

## ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΜΕΤΑΛΛΟΠΡΩΤΕΑΣΩΝ MMP-2 ΚΑΙ MMP-9 ΚΑΙ ΤΩΝ ΑΝΑΣΤΟΛΕΩΝ TIMP-1 ΚΑΙ TIMP-2 ΣΤΟ ΦΛΕΒΙΚΟ ΣΚΕΛΟΣ ΤΗΣ ΑΡΤΗΡΙΟΦΛΕΒΙΚΗΣ ΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΑΣ ΣΕ ΖΩΙΚΟ ΠΡΟΤΥΠΟ

Α. Γιαγκίνη,<sup>1,2</sup> Σ. Γιαγλής,<sup>1</sup> Ι. Κακίσης,<sup>3</sup> Μ. Μυκωνιάτης,<sup>2</sup> Π.Ε. Καραγιαννάκος,<sup>1</sup> Σ. Τσαγγάρης,<sup>4</sup> Δ.Π. Σοκόλης<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Κέντρο Πειραματικής Χειρουργικής, Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών Ακαδημίας Αθηνών,

<sup>2</sup>Τομέας Μορφολειτουργικός, Τμήμα Πειραματικής Φαρμακολογίας, Ιατρική Σχολή Παν/μίου Αθηνών,

<sup>3</sup>Γ' Χειρουργική Κλινική, Αττικό Νοσοκομείο, Ιατρική Σχολή Παν/μίου Αθηνών,

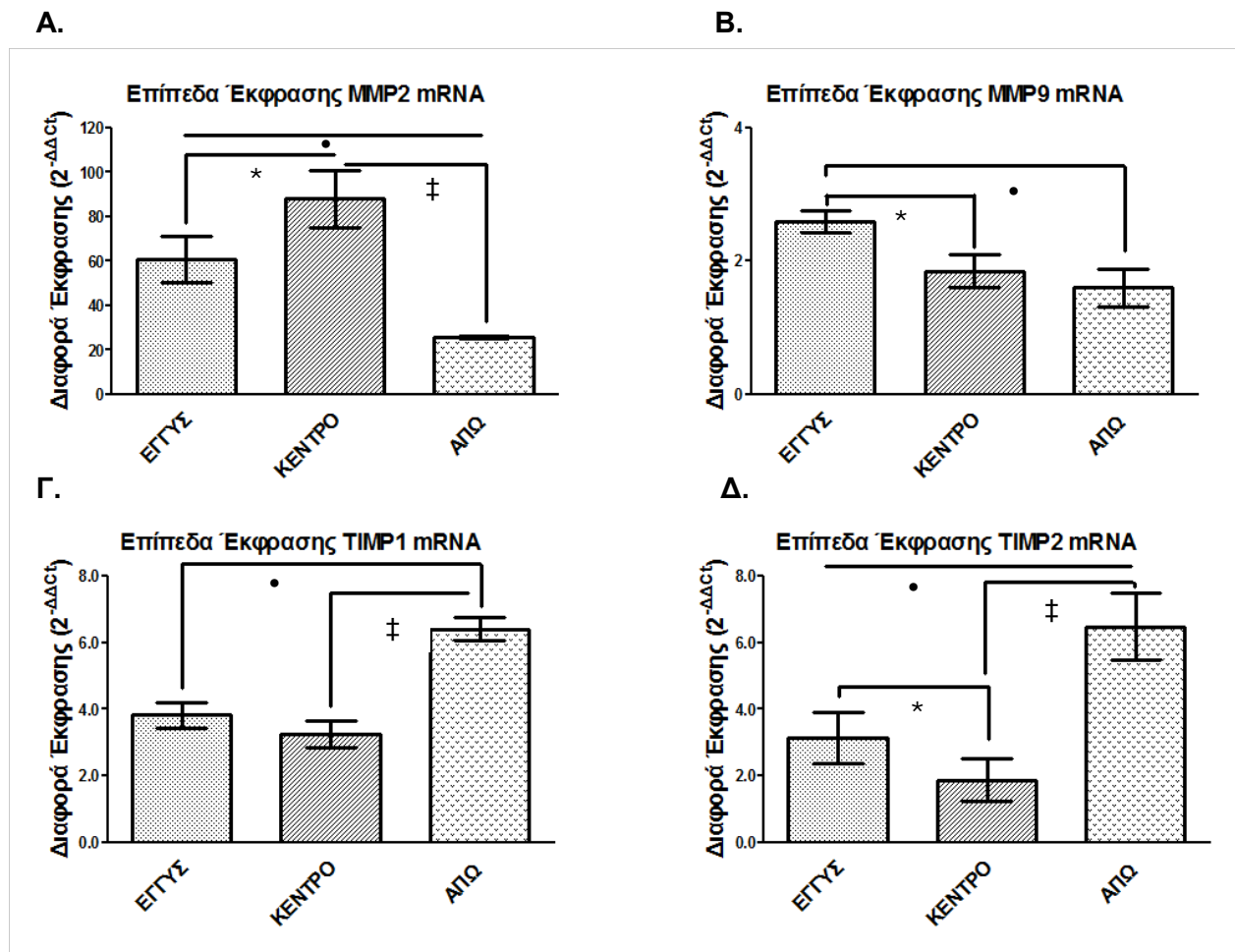
<sup>4</sup>Εργαστήριο Βιορευστομηχανικής και Βιοϊατρικής Τεχνολογίας, Σχολή Μηχανολόγων Μηχανικών Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου.

**ΕΙΣΑΓΩΓΗ:** Η χρήση συνθετικών μοσχευμάτων σε αιμοκαθαίρομενους ασθενείς καθίσταται δυσχερής λόγω της ανάπτυξης ινομυϊκής υπερπλασίας στο φλεβικό σκέλος της αρτηριοφλεβικής επικοινωνίας (ΑΦΕ) και της επακόλουθης απόφραξής τους. Οι μεταλλοπρωτεάσες και οι αναστολείς τους διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στο σχηματισμό του νεοσυντιθέμενου έσω χιτώνα, στην αποδόμηση της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας και τελικά στην ανάπτυξη ινομυϊκής υπερπλασίας. Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν ο προσδιορισμός σε ζωικό πρότυπο των μεταλλοπρωτεασών MMP-2 και MMP-9 και των αναστολέων τους TIMP-1 και TIMP-2, που σχετίζονται παθογενετικά με την απόφραξη του ΑΦ μοσχεύματος.

**ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ:** Σε 8 υγιείς χοίρους Landrace (75 ± 2 kg) δημιουργήθηκε ΑΦΕ μεταξύ της κοινής καρωτίδας και της έσω σφαγίτιδας με χρήση μοσχεύματος e-PTFE. Τα ζωικά πρότυπα ευθανατώθηκαν 15 ημέρες μετά και αφαιρέθηκαν η αναστομωμένη (ΑΣ) και ετερόπλευρη σφαγίτιδα (ΕΣ). Οι ιστοί διαιρέθηκαν σε 3 ισομεγέθη τμήματα βάσει της τοπογραφικής τους εντόπισης (εγγύς, κέντρο και άπω της ΑΦΕ). Πραγματοποιήθηκε απομόνωση ολικού RNA από τα 3 τμήματα των ΑΣ και ΕΣ, εξέταση της ποιότητάς του φασματοφωτομετρικά και με ηλεκτροφόρηση σε πηκτική αгарόζης, αντίστροφη μεταγραφή του mRNA προς cDNA, ενίσχυση του cDNA των γονιδίων MMP-2, MMP-9, TIMP-1 και TIMP-2 με τη μέθοδο συμβατικής PCR και προκαταρκτική εκτίμηση των επιπέδων έκφρασής τους με ηλεκτροφόρηση των προϊόντων PCR σε πηκτική αгарόζης. Ακολούθησε ο ποσοτικός προσδιορισμός των επιπέδων έκφρασης των υπό εξέταση γονιδίων ως προς το γονίδιο αναφοράς GAPDH με την τεχνική Real-time PCR με εφαρμογή της μεθόδου σύγκρισης των C<sub>T</sub> (ΔΔC<sub>T</sub>).

**ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ:** Δεκαπέντε ημέρες ακολούθως της δημιουργίας ΑΦΕ, σημειώθηκε σημαντική έκφραση των επιπέδων mRNA των μεταλλοπρωτεασών MMP-2 και MMP-9 και των φυσικών τους αναστολέων TIMP-1 και TIMP-2 στην ΑΣ έναντι της ΕΣ και στις 3 τοπογραφικές θέσεις (Εικόνα 1). Σημειώθηκε επίσης σημαντική αύξηση του MMP-2 mRNA στο κέντρο ως προς την άπω θέση (Εικόνα 1Α) με αντίστοιχη μείωση του TIMP-1 (Εικόνα 1Γ), όπως και αύξηση των επιπέδων έκφρασης του MMP-9 mRNA (Εικόνα 1Β) με παράλληλη μείωση του TIMP-2 mRNA (Εικόνα 1Δ).

Εικόνα 1.



\* $p < 0,05$  Εγγύς ως προς Κέντρο. • $p < 0,05$  Εγγύς ως προς Άπω. † $p < 0,05$  Κέντρο ως προς Άπω.

**ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ:** Συμπεραίνεται ότι οι παρατηρούμενες αλλαγές στις συσχετίσεις μεταλλοπρωτεασών και φυσικών τους αναστολέων κατά την ΑΦΕ επάγει εκτενή αποδόμηση της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας, η οποία οδηγεί σε αγγειακή ανακατασκευή και ινομυϊκή υπερπλασία του φλεβικού της σκέλους, με δυσμενείς επιπτώσεις στη βατότητα του μοσχεύματος.

30<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Καρδιολογικό Συνέδριο, 30<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Καρδιολογικό Συνέδριο, 29-31 Οκτωβρίου 2009.

Το έργο υλοποιείται στο πλαίσιο του Μέτρου 8.3 του Ε.Π. Ανταγωνιστικότητα Γ' Κοινωνικό Πλαίσιο Στήριξης και συγχρηματοδοτείται κατά:

- 80% της Δημόσιας Δαπάνης από την Ευρωπαϊκή Ένωση – Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο

- 20% της Δημόσιας Δαπάνης από το Ελληνικό Δημόσιο – Υπουργείο Ανάπτυξης – Γενική Γραμματεία Έρευνας και Τεχνολογίας