



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**



ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ (ΠΜΣ)

**"Μεθοδολογία Βιοϊατρικής Έρευνας, Βιοστατιστική και Κλινική
Βιοπληροφορική"**

Διπλωματική εργασία

Δημιουργία πρωτοκόλλου προοπτικής μελέτης με θέμα «Αξιολόγηση της μικροκυκλοφορίας με τη χρήση βιοδεικτών, πριν και μετά τη μεταμόσχευση νεφρού σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη: πρωτόκολλο προοπτικής μελέτης».

Καρκαμάνη Ελένη

Ειδικευόμενη Ιατρός Νεφρολογίας

Μεταπτυχιακή Φοιτήτρια Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

ΑΜ: 00389

Τριμελής Επιτροπή:

Στεφανίδης Ιωάννης, Δοξάνη Χρυσούλα, Ηλίας Ζιντζαράς

Λάρισα, Σεπτέμβριος 2025



**UNIVERSITY OF THESSALY
SCHOOL OF HEALTH SCIENCES
FACULTY OF MEDICINE**



POSTGRADUATE PROGRAMME (MSc)

**«Research Methodology in Biomedicine, Biostatistics and Clinical
Bioinformatics at University of Thessaly»**

Diploma Dissertation

Protocol for a prospective study entitled: “Assessment of microcirculation using biomarkers, before and after kidney transplantation in patients with diabetes mellitus: a prospective study protocol”.

Karkamani Eleni

Resident Doctor of Nephrology

MSc Student of University of Thessaly

ID number: 00389

Board members:

Stefanidis Ioannis, Doxani Chrysoula, Ilias Zintzaras

Larisa, September 2025

Πρόλογος

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στα πλαίσια του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών (ΠΜΣ) «Μεθοδολογία Βιοϊατρικής Έρευνας, Βιοστατιστική και Κλινική Βιοπληροφορική» και πραγματεύεται την συγγραφή ενός πρωτοκόλλου για τη διενέργεια μιας προοπτικής μελέτης παρατήρησης με θέμα την αξιολόγηση της μικροκυκλοφορίας με τη χρήση βιοδεικτών, πριν και μετά τη μεταμόσχευση νεφρού σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη.

Με την ολοκλήρωση της παρούσας εργασίας ολοκληρώνεται και ένα σημαντικό κεφάλαιο της ακαδημαϊκής μου πορείας, αυτό των μεταπτυχιακών σπουδών. Η εμπειρία αυτή αποδείχθηκε καθοριστική, καθώς συνέβαλε ουσιαστικά στην επιστημονική μου εξέλιξη και μου προσέφερε εφόδια που θα με συνοδεύουν στη μελλοντική μου πορεία. Θα ήθελα να εκφράσω τις θερμότερες ευχαριστίες μου προς τα μέλη της τριμελούς επιτροπής για τη συνεχή στήριξη, την πολύτιμη καθοδήγηση και τις καίριες επισημάνσεις τους, οι οποίες συνέβαλαν ουσιαστικά στη διαμόρφωση της εργασίας αυτής. Παράλληλα, νιώθω την ανάγκη να ευχαριστήσω την οικογένειά μου, που στάθηκε ακούραστα στο πλευρό μου παρέχοντας αγάπη, κατανόηση και δύναμη, καθώς και τους φίλους μου, οι οποίοι με ενθάρρυναν και με στήριζαν με εμπιστοσύνη καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών μου.

Λάρισα, Σεπτέμβριος 2025

Περιεχόμενα

<u>1.Περίληψη</u>	6
<u>Abstract</u>	7
<u>2.Εισαγωγή</u>	8
<u>2.1.Επιστημονικό υπόβαθρο και Αναδρομή</u>	8
<u>2.1.1.Χρόνια Νεφρική Νόσος</u>	8
<u>2.1.2. Σακχαρώδης Διαβήτης και Χρόνια Νεφρική Νόσος</u>	8
<u>2.1.3.Μεταμόσχευση νεφρού</u>	9
<u>2.2.Μέθοδοι αξιολόγησης μικροκυκλοφορίας</u>	10
<u>3.Σκοπός μελέτης</u>	12
<u>3.1.Πρωτεύοντες σκοποί</u>	12
<u>3.2.Δευτερεύοντες σκοποί</u>	12
<u>3.3.Τριτεύοντες σκοποί</u>	12
<u>4.Πληθυσμός μελέτης</u>	14
<u>4.1.Λεξαμενή ασθενών</u>	14
<u>4.2.Κριτήρια εισαγωγής</u>	14
<u>4.3.Κριτήρια αποκλεισμού</u>	14
<u>5. Σχεδιασμός της μελέτης</u>	15
<u>5.1.Καταλληλότητα ασθενών</u>	15
<u>5.2.Έγγραφη συναίνεση κατόπιν ενημέρωσης</u>	15
<u>5.3. Επίσκεψη Διαλογής - Αξιολόγηση</u>	15
<u>5.4.Επίσκεψη 1</u>	15
<u>5.5.Επίσκεψη 2</u>	16
<u>5.5.Επίσκεψη 3</u>	16
<u>5.5.Επίσκεψη 4</u>	16
<u>5.5.Επίσκεψη 5</u>	16
<u>5.6.Πρόωρη Αποχώρηση Συμμετεχόντων</u>	17
<u>5.7.Τέλος Μελέτης</u>	17
<u>6.Στατιστική Ανάλυση</u>	18
<u>6.1.Καταληκτικά Σημεία</u>	18
<u>6.1.1.Πρωτεύον καταληκτικό σημείο</u>	18

<u>6.1.2.Δευτερεύοντα καταληκτικά σημεία:</u>	18
<u>6.2.Καθορισμός Μεγέθους Δείγματος</u>	18
<u>6.3.Ανάλυση Δεδομένων</u>	19
<u>7.Δεοντολογικά ζητήματα</u>	20
<u>8.Πολιτική Δημοσιοποίησης</u>	21
<u>9.Χρηματοδότηση</u>	22
<u>Βιβλιογραφικές Αναφορές</u>	23

1.Περίληψη

Η χρόνια νεφρική νόσος (XNN) και ο σακχαρώδης διαβήτης (ΣΔ) συνδέονται με αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο και μικροαγγειακή δυσλειτουργία, ενώ η μεταμόσχευση νεφρού αποτελεί την πιο αποτελεσματική θεραπεία για ασθενείς με XNN τελικού σταδίου. Υπάρχουν πολλές μέθοδοι εκτίμησης της ενδοθηλιακής λειτουργίας και της μικροκυκλοφορίας, τόσο λειτουργικές τεχνικές (μη επεμβατικές μετρήσεις μικροαγγειακής ροής) όσο και βιοχημικοί δείκτες στον ορό, οι οποίοι χρησιμοποιούνται ολοένα και περισσότερο σε πρόσφατες μελέτες για την αξιολόγηση της ενδοθηλιακής αποκατάστασης. Στο πλαίσιο της παρούσας μελέτης, οι δείκτες που θα χρησιμοποιηθούν είναι το Perfused Boundary Region (PBR) για τη μέτρηση του πάχους του γλυκοκάλυκα, καθώς και τα syndecan-1 και υαλουρονικό οξύ στο πλάσμα ως δείκτες βλάβης του ενδοθηλίου. Η μελέτη έχει στόχο την αξιολόγηση της δυναμικής αυτών των δεικτών σε λήπτες νεφρικού μοσχεύματος από ζώντα δότη, πριν και μετά τη μεταμόσχευση, σε πέντε χρονικά σημεία (1 μήνα πριν και 1, 3, 6, 12 μήνες μετά). Δευτερεύοντες σκοποί περιλαμβάνουν την επίδραση της παρουσίας ή απουσίας ΣΔ, τη συσχέτιση των δεικτών γλυκοκάλυκα με λευκωματουρία 24ώρου, και τη λειτουργία του μοσχεύματος (eGFR, κρεατινίνη, επεισόδια απόρριψης). Η μελέτη αναμένεται να προσφέρει νέες γνώσεις για την αποκατάσταση της ενδοθηλιακής λειτουργίας και της μικροκυκλοφορίας μετά τη μεταμόσχευση, με στόχο τη βελτίωση της καρδιαγγειακής και νεφρικής πρόγνωσης στους ασθενείς, ειδικότερα σε εκείνους με ΣΔ.

Λέξεις-κλειδιά: μεταμόσχευση νεφρού, σακχαρώδης διαβήτης, ενδοθηλιακός γλυκοκάλυκας, syndecan, ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, βιοδείκτες

Abstract

Chronic kidney disease (CKD) and diabetes mellitus (DM) are associated with increased cardiovascular risk and microvascular dysfunction, while kidney transplantation represents the most effective treatment for patients with end-stage CKD. There are numerous methods for assessing endothelial function and microcirculation, including functional techniques (non-invasive measurements of microvascular flow) and biochemical serum markers, which are increasingly used in recent studies to evaluate endothelial dysfunction. In this study, we will assess the Perfused Boundary Region (PBR) to measure glycocalyx thickness, along with plasma syndecan-1 and hyaluronic acid as markers of endothelial injury. This study protocol aims to assess the dynamics of these markers in kidney transplant recipients from living donors, before and after transplantation, at five time points (1 month before, and 1, 3, 6, and 12 months after transplantation). Secondary objectives include the impact of the presence or absence of DM, the correlation of glycocalyx markers with 24-hour albuminuria, and graft function (eGFR, creatinine, rejection episodes). The study is expected to provide new insights into endothelial function and microcirculation restoration after transplantation, aiming to improve cardiovascular and renal prognosis in patients, particularly those with DM.

Key words: kidney transplantation, diabetes mellitus, endothelial glycocalyx, syndecan, endothelial dysfunction, biomarkers

2.Εισαγωγή

2.1.Επιστημονικό υπόβαθρο και Αναδρομή

2.1.1.Χρόνια Νεφρική Νόσος

Η χρόνια νεφρική νόσος (XNN) αποτελεί ένα από τα σοβαρότερα προβλήματα δημόσιας υγείας παγκοσμίως, με επιπολασμό που κυμαίνεται μεταξύ 10-13% [1] στον γενικό πληθυσμό και αριθμό ασθενών που ξεπερνά τα 840 εκατομμύρια [2]. Η νόσος χαρακτηρίζεται από την εμμένουσα παρουσία δομικής ή/και λειτουργικής βλάβης του νεφρού για διάστημα μεγαλύτερο των τριών μηνών. Η διάγνωση βασίζεται κυρίως στη μείωση του εκτιμώμενου ρυθμού σπειραματικής διήθησης (eGFR <60ml/min/1,73m²), καθώς και σε ενδείξεις νεφρικής βλάβης, όπως λευκωματουρία, παθολογικά ευρήματα στα ούρα, ιστολογικές αλλοιώσεις του νεφρικού παρεγχύματος ή απεικονιστικές διαταραχές [3]. Για την ταξινόμηση της XNN, διεθνώς χρησιμοποιούνται οι κατευθυντήριες οδηγίες των KDIGO, οι οποίες κατανέμουν τη νόσο σε πέντε στάδια (G1–G5) με βάση την τιμή του eGFR. Παράλληλα, λαμβάνεται υπόψη και το επίπεδο λευκωματουρίας (A1–A3), καθώς η παρουσία της αποτελεί ανεξάρτητο δείκτη εξέλιξης της νόσου αλλά και σημαντικό προγνωστικό παράγοντα καρδιαγγειακού κινδύνου [3].

Η XNN δεν περιορίζεται σε μια «τοπική» νεφρική βλάβη αλλά αποτελεί μια συστηματική νόσο με επιπτώσεις σε πολλά επίπεδα. Πιο συγκεκριμένα, συνδέεται στενά με αυξημένη νοσηρότητα και θνητότητα, με κυριότερη αιτία θανάτου την καρδιαγγειακή νόσο [4–7]. Μάλιστα, σε προχωρημένα στάδια, περισσότερο από το 50% των θανάτων οφείλεται σε μείζονα καρδιαγγειακά συμβάματα [8]. Ο καρδιαγγειακός κίνδυνος αυξάνει προοδευτικά με την εξέλιξη της νόσου και κορυφώνεται στο τελικό στάδιο (XNN-ΤΣ) [9], όπου οι ασθενείς υπό αιμοκάθαρση εμφανίζουν έως και 10–20 φορές υψηλότερη συνολική και καρδιαγγειακή θνησιμότητα σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό [10]. Η αιτιολογία αυτού του βεβαρημένου καρδιαγγειακού «προφίλ» είναι πολυπαραγοντική. Οι υπεύθυνοι μηχανισμοί περιλαμβάνουν τους κλασικούς παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου (αρτηριακή υπέρταση, σακχαρώδης διαβήτης, δυσλιπιδαιμία, κάπνισμα, παχυσαρκία, άρρεν φύλο κτλ.) αλλά και τους μη κλασικούς, ειδικούς όμως για τη XNN (χρόνια φλεγμονή, ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, χρόνια αναιμία, διαταραχές μεταβολισμού ασβεστίου-φωσφόρου, αρτηριακή σκληρία, υπερφόρτωση όγκου, λευκωματουρία, υπερδιέγερση του συστήματος ρενίνης-αγγειοτενσίνης-αλδοστερόνης, δυσλειτουργία του αυτόνομου νευρικού συστήματος κλπ.). Η συνύπαρξη και αλληλεπίδραση όλων αυτών των μηχανισμών καθιστούν τους ασθενείς με XNN έναν από τους πιο ευάλωτους πληθυσμούς σε ό,τι αφορά τον καρδιαγγειακό κίνδυνο [6,7].

2.1.2. Σακχαρώδης Διαβήτης και Χρόνια Νεφρική Νόσος

Ο σακχαρώδης διαβήτης (ΣΔ) αποτελεί μια από τις πιο σημαντικές και συνεχώς αυξανόμενες παγκόσμιες προκλήσεις δημόσιας υγείας. Η επιδημιολογική του πορεία τις τελευταίες δεκαετίες είναι ενδεικτική: από το 1980 έως τις αρχές του 21ου αιώνα, η επίπτωσή του σχεδόν τετραπλασιάστηκε, εξαιτίας της παχυσαρκίας, της σύγχρονης καθιστικής ζωής και της αύξησης του μέσου όρου ζωής [11]. Πιο συγκεκριμένα, ο αριθμός των ατόμων με διάγνωση διαβήτη παγκοσμίως υπολογίστηκε σε 415 εκατομμύρια το 2015, με την πλειοψηφία να αφορά ΣΔ τύπου 2, ενώ οι προβλέψεις δείχνουν πως ο αριθμός αυτός πιθανό να ξεπεράσει τα 640

εκατομμύρια έως το 2040 [12]. Παράλληλα, εκατοντάδες εκατομμύρια άνθρωποι βρίσκονται σε προ-διαβητικό στάδιο. Το γεγονός που καταδεικνύει την κρισιμότητα της έγκαιρης παρέμβασης με αλλαγές στον τρόπο ζωής, συμπεριλαμβανομένου της διατροφής, σε συνδυασμό με κατάλληλη φαρμακευτική αγωγή [13].

Ο ΣΔ τύπου 1 είναι μια αυτοάνοση νόσος που οφείλεται στην καταστροφή των παγκρεατικών β-κυττάρων, με αποτέλεσμα την απόλυτη έλλειψη ινσουλίνης. Αντίθετα, ο ΣΔ τύπου 2 χαρακτηρίζεται από αντίσταση στην ινσουλίνη, υπερινσουλιναιμία και σταδιακή δυσλειτουργία των β-κυττάρων, με προοδευτική απώλεια της ικανότητας παραγωγής ινσουλίνης [14]. Πολλαπλά όργανα και συστήματα εμπλέκονται στην παθογένειά του, όπως το ήπαρ, οι σκελετικοί μύες και οι νεφροί, ενώ η υπεργλυκαιμία οδηγεί σε μικροαγγειακές και μακροαγγειακές επιπλοκές. Σημαντικοί παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί που συνδέονται με τις επιπλοκές του ΣΔ περιλαμβάνουν την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, και τον σχηματισμό τελικών προϊόντων προχωρημένης γλυκοζυλίωσης (AGEs), την υπερπηκτικότητα, την αυξημένη δραστηριότητα των αιμοπεταλίων. Οι μηχανισμοί αυτοί συμβάλλουν τόσο στην εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου όσο και στη νεφρική βλάβη [14,15].

Η ΧΝΝ αποτελεί μια από τις συχνότερες και σοβαρότερες επιπλοκές του ΣΔ τύπου 2, επηρεάζοντας έως και το 50% των ασθενών παγκοσμίως [16]. Κλινικά, η διαβητική νεφροπάθεια εκδηλώνεται με επίμονη λευκωματουρία, προοδευτική μείωση του ρυθμού σπειραματικής διήθησης και συχνά οδηγεί σε νεφρική ανεπάρκεια τελικού σταδίου [17,18]. Στην παθογένεια της νόσου εμπλέκονται η σπειραματική υπερδιήθηση και η αγγειοδιαστολή του προσαγωγού αρτηριδίου, καθώς και μορφολογικές αλλοιώσεις, όπως η σπειραματοσκλήρυνση και η μεσαγγειακή υπερπλασία. Επίσης, οι διαταραχές των ποδοκυττάρων και η τριχοειδική ερήμωση οδηγούν σε απώλεια λειτουργικού νεφρικού ιστού και προοδευτική μείωση της νεφρικής λειτουργίας. Τέλος, αξίζει να αναφερθεί ότι ο ΣΔ και η ΧΝΝ συνδυαστικά αυξάνουν εκθετικά τον καρδιαγγειακό κίνδυνο, καθιστώντας την πρόληψη και έγκαιρη αντιμετώπιση κρίσιμη για τη βελτίωση της πρόγνωσης των ασθενών [19].

2.1.3.Μεταμόσχευση νεφρού

Η μεταμόσχευση νεφρού αποτελεί την πλέον αποτελεσματική θεραπευτική επιλογή για ασθενείς με ΧΝΝ-ΤΣ, βελτιώνοντας σημαντικά τόσο την επιβίωση όσο και την ποιότητα ζωής [20,21]. Οι λήπτες νεφρικού μοσχεύματος εμφανίζουν σημαντικά χαμηλότερο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών συμβαμάτων σε σύγκριση με τους ασθενείς που υποβάλλονται σε χρόνια αιμοκάθαρση [22]. Ωστόσο, ο κίνδυνος καρδιαγγειακού θανάτου στους λήπτες νεφρικού μοσχεύματος παραμένει σημαντικά αυξημένος σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό, λόγω της συνεργικής δράσης τόσο παραδοσιακών (όπως η υπέρταση, ο σακχαρώδης διαβήτης, η ηλικία κ.ά.) όσο και μη παραδοσιακών παραγόντων κινδύνου [21,23]. Παράλληλα, οι μη-κλασικοί παράγοντες κινδύνου πέρα από τους σχετικούς με την ΧΝΝ παράγοντες (βλ. παραπάνω), περιλαμβάνουν παράγοντες σχετικούς με την μεταμόσχευση, όπως είναι οι ανεπιθύμητες δράσεις της μακροχρόνιας ανοσοκατασταλτικής αγωγής (κυρίως αναστολέων της καλσινευρίνης και κορτικοστεροειδών), η εκτεταμένη φλεγμονή μετά τη μεταμόσχευση, η απόρριψη και η χρόνια νεφροπάθεια του μοσχεύματος [24]. Μεταξύ των μη παραδοσιακών παραγόντων, η αγγειακή δυσλειτουργία, η οποία περιλαμβάνει τόσο την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία όσο και την αρτηριακή σκληρία, έχει αναδειχθεί τα τελευταία χρόνια ως σημαντικός παθογενετικός μηχανισμός. Νεότερες μελέτες έχουν επίσης αναδείξει τη δυνατότητα βελτίωσης της ενδοθηλιακής λειτουργίας ως ένα ακόμη πιθανό όφελος της μεταμόσχευσης νεφρού [25].

2.2. Μέθοδοι αξιολόγησης μικροκυκλοφορίας

Η διαταραχή της μικροκυκλοφορίας θεωρείται κρίσιμη στην ανάπτυξη και εξέλιξη τόσο της καρδιαγγειακής, όσο και της νεφρικής νόσου και σχετίζεται με αυξημένη θνητότητα. Οι μικροαγγειακές διαταραχές συχνά συνυπάρχουν ή και προηγούνται της μακροαγγειακής νόσου, πιθανώς λόγω κοινών μηχανισμών αγγειακής βλάβης, όπως είναι οι φλεγμονώδεις διεργασίες και το οξειδωτικό στρες. Μία από τις πρώτες εκδηλώσεις της διαταραχής της μικροκυκλοφορίας αποτελεί η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία [26]. Τα τελευταία χρόνια έχουν καταβληθεί σημαντικές προσπάθειες για την ανάπτυξη αξιόπιστων, πρακτικών, με δυνατότητα επαναληψιμότητας και εύχρηστων μεθόδων εκτίμησης της ενδοθηλιακής λειτουργίας τόσο στο μικροαγγειακό όσο και στο μακροαγγειακό δίκτυο του ανθρώπινου οργανισμού [27–30]. Αρχικά, η πληθυσμογραφία μετά από φλεβική συμφόρηση (venous occlusion plethysmography - VOP) αποτέλεσε τη «μέθοδος αναφοράς» για την αξιολόγηση της ενδοθηλιακής λειτουργίας, ωστόσο, τα τελευταία χρόνια η μέτρηση της επαγόμενης από τη ροή διαστολής (flow-mediated dilatation - FMD) του αντιβραχίου έχει καθιερωθεί ως η συχνότερα χρησιμοποιούμενη μέθοδος στη κλινική έρευνα [28]. Παράλληλα, νέες μη επεμβατικές λειτουργικές τεχνικές, όπως η φασματοσκοπία πλησίον του υπέρυθρου φωτός (near-infrared spectroscopy - NIRS), η τριχοειδοσκόπηση δέρματος/όνυχος (nailfold capillaroscopy), η τεχνική απεικόνιση αντίθεσης λέιζερ (Laser Speckle Contrast Analysis- LASCA), καθώς και η μέτρηση διαφόρων βιοδεικτών, κερδίζουν ολοένα και περισσότερο έδαφος [31].

Τα τελευταία χρόνια έχουν χρησιμοποιηθεί αρκετοί βιοδείκτες για τη μελέτη διαφόρων πτυχών της λειτουργίας των ενδοθηλιακών κυττάρων σε κλινικές μελέτες σε ανθρώπους, συμπεριλαμβανομένων και των ληπτών νεφρικού μοσχεύματος, όπως είναι η ασύμμετρη διμεθυλαργινίνη (ADMA), η αδιπονεκτίνη (ADPN), η φετουΐνη A, ο παράγοντας επαγωγής απόπτωσης (sTWEAK), η ενδοκάνη (Endocan), τα ενδοθηλιακά μικροσωματίδια (EMPs), τα κυκλοφορούντα ενδοθηλιακά κύτταρα (CECs) και τα πρόδρομα ενδοθηλιακά κύτταρα (EPCs). Η ADMA αποτελεί ισχυρό ενδογενή αναστολέα της σύνθεσης του μονοξειδίου του αζώτου και συνδέεται με την αθηροσκλήρωση, την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο, ενώ τα επίπεδά της μειώνονται μετά τη μεταμόσχευση νεφρού [32]. Η ADPN, που έχει αντιφλεγμονώδεις και αντι-αθηρογόνες ιδιότητες, παρουσιάζει μείωση μετά τη μεταμόσχευση, πιθανώς αντανakλώντας βελτίωση της αγγειακής λειτουργίας [33]. Επιπροσθέτως, η φετουΐνη A, αναστολέας της αγγειακής επασβέστωσης, αυξάνεται μετά τη μεταμόσχευση και σχετίζεται με βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας [34]. Ο sTWEAK, που μειώνεται με την επιδείνωση της νεφρικής λειτουργίας, ομαλοποιείται μετά τη μεταμόσχευση και σχετίζεται με βελτίωση της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας [35]. Η Endocan αυξάνεται σε καταστάσεις φλεγμονής, απόρριψης μοσχεύματος ή υπέρτασης και τα επίπεδά της σχετίζονται με δείκτες νεφρικής λειτουργίας [36]. Τα EMPs, δείκτες ενδοθηλιακής βλάβης, εμφανίζουν μεικτές τάσεις μετά τη μεταμόσχευση, με ορισμένες μελέτες να δείχνουν σταδιακή μείωση [37]. Τα CECs, που αντανakλούν τον βαθμό αγγειακής βλάβης, μειώνονται μετά τη μεταμόσχευση αλλά παραμένουν υψηλότερα από τους υγιείς μάρτυρες και συνδέονται με οξεία απόρριψη [38]. Τέλος, τα EPCs, που αντικατοπτρίζουν τη δυνατότητα αποκατάστασης του ενδοθηλίου, παραμένουν χαμηλότερα στους λήπτες μοσχεύματος σε σχέση με τους υγιείς, αλλά είναι υψηλότερα από τους ασθενείς με χρόνια νεφρική νόσο και σχετίζονται με τη λειτουργία του μοσχεύματος [39].

Ο ενδοθηλιακός γλυκοκάλυκας, ένα δίκτυο γλυκοπρωτεϊνών και γλυκολιπιδίων που καλύπτει την εσωτερική επιφάνεια των αγγείων, αποτελεί θεμελιώδη δομή του αγγειακού τοιχώματος, λειτουργώντας ως προστατευτικό φράγμα και ρυθμιστής της διατμητικής τάσης που διεγείρει την παραγωγή μονοξειδίου του αζώτου [28,40]. Η βλάβη ή η λεπυνσή του έχει

συσχετιστεί με ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, αγγειακή φλεγμονή και αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο [27]. Η εκτίμηση της ακεραιότητάς του μπορεί να πραγματοποιηθεί είτε με επεμβατικές μεθόδους (χρήση διαπερατών και μη διαπερατών ιχνηθετών), είτε με μη επεμβατικές τεχνικές, όπως η Orthogonal Polarization Spectral (OPS) και η Sidestream Dark Field (SDF) απεικόνιση, οι οποίες κερδίζουν συνεχώς έδαφος λόγω της ταχύτητας, της ακρίβειας και της ανώδυνης φύσης τους [41]. Στις μεθόδους αυτές, η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη παράμετρος είναι το Perfused Boundary Region (PBR), όπου υψηλότερες τιμές αντανakλούν λέπτυνση ή βλάβη του γλυκοκάλυκα [42]. Επιπρόσθετα, η μέτρηση στον ορό προϊόντων αποδόμησής του, όπως το syndecan-1, η ηπαράνη ή το υαλουρονικό οξύ, παρέχει αξιόπιστη ένδειξη ενδοθηλιακής βλάβης [27,28].

Η συμβολή της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας στην παθογένεση της ΧΝΝ έχει περιγραφεί εκτενώς ήδη από τις κλασικές μελέτες του London και συνεργατών [8], οι οποίες ανέδειξαν τη στενή σχέση μεταξύ αγγειακής σκλήρυνσης και μειωμένης ενδοθηλιακής απάντησης. Ωστόσο, νεότερα δεδομένα έχουν εμπλουτίσει σημαντικά αυτή τη γνώση, εστιάζοντας στον ρόλο του ενδοθηλιακού γλυκοκάλυκα ως κρίσιμου ρυθμιστή της μικροαγγειακής ακεραιότητας. Σύγχρονες μελέτες ανασκόπησης και κλινικές μελέτες επιβεβαιώνουν ότι η βλάβη του γλυκοκάλυκα σχετίζεται με αυξημένα επίπεδα ουραιμικών τοξινών και διαταραχή της ενδοθηλιακής λειτουργίας [43]. Επιπλέον, πρόσφατα δεδομένα δείχνουν ότι μετά τη μεταμόσχευση νεφρού, οι δείκτες βλάβης του γλυκοκάλυκα, όπως το Syndecan-1 και το PBR, παρουσιάζουν βελτίωση, γεγονός που υποδηλώνει μερική αποκατάσταση της ενδοθηλιακής υγείας [44]. Μέχρι σήμερα, μόλις σε μια μελέτη έχει συγκρίνει δείκτες βλάβης του γλυκοκάλυκα μεταξύ ληπτών νεφρικού μοσχεύματος, ασθενών υπό αιμοκάθαρση, ασθενών με χρόνια νεφρική νόσο και υγιών μαρτύρων, καταδεικνύοντας ότι οι λήπτες μεταμόσχευσης εμφανίζουν ενδιάμεσες τιμές μεταξύ των ομάδων, όχι όμως πλήρη αποκατάσταση σε σύγκριση με τους υγιείς [45]. Μία ακόμη μελέτη έδειξε μείωση του syndecan-1 [46] μετά τη μεταμόσχευση, ωστόσο τα δεδομένα παραμένουν αποσπασματικά και περιορισμένα σε μικρούς πληθυσμούς, χωρίς να μελετώνται στην διάρκεια του χρόνου μετά την μεταμόσχευση νεφρού. Όσον αφορά τους ασθενείς με ΣΔ, σε νεότερες μελέτες τα επίπεδα γλυκοκάλυκα έχουν συσχετιστεί με αλβουμινουρία σε ασθενείς με ΣΔ τύπου 2 [47].

Το κενό αυτό στη βιβλιογραφία αναδεικνύει την ανάγκη για περαιτέρω, συστηματική διερεύνηση των δεικτών βλάβης του γλυκοκάλυκα πριν και μετά τη μεταμόσχευση νεφρού, προκειμένου να κατανοηθεί καλύτερα ο ρόλος τους στην ενδοθηλιακή αποκατάσταση και την αγγειακή υγεία των ληπτών, ειδικότερα σε ασθενείς με ΣΔ.

3.Σκοπός μελέτης

3.1.Πρωτεύοντες σκοποί

Πρόκειται για μια Προοπτική μελέτη παρατήρησης με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις (prospective longitudinal observational study), πριν και μετά την διενέργεια μεταμόσχευσης νεφρού. Ο κύριος στόχος της μελέτης αυτής είναι η αξιολόγηση της δυναμικής των δεικτών γλυκοκάλυκα σε λήπτες νεφρικού μοσχεύματος από ζώντα δότη, πριν και μετά την μεταμόσχευση νεφρού ως δείκτες ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας. Συγκεκριμένα, θα μετρηθούν:

1. **Syndecan-1** στο πλάσμα, ως δείκτης αποδόμησης της μεμβράνης του ενδοθηλίου,
2. **Υαλουρονικό οξύ** στο πλάσμα, επίσης ως δείκτης βλάβης του γλυκοκάλυκα.
3. **Perfused Boundary Region (PBR)**, ως δείκτης πάχους του γλυκοκάλυκα, με μη επεμβατική μέθοδο SDF.

Στην παρούσα μελέτη, η «ενδοθηλιακή δυσλειτουργία» δεν αξιολογείται άμεσα μέσω αγγειοδιασταλτικών δοκιμασιών, αλλά έμμεσα, μέσω της εκτίμησης της μικροαγγειακής λειτουργίας και της ακεραιότητας του ενδοθηλιακού γλυκοκάλυκα. Οι δείκτες PBR, syndecan-1 και υαλουρονικό οξύ αποτελούν έμμεσους δείκτες ενδοθηλιακής λειτουργίας, καθώς αντανακλούν δομικές και λειτουργικές μεταβολές του γλυκοκάλυκα, οι οποίες συνδέονται με διαταραχή της μικροκυκλοφορίας και αυξημένη ενδοθηλιακή διαπερατότητα. Επομένως, η μελέτη εστιάζει στη σχέση μεταξύ βλάβης του γλυκοκάλυκα και ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας, θεωρώντας τους συγκεκριμένους βιοδείκτες ως εργαλεία έμμεσης εκτίμησης της αγγειακής υγείας.

Οι μετρήσεις θα γίνουν σε **πέντε χρονικά σημεία**: 1 μήνα πριν τη μεταμόσχευση, και 1, 3, 6 και 12 μήνες μετά τη μεταμόσχευση. Σκοπός είναι να εξεταστεί αν η αποκατάσταση της νεφρικής λειτουργίας μετά τη μεταμόσχευση οδηγεί σε βελτίωση του ενδοθηλιακού γλυκοκάλυκα και κατ' επέκταση σε βελτίωση μικροκυκλοφορίας σε ικανοποιητικό δείγμα ασθενών.

3.2.Δευτερεύοντες σκοποί

1. Αξιολόγηση της επίδρασης του **σακχαρώδους διαβήτη (ΣΔ)** ως δευτερεύον καταλυτικό παράγοντα. Σκοπός είναι να εξεταστεί αν η παρουσία ή η απουσία ΣΔ επηρεάζει την ανάκαμψη του γλυκοκάλυκα και τη βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας μετά τη μεταμόσχευση.
2. Συσχέτιση των επίπεδων γλυκοκάλυκα με την ύπαρξη λευκωματουρίας σε ούρα 24ώρου, σε ασθενείς με ή χωρίς ΣΔ, στα πέντε χρονικά σημεία της μελέτης.
3. Συσχέτιση των μεταβολών των δεικτών γλυκοκάλυκα με την **λειτουργία του μοσχεύματος**, αξιολογούμενη μέσω κρεατινίνης ορού, eGFR, και πιθανών επεισοδίων απόρριψης.
4. Οι διαφορές μεταξύ των παραπάνω ομάδων στη βραχύνια ΣΑΠ και ΔΑΠ ιατρείου, στα πέντε χρονικά σημεία της μελέτης.

3.3.Τριτεύοντες σκοποί

Θα πραγματοποιηθεί έλεγχος διάφορων αιματολογικών και βιοχημικών εργαστηριακών παραμέτρων ρουτίνας πριν και μετά την μεταμόσχευση νεφρού και θα αξιολογηθεί η μεταβολή τους, όπως: αιμοσφαιρίνη (Hb), αιματοκρίτης (Hct), λευκά αιμοσφαίρια (WBC), αιμοπετάλια

(PLT), γλυκόζη νηστείας, ουρία, κρεατινίνη, παραθορμόνη, ηλεκτρολύτες ορού, φερριτίνη, σίδηρος, κρεατινοφωσφοκινάση (CPK), τρανσαμινάσες (SGOT και SGPT), γ-γλουταμυλοτρανσφεράση (γGT), αλκαλική φωσφατάση (ALP), γαλακτική αφυδρογονάση (LDH), χοληστερίνη (ολική, LDL και HDL), τριγλυκερίδια, C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP), καθώς και συλλογή ούρων 24ωρου που θα περιλαμβάνει ουρία, κρεατινίνη, κάλιο, νάτριο, λεύκωμα και αλβουμίνη.

4.Πληθυσμός μελέτης

4.1.Δεξαμενή ασθενών

Η μελέτη θα περιλάβει ασθενείς με ΧΝΝ τελικού σταδίου που παρακολουθούνται στο «Ιπποκράτειο» Γενικό Νοσοκομείο Θεσσαλονίκης και είναι προγραμματισμένοι για μεταμόσχευση νεφρού από ζώντα δότη, με και χωρίς ΣΔ.

4.2.Κριτήρια εισαγωγής

1. Ασθενείς ηλικίας ≥ 18 ετών.
2. Προγραμματισμένη μεταμόσχευση νεφρού από ζώντα δότη, ένα μήνα πριν το χειρουργείο.
3. Δυνατότητα συμμετοχής στην μελέτη 1 χρόνο, με δυνατότητα λήψεις των απαραίτητων δειγμάτων.
4. Ικανότητα συμμετοχής σε μη επεμβατικές μετρήσεις γλυκοκάλυκα.
5. Ικανότητα κατανόησης και παροχής υπογραφής γραπτής συγκατάθεσης για τη συμμετοχή στη μελέτη μετά από ενημέρωση.

4.3.Κριτήρια αποκλεισμού

1. Ασθενείς με νοσηλεία για οξεία νεφρική βλάβη οποιασδήποτε αιτιολογίας τους τελευταίους 3 μήνες ή οποιαδήποτε νοσηλεία τους εντός 3 μήνου.
2. Ασθενείς με έμφραγμα του μυοκαρδίου, επεισόδιο ασταθούς στηθάγχης, αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο 3 μήνες ή/και συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια κατηγορίας III ή IV, σύμφωνα με τα κριτήρια της Καρδιολογική Εταιρίας Νέας Υόρκης.
3. Ασθενείς με ενεργή κακοήθεια ή ύπαρξη άλλων -μη καρδιαγγειακών- συνοδών νοσημάτων (π.χ. τελικού σταδίου ηπατική ανεπάρκεια) που έχουν σαν αποτέλεσμα εξαιρετικά δυσμενή πρόγνωση.
4. Ασθενείς με αλλαγές στη χρόνια φαρμακευτική αγωγή τον τελευταίο μήνα.
5. Ασθενείς με ενεργή λοίμωξη ή άλλη οξεία φλεγμονώδη πάθηση.
6. Ασθενείς με γνωστή ψύχωση ή μη ελεγχόμενη κατάθλιψη ή μη ελεγχόμενη αγχώδη διαταραχή.
7. Ασθενείς με ιστορικό κατάχρησης τοξικών ουσιών/αλκοόλ.
8. Εγκυμοσύνη.
9. Λήψη φαρμάκων που επηρεάζουν άμεσα τον γλυκοκάλυκα.
10. Αιμοδυναμική αστάθεια που καθιστά επικίνδυνη τη συμμετοχή.

5. Σχεδιασμός της μελέτης

5.1.Καταλληλότητα ασθενών

Η αρχική αξιολόγηση θα γίνει ελέγχοντας μέσω του ηλεκτρονικού αρχείου ασθενών με ΧΝΝ τελικού σταδίου (υπό εξωνεφρική κάθαρση, αιμοκάθαρση ή περιτοναϊκή κάθαρση) που παρακολουθούνται στο «Ιπποκράτειο» Γενικό Νοσοκομείο Θεσσαλονίκης προγραμματισμένοι να υποβληθούν σε μεταμόσχευση νεφρού από ζώντα δότη, στο οποίο βρίσκονται αποθηκευμένες όλες οι πληροφορίες που απαιτούνται. Οι κατάλληλοι ασθενείς θα καλούνται για προγραμματισμένη ενημέρωση σχετικά με τη μελέτη.

5.2.Έγγραφη συναίνεση κατόπιν ενημέρωσης

Όλοι οι συμμετέχοντες θα ενημερώνονται αναλυτικά για τους σκοπούς και τη διαδικασία της μελέτης και θα υπογράφουν δύο αντίγραφα της συγκατάθεσης (ένα για τον φάκελο της μελέτης και ένα για τον ασθενή). Ειδικό έγγραφο συγκατάθεσης θα δίνεται σε αναλφάβητους ασθενείς για τους οποίους απαραίτητη θα είναι έγγραφη συγκατάθεση και παρουσία συγγενικού προσώπου πρώτου βαθμού. Οι ασθενείς δικαιούνται να άρουν τη συγκατάθεσή τους όποτε επιθυμούν.

5.3. Επίσκεψη Διαλογής - Αξιολόγηση

Οι ασθενείς ένα 40 ημέρες πριν την προγραμματισμένη μεταμόσχευση νεφρού θα αξιολογηθούν για την καταλληλότητά τους να συμμετέχουν στη μελέτη, εκτιμώντας εκ νέου τα κριτήρια ένταξης και αποκλεισμού, και στην συνέχεια θα υπογράψουν το έντυπο συγκατάθεσης αφού ενημερωθούν αναλυτικά από τον κύριο ερευνητή για τις διαδικασίες που πρόκειται να ακολουθήσουν αλλά και τα δικαιώματά τους κατά την διάρκεια της μελέτης. Θα ληφθεί ιατρικό ιστορικό και καταγραφή της φαρμακευτικής αγωγής του κάθε συμμετέχοντα, θα γίνει καταμέτρηση των ανθρωπομετρικών χαρακτηριστικών (βάρος, ύψος, ΔΜΣ) και λεπτομερής κλινική εξέταση. Οι ασθενείς θα έχουν λάβει την καθιερωμένη τους φαρμακευτική αγωγή. Προγραμματισμός πρώτης επίσκεψης.

5.4.Επίσκεψη 1

Οι ασθενείς που πληρούν τα κριτήρια ένταξης και κανένα από τα κριτήρια αποκλεισμού, θα επισκεφθούν το κέντρο έπειτα από 12 ώρες νηστείας, με οδηγίες να μην έχουν κάνει χρήση καφεΐνης, καπνού, και αλκοόλ για το παραπάνω διάστημα. Οι ασθενείς θα έχουν λάβει την καθιερωμένη τους φαρμακευτική αγωγή. Θα γίνει καταμέτρηση των δημογραφικών/ανθρωπομετρικών χαρακτηριστικών, θα ληφθεί το πλήρες ιατρικό ιστορικό και θα καταγραφεί η συγχωρηγούμενη φαρμακευτική αγωγή εκ νέου. Θα ακολουθήσει λεπτομερής κλινική εξέταση κατά συστήματα. Οι ασθενείς θα έχουν ειδοποιηθεί και θα έχουν λάβει αναλυτικές οδηγίες για τη διενέργεια συλλογής ούρων 24ωρου, την οποία θα προσκομίσουν για τον προσδιορισμό λευκώματος, αλβουμίνης, κρεατινίνης, καλίου και νατρίου. Επιπροσθέτως, θα γίνει συλλογή δειγμάτων αίματος για τη διεξαγωγή εργαστηριακών εξετάσεων ρουτίνας που προαναφέρθηκαν

αλλά και την μέτρηση βιοδεικτών. Η μέτρηση του PBR με τη μη επεμβατική μέθοδο Sidestream SDF πραγματοποιείται ως εξής: ασθενής σε ηρεμία, το στόμα καθαρίζεται ή οι βλεννογόνοι της περιοχής που θα μετρηθεί (υπογλώσσια ή στο χείλος) πρέπει να είναι καθαροί, η συσκευή τοποθετείται απαλά στην περιοχή μέτρησης χωρίς να ασκηθεί πίεση, ώστε να μην παραμορφωθεί το αγγειακό δίκτυο, και καταγράφει ζωντανές εικόνες της ροής των ερυθρών αιμοσφαιρίων μέσα στα τριχοειδή. Το λογισμικό ανιχνεύει την απόσταση μεταξύ της στήλης των ερυθρών αιμοσφαιρίων και της μη διαπερατής ζώνης του γλυκοκάλυκα. Θα πραγματοποιηθούν 3 μετρήσεις ανά ασθενή ώστε να υπάρχει μεγαλύτερη ακρίβεια, ενώ στο τέλος θα υπολογιστεί ο μέσος όρος των τιμών.

Τέλος, θα πραγματοποιηθούν τρεις μετρήσεις της ΑΠ ιατρείου [στο επίπεδο της βραχιονίου αρτηρίας, με μεσοδιάστημα 1-2 λεπτών ανάμεσα σε κάθε μέτρηση, μετά από 5-10 λεπτά ανάπαυσης στην καθιστή θέση (η περιχειρίδα θα περιβάλλει τουλάχιστον το 80% της περιφέρειας του βραχίονα και θα καλύπτει τα δύο τρίτα του μήκους του βραχίονα)] με πιστοποιημένο ταλαντωσιμετρικό πιεσόμετρο και η τιμή της ΑΠ που θα καταγράφεται θα είναι η μέση τιμή των 2 τελευταίων μετρήσεων, σύμφωνα με τις τελευταίες κατευθυντήριες οδηγίες.

5.5.Επίσκεψη 2

Ένα μήνα μετά το χειρουργείο τοποθέτησης νεφρικού μοσχεύματος θα πραγματοποιηθούν οι ίδιες διαδικασίες και μετρήσεις με την Επίσκεψη 1. Επισημαίνεται ότι θα ληφθεί εκ νέου ιστορικό και ενημέρωση του ερευνητή για την νέα φαρμακευτική αγωγή, και επιπλέον θα γίνεται ξανά έλεγχος κριτηρίων ένταξης και αποκλεισμού.

5.5.Επίσκεψη 3

Τρεις μήνες μετά την μεταμόσχευση νεφρού, θα πραγματοποιηθούν οι ίδιες διαδικασίες και μετρήσεις με την Επίσκεψη 1. Επισημαίνεται ότι θα ληφθεί εκ νέου ιστορικό και ενημέρωση του ερευνητή για την νέα φαρμακευτική αγωγή, και επιπλέον θα γίνεται ξανά έλεγχος κριτηρίων ένταξης και αποκλεισμού.

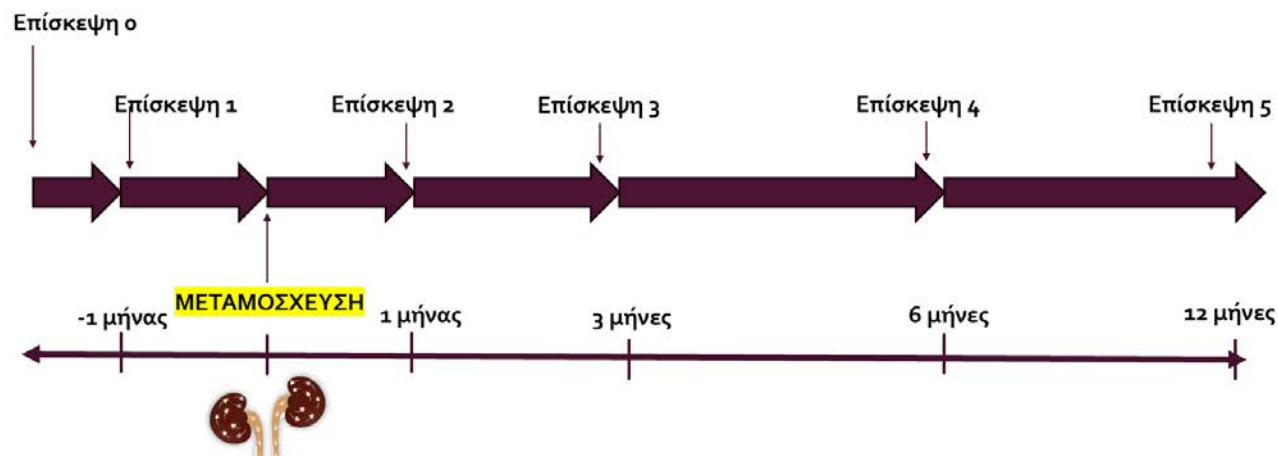
5.5.Επίσκεψη 4

Έξι μήνες μετά την μεταμόσχευση νεφρού, θα πραγματοποιηθούν οι ίδιες διαδικασίες και μετρήσεις με την Επίσκεψη 1. Επισημαίνεται ότι θα ληφθεί εκ νέου ιστορικό και ενημέρωση του ερευνητή για την νέα φαρμακευτική αγωγή, και επιπλέον θα γίνεται ξανά έλεγχος κριτηρίων ένταξης και αποκλεισμού.

5.5.Επίσκεψη 5

Ένα χρόνο μετά την μεταμόσχευση νεφρού, θα πραγματοποιηθούν οι ίδιες διαδικασίες και μετρήσεις με την Επίσκεψη 1. Επισημαίνεται ότι θα ληφθεί εκ νέου ιστορικό και ενημέρωση του ερευνητή για την νέα φαρμακευτική αγωγή, και επιπλέον θα γίνεται ξανά έλεγχος κριτηρίων ένταξης και αποκλεισμού.

Παρακάτω παρουσιάζεται το διάγραμμα ροής της μελέτης.



5.6.Πρώρη Αποχώρηση Συμμετεχόντων

Οι συμμετέχοντες μπορούν να αποχωρήσουν οποτεδήποτε χωρίς κόστος. Το ποσοστό αποχώρησης δεν αναμένεται να ξεπεράσει το 10%.

5.7.Τέλος Μελέτης

Η μελέτη θα λήξει όταν συμπληρωθεί ο αριθμός των συμμετεχόντων που ορίστηκε κατά τον υπολογισμό του μεγέθους δείγματος, στην αρχή της μελέτης. Η διάρκεια της συλλογής των ασθενών αναμένεται από 12 έως 24 μήνες.

Παρακάτω παρατίθεται σχηματική απεικόνιση του χρονοδιαγράμματος της μελέτης, που συμπεριλαμβάνει τους παραμέτρους της μελέτης που θα χρησιμοποιηθούν σε κάθε επίσκεψη με τις μεθόδους μέτρησης τους.

Παράμετρος / Δείκτης	Μέθοδος μέτρησης	Επίσκεψη 0 (Screening)	-1 μήνας	+1 μήνας	+3 μήνες	+6 μήνες
Perfused Boundary Region (PBR) – δείκτης γλυκοκάλυκα	SDF imaging (Side-stream Dark Field)	X	✓	✓	✓	✓
Syndecan-1	ELISA	X	✓	✓	✓	✓
Hyaluronan (HA)	ELISA	X	✓	✓	✓	✓
Κλινική εξέταση	Σωματομετρικά + αρτηριακή πίεση	✓	✓	✓	✓	✓
Εργαστηριακά ρουτίνας	Αιματολογικές / βιοχημικές	✓	✓	✓	✓	✓
Ιστορικό / Συγκατάθεση	Δομημένο ερωτηματολόγιο	✓	X	X	X	X

6. Στατιστική Ανάλυση

6.1. Καταληκτικά Σημεία

6.1.1. Πρωτεύον καταληκτικό σημείο:

Αξιολόγηση της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας με βάση της αλλαγή στους δείκτες γλυκοκάλυκα από baseline (έναν μήνα πριν την μεταμόσχευση νεφρού) έως τρεις μήνες (π.χ. μεταβολή PBR & syndecan-1). Επιλέγεται 3 μήνες ως «βασικό» σημείο για αποτίμηση πρόωμης αποκατάστασης.

6.1.2. Δευτερεύοντα καταληκτικά σημεία:

Αξιολόγηση της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας με βάση της αλλαγή στους δείκτες γλυκοκάλυκα από baseline (έναν μήνα πριν την μεταμόσχευση νεφρού) τρεις, έξι και δώδεκα μήτά το χειρουργείο.

Αξιολόγηση της μικροκυκλοφορίας, με την προσθήκη την ύπαρξη ή όχι σακχαρώδη διαβήτη, ως καταλυτικό/τροποποιητικό παράγοντα. Δηλαδή: (α) ανάλυση υποομάδων (διαβητικοί έναντι μη διαβητικών) και (β) έλεγχος αλληλεπιδράσεων στη στατιστική μοντελοποίηση.

Οι διαφορές μεταξύ των παραπάνω χρονικών στιγμών και πιθανές συσχετίσεις με τιμές βιοδεικτών, στις παρακάτω παραμέτρους: στη βραχιόνια ΣΑΠ και ΔΑΠ ιατρείου, eGFR, επεισόδια απόρριψης, αλβουμινουρία.

6.2. Καθορισμός Μεγέθους Δείγματος

Ο υπολογισμός του απαραίτητου μεγέθους δείγματος για τη μελέτη θα πραγματοποιηθεί με το λογισμικό GPower (GPower 3.1.9.7, Department of Psychology, Heinrich Heine Universität Düsseldorf, Germany). Η μελέτη θα περιλαμβάνει πολλαπλές χρονικές μετρήσεις των δεικτών γλυκοκάλυκα (PBR, syndecan-1, υαλουρονικό οξύ) σε ασθενείς που θα υποβληθούν σε μεταμόσχευση νεφρού, συγκεκριμένα ένα μήνα πριν από τη μεταμόσχευση και 1, 3, 6 και 12 μήνες μετά. Για τον υπολογισμό του μεγέθους δείγματος χρησιμοποιήθηκαν δεδομένα από προηγούμενες μελέτες, λαμβάνοντας υπόψη ότι η τυπική απόκλιση των βασικών δεικτών είναι περίπου $SD=0.2$ για το PBR και ότι η αναμενόμενη μεταβολή που θέλουμε να ανιχνεύσουμε είναι περίπου $0.15 \mu m$. Με βάση αυτά, προκύπτει effect size f περίπου 0.596 (medium effect), το οποίο επιτρέπει την ανίχνευση στατιστικά σημαντικών διαφορών με επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0.05$ και ισχύ 80%. Στην περίπτωση αυτή, απαιτούνται περίπου 28 ασθενείς για την παρακολούθηση της μεταβολής των δεικτών γλυκοκάλυκα σε όλο το διάστημα των μετρήσεων. Λαμβάνοντας υπόψη πιθανή απώλεια συμμετεχόντων κατά τη διάρκεια της μελέτης (~10%), το δείγμα θα επεκταθεί σε 32-33 ασθενείς. Επιπλέον, για να εξεταστεί ο ρόλος του σακχαρώδους διαβήτη ως δευτερεύοντος παράγοντα, οι συμμετέχοντες θα καταταγούν ανάλογα με την παρουσία ή απουσία ΣΔ, γεγονός που θα επιτρέψει την εκτίμηση τυχόν διαφορών μεταξύ των ομάδων. Ο PBR είναι δείκτης άμεσης μέτρησης in vivo μετρούμενος με SDF imaging και έχει τη μεγαλύτερη βιβλιογραφική τεκμηρίωση ως «gold standard» για το πάχος του γλυκοκάλυκα. Ο syndecan-1 και το υαλουρονικό είναι δείκτες

με μεγαλύτερη βιολογική διακύμανση, άρα λιγότερο αξιόπιστοι για υπολογισμό μεγέθους δείγματος. Γι' αυτό το μέγεθος δείγματος βασίστηκε στον PBR, ενώ οι άλλοι δύο λειτουργούν συμπληρωματικά. Με αυτόν τον τρόπο, η μελέτη διασφαλίζει επαρκές μέγεθος δείγματος για την αξιολόγηση της επίδρασης της μεταμόσχευσης νεφρού στη λειτουργία του γλυκοκάλυκα, ενώ παράλληλα λαμβάνει υπόψη σημαντικούς συνοδούς παράγοντες που μπορεί να επηρεάζουν τα αποτελέσματα.

6.3.Ανάλυση Δεδομένων

Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων της μελέτης θα πραγματοποιηθεί με τη χρήση του στατιστικού λογισμικού SPSS (Version 29, IBM Corp., Chicago, IL, USA). Αρχικά, θα εξεταστεί η κατανομή των ποσοτικών μεταβλητών με τη χρήση των δοκιμασιών Shapiro-Wilk ή Kolmogorov-Smirnov, ανάλογα με το μέγεθος του δείγματος, για να καθοριστεί η κατάλληλη προσέγγιση για τη συνέχεια της ανάλυσης. Οι συνεχείς μεταβλητές, όπως οι δείκτες γλυκοκάλυκα (Perfused Boundary Region, syndecan-1, υαλουρονικό οξύ), θα περιγραφούν είτε ως μέσος όρος $\pm$ τυπική απόκλιση (mean $\pm$ SD), σε περίπτωση κανονικής κατανομής, είτε ως διάμεσος με ενδοτεταρτημοριακό εύρος (median, IQR), σε περίπτωση μη κανονικής κατανομής. Οι κατηγορικές μεταβλητές, όπως η παρουσία ή απουσία σακχαρώδους διαβήτη, θα περιγραφούν με απόλυτους αριθμούς και ποσοστά (%). Η σύγκριση των δεικτών γλυκοκάλυκα μεταξύ διαφορετικών χρονικών σημείων (1 μήνα πριν τη μεταμόσχευση και 1, 3, 6, 12 μήνες μετά) θα πραγματοποιηθεί με ανάλυση επαναλαμβανόμενων μετρήσεων (Repeated Measures ANOVA) για τις κανονικά κατανεμημένες μεταβλητές, ενώ για τις μη κανονικές κατανομές θα εφαρμοστεί η μη παραμετρική εναλλακτική Friedman test. Όπου απαιτείται, θα γίνουν post-hoc συγκρίσεις με διόρθωση Bonferroni για πολλαπλές συγκρίσεις. Για τις συγκρίσεις μεταξύ υποομάδων, όπως ασθενείς με ή χωρίς σακχαρώδη διαβήτη, θα χρησιμοποιηθούν Independent Samples t-test ή η μη παραμετρική δοκιμασία Mann-Whitney U test, ανάλογα με την κατανομή των δεδομένων. Οι κατηγορικές μεταβλητές θα συγκριθούν με τις δοκιμασίες Chi-square ή Fisher's exact test, όπου κρίνεται απαραίτητο. Επιπλέον, θα εφαρμοστεί πολυπαραγοντική γραμμική παλινδρόμηση για να εντοπιστούν οι ανεξάρτητοι παράγοντες που επηρεάζουν τις μεταβολές των δεικτών γλυκοκάλυκα, με ιδιαίτερη έμφαση στην επίδραση της παρουσίας ή απουσίας σακχαρώδους διαβήτη, δημογραφικών παραγόντων όπως της ηλικίας, του φύλου αλλά και εργαστηριακών παραμέτρων όπως η ύπαρξη αλβουμινουρίας. Ο χειρισμός των ελλিপών δεδομένων (missing values) θα πραγματοποιηθεί σε δύο επίπεδα, ανάλογα με την έκταση των αποχωρήσεων ή των ελλείψεων μετρήσεων. Ειδικότερα, σε περίπτωση που το ποσοστό των αποχωρήσεων ή των ελλিপών τιμών δεν υπερβαίνει το 10%, θα εφαρμοστεί complete case analysis, δηλαδή η ανάλυση θα βασιστεί αποκλειστικά στα πλήρη δεδομένα των συμμετεχόντων που ολοκλήρωσαν όλες τις μετρήσεις. Αντίθετα, εφόσον το ποσοστό των ελλείψεων υπερβεί το 10% ή εντοπιστούν μερικώς ελλιπείς παρατηρήσεις, θα εφαρμοστεί η μέθοδος multiple imputation, προκειμένου να ελαχιστοποιηθεί η πιθανότητα στατιστικής μεροληψίας (bias) και να διατηρηθεί η εγκυρότητα των αποτελεσμάτων. Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας θα οριστεί σε $p < 0.05$, ενώ όπου χρειάζεται θα εφαρμοστεί διόρθωση για πολλαπλές συγκρίσεις, προκειμένου να διασφαλιστεί η αξιοπιστία των αποτελεσμάτων.

7. Δεοντολογικά ζητήματα

Πριν την έναρξη της μελέτης θα ζητηθεί η έγκριση της από την Επιστημονική και Ηθική Επιτροπή του «Ιπποκρατείου» Γ.Ν. Θεσσαλονίκης. Κάθε αλλαγή που θα επέλθει στο πρωτόκολλο, στις συγκαταθέσεις ή στους ερευνητές θα πρέπει να εγκρίνεται ξανά από αυτή την Επιτροπή. Όλοι οι ασθενείς, πριν την συμμετοχή τους στην μελέτη, θα πρέπει να υπογράψουν έγγραφη συναίνεση κατόπιν ενημέρωσης, η οποία θα φυλάσσεται στο φάκελο της μελέτης. Ο κύριος ερευνητής θα ενημερώνει και τους ασθενείς. Ο ασθενής δικαιούται να αρνηθεί να λάβει μέρος, ενώ μετά την έγγραφη συναίνεση του δύναται να αποχωρήσει από την μελέτη όποτε ο ίδιος επιθυμεί. Για κάθε ασθενή θα δημιουργηθεί φόρμα καταγραφής δεδομένων στην οποία θα καταγράφονται στοιχεία ιατρικού ιστορικού, κλινικής εξέτασης και εργαστηριακών εξετάσεων και οποιαδήποτε άλλη πληροφορία σχετική με τον ασθενή. Τέλος η μελέτη θα είναι σύμφωνη με την Διακήρυξη του Ελσίνκι και με βάση τις αρχές της καλής κλινικής πρακτικής.

8. Πολιτική Δημοσιοποίησης

Με το πέρας της μελέτης, τα αποτελέσματα θα κατατεθούν για δημοσίευση σε έγκριτα διεθνή περιοδικά, με προτίμηση σε «open access journals» ώστε να είναι ευρέως διαθέσιμα. Παράλληλα, η μελέτη θα καταχωρηθεί στο ClinicalTrials.gov για διασφάλιση διαφάνειας. Η συγγραφική πολιτική (authorship policy) θα ακολουθεί τις οδηγίες ICMJE, εξασφαλίζοντας δίκαιη απόδοση συνεισφοράς σε όλους τους συμμετέχοντες ερευνητές. Επίσης, θα υπάρχει δέσμευση για παρουσίαση των αποτελεσμάτων σε συνέδρια νεφρολογίας και καρδιαγγειακής ιατρικής.

9.Χρηματοδότηση

Ο απαραίτητος εξοπλισμός για τη διεξαγωγή των μετρήσεων των δεικτών του γλυκοκάλυκα είναι ήδη εγκατεστημένος και πλήρως λειτουργικός στα αντίστοιχα ερευνητικά κέντρα, καθώς και στις συνεργαζόμενες επιστημονικές ομάδες. Η διαθεσιμότητα αυτή εξασφαλίζει την άμεση και ομαλή υλοποίηση των πειραματικών διαδικασιών, χωρίς την ανάγκη πρόσθετης επένδυσης σε βασικές υποδομές. Παράλληλα, είναι πιθανό να προκύψουν ορισμένες δευτερεύουσες χρηματοδοτικές ανάγκες, όπως επισκευές εξοπλισμού ή προμήθεια αναλωσίμων υλικών απαραίτητων για την εκτέλεση των μετρήσεων. Η κάλυψη αυτών των αναγκών θα επιχειρηθεί μέσω αξιοποίησης διαθέσιμων πηγών χρηματοδότησης, συμπεριλαμβανομένων προγραμμάτων ενίσχυσης ερευνητικών έργων που προσφέρονται από αναγνωρισμένες Επιστημονικές Ιατρικές Εταιρείες, διασφαλίζοντας έτσι τη συνέχεια και την ποιότητα της ερευνητικής δραστηριότητας.

Βιβλιογραφικές Αναφορές

- 1 Hill NR, Fatoba ST, Oke JL, Hirst JA, O'Callaghan CA, Lasserson DS, *et al.* Global Prevalence of Chronic Kidney Disease – A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS ONE* 2016; 11:e0158765.
- 2 Kovesdy CP. Epidemiology of chronic kidney disease: an update 2022. *Kidney Int Suppl (2011)* 2022; 12:7–11.
- 3 Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group. KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney Int Suppl* 2013; 3.
- 4 Baaten CCFMJ, Vondenhoff S, Noels H. Endothelial Cell Dysfunction and Increased Cardiovascular Risk in Patients With Chronic Kidney Disease. *Circulation Research* 2023; 132:970–992.
- 5 Webster AC, Nagler EV, Morton RL, Masson P. Chronic Kidney Disease. *The Lancet* 2017; 389:1238–1252.
- 6 Go AS, Chertow GM, Fan D, McCulloch CE, Hsu C. Chronic Kidney Disease and the Risks of Death, Cardiovascular Events, and Hospitalization. *N Engl J Med* 2004; 351:1296–1305.
- 7 Zoccali C. Traditional and emerging cardiovascular and renal risk factors: An epidemiologic perspective. *Kidney International* 2006; 70:26–33.
- 8 London GM, Drueke TB. Atherosclerosis and arteriosclerosis in chronic renal failure. *Kidney Int* 1997; 51:1678–1695.
- 9 Briasoulis A, Bakris GL. Chronic kidney disease as a coronary artery disease risk equivalent. *Curr Cardiol Rep* 2013; 15:340.
- 10 de Zager DJ, Grootendorst DC, Jager KJ, van Dijk PC, Tomas LMJ, Ansell D, *et al.* Cardiovascular and noncardiovascular mortality among patients starting dialysis. *JAMA* 2009; 302:1782–1789.
- 11 Zhou B, Lu Y, Hajifathalian K, Bentham J, Di Cesare M, Danaei G, *et al.* Worldwide trends in diabetes since 1980: a pooled analysis of 751 population-based studies with 4·4 million participants. *The Lancet* 2016; 387:1513–1530.
- 12 Zinman B, Programme Committee Chair of the World Diabetes Congress 2015. The International Diabetes Federation World Diabetes Congress 2015. *European Endocrinology* 2015; 11:66.
- 13 Reduction in the Incidence of Type 2 Diabetes with Lifestyle Intervention or Metformin. *N Engl J Med* 2002; 346:393–403.
- 14 DeFronzo RA. From the Triumvirate to the Ominous Octet: A New Paradigm for the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus. *Diabetes* 2009; 58:773–795.
- 15 Chatterjee S, Khunti K, Davies MJ. Type 2 diabetes. *The Lancet* 2017; 389:2239–2251.
- 16 Thomas MC, Cooper ME, Zimmet P. Changing epidemiology of type 2 diabetes mellitus and associated chronic kidney disease. *Nat Rev Nephrol* 2016; 12:73–81.
- 17 Thomas MC, Brownlee M, Susztak K, Sharma K, Jandeleit-Dahm KAM, Zoungas S, *et al.* Diabetic kidney disease. *Nat Rev Dis Primers* 2015; 1:15018.
- 18 Dwyer JP, Parving HH, Hunsicker LG, Ravid M, Remuzzi G, Lewis JB, *et al.* Renal Dysfunction in the

Presence of Normoalbuminuria in Type 2 Diabetes: Results from the DEMAND Study. *Cardiorenal Med* 2012; 2:1–10.

- 19 Gilbert RE. The Endothelium in Diabetic Nephropathy. *Curr Atheroscler Rep* 2014; 16:410.
- 20 Laupacis A, Keown P, Pus N, Krueger H, Ferguson B, Wong C, *et al.* A study of the quality of life and cost-utility of renal transplantation. *Kidney International* 1996; 50:235–242.
- 21 Wolfe RA, Ashby VB, Milford EL, Ojo AO, Ettenger RE, Agodoa LYC, *et al.* Comparison of Mortality in All Patients on Dialysis, Patients on Dialysis Awaiting Transplantation, and Recipients of a First Cadaveric Transplant. *N Engl J Med* 1999; 341:1725–1730.
- 22 Tonelli M, Wiebe N, Knoll G, Bello A, Browne S, Jadhav D, *et al.* Systematic Review: Kidney Transplantation Compared With Dialysis in Clinically Relevant Outcomes. *American Journal of Transplantation* 2011; 11:2093–2109.
- 23 Meier-Kriesche H-U, Schold JD, Srinivas TR, Reed A, Kaplan B. Kidney Transplantation Halts Cardiovascular Disease Progression in Patients with End-Stage Renal Disease. *American Journal of Transplantation* 2004; 4:1662–1668.
- 24 Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Transplant Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients. *Am J Transplant* 2009; 9 Suppl 3:S1-155.
- 25 Cardinal H, Dieudé M, Hébert M-J. Endothelial Dysfunction in Kidney Transplantation. *Front Immunol* 2018; 9:1130.
- 26 Jourde-Chiche N, Fakhouri F, Dou L, Bellien J, Burtsey S, Frimat M, *et al.* Endothelium structure and function in kidney health and disease. *Nat Rev Nephrol* 2019; 15:87–108.
- 27 Iatridi F, Karkamani E, Theodorakopoulou MP, Sarafidis P. Understanding endothelial dysfunction in kidney transplantation: assessment techniques, existing evidence, and research needs. *Expert Review of Cardiovascular Therapy* 2025; 23:225–242.
- 28 Lekakis J, Abraham P, Balbarini A, Blann A, Boulanger CM, Cockcroft J, *et al.* Methods for evaluating endothelial function: a position statement from the European Society of Cardiology Working Group on Peripheral Circulation. *European Journal of Cardiovascular Prevention & Rehabilitation* 2011; 18:775–789.
- 29 Theodorakopoulou MP, Dipla K, Zafeiridis A, Sarafidis P. Endothelial and microvascular function in CKD: Evaluation methods and associations with outcomes. *Eur J Clin Investigation* 2021; 51:e13557.
- 30 Theodorakopoulou MP, Schoina M, Sarafidis P. Assessment of Endothelial and Microvascular Function in CKD: Older and Newer Techniques, Associated Risk Factors, and Relations with Outcomes. *Am J Nephrol* 2020; 51:931–949.
- 31 Flammer AJ, Anderson T, Celermajer DS, Creager MA, Deanfield J, Ganz P, *et al.* The Assessment of Endothelial Function: From Research Into Clinical Practice. *Circulation* 2012; 126:753–767.
- 32 Yilmaz MI, Saglam M, Caglar K, Cakir E, Ozgurtas T, Sonmez A, *et al.* Endothelial Functions Improve with Decrease in Asymmetric Dimethylarginine (ADMA) Levels after Renal Transplantation. *Transplantation* 2005; 80:1660–1666.
- 33 Chudek J, Adamczak M, Karkoszka H, Budziński G, Ignacy W, Funahashi T, *et al.* Plasma adiponectin concentration before and after successful kidney transplantation. *Transplantation Proceedings* 2003; 35:2186–2189.

- 34 Caglar K, Yilmaz MI, Saglam M, Cakir E, Kilic S, Eyileten T, *et al.* Endothelial Dysfunction and Fetuin A Levels Before and After Kidney Transplantation: *Transplantation* 2007; 83:392–397.
- 35 Yilmaz MI, Sonmez A, Saglam M, Yaman H, Unal HU, Gok M, *et al.* Soluble TWEAK plasma levels increase after renal transplantation and associate with the improvement of endothelial function. *Eur J Clin Investigation* 2013; 43:1250–1257.
- 36 Balta S, Mikhailidis DP, Demirkol S, Ozturk C, Celik T, Iyisoy A. Endocan: A novel inflammatory indicator in cardiovascular disease? *Atherosclerosis* 2015; 243:339–343.
- 37 Burger D, Touyz RM. Cellular biomarkers of endothelial health: microparticles, endothelial progenitor cells, and circulating endothelial cells. *Journal of the American Society of Hypertension* 2012; 6:85–99.
- 38 Amabile N, Guérin AP, Leroyer A, Mallat Z, Nguyen C, Boddaert J, *et al.* Circulating Endothelial Microparticles Are Associated with Vascular Dysfunction in Patients with End-Stage Renal Failure. *Journal of the American Society of Nephrology* 2005; 16:3381–3388.
- 39 Di Marco GS, Rustemeyer P, Brand M, Koch R, Kentrup D, Grabner A, *et al.* Circulating Endothelial Progenitor Cells in Kidney Transplant Patients. *PLoS ONE* 2011; 6:e24046.
- 40 Strisciuglio T, De Luca S, Capuano E, Luciano R, Niglio T, Trimarco B, *et al.* Endothelial Dysfunction: Its Clinical Value and Methods of Assessment. *Curr Atheroscler Rep* 2014; 16:417.
- 41 VanTeeffelen JWGE, Brands J, Jansen C, Spaan JAE, Vink H. Heparin Impairs Glycocalyx Barrier Properties and Attenuates Shear Dependent Vasodilation in Mice. *Hypertension* 2007; 50:261–267.
- 42 Nieuwdorp M, Meuwese MC, Mooij HL, Ince C, Broekhuizen LN, Kastelein JJP, *et al.* Measuring endothelial glycocalyx dimensions in humans: a potential novel tool to monitor vascular vulnerability. *Journal of Applied Physiology* 2008; 104:845–852.
- 43 Liang F, Li G, Chen K, Chen J, He J, He Y. Endothelial Dysfunction and Therapeutic Advances in Chronic Kidney Disease. *Diabetes Metabolism Res* 2025; 41:e70086.
- 44 Liew H, Roberts MA, McMahon LP. Markers of the Endothelial Glycocalyx Are Improved following Kidney Transplantation. *Kidney Blood Press Res* 2021; 46:581–587.
- 45 Liew H, Roberts MA, MacGinley R, McMahon LP. Endothelial glycocalyx in health and kidney disease: Rising star or false Dawn? *Nephrology* 2017; 22:940–946.
- 46 Liew H, Roberts MA, Pope A, McMahon LP. Endothelial glycocalyx damage in kidney disease correlates with uraemic toxins and endothelial dysfunction. *BMC Nephrol* 2021; 22:21.
- 47 Kakutani Y, Morioka T, Yamazaki Y, Ochi A, Fukumoto S, Shoji T, *et al.* 433-P: Syndecan-1, a Marker of Endothelial Glycocalyx Degradation, Is Associated with Albuminuria in Type 2 Diabetes. *Diabetes* 2023; 72:433-P.

