takino H, Eimoto T et al. Prognostic significance of NPM-ALK fusion transcript overexpression in ALK-positive anaplastic large-cell lymphoma. *Mod Pathol* 2007, 20:648–655
21. Wang CX, Wang H, Li J et al. Brain metastasis of ALK positive anaplastic large cell lymphoma after a long-term disease free survival in an old adult. *Int J Clin Exp Pathol* 2014 7:1182–1187
22. Levy DE, Darnell JE Jr. STATs: transcriptional control and biological impact. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2002, 3:651–662
23. Santos CI, Costa-Pereira AP. Signal transducers and activators of transcription—from cytokine signalling to cancer biology. *Biochim Biophys Acta* 2011, 1816:38–49
24. Zamo A, Chiarle R, Piva R et al. Anaplastic lymphoma kinase (ALK) activates Stat3 and protects hematopoietic cells from cell death. *Oncogene* 2002, 21:1038–1047
25. Zhang Q, Raghunath PN, Xue L et al. Multilevel dysregulation of STAT3 activation in anaplastic lymphoma kinase-positive T/null-cell lymphoma. *J Immunol* 2002, 168:466–474
26. Chiarle R, Gong JZ, Guasparri I et al. NPM-ALK transgenic mice spontaneously develop T-cell lymphomas and plasma cell tumors. *Blood* 2003, 101:1919–1927
27. Khoury JD, Medeiros LJ, Rassidakis GZ et al. Differential expression and clinical significance of tyrosine phosphorylated STAT3 in ALK<sup>+</sup> and ALK<sup>-</sup> anaplastic large cell lymphoma. *Clin Cancer Res* 2003, 9:3692–3699
28. Amin HM, McDonnell TJ, Ma Y et al. Selective inhibition of STAT3 induces apoptosis and G(1) cell cycle arrest in ALK-positive anaplastic large cell lymphoma. *Oncogene* 2004, 23:5426–5434
29. Chiarle R, Simmons WJ, Cai H et al. Stat3 is required for ALK-mediated lymphomagenesis and provides a possible therapeutic target. *Nat Med* 2005, 11:623–629
30. Lai R, Rassidakis GZ, Medeiros LJ et al. Signal transducer and activator of transcription-3 activation contributes to high tissue inhibitor of metalloproteinase-1 expression in anaplastic lymphoma kinase-positive anaplastic large cell lymphoma. *Am J Pathol* 2004, 164:2251–2258
31. Kasprzycka M, Marzec M, Liu X et al. Nucleophosmin/anaplastic lymphoma kinase (NPM/ALK) oncoprotein induces the T regulatory cell phenotype by activating STAT3. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006, 103:9964–9969
32. Piva R, Pellegrino E, Mattioli M et al. Functional validation of the anaplastic lymphoma kinase signature identifies *CEBPB* and *BCI2A1* as critical target genes. *J Clin Invest* 2006, 116:3171–3182
33. Marzec M, Zhang Q, Goradia A et al. Oncogenic kinase NPM/ALK induces through STAT3 expression of immunosuppressive protein CD274 (PD-L1, B7-H1). *Proc Natl Acad Sci USA* 2008, 105:20852–20857
34. Yamamoto R, Nishikori M, Tashima M et al. B7-H1 expression is regulated by MEK/ERK signaling pathway in anaplastic large cell lymphoma and Hodgkin lymphoma. *Cancer Sci* 2009, 100:2093–2100
35. Anastasov N, Bonzheim I, Rudelius M et al. C/EBP $\beta$  expression in ALK-positive anaplastic large cell lymphomas is required for cell proliferation and is induced by the STAT3 signaling pathway. *Haematologica* 2010, 95:760–767
36. Piva R, Agnelli L, Pellegrino E et al. Gene expression profiling uncovers molecular classifiers for the recognition of anaplastic large-cell lymphoma within peripheral T-cell neoplasms. *J Clin Oncol* 2010, 28:1583–1590
37. Marzec M, Liu X, Wong W et al. Oncogenic kinase NPM/ALK induces expression of HIF1 $\alpha$  mRNA. *Oncogene* 2011, 30:1372–1378
38. Zhang Q, Wang H, Kantekure K et al. Oncogenic tyrosine kinase NPM-ALK induces expression of the growth promoting receptor ICOS. *Blood* 2011, 118:3062–3071
39. Zhang J, Wang P, Wu F et al. Aberrant expression of the transcriptional factor Twist1 promotes invasiveness in ALK-positive anaplastic large cell lymphoma. *Cell Signal* 2012, 24:852–858
40. Ambrogio C, Martinengo C, Voena C et al. NPM-ALK oncogenic tyrosine kinase controls T-cell identity by transcriptional regulation and epigenetic silencing in lymphoma cells. *Cancer Res* 2009, 69:8611–8619
41. Amin HM, Medeiros LJ, Ma Y et al. Inhibition of JAK3 induces apoptosis and decreases anaplastic lymphoma kinase activity in anaplastic large cell lymphoma. *Oncogene* 2003, 22:5399–5407
42. Marzec M, Kasprzycka M, Ptasznik A et al. Inhibition of ALK enzymatic activity in T-cell lymphoma cells induces apoptosis and suppresses proliferation and STAT3 phosphorylation independently of Jak3. *Lab Invest* 2005, 85:1544–1554
43. Khoury JD, Rassidakis GZ, Medeiros LJ et al. Methylation of SHP1 gene and loss of SHP1 protein expression are frequent in systemic anaplastic large cell lymphoma. *Blood* 2004, 104:1580–1581

44. Zhang Q, Wang HY, Marzec M et al. STAT3- and DNA methyltransferase 1-mediated epigenetic silencing of SHP-1 tyrosine phosphatase tumor suppressor gene in malignant T lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005, 102:6948–6453
45. Han Y, Amin HM, Franko B et al. Loss of SHP1 enhances JAK3/STAT3 signaling and decreases proteasome degradation of JAK3 and NPM-ALK in ALK<sup>+</sup> anaplastic large-cell lymphoma. *Blood* 2006, 108:2796–2803
46. Han Y, Amin HM, Frantz C et al. Restoration of shp1 expression by 5-AZA-2deoxycytidine is associated with downregulation of JAK3/STAT3 signaling in ALK-positive anaplastic large cell lymphoma. *Leukemia* 2006, 20:1602–1609
47. Honorat JF, Ragab A, Lamant L et al. SHP1 tyrosine phosphatase negatively regulates NPM-ALK tyrosine kinase signaling. *Blood* 2006, 107:4130–4138
48. Qiu L, Lai R, Lin Q et al. Autocrine release of interleukin-9 promotes Jak3-dependent survival of ALK<sup>+</sup> anaplastic large-cell lymphoma cells. *Blood* 2006, 108:2407–2415
49. Bard JD, Gelebart P, Anand M et al. IL-21 contributes to JAK3/STAT3 activation and promotes cell growth in ALKpositive anaplastic large cell lymphoma. *Am J Pathol* 2009, 175:825–834
50. Bard JD, Gelebart P, Anand M et al. Aberrant expression of IL-22 receptor 1 and autocrine IL-22 stimulation contribute to tumorigenicity in ALK<sup>+</sup> anaplastic large cell lymphoma. *Leukemia* 2008, 22:1595–1603
51. Geest CR and Coffey PJ. MAPK signaling pathways in the regulation of hematopoiesis. *J Leukoc Biol* 2009, 86:237–250
52. Watanabe M, Sasaki M, Itoh K et al. JunB induced by constitutive CD30-extracellular signal-regulated kinase 1/2 mitogen-activated protein kinase signaling activates the CD30 promoter in anaplastic large cell lymphoma and Reed-Sternberg cells of Hodgkin lymphoma. *Cancer Res* 2005, 65:7628–7634
53. Vega F, Medeiros LJ, Leventaki V et al. Activation of mammalian target of rapamycin signaling pathway contributes to tumor cell survival in anaplastic lymphoma kinase-positive anaplastic large cell lymphoma. *Cancer Res* 2006, 66:6589–6597
54. Marzec M, Kasprzycka M, Liu X et al. Oncogenic tyrosine kinase NPM/ALK induces activation of the MEK/ERK signaling pathway independently of c-Raf. *Oncogene* 2007, 26:813–821
55. Marzec M, Kasprzycka M, Liu X et al. Oncogenic tyrosine kinase NPM/ALK induces activation of the rapamycin sensitive mTOR signaling pathway. *Oncogene* 2007, 26:5606–5614
56. Staber PB, Vesely P, Haq N et al. The oncoprotein NPM-ALK of anaplastic large-cell lymphoma induces JUNB transcription via ERK1/2 and JunB translation via mTOR signaling. *Blood* 2007, 110:3374–3383
57. Lim MS, Carlson ML, Crockett DK et al. The proteomic signature of NPM/ALK reveals deregulation of multiple cellular pathways. *Blood* 2009, 114:1585–1595
58. Steelman LS, Franklin RA, Abrams SL et al. Roles of the Ras/Raf/MEK/ERK pathway in leukemia therapy. *Leukemia* 2011, 25:1080–1094
59. Fernandez M, Manso R, Bernaldo de Quiros F et al. Involvement of Cot activity in the proliferation of ALCL lymphoma cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2011, 411:655–660
60. Magnuson B, Ekim B, Fingar DC et al. Regulation and function of ribosomal protein S6 kinase (S6K) within mTOR signalling networks. *Biochem J* 2012, 441:1–21
61. Mathas S, Hinz M, Anagnostopoulos I et al. Aberrantly expressed c-Jun and JunB are a hallmark of Hodgkin lymphoma cells, stimulate proliferation and synergize with NF-κB. *EMBO J* 2002, 21:4104–4113
62. Ritter U, Damm-Welk C, Fuchs U et al. Design and evaluation of chemically synthesized siRNA targeting the NPM-ALK fusion site in anaplastic large cell lymphoma (ALCL). *Oligonucleotides* 2003, 13:365–373
63. Szremska AP, Kenner L, Weisz E. JunB inhibits proliferation and transformation in B-lymphoid cells. *Blood* 2003, 102:4159–4165
64. Rassidakis GZ, Thomaidis A, Atwell C et al. JunB expression is a common feature of CD30+ lymphomas and lymphomatoid papulosis. *Mod Pathol* 2005, 18:1365–1370
65. Hsu FY, Johnston PB, Burke KA et al. The expression of CD30 in anaplastic large cell lymphoma is regulated by nucleophosmin-anaplastic lymphoma kinase mediated JunB level in a cell type-specific manner. *Cancer Res* 2006, 66:9002–9008
66. Christensen JG, Zou HY, Arango ME et al. Cyto-reductive antitumor activity of PF-2341066, a novel inhibitor of anaplastic lymphoma kinase and c-Met, in experimental models of anaplastic large-cell lymphoma. *Mol Cancer Ther* 2007, 6:3314–3322
67. Turner SD, Yeung D, Hadfield K et al. The NPM-ALK tyrosine kinase mimics TCR signalling pathways, inducing NFAT and AP-1 by RASdependent mechanisms. *Cell Signal* 2007, 19:740–747
68. Pearson JD, Lee JK, Bacani JT et al. NPM-ALK and the JunB transcription factor regulate the expression of cytotoxic-molecules in ALK-positive, anaplastic large cell lymphoma. *Int J Clin Exp Pathol* 2011, 4:124–133
69. Watanabe M, Itoh K, Togano T et al. Ets-1 activates overexpression of JunB and CD30 in Hodgkin's lymphoma and anaplastic large-cell lymphoma. *Am J Pathol* 2012, 180:831–838
70. Bai RY, Ouyang T, Miething C et al. Nucleophosmin-anaplastic lymphoma kinase associated with anaplastic large-cell lymphoma activates the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt antiapoptotic signaling pathway. *Blood* 2000, 96:4319–4327
71. Cantley LC. The phosphoinositide 3-kinase pathway. *Science* 2002, 296:1655–1657

72. Liu P, Cheng H, Roberts TM et al. Targeting the phosphoinositide 3-kinase pathway in cancer. *Nat Rev Drug Discov* 2009, 8:627–644
73. Zhu H and Lo HW. The human glioma-associated oncogene homolog 1 (GLI1) family of transcription factors in gene regulation and diseases. *Curr Genomics* 2010, 11:238–245
74. Gu TL, Tothova Z, Scheijen B et al. NPM-ALK fusion kinase of anaplastic large-cell lymphoma regulates survival and proliferative signaling through modulation of FOXO3a. *Blood* 2004, 103:4622–4629
75. Huang H, Tindall DJ. Dynamic FoxO transcription factors. *J Cell Sci* 2007, 120:2479–2487
76. Dijkers PF, Medema RH, Lammers JW et al. Expression of the pro-apoptotic Bcl-2 family member Bim is regulated by the forkhead transcription factor FKHR-L1. *Curr Biol* 2000, 10:1201–1204
77. Dijkers PF, Medema RH, Pals C et al. Forkhead transcription factor FKHR-L1 modulates cytokine-dependent transcriptional regulation of p27KIP1. *Mol Cell Biol* 2000, 20:9138–9148
78. Slupianek A, Skorski T. NPM/ALK downregulates p27KIP1 in a PI-3K-dependent manner. *Exp Hematol* 2004, 32:1265–1271
79. Rassidakis GZ, Feretzaki M, Atwell C et al. Inhibition of Akt increases p27KIP1 levels and induces cell cycle arrest in anaplastic large cell lymphoma. *Blood* 2005, 105:827–829
80. Slupianek A, Nieborowska-Skorska M, Hoser G et al. Role of phosphatidylinositol 3-kinase-Akt pathway in nucleophosmin/anaplastic lymphoma kinase-mediated lymphomagenesis. *Cancer Res* 2001, 61:2194–2199
81. Cross DA, Alessi DR, Cohen P et al. Inhibition of glycogen synthase kinase-3 by insulin mediated by protein kinase B. *Nature* 1995, 378:785–789
82. Uner AH, Sağlam A, Han U et al. PTEN and p27 expression in mature T-cell and NK-cell neoplasms. *Leuk Lymphoma* 2005, 46:1463–1470
83. Wan W, Albom MS, Lu L et al. Anaplastic lymphoma kinase activity is essential for the proliferation and survival of anaplastic large-cell lymphoma cells. *Blood* 2006, 107:1617–1623
84. Fernandez-Vidal A, Mazars A, Gautier EF et al. Upregulation of the CDC25A phosphatase down-stream of the NPM/ALK oncogene participates to anaplastic large cell lymphoma enhanced proliferation. *Cell Cycle* 2009, 8:1373–1379
85. Singh RR, Cho-Vega JH, Davuluri Y et al. Sonic hedgehog signaling pathway is activated in ALK-positive anaplastic large cell lymphoma. *Cancer Res* 2009, 69:2550–2558
86. McDonnell SR, Hwang SR, Basrur V et al. NPM-ALK signals through glycogen synthase kinase 3beta to promote oncogenesis. *Oncogene* 2012, 31:3733–3740
87. Delsol G, Lamant L, Mariamé B et al. A new subtype of large B-cell lymphoma expressing the ALK kinase and lacking the 2; 5 translocation. *Blood* 1997, 89:1483–1490
88. Xing X, Lin D, Ran W et al. ALK-positive diffuse large B-cell lymphoma of the duodenum: A case report and review of the literature. *Exp Ther Med* 2014, 8:409–412
89. Wang WY, Gu L, Liu WP et al. ALK-positive extramedullary plasmacytoma with expression of the CLTC-ALK fusion transcript. *Pathol Res Pract* 2011, 207:587–591
90. Toll AD, Maleki Z. Cytomorphology of non-small cell lung carcinoma with anaplastic lymphoma kinase gene rearrangement. *Diagn Cytopathol* 2015, 43:8–15
91. Yang P, Kulig K, Boland JM et al. Worse disease-free survival in never-smokers with ALK<sup>+</sup> lung adenocarcinoma. *J Thorac Oncol* 2012, 7:90–97
92. Caliş A, Nottegar A, Gilioli E et al. ALK/EML4 fusion gene may be found in pure squamous carcinoma of the lung. *J Thorac Oncol* 2014, 9:729–732
93. Choi YL, Lira ME, Hong M et al. A Novel Fusion of TPR and ALK in lung adenocarcinoma. *J Thorac Oncol* 2014, 9:563–566
94. Homa I, Sawicki M, Wojas-Krawczyk K et al. Rare co-existence of mutation in KRAS and ALK gene re-arrangement in an adenocarcinoma patient--a case report. *Anticancer Res* 2014, 34:3701–3705
95. Nakamura Y, Taniguchi H, Mizoguchi K et al. Secondary EML4-ALK-positive Lung adenocarcinoma in a patient previously treated for acute lymphoblastic leukemia in childhood: A Case Report. *Jpn J Clin Oncol* 2014, 44:593–596
96. Friboulet L, Li N, Katayama R et al. The ALK inhibitor ceritinib overcomes crizotinib resistance in non-small cell lung cancer. *Cancer Discov* 2014, 4:662–673
97. Thomas RK. Overcoming drug resistance in ALK-rearranged lung cancer. *N Engl J Med* 2014, 370:1250–1251
98. Travis WD, Brambilla E, Noguchi M et al. International association for the study of lung cancer/american thoracic society/european respiratory society international multidisciplinary classification of lung adenocarcinoma. *J Thorac Oncol* 2011, 6:244–285
99. Lin E, Li L, Guan Y et al. Exon array profiling detects EML4-ALK fusion in breast, colorectal, and non-small cell lung cancers. *Mol Cancer Res* 2009, 7:1466–1476
100. Perez-Pinera P, Chang Y, Astudillo A et al. Anaplastic lymphoma kinase is expressed in different subtypes of human breast cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 2007, 358:399–403
101. Garver RI Jr, Radford DM, Donis-Keller H et al. Midkine and pleiotrophin expression in normal and malignant breast tissue. *Cancer* 1994, 74:1584–1590
102. Riegel AT, Wellstein A. The potential role of the heparin-binding growth factor pleiotrophin in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1994, 31:309–314
103. Perez-Pinera P, Zhang W, Chang Y et al. Anaplastic lymphoma kinase is activated through the pleiotrophin/receptor protein-tyrosine phosphatase  $\beta/\zeta$  signaling pathway: an alternative mechanism of receptor tyrosine kinase activation. *J Biol Chem* 2007, 282:28683–28690

104. Du XL, Hu H, Lin DC et al. Proteomic profiling of proteins dysregulated in Chinese esophageal squamous cell carcinoma. *J Mol Med (Berl)* 2007, 85:863–875
105. Bavi P, Jehan Z, Bu R et al. *ALK* gene amplification is associated with poor prognosis in colorectal carcinoma. *Br J Cancer* 2013, 109:2735–2743
106. Ormanns S, Assmann G, Reu S et al. *ALK* expression is absent in pancreatic ductal adenocarcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2014, 140:1625–1628
107. Graham RP, Oliveira AM, Zhang L. Rare *ALK* expression but no *ALK* rearrangement in pancreatic ductal adenocarcinoma and neuroendocrine tumors. *Pancreas* 2013, 42:949–951
108. Debelenko LV, Raimondi SC, Daw N et al. Renal cell carcinoma with novel VCL-*ALK* fusion: new representative of *ALK*-associated tumor spectrum. *Mod Pathol* 2011, 24:430–442
109. Maripo-Enrriquez A, Ou WB, Weldon CB et al. *ALK* rearrangement in sickle cell trait-associated renal medullary carcinoma. *Genes Chromosomes Cancer* 2011, 50:146–153
110. Smith NE, Deyrup AT, Maripo-Enriquez A et al. VCL-*ALK* renal cell carcinoma in children with sickle-cell trait: the eighth sickle-cell nephropathy? *Am J Surg Pathol* 2014, 38:858–863
111. Sugawara E, Togashi Y, Kuroda N et al. Identification of anaplastic lymphoma kinase fusions in renal cancer: large-scale immunohistochemical screening by the intercalated antibody-enhanced polymer method. *Cancer* 2012, 118:4427–4436
112. Hodge JC, Pearce KE, Sukov WR. Distinct *ALK*-rearranged and VCL-negative papillary renal cell carcinoma variant in two adults without sickle cell trait. *Mod Pathol* 2013, 26:604–605
113. Srigley JR, Delahunt B, Eble JN et al. The International Society of Urological Pathology (ISUP) Vancouver Classification of Renal Neoplasia. *Am J Surg Pathol* 2013, 37:1469–1489
114. Murugan AK, Xing M. Anaplastic thyroid cancers harbor novel oncogenic mutations of the *ALK* gene. *Cancer Res* 2011, 71:4403–4411
115. Pirot G, Soubeyran I, Ribeiro A et al. Identification of a recurrent STRN/*ALK* fusion in thyroid carcinomas. *PLoS One* 2014, 9:e87170
116. Dirks WG, Fährnich S, Lis Y et al. Expression and functional analysis of the anaplastic lymphoma kinase (*ALK*) gene in tumor cell lines. *Int J Cancer* 2002, 100:49–56
117. Cessna MH, Zhou H, Sanger WG et al. Expression of *ALK1* and p80 in inflammatory myofibroblastic tumor and its mesenchymal mimics: a study of 135 cases. *Mod Pathol* 2002, 15:931–938
118. Coffin CM, Watterson J, Priest JR et al. Extrapulmonary inflammatory myofibroblastic tumor (inflammatory pseudotumor). A clinicopathologic and immunohistochemical study of 84 cases. *Am J Surg Pathol* 1995, 19:859–872
119. Griffin CA, Hawkins AL, Dvorak C et al. Recurrent involvement of 2p23 in inflammatory myofibroblastic tumors. *Cancer Res* 1999, 59:2776–2780
120. Coffin CM, Patel A, Perkins S et al. *ALK1* and p80 expression and chromosomal rearrangements involving 2p23 in inflammatory myofibroblastic tumor. *Mod Pathol* 2001, 14:569–576
121. Cook JR, Dehner LP, Collins MH et al. Anaplastic lymphoma kinase (*ALK*) expression in the inflammatory myofibroblastic tumor: a comparative immunohistochemical study. *Am J Surg Pathol* 2001, 25:1364–1371
122. Janik JS, Janik JP, Lovell MA et al. Recurrent inflammatory pseudotumors in children. *J Pediatr Surg* 2003, 38:1491–1495
123. Chun YS, Wang L, Nascimento AG et al. Pediatric inflammatory myofibroblastic tumor: anaplastic lymphoma kinase (*ALK*) expression and prognosis. *Pediatr Blood Cancer* 2005, 45:796–801
124. Minoo P, Wang HY. *ALK*-immunoreactive neoplasms. *Int J Clin Exp Pathol* 2012, 5:397–410
125. Szablewski V, Laurent-Roussel S, Rethers L et al. Atypical fibrous histiocytoma of the skin with CD30 and p80/*ALK1* positivity and *ALK* gene rearrangement. *J Cutan Pathol* 2014, 41:715–719
126. Stoica GE, Kuo A, Powers C et al. Midkine binds to anaplastic lymphoma kinase (*ALK*) and acts as a growth factor for different cell types. *J Biol Chem* 2002, 277:35990–35998
127. Grzelinski M, Steinberg F, Martens T et al. Enhanced anti-tumorigenic effects in glioblastoma on double targeting of pleiotrophin and its receptor *ALK*. *Neoplasia* 2009, 11:145–156
128. Stylianou DC, Auf der Maur A, Kodack DP et al. Effect of single-chain antibody targeting of the ligand-binding domain in the anaplastic lymphoma kinase receptor. *Oncogene* 2009, 28:3296–3306
129. Busam KJ, Kutzner H, Cerroni L et al. Clinical and pathologic findings of Spitz nevi and atypical Spitz tumors with *ALK* fusions. *Am J Surg Pathol* 2014, 38:925–933
130. Niu HT, Zhou QM, Wang F et al. Identification of anaplastic lymphoma kinase break points and oncogenic mutation profiles in acral/mucosal melanomas. *Pigment Cell Melanoma Res* 2013, 26:646–653
131. Brodeur GM, Seeger RC, Schwab M et al. Amplification of *N-myc* in untreated human neuroblastomas correlates with advanced disease stage. *Science* 1984, 224:1121–1124
132. Seeger RC, Brodeur GM, Sather H et al. Association of multiple copies of the *N-myc* oncogene with rapid progression of neuroblastomas. *N Engl J Med* 1985, 313:1111–1116
133. Lamant L, Pulford K, Bischof D et al. Expression of the *ALK* tyrosine kinase gene in neuroblastoma. *Am J Pathol* 2000, 156:1711–1721
134. Chen Y, Takita J, Choi YL et al. Oncogenic mutations of *ALK* kinase in neuroblastoma. *Nature* 2008, 455:971–974

135. George RE, Sanda T, Hanna M et al. Activating mutations in ALK provide a therapeutic target in neuroblastoma. *Nature* 2008, 455:975–978
  136. Janoueix-Lerosey I, Lequin D, Brugieres L et al. Somatic and germline activating mutations of the ALK kinase receptor in neuroblastoma. *Nature* 2008, 455:967–970
  137. Mosse YP, Laudenslager M, Longo L et al. Identification of ALK as a major familial neuroblastoma predisposition gene. *Nature* 2008, 455:930–935
  138. De Brouwer S, De Preter K, Kumps C et al. Meta-analysis of neuroblastomas reveals a skewed ALK mutation spectrum in tumors with MYCN amplification. *Clin Cancer Res* 2010, 16:4353–4362
  139. Janoueix-Lerosey I, Schleiermacher G, Delattre O. Molecular pathogenesis of peripheral neuroblastic tumors. *Oncogene* 2010, 29:1566–1579
  140. Zhu S, Lee JS, Guo F et al. Activated ALK collaborates with MYCN in neuroblastoma pathogenesis. *Cancer Cell* 2012, 21:362–373
  141. Duijkers FA, Gaal J, Meijerink JP et al. High anaplastic lymphoma kinase immunohistochemical staining in neuroblastoma and ganglioneuroblastoma is an independent predictor of poor outcome. *Am J Pathol* 2012, 180:1223–1231
  142. Pugh TJ, Morozova O, Attiyeh EF et al. The genetic landscape of high-risk neuroblastoma. *Nat Genet* 2013, 45:279–284
  143. Schulte JH, Schulte S, Heukamp LC et al. Targeted therapy for neuroblastoma: ALK inhibitors. *Klin Padiatr* 2013, 225:303–308
  144. Wang M, Zhou C, Sun Q et al. ALK amplification and protein expression predict inferior prognosis in neuroblastomas. *Exp Mol Pathol* 2013, 95:124–130
  145. Coco S, De Mariano M, Valdora F et al. Identification of ALK germline mutation (3605delG) in pediatric anaplastic medulloblastoma. *J Hum Genet* 2012, 57:682–684
  146. van Gaal JC, Flucke UE, Roeffen MH et al. Anaplastic lymphoma kinase aberrations in rhabdomyosarcoma: clinical and prognostic implications. *J Clin Oncol* 2012, 30:308–315
  147. Dirks WG, Fahrnich S, Lis Y et al. Expression and functional analysis of the anaplastic lymphoma kinase (ALK) gene in tumor cell lines. *Int J Cancer* 2002, 100:49–56
  148. Pillay K, Govender D, Chetty R. ALK protein expression in rhabdomyosarcomas. *Histopathology* 2002, 41:461–467
  149. Corao DA, Biegel JA, Coffin CM et al. ALK expression in rhabdomyosarcomas: correlation with histologic subtype and fusion status. *Pediatr Dev Pathol* 2009, 12:275–283
  150. Ognjanovic S, Linabery AM, Charbonneau B et al. Trends in childhood rhabdomyosarcoma incidence and survival in the United States, 1975–2005. *Cancer* 2009, 115:4218–4226
  151. van Gaal JC, Roeffen MH, Flucke UE et al. Simultaneous targeting of insulin-like growth factor-1 receptor and anaplastic lymphoma kinase in embryonal and alveolar rhabdomyosarcoma: a rational choice. *Eur J Cancer* 2013, 49:3462–3470
  152. Yoshida A, Shibata T, Wakai S et al. Anaplastic lymphoma kinase status in rhabdomyosarcomas. *Mod Pathol* 2013, 26:772–781
  153. Palmer RH, Vernersson E, Grabbe C et al. Anaplastic lymphoma kinase: signalling in development and disease. *Biochem J* 2009, 420:345–361
-

Iatriki 2015, 104(1):60–68

Iatriki 2015, 104(1):60–68

## Εποχικές διακυμάνσεις της D [25(OH)D, 1-25(OH)<sub>2</sub>D] σε περιπατητικούς ενήλικες στο λεκανοπέδιο Αττικής (Β. πλάτος 38°)

Π.Ν. Συγκελλάκης,<sup>1</sup> Φ. Μαλανδρινού,<sup>1</sup>  
Λ. Μαθιοπούλου,<sup>1</sup> Αικ. Ψαρρού,<sup>1</sup>  
Ευ. Κωνσταντέλλου<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Τμήμα Ενδοκρινολογίας, Μεταβολισμού και Σακχαρώδους Διαβήτη, ΓΑΟΝΑ «Ο Άγιος Σάββας», Αθήνα, <sup>2</sup>Ορμονολογικό Εργαστήριο, Γεν. Νοσοκ. Νικαίας «Ο Άγιος Παντελεήμων», Νίκαια, Πειραιάς

**ΣΚΟΠΟΣ** Επειδή επακριβή δεδομένα ελλείπουν διεθνώς, διερευνήθηκαν συστηματικά οι διακυμάνσεις των μεταβολιτών της D (25(OH)D και 1-25(OH)<sub>2</sub>D) σε ενήλικες κατοίκους εύκρατου κλίματος (περιοχή Αθηνών).

**ΥΛΙΚΟ-ΜΕΘΟΔΟΣ** Σε 625 περιπατητικούς ενήλικες αμφοτέρων των φύλων ηλικίας 18–85 ετών, προσδιορίστηκαν, κατά τη διάρκεια ενός έτους, οι 25(OH)D και 1-25(OH)<sub>2</sub>D (RIA), η intact PTH (ECLIA), το ασβέστιο, ο φωσφόρος και άλλοι βιοχημικοί δείκτες, με αυτόματο αναλυτή.

**ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ** Οι μέσες τιμές της 25(OH)D και της 1-25(OH)<sub>2</sub>D εμφάνισαν χαρακτηριστικές διακυμάνσεις με πάρα πολύ σημαντική ( $P < 0,001$ ) ελάττωση τον Μάρτιο–Μάιο (περίοδος των χαμηλότερων τιμών) σε σχέση με την περίοδο των υψηλότερων (Ιούλιος–Οκτώβριος για την 25(OH)D και Αύγουστος–Σεπτέμβριος για την 1-25(OH)<sub>2</sub>D). Ανεπάρκεια της 25(OH)D ( $< 22$  ng/mL) –57,2% σ' ολόκληρο το έτος– διαπιστώθηκε κατά την περίοδο των χαμηλότερων τιμών στο 77,2% (αναπάντεχα σε όλους τους νεότερους ( $< 39$  ετών), αλλά κατά εκείνη των υψηλότερων τιμών «μόνο» στο 35,1% (51,7% στους  $> 60$  ετών). Χαμηλές τιμές της 1-25(OH)<sub>2</sub>D ( $< 24,6$  ng/mL) παρατηρήθηκαν στο 35,1% και 9,9% στις αντίστοιχες περιόδους (υψηλότερες στους  $> 60$  ετών). Εποχικές διακυμάνσεις της PTH δεν

## Seasonal variations of 25(OH)D and 1-25(OH)<sub>2</sub>D in apparently healthy adults living in a temperate region (Athens, N. latitude 38°)

P.N. Singhellakis,<sup>1</sup> F. Malandrinou,<sup>1</sup>  
L. Mathiopoulos,<sup>1</sup> C. Psarrou,<sup>1</sup>  
E. Konstantellou<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Endocrinology, Metabolism and Diabetes Mellitus AONA “Saint Savvas” Athens, <sup>2</sup>Hormonal Laboratory, Nikea General Hospital “Saint Panteleimon”, Nikaia, Piraeus, Greece

**AIM** The available data about seasonal variations of vitamin D reserve (25(OH)D) are inconclusive, while those of the most active metabolite (1-25(OH)<sub>2</sub>D) are essentially absent.

**MATERIAL-METHOD** In randomly assigned 625 apparently healthy adults (18–85 yrs), 25(OH)D and 1-25(OH)<sub>2</sub>D (RIA), intact PTH (ECLIA), calcium, phosphorus and other biochemical indexes in blood (multianalyzer) were measured during an entire year.

**RESULTS** Both 25(OH)D and 1-25(OH)<sub>2</sub>D concentrations presented a characteristic pattern, the lower mean value of March–May (lower values period) differed significantly ( $P < 0.001$ ) from the higher one of July–October (25(OH)D) and August–September (1-25(OH)<sub>2</sub>D) – higher values period. Furthermore, the percentage of vitamin D deficiency (25(OH)D  $< 22$  ng/mL) –57.2% in the entire year– was higher (77.2%) in the lower values period –unexpectedly in all the  $< 39$  yr– but lower (35.1%) in the higher values period. The incidence of low 1-25(OH)<sub>2</sub>D values ( $< 24.6$  pg/mL) was 35.1% and 9.9% in the two periods, but higher in the  $> 60$  yr. Although intact PTH seasonal variations were not observed, a highly significant ( $P < 0.001$ ) negative linear correlation with 25(OH)D was present during the periods of the major changes.

διαπιστώθηκαν, παρατηρήθηκε, όμως, σημαντική ( $P < 0,001$ ) αρνητική συσχέτιση προς την 25(OH)D, στις 2 περιόδους.

**ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ** Η καθυστερημένη εμφάνιση των εποχικών διακυμάνσεων της D και η ηλικία πρέπει να λαμβάνονται υπ' όψιν για την εκτίμηση της επάρκειας σε 25(OH)D.

**Λέξεις ευρετηρίου** Βιταμίνη D(D), 1-25(OH)<sub>2</sub>D, 25(OH)D, εποχικές διακυμάνσεις, ηλικιακές ομάδες, παραθορμόνη (PTH), εύκρατο κλίμα (B. πλάτος 38°).

*Αλληλογραφία:* Π.Ν. Σινγελλάκης, Γράμμου 2, 172 34 Δάφνη-Υμηττός, Αθήνα  
e-mail: p.singhellakis@gmail.com

**CONCLUSIONS** The late appearance of vitamin D seasonal variations and age should be considered to estimate 25(OH)D deficiency.

**Key words** Vitamin D (D), 1-25(OH)<sub>2</sub>D, 25(OH)D, seasonal variation, age group, PTH, temperate region (N. latitude 38°).

*Corresponding author:* P.N. Singhellakis, 2 Grammou street, GR-172 34 Daphni-Hymittos, Athens, Greece  
e-mail: p.singhellakis@gmail.com

Οι φυσιολογικές μεταβολές του κλίματος κατά τη διάρκεια του έτους –περισσότερο έκδηλες σε χώρες με εύκρατο κλίμα, όπως η Ελλάδα– επηρεάζουν τα επίπεδα της βιταμίνης D στον οργανισμό αφού περισσότερο από το 80% παράγεται στο δέρμα από την επίδραση ορισμένου μήκους κύματος υπεριώδους ακτινοβολίας.<sup>1,2</sup>

Όμως, παρόλο που αρκετές μελέτες έχουν δημοσιευθεί με μετρήσεις των αποθεμάτων της D (25(OH)D) κατά τη διάρκεια του έτους,<sup>3-6</sup> δεν έχουν προκύψει σαφείς πληροφορίες για τη χρονική εμφάνιση και διάρκεια των εποχικών διακυμάνσεων για πολλούς και ποικίλους λόγους όπως, το διαφορετικό γεωγραφικό πλάτος και συνεπώς οι διαφορετικές κλιματολογικές συνθήκες, η μέτρηση της 25(OH)D συνήθως μόνο 2 φορές τον χρόνο (1 τον χειμώνα και 1 το καλοκαίρι σε πολύ περιορισμένο διάστημα), καθώς και η επιλογή ατόμων ορισμένης ηλικίας και φύλου (κυρίως μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες).<sup>1-3,7</sup> Πρόσθετοι παράγοντες που επιτείνουν εν προκειμένω την αβεβαιότητα αποτελούν οι διαφορετικές μέθοδοι μετρήσεως της 25(OH)D και τα χρησιμοποιούμενα διαφορετικά κατώτερα φυσιολογικά όρια που συνήθως ορίζονται μάλλον αυθαίρετα.<sup>1-3,7</sup>

Ως προς τη χώρα μας, η μόνη σχετική μελέτη<sup>8</sup> δεν επιτρέπει την εκτίμηση των εποχικών διακυ-

μάνσεων της D επειδή διερευνήθηκαν μόνο δύο ηλικιακές ομάδες αμοτέρων των φύλων (60–89 και 19–48 ετών) με μετρήσεις της 25(OH)D σε περιορισμένο χρονικό διάστημα, 1 φορά τον χειμώνα (15 Φεβρουαρίου–15 Μαρτίου) και σε πολύ λιγότερα άτομα το καλοκαίρι (15 Αυγούστου–15 Σεπτεμβρίου).

Επιπλέον, ως προς τον δραστικό μεταβολίτη της D (1-25(OH)<sub>2</sub>D) μόνο μία ξένη συστηματική μελέτη έχει –απ' όσο γνωρίζουμε– δημοσιευθεί<sup>9</sup> στην οποία όμως δεν διαπιστώθηκαν εποχικές διακυμάνσεις, προφανώς γιατί πραγματοποιήθηκε σε περιοχή με ψυχρό κλίμα και ασαφή διαχωρισμό των εποχών του έτους (Γερμανία, βόρειο γεωγραφικό πλάτος 30°) και τα δείγματα αίματος συνελέγησαν σε μεγάλο χρονικό διάστημα (6,5 έτη αντί του 1 έτους), παράγοντες που επηρεάζουν σημαντικά τη δυνατότητα ανάδειξης εποχικών διακυμάνσεων.

Για όλους αυτούς τους λόγους κρίθηκε χρήσιμη, σκόπιμη και αναγκαία η παρούσα μελέτη στην οποία προσδιορίστηκαν οι κύριοι μεταβολίτες της D (25(OH)D και 1-25(OH)<sub>2</sub>D) κατά τη διάρκεια ενός ολοκλήρου έτους σε υγιείς ενήλικες αμοτέρων των φύλων και όλου του ηλικιακού φάσματος κατοίκων του λεκανοπεδίου της Αττικής (περιοχής με τυπικό εύκρατο κλίμα και σαφή εκδήλωση των 4 εποχών του έτους).

## Υλικό και μέθοδος

Η μελέτη περιελάμβανε τελικά 625 υγιείς ενήλικες (553 γυναίκες και 77 άνδρες) ηλικίας 18–85 ετών ( $\bar{x} \pm \text{sd}$ :  $54,5 \pm 14,0$ ) (πίν. 1) κατοίκους του λεκανοπεδίου Αττικής (βόρειο γεωγραφικό πλάτος  $38^\circ$ ) στο οποίο διαμένει το 35% περίπου του πληθυσμού της Ελλάδος. Τα άτομα αυτά προήλθαν τυχαία εν σειρά από τους εξεταζόμενους στο εξωτερικό ιατρείο του νοσοκομείου κατά τη διάρκεια ενός έτους. Δεν περιελήφθησαν στη μελέτη όσοι λάμβαναν φάρμακα που θα μπορούσαν να επηρεάσουν τον μεταβολισμό του ασβεστίου και της D (τελευταίο εξάμηνο) ή φάρμακα για την αντιμετώπιση της οστεοπορώσεως (τελευταίο έτος), όπως και εκείνοι με άλλα μεταβολικά νοσήματα του σκελετού (με εξαίρεση τα άτομα με οστεοπενία ή οστεοπόρωση χωρίς κατάγματα). Επίσης αποκλείστηκαν άτομα με σχετικές ενδοκρινολογικές παθήσεις (αρρυθμιστος σακχαρώδης διαβήτης, υπερ- ή υπο-θυρεοειδισμός, σύνδρομο Cushing, μεγαλακρία, υπογοναδισμός) καθώς και άλλες εμπλεκόμενες νόσους ή παθήσεις (ηπατοπάθειες, σύνδρομο δυσαπορροφήσεως, νεφρική ανεπάρκεια).

Σε όλους τους μελετηθέντες, μετά συγκατάθεσή τους και έγκριση από την Επιστημονική Επιτροπή του νοσοκομείου με βάση τη Διακήρυξη του Ελσίνκι (1975), έγιναν πρωινές αιμοληψίες εν νηστεία για τη μέτρηση των μεταβολιτών της D, της PTH, του ασβεστίου, φωσφόρου, λευκωμάτων ορού και άλλων βιοχημικών παραμέτρων.

Οι μεταβολίτες της D (25(OH)D και 1-25(OH)<sub>2</sub>D) προσδιορίστηκαν με RIA τεχνική και kits της ID (UK) – η 1-25(OH)<sub>2</sub>D μετά ανοσοεκχύλιση και μέτρηση με I<sup>125</sup>. Η ακέραια παραθορμόνη (intact PTH) μετρήθηκε

με ανοσολογική μέθοδο (ηλεκτρο-χημειο-φωταύγεια, ECLIA) και kits της Nichols (USA). Οι συνήθειες βιοχημικοί δείκτες προσδιορίστηκαν με αυτόματο αναλυτή Hitachi.

Για τους υπολογισθέντες συντελεστές μεταβλητότητας (coefficient of variation, CV) και την ευαισθησία των μεθόδων μέτρησης των ορμονών (μεταβολίτες της D και intact PTH) εντός και μεταξύ των σειρών μέτρησης (intra- και inter-assay) παραπέμπουμε σε προηγούμενη δημοσίευσή μας.<sup>7</sup>

### Στατιστική ανάλυση

Χρησιμοποιήθηκαν οι συνήθειες στατιστικές μέθοδοι. Επιπλέον χρησιμοποιήθηκαν: (α) Η δοκιμασία student (t-test) για την αξιολόγηση της διαφοράς των μέσων τιμών της 25(OH)D ή της 1-25(OH)<sub>2</sub>D μεταξύ των περιόδων των χαμηλοτέρων και υψηλοτέρων τιμών. (β) Η δοκιμασία  $\chi^2$  για τη διαπίστωση τυχόν διαφοράς των ποσοστών ανεπάρκειας της 25(OH)D ή της 1-25(OH)<sub>2</sub>D μεταξύ ηλικιακών ομάδων σε κάθε περίοδο. (γ) Ο συντελεστής συσχέτισεως (correlation coefficient) κατά Pearson για τη διερεύνηση τυχόν συσχέτισεως της Intact PTH προς την 25(OH)D ή την 1-25(OH)<sub>2</sub>D στο έτος και τις δύο περιόδους. (δ) Η δοκιμασία εξαρτήσεως πολλαπλής μεταβλητότητας (multiple regression analysis) για διερεύνηση τυχόν εξαρτήσεως της intact PTH από την 25(OH)D ή την 1-25(OH)<sub>2</sub>D και το ασβέστιο αίματος στο έτος και τις δύο περιόδους.

Όλες οι στατιστικές αναλύσεις έγιναν με το πρόγραμμα SPSS v.11.5

**Πίνακας 1.** Ηλικία και βιοχημικοί δείκτες (μέση τιμή ± σταθερά απόκλιση) χωριστά στους άνδρες και τις γυναίκες και σημαντικότητα της διαφοράς, καθώς και στο σύνολο των μελετηθέντων ατόμων

Μεταβλητές	Άνδρες (N=72)	Γυναίκες (N=553)	Διαφορά (N=625)	Σύνολο
Ηλικία (έτη)	54,47±18,70	54,00±13,28	P=0,839	54,05±14,00
25(OH)D (ng/mL)	22,40±11,86	21,89±10,03	P=0,728	21,95±10,26
1-25(OH) <sub>2</sub> D (pg/mL)	30,83±10,07	30,22±11,28	P=0,665	30,30±11,20
Intact PTH (pg/mL)	44,88±19,22	55,28±23,04	P=0,009*	54,42±22,74
Ασβέστιο (mg/dL)	9,29±0,40	9,31±0,44	P=0,639	9,31±0,43
Φωσφόρος (mg/dL)	3,39±0,67	3,50±0,53	P=0,182	3,49±0,55

Απουσία σημαντικής διαφοράς των ανωτέρω μεταβλητών πλην εκείνης της intact PTH μεταξύ ανδρών και γυναικών (\*), N=αριθμός μελετηθέντων

## Αποτελέσματα

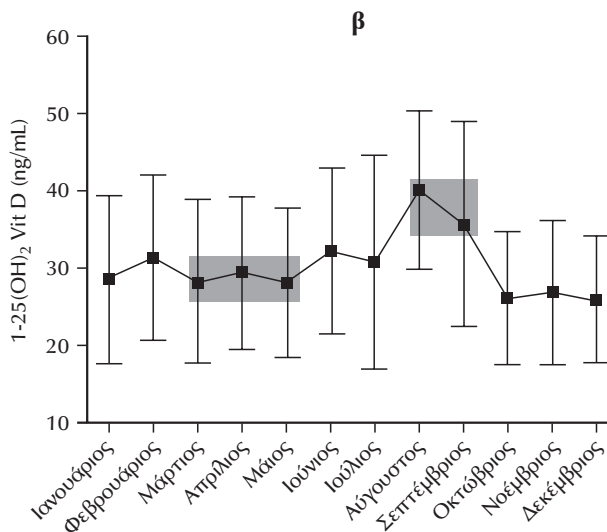
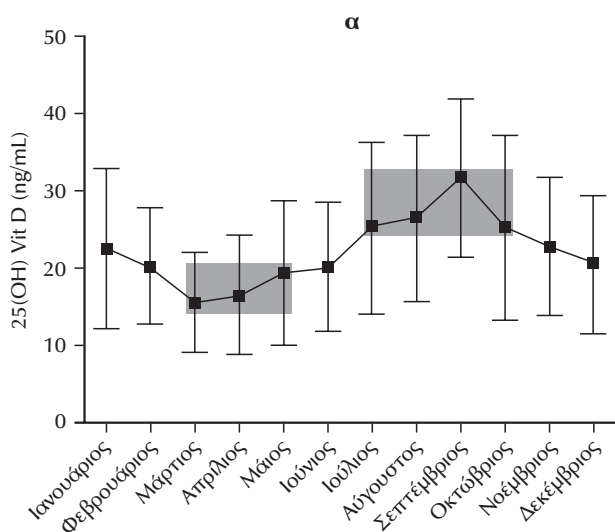
Οι μέσες τιμές ( $\bar{x} \pm sd$ ) ηλικίας και των κυριότερων βιοχημικών δεικτών (πίν. 1) δεν διέφεραν μεταξύ ανδρών και γυναικών, εκτός της intact PTH που ήταν σημαντικά ( $P < 0,009$ ) υψηλότερη στις γυναίκες, όπως φυσιολογικά αναμένεται λόγω του μεγάλου αριθμού των μελετηθέντων μετεμνηνοπαυσιακών γυναικών (375/553, ποσοστό 67,5%). Ως εκ τούτου, τα άτομα και των δύο φύλων περιελήφθησαν μαζί στις στατιστικές αναλύσεις.

Κατά τη διάρκεια του έτους, οι μέσες ανά μήνα τιμές τόσο της 25(OH)D όσο και της 1-25(OH)<sub>2</sub>D παρουσίαζαν σημαντικές διαφορές. Συγκεκριμένα, όταν οι μέσες αυτές τιμές ενώθηκαν γραμμικά, η σχηματισθείσα καμπύλη έλαβε κυματοειδή μορφή με το ναδίρ στο τέλος του χειμώνα και την άνοιξη και το ζενίθ στο τέλος του καλοκαιριού (σχήμα 1).

Ειδικότερα ως προς την 25(OH)D (σχήμα 1α) μέσες μηνιαίες τιμές μικρότερες των 20 ng/mL παρατηρήθηκαν διαδοχικά κατά τους μήνες Μάρτιο-Απρίλιο-Μάιο (περίοδος των χαμηλοτέρων τιμών) και υψηλότερες των 25 ng/mL τους

Ιούλιο-Αύγουστο-Σεπτέμβριο-Οκτώβριο (περίοδος των υψηλοτέρων τιμών). Επίσης, η μέση τιμή της περιόδου των χαμηλοτέρων τιμών ( $\bar{x} \pm sd$ : 17,11 $\pm$ 8,07) διέφερε πάρα πολύ σημαντικά ( $t=9,65$ ,  $P < 0,001$ ) από εκείνη των υψηλοτέρων τιμών (27,38 $\pm$ 11,40).

Ως προς την 1-25(OH)<sub>2</sub>D (σχήμα 1β) μέσες μηνιαίες τιμές μικρότερες των 30 pg/mL παρατηρήθηκαν κατά τους ίδιους μήνες με την 25(OH)D (Μάρτιος-Μάιος, περίοδος των χαμηλοτέρων τιμών), αλλά μηνιαίες υψηλότερες των 35 pg/mL μόνο για δύο μήνες (Αύγουστος και Σεπτέμβριος, περίοδος των υψηλοτέρων τιμών). Ακόμα, η μέση τιμή της περιόδου των χαμηλοτέρων τιμών (28,9 $\pm$ 10,40) διέφερε πάρα πολύ σημαντικά ( $t=5,75$ ,  $P < 0,001$ ) εκείνης των υψηλοτέρων (37,89 $\pm$ 12,70). Δηλαδή, ενώ η διάρκεια της περιόδου των χαμηλοτέρων τιμών βρέθηκε ίδια και για τους δύο μεταβολίτες της D, η διάρκεια της περιόδου των υψηλοτέρων τιμών ήταν βραχύτερη κατά 2 μήνες για την 1-25(OH)<sub>2</sub>D. Επίσης, η υψηλότερη μέση μηνιαία τιμή της 1-25(OH)<sub>2</sub>D εμφανίστηκε κατά 1 μήνα νωρίτερα (Αύγουστος) σε σχέση με εκείνη της 25(OH)D (Σεπτέμβριος) – σχήμα 1β.



**Σχήμα 1.** Κατανομή (μέση τιμή $\pm$ σταθερά απόκλιση) των ανά μήνα τιμών κατά τη διάρκεια ενός έτους της 25(OH)D (α) και της 1-25(OH)<sub>2</sub>D (β) στα μελετηθέντα άτομα

Πολύ σημαντική διαφορά ( $P < 0,001$ ) των μέσων τιμών Μαρτίου-Μαΐου (περίοδος των χαμηλοτέρων τιμών) των δύο μεταβολιτών της D προς εκείνες του Ιουλίου-Οκτωβρίου για την 25(OH)D και Αυγούστου-Σεπτεμβρίου για την 1-25(OH)<sub>2</sub>D (περίοδοι - αντίστοιχα των υψηλοτέρων τιμών). Φαιά ορθογώνια: περίοδοι των χαμηλοτέρων και υψηλοτέρων τιμών για τους 2 μεταβολίτες της D

Περαιτέρω, χρησιμοποιώντας ως κατώτερο φυσιολογικό όριο τα 22 ng/mL για την 25(OH)D και τα 24,6 pg/mL για την 1-25(OH)<sub>2</sub>D –όπως αυτά ορίστηκαν με δοκιμασία φορτίσεως D σε προηγούμενη μελέτη μας<sup>7</sup>– εκτιμήθηκε η συχνότητα ανεπάρκειας των δύο αυτών μεταβολιτών της D σε σχέση με τις ορισθείσες χρονικές περιόδους (πίν. 2). Εν προκειμένω, ενώ ανεπάρκεια της 25(OH)D παρουσίασε το 57,2% των μελετηθέντων σ' ολόκληρο το έτος, αυτή ήταν ακόμα μεγαλύτερη την περίοδο των χαμηλοτέρων τιμών (77,2%), αλλά μικρότερη την περίοδο των υψηλοτέρων (33,3%). Ως προς την 1-25(OH)<sub>2</sub>D η ανεπάρκεια στις αντίστοιχες χρονικές περιόδους ήταν κατά πολύ μικρότερη (33,3%, 35,1%, 9,9%).

Περαιτέρω, όταν η ανεπάρκεια της 25(OH)D ή της 1-25(OH)<sub>2</sub>D, εκφράστηκε σε εκατοστιαία αναλογία, ανά ομάδα ηλικιών, παρατηρήθηκε πως ανεπάρκεια της 25(OH)D κατά την περίοδο των χαμηλοτέρων τιμών παρουσίασαν –απρόσμενα– όλοι οι ενήλικες κάτω των 39 ετών (ηλικιακές ομάδες 18–29 και 30–39 ετών), ενώ οι μεσήλικες (50–59 ετών) είχαν το μικρότερο ποσοστό (πίν. 2). Επιπλέον, το ποσοστό ανεπάρκειας της 25(OH)D της ομάδας των μεσηλικών διέφερε σημαντικά από εκείνο όλων των άλλων εν σειρά ηλικιακών ομάδων [P=0,004 (18–29 ετών), 0,05 (30–39 ετών), 0,02 (40–49 ετών), 0,05 (>60 ετών)]. Όμως, κατά την περίοδο των υψηλοτέρων

τιμών η ανεπάρκεια 25(OH)D ήταν πολύ μικρότερη σ' όλες τις ηλικιακές ομάδες (πίν. 2). Το μικρότερο ποσοστό ανεπάρκειας παρουσίασαν και πάλι οι μεσήλικες (50–59 ετών) καθώς και οι νεότεροι (18–29 ετών), ενώ το υψηλότερο οι ηλικιωμένοι (>60 ετών). Εν προκειμένω μόνο η διαφορά της ομάδας των μεσηλικών από εκείνη των ηλικιωμένων ήταν στατιστικά πολύ σημαντική (P<0,003), πίν. 2.

Ως προς την 1-25(OH)<sub>2</sub>D, ανεπάρκεια παρατηρήθηκε σε πολύ μικρά ποσοστά σ' όλες τις ηλικιακές ομάδες, ακόμα και κατά την περίοδο των χαμηλοτέρων τιμών (πίν. 2). Κατά την περίοδο αυτή και πάλι η ομάδα των μεσηλικών (50–59 ετών) παρουσίαζε το χαμηλότερο ποσοστό και το υψηλότερο οι ομάδες των ηλικιωμένων (>60 ετών) και των νέων (18–29 ετών). Η διαφορά των ομάδων αυτών από εκείνη των μεσηλικών ήταν στατιστικά πολύ σημαντική (P<0,02 και <0,02, αντίστοιχα). Σημειώνεται ακόμα πως, κατά την περίοδο των υψηλοτέρων τιμών τα ποσοστά ανεπάρκειας της 1-25(OH)<sub>2</sub>D και στις 5 ηλικιακές ομάδες ήσαν χαμηλά (υψηλότερα όμως των ηλικιωμένων) χωρίς να υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των (πίν. 2).

Κυκλικές μεταβολές της intact PTH, αντίστροφες προς εκείνες των δύο μεταβολιτών της D κατά τις περιόδους των χαμηλοτέρων και υψηλοτέρων τιμών, δεν παρατηρήθηκαν. Όμως, με-

**Πίνακας 2.** Συχνότητα ανεπάρκειας (%) της 25(OH)D (<22,0 ng/mL) και της 1-25(OH)<sub>2</sub>D (<24,6 pg/mL) κατά ηλικιακές ομάδες και στο σύνολο των μελετηθέντων ατόμων στις αντίστοιχες περιόδους χαμηλοτέρων και υψηλοτέρων τιμών

Ηλικιακές ομάδες (έτη)	Ανεπάρκεια (%) 25(OH)D Περίοδοι τιμών		Ανεπάρκεια (%) 1-25(OH) <sub>2</sub> D Περίοδοι τιμών	
	Χαμηλοτέρων (Μάρτιος-Μάιος)	Υψηλοτέρων (Ιούλιος-Οκτώβριος)	Χαμηλοτέρων (Μάρτιος-Μάιος)	Υψηλοτέρων (Αύγουστος-Σεπτέμβριος)
18–29	100,0 <sup>β</sup>	25,0	50,0 <sup>β</sup>	0,0
30–39	100,0 <sup>β</sup>	33,3	23,1	14,3
40–49	87,5 <sup>β</sup>	33,2	37,5	5,9
50–59	60,4 <sup>α</sup>	24,5 <sup>α</sup>	18,9 <sup>α</sup>	4,0
>60	77,6 <sup>β</sup>	51,7 <sup>β</sup>	46,3 <sup>β</sup>	20,0
Σύνολο	77,2	35,6	35,1	9,9

Στατιστικά σημαντική διαφορά της συχνότητας ανεπάρκειας (%) της 25(OH)D και της 1-25(OH)<sub>2</sub>D μεταξύ της ηλικιακής ομάδας 50–59 ετών (α) και άλλων ηλικιακών ομάδων (β) κατά τις περιόδους των χαμηλοτέρων και υψηλοτέρων τιμών.

ταξύ intact PTH και 25(OH)D σημειώθηκε πάρα πολύ σημαντική αρνητική γραμμική συσχέτιση τόσο κατά τη διάρκεια ολοκλήρου του έτους ( $r=-0,19$ ,  $P<0,001$ ), όσο και κατά τις περιόδους των χαμηλοτέρων ( $r=-0,28$ ,  $P<0,001$ ) και υψηλοτέρων ( $r=-0,38$ ,  $P<0,0001$ ) τιμών. Αντίθετα, μεταξύ intact PTH και 1-25(OH)<sub>2</sub>D δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση σ' ολόκληρο το έτος ( $P\leq 0,44$ ) και τις περιόδους των χαμηλοτέρων ( $P=0,74$ ) και υψηλοτέρων ( $P=0,23$ ) τιμών.

Τέλος, ανάλυση εξαρτήσεως πολλαπλής μεταβλητότητας (multivariate regression analysis) μεταξύ intact PTH προς 25(OH)D και ασβέστιο ορού, στο έτος και τις δύο περιόδους, έδειξε και πάλι πολύ σημαντική ( $P<0,001$ ) αρνητική συσχέτιση προς την 25(OH)D όχι όμως και ως προς το ασβέστιο. Ακόμα, μεταξύ intact PTH προς 1-25(OH)<sub>2</sub>D και ασβέστιο, στο έτος και τις δύο περιόδους, παρατηρήθηκε μεν αρνητική γραμμική συσχέτιση και προς τις δύο μεταβλητές, όμως, δεν ήταν στατιστικά σημαντική.

## Συζήτηση

Η παρούσα μελέτη φαίνεται πως υπερτερεί έναντι των προηγούμενων σχετικών μελετών, βασικά γιατί σ' αυτή προσδιορίστηκαν κατά τη διάρκεια ολοκλήρου έτους τόσο τ' αποθέματα της D (25(OH)D) –και όχι μόνο 2 φορές τον χρόνο όπως κατά κανόνα προηγουμένως– όσο και ο κυρίως δραστικός μεταβολίτης (1-25(OH)<sub>2</sub>D), που σπάνια και περιστασιακά έχει μετρηθεί μέχρι σήμερα.<sup>2,3,7,9</sup> Η κατά το δυνατόν αντικειμενικότερη και ακριβέστερη εκτίμηση των μεταβολιτών αυτών της D στο έτος, υποβοηθήθηκε επίσης από την επιλογή των μελετηθέντων ατόμων (ενήλικες περιπατητικοί, όλου του ηλικιακού φάσματος, αμφοτέρων των φύλων) και της περιοχής (τυπικό εύκρατο κλίμα με σαφή διαχωρισμό των 4 εποχών του έτους).

Ως προς τις ετήσιες διακυμάνσεις της 25(OH)D, η καθυστερημένη εμφάνιση των περιόδων τόσο των χαμηλοτέρων τιμών (Μάρτιος–Μάιος) όσο και των υψηλοτέρων (Ιούλιος–Οκτώβριος) σε σχέση με τη μέχρι σήμερα επικρατούσα άποψη, ότι δηλαδή πρέπει να συμβαδίζουν με τις μετε-

ωρολογικά καθοριζόμενες εποχές του έτους,<sup>1-6</sup> αποτέλεσε αρχικά έκπληξη. Όμως, η διαφορά που παρατηρήθηκε εξηγείται από το ότι τα αποθέματα της D ελαττώνονται προοδευτικά από το φθινόπωρο μέχρι το επόμενο καλοκαίρι λόγω της ελλείψεως δράσεως της υπεριώδους ακτινοβολίας. Επιπλέον, η καθυστερημένη άνοδος των τιμών της 25(OH)D το καλοκαίρι που παραμένουν υψηλές μέχρι τις αρχές του φθινοπώρου, θα πρέπει ν' αποδοθεί στην καθυστερημένη έκθεση των ατόμων στην ηλιακή ακτινοβολία το θέρος που, όμως, συνεχίζεται και στις αρχές του φθινοπώρου στη χώρα μας. Ως επιπλέον παράγοντας που συντελεί στην καθυστερημένη εμφάνιση των μεταβολών αυτών της 25(OH)D, θα πρέπει να θεωρηθεί και ο μεγάλος χρόνος (56 ημέρες, όπως έχει υπολογιστεί)<sup>9</sup> που απαιτείται για την παραγωγή της D στο δέρμα από την υπεριώδη ακτινοβολία, την αποθήκευσή της και τον εν συνεχεία μεταβολισμό της (βιολογικός χρόνος υποδιπλασιασμού της 25(OH)D περίπου 3 εβδομάδες).<sup>1,2,9,10</sup>

Από πρακτική πλευρά τα αποτελέσματα αυτά υποδεικνύουν ότι ο καταλληλότερος χρόνος για την εκτίμηση των αποθεμάτων της D (μέτρηση της 25(OH)D) είναι για μεν τα ελάχιστα η περίοδος Μαρτίου–Μαΐου, για δε τα μέγιστα εκείνη του Ιουλίου–Οκτωβρίου.

Είναι, ακόμα, η πρώτη φορά –απ' όσο γνωρίζουμε– που περιγράφονται εποχικές διακυμάνσεις της 1-25(OH)<sub>2</sub>D. Εν προκειμένω, η χρονική σύμπτωση της περιόδου των χαμηλοτέρων τιμών της 1-25(OH)<sub>2</sub>D με εκείνη της 25(OH)D (Μάρτιος–Μάιος) δικαιολογείται από την ύπαρξη ισχυρής θετικής συσχέτισεως των δύο αυτών μεταβολιτών της D.<sup>1,2,7</sup> Η ισχυρή αυτή σχέση υποδηλώνει ότι και η 25(OH)D (ιδιαίτερα όταν τα επίπεδά της είναι χαμηλά) ρυθμίζει τα επίπεδά της 1-25(OH)<sub>2</sub>D επιπλέον από τη ρύθμιση με τις ήδη γνωστές ορμόνες (PTH, αυξητικός παράγων των ινοβλαστών – FGF<sub>23</sub>).<sup>1,2,7,9,11-14</sup>

Η εξάρτηση αυτή των επιπέδων της 1-25(OH)<sub>2</sub>D από εκείνα της 25(OH)D<sup>1,2,7</sup> ερμηνεύει και την περίοδο των υψηλοτέρων τιμών της πρώτης, που όμως χρονικά βρέθηκε μικρότερη κατά δύο μήνες από την αντίστοιχη περίοδο της 25(OH)D.

Η διαφορά αυτή μπορεί να δικαιολογηθεί από το ότι η 1-25(OH)<sub>2</sub>D αποτελεί τον κυρίως δραστικό μεταβολίτη της D και συνεπώς η πέραν των αναγκών του οργανισμού αύξησή της κινητοποιεί τους πολύπλοκους μηχανισμούς ρύθμισης της<sup>11-15</sup> ώστε να επαναφέρουν ταχύως τα επίπεδά της στο αναγκαίο-επιθυμητό όριο, παρά τις αυξημένες τιμές της 25(OH)D.<sup>1,2,12-15</sup> Η ταχεία αυτή διόρθωση υποβοηθείται και από τον μικρό χρόνο βιολογικού υποδιπλασιασμού της 1-25(OH)<sub>2</sub>D (περίπου 4 ώρες).<sup>16</sup>

Αλλά και όταν υπάρχει ένδεια της 25(OH)D, οι ίδιοι μηχανισμοί διατηρούν τα επίπεδα της 1-25(OH)<sub>2</sub>D μέσα στα φυσιολογικά όρια εκτός επί μεγάλου βαθμού ανεπάρκειας (έλλειψης) της 25(OH)D.<sup>1,2,12-15</sup> Γι' αυτό και η συχνότητα ανεπάρκειας της 25(OH)D σε όλες τις χρονικές περιόδους (έτος, περίοδοι χαμηλότερων ή υψηλότερων τιμών) ήταν πολύ μεγαλύτερη σε σχέση με εκείνη της 1-25(OH)<sub>2</sub>D. Τα ευρήματα αυτά επιβεβαιώνουν ότι για να εμφανιστεί ανεπάρκεια της 1-25(OH)<sub>2</sub>D πρέπει να έχουν εξαντληθεί τ' αποθέματα της 25(OH)D, κατά ανάλογο τρόπο που σιδηροπενική αναιμία εμφανίζεται μόνο όταν τα αποθέματα σιδήρου έχουν εξαντληθεί.<sup>1,2,11</sup>

Η μεγάλης συχνότητας ανεπάρκεια D στη χώρα μας (περιοχή με εύκρατο κλίμα)<sup>7,8,17</sup> υποστηρίζει πρόσφατες παρατηρήσεις ότι αυτή είναι μεγαλύτερη στις νότιες απ' ό,τι στις βόρειες χώρες της Ευρώπης, στις οποίες σημαντικό ποσοστό των αναγκών σε D καλύπτονται από τον εμπλουτισμό των βιομηχανικών τροφίμων με –συνήθως– εργοκαλσιφερόλη (D<sub>2</sub>) καθώς και από την κατανάλωση ήπατος των εκεί μεγάλων ζώων, που είναι πλούσιο σε χοληκαλσιφερόλη (D<sub>3</sub>).<sup>1-3,14,18,19</sup> Αντίθετα, στις χώρες με θερμό εύκρατο κλίμα, ο σύγχρονος τρόπος ζωής οδηγεί σε αποφυγή – προστασία από την ηλιακή υπεριώδη ακτινοβολία (τη μοναδική σχεδόν πηγή απόκτησης D) και αποτελεί το κύριο αίτιο της μεγάλης σε συχνότητα και βαρύτητα έλλειψης D στις χώρες αυτές.<sup>1-3,14,18,20</sup>

Η συμμετοχή στη μελέτη ενηλίκων όλων των ηλικιών επέτρεψε την εκτίμηση του ποσοστού ανεπάρκειας D στις δύο περιόδους κατά ηλικι-

ακές ομάδες. Έκπληξη αποτέλεσε η διαπίστωση ότι όλοι οι νεότεροι (<39 ετών) παρουσίαζαν ανεπάρκεια της 25(OH)D κατά την περίοδο των χαμηλότερων τιμών, ενώ το μικρότερο ποσοστό (60%) εμφάνιζαν οι μεσήλικες (50–59 ετών). Προφανής ερμηνεία είναι ότι οι νεότεροι λόγω σπουδών και εργασίας δεν εκτίθενται στην ηλιακή ακτινοβολία κατά το μεγαλύτερο διάστημα του έτους, εκτός κατά το θέρος.<sup>2,3,11,14,20</sup> Έμμεση επιβεβαίωση της απόψεως αυτής αποτελεί και το ότι κατά την περίοδο των υψηλότερων τιμών το ποσοστό ανεπάρκειας της 25(OH)D στην ομάδα αυτή μειώθηκε στο 30%, περίπου. Είναι ακόμα ενδιαφέρον ότι οι μεσήλικες (50–59 ετών) φαίνεται πως ζουν πιο «φυσιολογικά» αφού παρουσιάζουν το μικρότερο ποσοστό ανεπάρκειας 25(OH)D απ' όλες τις ηλικιακές ομάδες, σε όλες τις χρονικές περιόδους, ενώ οι ηλικιωμένοι (>60 ετών), που για προφανείς λόγους δεν εκτίθενται αρκετά στην ηλιακή ακτινοβολία το καλοκαίρι, παρουσιάζουν την υψηλότερη συχνότητα ανεπάρκειας της 25(OH)D κατά την περίοδο των υψηλότερων τιμών.

Τα χαμηλότερα ποσοστά ανεπάρκειας της 1-25(OH)<sub>2</sub>D –σε σχέση μ' εκείνα της 25(OH)D– σ' όλες τις ηλικιακές ομάδες κατά τις περιόδους των χαμηλότερων και υψηλότερων τιμών ήσαν αναμενόμενα για τους προαναφερθέντες λόγους.<sup>1,2,11,19</sup> Εξαίρεση, βέβαια, αποτέλεσε το ποσοστό ανεπάρκειας της τάξεως του 50% στους νέους (<29 ετών) και τους ηλικιωμένους (>60 ετών) κατά την περίοδο των χαμηλότερων τιμών, που θα πρέπει ν' αποδοθεί σε μεγάλο βαθμού έλλειψη της 25(OH)D.<sup>2,11</sup>

Περαιτέρω, η απουσία εποχικών διακυμάνσεων της PTH αντιστρόφων προς εκείνες των δύο μεταβολιτών της D μπορεί να εξηγηθεί από το ότι η παραγωγή και έκκριση της PTH ρυθμίζεται και από άλλους παράγοντες (ασβέστιο, φωσφόρος, FGF<sub>23</sub>, Klotho) που προφανώς καλύπτουν την εμφάνιση τέτοιων διακυμάνσεων.<sup>1,2,12-15</sup>

Ακόμα, η απουσία συσχέτισης της PTH προς την 1-25(OH)<sub>2</sub>D σ' όλες τις χρονικές περιόδους δεν θα πρέπει ν' αποτελεί έκπληξη, τόσο γιατί και άλλοι παράγοντες ρυθμίζουν την παραγωγή και έκκριση της PTH,<sup>7,12,13,15</sup> όσο και γιατί η δρώ-

σα στους παραθυροειδείς 1-25(OH)<sub>2</sub>D δεν προέρχεται μόνο από την κυκλοφορούσα στο αίμα αλλά και από τοπική παραγωγή (παρακρινική δράση) στα παραθυροειδικά κύτταρα.<sup>14,21</sup>

Ιδιαίτερο, τέλος, ενδιαφέρον προκαλεί η παρατηρηθείσα αρνητική σχέση μεταξύ PTH και 25(OH)D κατά τις περιόδους των χαμηλοτέρων και υψηλοτέρων τιμών της τελευταίας, εύρημα που υποδηλώνει ότι και η 25(OH)D φαίνεται να συμμετέχει στη ρύθμιση της PTH τουλάχιστον κατά τις περιόδους των μεγάλων διακυμάνσεων της.<sup>2,7,11,18,19</sup> Το εύρημα αυτό θα πρέπει να διερευνηθεί περαιτέρω δεδομένου ότι και η 25(OH)D παρουσιάζει αρκετές και σημαντικές βιολογικές δράσεις<sup>11-15</sup> καθώς επίσης και επειδή η συγκέντρωσή της στο αίμα είναι 1000 φορές μεγαλύτερη απ' ό,τι εκείνη της 1-25(OH)<sub>2</sub>D.<sup>1,2,7,11-15</sup>

## Συμπεράσματα

Σε ενήλικες κατοίκους εύκρατου κλίματος (λεκανοπέδιο Αττικής, Β. πλάτος 38°) εποχικές διακυμάνσεις των δύο μεταβολιτών της D (25(OH)D και 1-25(OH)<sub>2</sub>D), αλλ' όχι και της PTH παρατηρήθηκαν αργότερα απ' ό,τι γενικά είναι παραδεκτό (περίοδος των χαμηλοτέρων τιμών τον

Μάρτιο–Μάιο και για τους δύο μεταβολίτες, και των υψηλοτέρων τον Ιούλιο–Οκτώβριο για την 25(OH)D και τον Αύγουστο–Σεπτέμβριο για την 1-25(OH)<sub>2</sub>D).

Ακόμα, το ποσοστό ανεπάρκειας της 25(OH)D βρέθηκε κατά μεν την περίοδο των χαμηλοτέρων τιμών πολύ υψηλό (77%) και –απρόσμενα– αφορούσε σε όλους τους νεότερους (<39 ετών), αλλά κατά την περίοδο των υψηλοτέρων τιμών σημαντικά μικρότερο (35%). Συγκριτικά, το ποσοστό ανεπάρκειας της 1-25(OH)<sub>2</sub>D ήταν κατά πολύ μικρότερο στις αντίστοιχες περιόδους.

Η ισχυρά συσχέτιση της 25(OH)D –αλλ' όχι και της 1-25(OH)<sub>2</sub>D– προς την PTH κατά τις περιόδους των μεγάλων διακυμάνσεων θα πρέπει να ερευνηθεί περαιτέρω.

## Πρακτικό συμπέρασμα

Η παρατηρηθείσα, σε υγιείς ενήλικες κατοίκους εύκρατου κλίματος, καθυστερημένη εμφάνιση των εποχικών διακυμάνσεων της 25(OH)D καθώς και η ηλικία θα πρέπει να λαμβάνονται σοβαρά υπ' όψιν για την εκτίμηση της επάρκειας σε D.

## Βιβλιογραφία

- Holick MF, Garabedian M. Vitamin D: photobiology, metabolism, mechanism of action and clinical applications. In: Favus MJ (ed) *Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism*. 6th ed. Washington, DC: American Society of Bone and Mineral Research 2006, 129–137
- Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007, 357: 266–281
- Mithal A, Wahl DA, Bonjour JP et al. Global vitamin D status and determinants of hypovitaminosis D. *Osteoporos Int* 2009, 20:1807–1820
- Norman A. Sunlight, season, skin pigmentation, vitamin D and 25-hydroxyvitamin D: integral components of the vitamin D endocrine system. *Am J Clin Nutr* 1998, 67:1108–1110
- Levis S, Gomez A, Jimenez C et al. Vitamin D deficiency and seasonal variation in an adult south Florida population. *J Clin Endocrinol Metab* 2005, 90:1557–1562
- Bolland MJ, Grey AB, Ames RW et al. The effects of seasonal variation of 25-hydroxyvitamin D and fat mass on a diagnosis of vitamin D sufficiency. *Am J Clin Nutr* 2007, 86:959–964
- Singhellakis PN, Malandrinou FCh, Psarrou CJ et al. Vitamin D deficiency in white apparently healthy, free living adults in a temperate region. *Hormones* 2011, 10:131–143
- Papapetrou PD, Triandaphyllopoulou M, Karga H et al. Vitamin D deficiency in the elderly in Athens, Greece. *J Bone Miner Metab* 2007, 25:198–203
- Reusch J, Ackermann H, Badenhoop K. Cyclic changes of vitamin D and PTH are primarily regulated by solar radiation: 5 year analysis of a German (50° N) population. *Horm Metab Res* 2009, 41:402–407
- Thomas KK, Loyd-Jones DM, Thadhani RJ et al. Hypovitaminosis D in medical inpatients. *New Engl J Med* 1998, 338:777–783

11. Lips P. Relative value of 25(OH)D and 1-25(OH)<sub>2</sub>D measurements. *J Bone Miner Res* 2007, 22:1668–1671
  12. Συγκελλάκης ΠΝ. Ομοιοστασία του φωσφόρου και αιτιοπαθογένεια των σχετιζόμενων γενετικών συνδρόμων. *Ιατρική* 2011, 99:247–258
  13. Συγκελλάκης ΠΝ. Ρύθμιση ασβεστίου και φωσφόρου από τις τρεις ορμόνες (PTH, βιταμίνη D, FGF<sub>23</sub>). Παθήσεις από μεταλλάξεις εμπλεκόμενων γονιδίων. *Ιατρική* 2012, 101:250–262
  14. Hossein-nezhad A, Holick MF. Vitamin D for health: a global perspective. *Mayo Clin Proc* 2013, 88:720–755
  15. Christakos S, Ajibade DY, Dhawan P et al. Vitamin D metabolism. *Rheum Dis Clin N Am* 2012, 38:1–11
  16. Vin L, Raum E, Haug U et al. Meta-analysis of longitudinal studies: Serum vitamin D and prostate cancer risk. *Cancer Epidem* 2009, 33:435–445
  17. Van Der Wielen RP, Löwik MR, Van den Berg H et al. Serum vitamin D concentrations among elderly people in Europe. *Lancet* 1995, 346:207–210
  18. Lips P, Duong T, Oleksik A et al. A global study of vitamin D status and parathyroid function in postmenopausal women with osteoporosis. Baseline data from the multiple outcomes of Raloxifene Evaluation Clinical Trial. *J Clin Endocrinol Metab* 2001, 86:1212–1221
  19. Lips P. Vitamin D physiology. *Progr Biophys Molec Biol* 2006, 92:4–8
  20. Tangpricha V, Pearce E, Chen T, Holick M. Vitamin D insufficiency among free-living healthy young adults. *Am J Med* 2002, 112:659–662
  21. Brown EM. *Control of PTH secretion*. In: Parathyroids 2010, International Symposium. Febr 11–13, Abstract Book, Pisa 2010:2–13
-

Ιατρική 2015, 104(1):69–70

Iatriki 2015, 104(1):69–70

## Δερματικές γέφυρες πέους μετά από περιτομή

## Penile skin bridges after circumcision

Γ. Καμπούρογλου, Κ. Νίκας

G. Kampouroglou, K. Nikas

Α΄ Παιδοχειρουργική Κλινική, Νοσοκομείο Παίδων «Η Αγία Σοφία», Αθήνα

1st Department of Pediatric Surgery, “Agia Sophia” Children’s Hospital, Athens, Greece

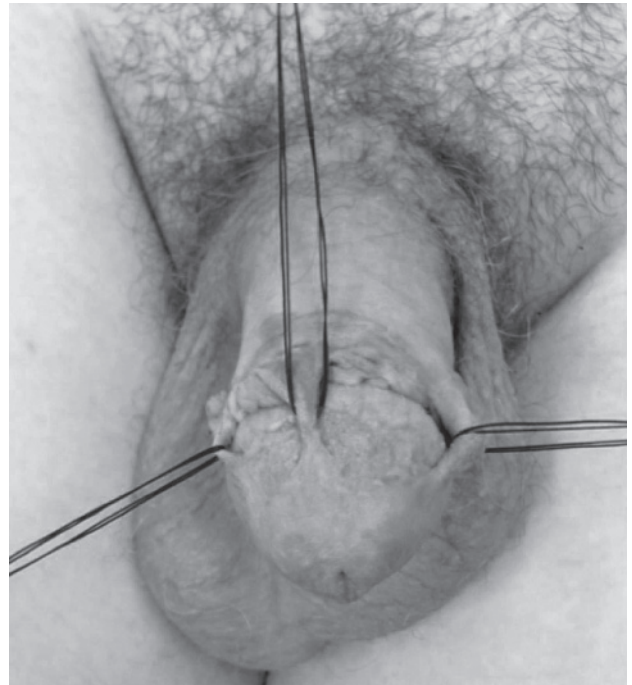
Υγιής δεκατριάχρονος έφηβος προσήλθε στα εξωτερικά ιατρεία της κλινικής μας λόγω σύσφιξης και τάσης στη βάλανο κατά τη στύση. Είχε υποστεί περιτομή στην ηλικία των τριών ετών. Η κλινική εξέταση ανέδειξε τρεις δερματικές γέφυρες στην 3η, 11η και 12η ώρα, με πλάτος περίπου 2–3 mm έκαστη, οι οποίες λειτουργούσαν

ως «χαλινάρια» κατά τη διάρκεια των στύσεων (εικ. 1).

Ο ασθενής υπό γενική αναισθησία υποβλήθηκε σε εκτομή των δερματικών γεφυρών, με τη χρήση διαθερμίας, μετά από την παρασκευή τους, (εικ. 2) χωρίς απώλεια αίματος. Στην κλινική εξέ-



Εικόνα 1. Οι δερματικές γέφυρες κατά την εξέταση του ασθενούς



Εικόνα 2. Οι δερματικές γέφυρες μετά την παρασκευή τους κατά τη διάρκεια της χειρουργικής επέμβασης

Αλληλογραφία: Γ. Καμπούρογλου, Στουρνάρη 32, 104 33 Αθήνα  
e-mail: gkampouroglou@gmail.com

Corresponding author: G. Kampouroglou, 32 Stournari street, GR-104 33 Athens, Greece  
e-mail: gkampouroglou@gmail.com

ταση, έναν μήνα μετά την επέμβαση, δεν παρουσιάστηκε υποτροπή.

Οι δερματικές γέφυρες του πέους αποτελούν μια σπάνια επιπλοκή της περιτομής.<sup>1</sup> Κατά τη διάρκεια της επούλωσης, η κυκλοτερής τομή μπορεί να προσκολληθεί στη βάλανο και σε ορισμένες περιπτώσεις, με την πάροδο του χρόνου, οι συμφύσεις διαχωρίζονται μερικώς στη βάλανο και σχηματίζουν «γέφυρες», άλλοτε άλλου μεγέθους και σχήματος.<sup>2</sup> Η επιμέλεια του χειρουργού κατά τη συρραφή και η καλή περίδεση μετεγχειρητικά

είναι απλές διαδικασίες που μπορεί να αποτρέψουν τη δημιουργία συμφύσεων.<sup>1</sup>

Οι μικρού μεγέθους δερματικές γέφυρες είναι συνήθως ανάγγειες, επιτρέποντας την αιμόσταση χρησιμοποιώντας νιτρικό άργυρο, ενώ οι πιο παχείς, απαιτούν ηλεκτροκαυτηριασμό με χρήση διαθερμίας. Υποτροπές μπορεί να προληφθούν με την υιοθέτηση σε καθημερινή βάση της αποκάλυψης της βάλανου και τη χρήση τοπικά αλοιφής μέχρι την ολοκλήρωση της επούλωσης.<sup>2</sup>

### Βιβλιογραφία

1. Kamal BA. Penile skin bridges: causes and prevention. *Int Surg* 2009, 94:35–37

2. Sody A, Naimer SA, Peleg R, Meidvidovski Y et al. Office management of penile skin bridges with electrocautery. *J Am Board Fam Pract* 2002, 15:485–488

Η ΙΑΤΡΙΚΗ, έκδοση της Εταιρείας Ιατρικών Σπουδών, έχει στόχο τη συνεχή επιμόρφωση των ιατρών και επιθυμεί να προβάλει περισσότερα εργασιές με θέματα που αφορούν στην παθολογία, στη διάγνωση και στη θεραπεία. Για την πραγμάτωση αυτού του σκοπού δημοσιεύονται στο περιοδικό:

**1. Άρθρα Σύνταξης:** Σύντομα ανασκοπικά άρθρα σε επίκαιρα ή και αμφιλεγόμενα θέματα, χωρίς περιληψη (με έως και τρεις λέξεις κλειδιά), τα οποία γράφονται με προτροπή της Συντακτικής Επιτροπής. Όταν εκφράζουν συλλογικά τη Σύνταξη του περιοδικού, είναι ανυπόγραφα.

**2. Ανασκοπήσεις:** Ολοκληρωμένες αναλύσεις ιατρικών θεμάτων, στις οποίες υπογραμμίζονται οι σύγχρονες απόψεις. Γίνονται δεκτές ανασκοπήσεις μέχρι τριών συγγραφέων.

**3. Ερευνητικές εργασίες:** Κλινικές δοκιμές, πειραματικές, και επιδημιολογικές μελέτες προοπτικού ή αναδρομικού χαρακτήρα, που πραγματοποιήθηκαν με βάση ερευνητικό πρωτόκολλο, το οποίο να περιγράφεται αναλυτικά στη μεθοδολογία. Περιέχουν πρωτοδημοσιευόμενα αποτελέσματα (εξαιρούνται τα δημοσιευμένα ως περιλήψεις ανακοινώσεων). Με το δεδομένο ότι η ΙΑΤΡΙΚΗ είναι γενικό ιατρικό περιοδικό, η συντακτική επιτροπή διατηρεί το δικαίωμα να απορρίψει εξαιρετικά εξειδικευμένες μελέτες, κατάλληλες μόνο για ειδικά περιοδικά. Οι κλινικές και οι επιδημιολογικές μελέτες που αφορούν στον ελληνικό πληθυσμό και έχουν γενικότερο ενδιαφέρον δημοσιεύονται κατά προτεραιότητα. Κατ' εξαίρεση και μετά από απόφαση της Συντακτικής Επιτροπής δύναται να δημοσιευθούν αυτούσιες ερευνητικές εργασίες Ελλήνων ιατρών που δημοσιεύθηκαν σε έγκριτα περιοδικά του εξωτερικού και που τα αποτελέσματά τους αφορούν άμεσα στον ελληνικό χώρο. Οι ανωτέρω εργασίες μεταφράζονται με τη φροντίδα των συγγραφέων οι οποίοι και μεριμνούν για την εξασφάλιση γραπτής άδειας των εχόντων τα πνευματικά δικαιώματα.

**4. Κλινικές απόψεις:** Διαγνωστική, θεραπευτική και επιδημιολογική προσέγγιση διαφόρων παθολογικών καταστάσεων, με δεδομένα υπέρ και κατά παρουσιαζόμενα κατά προτίμηση με τη μορφή αλγορίθμου.

**5. Κλινικοπαθολογιοανατομικές συζητήσεις (ΚΠΑΣ):** Δημοσιεύονται κατόπιν προσκλήσεως από τη Συντακτική Επιτροπή προς τους οργανωτές των τακτικών κλινικοπαθολογιοανατομικών συζητήσεων που γίνονται στα μεγάλα νοσοκομεία. Η δημοσίευση γίνεται με τη σύμφωνη γνώμη των ιατρών (κλινικών και εργαστηριακών) που παρουσιάζουν το περιστατικό, του συζητητή και των οργανωτών. Το προς δημοσίευση κείμενο δεν πρέπει να αποτελεί απλή απομνημονεύση της εκδήλωσης. Ειδικά η συζήτηση πρέπει να υποστηρίζεται και από ανάλογη βιβλιογραφία, σύμφωνα με τις οδηγίες που αναφέρονται στην παράγραφο των βιβλιογραφικών παραπομπών. Η Συντακτική Επιτροπή διατηρεί το δικαίωμα της κρίσης του υποβαλλομένου προς δημοσίευση κειμένου. Στο κείμενο πρέπει να αναφέρεται η κλινική ή το νοσοκομείο που οργανώνει την ΚΠΑΣ, η κλινική που παρουσιάζει το περιστατικό, το όνομα του/τών ιατρών που παρουσιάζουν το περιστατικό (το ανώτερο μέχρι δύο ονόματα), το όνομα του συζητητή και τα ονόματα των εργαστηριακών και κλινικών ιατρών που συνέβαλαν στη διάγνωση, με τη σειρά παρουσίας εκάστου. Η καταχώρηση και η βιβλιογραφική παραπομπή σε ΚΠΑΣ δεν γίνεται με τα ονόματα των συμμετεχόντων σε αυτή, αλλά με τον αριθμό του τεύχους και το έτος δημοσίευσης αυτής. Για την καλύτερη αναζήτηση της ΚΠΑΣ συνιστάται η χρησιμοποίηση ενός μικρής έκτασης τίτλου, π.χ. Ηπατοσπληνομεγαλία και πανκυτταροπενία σε ασθενή με πυρετό. Ιατρική 1996, 70:151-156. Το κείμενο μπορεί να περιλαμβάνει και ερωτήσεις του ακροατηρίου.

**6. Επίκαιρα θέματα:** Σύντομη περιγραφή των τελευταίων απόψεων σε συγκεκριμένο θέμα.

**7. Ενδιαφέρουσες περιπτώσεις:** Γίνονται δεκτά άρθρα (μέχρι 6 συγγραφείς), εφόσον αφορούν σε νέα ή πολύ σπάνια νοσήματα, εφαρμοσθέντα νέα διαγνωστικά κριτήρια και έχει ακολουθηθεί νέα θεραπευτική μεθόδευση με ελεγμένο το αποτέλεσμα.

**8. Γενικά θέματα,** τα οποία σχετίζονται με τις επιστήμες υγείας και δεν εμπίπτουν στις άλλες κατηγορίες άρθρων του περιοδικού. Οι συγγραφείς δεν μπορεί να είναι περισσότεροι των δύο.

**9. Εικόνες στην Κλινική Ιατρική:** Δημοσιεύονται 1-2 φωτογραφίες καλής ποιότητας με συνοδό ερμηνευτικό βραχύ κείμενο και σχόλιο (έως 200 λέξεις) περιπτώσεων με ιδιαίτερο κλινικό (διαγνωστικό ή θεραπευτικό) ενδιαφέρον. Βραχύς τίτλος, μέχρι τρεις λέξεις κλειδιά και έως τρεις συγγραφείς.

**10. Σεμινάρια, στρογγυλά τραπέζια.**

**11. Βιβλιοπαραρτήσεις:** Αναφέρονται ο τίτλος του βιβλίου, οι συγγραφείς, η χρονολογία και ο τόπος έκδοσης, ο εκδοτικός οίκος και η τιμή πώλησης.

**12. Γράμματα προς τη Σύνταξη:** Περιέχουν κρίσεις για δημοσιευμένα άρθρα, πρόδρομα αποτελέσματα εργασιών, παρατηρήσεις για ανεπιθύμητες ενέργειες, κρίσεις για το περιοδικό κ.λπ. Δημοσιεύονται ανυπόγραφα.

**Προηγούμενη ή ταυτόχρονη δημοσίευση:** Τα άρθρα, που υποβάλλονται στην ΙΑΤΡΙΚΗ, θα θεωρούνται για δημοσίευση με την προϋπόθεση ότι τα αποτελέσματα ή το ίδιο κείμενο δεν έχουν δημοσιευθεί και δεν έχουν υποβληθεί για δημοσίευση σε άλλο περιοδικό. Δημοσιεύονται, όμως, τελικά αποτελέσματα εργασιών, που δημοσιεύθηκαν ως πρόδρομες ανακοινώσεις. Ο συγγραφέας πρέπει οπωσδήποτε να αναφέρει στη συνοδευτική επιστολή, αν η εργασία έχει υποβληθεί για δημοσίευση σε άλλο περιοδικό ή αν έχει κατά οποιονδήποτε τρόπο δημοσιευθεί εν μέρει ή στο σύνολο. Στην τελευταία περίπτωση, πρέπει να συνοποβάλλονται αντίγραφα των δημοσιεύσεων αυτών, για να εκτιμηθεί ορθότητα το θέμα της διπλής δημοσίευσης.

**Υποβολή εργασιών:** Γίνονται δεκτές εργασίες μόνο στην ελληνική γλώσσα. Όλα τα χειρόγραφα συνοδεύονται από επιστολή, που υπογράφεται από τον υπεύθυνο για την αλληλογραφία συγγραφέα. Η συνοδευτική επιστολή πρέπει να περιλαμβάνει δήλωση ότι τα χειρόγραφα έχουν εγκριθεί και από όλους τους υπολοίπους συγγραφείς, οι οποίοι και συνοπογράφουν την επιστολή και ότι τα πνευματικά δικαιώματα μεταβιβάζονται στο περιοδικό. Σε περίπτωση υποβολής ερευνητικής εργασίας δημοσιευμένης σε περιοδικό του εξωτερικού για αναδημοσίευση, θα τονίζεται ρητά ότι οι συγγραφείς έχουν εξασφαλίσει την έγγραφη άδεια των εχόντων τα πνευματικά δικαιώματα, η οποία και θα επισυνάπτεται. Τα προς δημοσίευση άρθρα υποβάλλονται σε τρία αντίγραφα (συμπεριλαμβανομένων και των εικόνων), ένα πλήρες και δύο χωρίς να αναφέρονται τα ονόματα των συγγραφέων και το νοσοκομείο, η κλινική ή το εργαστήριο προέλευσής των. Για την ταχύτερη διεκπεραίωση της κρίσης συνιστάται επιπροσθέτως, η υποβολή του πλήρους άρθρου και σε ηλεκτρονική μορφή. Όταν η εργασία γίνει αποδεκτή, το τελικό διορθωμένο κείμενο υποβάλλεται σε δύο πλήρη αντίγραφα με όλα τα στοιχεία της εργασίας (ονόματα συγγραφέων και προέλευση) καθώς και σε ηλεκτρονική μορφή. Ό,τι δημοσιεύεται στην ΙΑΤΡΙΚΗ δεν επιτρέπεται να αναδημοσιευθεί χωρίς γραπτή έγκριση του Διευθυντή Σύνταξης στη διεύθυνση: ΙΑΤΡΙΚΗ, Διευθυντή Σύνταξης, Σεβαστουπόλεως 76, 115 26 Αθήνα.

**Έκταση άρθρων:** Τα άρθρα σύνταξης δεν πρέπει να υπερβαίνουν τις 1000 λέξεις. Οι ανασκοπήσεις δεν πρέπει να υπερβαίνουν τις 6000 λέξεις. Η Σύνταξη διατηρεί το δικαίωμα δημοσίευσης ανασκοπήσεων με μεγαλύτερη έκταση. Οι ερευνητικές εργασίες πρέπει να είναι συντομότερες και γενικά να μην υπερβαίνουν τις 3000 λέξεις. Οι κλινικές απόψεις δεν πρέπει να υπερβαίνουν τις 1500 λέξεις, τα επίκαιρα θέματα και οι περιγραφές περιπτώσεων ασθενών τις 1000 λέξεις και τα γράμματα προς τη Σύνταξη τις 400.

**Δομή του κειμένου:** Η ΙΑΤΡΙΚΗ έχει αποδεχθεί τις Ομοίμορφες Απαιτήσεις για τα Βιοϊατρικά Περιοδικά (σύστημα Vancouver) και οι οδηγίες της προς τους συγγραφείς είναι σύμφωνες με τις απαιτήσεις αυτές. Τα κείμενα πρέπει να δακτυλογραφούνται σε διπλό διάστημα σε λευκό χαρτί συνηθισμένων διαστάσεων (ISO A4 210x297 mm), με περιθώρια τουλάχιστον 3,5 cm. Πρέπει να χρησιμοποιούνται ξεχωριστές σελίδες για τον τίτλο, την περιληψη και τις λέξεις-κλειδιά, το κυρίως κείμενο, τις ευχαριστίες, τη βιβλιογραφία, τους πίνακες και τους τίτλους των εικόνων.

**Σελίδα τίτλου:** Περιλαμβάνει (α) τον τίτλο του άρθρου (μέχρι 12 λέξεις), (β) βραχύ τίτλο (όχι μεγαλύτερο των 50 χαρακτήρων), ονόματα συγγραφέων (στην ονομαστική) και τίτλο, (γ) το νοσοκομείο (ή νοσοκομεία), την κλινική (ή κλινικές), το εργαστήριο (ή εργαστήρια) όπου πραγματοποιήθηκε η εργασία, (δ) πλήρη ταχυδρομική διεύθυνση και αριθμό τηλεφώνου, FAX και e-mail του υπεύθυνου για επικοινωνία συγγραφέα. Σε περίπτωση αναδημοσίευσης ερευνητικής εργασίας θα αναγράφεται επιπλέον ο πρωτότυπος τίτλος, το περιοδικό στο οποίο δημοσιεύθηκε καθώς και το έτος, ο τόμος και οι σελίδες του περιοδικού.

**Περιληψη και λέξεις ευρετηρίου:** Οι περιλήψεις των ανασκοπήσεων και των ερευνητικών εργασιών πρέπει να αποτελούνται το πολύ από 200 λέξεις, ενώ αυτές των επίκαιρων θεμάτων και των περιγραφών περιπτώσεων ασθενών, το πολύ από 150 λέξεις. Για τις ανασκοπήσεις πρέπει να εφαρμόζονται οι περιγραφικές περιλήψεις (descriptive), οι οποίες αναφέρουν συνοπτικά όλα τα κεφάλαια που περιέχει το άρθρο και σημαντικά συμπεράσματα. Οι περιλήψεις των ερευνητικών εργασιών πρέπει να χωρίζονται σε τέσσερις παραγράφους, οι οποίες φέρουν κατά σειρά την ακόλουθη επικεφαλίδα: Σκοπός,

Υλικό-Μέθοδος, Αποτελέσματα, Συμπεράσματα. Μετά την περιληψη παρατίθενται 3–10 λέξεις κλειδιά. Οι λέξεις αυτές πρέπει να αντιστοιχούν στους διεθνείς όρους που χρησιμοποιεί το Index Medicus-MESH Ελλάς, Έκδοση ΕΙΣ, ΙΑΤΡΟΤΕΚ.

**Κείμενο:** Οι ερευνητικές εργασίες αποτελούνται συνήθως από τα κεφάλαια: Εισαγωγή, Υλικό ή ασθενείς και μέθοδος, Αποτελέσματα, Συζήτηση. Η εισαγωγή περιλαμβάνει τις απαραίτητες βιβλιογραφικές παραπομπές και αναφέρει τον λόγο για τον οποίο πραγματοποιήθηκε η εργασία.

Στη μεθοδολογία περιγράφεται το πρωτόκολλο, με βάση το οποίο εξελίχθηκε η έρευνα. Αναφέρονται λεπτομερώς ο τρόπος επιλογής ασθενών ή οποιουδήποτε υλικού, καθώς και η μέθοδος η οποία εφαρμόστηκε, ώστε η ίδια έρευνα να μπορεί να αναπαραχθεί από μελλοντικούς ερευνητές. Στην περίπτωση ερευνών που αφορούν σε ανθρώπους, πρέπει να τονίζεται ότι η έρευνα πραγματοποιήθηκε με βάση τη Διακήρυξη του Ελσίνκι (1975). Οι φαρμακευτικές ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν στη μελέτη πρέπει να αναφέρονται με την κοινωχρηστή ονομασία τους. Περιγράφεται το υλικό που αξιολογήθηκε κατά τη διάρκεια της μελέτης και το κεφάλαιο ολοκληρώνεται με τα στατιστικά κριτήρια που χρησιμοποιήθηκαν.

Στο επόμενο κεφάλαιο παρουσιάζονται τα αποτελέσματα ολοκληρωμένα, αλλά σύντομα. Όσα αναφέρονται σε πίνακες, δεν επαναλαμβάνονται στο κείμενο.

Στη συζήτηση μπορεί να γίνει σύγκριση με τα αποτελέσματα άλλων ομοειδών εργασιών και περιγράφονται οι προοπτικές που διανοούνται με τα αποτελέσματα της μελέτης, καθώς και τα τελικά συμπεράσματα. Δεν επαναλαμβάνονται όσα έχουν αναφερθεί στα αποτελέσματα, τα οποία πρέπει να συνδέονται με τους στόχους της μελέτης. Πρέπει να αποφεύγονται αυθαίρετα συμπεράσματα, τα οποία δεν τεκμηριώνονται με τα αποτελέσματα της εργασίας.

Στις ενδιαφέρουσες περιπτώσεις ασθενών προηγείται η εισαγωγή και ακολουθούν η περιγραφή της περιπτώσεως και η συζήτηση. Στα υπόλοιπα είδη άρθρων, το κείμενο διαμορφώνεται ανάλογα με τις απαιτήσεις και τους στόχους του συγγραφέα.

**Ευχαριστίες:** Απευθύνονται μόνο προς τα άτομα, τα οποία έχουν βοηθήσει ουσιαστικά.

**Βιβλιογραφικές παραπομπές:** Οι βιβλιογραφικές παραπομπές στο κείμενο αριθμούνται με αύξοντα αριθμό, ανάλογα με τη σειρά που εμφανίζονται. Σε περίπτωση αναφοράς σε ονόματα συγγραφέων στο κείμενο, εφόσον είναι ξένοι, μετά το επώνυμο του πρώτου συγγραφέα ακολουθεί η συντομογραφία et al, ενώ στους Έλληνες συγγραφείς «και συν». Εφόσον οι συγγραφείς είναι δύο, μεταξύ των επωνύμων τοποθετείται η λέξη «και».

Όλες οι βιβλιογραφικές παραπομπές του κειμένου –και μόνον αυτές– πρέπει να υπάρχουν στον βιβλιογραφικό κατάλογο.

Ο αριθμός των βιβλιογραφικών παραπομπών πρέπει να περιορίζεται στον τελειώς απαραίτητο. Στις ανασκοπήσεις, οι βιβλιογραφικές παραπομπές δεν πρέπει να είναι περισσότερες από 100. Στα άρθρα επικαιρότητας (επίκαιρα θέματα, άρθρα Σύntαξης) πρέπει να αναφέρονται μέχρι 10 άρθρα ή μονογραφίες, για τα οποία ο συγγραφέας πιστεύει ότι είναι απαραίτητα για την ολοκληρωμένη πληροφόρηση του αναγνώστη για το θέμα. Τα γράμματα προς τη Σύntαξη δεν πρέπει να έχουν περισσότερες από 5 βιβλιογραφικές παραπομπές.

Η σύntαξη του βιβλιογραφικού καταλόγου γίνεται αριθμητικά, με βάση τον αύξοντα αριθμό και τη σειρά των βιβλιογραφικών παραπομπών στο κείμενο. Αναφέρονται τα επώνυμα και τα αρχικά των ονομάτων όλων των συγγραφέων μέχρι 3 (όταν είναι περισσότεροι ακολουθεί η ένδειξη et al), ο τίτλος της εργασίας, η συντομογραφία του τίτλου του περιοδικού, το έτος, ο τόμος, η πρώτη και η τελευταία σελίδα της δημοσίευσης: π.χ. You CH, Lee KY, Chey WY et al. *Electrogastrographic study of patients with unexplained nausea. Gastroenterology* 1980, 79:311–314.

Σε περίπτωση που δεν αναφέρεται όνομα συγγραφέως, σημειώνεται η λέξη Άνωνυμος (για ελληνική δημοσίευση) ή Anonymous. Π.χ. Anonymous. *Coffee drinking and cancer of the pancreas (Editorial). Br Med J* 1981, 283:628

Παραπομπές οι οποίες αναφέρονται σε εργασίες που δημοσιεύονται σε συμπληρώματα (supplements) εκδόσεων, πρέπει να συνοδεύονται με τον αριθμό του συμπληρώματος, που σημειώνεται σε παρένθεση μετά τον τόμο. π.χ. *Blood* 1996, 54(Suppl 1):26. Οι συντμήσεις των τίτλων των περιοδικών πρέπει να γίνονται με βάση το *Index Medicus*. Δεν τοποθετούνται τελείες στα ακρώνυμα των συγγραφέων και στις συντμήσεις των περιοδικών. Για την καταχώρηση συγγραμμάτων ή μονογραφιών στον βιβλιογραφικό κατάλογο, αναφέρονται στη σειρά τα επώνυμα και τα αρχικά των συγγραφέων, ο τίτλος, ο αριθμός έκδοσης,

η εκδότης, η πόλη έκδοσης, το έτος και οι σελίδες της αναφοράς. Η αναφορά σε κεφάλαιο βιβλίου πρέπει να γίνεται με τον ακόλουθο τρόπο: Παπαβασιλείου ΙΘ. *Πρωτόζωα. Στο: Παθολογικοί μύκητες και παράσιτα. ΒΗΤΑ, Αθήνα, 1983:67–113.*

Αν η βιβλιογραφική παραπομπή αποτελεί κεφάλαιο συγγραμματος το οποίο έχει γραφεί από άλλο συγγραφέα, η αναφορά γίνεται ως εξής: Weinstein L, Swartz MN. *Pathogenic properties of invading microorganisms. In: (Στο): Sodeman WA (ed) (ή eds ή Συντ.) Pathologic Physiology. Saunders, Philadelphia, 1987:457–472.*

Μη δημοσιευμένες εργασίες καθώς και «προσωπικές επικοινωνίες» δεν χρησιμοποιούνται ως βιβλιογραφικές παραπομπές. Άρθρα, τα οποία έχουν γίνει δεκτά για δημοσίευση, μπορούν να περιληφθούν στη βιβλιογραφία. Στην τελευταία περίπτωση, μετά τη συντομογραφία του περιοδικού σημειώνεται η ένδειξη «υπό δημοσίευση».

Η αναφορά της ελληνικής βιβλιογραφίας είναι υποχρεωτική και είναι δυνατόν να αναζητηθεί από τη Ελληνική Βάση Ιατρικής Βιβλιογραφίας (ΙΑΤΡΟΤΕΚ), [www.iatrotek.org](http://www.iatrotek.org)

**Αγγλική περιληψη:** Περιλαμβάνει τα ονόματα των συγγραφέων και την ιδιότητά τους, τον τίτλο της εργασίας και το ίδρυμα ή το εργαστήριο από το οποίο προέρχεται η εργασία. Η περιληψη δεν πρέπει να υπερβαίνει τις 200 λέξεις, ενώ για τα επίκαιρα θέματα και τις περιγραφές περιπτώσεων ασθενών τις 150 λέξεις. Η δομή, η έκταση, το περιεχόμενο και οι λέξεις κλειδιά της αγγλικής περιληψης πρέπει να είναι αντίστοιχα αυτών της ελληνικής περιληψης. Η ποιότητα των αγγλικών περιληψων πρέπει να είναι αρκετά ικανοποιητική, επειδή αποτελεί σημαντικό κριτήριο αποδοχής του περιοδικού στους διεθνείς καταλόγους βιοϊατρικών περιοδικών.

**Αρίθμηση κεφαλαίων σε ανασκοπήσεις, επίκαιρα θέματα:** Όλα τα κεφάλαια αριθμούνται με αραβικούς αριθμούς: 1, 2, 3 κ.λπ. Τα υποκεφάλαια φέρουν τον αριθμό του αρχικού κεφαλαίου, τελεία και ακολουθεί ο αριθμός του υποκεφαλαίου: 1.1., 1.2. ή 1.1.1., 1.2.1. κ.ο.κ.

**Πίνακες:** Δακτυλογραφούνται με διπλό διάστημα, σε χωριστή σελίδα. Αριθμούνται με τη σειρά που εμφανίζονται στο κείμενο, με αραβικούς αριθμούς. Πρέπει να φέρουν περιεκτική σύντομη επεξήγηση, ώστε για την κατανόησή τους να μην είναι απαραίτητο να καταφύγει ο αναγνώστης στο κείμενο. Κάθε στήλη φέρει επεξηγηματική σύντομη επεξηγιστική. Οι επεξηγήσεις των συντομογραφιών, καθώς και οι λοιπές διευκρινίσεις, γίνονται στο τέλος του πίνακα.

**Εικόνες:** Τα σχήματα, σχεδιασμένα με σινική μελάνη ή σε υπολογιστή και οι φωτογραφίες πρέπει να στέλνονται στο πρωτότυπο, ώστε να είναι κατάλληλα για άμεση φωτογραφική αναπαραγωγή και εκτύπωση. Στο πίσω μέρος τους να γράφονται με μολύβι ο αριθμός της εικόνας, ένα βέλος για την κατεύθυνση του άνω μέρους και οι συγγραφείς. Τοποθετούνται σε φάκελο, ανάμεσα σε δύο σκληρά χαρτόνια, για να μην τσακιστούν στη μεταφορά. Οι τίτλοι των εικόνων πρέπει να αναγράφονται με τον αριθμό που αντιστοιχεί στην εικόνα, σε χωριστό χαρτί. Επεξηγήσεις σχετικές με τις εικόνες μπορούν να αναφερθούν στον τίτλο. Για το μέγεθος των εικόνων, συμβουλευθείτε το σχήμα του περιοδικού. Εφόσον χρησιμοποιούνται φωτογραφίες ασθενών, το πρόσωπο δεν πρέπει να φαίνεται. Στην αντίθετη περίπτωση, επιβάλλεται έγγραφη συγκατάθεση του ασθενούς για τη δημοσίευση της φωτογραφίας. Όλες οι εικόνες αναφέρονται στο κείμενο και αριθμούνται με αραβικούς αριθμούς.

**Ονοματολογία και μονάδες μέτρησης:** Προκειμένου για την επιλογή των όρων και των ονομάτων (ουσιών, οντοτήτων, οργανισμών, νοσημάτων κ.λπ.), κρίνεται σκόπιμο οι συγγραφείς να συμβουλευτούν το Λεξιλόγιο Βιοϊατρικής Ορολογίας, MeSH-EΛΛΑΣ. Έκδοση ΙΑΤΡΟΤΕΚ, Αθήνα, 1991. Οι συγγραφείς πρέπει να χρησιμοποιούν τους παγκοσμίως παραδεκτούς τίτλους και τις μονάδες μετρήσεων του SI. Για λεπτομέρειες, βλέπε *ΙΑΤΡΙΚΗ* 1980, 37:139.

**Διόρθωση τυπογραφικών δοκιμών:** Πραγματοποιείται μία φορά από τους συγγραφείς. Εκτεταμένες μεταβολές δεν γίνονται δεκτές.

**Ανάτυπα:** Απαγορεύεται η φωτοτυπική αναπαραγωγή των δημοσιευμένων εργασιών. Η προμήθεια από τους συγγραφείς ανατύπων γίνεται αποκλειστικά από την εκδοτική εταιρεία ΒΗΤΑ. Οι συγγραφείς επιβαρύνονται με το κόστος τους. Τα ανάτυπα παραγγέλλονται κατά τη διόρθωση των δοκιμών.

Χειρόγραφα εργασιών τα οποία δημοσιεύονται, δεν επιστρέφονται στους συγγραφείς.

**Για όλες τις δημοσιευόμενες εργασίες, εκτός των Άρθρων Σύntαξης, οι συγγραφείς θα καταβάλουν το ποσό των 50,00 ευρώ (για κάθε εργασία), για την κάλυψη των εξόδων διεκπεραίωσης και τεκμηρίωσης αυτών στις Ιατρικές Βάσεις Δεδομένων. Το ποσό θα καταβάλλεται με την υποβολή του τελικού εγκεκριμένου και διορθωμένου κειμένου στην ΕΙΣ.**

The medical journal IATRIKI, edited by the Society for Medical Studies, aims at the continuous education of doctors. To this purpose it is looking to promote scientific papers dealing with pathogenesis, diagnosis and treatment by publishing the following sections:

**1. Editorials:** Brief review articles on current and/or ambiguous topics, written after invitation of the Editorial Board. When expressing views of the Editorial Board, they are anonymous. Three key-words should be listed.

**2. Reviews:** Detailed surveys of medical subjects with the emphasis on current points of view, written by no more than three authors.

**3. Original papers:** Reports on clinical trials or experimental work and epidemiological prospective or retrospective research, based on a research protocol described in detail in the methodology section. The results of the study should not have been previously published (except in abstract form). IATRIKI is a general medical journal. Therefore, the editorial board has the right to reject papers with very limited general interest, suitable only to specialized medical journals. Clinical and epidemiological studies with particular interest to Greek healthcare workers will be given priority. Quite exceptionally original papers published in distinguished foreign journals by Greek doctors especially when their results are relevant for the Greek medical community can be republished in IATRIKI after been approved by the Editorial Board. These papers must be translated by the authors, who also have to obtain written permission by the copyright owners.

**4. Clinical points of view:** A diagnostic, therapeutic or epidemiological approach to several pathologic conditions; the data for and against should be in algorithmic form.

**5. Clinicopathological conferences (CPC):** They are published after invitation of the Editorial Board to the organizers of the fixed CPCs that take place in the big hospitals. The doctors presenting the case (both clinicians and laboratory), the discussant and the organizers must all agree to the publication. The text submitted should not be a mere transcription of a tape recording. In particular, the discussion should be supported by references, according to the respective guidelines. The Editorial Board retains the right to submit the text to peer review. The name of the clinic or hospital that organizes the CPC, the name of the department that presents the case, the name(s) of the doctor(s) that present the case (up to two names), the name of the discussant and the names of the clinicians or laboratory doctors that contributed to the diagnosis must be cited in order of presentation. The indexing and reference of the CPC is done by issue number of the journal and year of publication. Names are not cited. To help more efficient search of a CPC, a brief title should be used, e.g. Hepatosplenomegaly and pancytopenia in a patient with fever. *IATRIKI* 1996, 70:151–156. The text may also contain questions made by the audience.

**6. Annotations:** Brief reviews of the most recent concepts of a particular subject.

**7. Case reports:** Reports on new or very rare diseases, new diagnostic criteria or new therapeutic methods with proven results. Up to six authors may sign the paper.

**8. General articles,** related to the life sciences, but not relevant to any of the other categories. They should also be signed by up to two authors.

**9. Images in clinical practice:** 1–2 photographs of good quality accompanied by a brief explanatory text (150 words) of cases with a special clinical (diagnostic or therapeutic) interest. They should have a brief title and be signed by up to three authors. Three key-words should be listed.

#### 10. Seminars, round tables.

**11. Book presentation:** They should refer to the title of the book, the authors' name(s), the number of pages, the name of the publisher, the date and the place of publication and the price.

**12. Correspondence:** Letters containing comments on papers published in the journal, preliminary results, remarks about untoward effects of drugs, judgements concerning the journal etc. They must be signed.

**Previous or duplicate publication:** Papers submitted to IATRIKI are judged for publication on the condition that the results or the paper itself have not been previously published or submitted for publication in another journal. An exception to this rule is the final research results that have been published in preliminary or abstract form. If the paper has been submitted to another journal or if it has been already published in any form, in part or in all, the author(s) must mention this fact in the cover letter. In

the last case, the author(s) must also submit copies of these previous publications to the editors to judge if the conditions for publication are met.

**Submission of papers:** All papers in order to be accepted must be in Greek. All manuscripts must be accompanied by a letter, signed by the author responsible for correspondence. This cover letter must include a statement indicating that the manuscript has been approved by all authors signing it. And that copyright is transferred to the journal. In case of submission of an original paper been already published in a foreign journal, it must be clearly stated that the authors have obtained the written permission of the copyright owners, a copy of which must be attached.

All papers published in IATRIKI are owned by the journal and are not allowed to be republished without the written consent of the Executive Editor. All papers are submitted in three copies (including figures, tables, graphs, icons etc.), one in full form and two without any identification of authors or centres in which they work, and electronically in diskette or CD.

The final revised text will be resubmitted in two full copies and electronically in a 3/4 diskette in ASCII form in the following address: IATRIKI, the Executive Editor, 76 Sevastoupoleos str, 115 26 Athens, Greece.

**Length of the articles:** Review articles must not exceed 6,000 words. However, the Editorial Board may allow the publication of longer reviews upon judgement. Original papers should be shorter, generally not exceeding 3,000 words. Clinical points of view must not exceed 1,500 words, current issues editorials, case reports 1000 words and letters to the Editor 400 words.

**Assembling a manuscript:** IATRIKI has agreed to conform to the Uniform Requirements for Manuscripts submitted to Biomedical Journals (Vancouver System) and its guidelines for authors are in accordance to the above requirements.

Papers must be typed double-space in white paper of the usual dimensions (ISO A4 210×297 mm), with margins of at least 3.5 cm. A separate page must be used for the title, the abstract and keywords, the main text, the acknowledgements, the references, the tables, the figures and the figure legends. All pages must be numbered starting with the title page.

**Title page:** It contains (a) the title of the article, which must be brief (up to 12 words), (b) running title up to 50 characters, (c) name and position of the author(s), (d) institutional affiliation of each author, (e) name, address, telephone number, fax number of the author responsible for correspondence, (f) sources of financial or other support, (g) names(s) of person(s) eventually disapproving the paper.

**Abstract and key words:** Abstracts are limited to 200 words with the exception of current issues and case reports whose length is limited to 150 words. The abstracts of the reviews must be descriptive, mentioning all chapters contained and the main conclusions in the form of a table of contents with a short analysis. Abstracts for the original papers, should be structured into four paragraphs, under the following captions: Aim, Material or Patients and Methods, Results, Conclusions. In the same page, 3–10 key-words should be listed, chosen from the *MeSH* terms of *Index Medicus*.

**Text:** Original papers usually contain the following chapters: Introduction, Material or Patients and Methods, Results, Discussion. The introduction contains the background and the necessary references and cites the objective of the study.

The study protocol must be thoroughly described in the methodology section. Details such as the mode of patient or material selection, as well as the methodology applied must be fully disclosed in order that the research may be reproduced by future investigators. In the case of research related to human beings it must be stated that the research was performed according to the principles of the Declaration of Helsinki (1975). The pharmaceutical substances used must be mentioned by their generic names. In the same chapter the data evaluated must be described and the chapter should be completed by an analysis of the statistical criteria used.

In the next chapter the results should be presented fully but briefly. Results shown in tables should not be repeated in the text.

In the Discussion, the perspectives opened up by the results of the study as well as the final conclusions are discussed. The results must not be repeated in this section. A comparison with the results of other similar studies may be done. The results may also be related to the objectives of the study but it is advisable to avoid arbitrary conclusions, not emerging from the results themselves.

**Acknowledgements:** They are addressed only to persons who have contributed substantially.

The text of the other types of articles is structured according to the author's aims and needs. In the case reports, an introduction precedes the description of the case and the discussion.

**References:** They are numbered in the order in which they are first cited in the text. If author names are cited in the text, first author's surname is followed by et al. If there are only two authors, place an "and" between the two surnames.

All references cited in the text –and those only– must be shown in the reference section.

The number of references must be limited to those absolutely necessary. Reviews must have no more than 100 references, current issues and editorials up to 10 articles or monographs considered by the author to be necessary for complete information on the subject, and letters to the Editor up to 5 references. The reference section is organized numerically based on the consecutive numbers and order of references in the text. Cite the surnames and initials of all authors up to three (if more, add et al after the third), the title of the article, the abbreviation of journal title, the year, volume, first and last page of the publication; e.g. *You CH, Lee KY, Chey WY et al. Electrogastrographic study of patients with unexplained nausea. Gastroenterology 1980, 79:311–314.* In case that no author name is given, cite Anonymous; e.g. Anonymous. *Coffee drinking and cancer of the pancreas (Editorial). Br Med J 1981, 283:628.* References of papers published in supplements, must also note the number of supplement in parenthesis after the volume, e.g. *Blood 1996, 54(Suppl 1):26.* The abbreviations of journal titles must be compatible to Index Medicus. No full stops are placed after author acronyms and journal abbreviations. For books or monographs, list the surnames and initials of the authors, the title, and the number of edition, the editor, and the town of edition, the year and the pages cited. For chapter in a book, the reference must be written as follows: *Papavasiliou ITh. Protozoa. In: Pathogen fungi and parasites. BETA, Athens, 1983:67–113.*

If the reference consists of chapter in a book written by another author, it must be written as follows: *Weinstein I, Swartz MN. Pathogenic properties of invading microorganisms. In: Seodeman WA (ed, or eds) Pathologic Physiology. Saunders, Philadelphia, 1987:457–472.*

Unpublished material as well as personal communications should not be used as references, whereas articles accepted for publication but not yet published may be included. In this last case after the journal title abbreviation there should be an indication "to be published". Citation of Greek references is mandatory. Greek literature can be sought at the Data Base of the Greek Medical Literature (IATROTEK), [www.iatrotek.org](http://www.iatrotek.org).

**Abstract in English:** It must include the title, the names of the authors and the institutional affiliation of each author. Otherwise it has to be constructed in the same way as the Greek one. It is important that the quality of the English abstract must be excellent, because it is a major criterion for the acceptance of the journal in the international lists of Biomedical journals.

**Chapter numbering in reviews and current issues:** All chapters must be numbered with Arabic numbers 1, 2, 3 etc. Subchapters should have the number of the initial chapter, point and the number of the subchapter, e.g. 1.1., 1.2. or 1.1.1., 1.2.1. etc.

**Tables:** They are typed double-space, in a separate page. They are numbered by the order they appear in the text, with Arabic numbers. They should have a brief, comprehensive explanation so that the reader need not turn to the text. Each column must have a brief explanatory heading. Explanations of the abbreviations should be made at the bottom of the table.

**Figures:** The figures professionally drawn in china ink or prepared using a computer and high resolution printer and the photographs, must be the original ones, to facilitate immediate photographic reproduction and printing. Indicate by pencil on the back the number of the figure, its top (with an arrow) and running title of paper. They must be placed in an envelope between two sheets of cardboard to prevent wrinkling. Legends for figures must be written in a separate page and have the number of the corresponding figure. Explanations concerning the figures may be cited in the legend. Consult the format of the journal for the size of the figures. If photographs of patients are used, make sure that their face is not shown. In the opposite case, a written consent of the patient allowing the photograph to be published should accompany the figure. All figures must be mentioned in the text and be numbered with Arabic numbers.

**Terms and units of measurement:** The authors must use the universally accepted terms and the SI units of measurement. For details see IATRIKI 1980, 37:139. For the choice of terms and names (of substances, entities, organizations, diseases etc.) please consult the MeSH of Index Medicus.

**Review of proofs:** It is done once by the authors. Major alterations are not accepted.

**Reprints:** Photocopy reproduction of published papers is not allowed. Authors can order reprints directly to the publishing company BETA medical arts, at the time of the proof's review and they are charged for their cost.

The manuscripts of the published papers are not returned to the authors.